



**Universidade Estadual de Campinas**  
**Faculdade de Engenharia de Alimentos**  
**Departamento de Engenharia de Alimentos**



---

**ESTUDOS DOS PROCESSOS DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA  
E SECAGEM POR ATOMIZAÇÃO PARA OBTENÇÃO DE  
HIDROLISADO PROTEICO DE FRANGO EM PÓ**

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de doutor em Engenharia de Alimentos.

**Louise Emy Kurozawa**  
*Engenheira de alimentos*  
*Mestre em engenharia de alimentos*

Orientadora: **Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Miriam Dupas Hubinger**

Co-Orientador: **Prof. Dr. Kil Jin Park**

Campinas  
Agosto de 2009

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

K966e Kurozawa, Louise Emy  
Estudo dos processos de hidrólise enzimática e secagem por atomização para obtenção de hidrolisado proteico de frango em pó / Louise Emy Kurozawa. -- Campinas, SP: [s.n.], 2009.

Orientador: Miriam Dupas Hubinger  
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos

1. Frango. 2. Hidrólise enzimática. 3. Spray dryer. 4. Atividade de água. 6. Transição vítrea. I. Hubinger, Miriam Dupas. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Título em inglês: Study of the processes of enzymatic hydrolysis and spray drying to obtain a protein hydrolysate of chicken breast meat powder

Palavras-chave em inglês (Keywords): Chicken, Enzymatic hydrolysis, Spray dryer, Water activity, Glass transition

Titulação: Doutor em Engenharia de Alimentos

Banca examinadora: Miriam Dupas Hubinger  
Carmen Sílvia Fávoro Trindade  
Flavia Maria Netto  
Rosiane Lopes da Cunha  
Wanderley Pereira de Oliveira

Data da defesa: 07/08/2009

Programa de Pós Graduação: Programa em Engenharia de Alimentos

## **BANCA EXAMINADORA**

---

**Profa. Dra. Miriam Dupas Hubinger**  
Orientadora – DEA/FEA/UNICAMP

---

**Profa. Dra. Carmen Sílvia Fávaro Trindade**  
Membro – FZEA/USP

---

**Profa. Dra. Flavia Maria Netto**  
Membro – DEPAN/FEA/UNICAMP

---

**Profa. Dra. Rosiane Lopes da Cunha**  
Membro – DEA/FEA/UNICAMP

---

**Prof. Dr. Wanderley Pereira de Oliveira**  
Membro – FCFRP/USP

---

**Profa. Dra. Florencia Cecília Menegalli**  
Membro suplente – DEA/FEA/UNICAMP

---

**Prof. Dr. Marcelo Cristianini**  
Membro suplente – DTA/FEA/UNICAMP

---

**Dra. Maria Teresa Bertoldo Pacheco**  
Membro suplente – ITAL



*Ao meu pai e à minha mãe, que dedicaram suas vidas aos filhos,  
pelos exemplos que são e  
pelo carinho e amor incondicional.*

*A minha família querida,  
o meu agradecimento e respeito.*

*Ao Douglas,  
com todo meu carinho, amor e admiração.*

*Segue o teu destino,  
Rega as tuas plantas,  
Ama as tuas rosas.  
O resto é a sombra  
De árvores alheias.*

Fernando Pessoa



## AGRADECIMENTOS

A Deus, que sempre me amparou e iluminou meu caminho, principalmente nos momentos de maior dificuldade.

À Profa. Dra. Miriam Dupas Hubinger, pela orientação, apoio, carinho e amizade. Obrigada pelos ensinamentos e confiança, fundamentais para o desenvolvimento deste projeto.

Ao Prof. Dr. Kil Jin Park, pela co-orientação e amizade, pelos conhecimentos transmitidos e, principalmente, pela infinita paciência e imenso coração.

Aos membros da banca examinadora, Profa. Dra. Carmen Sílvia Fávoro Trindade, Profa. Dra. Flávia Maria Netto, Profa. Dra. Florência Cecília Menegalli, Prof. Dr. Marcelo Cristianini, Dra. Maria Teresa Bertoldo Pacheco, Profa. Dra. Rosiane Lopes da Cunha e Prof. Dr. Wanderley Pereira de Oliveira, pelas importantes correções, que contribuíram para o enriquecimento do trabalho.

Ao Prof. Dr. Antonio Marsaioli Júnior e ao Prof. Dr. Carlos Raimundo Ferreira Grosso pela contribuição na banca de qualificação.

Ao Prof. Dr. Eduardo Augusto Caldas Batista, pela amizade e orientação durante o Programa de Estágio Docente, sempre preocupado em transmitir seus conhecimentos.

À Capes e ao CNPq, pela concessão da bolsa de doutorado. À Fapesp e CNPq pelo suporte financeiro.

À Faculdade de Engenharia Agrícola, por ter disponibilizado o Laboratório de Secagem para realização da etapa de secagem em *spray dryer*. Em especial, à Juliana e ao Rafael, por toda ajuda prestada.

Ao Laboratório de Engenharia de Bioprocessos, por ter disponibilizado o uso do espectrofotômetro. Em especial, à Elizama e à Andréa.

Ao Departamento de Engenharia de Alimentos, da Faculdade de Engenharia de Alimentos, pela oportunidade da realização do doutorado.

A todos os funcionários da FEA, pelos auxílios prestados.

À Joyce, técnica do LEP, pela ajuda nas análises químicas. À dona Ana, por sempre manter o laboratório limpo e organizado.

Ao aluno de iniciação científica, Alexandre Gomes Morassi, pela amizade e aprendizado, e também pela paciência e tranquilidade mesmo quando tudo parecia que ia dar errado.

À Analia, nossa querida técnica TT, pela amizade e ajuda nos experimentos.



Às empresas Doux Frangosul, Novozymes, Corn Products e Colloides Naturels pela doação de peitos de frango, enzima Alcalase, maltodextrina e goma arábica, respectivamente, necessários para o desenvolvimento da pesquisa.

Ao Douglas, meu melhor amigo e anjo da guarda, por ser esta pessoa linda, sempre me incentivando para que eu nunca desista. Por sempre estar ao meu lado em todos os momentos, principalmente naqueles em que mais preciso.

Às queridas amigas especiais Ana P, Cris, Márcia e Rê, pela amizade e cumplicidade. Pelos momentos no laboratório, na sala 28, nas comilanças e nos cafezinhos, com muitas risadas e fofocas.

À minha família em Campinas, Abraão, Ale, Geraldo e Pilar, pela amizade, companhia, ajuda, atenção e risadas ao longo do doutorado.

Aos queridos amigos não-FEA Giba e Joelma, por todos os momentos compartilhados e por estarem sempre dispostos a ajudar e incentivar.

Aos amigos do DEA, Aninha, Fabi, Helena, Leila, Lorena e Nenis, pela amizade, companhia no café e nos barzinhos, ajuda e atenção ao longo deste trabalho.

A todos, que diretamente ou indiretamente, colaboraram para o desenvolvimento deste trabalho.



## RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo o estudo dos processos de hidrólise enzimática e secagem por *spray dryer* para obtenção de hidrolisado proteico de peito de frango em pó. Este foi realizado em três etapas. Na primeira fase, fez-se um estudo da cinética e a seleção da melhor condição de hidrólise enzimática de peito de frango, utilizando a enzima comercial Alcalase® 2.4L. Um delineamento composto central rotacional (DCCR), totalizando 17 ensaios, foi realizado com o intuito de avaliar o efeito das variáveis: temperatura (43 a 77°C), razão enzima:substrato (0,8 a 4,2% p/p) e pH (7,16 a 8,84) na cinética de hidrólise enzimática de peito de frango e nas respostas: grau de hidrólise (GH) e recuperação de proteína (RP). A hidrólise enzimática foi otimizada de modo a obter maiores valores de GH e RP, sendo que a condição escolhida foi: 52,5°C, 4,2% p/p e pH de 8,0, na qual o hidrolisado apresentou um GH de 31% e uma RP de 91%. Na condição otimizada do processo, foi realizada a caracterização do hidrolisado proteico em termos de composição química, perfil eletroforético e composição total de aminoácidos. Na segunda etapa do projeto, foi avaliado o efeito da concentração (0 a 30%, p/p) e do tipo de agente carreador (maltodextrina 10DE e goma arábica) nas características físico-químicas, de sorção de água e na temperatura de transição vítrea  $T_g$  do hidrolisado proteico de frango em pó. Os experimentos para obtenção do produto em pó foram conduzidos em um atomizador de bancada que operou com um fluxo de ar comprimido de 0,6 m<sup>3</sup>/h, vazão volumétrica do ar de secagem de 19 m<sup>3</sup>/h, temperatura do ar de 180°C e vazão mássica na alimentação de 0,2 kg/h. A adição de diferentes agentes carreadores e em diferentes concentrações resultou em produtos com características distintas quanto à umidade, densidade, tamanho de partícula e morfologia. A  $T_g$  do hidrolisado proteico em pó aumentou com a concentração de agente carreador, melhorando a estabilidade do produto. Na etapa final, a influência das condições operacionais do *spray dryer* sobre o desempenho do equipamento e sobre as propriedades físico-químicas e a atividade antioxidante do produto em pó foi avaliada através de um delineamento composto central rotacional. As variáveis independentes foram temperatura do ar de entrada (120 a 200°C) e vazão mássica da alimentação (0,1 a 0,38 kg/h). O desempenho operacional do *spray dryer* foi avaliado através do rendimento, temperatura do ar de saída, eficiência térmica do processo e produtividade, obtidos através de um balanço de massa e de energia no secador. As propriedades físico-químicas do produto em pó foram caracterizadas quanto à umidade, teor de proteína, diâmetro médio das partículas, densidade volumétrica e morfologia.

**Palavras-chave:** frango, hidrólise enzimática, *spray dryer*, atividade de água, transição vítrea.



## ABSTRACT

The present work had as aim to study the processes of enzymatic hydrolysis and spray drying to obtain a protein hydrolysate of chicken breast meat powder. This work was divided into three sections. In the first part, enzymatic kinetics and selection of the best condition of enzymatic hydrolysis, using the commercial enzyme Alcalase<sup>®</sup> 2.4L, were evaluated. A central composite rotatable design (CCRD) with three variables was used to estimate the influence of the independent variables: temperature (43 to 77°C), enzyme:substrate ratio (0.8 to 4.2% w/w) and pH (7.16 to 8.84) on the kinetics reaction and on the responses: degree of hydrolysis (DH) and protein recovery (PR). Using response surface methodology, the enzymatic hydrolysis was optimized to obtain the maximum DH and PR. The optimum conditions determined were the following: 52.5°C, 4.2% (w/w) enzyme:substrate ratio and a pH value of 8.0. Under these conditions a degree of hydrolysis of 31% and protein recovery of 91% were obtained. A characterization of the protein hydrolysate obtained using the optimized process conditions was carried out, evaluating the chemical composition, electrophoretic profile and amino acid composition. In the second part of this work, the effect of concentration (0 to 30% w/w) and type of carrier agent (maltodextrin 10DE and gum Arabic) on the physico-chemical properties, water sorption and glass transition temperature of spray dried chicken breast protein hydrolysate. The spray drying process was performed using a laboratory spray dryer. The equipment was operated with air compressed volumetric flow rate of 0.6 m<sup>3</sup>/h, air volumetric flow rate of 19 m<sup>3</sup>/h, inlet air temperature of 180°C and feed flow rate of 0.2 kg/h. The following properties: moisture content, bulk density, particle distribution and mean diameter; and the morphology, were affected by the addition of maltodextrin or gum Arabic. With respect to powder stability, the glass transition temperature increased with increasing carrier agent concentration. And the last part of the work, the influence of operational conditions of spray dryer on the equipment performance, physico-chemical properties and antioxidant activity of spray dried protein hydrolysate was evaluated by a central composite rotatable design. The independent variables were inlet air temperature (120 to 200°C) and feed flow rate (0.1 to 0.38 kg/h). The spray dryer performance was analyzed by process yield, outlet air temperature, thermal efficiency and dryer productivity, obtained by mass and heat transfer. The physico-chemical properties of powders were characterized in respect to moisture and protein content, particle distribution and mean diameter, bulk density and morphology.

**Keywords:** chicken, enzymatic hydrolysis, spray dryer, water activity, glass transition.



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 3.1:</b> Produção brasileira de carne de frango nos últimos anos (*previsão) (Fonte: ABEF, 2009).....	8
<b>Figura 3.2:</b> Esquema de um <i>spray dryer</i> . .....	18
<b>Figura 4.1:</b> Montagem experimental para hidrólise enzimática de carne de frango. ....	29
<b>Figura 4.2:</b> <i>Spray dryer</i> laboratorial, marca BÜCHI, modelo B-191, utilizado nos ensaios de secagem por atomização. ....	33
<b>Figura 4.3:</b> Representação da etapa de aquecimento e resfriamento do ar de secagem na carta psicrométrica, onde $T_{amb}$ é a temperatura do ambiente, $T_{ent}$ e $T_{sai}$ são as temperaturas do ar de entrada e de saída no secador e $Y_{ent}$ e $Y_{sai}$ são as umidades absoluta do ar de entrada e de saída. ....	36
<b>Figura 4.4:</b> Esquema do balanço de massa (para o componente água) em um <i>spray dryer</i> . .....	38
<b>Figura 5.1:</b> Cinética de hidrólise enzimática de carne de frango e ajuste da equação de cinética aos dados experimentais, onde os pontos representam os dados observados e a curva, o modelo ajustado: (a) Ensaio fatoriais; (b) axiais; (c) centrais. ....	52
<b>Figura 5.2:</b> Taxa de hidrólise enzimática de carne de frango: (a) Ensaio fatoriais; (b) axiais; (c) centrais. ....	54
<b>Figura 5.3:</b> Influência das variáveis independentes sobre a resposta $\ln(a)$ : (a) pH 8,0; (b) enzima:substrato de 2,5%; (c) temperatura de 60°C.....	59
<b>Figura 5.4:</b> Influência das variáveis independentes sobre a resposta $\ln(b)$ : (a) pH 8,0; (b) enzima:substrato de 2,5%; (c) temperatura de 60°C.....	60
<b>Figura 5.5:</b> Influência das variáveis independentes sobre a resposta grau de hidrólise: (a) pH 8,0; (b) enzima:substrato de 2,5%; (c) temperatura de 60°C .....	62
<b>Figura 5.6:</b> Influência das variáveis independentes sobre a resposta recuperação de proteína: (a) pH 8,0; (b) enzima:substrato de 2,5%; (c) temperatura de 60°C.....	63
<b>Figura 5.7:</b> Relação entre o grau de hidrólise do peito de frango e a recuperação de proteína. ....	65
<b>Figura 5.8:</b> Sobreposição das curvas de nível de grau de hidrólise $GH$ e recuperação de proteína $RP$ na hidrólise enzimática de carne de frango: (a) pH 8,0; (b) enzima:substrato de 2,5%; (c) temperatura de 60°C .....	67



<b>Figura 5.9:</b> Cinética de hidrólise enzimática do peito de frango nas condições otimizadas.....	68
<b>Figura 5.10:</b> Perfil eletroforético (SDS-PAGE) da carne de frango (colunas 2 e 4) e do hidrolisado proteico (colunas 5 e 6). As colunas 1 e 3 representam os marcadores de peso molecular da Bio-Rad e da Sigma Chemical, respectivamente. ....	72
<b>Figura 5.11:</b> Curvas de distribuição de tamanho de partículas de amostras formuladas com: (a) maltodextrina MD e (b) goma arábica GA. ....	76
<b>Figura 5.12:</b> Imagens microscópicas de hidrolisado proteico em pó sem adição de agente carreador (condição de secagem: 180°C e vazão de alimentação de 0,2 kg/h). Imagens com aumento de (a) 2000 vezes e (b) 5000 vezes.....	77
<b>Figura 5.13:</b> Imagens microscópicas de hidrolisado proteico em pó (condição de secagem: 180°C e vazão de alimentação de 0,2 kg/h), formulado com maltodextrina: (a) 10%; (b) 20%; (c) 30%. As figuras à esquerda possuem um aumento de 2000 e as figuras à direita, um aumento de 5000 vezes.....	79
<b>Figura 5.14:</b> Imagens microscópicas de hidrolisado proteico em pó (condição de secagem: 180°C e vazão de alimentação de 0,2 kg/h), formulado com goma arábica: (a) 10%; (b) 20%; (c) 30%. As figuras à esquerda possuem um aumento de 2000 e as figuras à direita, um aumento de 5000 vezes.....	80
<b>Figura 5.15:</b> Isotermas de sorção de umidade obtidas para o hidrolisado proteico com diferentes concentrações (0, 10, 20 e 30%) de: (a) maltodextrina e (b) goma arábica.....	85
<b>Figura 5.16:</b> Alterações físicas ocorridas para o hidrolisado proteico puro (0%) e formulado com diferentes concentrações de maltodextrina (MD) e goma arábica (GA) ....	88
<b>Figura 5.17:</b> Transição vítrea do hidrolisado proteico puro em pó, equilibrado em diferentes atividades de água. ....	90
<b>Figura 5.18:</b> Transição vítrea do hidrolisado proteico em pó formulado com 10% de maltodextrina, equilibrado em diferentes atividades de água.....	90
<b>Figura 5.19:</b> Transição vítrea do hidrolisado proteico em pó formulado com 20% de maltodextrina, equilibrado em diferentes atividades de água.....	91
<b>Figura 5.20:</b> Transição vítrea do hidrolisado proteico em pó formulado com 30% de maltodextrina, equilibrado em diferentes atividades de água.....	91



<b>Figura 5.21:</b> Transição vítrea do hidrolisado proteico em pó formulado com 10% de goma arábica, equilibrado em diferentes atividades de água. ....	92
<b>Figura 5.22:</b> Transição vítrea do hidrolisado proteico em pó formulado com 20% de goma arábica, equilibrado em diferentes atividades de água. ....	92
<b>Figura 5.23:</b> Transição vítrea do hidrolisado proteico em pó formulado com 30% de goma arábica, equilibrado em diferentes atividades de água. ....	93
<b>Figura 5.24:</b> Efeito da fração de sólidos na temperatura de transição vítrea do hidrolisado protéico formulado com: (a) maltodextrina e (b) goma arábica. ....	95
<b>Figura 5.25:</b> Variação da temperatura de transição vítrea e da umidade de equilíbrio com a atividade de água para o hidrolisado proteico puro em pó. ....	98
<b>Figura 5.26:</b> Variação da temperatura de transição vítrea e da umidade de equilíbrio com a atividade de água para o hidrolisado proteico em pó formulado com 10% de maltodextrina. ....	98
<b>Figura 5.27:</b> Variação da temperatura de transição vítrea e da umidade de equilíbrio com a atividade de água para o hidrolisado proteico em pó formulado com 20% de maltodextrina. ....	99
<b>Figura 5.28:</b> Variação da temperatura de transição vítrea e da umidade de equilíbrio com a atividade de água para o hidrolisado proteico em pó formulado com 30% de maltodextrina. ....	99
<b>Figura 5.29:</b> Variação da temperatura de transição vítrea e da umidade de equilíbrio com a atividade de água para o hidrolisado proteico em pó formulado com 10% de goma arábica. ....	100
<b>Figura 5.30:</b> Variação da temperatura de transição vítrea e da umidade de equilíbrio com a atividade de água para o hidrolisado proteico em pó formulado com 20% de goma arábica. ....	100
<b>Figura 5.31:</b> Variação da temperatura de transição vítrea e da umidade de equilíbrio com a atividade de água para o hidrolisado proteico em pó formulado com 30% de goma arábica. ....	101
<b>Figura 5.32:</b> Influência das variáveis independentes sobre a resposta temperatura do ar de saída. ....	107
<b>Figura 5.33:</b> Influência das variáveis independentes sobre a resposta rendimento de secagem. ....	108
<b>Figura 5.34:</b> Influência das variáveis independentes sobre a resposta eficiência térmica. ....	109



<b>Figura 5.35:</b> Influência das variáveis independentes sobre a resposta produtividade do secador. ....	110
<b>Figura 5.36:</b> Influência das variáveis independentes sobre a umidade. ....	113
<b>Figura 5.37:</b> Curvas de distribuição de tamanho de partículas de amostras obtidas em: (a) diferentes temperaturas do ar, com uma vazão de alimentação de 0,24kg/h; (b) diferentes vazões de alimentação, com uma temperatura do ar de 160°C. ....	114
<b>Figura 5.38:</b> Influência das variáveis independentes sobre a resposta diâmetro médio das partículas. ....	115
<b>Figura 5.39:</b> Influência das variáveis independentes sobre a resposta densidade volumétrica. ....	117
<b>Figura 5.40:</b> Influência das variáveis independentes sobre a resposta atividade antioxidante. ....	120
<b>Figura 5.41:</b> Imagens microscópicas (aumento de ×5000) dos hidrolisados proteicos em pó obtidos em diferentes temperaturas, com vazão da alimentação de 0,24kg/h e 10% maltodextrina: (a) 120 °C; (b) 200°C. ....	120
<b>Figura 5.42:</b> Imagens microscópicas (aumento de ×5000) dos hidrolisados proteicos em pó obtidos em diferentes vazões de alimentação, com temperatura de 160°C e 10% de maltodextrina: (a) 0,10kg/h, (b) 0,38kg/h. ....	121



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 3.1:</b> Produção mundial de carne de frango em 2006 (em milhões de toneladas). ....	8
<b>Tabela 3.2:</b> Composição centesimal do peito de frango (g/100g carne). ....	9
<b>Tabela 3.3:</b> Composição de aminoácidos essenciais presentes no peito de frango (g/100 g proteína).....	9
<b>Tabela 4.1:</b> Ensaios do planejamento experimental, variando os parâmetros temperatura (T), razão enzima:substrato (E/S) e pH nos experimentos. ....	30
<b>Tabela 4.2:</b> Formulação do hidrolisado proteico de carne com maltodextrina (MD) ou goma arábica (GA). ....	34
<b>Tabela 4.3:</b> Ensaios do planejamento experimental, variando os parâmetros temperatura do ar de entrada e vazão mássica da alimentação.....	35
<b>Tabela 4.4:</b> Dados de umidade relativa (UR) e temperatura do ambiente ( $T_{amb}$ ) para cada ensaio de secagem realizado. ....	37
<b>Tabela 4.5:</b> Dados da velocidade média do ar na saída do secador ( $\bar{v}_{ar}$ ) e da vazão mássica do ar ( $\dot{m}_{ar\ sec_o}$ ) calculada para cada ensaio de secagem realizado.....	39
<b>Tabela 4.6:</b> Atividade de água relacionada às soluções salinas saturadas a 25°C.....	42
<b>Tabela 5.1:</b> Caracterização físico-química do peito de frango desossado e sem pele. ....	50
<b>Tabela 5.2:</b> Parâmetros de cinética obtidos dos ensaios de hidrólise enzimática de carne de frango. ....	55
<b>Tabela 5.3:</b> Resultados experimentais dos parâmetros cinéticos $\ln(a)$ e $\ln(b)$ , bem como do grau de hidrólise e a recuperação de proteína, de acordo com o planejamento experimental. ....	56
<b>Tabela 5.4:</b> Composição centesimal do hidrolisado proteico e resíduo. ....	69
<b>Tabela 5.5:</b> Composição de aminoácidos totais (g/100g de proteína) da carne de frango e do hidrolisado proteico obtido nas condições otimizadas. ....	70
<b>Tabela 5.6:</b> Umidade ( $X_{bu}$ ), diâmetro médio das partículas ( $D_{4,3}$ ) e densidade volumétrica ( $\rho_b$ ) do hidrolisado proteico puro e formulado com maltodextrina ou goma arábica.....	73
<b>Tabela 5.7:</b> Umidade de equilíbrio do hidrolisado proteico em pó puro e com maltodextrina (10, 20 e 30%), armazenado sob diferentes condições de atividade de água a 25°C.....	81



<b>Tabela 5.8:</b> Umidade de equilíbrio do hidrolisado proteico em pó formulado com goma arábica (10, 20 e 30%), armazenado sob diferentes condições de atividade de água a 25°C.	82
<b>Tabela 5.9:</b> Parâmetros de ajuste da isoterma do hidrolisado proteico em pó sem e com adição de maltodextrina (10, 20 e 30%).	83
<b>Tabela 5.10:</b> Parâmetros de ajuste da isoterma do hidrolisado proteico em pó com adição de goma arábica (10, 20 e 30%).	84
<b>Tabela 5.11:</b> Parâmetros de ajuste da equação de Gordon-Taylor, relacionando $T_g$ e conteúdo de sólidos, para o hidrolisado proteico puro (0%) e para os formulados com maltodextrina (MD) ou goma arábica (GA).	93
<b>Tabela 5.12:</b> Valores críticos de atividade de água ( $a_w_c$ ) e de conteúdo de umidade ( $X_{w,c}$ ) para o hidrolisado proteico puro (0%) e para os formulados com maltodextrina (MD) ou goma arábica (GA), a 25°C.	101
<b>Tabela 5.13:</b> Dados de umidade absoluta do ar de entrada ( $Y_{ent}$ ), do ar de saída do secador ( $Y_{sai}$ ) e de saturação ( $Y_{sat}$ ), temperatura de bulbo úmido ( $T_{bu}$ ) e a vazão mássica de água evaporada ( $\dot{m}_{ev}$ ) para cada ensaio.	103
<b>Tabela 5.14:</b> Parcelas de calor durante a secagem do hidrolisado proteico em <i>spray dryer</i> .	104
<b>Tabela 5.15:</b> Resultados experimentais de temperatura do ar de saída ( $T_{sai}$ ), rendimento de secagem (RS), eficiência térmica ( $\eta$ ) e produtividade do secador (PS), de acordo com o planejamento experimental.	106
<b>Tabela 5.16:</b> Resultados experimentais de atividade antioxidante (AA), umidade ( $X_{bu}$ ), conteúdo de proteína (P), diâmetro médio das partículas ( $D_{4,3}$ ) e densidade volumétrica ( $\rho_b$ ) de acordo com o planejamento experimental.	112
<b>Tabela 5.17:</b> Atividade antioxidante (AA), teor de proteínas (P) e recuperação de proteínas (RP) dos extratos etanólicos obtidos através de soluções de etanol a diferentes concentrações.	118
<b>Tabela 9.1:</b> Efeito estimado, erro padrão, coeficiente t e grau de significância estatística, para as respostas $\ln(a)$ e $\ln(b)$ .	139
<b>Tabela 9.2:</b> Efeito estimado, erro padrão, coeficiente t e grau de significância estatística, para as respostas $\ln(a)$ e $\ln(b)$ após a eliminação dos fatores não significativos a $p < 0,10$ .	140
<b>Tabela 9.3:</b> Efeito estimado, erro padrão, coeficiente t e grau de significância estatística, para as respostas grau de hidrólise e recuperação de proteína.	141



<b>Tabela 9.4:</b> Efeito estimado, erro padrão, coeficiente t e grau de significância estatística, para as respostas rendimento de secagem, eficiência térmica e produtividade do secador. ....	142
<b>Tabela 9.5:</b> Efeito estimado, erro padrão, coeficiente t e grau de significância estatística, para as respostas atividade antioxidante, umidade, diâmetro médio das partículas e densidade. ....	143
<b>Tabela 10.1:</b> Análise de variância do modelo ajustado para as respostas $\ln(a)$ e $\ln(b)$ . ....	144
<b>Tabela 10.2:</b> Análise de variância do modelo ajustado para as respostas grau de hidrólise e recuperação de proteína. ....	145
<b>Tabela 10.3:</b> Análise de variância do modelo ajustado para as respostas temperatura do ar de saída, rendimento de secagem, eficiência térmica e produtividade do secador.....	146
<b>Tabela 10.4:</b> Análise de variância do modelo ajustado para as respostas atividade antioxidante, umidade do pó, diâmetro médio das partículas e densidade volumétrica.....	147



## NOMENCLATURA

a	Parâmetro da cinética de hidrólise enzimática ( $\text{min}^{-1}$ )
$a_w$	Atividade de água
A	Constante dos modelos de Chung e Pfoest e Halsey (Equações 3.13 e 3.14)
AA	Atividade antioxidante (%)
AAE	Escore total de aminoácidos essenciais
Ab	Absorbância
AS	Escore de aminoácidos essenciais
b	Parâmetro da cinética de hidrólise enzimática
B	Constante dos modelos de Chung e Pfoest e Halsey (Equações 3.13 e 3.14)
$C_{\text{BET}}$	Constante do modelo de BET (Equação 3.10)
$C_{\text{GAB}}$	Constante do modelo de GAB (Equação 3.12)
$C_p$	Calor específico ( $\text{kcal/kg } ^\circ\text{C}$ )
$D_{4,3}$	Diâmetro de De Brouckere ( $\mu\text{m}$ )
e	Concentração total de enzima (AU/l)
E	Desvio relativo médio (%)
E	Concentração de enzima (AU/l)
E/S	Relação enzima:substrato (%)
ES	Concentração do complexo enzima-substrato (AU/l)
GH	Grau de hidrólise (%)
h	Número de ligações peptídicas (moles equiv/kg)
$h_{\text{total}}$	Número total de ligações peptídicas antes da reação (moles equiv/kg)
k	Constante do modelo de Gordon-Taylor (Equação 4.18)
$k'$	Constante do modelo de Henderson (Equação 3.15)
$k_d$	Constante da cinética de inativação da enzima ( $\text{g/AU.min}$ )
$k_h$	Constante da cinética de hidrólise enzimática ( $\text{g/AU.min}$ )
$K_{\text{GAB}}$	Constante do modelo de GAB (Equação 3.12)
m	Massa (g)
$\dot{m}$	Vazão mássica ( $\text{kg/h}$ )
MP	Massa de proteína (g)



n	Número de camadas moleculares adsorvidas
n'	Constante do modelo de Henderson (Equação 3.15)
N	Número de ensaios experimentais
N <sub>b</sub>	Normalidade da base
P	Conteúdo de proteína (%)
P <sub>w</sub>	Pressão parcial da água no alimento
P <sub>v</sub>	Pressão de vapor de água
PER	Eficiência proteica
PS	Produtividade do secador (kcal/kg água evaporada)
Q	Taxa de calor (kcal/h)
r	Taxa de reação enzimática (g/l.min)
R	Constante universal dos gases (J/mol.K)
RP	Recuperação de proteína (%)
RS	Rendimento de secagem (%)
S <sub>0</sub>	Concentração inicial de substrato (g/l)
S	Área transversal (m <sup>2</sup> )
t	Tempo (min)
T	Temperatura (°C ou K)
T <sub>fusão</sub>	Temperatura de fusão (°C)
T <sub>g</sub>	Temperatura de transição vítrea (°C)
UR	Umidade relativa (%)
$\bar{v}_{ar}$	Velocidade média do ar (m/s)
v <sub>ar, máx</sub>	Velocidade máxima do ar (m/s)
V <sub>NaOH</sub>	Volume de base consumida (ml)
V <sub>p</sub>	Valores preditos
V <sub>0</sub>	Valores observados
X	Fração mássica (kg/kg sólidos)
X <sub>bu</sub>	Umidade em base úmida (%)
X <sub>e</sub>	Umidade de equilíbrio (g água/g sólidos)
X <sub>m</sub>	Umidade na monocamada molecular (g água/g sólidos)
Y	Umidade absoluta do ar (kg água/kg ar seco)



## Letras gregas

$\alpha$	Grau de dissociação dos grupos $\alpha$ -amino
$\eta$	Eficiência térmica (%)
$\rho_{\text{ar}}$	Densidade do ar ( $\text{kg/m}^3$ )
$\rho_{\text{b}}$	Densidade volumétrica ( <i>bulk density</i> ) ( $\text{kg/m}^3$ )
$\lambda_{\text{vap}}$	Entalpia de vaporização ( $\text{kcal/kg}$ )

## Subscritos

amb	Ambiente
alim	Alimentação do secador
ar	Ar de secagem
bu	Bulbo úmido
c	Crítico
ent	Entrada do secador
ev	Água evaporada
p	Precipitado
pó	Produto em pó
prot	Proteína
s	Sobrenadante
sai	Saída do secador
sat	Saturação
sól	Sólidos
w	Água



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>6</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>7</b>
<b>3.1</b>	<b>MATÉRIA-PRIMA.....</b>	<b>7</b>
3.1.1	DADOS DE PRODUÇÃO .....	7
3.1.2	COMPOSIÇÃO CENTESIMAL .....	8
<b>3.2</b>	<b>HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE PROTEÍNA .....</b>	<b>10</b>
3.2.1	ASPECTOS GERAIS .....	10
3.2.2	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE HIDROLISADOS PROTEICOS.....	12
3.2.3	CINÉTICA DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE PROTEÍNAS .....	14
<b>3.3</b>	<b>SECAGEM.....</b>	<b>16</b>
3.3.1	ASPECTOS GERAIS .....	16
3.3.2	SECAGEM POR ATOMIZAÇÃO (“ <i>SPRAY DRYING</i> ”) .....	17
<b>3.4</b>	<b>ISOTERMAS DE SORÇÃO .....</b>	<b>19</b>
<b>3.5</b>	<b>TRANSIÇÃO VÍTREA EM ALIMENTOS .....</b>	<b>21</b>
<b>3.6</b>	<b>PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL .....</b>	<b>24</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>26</b>
<b>4.1</b>	<b>MATERIAL .....</b>	<b>26</b>
4.1.1	MATÉRIA-PRIMA .....	26
4.1.2	ENZIMA .....	26
4.1.3	AGENTES CARREADORES.....	26
<b>4.2</b>	<b>MÉTODOS .....</b>	<b>26</b>
4.2.1	HIDRÓLISE ENZIMÁTICA .....	27
4.2.1.1	Planejamento Experimental .....	29
4.2.1.2	Grau de Hidrólise.....	30
4.2.1.3	Recuperação de Proteína .....	32
4.2.2	SECAGEM POR <i>SPRAY DRYER</i> .....	32
4.2.2.1	Obtenção de Hidrolisado Proteico em Pó com Diferentes Concentrações de Agente Carreador .....	33
4.2.2.2	Planejamento Experimental.....	34
4.2.3	DESEMPENHO DO SECADOR .....	35



4.2.3.1	Propriedades Psicrométicas .....	35
4.2.3.2	Balanço de Massa (Componente Água) .....	37
4.2.3.3	Balanço de Energia .....	39
4.2.3.4	Rendimento de Secagem .....	40
4.2.3.5	Eficiência Térmica .....	41
4.2.3.6	Produtividade do Secador .....	41
4.2.4	ISOTERMAS DE SORÇÃO .....	41
4.2.5	TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO VÍTREA .....	44
4.2.6	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS .....	45
4.2.6.1	Composição Centesimal .....	45
4.2.6.2	Aminoácidos Totais .....	45
4.2.6.3	Eletroforese em Gel de Poliacrilamida .....	46
4.2.6.4	Atividade Antioxidante – Método da Captura do Radical Livre DPPH..	47
4.2.6.5	Distribuição de Tamanho de Partículas .....	48
4.2.6.6	Densidade Volumétrica ( <i>Bulk Density</i> ) .....	48
4.2.6.7	Microscopia Eletrônica de Varredura .....	48
4.2.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	49
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>50</b>
<b>5.1</b>	<b>CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA .....</b>	<b>50</b>
<b>5.2</b>	<b>HIDRÓLISE ENZIMÁTICA .....</b>	<b>50</b>
5.2.1	CINÉTICA DA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA E MODELAGEM MATEMÁTICA.....	50
5.2.2	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL .....	56
5.2.2.1	Parâmetros Cinéticos <i>a</i> e <i>b</i> .....	58
5.2.2.2	Grau de Hidrólise e Recuperação de Proteína .....	61
5.2.3	OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DO MODELO .....	66
5.2.4	CARACTERIZAÇÃO DO HIDROLISADO PROTEICO.....	68
5.2.4.1	Composição Química .....	68
5.2.4.2	Aminoácidos Totais .....	69
5.2.4.3	Perfil Eletroforético .....	72
<b>5.3</b>	<b>SECAGEM EM <i>SPRAY DRYER</i> DO HIDROLISADO PROTEICO.....</b>	<b>73</b>
5.3.1	AVALIAÇÃO DA ADIÇÃO DE AGENTES CARREADORES .....	73
5.3.1.1	Propriedades Físico-químicas.....	73



5.3.1.2	Isotermas de Sorção.....	81
5.3.1.3	Temperatura de Transição Vítreas .....	89
5.3.1.4	Condições Críticas de Estocagem.....	96
5.3.2	BALANÇO DE MASSA.....	103
5.3.3	BALANÇO DE ENERGIA .....	104
5.3.4	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL .....	105
5.3.4.1	Desempenho do Secador .....	105
5.3.4.2	Atividade Antioxidante e Propriedades Físico-químicas .....	111
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>122</b>
<b>7</b>	<b>SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....</b>	<b>124</b>
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>125</b>
<b>9</b>	<b>APÊNDICE A .....</b>	<b>139</b>
<b>10</b>	<b>APÊNDICE B .....</b>	<b>144</b>
<b>11</b>	<b>APÊNDICE C .....</b>	<b>148</b>



## **1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA**

A avicultura brasileira vem crescendo fortemente e sua produção está centralizada principalmente na região Sul do país, sendo o estado do Paraná o maior produtor. Este aumento na produção permitiu que o consumo per capita se expandisse significativamente, estimulado pelas novas tecnologias industriais de produção, comercialização e distribuição de carne de aves, além de preços mais acessíveis e preferência pela carne branca, considerada mais saudável, por ser rica em proteína e apresentar menor teor de colesterol e gordura (ABEF, 2009).

A escolha da carne de peito de frango neste projeto está relacionada à sua composição homogênea, ao alto conteúdo de proteína e ao seu baixo teor de lipídios. Esse corte do frango possui teor muito baixo de gordura (3 g/100 g carne) e colesterol (59 mg/100 g carne) quando comparado com outros cortes da ave, tais como a asa (18 g gordura/100 g carne e 113 mg colesterol/100 g carne) e coxa (5 g gordura/100 g carne e 91 mg colesterol/100 g carne). Com relação ao teor de proteína, o peito de frango apresenta 22 g/100 g carne, enquanto que a asa e a coxa apresentam 18 g/100 g carne (TACO, 2004). Além disso, as proteínas de origem animal apresentam um perfeito equilíbrio de aminoácidos essenciais, que são aqueles que o corpo humano não sintetiza e que, por isso, devem estar presentes nos alimentos ingeridos. Outros produtos de origem animal, como os ovos ou leite e derivados, também são fontes de proteínas completas. As proteínas encontradas nos alimentos de origem vegetal são deficientes em um ou mais aminoácidos essenciais e, portanto, devem ser consumidas em combinações de cereais (arroz, trigo, milho) com leguminosas (feijão, soja, ervilhas) (FELÍCIO, 2006; TACO, 2004).

A produção mundial de carne de frango tem se expandido cerca de 5,6% ao ano, desde meados dos anos 80. Grande parte deste dinamismo pode ser explicada pelos avanços tecnológicos no setor. O progresso técnico alcançado na produção avícola – nas áreas de genética, nutrição e sanidade – foi impulsionado pelo crescimento da demanda associada à mudança no padrão de consumo, ou seja, ao processo de substituição da carne vermelha pela branca. Em 2006, observou-se uma queda na evolução da exportação brasileira de carne de frango, devido à diminuição na demanda doméstica de alguns mercados importadores em função do temor da gripe aviária, e também por conta de um previsto

declínio nas vendas à Rússia, em decorrência da forte concorrência das exportações dos EUA (AVISITE, 2006). Entretanto, observou-se uma recuperação dessa queda em 2007 e em 2008, em que as exportações brasileiras atingiram um novo recorde, com um volume de 3,3 e 3,6 milhões de toneladas, respectivamente, superando os 2,8 milhões de toneladas de 2005 (ABEF, 2009).

De acordo com Barbut (2002), devido à baixa rentabilidade dos produtos *in natura*, observa-se uma estratégia de diferenciação de produtos avícolas pelas grandes empresas do setor. Estas têm dado ênfase aos produtos de maior valor agregado, buscando, desta forma, proteção contra as oscilações no mercado de *commodities* e maior rentabilidade. A obtenção de hidrolisados proteicos de carne de frango pode representar uma alternativa para o setor.

A hidrólise enzimática foi muito estudada para diversos tipos de fontes proteicas, tais como carpa, vísceras de carneiro, carpa-capim, molusco, concentrado proteico de peixe, salmão, isolado proteico de soja e caseína bovina (BHASKAR et al., 2008; BHASKAR et al., 2007; WASSWA et al., 2007; XIA; WANG; XU, 2007; NILSANG et al., 2005; SATHIVEL et al., 2005; MARTINS, 2005; ROMAN; SGARBIERI, 2005). Entretanto, para a carne de frango, esse processo foi pouco descrito na literatura. Contudo, representa uma etapa importante para a indústria de rações, que realiza a hidrólise de miúdos, de descarte ou carne mecanicamente separada, de acordo com protocolos vindos das matrizes internacionais da empresa, com poucos dados publicados sobre os rendimentos e a cinética da etapa de hidrólise (comunicação verbal<sup>1</sup>).

A hidrólise proteica consiste na clivagem química ou enzimática de moléculas de proteínas em pequenos peptídeos de tamanhos diversos e, eventualmente, em aminoácidos. Os lipídeos e outros materiais indesejáveis são separados e removidos, resultando na formação de um material proteico uniforme e com baixo teor de gordura. No processo, devido à liberação de aminoácidos, o aroma e o sabor da carne tornam-se mais acentuados.

O controle das condições de hidrólise enzimática e a escolha adequada da enzima permitem a obtenção de produtos com características desejadas, a uma dada aplicação na

---

<sup>1</sup> Informação fornecida pela Engenheira de alimentos Patrícia Machado, da empresa AFB International, Campinas, SP. Comunicação verbal em março de 2006.

formulação de alimentos. De acordo com Adler-Nissen (1986), as variáveis mais importantes em uma reação enzimática são: concentração (relação enzima:substrato) e especificidade da enzima, temperatura e pH da reação, e a natureza do substrato. O conhecimento desses fatores é importante, uma vez que o controle dos parâmetros da hidrólise enzimática resulta na otimização do processo em termos de rendimento, tempo e, conseqüentemente, custos.

Em geral, os hidrolisados proteicos de carne são utilizados tanto para modificar propriedades funcionais de alimentos, como fonte de pequenos peptídeos e aminoácidos. Podem ser incorporados a uma série de produtos, como fórmulas balanceadas para atletas, regimes de emagrecimento e em rações (FURLAN; OETTERER, 2002). Na alimentação humana, servem como suplemento nutricional, sendo adicionados em biscoitos e produtos tipo hambúrguer, *nuggets*, entre outros. Também podem ser utilizados em dietas para pessoas com problemas de digestão ou de má-absorção de proteínas, graças à sua elevada digestibilidade e disponibilidade dos aminoácidos essenciais (SGARBIERI, 1996). De acordo com Bhaskar et al. (2007), as preparações ricas em pequenos peptídeos, especialmente di- e tripeptídeos, provenientes da hidrólise parcial de proteínas, possuem maior valor nutricional e uma absorção gastrointestinal mais eficiente quando comparado com a proteína intacta e aminoácidos livres.

Desta forma, a disponibilidade de produtos nutricionalmente equilibrados, utilizando hidrolisados proteicos, pode fornecer importante aporte proteico em dietas alimentares.

Além disso, numerosos estudos têm evidenciado que hidrolisados proteicos apresentam atividade antioxidante. Os radicais livres são responsáveis pela oxidação de lipídeos em alimentos, acarretando a deterioração do sabor, descoloração, destruição de nutrientes e formação de compostos tóxicos, comprometendo a qualidade do produto (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995). Assim, os hidrolisados proteicos podem ser adicionados em produtos alimentícios, com a intenção de aumentar sua vida de prateleira, no que se refere à rancidez oxidativa.

Hidrolisados proteicos, por serem uma fonte rica de peptídeos e possuírem elevada atividade de água, são altamente susceptíveis à deterioração microbiana. Assim, há necessidade de processá-los, visando aumentar sua vida de prateleira. Dentre os processos

disponíveis, o produto obtido pela secagem apresenta-se como de maior interesse, devido à facilidade de manipulação, transporte, armazenamento e consumo. A conservação do alimento pelo processo de secagem consiste na redução do teor de água até um determinado nível, no qual a concentração de açúcares, ácidos, sais e outros componentes seja suficientemente elevada, de modo a reduzir a atividade de água, impedindo o crescimento de microrganismos e de reações físico-químicas responsáveis pela deterioração dos alimentos.

Um tipo de secagem muito utilizado para a transformação de um produto no estado fluido para o estado sólido em forma de pó é a secagem por atomização ou *spray drying*. A secagem por atomização é um método utilizado há muitos anos nas indústrias química, farmacêutica e de alimentos, tendo como vantagens o seu baixo custo operacional e o curto tempo de residência do material na câmara de secagem, reduzindo as possibilidades de dano térmico ao produto. O projeto do processo de secagem por atomização inclui a determinação das condições operacionais, visando aumentar a recuperação do produto, bem como definir suas propriedades.

Ao final do processo de secagem, é importante conhecer as propriedades do pó resultante, de forma que seja possível avaliar a influência dos parâmetros de processo sobre as características do produto final. De acordo com Barbosa-Cánovas e Juliano (2005), o conhecimento das propriedades do pó resultante é um importante fator a ser considerado para que haja bom rendimento no processo de secagem por atomização; redução nos seus custos; e obtenção de um produto de qualidade.

A estabilidade de alimentos em pó também é um parâmetro importante a ser avaliado e pode ser feita através da atividade de água ( $a_w$ ) e temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ). A principal consequência da transição vítrea é um aumento da mobilidade molecular e do volume livre em temperaturas acima da  $T_g$ , o que caracteriza o estado borrachento, podendo resultar em deteriorações físicas e físico-químicas (ROOS; KAREL, 1991). As alterações estruturais que ocorrem em alimentos desidratados com características amorfas, em temperaturas acima da  $T_g$ , são a aglomeração, adesividade, colapso e cristalização. Assim, a transição vítrea possui importância fundamental devido ao fato de estar intimamente relacionada com a preservação de fatores de qualidade destes produtos. Esse conceito pode ser utilizado para interpretar transformações que ocorrem durante o

processamento e estocagem de produtos alimentícios e de materiais biológicos de baixa umidade (ROOS, 1993).

Por possuírem alto teor de peptídeos de baixo peso molecular, os hidrolisados proteicos apresentam baixos valores de  $T_g$ . Uma vez que a  $T_g$  aumenta com o peso molecular, a adição de agentes carreadores, tais como maltodextrinas e goma arábica, na solução a ser desidratada é uma alternativa para melhorar as características de desidratação, diminuir a adesividade do produto em pó e melhorar a estabilidade do produto em condições ambientais adversas (ROOS; KAREL, 1991).

Isotermas de sorção são curvas que mostram a relação entre o teor de água presente em um material e a sua disponibilidade. Dessa forma, são ferramentas importantes na análise e desenvolvimento de vários processos alimentares, tais como preservação, secagem, embalagem e mistura. As isotermas de sorção são utilizadas para prever as mudanças na estabilidade do alimento e para selecionar o material de embalagem, assim como os ingredientes apropriados para mistura.

A estimativa da estabilidade de alimentos em termos de atividade de água e transição vítrea requer o conhecimento do conteúdo de água e dados de sorção e plasticização. Alimentos com baixa umidade e  $T_g$  acima da temperatura de estocagem podem ser considerados estáveis. No entanto, um pequeno aumento na umidade pode refletir em um decréscimo significativo da  $T_g$  (ROOS, 1993). Dessa forma, a curva de sorção, analisada conjuntamente com os dados de  $T_g$ , fornece valores críticos de atividade de água e de conteúdo de água para temperatura ambiente. Essa relação é um importante critério no estabelecimento das condições de estocagem e da embalagem dos produtos.

Desta forma, torna-se interessante estudar os processos de hidrólise enzimática e secagem por *spray dryer* para a obtenção de hidrolisado proteico de peito de frango em pó, bem como avaliar a estabilidade do produto em pó quando armazenado em ambientes com diferentes umidades relativas.

## 2 OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo o estudo de um processo de obtenção de hidrolisado proteico de peito de frango em pó, através da hidrólise enzimática e secagem por atomização. Os objetivos específicos do trabalho foram:

- Verificar o efeito das condições de processo (temperatura, pH e razão enzima:substrato) na cinética de hidrólise enzimática de carne de frango, utilizando a enzima Alcalase®;
- Avaliar a influência da temperatura, razão enzima:substrato e pH sobre o grau de hidrólise e recuperação de proteína, através de um delineamento composto central rotacional (DCCR);
- Otimizar a hidrólise enzimática de peito de frango através da metodologia de superfície de resposta, de modo a obter maiores valores de grau de hidrólise e recuperação de proteína;
- Avaliar a influência do tipo e da concentração de dois agentes carreadores (maltodextrina 10DE e goma arábica) na estabilidade do hidrolisado proteico em pó, com base na temperatura de transição vítrea e isothermas de sorção;
- Verificar a influência das variáveis operacionais (temperatura do ar de secagem e vazão mássica da alimentação) sobre: a atividade antioxidante e propriedades físico-químicas do pó (conteúdo de proteína e umidade, densidade volumétrica, diâmetro médio e morfologia das partículas) e sobre o desempenho do processo (rendimento, temperatura do ar de saída, eficiência térmica do processo e produtividade), através de um delineamento composto central rotacional (DCCR).

### **3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1 MATÉRIA-PRIMA**

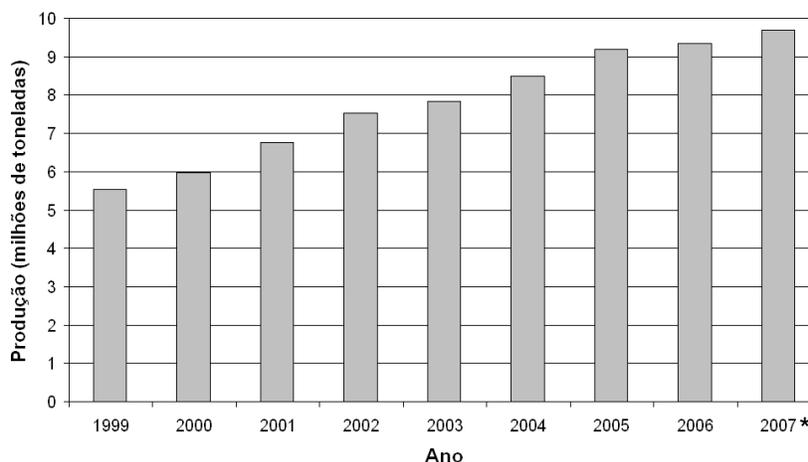
##### **3.1.1 Dados de Produção**

De acordo com USDA (2008), o comércio mundial de carnes vermelhas e de frango no ano de 2007 continuou intenso e em crescimento, confirmando a recuperação das transações comerciais prejudicadas com eventos como os da vaca louca na América do Norte, da aftosa em bovinos no Brasil e da gripe aviária na Ásia. A perspectiva de crescimento da produção mundial é maior para os suínos (3,6%), seguindo-se pelos bovinos (2,3%) e frangos (1,7%).

Dados da FAO (2008) indicam que a produção brasileira de carnes em 2006 alcançou um volume total de 19,6 milhões de toneladas, com predominância da carne de frango, com 43,3% do total, seguida da carne bovina, com quase 40%. Já a carne suína e a de peru responderam por 16% e 1,1% da produção, respectivamente.

Em 2008, as exportações brasileiras de carne de frango alcançaram um novo recorde, com um volume de 3,6 milhões de toneladas, superando não só os 2,7 milhões de toneladas de 2006 (quando as vendas externas de carne de frango recuaram 4,7% devido ao temor da gripe aviária), mas também os 2,8 milhões de toneladas de 2005, volume que até então permanecia como recorde do setor (ABEF, 2009)

A produção interna de carne de frango concentra-se principalmente nos estados do Paraná (22,7%), Santa Catarina (17,6%) e Rio Grande do Sul (15,0%). De acordo com a Figura 3.1, observa-se um aumento contínuo da produção brasileira de frango nos últimos anos (ABEF, 2009).



