





Lucas Talamini

**ESPUMAS ESTRUTURADAS DE CASEÍNA: OTIMIZAÇÃO DO  
PROCESSO DE PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-  
QUÍMICA**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Ciência dos Alimentos.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Carmen Maria Olivera Müller.

Florianópolis  
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Talamini, Lucas

Espumas estruturadas de caseína : otimização do processo de produção e caracterização físico-química / Lucas Talamini ; orientadora, Carmen Maria Olivera Müller, 2018.  
118 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Florianópolis, 2018.

Inclui referências.

1. Ciência dos Alimentos. 2. Caseína. 3. Espumas de caseína. 4. Liofilização. 5. Polissacarídeos. I. Müller, Carmen Maria Olivera . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. III. Título.

**Espumas Estruturadas de Caseína: Otimização do Processo de Produção e  
Caracterização Físico-Química**

**Por**

**Lucas Talamini**


Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de  
“**Mestrado** em Ciência dos Alimentos” e aprovada em sua forma final pelo  
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos.

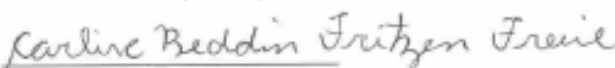
Florianópolis, 04 de outubro de 2018

  
Prof. (a). Dr. (a). Ana Carolina de Oliveira Costa  
Coordenador

**Banca Examinadora:**

  
Prof.(a). Dr.(a) Carmen Maria Olivera Müller,  
Orientador (UFSC)

  
Prof.(a). Dr.(a). Alexandre Luis Parize,  
Membro (UFSC)

  
Prof.(a). Dr.(a). Carlise Beddin Fritzen Freire,  
Membro (UFSC)

  
Prof.(a). Dr.(a). Elane Schwinden Prudêncio,  
Membro (UFSC)



Este trabalho é dedicado aos meus queridos pais, à minha namorada Nicole e aos meus colegas de laboratório.





## AGRADECIMENTOS

A presente dissertação de mestrado só foi possível devido à contribuição e apoio de várias pessoas.

Meus mais sinceros agradecimentos à minha orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dra. Carmen Maria Olivera Müller pela orientação, paciência e empenho e motivação durante todo o desenvolvimento deste trabalho. Além da orientação, agradeço pelo seu exemplo de pessoa e profissional, terás sempre a minha admiração.

Agradeço pelo apoio e amor incondicional de meus pais, Volni e Ivete Talamini, e de minha namorada, Nicole, sempre me motivando nos momentos difíceis e compartilhando de minhas alegrias durante estes anos.

Agradeço aos meus colegas de laboratório, Fabiani, Karoline, Natália e Suliana pelos conhecimentos e alegrias compartilhados.

Agradeço igualmente a todos meus amigos pelas felicidades compartilhadas.

Agradeço ao Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal de Santa Catarina pelo seu auxílio na obtenção das imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura.

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro.

Por fim, agradeço a todos os funcionários da Universidade Federal de Santa Catarina, servidores e professores, ambos fundamentais para a conclusão deste trabalho.



“Nada na vida deve ser temido, somente compreendido.” (Marie Skłodowska Curie)



