



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



**Extração e estudo do polissacarídeo solúvel de soja e sua
avaliação na estabilidade e reologia de suco de graviola
adicionado de isolado protéico de soja**

Luiz Henrique Fasolin

Engenheiro de Alimentos, 2006 (UEM)

Profa. Dra. Rosiane Lopes da Cunha

Orientadora

Dissertação apresentada à comissão de pós-graduação da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos

Campinas, Março de 2009

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

F263e Fasolin, Luiz Henrique
Extração e estudo do polissacarídeo solúvel de soja e sua avaliação na estabilidade e reologia de suco de graviola adicionado de isolado protéico de soja / Luiz Henrique Fasolin. -- Campinas, SP: [s.n.], 2009.

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

1. Polissacarídeo solúvel de soja. 2. Bebidas à base de soja. 3. Estabilidade. 4. Reologia. 5. Graviola. I. Cunha, Rosiane Lopes da. II. Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

(cars/fea)

Título em inglês: Extraction and study of soybean soluble polysaccharide and its evaluation on the stability and rheology of soursop juice containing soy protein isolate.

Palavras-chave em inglês (Keywords): Soybean soluble polysaccharides, Soy-beverages, Stability, Rheology, Soursop

Titulação: Mestre em Engenharia de Alimentos

Banca examinadora: Rosiane Lopes da Cunha
Florência Cecília Menegalli
Javier Telis Romero

Programa de Pós Graduação: Programa em Engenharia de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Rosiane Lopes da Cunha
Faculdade de Engenharia de Alimentos – Departamento de Engenharia de Alimentos – UNICAMP
Orientadora

Profa. Dra. Florência Cecília Menegalli
Faculdade de Engenharia de Alimentos – Departamento de Engenharia de Alimentos – UNICAMP
Membro

Prof. Dr. Javier Telis Romero
Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – Departamento de Engenharia e Tecnologia de
Alimentos – UNESP
Membro

Profa. Dra. Izabel Cristina Freitas Moraes
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – Departamento de Engenharia de Alimentos –
USP
Membro Suplente

Dr. Ângelo Luiz Fazani Cavallieri
Faculdade de Engenharia de Alimentos – Departamento de Engenharia de Alimentos – UNICAMP
Membro Suplente

Aos meus pais pelo apoio, amor e ensinamentos que me trouxeram até aqui.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP, seus professores e funcionários pela oportunidade de realização desse trabalho.

À CAPES pela bolsa de mestrado concedida e pelo auxílio financeiro.

À Profa. Dra. Rosiane Lopes da Cunha. Obrigado pela orientação, apoio, amizade e principalmente pelas discussões que me ajudaram a crescer e levaram à realização deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora pelas correções que contribuíram para a melhoria deste trabalho.

Ao Camilo da Faculdade de Engenharia Química e ao Prof. Dr. Flávio Luís Schimdt do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UNICAMP, pelo empréstimo dos liofilizadores.

Ao Prof. Dr. Paulo José do Amaral Sobral, à Profa. Dra. Izabel Cristina Freitas Moraes e à Ana Mônica Quinta Barbosa Bittante da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da USP por concederem o uso do laboratório e me auxiliarem nas análises reológicas e de FTIR.

Ao Prof. Dr. Edvaldo Sabadini e ao Dr. Marcelo Alves da Silva do Instituto de Química pela possibilidade de utilizar e pelo acompanhamento no uso do reômetro quando já não havia mais tempo.

À DeMarchi – Indústria e Comercio de Frutas Ltda, pela doação da polpa de graviola utilizada nas análises.

À minha família, em especial meus pais Luiz e Telma e meu irmão João Guilherme por estarem sempre ao meu lado incondicionalmente.

À Kátia, pela convivência diária no laboratório. Obrigado por toda ajuda e principalmente por ter me agüentado pegando no seu pé.

Aos meus parentes de Campinas, principalmente à Tia Dina que me acolheu e ajudou logo que eu mudei pra essa cidade.

À turma da noite, Thiago, Irede, e Ricardo. Muito obrigado pelas inúmeras noites de trabalho na Unicamp e principalmente por esperarem devido àquele pequeno fator de correção: o fator Luiz. Sem a companhia de vocês eu não teria conseguido fazer muita coisa.

À Irede e Priscilla. A companhia e amizade de vocês é uma das melhores coisas que aconteceu durante esses dois anos. Estão para sempre na minha vida.

À minha outra família de Campinas: Grazi, Andrea, e nos últimos tempos César. Obrigado pelo convívio diário e por cuidarem de mim.

A todo o pessoal do grupo de pesquisa: Rejane, Ângelo e principalmente Aninha, Carol e Fabi, que sempre tiveram paciência para tirar minhas dúvidas, ensinar o que sabiam, e discutir meus resultados.

À república das cocotas, pela amizade e inúmeras festas que fizeram meus dias mais alegres. Mas um obrigado especial à Bebel pelas inúmeras conversas, confidências e compreensão.

Aos novos amigos que fiz em Campinas. É impossível citar nomes sem esquecer alguém, mas a presença de todos, as festas, conversas, almoços, viagens fez com que eu gostasse cada vez mais dessa cidade.

Aos antigos amigos de Maringá e Campo Mourão (agora espalhados por todos os cantos) que mesmo distante se fazem sempre presentes de alguma forma.

À Joice e á D. Ana pelas ajudas no laboratório.

A todos que de alguma forma contribuíram direta ou indiretamente para a elaboração deste trabalho.

Muito obrigado a todos

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE TABELAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xiv
RESUMO GERAL	xvii
ABSTRACT	xix
1. Introdução e Objetivos.....	1
1.1. Introdução	1
1.2. Objetivos	3
1.2.1. Objetivos Específicos	3
2. Revisão Bibliográfica	5
2.1. Graviola	5
2.2. Bebidas à Base de Soja	7
2.3. Soja	8
2.3.1. Proteínas de Soja	10
2.3.1.1. Propriedades Funcionais das Proteínas de Soja.....	12
2.3.2. Polissacarídeos Solúveis de Soja.....	16
2.3.2.1. Propriedades Funcionais dos Polissacarídeos Solúveis de Soja.....	18
2.4. Interações Proteínas-Polissacarídeos	20
2.5. Reologia	25
2.6. Reologia de Suspensões	29
2.7. Estabilidade de Suspensões	32
3. Material e Métodos	34
3.1. Material	34
3.2. Metodologia	34
3.2.1. Extração do Isolado Protéico de Soja (IPS)	36
3.2.2. Extração dos Polissacarídeos Solúveis de Soja (SSPS)	38
3.2.3. Preparo das Soluções de SSPS	38
3.2.4. Preparo das Bebidas	39

3.3.5. Análises	41
3.3.5.1. Caracterização Físico-Química da Polpa.....	41
3.3.5.2. Análise de Íons	41
3.3.5.3. Viscosidade Intrínseca.....	42
3.3.5.4. Medida do Potencial Zeta.....	43
3.3.5.5. Espectroscopia de Infravermelho (FTIR).....	43
3.3.5.6. Microscopia	44
3.3.5.7. Análises Reológicas.....	44
3.3.5.8. Sedimentação em Proveta.....	45
3.2.3.9. Análise Estatística.....	45
4. Extração e Estudo dos Polissacarídeos Solúveis de soja.....	46
4.1. Caracterização dos Polissacarídeos Solúveis de Soja.....	46
4.1.1. Composição Físico-Química.....	46
4.1.2. Microscopia.....	47
4.1.3. Espectroscopia de Infravermelho	48
4.1.4. Viscosidade Intrínseca.....	51
4.1.5. Ensaios Reológicos de Soluções Concentradas de SSPS.....	60
4.1.5.1. Influência do Tipo de Solvente.....	60
4.1.6. Potencial Zeta.....	67
4.2. Estudo do Comportamento dos SSPS	68
4.2.1. Planejamento Experimental.....	68
5. Utilização do SSPS em Suco de Graviola Adicionado de IPS – Avaliação da Reologia e Estabilidade dos Sistemas.....	83
5.1. Caracterização da Polpa de Graviola	83
5.2. Suspensões de Proteína em Suco de Graviola	84
5.3. Adição de SSPS-B em Suspensões Formadas de Suco de Graviola e IPS	87
5.3.1. Planejamento Experimental.....	87
5.3.2. Análises Reológicas	89
5.3.2. Avaliação da Estabilidade	95
6. Conclusões Gerais	105
7. Referências Bibliográficas.....	108

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 2.1. Composição da graviola em 100g de fruta	6
Tabela 3.1. Condições de extração de SSPS	38
Tabela 3.2. Planejamento experimental 2^2 completo com três pontos centrais para avaliação do efeito de pH e concentração do polissacarídeo na reologia de soluções de SSPS.....	39
Tabela 3.3. Planejamento experimental 2^3 completo com três pontos centrais.....	40
Tabela 4.1. Composição centesimal dos polissacarídeos solúveis de soja em base seca.....	46
Tabela 4.2. Valores de viscosidade intrínseca obtidos através da equação de Huggins para todos os SSPS.	57
Tabela 4.3. Valores de viscosidade intrínseca obtidos através da equação de Fuoss para todos os SSPS.	57
Tabela 4.4. Estimativa do peso molecular hidrodinâmico em kDa através de valores de viscosidade intrínseca obtidos pelas equações de Huggins e Fuoss para os SSPS estudados.	59
Tabela 4.5. Parâmetros reológicos obtidos pela equação da lei da potência para os polissacarídeos de soja.....	64
Tabela 4.6. Valores de viscosidade aparente (cP) em taxa de deformação de $50s^{-1}$ (η_{50}) para todos os SSPS	66
Tabela 4.7. Respostas de índice de comportamento (n) e viscosidade aparente em taxa de deformação de $50s^{-1}$ (η_{50}) obtidas pelo planejamento experimental 2^2 completo	69
Tabela 4.8. Análise de variância (ANOVA) para índice de comportamento do SSPS-A....	73
Tabela 4.9. Análise de variância (ANOVA) para índice de comportamento do SSPS-B	73
Tabela 4.10. Análise de variância (ANOVA) para índice de comportamento do SSPS-C ..	73
Tabela 4.11. Valores preditos para índice de comportamento (n) dos SSPS e seus desvios em relação aos valores experimentais	75
Tabela 4.12. Análise de variância (ANOVA) para viscosidade aparente em taxa de deformação de $50s^{-1}$ (η_{50}) do SSPS-A	78

Tabela 4.13. Análise de variância (ANOVA) para viscosidade aparente em taxa de deformação de $50s^{-1}$ (η_{50}) do SSPS-B	79
Tabela 4.14. Análise de variância (ANOVA) para viscosidade aparente em taxa de deformação de $50s^{-1}$ (η_{50}) do SSPS-C	79
Tabela 4. 15. Valores preditos viscosidade aparente em taxa de deformação de $50s^{-1}$ (η_{50}) dos SSPS e seus desvios em relação aos valores experimentais	80
Tabela 5.1. Composição centesimal da polpa de graviola.....	83
Tabela 5.2. Parâmetros reológicos e índice de sedimentação após sete dias de observação obtidos para análise univariável de IPS em suco de graviola.....	85
Tabela 5.3. Respostas obtidas para os parâmetros reológicos da lei da potência, viscosidade em taxa de deformação de $50s^{-1}$ (η_{50}) e tendendo ao repouso (η_0) e índice de sedimentação após sete dias de observação para o planejamento experimental do suco de graviola.....	88
Tabela 5.4. Análise de variância (ANOVA) para o valor de viscosidade em taxa de deformação de repouso (η_0) para suco de graviola com adição de IPS, SSPS e $CaCl_2$	91
Tabela 5.5. Análise de variância (ANOVA) para o valor de viscosidade em taxa de deformação de consumo (η_{50}) para suco de graviola com adição de IPS, SSPS e $CaCl_2$	91
Tabela 5.6. Valores preditos para a viscosidade em taxa de deformação de consumo (η_{50}) e próxima ao repouso (η_0) e seus desvios em relação aos valores experimentais.....	92
Tabela 5.7. Análise de variância (ANOVA) para índice de sedimentação do suco de graviola com adição de IPS, SSPS e $CaCl_2$	97
Tabela 5.8. Valores preditos para o índice de sedimentação IS_7 (%) de suco de graviola com adição de IPS, SSPS e $CaCl_2$ e seus desvios em relação aos valores experimentais.....	98
Tabela A. Coeficientes de Regressão para índice de comportamento (n) do SSPS-A.....	121
Tabela B. Coeficientes de Regressão para índice de comportamento (n) do SSPS-B	121
Tabela C. Coeficientes de Regressão para índice de comportamento (n) do SSPS-C	121
Tabela D. Coeficientes de Regressão para viscosidade em taxa de deformação de $50s^{-1}$ (η_{50}) do SSPS-A	122
Tabela E. Coeficientes de Regressão para viscosidade em taxa de deformação de $50s^{-1}$ (η_{50}) do SSPS-B	122
Tabela F. Coeficientes de Regressão para viscosidade em taxa de deformação de $50s^{-1}$ (η_{50}) do SSPS-C	123

Tabela G. Coeficientes de Regressão para índice de sedimentação após sete dias de observação $IS_7(\%)$	123
Tabela H. Coeficientes de Regressão para taxa de deformação de $50s^{-1}$ (η_{50}) do suco de graviola.....	124
Tabela I. Coeficientes de Regressão para taxa de deformação tendendo ao repouso (η_0) do suco de graviola.....	124

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1. Foto da graviola.....	5
Figura 2.2. Modelo estrutural do SSPS. GN: Galacturonana e RG ramnogalacturonana. (NAKAMURA et al., 2003).	17
Figura 2.3. Mecanismo de estabilização de partículas de proteína pelo SSPS (NAKAMURA et al., 2003).	20
Figura 2.4. Principais conseqüências das interações entre proteínas e polissacarídeos misturados em solução (YE, 2008).	22
Figura 2.5. Classificação do comportamento reológico dos fluidos.....	26
Figura 2.6. Curvas de escoamento típicas de fluidos independentes do tempo	27
Figura 2.7. Estrutura das partículas em suspensão: a) diluídas sem interação entre as partículas; b) estabilizadas estericamente; c) floculadas; d) parcialmente estáveis e com alguma estrutura formada; e) sedimentada.	29
Figura 2.8. Efeito da presença de uma partícula esférica sobre as linhas de fluxo submetido ao cisalhamento: (a) fluido isento de partícula e (b) fluido contendo partícula (PANDOFELLI, 2000).	30
Figura 3.1. Fluxograma das análises realizadas nas três partes do trabalho.....	35
Figura 3.2. Fluxograma da extração do isolado protéico e do polissacarídeo solúvel de soja	37
Figura 3.3. Forma de preparo das bebidas.....	40
Figura 4.1. Microscopia óptica das partículas de SSPS em diferentes extrações. a) SSPS-A; b) SSPS-B; c) SSPS-C.....	48
Figura 4.2. Análise de FTIR para polissacarídeo solúvel de soja. (- - -) SSPS-A; (- • -) SSPS-B; (—) SSPS-C.....	50
Figura 4.3. Gráfico de Huggins das diferentes soluções contendo SSPS. a) Água deionizada pH 3,0; b) Água deionizada pH 7,0; c) Solução 12°Brix pH 3,0; d) Solução 12°Brix pH 7,0. (♦) SSPS-A; (□) SSPS-B; (▲) SSPS-C.....	53

Figura 4.4. Gráfico de Huggins para os SSPS nas soluções estudadas. a) SSPS-A; b) SSPS-B; c) SSPS-C. (◆) Água deionizada pH 7,0; (□) Água deionizada pH 3,0; (▲) Solução 12°Brix pH 7,0; (*) Solução 12°Brix pH 3,0..... 54

Figura 4.5. Curvas reológicas para solução 5% (p/v) de SSPS-A e B em diferentes solventes. A) SSPS-A e B) SSPS-B. (■) Água deionizada, pH 3,0, 0mM; (×) Água deionizada, pH 3,0, 100mM; (▲) Água deionizada, pH 3,0, 200mM; (—) Água deionizada, pH 7,0, 0mM; (◇) Água deionizada, pH 7,0, 100mM; (●) Água deionizada, pH 7,0, 200mM (□) Solução de sacarose 12°Brix, pH 3,0, 0mM; (+) Solução de sacarose 12°Brix, pH 3,0, 100mM; (*) Solução de sacarose 12°Brix, pH 3,0, 200mM; (◆) Solução de sacarose 12°Brix, pH 7,0, 0mM; (△) Solução de sacarose 12°Brix, pH 7,0, 100mM; (○) Solução de sacarose 12°Brix, pH 7,0, 200mM. 61

Figura 4.6. Curvas reológicas para solução 5% (p/v) de SSPS-C em diferentes solventes. (■) Água deionizada, pH 3,0, 0mM; (×) Água deionizada, pH 3,0, 100mM; (▲) Água deionizada, pH 3,0, 200mM; (—) Água deionizada, pH 7,0, 0mM; (◇) Água deionizada, pH 7,0, 100mM; (●) Água deionizada, pH 7,0, 200mM (□) Solução de sacarose 12°Brix, pH 3,0, 0mM; (+) Solução de sacarose 12°Brix, pH 3,0, 100mM; (*) Solução de sacarose 12°Brix, pH 3,0, 200mM; (◆) Solução de sacarose 12°Brix, pH 7,0, 0mM; (△) Solução de sacarose 12°Brix, pH 7,0, 100mM; (○) Solução de sacarose 12°Brix, pH 7,0, 200mM..... 62

Figura 4.7. Análise de potencial zeta para os polissacarídeos solúveis de soja. A) SSPS-A, B) SSPS-B, C) SSPS-C. 67

Figura 4.8. Curvas reológicas do planejamento experimental. a) SSPS-A, b) SSPS-B, c) SSPS-C. (◆) Ensaio 1; (■)Ensaio 2; (▲) Ensaio 3; (◇)Ensaio 4; (*)Ensaio 5; (●)Ensaio 6; (+) Ensaio 7; (○) Ensaio 8; (—) Ensaio 9 71

Figura 4.9. Valores preditos versus valores experimentais obtidos no planejamento experimental para o índice de comportamento (n). a) SSPS-A; b) SSPS-B; c) SSPS-C. ... 74

Figura 4.10. Superfícies de resposta para os polissacarídeos solúveis de soja para o índice de comportamento (n). a) SSPS-A; b) SSPS-B; c) SSPS-C..... 77

Figura 4.11. Valores preditos versus valores experimentais obtidos no planejamento experimental para viscosidade em taxa de deformação igual a 50s⁻¹ a) SSPS-A; b) SSPS-B; c) SSPS-C. 81

Figura 4.12. Superfícies de resposta para os polissacarídeos solúveis de soja para taxa de deformação de $50s^{-1}$. a) SSPS-A; b) SSPS-B; c) SSPS-C.....	82
Figura 5.1. Curvas reológicas para suco de graviola puro e adicionado de isolado protéico de soja. (\diamond) Suco de graviola puro; (\blacktriangle) 1,5 % de IPS; (\times) 2% de IPS; (\square) 3% de IPS; (\triangle) 4% de IPS; (\bullet) 5% de IPS.....	84
Figura 5.2. Curvas de estabilidade para suco de graviola puro e com adição de proteína. (\times) Suco de graviola puro; (\square) 1,5% de IPS; (\blacktriangle) 2% de IPS; (\diamond) 3% de IPS; ($*$) 4% de IPS; (\bullet) 5% de IPS.....	86
Figura 5.3. Curvas reológicas do planejamento experimental realizado para o suco de graviola com adição de IPS, SSPS e $CaCl_2$	90
Figura 5.4. Valores preditos versus valores experimentais para a viscosidade aparente em a) próxima ao repouso (η_0) e b) taxa de deformação de consumo (η_{50})	93
Figura 5.5. Superfícies de resposta obtidas no planejamento experimental para valores de viscosidade aparente do suco de graviola adicionado de SSP, IPS e $CaCl_2$ a) (η_{50}), b) (η_0)	94
Figura 5.6. Curvas de estabilidade obtidas para os ensaios do planejamento experimental realizado para o suco de graviola com adição de IPS, SSPS e $CaCl_2$	96
Figura 5.7. Valores preditos em função dos valores experimentais para índice de sedimentação IS_7 (%) de suco de graviola com adição de IPS, SSPS e $CaCl_2$	99
Figura 5.8. Ensaio de estabilidade após duas horas de observação para suco de graviola com adição de IPS, SSPS e $CaCl_2$ a) polpa de graviola pura; b) ensaio 9; c) ensaio 10....	101
Figura 5.9. Comportamento dos ensaios 9 e 11 do planejamento experimental para suco de graviola com adição de IPS, SSPS e $CaCl_2$. a) Ensaio 9 e b) Ensaio 11	103
Figura 5.10. Índice de sedimentação após sete dias de observação IS_7 (%) para suco de graviola com adição de IPS, SSPS e $CaCl_2$ em função da razão SSPS/IPS	103

Dissertação de Mestrado

AUTOR: Luiz Henrique Fasolin

TÍTULO: Extração e estudo do polissacarídeo solúvel de soja e sua avaliação na estabilidade e reologia de suco de graviola adicionado de isolado protéico de soja

ORIENTADORA: Profa. Dra. Rosiane Lopes da Cunha

Depto. Engenharia de Alimentos – FEA – UNICAMP

RESUMO GERAL

As bebidas à base de soja são bastante susceptíveis à sedimentação devido à presença de proteína e baixo pH, sendo necessária a adição de gomas para sua estabilização. As propriedades funcionais dos polissacarídeos solúveis de soja (SSPS) podem variar dependendo da temperatura de extração e forma de secagem (liofilização ou atomização) desta macromolécula. Além disso, a sua utilização como estabilizante de proteínas em suspensões ainda é pouco explorada e não é de completo entendimento. Tendo isso em vista, este trabalho teve como primeiro objetivo caracterizar o SSPS obtido em três condições de extração e avaliar as suas propriedades reológicas em diferentes soluções. A caracterização físico-química mostrou que os polissacarídeos apresentaram valores distintos apenas para a umidade, devido ao método de secagem a que foram submetidos. No entanto, os valores de viscosidade intrínseca mostraram influência do pH no comportamento hidrodinâmico das moléculas, atuando de forma diferente para cada SSPS. Por outro lado, as medidas reológicas mostraram que o SSPS seco em condições mais brandas (liofilizado) apresentou os maiores valores de pseudoplasticidade e viscosidade em altas taxas de deformação quando comparado aos demais. Embora a caracterização dos polissacarídeos

não tenha indicado diferença entre os mesmos, esses resultados poderiam ser relacionados a uma diferença estrutural quanto ao grau de esterificação das moléculas de cada SSPS e/ou diferença na massa molecular, explicando a diferença de comportamento observado. Apesar do SSPS liofilizado ter mostrado maior viscosidade, o polissacarídeo extraído a menor temperatura e seco por atomização foi escolhido para a realização da segunda parte deste trabalho em função de sua maior viabilidade de obtenção. Esta etapa teve como objetivo avaliar a influência do SSPS na estabilização de proteínas de soja em suco de graviola, através de análises reológicas e de estabilidade à sedimentação. Através de um planejamento experimental foi avaliada a influência da concentração de SSPS, de cloreto de cálcio e de isolado protéico de soja (IPS) na estabilidade e reologia das bebidas. As bebidas mostraram comportamento pseudoplástico e não foi observada influência de nenhuma variável nos valores de índice de comportamento (n), que se mantiveram em torno de 0,77. No entanto, o SSPS mostrou importante aumento da viscosidade em taxa de deformação próxima a zero (η_0), o que levou ao aumento da estabilidade das soluções, diminuindo o índice de sedimentação. No entanto, ao elevar a taxa de deformação para valores próximos às condições de consumo (50s^{-1}) o IPS tornou-se a única variável significativa no aumento desses valores. Os resultados desse trabalho mostram que o SSPS é um polissacarídeo eficaz no que diz respeito à estabilização de proteínas em suspensões sem no entanto alterar as características reológicas do sistema em condições de consumo, tornando-o um interessante ingrediente para utilização em bebidas à base de soja.

Master Degree Thesis

AUTHOR: Luiz Henrique Fasolin

TITLE: Extraction and study of soybean soluble polysaccharide and its evaluation on the stability and rheology of soursop juice containing soy protein isolate.

SUPERVISOR: Profa. Dra. Rosiane Lopes da Cunha

Depto. Engenharia de Alimentos – FEA – UNICAMP

ABSTRACT

Soy based drinks are quite susceptible to sedimentation due the presence of proteins and low pH, requiring addition of food gums to stabilize them. The functional properties of soybean soluble polysaccharide can vary depending on the temperature of extraction and way of drying (freeze or spray dried) of this macromolecule. Moreover, its use as a protein stabilizer in suspensions is underexplored and is not complete understanding yet. With this in view, this work was characterize as a first objective, the SSPS extracted in three different conditions and evaluated their rheological properties in diverse solutions. Physical-chemical characterization showed different values for only the moisture, because the method of drying they have undergone. However, the intrinsic viscosity values showed influence of pH on the hydrodynamic behavior of molecules, acting differently for each SSPS. In addition, rheological measurements showed that the SSPS dried in soft conditions (freeze dried) showed highest values of shear thinning behavior and viscosity at high strain rates when compared to the others. Although the polysaccharides characterization has not indicated difference between them, these results could be related to a structural difference in the degree of esterification of each SSPS molecules and/or difference in the molecular weight, explaining the difference in behavior observed. Despite the SSPS freeze fried had

higher viscosity, the polysaccharide extracted at lowest temperature and spray dried was chosen to carry out the second part of this work due to its higher viability of obtaining. This step was to evaluate the influence of SSPS in the stabilization of soy proteins in soursop juice, through rheological and stability to sedimentation analysis. Through an experimental design was evaluated the influence of SSPS, calcium chloride and soy protein isolate (IPS) concentration in the stability and rheology of drinks. Beverages showed shear thinning behavior and no apparent influence of any variables in the index of behavior (n) values, which remained around 0.77. However, SSPS showed significant increase in the viscosity at rest (η_0), which led to increased of the solutions stability, reducing the sedimentation rate. Besides, at strain rate close to the conditions of consumption (50s^{-1}) IPS become the only significant variable in the increase of these values. The results of this study show that SSPS is a polysaccharide effective at stabilizations of proteins in suspensions, but without altering rheological characteristics of the system in terms of consumption, making it an interesting ingredient for use in soy beverages.

1. Introdução e Objetivos

1.1. Introdução

O Brasil é um país conhecido mundialmente por sua grande biodiversidade, destacando-se também como produtor de inúmeras variedades de frutas. O agronegócio frutícola no Brasil ocupa uma área de dois milhões de hectares comerciais e gera um PIB de US\$ 11,2 bilhões, colocando-o na posição de terceiro produtor mundial de frutas e ofertando aproximadamente cinco milhões de empregos diretos (TODA FRUTA, 2008). A graviola (*Annona muricata L.*) é uma fruta apreciada pela sua polpa suculenta, de agradável aroma e distinto sabor levemente ácido. Apresenta um alto valor nutritivo, elevada quantidade de fibras e vitaminas (GRATÃO et al., 2007; AQUARONE et al., 1996).

A incorporação de frutas tropicais em bebidas à base de soja é um modo de explorar seus sabores exóticos e ampliar sua forma de consumo. O aumento pela procura de produtos à base de frutas e soja deve-se principalmente ao crescimento do setor de alimentos tidos como saudáveis que além de benefícios nutricionais também ajudam a prevenir determinadas doenças. O FDA (Food and Drug Administration), órgão que regulamenta a produção de alimentos e medicamentos nos Estados Unidos, recomenda a ingestão diária de 25 gramas de proteína de soja para controle dos níveis de colesterol e triglicérides (EMBRAPA SOJA, 2008). Esse tipo de bebida se enquadra na categoria de bebidas “pronta para beber” (“Ready-to-Drink”) que também têm ganhado espaço no mercado devido a sua praticidade.

O suco de graviola forma uma suspensão instável, o que pode acarretar problemas de comercialização e processamento do produto, pois a sedimentação desta dispersão pode

levar inclusive ao entupimento de tubulações. A adição de proteínas de soja em sucos pode aumentar esse problema, tendo em vista que em condições ácidas pode também haver precipitação deste biopolímero. Visando o retardamento da sedimentação das partículas em suspensão em bebidas à base de soja, a adição de hidrocolóides ao meio contínuo tem sido uma alternativa. Os hidrocolóides, como os polissacarídeos, são usados amplamente na indústria de alimentos, como agentes espessantes, estabilizantes ou gelificantes, retardando a sedimentação pela modificação das propriedades reológicas, além de poderem proporcionar características desejáveis na formulação de alimentos (Da SILVA & RAO, 1992).

Nesse contexto, os polissacarídeos solúveis de soja (SSPS) surgem como uma alternativa na estabilização de suspensões. A partir do resíduo proveniente da extração do óleo e do isolado protéico de soja (IPS), pode-se obter o SSPS, o que seria economicamente interessante para o Brasil devido a sua grande produção de soja. O SSPS apresenta uma estrutura semelhante a da pectina, e quando comparado com a goma arábica e a própria pectina apresenta um melhor comportamento estabilizante, à mesma concentração (LIU et al., 2006; NAKAMURA et al., 2001, 2006). Contudo as condições de extração podem alterar as características do polissacarídeo obtido, principalmente em relação ao peso molecular. Essa alteração leva a polissacarídeos com propriedades funcionais diferentes, variando quanto à fluidez, gelificação e composição (FURUTA et al., 1998). No entanto, ainda são poucos os estudos sobre este polissacarídeo e não há artigos na literatura sobre sua capacidade estabilizante em suspensões.

Desta forma, a avaliação do comportamento do SSPS em sucos de graviola formulados com IPS e seu efeito sobre a estabilidade destes sistemas são de grande

interesse industrial, econômico e para o consumidor, uma vez que pode se tornar uma alternativa para solucionar o problema de sedimentação das partículas em suspensão durante o processamento, além de melhorar a aparência do produto final.

1.2. Objetivos

O objetivo geral deste trabalho foi caracterizar o polissacarídeo solúvel de soja obtido sob diferentes temperaturas de extração e formas de secagem, bem como avaliar o efeito da sua adição na estabilidade e reologia de bebida, formulada com polpa de graviola e isolado protéico de soja.

1.2.1. Objetivos Específicos

O presente trabalho teve como objetivos específicos avaliar:

- O efeito das condições de extração e secagem nas propriedades físico-químicas e funcionais do SSPS;
- Caracterização dos SSPS extraídos em relação à composição físico-química e análises de viscosidade intrínseca;
- O comportamento dos polissacarídeos em diferentes solventes, avaliando a adição de sacarose e íons de cálcio em diferentes pHs;
- A influência da concentração de SSPS e do pH no comportamento reológico de soluções;
- O comportamento reológico estacionário e a estabilidade do suco de graviola com adição de:

- Diferentes concentrações de isolado protéico de soja;
- Diferentes concentrações de isolado protéico de soja e polissacarídeo solúvel de soja.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Graviola

A graviola (*Annona muricata L.*) (Figura 2.1) é fruto da gravioleira, uma planta dicotiledônea da Família *Anonaceae* originária de regiões tropicais da América do Sul e Central. Apenas quatro gêneros dessa família produzem frutos comestíveis: *Annona*, *Rollinia*, *Uvaria* e *Asimina* (GRATÃO, 2006).



Figura 2.1. Foto da graviola

O cultivo da gravioleira é comum em pomares domésticos de cidades e sítios das regiões Norte e Nordeste, onde predomina o tipo de graviola chamada de nordestina ou crioula, com frutos pesando entre 1,2 e 4,0 kg. A casca do fruto, mesmo maduro, apresenta cor verde e possui espículas que se assemelham a espinhos carnosos, moles e recurvados (SEAGRI, 2007). De forma geral a produtividade desta fruteira varia de 3 a 20 ton/ha de frutas frescas, em função da variedade e tratos culturais recebidos. Sua produtividade no Brasil varia de região para região em função da tecnologia adotada pelos produtores (SAO-JOSE et al., 2003).

A agroindústria é o principal comprador dessa fruta, visando à obtenção de diversos produtos. Uma importante quantidade da produção é comercializada como fruta fresca, especialmente nos mercados de São Paulo e Rio de Janeiro; e nos últimos anos, com a

evolução do mercado muitas áreas comerciais têm surgido em diversos Estados brasileiros, com destaque para Bahia, Ceará, Pernambuco, Alagoas e Minas Gerais (SAO-JOSE et al., 2003). A graviola é apreciada pela sua polpa suculenta, de agradável aroma e distinto sabor levemente ácido (ACQUARONE et al., 1996; GRATÃO et al., 2007; TELIS-ROMERO et al., 2007). Sua polpa é amplamente utilizada na produção de várias misturas de sucos, xaropes, néctares, geléias, conservas, sorvetes e também é matéria-prima para pós e barras de frutas (TELIS-ROMERO et al., 2007; GRATÃO et al., 2007). O pH da polpa da graviola é em torno de 3,7 e seu conteúdo de polpa de aproximadamente 70% (ACQUARONE et al., 1996). Sua composição encontra-se na Tabela 2.1.

Tabela 2.1. Composição da graviola em 100g de fruta

Nutriente	Quantidade
Água (g)	81,16
Proteínas (g)	1,00
Lipídios (g)	0,30
Carboidratos (g)	16,84
Cinzas (g)	0,70
Fibras (g)	3,30
Açúcares totais (g)	13,54
Cálcio (mg)	14,00
Ferro (mg)	0,60
Fósforo (mg)	27,00
Sódio (mg)	14,00
Vitamina C (mg)	20,60
Vitamina B6 (mg)	0,059
Vitamina A (IU)	2,00

Fonte: USDA, 2007

2.2. Bebidas à Base de Soja

O mercado de alimentos e os fabricantes de bebida acharam na soja uma fonte de proteína saudável, funcionalmente versátil e econômica. Os produtos podem ser de consumo geral (leite de soja ou sucos à base de soja) ou produtos de consumo restrito (fórmulas infantis ou suplementos médicos para doenças específicas) (PAULSEN et al., 2006). A bebida de soja pode ser uma excelente transportadora de ingredientes funcionais e nutritivos como minerais, vitaminas e ômega-3. Todavia, a adição de alguns ingredientes pode afetar a estabilidade da proteína e é necessário o desenvolvimento de técnicas apropriadas para sua incorporação (ACHOURI et al., 2007).

Os sucos de frutas acrescidos de proteínas de soja conciliam as características sensoriais e nutricionais desejáveis das frutas com as propriedades funcionais da soja, além de serem um meio conveniente de incluir a soja na dieta regular do consumidor (TORREZAN et al., 2004; POTTER et al., 2007; ROSTAGNO et al., 2007). Estes sucos têm adição de 1,5 a 3% de proteína de soja e são mais viscosos e opacos que o suco integral (PAULSEN et al., 2006).

O consumo de bebidas à base de soja cresceu fortemente nos últimos anos, indo de quase 51 milhões de litros em 2002 para 110,5 milhões de litros em 2005, o que equivale a um faturamento de quase 358 milhões de reais (SBCTA, 2007). Todavia, apesar do aumento no consumo dessas bebidas as indústrias ainda enfrentam desafios no desenvolvimento de um produto que agrade plenamente o consumidor (POTTER, et al., 2007), especialmente em relação à cor, sedimentação e formação de espuma (SKARRA, 2004).