**Figura 3.1:** Produção brasileira de carne de frango nos últimos anos (\*previsão) (Fonte: ABEF, 2009).

Em 2006, a produção mundial de carne de frango foi de aproximadamente 60 milhões de toneladas. De acordo com a Tabela 3.1, os maiores produtores foram os Estados Unidos, China e Brasil, que concentraram mais da metade da produção mundial (ABEF, 2009).

**Tabela 3.1:** Produção mundial de carne de frango em 2006 (em milhões de toneladas).

País / Bloco econômico	Produção (em milhões de toneladas)
Estado Unidos	16,16
China	10,35
Brasil	9,34
União Europeia	7,42
México	2,61
Mundo (total)	60,09

(Fonte: ABEF, 2009)

### 3.1.2 Composição Centesimal

A composição centesimal de peito de frango, sem pele e osso, encontra-se na Tabela 3.2. Esse corte do frango possui teor muito baixo de gordura (3 g/100 g carne) e colesterol (59 mg/100 g carne) quando comparado com outros cortes da ave, tais como a asa (18

g/100 g carne e 113 mg/100 g carne, respectivamente) e coxa (5 g/100 g carne e 91 mg/100 g carne, respectivamente). Com relação ao teor de proteína, o peito de frango apresenta um conteúdo maior em relação a esses cortes (22 g/100 g carne) (TACO, 2004). Além disso, apresenta um bom equilíbrio de aminoácidos essenciais (Tabela 3.3), onde se observam elevados teores em relação aos valores recomendados pela FAO/WHO (1991).

**Tabela 3.2:** Composição centesimal do peito de frango (g/100g carne).

Componente	Torres et al. (2000)	TACO (2004)
Umidade	73,8	75
Proteína	20,80	22
Lipídeos	4,77	3
Carboidrato	0,00	0
Fibra alimentar	0,00	0
Cinzas	1,21	1

**Tabela 3.3:** Composição de aminoácidos essenciais presentes no peito de frango (g/100 g proteína).

Aminoácido essencial	Negrão et al. (2005)	FAO/WHO (1991)*
Histidina	3,1	1,9
Isoleucina	4,5	2,8
Leucina	8,6	6,6
Lisina	8,9	5,8
Metionina + cistina	3,7	2,5
Fenilalanina + tirosina	7,3	6,3
Treonina	4,9	3,4
Triptofano	Não determinado	1,1
Valina	4,8	3,5

\*Padrão de referência sugerido pela FAO/WHO (1991) (aminoácidos indispensáveis para crianças de 2 a 5 anos de idade).

## **3.2 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE PROTEÍNA**

### **3.2.1 Aspectos Gerais**

O processo de hidrólise proteica consiste na clivagem química ou enzimática de moléculas de proteínas em pequenos peptídeos de tamanhos diversos e, eventualmente, em aminoácidos (ADLER-NISSEN, 1986).

A hidrólise química é realizada pela quebra de ligações peptídicas com ácidos ou bases. Entretanto, esse método apresenta algumas limitações, como: destruição de alguns aminoácidos, comprometendo o valor nutricional da proteína, e dificuldade de controle de processo, gerando quase sempre produtos com composição química e propriedades funcionais variáveis (SGARBIERI, 1996).

Na hidrólise enzimática, enzimas proteolíticas são empregadas para hidrolisar a proteína do alimento, resultando na formação de duas fases: uma insolúvel, geralmente utilizada em ração animal; e outra solúvel, rica em proteína hidrolisada e que pode ser convertida em ingrediente a ser incorporado em alimentos processados. Essa metodologia possui distintas vantagens sobre a hidrólise química, tais como (DINIZ; MARTIN, 1999): (1) especificidade de ação de enzima e controle cuidadoso das condições de processo, obtendo produtos com propriedades funcionais desejadas; (2) digestão sob condições moderadas, evitando pH e temperatura extremos que poderiam comprometer a qualidade nutricional do hidrolisado; (3) taxa de hidrólise controlada através da inativação da enzima por aquecimento.

Embora a hidrólise enzimática seja preferida em relação à clivagem química, ela possui algumas inconveniências, tais como: o elevado custo devido à utilização de uma grande quantidade de enzimas comerciais, que não são reutilizáveis; algumas dificuldades ocasionais no controle da extensão da reação (especialmente em misturas de proteases), que podem resultar na formação de produtos heterogêneos, consistindo de frações com diferentes pesos moleculares; baixa recuperação de proteína (dependendo da extensão da hidrólise) e a necessidade de realizar a inativação da enzima por abaixamento ou elevação do pH ou por tratamento térmico, encarecendo o processo e afetando alguma propriedade funcional do produto (KRISTINSSON; RASCO, 2000a).

Uma desvantagem da hidrólise proteica é o aparecimento do sabor amargo, resultado da formação de peptídeos que contêm um ou mais aminoácidos hidrofóbicos. Em sua forma intacta, ou seja, na forma de proteína globular, as cadeias hidrofóbicas encontram-se escondidas no interior da molécula, não interagindo com células receptoras do sabor amargo. Quando a proteína é degradada pela ação da protease, os peptídeos contendo os aminoácidos hidrofóbicos ficam expostos e, assim, são capazes de interagir com os receptores, resultando na detecção do sabor amargo (ADLER-NISSEN, 1986). Muitas técnicas foram sugeridas para reduzir e mascarar o amargor dos hidrolisados, incluindo a aplicação de cromatografia de interação hidrofóbica; tratamento com carvão ativo; hidrólise com exopeptidases; extração com solventes orgânicos e o envolvimento em lipossomas (LIN et al., 1997; MORAIS et al., 2003).

O controle das condições de hidrólise enzimática e a escolha adequada da enzima permitem a obtenção de produtos com características adequadas, a uma dada aplicação na formulação de alimentos. Este processo possui influência no tamanho molecular, hidrofobicidade e nos grupos polares do hidrolisado. Assim, os hidrolisados proteicos podem ser utilizados para suplementar e obter novos produtos alimentícios, alterar as propriedades funcionais das proteínas e como componente de sabor.

Os hidrolisados proteicos são utilizados principalmente na alimentação de indivíduos que não podem digerir a proteína intacta. As preparações ricas em pequenos peptídeos, especialmente di- e tripeptídeos, provenientes da hidrólise parcial de proteínas, possuem maior valor nutricional e uma absorção gastrointestinal mais eficiente quando comparado com a proteína intacta e aminoácidos livres (BHASKAR et.al, 2007). Além disso, os peptídeos, por serem mais facilmente absorvidos pelo organismo, podem ser excelente fonte de nitrogênio na nutrição esportiva e, devido ao alto valor biológico, eles podem ser utilizados como suplementos proteicos em uma ampla variedade de dietas (SLIŽYTĖ et al., 2005). Peptídeos maiores, com peso molecular entre 2 – 5 kDa são principalmente utilizados como ingredientes funcionais em produtos de higiene pessoal (KUNST, 2003). Peptídeos com tamanho mediano (1 – 2 kDa) são usados em nutrição clínica (SCHMIDL; TAYLOR; NORDLEE, 1994) e nutrição esportiva (FROKJAER, 1994). Peptídeos menores que 1 kDa podem ser incorporados na alimentação infantil que requer reduzida alergenicidade (SIEMENSMA; WEIJER; BAK, 1993).

Além disso, os hidrolisados proteicos são fontes de peptídeos biologicamente ativos (FRIEDMAN, 1996; GILDBERG; STENBERG, 2001). Peptídeos bioativos podem afetar numerosas funções fisiológicas do organismo, tais como as atividades: anti-hipertensiva (inibidor de ACE – Enzima conversora de angiotensina), imunomoduladora, antitrombótica, antioxidativa, anticâncer e antimicrobiana (CLARE, SWAISGOOD, 2000).

Dessa forma, estes produtos podem ser incorporados em fórmulas balanceadas para: rações de animais, atletas, regimes de emagrecimento e dietas para pessoas com problemas de digestão ou de má-absorção de proteínas, graças à sua elevada digestibilidade e aos aminoácidos essenciais disponíveis (SGARBIERI, 1996).

### **3.2.2 Atividade Antioxidante de Hidrolisados Proteicos**

Moléculas (orgânicas e inorgânicas) e átomos que contêm um ou mais elétrons não pareados podem ser classificados como radicais livres. Essa configuração faz dos radicais livres moléculas altamente instáveis, com meia-vida curtíssima e quimicamente muito reativas. Os radicais livres estão relacionados com a ocorrência de muitas doenças crônicas, tais como diabetes, doenças cardiovasculares, degenerativas e câncer (BIANCHI; ANTUNES, 1999; YOU et al., 2009). Também são responsáveis pela oxidação de lipídeos em alimentos, acarretando a deterioração do sabor, descoloração, destruição de nutrientes e a formação de compostos tóxicos, comprometendo a qualidade do produto (BRAND-WILLIAMS, CUVELIER; BERSSET, 1995). Para retardar o processo oxidativo e aumentar a estabilidade dos alimentos, antioxidantes vem sendo utilizados pelas indústrias de alimentos. Atualmente, há um crescente interesse em encontrar antioxidantes de fontes naturais, com menor risco à saúde do que os antioxidantes sintéticos (YOU et al., 2009).

Numerosos estudos indicam que hidrolisados proteicos possuem atividade antioxidante. Desta forma, estes compostos podem ser adicionados em produtos alimentícios, de modo a preservá-los e estender a sua vida de prateleira. As fontes proteicas utilizadas na produção de hidrolisados com atividade antioxidante incluem canola (CUMBY et al., 2008), hemoglobina suína (CHANG; WU; CHIANG, 2007), peixes (YOU et al., 2009; DONG et al., 2008; THEODORE; RAGHAVAN; KRISTINSSON, 2008; WU; CHEN; SHIAU, 2003) e soro de leite (PEÑA-RAMOS; XIONG, 2003).

As propriedades antioxidantes dos hidrolisados proteicos dependem de diversos fatores, tais como: tipo de proteína, enzima empregada, grau de hidrólise e pré-tratamento do substrato. You et al. (2009) observaram que hidrolisados proteicos de peixe dojô (*Misgurnus anguillicaudatus*) com diferentes graus de hidrólise (GH) e obtidos pela ação das enzimas papaína e Protamex<sup>®</sup> apresentaram atividade antioxidante distinta. Quando o GH aumentou para 23%, o hidrolisado produzido com papaína exibiu maior atividade antioxidante. Por outro lado, o hidrolisado produzido com Protamex<sup>®</sup> mostrou maior atividade sequestrante de radical hidroxila a 28% de GH.

De acordo com Chen, Muramoto e Yamauchi (1995), os níveis, a sequência e a composição de aminoácidos e peptídeos podem influenciar na atividade antioxidante de hidrolisados proteicos. A capacidade dos peptídeos em inibir oxidação lipídica depende da presença de determinados aminoácidos como a tirosina, histidina, lisina, metionina e triptofano. Dipeptídeos com atividade antioxidante não estão envolvidos somente no sequestro de radicais livres e oxigênio *singlet*, mas também são capazes de sequestrar íons metálicos pro-oxidantes (THIANSILAKUL; BENJAKUL; SHAHIDI, 2007). Wu, Chen e Shiau (2003) demonstraram que carnosina e anserina, dois dipeptídeos que contêm o aminoácido histidina, preveniram a peroxidação lipídica em sistemas com ácido linoleico e possuíam atividade sequestrante do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e quelante de íons cobre.

Diferentes métodos podem ser utilizados para medir a atividade antioxidante de alimentos. Estes métodos podem ser baseados na captura do radical peroxila (ORAC – capacidade de absorção de radical oxigênio, e TRAP – potencial reativo antioxidante total), poder de redução de metal (FRAP e CUPRAC – métodos de redução do ferro e cobre, respectivamente), captura do radical hidroxila (método de desoxirribose), captura do radical orgânico (ABTS e DPPH) e quantificação de produtos formados durante a peroxidação de lipídeos (TBARS, oxidação de LDL e co-oxidação do  $\beta$ -caroteno) (SÁNCHEZ-MORENO, 2002). Dentre estes métodos, DPPH, poder de redução de metal, ORAC, ABTS e método de desoxirribose foram alguns dos métodos utilizados para a determinação da atividade antioxidante de hidrolisados proteicos.

O método DPPH é baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorbância a 517 nm. O radical

livre DPPH é um radical orgânico de nitrogênio, estável e comercialmente disponível. Uma vez reduzido por um antioxidante, seu elétron se torna emparelhado e a solução sofre uma descoloração, sendo monitorado o progresso da reação através de um espectrofotômetro (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSSET, 1995).

### 3.2.3 Cinética de Hidrólise Enzimática de Proteínas

O conhecimento da cinética de reações biotecnológicas é um parâmetro importante para projetar bioreatores e obter produtos com características desejadas. Entretanto, o estudo da cinética de hidrólise enzimática de proteínas é complicado, devido à existência de grande número de ligações peptídicas que são quebradas e à diferente acessibilidade dessas ao ataque enzimático (MÁRQUEZ; VÁZQUEZ, 1999; MORENO; CUADRADO, 1993).

Assim, há uma dificuldade em estabelecer modelos cinéticos para a hidrólise de macromoléculas. Se o modelo é muito simples, sua representação inadequada do mecanismo real limitará sua aplicação, enquanto que um modelo complicado não pode ser analisado estatisticamente. Para contornar esses problemas, uma equação empírica simples da variação do grau de hidrólise pelo tempo (Equação 3.1) pode ser aplicada para expressar as curvas de hidrólise (MÁRQUEZ; VÁZQUEZ, 1999).

$$\frac{d(\text{GH})}{dt} = a \exp[-b \times \text{GH}] \quad (3.1)$$

Onde: GH é o grau de hidrólise (%); t é o tempo (min);  $a$  ( $\text{min}^{-1}$ ) e  $b$  (adimensional) são parâmetros de cinética de hidrólise.

Essa equação de cinética considera uma reação de ordem zero, com simultânea inativação da enzima de segunda ordem. Então, se a reação é

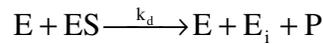


a taxa de reação será determinada pelo estágio irreversível:

$$r = S_0 \frac{d(\text{GH})}{dt} = k_h |\text{ES}| \quad (3.2)$$

Onde: E é a enzima; S é o substrato; ES é o complexo enzima-substrato; P é o produto; r é a taxa de reação (g/l.min), S<sub>0</sub> é a concentração inicial de substrato (g/l), |ES| é a concentração do complexo enzima-substrato (AU/l) e k<sub>h</sub> é a constante da cinética de hidrólise enzimática (g/AU.min).

Se a reação de inativação da enzima é



então a equação da cinética para esse processo é dada por:

$$-\frac{de}{dt} = k_d |E| |\text{ES}| \quad (3.3)$$

Onde: E<sub>i</sub> é a enzima inativa; |E| é a concentração de enzima (AU/l), e é a concentração total de enzima (e = |E| + |ES|) (AU/l), e k<sub>d</sub> é a constante da cinética de inativação da enzima (g/AU.min).

A combinação dos processos de hidrólise enzimática e de inativação da enzima resulta na seguinte equação de taxa de hidrólise:

$$r = k_h e_0 \exp\left[-\frac{k_d}{k_h} \text{GH}\right] \quad (3.4)$$

Substituindo a equação (3.2) na equação (3.4), tem-se a equação (3.5).

$$\frac{d(\text{GH})}{dt} = \frac{k_h e_0}{S_0} \exp\left[-\frac{k_d}{k_h} \text{GH}\right] \quad (3.5)$$

Comparando as equações (3.1) e (3.5), obtém-se a relação entre os parâmetros a e b com as constantes de hidrólise e inativação de enzima:

$$a = k_h \frac{e_0}{S_0} \quad (3.6)$$

$$b = \frac{k_d}{k_h} \quad (3.7)$$

Integrando a equação (3.5) e considerando na condição inicial ( $t = 0$ ) GH igual a zero, obtém-se uma equação de grau de hidrólise em função do tempo:

$$GH = \frac{1}{b} \ln(1 + abt) \quad (3.8)$$

### 3.3 SECAGEM

#### 3.3.1 Aspectos Gerais

A secagem é provavelmente o mais antigo processo de conservação de alimentos. Durante muitos séculos, ela foi o único método que possibilitava o aumento de vida de prateleira de frutas e vegetais, juntamente com a salga de produtos cárneos.

O principal objetivo da secagem de alimentos é aumentar a sua conservação, em função da redução do teor de água até um determinado nível, no qual a multiplicação de microrganismos é prevenida, uma vez que o crescimento de bactérias patogênicas, leveduras e bolores ocorre em atividades de água acima de 0,86, 0,7 e 0,6, respectivamente. A redução da atividade de água do alimento para valores inferiores a 0,60 desacelera a maioria das reações de deterioração dos alimentos (escurecimento não-enzimático e reações enzimáticas e hidrolíticas), com exceção da reação de oxidação de lipídeos. Além disso, o produto obtido por secagem apresenta maior facilidade de transporte, armazenamento e manuseio, seja ele para o consumo na forma direta, ou como ingrediente na elaboração de outros produtos alimentícios (TANG; YANG, 2004; TEIXEIRA NETO, 2001).

O processo de secagem é uma operação unitária na qual calor latente de vaporização é fornecido a um dado material, a fim de evaporar certa quantidade de água (ou qualquer outro líquido) para uma fase gasosa insaturada, obtendo-se um produto sólido seco. Este processo consiste de um fenômeno complexo e simultâneo de transferência de calor e massa, acompanhado de mudança de fase (BARBANTI; MASTROCOLA; SEVERINI, 1994; RAMASWAMY; MARCOTTE, 2006).

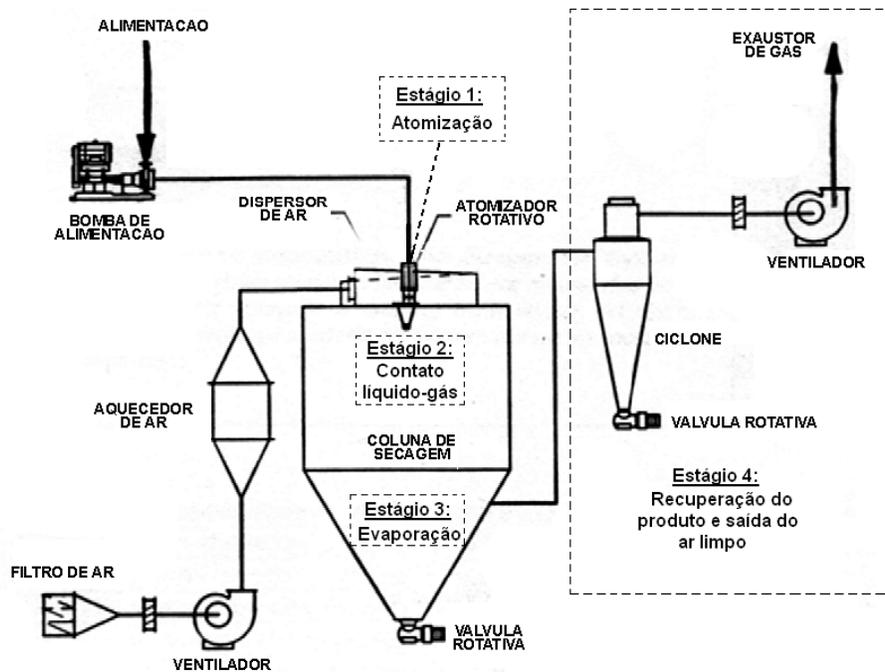
### 3.3.2 Secagem Por Atomização (“*Spray Drying*”)

A secagem por atomização, conhecida como “*spray drying*”, teve seus primeiros passos na metade do século XIX, quando foi patenteado o processo de secagem de ovos (1865). Porém, o início de sua utilização em escala industrial data da década de 1920. Os primeiros produtos obtidos em larga escala com a secagem por atomização foram leite e sabão em pó.

A partir de então, seu uso disseminou-se pela indústria de processos em geral, possuindo uma ampla aplicação nas indústrias de alimentos (para obtenção de leite em pó, ovos, sucos, sopas e café instantâneo), farmacêuticas e químicas. As vantagens deste tipo de secagem são: o seu baixo custo operacional e o curto tempo de residência do material na câmara de secagem, diminuindo o dano térmico causado ao produto. Desta forma, o *spray dryer* tornou-se o principal equipamento para a secagem de materiais fluidos que apresentam sensibilidade ao calor, como alimentos e materiais biológicos, tais como: extratos e produtos oriundos de plantas, corantes, microrganismos, produtos com leveduras, enzimas e proteínas. Outro campo onde a secagem por atomização tem adquirido destaque recentemente é na microencapsulação de substâncias.

O processo de secagem por atomização, de acordo com Masters (1972), consiste na transformação de um produto no estado fluido para o estado sólido em forma de pó, através da dispersão de gotículas do material no interior de uma câmara, ficando em contato com ar quente. A atomização é resultante da aplicação de energia, de modo a agir sobre o líquido até o ponto em que ocorre o seu rompimento e desintegração, de modo a dividi-lo em milhões de partículas individuais, criando assim, uma nuvem ou *spray* de gotículas.

A secagem de 1 m<sup>3</sup> de líquido origina aproximadamente  $2 \times 10^{12}$  partículas uniformes de diâmetro 100 µm, equivalente a uma área superficial de 60.000 m<sup>2</sup> (MASTERS, 1972). Durante o contato das gotículas com o ar quente sob temperaturas elevadas, ocorre um processo rápido de evaporação a partir da superfície das partículas. O tempo de residência do material na câmara do *spray dryer* é curto, normalmente entre 3 a 30 segundos (DITTMAN; COOK, 1977). Na Figura 3.2 é mostrado um esquema de um *spray dryer*, bem como os estágios do seu processo.



**Figura 3.2:** Esquema de um *spray dryer*.

O material a ser desidratado no *spray dryer* pode estar na forma de solução, suspensão ou pasta, resultando, após o processo, em partículas isoladas, grânulos ou aglomerado. Estas formas do produto obtido dependem das propriedades físicas e químicas do material, do projeto e operação do secador. A qualidade dos produtos obtidos por atomização depende das características da solução de alimentação (conteúdo de sólidos, viscosidade e temperatura), do atomizador e da transferência de calor e massa entre o ar aquecido e as gotículas da câmara de secagem (FURUTA; HAYASHY; OHASHI, 1994).

As propriedades dos produtos obtidos por *spray drying*, tais como densidade do pó, distribuição do tamanho, diâmetro médio e formato das partículas, também são dependentes das características do material líquido e das condições de processo. Esses parâmetros contribuem nas propriedades funcionais dos pós, incluindo a sua fluidez, manipulação, compressibilidade e mistura/segregação dos seus componentes (BHANDARI; HARTEL, 1995).

Um dos mais importantes parâmetros físicos a ser considerado em produtos em pó é o tamanho das partículas. Essa propriedade pode influenciar na aparência, escoabilidade e dispersibilidade do pó. Também é possível avaliar a estabilidade de uma mistura de diferentes componentes, através da homogeneidade na distribuição das diferentes partículas na mistura e da compactação ou segregação de seus componentes, em que um produto com menor diâmetro fica distribuído na parte inferior (O'HAGAN et al., 2005). Quando o tamanho da partícula diminui, o aumento da sua área superficial acarreta uma maior afinidade com a água e habilidade para aglomerar (TÓTH; PALLAI-VARSÁNYI, 2006). O conhecimento da densidade de um determinado material é importante para o armazenamento, processamento, empacotamento e distribuição. A densidade volumétrica (ou *bulk density*) considera os poros internos e externos da partícula e é geralmente usada para caracterizar um produto obtido por moagem ou secagem (BARBOSA-CÁNOVAS; JULIANO, 2005).

Diferentes condições do processo de secagem por atomização resultam em pós com microestruturas diferentes. Sheu e Rosenberg (1995, 1998) observaram variações na estrutura superficial de microcápsulas obtidas por secagem por atomização. Foram observadas variações na distribuição de tamanho e, muitas vezes, a formação de dobras na superfície, o que prejudica o escoamento dos pós. Muitas vezes, foi observada também a formação de fissuras ou buracos na superfície externa.

### **3.4 ISOTERMAS DE SORÇÃO**

No que diz respeito à composição de alimentos frescos, a água é o mais importante componente presente, sendo o agente controlador da deterioração dos mesmos. A deterioração dos alimentos está intimamente ligada à sua concentração e mobilidade. A taxa e intensidade com que ocorre a deterioração podem ser relacionadas pela atividade de água (WOLF; SPIESS; JUNG, 1985). Esta é uma das propriedades mais importantes para o processamento, conservação e armazenamento de alimentos, por quantificar o grau de ligação da água contida no produto e conseqüentemente sua disponibilidade para agir como solvente e participar das transformações químicas, bioquímicas e microbiológicas (LABUZA, 1977).

A atividade de água ( $a_w$ ) é uma função termodinâmica, definida como a razão entre a fugacidade da água na mistura ( $f_w$ ) e a fugacidade da água pura no estado padrão ( $f_0$ ), ambas à mesma temperatura. Essa grandeza pode ser interpretada como a tendência da água líquida em migrar para o estado gasoso (GAL, 1975).

Ao se colocar um material biológico exposto a certa umidade relativa, ocorre um fenômeno de transferência de massa no sentido de se alcançar um equilíbrio dinâmico entre a umidade do produto e a da vizinhança. Tal equilíbrio acontece quando a pressão de vapor de água na superfície do material se iguala à do ar que o envolve (TREYBAL, 1981).

A comparação entre a atividade de água e a umidade relativa de equilíbrio apresenta uma diferença de cerca de 0,2% na temperatura ambiente, à mesma pressão (GAL, 1975). Assim, são aceitas as definições de atividade de água descritas abaixo:

$$a_w = \frac{P_w}{P_v} = \frac{UR}{100} \quad (3.9)$$

Onde: UR é a umidade relativa (%),  $P_w$  é a pressão parcial da água no alimento e  $P_v$  é a pressão de vapor de água na mesma temperatura.

O estudo da atividade de água pode ser feito através das isotermas de sorção. Uma isoterma é uma curva que descreve a relação de equilíbrio do teor total de umidade de um alimento e a pressão de vapor ou umidade relativa, a uma dada temperatura. Essa relação depende de diversos fatores, tais como a estrutura física da superfície do material, composição química e afinidade com a água. Assim, cada alimento apresenta características distintas de sorção de umidade, sendo necessária a determinação experimental para cada produto (WOLF; SPIESS; JUNG, 1985).

Isotermas de sorção são importantes na análise e montagem de vários processos alimentares, tais como preservação, secagem, embalagem e mistura. As isotermas de sorção podem ser usadas para prever mudanças na estabilidade do alimento e para selecionar o material de embalagem e ingredientes apropriados (ZHANG et al., 1996).

Labuza (1968) relata que a isoterma de sorção dos alimentos pode ser dividida em três regiões, em função do estado físico da água presente no alimento. A primeira região, para valores de atividade de água entre 0 e 0,35, representa a adsorção de uma monocamada de água. A segunda região representa a adsorção das camadas adicionais da

água acima da monocamada, para níveis da atividade de água entre 0,35 e 0,60. A terceira região, que abrange valores de atividade de água acima de 0,60, representa a água condensada nos poros do material, seguida pela dissolução do material solúvel presente.

### **3.5 TRANSIÇÃO VÍTREA EM ALIMENTOS**

Transições de fase são alterações no estado físico dos materiais que têm efeito significativo sobre as suas propriedades físicas. Existem três estados físicos básicos: sólido, líquido e gasoso. O termo transição refere-se à mudança do estado provocada por uma alteração de temperatura ou pressão.

Termodinamicamente, um material estável é aquele que se encontra em equilíbrio com as condições de pressão e temperatura do ambiente, ou seja, que não apresente mudança em seu estado físico em função do tempo. No equilíbrio, a estrutura molecular desses materiais se encontra organizada da melhor forma possível, de modo que o sistema esteja em seu nível mínimo de energia livre. Em geral, materiais em equilíbrio são compostos quimicamente puros (ROOS, 1995).

Ao contrário dos compostos puros, os alimentos são sistemas complexos, com uma grande variedade de componentes, tais como carboidratos, lipídeos, proteínas, fibras e água. De acordo com Roos (1995), geralmente o estado físico dos alimentos é governado pela transição de fase dos seus principais componentes. Uma vez que a água é o principal componente e diluente na maioria dos alimentos, ela deve afetar o estado físico e as demais propriedades dos demais compostos.

Desta forma, a maioria dos alimentos e de polímeros sintéticos existe em um estado de não equilíbrio amorfo. Este estado pode ser definido como uma falta de organização das moléculas, sendo o oposto do estado cristalino, o qual se caracteriza pelo melhor arranjo da estrutura (menor nível de energia). Estes materiais são metaestáveis, de modo que seu estado físico e suas propriedades físico-químicas mudam de comportamento durante as etapas de processamento, estocagem, distribuição e consumo (ROOS, 1995; SLADE; LEVINE, 1991).

De acordo com Roos (1995), materiais amorfos podem ser obtidos através de diversos processos. Sua formação ocorre através de uma rápida mudança no material, permitindo que não haja tempo suficiente para que o produto se ajuste às mudanças que ocorreram na vizinhança e, portanto, saia do estado de equilíbrio para o estado de não equilíbrio. Essa rápida mudança física do produto pode ocorrer através da rápida remoção de água ou de um resfriamento.

Em alimentos, a mudança de fase mais importante, que é característica de materiais amorfos, é a transição vítrea, que consiste em uma transição de fase de segunda ordem de um estado sólido-vítreo para um estado semi-líquido gomoso (ROOS, 1995). Essa transformação ocorre através de uma faixa de temperaturas, embora seja frequentemente referida a um único valor. A temperatura, em uma determinada umidade, à qual é atribuída essa transição é denominada temperatura de transição vítrea  $T_g$  (KAUZMANN, 1948; SPERLING, 1992).

Um material em estado vítreo comporta-se como um sólido quebradiço, com rigidez ou viscosidade extremamente alta (cerca de  $10^9$  Pa.s), apresentando mobilidade molecular semelhante aos sólidos cristalinos, enquanto no estado gomoso, a mobilidade molecular aumenta significativamente e o material adquire propriedades mecânicas tipicamente viscoelásticas (CHAMPION; LE MESTE; SIMATOS, 2000; ROOS, 1995). A principal consequência da transição vítrea é um aumento da mobilidade molecular e do volume livre em temperaturas acima da  $T_g$ , o que caracteriza o estado borrachento, podendo resultar em deteriorações físicas e físico-químicas (ROOS e KAREL, 1991).

Quando se encontra no estado vítreo e, portanto, abaixo da temperatura de fusão, um material possui energia maior que o estado de equilíbrio cristalino. O estado de não equilíbrio amorfo está sempre sujeito a uma força motriz que tende ao estado de equilíbrio. Acima da  $T_g$ , a mobilidade molecular é suficiente para permitir a reorganização das moléculas. Em temperaturas abaixo da  $T_g$ , a mobilidade molecular é baixa devido à alta viscosidade, não permitindo os rearranjos moleculares necessários na formação de estruturas cristalinas (ROOS, 1995)

A transição do estado vítreo para o gomoso pode ocorrer tanto pelo aumento da temperatura, como pelo aumento do agente plasticizante, no caso, a água. Quando um alimento é submetido a um ambiente de elevada umidade relativa e temperatura constante,

ele absorve água, ocorrendo um aumento deste plasticizante. Com isso, há uma redução na sua viscosidade e um conseqüente aumento na mobilidade molecular. Analogamente, em um material submetido a um aumento da temperatura acima da  $T_g$ , com umidade constante, observam-se diversas alterações tais como, aumento do volume livre, decréscimo da viscosidade, aumento do calor específico e aumento da expansão térmica (WHITE; CAKEBREAD, 1966).

Assim, a transição vítrea possui importância fundamental por estar intimamente relacionada com a preservação da qualidade de produtos alimentícios e materiais biológicos de baixa umidade. Esse conceito pode ser utilizado para interpretar transformações que ocorrem durante o processamento e estocagem destes produtos, sendo assim, de interesse para as indústrias que utilizam processos de desidratação ou congelamento (ROOS, 1995).

As alterações estruturais que ocorrem em alimentos desidratados com características amorfas, em temperaturas acima da  $T_g$ , são a aglomeração, adesividade, colapso e cristalização. O aumento da mobilidade molecular também afeta a difusão, resultando no aumento de reações de deterioração, como reações enzimáticas, escurecimento não enzimático e oxidação (ROOS, 1995).

Por possuírem altos conteúdos de peptídeos de baixo peso molecular, os hidrolisados proteicos em pó apresentam baixos valores de temperatura de transição vítrea. Uma vez que a  $T_g$  aumenta com o aumento do peso molecular, a adição de agentes coadjuvantes ou carreadores na solução a ser desidratada é uma alternativa para melhorar o processo de secagem, diminuindo a aderência do produto na câmara do secador, e aumentar a estabilidade do produto em condições ambientais adversas (ROOS; KAREL, 1991).

Os agentes carreadores normalmente empregados em *spray drying* são a goma arábica e os amidos modificados e hidrolisados (maltodextrinas), que proporcionam soluções com baixa viscosidade a altas concentrações. A FDA (Food and Drug Administration) define maltodextrina, produto obtido por hidrólise do amido ( $C_6H_{12}O_5$ )<sub>n</sub>, como um polissacarídeo nutritivo não doce, que consiste de unidades de D-glicose ligadas principalmente a cadeias  $\alpha$  1-4. É definida pela dextrose equivalente (DE), que é medida pelo grau de hidrólise da molécula de amido (KENYON, 1995). As maltodextrinas com baixo DE possuem baixa higroscopicidade, alta solubilidade em água fria e baixo custo

(KENYON; ANDERSON, 1987). A goma arábica é um polímero que consiste primariamente de ácido D-glucorônico, L-ramnose, D-galactose, L-arabinose e 2% de proteína. Essa mistura de polissacarídeos e proteína lhe confere uma boa capacidade de emulsificação e baixa viscosidade em soluções aquosas, auxiliando no processo de secagem. Além disso, proporciona boa retenção de produtos voláteis e confere proteção efetiva contra oxidação (SHAHIDI; HAN, 1993).

### **3.6 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL**

Através de planejamentos experimentais baseados em princípios estatísticos, pode-se extrair do sistema em estudo o máximo de informação útil, fazendo um mínimo de experimentos. No planejamento de qualquer experimento, a primeira coisa a fazer é decidir quais serão os fatores e as respostas de interesse. Os fatores, em geral, são as variáveis que o pesquisador tem condições de controlar e podem ser qualitativas ou quantitativas. As respostas são as variáveis de saída do sistema, nas quais se tem interesse e que serão – ou não – afetadas por modificações provocadas nos fatores. Também podem ser qualitativas ou quantitativas. Dependendo do problema, podem-se ter várias respostas de interesse, que talvez precisem ser consideradas simultaneamente (BARROS NETO; SCARMINO; BRUNS, 2001; RODRIGUES; IEMMA, 2005).

A essência de um bom planejamento consiste em projetar um experimento de forma que ele seja capaz de fornecer exatamente o tipo de informação que procuramos. Para isso, é necessário definir claramente que objetivo se pretende alcançar com os experimentos, porque isso determinará que tipo de planejamento experimental deve ser utilizado. Quando se deseja fazer uma triagem inicial dos fatores, é vantajoso começar pela execução de planejamentos fatoriais fracionários. Esses planejamentos são extremamente econômicos e podem ser usados para estudar 20 ou mais fatores experimentais ao mesmo tempo, enquanto os planejamentos fatoriais completos avaliam quantitativamente a influência das variáveis sobre a resposta de interesse, bem como suas possíveis interações. Quando o objetivo principal do pesquisador é otimizar o seu sistema, isto é, maximizar ou minimizar algum tipo de resposta, utiliza-se a metodologia de superfície de resposta (RSM) (BARROS NETO; SCARMINO; BRUNS, 2001; RODRIGUES; IEMMA, 2005).

A metodologia de superfície de resposta, do inglês *Response Surface Methodology* (RSM), é uma técnica de análise de processos baseada no emprego de planejamentos fatoriais, cujo principal atrativo é a redução do número de ensaios necessários para se avaliar a influência de determinadas variáveis na resposta em estudo, além de fornecer resultados melhores do que os obtidos pela análise univariável. Esta necessita de maior quantidade de experimentos e não identifica as interações que podem existir entre as variáveis (BOX; HUNER; HUNTER, 1978; RODRIGUES; IEMMA, 2005).

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 MATERIAL**

#### **4.1.1 Matéria-Prima**

Para a realização desse trabalho, foram utilizados peitos de frango desossados, fornecidos congelados pela Doux Frangosul S.A. (Montenegro, Brasil).

#### **4.1.2 Enzima**

No processo de hidrólise enzimática da carne, foi usada a protease Alcalase<sup>®</sup> 2.4L (Novozymes, Bagsvaerd, Dinamarca), que é uma endopeptidase obtida do *Bacillus licheniformis* e atividade declarada de 2,4 AU/g.

#### **4.1.3 Agentes Carreadores**

Para o processo de secagem do hidrolisado proteico, foram utilizadas a maltodextrina Mor-rex<sup>®</sup> 1910 com DE 10 (Corn Products, Mogi-Guaçu, Brasil) e a goma arábica Instantgum<sup>®</sup> (Colloides Naturels, São Paulo, Brasil) como agentes carreadores.

### **4.2 MÉTODOS**

O presente trabalho foi dividido nas seguintes etapas:

**a) Hidrólise enzimática da carne de frango:** Os ensaios de hidrólise enzimática foram realizados conforme Tabela 4.1 do planejamento experimental, apresentada na seção subsequente. Inicialmente, foi realizada a modelagem matemática da cinética de reação e verificado o efeito das variáveis de reação sobre os parâmetros cinéticos através do planejamento experimental. Na etapa seguinte, a influência dessas variáveis sobre as respostas grau de hidrólise GH e recuperação de proteína RP foi estudada. Dessa forma, através da metodologia de superfície de resposta, a reação foi otimizada de modo a obter

maiores valores de GH e RP. O hidrolisado obtido nessa condição foi caracterizado em termos de composição química, perfil eletroforético e composição de aminoácidos totais.

**b) Secagem por atomização do hidrolisado proteico com diferentes concentrações de agente carreador:** Nesta etapa do projeto, foi produzido um hidrolisado proteico de carne de frango, na condição de reação definida na primeira etapa do projeto (temperatura de 52,5°C, razão enzima:substrato de 4,2% p/p e pH 8,0). Em seguida, foi feita a homogeneização do hidrolisado com diferentes concentrações de um agente carreador – maltodextrina 10 DE ou goma arábica – e a solução foi desidratada no *spray dryer* (descrito no item 4.2.2.1). A estabilidade do produto em pó foi analisada através da construção de isotermas de sorção e determinação da temperatura de transição vítrea, visando obter a melhor concentração de agente carreador.

**c) Avaliação do desempenho operacional do *spray dryer*:** O hidrolisado proteico, homogeneizado com 10% de maltodextrina (concentração de agente carreador escolhida com base nos resultados da segunda etapa deste projeto), foi desidratado em *spray dryer* sob diferentes condições operacionais. Um delineamento composto central rotacional foi realizado (conforme Tabela 4.3), visando avaliar o efeito da temperatura do ar e vazão mássica da alimentação sobre o desempenho do secador (rendimento do processo, eficiência térmica e produtividade do secador) e sobre a atividade antioxidante e propriedades físico-químicas do produto em pó (conteúdo de proteína e umidade, densidade, tamanho de partícula e morfologia).

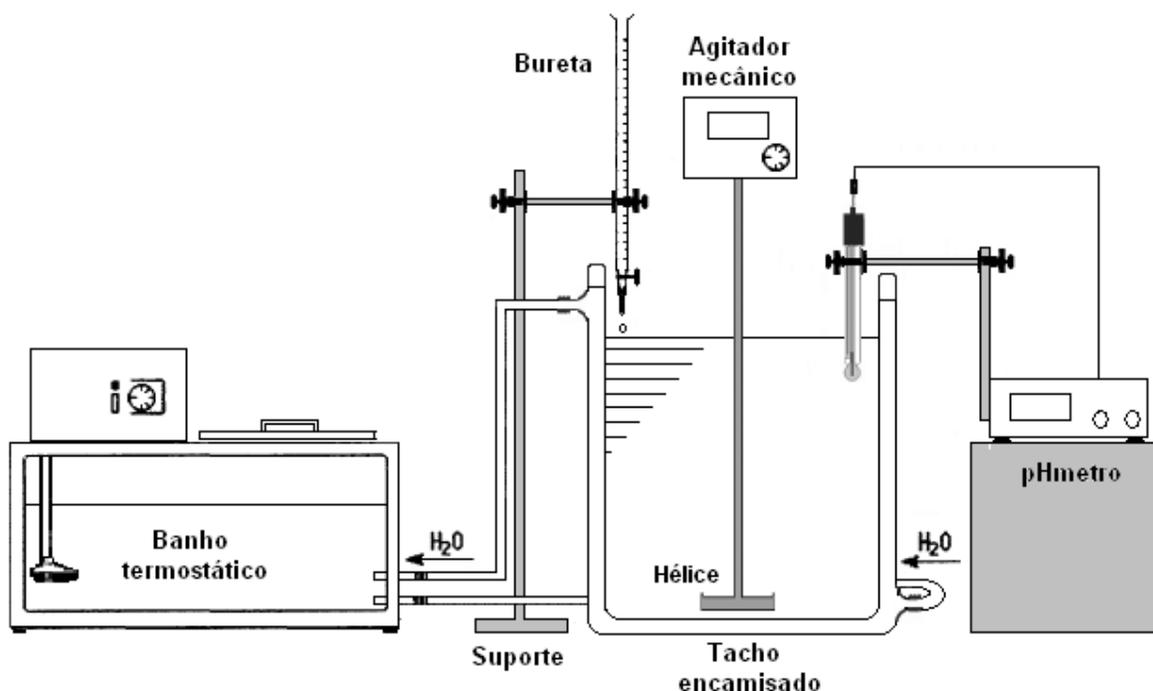
#### **4.2.1 Hidrólise Enzimática**

Os experimentos de hidrólise foram conduzidos em um reator de 0,5 L com sistema de agitação e aquecimento utilizando o método pH-stat, descrito por Adler-Nissen (1986). As amostras de peito de frango foram descongeladas durante a noite anterior a 4°C. Tendões, nervos, pele e gordura visível foram removidos da carne, que foi então moída em um homogeneizador e diluída em água destilada (proporção carne:água de 1:3 p/p). A

mistura foi transferida para um béquer encamisado, sendo agitada por um agitador magnético, aquecida a uma dada temperatura e o pH ajustado com solução de NaOH 2N. Em seguida, a enzima foi adicionada à mistura e a reação monitorada, titulando-se manualmente e continuamente NaOH 2N, de modo a manter o pH constante. O conteúdo de base consumida foi anotado em intervalos de 5 minutos na primeira hora, 10 minutos na segunda hora, 15 minutos para as duas horas seguintes e 30 minutos até que as variações do consumo da base fossem insignificantes. Os ensaios experimentais foram conduzidos em temperaturas variando de 43 a 77°C, razão enzima:substrato de 0,8 a 4,2% p/p (g enzima/100 g proteína), e pH de 7,16 a 8,84 conforme Tabela 4.1 do planejamento experimental. Finalizada a reação, a enzima foi inativada por aquecimento da mistura (85°C/10 minutos), seguida de resfriamento a temperatura ambiente. A mistura foi centrifugada a 3500 rpm (modelo Allegra 25R, Beckman Coulter, Fullerton, EUA) por 20 minutos para separar o resíduo, com lipídeos e material que não foi hidrolisado, do sobrenadante, contendo o hidrolisado proteico. A massa e o conteúdo de proteína do precipitado e do sobrenadante foram determinados para o cálculo da recuperação de proteína.

Os resultados experimentais da cinética da reação enzimática foram ajustados a um modelo empírico (Equação 3.8), que consiste na variação do grau de hidrólise em função do logaritmo neperiano do tempo. Os parâmetros cinéticos *a* e *b* deste modelo foram determinados através de uma análise de regressão não linear dos dados experimentais, realizada pelo *software* Statistica (Statsoft, Tulsa, EUA), usando como método de ajuste o modelo Quasi-Newton.

Após a otimização do processo, realizou-se a hidrólise enzimática de carne de frango em maior escala, visando aumentar a produção de hidrolisado proteico a ser desidratado no *spray dryer*. Para isso, um tacho encamisado de 10 L e agitador mecânico com hélice foram utilizados (Figura 4.1) e a condição de reação utilizada foi a encontrada como ótima: 52,5°C, 4,2 g enzima/100 g proteína, pH de 8,0 e tempo de processo de 6 horas. O hidrolisado obtido foi armazenado em freezer doméstico e descongelado no momento da sua secagem no *spray dryer*.



**Figura 4.1:** Montagem experimental para hidrólise enzimática de carne de frango.

#### 4.2.1.1 Planejamento Experimental

O planejamento experimental foi utilizado para estudar os efeitos das variáveis temperatura  $T$ , relação enzima:substrato  $E/S$  e  $pH$  sobre as respostas grau de hidrólise  $GH$  e recuperação da proteína  $RP$  e também sobre os parâmetros cinéticos  $a$  e  $b$ . Os intervalos estudados de temperatura, relação enzima:substrato e  $pH$  utilizados nos experimentos foram definidos através de ensaios preliminares. Foi realizado um delineamento composto central rotacional (DCCR), com pontos centrais (nível 0) e pontos axiais (níveis  $\pm \alpha$ ), totalizando 17 ensaios, conforme mostra Tabela 4.1.

Para a elaboração dos modelos, foi utilizado o *software* Statistica 5.0 (Statsoft, Tulsa, EUA), com a finalidade de assegurar a validade dos coeficientes dentro de um nível de confiança de 90%, através de análises estatísticas apropriadas. Após a análise estatística dos coeficientes, foi realizada análise de variância (ANOVA), que consiste na avaliação do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e do teste  $F$ , verificando se o modelo apresenta um ajuste adequado dos dados experimentais.

**Tabela 4.1:** Ensaios do planejamento experimental, variando os parâmetros temperatura (T), razão enzima:substrato (E/S) e pH nos experimentos.

Ensaio	Variáveis Independentes					
	Real			Codificado		
	T (°C)	E/S (%)	pH	T	E/S	pH
1	50	1,5	7,50	-1	-1	-1
2	70	1,5	7,50	1	-1	-1
3	50	3,5	7,50	-1	1	-1
4	70	3,5	7,50	1	1	-1
5	50	1,5	8,50	-1	-1	1
6	70	1,5	8,50	1	-1	1
7	50	3,5	8,50	-1	1	1
8	70	3,5	8,50	1	1	1
9	43	2,5	8,00	-1,68	0	0
10	77	2,5	8,00	1,68	0	0
11	60	0,8	8,00	0	-1,68	0
12	60	4,2	8,00	0	1,68	0
13	60	2,5	7,16	0	0	-1,68
14	60	2,5	8,84	0	0	1,68
15	60	2,5	8,00	0	0	0
16	60	2,5	8,00	0	0	0
17	60	2,5	8,00	0	0	0

A otimização da hidrólise enzimática foi realizada através da Metodologia de Superfície de Resposta, de modo a obter maiores valores de grau de hidrólise e de recuperação da proteína.

#### 4.2.1.2 Grau de Hidrólise

O processo de hidrólise pode ser medido através da determinação do grau de hidrólise, que pode ser obtido pelo método pH-stat ou método de titulação de grupos  $\alpha$ -amino liberados em pH e temperatura constantes.

O grau de hidrólise foi definido por Adler-Nissen (1986) como sendo o número de ligações peptídicas hidrolisadas, expresso em equivalentes de hidrólise (h), em relação ao número total de ligações peptídicas antes da reação ( $h_{total}$ ). Para a maioria das proteínas,  $h_{total}$  corresponde a 8 moles equiv/kg de proteína, estimado com base na composição de aminoácidos. No caso de proteínas de carne, o valor é 7,6, que foi utilizado no cálculo do valor de GH.

$$GH(\%) = \frac{h}{h_{total}} \times 100 = \frac{V_{NaOH} \times N_b}{MP \times \alpha \times h_{total}} \times 100 \quad (4.1)$$

Onde: h é o número de ligações peptídicas (moles equiv/kg);  $V_{NaOH}$  é o volume da base consumida durante a hidrólise para manter o pH constante (ml);  $N_b$  é a normalidade da base; MP é a massa de proteína (g, determinado em  $N \times$  fator de Kjeldahl); e  $\alpha$  é o grau de dissociação.

Quando uma ligação peptídica é hidrolisada a pH superior a 6,5, o grupo carboxi terminal formado, contribui para o abaixamento do pH. O consumo de base (medido por titulação contínua), necessário para manter o pH constante ao longo da reação, é utilizado no cálculo do GH. Considerando que o pK médio dos grupos amino seja constante, deverá existir uma proporcionalidade entre a liberação de prótons (igual ao consumo de base) e a quantidade de ligações peptídicas clivadas. O fator de proporcionalidade é o grau de dissociação dos grupos  $\alpha$ -amino ( $\alpha$ ):

$$\alpha = \frac{1}{1 + 10^{pK - pH}} \quad (4.2)$$

Onde: pH é constante e pK varia com a temperatura na qual a reação é conduzida.

O valor de pK, de acordo com Steinhart & Beychok (1964<sup>2</sup> apud KRISTINSSON e RASCO, 2000b), pode ser estimado através da equação (4.3):

$$pK = 7,8 + \frac{298 - T}{298 \times T} \times 2400 \quad (4.3)$$

Onde: T é a temperatura em Kelvin.

<sup>2</sup> STEINHARDT, H.; BEYCHOK, S. Interaction of protein with hydrogen ions and other small ions and molecules. In: H. Neurath (Ed). The proteins, vol. 2. New York: Academic Press, 1964. p. 139-304.

#### 4.2.1.3 Recuperação de Proteína

A recuperação de proteína é definida pela seguinte equação:

$$RP(\%) = \frac{MP_s}{MP} \times 100 = \frac{MP_s}{MP_s + MP_p} \times 100 = \frac{X_{\text{prot},s} \times m_s}{X_{\text{prot},s} \times m_s + X_{\text{prot},p} \times m_p} \times 100 \quad (4.4)$$

Onde: RP é a recuperação de proteína (%); MP é a massa de proteína total (g); MP<sub>s</sub> é a massa de proteína no sobrenadante (g); MP<sub>p</sub> é a massa de proteína no precipitado (g); X<sub>prot, s</sub> é o conteúdo de proteína no sobrenadante (g proteína/g sobrenadante); X<sub>prot, p</sub> é o conteúdo de proteína no precipitado (g proteína/g precipitado); m<sub>s</sub> é a massa de sobrenadante (g); m<sub>p</sub> é a massa de precipitado (g).

O conteúdo de proteína no sobrenadante e no resíduo foi determinado pelo método micro-Kjeldhal (AOAC, 1995).

#### 4.2.2 **Secagem por *Spray Dryer***

Para os experimentos de secagem do hidrolisado proteico, foi utilizado um secador laboratorial com sistema de atomização (mini *spray dryer*) (modelo B191, BÜCHI, Flawil, Suíça), disponível no Laboratório de Tecnologia Pós-Colheita/Secagem (Faculdade de Engenharia Agrícola/Unicamp) (Figura 4.2). O equipamento foi operado usando um bico atomizador tipo duplo fluido com um orifício de 0,7 mm de diâmetro. As dimensões da câmara de secagem são: diâmetro de 110 mm e altura de 435 mm.

O processo de secagem foi realizado com um fluxo de ar comprimido constante de 0,6 m<sup>3</sup>/h e um fluxo de ar de 19 m<sup>3</sup>/h, valores sugeridos pelo fabricante do equipamento. 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. A alimentação do secador foi realizada através de uma bomba peristáltica, cuja porcentagem da velocidade máxima de rotação pode ser ajustada em função da vazão mássica da alimentação.