## RESUMO

Atualmente os consumidores buscam produtos inovadores e seguros para consumo. As espumas proteicas se encaixam nesta proposta pois possuem a capacidade de modificar a textura dos alimentos nos quais elas são incorporadas. As espumas são sistemas coloidais instáveis constituídos pela dispersão de um gás em um líquido. Para que esta dispersão seja possível é necessário o uso de agentes estabilizantes que sejam capazes de se adsorver na interface líquido-gás diminuindo a energia superficial do sistema e facilitando a formação de bolhas de gás. Algumas proteínas, em função da sua estrutura anfífila, apresentam capacidade de formar espumas, dentre as quais se destacam as caseínas, que constituem cerca de 80 % do conteúdo proteico do leite bovino. Entretanto, do ponto de vista tecnológico além de formar a espuma, é necessário que a mesma seja estável e para isso outros compostos podem ser utilizados para auxiliar no retardamento de seus fenômenos de desestabilização. Dentre estes compostos se encontram os polissacarídeos que atuam aumentando a viscosidade da fase líquida e auxiliam na estabilidade da espuma formada. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o uso de caseína na produção de espumas e a contribuição dos polissacarídeos alginato de sódio, goma xantana e carboximetilcelulose na formação e estabilização de espumas utilizando modelagem de misturas visando a elaboração de uma espuma estruturada. No planejamento de mistura foram produzidas soluções com diferentes concentrações de polissacarídeos que foram submetidos a batimento para produção de espumas e foram maximizados dois fatores: a capacidade espumante (*overrun*) e estabilidade (tempo de meia-vida,  $t_{1/2}$ ). A partir dos resultados obtidos foi selecionada a solução com maior capacidade espumante (*overrun*) e maior estabilidade (tempo de meia-vida,  $t_{1/2}$ ) para ser caracterizada em termos de teor de umidade, viscosidade e tensão superficial. A espuma produzida com esta solução otimizada foi caracterizada em termos de *overrun*, tempo de meia-vida, fração gasosa e posteriormente foi liofilizada para produção da espuma estruturada, que foi avaliada morfológicamente por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Além dessa caracterização foi avaliada a higroscopicidade do material através das cinéticas de adsorção de umidade em duas condições de umidade relativa: 33 % e 80 %. A solução selecionada para a produção das espumas estruturadas continha 1 % de caseína e 0,4 % de polissacarídeos (na proporção de 0,117 de alginato de sódio, 0,817 de goma xantana e 0,067 de carboximetilcelulose) e apresentou  $3,966 \pm 0,007$  % de sólidos totais,

viscosidade aparente de  $412,534 \pm 10,295$  mPa s e tensão superficial de  $51,93 \pm 0,45$  mN m<sup>-1</sup>. As espumas elaboradas a partir desta solução apresentaram os maiores valores de *overrun* (605,1 %) e maior tempo de meia-vida ( $t_{1/2} = 485$  min) entre todas as formulações avaliadas, o que foi associado ao aumento da viscosidade da solução causado principalmente pela goma xantana, componente em maior proporção na mistura. Este aumento de viscosidade retardou a drenagem líquida e quanto mais lentamente o líquido entre as lamelas for drenado, menor será a tendência de as bolhas de ar coalescerem, consequentemente aumentando estabilidade da espuma. Destaca-se que o planejamento de misturas utilizando pseudocomponentes foi eficaz na seleção de uma solução capaz de formar espumas com alta incorporação do ar e estabilidade. As espumas estruturadas apresentaram elevada porosidade onde foi possível observar uma distribuição relativamente homogênea de tamanho de poros de formato esférico, a presença de filmes interfaciais e fronteiras de Plateau bem definidas. A espuma apresentou alta higroscopicidade com elevadas taxas de adsorção de umidade, propriedade associada à natureza higroscópica dos constituintes e a alta porosidade do material. Sendo assim, conclui-se que a técnica de planejamento de misturas foi eficiente para a seleção de uma solução adequada para elaboração de espumas estruturadas de caseína e polissacarídeos que podem vir a ser utilizadas como agentes de modificação de textura e/ou formulação de novos produtos.