Produtos como sucos a base de soja são processados termicamente a temperaturas amenas, para evitar desnaturação térmica das proteínas, e são acondicionados ainda quentes em seus recipientes (POTTER et al., 2007; EGBERT, 2004) . O uso de estabilizantes nessas bebidas é uma exigência, independente do tratamento utilizado, já que o isolado protéico de soja adicionado apresenta certo grau de instabilidade em condições ácidas. Gomas são utilizadas para melhorar a textura e também para ajudar a estabilizar as proteínas nesses sistemas líquidos. Pectina ou sua combinação com alginato ou xantana são bastante usadas como estabilizantes de proteínas em bebidas acidificadas (EGBERT, 2004).

2.3. Soja

A soja (*Glycine max*) pertence à família das leguminosas e possui características semelhantes às dos alimentos protéicos de alto valor nutritivo por conter em suas proteínas todos os aminoácidos essenciais (BATTISTI, 1992). É uma cultura nativa da Ásia oriental onde foi domesticada há mais de cinco mil anos e representa parte importante da dieta há séculos (MALHOTRA & COUPLAND, 2004). Esse grão é considerado um alimento funcional porque alguns de seus componentes produzem efeitos benéficos à saúde, reduzindo os riscos de algumas doenças crônicas e degenerativas, como enfarto, trombose, aterosclerose e acidentes vasculares cerebrais (AVC) (EMBRAPA SOJA, 2008).

O Brasil é o segundo maior produtor de soja no mundo, sendo que na safra 2006/07, a cultura ocupou uma área de 20.687 milhões de hectares totalizando uma produção de 58,4 milhões de toneladas (EMBRAPA SOJA, 2008). Nos grãos de soja encontram-se caroteno, vitaminas do complexo B (tiamina (B1), riboflavina (B2) e niacina (B3)), ácido nicotínico e ácido ascórbico. Em grãos de soja secos, são encontrados cinco tipos de minerais: sódio,

potássio, fósforo, ferro, magnésio e zinco. A farinha de soja contém duas vezes mais cálcio e cinco vezes mais fósforo que o leite de vaca (EMBRAPA SOJA, 2008).

Atualmente, o produto derivado de soja mais consumido e de maior valor comercial é o óleo de soja (MALHOTRA & COUPLAND, 2004). Depois dos amendoins, os grãos de soja são os que contêm um nível maior de lipídeos de boa qualidade (cerca de 20%). Entram na sua construção: ácidos graxos não saturados, ácido linoléico e arquidômico. A composição dos ácidos graxos da soja destaca-se pelas grandes quantidades de ômega-3 (LESCANO, 2004).

O componente presente em maior quantidade no grão da soja é a proteína. Ele é a maior fonte de origem vegetal e suas proteínas são consideradas de boa qualidade. As proteínas dos grãos correspondem em média a 40% do total de matéria seca, das quais 90% são globulares com altos níveis de lisina (LIU, 1997; MALHOTRA & COUPLAND, 2004). A proteína da soja, dentre as proteínas de origem vegetal, possui um dos melhores padrões de aminoácidos essenciais, com exceção dos aminoácidos sulfurados (metionina e cisteína), que são limitantes (LIU, 1997).

Grãos de soja contêm cerca de 23% de carboidratos e 5% de fibra (em matéria seca) (EMBRAPA SOJA, 2008). Do resíduo da extração do leite de soja (WANG & CAVINS, 1989) ou do óleo e proteínas de soja é formado um subproduto chamado “okara”, que é rico em fibras dietéticas, e especialmente em polissacarídeos pécticos que diferem da pectina cítrica, pois os polissacarídeos pécticos do “okara” contêm grande quantidade de açúcares neutros (YAMAGUSHI et al., 1996). Além disso, estas fibras alimentares também têm um significativo impacto funcional, pois desse total, 40 – 50% são fibras solúveis, que estão relacionadas ao efeito positivo de redução do nível de colesterol no sangue (PEDERSEN,

1995; TORREZAN & CRISTIANINI, 2005). Essas características fazem dos polissacarídeos encontrados no “okara” ingredientes em potencial para serem usados em alimentos (REDONDO-CUENCA et al., 2008).

2.3.1. Proteínas de Soja

A maior parte das proteínas da soja é classificada como globulinas. São insolúveis em água no seu ponto isoelétrico (pH 4,5), mas solúveis em água ou soluções salinas diluídas em valores de pH acima ou abaixo de seu pI (SGARBIERI, 1996; LIU, 1997). As globulinas da soja possuem estruturas quaternárias complexas que sofrem facilmente reações de associação-dissociação, dependendo das condições do meio (pH, força iônica e solvente) (RENKEMA et al., 2002). As massas moleculares dessas proteínas variam de 8 a 600 kDa, com maior concentração na faixa de 110 a 350 kDa (TORREZAN & CRISTIANINI, 2005).

A ultracentrifugação separa as proteínas da soja em quatro frações com velocidades de sedimentação equivalentes a 2, 7, 11 e 15S. A fração 2S corresponde a 22% das proteínas extraídas em água e a fração 7S a 37%. A globulina 11S representa cerca de 31% do total das proteínas da soja e fração 15S, 11%. (SGARBIERI, 1996; LIU, 1997). A β -conglícinina (globulina 7S) e a glicinina (globulina 11S) são consideradas as principais proteínas de reserva da soja (RENKEMA et al., 2002; MALHOTRA & COUPLAND, 2004; TORREZAN & CRISTIANINI, 2005).

A obtenção dessas proteínas se dá através de sua extração a partir da farinha desengordurada de soja, de onde os açúcares e outros materiais solúveis em água como as fibras do cotilédone são removidos (ENDRES, 2001). Elas são parcialmente purificadas e

concentradas na forma de farinhas protéicas de soja (40-54% de proteína), concentrados (\geq 70% de proteína), ou isolados (\geq 90% de proteína), que diferem no valor comercial e nas propriedades funcionais (MALHOTRA & COUPLAND, 2004; LIU, 1997). O isolado protéico de soja (IPS) é o produto mais refinado obtido das proteínas e é frequentemente utilizado em formulações e em aplicações nutricionais (LIU, 1997).

O IPS é tradicionalmente preparado a partir da farinha de soja desengordurada utilizando meio aquoso neutro ou alcalino (pH 7-10) para extração da proteína e carboidratos solúveis. Os resíduos insolúveis – na maioria carboidratos – são removidos por centrifugação que é seguida pela precipitação da proteína da soja no ponto isoelétrico (pH 4,5). A proteína precipitada é separada por decantação mecânica, lavada, e neutralizada a pH em torno de 6,8. Em seguida, realiza-se a secagem ou desidratação da proteína isolada. Este procedimento é utilizado na maioria dos processos usados comercialmente para obtenção do isolado. Entretanto, pesquisas com enfoque no IPS, sua purificação e avanços no processamento tecnológico têm levado ao desenvolvimento de diferentes métodos para a produção do mesmo (LIU, 1997).

As várias metodologias utilizadas no processo de isolamento das proteínas da soja provocam modificações físico-químicas na proteína. Tais mudanças afetam tanto a estrutura como a proporção das frações protéicas presentes no isolado (GARCIA et al., 1998). O IPS vendido comercialmente apresenta características diferentes das proteínas da soja nativas, o que é atribuído às condições de processamento. Podem ocorrer desnaturação e agregação da proteína, em diferentes graus, que irão afetar as propriedades funcionais das proteínas (GARCIA et al. 1998; BRITTEN & GIROUX, 2001).

2.3.1.1. Propriedades Funcionais das Proteínas de Soja

As proteínas de soja possuem muitas propriedades funcionais interessantes, como alta solubilidade, absorção de água e gordura, estabilizante de emulsões e agente gelificante (CHOVE et al., 2007). Estas propriedades estão relacionadas com as suas propriedades físicas, químicas e estruturais ou conformacionais. Isto inclui tamanho, forma, composição, sequência de aminoácidos – carga e sua distribuição – relação hidrofiliicidade/hidrofobicidade, conteúdo e distribuição da estrutura secundária (α -hélice, β -“sheet”, etc), organização da estrutura terciária e quaternária de segmentos polipeptídicos, ligações cruzadas entre cadeias polipeptídicas (ex. pontes dissulfeto), rigidez ou flexibilidade da proteína em resposta às mudanças externas, ponto isoelétrico, suas interações com outros compostos do alimento (água, íons, carboidratos, lipídeos, proteínas e “flavors”) e também as condições de pH, força iônica e temperatura (DAMODARAN, 1997; LAKEMONND et al., 2000).

Um dos fatores que influenciam muitas das propriedades funcionais das proteínas é o seu grau de hidratação. Praticamente todos os alimentos são sistemas hidratados, o que torna as interações proteína-água extremamente importantes (DAMODARAN, 1997). Estas interações estão relacionadas à composição da superfície da proteína e à termodinâmica das interações com o solvente.

A solubilidade de uma proteína é a manifestação termodinâmica do equilíbrio entre a interação proteína-proteína e proteína-solvente, que está relacionada ao balanço de hidrofiliicidade/hidrofobicidade de sua superfície (DAMODARAN, 1997; AÑÓN et al., 2001). No estado nativo, grande parte dos grupos apolares está localizada no interior da molécula de proteína e os grupos polares na superfície, expostos ao meio aquoso. As

interações hidrofóbicas são responsáveis, em grande parte, pela estabilização da estrutura nativa, pois sua contribuição à estabilidade da proteína é superior a das pontes de hidrogênio. Essas interações hidrofóbicas são dependentes da temperatura, fortalecendo-se em altas e desestabilizando-se em baixas temperaturas (CHEFTEL et al., 1993).

A hidratação das proteínas também é afetada por fatores extrínsecos. Os fatores extrínsecos são as condições do meio que envolvem a proteína e que podem ser controlados para conduzir ou melhorar a formação do gel, tais como concentração de proteína, pH, temperatura, força iônica, pressão e tipo de sal presente. A variação destes fatores além de afetar o processo de formação do gel, influencia também na sua estrutura, propriedades reológicas e capacidade de retenção de água (RENKEMA, 2002).

Mudanças no pH e força iônica levam à modificação das cargas da rede de moléculas de proteína e, com isso alteram as forças de atração e repulsão entre suas moléculas e também a sua capacidade de interação com o solvente. A carga líquida da proteína em seu ponto isoelétrico é zero, sendo que as forças de repulsão se tornam mínimas, o que favorece as interações hidrofóbicas e agregação das moléculas, minimizando a capacidade de hidratação desse polímero (AGUILERA & RADEMARCHER, 2004). Quando o pH se afasta do seu ponto isoelétrico a solubilidade da proteína tende a aumentar, já que as interações proteína-água são favorecidas.

O tipo e a concentração de íons presentes exercem uma considerável influência na absorção de água (EGBERT, 2004). Baixa concentração de sal (< 0,2 M) aumenta a capacidade de hidratação das proteínas, enquanto que alta concentração de sal promoverá a interação água-sal ocasionando a desidratação deste biopolímero (CHEFTEL et al., 1993). A temperatura pode apresentar efeitos diversos sobre a conformação da proteína: a

quantidade de água retida pode diminuir ou aumentar. Se o tratamento térmico acarretar na desnaturação protéica seguida de agregação, a capacidade de interagir com a água diminuirá. Porém, se o aquecimento conduzir à dissociação de uma macromolécula complexa e à desnaturação parcial, a quantidade de água absorvida pode aumentar (CHEFTEL et al., 1993).

A capacidade de formação de géis – matriz que retém água ou outros ingredientes como açúcares, gordura e aromas – das proteínas globulares, é de grande importância prática e uma das propriedades mais exploradas pela indústria de alimentos nas últimas décadas (ALTING et al., 2002). A habilidade das proteínas de soja de formar gel pode ser usada para melhorar a textura dos produtos alimentícios, contudo não é possível utilizar esse recurso em todos os produtos devido às dificuldades de prever as propriedades do gel em diferentes condições combinadas (pH, força iônica, e temperatura) durante a manufatura de produtos alimentícios (RENKEMA et al., 2002).

Em relação à microestrutura da matriz do gel, a força iônica também tem um efeito significativo. Em baixa força iônica ($< 0,1$ M), a matriz de gel formada é de estrutura ordenada, enquanto sob a ação de forças iônicas maiores ($> 0,1$ M) a matriz torna-se mista, com os dois tipos de estrutura, ordenada e particulada (RENKEMA, 2002). Os sais alteram as interações entre os filamentos de proteína de diferentes maneiras. Sais mono e divalentes agem reduzindo a repulsão eletrostática entre os filamentos de proteínas carregados eletricamente, conduzindo à agregação das moléculas (ALTING et al., 2002).

A gelificação induzida por calor é, provavelmente, o método mais importante de obtenção de géis visto que o processamento de muitos alimentos inclui uma etapa de tratamento térmico ou aquecimento durante o preparo. A gelificação ocorre se a

concentração de proteína é superior a um valor crítico (AGUILERA & RADEMARCHER, 2004), que no caso do isolado protéico de soja (IPS) é 8% (EGBERT, 2004) e se a temperatura for superior à de desnaturação que para pH 3,0 é de aproximadamente 60°C (BRAGA, 2006).

As frações 11S e 7S também contribuem de forma diferente para a desnaturação, pois a desnaturação a temperaturas menores é atribuída à fração 7S e maiores temperaturas à 11S (HERMANSSON, 1986). Outra característica é que, em geral, a fração 11S da soja tem melhor capacidade de formação de gel que a globulina 7S, enquanto a 7S apresenta melhor capacidade emulsificante que a globulina 11S (LIU, 1997).

Sucos de frutas, incluindo os que são à base de soja, apresentam pH geralmente entre 3,6 e 4,2, podendo gerar precipitação protéica. Nesses sistemas a agregação das partículas tem de ser inibida, de forma que estas fiquem suspensas, o que se dá com o uso de estabilizantes. Estes ingredientes evitam a sedimentação das partículas através de forças eletrostáticas, hidrofóbicas e hidrofílicas, pois se ligam às proteínas, impedindo sua agregação ao mesmo tempo em que fazem uma ponte de ligação com a água (PAULSEN et al., 2006), o que pode levar ao aumento da viscosidade.

No entanto, bebidas à base de sucos e IPS devem apresentar de baixa a muito baixa viscosidade (semelhante ao suco de origem), ou seja, a proteína deve ser estabilizada no ambiente ácido sem produção de características viscosas indesejáveis (EGBERT, 2004). Nesse contexto, os polissacarídeos obtidos a partir da soja podem ser um interessante estabilizante alternativo para dar as características desejadas aos sucos de frutas.

2.3.2. Polissacarídeos Solúveis de Soja

Os polissacarídeos solúveis de soja (SSPS) são obtidos a partir do resíduo da extração do óleo e das proteínas do cotilédone da soja e são ricos em fibra. As principais fibras deste resíduo são solúveis e consistem em polissacarídeos ácido aniônicos, que têm sido utilizados na indústria de alimentos como estabilizantes e fonte de fibras dietéticas em alimentos fortificados (NAKAMURA et al., 2001, 2004a, 2006).

Os SSPS são compostos de uma estrutura principal de homogalacturonana e ramnogalacturonana ramificada por cadeias de β -1,4-galactana e α -1,3- ou α -1,5-arabinana (Figura 2.2) (LIU et al., 2008; NAKAMURA et al., 2001, 2004a, 2004b). Além disso, eles contêm uma grande quantidade de ácido galacturônico e também possuem uma parte protéica da mesma maneira que a goma arábica (*Accacia senegal*). Isso sugere que o SSPS pode apresentar propriedade emulsificante similar a esta goma (NAKAMURA et al., 2004a, 2004c), que é considerada um polissacarídeo único neste sentido. Além disso, a goma arábica também é a mais usada em bebidas por causa de sua alta solubilidade em água e baixa viscosidade (NAKAMURA et al., 2006).

Alguns artigos tratam da extração dos polissacarídeos de soja em diferentes condições. Morita et al. (1965) mostraram que cerca de 38% de SSPS foi extraído com água em ebulição de grãos de soja. Kawamura et al. (1961) mostraram que 32% de SSPS foi extraído com água a 90 °C, com adição de oxalato de amônio e 0,5% de NaOH. Furuta et al. (1998) por sua vez, estudaram várias condições de extração em meios ácidos, com resultados diferentes para cada uma delas. Eles obtiveram valores muito baixos de rendimento para as extrações em pH 4,0 e em temperaturas na faixa de 80°C a 120°C. Em

pH 2,0, todavia, os valores foram altos para todas as temperaturas estudadas, independente do tempo de extração.

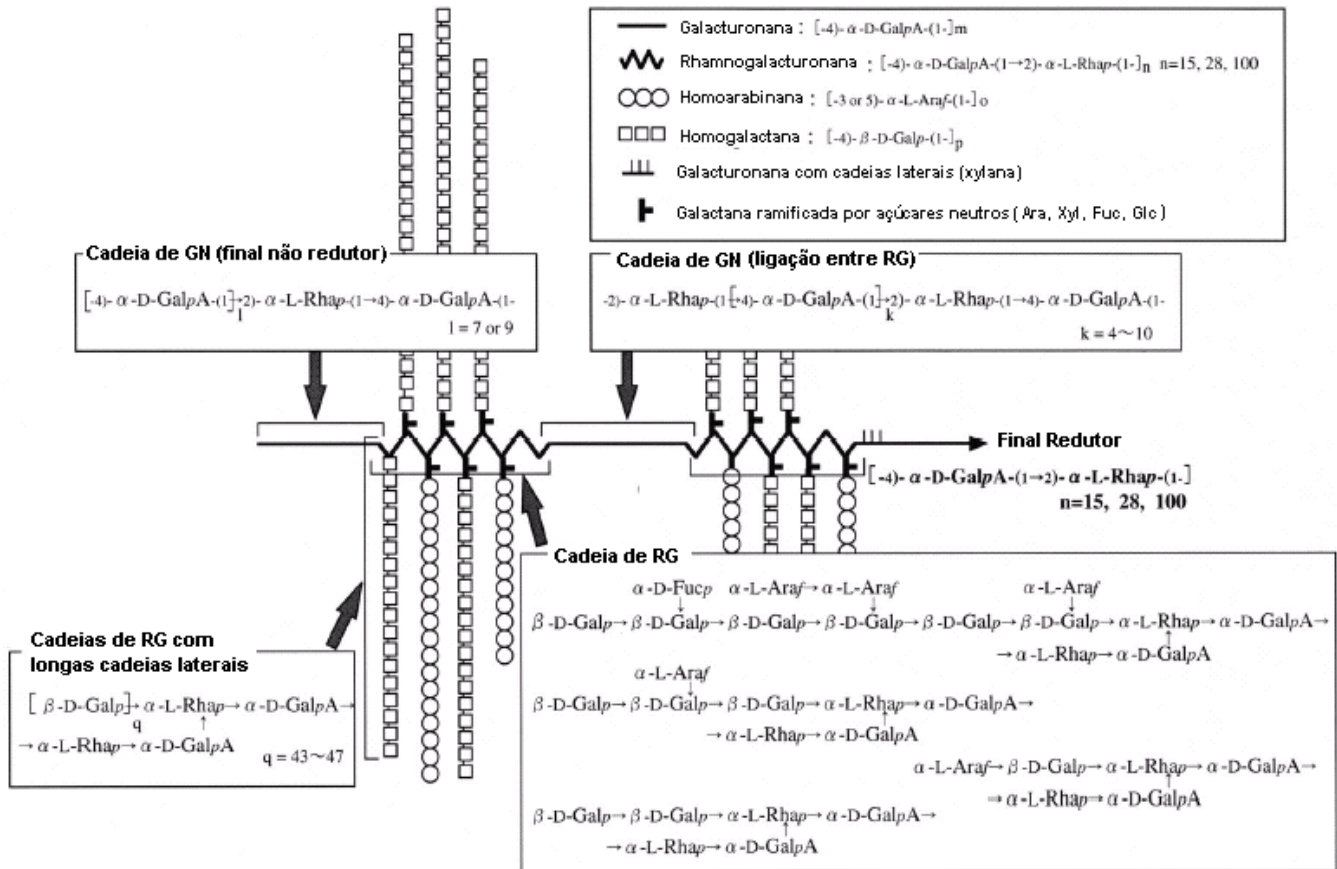


Figura 2.2. Modelo estrutural do SSPS. GN: Galacturonana e RG rhamnogalacturonana. (NAKAMURA et al., 2003).

Dependendo do modo de extração existem diferentes frações predominantes, com variada massa molecular. O SSPS consistiu principalmente de quatro frações na maioria das condições de extração estudadas, sendo a de maior massa molar com 542 kDa e a de menor com massa inferior a 5 kDa (FURUTA et al., 1998). Em altas temperaturas (100-120 °C) e baixo pH (2-3), a extração resultou na predominância de frações de SSPS de baixo peso molecular. Com o aumento do pH, frações de SSPS de alta massa molecular também

foram extraídas. A fração de maior massa molecular chegou a predominar em condições de extração com pH 5,0 e 6,0 e temperatura entre 100-120 °C (FURUTA et al., 1998). Dependendo das condições de extração ou da massa molecular predominante, o SSPS pode apresentar diferentes propriedades funcionais.

2.3.2.1. Propriedades Funcionais dos Polissacarídeos Solúveis de Soja

Os polissacarídeos apresentam diversas aplicações na indústria alimentícia devido às diversas propriedades funcionais que podem apresentar. Dentre essas propriedades destacam-se a capacidade de retenção de água, capacidade de formação de gel, ação estabilizante e espessante em emulsões e suspensões. Estas características podem ou não ser encontradas no polissacarídeo solúvel de soja, dependendo principalmente do modo de obtenção desse polissacarídeo.

O SSPS gelificante é obtido com material extraído em pH abaixo de 3,0 e temperatura menor que 100°C. Em particular, o SSPS extraído em pH 2,0 e 80°C ou 100°C mostrou gelificação reversível com aquecimento. Por outro lado em temperaturas muito baixas de extração (40°C) o SSPS mostrou gelificação irreversível. Contudo não houve formação de gel auto-sustentável abaixo de 1% de concentração em nenhum dos casos (FURUTA et al., 1999).

Os resultados do estudo realizado por Furuta et al. (1999) sugerem que o ponto de gelificação do SSPS ocorre a 51°C e o de fusão a 46°C, aproximadamente; sendo que os valores do módulo elástico (G') e do módulo viscoso (G'') aumentaram com o aumento da concentração. Em relação ao pH, os valores de G' e G'' se mostraram maiores em pH 7 e menores sob condições alcalinas ou ácidas (FURUTA et al., 1999).

Soluções aquosas com 10% de SSPS extraído a altas temperaturas (120 °C) e em pH pouco ácido (5,0) mostraram alto grau de fluidez e tais soluções nunca formaram gel, mesmo quando encontrados em sistemas com alto teor de açúcar, baixos valores de pH, ou na presença de cátions polivalentes. (FURUTA et al., 1999; FURUTA & MAEDA, 1999).

Com relação à mudança da força iônica do meio, o valor de G' para uma solução aquosa de SSPS aumentou com o incremento da concentração de CaCl_2 , mas quando NaCl foi adicionado o valor de G' decresceu gradualmente com o aumento da concentração desse sal. Estes resultados sugerem que a valência do sal adicionado interfere fortemente na capacidade de formação dos géis.

Nakamura et al. (2003) estudaram a capacidade do SSPS de atuar como estabilizante de emulsões e mostraram que o tamanho das partículas em bebidas acidificadas contendo proteínas do leite manteve-se constante em torno de $0,6\mu\text{m}$ e a sua viscosidade mudou pouco para valores de pH na faixa de 3,4 - 4,4. Este resultado indica que o SSPS se adsorve na superfície das partículas de proteína impedindo que estas se liguem umas às outras (Figura 2.3). O ácido galacturônico carregado negativamente se ligaria na superfície da proteína (carregada positivamente abaixo do ponto isoelétrico), revestindo a partícula e formando uma espessa camada de açúcares neutros em torno dela, levando a um efeito de repulsão estérica.

No entanto, apesar das evidências de que este polissacarídeo possui interessantes propriedades tecnológicas, não foram encontrados estudos sobre o comportamento estabilizante do SSPS para suspensões, especialmente nas condições de sucos de frutas à base de soja.

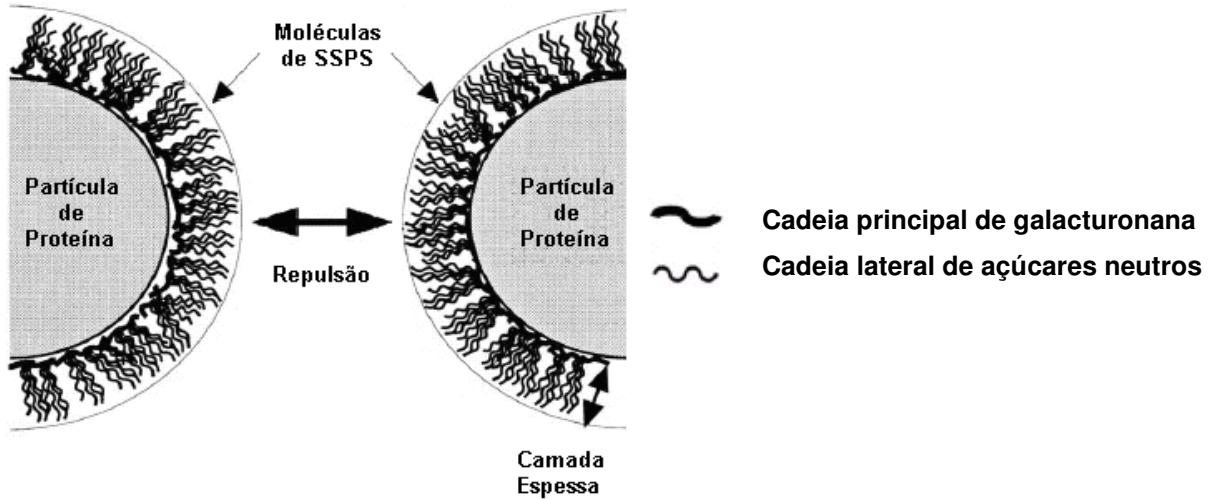


Figura 2.3. Mecanismo de estabilização de partículas de proteína pelo SSPS (NAKAMURA et al., 2003).

2.4. Interações Proteínas-Polissacarídeos

Provavelmente o fator mais significativo na determinação da textura e no comportamento reológico de muitos sistemas particulados coloidais, incluindo vários colóides alimentares, é o estado de agregação das partículas em tais sistemas (ETTELAIE et al., 2003). Tipicamente, os alimentos são misturas multicomponentes que contém proteínas e polissacarídeos. As interações entre proteínas e polissacarídeos desempenham um papel importante na estrutura e estabilidade de alimentos processados. O controle ou manipulação dessas interações macromoleculares é um fator chave no desenvolvimento de produtos e processos alimentícios.

Durante o processo de fabricação, as interações entre esses biopolímeros, tanto quanto interações competitivas com outros componentes do sistema (água, lipídeos, açúcares, íons de metais, surfactantes, etc.) são determinantes na relação entre a estrutura e as propriedades dos alimentos (YE, 2008). Dado o meio aquoso apropriado e as condições

de processo, a maioria das proteínas e polissacarídeos podem ser utilizados para conferir propriedades espessantes e/ou gelificantes quando presentes em concentrações suficientemente altas (DICKINSON, 1998). No entanto, geralmente é difícil distinguir os papéis das proteínas e polissacarídeos em termos de suas propriedades funcionais, devido à natureza um tanto específica de algumas interações e da influência dos polissacarídeos nas propriedades funcionais das proteínas alimentares (YE, 2008).

Todas as interações entre dois biopolímeros são formadas por uma média de um grande número de diferentes forças de interações intermoleculares entre os vários segmentos e cadeias laterais das duas macromoléculas (ligações covalentes, forças de van der Waals, interações eletrostáticas, etc.). Dependendo do meio e da distribuição dos diferentes tipos de grupos que constituem as moléculas, as interações proteína-polissacarídeo podem ser atrativas ou repulsivas (DICKINSON, 1998; TOLSTOGUZOV, 2000). Dois tipos de parâmetros influenciam as interações entre polissacarídeos e proteínas: parâmetros químicos, que incluem pH, massa molecular, força iônica, concentração de polímeros, e razão entre os polímeros e também físicos e mecânicos como temperatura e condições de cisalhamento (MAGNIN & DUMITRIU, 2005).

Vários tipos de forças intermoleculares contribuem para as interações proteína-polissacarídeo (Figura 2.4). A Equação 2.1 representa o segundo princípio da termodinâmica e de acordo com ele, a mistura de um ou mais componentes com um solvente é possível se o resultado da energia livre da mistura (ΔG_{mix}) é negativo.

$$\Delta G_{mix} = \Delta H_{mix} - T\Delta S_{mix} \quad (2.1)$$

onde ΔH_{mist} e ΔS_{mist} são entalpia e entropia da mistura, respectivamente, e T é a temperatura absoluta em K. Assim, quando polissacarídeos são misturados com polipeptídios algumas consequências são possíveis (Figura 2.4).

Miscibilidade: o sistema permanece homogêneo, não existindo separação de fases. Neste caso, os diferentes biopolímeros agem como se fossem hidrocolóides do mesmo tipo. Assim, a mistura de biopolímeros é estável dado que a entropia da mistura é elevada, favorecendo negativamente a energia livre (SCHIMITT et al., 1998). Este tipo de situação geralmente ocorre para soluções diluídas.

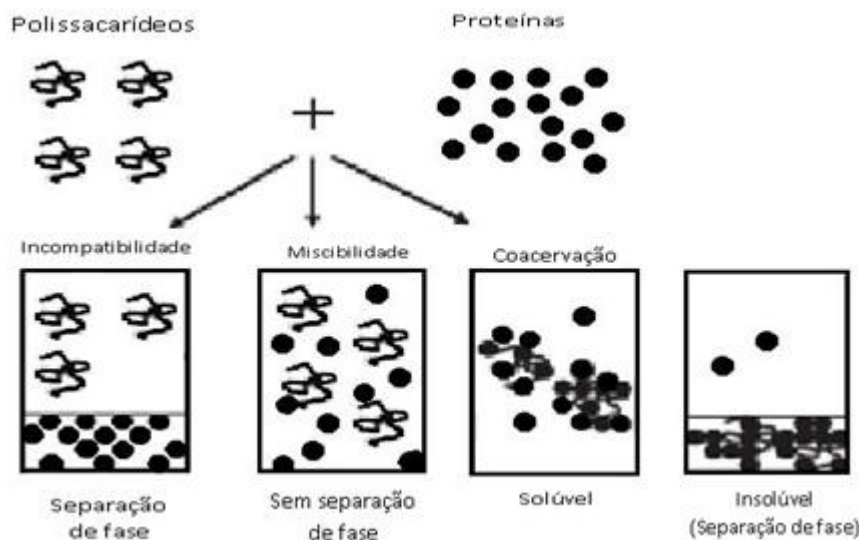


Figura 2.4. Principais consequências das interações entre proteínas e polissacarídeos misturados em solução (YE, 2008).

Incompatibilidade: ocorre segregação dos biopolímeros com a formação de duas fases aquosas imiscíveis, uma rica em proteína e outra em polissacarídeo. Esse mecanismo geralmente ocorre quando existe o aumento na concentração dos biopolímeros ou a agregação de um deles, pois as moléculas tendem a um estado mais organizado na solução, influenciando negativamente a entropia e levando a valores positivos de energia livre da

mistura. A situação de incompatibilidade termodinâmica, pode ocorrer para qualquer sistema proteína-polissacarídeo-água dependendo das condições do meio aquoso, como concentração de biopolímeros, pH e força iônica (BRYANT & MCCLEMENTS, 2000; SPAGNUOLO et al., 2005). Essas condições necessárias para a separação de fases variam de acordo com os biopolímeros presentes no sistema (GRINBERG & TOLSTOGUZOV, 1997).

Coacervação complexa ou separação de fases associativa: Este tipo de processo geralmente ocorre em uma mistura quando as proteínas e polissacarídeos possuem cargas opostas, o que favorece as interações moleculares entre estes biopolímeros. Ocorre usualmente através de atrações eletrostáticas, formando complexos de proteína-polissacarídeo. A mistura se separa em duas fases: a fase inferior contém o complexo proteína-polissacarídeo e a fase superior contém principalmente solvente. Desta maneira, o processo de coacervação é governado pela contribuição entálpica da energia livre da mistura e complexos interbiopolímeros podem ser encarados como um novo tipo de biopolímero, pois as propriedades funcionais deles diferem das macromoléculas reativas (DE KRUIF & TUINIER, 2001).

O principal fator que determina o limiar da separação de fases é o volume de exclusão (TOLSTOGUZOV, 2000). Considera-se que o volume de uma solução ocupada por uma macromolécula não está acessível para outras macromoléculas. Desta forma, existe um aumento da limitação espacial quando ocorre a transição de uma solução diluída para uma solução semi-diluída. Isso ocorre, pois nas soluções diluídas, as macromoléculas individuais não estão em contato umas com as outras, enquanto que nas soluções semi-diluídas, as moléculas interagem e competem pelo mesmo espaço (TOLSTOGUZOV,

2000). Assim, a separação de fases geralmente ocorre quando a concentração total de biopolímeros excede um certo valor crítico que corresponde ao regime de soluções semi-diluídas.

O pH desempenha um papel importante nas interações proteína-polissacarídeo por causa da sua influência no grau de ionização dos grupos funcionais carregados dos biopolímeros. A formação de complexos entre esses polímeros ocorrem em valores de pH abaixo do ponto isoelétrico das proteínas. As moléculas de proteína se carregam positivamente e se comportam como polications em valores de pH inferiores ao pI. Em meio ácido e em pH neutro, que é típico da maioria dos alimentos, os polissacarídeos se comportam como poliânions. Ocorre então a formação de complexos eletrostáticos – geralmente em faixas de pH que são acima do pK do grupos aniônicos (carboxilas) e abaixo do pI da proteína, resultando em máxima atração eletrostática (YE, 2008; TOLSTOGUZOV, 2000).

As cargas das proteínas e polissacarídeos são reduzidas também pelas interações com os íons, resultando num decréscimo de atrações eletrostáticas entre as macromoléculas em altas concentrações de sal, afetando a formação dos complexos. No entanto, em baixos valores de força iônica, a concentração de microíons tem somente um pequeno efeito nos complexos (YE, 2008). A influência da adição de sal na compatibilidade dos sistemas pode ser explicada através dos efeitos de “salting in” e “salting out”, de maneira similar ao que ocorre com sistemas contendo somente proteína (CHEFTEL et al., 1993).

A razão e a concentração dos biopolímeros também influenciam no balanço de cargas do complexo, chegando a afetar o comportamento deles. Para uma mistura, a máxima complexação é obtida em uma razão específica de proteínas e polissacarídeos nas

condições dadas (pH e força iônica). Quando um dos componentes está em excesso, complexos solúveis podem ser obtidos por causa das cargas não neutralizadas. Em altas concentrações de biopolímeros, quando um deles está em excesso na solução, não ocorre complexação por causa da competição pelo solvente (YE, 2008).

2.5. Reologia

Na área de alimentos, as propriedades reológicas são utilizadas no controle de qualidade, avaliação da textura, projetos de controle e processos e determinação da estrutura do alimento, incluindo mudanças físico-químicas que ocorrem durante o processamento e armazenamento (ALVARADO & AGUILERA, 2001). De uma maneira geral, os materiais são divididos em sólidos e líquidos. Um sólido elástico ideal é freqüentemente chamado de Hookeano devido ao cientista Robert Hooke, que foi o primeiro a observar a relação linear entre a força aplicada a um material e a consequente deformação do mesmo (MCCLEMENTS, 2005). Esse tipo de material apresenta a propriedade de voltar ao tamanho e forma iniciais quando a força é retirada.