**Figura 4.2:** *Spray dryer* laboratorial, marca BÜCHI, modelo B-191, utilizado nos ensaios de secagem por atomização.

#### 4.2.2.1 Obtenção de Hidrolisado Proteico em Pó com Diferentes Concentrações de Agente Carreador

Para a etapa do projeto em que foi avaliado o efeito da adição de agente carreador na solução a ser desidratada sobre a estabilidade do produto em pó, as seguintes condições operacionais do secador foram fixadas: temperatura do ar de 180°C e vazão mássica na alimentação 0,2 kg/h (estabelecidos através de testes preliminares). Diferentes formulações do hidrolisado proteico com agente carreador (maltodextrina ou goma arábica) foram testados (Tabela 4.2). O teor de sólidos totais no hidrolisado proteico era de 7,8 g sólidos/100 g hidrolisado. A dissolução do agente carreador foi realizada em um agitador magnético à temperatura ambiente.

**Tabela 4.2:** Formulação do hidrolisado proteico de carne com maltodextrina (MD) ou goma arábica (GA).

	Formulação	Concentração (g MD ou GA/ 100 g solução)	Concentração (g MD ou GA/g sólidos totais)
Puro	0%	0	0
Maltodextrina (MD)	10% MD	10	0,56
	20% MD	20	0,74
	30% MD	30	0,83
Goma arábica (GA)	10% GA	10	0,56
	20% GA	20	0,74
	30% GA	30	0,83

#### 4.2.2.2 Planejamento Experimental

Na última parte do projeto, foi estudado o efeito dos parâmetros operacionais do secador (temperatura do ar de entrada  $T_{ent}$  e vazão mássica da alimentação  $\dot{m}_{alim}$ ) sobre o desempenho do secador e sobre a atividade antioxidante e propriedades físico-químicas do produto em pó. Os intervalos das variáveis utilizadas nos experimentos foram definidos através de ensaios preliminares. Foi realizado um delineamento composto central rotacional (DCCR), com pontos centrais (nível 0) e pontos axiais (níveis  $\pm \alpha$ ), totalizando 11 ensaios, conforme mostra Tabela 4.3. Durante os experimentos, foram monitoradas a umidade relativa, a temperatura ambiente e a temperatura do ar na entrada e na saída do sistema, de forma a se analisar o desempenho do equipamento. Nesta etapa, o hidrolisado proteico foi formulado com 10% de maltodextrina, concentração escolhida com base nos resultados obtidos na etapa anterior.

Para a elaboração dos modelos, foi utilizado o *software* Statistica 5.0 (Statsoft, Tulsa, EUA), com a finalidade de assegurar a validade dos coeficientes dentro de um nível de confiança de 90%, através de análises estatísticas apropriadas. Após a análise estatística dos coeficientes, foi realizada uma análise de variância (ANOVA), que consiste na avaliação do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e do teste F, verificando se o modelo apresenta um ajuste adequado aos dados experimentais.

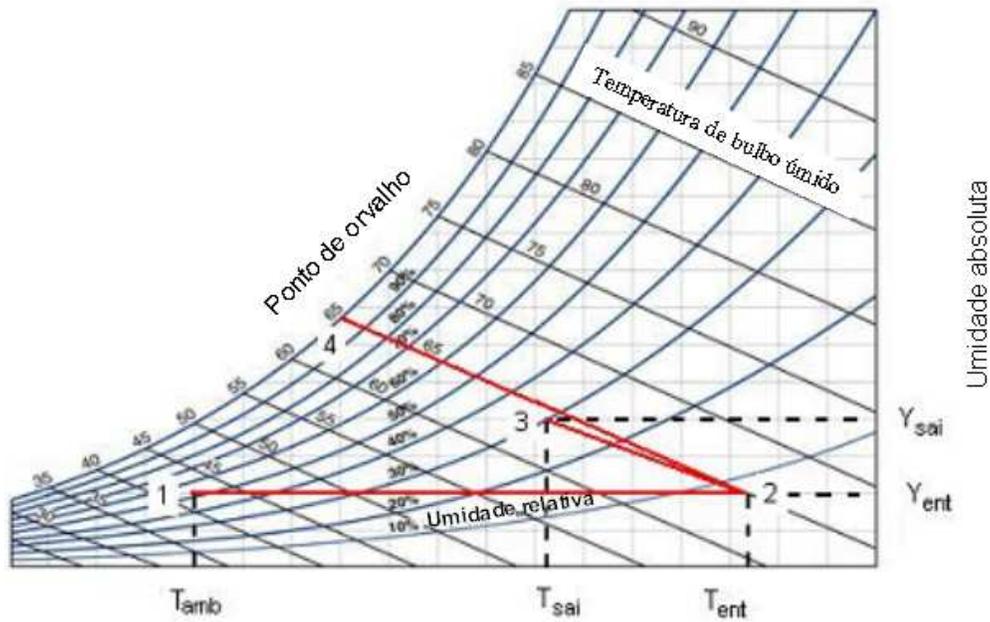
**Tabela 4.3:** Ensaios do planejamento experimental, variando os parâmetros temperatura do ar de entrada e vazão mássica da alimentação.

Ensaio	Variáveis Independentes			
	Codificado		Real	
	$T_{ent}$ (°C)	$\dot{m}_{alim}$ (kg/h)	$T_{ent}$ (°C)	$\dot{m}_{alim}$ (kg/h)
1	-1	-1	132	0,14
2	1	-1	188	0,14
3	-1	1	132	0,34
4	1	1	188	0,34
5	-1,41	0	120	0,24
6	1,41	0	200	0,24
7	0	-1,41	160	0,10
8	0	1,41	160	0,38
9	0	0	160	0,24
10	0	0	160	0,24
11	0	0	160	0,24

### 4.2.3 Desempenho do Secador

#### 4.2.3.1 Propriedades Psicrométricas

As propriedades psicrométricas do ar ambiente foram determinadas medindo-se a temperatura de bulbo seco ( $T_{amb}$ ) e a umidade relativa (UR) próximas à entrada de ar do ventilador. Estes dados foram coletados usando-se um termohigrômetro digital (Testo, modelo 635, Lenzkirch, Alemanha). A umidade absoluta do ar de entrada ( $Y_{ent}$ ) foi determinada com o auxílio de uma carta psicrométrica para a cidade de Campinas (altitude de 640 m) a partir dos dois parâmetros de entrada (Figura 4.3). Na Tabela 4.4 encontram-se estes dados para cada ensaio de secagem realizado.



**Figura 4.3:** Representação da etapa de aquecimento e resfriamento do ar de secagem na carta psicrométrica, onde  $T_{amb}$  é a temperatura do ambiente,  $T_{ent}$  e  $T_{sai}$  são as temperaturas do ar de entrada e de saída no secador e  $Y_{ent}$  e  $Y_{sai}$  são as umidades absoluta do ar de entrada e de saída.

A Figura 4.3 mostra, através de uma carta psicrométrica, o que ocorre com o ar durante a secagem. A linha que une os pontos (1) e (2) constitui a etapa de aquecimento do ar ambiente até a temperatura de secagem. Observa-se que a umidade absoluta do ar é a mesma, independente do seu aquecimento. O ar aquecido entra na câmara de secagem e, devido à evaporação de umidade, a temperatura do ar cai durante a sua passagem pela câmara. Se a câmara estiver bem isolada, as perdas de calor pela parede dela podem ser desprezíveis, e a queda da temperatura do ar segue a linha de resfriamento adiabático [pontos (2) e (4)], como mostrado na Figura 4.3. Uma máxima evaporação de água para um determinado fluxo de ar é obtido quando o ar de saída estiver no estado saturado. Entretanto, isso nunca ocorre na prática (MASTERS, 1972). A linha que une os pontos (2) e (3) constitui a linha de secagem real, na qual o ponto (3) representa o ar de secagem na saída do secador.

**Tabela 4.4:** Dados de umidade relativa (UR) e temperatura do ambiente ( $T_{amb}$ ) para cada ensaio de secagem realizado.

Ensaio	$T_{amb}$ (°C)	UR (%)
1	27,5 ± 0,6	66,7 ± 4,3
2	27,3 ± 0,7	65,3 ± 3,3
3	26,3 ± 0,5	70,8 ± 2,9
4	24,5 ± 0,1	84,0 ± 0,6
5	26,2 ± 0,4	74,7 ± 1,7
6	24,4 ± 0,1	80,9 ± 0,8
7	28,1 ± 0,8	60,9 ± 7,4
8	31,9 ± 0,2	42,9 ± 1,3
9	27,9 ± 0,5	49,1 ± 2,2
10	30,1 ± 0,2	49,0 ± 1,3
11	31,0 ± 0,2	46,5 ± 1,4

#### 4.2.3.2 Balanço de Massa (Componente Água)

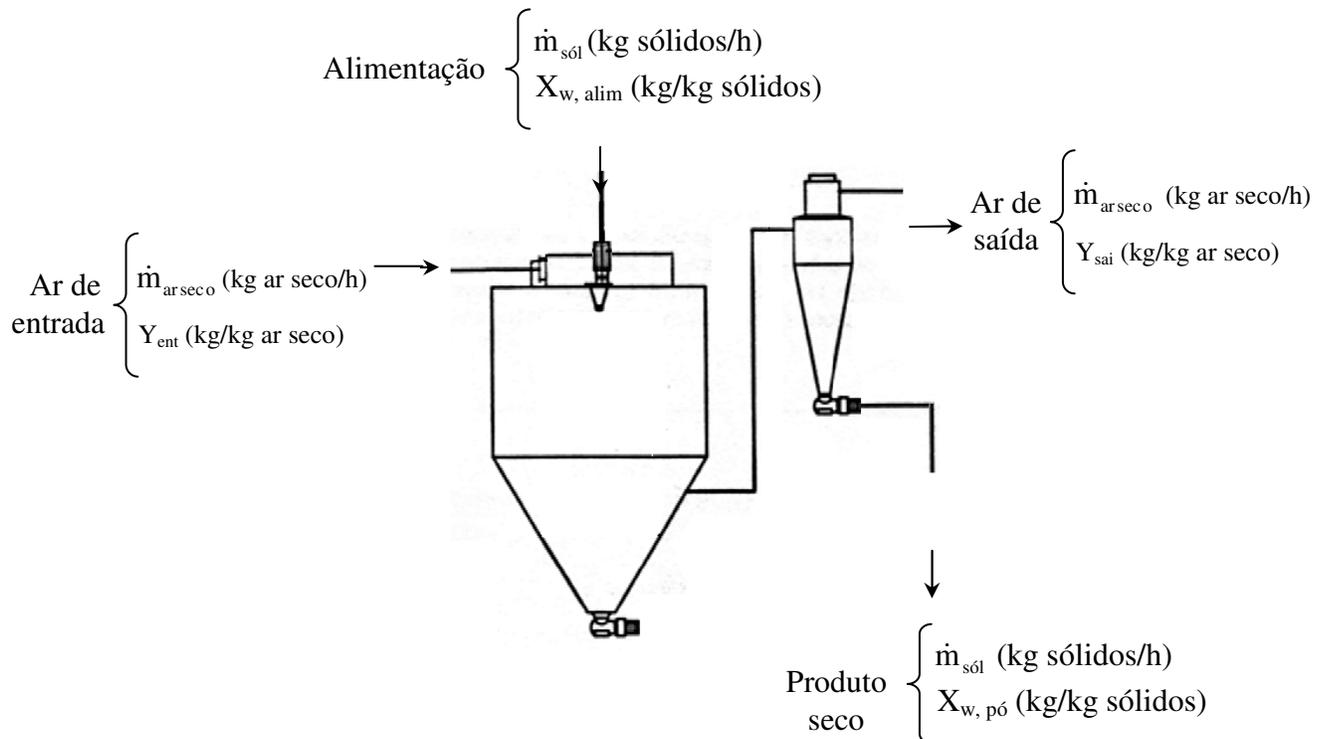
Em um *spray dryer*, considerando desprezível o material aderido na parede do secador, o balanço de massa (Figura 4.4) para o componente água pode ser descrito como:

$$[m_{w, ar} + m_{w, a lim}]_{entrada} = [m_{w, ar} + m_{w, pó}]_{saída} \quad (4.5)$$

$$\dot{m}_{ar seco} \times Y_{ent} + \dot{m}_{sól} \times X_{w, a lim} = \dot{m}_{ar seco} \times Y_{sai} + \dot{m}_{sól} \times X_{w, pó} \quad (4.6)$$

$$\dot{m}_{ev} = \dot{m}_{sól} \times X_{w, a lim} - \dot{m}_{sól} \times X_{w, pó} = \dot{m}_{ar seco} \times Y_{sai} - \dot{m}_{ar seco} \times Y_{ent} \quad (4.7)$$

Onde:  $m_{w, ar}$ ,  $m_{w, alim}$  e  $m_{w, pó}$  são as massas de água presentes no ar, alimentação e produto em pó, respectivamente (kg);  $\dot{m}_{ar seco}$ ,  $\dot{m}_{sól}$  e  $\dot{m}_{ev}$  são as vazões mássicas do ar seco, de sólidos e de água evaporada, respectivamente (kg/h);  $Y_{ent}$  e  $Y_{sai}$  são as umidades absoluta do ar de secagem na entrada e na saída do secador (kg água/kg ar seco), respectivamente; e  $X_{w, alim}$  e  $X_{w, pó}$  são as frações mássicas (kg/kg sólidos) de água presente na alimentação e no pó, respectivamente.



**Figura 4.4:** Esquema do balanço de massa (para o componente água) em um *spray dryer*.

Para a determinação da vazão mássica do ar de secagem, foi utilizado anemômetro digital (modelo 8330-M, TSI Incorporated, St. Paul, MN, EUA) para medição da velocidade do ar na saída do secador, cuja área transversal é de  $9,62 \times 10^{-4} \text{ m}^2$ . O sensor do anemômetro foi posicionado no centro da tubulação, visando determinar a velocidade máxima do ar ( $v_{ar, máx}$ ) na tubulação para cada ensaio de secagem. Através do cálculo do número de Reynolds observou-se que, para todos os ensaios, o fluxo de ar era turbulento. Desta forma, a velocidade média do ar ( $\bar{v}_{ar}$ ) foi considerada como sendo:

$$\bar{v}_{ar} = 0,8 \times v_{ar, máx} \quad (4.8)$$

Para o cálculo da vazão mássica do ar ( $\dot{m}_{ar\ seco}$ ), usou-se a seguinte equação:

$$\dot{m}_{ar\ seco} = \rho_{ar} \times \bar{v}_{ar} \times S \quad (4.9)$$

Onde:  $\rho_{ar}$  é a densidade do ar na saída do secador ( $\text{kg ar seco/m}^3$ );  $\bar{v}_{ar}$  é a velocidade média do ar na saída do secador; e a  $S$  é a área transversal da saída do secador.

Os valores da velocidade média do ar e da vazão mássica do ar para cada ensaio encontram-se na Tabela 4.5.

**Tabela 4.5:** Dados da velocidade média do ar na saída do secador ( $\bar{v}_{\text{ar}}$ ) e da vazão mássica do ar ( $\dot{m}_{\text{ar seco}}$ ) calculada para cada ensaio de secagem realizado.

Ensaio	$\bar{v}_{\text{ar}}$ (m/s)	$\dot{m}_{\text{ar seco}}$ (kg/h)
1	3,7	11,1
2	2,4	6,4
3	3,8	11,7
4	3,4	9,4
5	3,7	11,2
6	2,9	7,6
7	3,0	8,4
8	4,4	12,6
9	4,0	11,6
10	3,8	10,8
11	3,7	10,6

#### 4.2.3.3 Balanco de Energia

O balanço de energia em um *spray dryer* pode ser descrito como:

$$Q_1 = \sum_{i=2}^5 Q_i \quad (4.10)$$

Onde:

$Q_1$  é o calor fornecido pelo ar de secagem ao sistema;

$Q_2$  é o calor sensível necessário para aquecer a solução atomizada da temperatura da alimentação ( $T_{\text{alim}}$ ) até a temperatura de bulbo úmido ( $T_{\text{bu}}$ ) do ar de secagem;

$Q_3$  é o calor latente necessário para evaporar a água;

$Q_4$  é o calor sensível necessário para aquecer o produto em pó próximo à temperatura do ar de saída ( $T_{sai}$ );

$Q_5$  é o calor perdido com o ar de saída, pela parede da câmara de secagem e por outras regiões do secador, tais como flanges, e foi calculado por diferença.

Cada parcela de calor pode ser calculada através das seguintes equações:

$$Q_1 = \dot{m}_{ar\,sec\,o,\,ent} \times C_{p_{ar,\,ent}} \times (T_{ent} - T_{amb}) \quad (4.11)$$

$$Q_2 = \dot{m}_{a\,lim} \times C_{p_{a\,lim}} \times (T_{bu} - T_{a\,lim}) \quad (4.12)$$

$$Q_3 = \dot{m}_{ev} \times \lambda_{vap,\,T_{bu}} \quad (4.13)$$

$$Q_4 = \dot{m}_{pó} \times C_{p_{pó}} \times (T_{sai} - T_{bu}) \quad (4.14)$$

Onde:  $C_p$  é o calor específico (kcal/kg °C),  $\dot{m}$  é a vazão mássica (kg alimentação/h),  $Q$  é o calor (kcal/h),  $T$  é a temperatura (°C) e  $\lambda_{vap,\,T_{bu}}$  é a entalpia de vaporização na temperatura de bulbo úmido (kcal/kg). Os subscritos amb, alim, pó, ev, ent e sai são referentes ao ambiente, alimentação, produto em pó, água evaporada, entrada do secador e saída do secador, respectivamente.

#### 4.2.3.4 Rendimento de Secagem

O rendimento de secagem foi determinado como sendo a razão entre a massa de sólidos no produto em pó e a massa de sólidos no hidrolisado utilizado na alimentação do secador. O cálculo foi feito através da seguinte equação:

$$RS(\%) = \frac{m_{sól,pó}}{m_{sól,a\,lim}} \times 100 = \frac{m_{pó} \times X_{sól,pó}}{m_{a\,lim} \times X_{sól,a\,lim}} \times 100 \quad (4.15)$$

Onde: RS é o rendimento de secagem,  $m$  é a massa (g), e  $X_{sól}$  é o conteúdo de sólidos (g sólidos/g pó ou alimentação). Os subscritos sólidos pó e líq são referentes ao produto em pó obtido e ao líquido utilizado na alimentação do secador.

#### 4.2.3.5 Eficiência Térmica

A eficiência térmica do processo foi definida como sendo a razão entre o calor efetivamente utilizado no processo de secagem pelo calor total fornecido ao sistema (MASTERS, 1972; SOUZA; OLIVEIRA, 2006).

$$\eta = \left( \frac{Q_2 + Q_3 + Q_4}{Q_1} \right) \times 100 \quad (4.16)$$

Onde:  $\eta$  é a eficiência térmica (%).

#### 4.2.3.6 Produtividade do Secador

A produtividade do processo foi definida como a relação entre a energia fornecida ao sistema por vazão mássica da evaporação de água (SOUZA; OLIVEIRA, 2006).

$$PS = \frac{Q_1}{\dot{m}_{ev}} \quad (4.17)$$

Onde: PS é a produtividade do sistema (kcal/kg água evaporada).

### 4.2.4 **Isotermas de Sorção**

As umidades de equilíbrio de hidrolisado proteico de carne em pó foram determinadas pelo método gravimétrico estático. Cerca de 1 g de amostra foi pesado em cadinhos de alumínio e colocado em potes plásticos herméticos, contendo soluções salinas saturadas em água destilada, para uma determinada faixa de atividade de água (Tabela 4.6) a 25°C.

As amostras, com umidade relativa previamente determinada, foram pesadas em balança analítica em intervalos regulares de tempo até o equilíbrio. Alcançado o equilíbrio, as amostras foram levadas para estufa a vácuo a uma temperatura de 70°C durante 48 h para se obter sua massa seca, utilizada no cálculo da umidade de equilíbrio.

**Tabela 4.6:** Atividade de água relacionada às soluções salinas saturadas a 25°C.

Sal	$a_w$
LiCl	0,113
CH <sub>3</sub> COOK	0,176
MgCl <sub>2</sub>	0,328
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0,432
Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0,529
KI	0,689
NaCl	0,753
KCl	0,843

Fonte: GREENSPAN (1977).

Para o ajuste das isotermas do hidrolisado em pó, foram testados diversos modelos encontrados na literatura (Equações 4.18 a 4.23) e descritos a seguir:

**a) Modelo de BET:** Derivada de uma simples extensão e generalização da teoria de Langmuir de adsorção unimolecular, o modelo de BET clássico (Equação 4.18) (BRUNAUER; EMMET; TELLER, 1938) é um modelo de três parâmetros.

$$X_e = \frac{X_m C_{BET} a_w [1 - (n+1)(a_w)^n + n(a_w)^{n+1}]}{(1 - a_w) [1 + (C_{BET} - 1)a_w - C_{BET} (a_w)^{n+1}]} \quad (4.18)$$

Onde:  $X_e$  é a umidade de equilíbrio (g água/g sólidos);  $X_m$  é a umidade na monocamada molecular (g água/g sólidos);  $C_{BET}$  é a constante do modelo de BET relacionada ao calor de sorção da camada molecular e  $n$  é o número de camadas moleculares adsorvidas.

Em sua publicação, Brunauer, Emmet e Teller (1938) também derivaram um modelo modificado (Equação 4.19), considerando uma condensação de um número infinito de camadas  $n$ . Esse modelo apresenta um bom ajuste para atividade de água entre 0,1 e 0,5 (JONQUIÈRES, FANE, 1998).

$$X_e = \frac{X_m C_{BET} a_w}{(1 - a_w) (1 - a_w + C_{BET} a_w)} \quad (4.19)$$

**b) Modelo de GAB (Guggenheim – Anderson - De Boer):** Constitui uma extensão do modelo de BET com dois parâmetros, resultando numa equação com três parâmetros, permitindo um melhor ajuste dos dados de sorção dos alimentos até atividade de água de 0,9. A equação de GAB é descrita como (VAN DEN BERG, 1984):

$$X_e = \frac{X_m C_{GAB} K_{GAB} a_w}{[(1 - K_{GAB} a_w)(1 - K_{GAB} a_w + C_{GAB} K_{GAB} a_w)]} \quad (4.20)$$

Onde:  $C_{GAB}$  e  $K_{GAB}$  são as constantes do modelo de GAB relacionadas com as interações energéticas entre as moléculas da monocamada e as subsequentes, em um dado sítio de sorção.

**c) Modelo de Chung e Pfost:** Modelo baseado na premissa que a variação na energia livre para a absorção está relacionada com o conteúdo de umidade (CHUNG, PFOST, 1967).

$$\ln(a_w) = -\frac{A}{RT} \exp(-BX_e) \quad (4.21)$$

Onde: A e B são constantes do modelo, T é a temperatura (K) e R é a constante universal dos gases (J/mol.K).

**d) Modelo de Halsey:** Essa equação considera a condensação da multicamada a uma distância relativamente grande da superfície (HALSEY, 1948):

$$a_w = \exp\left[\frac{-A}{X_e^B}\right] \quad (4.22)$$

Onde: A e B são constantes do modelo.

**e) Modelo de Henderson:** É uma equação muito utilizada para prever a curva de sorção de alimentos e pode ser escrita como (HENDERSON, 1952):

$$1 - a_w = \exp(-k' X_e^{n'}) \quad (4.23)$$

Onde:  $k'$  e  $n'$  são constantes das equações acima.

Os parâmetros destas equações foram determinados através de uma análise de regressão não linear dos dados experimentais, realizada pelo *software* Statistica 5.0 (Statsoft, Tulsa, EUA), usando como métodos de ajuste os modelos Quasi-Newton e Simplex. Os critérios de escolha dos melhores ajustes dos dados experimentais aos modelos foram o coeficiente de determinação entre as respostas observadas e os valores preditos pelo modelo e o módulo do desvio relativo médio E (Equação 4.26).

#### **4.2.5 Temperatura de Transição Vítre**

As temperaturas de transição vítre para hidrolisados proteicos com diferentes atividades de água foram determinadas. Para isso, cerca de 5 mg de amostra em pó foram colocadas em cápsulas de alumínio de 20 µl e armazenadas em potes herméticos com soluções salinas saturadas em água destilada, para uma determinada faixa de atividade de água (Tabela 4.6) a 25°C. Alcançado o equilíbrio, as cápsulas de alumínio foram pesadas e fechadas hermeticamente.

As análises foram feitas em triplicata e a temperatura de transição vítre calculada com a ajuda do programa “Universal Analysis” (versão 2.6 – TA Instruments, New Castle, EUA) fornecido pelo fabricante.

O calorímetro empregado foi um TA-MDSC-2920 (TA Instruments, New Castle, EUA) com resfriamento controlado por um resfriador mecânico RCS (Refrigerated Cooling Accessory). Para temperaturas inferiores a -70°C, foi utilizado nitrogênio líquido. A calibração do equipamento foi feita com índio ( $T_{\text{fusão}} = 156,6^{\circ}\text{C}$ ) e uma verificação foi realizada com azobenzol ( $T_{\text{fusão}} = 68,0^{\circ}\text{C}$ ), utilizando-se hélio como gás de purga, com vazão constante de 25 ml/min.

Inicialmente, a amostra foi resfriada à  $-10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  até  $-70^{\circ}\text{C}$ , mantendo-se esta temperatura por 3 minutos e, em seguida, foi aquecida até  $80^{\circ}\text{C}$  à uma taxa de  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  (ou outros valores de temperatura mínima e máxima, que foram estabelecidos de acordo com testes preliminares, onde se verifique uma transição vítre).

Para descrever o efeito plasticizante da água no hidrolisado proteico de carne de frango, o modelo de Gordon-Taylor (GORDON; TAYLOR, 1952) foi ajustado aos valores experimentais de temperatura de transição vítrea:

$$T_g = \frac{X_{sól} T_{g,sól} + k X_w T_{g,w}}{X_{sól} + k X_w} \quad (4.24)$$

Onde:  $T_g$ ,  $T_{g,sól}$  e  $T_{g,w}$  são as temperaturas de transição vítrea da mistura, do sólido puro e da água (°C), respectivamente;  $X_{sól}$  e  $X_w$  são os teores mássicos de sólido e de água na mistura (g água ou g sólidos/g total); e  $k$  é uma constante. A  $T_{g,w}$  foi considerada como sendo – 135°C (JOHARI et al., 1987).

Os parâmetros da equação (4.26) foram obtidos através de uma regressão não-linear, utilizando o *software* Statistica 5.0 (Statsoft, Tulsa, EUA).

## 4.2.6 Análises Físico-Químicas

### 4.2.6.1 Composição Centesimal

Para a matéria-prima, foram determinados umidade, cinzas, proteínas e lipídeos, segundo metodologia da AOAC (1995). A umidade foi determinada gravimetricamente usando estufa a vácuo a 70°C por 48 h. O teor de cinzas foi obtido usando uma mufla a 550°C por 24 h. Os conteúdos de proteínas e de lipídeos foram determinados através dos métodos de Kjeldahl e Bligh e Dyer. As análises foram feitas em triplicata.

### 4.2.6.2 Aminoácidos Totais

A análise de aminoácidos totais do peito de frango e do hidrolisado proteico foi realizada no Laboratório de Fontes Proteicas (Departamento de Alimentos e Nutrição/ Faculdade de Engenharia de Alimentos/Unicamp). Inicialmente, as amostras sofreram hidrólise ácida com HCl 6N / fenol 0,1%, a 110°C por 20 horas, de acordo com método Pico-Tag descrito por White, Hart e Fry (1986). Em seguida, realizou-se a derivatização das amostras com 20 µl de solução de etanol : água : trietilamina : fenilisotiocianato (7:1:1:1, v/v) por 20 minutos a temperatura ambiente. Após a derivação na pré-coluna, os

aminoácidos foram identificados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) em coluna de fase reversa (modelo PCX 3100, Pickering Laboratories, Mountain View, EUA).

O conteúdo de triptofano foi determinado após a hidrólise enzimática das amostras com pronase a 40°C durante 24 horas, seguida de reação colorimétrica com solução de p-metilamino benzaldeído, em ácido sulfúrico 21,2N, a temperatura ambiente por 6 horas. A leitura foi realizada a 590 nm utilizando um espectrofotômetro (Bechman Coulter, modelo DU640, Fullerton, EUA) e a quantificação do aminoácido feita com base em uma curva padrão de triptofano (SPIES, 1967).

#### 4.2.6.3 Eletroforese em Gel de Poliacrilamida

A determinação do perfil eletroforético da carne de frango foi realizada no Laboratório Central de Bioquímica Nutricional (Departamento de Alimentos e Nutrição/Faculdade de Engenharia de Alimentos/Unicamp). Para essa análise, seguiu-se a metodologia de Laemmli (1970), utilizando gel de separação com 12% de acrilamida e de empilhamento com 4%. As amostras liofilizadas de carne foram diluídas em uma solução tampão com dodecil sulfato de sódio (SDS) a uma concentração de 0,4% de proteína, sendo aplicados 5 µL desta solução no sistema.

Para o hidrolisado proteico, o seu perfil eletroforético foi obtido de acordo com a metodologia de Schagger e Jagow (1987), utilizando um gel de separação com 15,5% de acrilamida e de empilhamento com 4%. As amostras liofilizadas do hidrolisado foram diluídas em uma solução tampão com dodecil sulfato de sódio (SDS) a uma concentração de 1% de proteína, sendo aplicados 20 ou 40 µL desta solução no sistema. Essa metodologia apresenta uma boa resolução para peptídeos na faixa de 1 a 100 kDa.

As análises foram realizadas em um sistema Mini-protein II. O perfil de massa molecular de proteínas e peptídeos foi determinado utilizando-se o padrão de marcadores de massa molecular Sigma Chemical (Saint Louis, EUA): triose-fosfato isomerase de músculo de coelho (26,6 kDa); mioglobina de coração de cavalo (17,0 kDa);  $\alpha$ -lactalbumina de leite bovino (14,2 kDa) e aprotinina de pulmão bovino (6,5 kDa); e o padrão da Bio-Rad Laboratories (Hercules, EUA): fosforilase (97,4 kDa); albumina sérica

(66,2 kDa); ovalbumina (45,0 kDa); anidrase carbônica (31,0 kDa); inibidor de tripsina (21,5 kDa) e lisozima (14,4 kDa).

#### 4.2.6.4 Atividade Antioxidante – Método da Captura do Radical Livre DPPH

A atividade antioxidante dos hidrolisados proteicos em pó foi determinada, para verificar a influência das variáveis operacionais do secador (temperatura do ar de secagem e vazão mássica da alimentação) sobre esta resposta. As análises foram realizadas em triplicatas.

Previamente à análise da atividade antioxidante pelo método da captura do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), foi necessário realizar a extração com etanol dos peptídeos e aminoácidos das amostras de hidrolisado proteico em pó. Esta etapa foi importante, devido ao fato da maltodextrina presente nas amostras ser insolúvel em etanol, acarretando uma turbidez na solução e, conseqüentemente, impedindo a leitura da solução no espectrofotômetro após a reação com DPPH.

O extrato etanólico foi obtido de acordo com a metodologia modificada descrita por Tsaliki, Lagouri e Doxastakis (1999). Inicialmente, 1 g das amostras de hidrolisado proteico em pó foi colocado em tubos com rosca e suspenso em 10 ml de solução aquosa de etanol (90% v/v, determinada através de testes preliminares). Os tubos foram agitados em um agitador de tubos por 10 minutos. Em seguida, as soluções foram levadas em banho a 50°C por 1 hora e a 65°C por 5 minutos. Os extratos foram centrifugados a 10000 g (modelo Allegra 25R, Beckman Coulter, Fullerton, EUA) por 20 minutos e filtrados em papel de filtro.

A atividade antioxidante pelo método da captura do radical livre DPPH dos extratos etanólicos foi determinada de acordo com a metodologia de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995) com algumas modificações. A reação foi realizada com 1,0ml do extrato etanólico e 3,0 ml de 0,06 mM de DPPH (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, EUA) dissolvido em etanol anidro. Esta mistura foi agitada vigorosamente em um agitador de tubos e mantida por 60 minutos no escuro. As leituras de absorbância das amostras foram feitas a 517nm. Etanol anidro foi utilizado para calibrar o espectrofotômetro (DU-7-B340, Beckman, Krefeld, Alemanha). O branco foi preparado do mesmo modo que a amostra,

exceto que etanol 90% foi usado no lugar da amostra. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em % e calculados a partir da equação:

$$AA = \frac{Ab_{\text{amostra}}}{Ab_{\text{branco}}} \times 100 \quad (4.25)$$

Onde:  $Ab_{\text{amostra}}$  e  $Ab_{\text{branco}}$  são as absorbâncias medidas das amostras e do branco.

#### 4.2.6.5 Distribuição de Tamanho de Partículas

A análise da distribuição de tamanho de partículas do hidrolisado proteico em pó foi determinada por difração a laser no equipamento Laser Scattering Spectrometer Mastersizer (modelo MAM 5005, marca Malvern Instruments LTD, Worcestershire, Reino Unido), disponível no Laboratório de Recursos Analíticos e de Calibração (Faculdade de Engenharia Química/Unicamp). O diâmetro médio foi determinado baseado no diâmetro médio de uma esfera de mesmo volume (diâmetro de De Brouckere  $D_{4,3}$ ). Para essa análise, uma pequena quantidade do produto em pó foi dispersa em etanol 99,5% e submetida a 5 leituras de distribuição de tamanho de partículas.

#### 4.2.6.6 Densidade Volumétrica (*Bulk Density*)

A determinação da densidade volumétrica das partículas foi realizada através da medida do volume ocupado por 2 g da amostra em pó em uma proveta graduada de 50 ml (GOULA; ADAMOPOULOS, 2004).

#### 4.2.6.7 Microscopia Eletrônica de Varredura

Para análise da microestrutura do hidrolisado proteico em pó, uma pequena quantidade do material foi observada em um microscópio eletrônico de varredura (modelo LEO440i, Leica, Bensheim, Alemanha), disponível no Laboratório de Recursos Analíticos e de Calibração (Faculdade de Engenharia Química/Unicamp). As amostras foram fixadas em porta-espécimens metálicos (*stubs*) de 12 mm de diâmetro e 10 mm de altura,

utilizando-se fita adesiva de dupla face. Uma vez que as amostras analisadas não são metálicas, foi necessário realizar uma metalização (*sputtering*), cobrindo-as com uma camada fina de ouro, utilizando-se o processo de evaporação de ouro a vácuo em um aparelho metalizador. Para esse processo, foi aplicada uma corrente de 40 mA durante 180 segundos, tendo como gás de arraste o argônio a um vácuo de 0,05 mbar. As amostras metalizadas foram mantidas em um suporte fechado, dentro de um dessecador, até o momento da análise no microscópio eletrônico de varredura.

#### 4.2.7 Análise Estatística

Para avaliar o ajuste dos dados experimentais aos modelos da literatura, foram utilizados o coeficiente de determinação entre as respostas observadas e os valores preditos pelo modelo e o módulo do desvio relativo médio E, cuja definição encontra-se descrita pela equação:

$$E = \frac{100}{N} \sum_{i=1}^N \frac{|V_p - V_0|}{V_0} \quad (4.26)$$

Onde: E é o desvio relativo médio (%);  $V_p$  são os valores preditos pelo modelo;  $V_0$  são os valores observados experimentalmente; N é o número de pontos experimentais.

Os resultados das análises de aminoácidos e das propriedades físico-químicas do pó foram avaliados estatisticamente através da análise de Variância, aplicando o teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Para isso, foi utilizado o *software* Statistica 5.0 (Statsoft, Tulsa, EUA).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

A caracterização do peito de frango, de acordo com a metodologia descrita no item 4.2.6.1, está apresentada na Tabela 5.1. Comparando-se os resultados obtidos aos reportados pela TACO (2004) e por Torres et al. (2000) (Tabela 3.2), observa-se que o teor de cinzas, de proteínas e a umidade estão próximos aos da literatura. Entretanto, o conteúdo de lipídeos encontra-se bem abaixo dos valores encontrados na literatura.

**Tabela 5.1:** Caracterização físico-química do peito de frango desossado e sem pele.

Análise	Valor médio $\pm$ Desvio padrão (base úmida, %)
Umidade	74,10 $\pm$ 0,14
Cinzas	1,10 $\pm$ 0,01
Proteínas	19,36 $\pm$ 0,94
Lipídeos	1,55 $\pm$ 0,12

As diferenças apresentadas entre os valores obtidos neste trabalho e os da literatura são perfeitamente compreensíveis, pois quando se trabalha com material de origem animal, a sua composição centesimal é função de diversos fatores, tais como: época do ano, região da qual o produto é oriundo, ambiente, linhagem, dentre outros.

### 5.2 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA

#### 5.2.1 Cinética da Hidrólise Enzimática e Modelagem Matemática

O estudo da cinética de hidrólise enzimática de carne de frango foi realizado de acordo com o planejamento fatorial completo, no qual foram realizados 17 ensaios a diferentes temperaturas, razão enzima:substrato e pH, conforme Tabela 4.1.

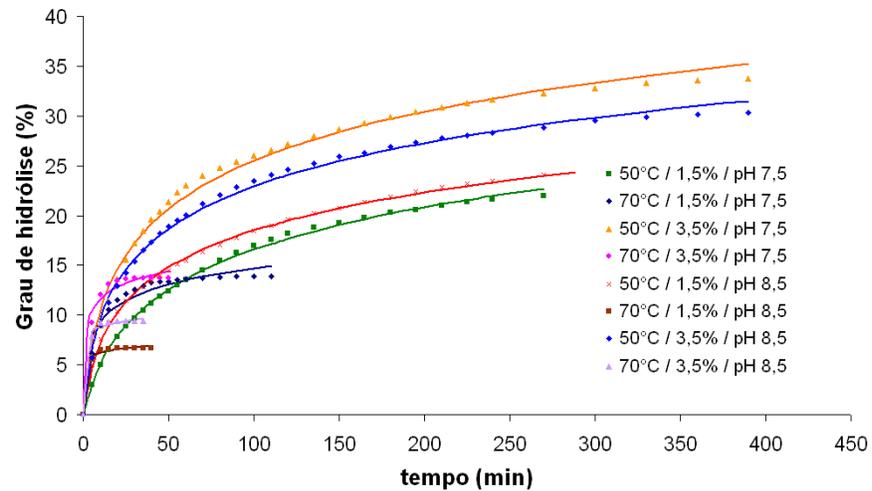
As curvas de cinética de hidrólise enzimática obtidas são mostradas nas Figuras 5.1(a) (ensaios fatoriais), 5.1(b) (ensaios axiais) e 5.1(c) (ensaios centrais), onde se observa uma alta taxa inicial de reação, quando um grande número de ligações é quebrado, seguida

da diminuição da taxa até alcançar uma fase estacionária. Curvas de hidrólise similares foram reportadas para resíduos de lagosta, soro de leite, resíduos de atum, resíduos de camarão, salmão, hemoglobina e capelim (BAEK; CADWALLADER, 1995; GONZÁLEZ-TELLO et al., 1994; GUERARD; GIMAS; BINET, 2002; HOLANDA; NETTO, 2006; KRISTISSON; RASCO, 2000b; MÁRQUEZ; VÁZQUEZ, 1999; SHAHIDI; HAN; SYNOWIECKI, 1995).

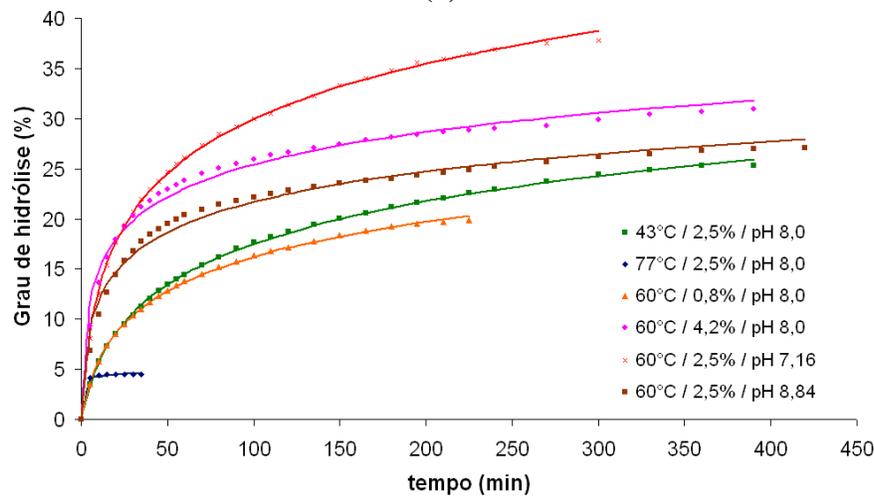
Esse perfil da curva de hidrólise enzimática pode estar associado a diversos fatores, tais como: (1) diminuição da concentração de ligações peptídicas disponíveis para clivagem; (2) competição entre o substrato original e os peptídeos formados durante a reação; (3) diminuição da atividade enzimática, devido à desnaturação da enzima (ADLER-NISSEN, 1986; GONZÁLEZ-TELLO et al., 1994; GUERARD; GIMAS; BINET, 2002).

Pela Figura 5.1(a), observa-se que as curvas dos ensaios realizados a temperatura de 70°C apresentaram rápida clivagem das ligações peptídicas nos primeiros 15 minutos de reação, seguida da sua estabilização a um baixo grau de hidrólise. Isso pode ser explicado pela alta temperatura utilizada nesses ensaios, que pode ter acarretado a desnaturação da enzima. O mesmo perfil pode ser verificado na Figura 5.1(b) para o ensaio 10 (77°C). Analisando os ensaios conduzidos a 50°C (Ensaio 1, 3, 5 e 7), verifica-se que os maiores valores de grau de hidrólise ocorreram a uma razão enzima:substrato de 3,5% p/p (Ensaio 3 e 7).

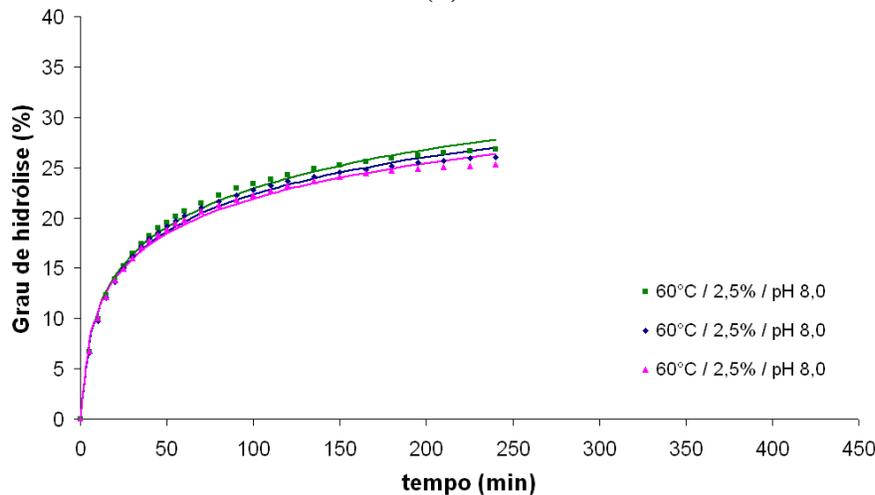
A Figura 5.1(b) mostra que os maiores valores de grau de hidrólise foram obtidos a maiores valores de temperatura (60°C), com exceção do ensaio 11, devido à baixa concentração de enzima utilizada (0,8% p/p). Observa-se que o ensaio 13 (60°C, 2,5% e pH 7,16), mesmo com uma menor concentração de enzima usada, em relação ao ensaio 12 (60°C, 4,2% e pH 8,0), apresentou maior valor de grau de hidrólise. Isso ocorreu provavelmente devido ao efeito do pH sobre a enzima, cuja atividade catalítica é ótima em uma determinada faixa de pH. Os pontos centrais, mostrados na Figura 5.2(c), indicam a boa repetibilidade do processo.



(a)



(b)



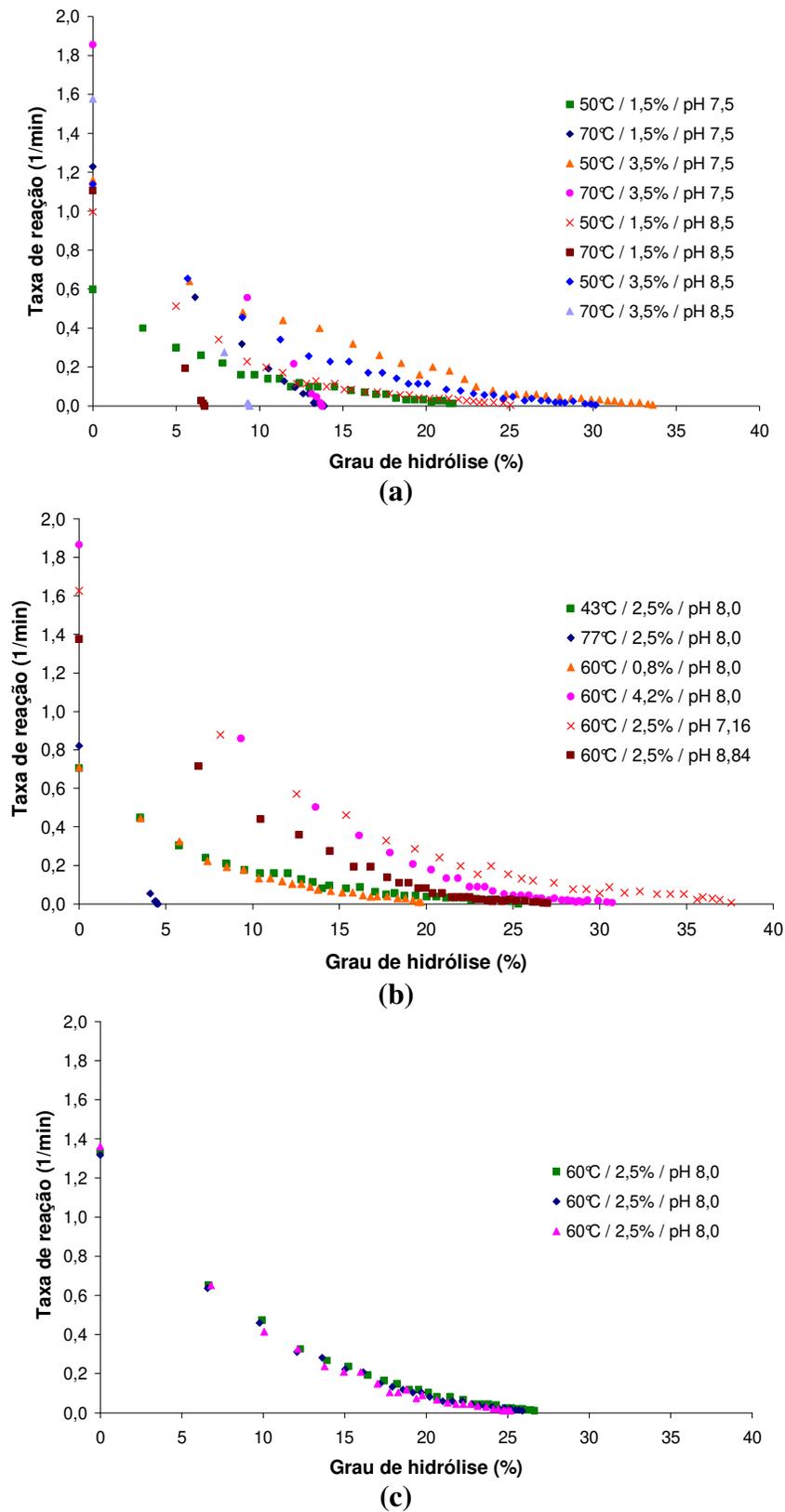
(c)

**Figura 5.1:** Cinética de hidrólise enzimática de carne de frango e ajuste da equação de cinética aos dados experimentais, onde os pontos representam os dados observados e a curva, o modelo ajustado: (a) Ensaio fatoriais; (b) axiais; (c) centrais.

A Figura 5.2 mostra as taxas de reação de hidrólise em função do grau de hidrólise da carne de frango. Observa-se que altas taxas foram obtidas no início da reação, quando o grau de hidrólise da mistura era menor, ou seja, quando havia maior número de ligações peptídicas disponíveis para a hidrólise e menor concentração de peptídeos solubilizados no hidrolisado. Os ensaios 2, 4, 6, 8 e 10 tiveram uma queda abrupta na taxa ao longo da reação, apresentando valores de grau de hidrólise inferiores a 15%. Como foi explicado anteriormente, esse fato está relacionado provavelmente à desnaturação da enzima, causada pela alta temperatura (70 e 77°C).

A modelagem matemática foi realizada a fim de se prever a cinética de hidrólise enzimática de carne de frango, utilizando a protease Alcalase<sup>®</sup>. Para a obtenção dos parâmetros  $a$  e  $b$ , foi realizada uma regressão não-linear da equação de cinética (Equação 3.8) dos dados experimentais de grau de hidrólise e tempo de cada ensaio, usando como método de ajuste o modelo Quasi-Newton e o *software* Statistica (Statsoft, Tulsa, EUA). A Tabela 5.2 ilustra os parâmetros  $a$  e  $b$  obtidos, os coeficientes de determinação  $R^2$  e os erros relativos médios  $E$  (equação 4.26), e as curvas do modelo ajustado estão mostradas na Figura 5.1.

Pela Tabela 5.2, nota-se que o modelo da cinética de hidrólise ajustou-se bem aos dados experimentais, com valores de  $R^2$  superiores a 0,96 e de erro relativo médio inferior a 10%, valores aceitáveis para fins preditivos. Verifica-se que o parâmetro  $a$  variou de 0,77 – 10,55 e o parâmetro  $b$  de 0,12 – 0,21, com exceção dos ensaios 2, 4, 6, 8 e 10, provavelmente devido às altas temperaturas, que acarretaram a desnaturação da enzima no início da reação, apresentando valores de  $a$  muito mais altos que os observados nos demais experimentos.



**Figura 5.2:** Taxa de hidrólise enzimática de carne de frango: (a) Ensaio fatoriais; (b) axiais; (c) centrais.

**Tabela 5.2:** Parâmetros de cinética obtidos dos ensaios de hidrólise enzimática de carne de frango.

Ensaio	Variáveis Independentes			Respostas		R <sup>2</sup>	E (%)
	T (°C)	E/S (%)	pH	a (min <sup>-1</sup> )	b		
1	50	1,5	7,50	0,77	0,15	0,998	1,4
2	70	1,5	7,50	12,16	0,43	0,965	5,3
3	50	3,5	7,50	2,34	0,14	0,993	3,6
4	70	3,5	7,50	134,87	0,57	0,979	4,2
5	50	1,5	8,50	1,45	0,18	0,999	1,3
6	70	1,5	8,50	14930,92	2,03	0,992	2,8
7	50	3,5	8,50	2,25	0,16	0,996	2,2
8	70	3,5	8,50	24926,85	1,46	0,992	2,8
9	43	2,5	8,00	0,90	0,15	0,999	0,8
10	77	2,5	8,00	26914,40	3,22	0,999	1,1
11	60	0,8	8,00	1,09	0,19	0,999	0,9
12	60	4,2	8,00	10,55	0,21	0,989	3,0
13	60	2,5	7,16	3,17	0,12	0,999	0,9
14	60	2,5	8,84	6,02	0,23	0,987	3,7
15	60	2,5	8,00	3,22	0,18	0,994	2,6
16	60	2,5	8,00	3,32	0,19	0,994	2,8
17	60	2,5	8,00	3,68	0,20	0,994	2,5

T: temperatura (°C); E/S: razão enzima:substrato (% p/p); a e b: parâmetros do modelo exponencial; R<sup>2</sup> é o coeficiente de determinação e E é o desvio relativo médio entre os valores predito e experimental.