**Palavras-chave:** Espuma estruturada. Caseína. Liofilização. Goma xantana. Alginato de sódio. Carboximetilcelulose.

## ABSTRACT

Today consumers are looking for innovative and safe products for consumption. Protein foams fit this proposal because they have the ability to modify the texture of the foods in which they are incorporated. Foams are unstable colloidal systems consisting of the dispersion of a gas into a liquid. For this dispersion to be possible, it is necessary to use stabilizing agents that are capable of adsorbing at the liquid-gas interface by decreasing the surface energy of the system and facilitating the formation of gas bubbles. Some proteins, due to their amphiphilic structure, have the ability to form foams, among them caseins, which constitute about 80% of the protein content of bovine milk. However, from the technological point of view in addition to forming the foam, it is necessary that it be stable and for this, other compounds can be used to assist in delaying its phenomena of destabilization. Among these compounds are the polysaccharides that act increasing the viscosity of the liquid phase and assist in the stability of the formed foam. In this context, the objective of this work was to evaluate the use of casein in the production of foams and the contribution of polysaccharides sodium alginate, xanthan gum and carboxymethylcellulose in the formation and stabilization of foams using modeling of mixtures aiming the elaboration of a structured foam. In the mixing planning, solutions with different concentrations of polysaccharides were produced, which were subjected to a foaming process and two factors were maximized: overrun and stability (half-life time,  $t_{1/2}$ ). Based on the obtained results, the solution with higher foam capacity (overrun) and higher stability (half-life,  $t_{1/2}$ ) was selected and was characterized in terms of moisture content, viscosity and surface tension. The foam produced with this optimized solution was characterized in terms of overrun, half-life, and gas fraction and was subsequently freeze-dried for the production of the structured foam, which was evaluated morphologically by scanning electron microscopy (SEM). In addition to this characterization, the hygroscopicity of the material through moisture adsorption kinetics was evaluated in two relative humidity conditions: 33% and 80%. The solution selected for the production of the structured foams contained 1% casein and 0.4% polysaccharides (in the proportion of 0.117 sodium alginate, 0.817 xanthan gum and 0.067 carboxymethylcellulose) and presented  $3.966 \pm 0.007\%$  total solids, apparent viscosity of  $412.534 \pm 10.295$  mPa s and surface tension of  $51.93 \pm 0.45$  mN m<sup>-1</sup>. The foams made from this solution had the highest values of overrun (605.1 %) and a longer half-life ( $t_{1/2} = 485$  min) among all the

formulations evaluated, which was associated with the increase in the viscosity of the solution caused mainly by xanthan gum, component in the highest proportion in the mixture. This increase in viscosity has retarded liquid drainage and the more slowly the liquid between the coverslips is drained, the less the tendency for the air bubbles to coalesce, thereby increasing foam stability. It is noteworthy that the planning of mixtures using pseudocomponents was effective in the selection of a solution capable of forming foams with high air incorporation and stability. The structured foams presented high porosity where it was possible to observe a relatively homogeneous distribution of spherical pore size, the presence of interfacial films and well defined Plateau boundaries. The foam presented high hygroscopicity with high rates of moisture adsorption, property associated with the hygroscopic nature of the constituents and the high porosity of the material. Thus, it is concluded that the blending planning technique was efficient for the selection of a suitable solution for the preparation of structured foam of casein and polysaccharides that may be used as texture modifying agents and / or formulation of new products.

**Keywords:** Structured foam. Casein. Freeze-drying. Xanthan gum. Sodium alginate. Carboxymethylcellulose.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Sequência de aminoácidos que constituem a $\alpha_{s1}$ -caseína.....	36
Figura 2 – Sequência de aminoácidos que constituem a $\alpha_{s2}$ -caseína.....	37
Figura 3 – Sequência de aminoácidos que constituem a $\beta$ -caseína.....	38
Figura 4 – Sequência de aminoácidos que constituem a $\kappa$ -caseína.....	39
Figura 5 – Estruturas tridimensionais propostas para as caseínas. (A) $\alpha_{s1}$ -caseína; (B) $\alpha_{s2}$ -caseína; (C) $\beta$ -caseína e (D) $\kappa$ -caseína.....	40
Figura 6 – Imagem da estrutura da micela de caseína obtida por Microscopia Eletrônica de Varredura.....	42
Figura 7 – Ilustração da fronteira de Plateau.....	44
Figura 8 – Processos de desestabilização de espumas: (A) Creaming; (B) Drenagem do líquido; (C) Maturação de Ostwald; (D) Coalescência....	47
Figura 9 – Representação de como as moléculas anfifílicas auxiliam na diminuição da energia superficial.....	48
Figura 10 – Representação da estabilização de espumas por moléculas anfifílicas.....	49
Figura 11 – Estrutura química da goma xantana.....	52
Figura 12 – Estrutura química do alginato de sódio.....	53
Figura 13 – Estrutura química da carboximetilcelulose.....	54
Figura 14 – Esquema utilizado para o planejamento de produção das espumas.....	63
Figura 15 – Representação do Anel Du Noüy.....	68
Figura 16 – Porcentagem de caseína solubilizada em solução em tampão McIlvaine pH 8,0 em função da concentração.....	73