Por outro lado, os líquidos ideais são chamados de Newtonianos e apresentam a propriedade de escoar quando uma tensão de cisalhamento é aplicada. Enquanto isso nos fluidos que fogem dessa idealidade, quando essa tensão é retirada, o líquido continua escoando até que a energia aplicada seja dissipada na forma de calor (MCCLEMENTS, 2005). A viscosidade destes materiais é uma medida da sua resistência ao escoamento, ou seja, quanto mais alta a viscosidade, maior é a resistência ao escoamento (MACOSKO, 1994). Como a tensão aplicada ao fluido é igual à força tangencial dividida pela área sobre

a qual está agindo ($\sigma = F/A$), e a taxa de deformação é dada pelo deslocamento das camadas por unidade de tempo ($\dot{\gamma} = d\gamma/dt$), tem-se a seguinte relação (Eq. 2.2.):

$$\sigma = \eta \cdot \dot{\gamma} \quad (2.2)$$

onde a constante de proporcionalidade η é chamada de viscosidade.

Leite, óleos, chás, cerveja, vinhos e sucos clarificados apresentam comportamento newtoniano (BARBOSA-CÁNOVAS et al., 1993, BARNES et al., 1989). Os alimentos fluidos, devido à sua grande variedade em estrutura e composição, apresentam características reológicas que podem ir desde um simples comportamento newtoniano até um não-newtoniano que pode ou não ser dependente do tempo. O comportamento reológico não-ideal pode se manifestar de diversas maneiras em um líquido como ilustrado na Figura 2.5; de modo que a viscosidade dos sistemas pode depender da taxa de deformação ou do tempo de aplicação da tensão (MACOSKO, 1994).

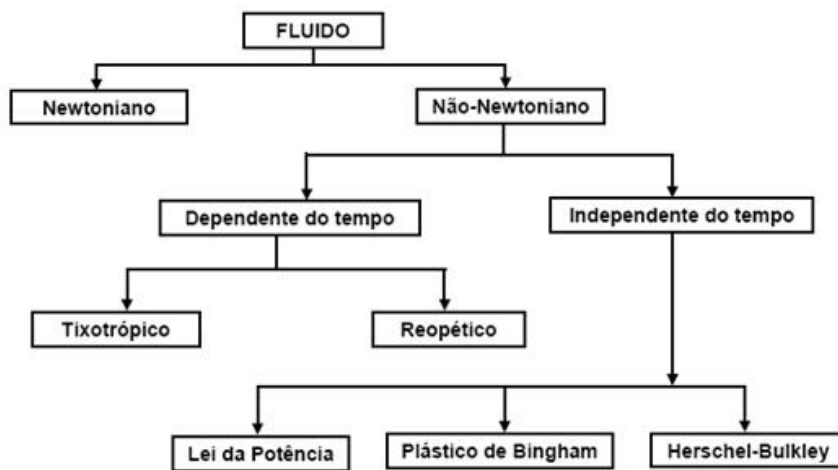


Figura 2.5. Classificação do comportamento reológico dos fluidos

A Figura 2,6 apresenta as curvas de escoamento típicas de fluidos independentes do tempo. Quando se trata de fluidos não newtonianos dependentes da taxa de deformação, os tipos mais comuns são os fluidos pseudoplásticos com ou sem tensão residual, σ_0 , os quais são descritos pelas Equações 2.3 e 2.4. A tensão residual pode ser utilizada para avaliar a força necessária para que um fluido saia da embalagem e para impedir a sedimentação de partículas suspensas, o que poderia ser fator determinante para a vida de prateleira de um produto alimentício.

$$(2.3)$$

$$(2.4)$$

onde τ = tensão e cisalhamento (Pa); σ_0 = tensão residual (Pa); k = índice de consistência ($\text{Pa}\cdot\text{s}^n$); n = índice de comportamento de escoamento e $\dot{\gamma}$ = taxa de deformação (s^{-1}).

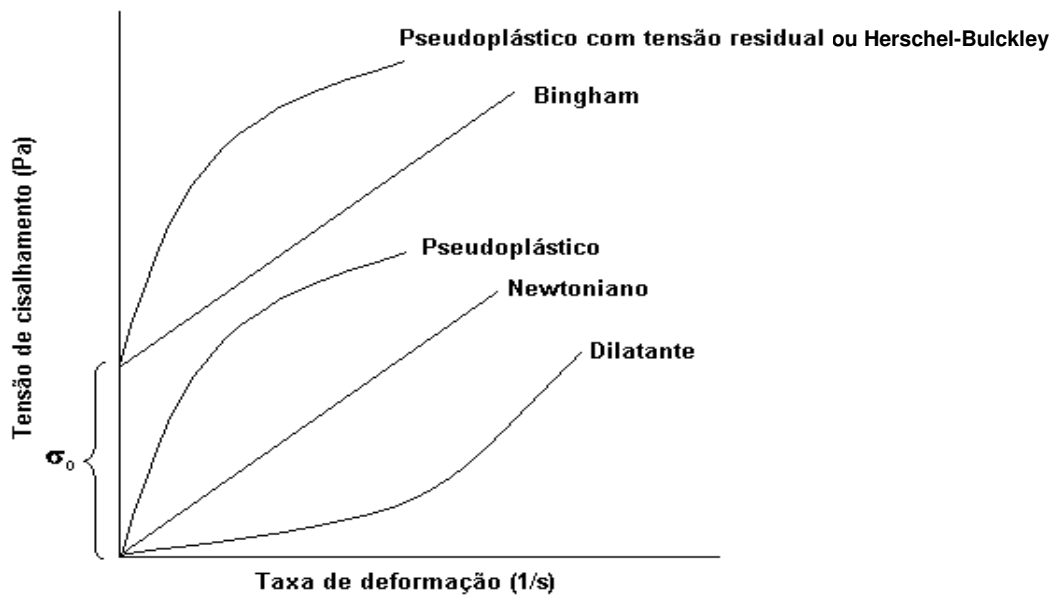


Figura 2.6. Curvas de escoamento típicas de fluidos independentes do tempo

Os fluidos pseudoplásticos são aqueles cuja viscosidade aparente diminui com o aumento da taxa de deformação, provavelmente devido ao alinhamento de partículas não-esféricas, remoção de moléculas de solvente ligadas às partículas ou ruptura e deformação de aglomerados (MCCLEMENTS, 2005; NEWSTEIN et al., 1999). Podem ser citados como exemplo chocolate fundido, catchup, maionese, creme de leite, polpas e sucos de frutas, entre outros. A escolha da taxa de deformação a ser utilizada no cálculo da viscosidade aparente é de fundamental importância, considerando que ela é característica nos processos que ocorrem nos processos alimentícios, como agitação, escoamento através de tubulação, ou mastigação (MCCLEMENTS, 2005).

Já no caso dos sistemas dependentes do tempo, tem-se que a viscosidade dos fluidos pode aumentar ou diminuir com o tempo de cisalhamento. Essa dependência do tempo é usualmente associada com algum tipo de processo de relaxação, já que quando uma força externa é aplicada a um material em equilíbrio, este demora um determinado intervalo de tempo para atingir uma nova condição de equilíbrio, que é denominado tempo de relaxação.

Assim, os comportamentos reológicos dependentes do tempo podem ser classificados como tixotrópico e reopético. No comportamento tixotrópico, a viscosidade aparente do fluido diminui com o tempo de cisalhamento sob uma taxa de deformação constante, enquanto que no comportamento reopético ocorre o oposto (MCCLEMENTS, 2005). Dentre os alimentos que apresentam tixotropia encontram-se leite condensado açucarado, clara de ovo, maionese (RAO, 1977) entre outros, enquanto que fluidos reopéticos são raros e não são muito frequentes no campo de alimentos.

2.6. Reologia de Suspensões

Devido à grande quantidade de sólidos encontrados em frutas, os alimentos líquidos derivados delas (entre eles sucos de frutas) formam suspensões, que são sistemas multifásicos, nos quais a fase sólida é dispersa em um líquido. Estes sistemas podem ser diluídos sem interação entre as partículas, estabilizados estericamente, floculados e estruturados, parcialmente estáveis ou sedimentáveis (Figura 2.7). A formação do tipo de estrutura em cada material vai depender da composição química das duas fases, tamanho e formato das partículas, efeitos de superfície e/ou da presença de aditivos (FERGUNSON & KEMBLOWSKI, 1991).

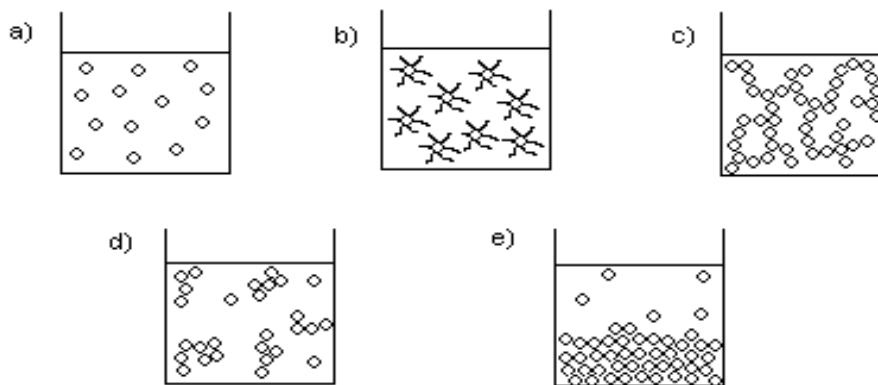


Figura 2.7. Estrutura das partículas em suspensão: a) diluídas sem interação entre as partículas; b) estabilizadas estericamente; c) floculadas; d) parcialmente estáveis e com alguma estrutura formada; e) sedimentada.

O estudo da reologia de suspensões é de grande importância em uma ampla faixa de aplicações industriais, como as indústrias farmacêutica, de petróleo, cosmética e de alimentos. As suspensões podem ser definidas como misturas do tipo sólido-líquido formando um conjunto de partículas distribuídas de forma relativamente uniforme através

de um meio líquido sem que haja dissolução significativa do material particulado (PANDOFELLI, 2000). Se uma partícula em um fluido atua como uma barreira ao escoamento do líquido, as linhas de fluxo contornam a partícula como mostrado na Figura 2.8. Esta barreira imposta pela partícula causa uma elevação na viscosidade da suspensão, pois o líquido deixa de se deslocar através das camadas paralelas, como no regime laminar, e passa a formar linhas de fluxo curvas que contornam a partícula, e esta dificuldade será maior à medida que o número de partículas na suspensão aumenta (PANDOFELLI, 2000).

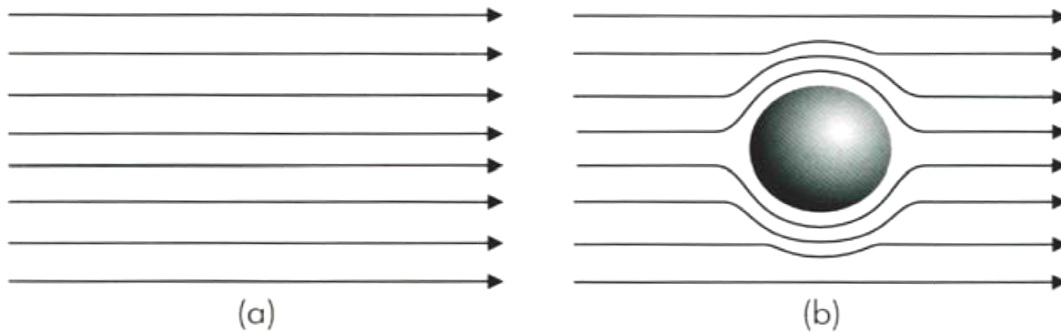


Figura 2.8. Efeito da presença de uma partícula esférica sobre as linhas de fluxo submetido ao cisalhamento: (a) fluido isento de partícula e (b) fluido contendo partícula (PANDOFELLI, 2000).

Uma suspensão de partículas sólidas em um meio líquido deve apresentar um comportamento reológico intermediário entre um sólido e um líquido. Os fatores da fase sólida que influem diretamente nas características reológicas da suspensão são:

- concentração volumétrica de sólidos;
- distribuição de tamanhos de partículas;
- formato das partículas;
- distância de separação entre as partículas;
- existência e magnitude das forças de atração e repulsão entre elas.

Em baixas concentrações (menores que 5% em volume), a seqüência de colisões entre as partículas é relativamente baixa, permitindo que a viscosidade da suspensão seja constante em função da taxa de deformação. Neste caso, a concentração das partículas, as características do meio líquido, tais como viscosidade e densidade, e a temperatura são os principais fatores para o estabelecimento da viscosidade da suspensão.

Para soluções muito diluídas, a relação entre a viscosidade e fração volumétrica de partículas pode ser expressa pela equação desenvolvida por Einstein (Eq 2.5).

$$\eta = \eta_s * (1 + k_e \phi) \quad (2.5)$$

onde η é a viscosidade da suspensão, η_s a viscosidade da fase contínua, ϕ a fração volumétrica de sólidos e k_e o coeficiente de Einstein, que no caso de partículas esféricas, rígidas e inertes, equivale a 2,5 (BARNES et al., 1989). Com a elevação do percentual de sólido, as partículas passam a interagir entre si (PANDOFELLI, 2000), resultando em um grande aumento na viscosidade de suspensões.

Polpas de frutas como tomate, manga, acerola, cajá, graviola, melão e morango foram caracterizadas na literatura como sendo fluidos pseudoplásticos com tensão residual (SHARMA et al., 1996; BHATTACHARYA, 1999; FREITAS, 2002). Freitas (2002) relacionou o caráter pseudoplástico das amostras com o teor de polpa em suspensão, e observou que amostras com maior teor de polpa em suspensão apresentaram baixo índice de comportamento de escoamento e taxa de deformação inicial. Por sua vez, Queiroz et al. (2000) mostraram que o suco de abacaxi não possuía tensão residual, e que o teor de sólidos insolúveis suspensos mostrou-se o principal fator responsável pelo comportamento

reológico deste suco, pois com a remoção da pectina o índice de comportamento (n) tendia a 1 e o suco se comportava como fluido Newtoniano.

2.7. Estabilidade de Suspensões

Um dos maiores problemas relacionados às suspensões é quanto a sua estabilidade frente à sedimentação das partículas, como no caso de sucos de frutas. Após um tempo de armazenamento prolongado esses sólidos em solução tendem a precipitar e o sistema apresenta separação de fases (GENOVESE, et al., 1997).

O comportamento da sedimentação de uma única partícula, esférica e rígida, pode ser descrito pela lei de Stokes (Eq. 2.6). Essa equação é válida em regime laminar, condição de baixa velocidade como ocorre na sedimentação.

$$v = \frac{4}{3} g r^2 \frac{(\rho_{sól} - \rho_{líq})}{\eta} \quad \text{Re} \leq 10 \quad (2.6)$$

onde v é a velocidade de sedimentação (m/s), g a aceleração da gravidade (m/s^2), r o raio médio da partícula (m), $\rho_{sól}$ a densidade das partículas e $\rho_{líq}$ a densidade do meio contínuo (kg/m^3) e η a viscosidade do meio (Pa.s).

Pode-se observar através da Equação 2.6 que é possível reduzir a velocidade de sedimentação de uma partícula em suspensão por meio de modificações tanto nas características da partícula suspensa quanto do meio contínuo. De acordo com essa equação é possível notar que a diminuição do tamanho das partículas dificulta a sedimentação. No caso da polpa de maçã o valor da tensão residual foi maior para suspensões com partículas menores (CANTU-LOZANO et al., 2000), mostrando uma maior estabilidade da solução.

A alteração do meio contínuo visando uma maior estabilidade da suspensão por períodos prolongados pode ser feita através da retenção das partículas suspensas. Essa retenção pode ser alcançada com a adição de hidrocolóides alimentares, devido a sua capacidade reguladora das propriedades reológicas e sua ionização em soluções aquosas (GENOVESE & LOZANO, 2001). A adição de hidrocolóides acarreta no aumento da viscosidade do meio contínuo que diminui a velocidade de sedimentação dos sólidos insolúveis. Genovese & Lozano (2001), estudaram a estabilidade de suco de maçã e mostraram que pequenas quantidades de xantana e carboximetilcelulose (CMC) aumentaram a viscosidade do sistema, levando a uma elevada estabilidade do sistema.

3. Material e Métodos

3.1. Material

A farinha desengordurada de soja utilizada para extração dos materiais utilizados (polissacarídeo solúvel de soja e isolado protéico de soja) foi adquirida da Solae do Brasil situada na cidade de São Paulo – SP, enquanto a polpa de graviola utilizada para o preparo dos sistemas foi concedida pela DeMarchi – Indústria e Comércio de Frutas Ltda. de Jundiaí – SP. Sorbato de Potássio ($C_6H_7O_2K$) adquirido da Sigma Chemical Co. (St Louis, MO, USA) foi adicionado às soluções para evitar crescimento microbiano. Os demais ingredientes eram de grau analítico.

3.2. Metodologia

A Figura 3.1 resume as etapas e análises realizadas neste trabalho. Primeiramente foi realizada a extração do isolado protéico de soja e do polissacarídeo solúvel de soja, o qual foi obtido em três condições de extração diferentes (Tabela 3.1). Esses procedimentos estão descritos nas seções 3.2.1 e 3.2.2, e podem ser melhor visualizados na Figura 3.2.

A segunda parte se deteve no estudo do polissacarídeo. Foi realizada a caracterização dos polissacarídeos obtidos através de análises de composição físico-química, potencial zeta e espectroscopia de infravermelho (FTIR). Foi estudada também a influência de diferentes solventes no comportamento dos polissacarídeos obtidos através de análises de viscosidade intrínseca e curvas de escoamento. Além disso, um planejamento

experimental foi realizado para avaliar a influência da concentração do polissacarídeo e do pH do meio no comportamento reológico dos sistemas (seção 3.2.3).

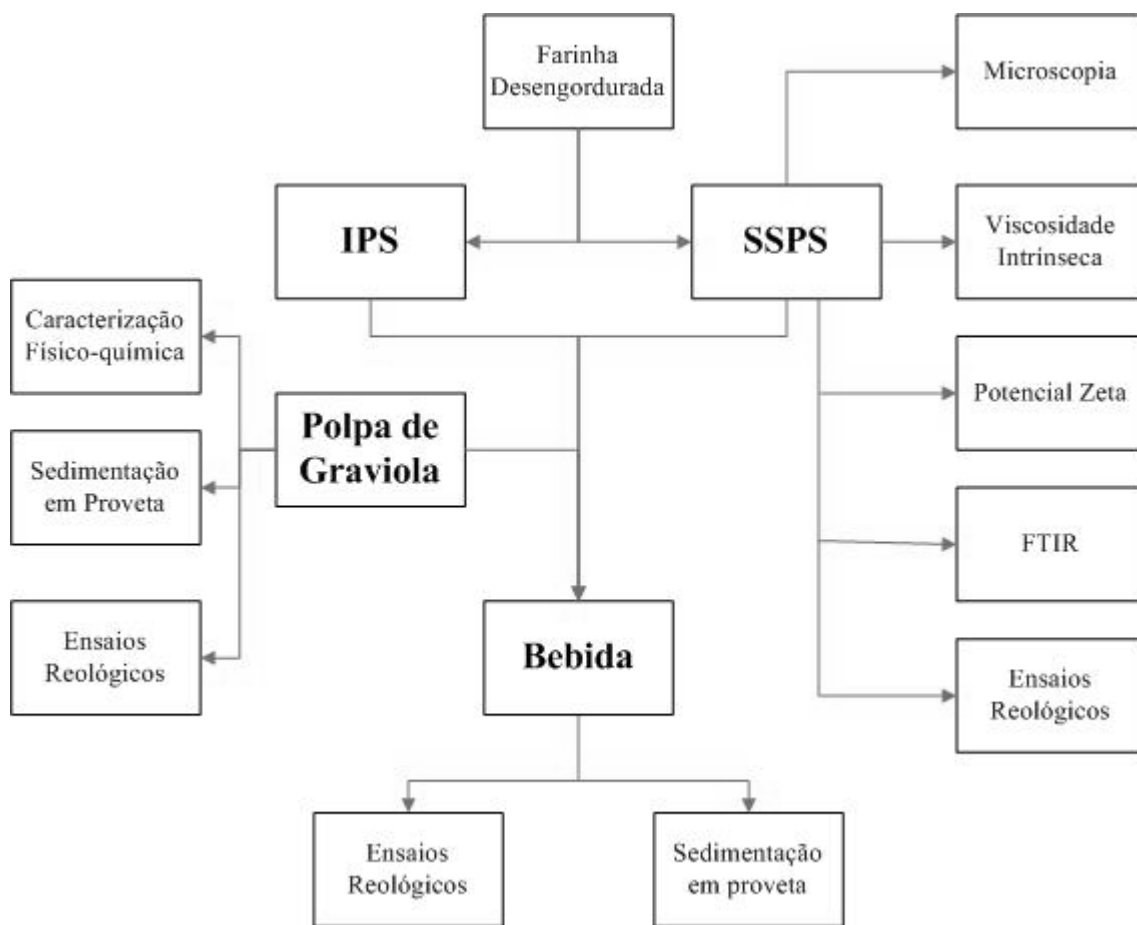


Figura 3.1. Fluxograma das análises realizadas nas três partes do trabalho

Após o estudo dos SSPS obtidos, um deles foi escolhido para a terceira parte deste trabalho, a qual foi focada na utilização do polissacarídeo de soja como estabilizante de proteínas em suspensões. Para isso a polpa de graviola foi utilizada como sistema de estudo. A polpa foi caracterizada através de análises físico-químicas e reológicas, enquanto as bebidas estudadas foram formuladas seguindo o fluxograma da Figura 3.3 de acordo com um planejamento experimental (seção 3.3.4). Foi estudado o comportamento reológico das

soluções formadas e a estabilidade foi avaliada através de teste de sedimentação em proveta. Além das bebidas formuladas de acordo com o planejamento, as mesmas análises foram realizadas apenas para polpa de graviola adicionada de diferentes concentrações de proteína para servir de controle.

3.2.1. Extração do Isolado Protéico de Soja (IPS)

A farinha de soja foi utilizada para a preparação de uma solução aquosa (1:10) cujo pH foi constantemente ajustado para 8,0 através do uso de NaOH 2M e com agitação por 2 horas. Essa solução foi centrifugada a 10.000 x g por 30 minutos a 4 °C, da qual o precipitado foi liofilizado e armazenado para posterior extração do SSPS e o sobrenadante teve seu pH ajustado para o ponto isoelétrico (pH 4,5) com o uso de HCl 2 M. Este sobrenadante acidificado foi novamente centrifugado (5000 x g por 15 minutos a 4 °C) e a proteína precipitada ressuspensa em água e o pH ajustado para 7,0 com NaOH 2 M. Finalmente, essa solução de proteína isolada de soja foi liofilizada para a obtenção do pó de isolado protéico de soja (HUA et al., 2003) (Figura 3.2).

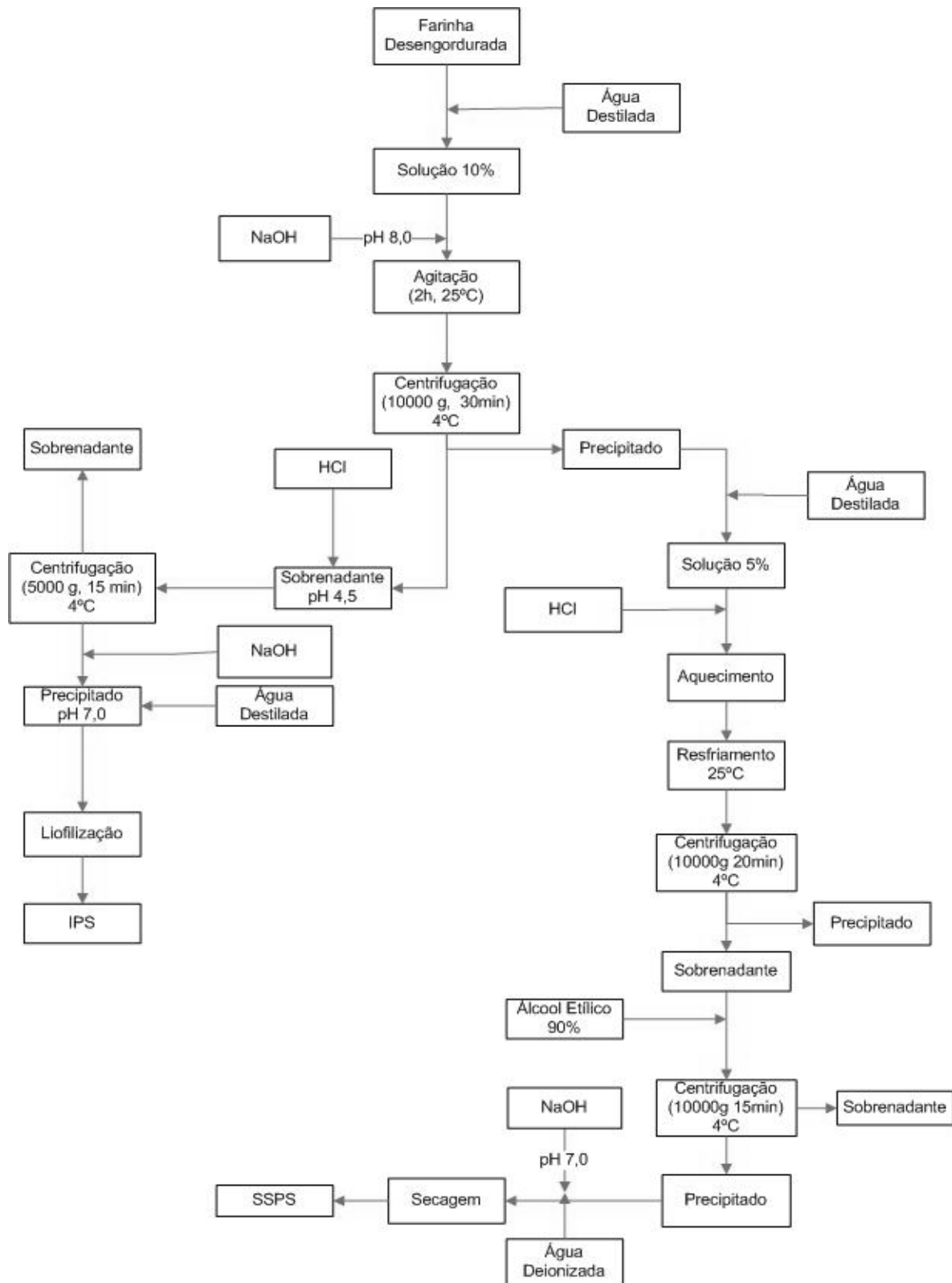


Figura 3.2. Fluxograma da extração do isolado protéico e do polissacarídeo solúvel de soja

3.2.2. Extração dos Polissacarídeos Solúveis de Soja (SSPS)

Foram estudadas três condições diferentes de extração (Tabela 3.1) para obtenção de SSPS de acordo com resultados observados por Furuta et al. (1999). O SSPS foi obtido a partir de solução aquosa (5,0% p/p) do resíduo obtido no preparo do IPS. O pH foi ajustado para 2,0 com ácido clorídrico 12 M e a solução foi então aquecida nas condições de tempo e temperatura mostrados na Tabela 3.1. Depois de resfriar a temperatura ambiente a suspensão foi centrifugada para remoção do resíduo (10.000 x g por 20 min). Ao sobrenadante foi adicionado o mesmo volume de álcool etílico comercial 95% para precipitação do polissacarídeo em solução. A solução obtida foi novamente centrifugada (10.000 x g por 15 min) para recuperação do polissacarídeo, que foi então ressuspensa em água deionizada e neutralizada com NaOH 5M. O material obtido foi então liofilizado ou seco em spray-dryer utilizando temperatura de 140°C e vazão de 0,4L/s.

Tabela 3.1. Condições de extração de SSPS

Extrato	pH	Temperatura	Tempo	Secagem
SSPS-A	2	80°C	3h	Liofilização
SSPS-B	2	80°C	3h	Spray-dryer
SSPS-C	2	95°C	3h	Spray-dryer

3.2.3. Preparo das Soluções de SSPS

Para cada SSPS foi realizado um planejamento fatorial 2^2 completo, tendo como variáveis independentes pH e a concentração de SSPS (Tabela 3.2). As respostas de cada planejamento foram obtidas através de ensaios reológicos (seção 3.3.5.7).

Tabela 3.2. Planejamento experimental 2^2 completo com três pontos centrais para avaliação do efeito de pH e concentração do polissacarídeo na reologia de soluções de SSPS

Níveis	$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
SSPS (%)	0,1	0,81	2,55	4,29	5,0
pH	2,0	2,73	4,5	6,27	7,0

3.2.4. Preparo das Bebidas

Foi realizada uma primeira etapa, em que o comportamento reológico do suco de graviola (polpa diluída 1:2 polpa:água) com IPS foi analisado variando somente a concentração de IPS, entre 0,5% e 5% (p/p). Na segunda etapa foi estudada a influência simultânea das concentrações de IPS, de CaCl_2 e do SSPS na estabilidade e reologia do suco de graviola. Para isso foi realizado um planejamento experimental fatorial completo 2^3 , com 6 pontos axiais e 3 pontos centrais, denominado delineamento composto central rotacional (DCCR), totalizando 17 ensaios. A adição de sal foi feita com o intuito de alterar a força iônica do sistema e modificar as interações biopoliméricas. O SSPS B foi escolhido devido aos resultados apresentados na primeira etapa deste trabalho e pela maior viabilidade de extração e secagem. O preparo das soluções foi feito de acordo com a Figura 3.3.

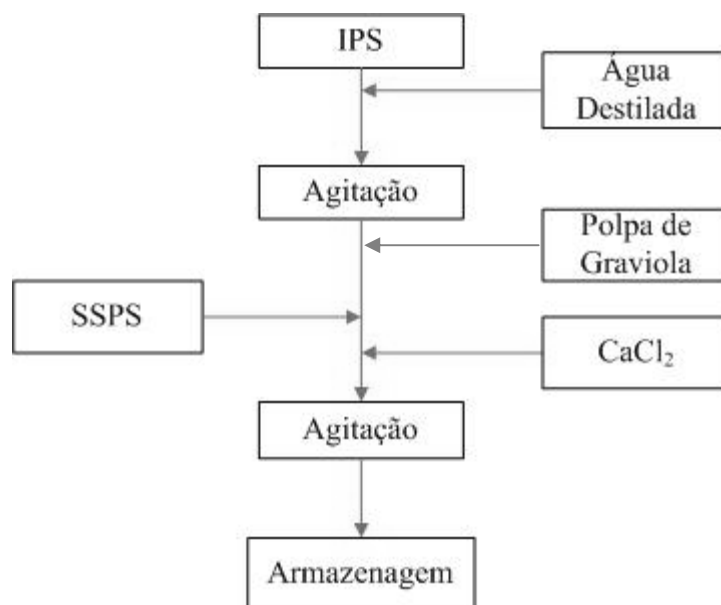


Figura 3.3. Forma de preparo das bebidas

Todos os ingredientes foram misturados em agitador magnético à temperatura ambiente e a quantidade de cada ingrediente está descrita na Tabela 3.3. A mistura começou com a hidratação da proteína de soja com 200 ml de água destilada seguida da adição do polissacarídeo e da polpa concentrada de graviola, sendo que a polpa ficou diluída no final do preparo da bebida em uma proporção 2:1 (polpa:água). As amostras foram refrigeradas a 3°C até a análise (POTTER et al., 2007). Além disso, uma formulação consistindo apenas de suco de graviola também foi submetida às mesmas análises dos sistemas anteriores para controle das variações observadas.

Tabela 3.3. Planejamento experimental 2^3 completo com três pontos centrais

Níveis	$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
SSPS (%)	1,0	1,58	3,0	4,42	5,0
IPS (%)	1,0	1,58	3,0	4,42	5,0
[Ca ²⁺]mM	0	29,08	100	170,92	200

3.3.5. Análises

3.3.5.1. Caracterização Físico-Química da Polpa

Análises de acidez total, cinzas, açúcares redutores e totais, pectina (como pectato de cálcio), foram realizadas na polpa de graviola integral para a caracterização da matéria prima, de acordo com os métodos da AOAC (1997), e a umidade foi obtida pelo método de Ranganna (1977). O teor de lipídios foi obtido através do método Bligh & Dyer (BLIGH & DYER, 1959). O nitrogênio total foi determinado pelo método de Kjeldahl, e convertido em proteína bruta pelo fator 6,25, segundo AOAC (1997). O conteúdo de sólidos solúveis foi determinado através de um refratômetro de bancada (Zeiss Aemanha) e expresso em °Brix (AOAC, 1997). Um pHmetro analyser 300 (Analyser Com. e Ind. Ltda., Brasil), calibrado com soluções padrão de pH 4,0 e 7,0, foi utilizado para a determinação do pH da polpa e o teor de polpa foi determinado por centrifugação (1000 x g por 30 minutos). Todas as análises foram realizadas em triplicata. Para a caracterização dos polissacarídeos foram feitas análises de umidade, cinzas, lipídeos e proteína utilizando a mesma metodologia.

3.3.5.2. Análise de Íons

Determinação por espectrometria de absorção atômica (Instituto de Química - Unicamp)

3.3.5.3. Viscosidade Intrínseca

A viscosidade intrínseca foi utilizada como uma medida indireta para avaliar o comportamento, o volume hidrodinâmico e o peso molecular da molécula de SSPS em diferentes solventes.

A medida da viscosidade dos SSPS obtidos se deu com o auxílio de um viscosímetro semi-micro capilar size100 Cannon-Fenske (Cannon Instruments Co., EUA) imerso em um banho de água mantido a $25 \pm 0,5$ °C. Foram utilizados como solventes água deionizada e pH 7,0, água deionizada e pH 3,0, solução de sacarose 12°Brix e pH 7,0 e solução de sacarose 12°Brix e pH 3,0. Uma corrida com cada solvente utilizado foi realizada para calibrar o instrumento. Os valores do tempo necessário para o fluido escoar pelo capilar foram obtidos em triplicata para várias concentrações de SSPS variando entre 0,00625 e 0,6% (p/v).

A viscosidade relativa (η_{rel}) (definida como a razão entre as viscosidades da solução e do solvente) foi convertida em viscosidade específica (η_{sp}) através da equação 3.1 (NG et al., 1999). Quando a concentração da solução se aproxima de zero, a viscosidade reduzida (η_{sp}/C) se aproxima da viscosidade intrínseca.

A equação de Fuoss (Eq. 3.1) e o modelo de Huggins (Eq. 3.2) foram utilizados para plotar η_{red} como função da concentração desse polieletrólito e dessa maneira determinar a viscosidade intrínseca da molécula em solução.

$$\frac{\eta_{sp}}{C} = \frac{[\eta]}{(1+B \cdot C^{0,5})} \quad (3.1)$$

$$\frac{\eta_{sp}}{C} = [\eta] + [\eta]^2 \cdot k_1 \cdot C \quad (3.2)$$

onde η_{sp} é a viscosidade específica, C a concentração, $[\eta]$ a viscosidade intrínseca, B e k_1 parâmetros de ajuste. Já a equação de Mark-Houwink (Eq. 3.3) foi utilizada para calcular a massa molecular do SSPS. Para os parâmetros K e α foram utilizados os valores obtidos por FURUTA & MAEDA (1999) para diversas amostras de pululana, os quais foram $2,87 \cdot 10^{-4}$ e 0,640 respectivamente.

$$[\eta] = KM^\alpha \quad (3.3)$$

onde $[\eta]$ é a viscosidade intrínseca, K e α são parâmetros de ajuste e M o peso molecular.