O modelo proposto para prever a cinética de hidrólise é uma simples equação exponencial. Diversos trabalhos da literatura utilizaram esse modelo, que apresentou um bom ajuste aos dados de cinética de hidrólise de proteína de soro de leite, hemoglobina e farinha de grão-de-bico (CAMACHO; GONZÁLEZ-TELLO; GUADIX, 1998; GONZÁLEZ-TELLO et al., 1994; MÁRQUEZ; VÁZQUEZ, 1999; MORENO; CUADRADO, 1993). Algumas das condições de operação desses trabalhos foram diferentes das utilizadas nesse projeto, indicando que o modelo de cinética é aplicável para diferentes condições de reação e tipos de substrato e enzima.

### 5.2.2 Planejamento Experimental

Para verificar a influência da temperatura T, da relação enzima:substrato E/S e do pH sobre a cinética de hidrólise enzimática, foram avaliados os parâmetros  $a$  e  $b$ , que relacionam as constantes da cinética de hidrólise e de inativação da enzima. Entretanto, como pode ser observado na Tabela 5.2, houve grande variação dos parâmetros  $a$  e  $b$ , com valores variando de 0,77 a 26914,40 e de 0,12 a 3,22, respectivamente. Assim, optou-se por converter as respostas  $a$  e  $b$  para escala logarítmica (Tabela 5.3).

**Tabela 5.3:** Resultados experimentais dos parâmetros cinéticos  $\ln(a)$  e  $\ln(b)$ , bem como do grau de hidrólise e a recuperação de proteína, de acordo com o planejamento experimental.

Ensaio	Variáveis independentes			Variáveis independentes			
	T (°C)	E/S (%)	pH	$\ln(a)$	$\ln(b)$	GH (%)	RP(%)
1	50	1,5	7,5	-0,26	-1,90	21,99	80,21
2	70	1,5	7,5	2,50	-0,84	13,88	64,26
3	50	3,5	7,5	0,85	-1,97	33,79	90,69
4	70	3,5	7,5	4,90	-0,56	13,75	66,37
5	50	1,5	8,5	0,37	-1,71	25,19	83,16
6	70	1,5	8,5	9,61	0,71	6,71	34,72
7	50	3,5	8,5	0,81	-1,83	30,31	91,82
8	70	3,5	8,5	10,12	0,38	9,40	48,57
9	43	2,5	8	-0,11	-1,90	25,31	86,38
10	77	2,5	8	10,20	1,17	4,52	34,56
11	60	0,8	8	0,09	-1,66	19,84	77,60
12	60	4,2	8	2,36	-1,56	30,94	90,66
13	60	2,5	7,16	1,15	-2,12	37,80	85,24
14	60	2,5	8,84	1,80	-1,47	27,12	87,82
15	60	2,5	8	1,17	-1,71	26,79	89,85
16	60	2,5	8	1,20	-1,66	26,05	87,09
17	60	2,5	8	1,30	-1,61	25,31	88,92

T: temperatura (°C); E/S: razão enzima:substrato (%); GH: grau de hidrólise; RP: recuperação de proteína (%).

Também pode ser observado na Tabela 5.3 que a recuperação de proteína solúvel obtida variou de 34,7% a 91,8%. Os altos valores obtidos nesse trabalho podem estar relacionados com a alta razão água:carne (3:1 p/p) utilizada na hidrólise enzimática. De acordo com Liaset et al. (2002) e Surówka e Fik (1994), o baixo conteúdo de água utilizada na homogeneização da carne dificulta a distribuição da enzima na mistura carne-água, inibindo as ligações entre a enzima e o substrato, ocasionando mais ligações entre a enzima e os produtos resultantes da hidrólise.

Para a análise estatística, foram calculados a estimativa dos efeitos sobre as respostas estudadas, o erro padrão, o coeficiente  $t$  e a significância estatística (p-valor). Os valores dos efeitos estimados indicam quanto cada fator influencia na resposta estudada. Quanto maior é o seu valor, maior é a sua influência, e um efeito positivo indica que ao passar de um valor mínimo a um valor máximo da variável, a resposta aumenta. Já um efeito negativo indica o contrário, ou seja, ao passar de um valor mínimo para o valor máximo, a resposta diminui. O coeficiente  $t$  indica o quão grande é a variável em relação ao seu desvio. Assim, quanto maior o valor de  $t$ , maior a probabilidade da variável ser estatisticamente significativa. O valor do coeficiente  $p$  está relacionado ao nível de significância da variável independente sobre a resposta em estudo. Foi escolhido como intervalo de confiança o valor de 90%, ou seja, para valores de  $p$  inferiores a 0,10, a variável foi considerada estatisticamente significativa. Caso contrário, a variável foi considerada como não significativa.

Os efeitos dos fatores lineares, quadráticos e das interações das respostas analisadas, assim como o erro, o coeficiente  $t$  e a significância estatística podem ser vistos no Apêndice A. Após a eliminação dos fatores não-significativos, verificou-se a significância da regressão e da falta de ajuste a um nível de confiança de 90%, através de uma Análise de Variância (ANOVA), utilizando o teste F para o planejamento estudado (Apêndice B).

Os coeficientes de determinação para os modelos ajustados foram 0,942 e 0,970 para as respostas  $\ln(a)$  e  $\ln(b)$ , e de 0,859 e 0,911 para o grau de hidrólise e recuperação de proteína, respectivamente. Estes valores indicam que os modelos obtidos das respostas explicaram 94,2%, 97,0%, 85,9% e 91,1% da variação dos dados observados. De acordo com a Análise de Variância mostrada no Apêndice B, o modelo apresentou regressão significativa ao nível de 90% de confiança.

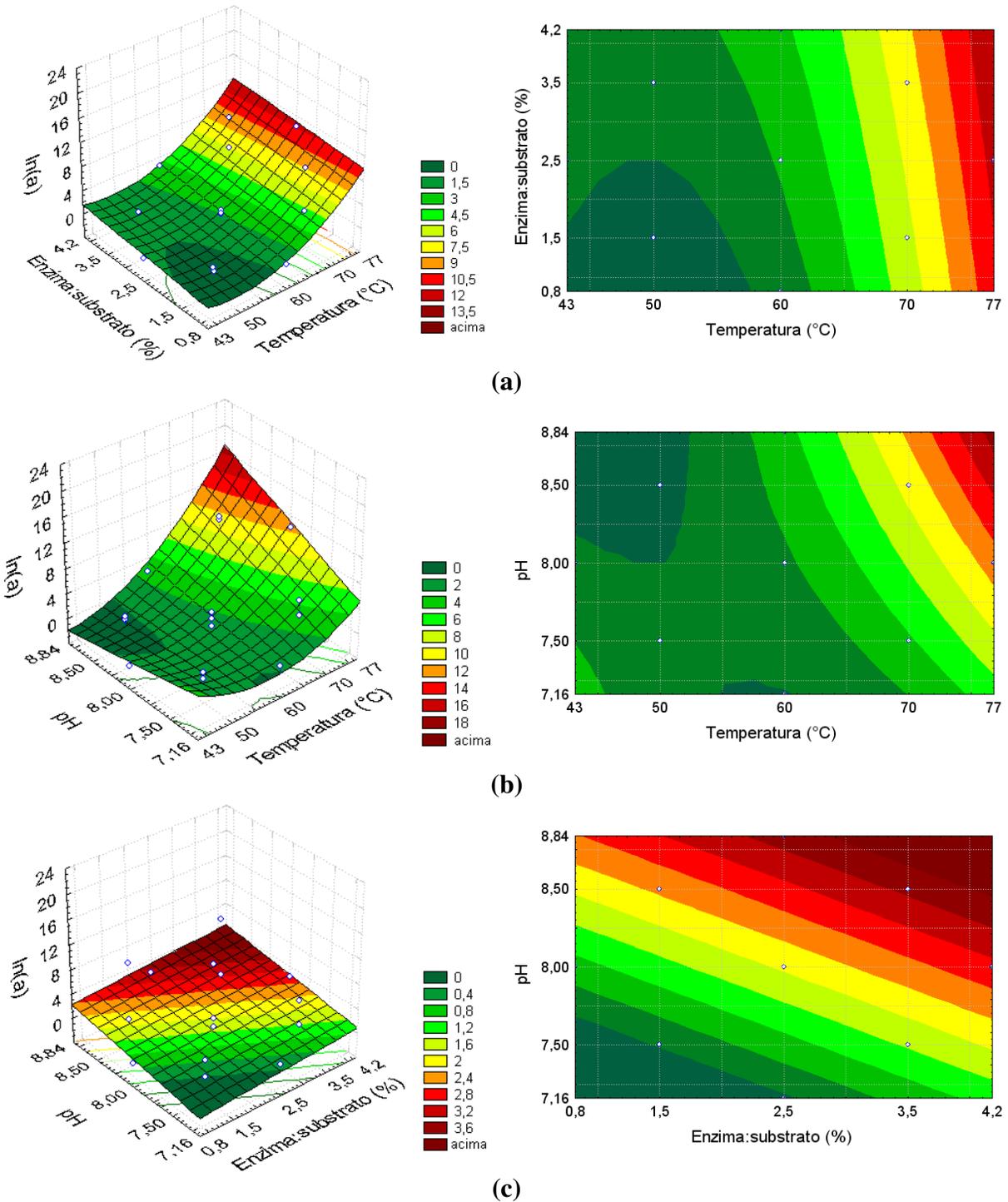
Para que a regressão seja considerada estatisticamente significativa (ou seja, para que o modelo seja considerado preditivo), o  $F_{\text{calculado}}$  deve ser maior que o  $F_{\text{tabelado}}$ , indicando que a variação é explicada pela regressão e não pelos resíduos. O  $F_{\text{calculado}}$  da falta de ajuste em relação ao erro puro, pelo contrário, deve apresentar valor inferior ao  $F_{\text{tabelado}}$ , pois um alto  $F_{\text{calculado}}$  indica que há uma grande falta de ajuste dos dados obtidos. Entretanto, pode ocorrer o contrário, quando há uma boa repetibilidade dos pontos centrais, ou seja, quando o erro puro é muito inferior à falta de ajuste.

As superfícies de resposta e as curvas de nível, geradas através dos modelos obtidos, estão mostradas nas Figuras 5.3 a 5.6, que expressam a interação entre duas variáveis sobre a resposta. A terceira variável foi mantida no ponto central do planejamento.

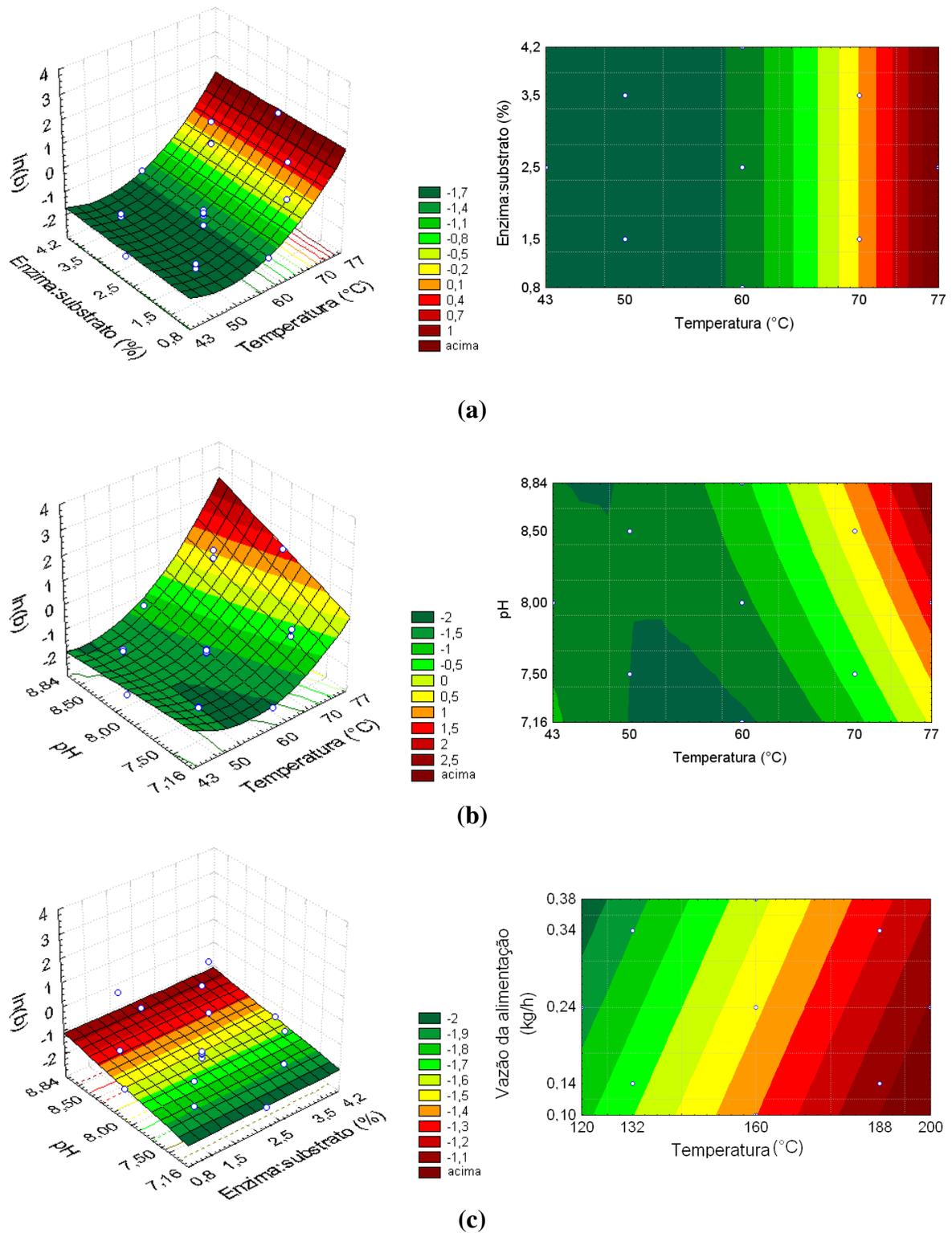
#### 5.2.2.1 Parâmetros Cinéticos $a$ e $b$

Analisando o efeito da relação enzima:substrato sobre a resposta  $\ln(a)$ , observa-se nas Figuras 5.3(a) e 5.3(c) que maiores valores do parâmetro  $a$  são obtidos para altas concentrações de enzima utilizada. Isso pode ser explicado pelo fato desse parâmetro ser função da concentração inicial de enzima, conforme mostra a equação (3.6). Entretanto, pelas Figuras 5.4(a) e 5.4(c), observa-se que o parâmetro  $b$  não apresentou dependência em relação à variável razão enzima:substrato, de acordo com a equação (3.7). Resultados semelhantes foram observados na hidrólise de hemoglobina bovina (MÁRQUEZ; VÁZQUEZ, 1999), farinha de ervilha (MORENO; QUADRADO, 1993) e soro de leite (CAMACHO; GONZÁLEZ-TELLO; GUADIX, 1998; GONZÁLEZ-TELLO et al., 1994).

As Figuras 5.3(a), 5.3(b), 5.4(a) e 5.4(b) mostram a influência da temperatura na reação, onde se observa aumento dos parâmetros  $a$  e  $b$  com a temperatura. O parâmetro  $a$  é diretamente proporcional à constante de hidrólise  $k_h$ , indicando que  $k_h$  é dependente da temperatura. A influência da temperatura sobre a cinética da reação enzimática pode ser entendida em duas fases distintas: no princípio, uma elevação na temperatura produz um aumento na velocidade de reação, por elevar a energia cinética das moléculas componentes do sistema. Isso explica porque mesmo para altas temperaturas, há um aumento da constante de hidrólise enzimática. Entretanto, temperaturas elevadas acarretam a desnaturação da enzima, com perda da sua atividade, ocorrendo estabilização da reação enzimática em baixos valores de grau de hidrólise.



**Figura 5.3:** Influência das variáveis independentes sobre a resposta  $\ln(a)$ : (a) pH 8,0; (b) enzima:substrato de 2,5%; (c) temperatura de 60°C



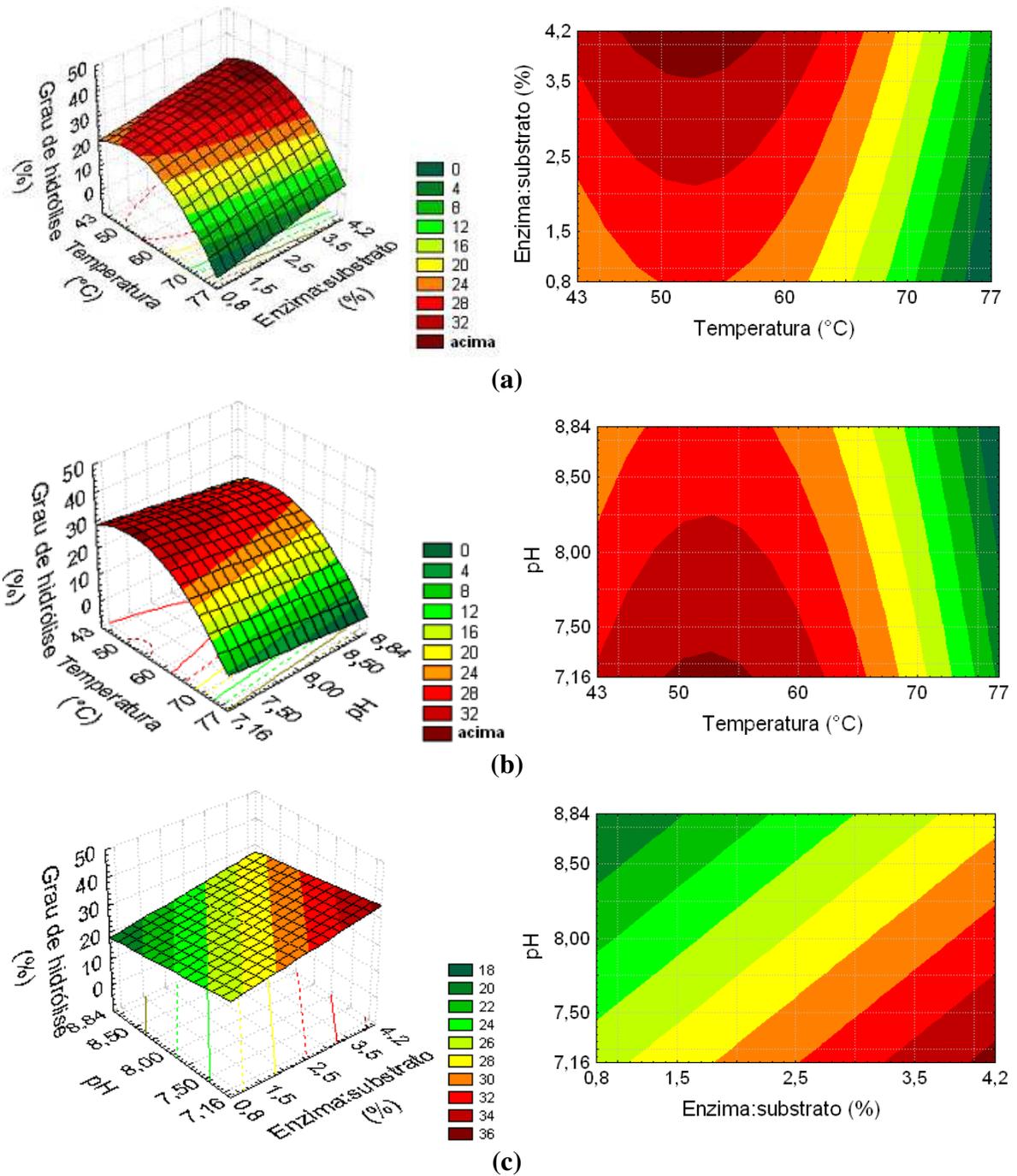
**Figura 5.4:** Influência das variáveis independentes sobre a resposta  $\ln(b)$ : (a) pH 8,0; (b) enzima:substrato de 2,5%; (c) temperatura de 60°C

O parâmetro  $b$  é a razão entre a constante de desnaturação da enzima  $k_d$  com a constante de hidrólise  $k_h$  e através dele é possível verificar a taxa de reação total, ou seja, baixos valores de  $b$  indicam que há uma predominância da reação enzimática sobre a reação de desnaturação da enzima. Por outro lado, altos valores de  $b$  mostram que há uma maior taxa de desnaturação da enzima em relação à reação enzimática. Isso explica porque há um aumento de  $b$  com a temperatura, indicando que está ocorrendo desnaturação da enzima. Márquez e Vázquez (1999), estudando os mecanismos de hidrólise enzimática de hemoglobina bovina, verificaram um efeito positivo da temperatura sobre o parâmetro  $a$  e um efeito negativo sobre o parâmetro  $b$ .

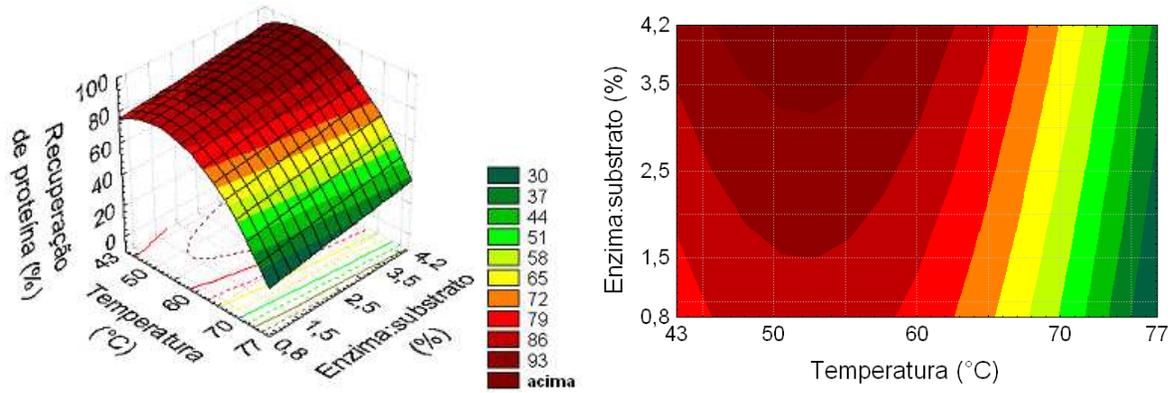
Analisando as Figuras 5.3(b) e 5.4(b), observa-se o efeito da interação  $T \times \text{pH}$ . Para temperaturas inferiores a  $50^\circ\text{C}$  há diminuição das respostas com o aumento do pH, enquanto que para temperaturas acima deste valor, observa-se comportamento inverso, com aumento das respostas com o pH. As Figuras 5.3(c) e 5.4(c) indicam efeito linear positivo do pH sobre os parâmetros cinéticos. O pH é uma variável importante em uma reação enzimática. De acordo com Whitaker (1994), uma mudança do pH em uma reação enzimática pode afetar a estabilidade da enzima, causando desnaturação irreversível em sua estrutura conformacional, resultando em contínua perda da sua atividade. Embora a enzima Alcalase<sup>®</sup> geralmente apresente alta estabilidade em uma ampla faixa de pH, a diminuição de sua atividade pode ocorrer quando o tempo de processo é muito longo (DINIZ; MARTIN, 1998).

#### 5.2.2.2 Grau de Hidrólise e Recuperação de Proteína

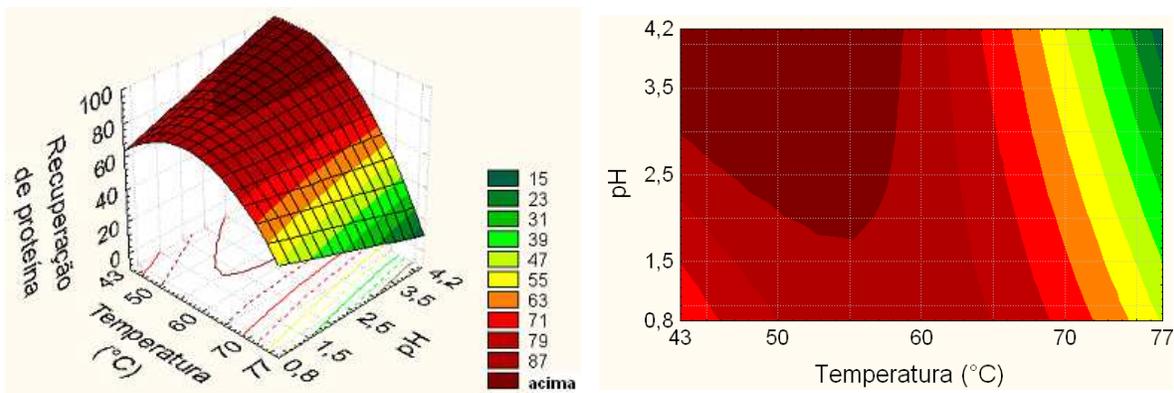
Pelas Figuras 5.5(a), 5.5(b), 5.6(a) e 5.6(b), observou-se um comportamento quadrático do grau de hidrólise com a temperatura, ou seja, há aumento das respostas até um valor máximo de aproximadamente  $52,5^\circ\text{C}$ , ocorrendo em seguida a sua diminuição, devido à desnaturação da enzima, resultando na diminuição da sua atividade enzimática.



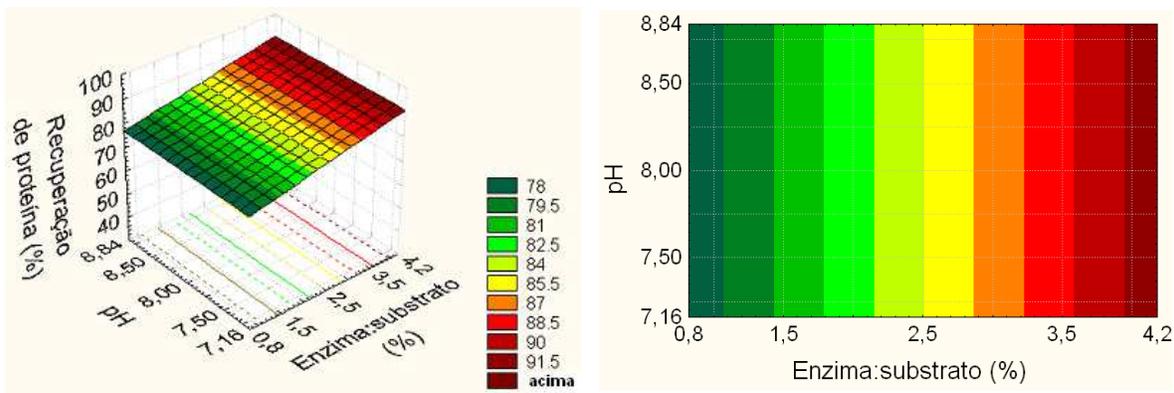
**Figura 5.5:** Influência das variáveis independentes sobre a resposta grau de hidrólise: (a) pH 8,0; (b) enzima:substrato de 2,5%; (c) temperatura de 60°C



(a)



(b)



(c)

**Figura 5.6:** Influência das variáveis independentes sobre a resposta recuperação de proteína: (a) pH 8,0; (b) enzima:substrato de 2,5%; (c) temperatura de 60°C

Analisando o efeito da relação enzima:substrato sobre a resposta, observa-se nas Figuras 5.5(a), 5.5(c), 5.6(a) e 5.6(c) que para maiores concentrações de enzima, obtém-se um hidrolisado com maior grau de hidrólise e recuperação de proteína. Devido à maior concentração de enzima, ocorreu maior clivagem das ligações peptídicas presentes no substrato e, conseqüentemente, maior solubilização dos peptídeos e aminoácidos no hidrolisado.

As Figuras 5.5(b) e 5.5(c) mostram a influência do pH na hidrólise, na qual os maiores valores de grau de hidrólise foram obtidos para menores valores de pH estudados. De acordo com Whitaker (1994), o efeito do pH sobre a atividade da enzima está relacionado à sua estabilidade, na qual alterações drásticas do pH ocasionam uma desnaturação irreversível de sua estrutura. Entretanto, esta variável teve pequena influência sobre o grau de hidrólise, provavelmente porque a faixa de pH estudada neste trabalho (7,16 a 8,84) foi estreita, encontrando-se dentro do intervalo de pH ótimo da enzima Alcalase<sup>®</sup> 2.4L (6,5 a 8,5, de acordo com o fabricante).

Analisando a influência do pH sobre a recuperação de proteína, observa-se pela Figura 5.6(c) nenhum efeito desta variável sobre a resposta. Entretanto, pela Figura 5.6(b), há uma influência do pH, devido ao fator interação temperatura × pH ser significativo.

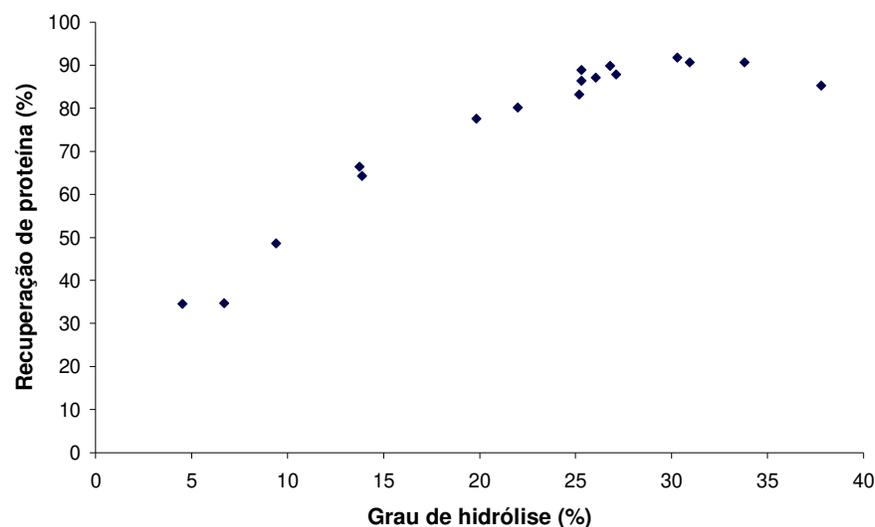
Comportamento semelhante foi observado por Bhaskar et al. (2008), que otimizaram a hidrólise enzimática de vísceras de carpa indiana (*Catla catla*) utilizando a enzima comercial Alcalase<sup>®</sup>. Para isso, os autores usaram como ferramenta a metodologia de superfície de resposta e avaliaram o efeito das variáveis temperatura (35 – 55°C), pH (7 – 9), razão enzima:substrato (0,5 – 1,5%, v/p) e tempo de reação (45 – 165 minutos) sobre o grau de hidrólise, a uma razão carne:água de 1:1 p/v. Como resultado, eles obtiveram um modelo quadrático, no qual as condições ótimas foram 50°C, 135 min, pH 8,5 e razão enzima:substrato 1,5%.

A otimização da hidrólise enzimática de concentrado solúvel de peixe, através da metodologia de superfície de resposta, foi estudada por Nilsang et al. (2005). Os autores estudaram o efeito das variáveis temperatura (45 – 60°C), concentração de enzima (1 – 5%) e tempo de hidrólise (1 – 6 h) sobre o grau de hidrólise da amostra diluída em água destilada (20% de sólidos). As condições otimizadas encontradas pelos autores para as

enzimas Flavourzyme® e Kojizyme® foram: 5% de concentração de enzima, tempo de 6 horas e temperatura de 45 e 50°C, obtendo um grau de hidrólise de 62 e 68%, respectivamente.

Para otimizar a recuperação de nitrogênio na hidrólise enzimática de cação, Diniz e Martin (1997) realizaram um planejamento experimental, variando a temperatura (40 – 60°C), a razão enzima:substrato (2 – 4%) e o pH (7 – 9). Os autores observaram um comportamento quadrático, no qual a variável razão enzima:substrato teve maior efeito positivo sobre a resposta, e concluíram que a região otimizada encontra-se em: pH de 8,3; razão enzima:substrato de 3,7% e temperatura de 55,3°C. O valor predito de recuperação de proteína nessas condições foi de 77,68%.

A Figura 5.7 mostra a relação entre o grau de hidrólise e a recuperação de proteína para este trabalho. Observa-se que com o aumento do grau de hidrólise, há um aumento da recuperação de proteína solúvel. Entretanto, a partir de cerca de 30% de grau de hidrólise, verifica-se uma estabilização da recuperação de proteína. De acordo com Holanda (2004), isso se deve ao fato de não estar ocorrendo mais a solubilização da proteína e sim há uma maior clivagem dos peptídeos solubilizados.



**Figura 5.7:** Relação entre o grau de hidrólise do peito de frango e a recuperação de proteína.

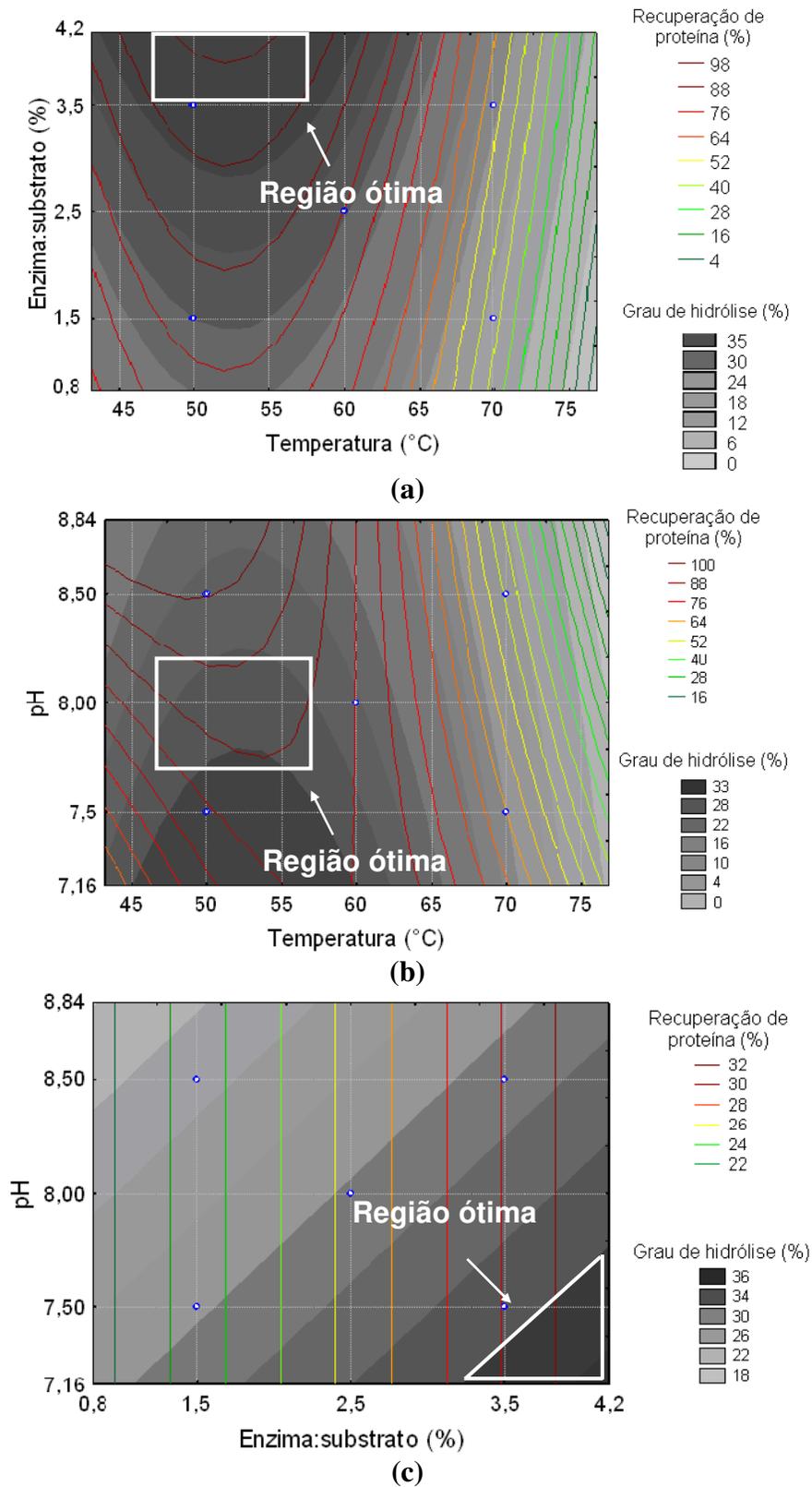
Uma dependência entre o grau de hidrólise e a recuperação de proteína foi verificada por Synowiecki e Al-Khateeb (2000), ao estudarem a hidrólise enzimática de resíduos de camarão. Para uma condição de hidrólise de 4 horas, 55°C, pH 8,5 e concentração de enzima 20 AU/kg proteína, os autores obtiveram uma recuperação de proteína de 69,2% para um grau de hidrólise de 30%. Entretanto, verificaram que para um grau de hidrólise de 19%, a recuperação de proteína diminuiu para 64,6%.

Holanda e Netto (2006) estudaram a recuperação de componentes do resíduo de camarão (proteína, quitina e astaxantina) através da hidrólise enzimática com Alcalase<sup>®</sup> e pancreatina. Os autores relacionaram os valores de grau de hidrólise e recuperação de proteína e verificaram que aumentando o grau de hidrólise de 6% para 12%, houve um aumento na recuperação de proteína de 20% e 28% para a Alcalase<sup>®</sup> e pancreatina, respectivamente. Entretanto, em estudos anteriores, os autores verificaram que para um grau de hidrólise superior a 12%, não houve um aumento significativo da recuperação de proteína solúvel.

### **5.2.3 Otimização e Validação do Modelo**

A otimização do processo de hidrólise enzimática teve como objetivo maximizar o grau de hidrólise e a recuperação de proteína. Para isso, fez-se a sobreposição das curvas de nível encontradas para as duas respostas analisadas. Na Figura 5.8, o grau de hidrólise está representado através de áreas, enquanto que o da recuperação de proteína, através de linhas.

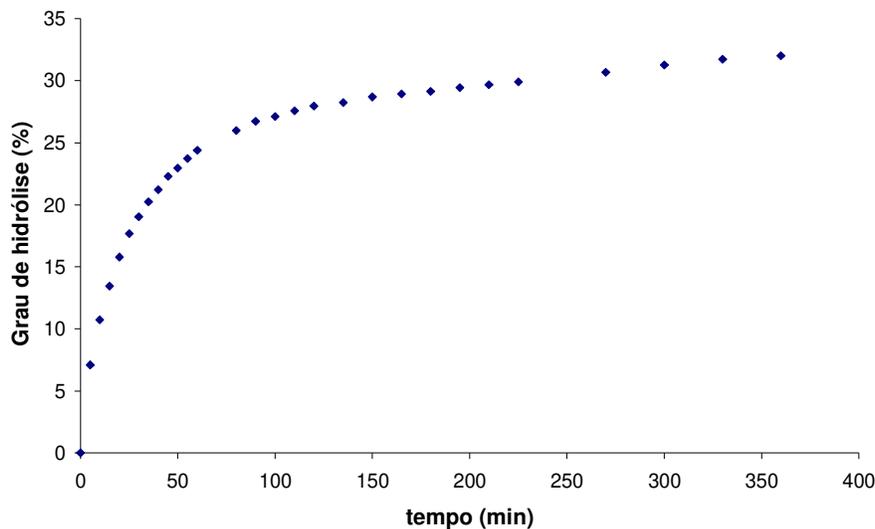
Na Figura 5.8, percebe-se que no pH 8,0, os maiores valores de grau de hidrólise e recuperação de proteína coincidem em uma mesma região, ou seja, a uma relação enzima:substrato superior a 3,5% e temperaturas entre 50 – 55°C. Analisando a Figura 5.8(b), percebe-se que a região com os maiores valores das respostas estudadas encontra-se na faixa de temperatura entre 50 – 55°C e pH de 7,0 – 7,75 e 8,25 – 9,0 para o grau de hidrólise e recuperação de proteína, respectivamente. Assim, o pH ótimo, de modo a obter maiores valores das duas respostas, encontra-se entre 7,75 – 8,25. Já a Figura 5.8(c) mostra que a região ótima encontra-se a altos valores de relação enzima:substrato e baixo valores de pH.



**Figura 5.8:** Sobreposição das curvas de nível de grau de hidrólise *GH* e recuperação de proteína *RP* na hidrólise enzimática de carne de frango: (a) pH 8,0; (b) enzima:substrato de 2,5%; (c) temperatura de 60°C

Analisando de forma conjunta as Figuras 5.8(a), (b) e (c), como condição ótima para a hidrólise enzimática de peito de frango, a seguinte combinação das variáveis de reação pode ser sugerida: temperatura de 52,5°C, concentração enzima:substrato de 4,2% p/p e pH de 8,0.

Ao término do planejamento experimental, realizou-se um ensaio dentro das condições otimizadas para validação dos modelos encontrados. Assim, com o acompanhamento da cinética de hidrólise enzimática (Figura 5.9), verificou-se que a reação se estabilizou em torno de 6 horas de processo, com um grau de hidrólise de 31,1% e uma recuperação de proteína de 92,1%. Os desvios relativos médios apresentados pelas respostas foram de 8,8% e 5,5%, respectivamente.



**Figura 5.9:** Cinética de hidrólise enzimática do peito de frango nas condições otimizadas.

## 5.2.4 Caracterização do Hidrolisado Proteico

### 5.2.4.1 Composição Química

A caracterização do hidrolisado proteico e do resíduo, obtidos na condição otimizada, foi determinada de acordo com a metodologia descrita no item 4.2.6.1 e é apresentada na Tabela 5.4.

Pelos resultados apresentados na Tabela, observa-se que o hidrolisado proteico apresentou teor de lipídeos muito pequeno em relação ao resíduo, demonstrando que a etapa de centrifugação após a reação enzimática ajudou na diminuição deste componente. Esta redução pode contribuir substancialmente na minimização da taxa de oxidação lipídica, e, conseqüentemente, na manutenção da estabilidade e da qualidade sensorial do produto. Com relação ao alto teor de proteínas presente no resíduo, deve-se considerar que a quantidade de resíduo obtida (cerca de 5% em massa do hidrolisado) é muito pequena, ocorrendo pouca perda deste componente.

**Tabela 5.4:** Composição centesimal do hidrolisado proteico e resíduo.

Conteúdo	Valor médio $\pm$ Desvio padrão (base úmida, %)	
	Hidrolisado	Resíduo
Umidade	91,32 $\pm$ 0,06	81,29 $\pm$ 0,01
Cinzas	0,68 $\pm$ 0,03	1,12 $\pm$ 0,02
Proteínas	7,05 $\pm$ 0,06	9,75 $\pm$ 0,09
Lipídios	0,08 $\pm$ 0,01	7,12 $\pm$ 0,08

#### 5.2.4.2 Aminoácidos Totais

A Tabela 5.5 apresenta os resultados da composição dos aminoácidos totais da carne de frango e do hidrolisado proteico. De modo geral, não houve diferença estatisticamente significativa entre as duas amostras, com exceção dos ácidos aspártico e glutâmico, lisina, fenilalanina e tirosina, que apresentaram menores valores no hidrolisado. Provavelmente pode ter ocorrido a perda desses aminoácidos durante a etapa de centrifugação. A redução dos aminoácidos essenciais fenilalanina e lisina, todavia, não comprometeu a qualidade nutricional do hidrolisado proteico, uma vez que a concentração destes aminoácidos essenciais continua atendendo às recomendações estabelecidas pela FAO/WHO (1991).

**Tabela 5.5:** Composição de aminoácidos totais (g/100g de proteína) da carne de frango e do hidrolisado proteico obtido nas condições otimizadas.

Aminoácidos totais	FAO/WHO (1991) <sup>1</sup>	Carne de frango	Hidrolisado proteico	AS <sub>carne</sub>	AS <sub>hidrolisado</sub>
<i>Não essenciais</i>					
- Ácido aspártico		8,71 ± 0,09 <sup>a</sup>	8,26 ± 0,02 <sup>b</sup>		
- Ácido glutâmico		14,80 ± 0,14 <sup>a</sup>	14,00 ± 0,15 <sup>b</sup>		
- Alanina		5,39 ± 0,11 <sup>a</sup>	5,26 ± 0,05 <sup>a</sup>		
- Arginina		6,65 ± 0,10 <sup>a</sup>	6,37 ± 0,05 <sup>a</sup>		
- Cisteína		1,14 ± 0,07 <sup>a</sup>	1,14 ± 0,06 <sup>a</sup>		
- Glicina		3,83 ± 0,03 <sup>a</sup>	3,75 ± 0,02 <sup>a</sup>		
- Prolina		3,03 ± 0,03 <sup>a</sup>	2,96 ± 0,06 <sup>a</sup>		
- Serina		3,80 ± 0,13 <sup>a</sup>	3,55 ± 0,03 <sup>a</sup>		
- Tirosina		3,71 ± 0,02 <sup>a</sup>	3,45 ± <0,01 <sup>b</sup>		
<i>Essenciais</i>					
- Fenilalanina <sup>3</sup>	6,3	3,88 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,64 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,20	1,12
- Histidina	1,9	3,02 ± 0,04 <sup>a</sup>	3,11 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,59	1,64
- Isoleucina	2,8	4,75 ± 0,01 <sup>a</sup>	4,51 ± 0,12 <sup>a</sup>	1,70	1,61
- Leucina	6,6	7,91 ± 0,06 <sup>a</sup>	7,50 ± 0,15 <sup>a</sup>	1,20	1,14
- Lisina	5,8	8,79 ± 0,05 <sup>a</sup>	8,43 ± 0,05 <sup>b</sup>	1,51	1,45
- Metionina <sup>2</sup>	2,5	2,60 ± 0,27 <sup>a</sup>	2,62 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,50	1,50
- Treonina	3,4	4,26 ± 0,02 <sup>a</sup>	4,13 ± 0,10 <sup>a</sup>	1,25	1,21
- Triptofano	1,1	9,01 ± 0,58 <sup>a</sup>	12,37 ± 0,27 <sup>b</sup>	8,20	11,24
- Valina	3,5	4,71 ± 0,01 <sup>a</sup>	4,94 ± 0,57 <sup>a</sup>	1,34	1,41
AAE		48,93	51,25		
PER <sub>7</sub> (Eq. 5.5)		2,87	2,78		
PER <sub>10</sub> (Eq. 5.6)		3,36	3,49		

Letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa entre as amostras para  $p \leq 0,05$ .

AAE: Teor total de aminoácidos essenciais.

AS: Escore de aminoácidos essenciais = teor de aminoácido na amostra/padrão de referência da FAO/WHO (1991).

<sup>1</sup>Padrão de referência sugerido pela FAO/WHO (1991) (aminoácidos indispensáveis para crianças de 2 a 5 anos de idade).

<sup>2</sup>Metionina + cisteína

<sup>3</sup>Fenilalanina + tirosina

O hidrolisado proteico do frango é rico em ácido glutâmico (14,00 g/100 g de proteína), triptofano (12,37 g/100 g de proteína), lisina (8,43 g/100 g de proteína) e ácido aspártico (8,26 g/100 g de proteína). Sales et al. (1991) obtiveram maiores conteúdos de glicina, ácido glutâmico e ácido aspártico (16,05; 14,61 e 8,84 g/100 g proteína, respectivamente) para hidrolisado proteico de resíduo de carne de frango.

A qualidade nutricional de alimentos proteicos pode ser avaliada através da razão de eficiência proteica (PER) e do escore de aminoácidos essenciais (AS). O escore de aminoácidos essenciais (AS) é um parâmetro utilizado para comparar os teores de aminoácidos essenciais de uma amostra com um padrão de referência. Na Tabela 5.4, são mostrados os valores de AS para a carne e o hidrolisado, baseado no padrão de referência da FAO/WHO (1991) estabelecidos para crianças de 2 a 5 anos. Observa-se que todos os aminoácidos apresentaram uma quantidade adequada ou em excesso (no caso do triptofano), indicando que a carne de frango e o hidrolisado proteico apresentam um alto valor biológico, sendo potencialmente uma boa fonte de aminoácidos essenciais.

A razão de eficiência proteica da carne de frango e do hidrolisado, calculada de acordo com as equações (5.5) e (5.6) (LEE *et al.*, 1978), está mostrada na Tabela 5.10:

$$PER_7 = 0,08084 \times X_7 - 0,1094 \quad (5.5)$$

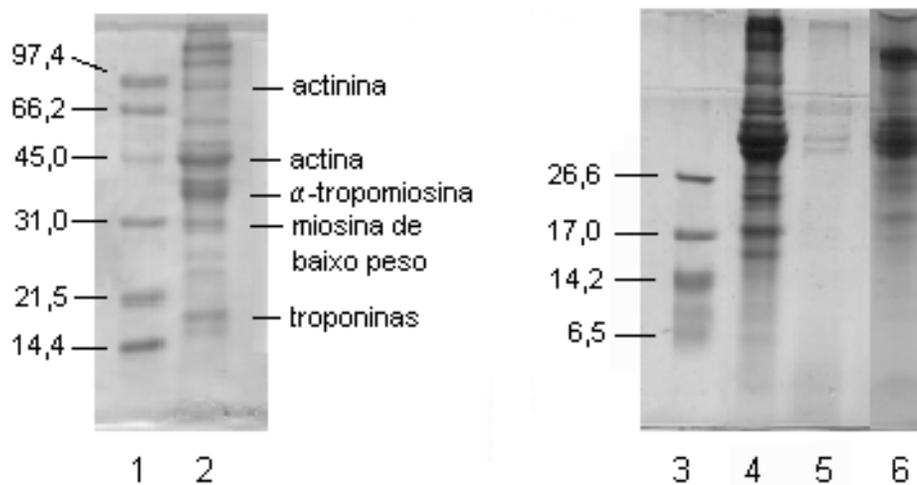
$$PER_{10} = 0,06320 \times X_{10} - 0,1539 \quad (5.6)$$

Onde:  $X_7$  é a soma do conteúdo de treonina, valina, metionina, isoleucina, leucina, fenilalanina e lisina (g/100 g proteína) e  $X_{10}$  é a soma de  $X_7$  com o conteúdo de histidina, argina e triptofano (g/100 g proteína).

Dois valores de PER ( $PER_7$  e  $PER_{10}$ ) foram calculados considerando o conteúdo de sete e dez aminoácidos, respectivamente. Observa-se que a carne de frango apresentou um maior valor de  $PER_7$  em relação ao hidrolisado proteico. Entretanto, o hidrolisado mostrou maior valor de  $PER_{10}$  por conter um elevado teor de triptofano. O valor de  $PER_{10}$  do hidrolisado proteico de carne de frango foi 3,49, valor superior ao dos hidrolisados de cação (2,92) e camarão (2,99) encontrados por Diniz e Martin (1997) e Synowiecki e Al-Khateeb (2000), respectivamente.

### 5.2.4.3 Perfil Eletroforético

Os perfis eletroforéticos das proteínas e peptídeos presentes no peito de frango e no hidrolisado proteico estão apresentados na Figura 5.10. Para a carne de frango (coluna 2), observa-se a presença de diversas bandas distintas, com pesos moleculares variando de 14,4 a 97,4 kDa. Algumas frações do músculo foram identificadas a partir de seus pesos moleculares: actinina (95 – 105 kDa), actina (46 kDa),  $\alpha$ -tropomiosina (36 kDa) e troponinas (18 kDa) (HAY; CURRIE; WOLFE, 1973; PORZIO; PEARSON, 1977).



**Figura 5.10:** Perfil eletroforético (SDS-PAGE) da carne de frango (colunas 2 e 4) e do hidrolisado proteico (colunas 5 e 6). As colunas 1 e 3 representam os marcadores de peso molecular da Bio-Rad e da Sigma Chemical, respectivamente.

Para uma melhor resolução do perfil eletroforético do hidrolisado (coluna 5), as amostras foram aplicadas no gel, com um teor de proteína quatro vezes superior em relação à amostra da carne (coluna 4). Por comparação, foi possível observar: (1) uma diminuição na intensidade das bandas; (2) o desaparecimento de frações entre 6,5 – 26,6 kDa; e (3) o aparecimento de uma banda difusa com peso molecular inferior a 6,5 kDa, resultados da hidrólise das proteínas presentes na carne. Entretanto, o perfil do hidrolisado mostrou a presença de algumas bandas definidas, com peso molecular superior a 26,6 kDa, indicando que nessa região não ocorreu a hidrólise total. Assim, uma segunda eletroforese do hidrolisado proteico foi realizada (coluna 6), com uma concentração de proteína aplicada

no gel cinco vezes superior à do hidrolisado aplicado na coluna 5. Desse modo, foi possível verificar a presença de bandas definidas com peso molecular acima de 17 kDa, mostrando que essas frações não foram totalmente hidrolisadas pela enzima.