Figura 17 – Gráfico de pareto do estudo de <i>overrun</i> das espumas produzidas a partir das soluções de caseína e polissacarídeos estabelecidas no primeiro planejamento de misturas.....	77
Figura 18 – Gráfico de superfície de resposta para o estudo de <i>overrun</i> das espumas formadas a partir de soluções contendo caseína e polissacarídeos estabelecidos no primeiro planejamento de misturas.....	78
Figura 19 – Gráfico de pareto do estudo de meia-vida das espumas produzidas a partir das soluções de caseína e polissacarídeos estabelecidas no primeiro planejamento de misturas.....	81
Figura 20 – Gráfico de superfície de resposta para o estudo de meia-vida das espumas formadas a partir de soluções contendo caseína e polissacarídeos estabelecidos no primeiro planejamento de misturas....	82
Figura 21 – Gráfico de pareto do estudo de <i>overrun</i> das espumas produzidas a partir das soluções de caseína e polissacarídeos estabelecidas no segundo planejamento de misturas.....	85
Figura 22 – Gráfico de superfície de resposta para o estudo de <i>overrun</i> das espumas formadas a partir de soluções contendo caseína e polissacarídeos estabelecidos no segundo planejamento de misturas.....	86
Figura 23 – Gráfico de pareto do estudo de meia-vida das espumas produzidas a partir das soluções de caseína e polissacarídeos estabelecidas no segundo planejamento de misturas.....	89
Figura 24 – Gráfico de superfície de resposta para o estudo de meia-vida das espumas formadas a partir de soluções contendo caseína e polissacarídeos estabelecidos no segundo planejamento de misturas....	90
Figura 25 – Gráfico de viscosidade vs taxa de cisalhamento da solução espumante otimizada pelo segundo planejamento de misturas.....	93
Figura 26 – Gráfico de tensão de cisalhamento vs taxa de cisalhamento da solução da solução espumante otimizada pelo segundo planejamento de misturas.....	93

Figura 27 – Imagens de Microscopia Óptica com uma ampliação de 10x das espumas produzidas a partir da solução espumante otimizada pelo segundo planejamento de misturas. (A) 3 min de batimento; (B) 5 min de batimento; (C) 10 min de batimento.....96

Figura 28 – Imagens de Microscopia Óptica com uma ampliação de 10x da espuma produzida a partir da solução espumante otimizada pelo segundo planejamento de misturas batida durante 10 min e deixada em repouso durante 1 hora.....96

Figura 29 – Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura das espumas estruturadas por liofilização produzidas partir da solução espumante otimizada pelo segundo planejamento de misturas..... 98

Figura 30 – Imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura da fronteira de Plateau observada na espuma estruturada por liofilização produzida partir da solução espumante otimizada pelo segundo planejamento de misturas. A região A corresponde a fronteira de Plateau enquanto a região B corresponde ao filme interfacial.....99

Figura 31 – Gráfico cinéticos de adsorção de umidade (b.s.) em função do tempo para as espumas estruturadas e condicionadas em umidade relativa de 33 %.....100

Figura 32 – Gráfico de U b.s. em função do tempo para as espumas estruturadas e condicionadas em umidade relativa de 80 %.....100