3.3.5.4. Medida do Potencial Zeta

Análise realizada pelo Instituto de Química – Unicamp.

3.3.5.5. Espectroscopia de Infravermelho (FTIR)

A técnica de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier em combinação com atenuador de reflectância foi aplicada para estudo da estrutura e conformação dos carboidratos. Os SSPS obtidos foram submetidos à análise de FTIR, em um espectrofotômetro Perkin Elmer modelo Spectrum One com transformada de Fourier, provido com o acessório UATR (atenuador de reflectância total universal). As amostras secas foram analisadas nas seguintes condições: região de 4000 a 650 cm^{-1} , resolução de 4 cm^{-1} , com 16 varreduras (VICENTINI et al., 2005). O software Spectrum One B (versão 5.31) foi utilizado para o tratamento dos resultados.

3.3.5.6. Microscopia

Microscopia óptica foi realizada em microscópio Carl Zeiss Modelo: mf-AKS 24 x 36 EXPOMET (Zeiss, Alemanha) com aumento de até 100x para análise de morfologia e tamanho das partículas de SSPS obtidas em cada tratamento. A análise foi realizada com os polissacarídeos secos e em solução a fim de avaliar o aumento do tamanho das partículas quando em solução. Foram obtidas cerca de 10 imagens de cada amostra, de modo a varrer a lâmina inteira, obtendo-se um resultado representativo.

3.3.5.7. Análises Reológicas

Os ensaios reológicos foram realizados em reômetro de tensão controlada Carri-Med CSL² 500 (TA Instruments, EUA). Para a avaliação das soluções de SSPS foi utilizada uma geometria de cilindros de parede dupla (*Double gap*), composta por um cilindro de acrílico interno (raio interno = 20,38 mm, raio externo = 21,96 mm) e um copo fixo de aço inoxidável (raio interno = 20 mm, raio externo = 22,38 mm); enquanto que para os ensaios das bebidas foi utilizada uma placa rugosa de 4 cm e distância entre placas, “gap”, de 2,0 mm.

Curvas de escoamento foram obtidas através do programa de passos múltiplos, utilizando intervalos de tensão diferentes para cada amostra, de modo a se obter aproximadamente um intervalo de 0 – 300 s⁻¹ de taxa de deformação. Os modelos para fluidos Newtonianos (Eq. 2.2), Lei da potência (Eq. 2.3) e de Herschel-Bulkley (Eq. 2.4) foram utilizados para ajustar as curvas de escoamento. Foram analisados para avaliar o comportamento dos sistemas os parâmetros de ajuste dos modelos e os valores das viscosidades em taxa de deformação tendendo a 0 (repouso) e em condições semelhantes ao

consumo – entre 10 s^{-1} e 100 s^{-1} (STEFFE, 1996). Foi escolhida uma taxa de deformação intermediária para representar a condição de consumo (50 s^{-1}).

3.3.5.8. Sedimentação em Proveta

Para se determinar a estabilidade da polpa de graviola, e suas combinações com IPS e SSPS, cada solução foi colocada em proveta graduada de 25 mL. Foi avaliado o volume de sedimentação em função do tempo até uma semana de armazenamento. Sorbato de potássio (0,1%) foi adicionado para conservar a integridade das amostras durante o tempo das análises.

3.2.3.9. Análise Estatística

Os resultados dos planejamentos experimentais foram analisados com auxílio do software Statistica 5.5 (Statsoft Inc., Tulsa USA) através de análise de variância - ANOVA em que diferenças estatísticas ($p < 0,05$) foram determinadas pelo teste de Tukey. Os planejamentos experimentais também foram analisados com a utilização deste software, com o qual foi possível a geração de modelos que representassem a influência das variáveis estudadas em cada caso.

4. Extração e Estudo dos Polissacarídeos Solúveis de soja

4.1. Caracterização dos Polissacarídeos Solúveis de Soja

4.1.1. Composição Físico-Química

O estudo do polissacarídeo solúvel de soja se iniciou com a caracterização físico-química dos extratos obtidos nas três extrações. É possível notar que a única diferença entre os SSPS foi em relação à umidade (Tabela 4.1); diferença que foi consequência da forma de secagem aplicada ao polissacarídeo. Valores altos de umidade (em torno de 9%) também foram obtidos para SSPS liofilizado (FURUTA & MAEDA, 1999).

Tabela 4.1. Composição centesimal dos polissacarídeos solúveis de soja em base seca

	SSPS-A	SSPS-B	SSPS-C
Umidade (%)	4	0,5	0,5
Cinzas (%)	4,5	5,0	4,8
Proteínas (%)	39	35	34
Lipídeos (%)	-	-	-
Magnésio (mg/kg)	199,0 ± 7,0		
Cálcio (mg/kg)	777,1 ± 35,1		
Potássio (% m/m)	0,162 ± 0,008		
Sódio (% m/m)	5,231 ± 0,201		

A quantidade de proteínas presente foi maior que em outros polissacarídeos estudados. A pectina extraída de beterrabas apresenta em torno de 4,0% proteína (SIEW et al., 2008), enquanto que a pectina cítrica tem aproximadamente 5,4% (KURITA et al.,

2008). A comparação com SSPS extraído por Furuta & Maeda (1999) e Furuta et al. (1999) mostrou que os polissacarídeos obtidos por estes autores também apresentaram um teor menor de proteína (4,7% e 13,7%, respectivamente). O menor valor obtido por Furuta & Maeda (1999) é explicado pelas condições de extração utilizadas (pH 5,0), que por ser mais próximo do ponto isoelétrico da proteína levou a um grau de pureza maior do polissacarídeo. No entanto os valores obtidos neste trabalho foram muito superiores mesmo quando as condições de extração foram as mesmas (FURUTA et al., 1999).

Os conteúdos de cinzas para os polissacarídeos de soja estudados por outros autores foram em torno de 5,3% (FURUTA & MAEDA, 1999) e 8,8% (FURUTA et al., 1999), se mostrando próximos aos obtidos para os três extratos (em torno de 5%).

4.1.2. Microscopia

Através da Figura 4.1, nota-se que a secagem influenciou na conformação e tamanho das partículas. Os polissacarídeos secos em spray-dryer (SSPS-B e C) se apresentaram na forma característica de materiais secos por esse método de atomização. Dessa forma nota-se que as partículas secas à quente são menores e com maior arredondamento.

Em contrapartida, o polissacarídeo liofilizado (SSPS-A) se mostrou mais heterogêneo, com partículas de formas e tamanhos variados; além disso é possível observar que as partículas são mais translúcidas ou menos compactas. Isso também é consequência da forma de secagem que forma um material laminado (folha fina) de material seco. O

polissacarídeo seco foi passado em peneira de 200 mesh, o que fez com que as partículas não tivessem formato e tamanho único.

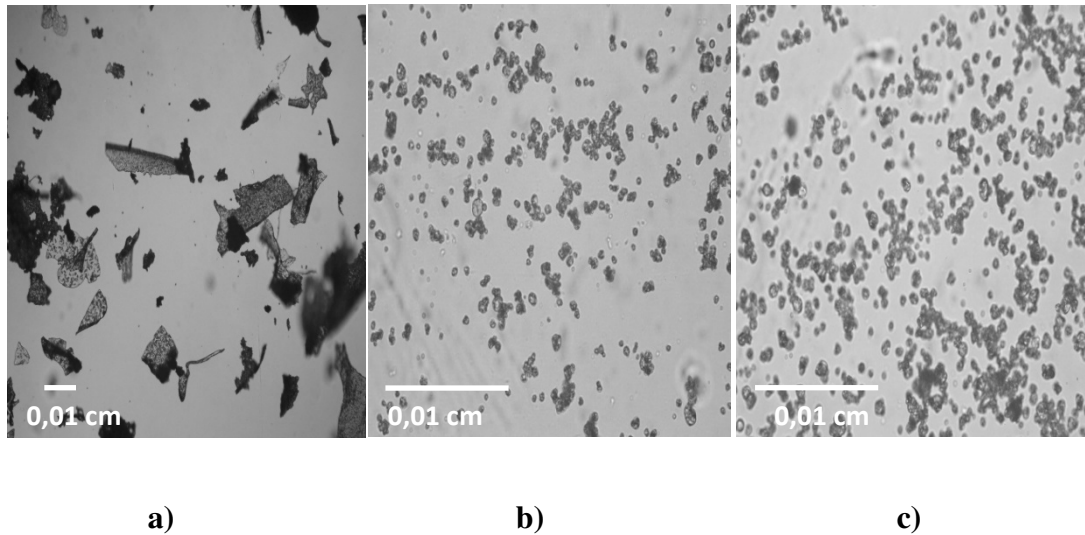


Figura 4.1. Microscopia óptica das partículas de SSPS em diferentes extrações. a) SSPS-A; b) SSPS-B; c) SSPS-C.

Os SSPS secos em *spray dryer* apresentam área superficial muito maior por causa do tamanho muito inferior das partículas quando comparado ao liofilizado. Essa diferença pode interferir na forma de hidratação do polissacarídeo e na sua capacidade de retenção de água.

4.1.3. Espectroscopia de Infravermelho

A espectroscopia de absorção no infravermelho permite determinar os grupos funcionais de um dado material, baseando-se no fato de que as ligações químicas das substâncias possuem frequências de vibração específicas na região do infravermelho.

Assim, um gráfico de intensidade de radiação versus frequência, o espectrograma de infravermelho, permite caracterizar os grupos funcionais de um padrão ou de um material desconhecido.

Os espectros obtidos na incidência do infravermelho (Figura 4.2) trazem informações qualitativas que indicam que a princípio não houve variação entre os polissacarídeos obtidos em diferentes condições de extração. As três curvas obtidas se mostraram muito parecidas, apresentando os mesmos sinais e picos com valores muito semelhantes. Contudo existe uma diferença nos valores de absorção do SSPS-A quando comparado aos demais. Essa distância observada entre as curvas pode ter ocorrido devido a uma diferença na quantidade do material. Essa diferença é devido à manipulação dos polissacarídeos que estavam na forma de pó e que foram colocados diretamente no equipamento. Os polissacarídeos B e C são formados por partículas menores, mais uniformes e mais compactas (Figura 4.1b e 4.1c), enquanto o SSPS-A apresenta partículas maiores e heterogêneas (Figura 4.1a). Isso pode ter feito diferença na hora de acondicionar o material para a realização da análise, levando a valores maiores de transmitância para as amostras mais compactas.

Em relação aos sinais obtidos nota-se um pico em comprimento de onda próximo a 3280 cm^{-1} . A absorção da luz infravermelha na região de $2500\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$ é associada a estiramentos de ligações O-H (GNANASAMBANDAM & PROCTOR, 1999). Contudo as vibrações destes estiramentos ocorrem dentro de uma ampla faixa de frequência e podem indicar diversas características (SILVERSTEIN et al., 1991). No caso do SSPS o comportamento observado na Figura 4.2 para esta região de comprimento de onda pode ser

devido a pontes de hidrogênio inter e intramoleculares do polímero, que apresenta ácido galacturônico.

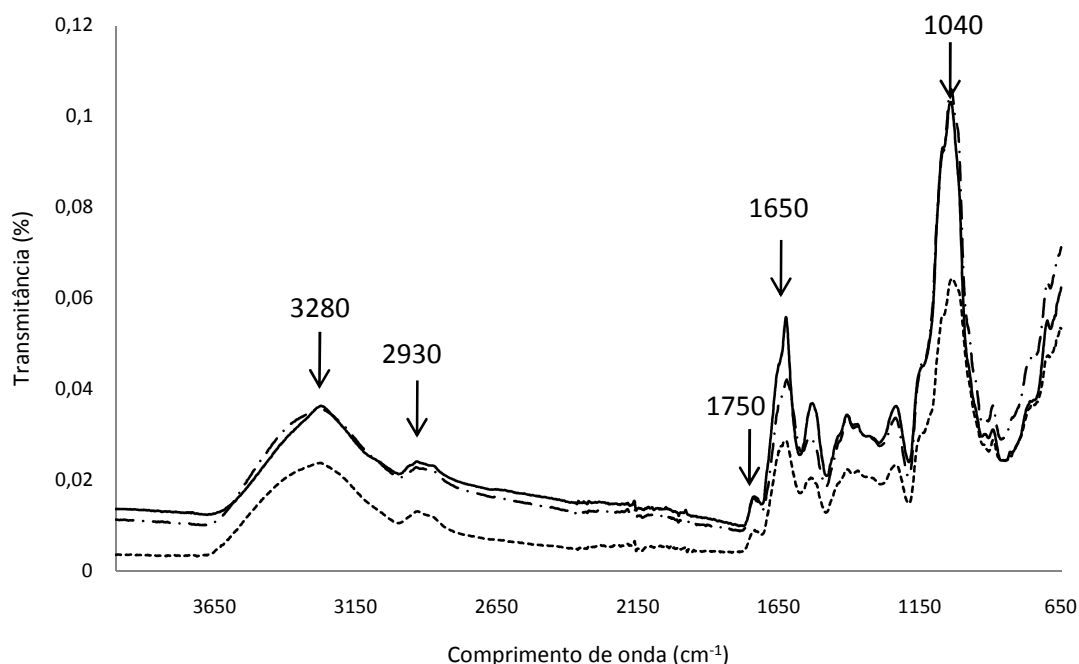


Figura 4.2. Análise de FTIR para polissacarídeo solúvel de soja. (- - -) SSPS-A; (- • -) SSPS-B; (—) SSPS-C.

Outro sinal observado foi em 2930 cm^{-1} . Bandas em torno de 2950 cm^{-1} se referem à absorção C-H, que inclui estiramentos de grupos C-H, C-H₂ e C-H₃. Nas pectinas os estiramentos C-H acabam se apresentando em bandas sobrepostas sobre as da região O-H que são mais amplas ($2500\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$). No caso de pectinas esterificadas, um estiramento O-CH₃ seria esperado entre $2950\text{-}2750\text{ cm}^{-1}$ devido ao éster metílico de ácido galacturônico. Contudo, devido ao amplo estiramento da região O-H, que mascara a atividade O-CH₃ esta banda não pode ser tomada como um real indicador de esterificação da molécula (GNANASAMBANDAN & PROCTOR, 2000).

Dessa forma o grau de esterificação das moléculas pode ser melhor observado com a presença de outros picos. As bandas em torno de 1650 e 1750 cm^{-1} são indicativos de grupos carboxilas livres e esterificados respectivamente, que podem ser indicativos do grau de esterificação da molécula (KAMNEV et al., 1998; GNANASAMBANDAN & PROCTOR, 1999; MARRY et al., 2000).

A absorção em 1750 cm^{-1} , especificamente, se refere a um estiramento da ligação C=O de grupos carboxílicos, e o maior valor de absorção é relacionado com o aumento do grau de esterificação do ácido urônico (FURUTA et al., 1998; KAMNEV et al., 1998). Visualizando a Figura 4.2 nas regiões destes comprimentos de onda é possível notar que o pico referente à região de 1650 cm^{-1} se apresenta de forma muito mais proeminente que em 1750 cm^{-1} . Pode-se presumir com este resultado que um maior número de carboxilas se apresenta livre do que na forma esterificada, podendo classificar os polissacarídeos obtidos como polissacarídeos com baixo grau de esterificação.

O polissacarídeo solúvel de soja apresenta também uma parte com características de proteínas. Regiões de comprimento de onda próximas a 1040 cm^{-1} são característicos de aminas protonadas; sendo que se pode observar que os espectros obtidos mostram regiões características desses grupos, confirmando os resultados obtidos a partir da análise de Kjehldhal que indicou cerca de 35% de proteínas em base seca.

4.1.4. Viscosidade Intrínseca

Medidas de viscosidade de soluções poliméricas diluídas ou de viscosidade intrínseca fornecem informações a respeito das dimensões da cadeia, do formato e tamanho do polímero (volume hidrodinâmico), além de sua massa molecular (HARDING, 1998). A

viscosidade intrínseca está diretamente relacionada ao volume hidrodinâmico da partícula. Quanto maior for o volume hidrodinâmico, maior será o seu valor. Portanto, a viscosidade intrínseca depende da massa molecular e da interação entre os segmentos do polímero e das moléculas do solvente. Quanto maior for esta interação, tanto maior (mais inchado) será o formato ou raio de giro do polímero.

A Figura 4.3 apresenta as curvas com os valores de viscosidade reduzida em relação à concentração (gráfico de Huggins) de todos os SSPS para cada solvente estudado; enquanto a Figura 4.4 compara o efeito dos diferentes solventes para um mesmo polissacarídeo. Em ambas as figuras se nota que o comportamento dos polissacarídeos é semelhante em todos os solventes utilizados, sendo que a maior diferença ocorreu na solução de sacarose 12°Brix e pH 7,0, pois a curva do SSPS-A apresentou valores de viscosidade reduzida um pouco superior às outras. Observa-se também que o comportamento dos polissacarídeos apresentou um comportamento semi-hiperbólico em todas as curvas, não sendo possível determinar a viscosidade intrínseca pela extrapolação das curvas experimentais para valores de concentração tendendo a zero.

Em sistemas diluídos, as interações iônicas entre o polieletrólito e íons de cargas opostas se tornam menores. Sendo assim, a carga líquida da cadeia polimérica aumenta e conseqüentemente ocorre expansão do macro íon, aumentando a viscosidade da solução e impossibilitando a extrapolação da curva. Furuta & Maeda (1999) obtiveram resultados semelhantes para o SSPS extraído a 120°C e pH 5,0; contudo estes autores obtiveram um aumento menos pronunciado da viscosidade reduzida, o que fez com que a curva tivesse um comportamento mais suave. Estes autores concluíram que tal comportamento foi suavizado devido à presença de ácido urônico na molécula do polissacarídeo e que elas

provavelmente se localizam próximas umas das outras, fazendo com que a repulsão não se estenda por toda a molécula.

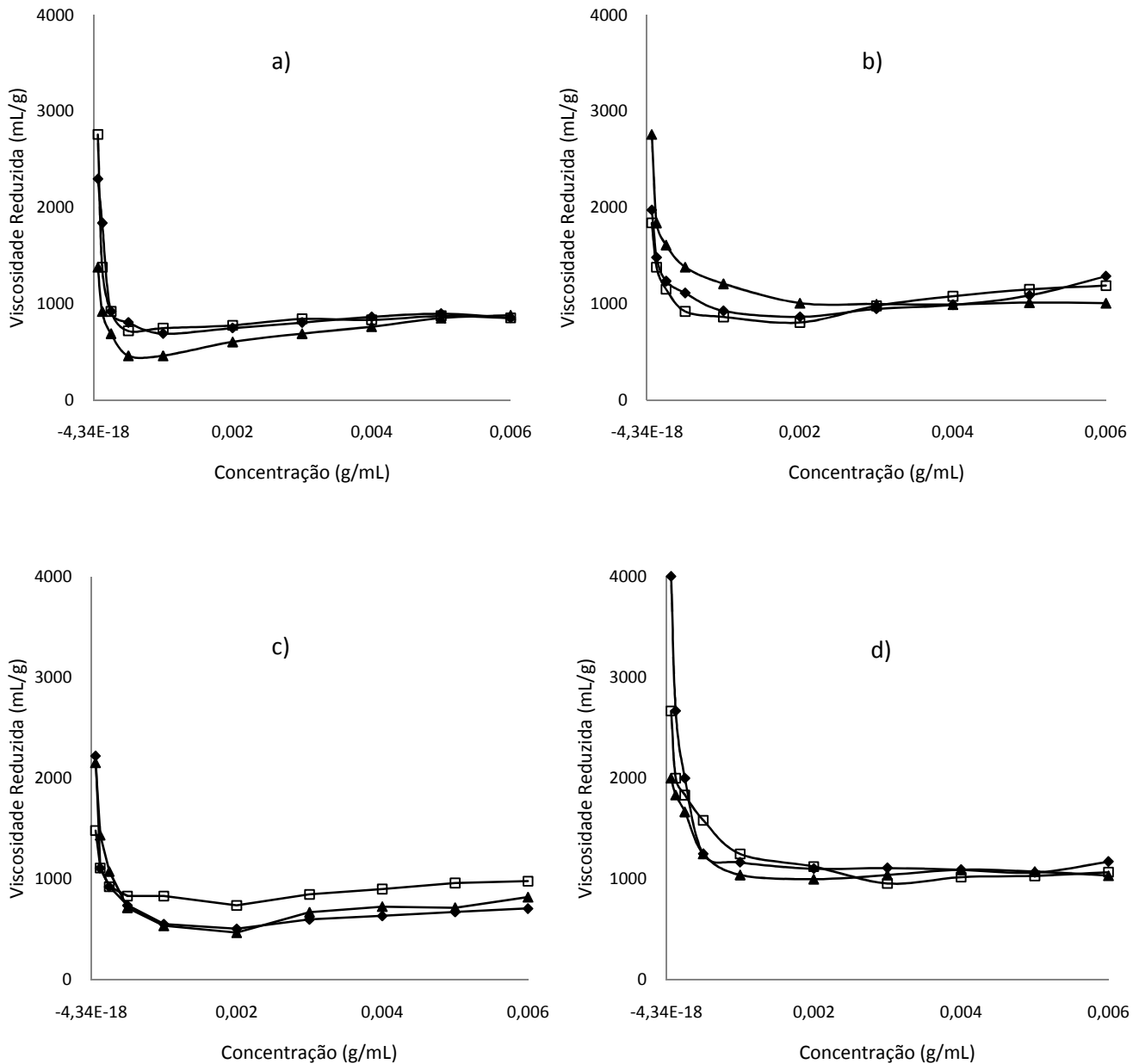


Figura 4.3. Gráfico de Huggins das diferentes soluções contendo SSPS. a) Água deionizada pH 3,0; b) Água deionizada pH 7,0; c) Solução 12°Brix pH 3,0; d) Solução 12°Brix pH 7,0. (◆) SSPS-A; (□) SSPS-B; (▲) SSPS-C.

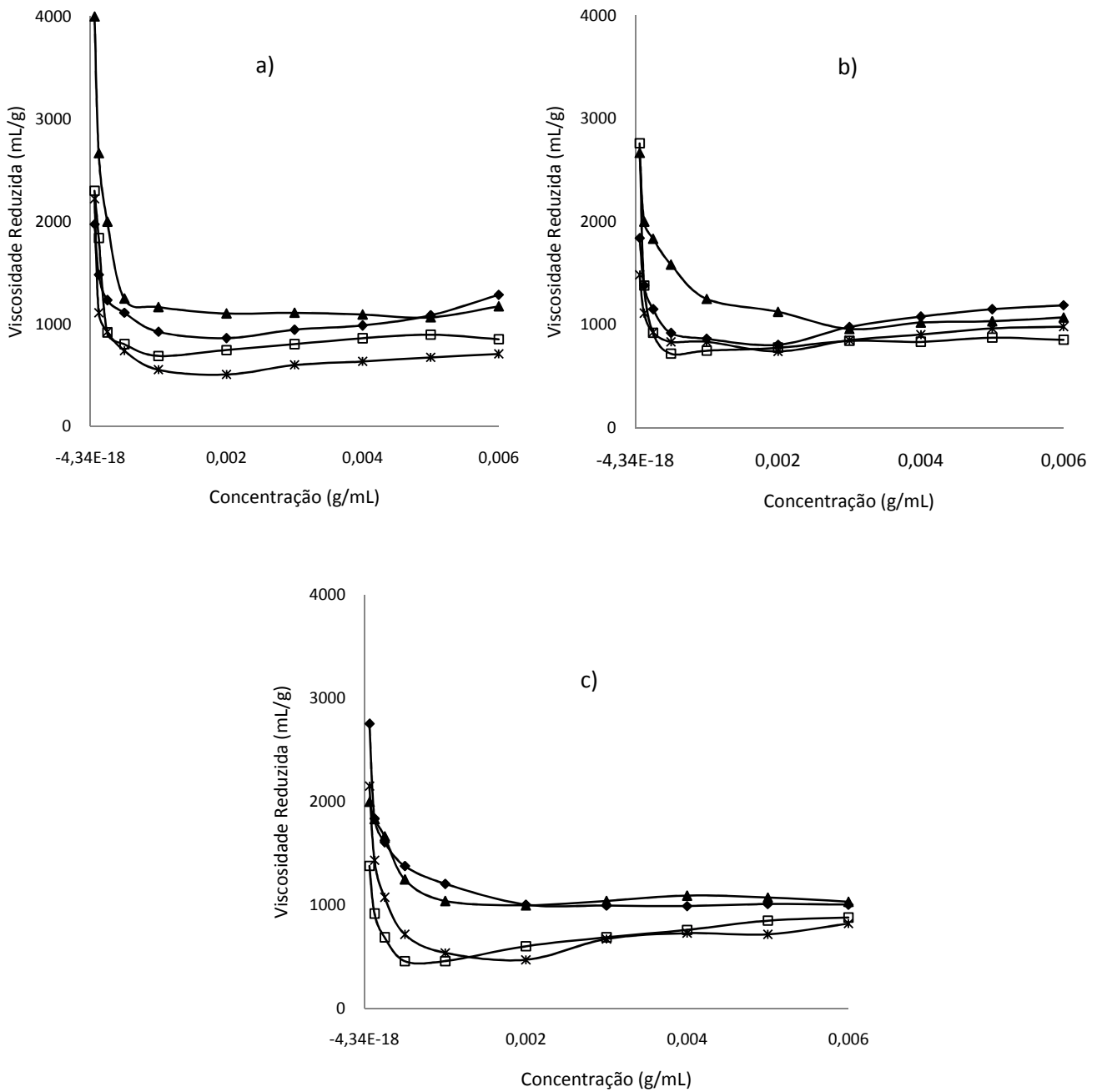


Figura 4.4. Gráfico de Huggins para os SSPS nas soluções estudadas. a) SSPS-A; b) SSPS-B; c) SSPS-C. (◆) Água deionizada pH 7,0; (□) Água deionizada pH 3,0; (▲) Solução 12°Brix pH 7,0; (*) Solução 12°Brix pH 3,0.

Em contrapartida, neste trabalho os resultados mostram um forte aumento no valor da viscosidade reduzida com o aumento da diluição. Isso se deve em parte à forma de extração. Existem evidências de que a massa molar, o tamanho e carga das moléculas do SSPS podem ser alterados com o método de extração ou condições do meio, sendo que algumas vezes podem mudar simultaneamente, levando a polissacarídeos com propriedades diferentes (FURUTA et al., 1998). Esse fato também ocorre quando se trata da extração de outros polissacarídeos. A pectina pode apresentar maior ou menor grau de esterificação dependendo do tipo de extração realizada, fazendo com que comportamentos diferentes sejam obtidos (YOO et al., 2006, MORRIS et al., 2000).

Moléculas de pectina com alto grau de esterificação mostram um aumento contínuo no seu volume molecular com o aumento da diluição da mesma forma que os SSPS-A. Este aumento observado por outros autores foi atribuído à expansão das moléculas com a diluição devido à formação de grandes redes ou um aumento nas repulsões eletrostáticas ao longo da cadeia (SATO et al., 2008; YOO et al., 2006).

No entanto, as pectinas com baixo grau de esterificação mostraram que com o aumento da diluição o valor da viscosidade decresce até um valor mínimo e após esse valor um aumento dessa viscosidade com a continuidade do aumento da diluição. Esse comportamento foi observado nas curvas dos polissacarídeos B e C em alguns dos solventes. Nesses casos, o aumento da viscosidade abaixo da concentração onde ocorre o valor mínimo é atribuído as interações polímero-polímero entre os agregados. A análise de FTIR sugere a existência de grupos carboxilas esterificados, porém em menor quantidade que os grupos livres e o maior número de carboxilas no polímero com baixo grau de metoxilação também pode ser atribuído a esse aumento (YOO et al., 2006).

Na Figura 4.4. é possível notar que de um modo geral, mudanças no pH influenciaram de forma mais pronunciada o comportamento das curvas dos polissacarídeos, quando comparado à adição de sacarose. Os valores de viscosidade reduzida se apresentaram menores em pH ácido nos dois solventes utilizados – água deionizada e solução de sacarose. Essa tendência é melhor visualizada no caso do SSPS-C. No SSPS-B, quando a diluição desse polissacarídeo é maior, a viscosidade reduzida em água deionizada e pH 7,0 se comporta de maneira semelhante aos meios com pH ácido. No SSPS-A por sua vez, verifica-se uma aproximação das curvas dos pHs 3,0 e 7,0 em água, apesar do pH neutro continuar sendo superior.

Ao ajustar essas curvas para os modelos de Fuoss e Huggins (Equações 3.1 e 3.2), foi possível obter estimativas para os valores de viscosidade intrínseca dos polissacarídeos nos diferentes solventes – que estão representados nas Tabelas 4.2 e 4.3. A viscosidade intrínseca geralmente difere quando se comparam os diferentes polissacarídeos em um mesmo solvente e que apenas no caso da solução de sacarose e pH 7,0 os valores não diferiram significativamente ($p < 0,05$).

Geralmente, quando não se avalia o efeito do pH na viscosidade intrínseca, utilizando-se água deionizada e pH neutro, pode se observar que os valores de viscosidade intrínseca apresentam um decréscimo com o possível maior grau de esterificação da molécula de polissacarídeo. Essa diminuição pode indicar que com o aumento da esterificação ocorre um decréscimo na rigidez da molécula (MORRIS et al., 2000), que pode ser atribuído a menor repulsão existente e que é decorrente da redução da quantidade de grupos ionizados presentes na mesma molécula. Esse comportamento foi obtido para este tipo de solvente, sendo os maiores valores observados para o SSPS-C.

Tabela 4.2. Valores de viscosidade intrínseca obtidos através da equação de Huggins para todos os SSPS.

Solvente	SSPS-A			SSPS-B			SSPS-C		
	[η] (ml/g)	k_1	R^2	[η] (ml/g)	k_1	R^2	[η] (ml/g)	k_1	R^2
Água deionizada pH 7,0	6175 ^{a,A*}	0,029 ^{a,A}	99,73	7546 ^{a,B}	0,013 ^{a,A}	99,85	10435 ^{a,C}	-0,001 ^{a,B}	99,73
Água deionizada pH 3,0	7674 ^{b,A}	0,003 ^{b,A}	99,77	7750 ^{a,A}	0,003 ^{b,c,A}	99,82	4842 ^{b,B}	0,030 ^{b,B}	99,89
Solução 12°Brix pH 7,0	10564 ^{c,A}	0,001 ^{c,A}	99,70	10456 ^{b,A}	0,000 ^{b,A}	99,58	10927 ^{a,A}	-0,001 ^{a,A}	99,87
Solução 12°Brix pH 3,0	4885 ^{a,A}	0,016 ^{a,b,c,A}	99,83	7120 ^{a,B}	0,010 ^{a,c,A}	99,92	4682 ^{b,A}	0,026 ^{b,B}	99,57

* Letras minúsculas iguais em uma mesma coluna indicam não haver diferença significativa entre os resultados ($p < 0,05$). Letras maiúsculas iguais em uma mesma linha indicam não haver diferença significativa entre os resultados para cada variável analisada ($p < 0,05$).

Tabela 4.3. Valores de viscosidade intrínseca obtidos através da equação de Fuoss para todos os SSPS.

Solvente	SSPS-A			SSPS-B			SSPS-C		
	[η] (ml/g)	k_1	R^2	[η] (ml/g)	k_1	R^2	[η] (ml/g)	k_1	R^2
Água deionizada pH 7,0	5573 ^{a,A*}	-7,18 ^{a,A}	99,78	6837 ^{a,B}	-5,56 ^{a,B}	99,84	11132 ^{a,C}	1,53 ^{a,C}	99,70
Água deionizada pH 3,0	7174 ^{b,A}	-2,33 ^{b,A}	99,78	7321 ^{a,A}	-1,98 ^{b,c,A}	99,82	4522 ^{b,B}	-6,38 ^{b,B}	99,88
Solução 12°Brix pH 7,0	10436 ^{c,A}	-1,00 ^{b,A}	99,69	11157 ^{b,A}	0,98 ^{b,A}	99,60	11225 ^{a,A}	0,93 ^{a,A}	99,87
Solução 12°Brix pH 3,0	4372 ^{a,A}	-4,96 ^{a,A}	99,83	6450 ^{a,B}	-4,49 ^{a,c,A}	99,92	4223 ^{b,A}	-6,20 ^{b,B}	99,57

* Letras minúsculas iguais em uma mesma coluna indicam não haver diferença significativa entre os resultados ($p < 0,05$). Letras maiúsculas iguais em uma mesma linha indicam não haver diferença significativa entre os resultados para cada variável analisada ($p < 0,05$).

Contudo em água deionizada e pH ácido pode ser observado que o polissacarídeo C foi o que apresentou os menores valores para a viscosidade intrínseca, ou seja, essa solução atuou como um mau solvente quando comparada ao pH neutro. Em bons solventes, o contato solvente-polímero é preferido, diminuindo a interação entre os polímeros (LAPASIN & PRICL, 1995). A presença de maior número de grupos carboxila ionizados faz com que este polissacarídeo aniônico interaja com ele mesmo à medida que os sítios disponíveis são neutralizados na presença de íons H⁺. Dessa forma há uma diminuição do volume hidrodinâmico do polissacarídeo, e por conseqüência da viscosidade do meio.

Em todos os polissacarídeos os maiores valores encontrados ocorreram quando foi utilizada solução de sacarose e pH 7,0. Nessa solução não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre um polissacarídeo e outro; no entanto o SSPS-C foi o único que também não mostrou diferença significativa ($p < 0,05$) com o valor observado em água e pH 7,0. Em um estudo feito por Launay e colaboradores (1997) também não foram observadas diferenças nos valores de viscosidade para guar e LBG em soluções com 0%, 10% e 40% de concentração de sacarose. Contudo, o aumento da concentração de sacarose mostrou diferença significativa ($p < 0,05$) para os SSPS-A e B. Esse comportamento poderia ser explicado pela ação desidratante da sacarose que compete pelas ligações com as moléculas de água, diminuindo as pontes de hidrogênio entre o polissacarídeo e a água, aumentando o valor de viscosidade (LAUNAY et al., 1997).

Os valores da estimativa da massa molecular hidrodinâmica são mostrados na Tabela 4.4. Os valores obtidos pela equação de Fuoss e pela equação de Huggins não diferiram significativamente ($p < 0,05$), sendo que variaram de aproximadamente 90 kDa até valores próximos a 400 kDa. Isto pode ser um indicativo da alteração molecular provocada

principalmente pela temperatura de extração. Furuta et al.(1998) mostraram que o SSPS é formado por quatro frações de diferentes pesos moleculares, e que a predominância dessas frações difere dependendo do pH e temperatura utilizados para extrair o polissacarídeo. Isso pode ser mais um indicativo de que as estruturas moleculares dos SSPS-A, B e C são diferentes e dependem do tratamento utilizado, levando a comportamentos diferentes.