### 5.3 SECAGEM EM *SPRAY DRYER* DO HIDROLISADO PROTEICO

#### 5.3.1 Avaliação da Adição de Agentes Carreadores

##### 5.3.1.1 Propriedades Físico-químicas

Os valores de umidade, densidade volumétrica e diâmetro médio das partículas do hidrolisado proteico em pó formulado com diferentes tipos e concentrações de agentes carreadores estão mostrados na Tabela 5.6.

**Tabela 5.6:** Umidade ( $X_{bu}$ ), diâmetro médio das partículas ( $D_{4,3}$ ) e densidade volumétrica ( $\rho_b$ ) do hidrolisado proteico puro e formulado com maltodextrina ou goma arábica.

Amostras	$X_{bu}$ (% , bu)	$D_{4,3}$ ( $\mu\text{m}$ )	$\rho_b$ ( $\text{kg}/\text{m}^3$ )
0%	$1,80 \pm 0,04^{aA}$	$5,76 \pm 0,07^{aA}$	$383,9 \pm 7,2^{aA}$
10%MD	$1,55 \pm 0,03^b$	$8,88 \pm 0,10^b$	$330,2 \pm 6,1^b$
20%MD	$1,39 \pm 0,03^c$	$8,91 \pm 0,04^b$	$305,4 \pm 1,6^c$
30%MD	$1,16 \pm 0,03^d$	$13,41 \pm 0,15^c$	$295,6 \pm 2,5^c$
10%GA	$1,70 \pm 0,13^A$	$7,09 \pm 0,03^B$	$330,4 \pm 13,3^B$
20%GA	$1,54 \pm 0,11^A$	$7,68 \pm 0,06^C$	$311,9 \pm 7,5^B$
30%GA	$1,16 \pm 0,01^B$	$19,24 \pm 0,21^D$	$295,1 \pm 8,2^C$

Os valores representam a média de três determinações  $\pm$  desvio padrão. Letras minúsculas ou maiúsculas representam a variação da resposta com a concentração de maltodextrina ou goma arábica, respectivamente. Respostas com a mesma letra minúscula ou maiúscula não diferem estatisticamente entre si para  $p \leq 0,05$ .

## **Umidade**

Analisando a Tabela 5.6, a umidade dos pós variou de 1,16 a 1,80% (base úmida), valores próximos aos encontrados por Tonon *et al.* (2008) e Papadakis (2006), que trabalharam com polpas de açaí e de uva desidratadas. Observa-se também que o aumento da concentração de agente carreador resultou no decréscimo da umidade do pó provavelmente devido ao aumento de sólidos no hidrolisado protéico, reduzindo o teor de água livre para evaporar. Além disso, devido ao alto peso molecular da maltodextrina e da goma arábica, as amostras formuladas com estes compostos são menos higroscópicas que a amostra pura, resultando em um pó com menor umidade final. Comportamento semelhante foi observado por Abadio *et al.* (2004), Grabowski, Truong e Daubert (2006) e Quek *et al.* (2007), ao estudarem o efeito da adição de maltodextrina na umidade de suco de abacaxi, purê de batata-doce e melancia em pó, e por Goula e Adamopoulos (2004) ao variarem a concentração de sólidos em polpa de tomate. Por outro lado, Goula e Adamopoulos (2008) reportaram que a umidade de polpa de tomate em pó aumentou com a concentração de maltodextrina. De acordo com estes autores, as moléculas deste agente carreador, por serem grandes, dificultaram a difusão das moléculas de água durante a secagem.

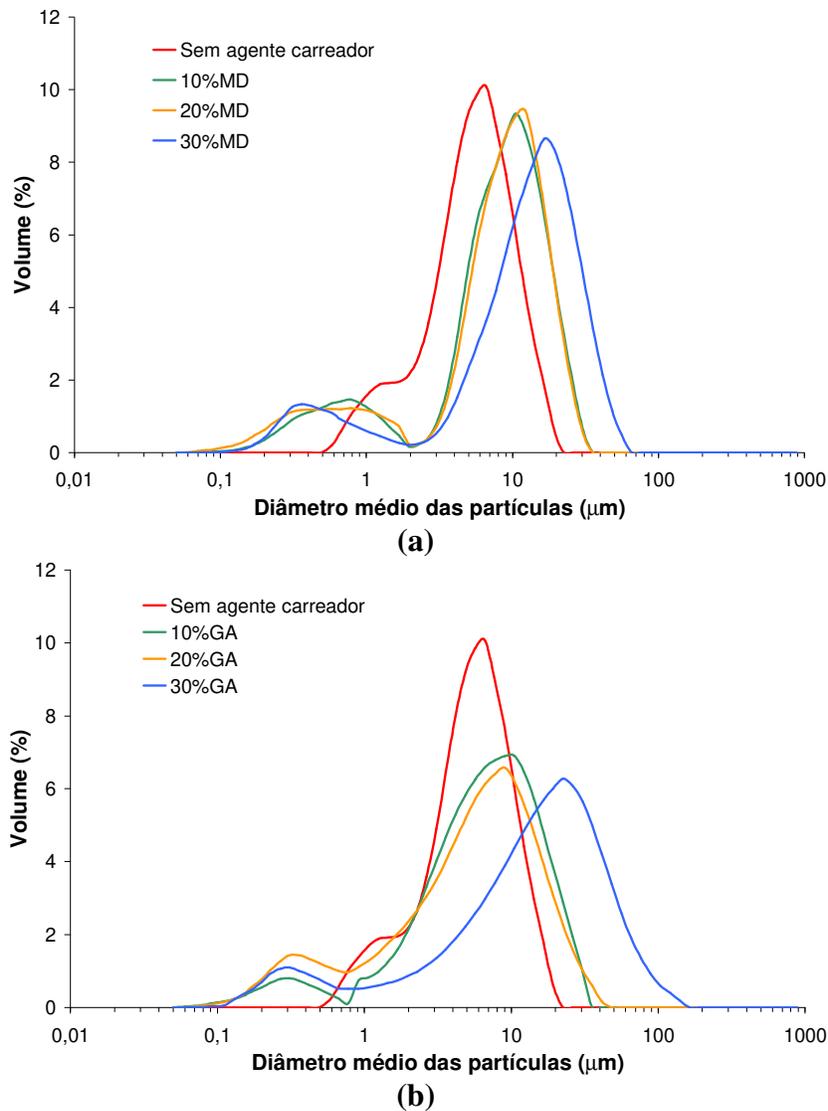
## **Distribuição do Tamanho e Diâmetro Médio das Partículas**

Os valores do diâmetro médio das partículas estão apresentados na Tabela 5.6, onde pode ser verificado um aumento no tamanho da partícula com a concentração de sólidos. De um modo geral, em um sistema de secagem por atomização, o tamanho das partículas secas depende do tamanho das gotículas atomizadas no secador. Este, por sua vez, é função do modo de atomização, das propriedades físicas e da concentração de sólidos do produto na alimentação (MASTERS, 1972). O tamanho da gota geralmente aumenta quando a concentração ou viscosidade do produto aumentam e a energia disponível para a atomização (pressão no bico ou fluxo de ar) diminui, resultando assim na formação de partículas com maiores diâmetros (GOULA; ADAMOPOULOS, 2004). Comportamento semelhante foi observado por Cai e Corke (2000), Goula e Adamopoulos (2004), Grabowski, Truong e Daubert (2006) e Tonon, Brabet e Hubinger (2008).

Comparando as duas formulações, as amostras formuladas com maltodextrina apresentaram partículas com diâmetro médio superior às partículas com goma arábica, com exceção das amostras com 30% de agente carreador. Trabalhando com microencapsulação de suco de camu-camu por *spray dryer* com sistema de disco rotativo (temperatura do ar de entrada de 150°C e vazão de alimentação de 30 kg/h), Taxi (2001) verificou que as partículas microencapsuladas, com 15% de maltodextrina ou 15% de goma arábica apresentaram diâmetro médio de 39  $\mu\text{m}$  e 13,7  $\mu\text{m}$ , respectivamente. Por outro lado, Righetto (2003) obteve microencapsulados (temperatura do ar de entrada de 120°C e vazão de alimentação de 3,2 ml/min) de polpa de acerola verde com goma arábica, apresentando diâmetros maiores em relação à amostra com maltodextrina.

Na Figura 5.11, são mostradas as frações volumétricas do tamanho das partículas do produto em pó. Uma distribuição bimodal foi observada para o hidrolisado proteico formulado com aditivos, indicando dois tamanhos de partículas predominantes. O primeiro pico apresentou um menor volume (<2%) e menores diâmetros de partículas do que o segundo pico. Este variou com a concentração de agente carreador. O aumento na concentração resultou em curvas mais largas: as amostras com 10 e 20% MD apresentaram diâmetros entre 2 – 35  $\mu\text{m}$  e a amostra com 30% MD mostrou partículas com diâmetros entre 2 – 70  $\mu\text{m}$ . Para os hidrolisados proteicos com 10, 20 e 30% GA, a distribuição das partículas ficou entre 0,8  $\mu\text{m}$  a 35, 50 e 150  $\mu\text{m}$ , respectivamente.

Por outro lado, a distribuição do tamanho das partículas do hidrolisado proteico puro apresentou um distinto prolongamento (tamanho predominante de 1,5  $\mu\text{m}$ ) ao longo do pico principal (tamanho predominante de 6  $\mu\text{m}$ ). Provavelmente, pelo fato do produto ser altamente higroscópico, pode ter ocorrido absorção de umidade, provocando uma aglomeração entre as partículas da população com menor diâmetro (correspondente ao menor pico), aumentando o tamanho delas. Desta forma, a curva correspondente a esta população acabou se sobrepondo ao maior pico, formando este prolongamento.



**Figura 5.11:** Curvas de distribuição de tamanho de partículas de amostras formuladas com: (a) maltodextrina MD e (b) goma arábica GA.

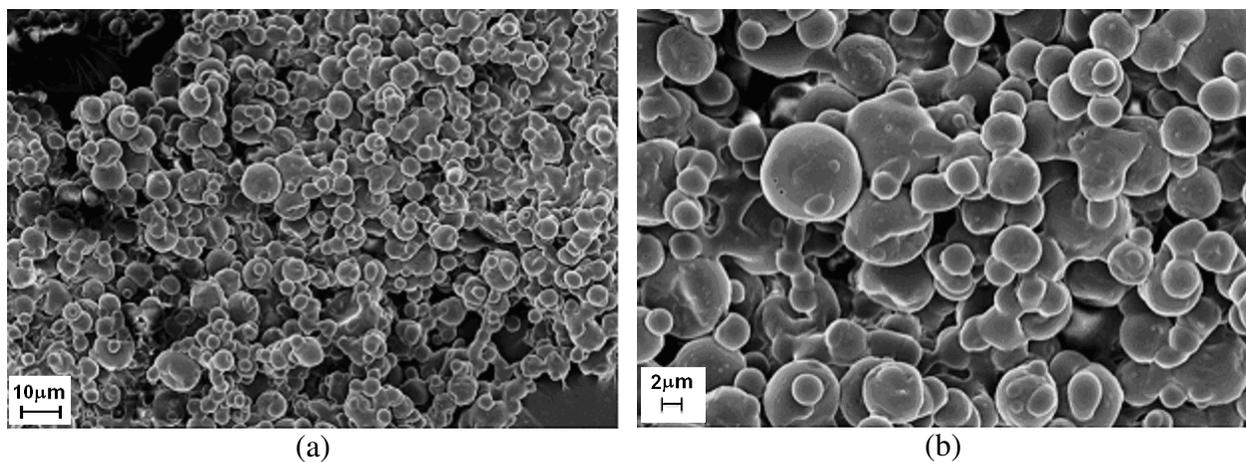
### Densidade Volumétrica (*Bulk Density*)

O efeito da adição de agente carreador na densidade volumétrica dos hidrolisados proteicos está mostrado na Tabela 5.6. Verifica-se uma diminuição na densidade (383,9 kg/m<sup>3</sup> para amostras sem agente carreador para 295,6 kg/m<sup>3</sup> e 295,1 kg/m<sup>3</sup> para amostras formuladas com 30%MD e 30%GA, respectivamente) com o aumento na concentração de maltodextrina ou goma arábica. Resultados semelhantes foram observados por Goula e Adamopoulos (2008) e Abadio et al. (2004) na secagem por *spray dryer* de polpa de tomate

e polpa de abacaxi com maltodextrina. De acordo com Nath e Satpathy (1998), o aumento da concentração da alimentação geralmente acarreta uma diminuição na densidade, devido ao aumento do tamanho das partículas. Esse comportamento pode ser observado comparando os valores do diâmetro médio e da densidade mostrados na Tabela 5.6. Para Bhandari et al. (1992), um aumento na concentração de sólidos na alimentação pode levar a uma redução na densidade da partícula. Este fato pode ocorrer provavelmente devido à rápida formação de uma camada rígida superficial quando uma determinada concentração de sólidos é atingida durante o processo de secagem. Tão logo ocorre o desenvolvimento desta superfície, uma vez que ela impede a saída de água no interior da partícula, há um aumento da pressão no interior dela, ocorrendo a formação de um vacúolo e diminuindo a densidade das partículas.

### Microestrutura das partículas

Nas Figuras 5.12 a 5.14 são apresentadas fotomicrografias do hidrolisado proteico em pó formulados com 0, 10, 20 e 30% de maltodextrina ou goma arábica, obtidos através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

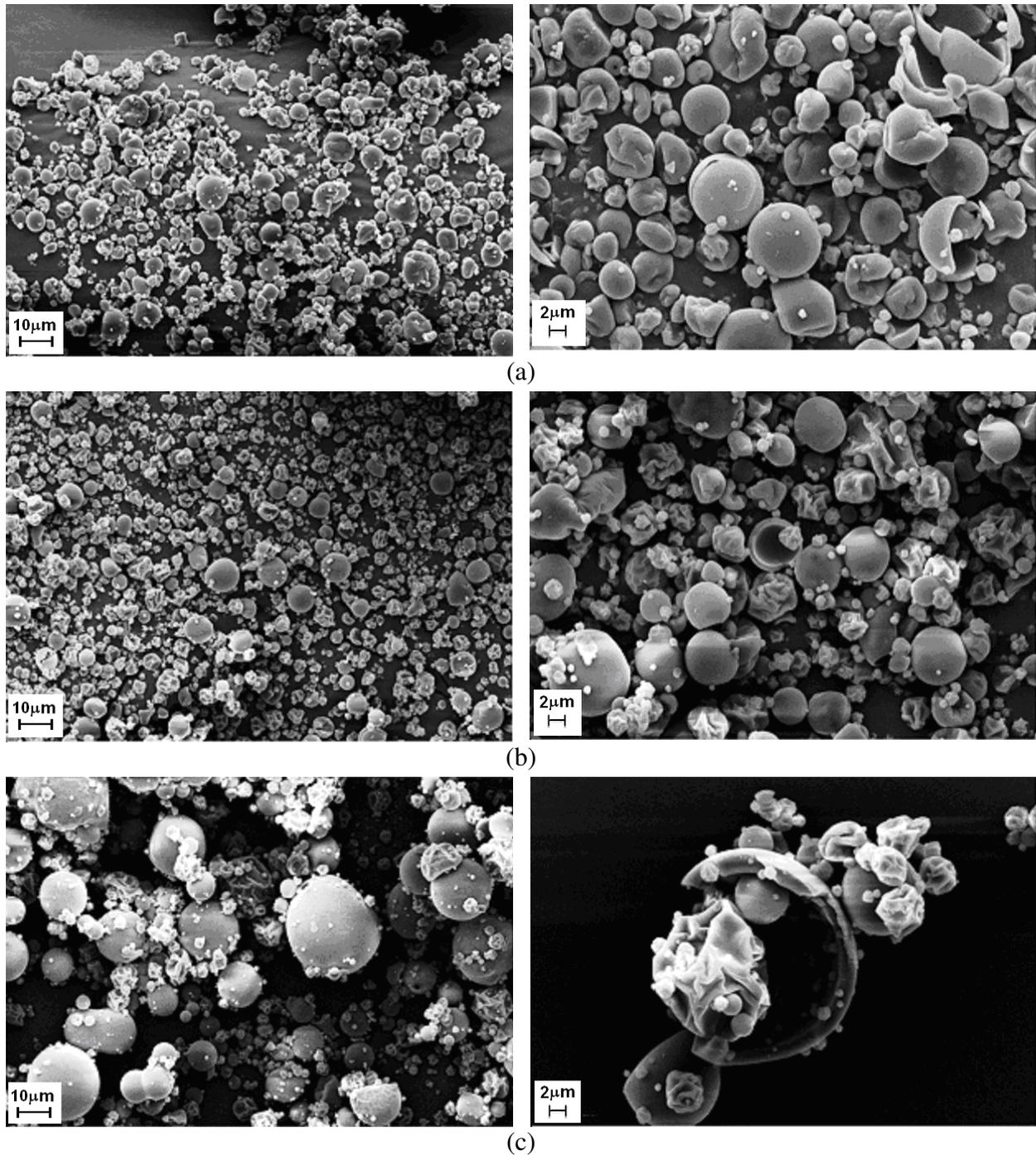


**Figura 5.12:** Imagens microscópicas de hidrolisado proteico em pó sem adição de agente carreador (condição de secagem: 180°C e vazão de alimentação de 0,2 kg/h). Imagens com aumento de (a) 2000 vezes e (b) 5000 vezes.

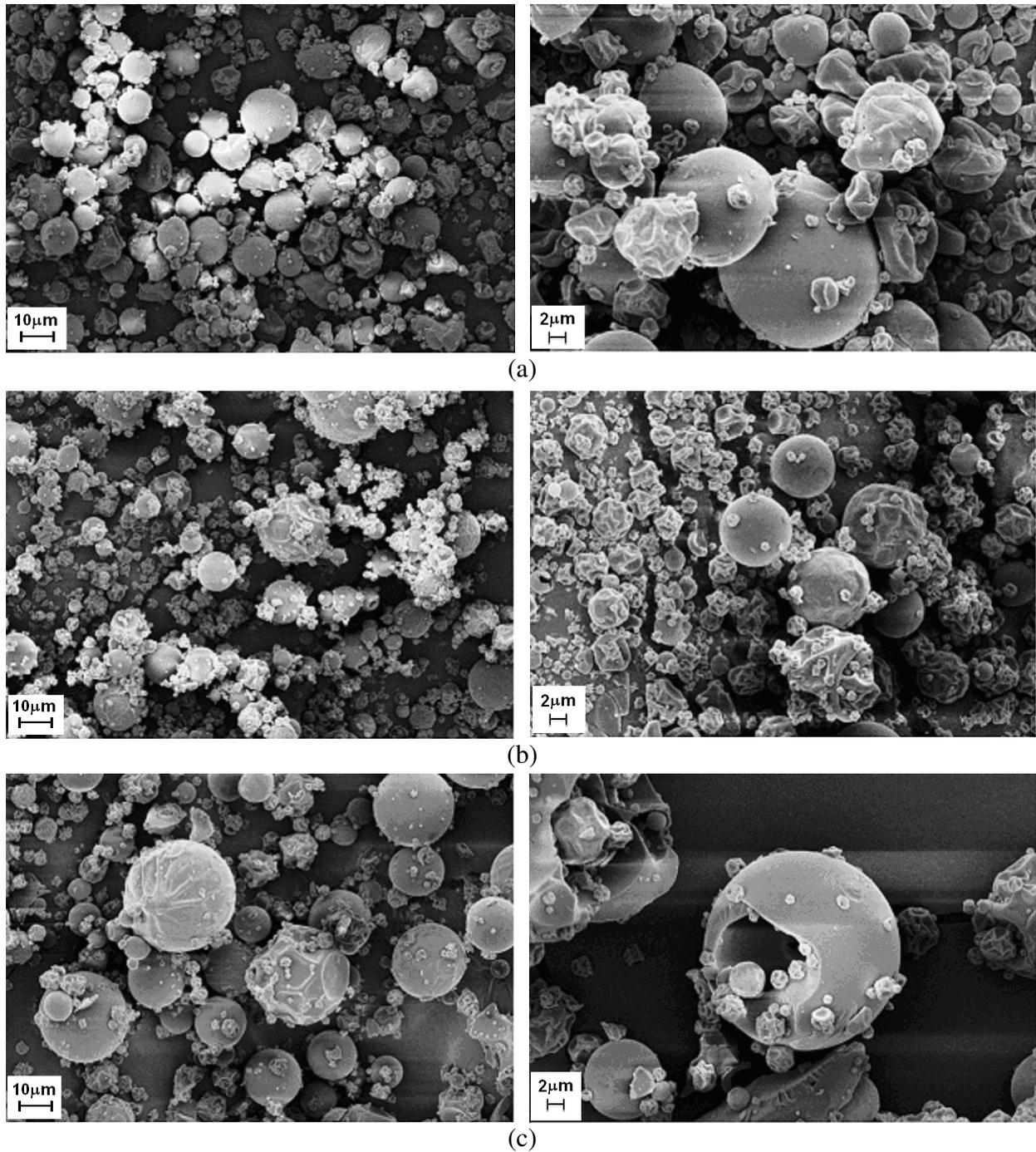
De acordo com a Figura 5.12, o hidrolisado proteico em pó puro apresentou partículas arredondadas e lisas, com tendência à aglomeração. Devido à elevada higroscopicidade, durante o preparo das lâminas, pode ter ocorrido absorção de umidade, provocando aglomeração do material e formação de pontes entre as partículas.

Nas Figuras 5.13 e 5.14, verifica-se a formação de partículas de maltodextrina ou goma arábica, respectivamente, que apresentaram paredes contínuas, sem fissuras, rachaduras ou colapsos. As microscopias do hidrolisado formulado com 10% maltodextrina ou 10% goma arábica revelam a formação de algumas partículas esféricas e lisas. Entretanto, observa-se em maior número, a presença de estruturas com formato irregular. Com o aumento da concentração de maltodextrina, essas partículas irregulares tendem a apresentar um formato esférico com superfície rugosa. Kalab (1979) sugere que essas depressões são formadas pelo encolhimento das partículas durante a secagem e resfriamento. Já Ré (1998) afirma que as imperfeições superficiais, tais como rugosidade, fissuras ou colapsos, ocorrem quando há um lento processo de formação de um filme durante a secagem das gotículas atomizadas, associando a presença de depressões superficiais ao colapso sofrido pelas gotículas nos estágios iniciais do processo de secagem. De acordo com Rosenberg, Kopelman e Talmon (1985), a presença de dentes é uma característica indesejável que afeta as condições de escoamento do material.

Também pode ser observada nas figuras, a presença de partículas esféricas e ocas, onde o hidrolisado está dissolvido em sua parede. Essa formação de esferas ocas provavelmente é devido à: expansão de gases dissolvidos da solução durante a secagem; formação de bolhas de vapor no interior das gotículas; ou incorporação de ar nas gotículas durante a atomização (ROSENBERG; KOPELMAN; TALMON, 1985).



**Figura 5.13:** Imagens microscópicas de hidrolisado proteico em pó (condição de secagem: 180°C e vazão de alimentação de 0,2 kg/h), formulado com maltodextrina: (a) 10%; (b) 20%; (c) 30%. As figuras à esquerda possuem um aumento de 2000 e as figuras à direita, um aumento de 5000 vezes.



**Figura 5.14:** Imagens microscópicas de hidrolisado proteico em pó (condição de secagem: 180°C e vazão de alimentação de 0,2 kg/h), formulado com goma arábica: (a) 10%; (b) 20%; (c) 30%. As figuras à esquerda possuem um aumento de 2000 e as figuras à direita, um aumento de 5000 vezes.

5.3.1.2 Isotermas de Sorção

Os hidrolisados proteicos em pó puro e com maltodextrina ou goma arábica (10, 20 e 30%) foram armazenados a temperatura de 25°C, em ambientes com diferentes umidades relativas, por um intervalo de tempo suficiente para que fosse atingido o equilíbrio. Em todas as condições, houve adsorção de água pelo produto. As Tabelas 5.7 e 5.8 relacionam os valores experimentais médios de umidade de equilíbrio ( $X_e$ ) correspondentes às atividades de água ( $a_w$ ) determinada pelas soluções salinas saturadas, para a construção das isotermas de sorção.

**Tabela 5.7:** Umidade de equilíbrio do hidrolisado proteico em pó puro e com maltodextrina (10, 20 e 30%), armazenado sob diferentes condições de atividade de água a 25°C.

Solução salina	$a_w$	$X_e \pm$ desvio (g água/g massa seca)			
		0%	10%MD	20%MD	30%MD
LiCl	0,113	0,044 ± 0,005	0,030 ± 0,004	0,020 ± 0,001	0,016 ± 0,001
CH <sub>3</sub> COOK	0,176	0,109 ± 0,004	0,063 ± 0,008	0,059 ± 0,002	0,048 ± 0,003
MgCl <sub>2</sub>	0,328	0,122 ± 0,003	0,055 ± 0,020	0,054 ± 0,004	0,041 ± 0,001
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0,432	0,180 ± 0,002	0,087 ± 0,002	0,073 ± 0,001	0,059 ± 0,002
Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0,529	0,264 ± 0,003	0,132 ± 0,006	0,091 ± 0,001	0,078 ± 0,002
KI	0,689	0,433 ± 0,001	0,201 ± 0,002	0,150 ± 0,001	0,117 ± 0,001
NaCl	0,753	0,537 ± 0,003	0,263 ± 0,002	0,187 ± 0,005	0,156 ± 0,001
KCl	0,843	0,809 ± 0,007	0,408 ± 0,045	0,288 ± 0,010	0,230 ± 0,009

**Tabela 5.8:** Umidade de equilíbrio do hidrolisado proteico em pó formulado com goma arábica (10, 20 e 30%), armazenado sob diferentes condições de atividade de água a 25°C.

Solução salina	$a_w$	$X_e \pm$ desvio (g água/g massa seca)		
		10%GA	20%GA	30%GA
LiCl	0,113	0,022 $\pm$ 0,001	0,021 $\pm$ 0,001	0,017 $\pm$ 0,001
CH <sub>3</sub> COOK	0,176	0,065 $\pm$ 0,009	0,068 $\pm$ 0,003	0,057 $\pm$ 0,002
MgCl <sub>2</sub>	0,328	0,082 $\pm$ 0,001	0,077 $\pm$ 0,003	0,056 $\pm$ 0,001
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0,432	0,099 $\pm$ 0,001	0,090 $\pm$ 0,001	0,076 $\pm$ 0,001
Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0,529	0,139 $\pm$ 0,003	0,116 $\pm$ 0,001	0,102 $\pm$ 0,001
KI	0,689	0,247 $\pm$ 0,001	0,204 $\pm$ 0,002	0,172 $\pm$ 0,001
NaCl	0,753	0,317 $\pm$ 0,002	0,264 $\pm$ 0,005	0,229 $\pm$ 0,001
KCl	0,843	0,481 $\pm$ 0,005	0,389 $\pm$ 0,001	0,344 $\pm$ 0,003

Os dados experimentais das isotermas de adsorção do hidrolisado em pó foram ajustados por sete modelos da literatura, obtendo-se também o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e o desvio relativo médio (E). A escolha do melhor ajuste foi feita analisando o desvio médio relativo para cada modelo e para cada condição estudada. Estes valores, juntamente com os parâmetros das equações, estão descritos nas Tabelas 5.9 e 5.10.

Analisando os resultados das tabelas, de forma geral as isotermas apresentaram ajustes bons em relação aos modelos testados, com valores de coeficientes de determinação superiores a 0,94. Para uma avaliação mais adequada desses ajustes, o desvio relativo médio entre os valores preditos e os observados foi determinado (Equação 4.26). Dessa forma, para as diferentes concentrações de agentes carreadores, os modelos de BET, GAB e Oswin foram os que apresentaram melhores ajustes, com desvios inferiores a 13% e coeficientes de determinação próximos à unidade.

**Tabela 5.9:** Parâmetros de ajuste da isoterma do hidrolisado proteico em pó sem e com adição de maltodextrina (10, 20 e 30%).

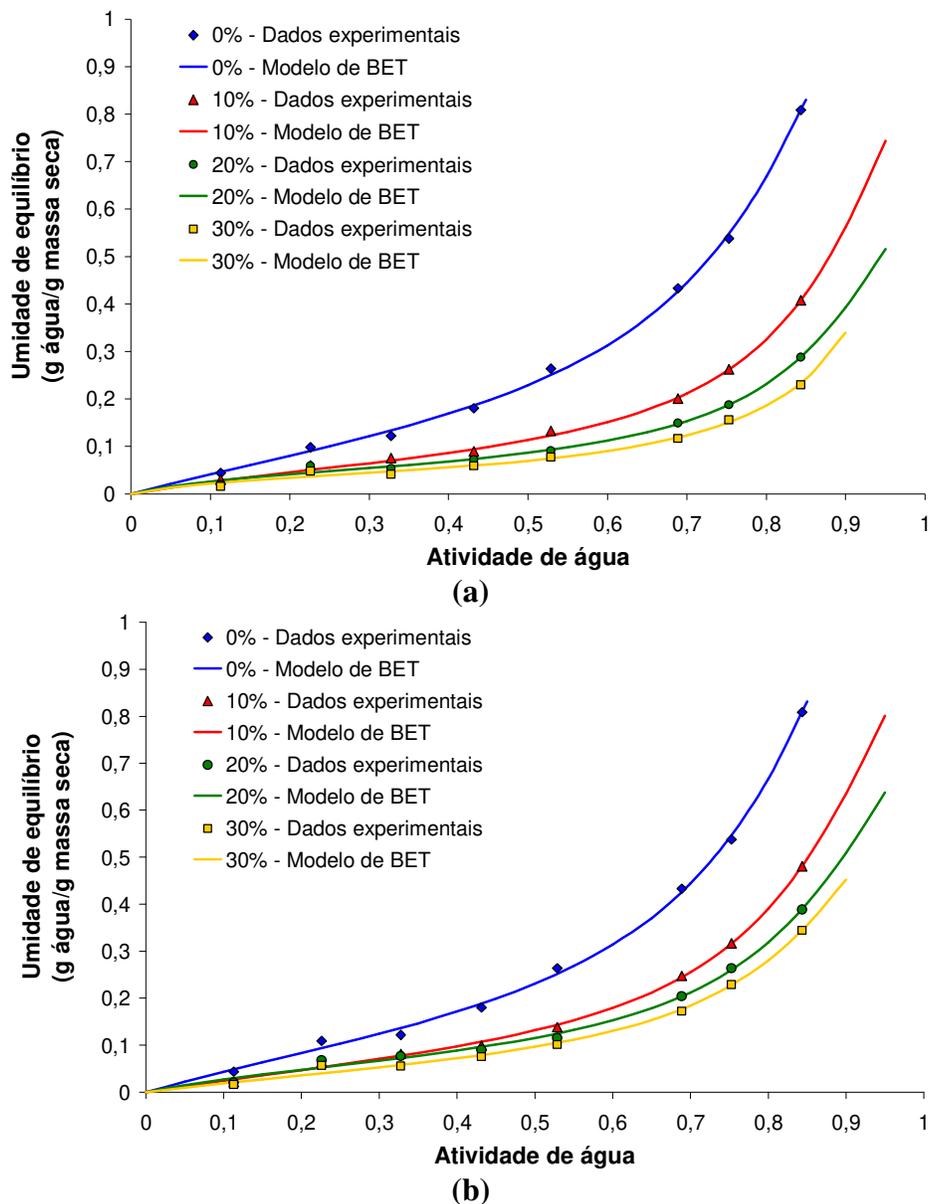
Modelos	Concentração (%)	Parâmetros de ajuste			R <sup>2</sup>	E (%)
		X <sub>m</sub>	C <sub>BET</sub>	n		
BET (3 parâmetros)	0%	0,153	3,10	19,08	0,998	6,32
	10%	0,070	4,28	26,38	0,995	8,74
	20%	0,048	8,52	26,16	0,994	9,86
	30%	0,039	9,38	25,93	0,992	12,32
BET (2 parâmetros)	0%	0,136	4,90		0,993	10,57
	10%	0,067	4,98		0,994	8,52
	20%	0,047	10,68		0,993	11,29
	30%	0,038	10,26		0,990	12,98
GAB	0%	0,168	2,90	0,96	0,998	5,46
	10%	0,068	5,23	1,00	0,994	4,86
	20%	0,054	5,92	0,97	0,994	8,99
	30%	0,044	5,74	0,96	0,992	10,23
Chung e Pfof	0%	4865,6	3,80		0,957	16,71
	10%	5037,1	8,00		0,939	20,43
	20%	5666,6	11,79		0,941	17,20
	30%	5631,1	14,45		0,943	17,52
Halsey	0%	0,173	0,91		0,982	11,98
	10%	0,084	0,96		0,972	11,34
	20%	0,043	1,15		0,955	18,50
	30%	0,037	1,11		0,950	19,12
Handerson	0%	2,47	0,91		0,989	7,47
	10%	5,05	0,95		0,968	14,14
	20%	8,38	1,07		0,960	10,95
	30%	10,30	1,06		0,961	11,12
Oswin	0%	0,235	0,736		0,9981	7,25
	10%	0,114	0,751		0,9948	10,38
	20%	0,089	0,686		0,9903	7,37
	30%	0,073	0,677		0,9899	8,52

**Tabela 5.10:** Parâmetros de ajuste da isoterma do hidrolisado proteico em pó com adição de goma arábica (10, 20 e 30%).

Modelos	Concentração (%)	Parâmetros de ajuste			R <sup>2</sup>	E (%)
		X <sub>m</sub>	C <sub>BET</sub>	n		
BET (3 parâmetros)	10%	0,088	3,04	21,70	0,998	7,90
	20%	0,069	4,91	21,51	0,995	11,50
	30%	0,063	3,38	21,38	0,996	9,05
BET (2 parâmetros)	10%	0,081	4,31		0,995	10,44
	20%	0,064	7,17		0,992	14,40
	30%	0,057	5,25		0,994	12,98
GAB	10%	0,084	3,92	0,99	0,996	9,92
	20%	0,071	5,18	0,98	0,994	12,61
	30%	0,058	4,95	0,99	0,995	12,71
Chung e Pfo	10%	4816,3	6,58		0,948	16,71
	20%	5211,3	8,24		0,943	16,22
	30%	5013,7	9,40		0,942	17,97
Halsey	10%	0,095	0,97		0,977	13,73
	20%	0,060	1,14		0,965	17,15
	30%	0,061	1,03		0,963	17,42
Handerson	10%	4,03	0,90		0,983	7,11
	20%	5,37	0,99		0,969	9,70
	30%	5,78	0,95		0,971	8,77
Oswin	10%	0,133	0,763		0,998	8,72
	20%	0,117	0,711		0,994	11,22
	30%	0,098	0,747		0,995	9,32

Por apresentar uma boa fundamentação teórica, foi realizada uma representação gráfica das isotermas de sorção de hidrolisado proteico em pó, ajustadas pelo modelo de BET (Figuras 5.15). As isotermas apresentaram formatos semelhantes às do tipo III, de acordo com Brunauer, Emmet e Teller (1938), que adsorvem relativamente baixa

quantidade de água a baixas atividades de água e grande quantidade de água a altas umidades relativas. Curvas semelhantes foram observadas para inulina em pó formulada com amido modificado e hidrolisado (NOGUEIRA, 2002), polpa de camu-camu em pó e de abacaxi encapsuladas com maltodextrina ou goma arábica (TAXI, 2001; GABAS et al., 2007) e hidrolisado proteico de peixe liofilizado (AGUILERA; LEVI; KAREL, 1993).



**Figura 5.15:** Isothermas de sorção de umidade obtidas para o hidrolisado proteico com diferentes concentrações (0, 10, 20 e 30%) de: (a) maltodextrina e (b) goma arábica.

O modelo de GAB também apresentou um bom ajuste dos dados experimentais e é amplamente utilizado na literatura, por descrever bem as curvas de sorção de diversos alimentos. Através de uma análise matemática, Lewicki (1997) sugeriu 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  $\pm 15,5\%$  da real umidade. Entretanto, analisando as Tabelas 5.9 e 5.10, observa-se que a constante  $C_{GAB}$  encontra-se fora do intervalo sugerido pelo autor.

O valor de umidade na monocamada ( $X_m$ ) mostra a quantidade de água que é fortemente adsorvida em sítios específicos na superfície do alimento e é considerado um valor importante para assegurar a estabilidade deste. Para o hidrolisado proteico puro, o valor de  $X_m$  obtido pelo modelo de BET foi de 0,153 g água/g massa seca. Aguilera, Levi e Karel (1993) e Shrestha et al. (2007a) encontraram valores de  $X_m$  de 0,062 e 0,072 g água/g sólidos para hidrolisado proteico de peixe e de leite, respectivamente. Essa diferença entre os valores de  $X_m$  encontrado para o hidrolisado proteico de carne de frango e aqueles obtidos em outros estudos pode ser atribuída à diferença na composição e grau de hidrólise dos produtos. Com a adição de maltodextrina ou goma arábica ao hidrolisado, observa-se uma diminuição de  $X_m$  (0,067 – 0,038 e 0,081 – 0,057 g água/g massa seca, respectivamente) com o aumento da concentração do agente carreador (10 para 30%). Gabas et al. (2007) e Silva, Sobral e Kieckbusch (2006) verificaram esse comportamento ao compararem a sorção de umidade entre a polpa de abacaxi liofilizada pura ( $X_m$  de 0,166 g água/g massa seca, a 20°C) e encapsulada com maltodextrina (0,06 g água/g massa seca) ou goma arábica (0,072 g água/g massa seca); e polpa de camu-camu em pó pura (0,158 g água/g massa seca) e formulada com maltodextrina (0,064 g água/g massa seca). Pérez-Alonso et al. (2006) obtiveram valores de  $X_m$  dentre 0,0696 – 0,0735 g água/g massa seca para a maltodextrina 10DE e 0,0811 – 0,1100 g água/g massa seca para a goma arábica, em uma faixa de 25 – 40°C. Estes resultados concordam com os resultados deste trabalho, uma vez que as amostras com maltodextrina apresentaram menores  $X_m$  do que as amostras com goma arábica.

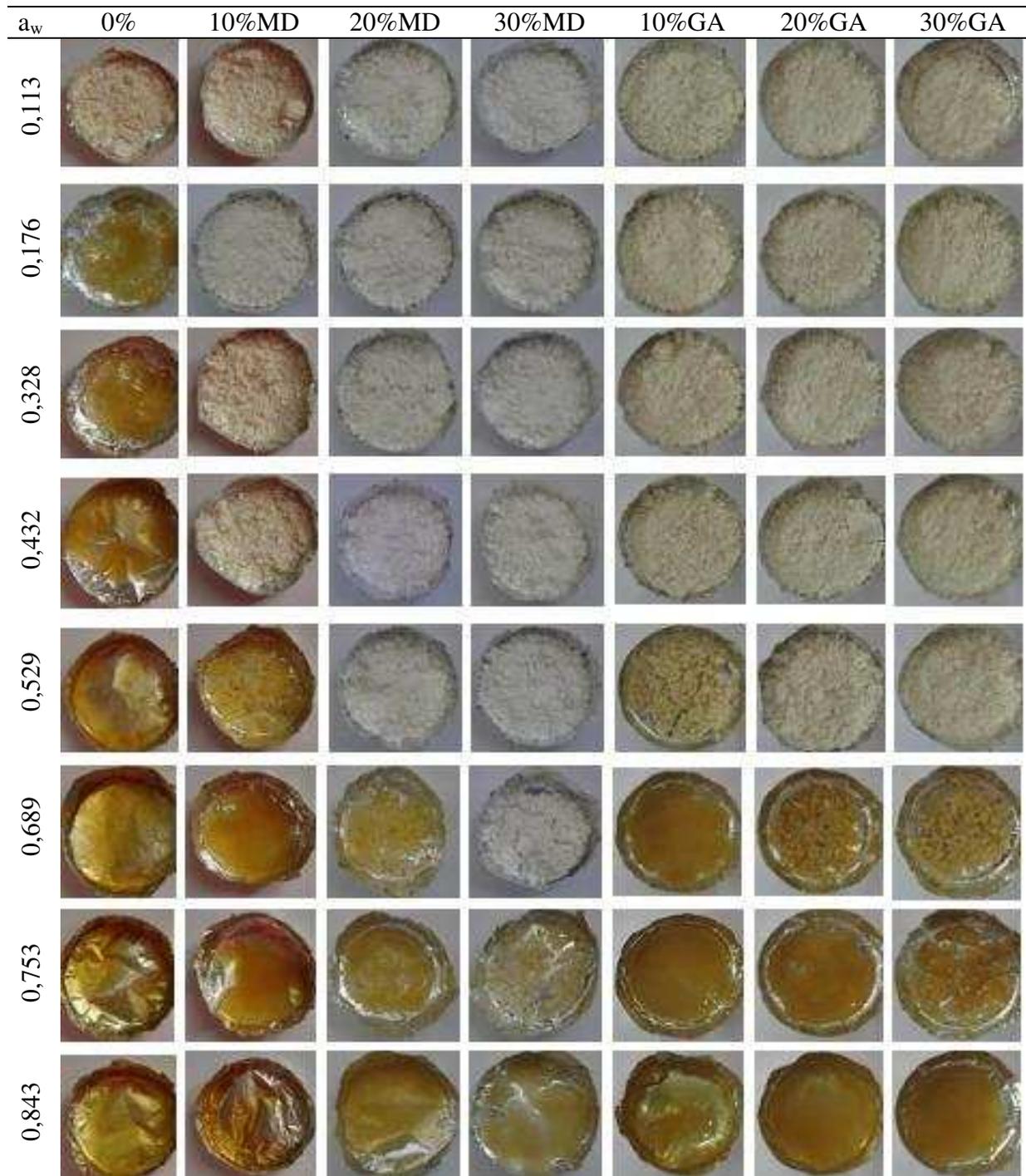
A Figura 5.16 mostra as alterações físicas ocorridas nas amostras pura e formuladas do hidrolisado proteico em pó, armazenadas a diferentes condições de umidade relativa. Na

primeira coluna encontra-se o hidrolisado proteico puro, sem adição de aditivos. Observa-se que essa amostra é muito higroscópica, se liquefazendo mesmo a baixa atividade de água (0,176). Entretanto, para as amostras formuladas, a adição de agentes carreadores proporciona um aumento na estabilidade ao pó a uma maior atividade de água.

A influência da concentração de aditivos também foi verificada, na qual o seu aumento acarreta uma diminuição da higroscopicidade da amostra. Para os hidrolisados contendo 10%, 20% e 30% maltodextrina, o colapso do pó ocorreu a atividades de água de 0,529; 0,689 e 0,753, respectivamente, enquanto que para as amostras com goma arábica, o colapso aconteceu a atividades de água de 0,529 (10%) e 0,689 (20% e 30%).

O colapso é um fenômeno indesejável em que um pó totalmente solto e com baixo teor de umidade inicialmente começa a aglomerar, com conseqüente formação de torrões e, por fim, transforma-se em um material adesivo. De acordo com Aguilera, Del Valle e Karel (1995), o estágio do colapso inicia-se com formação de pontes, resultado da deformação da superfície e da adesão nos pontos de contato entre as partículas. Nesta etapa, as pequenas pontes interpartículas podem desintegrar-se com uma leve agitação do sistema. No estágio seguinte, observa-se a aglomeração, que envolve uma consolidação irreversível das pontes, resultando em grupos de partículas com integridade estrutural. A compactação, estágio mais avançado do colapso, está associada à perda pronunciada da integridade do sistema, como resultado do espessamento das pontes interpartículas, e conseqüente redução do espaço entre as partículas e a deformação dos agrupamentos. No estágio final do colapso, ocorre a liquefação da amostra.

Toneli et al. (2008) verificaram as alterações sofridas pela inulina em pó quando armazenada a diferentes condições de umidade relativa, através de microscopia eletrônica de varredura. Os autores observaram que para uma atividade de água  $a_w$  de 0,082, a amostra não sofreu alterações visíveis em sua microestrutura, apesar do ganho de umidade. Entretanto, ao aumentar a  $a_w$  para 0,308, houve maior aglomeração das partículas de menor diâmetro ao redor das maiores. Elevando a  $a_w$  para 0,529, ocorreu a formação de pontes entre as partículas e conseqüente alteração nas características macroscópicas da inulina em pó, tornando-se uma massa sólida e dura. Essa característica foi agravada a medida que houve um aumento da atividade de água.



**Figura 5.16:** Alterações físicas ocorridas para o hidrolisado proteico puro (0%) e formulado com diferentes concentrações de maltodextrina (MD) e goma arábica (GA)

### 5.3.1.3 Temperatura de Transição Vítea

Nas Figuras 5.17 a 5.23 são apresentados os termogramas com a temperatura de transição vítea ( $T_g$ , “midpoint”) dos hidrolisados proteicos puro e formulados com maltodextrina ou goma arábica, equilibrados em diferentes atividades de água.

Um forte efeito plasticizante da água na temperatura de transição vítea foi verificado, com uma grande redução da  $T_g$  com o aumento da atividade de água, como esperado. Aguilera, Levi e Karel (1993) estudaram a temperatura de transição vítea e o colapso da estrutura de proteína hidrolisada e liofilizada de pescado e observaram que o aumento da atividade de água (de 0,0 para 0,64) diminuiu a  $T_g$  de 71,9 para  $-42,8^\circ\text{C}$ .

Valores de  $T_g$  em função da atividade de água de tilápias desidratadas osmoticamente com soluções salina, de sacarose e ternária NaCl-sacarose foram determinados por Medina-Vivanco et al. (2007). Os autores verificaram o efeito plasticizante da água, com a diminuição dos valores de  $T_g$  com o aumento da atividade de água. Os valores de  $T_g$  encontrados por esses autores foram bem superiores aos reportados neste trabalho e no artigo de Aguilera, Levi e Karel (1993) para proteína hidrolisada. Este fato pode ser explicado pela presença de peptídeos de baixo peso molecular, que contribuem para a redução da  $T_g$ .

O efeito plasticizante da água foi observado também para tomates desidratados osmoticamente (BARONI; SERENO; HUBINGER, 2003); músculos de peixe e suas frações proteicas (HASHIMOTO et al., 2004); morangos, mirtilos, framboesas e amoras (KHALLOUFI; EL-MASLOUHI; RATTI, 2000); molusco (SABLANI et al., 2004); lactose (SHRESTHA et al., 2007a); polpa de camu-camu (SILVA; SOBRAL; KIECKBUSCH, 2006); suco de acerola em pó obtido por spray dryer (RIGHETTO, 2003); abacaxi (TELIS; SOBRAL, 2001); tomate (TELIS; SOBRAL, 2002), entre outros.

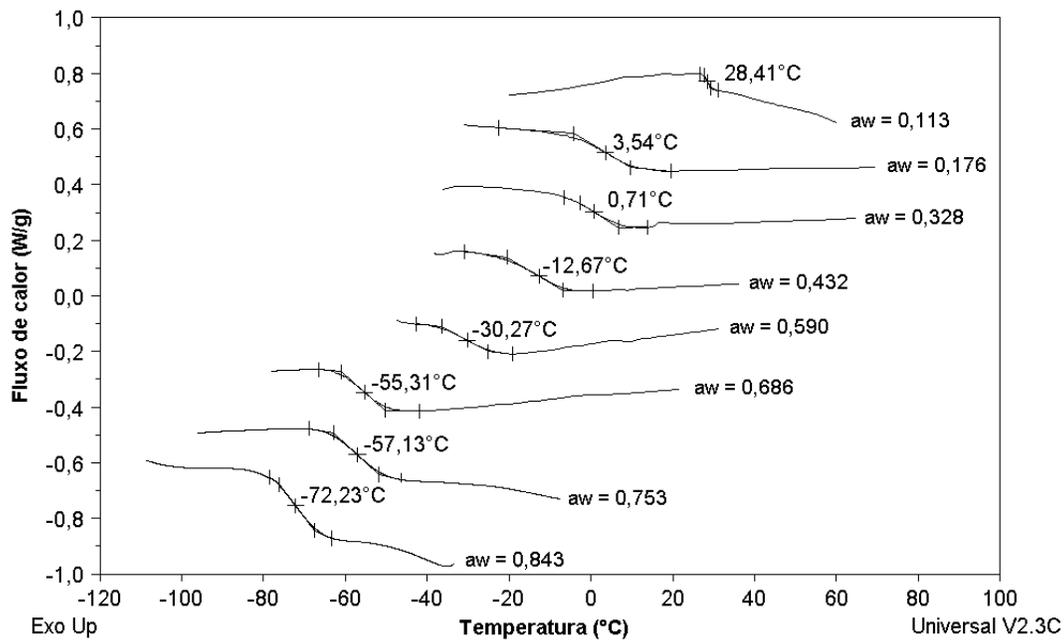


Figura 5.17: Transição vítrea do hidrolisado proteico puro em pó, equilibrado em diferentes atividades de água.