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais proteínas do leite.....	34
Tabela 2 – Variáveis codificadas e respectivas concentrações de polissacarídeos utilizadas no primeiro planejamento de misturas.....	63
Tabela 3 – Variáveis codificadas e respectivas concentrações de polissacarídeos utilizadas no segundo planejamento de misturas.....	64
Tabela 4 – Resultados do estudo de <i>overrun</i> das espumas formadas a partir de soluções contendo caseína e polissacarídeos estabelecidos no primeiro planejamento de misturas.....	74
Tabela 5 – Análise de variância (ANOVA) dos resultados de <i>overrun</i> das espumas formadas a partir de soluções contendo caseína e polissacarídeos estabelecidos no primeiro planejamento de misturas....	76
Tabela 6 – Resultados do estudo de tempo de meia-vida das espumas formadas a partir de soluções contendo caseína e polissacarídeos estabelecidos no primeiro planejamento de misturas.....	79
Tabela 7 – Análise de variância (ANOVA) dos resultados de meia-vida das espumas formadas a partir de soluções contendo caseína e polissacarídeos estabelecidos no primeiro planejamento de misturas...80	
Tabela 8 – Resultados do estudo de <i>overrun</i> das espumas formadas a partir de soluções contendo caseína e polissacarídeos estabelecidos no segundo planejamento de misturas.....	83
Tabela 9 – Análise de variância (ANOVA) dos resultados de <i>overrun</i> das espumas formadas a partir de soluções contendo caseína e polissacarídeos estabelecidos no segundo planejamento de misturas....	84
Tabela 10 – Resultados do estudo de tempo de meia-vida das espumas formadas a partir de soluções contendo caseína e polissacarídeos estabelecidos no segundo planejamento de misturas.....	87
Tabela 11 – Análise de variância (ANOVA) dos resultados de meia-vida das espumas formadas a partir de soluções contendo caseína e polissacarídeos estabelecidos no segundo planejamento de misturas....	88

Tabela 12 – Resultados referentes a análise reológica da solução contendo somente 1 % de caseína.....91

Tabela 13 – Resultados referentes a análise reológica da solução contendo 1 % caseína e 0,4 % de polissacarídeos nas proporções otimizadas pelo segundo planejamento de misturas.....92

Tabela 14 – Parâmetros do modelo de Peleg das amostras de espuma estruturada condicionadas a 33% e 80% de umidade relativa.....101

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CMC – Carboximetilcelulose.

FAO – *Food and Agriculture Organization of the United Nations*.

PI – Ponto isoelétrico.

Wt. – Massa em um volume de 140 mL.

% DR – Razão de drenagem.

Mld (t) – Massa (g) do líquido drenado no tempo.

Msp – Massa (g) da solução de proteína inicial.

U – Umidade ou substâncias voláteis a 105 °C por cento (m/m).

N – N° de gramas de umidade (perda de massa em g).

P – N° de gramas da amostra.

$\tau$  – Tensão de cisalhamento (Pa).

$\gamma$  – Taxa de deformação ( $s^{-1}$ ).

K – Índice de consistência do fluido ( $Pa\ s^{-1}$ ).

n – Índice de comportamento do fluido (adimensional).

$\eta_a$  – Viscosidade aparente do fluido (Pa s).

$\phi$  – Fração do volume da fase gasosa;

Vf – Volume da espuma (mL).

Vt – Volume do líquido (mL).

M(t) – Umidade da amostra no tempo (g H<sub>2</sub>O g de sólidos secos<sup>-1</sup>).

M<sub>0</sub> – Umidade inicial (g H<sub>2</sub>O g de sólidos secos<sup>-1</sup>).

$t$  – Tempo (min).

$k_1$  – Constante de Peleg ( $\text{min gss gH}_2\text{O}^{-1}$ ).

$k_2$  – Constante de Peleg ( $\text{gss gH}_2\text{O}^{-1}$ ).

.