Tabela 4.4. Estimativa do peso molecular hidrodinâmico em kDa através de valores de viscosidade intrínseca obtidos pelas equações de Huggins e Fuoss para os SSPS estudados.

Solvente	SSPS-A		SSPS-B		SSPS-C	
	Huggins	Fuoss	Huggins	Fuoss	Huggins	Fuoss
Água deionizada pH 7,0	161 ^{a,A}	137 ^{a,b,A}	221 ^{a,B}	173 ^{a,B}	366 ^{a,C}	405 ^{a,C}
Água deionizada pH 3,0	226 ^{b,A}	204 ^{a,A}	230 ^{a,A}	406 ^{a,A}	110 ^{b,B}	99 ^{b,B}
Solução 12°Brix pH 7,0	373 ^{c,A}	366 ^{c,A}	367 ^{b,A}	210 ^{b,A}	393 ^{a,A}	410 ^{a,A}
Solução 12°Brix pH 3,0	112 ^{a,A}	94 ^{a,A}	201 ^{a,B}	189 ^{a,B}	105 ^{b,A}	89 ^{b,A}

* Letras minúsculas iguais em uma mesma coluna indicam não haver diferença significativa entre os resultados ($p < 0,05$). Letras maiúsculas iguais em uma mesma linha indicam não haver diferença significativa entre os resultados para cada variável analisada ($p < 0,05$).

Furuta & Maeda (1999) também estimaram o peso molecular do SSPS extraído a 120°C e pH 5,0 através da medida da viscosidade intrínseca em solução de NaCl 1M e pH 7,0, onde obtiveram um valor em torno de 114kDa. Esse valor mais baixo quando comparado com a solução em água em mesmo pH pode ser explicado pelo aumento da força iônica da solução salina. A presença de uma maior quantidade de cátions leva a

neutralização do polissacarídeo e uma decorrente diminuição das forças de repulsão. É possível perceber também que esse valor divergiu de forma mais acentuada dos SSPS-B e C, novamente devido ao provável grau de esterificação.

Além disso, a temperatura de extração pode ter levado a polissacarídeos com massas moleculares diferentes, com predominância de frações distintas em cada polissacarídeo, o que também acarreta em propriedades funcionais diferentes. Com isto é possível chegar à conclusão de que a extração em meio ácido e temperaturas mais brandas produziu polissacarídeos com estrutura diferente daquelas obtidas por Furuta et al. (1998), devido principalmente às diferentes condições de extração. E que possivelmente, uma das diferenças entre os extratos obtidos foi em relação à massa molecular dos polissacarídeos e ao grau de esterificação dos grupos carboxilas.

4.1.5. Ensaios Reológicos de Soluções Concentradas de SSPS

4.1.5.1. Influência do Tipo de Solvente

Foram realizadas análises reológicas a fim de se avaliar o efeito do solvente no comportamento das soluções de cada polissacarídeo. Nessas análises, além da influência do pH e da concentração de sacarose, foi avaliada a influência da concentração de CaCl_2 ; para isso a concentração dos polissacarídeos foi fixada em 5,0% (p/v). As curvas obtidas para o SSPS-A, B e C estão representadas nas Figuras 4.5a, 4.5b e 4.6 respectivamente.

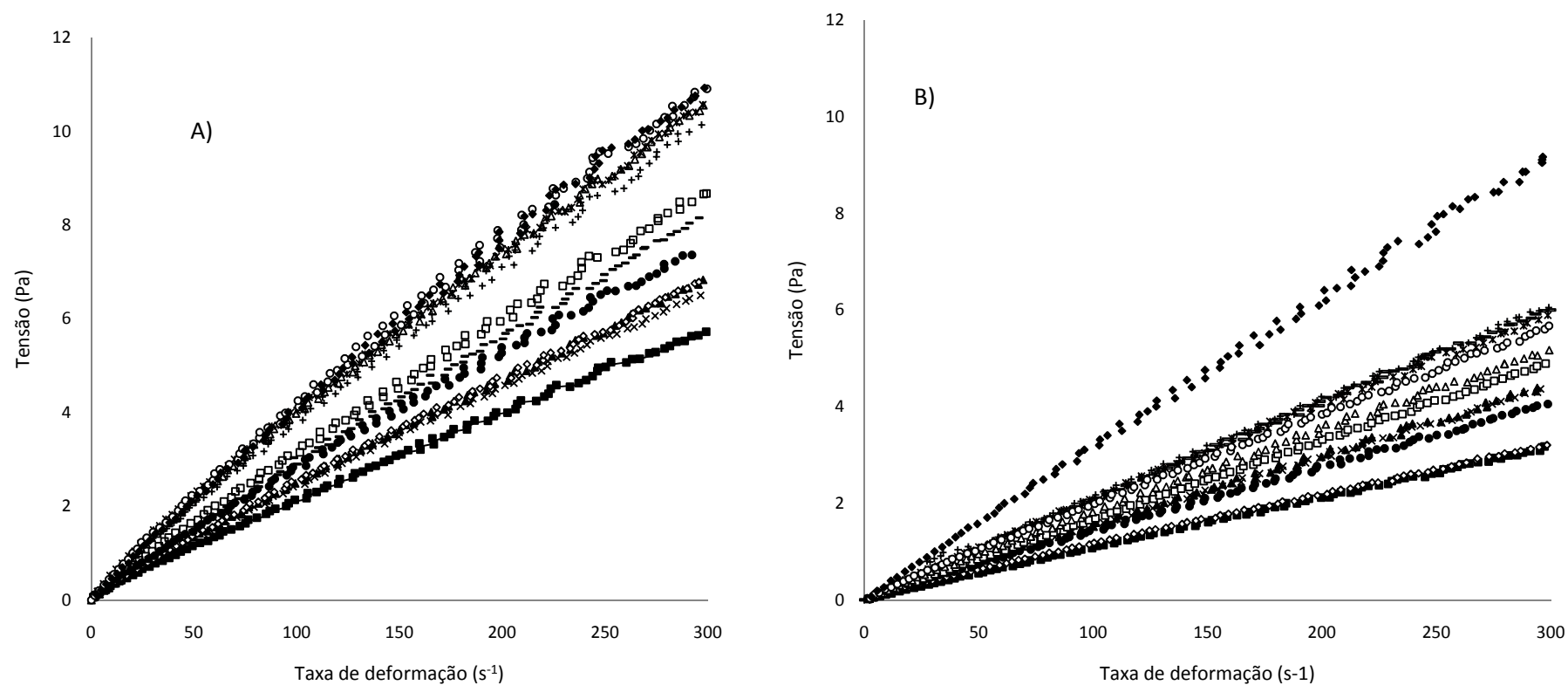


Figura 4.5. Curvas reológicas para solução 5% (p/v) de SSPS-A e B em diferentes solventes. A) SSPS-A e B) SSPS-B. (■) Água deionizada, pH 3,0, 0mM; (×) Água deionizada, pH 3,0, 100mM; (▲) Água deionizada, pH 3,0, 200mM; (●) Água deionizada, pH 7,0, 0mM; (◇) Água deionizada, pH 7,0, 100mM; (●) Água deionizada, pH 7,0, 200mM (□) Solução de sacarose 12°Brix, pH 3,0, 0mM; (+) Solução de sacarose 12°Brix, pH 3,0, 100mM; (*) Solução de sacarose 12°Brix, pH 3,0, 200mM; (◆) Solução de sacarose 12°Brix, pH 7,0, 0mM; (△) Solução de sacarose 12°Brix, pH 7,0, 100mM; (○) Solução de sacarose 12°Brix, pH 7,0, 200mM.

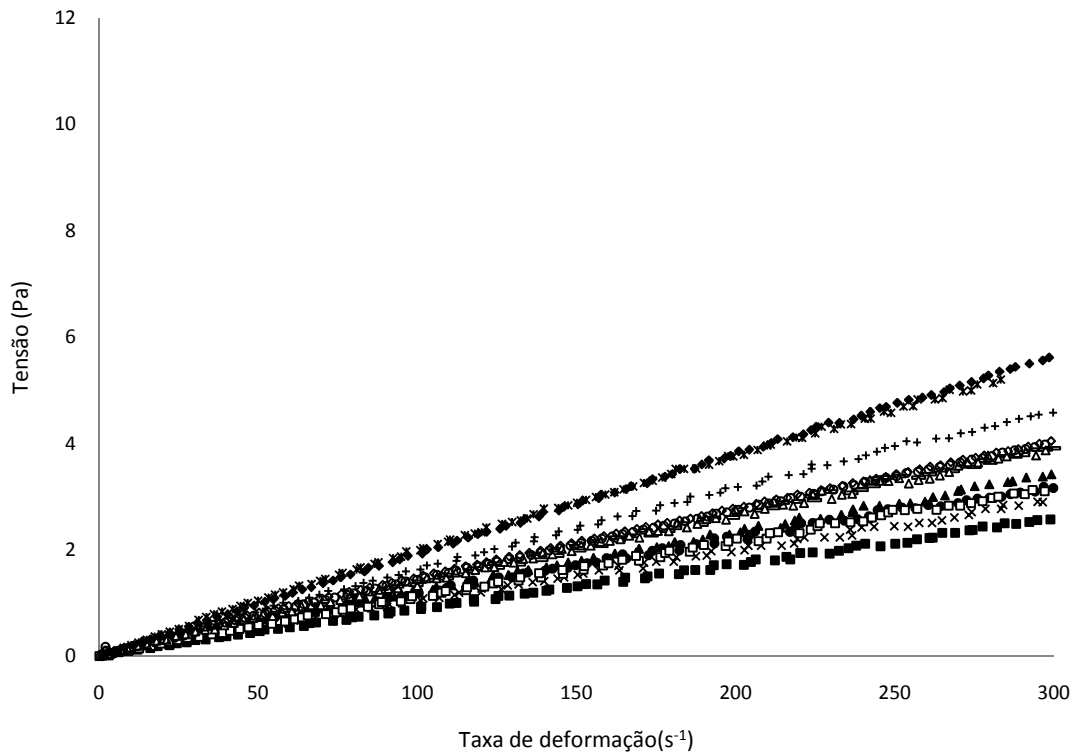


Figura 4.6. Curvas reológicas para solução 5% (p/v) de SSPS-C em diferentes solventes. (■) Água deionizada, pH 3,0, 0mM; (×) Água deionizada, pH 3,0, 100mM; (▲) Água deionizada, pH 3,0, 200mM; (—) Água deionizada, pH 7,0, 0mM; (◇) Água deionizada, pH 7,0, 100mM; (●) Água deionizada, pH 7,0, 200mM (□) Solução de sacarose 12°Brix, pH 3,0, 0mM; (+) Solução de sacarose 12°Brix, pH 3,0, 100mM; (*) Solução de sacarose 12°Brix, pH 3,0, 200mM; (◆) Solução de sacarose 12°Brix, pH 7,0, 0mM; (△) Solução de sacarose 12°Brix, pH 7,0, 100mM; (○) Solução de sacarose 12°Brix, pH 7,0, 200mM.

O comportamento das curvas para os três polissacarídeos foi parecido. Em todos os casos os menores valores de tensão obtidos foram para os SSPS em água deionizada e pH 3,0. Quando comparados os valores para as soluções de sacarose nota-se que nesses casos o pH ácido também levou a menores tensões de cisalhamento. Esses resultados estão de

acordo com o estudo feito por Futura & Maeda (1999), em que demonstraram que o aumento do pH leva a um aumento da viscosidade do sistema.

Esses mesmos autores relataram que a adição de sais em soluções de SSPS mudou apenas ligeiramente o comportamento reológico dos sistemas e concluíram que este polímero embora possua ácido urônico, este não reage com os cátions provenientes dos sais. Entretanto, nos meios ácidos estudados o aumento da concentração de sal fez com que os valores de tensão também aumentassem. Quando a força iônica desses sistemas aumenta, as forças repulsivas eletrostáticas vão diminuindo gradualmente e as cadeias adjacentes se tornam próximas umas as outras e em concentrações suficientemente altas de sal elas podem se associar formando agregados e aumentando a força da rede (KJØNIKSEN et al., 2005). Isso sugere que a mudanças conformacionais e eletrostáticas na parte de carboidrato do SSPS afetou a funcionalidade do hidrocolóide, originalmente a partir da molécula de proteína, pela alteração do balanço hidrofílico-hidrofóbico como resultado de efeitos sinérgicos entre pH e CaCl_2 (NAKAUMA et al., 2008). Já nas soluções neutras a adição de sal diminuiu os valores de tensão, porém ao aumentar a força iônica de 100 mM para 200 mM provocou um aumento nesses valores, que continuaram a ser menores que os valores obtidos nas soluções sem adição de sal.

Quando comparados os gráficos de todos os polissacarídeos observa-se que em todos eles os maiores valores de tensão foram obtidos para as curvas de solução de sacarose e pH 7,0 sem adição de CaCl_2 . Apesar disso todos os valores de tensão a taxa de deformação de 300 s^{-1} foram maiores para o SSPS-A seguido do SSPS-B e C, respectivamente. Para as curvas com maior tensão o valor para o SSPS-A foi em torno de 11 Pa, o SSPS-B 9 Pa e o valor mais baixo foi cerca de 5,7 Pa. Essa diferença mais uma vez

é remetida aos diferentes processos de extração que pode ter levado principalmente a polissacarídeos com frações de massa molecular e/ou grau de esterificação diferentes e conseqüentemente a diferentes propriedades funcionais.

Todas as curvas obtidas nas Figuras 4.5a, 4.5b e 4.6 foram ajustadas aos modelos reológicos clássicos, sendo que o modelo Lei da Potência (Eq. 2.3) foi o que apresentou melhor ajuste em todos os casos. Os parâmetros de ajuste de cada polissacarídeo são apresentados na Tabela 4.5.

Tabela 4.5. Parâmetros reológicos obtidos pela equação da lei da potência para os polissacarídeos de soja

Solvente	SSPS-A		SSPS-B		SSPS-C	
	k (Pa.s ⁿ)	n	k (Pa.s ⁿ)	n	k (Pa.s ⁿ)	n
Água pH 3,0 0mM	0,033 ^{a,b}	0,910 ^a	0,013 ^a	0,968 ^{a,b,c}	0,012 ^a	0,950 ^a
Água pH 3,0 100mM	0,040 ^{a,b,c}	0,897 ^a	0,019 ^{b,c}	0,953 ^{a,b,c}	0,014 ^{a,b}	0,937 ^{a,b}
Água pH 3,0 200mM	0,038 ^{a,b,c}	0,911 ^a	0,019 ^{b,c}	0,956 ^{a,b,c}	0,016 ^{a,b}	0,937 ^{a,b}
Água pH 7,0 0mM	0,040 ^{a,b,c}	0,931 ^a	0,023 ^{b,d}	0,982 ^a	0,017 ^{a,b}	0,962 ^a
Água pH 7,0 100mM	0,046 ^{a,b,c}	0,882 ^a	0,018 ^c	0,916 ^d	0,023 ^c	0,905 ^c
Água pH 7,0 200mM	0,045 ^{a,b,c}	0,901 ^a	0,019 ^{b,c}	0,909 ^{b,c}	0,020 ^{a,b}	0,902 ^b
Sacarose pH 3,0 0mM	0,049 ^a	0,909 ^a	0,019 ^{b,c}	0,972 ^{a,b,c}	0,014 ^{a,b}	0,959 ^a
Sacarose pH 3,0 100mM	0,063 ^{b,c}	0,892 ^a	0,027 ^e	0,954 ^{a,b,c}	0,021 ^{a,b}	0,943 ^{a,b}
Sacarose pH 3,0 200mM	0,066 ^{b,c}	0,893 ^a	0,027 ^{d,e}	0,952 ^{b,c}	0,027 ^b	0,931 ^{a,b}
Sacarose pH 7,0 0mM	0,061 ^{a,b,c}	0,915 ^a	0,035 ^f	0,977 ^{a,b}	0,022 ^{a,b}	0,973 ^a
Sacarose pH 7,0 100mM	0,066 ^{b,c}	0,889 ^a	0,025 ^{d,e}	0,946 ^{c,d}	0,019 ^{a,b}	0,938 ^{a,b}
Sacarose pH 7,0 200mM	0,072 ^{b,c}	0,886 ^a	0,025 ^{d,e}	0,952 ^{b,c}	0,021 ^{a,b}	0,930 ^{a,b}

* Letras minúsculas iguais em uma mesma coluna indicam não haver diferença significativa entre os resultados (p<0,05).

Nessa tabela pode-se notar que os valores do índice de comportamento (n) não divergiram significativamente ($p < 0,05$) para o SSPS-A. Por sua vez, o aumento da concentração de íons nos sistemas em pH ácido não provocaram diferença significativa ($p < 0,05$) para este índice no SSPS-B. Quando foi utilizado pH 7,0 para este polissacarídeo observou-se que o aumento da força iônica aumentou a pseudoplasticidade do sistema, com valores de n chegando a 0,9; levando a diferenças consideradas significativas ($p < 0,05$). No entanto, o polissacarídeo C apesar de apresentar resultados semelhantes ao SSPS-B, quando foi adicionado em solução de sacarose e pH 7,0 os valores para o índice de comportamento não divergiram significativamente ($p < 0,05$) da maioria dos solventes.

Em termos de viscosidade aparente foram analisados os valores obtidos para taxa de deformação de 50 s^{-1} (Tabela 4.6) que é tida como similar às condições de consumo, denominada de η_{50} . Em todos os casos os valores obtidos para soluções ácidas em água deionizada e solução de sacarose mostraram um aumento nessa viscosidade com o aumento da concentração de íons no sistema.

Ao se estudar essa variável em solução neutra, se observa que a tendência desses valores difere de um polissacarídeo para outro. No polissacarídeo A, quando este está dissolvido em água deionizada, ocorre um aumento de η_{50} com o aumento de sal no sistema, enquanto no SSPS-B ocorre comportamento inverso. Já os valores mostrados pelo SSPS-C diminuem com aumento da concentração de CaCl_2 para 100 mM; mas ao aumentar novamente essa concentração para 200 mM o valor de viscosidade aumentou em relação a solução de 100 mM. Comportamento igual a esse ocorreu para todos os polissacarídeos quando a solução utilizada foi sacarose em pH 7,0.

Tabela 4.6. Valores de viscosidade aparente (cP) em taxa de deformação de $50s^{-1}$ (η_{50}) para todos os SSPS

Solvente	SSPS		
	SSPS-A	SSPS-B	SSPS-C
Água pH 3,0 0mM	13,57 ^a	11,31 ^a	9,69 ^a
Água pH 3,0 100mM	16,40 ^{a,b}	15,86 ^b	11,00 ^{a,b}
Água pH 3,0 200mM	18,86 ^{b,c}	15,87 ^b	13,01 ^{b,c,d}
Água pH 7,0 0mM	22,32 ^c	21,26 ^{c,d}	14,29 ^{c,d,e}
Água pH 7,0 100mM	25,54 ^{b,c}	12,93 ^e	17,92 ^{f,g}
Água pH 7,0 200mM	27,72 ^c	15,68 ^b	12,82 ^{b,c}
Sacarose pH 3,0 0mM	20,13 ^d	17,03 ^b	11,86 ^b
Sacarose pH 3,0 100mM	28,52 ^e	22,62 ^c	17,22 ^f
Sacarose pH 3,0 200mM	43,54 ^{e,f}	21,88 ^{c,g}	20,82 ^h
Sacarose pH 7,0 0mM	43,08 ^{e,f}	32,32 ^f	19,44 ^{g,h}
Sacarose pH 7,0 100mM	42,22 ^{e,f}	19,77 ^d	14,97 ^{d,i}
Sacarose pH 7,0 200mM	45,60 ^f	20,70 ^{d,g}	16,24 ^{e,f,i}

* Letras minúsculas iguais em uma mesma coluna indicam não haver diferença significativa entre os resultados ($p < 0,05$).

O aumento da viscosidade ocasionado pela adição de sacarose com SSPS também foi comprovado por outros autores. Utilizando uma concentração de 10% de polissacarídeo foi observado um aumento logarítmico da viscosidade em função da concentração de sacarose na solução, sendo que esse efeito foi igual em pH 7,0 e 3,0. (Furuta & Maeda, 1999) Contudo os efeitos da adição simultânea de sal e sacarose em diferentes pHs não foi avaliado por estes autores.

4.1.6. Potencial Zeta

As Figuras 4.7a, b, c representam a análise de potencial zeta para os polissacarídeos extraídos. Os picos se apresentaram muito próximos, para os SSPS-A ($-32 \text{ mV} \pm 4,6$), B ($-36 \text{ mV} \pm 4,5$) e C ($-31,7 \text{ mV} \pm 5,9$). Este resultado indica que os polissacarídeos podem ser considerados iguais quanto à densidade de cargas.

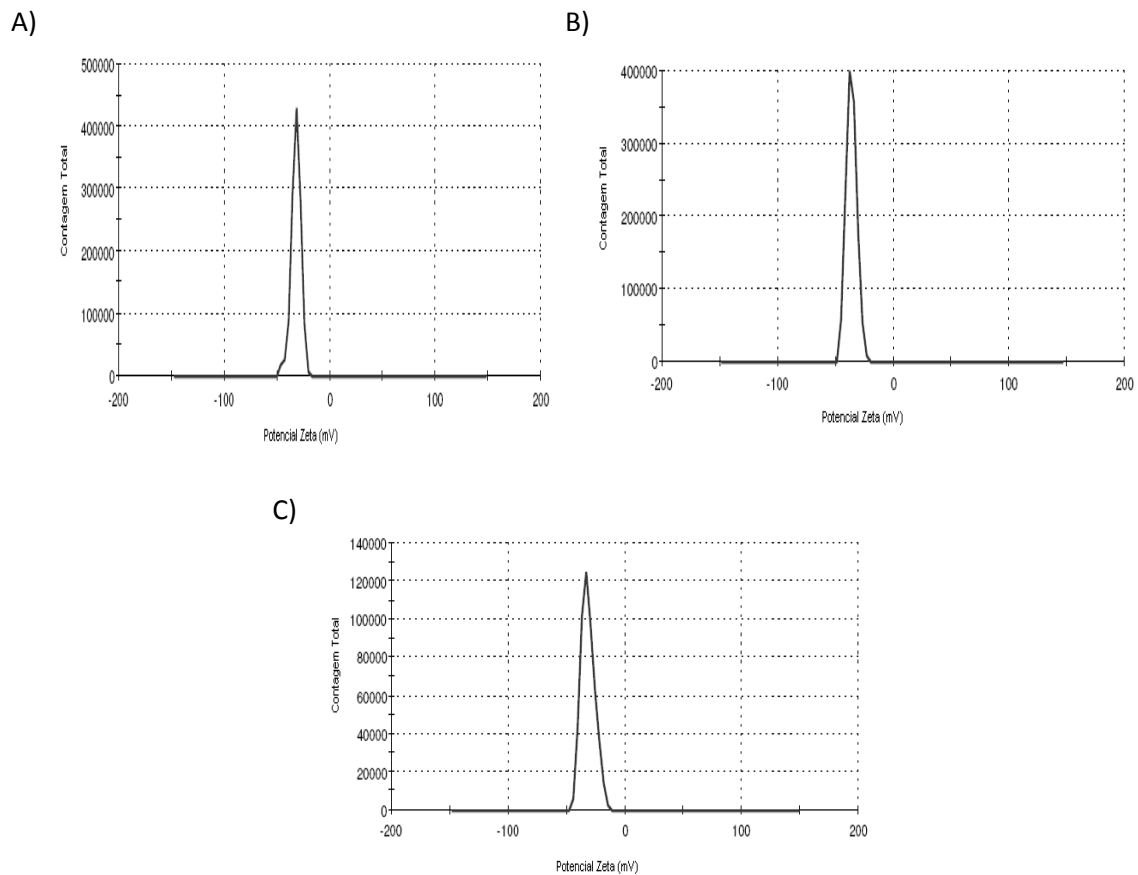


Figura 4.7. Análise de potencial zeta para os polissacarídeos solúveis de soja. A) SSPS-A, B) SSPS-B, C) SSPS-C.

Dessa forma, a hipótese de que a condição de extração e secagem produziram polissacarídeos com diferentes graus de esterificação pode ser descartada, e que o

comportamento apresentado em diferentes solventes pode ser relacionado portanto com a diferença de peso molecular.

4.2. Estudo do Comportamento dos SSPS

4.2.1. Planejamento Experimental

A Tabela 4.7 mostra as respostas obtidas para os planejamentos fatoriais realizados para os três polissacarídeos. Observando-se o índice de comportamento (n), nota-se que os valores obtidos para os SSPS-B e C são muito semelhantes, enquanto os índices do SSPS-A se mostraram com valores um pouco menores. Como o solvente utilizado foi água deionizada, o que se observa na maioria dos casos é que em menores concentrações de polissacarídeo, as soluções se aproximaram do comportamento do solvente, e nesse caso se tornaram mais próximas a um líquido Newtoniano ($n=1$). Quando são observados os valores da viscosidade de consumo (η_{50}) verifica-se que os valores obtidos para o SSPS-A são maiores que os dos demais polissacarídeos e estes por sua vez, apresentam valores muito próximos. É possível ressaltar também que existe um aumento muito mais pronunciado quando a concentração de polissacarídeo é aumentada, porém a variação do pH também aumenta a viscosidade, ainda que o efeito é bem menos pronunciado.

Tabela 4.7. Respostas de índice de comportamento (n) e viscosidade aparente em taxa de deformação de $50s^{-1}$ (η_{50}) obtidas pelo planejamento experimental 2^2 completo

Ensaio	Variáveis reais		Variáveis codificadas		SSPS-A		SSPS-B		SSPS-C	
	C%	pH	C%	pH	n	η_{50} (cP)	n	η_{50} (cP)	n	η_{50} (cP)
1	0,81	2,73	-1	-1	0,826	2,837	0,980	2,090	0,970	2,866
2	4,29	2,73	1	-1	0,910	12,738	0,959	7,837	0,931	7,428
3	0,81	6,27	-1	1	0,943	2,818	0,987	2,359	0,978	2,891
4	4,29	6,27	1	1	0,943	17,389	0,972	11,765	0,961	13,179
5	0,1	4,5	-1,41	0	0,960	1,687	1,000	1,301	1,000	1,467
6	5,0	4,5	1,41	0	0,937	19,190	0,950	12,204	0,959	15,177
7	2,55	2,0	0	-1,41	0,849	6,481	0,963	7,335	0,940	3,848
8	2,55	7,0	0	1,41	0,945	7,249	0,966	7,294	0,944	7,212
9	2,55	4,5	0	0	0,891	7,516	0,954	6,026	0,924	6,059
10	2,55	4,5	0	0	0,890	7,275	0,952	5,806	0,936	6,081
11	2,55	4,5	0	0	0,897	7,269	0,960	5,930	0,931	5,930
Média dos pontos centrais					0,893 ^a	7,353 ^a	0,955 ^b	5,921 ^b	0,930 ^c	6,023 ^b

Com a repetição dos pontos centrais é possível comparar as respostas de cada polissacarídeo através de um teste de diferença de média (teste de Tukey), avaliando se as extrações e forma de secagem provocam alguma alteração no comportamento reológico dos extratos obtidos. As médias para o índice de comportamento (n) mostraram que houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre todos os tratamentos, sendo que os polissacarídeos secos em *spray dryer* apresentaram os maiores valores de n . Em relação à viscosidade em taxa de deformação de 50s^{-1} os valores foram menores nos polissacarídeos secos em *spray dryer*; levando a uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre esses dois tratamentos. Isso mostra que apesar de apresentar uma pequena diferença no índice de comportamento, os SSPS-B e C têm valores de viscosidade semelhantes, indicando que o tratamento térmico durante a extração ao qual os polissacarídeos foram submetidos não teve tanta importância quanto a forma de secagem no comportamento reológico das condições estudadas.

Esse comportamento também pode ser observado nas Figuras 4.8a, b e c; que mostram todas as curvas reológicas do planejamento para os polissacarídeos A, B e C respectivamente.

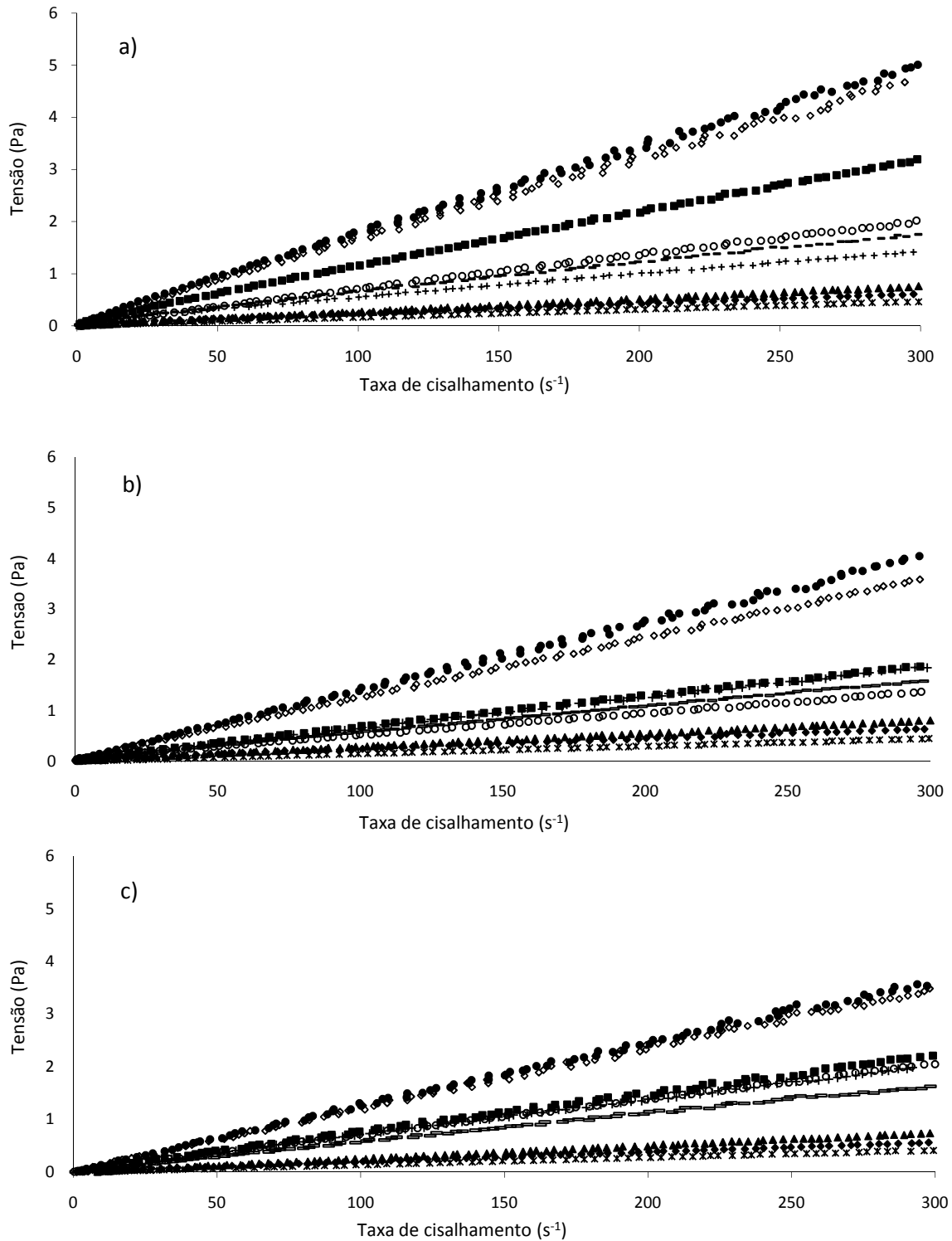


Figura 4.8. Curvas reológicas do planejamento experimental. a) SSPS-A, b) SSPS-B, c) SSPS-C. (◆) Ensaio 1; (■)Ensaio 2; (▲) Ensaio 3; (◇)Ensaio 4; (*)Ensaio 5; (●)Ensaio 6; (+) Ensaio 7; (○) Ensaio 8; (—) Ensaio 9

A análise realizada para o índice de comportamento (n) mostrou que as variáveis estudadas tiveram influência diferente nos extratos obtidos. As tabelas de coeficientes de regressão estão apresentadas no Apêndice 1, mas seus valores podem ser observados nas Equações 4.1, 4.2 e 4.3. Essas equações são modelos que representam o sentido e a magnitude da influência de cada variável que se mostrou significativa no índice de comportamento.

$$n_A = 0,893 + 0,0235 * (C)^2 + 0,0357 * (pH) - 0,021 * (C) * (pH) \quad (4.1)$$

$$n_B = 0,955 - 0,0135 * (C) + 0,0110 * (C)^2 + 0,006 * (pH)^2 \quad (4.2)$$

$$n_C = 0,93 - 0,0142 * (C) + 0,0246 * (C)^2 \quad (4.3)$$

Confrontando os modelos obtidos nota-se que mais uma vez a maior diferença se dá entre os polissacarídeos secos em liofilizador e no *spray dryer*. Em todos os polissacarídeos o termo quadrático da concentração teve uma influência significativa e positiva nesta variável. No SSPS-A aparece o termo de interação entre pH e concentração que não se mostrou significativo ($p < 0,1$) mas foi considerado pois o seu p-valor foi muito próximo aos limites de significância considerados e a magnitude do seu efeito foi de grandeza próximas à dos outros efeitos. Isso também ocorreu no SSPS-B, onde o efeito quadrático do pH não foi significativo ($p < 0,1$), mas também foi incluído no modelo pelos mesmos motivos discutidos acima.

Depois de definidos os coeficientes, foi realizada a análise de variância (ANOVA) (Tabelas 4.8, 4.9 e 4.10) com o intuito de comprovar se os modelos obtidos representam satisfatoriamente os dados experimentais.

Tabela 4.8. Análise de variância (ANOVA) para índice de comportamento do SSPS-A

Fonte de variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	Fcalc
Regressão	0,0156	3	0,0052	13,78
Resíduos	0,0026	7	0,0004	
Total	0,01823	10		

% de variação explicada (R^2)=85,52; $F_{3; 7; 0,05}$ = 4,35

Tabela 4.9. Análise de variância (ANOVA) para índice de comportamento do SSPS-B

Fonte de variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	Fcalc
Regressão	0,0022	3	0,0007	15,71
Resíduos	0,0003	7	4,646E-05	
Total	0,0025	10		

% de variação explicada (R^2)=87,10; $F_{3; 7; 0,05}$ = 4,35

Tabela 4.10. Análise de variância (ANOVA) para índice de comportamento do SSPS-C

Fonte de variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	Fcalc
Regressão	0,0048	2	0,0024	25,86
Resíduos	0,0008	8	9,33E-05	
Total	0,0056	10		

% de variação explicada (R^2)=86,60; $F_{3; 7; 0,05}$ = 4,46

Apesar do F calculado ter sido pequeno para os três polissacarídeos, os valores foram pouco maior que o tabelado. Além disso, a porcentagem de variação explicada foi

boa em todos os casos ($R^2 = 85,52$), mostrando que os modelos obtidos podem ser utilizados para representar os dados experimentais quando a resposta analisada é o índice de comportamento.

A análise das respostas geradas pelo modelo está apresentada na Tabela 4.11, que mostra os desvios obtidos quando estes valores são comparados às respostas experimentais. Observa-se que os desvios foram relativamente pequenos, o que pode ser visto também na Figura 4.9.