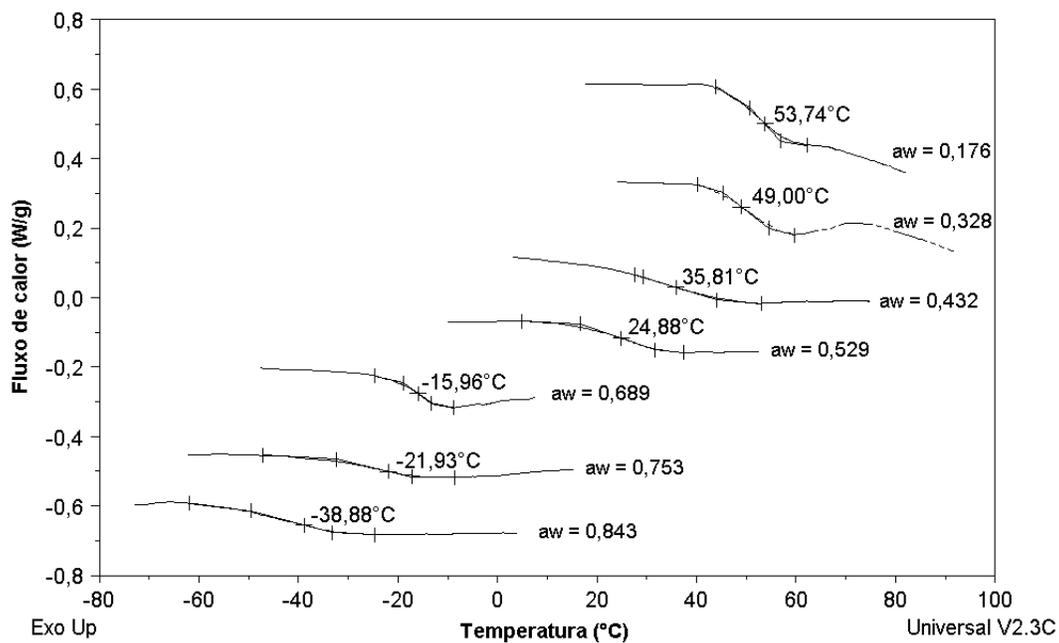
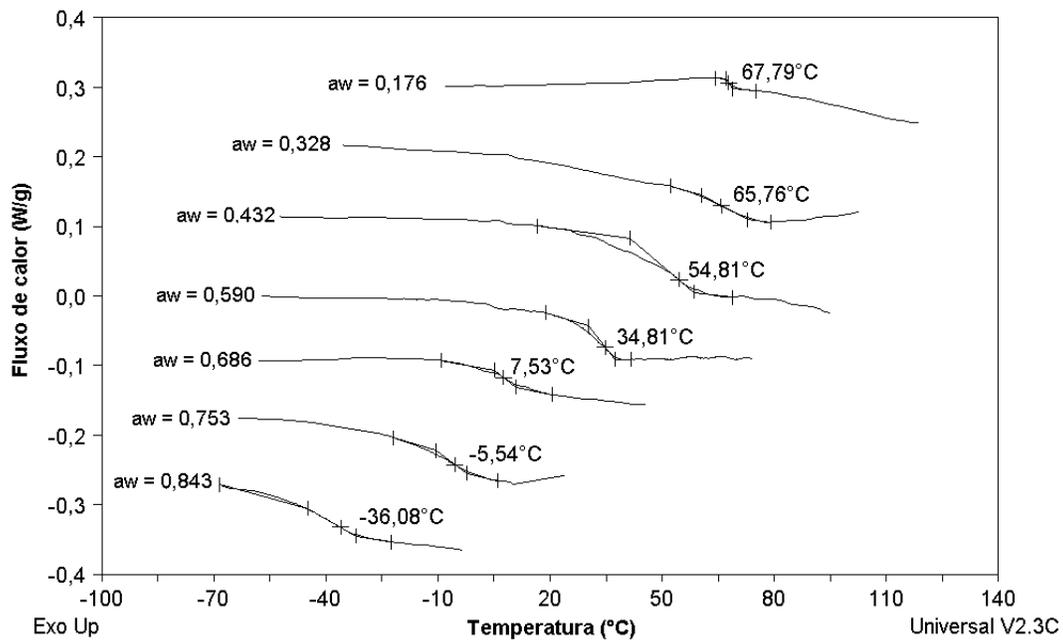
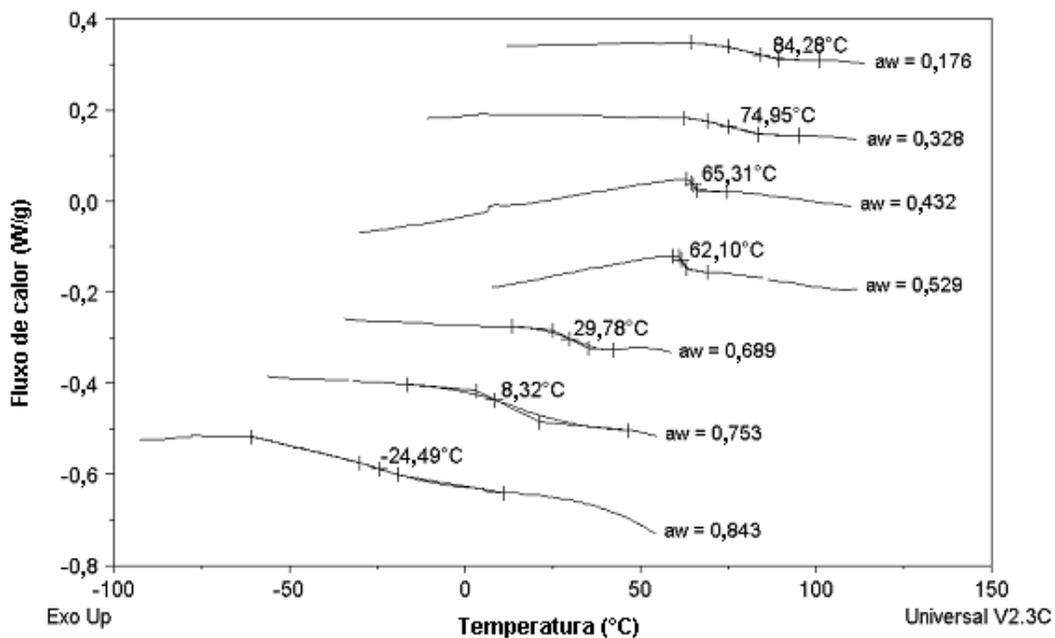


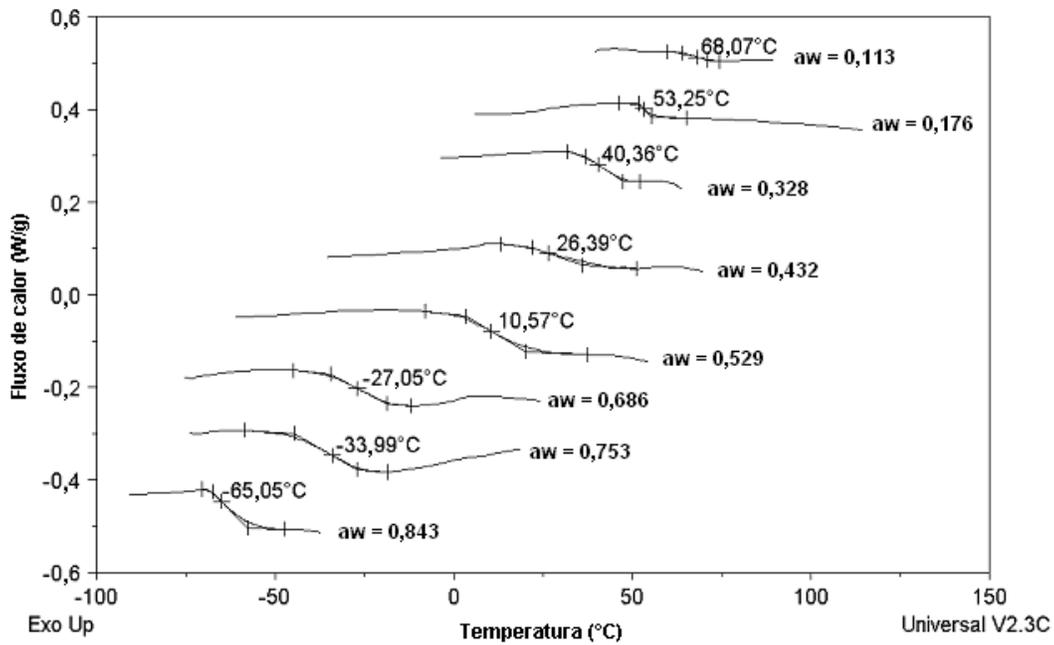
Figura 5.18: Transição vítrea do hidrolisado proteico em pó formulado com 10% de maltodextrina, equilibrado em diferentes atividades de água.



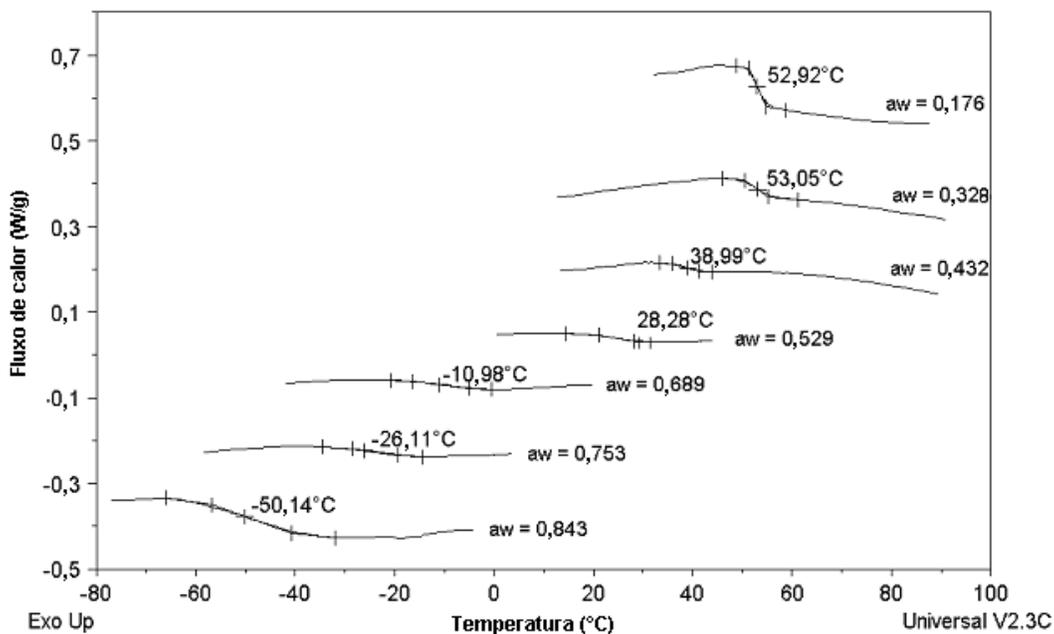
**Figura 5.19:** Transição vítrea do hidrolisado proteico em pó formulado com 20% de maltodextrina, equilibrado em diferentes atividades de água.



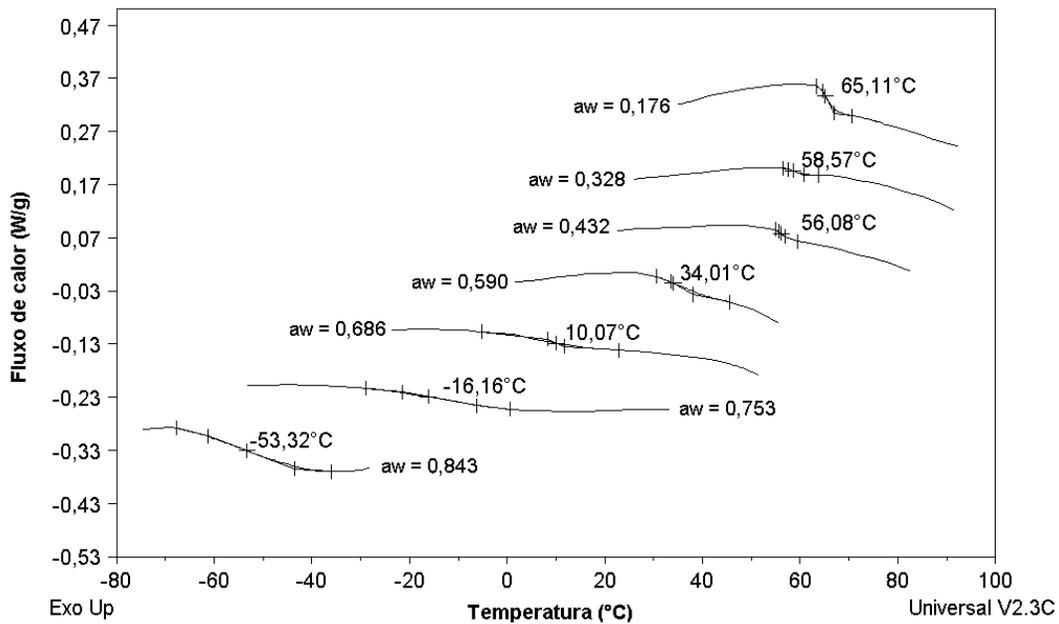
**Figura 5.20:** Transição vítrea do hidrolisado proteico em pó formulado com 30% de maltodextrina, equilibrado em diferentes atividades de água.



**Figura 5.21:** Transição vítrea do hidrolisado proteico em pó formulado com 10% de goma arábica, equilibrado em diferentes atividades de água.



**Figura 5.22:** Transição vítrea do hidrolisado proteico em pó formulado com 20% de goma arábica, equilibrado em diferentes atividades de água.



**Figura 5.23:** Transição vítrea do hidrolisado proteico em pó formulado com 30% de goma arábica, equilibrado em diferentes atividades de água.

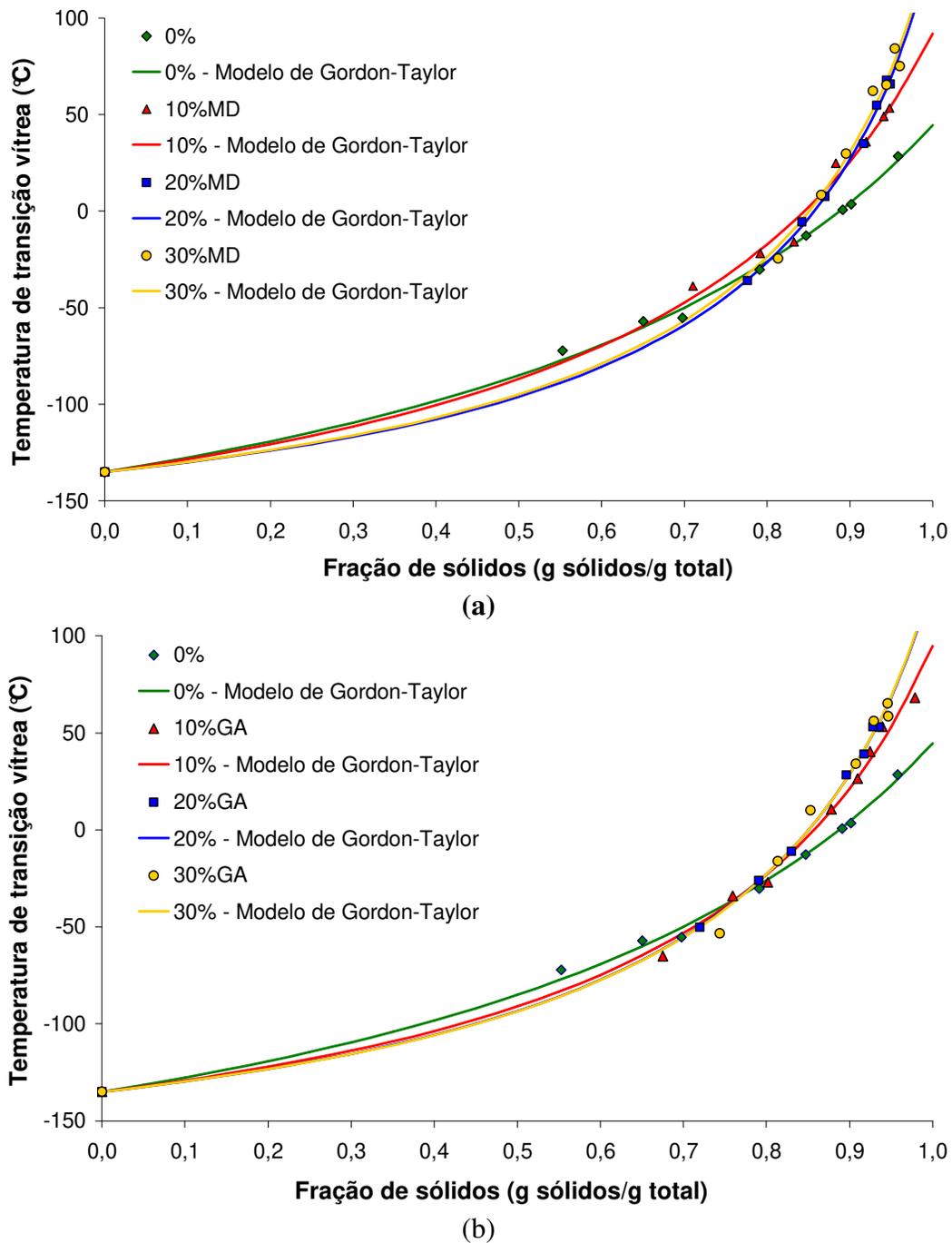
Os dados experimentais da  $T_g$  em função do teor de sólidos presentes no hidrolisado proteico foram descritos de acordo com o modelo de Gordon e Taylor (1952). Os parâmetros deste modelo juntamente com o coeficiente de determinação estão ilustrados na Tabela 5.11.

**Tabela 5.11:** Parâmetros de ajuste da equação de Gordon-Taylor, relacionando  $T_g$  e conteúdo de sólidos, para o hidrolisado proteico puro (0%) e para os formulados com maltodextrina (MD) ou goma arábica (GA).

Amostras em pó	$T_{g,sól}$ (°C)	k	$R^2$	E (%)
0%	44,43	2,59	0,997	41,35
10%MD	91,90	3,71	0,997	17,67
20%MD	132,95	5,89	0,998	8,63
30%MD	136,94	5,77	0,992	16,47
10%GA	94,70	4,22	0,994	8,69
20%GA	124,04	5,24	0,999	4,46
30%GA	125,12	5,29	0,992	17,48

De forma geral, os resultados experimentais apresentaram bons ajustes em relação ao modelo testado, com valores de coeficientes de determinação superiores a 0,99. Como mostrado na Tabela 5.11, foi encontrado um valor de  $T_{g,sól}$  do hidrolisado proteico (44,4°C) bem inferior ao valor da  $T_{g,sól}$  do sistema hidrolisado proteico + maltodextrina (91,9 a 136,9°C) e hidrolisado proteico + goma arábica (94,7 a 125,12°C), indicando que a adição de uma substância com alto peso molecular aumentou a temperatura de transição vítrea do produto. O valor do parâmetro  $k$  obtido para a amostra pura foi de 2,59, valor bem inferior ao encontrado por Aguilera, Levi e Karel (1993) para hidrolisado proteico de peixe. Esse parâmetro controla o grau de curvatura da curva de  $T_g$  em função do teor de sólidos e pode ser interpretado como a força de interação entre os componentes do sistema (GORDON; TAYLOR, 1952).

A Figura 5.24 ilustra os dados experimentais ajustados pelo modelo de Gordon-Taylor, bem como o efeito da adição de maltodextrina ou goma arábica na temperatura de transição vítrea do hidrolisado proteico de carne de frango. Uma vez que a  $T_g$  aumenta com o aumento do peso molecular, a adição de agentes carreadores na solução a ser desidratada contribui no aumento da estabilidade do sistema, aumentando a  $T_g$ . Entretanto, aumentando a concentração de maltodextrina/goma arábica de 20 para 30%, pouca influência foi observada na  $T_g$ . Grabowski, Truong e Daubert (2006), trabalhando com purê de batata-doce hidrolisada com enzima amilase, também observaram esse mesmo comportamento. Usando as condições de secagem de 190°C e conteúdo de amilase de 3,75 ml/kg purê, a amostra hidrolisada pura e a formulada com 10% de maltodextrina apresentaram valores de  $T_g$  de 51,7 e 60,2°C, respectivamente. Entretanto, ao aumentar a concentração de aditivo para 20%, a  $T_g$  do pó foi 59,9°C.



**Figura 5.24:** Efeito da fração de sólidos na temperatura de transição vítrea do hidrolisado protéico formulado com: (a) maltodextrina e (b) goma arábica.

Shrestha et al. (2007b), estudando a secagem por spray dryer de suco de laranja com diferentes concentrações de maltodextrina, observaram que o aumento na proporção de 60 para 75% de maltodextrina no suco acarretou um menor aumento da  $T_g$  quando comparado

ao aumento de 50 para 60% de maltodextrina. Para os autores, um maior valor de  $T_g$  da amostra com 75% de maltodextrina era esperado. Comparando seus resultados com os obtidos por Roos e Karel (1991b) para uma solução de sacarose com 75% de maltodextrina, Shrestha et al. (2007b) observaram que o valor de  $T_g$  encontrado por eles estava subestimado. Assim, estes autores estudaram o comportamento da transição vítrea destes sistemas utilizando “thermal mechanical compression test” (TMCT), mostrando que é possível utilizar este método para medir a transição vítrea de um sistema amorfo contendo substâncias com alto peso molecular. De acordo com Shrestha et al. (2007b), a habilidade do DSC em medir precisamente a  $T_g$  é diminuída uma vez que a presença de macromoléculas no produto resulta em uma menor definição da curva da transição vítrea.

O efeito da adição de maltodextrina como agente coadjuvante na secagem de polpa de manga foi verificado por Jaya e Das (2004). De acordo com os autores, polpas de frutas apresentam um elevado conteúdo de ácidos e açúcares de baixo peso molecular, tais como frutose, glicose e sacarose e ácido cítrico, que possuem baixa temperatura de transição vítrea, conferindo pegajosidade ao produto em pó. Com a adição de maltodextrina ao sistema, os autores concluíram que a pegajosidade do pó obtido foi eliminada, tornando-o menos higroscópico e aumentando a sua estabilidade.

Righetto e Netto (2005) verificaram o efeito da adição de maltodextrina e goma arábica na temperatura de transição vítrea de suco de acerola obtido por *spray dryer*. As autoras observaram que a adição de 50% de maltodextrina ou goma arábica elevou a  $T_g$  do suco puro de 0,5°C para 27,1°C e 34°C, respectivamente, a uma atividade de água de 0,43. Comportamento semelhante foi observado por Sablani, Shrestha e Bhandari (2008) ao trabalharem com pó de tâmara. Os autores verificaram que a temperatura de transição vítrea aumentou (de 12,7 para 47,5°C) com a concentração de maltodextrina (de 35:65 para 50:50, razão maltodextrina:pasta de tâmara).

#### 5.3.1.4 Condições Críticas de Estocagem

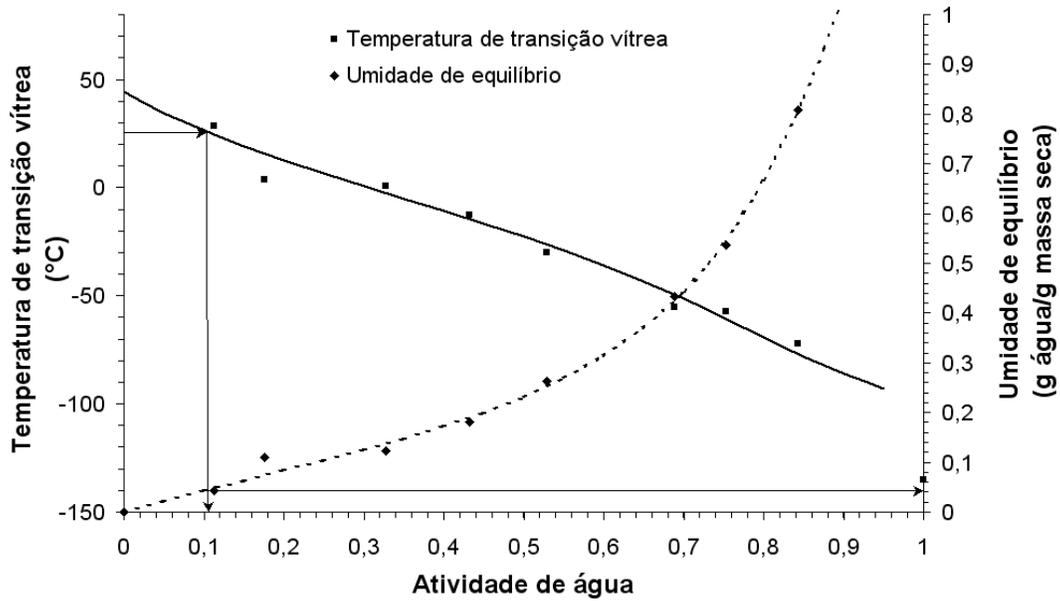
O conteúdo de água e atividade de água críticos são aqueles quando a temperatura de transição vítrea do produto é igual a temperatura ambiente. A estabilidade de um

produto amorfo é fortemente ditada pela  $T_g$ , que depende das condições de estocagem, como atividade de água ou umidade e temperatura. Todos os produtos amorfos são metaestáveis e estão sujeitos ao empelotamento, ao colapso e à cristalização durante o seu armazenamento (ROOS; KAREL, 1990; SHRESTHA et al., 2007a).

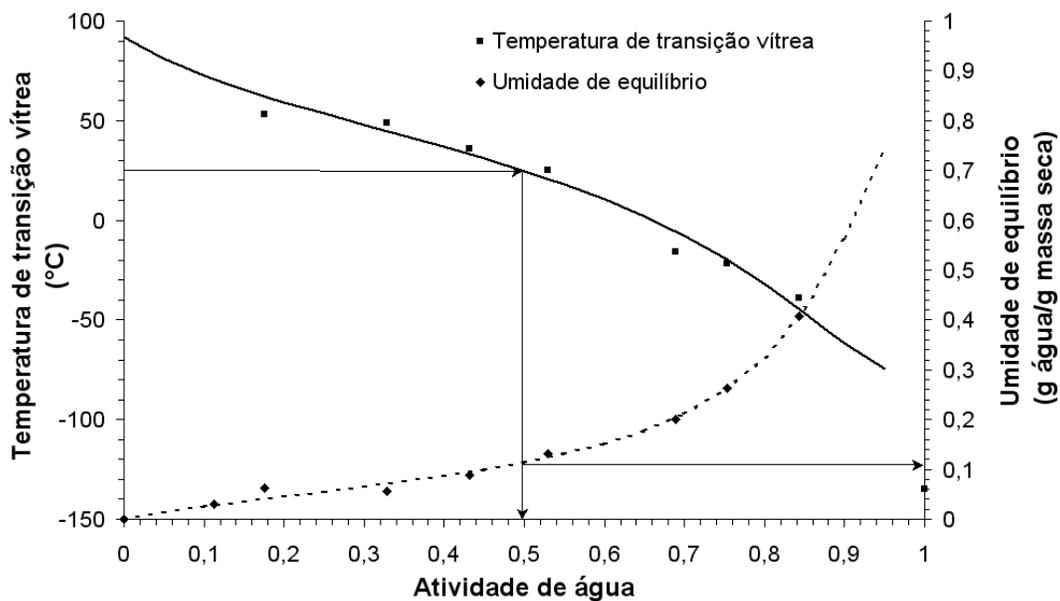
O uso combinado da equação de Gordon-Taylor com os modelos matemáticos que descrevem as curvas de sorção, possibilitando descrever o efeito plasticizante da água e avaliar a estabilidade dos alimentos foi sugerido por Roos (1993). Dessa forma, analisando a isoterma de sorção e a  $T_g$  em um único gráfico (Figuras 5.25 a 5.31), é possível localizar os valores críticos de atividade de água e umidade, definidos como aqueles que reduzem a  $T_g$  para a temperatura ambiente. Os valores de  $T_g$  e de conteúdo de água, a uma dada atividade de água, foram preditos através das equações de Gordon-Taylor e BET.

Dessa forma, analisando a Figura 5.25, se o hidrolisado proteico em pó, sem adição de agentes carreadores, for armazenado em um ambiente com atividade de água de 0,1 (ou umidade relativa de 10%), o produto irá adquirir uma umidade de 0,04 g água/g massa seca e a sua temperatura de transição vítrea será 25°C. Ou seja, se o hidrolisado for armazenado em um ambiente à temperatura de 25°C em umidade relativa superior a 10%, ele sofrerá alterações estruturais.

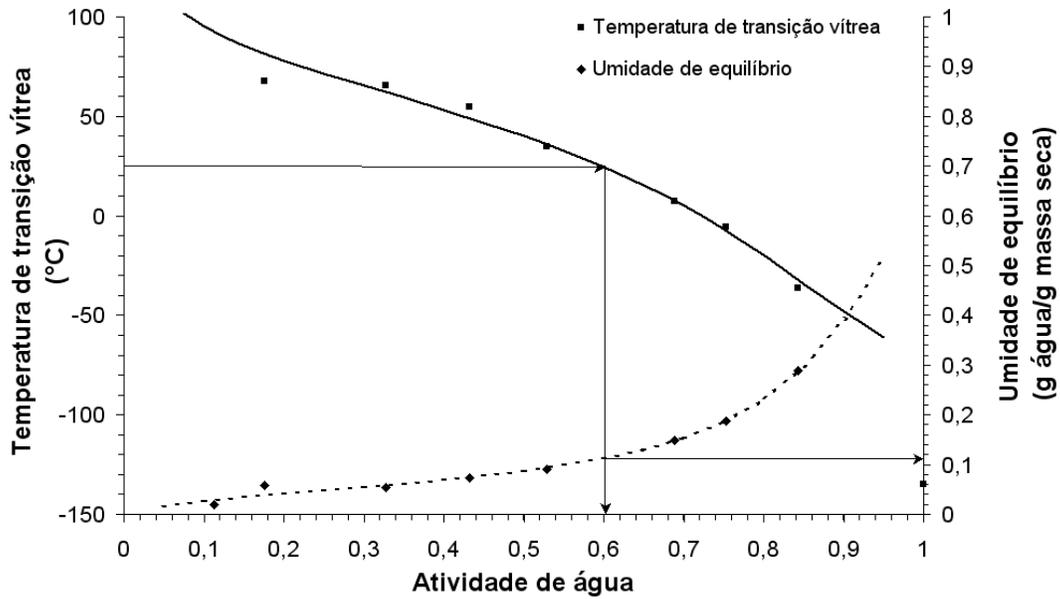
Para as amostras contendo 10% maltodextrina (Figura 5.26), observa-se que, à temperatura ambiente de 25°C, os valores críticos de atividade de água e de conteúdo de umidade foram 0,5 e 0,11 g água/g massa seca, respectivamente. Isso demonstra que a adição de agente carreador no hidrolisado proteico, acarretou um aumento da estabilidade do produto. Isto é, o produto contendo maltodextrina pode ser armazenado a 25°C em uma umidade relativa de até 50% ou com um conteúdo de umidade de 0,11 g água/g massa seca, valores bem superiores à umidade relativa e conteúdo de umidade críticos do produto puro (10% e 0,04 g água/g massa seca, respectivamente).



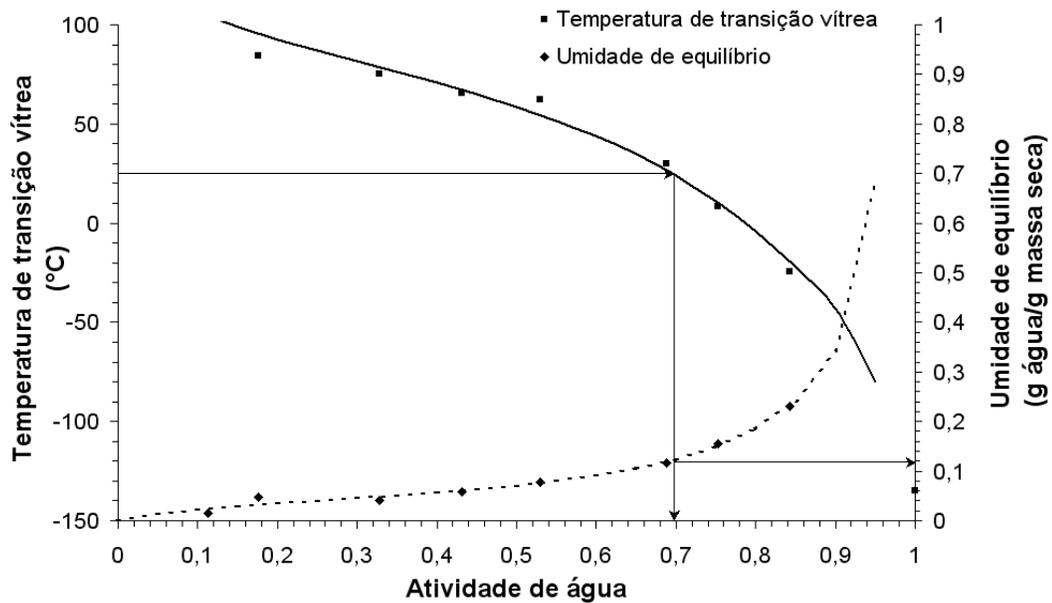
**Figura 5.25:** Variação da temperatura de transição vítrea e da umidade de equilíbrio com a atividade de água para o hidrolisado proteico puro em pó.



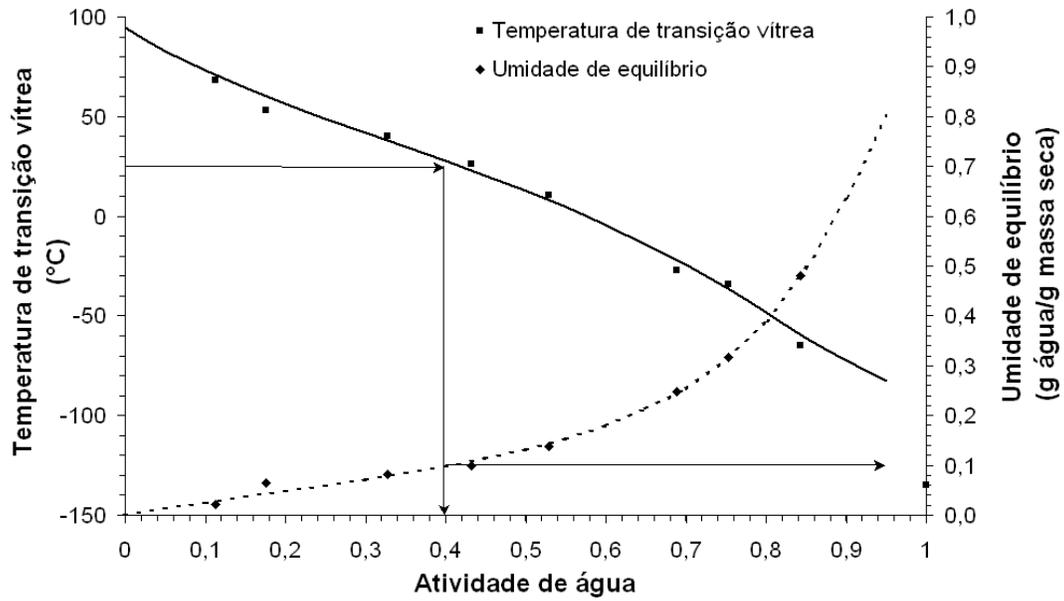
**Figura 5.26:** Variação da temperatura de transição vítrea e da umidade de equilíbrio com a atividade de água para o hidrolisado proteico em pó formulado com 10% de maltodextrina.



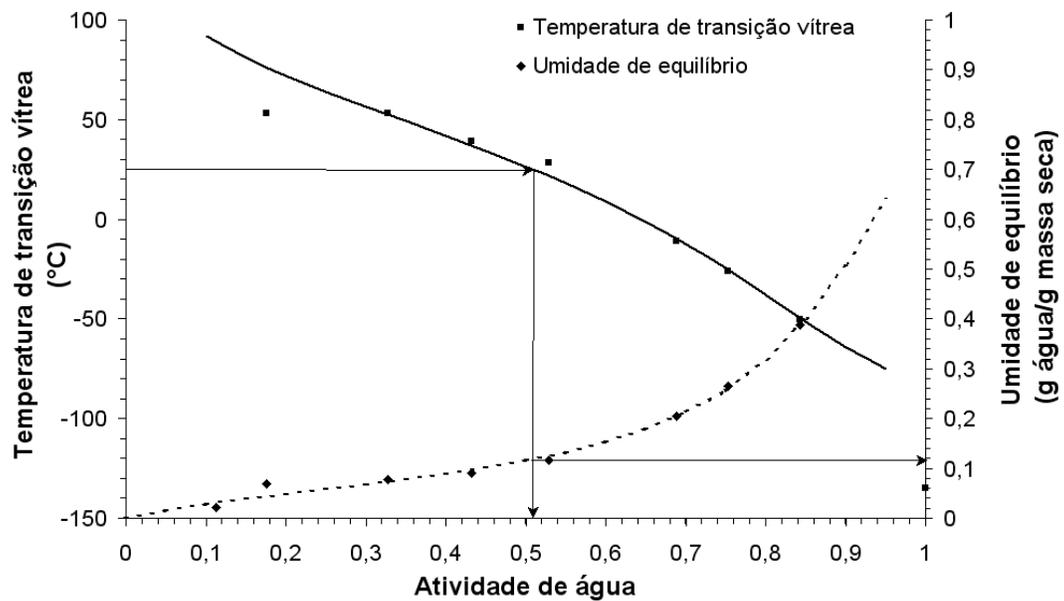
**Figura 5.27:** Variação da temperatura de transição vítrea e da umidade de equilíbrio com a atividade de água para o hidrolisado proteico em pó formulado com 20% de maltodextrina.



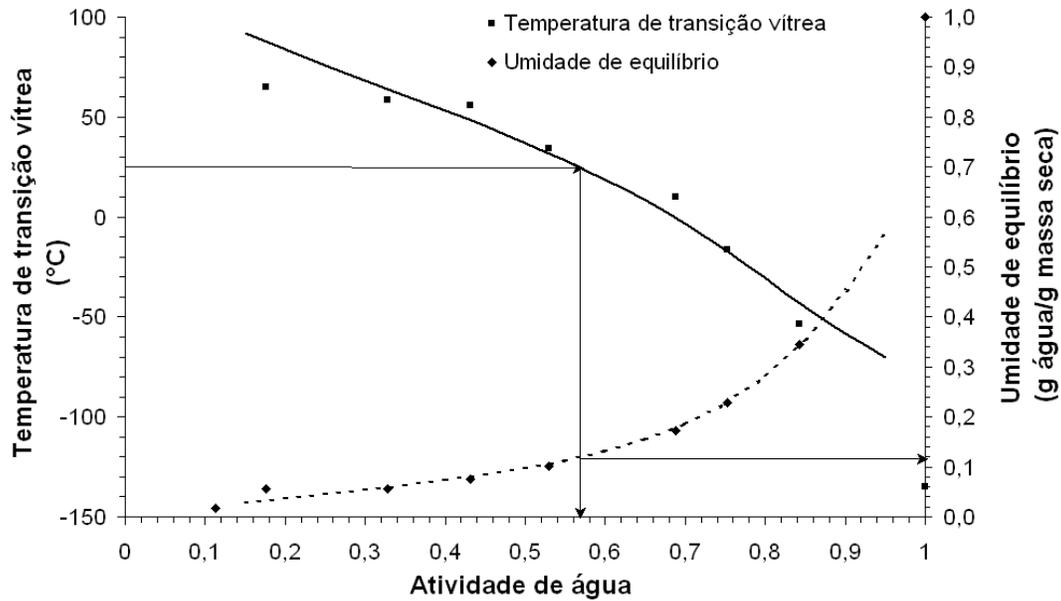
**Figura 5.28:** Variação da temperatura de transição vítrea e da umidade de equilíbrio com a atividade de água para o hidrolisado proteico em pó formulado com 30% de maltodextrina.



**Figura 5.29:** Variação da temperatura de transição vítrea e da umidade de equilíbrio com a atividade de água para o hidrolisado proteico em pó formulado com 10% de goma arábica.



**Figura 5.30:** Variação da temperatura de transição vítrea e da umidade de equilíbrio com a atividade de água para o hidrolisado proteico em pó formulado com 20% de goma arábica.



**Figura 5.31:** Variação da temperatura de transição vítrea e da umidade de equilíbrio com a atividade de água para o hidrolisado proteico em pó formulado com 30% de goma arábica.

Analogamente, os valores críticos de atividade de água e de conteúdo de umidade para as amostras com maltodextrina ou goma arábica encontram-se na Tabela 5.12. Como esperado, os valores críticos aumentaram com o conteúdo de maltodextrina ou goma arábica.

**Tabela 5.12:** Valores críticos de atividade de água ( $a_{w,c}$ ) e de conteúdo de umidade ( $X_{w,c}$ ) para o hidrolisado proteico puro (0%) e para os formulados com maltodextrina (MD) ou goma arábica (GA), a 25°C.

Amostras em pó	$a_{w,c}$	$X_{w,c}$ (g água/g sólidos)
0%	0,10	0,04
10%MD	0,50	0,11
20%MD	0,60	0,11
30%MD	0,70	0,12
10%GA	0,42	0,10
20%GA	0,51	0,12
30%GA	0,57	0,12

Os baixos valores críticos encontrados para o hidrolisado puro indicam a sua vulnerabilidade durante seu processamento, manipulação e estocagem. Experimentalmente, a secagem deste produto em *spray dryer* apresentou algumas dificuldades (maior aderência do produto na câmara de secagem e dificuldade de manipulação do pó, devido a sua maior adesividade), uma vez que as condições de saída do equipamento estavam próximas ou acima das condições críticas.

Shrestha et al. (2007a) avaliaram a estabilidade de lactose intacta e hidrolisada através de isotermas de sorção e temperatura de transição vítrea. Os autores definiram que a atividade de água crítica é aquela que reduz a  $T_g$  para temperatura ambiente de 23°C. Como resultado, os autores verificaram que a  $a_w$  e o conteúdo de umidade críticos para a lactose hidrolisada foram respectivamente 0,15 e 2,4 g/100 g sólidos. Em comparação, para a lactose intacta, os valores críticos foram: atividade de água de 0,39 e conteúdo de umidade de 8 g/100 g sólidos. Esses valores são bem superiores ao da amostra hidrolisada, indicando uma maior estabilidade da lactose intacta, que possui maior peso molecular.

Um baixo valor de temperatura de transição vítrea de um produto pode afetar o processo de secagem, uma vez que as condições de saída do equipamento (umidade do ar e temperatura) podem ser superiores às condições críticas do pó. Quanto maior a diferença de temperatura ( $\Delta T = T_{sai} - T_g$ ), maior é o grau de adesividade do produto. Visualmente, durante a secagem do hidrolisado proteico puro no *spray dryer*, foi possível observar uma maior quantidade de pó aderido na câmara e no ciclone do secador. Esse fato ocorreu porque a temperatura de saída do secador ( $T_{sai} = 91^\circ\text{C}$ ) foi maior do que a  $T_g$  do hidrolisado proteico anidro ( $T_{g,sól} = 44,4^\circ\text{C}$ , de acordo com a Tabela 5.11), resultando em um alto valor de  $\Delta T$ . Uma vez que a  $T_g$  da maltodextrina 10 DE ( $160^\circ\text{C}$ , de acordo com Roos e Karel, 1991b) é alta, a adição desta substância aumentou a  $T_g$  do produto em pó, reduzindo o  $\Delta T$  e, conseqüentemente, diminuindo o comportamento adesivo do pó. Nenhum dado de temperatura de transição vítrea da goma arábica anidra foi encontrado na literatura. Entretanto, Righetto e Netto (2005) obtiveram alguns dados para a goma arábica em três diferentes atividades de água, que foram similares aos valores para a maltodextrina 10DE encontrados por Roos e Karel (1991b).

### 5.3.2 Balanço de Massa

Através do balanço de massa (Equações 4.6 e 4.7) e por psicrometria, foi possível determinar a umidade absoluta do ar de entrada e de saída, bem como a vazão mássica da água evaporada para cada ensaio de secagem, nas condições do planejamento experimental, descritas no item 4.2.2.2.

**Tabela 5.13:** Dados de umidade absoluta do ar de entrada ( $Y_{ent}$ ), do ar de saída do secador ( $Y_{sai}$ ) e de saturação ( $Y_{sat}$ ), temperatura de bulbo úmido ( $T_{bu}$ ) e a vazão mássica de água evaporada ( $\dot{m}_{ev}$ ) para cada ensaio.

Ensaio	$T_{ent}$ (°C)	$\dot{m}_{a\ lim}$ (kg/h)	$T_{bu}$ (°C)	$Y_{ent}$ (kg água/kg ar seco)	$Y_{sai}$ (kg água/kg ar seco)	$Y_{sat}$ (kg água/kg ar seco)	$\dot{m}_{ev}$ (kg água/h)
1	132	0,14	41,0	0,01672	0,02740	0,04879	0,118
2	188	0,14	46,8	0,01617	0,03467	0,06766	0,119
3	132	0,34	41,0	0,01654	0,04111	0,05475	0,287
4	188	0,34	46,8	0,01766	0,04820	0,07453	0,288
5	120	0,24	39,5	0,01737	0,03539	0,05282	0,202
6	200	0,24	48,0	0,01689	0,04376	0,07712	0,203
7	160	0,10	43,5	0,01579	0,02586	0,05381	0,085
8	160	0,38	43,2	0,01379	0,03935	0,06130	0,321
9	160	0,24	41,6	0,01252	0,03000	0,05699	0,203
10	160	0,24	43,2	0,01423	0,03308	0,06175	0,203
11	160	0,24	43,2	0,01422	0,03344	0,05865	0,203

Analisando a Tabela 5.13, observa-se que a vazão mássica de água evaporada aumentou pouco com a temperatura do ar de secagem. Este fato pode ser explicado pela pequena elevação na temperatura de bulbo úmido com o aumento da temperatura do ar em bulbo seco. Como o calor latente de vaporização é a principal parcela de energia necessária na secagem do líquido atomizado (Tabela 5.14) e a evaporação da umidade ocorre principalmente na temperatura de bulbo úmido, este pequeno aumento na  $T_{bu}$  contribuiu pouco na capacidade de secagem.

Por outro lado, a vazão da alimentação aumentou com a vazão mássica de água evaporada, devido ao maior teor de água disponível para evaporar. Este fato ocorreu, porque o ar na saída do secador não se encontrava no estado saturado (na Tabela 5.13,  $Y_{\text{sai}}$  é inferior ao  $Y_{\text{sat}}$ ) em todas as condições do experimento. A máxima evaporação de água é obtida quando o ar de saída estiver no estado saturado. Acima da condição de saturação, o aumento na vazão de alimentação não elevaria a vazão de água evaporada. Portanto, o secador operou abaixo de sua capacidade máxima de evaporação.

### 5.3.3 Balanço de Energia

Através das equações 4.11 a 4.14, foram calculados o calor total fornecido pelo sistema ( $Q_1$ ) e cada parcela de calor necessária para evaporar o hidrolisado proteico no *spray dryer*, correspondendo ao calor necessário para aquecer a solução atomizada da temperatura da alimentação até a temperatura de bulbo úmido do ar de secagem ( $Q_2$ ); ao calor latente necessário para evaporar a água ( $Q_3$ ); ao calor necessário para aquecer o produto em pó próximo à temperatura do ar de saída ( $Q_4$ ); e ao calor perdido ( $Q_5$ ), mostrados na Tabela 5.14.

**Tabela 5.14:** Parcelas de calor durante a secagem do hidrolisado proteico em *spray dryer*.

Ensaio	$Q_1$ (kcal/h)	$Q_2$ (kcal/h)	$Q_3$ (kcal/h)	$Q_4$ (kcal/h)	$Q_5$ (kcal/h)
1	297,3	1,7	68,17	0,14	227,32
2	263,8	2,4	67,80	0,17	193,42
3	317,2	4,4	165,62	0,18	146,99
4	396,8	6,7	164,60	0,43	225,08
5	271,1	2,8	116,99	0,23	151,04
6	341,4	5,0	116,01	0,43	220,01
7	283,5	1,4	48,57	0,14	233,42
8	408,6	3,8	184,66	0,42	219,77
9	387,4	2,9	116,76	0,36	267,35
10	355,6	2,8	116,57	0,36	235,92
11	346,3	2,6	116,55	0,36	226,82

O cálculo de diferentes parcelas de calor é importante para avaliar os gastos energéticos do secador. De modo geral, mais de 50% do calor total fornecido pelo sistema ( $Q_1$ ) foi perdido para o ambiente. Este calor ( $Q_5$ ) está relacionado ao perdido pelo ar de saída do secador, que sai aquecido, e pela parede e outras partes do secador.

Assim, o restante do calor fornecido ao sistema foi efetivamente utilizado para o processo de secagem da solução. A Tabela 5.14 mostra que o principal gasto energético para evaporar é o calor latente de vaporização ( $Q_3$ ), representando cerca de 95% do total de calor efetivo na evaporação da alimentação. Os calores sensíveis necessários para aquecer a solução de alimentação da temperatura ambiente para a temperatura de bulbo úmido ( $Q_2$ ) e para aquecer o produto em pó para uma temperatura próxima à saída do secador ( $Q_3$ ) são praticamente desprezíveis.

### **5.3.4 Planejamento Experimental**

#### **5.3.4.1 Desempenho do Secador**

Para avaliar a influência da temperatura do ar de entrada  $T_{ent}$  e da vazão mássica da alimentação  $\dot{m}_{a\ lim}$  sobre o desempenho do secador, a atividade antioxidante e as propriedades físico-químicas do produto em pó, foi utilizado um delineamento composto central rotacional (DCCR), totalizando 11 ensaios, conforme Tabela 5.15.

Os efeitos dos fatores lineares, quadráticos e das interações das respostas analisadas, assim como o erro, o coeficiente t e a significância estatística podem ser vistos no Apêndice A. Após a eliminação dos fatores não-significativos, verificou-se a significância da regressão e da falta de ajuste a um nível de confiança de 90%, através de uma Análise de Variância (ANOVA), utilizando o teste F para o planejamento estudado (Apêndice B).

Os coeficientes de determinação para os modelos ajustados foram 0,937, 0,863, 0,980 e 0,943 para as respostas temperatura do ar de saída, rendimento de secagem, eficiência térmica e produtividade do secador, respectivamente. Estes valores indicam que os modelos obtidos explicaram 93,7%, 86,3%, 98,0% e 94,3% da variação dos dados observados. De acordo com a Análise de Variância mostrada no Apêndice B, o modelo apresentou regressão significativa ao nível de 90% de confiança.

**Tabela 5.15:** Resultados experimentais de temperatura do ar de saída ( $T_{\text{sai}}$ ), rendimento de secagem (RS), eficiência térmica ( $\eta$ ) e produtividade do secador (PS), de acordo com o planejamento experimental.

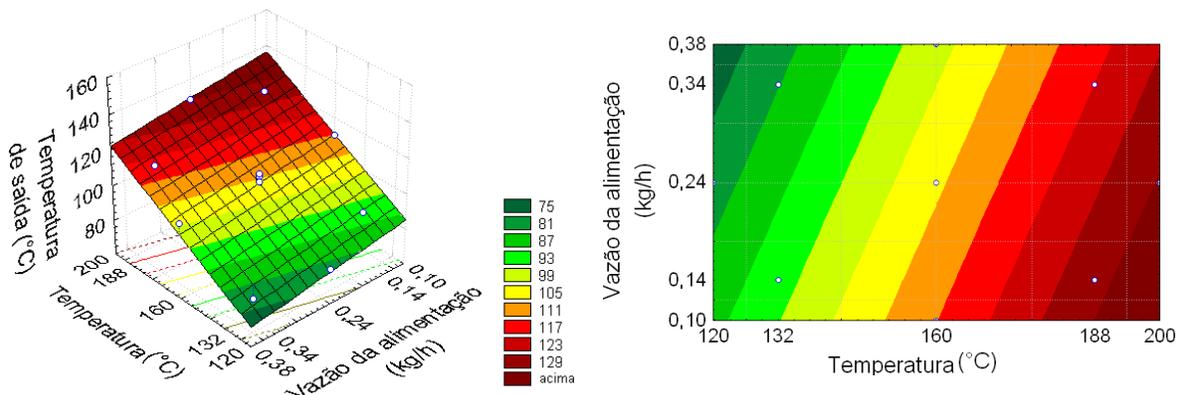
Ensaio	Variáveis independentes		Variáveis dependentes			
	$T_{\text{ent}}$ (°C)	$\dot{m}_{\text{a,lim}}$ (kg/h)	$T_{\text{sai}}$ (°C)	RS (%)	$\eta$ (%)	PS (kcal/kg água evaporada)
1	132	0,14	$88,8 \pm 0,9$	74,49	23,54	2504,20
2	188	0,14	$125,3 \pm 1,2$	51,90	26,68	2220,73
3	132	0,34	$72,3 \pm 1,3$	52,66	53,66	1099,63
4	188	0,34	$112,3 \pm 1,4$	58,18	43,27	1375,90
5	120	0,24	$80,0 \pm 1,7$	71,30	44,28	1332,26
6	200	0,24	$128,6 \pm 1,8$	62,54	35,56	1677,86
7	160	0,10	$110,6 \pm 2,1$	65,97	17,66	3342,75
8	160	0,38	$103,4 \pm 0,7$	58,03	46,22	1267,70
9	160	0,24	$107,4 \pm 0,9$	67,28	30,98	1903,66
10	160	0,24	$109,3 \pm 0,6$	67,44	33,66	1747,61
11	160	0,24	$104,8 \pm 0,6$	68,83	34,50	1702,23

As superfícies de resposta e as curvas de nível, geradas através dos modelos propostos, estão mostradas nas Figuras 5.32 a 5.35, que expressam a interação entre duas variáveis independentes sobre a resposta.

### Temperatura do Ar de Saída

A temperatura do ar de saída foi analisada por ser um importante parâmetro do processo, por estar relacionada ao consumo energético do equipamento e à qualidade do produto final. Temperaturas de saída superiores à temperatura de transição vítrea do produto em pó podem resultar em um produto pegajoso e na formação de aglomerados. Quanto maior a diferença de temperatura ( $\Delta T = T_{\text{sai}} - T_g$ ), maior é o grau de adesividade do produto final.

De acordo com a Figura 5.32, a temperatura de secagem teve um efeito positivo linear sobre a temperatura do ar de saída, enquanto que a vazão de alimentação teve um efeito negativo. Esse resultado já era esperado, uma vez que maiores temperaturas de secagem provocam uma maior transferência de calor e menores vazões de alimentação permitem um menor consumo de energia devido à menor quantidade de produto a ser aquecida. Este mesmo comportamento foi observado por Toneli (2006) e Goula e Adamopoulos (2005a).