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>29</b>
1.1	OBJETIVOS .....	31
1.1.1	Objetivo geral .....	31
1.1.2	Objetivos específicos .....	31
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>33</b>
2.1	PROTEÍNAS DO LEITE.....	33
2.1.1	Caseínas .....	35
2.2	PROPRIEDADES FUNCIONAIS DAS PROTEÍNAS .....	42
2.2.1	Espumas .....	43
2.2.2	Estabilidade das espumas .....	45
2.2.2.1	Mecanismos de desestabilização de espumas .....	45
2.2.2.2	Agentes de estabilização de espumas.....	47
2.3	ESPUMAS DE CASEÍNA.....	54
2.4	PLANEJAMENTO DE MISTURAS.....	56
2.5	LIOFILIZAÇÃO .....	58
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>61</b>
3.1	MATERIAL .....	61
3.2	SOLUBILIDADE DA CASEÍNA .....	61
3.3	PREPARO DAS SOLUÇÕES ESTOQUE .....	62
3.4	PLANEJAMENTO DE PRODUÇÃO DAS ESPUMAS.....	62
3.5	CARACTERIZAÇÃO DAS ESPUMAS PRODUZIDAS A PARTIR DAS SOLUÇÕES ESTABELECIDAS NOS PLANEJAMENTOS .....	64
3.5.1	<i>Overrun</i> .....	64
3.5.2	Estabilidade da espuma .....	65
3.6	CARACTERIZAÇÃO DA SOLUÇÃO OTIMIZADA NO PLANEJAMENTO DE MISTURAS.....	66
3.6.1	Teor de umidade.....	66
3.6.2	Viscosidade aparente .....	67

<b>3.6.3</b>	<b>Tensão superficial .....</b>	<b>68</b>
3.7	CARACTERIZAÇÃO DA ESPUMA PRODUZIDA A PARTIR DA SOLUÇÃO OTIMIZADA ATRAVÉS DO PLANEJAMENTO DE MISTURAS .....	68
<b>3.7.1</b>	<b>Fração da fase gasosa .....</b>	<b>69</b>
<b>3.7.2</b>	<b>Microscopia Óptica.....</b>	<b>69</b>
3.8	ESPUMA ESTRUTURADA .....	70
3.9	CARACTERIZAÇÃO DA ESPUMA OTIMIZADA ESTRUTURADA .....	70
<b>3.9.1</b>	<b>Cinética de adsorção de umidade .....</b>	<b>70</b>
<b>3.9.2</b>	<b>Morfologia .....</b>	<b>71</b>
3.10	ANÁLISES ESTÁTISTICAS .....	71
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>73</b>
4.1	SOLUBILIDADE DA CASEÍNA .....	73
4.2	PLANEJAMENTO DE MISTURAS .....	74
<b>4.2.1</b>	<b>Primeiro planejamento de misturas .....</b>	<b>74</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Segundo planejamento de misturas.....</b>	<b>82</b>
4.3	CARACTERIZAÇÃO DA SOLUÇÃO OTIMIZADA .....	91
<b>4.3.1</b>	<b>Teor de umidade .....</b>	<b>91</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Viscosidade aparente .....</b>	<b>91</b>
<b>4.3.3</b>	<b>Tensão superficial .....</b>	<b>94</b>
4.4	CARACTERIZAÇÃO DA ESPUMA PRODUZIDA A PARTIR DA SOLUÇÃO OTIMIZADA .....	94
<b>4.4.1</b>	<b>Fração da fase gasosa .....</b>	<b>95</b>
<b>4.4.2</b>	<b>Microscopia Óptica.....</b>	<b>95</b>
4.5	ESPUMA ESTRUTURADA .....	97
4.6	CARACTERIZAÇÃO DA ESPUMA OTIMIZADA ESTRUTURADA .....	97
<b>4.6.1</b>	<b>Morfologia .....</b>	<b>97</b>
<b>4.6.2</b>	<b>Cinética de adsorção de umidade .....</b>	<b>99</b>

<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS.....</b>	<b>103</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>105</b>



## 1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A tecnologia de alimentos tem contribuído cada vez mais para a melhoria da qualidade de vida do ser humano. Para que isso seja possível, é necessário o desenvolvimento de produtos seguros e inovadores que satisfaçam as novas demandas dos consumidores. Nesta proposta se encontram as espumas proteicas, que além de promover modificações na textura de produtos as quais são incorporadas, possibilitam a produção de novos alimentos proteicos.