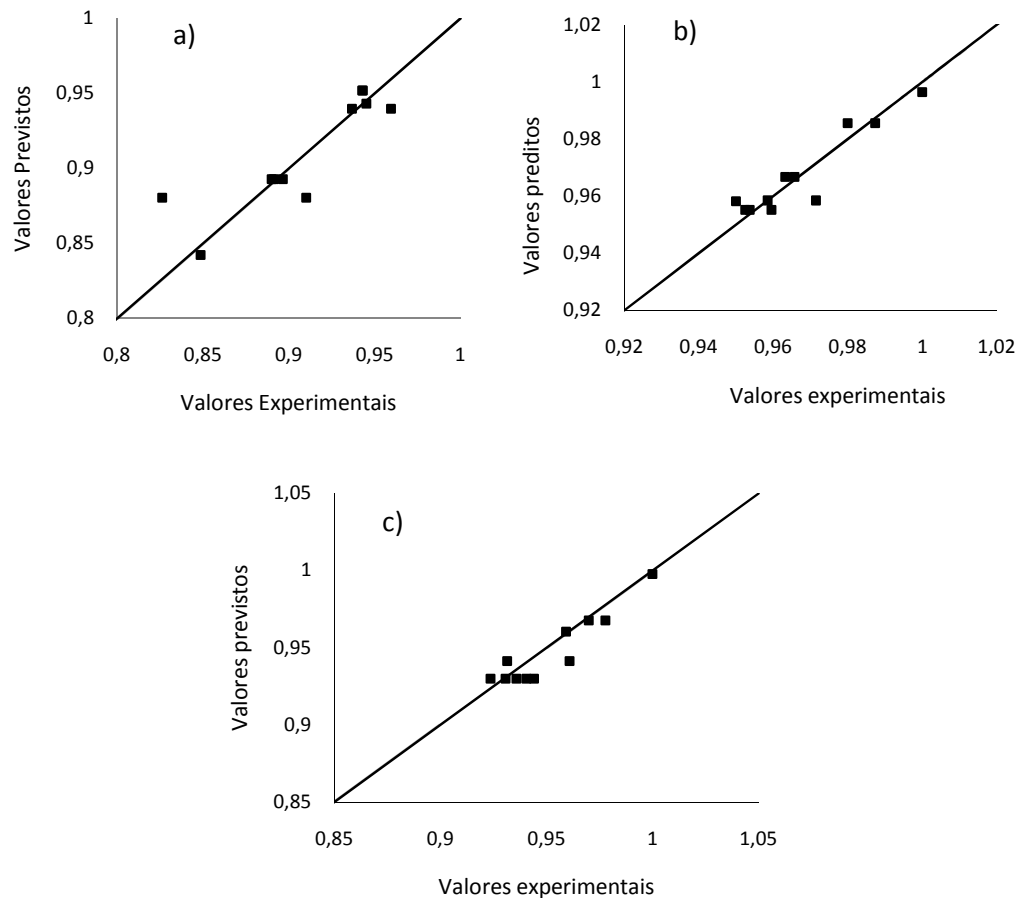


Figura 4.9. Valores preditos versus valores experimentais obtidos no planejamento experimental para o índice de comportamento (n). a) SSPS-A; b) SSPS-B; c) SSPS-C.

Tabela 4.11. Valores preditos para índice de comportamento (n) dos SSPS e seus desvios em relação aos valores experimentais

Ensaio	SSPS-A				SSPS-B				SSPS-C			
	n experimental	n predito	Desvio Absoluto	Desvio Relativo (%)	n experimental	n predito	Desvio Absoluto	Desvio Relativo (%)	n experimental	n predito	Desvio Absoluto	Desvio Relativo (%)
1	0,826	0,880	-0,054	-6,546	0,980	0,986	-0,006	-0,567	0,970	0,968	0,002	0,233
2	0,910	0,880	0,030	3,265	0,959	0,959	0,000	-0,002	0,931	0,941	-0,010	-1,075
3	0,943	0,952	-0,009	-0,931	0,987	0,986	0,002	0,188	0,978	0,968	0,010	1,036
4	0,943	0,952	-0,009	-0,973	0,972	0,959	0,013	1,335	0,961	0,941	0,019	2,026
5	0,960	0,940	0,020	2,067	1,000	0,996	0,004	0,358	1,000	0,998	0,002	0,224
6	0,937	0,940	-0,003	-0,305	0,950	0,958	-0,008	-0,864	0,959	0,961	-0,001	-0,140
7	0,849	0,842	0,007	0,768	0,963	0,967	-0,004	-0,366	0,940	0,930	0,010	1,109
8	0,945	0,943	0,002	0,211	0,966	0,967	-0,001	-0,113	0,944	0,930	0,014	1,494
9	0,891	0,892	-0,001	-0,140	0,954	0,955	-0,002	-0,166	0,924	0,930	-0,006	-0,695
10	0,890	0,893	-0,003	-0,298	0,952	0,955	-0,003	-0,288	0,936	0,930	0,006	0,615
11	0,897	0,893	0,004	0,435	0,960	0,955	0,004	0,451	0,931	0,930	0,001	0,072

Após a análise do modelo foi possível fazer a construção da superfície de resposta para o índice de comportamento para os polissacarídeos (Figuras 4.10a, b e c) onde pode ser melhor visualizada a influência das variáveis estudadas.

Em todos os casos é possível notar novamente que à medida que a concentração de polissacarídeo diminui a solução torna-se menos pseudoplástica, pois há mais água disponível e a solução adquire as características do solvente.

Quando é levado em consideração o pH do sistema, o que se considera na verdade é o grau de ionização do polissacarídeo. Em meio ácido as moléculas de água estão protonadas e como já foi mencionado, o SSPS é um polissacarídeo aniônico. Dessa forma ele interage com os íons H^+ disponíveis no sistema fazendo com que exista menos repulsão entre as macromoléculas e conseqüentemente maior interação polissacarídeo-polissacarídeo; o que leva mais uma vez ao comportamento não-newtoniano.

Esse comportamento pode ser visto nas Figuras 4.10a e 4.10b. Estas duas figuras exibem um comportamento semelhante, apresentando um ponto de mínimo em relação à concentração. Isto mostra que apesar de alguns parâmetros terem se mostrados significativos apenas em alguns polissacarídeos, essencialmente eles se comportam de forma parecida.

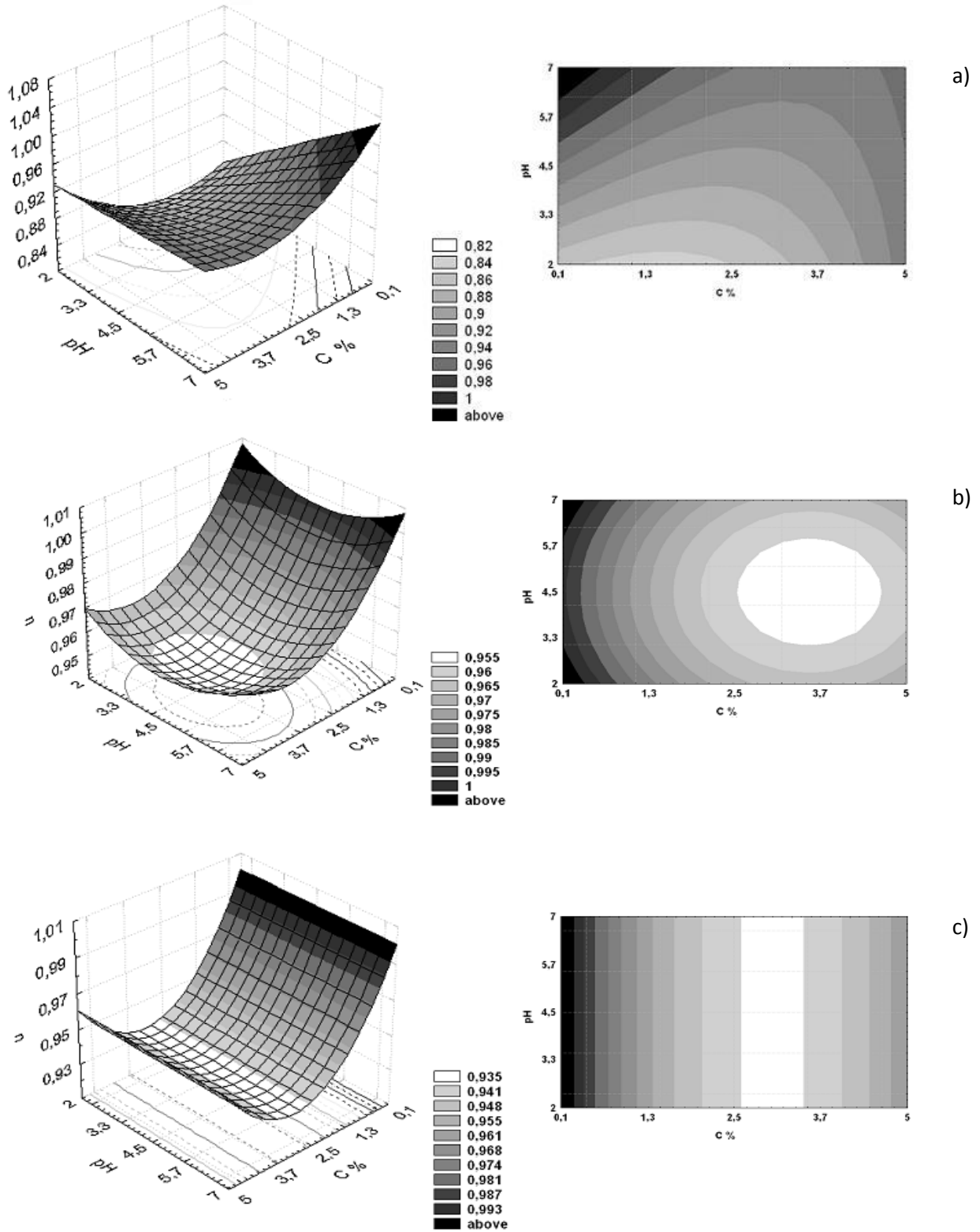


Figura 4.10. Superfícies de resposta para os polissacarídeos solúveis de soja para o índice de comportamento (n). a) SSPS-A; b) SSPS-B; c) SSPS-C.

Quando a resposta analisada foi a viscosidade de consumo, os parâmetros que se mostraram significativos ($p < 0,05$) para cada SSPS estão representados nas Equações 4.4, 4.5 e 4.6. O parâmetro mais relevante foi a concentração de polissacarídeo para todos os SSPS estudados. Os termos significativos ($p < 0,05$) foram os mesmos para os SSPS-A e C enquanto o SSPS-B se mostrou dependente apenas da concentração, que teve um efeito linear. Da mesma forma que para o índice de consistência (n) foi realizada a ANOVA para a viscosidade em $50s^{-1}$ (Tabelas 4.12, 4.13 e 4.14). Os valores de F calculado foram muito superiores ao tabelado e a porcentagem de variância explicada (R^2) se mostrou muito elevada também, com valores acima de 90%, o que torna os modelos representativos para a predição de viscosidade.

$$\eta_{50A} = 7,353 + 6,153 * (C) + 1,616 * (C)^2 + 0,715 * (pH) + 1,168 * (C) * (pH) \quad (4.4)$$

$$\eta_{50B} = 5,921 + 3,821 * (C) \quad (4.5)$$

$$\eta_{50C} = 6,023 + 4,280 * (C) + 1,066 * (C)^2 + 1,317 * (pH) + 1,432 * (C) * (pH) \quad (4.6)$$

Tabela 4.12. Análise de variância (ANOVA) para viscosidade aparente em taxa de deformação de $50s^{-1}$ (η_{50}) do SSPS-A

	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	Fcalc
Regressão	329,5679	4	82,392	252,07
Resíduos	1,9611	6	0,3269	
Total	331,5291	10		

% de variação explicada (R^2)=99,41; $F_{4; 5; 0,05}$ = 4,53

Tabela 4.13. Análise de variância (ANOVA) para viscosidade aparente em taxa de deformação de $50s^{-1}$ (η_{50}) do SSPS-B

	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	Fcalc
Regressão	116,8301	1	116,83	95,76
Resíduos	10,98008	9	1,22	
Total	127,8102	10		

% de variação explicada (R^2)=91,41; $F_{1; 9; 0,05}$ = 5,12

Tabela 4.14. Análise de variância (ANOVA) para viscosidade aparente em taxa de deformação de $50s^{-1}$ (η_{50}) do SSPS-C

	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	Fcalc
Regressão	176,9583	4	44,240	74,59
Resíduos	3,558403	6	0,5931	
Total	180,5167	10		

% de variação explicada (R^2)=98,03; $F_{4; 6; 0,05}$ = 4,53

A Figura 4.11 apresenta a relação entre os valores preditos em função dos valores experimentais. Esse gráfico mostra que para todos os polissacarídeos não houve grandes desvios nas respostas geradas pelo modelo, o que também pode ser observado na Tabela 4.15.

Tabela 4. 15. Valores preditos viscosidade aparente em taxa de deformação de $50s^{-1}$ (η_{50}) dos SSPS e seus desvios em relação aos valores experimentais

Ensaio	SSPS-A				SSPS-B				SSPS-C			
	η_{50} experimental (cP)	η_{50} predito (cP)	Desvio Absoluto	Desvio Relativo (%)	η_{50} experimental (cP)	η_{50} predito (cP)	Desvio Absoluto	Desvio Relativo (%)	η_{50} experimental (cP)	η_{50} predito (cP)	Desvio Absoluto	Desvio Relativo (%)
1	2,837	3,270	-0,433	-15,251	2,090	2,099	-0,010	-0,456	2,866	2,924	-0,057	-2,002
2	12,736	13,239	-0,503	-3,950	7,837	9,742	-1,906	-24,316	7,428	8,620	-1,192	-16,048
3	2,818	2,363	0,455	16,132	2,359	2,099	0,260	11,018	2,891	2,694	0,197	6,824
4	17,389	17,005	0,384	2,209	11,765	9,742	2,023	17,195	13,179	14,117	-0,937	-7,113
5	1,687	1,884	-0,197	-11,666	1,301	0,516	11,688	60,319	1,467	2,102	-0,635	-43,295
6	19,189	19,284	-0,095	-0,493	12,204	11,325	-10,02	7,202	15,177	14,207	0,970	6,390
7	6,481	6,342	0,139	2,138	7,335	5,921	1,414	19,282	3,848	4,161	-0,313	-8,144
8	7,249	8,364	-1,116	-15,394	7,294	5,921	1,374	18,832	7,212	7,885	-0,673	-9,339
9	7,516	7,353	0,163	2,166	6,026	5,921	0,105	1,746	6,059	6,023	0,036	0,596
10	7,275	7,353	-0,078	-1,076	5,806	5,921	-0,115	-1,979	6,081	6,023	0,058	0,947
11	7,269	7,353	-0,085	-1,163	5,930	5,921	0,010	0,163	5,930	6,023	-0,093	-1,570

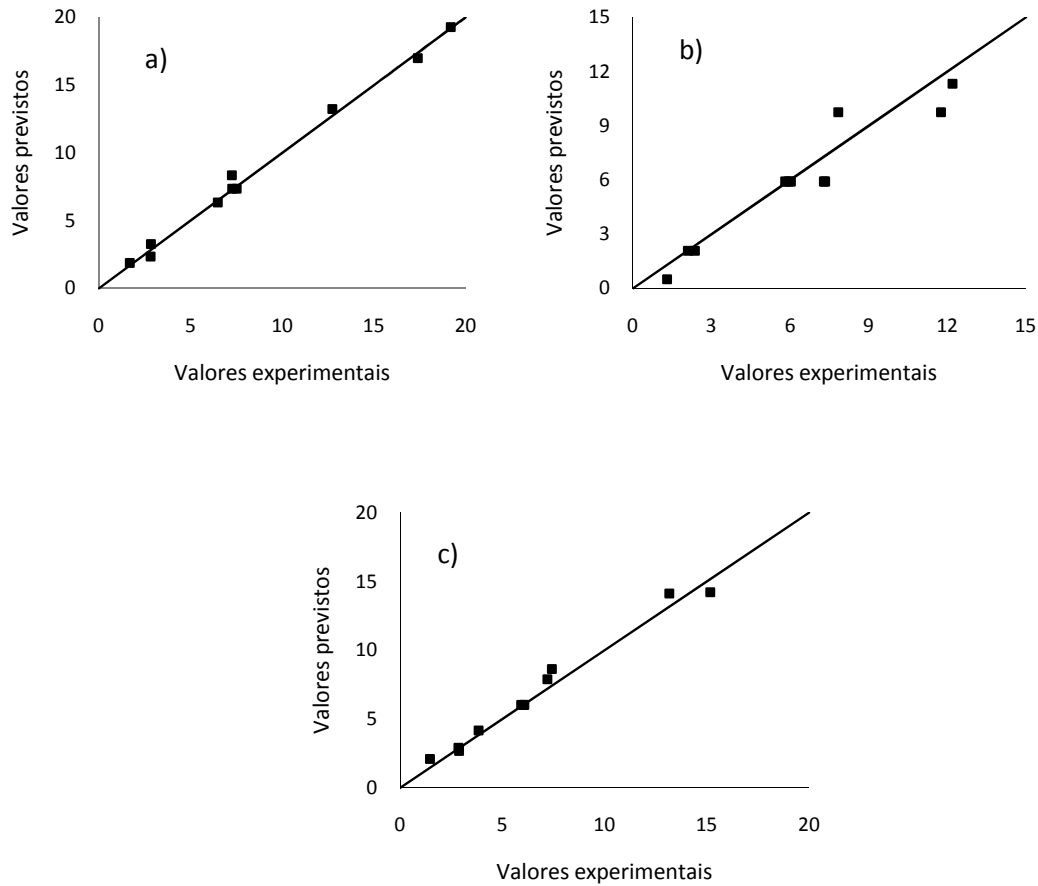


Figura 4.11. Valores preditos versus valores experimentais obtidos no planejamento experimental para viscosidade em taxa de deformação igual a $50s^{-1}$ a) SSPS-A; b) SSPS-B; c) SSPS-C.

Mais uma vez pode-se notar o comportamento muito parecido entre as superfícies de resposta (Figuras 4.12a, b, c); considerando que o SSPS-B não apresentou influência significativa de outros parâmetros que não a concentração. De acordo com as superfícies de resposta obtidas, o aumento da concentração junto à diminuição da acidez leva a valores superiores de viscosidade.

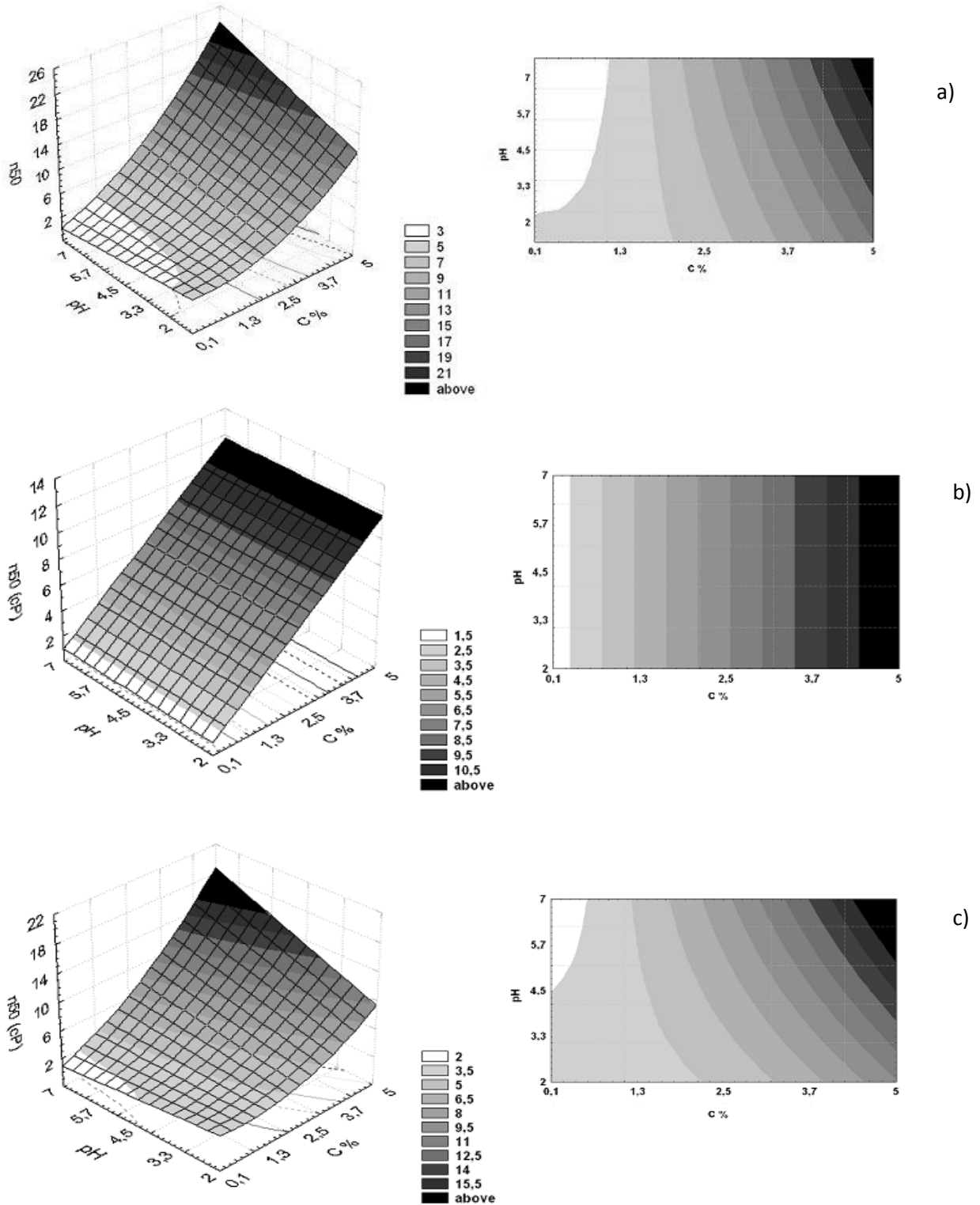


Figura 4.12. Superfícies de resposta para os polissacarídeos solúveis de soja para taxa de deformação de $50s^{-1}$. a) SSPS-A; b) SSPS-B; c) SSPS-C.

5. Utilização do SSPS em Suco de Graviola Adicionado de IPS – Avaliação da Reologia e Estabilidade dos Sistemas

5.1. Caracterização da Polpa de Graviola

A Tabela 5.1 apresenta a caracterização físico-química da polpa de graviola. Os valores de umidade, cinzas, proteínas lipídeos e açúcares apresentados são muito próximos aos da Tabela 2.1. É possível notar também que a polpa de graviola possui um teor de polpa elevado, em torno de 20%, porém muito inferior ao obtido por Acquarone et al.(1996), contudo os valores de pH foram bem próximos, mostrando que a fruta realmente é bastante ácida.

Tabela 5.1. Composição centesimal da polpa de graviola

	Quantidade	Desvio
Umidade (%)	90,65	0,59
Cinzas (%)	0,53	0,01
Proteínas (%)	0,41	0,03
Lipídeos (%)	0,22	0,03
Teor de polpa (%)	20,29	0,48
pH	3,52	0,01
Acidez (%)	0,50	0,01
Sólidos solúveis (°Brix)	11,5	0,05

5.2. Suspensões de Proteína em Suco de Graviola

Foi realizada uma análise univariável da adição IPS em suco de graviola com concentração variando de 0% a 5%. A Figura 5.1 mostra o comportamento reológico destes sistemas. As curvas foram muito parecidas, sendo que os valores de tensão mais baixos foram apresentados pelo suco de graviola puro, aumentando com o aumento da concentração de proteína. É possível observar também que em altas taxas de deformação (maiores que 150s^{-1}) as curvas apresentaram uma provável dilatância, que pode ter ocorrido com o aumento do choque e aglomeração das partículas da suspensão.

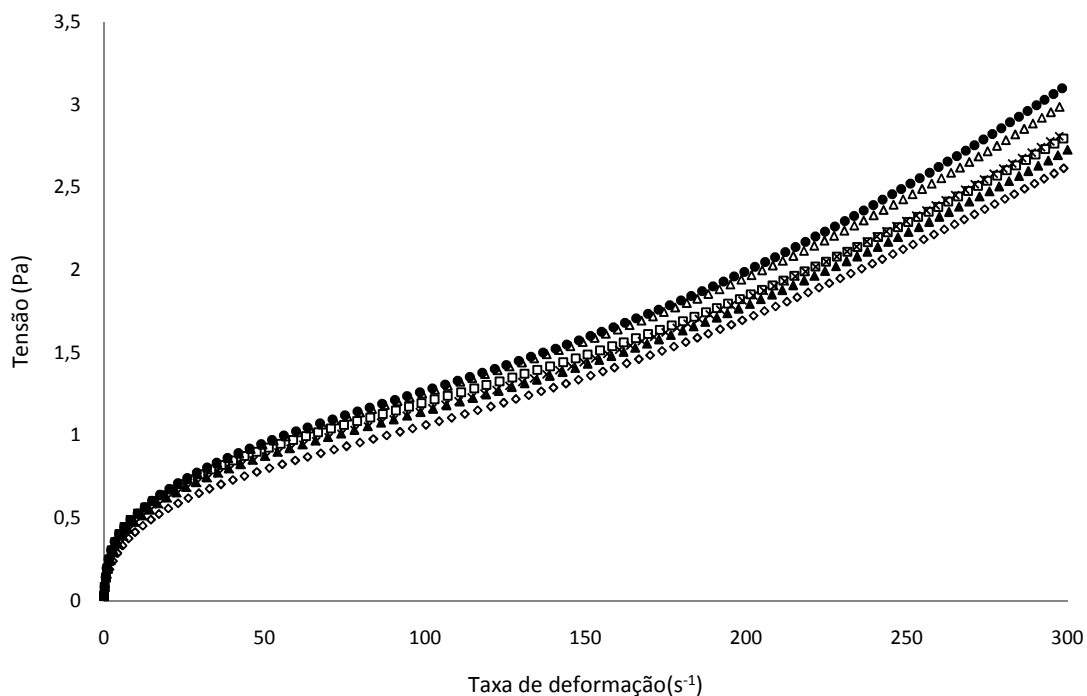


Figura 5.1. Curvas reológicas para suco de graviola puro e adicionado de isolado protéico de soja. (\diamond) Suco de graviola puro; (\blacktriangle) 1,5 % de IPS; (\times) 2% de IPS; (\square) 3% de IPS; (\triangle) 4% de IPS; (\bullet) 5% de IPS.

As curvas (0 a 300 s^{-1}) apresentaram melhor ajuste à Lei da Potência e os parâmetros encontram-se na Tabela 5.2. É possível observar que o suco de graviola apresenta um comportamento pseudoplástico com o índice de comportamento (n) próximo

a 0,77 e que este valor diminui com a adição de proteína, aumentando a pseudoplasticidade do sistema. Ao mesmo tempo a adição de IPS aumenta a viscosidade aparente em taxa de deformação próxima ao repouso (η_0) e também em altas taxas (η_{50}). Gratão (2006) estudou o comportamento reológico do suco de graviola em concentrações variando entre 9,0 e 50,0 °Brix e em uma ampla faixa de temperatura (0,4 a 68,8 °C). Neste estudo o suco de graviola mostrou-se um fluido pseudoplástico e para condições mais próximas às realizadas neste trabalho o autor obteve um índice de comportamento próximo a 0,42. A diferença nos resultados está possivelmente ligada à geometria utilizada pelo autor (cilindros concêntricos) e a utilizada neste trabalho (placa rugosa) e também pela forma de extração da polpa, que pode ter levado a partículas com tamanhos e formatos diferentes.

Na Figura 5.2 estão representados os resultados para o teste de estabilidade frente à sedimentação das soluções de proteína em suco de graviola durante sete dias de observação. Nota-se que o índice de sedimentação (IS_7) foi menor quando não havia proteína em solução.

Tabela 5.2. Parâmetros reológicos e índice de sedimentação após sete dias de observação obtidos para análise univariável de IPS em suco de graviola.

IPS (%)	k (Pa.s ⁿ)	n	η_0 (cP)	η_{50} (cP)	IS_7 (%)
0	0,032 ^a	0,766 ^a	592,5 ^a	16,090 ^a	47 ^a
1,5	0,046 ^b	0,708 ^b	761,7 ^{a,b}	17,710 ^b	52 ^b
2,0	0,041 ^c	0,731 ^c	655,9 ^{a,c}	17,321 ^b	50 ^b
3,0	0,057 ^d	0,671 ^d	831,4 ^{b,c}	18,490 ^c	50 ^b
4,0	0,059 ^d	0,676 ^d	886,9 ^b	19,247 ^d	50 ^b
5,0	0,054 ^e	0,696 ^b	743,1 ^{a,b,c}	18,900 ^{c,d}	50 ^b

Ao adicionar 1,5% (p/v) de proteína notou-se que o volume de sedimentado aumentou; esse resultado é devido ao pH do suco de graviola, que por situar-se próximo de 4,0 está próximo também do ponto isoelétrico das proteínas (pH 4,5). Em valores próximos a esse pH a carga líquida das moléculas de proteína é muito baixa, ou quase nula, o que faz com que ocorra a agregação das partículas de proteína, causando a sua precipitação. O aumento contínuo da concentração de IPS na solução não alterou muito o volume de sedimentado, no entanto os sistemas demoraram mais tempo para atingir a estabilidade. Esse comportamento é melhor visualizado na figura em destaque e foi mais evidente na curva referente à solução com 5% (p/v) de proteína. Este resultado está de acordo com os resultados obtidos na análise reológica para estes sistemas, pois a adição de proteína aumentou a viscosidade em taxa de deformação igual à zero (η_0), que é relacionada à estabilidade da solução.

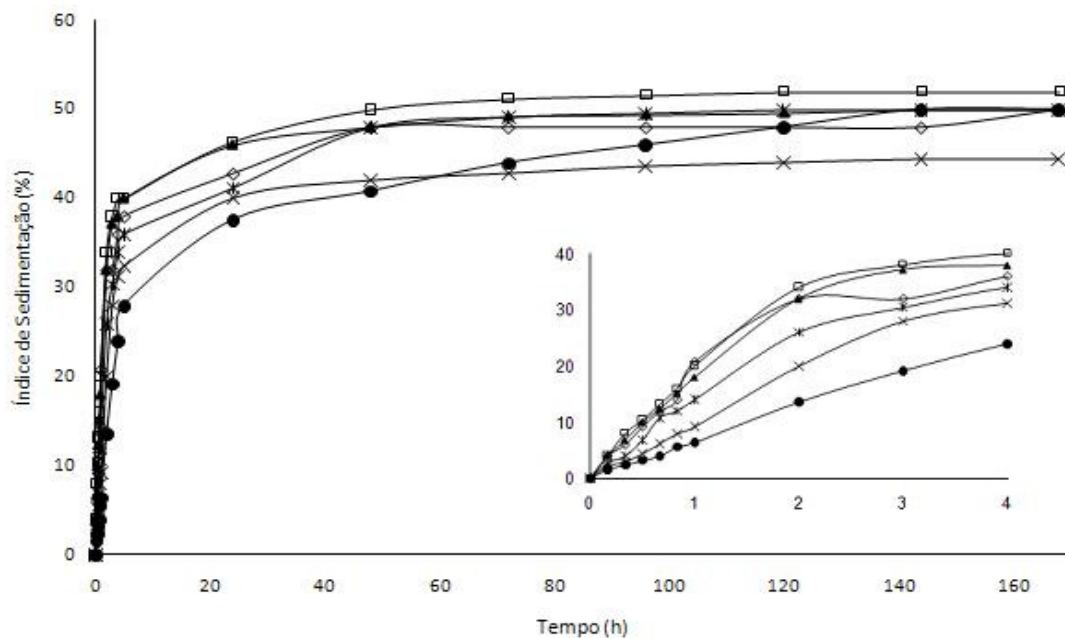


Figura 5.2. Curvas de estabilidade para suco de graviola puro e com adição de proteína. (×) Suco de graviola puro; (□) 1,5% de IPS; (▲) 2% de IPS; (◇) 3% de IPS; (*) 4% de IPS; (●) 5% de IPS.

5.3. Adição de SSPS-B em Suspensões Formadas de Suco de Graviola e IPS

5.3.1. Planejamento Experimental

Apesar do SSPS-A aumentar os valores de viscosidade de uma solução em magnitudes um pouco maiores que o SSPS-B, o custo e o tempo do método de extração não justificam sua utilização. A Tabela 5.3 mostra as respostas obtidas para o planejamento experimental realizado. Observando-se os valores de índice de comportamento (n) nota-se que os valores não divergiram muito de um experimento para outro, enquanto que os valores de viscosidade em condições de consumo (η_{50}) aumentaram com o acréscimo de proteína, enquanto a variação de SSPS e CaCl_2 causaram pouca alteração nesses valores de viscosidade, sendo perceptíveis apenas para os ensaios referentes aos pontos axiais.

A viscosidade próxima ao repouso (η_0) aparentemente sofre influência principalmente da concentração de polissacarídeo e proteína. Sendo que em ensaios onde a concentração de proteína foi menor, a adição de SSPS fez com que os valores de η_0 diminuíssem, enquanto que onde a proteína estava mais concentrada, o aumento de SSPS fez com que a viscosidade aumentasse indicando que a razão entre os biopolímeros tem efeito variado sobre essa resposta. Nos valores de índice de sedimentação, observa-se claramente a influência positiva do SSPS, pois ao se comparar os ensaios em somente o polissacarídeo foi variado, notou-se que o volume de sedimentado foi menor. Nos ensaios relativos aos pontos axiais do planejamento é possível ver que o índice de sedimentação caiu de 45% para 8% com a adição de SSPS. O aumento de IPS no sistema também influenciou na sedimentação do material, porém seu efeito dependeu da concentração de cloreto de cálcio presente no sistema.

Tabela 5.3. Respostas obtidas para os parâmetros reológicos da lei da potência, viscosidade em taxa de deformação de $50s^{-1}$ (η_{50}) e tendendo ao repouso (η_0) e índice de sedimentação após sete dias de observação para o planejamento experimental do suco de graviola

Ensaio	SSPS (%)	IPS (%)	[CaCl ₂] (mM)	SSPS (%)	IPS (%)	[CaCl ₂] (mM)	k (Pa.s ⁿ)	n	n ₅₀ (cP)	n ₀ (cP)	IS ₇ (%)
1	1,58	1,58	29,08	-1	-1	-1	0,044	0,785	24,785	605,06	40,8
2	4,42	1,58	29,08	1	-1	-1	0,051	0,755	24,785	577,82	24
3	1,58	4,42	29,08	-1	1	-1	0,227	0,719	57,280	679,37	38
4	4,42	4,42	29,08	1	1	-1	0,219	0,720	57,280	708,36	20,8
5	1,58	1,58	170,92	-1	-1	+1	0,061	0,738	24,785	634,65	33,6
6	4,42	1,58	170,92	+1	-1	+1	0,039	0,814	24,785	559,48	16
7	1,48	4,42	170,92	-1	+1	+1	0,106	0,757	57,280	630,15	36
8	4,52	4,42	170,92	+1	+1	+1	0,069	0,770	57,280	697,28	29,2
9	1,0	3,0	100	-1,68	0	0	0,071	0,780	41,032	538,70	45,2
10	5,0	3,0	100	+1,68	0	0	0,082	0,769	41,032	550,89	8
11	3,0	1,0	100	0	-1,68	0	0,074	0,773	13,736	585,66	36
12	3,0	5,0	100	0	+1,68	0	0,076	0,774	68,328	653,21	31,2
13	3,0	3,0	0	0	0	-1,68	0,077	0,772	41,032	674,29	40
14	3,0	3,0	200	0	0	+1,68	0,076	0,773	41,032	630,83	34
15	3,0	3,0	100	0	0	0	0,076	0,773	41,032	639,99	40
16	3,0	3,0	100	0	0	0	0,076	0,773	41,032	637,37	39,9
17	3,0	3,0	100	0	0	0	0,076	0,773	41,032	637,14	41,5

5.3.2. Análises Reológicas

As análises em estado estacionário foram feitas com o intuito de avaliar o comportamento reológico das soluções formuladas com suco de graviola. Foram avaliados principalmente os parâmetros de viscosidade em taxa de deformação tendendo a zero (η_0) e 50 s^{-1} (η_{50}), ou seja, valores de viscosidade relacionados com a estabilidade e com o consumo, respectivamente. Dessa forma esses dois parâmetros são tecnologicamente muito importantes, pois para a estabilização de um sistema são necessários altos valores de η_0 sem que o valor de η_{50} seja alterado significativamente.