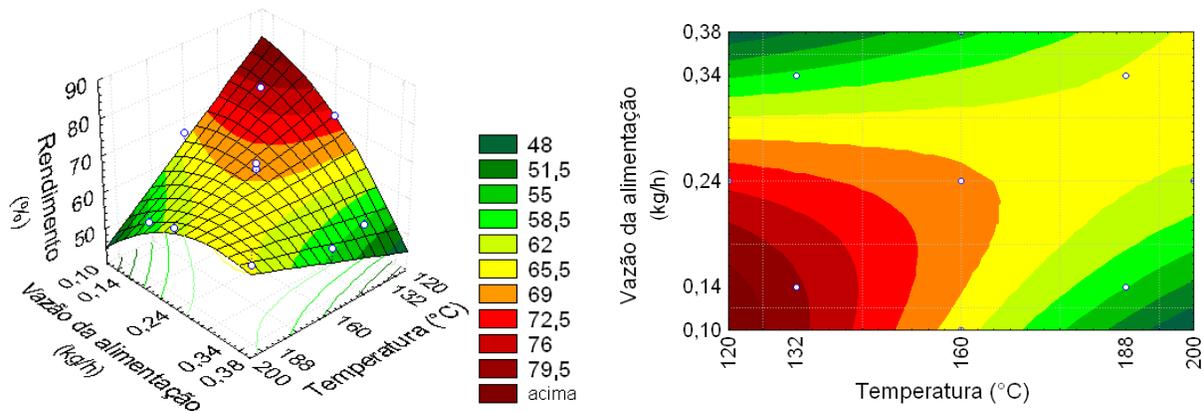


**Figura 5.32:** Influência das variáveis independentes sobre a resposta temperatura do ar de saída.

### Rendimento de Secagem

Analisando a Figura 5.33, observa-se que os maiores rendimentos de processo ocorreram quando a secagem foi realizada em menores temperaturas e vazões de alimentação. Baixas temperaturas de secagem resultaram em menores temperaturas de saída e, conseqüentemente, na formação de um produto menos adesivo, devido à pequena diferença entre a temperatura de saída e a temperatura de transição vítrea do pó ( $T_g$ ). Quando a vazão de alimentação é baixa, há uma maior eficiência nos processos de transferência de calor e de massa entre o fluido atomizado e o ar de secagem. Uma grande quantidade de produto atomizado na câmara de secagem torna o processo de transferência de calor menos eficiente, causando alguns problemas operacionais, tais como gotejamento e aderência do produto na câmara. Além disso, com uma transferência de calor mais eficiente, há maior evaporação de água, resultando na formação de um produto de baixa

umidade. Esta baixa umidade confere ao produto final uma alta temperatura de transição vítrea, diminuindo a sua adesividade nas paredes do secador e, conseqüentemente, aumentando o rendimento do processo. Este mesmo comportamento foi obtido por Tonon, Brabet e Hubinger (2008), Toneli (2006) e Cai e Corke (2000), ao trabalharem com secagem de polpa de açaí, inulina e pigmentos de betacianinas, respectivamente.



**Figura 5.33:** Influência das variáveis independentes sobre a resposta rendimento de secagem.

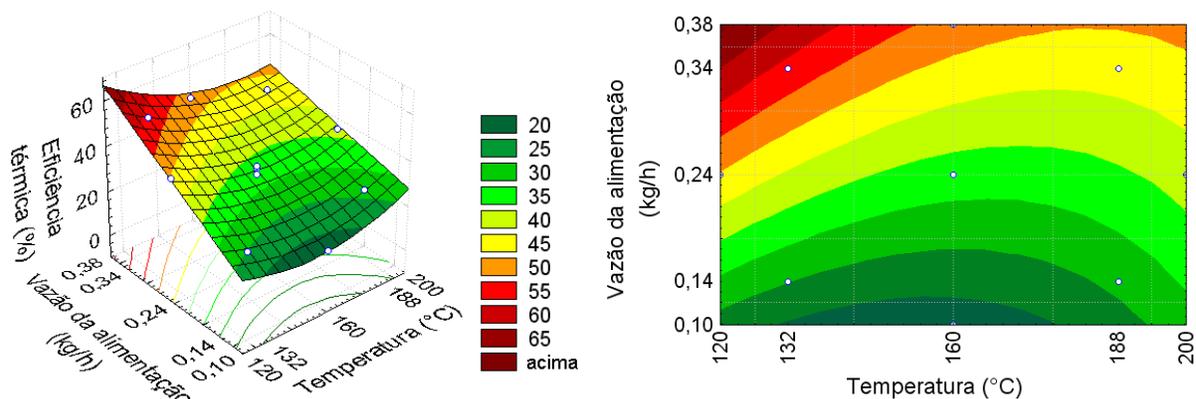
Por outro lado, de acordo com a Figura 5.33, a região que engloba menor rendimento de secagem encontra-se a uma baixa temperatura e alta vazão, que acarreta a formação de um produto em pó com alta umidade, diminuindo a temperatura de transição vítrea e aumentando a adesividade do produto em pó. Em outra região do gráfico, também foram encontrados baixos valores de rendimentos. Alta temperatura e baixa vazão de alimentação causam um aumento da temperatura de saída do ar (que pode ser visualizado na Figura 5.33), diminuindo a diferença entre a  $T_{sai}$  e a  $T_g$  e aumentando a adesividade do produto em pó.

Através destas observações e analisando os resultados obtidos (Figura 5.33 e significância do fator interação “temperatura  $\times$  vazão de alimentação”, de acordo com a Tabela 8.4 do Apêndice A), verifica-se que houve forte interação entre as variáveis temperatura do ar de secagem e vazão mássica da alimentação. Ambas possuem grande influência sobre as condições de saída do ar e do produto, tais como umidade do produto final e temperatura do ar. Estes parâmetros estão intrinsecamente relacionados com a adesividade do pó, uma vez que: (a) a umidade possui efeito plasticizante sobre o produto,

diminuindo a sua temperatura de transição vítrea e; (b) altas temperaturas de saída resultam em uma maior diferença de temperatura ( $\Delta T = T_{\text{saída}} - T_g$ ), aumentando o grau de adesividade do produto na câmara de secagem.

### Eficiência Térmica

A eficiência energética é definida como sendo a razão entre o calor efetivamente utilizado no processo de secagem pelo calor total fornecido ao sistema e é um fator comumente utilizado para avaliar o desempenho do equipamento (SOUZA; OLIVEIRA, 2006). Na Figura 5.34 estão mostrados resultados obtidos.



**Figura 5.34:** Influência das variáveis independentes sobre a resposta eficiência térmica.

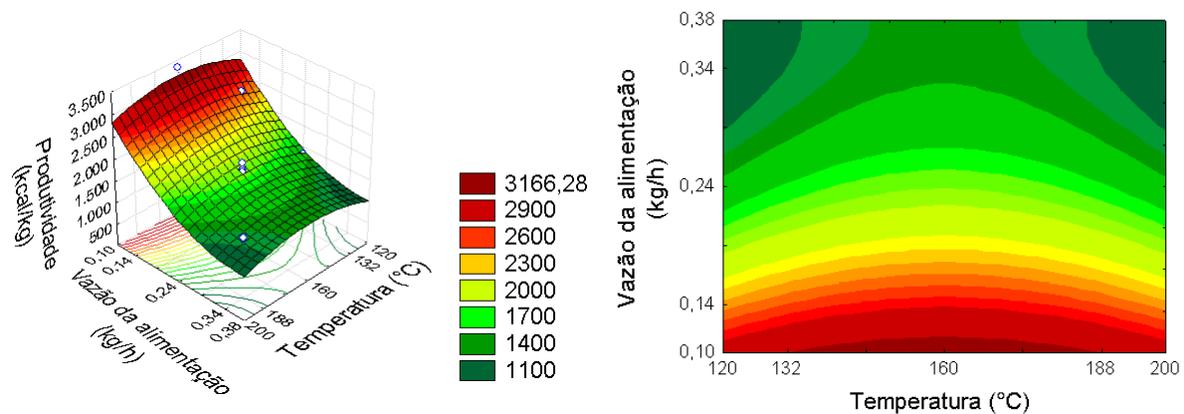
Observa-se um efeito linear positivo da vazão de alimentação sobre a eficiência térmica. Esse resultado era esperado, uma vez que menores vazões de alimentação permitem menor consumo de energia devido à menor quantidade de produto para evaporar. Comparando a Figura 5.35 com a Tabela 5.14, observa-se que nos ensaios que ocorreu em maiores vazões de alimentação, houve maior consumo energético no calor latente de vaporização ( $Q_3$ ), porque havia maior quantidade de água disponível para evaporar. Souza et al. (2008), ao avaliarem o desempenho do processo de *spray drying* de extrato de alecrim, reportaram que, ao aumentarem a razão “fluxo mássico de alimentação/capacidade evaporativa do secador” de 15% para 75%, a eficiência térmica aumentou de 20 para 60%, aproximadamente. Em seus estudos na secagem de extrato de pata-de-vaca (*Bauhinia*

*forficata*), Souza e Oliveira (2006) verificaram este mesmo comportamento. Os autores também observaram que o aumento da temperatura do ar de entrada e/ou da vazão do ar de secagem acarreta diminuição na eficiência térmica principalmente devido ao aumento das perdas de calor para o ambiente.

Um efeito quadrático da temperatura do ar de secagem sobre a eficiência térmica pode ser visualizado na Figura 5.34. Ao aumentar a temperatura até a faixa de 160 – 180°C, houve diminuição da resposta estudada, comportamento também observado por Souza e Oliveira (2006) devido às perdas de calor para o ambiente. Entretanto, a partir destes valores de temperatura ocorreu o contrário: a eficiência térmica aumentou. Isto ocorre porque elevadas temperaturas melhoram o processo de transferência de calor entre o ar de secagem e o fluido atomizado.

### Produtividade do Secador

A produtividade do secador foi definida como sendo a relação entre a energia fornecida ao sistema e a massa de água evaporada. A Figura 5.35 representa os resultados obtidos para o *spray dryer* em função da temperatura do ar de secagem e a vazão mássica da alimentação. O gasto energético por quilo de água evaporada variou de 1100 a 3300 kcal/kg água para a secagem de hidrolisado proteico, valores próximos aos encontrados por Souza e Oliveira (2006).



**Figura 5.35:** Influência das variáveis independentes sobre a resposta produtividade do secador.

Pela Figura 5.35, observa-se um efeito negativo da vazão mássica da alimentação sobre a produtividade do secador, ou seja, um aumento da variável estudada acarreta na diminuição da resposta. Maiores vazões de alimentação significam maior quantidade de água livre para evaporar na câmara de secagem. Conseqüentemente, há diminuição da produtividade do secador. Souza e Oliveira (2006) reportaram este mesmo comportamento na secagem de pata-de-vaca (*Bauhinia forficata*) em *spray dryer*. A temperatura do ar de secagem teve um efeito quadrático sobre a produtividade; houve aumento da resposta até 160°C; entretanto, acima deste valor, ocorreu comportamento contrário, com a diminuição da produtividade.

#### 5.3.4.2 Atividade Antioxidante e Propriedades Físico-químicas

Para avaliar a influência da temperatura do ar de entrada  $T_{ent}$  e da vazão mássica da alimentação  $\dot{m}_{alim}$  sobre a atividade antioxidante e as propriedades físico-químicas do produto em pó, foi utilizado um delineamento composto central rotacional (DCCR), totalizando 11 ensaios, conforme Tabela 5.16.

Os efeitos dos fatores lineares, quadráticos e das interações das respostas analisadas, assim como o erro, o coeficiente t e a significância estatística podem ser vistos no Apêndice A. Após a eliminação dos fatores não-significativos, verificou-se a significância da regressão e da falta de ajuste a um nível de confiança de 90%, através de uma Análise de Variância (ANOVA), utilizando o teste F para o planejamento estudado (Apêndice B).

Para a resposta conteúdo de proteína (% P), não foi verificado efeito das variáveis estudadas a um nível de confiança de 90% (ver Tabela 8.5 no Apêndice A); isto é, observou-se um  $p > 0,1$  para todos os fatores. Assim, não foi possível obter um modelo preditivo desta resposta. A temperatura do ar não teve efeito significativo sobre o teor de proteína, provavelmente porque a destruição de aminoácidos sensíveis ao calor ocorre quando são utilizadas temperaturas elevadas atuando durante um tempo prolongado sobre o produto. Dentre os aminoácidos termolábeis encontram-se a cistina, prolina, lisina, leucina e metionina (BENDER, 1978; NIINIVAARA; ANTILA, 1973).

**Tabela 5.16:** Resultados experimentais de atividade antioxidante (AA), umidade ( $X_{bu}$ ), conteúdo de proteína (P), diâmetro médio das partículas ( $D_{4,3}$ ) e densidade volumétrica ( $\rho_b$ ) de acordo com o planejamento experimental.

Ensaio	Variáveis independentes			Variáveis dependentes			
	$T_{ent}$ (°C)	$\dot{m}_{a,lim}$ (kg/h)	$X_{bu}$ (% bu)	P (%)	$D_{4,3}$ (μm)	$\rho_b$ (kg/m <sup>3</sup> )	AA (%)
1	132	0,14	2,05 ± 0,17	28,4 ± 1,0	6,47 ± 0,02	298,1 ± 8,6	38,7 ± 3,8
2	188	0,14	1,04 ± 0,16	27,7 ± 0,3	6,47 ± 0,03	227,9 ± 4,3	56,5 ± 1,1
3	132	0,34	2,63 ± 0,29	25,4 ± 1,3	6,88 ± 0,01	298,8 ± 1,7	41,6 ± 0,8
4	188	0,34	1,73 ± 0,14	28,8 ± 0,7	7,45 ± 0,08	231,5 ± 5,7	50,7 ± 2,1
5	120	0,24	*	25,0 ± 0,2	5,87 ± 0,17	*	42,7 ± 3,7
6	200	0,24	*	29,2 ± 0,9	8,2 ± 0,03	*	59,4 ± 1,4
7	160	0,10	*	26,8 ± 1,2	5,35 ± 0,01	*	55,7 ± 1,3
8	160	0,38	*	30,2 ± 0,3	7,5 ± 0,18	*	52,9 ± 1,5
9	160	0,24	1,45 ± 0,12	29,4 ± 0,2	7,36 ± 0,03	266,1 ± 5,4	54,4 ± 2,1
10	160	0,24	1,67 ± 0,06	27,6 ± 1,6	7,27 ± 0,01	257,6 ± 0,2	57,7 ± 1,8
11	160	0,24	1,44 ± 0,07	26,0 ± 0,9	7,46 ± 0,14	270,1 ± 7,9	52,9 ± 2,0

\* Não obtidos experimentalmente, porque a análise estatística dos resultados indicou que os modelos encontrados são lineares, não existindo a necessidade de se expandir o planejamento para um central composto, com a adição destes pontos axiais.

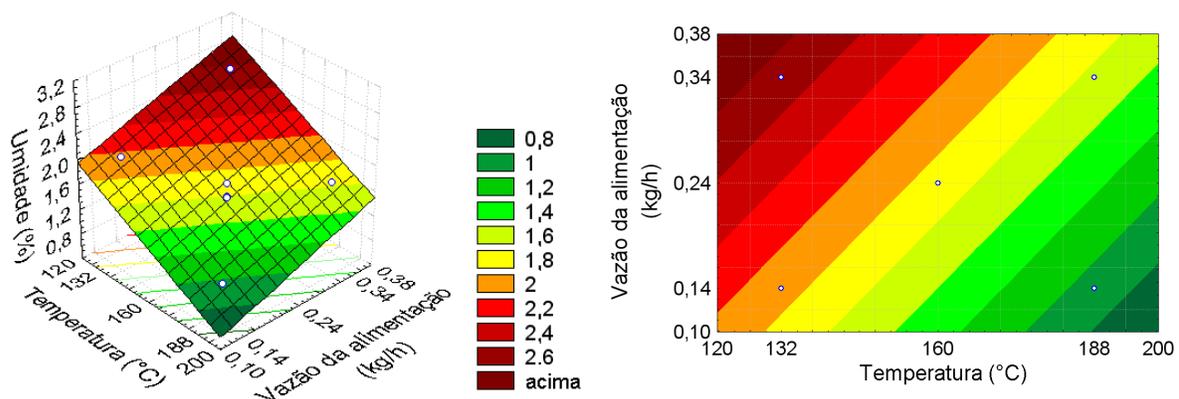
Os coeficientes de determinação para os modelos ajustados foram 0,752; 0,851; 0,780 e 0,982 para as respostas atividade antioxidante, umidade do pó, diâmetro médio das partículas e densidade volumétrica, respectivamente. Estes valores indicam que os modelos obtidos explicaram 75,2%, 85,1%, 78,0% e 98,2% da variação dos dados observados. De acordo com a Análise de Variância mostrada no Apêndice B, os modelos apresentaram regressão significativa ao nível de 90% de confiança.

As superfícies de resposta e as curvas de nível, geradas através dos modelos propostos, estão mostradas nas Figuras 5.36 e 5.38 a 5.40.

## Umidade

Analisando a Figura 5.36, a temperatura teve efeito negativo sobre o conteúdo de umidade do pó. Ou seja, para maiores temperaturas, há maior gradiente de temperatura entre o produto atomizado e o ar de secagem, resultando em uma maior evaporação da água e, conseqüentemente, resultando em pós com baixa umidade. Goula e Adamopoulos (2004), Grabowski, Truong e Daubert (2006), Papadakis, Gardeli e Tzia (2006), Rodríguez-Hernández et al. (2005) e Tonon, Brabet e Hubinger (2008) observaram a redução da umidade dos pós com o aumento da temperatura de secagem, ao trabalharem com pasta de tomate, purê de batata-doce, suco de uva concentrado, suco de cacto e polpa de açaí.

A vazão de alimentação teve um efeito positivo sobre a umidade do hidrolisado proteico em pó, isto é, o seu aumento acarretou em um aumento da resposta estudada. Elevados fluxos de alimentação implicam em menor tempo de contato entre as partículas atomizadas e o ar de secagem, fazendo com que ocorra transferência de calor menos eficiente, resultando em menor taxa de evaporação da água. Chegini e Ghobadian (2005) e Tonon, Brabet e Hubinger (2008) trabalhando com secagem de suco de laranja e polpa de açaí, verificaram este mesmo comportamento.

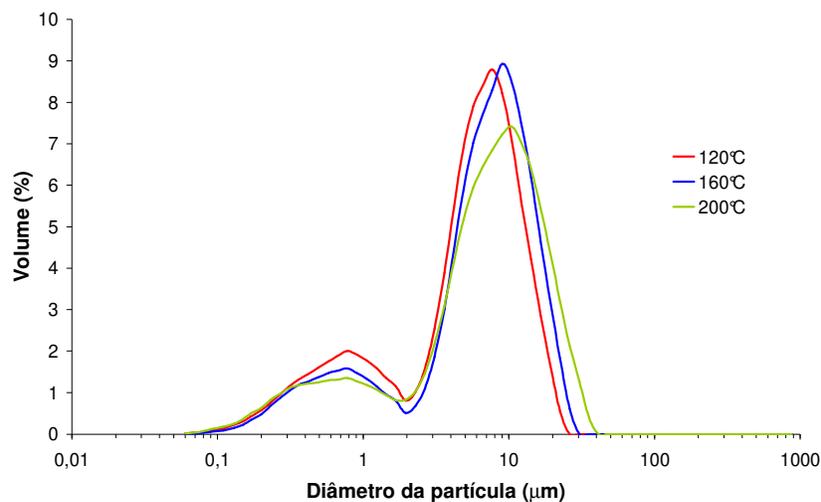


**Figura 5.36:** Influência das variáveis independentes sobre a umidade.

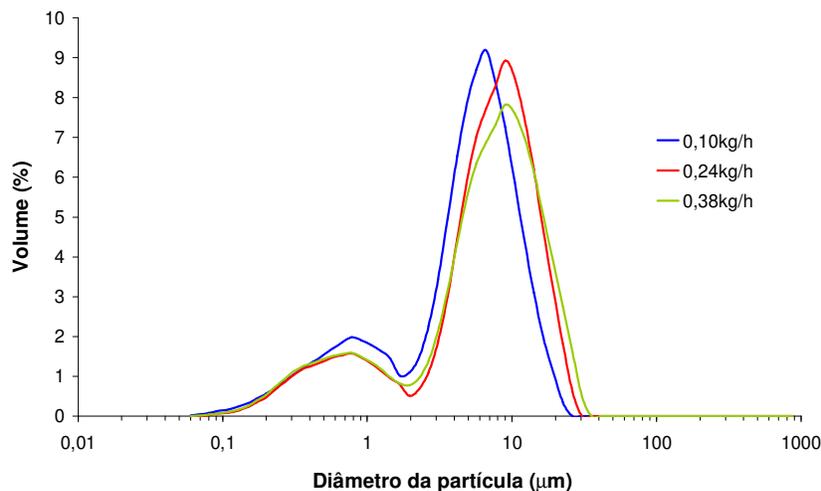
## Distribuição do Tamanho e Diâmetro Médio das Partículas

Na Figura 5.37, são mostradas as frações volumétricas do tamanho das partículas dos hidrolisados proteicos em pó, produzidos sob diferentes temperaturas e vazões de alimentação. Para todas as amostras analisadas, observa-se uma distribuição bimodal com

dois tamanhos predominantes de partículas. Pela Figura 5.37(a), observa-se a influência da temperatura sobre a distribuição das partículas do pó. Analisado o pico principal, a curva que representa a distribuição do pó produzido a uma alta temperatura (200°C) apresenta maior tamanho predominante de partículas (10  $\mu\text{m}$ ) em relação às outras amostras em pó produzidas em menores temperaturas (7  $\mu\text{m}$  e 8  $\mu\text{m}$  para temperatura de entrada de 120 e 160°C, respectivamente).



(a)

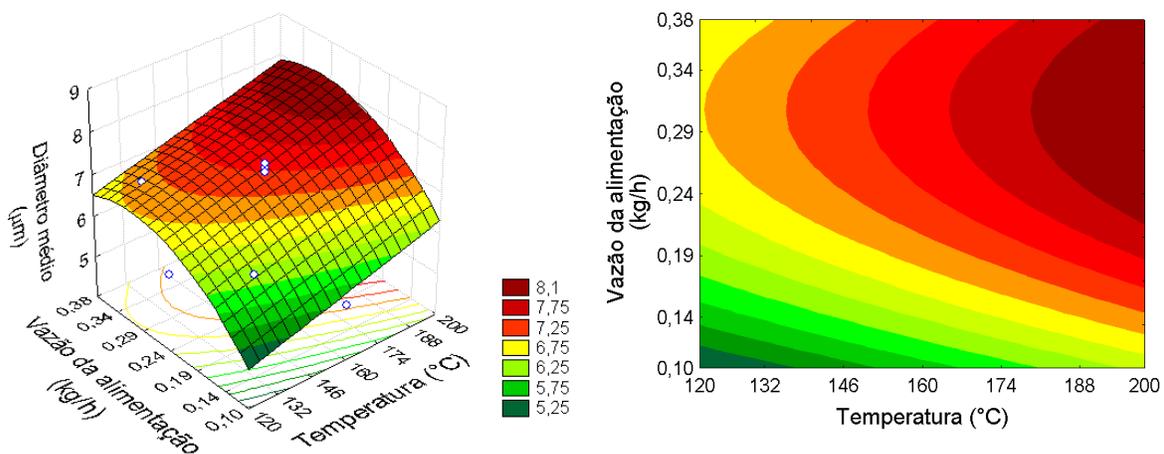


(b)

**Figura 5.37:** Curvas de distribuição de tamanho de partículas de amostras obtidas em: (a) diferentes temperaturas do ar, com uma vazão de alimentação de 0,24kg/h; (b) diferentes vazões de alimentação, com uma temperatura do ar de 160°C.

O efeito da vazão de alimentação sobre a curva de distribuição de partículas pode ser visualizado na Figura 5.37(b). A população representada pelo maior pico, cujas partículas foram produzidas nas maiores vazões de alimentação (0,24 e 0,38 kg/h), apresentou diâmetro predominante de 9  $\mu\text{m}$ , enquanto que o tamanho predominante da amostra em pó produzida na menor vazão foi de 6  $\mu\text{m}$ .

Pela Figura 5.38, observa-se efeito positivo da temperatura de secagem sobre o diâmetro das partículas, ou seja, um aumento desta variável acarreta em um aumento da resposta estudada. Este fato está relacionado provavelmente ao maior inchaço das partículas causado por elevadas temperaturas. De acordo com Reineccius (2001), secagens em condições que resultam em altas taxas de secagem produzem partículas maiores do que os processos realizados sob condições que resultam em baixas taxas de secagem. Quando uma partícula sofre ação de altas taxas de secagem, a formação de uma estrutura ocorre muito rápida e de uma camada superficial rígida, não permitindo que as partículas encolham durante a secagem. Quando a temperatura do ar é baixa, as partículas permanecem mais encolhidas e, conseqüentemente, apresentam menores diâmetros. Diversos autores observaram este resultado, tais como Tonon, Brabet e Hubinger (2008), Nijdam e Langrish (2006) e Chegini e Chobadian (2005).



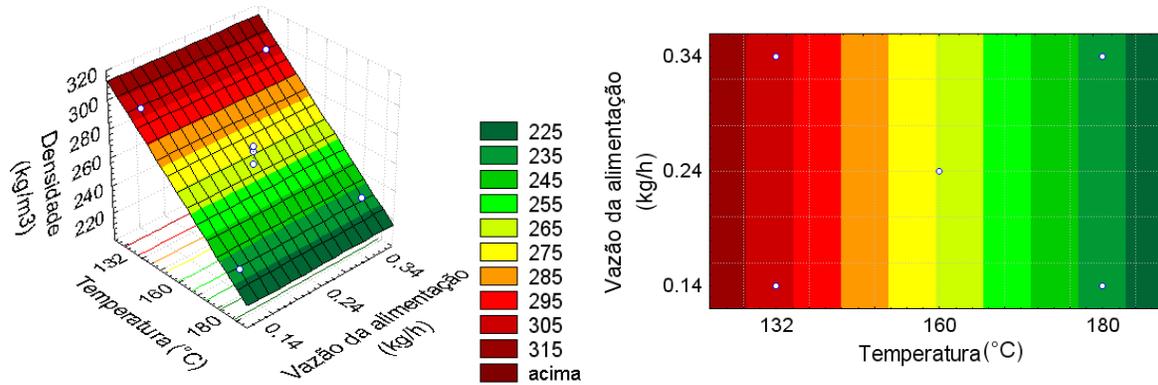
**Figura 5.38:** Influência das variáveis independentes sobre a resposta diâmetro médio das partículas.

Com relação ao efeito da variável vazão de alimentação, observa-se um efeito quadrático, ou seja, aumento desta variável até um valor de 0,32 kg/h acarretou em aumento do diâmetro da partícula. Altas vazões de alimentação correspondem à alta quantidade de líquido a ser atomizado. A energia disponível para a atomização (pressão no bico ou fluxo de ar) diminuiu, resultando na formação de gotículas e, conseqüentemente, de partículas com maiores diâmetros. Chegini e Chobadian (2005) e Jumah et al. (2000) observaram este comportamento ao trabalharem com secagem de suco de laranja e iogurte, respectivamente.

Entretanto, para vazões superiores a 0,32kg/h, ocorreu diminuição do diâmetro médio das partículas. Este fato pode ter acontecido, porque a uma elevada vazão de alimentação, há uma baixa transferência de calor entre o ar de secagem e o produto atomizado na câmara de secagem. Como dito no parágrafo anterior, quando a taxa de secagem é baixa, as partículas permanecem mais encolhidas e, conseqüentemente, apresentam menores diâmetros (Reineccius, 2001).

### **Densidade Volumétrica (*Bulk Density*)**

Analisando a Figura 5.39, o aumento da temperatura do ar causa redução da densidade volumétrica, uma vez que a taxa de evaporação é alta, resultando na formação de partículas maiores e, conseqüentemente, com uma estrutura mais porosa ou fragmentada. De acordo com Walton e Mumford (1999), o aumento da temperatura do ar de secagem geralmente produz partículas com vacúolos em seu interior, resultando na diminuição da densidade. Quando há uma alta taxa de evaporação, há uma rápida formação de uma camada seca superficial, ocorrendo o “puffing” das partículas e a formação de vacúolos em seu interior. Este comportamento foi observado por Goula e Adamopoulos (2005b) e Cai e Corke (2000), ao estudarem a secagem de polpa de tomate e de pigmentos de betacianinas com maltodextrina.



**Figura 5.39:** Influência das variáveis independentes sobre a resposta densidade volumétrica.

### Atividade Antioxidante – Capacidade sequestradora do radical DPPH

Previamente aos ensaios de determinação da atividade antioxidante das amostras em pó obtidas através do planejamento experimental, ensaios preliminares foram realizados, visando determinar a melhor concentração de etanol para extrair os peptídeos e aminoácidos. Esta etapa de extração foi importante, uma vez que a maltodextrina presente nos pós era insolúvel em etanol, tornando a solução turva e impedindo a leitura no espectrofotômetro para a análise de DPPH. Entretanto, os aminoácidos, devido a sua cadeia lateral, tanto podem ser hidrofóbicos, como é o caso da tirosina e do triptofano, ou hidrofílicos, como é o caso da arginina e da lisina. Diante desta situação (maltodextrina insolúvel, uma parte dos peptídeos insolúvel e a outra parte solúvel em etanol), foi avaliado qual seria a melhor concentração de etanol em água (80%, 85%, 90%, 95% v/v e etanol anidro) para retirar a maltodextrina da solução, de modo que esta não interferisse posteriormente nas leituras de absorbância.

Para isso, 1 g de amostra em pó (obtido por *spray dryer* a temperatura de 160°C, vazão de alimentação de 0,24 kg/h e 10% de maltodextrina, uma vez que as variáveis de processo não tiveram efeito significativo sobre o conteúdo de proteínas) foi colocado em tubos de rosca e diluído em 10 ml de etanol (etanol anidro, 80%, 85%, 90%, 95% v/v). Os extratos etanólicos foram obtidos de acordo com a metodologia descrita no item 4.2.6.4 e o conteúdo de proteínas e a atividade antioxidante foram determinados. O extrato etanólico 80 % não foi considerado para estas análises, porque apresentou turbidez, indicando que

uma parte da maltodextrina foi solubilizada, podendo interferir na leitura da absorbância. Nas concentrações acima de 85%, pode ter ocorrido uma pequena solubilização da maltodextrina, mas não o suficiente para deixar o extrato turvo.

De acordo com os resultados obtidos (Tabela 5.17), observa-se que diferentes soluções de etanol resultaram em um extrato com diferentes concentrações de proteínas e atividade antioxidante. Os extratos que apresentaram maior atividade antioxidante foram os que utilizaram etanol a 90% e 95%, não havendo diferença significativa entre os extratos. Entretanto, a solução extraída com 90% etanol apresentou maior recuperação de proteína em relação às outras amostras. A solução de etanol 95%, apesar da sua atividade antioxidante não apresentar diferença significativa com a solução de etanol 90%, apresentou menor recuperação de proteínas. Estas diferenças podem ser devidas provavelmente às interferências do próprio solvente ou aos diferentes compostos extraídos. Ou seja, os componentes extraídos pela solução de etanol 90% apresentam maior poder antioxidativo que as proteínas extraídas em etanol 95%. Pérez-Jiménez e Saura-Calixto (2006) observaram que a capacidade antioxidante da mistura de ácido gálico: catequina em água foi inferior a das amostras em acetona/água e em metanol puro. Esta variação pode ser explicada pela interação dos compostos antioxidantes com o solvente e pela solubilidade dos compostos presentes nas amostras.

**Tabela 5.17:** Atividade antioxidante (AA), teor de proteínas (P) e recuperação de proteínas (RP) dos extratos etanólicos obtidos através de soluções de etanol a diferentes concentrações.

Etanol (v/v)	AA (%)	P (%)	RP (%)
85%	43,0 ± 1,8 <sup>a</sup>	0,84 ± 0,04 <sup>a</sup>	13,49
90%	55,7 ± 1,3 <sup>b</sup>	1,34 ± 0,03 <sup>b</sup>	22,03
95%	53,9 ± 0,7 <sup>b</sup>	0,79 ± 0,03 <sup>a</sup>	9,70
Anidro	10,0 ± 1,5 <sup>c</sup>	0,28 ± 0,04 <sup>c</sup>	5,54

Letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa entre as amostras para  $p \leq 0,05$ .

Em relação ao etanol 85% e anidro, estes apresentaram menor atividade antioxidante e conteúdo de proteínas. Na extração com etanol 85%, devido à maior quantidade de água presente, as amostras em pó não se dispersaram bem nesta solução,

formando um aglomerado, dificultando a homogeneização da amostra e a solubilização das proteínas. Com relação ao etanol anidro, provavelmente ocorreu somente a extração de aminoácidos e peptídeos hidrofóbicos.

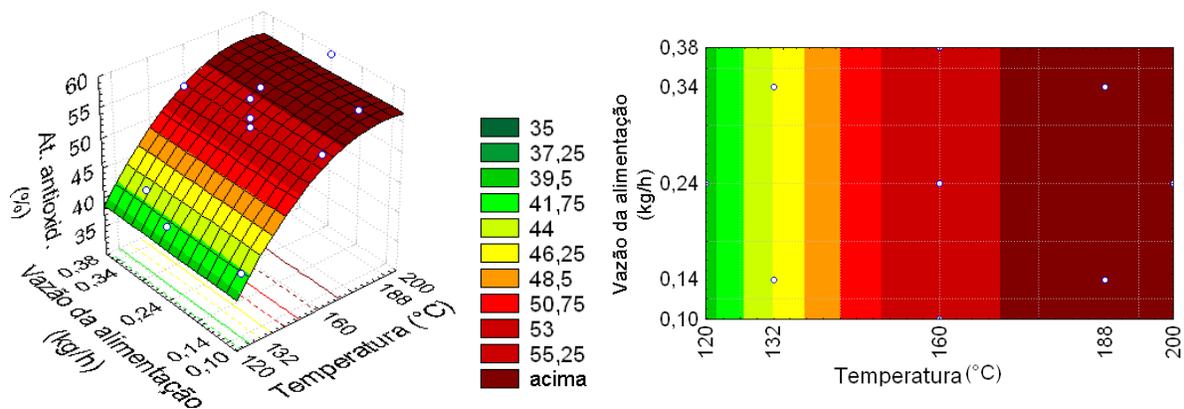
Desta forma, como o objetivo deste teste preliminar era avaliar qual seria melhor solução de etanol para extrair os peptídeos e aminoácidos, a solução de etanol 90% foi escolhida para realizar a etapa de extração de peptídeos.

Definida a etapa de preparação do extrato etanólico, foi determinada a atividade antioxidante pelo método DPPH dos hidrolisados proteicos em pó, produzidos sob diferentes condições de secagem. A Figura 5.40 mostra o efeito das variáveis temperatura do ar de entrada e vazão mássica da alimentação, sendo que esta última não teve efeito significativo sobre a atividade antioxidante do hidrolisado em pó. Por outro lado, a temperatura do ar de secagem teve um efeito significativo e quadrático sobre a resposta; ou seja, houve um aumento da atividade antioxidante do pó com a temperatura até a temperatura de 180°C, onde a partir deste valor se observou estabilização.

De acordo com Arnoldi (2002), durante o tratamento térmico muitas reações podem ocorrer, dentre elas, as que envolvem aminoácidos livres ou aminoácidos ligados à proteína. Estas podem ser divididas em: (1) clivagem e/ou recombinação das pontes dissulfetos intramoleculares e intermoleculares; (2) reação de Maillard, que envolvem aminoácidos das cadeias laterais e açúcares redutores; (3) reações envolvendo os aminoácidos de cadeias laterais, ocorrendo a formação de aminoácidos “*cross-linked*”; (4) reações dos aminoácidos básicos e ácidos das cadeias laterais resultando na formação de isopeptídeos.

Desta forma, a ação de altas temperaturas de secagem sobre o hidrolisado proteico pode ter causado algumas destas reações, alterando a composição de aminoácidos/peptídeos e, conseqüentemente, afetando a atividade antioxidante do produto final. Além disso, nas condições de maiores temperaturas de secagem, pode ter ocorrido reação de Maillard entre os peptídeos/aminoácidos do hidrolisado e a maltodextrina solubilizada. Diversos autores reportaram que os compostos resultantes desta reação exibiram atividade antioxidante, tais como nos sistemas: glicose ou lactose e lisina, alanina ou glicina (MORALES; JIMÉNEZ-PÉREZ, 2001), frutose e glicina (MATMAROH; BENJAKUL; TANAKA, 2006) e plasma suíno e glicose (LERTITTIKUL; BENJAKUL; TANAKA, 2007).

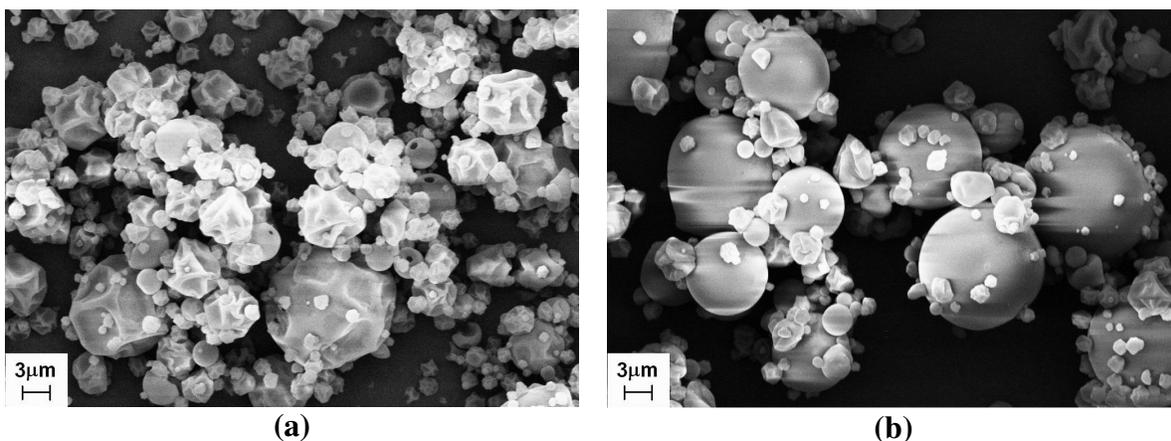
Cho et al. (2008) investigaram as mudanças no conteúdo de aminoácidos e na atividade antioxidante de ginseng (*Panax ginseng*) tratado termicamente sob ação de vapor a 100 e 120°C. O conteúdo total de aminoácidos diminuiu quando submetido à ação do calor. Entretanto, a quantidade de produtos resultantes da reação de Maillard (MRP) aumentou com o tratamento térmico, bem como a atividade antioxidante do ginseng.



**Figura 5.40:** Influência das variáveis independentes sobre a resposta atividade antioxidante.

### Microestrutura das partículas

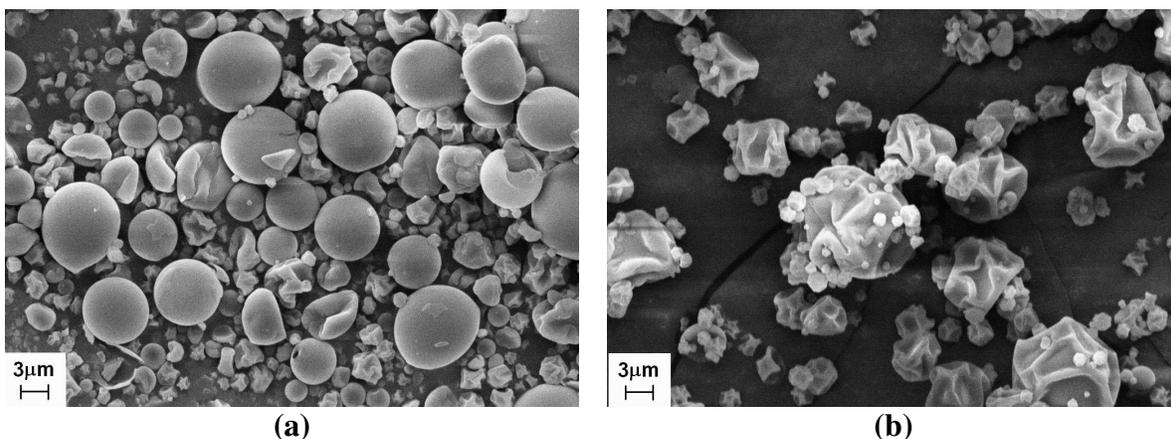
A Figura 5.41 mostra as microscopias dos hidrolisados proteicos produzidos em diferentes temperaturas, com vazão da alimentação de 0,24 kg/h e 10% maltodextrina.



**Figura 5.41:** Imagens microscópicas (aumento de  $\times 5000$ ) dos hidrolisados proteicos em pó obtidos em diferentes temperaturas, com vazão da alimentação de 0,24kg/h e 10% maltodextrina: (a) 120 °C; (b) 200°C.

As partículas apresentaram formatos esféricos com diferentes tamanhos, características dos materiais produzidos por *spray dryer*. Apresentaram ainda paredes contínuas, sem fissuras, rachaduras ou colapsos. Quando a temperatura de secagem foi menor, a maioria das partículas apresentou uma superfície enrugada, enquanto que o aumento da temperatura para 200°C resultou em um maior número de partículas com superfície lisa. Kalab (1979) sugere que essas depressões são formadas pelo encolhimento das partículas durante a secagem e resfriamento. Ré (1998) afirma que as rugosidades ocorrem quando há um lento processo de formação de um filme durante a secagem das gotículas atomizadas, associando a presença de depressões superficiais ao colapso sofrido pelas gotículas nos estágios iniciais da secagem. O encolhimento das partículas pode estar relacionado a diferenças na taxa de secagem. Para elevadas temperaturas, há uma rápida evaporação da água, levando a formação de uma crosta rígida e lisa.

A Figura 5.42 mostra as microscopias dos hidrolisados proteicos produzidos em diferentes vazões de alimentação, com temperatura de 160°C e 10% maltodextrina. As partículas formadas com uma baixa vazão de alimentação apresentaram partículas com superfícies lisas. Já nas amostras em pó produzidas a uma alta vazão, observa-se a presença em maior número de partículas enrugadas. Novamente, o encolhimento das partículas e a formação de uma superfície enrugada podem estar relacionados a diferenças na taxa de secagem. Para baixas vazões, há um maior contato entre as gotículas atomizadas e o ar de secagem, ocorrendo uma rápida evaporação da água, levando à formação de uma crosta rígida e lisa.



**Figura 5.42:** Imagens microscópicas (aumento de  $\times 5000$ ) dos hidrolisados proteicos em pó obtidos em diferentes vazões de alimentação, com temperatura de 160°C e 10% de maltodextrina: (a) 0,10kg/h, (b) 0,38kg/h.

## 6 CONCLUSÕES

As curvas da cinética de reação enzimática obtidas apresentaram uma alta taxa inicial de reação, seguida da sua diminuição até alcançar uma fase estacionária. Observou-se a influência das variáveis estudadas na cinética de hidrólise. A equação da cinética enzimática de proteína mostrou-se adequada para prever a reação de hidrólise proteica de carne de frango, apresentando um bom ajuste dos dados experimentais.

Todas as variáveis de reação tiveram influência significativa sobre a hidrólise enzimática de carne de frango, sendo que a temperatura foi a variável com maior efeito. O aumento desta variável resultou em maior grau de hidrólise e recuperação de proteína. Entretanto, temperaturas acima de 55°C provavelmente causaram a desnaturação da enzima, diminuindo as respostas estudadas. Através da metodologia de superfície de resposta, foi possível otimizar a hidrólise enzimática da carne de frango. A composição de aminoácidos do hidrolisado protéico, obtido na condição otimizada, mostrou que não há nenhum aminoácido limitante e os aminoácidos essenciais estão presentes em quantidades adequadas ou em excesso, baseado no padrão de proteínas recomendado pela FAO/WHO. O hidrolisado de carne de peito de frango possui potencial na suplementação proteica em sistemas alimentícios.

O agente carreador presente no hidrolisado protéico em pó proporciona uma melhora na sua estabilidade. Os baixos valores críticos de atividade de água e conteúdo de água do hidrolisado proteico puro indicam a vulnerabilidade desse produto durante o seu processamento, manipulação e estocagem. Durante o armazenamento em diferentes umidades relativas, observou-se que este produto em pó se liquefaz mesmo quando armazenado sob baixa umidade relativa (17,6%), devido à sua alta higroscopicidade. Além disso, o hidrolisado proteico em pó puro poderia apresentar dificuldade durante a sua secagem quando as condições de umidade do ar de saída e a temperatura do *spray dryer* estiverem próximas ou maiores que as condições críticas. A adição de agentes carreadores na solução a ser desidratada é importante, uma vez que foram observados os aumentos dos valores críticos de atividade de água e teor de água.

A utilização de altas temperaturas de secagem seria interessante, uma vez que, além de se obter um hidrolisado proteico em pó com maior atividade antioxidante, resultaria em

um produto final com baixa umidade residual (limitando a capacidade da água em agir como agente plasticizante) e maior diâmetro médio das partículas (que resultaria em uma menor área superficial total, diminuindo a área exposta sujeita à ação de umidade, luz e oxigênio). Entretanto, altas temperaturas do ar resultariam na obtenção de produtos em pó com baixa densidade volumétrica (que resultaria em pacotes/embalagens de maior volume), além de diminuir o rendimento do processo de secagem.

## **7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

O estudo deste trabalho foi realizado em escala laboratorial dos processos de hidrólise enzimática e da secagem por atomização em *spray dryer* do hidrolisado protéico. Para avaliar estes processos em escala piloto, seria necessária uma grande quantidade de matéria-prima, mão-de-obra e espaço físico, além de equipamentos adequados para esta produção. Desta forma, o estudo desses processos em escala piloto seria de grande importância, permitindo comparar os rendimentos obtidos e avaliar a possibilidade de produção.

Outros estudos poderiam ser feitos, de modo a melhorar as propriedades físico-químicas do produto e os processos estudados:

1. Avaliar o uso de outras enzimas proteolíticas na hidrólise enzimática do peito de frango;
2. Avaliar a adição de diferentes agentes carreadores e em diferentes proporções sobre a estabilidade e propriedades físico-químicas do produto final;
3. Realizar análise sensorial do hidrolisado protéico em pó, visando avaliar o amargor e o sabor de carne;
4. Verificar o efeito da viscosidade da alimentação sobre as propriedades físico-químicas do produto em pó;
5. Estudar a vida-de-prateleira do hidrolisado protéico em pó, armazenado em diferentes temperaturas e umidades relativas. Avaliar alterações na microestrutura, higroscopicidade, atividade antioxidante e cor do produto em pó.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADIO, F.D.B.; DOMINGUES, A.M.; BORGES, S.V.; OLIVEIRA, V.M. Physical properties of powdered pineapple (*Ananas comosus*) juice – effect of maltodextrin concentration and atomization speed. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 64, n. 3, p. 285-287, 2004.

ABEF. Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frangos. **Estatísticas**. Disponível em: <<http://www.abef.com.br>>. Acesso em: 04 maio 2009.

ADLER-NISSEN, J. **Enzymic hydrolysis of food protein**. London: Elsevier Applied Science Publishers, 1986.

AGUILERA, J.M.; LEVI, G.; KAREL, M. Effect of water content on the glass transition and caking of fish protein hydrolysates. **Biotechnology Progress**, Washington, DC, v. 9, n. 6, p. 651-654, 1993.

AGUILERA, J.M.; DEL VALLE, J.M.; KAREL, M. Caking phenomena in amorphous food powder. **Trends in Food Science and Technology**, Londres, v. 6, n. 5, p. 149-155, 1995.

ARNOLDI, A. Thermal processing and nutritional quality. In: HENRY, C.J.K.; CHAPMAN, C. (Eds.). **The nutrition handbook for food processors**. Boca Raton: CRC Press, 2002. cap. 11.

AOAC. **Official methods of analysis of AOAC international**. (16th ed.). Arlington : AOAC, 1995.

AVISITE. **Carnes: as tendências no Brasil em 2006, segundo o USDA**. Disponível em: <<http://www.avisite.com.br>>. Acesso em: 20 fev. 2006.

BAEK, H.H.; CADWALLADER, K.R. Enzymatic hydrolysis of crayfish processing by-products. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 60, n. 5, p. 929-935, 1995.

BARBANTI, D.; MASTROCOLA, D.; SEVERINI, C. Air drying of plums. A comparison among twelve cultivars. **Sciences des Aliments**, Cachan, n. 14, p. 61-73, 1994.

BARBOSA-CÁNOVAS, G.V.; JULIANO, P. Physical and chemical properties of food powders. In: ONWULATA, C. (Ed.). **Encapsulated and powdered foods**. Boca Raton: Taylor & Francis, 2005. cap.3, p.39-71.

BARBUT, S. **Poultry products processing. An industry guide**. Boca Raton: CRC Press, 2002.

BARONI, A.F.; SERENO, A.M.; HUBINGER, M.D. Thermal transitions of osmotically dehydrated tomato by modulated temperature differential scanning calorimetry. **Thermochimica Acta**, Amsterdã, v. 395, n. 1-2, p. 237-249, 2003.

- BARROS NETO, B.; SCARMINO, I.S.; BRUNS, R.E. **Como fazer experimentos – Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas: Editora da UNICAMP, 2001.
- BENDER, A.E. **Food processing and nutrition**. London: Academic Press, 1978.
- BHANDARI, B.R.; DUMOULIN, E.D.; RICHARD, H.M.J., NOLEAU, I.; LEBERT, A.M. Flavor encapsulation by spray drying: application to citral and linalyl acetate. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 57, n. 1, p. 217-221, 1992.
- BHANDARI, B.R.; HARTEL, R.W. Phase transitions during food powder production and powder stability. In: ONWULATA, C. (Ed.). **Encapsulated and powdered foods**. Boca Raton: Taylor & Francis, 2005. cap. 9, p. 262-292.
- BHASKAR, N.; MODI, V.K.; GOVINDARAJU, K.; RADHA, C.; LALITHA, R.G. Utilization of meat industry by products: protein hydrolysate from sheep visceral mass. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 98, n. 2, p. 388-394, 2007.
- BHASKHAR, N.; BENILA, T.; RADHA, C.; LALITHA, R.G. Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of catla (*Catla catla*) for preparing protein hydrolysate using a commercial protease. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 99, n. 2, p. 335-343, 2008.
- BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.
- BOX, G.E.P.; HUNTER, W.G.; HUNTER, J.S. **Statistics for experiments – An introduction to design, data analysis and model building**. New York: Wiley Series in Probability And Mathematic Statistics, 1978.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel - Wissenschaft - Technologie**, Amsterdã, v. 28, n.1, p. 25-30, 1995.
- 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.
- CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and properties of spray-dried *Amaranthus* betacyanin pigments. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 65, n. 6, p. 1248-1252, 2000.
- CAMACHO, F.; GONZÁLEZ-TELLO, P.; GUADIX, E.M. Influence of enzymes, pH and temperature on the kinetics of whey protein hydrolysis. **Food Science and Technology International**, Londres, v. 4, n. 2, p. 79-84, 1998.
- CHAMPION, D.; LE MESTE, M.; SIMATOS, D. Toward an improved understanding of glass transition and relaxation in foods: molecular mobility in the glass transition range. **Trends in Food Science and Technology**, Londres, v. 11, n. 2, p. 41-55, 2000.