As curvas obtidas com as formulações do planejamento experimental estão apresentadas na Figura 5.3. Nela é possível observar que os valores de tensão variam principalmente com a quantidade de IPS, sendo que apenas a variação de SSPS levou a curvas muito próximas ou sobrepostas.

As curvas também apresentaram um melhor ajuste à lei da potência (Eq. 2.3) e a análise dos coeficientes de regressão indicou que o índice de comportamento (n) não teve influência de nenhuma variável, apresentando um valor médio de 0,77; que são valores próximos ao do suco de graviola puro. Esse comportamento não era esperado, pois geralmente biopolímeros causam alterações no comportamento reológico dos sistemas em que são adicionados.

Em geral, um aumento na concentração de biopolímeros é acompanhado pelo aumento da pseudoplasticidade de suspensões. Schimidt e Smith (1992) mostraram que o índice de comportamento de soluções aquosas (11%) de leite em pó desengordurado contendo goma guar também foi reduzido com o aumento da concentração de polissacarídeo. Já a adição de pectina em bebidas lácteas acidificadas foi relacionada ao

aumento do índice de comportamento desses sistemas (LUCEY et al, 1999). Todavia, em estudo feito por Koksoy & Kilic (2004) a adição de pectina não alterou o índice de comportamento para amostras sem estabilizante.

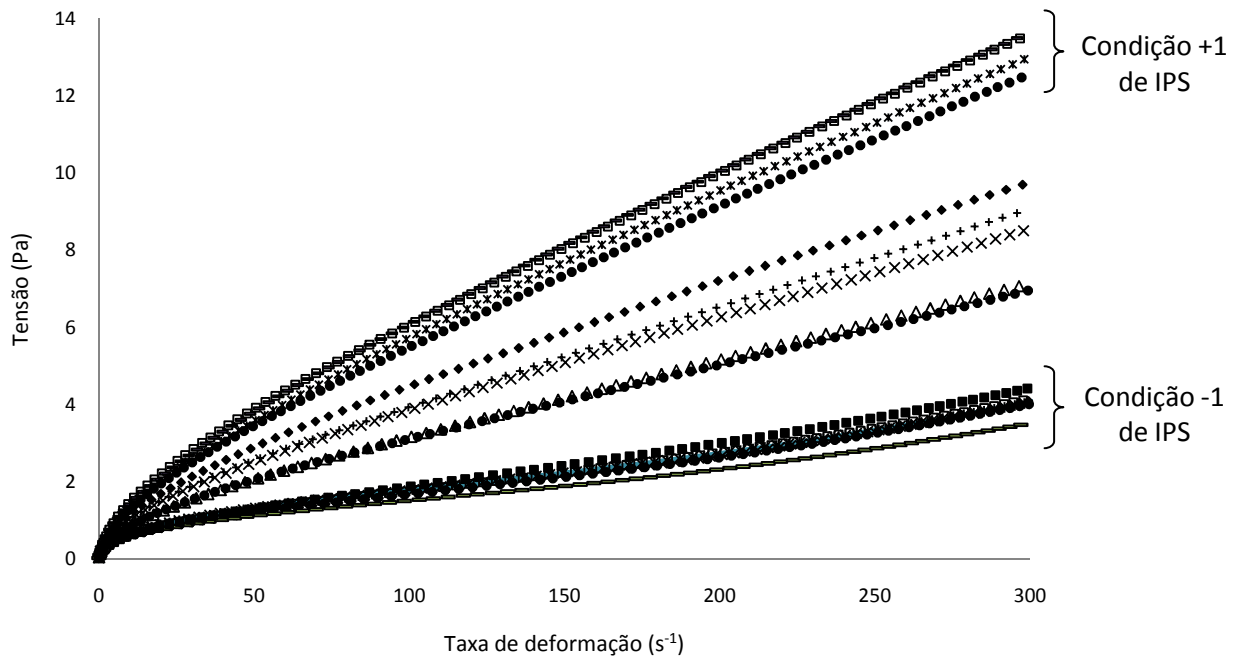


Figura 5.3. Curvas reológicas do planejamento experimental realizado para o suco de graviola com adição de IPS, SSPS e CaCl₂.

De acordo com a análise do planejamento, os valores de η_0 (Eq. 5.1) mostraram influência significativa das concentrações de polissacarídeo e proteína, sendo que o primeiro influencia de forma quadrática positiva os valores dessa viscosidade. O termo de interação entre IPS e SSPS também se mostrou significativo, indicando que a concentração de um biopolímero influencia no comportamento do outro. Por sua vez, as respostas para η_{50} (Eq. 5.2) mostraram influência apenas do IPS, o qual leva a um aumento linear do valor da viscosidade aparente nessas taxas de deformação.

$$\eta_0 = 635,97 + 25,73 * (SSPS)^2 + 33,10 * (IPS) + 24,82 * (SSPS) * (IPS) \quad (5.1)$$

$$\eta_{50} = 41,03 + 16,25 * (IPS) \quad (5.2)$$

A análise de variância para as respostas de viscosidade aparente (Tabelas 5.4 e 5.5) apresentaram baixos valores de R^2 e F calculado, indicando que os modelos não explicam todos os dados experimentais de forma satisfatória. Como pode ser observado na Tabela 5.6 alguns dos valores preditos apresentaram desvios grandes em relação aos valores obtidos experimentalmente, principalmente nos pontos axiais quando se trata de η_{50} . Esse fato também pode ser observado na Figura 5.4 e pode ser esperado, pois o ajuste obtido foi linear.

Tabela 5.4. Análise de variância (ANOVA) para o valor de viscosidade em taxa de deformação de repouso (η_0) para suco de graviola com adição de IPS, SSPS e $CaCl_2$.

	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	Fcalc
Regressão	30584,55	3	10194,85	13,46
Resíduos	9839,979	13	756,92	
Total	40424,23	16		

% de variação explicada (R^2)=75,66; $F_{3; 13; 0,05}$ = 3,41

Tabela 5.5. Análise de variância (ANOVA) para o valor de viscosidade em taxa de deformação de consumo (η_{50}) para suco de graviola com adição de IPS, SSPS e $CaCl_2$.

	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	Fcalc
Regressão	3602,02	1	3602,022	21,35
Resíduos	2530,34	15	168,689	
Total	6132,36	16		

% de variação explicada (R^2)=60,00; $F_{1; 15; 0,05}$ = 4,54

Tabela 5.6. Valores preditos para a viscosidade em taxa de deformação de consumo (η_{50}) e próxima ao repouso (η_0) e seus desvios em relação aos valores experimentais

Ensaio	η_0				η_{50}			
	n experimental	n predito	Desvio Absoluto	Desvio Relativo (%)	n experimental	n predito	Desvio Absoluto	Desvio Relativo (%)
1	601,96	605,06	3,101	0,512	24,78	23,68	-1,103	4,658
2	552,33	577,82	25,487	4,411	24,78	23,99	-0,790	3,291
3	618,53	679,37	60,847	8,956	57,28	77,67	20,393	26,255
4	668,16	708,36	40,195	5,674	57,28	74,80	17,520	23,423
5	601,96	634,65	32,686	5,150	24,78	25,77	0,987	3,829
6	552,33	559,48	7,147	1,277	24,78	23,80	-0,987	4,147
7	618,53	630,15	11,618	1,844	57,28	71,04	13,761	19,370
8	668,16	697,28	29,119	4,176	57,28	69,20	11,925	17,231
9	563,36	538,70	-24,664	4,578	41,03	21,38	-19,656	91,953
10	563,36	550,89	-12,469	2,263	41,03	48,84	7,811	15,992
11	580,37	585,66	5,299	0,905	13,74	26,71	12,969	48,565
12	691,58	653,21	-38,368	5,874	68,33	42,31	-26,014	61,478
13	635,97	674,29	38,315	5,682	41,03	50,92	9,885	19,415
14	635,97	630,83	-5,144	0,816	41,03	59,54	18,507	31,084
15	635,97	639,99	4,023	0,629	41,03	41,57	0,537	1,292
16	635,97	637,37	1,400	0,220	41,03	41,29	0,255	0,617
17	635,97	637,14	1,171	0,184	41,03	41,66	0,633	1,518

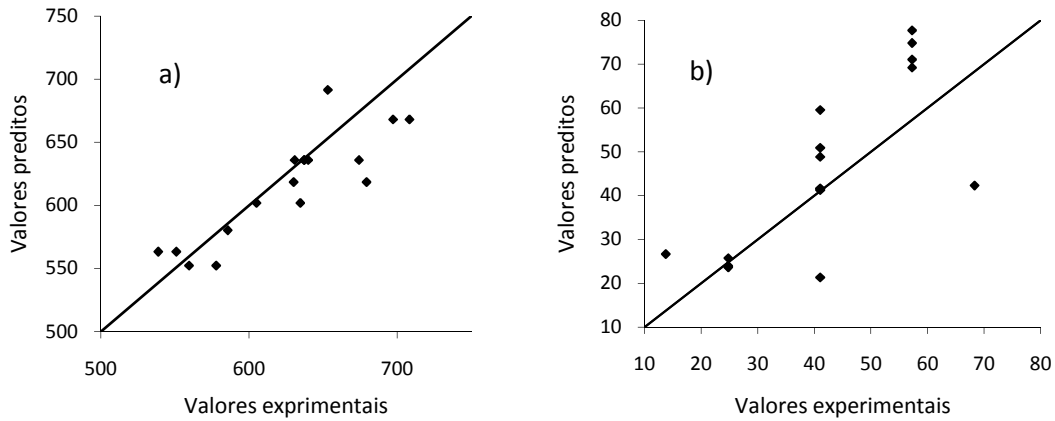


Figura 5.4. Valores preditos versus valores experimentais para a viscosidade aparente em a) próxima ao repouso (η_0) e b) taxa de deformação de consumo (η_{50})

Contudo, apesar desses resultados obtidos pela ANOVA foram geradas superfícies de resposta, apenas para visualizar o efeito das variáveis no comportamento do sistema estudado (Figura 5.5a, b).

A lei de Stokes ilustra que a taxa de sedimentação de partículas em sucos é inversamente proporcional à viscosidade, o que significa que altas viscosidades aumentariam a estabilização do suco (LIANG, et al., 2006). Polissacarídeos aumentam a viscosidade da dispersão por formação de uma estrutura no sistema, prevenindo as interações entre as partículas dispersas (FOX et al., 1993) e geralmente a adição de polissacarídeo faz com que a pseudoplasticidade do sistema aumente.

Em bebidas formadas por sistemas particulados, a pseudoplasticidade se torna uma característica vantajosa na estabilização dessas dispersões, uma vez que a viscosidade cai com a taxa de deformação e a sensação durante a deglutição é suave (FOX et al., 1993).

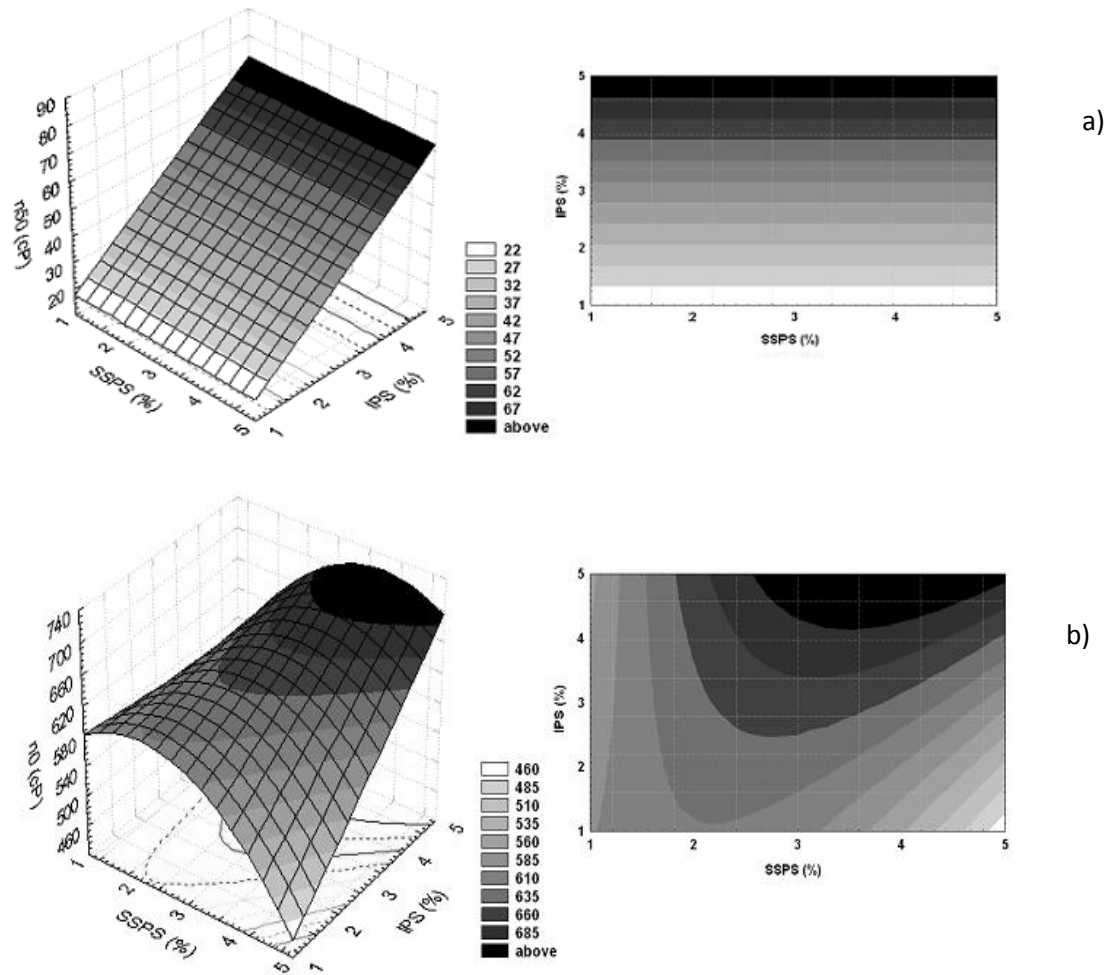


Figura 5.5. Superfícies de resposta obtidas no planejamento experimental para valores de viscosidade aparente do suco de graviola adicionado de SSP, IPS e CaCl_2 a) (η_{50}) , b) (η_0)

Dessa forma essas análises indicam que o polissacarídeo solúvel de soja possui características reológicas interessantes que não são comuns entre os hidrocolóides. Sua adição faz com que a viscosidade aparente em taxa de deformação de repouso (η_0) aumente, sem no entanto alterar a viscosidade de consumo (η_{50}) .

5.3.2. Avaliação da Estabilidade

A Figura 5.6 mostra as curvas de estabilidade para todos os ensaios realizados no planejamento. As curvas indicadas pela letra “a” são curvas com menor quantidade de SSPS do que as indicadas pela letra “b”. Os outros ingredientes (IPS e CaCl_2) são mantidos constantes para cada par de curvas (números iguais).

Portanto, ao comparar as curvas 1a e 1b, 2a e 2b, 3a e 3b nota-se a influência positiva da concentração do SSPS no índice de sedimentação do suco de graviola adicionado de IPS. Ao analisar o comportamento das curvas durante o tempo de observação nota-se que também nos ensaios com maior concentração de polissacarídeo a curva é mais suave e não chega à estabilidade após sete dias de observação. Apesar do tempo para chegar ao equilíbrio ser maior a quantidade de sedimentado é muito menor.

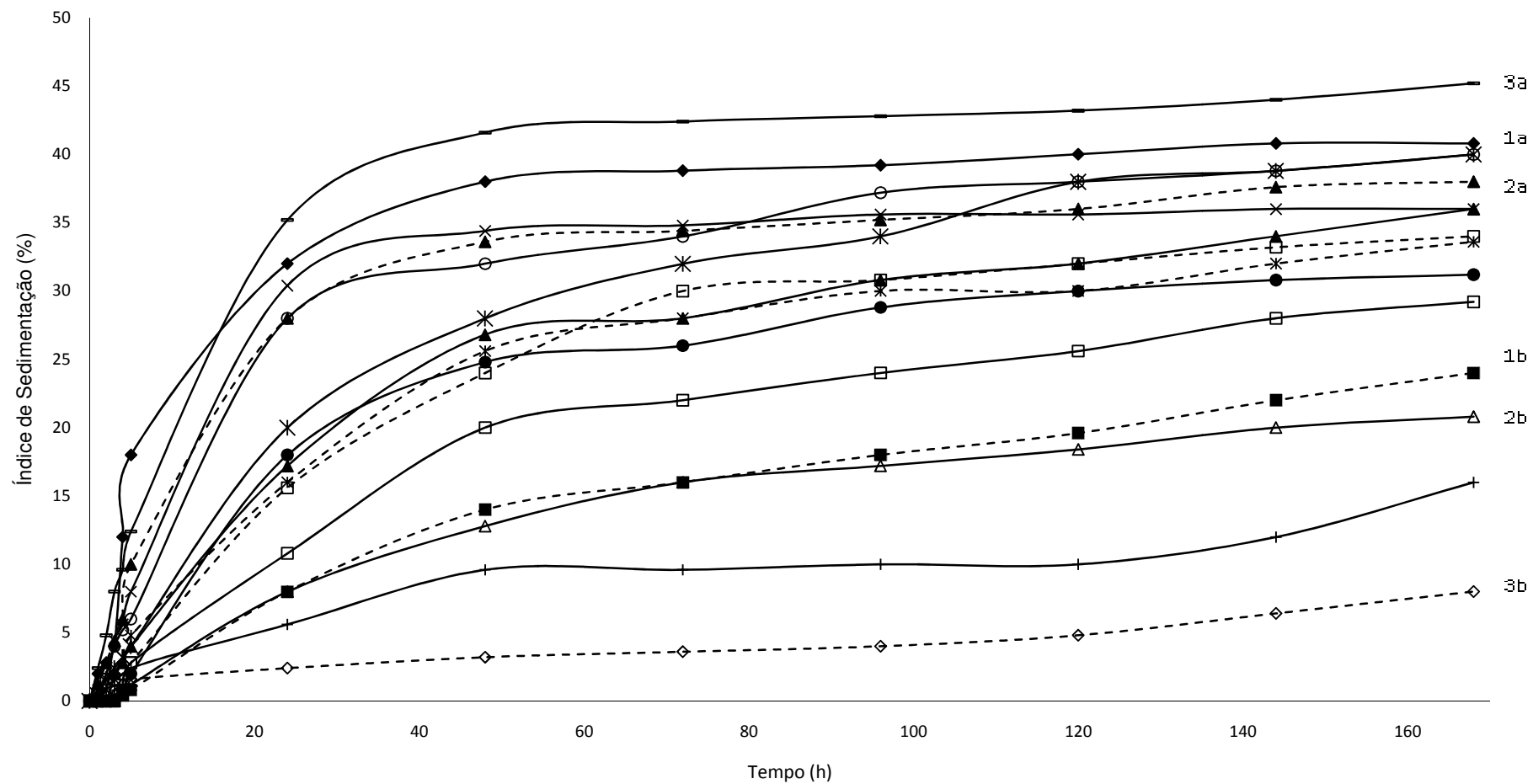


Figura 5.6. Curvas de estabilidade obtidas para os ensaios do planejamento experimental realizado para o suco de graviola com adição de IPS, SSPS e CaCl_2 .

Ao realizar a análise do planejamento experimental, foi possível comprovar que a única variável que realmente apresentou influência significativa ($p < 0,05$) na estabilidade dos sistemas estudados foi a concentração de SSPS, como pode ser observado na Equação 5.3.

$$IS_7(\%) = 39,98 - 8,86 * (SSPS) - 5,16 * (SSPS)^2 \quad (5.3)$$

Depois de definidos os coeficientes, foi realizada a análise de variância (ANOVA) (Tabela 5.7) com o intuito de comprovar se o modelo obtido representava satisfatoriamente os dados experimentais.

Tabela 5.7. Análise de variância (ANOVA) para índice de sedimentação do suco de graviola com adição de IPS, SSPS e $CaCl_2$.

	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	Fcalc
Regressão	1302,049	2	651,02	30,45
Resíduos	299,309	14	21,32	
Total	1601,358	16		

% de variação explicada (R^2)=81,31; $F_{2; 14; 0,05}$ = 3,74

A porcentagem de variação explicada foi satisfatória (81,31%) e o valor de F calculado também se mostrou maior que o tabelado, sendo que dessa forma pode-se considerar que o modelo se ajusta bem aos resultados experimentais.

A análise das respostas geradas pelo modelo está apresentada na Tabela 5.8, que mostra os desvios obtidos quando estes valores são comparados às respostas experimentais.

Observa-se que os desvios foram relativamente pequenos, o que pode ser visto também na Figura 5.7.

Tabela 5.8. Valores preditos para o índice de sedimentação IS_7 (%) de suco de graviola com adição de IPS, SSPS e $CaCl_2$ e seus desvios em relação aos valores experimentais

Ensaio	IS_7 experimental (%)	IS_7 predito (%)	Desvio Absoluto	Desvio Relativo (%)
1	40,80	43,69	-2,887	7,076
2	24,00	25,97	-1,967	8,194
3	38,00	38,29	-0,287	0,755
4	20,80	20,57	0,233	1,122
5	33,60	38,29	-4,687	13,949
6	16,00	20,57	-4,567	28,541
7	36,00	43,69	-7,687	21,353
8	29,20	25,97	3,233	11,073
9	45,20	40,28	4,915	10,875
10	8,00	10,51	-2,514	31,428
11	36,00	32,40	3,601	10,002
12	31,20	32,40	-1,199	3,844
13	40,00	39,98	0,025	0,061
14	34,00	39,98	-5,975	17,575
15	40,00	39,98	0,025	0,061
16	40,50	39,98	0,525	1,295
17	39,00	39,98	-0,975	2,501

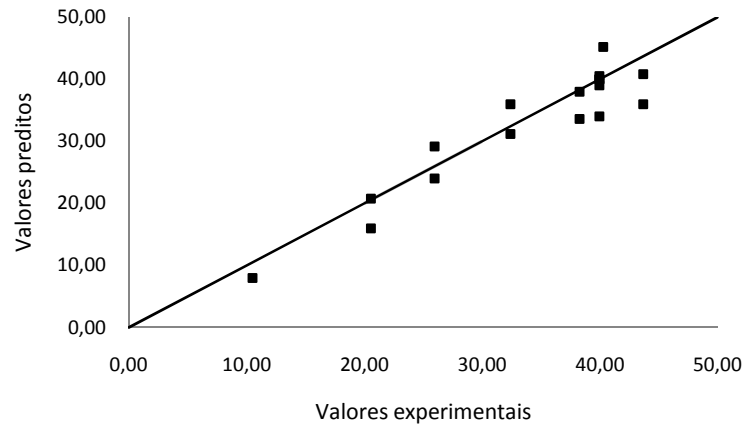


Figura 5.7. Valores preditos em função dos valores experimentais para índice de sedimentação IS_7 (%) de suco de graviola com adição de IPS, SSPS e $CaCl_2$.

Na superfície de resposta gerada (Figura 5.8) nota-se claramente a influência positiva da concentração de polissacarídeo na estabilidade do suco de graviola. O aumento da concentração de SSPS faz com que o índice de sedimentação diminua, porém, mesmo na mais alta concentração foi possível notar um pequeno volume de sedimentação.

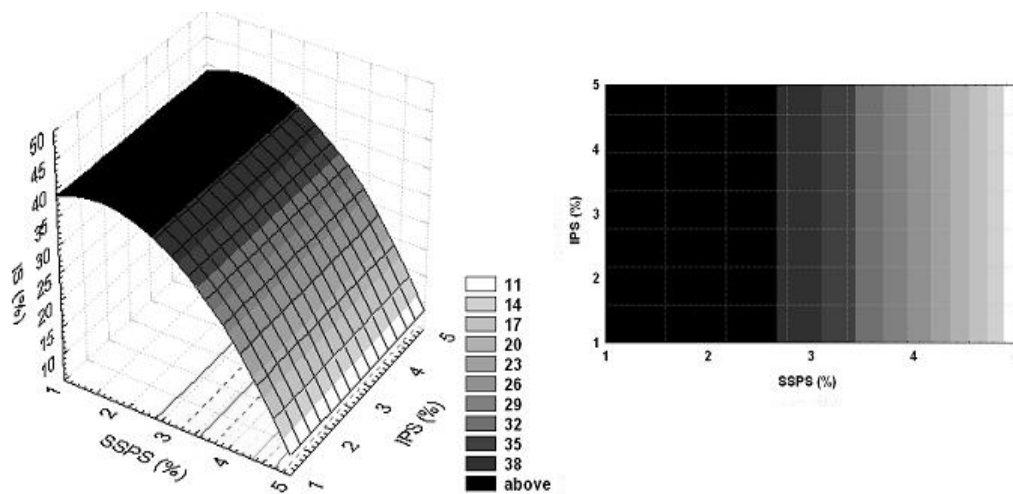


Figura 5.8. Superfície de resposta para índice de sedimentação IS_7 (%) após sete dias de observação para suco de graviola com adição de IPS, SSPS e $CaCl_2$.

A Figura 5.9 traz os valores de índice de sedimentação em função da razão entre concentração de SSPS e índice de precipitação. Foi feito um ajuste exponencial que mostra de forma mais clara que o aumento da concentração de polissacarídeo levou a um decréscimo não linear no volume de precipitado.

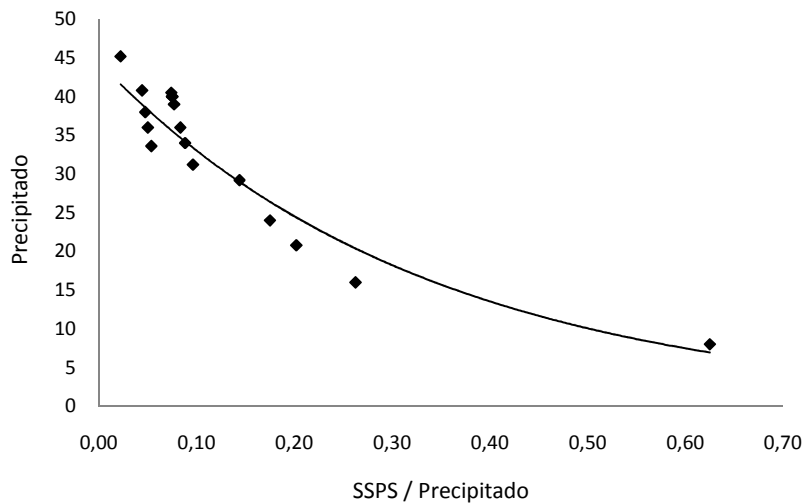


Figura 5.9. Índice de sedimentação após sete dias de observação IS_7 (%) para suco de graviola com adição de IPS, SSPS e $CaCl_2$ em função da razão SSPS/Precipitado

Segundo Nakamura et al. (2003), o SSPS adsorve nas proteínas presentes em solução levando a uma estabilização das mesmas por efeito estérico. A maior quantidade de polissacarídeos em solução levou a menores índices de sedimentação, pois provavelmente a quantidade de polissacarídeo foi suficiente para cobrir a quantidade de partículas de proteína suspensas, evitando que ocorresse interação proteína-proteína e conseqüente sedimentação.

Além disso, a maior quantidade de polissacarídeos dispersos carregados negativamente aumenta a repulsão entre estes polímeros, diminuindo também a quantidade

de sedimentado. Em geral, a repulsão eletrostática contribui para a estabilização de partículas suspensas em sistemas dispersos (LIANG et al., 2006).

Em estudo realizado com pectina em soluções ácidas contendo isolado protéico de soja, Liang et al. (2006) observaram que as pectinas com maior carga (baixo teor de esterificação) não se associaram de forma tão eficiente quanto as pectinas com baixa carga. De acordo com Lam et al. (2007), isso pode ser explicado pela densidade de cargas da molécula. Se a densidade de cargas de um polieletrólito é suficientemente alta, então uma vez que as moléculas cheguem ao nível crítico (máximo) de associação, existirá repulsão eletrostática entre os polímeros que estão interagindo com a proteína e aqueles ainda dispersos na fase aquosa.

A Figura 5.10 ilustra a influência do SSPS na estabilidade; nela são mostrados os ensaios realizados para os pontos axiais e para a polpa de graviola pura. Após apenas duas horas de observação, já foi possível notar que a estabilidade se mostrou maior quando a concentração do biopolímero foi maior (Figura 5.10c).

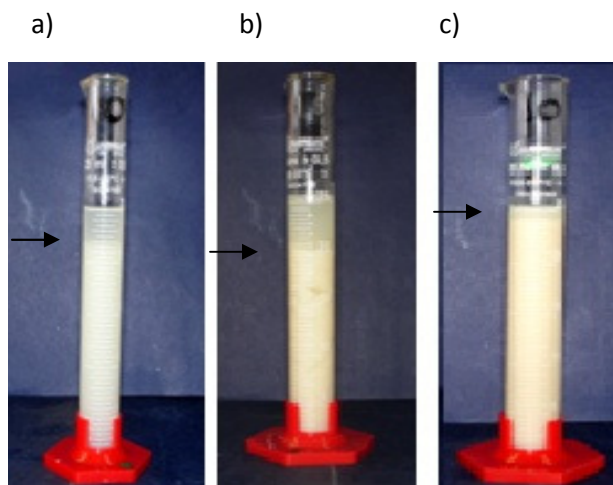


Figura 5.8. Ensaios de estabilidade após duas horas de observação para suco de graviola com adição de IPS, SSPS e CaCl_2 a) polpa de graviola pura; b) ensaio 9; c) ensaio 10.

A diferença na razão entre concentrações de polissacarídeo e proteína também mostrou efeito no comportamento de estabilidade. Nos ensaios 9 e 11 do planejamento (Tabela 5.3), a razão SSPS/IPS é 0,33 e 3,00 respectivamente. Nesses ensaios o comportamento da amostra durante a sedimentação divergiu do apresentado pelas outras formulações. Foi possível observar visualmente que o sedimentado não foi uniforme, causando a formação de aglomerados (Figura 5.11). Esse comportamento pode ter ocorrido devido à formação de complexos insolúveis. Outra hipótese é que possa ter ocorrido incompatibilidade entre esses polímeros quando ocorreu a predominância de um sobre o outro, quando presentes em altas concentrações, por causa da competição entre as macromoléculas pelo solvente (TOLSTOGUZOV, 2000).

Pectinas de massa molecular elevada foram utilizadas para estabilizar sistemas com adição de proteínas. Essa estabilidade, com diferentes razões de concentração pectina:proteína foi estatisticamente diferente após 28 dias de observação, sendo que a razão de 5:1 foi a menos estável (JASENTULIYANAM, N. et al., 1998).

A razão entre proteínas e polissacarídeo em uma mistura influencia no balanço de cargas do sistema, afetando a formação e o comportamento dos complexos. Para uma mistura onde são encontrados esses dois biopolímeros, uma complexação máxima é obtida em uma razão específica entre eles nas condições em que o sistema se encontra (nesse trabalho, próximo de 1,5:1,0 SSPS:IPS). (WEINBRECK et al., 2003).

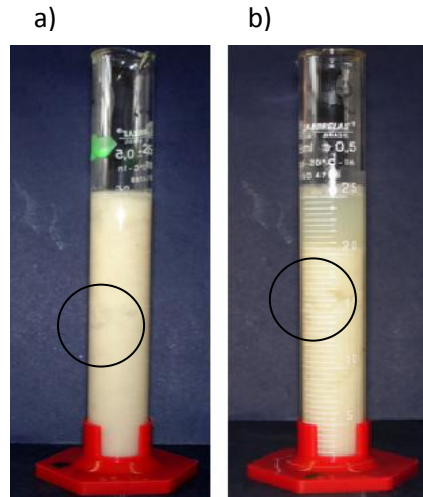


Figura 5.9. Comportamento dos ensaios 9 e 11 do planejamento experimental para suco de graviola com adição de IPS, SSPS e CaCl_2 . a) Ensaio 9 e b) Ensaio 11

No gráfico de índice de sedimentação em função da razão entre SSPS/IPS (Figura 5.12) é possível visualizar este comportamento.

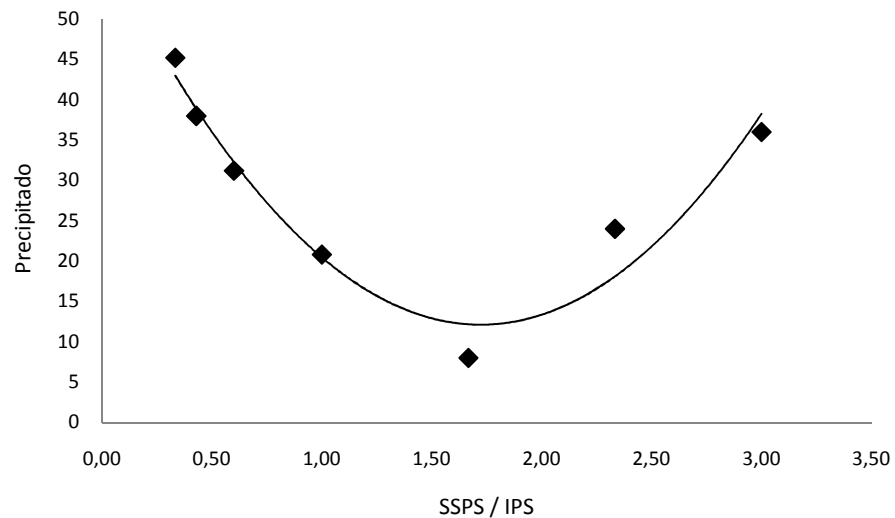


Figura 5.102. Índice de sedimentação após sete dias de observação IS_7 (%) para suco de graviola com adição de IPS, SSPS e CaCl_2 em função da razão SSPS/IPS

Os maiores volumes de precipitação ocorreram nas maiores concentrações de proteína e à medida que a diferença de concentração foi diminuindo esse volume também diminuiu, sendo que o menor valor foi obtido quando a concentração de SSPS foi um pouco maior que a de IPS. O meio ácido do suco de graviola faz com que seja necessária uma quantidade maior de SSPS para recobrir todas as proteínas, devido à competição dos íons H^+ em solução com estes biopolímeros que também são carregados positivamente. Contudo, conforme a concentração de polissacarídeo aumentou em relação à de proteína, a quantidade de precipitado aumentou novamente, provavelmente pela presença dos polieletrólitos carregados que continuaram presente em solução causando repulsão eletrostática.

6. Conclusões Gerais

A partir dos resultados da caracterização dos polissacarídeos obtidos é possível concluir que a forma de extração não alterou a composição centesimal dos SSPS obtidos; porém a forma de secagem fez com que o conteúdo de umidade das amostras fosse significativamente diferente.

Em relação aos valores de viscosidade intrínseca pode-se concluir que os polissacarídeos secos em *spray-dryer* (SSPS-B E C) apresentaram valores menores quando comparados ao SSPS liofilizado (SSPS-A). Quando se observou o comportamento dos polissacarídeos em diferentes solventes foi notado que o valor do pH do meio interferiu em maiores proporções no volume hidrodinâmico do SSPS quando comparado à concentração de sólidos solúveis. De maneira análoga, as análises reológicas dos polissacarídeos em diferentes soluções mostraram resultados condizentes com os de viscosidade intrínseca e ao analisar a influência da força iônica no sistema foi possível concluir que a concentração de íons divalentes apresentou pouca influência no comportamento dos SSPS.

A concentração do polímero no sistema foi uma variável significativa no comportamento reológico de soluções aquosas de SSPS, aumentando a pseudoplasticidade do sistema. Contudo os valores de índice de comportamento (n) e viscosidade aparente em taxa de deformação relacionada ao consumo (η_{50}) foram maiores para o polissacarídeo liofilizado (SSPS-A) que os secos em *spray-dryer* (SSPS-B e C).

Com os resultados obtidos nessas análises pode-se supor que embora não existam diferenças na composição centesimal dos polissacarídeos, é possível que haja diferença na conformação de suas moléculas, principalmente em relação à massa molecular. Sugere-se

que a temperatura de extração modificou as frações predominantes na massa molecular, o que explicaria o fato do volume hidrodinâmico e do comportamento reológico apresentarem valores diferentes para cada polissacarídeo.

A acidez do suco de graviola fez com que o isolado protéico de soja (IPS) adicionado precipitasse devido à proximidade do seu ponto isoelétrico. No entanto, a adição de polissacarídeos em determinadas proporções nesse sistema fez com que as proteínas fossem mantidas estáveis durante mais tempo. O planejamento experimental mostrou que a adição de sal não influenciou significativamente ($p < 0,05$) nenhum parâmetro estudado (índice de comportamento (n) e viscosidade em taxas de deformação tendendo ao repouso (η_0) e de $50s^{-1}$ (η_{50})). No entanto, a viscosidade aparente em taxa próxima ao repouso (η_0) mostrou influência positiva das concentrações de SSPS e IPS nas soluções. Todavia, o aumento da taxa de deformação para valores próximos aos relacionados às condições de consumo (η_{50}) fez com que a única variável significativa no aumento desse parâmetro fosse a concentração de IPS. O estudo da estabilidade levou à conclusão de que o índice de sedimentação foi influenciado principalmente pela concentração de SSPS em solução. O aumento da concentração deste biopolímero levou a um maior tempo de estabilidade e menor volume de sedimentado. Contudo nenhuma amostra mostrou estabilidade total após sete dias de observação.

Outra observação que pode ser feita foi em relação às interações entre o IPS e SSPS presente nas soluções. A estabilidade das soluções também foi influenciada pela razão entre as concentrações de polissacarídeo e proteína e o menor índice de sedimentação ocorreu para a razão 1,5:1,0 polissacarídeo:proteína.

Chega-se, portanto, à conclusão de que o polissacarídeo solúvel de soja é eficiente na estabilização de proteínas em suspensões ácidas, mas que a estabilidade poderia ser otimizada com a utilização conjunta do SSPS com outros estabilizantes.

7. Referências Bibliográficas

- ACHOURI, A.; BOYE, J.I.; ZAMANI, Y. Changes in soymilk quality as a function of composition and storage. **Journal of Food Quality**, v.30, p.731-744, 2007.
- ACQUARONE, V. M.; MENEGALLI, F. C.; RODRIGUES, M. I. Rheological behavior of soursop (*Annona Muricata* L.) juice as a function of temperature and concentration. In: ORTEGA, E.; PARADA, E.; FITO, P. **Equipos y procesos para la industria de alimentos. Tomo I: Propiedades físicas de alimentos**. Valência: 1996, v.1, p.1-8.
- AGUILERA, J.M.; RADEMARCHER, B. Proteins gels. In: YADA, R.Y. **Proteins in food processing**. New York: CRC Press, 2004, capítulo 20.
- ALTING, A. C., JONGH, H. H. J., VISSCHERS, R. W., SIMONS, J. W. F. A. Physical and chemical interactions in cold gelation of food protein. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 4682-4689, 2002.
- ALVARADO, J.D.; AGUILERA, J.M. **Métodos para medir Propiedades Físicas em Indústrias de Alimentos**. Ed. Acribia S.A. Zaragoza, 2001. 410p.
- AÑÓN, M.C., SORGENTINI, D.A., WAGNER, J. R. Relationships between Different Hydration Properties of Commercial and Laboratory Soybean Isolates. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 4852-4858, 2001.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**. 16. ed. Arlington: AOAC, 1997, 1298p.
- BARBOSA-CÁNOVAS, G.V.; IBARZ, A.; PELEG, M. Propriedades reológicas de alimentos fuidos. Revisión. **Alimentaria**, p.39-89, 1993.
- BARNES, H.A; HUTTON, J.F.; WALTERS, K. **An introduction to rheology**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1989, 199p.
- BATTISTI, C.R. **Preparo de extrato hidrossolúvel de soja a partir de farinha desengordurada de soja e gordura vegetal emulsificada**. Campinas, 1992, 166p. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Unicamp.
- BHATTACHARYA, S. Yield stress and time-dependent rheological properties of mango pulp. **Journal of Food Science**, v.64, p.1029-1033, 1999.

- BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method for total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry Physiology**, v. 37, p.911-917, 1959.
- BRAGA, A.L.M. **Formação, estrutura e propriedades reológicas de sistemas biopoliméricos**. Campinas, 2006, 255p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- BRITTEN, M., GIROUX, H. J. Acid-induced gelation of whey protein polymers: effects of pH and calcium concentration during polymerization. **Food Hydrocolloids**, v. 15, p. 609-617, 2001.
- BRYANT, C.M., MCCLEMENTS, D.J. Influence of xanthan gum on physical characteristics of heat denaturated whey protein solutions and gels. **Food Hydrocolloids**, v.14, p.383-390, 2000.
- CANTÚ-LOZANO, D.; RAO, M.A.; GASPARETTO, C.A. Rheological properties of noncohesive apple dispersion with helical and vane impellers: effect of concentration and particle size. **Journal of Food Process Engineering**, v.23, p.373-385, 2000.
- CHEFTEL, J.C., CUQ, J.L., LORIENT, D. Aminoácidos, peptídeos y proteínas. In: FENNEMA, O.R. (Ed.), **Química de los alimentos**, Editorial Acribia, Zaragoza, p. 275-414, 1993.
- CHOVE, B.E.; GRANDISON, A.; LEWIS, M.J. Some functional properties of fractionated soy protein isolates obtained by microfiltration. **Food Hydrocolloids**, v.21, p.1379-1388, 2007.
- DA SILVA, J.A.L.; RAO, M.A. Viscoelastic properties of food hydrocolloids dispersions. In: RAO, M. A.; STEFFE, J. F. **Viscoelastic properties of foods**. Elsevier Applied Science, London, 1992.
- DAMODARAN, S. Food proteins: An overview. In: DAMODARAN, S.; PARAF, A. (Ed). **Food proteins and their applications**. Marcel Dekker, New York, p.1-24, 1997.
- DE KRUIF, C. G.; TUINIER, R. Polysaccharide protein interactions. **Food Hydrocolloids**, v.15, p.555-563, 2001.
- DICKINSON, E. Stability and rheological implications of electrostatic milk protein-polysaccharide interactions. **Food Science & Technology**, v.9, p.347-354, 1998.

- EGBERT, W.R. Isolated Soy Protein: Technology, Properties, and Applications. In: KESHUN, L. **Soybeans as Functional Foods and Ingredients**. AOCS Press, Champaign, 2004, Capítulo 7.
- EMBRAPA SOJA - SOJA NA ALIMENTAÇÃO. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/soja_alimentacao/index.php?pagina=6>. Acesso em: Novembro de 2008.
- ENDRES, J.G. **Soy protein products - characteristics, nutritional, aspects, and utilization**. Champaign, AOCS Press, 2001.
- ETTELAIE, R.; MURRAY, B.S.; JAMES, E.L. Steric interactions mediated by multiblock polymers and biopolymers: role of block size and addition of hydrophilic side chains. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.31, p.195-206, 2003.
- FERGUSON, J.; KEMBLOWSKI, Z. **Applied fluid rheology**. Elsevier Applied Science, New York, 1991, 323p.
- FOX, J.E.; INGENPASS, P.; ZACHOW, S. Stabilizers. In: MACRAE, R. **Encyclopaedia of food science, food technology, and nutrition**. Vol. 7, London, Academic Press, p.4350-4358, 1993
- FREITAS, I. C. **Estudo das interações entre biopolímeros e polpas de frutas tropicais em cisalhamento estacionário e oscilatório**. Campinas, 2002. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- FURUTA, H.; MAEDA, H. Rheological properties of water-soluble polysaccharides extracted under weak acidic condition. **Food Hydrocolloids**, v.13, p.267-274, 1999.
- FURUTA, H.; TAKAHASHI, T.; TOBE, J.; KIWATA, R.; MAEDA, H. Extraction of Water-soluble Soybean Polysaccharides under Acidic Conditions. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v.62, p.2300-2305, 1998.
- FURUTA, H.; TOBE, J.; KIWATA, R.; MAEDA, H. Rheological Properties of a Heat-reversible Gel of Water-soluble Soybean Polysaccharide Extracted under Acidic Conditions. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v.63, p.2075-2081, 1999.
- GARCÍA, M. C.; MARINA, M. L.; LABORDA, F.; TORRE, M. Chemical characterization of commercial soybean products. **Food Chemistry**, Great Britain, v. 62, n. 3, p. 325-331, 1998.

- GENOVESE, D. B.; ELUSTONDO, M. P., LOZANO, J. E. Color and cloud stability in cloudy apple juice by steam heating during crushing. **Journal of Food Science**, v. 62, p. 1171-1175, 1997.
- GENOVESE, D.B.; LOZANO, J.E. The effect of hydrocolloids on the stability and viscosity of cloudy apple juices. **Food Hydrocolloids**, v. 15, p. 1-7, 2001.
- GNANASAMBANDAM, R. PROCTOR, A. Preparation of soy hull pectin. **Food Chemistry**, v. 65, p. 461-467, 1999.
- GNANASAMBANDAM, R.; PROCTOR, A. Determination of pectin degree of esterification by diffuse reflectance Fourier transform infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 68, p. 327-332, 2000.
- GRATÃO, A.C.A. **Termofluidodinâmica de sucos de frutas pseudoplásticos em dutos cilíndricos de ânulos concêntricos**. Campinas, 2006, 216p. Tese (Doutor em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- GRATÃO, A.C.A.; SILVEIRA Jr., V.; TELIS-ROMERO, J. Laminar flow of soursop juice through concentric annuli: Friction factors and rheology. **Journal of Food Engineering**. v.78, p.1343-1354, 2007.
- GRINBERG, V.Y.A., TOLSTOGUZOV, V.B. Thermodynamic incompatibility of proteins and polysaccharides in solutions. **Food Hydrocolloids**, v.11, p.145-158, 1997.
- HARDING, S.E. The intrinsic viscosity of biological macromolecules. Progress in measurement, interpretation and application to structure in dilute solution. **Prog. Biophysic Molecular Biology**, v. 68, n.2-3, p. 207-262, 1998.
- HERMANSSON, A. M. Soy protein gelation. **Journal of American Oil Chemists Society**, v.63, p.658-666, 1986.
- HUA, Y.; CHUI, S.W.; WANG, O. Gelling property of soy protein–gum mixtures. **Food Hydrocolloids**, v.17, p.889-894, 2003.
- JASENTULIYANAM, N., TOMA, R. B.; KLAVONS, J. A., MEDORA, N. Beverage cloudy stability with isolated soy protein. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 78, p. 389-394, 1998.

- KAMNEV, A. A.; COLINA, M.; RODRIGUES, J.; PTICHKINA, N. M.; IGNATOV, V. V. Comparative spectroscopic characterization of different pectins and their sources. **Food Hydrocolloids**, v. 12, p. 263-271, 1998.
- KAWAMURA, S.; NARASAKI, T. Study of carbohydrate of soybean: Component sugars of fractionated polysaccharides, especially identification of fucose in some hemicelluloses. **Agricultural and Biology Chemistry**, v.25, p.527-531, 1961.
- KJONIKSEN, A.-L.; HIORT, M.; NYSTRÖM, B. Association under shear flow in aqueous solutions of pectin. **European Polymer Journal**, v. 41, p. 761-770, 2005.
- KOKSOY, A., KILIC, M. Use of hydrocolloids in textural stabilization of a yoghurt drink, ayran. **Food Hydrocolloids**, v. 18, p.593-600, 2004.
- KURITA, O.; FUJIWARA, T.; YAMAZAKI, E. Characterization of the pectin extracted from citrus peel in the presence of citric acid. **Carbohydrate Polymers**, v.74, p. 725-730, 2008.
- LAKEMOND, C. M. M., JONGH, H. H. J. HESSING, M., GRUPPEN, H., VORAGEN, A.G. J. Soy glycinin: influence of pH and ionic strength on solubility and molecularstructure at ambient temperatures. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 48, n. 6, p. 1985-1990, 2000.
- LAM, M.; SHEN, R.; PAULSEN, P.; CORREDIG, M. **Food Research International**, v. 40, p.101-110, 2007.
- LAPASIN, R.; PRICL, S. **Rheological of Industrial Polysaccharides: Theory and Applications**, Glasgow, Blackie Academic and Professional, Chapman & Hall, 1. ed., 1995, 620p.
- LAUNAY, B.; CUVELIER, G.; MARTINEZ-REYES, S. Viscosity of locust bean, guar, and xanthan gum solutions in the Newtonian domain: a critical examination of the log $[\eta]_{sp}/c - \log c$ master curves. **Carbohydrate Polymers**, v. 34, p. 385-395, 1997
- LESCANO, C.A.A. **Estudo da secagem e caracterização das partículas de okara produzidas em um secador de tambor rotativo**. Campinas, 2004, 102p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

- LIANG, C.; HU, X.; NI, Y.; WU, J.; CHEN F.; LIAO, X. Effect of hydrocolloids on pulp sediment, white sediment, turbidity and viscosity of reconstituted carrot juice. **Food Hydrocolloids**, v.20, p.1190-1197, 2006.
- LIU, J.; NAKAMURA, A.; CORREDIG, C. Addition of pectin and soy soluble polysaccharide affects the particle size distribution of casein suspensions prepared from acidified skim milk. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.54, p.6241-6246, 2006.
- LIU, J.; VERESPEJ, E., CORREGID, M., ALEXANDER, M. Investigation of interactions between two different polysaccharides with sodium caseinate-stabilized emulsions using complementary spectroscopic techniques: Diffusing wave and ultrasonic spectroscopy. **Food Hydrocolloids**, v.22, p.47-55, 2008.
- LIU, K. **Soybeans: Chemistry, Technology and Utilization**. New York: Chapman and Hall, 1997, 532 p.
- LUCEY, J.A.; TAMEHANA, M.; SINGH, H.; MUNRO, P.A. Stability of model acid milk beverage: effect of pectin concentration, storage temperature and milk heat treatment. **Journal of Texture Studies**, v. 30, p. 305-318, 1999.
- MACOSKO, C.W. **Rheology: Principles, Measurements and Applications**, VCH Publishers, New York, NY, 1994.
- MAGNIN, F. & DUMITRIU, S. Interactions between polysaccharides and polypeptides. In: DUMITRIU, S. **Polysaccharides: Structures Diversity & Functional Diversity**. 2ed, New York: Marcel Dekker, 2005, capítulo 12.
- MALHOTRA, A.; COUPLAND, J.N. The effect of surfactants on the solubility, zeta potential, and viscosity of soy protein isolates. **Food Hydrocolloids**, v.18, p.101-108, 2004.
- MARRY, M.; McCANN, M. C.; KOLPAK, F.; WHITE, A. R.; STACEY, N. J.; ROBERTS, K. Extraction of pectic polysaccharides from sugar-beet cell walls. **Journal of Science Food and Agriculture**, v. 80, p. 17-28 , 2000.
- MCCLEMENTS, D.J. **Food emulsions: principles, practice, and techniques**. Washington: CRC Press, 2005.

- MORITA, M. Polysaccharides of soybean seeds: Polysaccharide constituents of hot-water-extract fraction of soybean seed and an arabinogalactan as its major component. **Agricultural and Biology Chemistry**, v. 29, p. 564-573, 1965.
- MORRIS, F.; FOSTER, T. J.; HARDING, S. E. The effect of the degree of esterification on the hydrodynamic properties of citrus pectin. **Food Hydrocolloids**, v. 14, p. 227-325, 2000.
- NAKAMURA, A., FURUTA, H.; MAEDA, H.; NAGAMATSU, Y.; YOSHIMOTO, A. Analysis of structural components and molecular construction of soybean soluble polysaccharides by stepwise enzymatic degradation. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v.65, p.2249-2258, 2001.
- NAKAMURA, A., TAKAHASHI, T.; YOSHIDA, R.; MAEDA, H.; CORREDIG, M. Emulsifying properties of soybean soluble polysaccharide. **Food Hydrocolloids**, v.18, p.795-803, 2004a.
- NAKAMURA, A.; FURUTA, H.; KATO, M.; MAEDA, H.; NAGAMATSU, Y. Effect of soybean soluble polysaccharides on the stability of milk protein under acidic conditions. **Food Hydrocolloids**, v.17, p.333-343, 2003.
- NAKAMURA, A.; YOSHIDA, R.; MAEDA, H.; CORREDIG, M. Soy soluble polysaccharide stabilization at oil-water interfaces. **Food Hydrocolloids**, v.20, p.277-283, 2006.
- NAKAMURA, A.; YOSHIDA, R.; MAEDA, H.; FURUTA, H.; CORREDIG, M. Study of the role of the carbohydrate and protein moieties of soy soluble polysaccharides in their emulsifying properties. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.52, p.5506-5512, 2004c.
- NAKAMURA, A.; YOSHIDA, R.; MAEDA, H.; FURUTA, H.; CORREDIG, M. Study of the role of the carbohydrate and protein moieties of soy soluble polysaccharides in their emulsifying properties. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.52, p.5506-5512, 2004b.
- NAKAUMA, M.; FUNAMI, T.; NODA, S.; ISHIHARA, S.; AL-ASSAF, S.; NISHINARI, K.; PHILLIPS, G. O. Comparison of sugar beet pectin, soybean soluble polysaccharide, and gum Arabic as food emulsifier. 1. Effect of concentration, pH,

- and salts on the emulsifying properties. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 1254-1267, 2008.
- NEWSTEIN, M.C., WANG, H., BALSARA, N.P., LEFEBVRE, A.A., SHNIDMAN, Y., WATANABE, H., OSAKI, K., SHIKATA, T., NIWA, H., MORISHIMA, Y. Microstructural changes in a colloidal liquid in the shear thinning and shear thickening regimes. **Journal of Chemical Physics**, v.111, p.4827, 1999.
- NG, W.K.; TAM, L.C.; JERKINS, R.D. Evaluation of intrinsic viscosity measurements of hydrophobically modified polyelectrolyte solutions. **European Polymer Journal**, v.35, p.1245-1252, 1999.
- PANDOFELLI, V. C. et al. **Dispersão e empacotamento de partículas, princípios e aplicações em processamento cerâmico**. São Paulo: Fazenda Arte, 2000.
- PAULSEN, P.V.; WELSBY, D.; HUANG, X.L. Ready-to-Drink Soy Protein Nutritional Beverages. In: RIAZ, M. N. **Soy Applications in Foods**. New York: Taylor & Francis Group, 2006, p.199-206.
- PEDERSEN, H. E. Application of soya protein concentrates in processed meat products. Experience from different countries. **Fleischwirtschaft**, v. 75, n. 6, p. 798 – 802, 1995.
- POTTER, R.M.; DOUGHERTY, M.P.; HAKTEMAN, W.A.; CAMIRE, M.E. Characteristics of wild blueberry–soy beverages. **LWT – Food Science and Technology**, v.40, p.807-814, 2007.
- QUEIROZ, A.J.M.; BEZERRA, J.R.M.V., GASPARETTO, C.A. Influência de diferentes teores de sólidos insolúveis suspensos nas características reológicas de sucos de abacaxi naturais e despectinizados. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.4, p.75-79, 2000.
- RANGANNA, S. **Manual of analysis of fruit and vegetable products**. New Dehi:Tata McGraw-Hill Publishing Company Limited, 1977. 634p.
- RAO, M.A. Rheology of liquid foods – a review. **Journal of Texture Studies**, v.8, n.2, p.257-282, 1977.
- REDONDO-CUENCA, A.; VILLANUEVA-SUÁREZ, M.J.; MATEOS-APARICIO, I. Soybean seeds and its by-product okara as sources of dietary fibre. Measurement by AOAC and Englyst methods. **Food Chemistry**, v.108, p.1099-1105, 2008.

- RENKEMA, J.M.S; GRUPPEN, H.; VLIET, T.V. Influence of pH and ionic strength on heat-induced formation and rheological properties of soy protein gels in relation to denaturation and their protein compositions. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.50, p.6064-6071, 2002.
- ROSTAGNO, M.A.; PALMA, M.; BARROSO, C.G. Ultrasound-assisted extraction of isoflavones from soy beverages blended with fruit juices. **Analytica Chimica Acta**, v.597, p.265-272, 2007.
- SÃO-JOSE, A.R.; ANGEL, D.N.; BONFIM, M.P.; REBOUÇAS, T.N.H. Cultivo da graviola. In: **Semana Internacional de Fruticultura e Agroindústria**, 7, 2000, Fortaleza. Cursos. Fortaleza: Sindifruta, Instituto Frutal, 2000. 35p. 1 CD-ROM.
- SATO, A. C. K.; OLIVEIRA, P. R.; CUNHA, R. L. Rheology of mixed pectin solutions. **Food Biophysics**, v. 3, p. 100-109, 2008.
- SBCTA - SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. Disponível em:<<http://www.sbcta.org.br/index.php?pag=300&id=2006-08-08%2012:26:59.484635&mes=8>>. Acesso em: Março de 2007.
- SCHMITT, C., SANCHEZ, C., DESOBRY-BANON, S., HARDY, J. Structure and technofuntional properties of protein-polysaccharide complexes: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 38, p. 689-753, 1998.
- SCHMITID, K. A., SMITH, D. E. Rehological properties of gum and milk protein interaction. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.36-42, 1992.
- SEAGRI – SECRETARIA DE AGRICULTURA, IRRIGAÇÃO E REFORMA AGRÁRIA. **Culturas Agrícolas**. Disponível em: <<http://www.seagri.ba.gov.br/Produtos.htm> >. Acesso em: Setembro de 2007.
- SGARBIERI, V. C. **Proteínas em produtos protéicos: propriedades, degradações, modificações**. 1. ed. São Paulo: Varela, 1996. p. 216-230.
- SHARMA, S. K.; LeMAGUER, M.; LIPTAY, A.; POYSA, V. Effect of composition on the rheological properties of tomato thin pulp. **Food Research International**, v.29, p.175-179, 1996.
- SIEW, C.K.; WILLIANS, P.A.; CUI, S.W.; WANG, Q. Characterization of the surface-active components of sugar beet pectin and the hydrodynamic thickness of the

- adsorbed pectin layer. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 8111-8120, 2008.
- SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. Infrared spectroscopy. In: **Spectrometric identification of organic compounds**. 5. ed , New York, Jhon Wiley & Sons, Inc. p. 91-164, 1991, capítulo 3.
- SKARRA, L. Barriers to Soy Protein Applications in Food Products. In KeShun, L. **Soybeans as Functional Foods and Ingredients**. Champaign: AOCS Press, 2004, capítulo 8.
- SPAGNUOLO, P.A., DALGLEISH, D.G., GOFF, H.D., MORRIS, E.R. Kapa-carrageenan interactions in systems containing casein micelles and polysaccharide stabilizers. **Food Hydrocolloids**, v.19, p.371-377, 2005.
- STEFFE, J.F. **Rheological Methods in Food Process Engineering**. Easting Lansing: Freeman Press, 2nd Edition, 1996, 418p.
- TELIS-ROMERO, J.; BERISTAIN, C.I.; GABAS, A.L.; TELIS, V.R.N. Effect of apparent viscosity on the pressure drop during fluidized bed drying of soursop pulp. **Chemical Engineering and Processing**, v.46, p.684-694, 2007.
- TODA FRUTA. Disponível em: <<http://www.todafruta.com.br/todafruta/institucional.asp?menu=170>>. Acesso em Dezembro de 2008.
- TOLSTOGUZOV, V. Composition and phase diagrams for aqueous systems based on proteins and polysaccharides. **International Reviews of Cytology – A Survey of Cell Biology**, v.192, p.3-31, 2000.
- TORREZAN, R.; CECCATO, C.M.; BARRETTO, A.C.D.; SILVA, V.S.; CARATIN, C.; PEREIRA, C.G.; MARTINEZ, J.; KUSHIDA, M.M.; NETO, M.P.; IAMANAKA, B.; CARDELLO, H.M.A.B. Avaliação do perfil sensorial de alimento de soja sabor laranja. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos, Curitiba**, v.22, n.2, p.199-216, 2004.
- TORREZAN, R.; CRISTIANINI, M. Revisão: Efeito do tratamento sob alta pressão sobre as propriedades funcionais da proteína de soja e interação proteína-polissacarídeo. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos, Curitiba**, v.23, n.2, p.201-220, 2005.

- USDA – UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **National Nutrient Database for Standard Reference.** Disponível em: <<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>>. Acesso em: Dezembro de 2008.
- VICENTINI, N.M.; DUPUY, N.; LEITZELMAN, M.; CEREDA, M.P.; SOBRAL, P.J.A. Prediction of cassava starch edible film properties by chemometric analysis of infrared spectra. **Spectroscopy Letters**, v.38, n.6, p.747-767, 2005.
- WANG, H. L.; CAVINS, J. F. Yield and amino acid composition of fractions obtained during tofu production. **Cereal Chemistry**, v. 66, p. 359-361, 1989.
- WEINBRECK, F.; VRIES, R.; SCHROOYEN, P; KRUIF, C.G. Complex coacervation of whey proteins and gum Arabic. **Biomracomolecules**, v.4, 293-303, 2003.
- YAMAGUCHI, F.; OTA, Y.; HATANAKA, C. Extraction and purification of pectic polysaccharides from soybean okara and enzymatic analysis of their structures. **Carbohydrate Polymers**, v.30, p.265-273, 1996.
- YE, A. Complexation between Milk proteins and polysaccharides via electrostatic interaction: principles and applications – a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v.43, p. 406-415, 2008.
- YOO, S.; FISHMAN, M. L.; HOTCHKISS JR.; A. T.; LEE, H. G. Viscometric behavior of high-methoxy and low-methoxy pectin solutions. **Food Hydrocolloids**, v. 20, p. 62-27, 2006.

**APÊNDICE 1. Análise dos Coeficientes de Regressão dos Planejamentos
Experimentais**

Tabela A. Coeficientes de Regressão para índice de comportamento (n) do SSPS-A

	Coeficientes de Regressão	Erro Padrão	t(5)	p-valor	Limite de Conf. -90%	Limite de Conf. +90%
Média.	0,89266	0,012346	72,30455	9,58487E-09	0,867783	0,917538
C % (L)	0,006416	0,00756	0,848657	0,434809278	-0,008818	0,02165
C % (Q)	0,02353	0,008998	2,614914	0,047387766	0,005398	0,041663
pH (L)	0,035731	0,00756	4,726232	0,005213579	0,020497	0,050966
pH (Q)	-0,002109	0,008998	-0,23434	0,824012734	-0,020241	0,016024
C % X pH	-0,021052	0,010692	-1,96902	0,106056587	-0,042597	0,000492

Tabela B. Coeficientes de Regressão para índice de comportamento (n) do SSPS-B

	Coeficientes de Regressão	Erro Padrão	t(5)	p-valor	Limite de Conf. -90%	Limite de Conf. +90%
Média.	0,955237	0,004052	235,7199	2,61E-11	0,947071	0,963403
C % (L)	-0,01351	0,002482	-5,44491	0,002838	-0,01851	-0,00851
C % (Q)	0,011037	0,002954	3,736762	0,013477	0,005085	0,016989
pH (L)	0,002981	0,002482	1,201138	0,283487	-0,00202	0,007981
pH (Q)	0,005771	0,002954	1,953908	0,108128	-0,00018	0,011723
C % X pH	0,001397	0,00351	0,398196	0,70692	-0,00567	0,008469

Tabela C. Coeficientes de Regressão para índice de comportamento (n) do SSPS-C

	Coeficientes de Regressão	Erro Padrão	t(5)	p-valor	Limite de Conf. -95%	Limite de Conf. +95%
Média.	0,930009	0,003707	250,8617	1,91E-11	0,920479	0,939539
C % (L)	-0,01416	0,00227	-6,23745	0,001551	-0,02	-0,00832
C % (Q)	0,02457	0,002702	9,092864	0,000269	0,017624	0,031516
pH (L)	0,005319	0,00227	2,342967	0,066136	-0,00052	0,011155
pH (Q)	0,00591	0,002702	2,187292	0,080371	-0,00104	0,012856
C % X pH	0,005404	0,003211	1,683116	0,153175	-0,00285	0,013657

Tabela D. Coeficientes de Regressão para viscosidade em taxa de deformação de 50s^{-1} (η_{50}) do SSPS-A

	Coeficientes de Regressão	Erro Padrão	t(5)	p-valor	Limite de Conf. -95%	Limite de Conf. +95%
Média.	7,353381	0,346039	21,25018	4,278E-06	6,46386085	8,242902
C % (L)	6,152835	0,211904	29,03589	9,081E-07	5,60811675	6,697552
C % (Q)	1,615825	0,252217	6,406492	0,0013741	0,96748086	2,264168
pH (L)	0,714983	0,211904	3,374082	0,0198014	0,17026519	1,259701
pH (Q)	-0,170961	0,252217	-0,67783	0,5279701	-0,8193045	0,477383
C % X pH	1,168241	0,299678	3,898318	0,0114287	0,39789347	1,938588

Tabela E. Coeficientes de Regressão para viscosidade em taxa de deformação de 50s^{-1} (η_{50}) do SSPS-B

	Coeficientes de Regressão	Erro Padrão	t(5)	p-valor	Limite de Conf. -95%	Limite de Conf. +95%
Média.	5,920726	0,540477	10,95463	0,00011	4,531385	7,310066
C % (L)	3,821487	0,330973	11,54621	8,55E-05	2,970694	4,672281
C % (Q)	0,160687	0,393937	0,407901	0,700225	-0,85196	1,173335
pH (L)	0,51758	0,330973	1,563813	0,178628	-0,33321	1,368374
pH (Q)	0,441764	0,393937	1,121408	0,313063	-0,57088	1,454411
C % X pH	0,914786	0,468067	1,954391	0,108061	-0,28842	2,11799

Tabela F. Coeficientes de Regressão para viscosidade em taxa de deformação de $50s^{-1}$ (η_{50}) do SSPS-C

	Coeficientes de Regressão	Erro Padrão	t(5)	p-valor	Limite de Conf. -95%	Limite de Conf. +95%
Média.	6,023311	0,442862	13,60088	3,85E-05	4,884898	7,161723
C % (L)	4,279835	0,271196	15,78131	1,86E-05	3,582702	4,976967
C % (Q)	1,065549	0,322788	3,301077	0,02145	0,235795	1,895302
pH (L)	1,316617	0,271196	4,854848	0,004654	0,619485	2,01375
pH (Q)	-0,33041	0,322788	-1,02362	0,352961	-1,16017	0,499341
C % X pH	1,431531	0,38353	3,732517	0,013536	0,445637	2,417425

Tabela G. Coeficientes de Regressão para índice de sedimentação após sete dias de observação $IS_7(\%)$

	Coeficientes de Regressão	Erro Padrão	t(5)	p-valor	Limite de Conf. -95%	Limite de Conf. +95%
Média.	39,97549	2,207818	18,10633	3,88E-07	34,75483	45,19615
SSPS % (L)	-8,86023	1,037417	-8,54066	5,99E-05	-11,3133	-6,40712
SSPS % (Q)	-5,16443	1,142899	-4,51872	0,002736	-7,86696	-2,46191
IPS % (L)	0,11257	1,037417	0,10851	0,916636	-2,34053	2,565671
IPS % (Q)	-2,68427	1,142899	-2,34866	0,051189	-5,3868	0,018251
SSPS X IPS	-1,38368	1,037417	-1,33377	0,224039	-3,83678	1,069423
SSPS X Ca	-1,47963	1,142899	-1,29463	0,236516	-4,18215	1,222899
IPS X Ca	1,3	1,354852	0,959515	0,369261	-1,90372	4,503715

Tabela H. Coeficientes de Regressão para taxa de deformação de $50s^{-1}$ (η_{50}) do suco de graviola

	Coeficientes de Regressão	Erro Padrão	t(5)	p-valor	Limite de Conf. -95%	Limite de Conf. +95%
Média.	41,03215	9,172648	4,473316	0,002889	19,34229	62,72202
SSPS % (L)	2,915144	4,310073	0,676356	0,520529	-7,27656	13,10685
SSPS % (Q)	-0,67747	4,74831	-0,14268	0,890566	-11,9054	10,5505
IPS % (L)	16,24761	4,310073	3,769684	0,006986	6,055911	26,43932
IPS % (Q)	-0,88988	4,74831	-0,18741	0,856656	-12,1179	10,33809
SSPS X IPS	0,304092	4,310073	0,070554	0,945726	-9,88761	10,4958
SSPS X Ca	6,450858	4,74831	1,358559	0,21644	-4,77711	17,67883
IPS X Ca	-0,38125	5,628896	-0,06773	0,947894	-13,6915	12,92897

Tabela I. Coeficientes de Regressão para taxa de deformação tendendo ao repouso (η_0) do suco de graviola

	Coeficientes de Regressão	Erro Padrão	t(5)	p-valor	Limite de Conf. -95%	Limite de Conf. +95%
Média.	635,9724	17,18876	36,99932	2,73859E-09	595,3275	676,6174
SSPS % (L)	1,039561	8,076709	0,128711	0,901206394	-18,05882	20,13794
SSPS % (Q)	-25,72693	8,897928	-2,891339	0,023271721	-46,76719	-4,686673
IPS % (L)	33,09947	8,076709	4,098138	0,004583762	14,00109	52,19785
IPS % (Q)	0,719888	8,897928	0,080905	0,93778196	-20,32037	21,76015
SSPS X IPS	-8,946274	8,076709	-1,107663	0,304610731	-28,04466	10,15211
SSPS X Ca	12,45441	8,897928	1,399697	0,204327926	-8,585852	33,49466
IPS X Ca	24,81688	10,54807	2,352741	0,050881853	-0,125347	49,7591