- CHANG, C.Y.; WU, K.C.; CHIANG, S.H. Antioxidant properties and protein compositions of porcine haemoglobine hydrolysates. **Food Chemistry**, Oxford, vol. 100, n.4, p. 1537-1543, 2007.
- CHEGINI, G.R.; GHOBADIAN, B. Effect of spray-drying conditions on physical properties of orange juice powder. **Drying Technology**, Filadélfia, v. 23, n. 3, p. 657-668, 2005.
- CHEN, H.M.; MURAMOTO, K.; YAMAUCHI, F. Structural analysis of antioxidative peptides from soybean beta-conglycinin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 43, n. 3, p. 574-578, 1995.
- CHO, E.J.; PIAO, X.L.; JANG, M.H.; BAEK, S.H.; KIM, H.Y.; KANG, K.S.; KWON, S.W.; PARK, J.H. The effect of steaming on the free amino acid contents and antioxidant activity of *Panax ginseng*. **Food Chemistry**, Oxford, v. 107, n. 2, p. 876-882, 2008.
- CHUNG, D.S.; PFOST, H.B. Adsorption and desorption of water vapor by cereal grains and their products. **Transactions of the American Society of Agricultural Engineers**, St. Joseph, v. 10, n. 4, p. 549, 1967.
- CLARE, D. A.; SWAISGOOD, H. E. Bioactive milk peptides: A prospectus. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 83, n. 6, p. 1187-1195, 2000.
- CUMBY, N.; ZHONG, Y.; NACZK, M.; SHAHIDI, F. Antioxidant activity and water-holding capacity of canola protein hydrolysates. **Food Chemistry**, Oxford, v. 109, n. 1, p. 144-148, 2008.
- DINIZ, F.M.; MARTIN, A.M. Optimization of nitrogen recovery in the enzymatic hydrolysis of dogfish (*Squalus acanthias*) protein. Composition of the hydrolysate. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, Abingdon, v. 48, n.3, p.191-200, 1997.
- DINIZ, F.M.; MARTIN, A.M. Influence of process variables on the hydrolysis of shark muscle protein. **Food Science and Technology International**, Londres, v. 4, n.2, p.91-98, 1998.
- DINIZ, F.M.; MARTIN, A.M. Hidrolisado proteico de pescado. In: OGAWA, M.; MAIA, E.L. (Eds). **Manual de pesca**. São Paulo: Varela, 1999. p. 360-365.
- DITTMAN, F.W.; COOK, E.M. Establishing the parameters for a spray dryer. **Chemical Engineering**, Nova Iorque, v. 84, n. 2, p. 108-112, 1977.
- DONG, S.; ZENG, M.; WANG, D.; LIU, Z.; ZHAO, Y.; YANG, H. Antioxidant and biochemical properties of protein hydrolysates prepared from Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). **Food Chemistry**, Oxford, v. 107, n. 4, p. 1485-1493, 2008.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAO Statistics database**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 14 jul. 2008.

FAO/WHO. **Energy and protein requirements**. Report of joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation Technical Report. FAO/WHO and United Nations University, Geneva, n. 724, 1991.

FELÍCIO, P.E. Valor nutritivo da carne. Disponível em:  
<<http://www.sic.org.br/PDF/Valornutritivo.pdf>>. Acesso em: 19 maio 2006.

FRIEDMAN, M. Nutritional value of proteins from different food sources. A review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 44, n. 1, p. 6-29, 1996.

FROKJAER, S. Use of protein hydrolysates for protein supplementation. **Food Technology**, Chicago, v. 48, n. 10, p. 86-88, 1994.

FURLAN, E.F.; OETTERER, M. Hidrolizado proteico de pescado. **Revista de Ciência e Tecnologia**, Piracicaba, v. 10, n. 19, p. 79-89, 2002.

FURUTA, T.; HAYASHY, H.; OHASHI, T. Some criteria of spray dryer design for food liquid. **Drying Technology**, Filadélfia, v. 12, n. 1&2, p. 151-177, 1994.

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**, Oxford, v. 82, n. 2, p. 246-252, 2007.

GAL, S. Recent developments in techniques for the determination of sorption isotherms. In: DUCKWORTH, R.B. (Ed.). **Water relations of food**. London: Academic, 1975.

GILDBERG, A; STENBERG, E. A new process for advanced utilization of shrimp waste. **Process Biochemistry**, Oxford, v. 36, n. 8-9, p. 809-812, 2001.

GONZÁLEZ-TELLO, P.; CAMACHO, F.; JURADO, E.; PÁEZ, M.P.; GUADIX, E.M. Enzymatic hydrolysis of whey proteins: I. Kinetic Models. **Biotechnology and Bioengineering**, Hoboken, v. 44, n. 4, p. 523-528, 1994.

GORDON, M.; TAYLOR, J.S. Ideal copolymers and the second-order transitions of synthetic rubbers. I. Non-crystalline copolymers. **Journal of Applied Chemistry**, v. 2, n. 9, p. 493-500, 1952.

GOULA, A.M.; ADAMOPOULOS, K.G. Spray drying of tomato pulp: Effect of feed concentration. **Drying Technology**, Filadélfia, v. 22, n. 10, p. 2309-2330, 2004.

GOULA, A.M.; ADAMOPOULOS, K.G. Spray drying of tomato pulp in dehumidifier air: I. The effect on product recovery. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 66, n. 1, p. 25-34, 2005a.

GOULA, A.M.; ADAMOPOULOS, K.G. Spray drying of tomato pulp in dehumidifier air: II. The effect on powder properties. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 66, n. 1, p. 35-42, 2005b.

- GOULA, A.M.; ADAMOPOULOS, K.G. Effect of maltodextrin addition during spray drying of tomato pulp in dehumidifier air: II. Powder properties. **Drying Technology**, Filadélfia, v. 26, n. 6, p. 726-737, 2008.
- GRABOWSKI, J.A.; TRUONG, V.-D.; DAUBERT, C.R. Spray-drying of amylase hydrolyzed sweetpotato puree and physicochemical properties of powder. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 71, n. 5, p. 209-217, 2006.
- GREENSPAN, L. Humidity fixed points of binary saturated aqueous solutions. **Journal of Research of the National Bureau of Standards - Physics and Chemistry**, Washington, DC, v. 81, n. 1, p. 89-96, 1977.
- GUERARD, F.; GUIMAS, L.; BINET, A. Production of tuna waste hydrolysates by a commercial neutral protease preparation. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, Oxford, v. 19-20, p.489-498, 2002.
- HALSEY, G. Physical adsorption on uniform surfaces. **Journal of Chemical and Physics**, Melville, v.16, n.10, p.931-937, 1948.
- HASHIMOTO, T.; SUZUKI, T.; HAGIWARA, T.; TAKAI, R. Study on the glass transition for several processed fish muscles and its protein fractions using differential scanning calorimetry. **Fisheries Science**, Oxford, v. 70, n. 6, p. 1144-1152, 2004.
- HAY, J.D.; CURRIE, R.W.; WOLFE, F.H. Polyacrylamide disc gel electrophoretic of fresh and aged chicken muscle proteins in sodium dodecylsulfate. **Journal of Food Science**, Chicago, v.38, n.6, p.987-1000, 1973.
- HENDERSON, S.M. A basic concept of equilibrium moisture. **Agricultural Engineering**, St. Joseph, v. 33, n. 1, p. 29-32, 1952.
- HOLANDA, H.D. **Hidrólise enzimática do resíduo do camarão sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) e caracterização dos subprodutos**. 2004. 137p. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.
- HOLANDA, H.D.; NETTO, F.M. Recovery of components from shrimp (*Xiphopenaeus kroyeri*) processing waste by enzymatic hydrolysis. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 71, n. 5. p. 298-303, 2006.
- JAYA, S.; DAS, H. Effect of maltodextrin, glycerol monostearate and tricalcium phosphate on vacuum dried mango powder properties. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 63, n. 2, p. 125-134, 2004.
- JONQUIÈRES, A.; FANE, A. Modified BET models for modeling water vapor sorption in hydrophilic glassy polymers and systems deviation strongly from ideality. **Journal of Applied Polymer Science**, Hoboken, v. 67, n. 8, p. 1415-1430, 1998.

- JOHARY, G.P.; HALLBRUCKER, A. MAYER, E. The glass-liquid transition of hyperquenched water. **Nature**, Londres, v. 330, p. 552-553, 1987.
- JUMAH, R.Y.; TASHTOUSH, B.; SHAKER, R.R.; ZRAIR, A.F. Manufacturing parameters and quality characteristics of spray dried jameed. **Drying Technology**, Filadélfia, v. 18, n. 4-5, p. 967-984, 2000.
- KALAB, M. Micro structure of dairy foods. 1. Milk products based on protein. **Journal of Dairy Science**, v. 62, n. 8, p. 1352-1364, 1979.
- KAUZMANN, W. The nature of glassy state and the behavior of liquids at low temperatures. **Chemical Reviews**. Washington, DC, v. 43, n. 2, p. 219-256, 1948.
- KENYON, M.N. Modified starch, maltodextrin, and corn syrup solids as wall materials for food encapsulation. In: ACS SYMPOSIUM SERIES, n.590. **Encapsulation and controlled release of food ingredients**. Washington: American Chemical Society, 1995. p. 42-50.
- KENYON, M. M.; ANDERSON, R. J. Maltodextrins and low-dextrose-equivalence with syrup solids: production and technology for the flavor industry. In: ACS SYMPOSIUM SERIES, n.370. New Orleans. **Flavor encapsulation**. Washington : American Chemical Society, 1988. p. 7-11.
- KHALLOUFI, S.; EL-MASLOUHI, Y.; RATTI, C. Mathematical model for prediction of glass transition temperature of fruit powders. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 65, n. 5, p. 842-848, 2000.
- KRISTINSSON, H. G.; RASCO, B. A. Fish protein hydrolysates: production, biochemical and functional properties. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Filadélfia, v. 40, n. 1, p. 43-81, 2000a.
- KRISTINSSON, H.G.; RASCO, B.A. Kinetics of the hydrolysis of atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle proteins by alkaline proteases and a visceral serine protease mixture. **Process Biochemistry**, Oxford, v. 36, n. 1, p. 131-139, 2000b.
- KUNST, T. Protein modification to optimize functionality protein hydrolysates. In: WHITAKER, J.R.; VORAGEN, A.G.J.; WONG, D.W.S. (Eds.). **Handbook of enzymology**. New York: Marcel Dekker, 2003. p.221-236.
- LABUZA, T.P. Sorption phenomena in foods. **Food Technology**, Chicago, v. 22, n. 3, p. 263-272, 1968.
- LABUZA, T.P. The properties of water in relationship to water binding in food: a review. **Journal of Food Processing and Preservation**, Oxford, v. 1, n. 2, p.167-190, 1977.
- LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, Londres, v. 227, n. 15, p. 685-689, 1970.

- LEE, Y.B.; ELLIOT, J.G.; RICHANSRUD, D.A.; HAGBERG, E.C. Predicting protein efficiency ratio by the chemical determination of connective tissue content in meat. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 43, n. 5, p. 1359-1362, 1978.
- LERTITTIKUL, W.; BENJAKUL, S.; TANAKA, M. Characteristics and antioxidative activity of Maillard reaction products from a porcine plasma protein-glucose model system as influenced by pH. **Food Chemistry**, Oxford, v. 100, n. 2, p. 669-677, 2007.
- 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.
- LIASET, B.; NORTVEDT, R.; LIED, E.; ESPE, M. Studies on the nitrogen recovery in enzymic hydrolysis of Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) frames by Protamex<sup>TM</sup> protease. **Process Biochemistry**, Oxford, v. 37, n. 11, p. 1263-1269, 2002.
- LIN, S.B.; NELLES, L.P.; CORDLE, C.T.; THOMAS, R.L. Debittering casein hydrolysates with octadecyl-siloxane (c18) columns. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 62, n. 4, p. 665-670, 1997.
- MÁRQUEZ, M.C.; VÁZQUEZ, M.A. Modeling of enzymatic protein hydrolysis. **Process Biochemistry**, Oxford, v. 35, n. 1, p. 111-117, 1999.
- MARTINS, M.T.S. Caracterização química e nutricional de plasteína produzida a partir de hidrolisado pancreático de isolado proteico de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 683-690, 2005.
- MASTERS, K. **Spray drying. An introduction to principles, operational practice and applications**. London: Leonard Hill Books. 1972.
- MATMAROH, K.; BENJAKUL, S.; TANAKA, M. Effect of reactant concentration on the Maillard reaction in a fructose-glycine model system and the inhibition of black tiger shrimp polyphenoloxidase. **Food Chemistry**, Oxford, v. 98, n. 1, p. 1-8, 2006.
- MEDINA-VIVANCO, M.L.M.; SOBRAL, P.J.A.; SERENO, A.M.; HUBINGER, M.D. Denaturation and the glass transition temperatures of myofibrillar proteins from osmotically dehydrated tilapia: effect of sodium chloride and sucrose. **International Journal of Food Properties**, Filadélfia, v. 10, n. 4, p. 791-805, 2007.
- MORAIS, H.A.; BARBOSA, C.M.S; DELVIVO, F.M.; SILVA, V.D.M.; MANSUR, H.S.; OLIVEIRA, M.C.; SILVESTRE, M.P.C. Estabilidade e avaliação sensorial de lipossomas contendo hidrolisados de caseína. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 6, n. 2, p. 213-220, 2003.
- MORALEZ, F.J.; JIMENÉZ-PÉREZ, S. Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to colour and fluorescente. **Food Chemistry**, Oxford, v. 72, n.1, p. 119-125, 2001.

- MORENO, M.C.M.; CUADRADO, V.F. Enzymic hydrolysis of vegetables proteins: mechanism and kinetics. **Process Biochemistry**, Oxford, v. 28, n. 7, p. 481-490, 1993.
- NATH, S.; SATPATHY, G.R. A systematic approach for investigation of spray drying processes. **Drying Technology**, Filadélfia, v. 16, n. 6, p. 1173-1193, 1998.
- NEGRÃO, C.C.; MIZUBUTI, I.Y.; MORITA, M.C.; COLLI, C.; IDA, E.I.; SHIMOKOMAKI, M. Biological evaluation of mechanically deboned chicken meat protein quality. **Food Chemistry**, Oxford, v. 90, n. 4, p. 579-583, 2005.
- NIINIVAARA, F.P; ANTILA, P. **El valor nutritivo de la carne**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1973.
- NIJDAM, J.J.; LANGRISH, T.A.J. The effect of surface composition on the functional properties of milk powders. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 77, n. 4, p. 919-925, 2006.
- NILSANG, S.; LERTSIRI, S.; SUPHANTHARIKA, M.; ASSAVANIG, A. Optimization of enzymatic hydrolysis of fish soluble concentrate by commercial proteases. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 70, n. 4, p. 571-578, 2005.
- NOGUEIRA, R.I. **Processo de obtenção de inulina de chicória (*Cichorium intybus*) em pó**. 2002. 113p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.
- O'HAGAN, P.; HASAPIDIS, K.; CODER, A.; HELSING, H.; POKRAJAC, G. Particle size analysis of food powders. In: ONWULATA, C. (Ed.). **Encapsulated and powdered foods**. Boca Raton: Taylor & Francis, 2005. cap. 9, p. 215-246.
- PAPADAKIS, S.E.; GARDELI, C.; TZIA, C. Spray drying of raisin juice concentrate. **Drying Technology**, Filadélfia, v. 24, n. 2, p. 173-180, 2006.
- PEÑA-RAMOS, E.A.; XIONG, Y.L. Whey and soy protein hydrolysates inhibit lipid oxidation in cooked pork patties. **Meat Science**, Oxford, v. 64, n. 3, p. 259-263, 2003.
- PÉREZ-ALONSO, C.; BERISTAIN, C.I.; LOBATO-CALLEROS, C.; RODRIGUEZ-HUEZO, M.E.; VERNON-CARTER, E.J. Thermodynamic analysis of the sorption isotherms of pure and blended carbohydrate polymers. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 77, n.4, p. 753-760, 2006.
- PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**. Amsterdã, v. 39, n. 7, p. 791-800, 2006.
- PORZIO, M. A.; PEARSON, A. M. Improved Resolution of Miofibrillar Proteins with sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel eletrophoresis. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdã, v. 490, n. 1, p. 27- 34, 1977.

QUEK, S.Y.; CHOK, N.K.; SWEDLUND, P. The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. **Chemical Engineering and Processing**, Lausanne, v. 46, n. 5, p. 386-392, 2007.

RAMASWAMY, H.; MARCOTTE, M. **Food processing. Principles and applications**. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006.

RÉ, M.I. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology**, Filadélfia, v. 16, n. 6, p. 1195-1236, 1998.

REINECCIUS, G.A. Multiple-core encapsulation – The spray drying of food ingredients. In: VILSTRUP, P. (Ed.). **Microencapsulation of food ingredients**. Leatherhead Publishing, Surrey, 2001. p. 151-185.

RIGUETTO, A.M. **Caracterização físico-química e estabilidade de suco de acerola verde microencapsulado por atomização e liofilização**. 2003. 178p. Tese (Doutorado em Ciência da Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

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**, Filadélfia, v. 8, n. 2, p. 337-346, 2005.

RODRIGUES, M.I.; IEMMA, A.F. **Planejamento de experimentos e otimização de processo**. Campinas: Casa do Pão, 2005

RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, G.R.; GONZÁLEZ-GARCÍA, A.; GRAJALES-LAGUNES, A.; RUIZ-CABRERA, M.A. Spray drying of cactus pear juice (*Opuntia streptacantha*): Effect on the physicochemical properties of powder and reconstituted product. **Drying Technology**, Filadélfia, v. 23, n. 4, p. 955-973, 2005.

ROMAN, J.A.; SGARBIERI, V.C. Efeito da hidrólise enzimática sobre propriedades funcionais de caseína bovina coagulada pela ação da quimosina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 3, p. 468-474, 2005.

ROOS, Y.H. Water activity and physical state effects on amorphous food stability. **Journal of Food Processing and Preservation**, Oxford, v. 16, n. 6, p. 433-447, 1993.

ROOS, Y.H. **Phase transition in foods**. San Diego, California: Academic Press, 1995.

ROOS, Y.H.; KAREL, M. Differential scanning calorimetry study of phase transition affecting the quality of dehydrated materials. **Biotechnology Progress**, Washington, DC, v. 6, n. 2, p. 15-163, 1990.

ROOS, Y.; KAREL, M. Applying state diagrams to food processing and development. **Food Technology**, Chicago, v. 45, n. 12, p. 66-71. 1991.

ROOS, Y.; KAREL, M. Phase transitions of mixtures of amorphous polysaccharides and sugars. **Biotechnology Progress**, Washington, DC, v. 7, n.1, p. 49-53, 1991b.

ROSENBERG, M.; KOPELMAN, I.J.; TALMON, Y. A scanning electron microscopy study of microencapsulation. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 50, n. 1, p. 139-144, 1985.

SABLANI, S.S.; KASAPIS, S.; RAHMAN, M.S.; AL-JABRI, A.; AL-HABSI, N. Sorption isotherm and the state diagram for evaluating stability criteria of abalone. **Food Research International**, Amsterdã, v. 37, n. 10, p. 915-924, 2004.

SABLANI, S.S.; SHRESTHA, A.K.; BHANDARI, B.R. A new method of production date powder granules: Physicochemical characteristics of powder. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 87, n. 3, p. 416-421, 2008.

SALES, A.M.; CARVALHO, A.C.V.; BALDINI, V.L.S.; GONÇALVES, J.R.; BERAQUET, N.J. Extração enzimática de proteína de resíduo de carne de frango mecanicamente separada. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 12, p. 233-242, 1991.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science and Technology International**, Londres, vol. 8, n. 3, p. 121-137, 2002.

SANTOS, A.B.; FÁVARO-TRINDADE, C.S.; GROSSO, C.R.F. Preparo e caracterização de microcápsulas de oleoresina de páprica obtidas por atomização. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 322-326, 2005.

SATHIVEL, S.; SMILEY, S.; PRINYAWIWATKUL, W.; BECHTEL, P.J. Functional and nutritional properties of red salmon (*Oncorhynchus nerka*) enzymatic hydrolysates. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 70, n. 6, p. 401-406, 2005.

SCHAGGER, H.; JAGOW, G.V. Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. **Analytical Biochemistry**, São Diego, v. 166, n. 2, p. 368-379, 1987.

SCHMIDL, M. K.; TAYLOR, S. L.; NORDLEE, J. A. Use of hydrolysate based products in special medical diets. **Food Technology**, Chicago, v. 48, n. 10, p. 77-85, 1994.

SGARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos proteicos: Propriedades – degradações – modificações**. São Paulo: Varela, 1996.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Q. Encapsulation of food ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Filadélfia, v. 33, n. 6, p. 501-547, 1993.

SHAHIDI, F.; HAN, X.-Q.; SYNOWIECKI, J. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). **Food Chemistry**, Oxford, v. 53, n. 3, p. 285-293, 1995.

- SHEU, T-Y; ROSENBERG, M. Microencapsulation by spray-drying ethylcaprylate in whey protein and carbohydrate wall systems. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 60, n. 1, p. 98-103, 1995.
- SHEU, T-Y; ROSENBERG, M. Microstructure of microcapsules of whey proteins and carbohydrates. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 63, n. 3, p. 491-494, 1998.
- SHRESTHA, A.K.; HOWES, T.; ADHIKARI, B.P.; BHANDARI, B.R. Water sorption and glass transition properties of spray dried lactose hydrolysed skim milk powder. **LWT – Food Science and Technology**, Amsterdã, v. 40, n. 9, p. 1593-1600, 2007a.
- SHRESTHA, A.K.; UA-ARAK, T.; ADHIKARI, B.P.; HOWES, T.; BHANDARI, B.R. Glass transition behavior of spray dried orange juice powder measured by differential scanning calorimetry (DSC) and thermal mechanical compression test (TMCT). **International Journal of Food Properties**, Filadélfia, v. 10, n. 3, p. 661-673, 2007b.
- SIEMENSMA, A. D.; WEIJER, W. J.; BAK, H. J. The importance of peptide length in hypoallergenic infant food formulae. **Trends in Food Science and Technology**, Londres, v. 4, n. 1, p. 16-21, 1993.
- SILVA, M.A.; SOBRAL, P.J.A.; KIECKBUSCH, T.G. State diagrams of freeze-dried camu-camu (*Myrciaria dubia* (HBK) Mc Vaugh) pulp with and without maltodextrin addition. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 77, n. 3, p. 426-432, 2006.
- SLADE, L.; LEVINE, H. Glass transitions and water-food structure interaction. In: KINSELLA, J.E. (Ed.), **Advances in Food and Nutrition Research vol. 38**. Academic Press, San Diego, CA, 1994. p. 103-269.
- ŠLIŽYTĖ, R.; DAUKŠAS, E.; FALCH, E.; STORRØ, I.; RUSTAD, T. Characteristics of protein fractions generated from hydrolysed cod (*Gadus morhua*) by-products. **Process Biochemistry**, Oxford, v. 40, n. 6, p. 2021-33, 2005.
- SOUZA, C.R.F.; OLIVEIRA, W.P. Powder properties and system behavior during spray drying of *Bauhinia forficata* link extract. **Drying Technology**, Filadélfia, v. 24, n. 6, p. 735-749, 2006.
- SOUZA, C.R.F.; OLIVEIRA, W.P. Processing of *Rosmarinus officinalis* linne extract on spray and spouted bed dryers. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 59-69, 2008.
- SPERLING, L. H. **Introduction to physical polymer science**. New York: Wiley-Interscience, 1992.
- SPIES, J.R. Determination of tryptophan in proteins. **Analytical Chemistry**, v. 39, n. 12, p. 1412-1415, 1967.

- SURÓWKA, K.; FIK, M. Studies on the recovery of proteinaceous substances from chicken heads: II – Application of pepsin to the production of protein hydrolysate. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Chichester, v. 65, n. 3, p. 289-296, 1994.
- SYNOWIECKI, J.; AL-KHATEEB, N.A.A.Q. The recovery of protein hydrolysate during enzymatic isolation of chitin from shrimp *Crangon crangon* processing discards. **Food Chemistry**, Oxford, v. 68, n. 2, p. 147-152, 2000.
- TACO. Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA – UNICAMP, Campinas: NEPA-UNICAMP, 2004. 42p.
- TANG, J.; YANG, T. Dehydrated vegetables: Principles and systems. In: HUI, Y.H.; GHAZALA, S.; GRAHAM, D.M.; MURRELL, K.D.; NIP, W.-K. (Eds). **Handbook of vegetable preservation and processing**. Nova Iorque: Marcel Dekker, 2004, cap. 21.
- TAXI, C.M.A.D. **Suco de camu-camu (*Myrciaria dubia*) microencapsulado obtido através de secagem por atomização**. 2001. 162p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- TEIXEIRA NETO, R.O. Alterações da qualidade de frutas e hortaliças desidratadas durante a estocagem. In: AGUIRRE, J.M.; GASPARINO FILHO, J. (Eds). **Desidratação de frutas e hortaliças**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 2001, p. 8.1-8.9.
- TELIS, V.R.N.; SOBRAL, P.J.A. Glass transitions for freeze-dried and air-dried tomato. **Food Research International**, Amsterdã, v. 35, n. 5, p. 435-443, 2002.
- TELIS, V.R.N.; SOBRAL, P.J.A. Glass transitions and state diagram for freeze-dried pineapple. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, Amsterdã, v. 34, n. 4, p. 199-205, 2001.
- THEODORE, A.E.; RAGHAVAN, S.; KRISTINSSON, H.G. Antioxidant activity of protein hydrolysates prepared from alkaline-aided channel catfish protein isolates. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 56, n. 16, p. 7459-7466, 2008.
- THIANSILAKUL, Y.; BENJAKUL, S.; SHAHIDI, F. Antioxidative activity of protein hydrolysate from round scad muscle using alcalase and flavourzyme. **Journal of Food Biochemistry**, Oxford, v. 31, n. 2, p. 266-287, 2007.
- TONELI, J.T.C.L. **Processos de separação física e secagem de inulina obtida a partir de raízes de chicória (*Cichorium Intybus L.*)**. 2006. 208p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- TONELI, J.T.C.L.; PARK, K.J.; MURR, F.E.X.; NEGREIROS, A.A. Efeito da umidade sobre a microestrutura da inulina em pó. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 1, p. 122-131, 2008.

- TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 88, n. 3, p. 411-418, 2008.
- TORRES, E.A.F.S.; CAMPOS, N.C.; DUARTE, M.; GARBELOTTI, M.L.; PHILIPPI, S.T.; RODRIGUES, R.S.M. Composição centesimal e valor calórico de alimentos de origem animal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 2, p. 145- 150, 2000.
- TÓTH, J.; PALLAI-VARSÁNYI, E. Drying of bovine serum albumin on inert particle surface in msb dryer. In: INTERNATIONAL DRYING SYMPOSIUM, 2006, Budapeste, Hungria. **Proceedings of the 15<sup>th</sup> International Drying Symposium**, 2006.
- TREYBAL, R.E. **Mass transfer operations**. Auckland: McGraw-Hill, 1981.
- TSALIKI, E.; LAGOURI, V.; DOXASTAKIS, G. Evaluation of the antioxidant activity of lupin seed flour and derivatives (*Lupinus albus* ssp. Graecus). **Food Chemistry**, Oxford, v. 65, n.1, p. 71-75, 1999.
- USDA. **United States Department of Agriculture**. Disponível em: <<http://www.usda.gov>> Acesso em: 14 jan. 2008.
- VAN DER 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**. London: Elsevier Applied Science, v. 1, p. 311-321, 1984.
- WALTON, D.E.; MUMFORD, C.J. The morphology of spray-dried particles. The effect of process variables upon the morphology of spray-dried particles. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 77, n. 5, p. 442-460, 1999.
- WASSWA, J.; TANG, J.; GU, X.; YUAN, X. Influence of the extent of enzymatic hydrolysis on the functional properties of protein hydrolysate from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin. **Food Chemistry**, Oxford, v. 104, n. 4, p.1698-1704, 2007.
- WOLF, W.; SPIESS, W.E.L.; JUNG, G. **Sorption isotherms and water activity of food materials: a bibliography**. New York: Elsevier Science Publishing Co., 1985.
- WU, H.C.; CHEN, H.M.; SHIAU, C.Y. Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). **Food Research International**, Amsterdã, v. 36, n. 9-10, p. 949-957, 2003.
- WHITAKER, J.R. **Principles of enzymology for the food sciences**, New York: Marcel Dekker, 1994.
- WHITE, G.W.; CAKEBREAD, S.H. The glassy state in certain sugar-containing food products. **Journal of Food Technology**, Chicago, v. 1, n. 1, p. 73-82, 1966.

WHITE, J.A.; HART, R.J.; FRY, J.C. An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino-acid analysis of food materials. **Journal of Automatic Chemistry**, Londres, v. 8, n. 4, p. 170-177, 1986.

XIA, S.H.; WANG, Z.; XU, S.Y. Characteristics of *Bellamya purificata* snail foot protein and enzymatic hydrolysates. **Food Chemistry**, v. 101, n. 3, p. 1188-1196, 2007.

YOU, L.; ZHAO, M.; CUI, C.; ZHAO, H.; YANG, B. Effect of degree of hydrolysate on the antioxidant activity of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysates. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 10, n. 2, p. 235-240, 2009.

ZHANG, X.W.; LIU, X.; GU, D.X.; ZHOU, W.; WANG, R.L.; LIU, P. Desorption isotherms of some vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Chichester, v. 70, n. 3, p. 303- 306, 1996.

## 9 APÊNDICE A

Estimativa dos efeitos lineares, quadráticos e das interações para as respostas analisadas, obtidos no planejamento experimental.

**Tabela 9.1:** Efeito estimado, erro padrão, coeficiente t e grau de significância estatística, para as respostas  $\ln(a)$  e  $\ln(b)$ .

<b><math>\ln(a)</math></b>				
<b>Fatores</b>	<b>Efeito estimado</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>t (7)</b>	<b>p - valor</b>
Média	1,16	0,68	1,70	0,13
T (L)	6,26	0,64	9,74	<0,01*
T (Q)	3,13	0,71	4,43	<0,01*
E/S (L)	1,21	0,64	1,89	0,10*
E/S (Q)	0,42	0,71	0,59	0,57
pH (L)	2,05	0,64	3,20	0,02*
pH (Q)	0,60	0,71	0,85	0,42
T × E/S	0,34	0,84	0,41	0,70
T × pH	2,93	0,84	3,50	0,01*
E/S × pH	-0,64	0,84	-0,76	0,47
<b><math>\ln(b)</math></b>				
<b>Fatores</b>	<b>Efeito estimado</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>t (7)</b>	<b>p - valor</b>
Média	-1,68	0,13	-12,79	<0,01*
T (L)	1,79	0,12	14,54	<0,01*
T (Q)	1,04	0,14	7,63	<0,01*
E/S (L)	-0,01	0,12	-0,08	0,94
E/S (Q)	0,15	0,14	1,13	0,29
pH (L)	0,57	0,12	4,63	<0,01*
pH (Q)	0,02	0,14	0,17	0,87
T × E/S	0,03	0,16	0,22	0,84
T × pH	0,54	0,16	3,38	0,01*
E/S × pH	-0,17	0,16	-1,02	0,34

\*Significativo a  $p < 0,1$

**Tabela 9.2:** Efeito estimado, erro padrão, coeficiente t e grau de significância estatística, para as respostas ln(a) e ln(b) após a eliminação dos fatores não significativos a  $p < 0,10$ .

<b>ln(a)</b>				
<b>Fatores</b>	<b>Efeito estimado</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>t (7)</b>	<b>p - valor</b>
Média	1,66	0,35	4,82	<0,01
T (L)	6,26	0,57	11,02	<0,01
T (Q)	2,90	0,58	4,98	<0,01
E/S (L)	1,21	0,57	2,14	0,06
pH (L)	2,05	0,57	3,61	<0,01
T × pH	2,93	0,74	3,96	<0,01
<b>ln(b)</b>				
<b>Fatores</b>	<b>Efeito estimado</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>t (7)</b>	<b>p - valor</b>
Média	-1,59	0,07	-23,93	<0,01
T (L)	1,79	0,11	16,41	<0,01
T (Q)	1,00	0,11	8,90	<0,01
pH (L)	0,57	0,11	5,23	<0,01
T × pH	0,54	0,14	3,81	<0,01

**Tabela 9.3:** Efeito estimado, erro padrão, coeficiente t e grau de significância estatística, para as respostas grau de hidrólise e recuperação de proteína.

<b>Grau de hidrólise</b>				
<b>Fatores</b>	<b>Efeito estimado</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>t (7)</b>	<b>p - valor</b>
Média	26,3573	2,3240	11,3413	<0,01*
T (L)	-15,0114	2,1827	-6,8773	<0,01*
T (Q)	-9,9909	2,4024	-4,1587	<0,01*
E/S (L)	5,5866	2,1827	2,5594	0,04*
E/S (Q)	-2,5840	2,4024	-1,0756	0,32
pH (L)	-4,3585	2,1827	-1,9968	0,09*
pH (Q)	2,4152	2,4024	1,0053	0,35
T × E/S	-3,5900	2,8519	-1,2588	0,25
T × pH	-2,8100	2,8519	-0,9853	0,36
E/S × pH	-0,9650	2,8519	-0,3387	0,74
<b>Recuperação de proteína</b>				
<b>Fatores</b>	<b>Efeito estimado</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>t (7)</b>	<b>p - valor</b>
Média	89,0304	3,6907	24,1228	<0,01*
T (L)	-32,0883	3,4664	-9,2570	<0,01*
T (Q)	-22,7325	3,8152	-5,9583	<0,01*
E/S (L)	8,3562	3,4664	2,4106	0,05*
E/S (Q)	-5,9998	3,8152	-1,5726	0,16
pH (L)	-5,7001	3,4664	-1,6444	0,14
pH (Q)	-4,3045	3,8152	-1,1282	0,30
T × E/S	-0,7921	4,5290	-0,1749	0,87
T × pH	-12,8529	4,5290	-2,8379	0,02*
E/S × pH	2,4785	4,5290	0,5472	0,60

\*Significativo a  $p < 0,1$

**Tabela 9.4:** Efeito estimado, erro padrão, coeficiente t e grau de significância estatística, para as respostas rendimento de secagem, eficiência térmica e produtividade do secador.

<b>Temperatura do ar de saída</b>				
<b>Fatores</b>	<b>Efeito estimado</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>t (5)</b>	<b>p - valor</b>
Média	107,1903	2,9939	35,8028	<0,01*
$T_{ent}$ (L)	36,3647	3,6723	9,9025	<0,01*
$T_{ent}$ (Q)	-5,9083	4,3820	-1,3483	0,23
$\dot{m}_{a\ lim}$ (L)	-9,9426	3,6723	-2,7075	0,04*
$\dot{m}_{a\ lim}$ (Q)	3,1922	4,3820	-0,7285	0,50
$T_{ent} \times \dot{m}_{a\ lim}$	1,7500	5,1857	0,3375	0,75
<b>Rendimento de Secagem</b>				
<b>Fatores</b>	<b>Efeito estimado</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>t (5)</b>	<b>p - valor</b>
Média	67,8707	1,9806	34,2684	<0,01*
$T_{ent}$ (L)	-7,3771	2,4293	-3,0367	0,03*
$T_{ent}$ (Q)	-3,5379	2,8988	-1,2204	0,28
$\dot{m}_{a\ lim}$ (L)	-6,7050	2,4293	-2,7600	0,04*
$\dot{m}_{a\ lim}$ (Q)	-8,4910	2,8988	-2,9291	0,03*
$T_{ent} \times \dot{m}_{a\ lim}$	14,0571	3,4305	4,0977	0,01*
<b>Eficiência térmica</b>				
<b>Fatores</b>	<b>Efeito estimado</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>t (5)</b>	<b>p - valor</b>
Média	33,0437	1,2347	26,7632	<0,01*
$T_{ent}$ (L)	-5,1670	1,5144	-3,4119	0,02*
$T_{ent}$ (Q)	8,0319	1,8071	4,4446	0,01*
$\dot{m}_{a\ lim}$ (L)	22,0704	1,5144	14,5734	<0,01*
$\dot{m}_{a\ lim}$ (Q)	-0,7495	1,8071	-0,4147	0,69
$T_{ent} \times \dot{m}_{a\ lim}$	-6,2470	2,1385	-2,9212	0,03*
<b>Produtividade do secador</b>				
<b>Fatores</b>	<b>Efeito estimado</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>t (7)</b>	<b>p - valor</b>
Média	1784,92	95,0107	18,7865	<0,01*
$T_{ent}$ (L)	120,38	116,5388	1,0330	0,35
$T_{ent}$ (Q)	-334,72	139,0611	-2,4070	0,06*
$\dot{m}_{a\ lim}$ (L)	-1297,67	116,5388	-11,1351	<0,01*
$\dot{m}_{a\ lim}$ (Q)	470,23	139,0611	3,3815	0,02*
$T_{ent} \times \dot{m}_{a\ lim}$	279,87	164,5653	1,7007	0,15

\*Significativo a  $p < 0,1$

**Tabela 9.5:** Efeito estimado, erro padrão, coeficiente t e grau de significância estatística, para as respostas atividade antioxidante, umidade, diâmetro médio das partículas e densidade.

<b>Atividade antioxidante</b>				
<b>Fatores</b>	<b>Efeito estimado</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>t (5)</b>	<b>p - valor</b>
Média	55,0393	2,3040	23,8887	<0,01*
T <sub>ent</sub> (L)	12,6717	2,8260	4,4839	0,01*
T <sub>ent</sub> (Q)	-6,9298	3,3722	-2,0550	0,1*
m <sub>alim</sub> (L)	-1,7029	2,8260	-0,6026	0,57
m <sub>alim</sub> (Q)	-3,6265	3,3722	-1,0754	0,33
T <sub>ent</sub> × m <sub>alim</sub>	-4,3513	3,9907	-1,0904	0,32
<b>Umidade do pó</b>				
<b>Fatores</b>	<b>Efeito estimado</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>t (3)</b>	<b>p - valor</b>
Média	1,7160	0,1042	16,4747	<0,01*
T <sub>ent</sub> (L)	-0,9576	0,2756	-3,4750	0,04*
m <sub>alim</sub> (L)	0,6355	0,2756	2,3058	0,10*
T <sub>ent</sub> × m <sub>alim</sub>	0,0562	0,2756	0,2039	0,85
<b>Conteúdo de proteínas</b>				
<b>Fatores</b>	<b>Efeito estimado</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>t (5)</b>	<b>p - valor</b>
Média	27,6611	0,9564	29,8569	<0,01*
T <sub>ent</sub> (L)	2,1486	1,1364	1,8908	0,12
T <sub>ent</sub> (Q)	-0,6614	1,3560	-0,4878	0,65
m <sub>alim</sub> (L)	0,7339	1,1364	0,6458	0,55
m <sub>alim</sub> (Q)	0,7345	1,3560	0,5417	0,61
T <sub>ent</sub> × m <sub>alim</sub>	2,0675	1,6047	1,2884	0,25
<b>Diâmetro médio das partículas</b>				
<b>Fatores</b>	<b>Efeito estimado</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>t (5)</b>	<b>p - valor</b>
Média	7,3630	0,2955	24,9142	<0,01*
T <sub>ent</sub> (L)	0,9667	0,3625	2,6668	0,04*
T <sub>ent</sub> (Q)	-0,2840	0,4325	-0,6566	0,54
m <sub>alim</sub> (L)	1,1087	0,3625	3,0584	0,03*
m <sub>alim</sub> (Q)	-0,8977	0,4325	-2,0753	0,09*
T <sub>ent</sub> × m <sub>alim</sub>	0,2850	0,5118	0,5568	0,60
<b>Densidade volumétrica</b>				
<b>Fatores</b>	<b>Efeito estimado</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>t (3)</b>	<b>p - valor</b>
Média	264,3240	1,9796	133,5259	<0,01*
T <sub>ent</sub> (L)	-68,7447	5,2374	-13,1256	<0,01*
m <sub>alim</sub> (L)	2,0930	5,2374	0,3996	0,72
T <sub>ent</sub> × m <sub>alim</sub>	1,4432	5,2374	0,2756	0,80

\*Significativo a p&lt;0,1

## 10 APÊNDICE B

Análise de variância (ANOVA), modelo codificado e coeficiente de determinação  $R^2$  para as respostas estudadas.

**Tabela 10.1:** Análise de variância do modelo ajustado para as respostas  $\ln(a)$  e  $\ln(b)$ .

<b><math>\ln(a)</math></b>					
<b>Fonte de variação</b>	<b><i>SQ</i></b>	<b><i>GL</i></b>	<b><i>MQ</i></b>	<b><math>F_{\text{calculado}}</math></b>	<b><math>F_{\text{tabelado}}</math></b>
<b>Regressão</b>	197,41	5	39,48	35,89	2,45
<b>Resíduo:</b>	12,10	11	1,10		
- Falta de ajuste	12,09	9	1,34	274,48	9,38
- Erro puro	0,01	2	<0,01		
<b>Total</b>	209,51	16		$R^2 = 0,942$	
<b>Modelo</b>	$\ln(a) = 1,66 + 3,13 \times T + 1,45 \times T^2 + 0,61 \times E/S + 1,03 \times \text{pH} + 1,48 \times T \times \text{pH}$				
<b><math>\ln(b)</math></b>					
<b>Fonte de variação</b>	<b><i>SQ</i></b>	<b><i>GL</i></b>	<b><i>MQ</i></b>	<b><math>F_{\text{calculado}}</math></b>	<b><math>F_{\text{tabelado}}</math></b>
<b>Regressão</b>	15,92	4	3,98	97,61	2,48
<b>Resíduo:</b>	0,49	12	0,04		
- Falta de ajuste	0,48	10	0,05	17,43	9,39
- Erro puro	0,01	2	<0,01		
<b>Total</b>	16,41	16		$R^2 = 0,970$	
<b>Modelo</b>	$\ln(b) = -1,59 + 0,90 \times T + 0,50 \times T^2 + 0,28 \times \text{pH} + 0,27 \times T \times \text{pH}$				

SQ: Soma quadrática; GL: grau de liberdade; MQ: Média quadrática;  $F_c$ :  $F_{\text{calculado}}$ ;  $F_t$ :  $F_{\text{tabelado}}$ .

**Tabela 10.2:** Análise de variância do modelo ajustado para as respostas grau de hidrólise e recuperação de proteína.

<b>Grau de hidrólise</b>					
<b>Fonte de variação</b>	<b><i>SQ</i></b>	<b><i>GL</i></b>	<b><i>MQ</i></b>	<b><math>F_{\text{calculado}}</math></b>	<b><math>F_{\text{tabelado}}</math></b>
<b>Regressão</b>	1263,42	4	315,85	18,28	2,48
<b>Resíduo:</b>	207,31	12	17,28		
<b>-Falta de ajuste</b>	206,2179	10	20,62	37,49	9,39
<b>-Erro puro</b>	1,0952	2	0,55		
<b>Total</b>	1470,731	16		$R^2 = 0,859$	
<b>Modelo</b>	$GH = 26,27 - 7,5 \times T - 4,98 \times T^2 + 2,79 \times E/S - 2,18 \times \text{pH}$				
<b>Recuperação de proteína</b>					
<b>Fonte de variação</b>	<b><i>SQ</i></b>	<b><i>GL</i></b>	<b><i>MQ</i></b>	<b><math>F_{\text{calculado}}</math></b>	<b><math>F_{\text{tabelado}}</math></b>
<b>Regressão</b>	5437,49	4	1359,37	30,61	2,48
<b>Resíduo:</b>	532,90	12	44,41		
<b>-Falta de ajuste</b>	528,95	10	52,89	26,85	9,39
<b>-Erro puro</b>	3,950	2	1,97		
<b>Total</b>	5970,39	16		$R^2 = 0,911$	
<b>Modelo</b>	$RP = 83,95 - 16,04 \times T - 10,19 \times T^2 + 4,17 \times E/S - 6,43 \times T \times \text{pH}$				

*SQ*: Soma quadrática; *GL*: grau de liberdade; *MQ*: Média quadrática;  $F_c$ :  $F_{\text{calculado}}$ ;  $F_t$ :  $F_{\text{tabelado}}$ .

**Tabela 10.3:** Análise de variância do modelo ajustado para as respostas temperatura do ar de saída, rendimento de secagem, eficiência térmica e produtividade do secador.

<b>Temperatura do ar de saída</b>					
Fonte de variação	<i>SQ</i>	<i>GL</i>	<i>MQ</i>	<b>F</b> <sub>calculado</sub>	<b>F</b> <sub>tabelado</sub>
Regressão	2834,03	2	1417,02	59,75	3,11
Resíduo:	189,71	8	23,71		
-Falta de ajuste	179,51	6	29,92	5,86	9,32
-Erro puro	10,21	2	5,10		
<b>Total</b>	3023,75	10		<b>R</b> <sup>2</sup> = 0,9373	
<b>Modelo</b>	$T_{\text{sai}} = 103,89 + 18,18 \times T_{\text{ent}} - 4,67 \times \dot{m}_{\text{a lim}}$				
<b>Rendimento de secagem</b>					
Fonte de variação	<i>SQ</i>	<i>GL</i>	<i>MQ</i>	<b>F</b> <sub>calculado</sub>	<b>F</b> <sub>tabelado</sub>
Regressão	480,94	4	120,24	9,45	3,18
Resíduo:	76,37	6	12,73		
-Falta de ajuste	74,91	4	18,73	25,69	9,24
-Erro puro	1,46	2	0,73		
<b>Total</b>	557,31	10		<b>R</b> <sup>2</sup> = 0,863	
<b>Modelo</b>	$RS = 66,21 - 3,69 \times T_{\text{ent}} - 3,35 \times \dot{m}_{\text{a lim}} - 3,73 \times \dot{m}_{\text{a lim}}^2 + 7,03 \times T_{\text{ent}} \times \dot{m}_{\text{a lim}}$				
<b>Eficiência térmica</b>					
Fonte de variação	<i>SQ</i>	<i>GL</i>	<i>MQ</i>	<b>F</b> <sub>calculado</sub>	<b>F</b> <sub>tabelado</sub>
Regressão	1167,73	4	291,93	74,05	3,18
Resíduo:	23,65	6	3,94		
-Falta de ajuste	16,90	4	4,22	1,25	9,24
-Erro puro	6,75	2	3,38		
<b>Total</b>	1191,38	10		<b>R</b> <sup>2</sup> = 0,980	
<b>Modelo</b>	$\eta = 32,69 - 2,58 \times T_{\text{ent}} + 4,12 \times T_{\text{ent}}^2 + 11,03 \times \dot{m}_{\text{a lim}} - 3,12 \times T_{\text{ent}} \times \dot{m}_{\text{a lim}}$				
<b>Produtividade do secador</b>					
Fonte de variação	<i>SQ</i> × 10 <sup>-3</sup>	<i>GL</i>	<i>MQ</i> × 10 <sup>-3</sup>	<b>F</b> <sub>calculado</sub>	<b>F</b> <sub>tabelado</sub>
Regressão	4008,07	3	1336,02	38,54	3,07
Resíduo:	242,63	7	34,66		
-Falta de ajuste	220,305	5	44,06	3,95	9,29
-Erro puro	223,28	2	11,16		
<b>Total</b>	4250,71	10		<b>R</b> <sup>2</sup> = 0,943	
<b>Modelo</b>	$PS = 1784,92 - 167,36 \times T_{\text{ent}}^2 - 648,83 \times \dot{m}_{\text{a lim}} + 235,11 \times \dot{m}_{\text{a lim}}^2$				

SQ: Soma quadrática; GL: grau de liberdade; MQ: Média quadrática; F<sub>c</sub>: F calculado; F<sub>t</sub>: F tabelado.

**Tabela 10.4:** Análise de variância do modelo ajustado para as respostas atividade antioxidante, umidade do pó, diâmetro médio das partículas e densidade volumétrica.

<b>Atividade Antioxidante</b>					
<b>Fonte de variação</b>	<b><i>SQ</i></b>	<b><i>GL</i></b>	<b><i>MQ</i></b>	<b><i>F</i><sub>calculado</sub></b>	<b><i>F</i><sub>tabelado</sub></b>
<b>Regressão</b>	372,9773	2	186,49	12,15	3,11
<b>Resíduo:</b>	122,7621	8	15,34		
-Falta de ajuste	110,9858	6	18,50	3,14	9,32
-Erro puro	11,7763	2	5,89		
<b>Total</b>	495,7393	10		<b>R<sup>2</sup> = 0,75</b>	
<b>Modelo</b>	<b>AA = 53,3 + 6,33 × T<sub>ent</sub> - 2,94 × T<sub>ent</sub><sup>2</sup></b>				
<b>Umidade do pó</b>					
<b>Fonte de variação</b>	<b><i>SQ</i></b>	<b><i>GL</i></b>	<b><i>MQ</i></b>	<b><i>F</i><sub>calculado</sub></b>	<b><i>F</i><sub>tabelado</sub></b>
<b>Regressão</b>	1,3209	2	0,66	11,44	4,32
<b>Resíduo:</b>	0,2310	4	0,06		
-Falta de ajuste	0,1989	2	0,10	6,20	9,00
-Erro puro	0,0321	2	0,02		
<b>Total</b>	1,5519	6		<b>R<sup>2</sup> = 0,85</b>	
<b>Modelo</b>	<b>X<sub>bu</sub> = 1,72 - 0,48 × T<sub>ent</sub> + 0,32 × m<sub>alim</sub></b>				
<b>Diâmetro médio das partículas</b>					
<b>Fonte de variação</b>	<b><i>SQ</i></b>	<b><i>GL</i></b>	<b><i>MQ</i></b>	<b><i>F</i><sub>calculado</sub></b>	<b><i>F</i><sub>tabelado</sub></b>
<b>Regressão</b>	5,3308	3	1,78	8,27	3,07
<b>Resíduo:</b>	1,5043	7	0,21		
-Falta de ajuste	1,4862	5	0,30	32,91	9,29
-Erro puro	0,0181	2	0,01		
<b>Total</b>	6,8351	10		<b>R<sup>2</sup> = 0,78</b>	
<b>Modelo</b>	<b>D<sub>4,3</sub> = 7,23 + 0,48 × T<sub>ent</sub> + 0,55 × m<sub>alim</sub> - 0,41 × m<sub>alim</sub><sup>2</sup></b>				
<b>Densidade volumétrica</b>					
<b>Fonte de variação</b>	<b><i>SQ</i></b>	<b><i>GL</i></b>	<b><i>MQ</i></b>	<b><i>F</i><sub>calculado</sub></b>	<b><i>F</i><sub>tabelado</sub></b>
<b>Regressão</b>	4725,8360	1	4725,84	266,23	4,06
<b>Resíduo:</b>	88,7564	5	17,75		
-Falta de ajuste	6,9865	3	2,33	0,06	9,16
-Erro puro	81,7699	2	40,88		
<b>Total</b>	4814,5924	6		<b>R<sup>2</sup> = 0,982</b>	
<b>Modelo</b>	<b>ρ<sub>b</sub> = 264,32 - 34,37 × T<sub>ent</sub></b>				

*SQ*: Soma quadrática; *GL*: grau de liberdade; *MQ*: Média quadrática; *F<sub>c</sub>*: *F* calculado; *F<sub>t</sub>*: *F* tabelado.

## 11 APÊNDICE C

Artigos completos publicados ou aceitos para publicação em periódicos com os resultados obtidos neste projeto de pesquisa:

KUROZAWA, L.E.; PARK, K.J.; HUBINGER, M.D. Optimization of the enzymatic hydrolysis of chicken meat using response surface methodology. **Journal of Food Science**, v. 73, p. 405-412, 2008.

KUROZAWA, L.E.; PARK, K.J.; HUBINGER, M.D. Effect of maltodextrin and gum arabic on water sorption and glass transition temperature of spray dried chicken meat hydrolysate protein. **Journal of Food Engineering**, v. 91, p. 287-296, 2009.

KUROZAWA, L.E.; PARK, K.J.; HUBINGER, M.D. Effect of carrier agents on the physicochemical properties of a spray dried chicken meat protein hydrolysate. **Journal of Food Engineering**, v. 94, p. 326-333, 2009.

KUROZAWA, L.E.; PARK, K.J.; HUBINGER, M.D. Influência das condições de processo na cinética de hidrólise enzimática de carne de frango. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2009. Aceito.

KUROZAWA, L.E.; MORASSI, A.G.; VANZO, A.A.; PARK, K.J.; HUBINGER, M.D. Influence of spray drying conditions on physicochemical properties of chicken meat powder. **Drying Technology**, 2009. Aceito.