Espumas são aplicadas em diversos setores, e no setor de alimentos, fazem parte de produtos de panificação, sorvetes, sobremesas, entre outros, onde são utilizadas para aprimorar o sabor e a textura destes produtos. Porém, para que isto seja possível, é necessário ter conhecimento das propriedades da espuma a ser utilizada, de forma a garantir a estabilidade do produto obtido. Do ponto de vista físico-químico, espumas são definidas como dispersões coloidais de gás em líquido, onde o líquido constitui a fase contínua que circunda a fase gasosa dispersa (SCHRAMM, 2006). Para que esta dispersão ocorra, é necessário que o líquido entre em contato com o gás através de agitação mecânica (batimento) ou por borbulhamento do gás na fase líquida. Durante a formação da espuma, ocorre um aumento na tensão superficial do sistema devido ao estiramento do filme que recobre a superfície das bolhas conforme o gás é incorporado, tornando-o instável. Para minimizar este problema, podem ser utilizados agentes espumantes, como os surfactantes, que são capazes de aumentar a resistência e estabilidade do filme líquido, gerando uma espuma mais estável (JIMENEZ-JUNCA et al., 2015; RENPU, 2015; QIAN; CHEN, 2015). Frações líquidas pouco viscosas também podem contribuir para a desestabilização de espumas pois favorecem a drenagem do líquido nas lamelas, afinando os filmes entre as bolhas e tornando-as mais propensas a colapsarem. Este problema pode ser minimizado através da incorporação de polissacarídeos com capacidade espessante, como o alginato de sódio, a carboximetilcelulose e a goma xantana, que atuam aumentando a viscosidade da fase líquida, minimizando o processo de drenagem líquida.

Por outro lado, as proteínas apresentam regiões hidrofílicas e hidrofóbicas que lhes conferem um caráter anfifílico semelhante aos surfactantes fazendo com que elas se desloquem para as interfaces ar-água ou óleo-água diminuindo a energia superficial e auxiliando na estabilização de espumas (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Dentre as proteínas alimentares, as proteínas do leite apresentam potencial utilização na formação de espumas, destacando-se a caseína que compreende aproximadamente 80 % do teor proteico do leite bovino (ESKIN, 2015). A caseína é uma fosfoproteína na qual o íon fosfato está esterificado ao grupo hidroxila da serina (SOUZA; PEIXOTO; TOLEDO, 1995). No leite, a caseína está agregada com fosfato de cálcio formando micelas, que após a remoção do fosfato de cálcio, formam o caseinato de sódio, largamente utilizado como ingrediente na produção de alimentos devido a sua rápida adsorção em interfaces óleo-água durante emulsificações, promovendo estabilidade ao sistema (DICKINSON, 2006).

Neste sentido, alguns trabalhos relatam que a caseína apresenta boas propriedades espumantes, porém, ainda restam estudos a serem feitos a respeito de sua estabilidade (AHMED; DICKINSON, 1991; SINGH; FOX; CUDDIGAN, 1993). Neste sentido, este estudo teve como objetivo avaliar a capacidade espumante de soluções de caseína e polissacarídeos e a sua estabilidade utilizando a técnica de planejamento de misturas, visando a elaboração de um produto estruturado utilizando o processo de liofilização.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

Avaliar o uso de caseína na produção de espumas estruturadas por liofilização e a contribuição dos polissacarídeos alginato de sódio, goma xantana e carboximetilcelulose na estabilização desta espuma utilizando a técnica de planejamento de misturas.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- Avaliar a capacidade de formação de espuma e sua estabilidade utilizando soluções contendo caseína e polissacarídeos (carboximetilcelulose, alginato de sódio e goma xantana) utilizando a técnica de planejamento de misturas;
- Caracterizar a solução proteica utilizada para formação das espumas em termos de: teor de sólidos, viscosidade aparente e tensão superficial;
- Determinar a curva cinética de *overrun* (capacidade da solução de incorporar ar) das formulações de caseína e polissacarídeos;
- Caracterizar a estabilidade das espumas obtidas utilizando tempo de meia-vida;
- Caracterizar as espumas através de Microscopia Óptica, avaliando o perfil de suas bolhas em diferentes tempos de batimento;
- Caracterizar morfológicamente as espumas estruturadas por liofilização utilizando a técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura;
- Avaliar a higroscopicidade das espumas estruturadas por liofilização através do estudo da sua cinética de adsorção de umidade a 25 °C e umidades relativas de 33 % e 80 %.





## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 PROTEÍNAS DO LEITE

O leite é o produto de secreção das glândulas mamárias dos mamíferos e constitui uma das principais fontes de proteínas na alimentação de animais jovens e de humanos de todas as idades, sendo praticamente o único alimento para os animais e humanos na primeira etapa da vida (SGARBIERI, 1996). Entre os anos de 2002 e 2011, a produção mundial de leite apresentou um crescimento progressivo ano após ano (FREITAS; REVILLION, 2014). Segundo dados da *Food and Agriculture Organization of the United Nations* – FAO (FAO, 2017), em 2015 a produção mundial de leite chegou a 815,4 bilhões de litros, com uma estimativa de produção de 833,5 bilhões de litros de leite para o ano de 2017.

O leite pode ser definido como uma emulsão líquida cuja fase contínua é constituída por água e substâncias hidrossolúveis, e a fase dispersa ou descontínua é constituída, basicamente, por micelas de caseína e glóbulos de gordura. O leite mais importante do ponto de vista comercial é o bovino, tendo como seus principais constiuintes água (87,3 %) e sólidos totais (12,7 %) que são constituídos por proteínas (3,3 a 3,5 %), lipídios (3,5 a 3,8 %), lactose (4,9 %), minerais (0,7 %) e vitaminas (SGARBIERI, 2005).

As propriedades nutricionais do leite são atribuídas aos seus componentes, dentre os quais ganham destaque as proteínas, o cálcio e a vitamina D (PALMQUIST, 2010). Além dos componentes citados anteriormente, o leite é composto de uma mistura complexa de lipídios, carboidratos, vitaminas e minerais que também contribuem para seu valor nutricional. O teor proteico do leite varia de 30 a 35 g L<sup>-1</sup>, representando 95% de seu nitrogênio total e suas proteínas são classificadas em duas categorias, as caseínas, que correspondem a 80 % das proteínas totais e as proteínas do soro (CHEFTEL; CUQ; LORIENT, 1989; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

As principais proteínas do leite são classificadas em  $\alpha_{s1}$ -caseínas,  $\alpha_{s2}$ -caseínas,  $\beta$ -caseínas,  $\kappa$ -caseínas,  $\beta$ -lactoglobulinas e  $\alpha$ -lactalbúminas. Conforme ilustrado na Tabela 1, as caseínas correspondem de 24 a 28 g L<sup>-1</sup> e as proteínas do soro correspondem de 5 a 7 g L<sup>-1</sup> das proteínas totais do leite (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Tabela 1 – Principais proteínas do leite bovino.

Proteínas	Concentração (g L <sup>-1</sup> )	Porcentagem aproximada (%)
<b>Caseínas</b>	24 – 28	80
<i>α</i> <sub>S</sub> -Caseínas	15 – 19	42
<i>α</i> <sub>S1</sub>	12 – 15	34
<i>α</i> <sub>S2</sub>	3 – 4	8
<i>β</i> -Caseínas	9 – 11	25
<i>κ</i> -Caseínas	3 – 4	9
<i>γ</i> -Caseínas	1 – 2	4
<b>Proteínas do soro</b>	5 – 7	20
<i>β</i> -Lactoglobulinas	2 – 4	9
<i>α</i> -Lactalbuminas	1 – 1,5	4
Proteose-peptonas	0,6 – 1,8	4
<b>Proteínas do sangue</b>		
Albumina do soro	0,1 – 0,4	1
Imunoglobulinas	0,6 – 1,0	2
<b>Total</b>	30 – 35	100

Fonte: Damodaran, Parkin, Fennema (2010).

As proteínas são largamente utilizadas na produção de alimentos devido aos benefícios nutricionais associados ao seu consumo e a sua capacidade de modificar as propriedades dos produtos onde são incorporadas, tais como textura, estabilidade, viscosidade e densidade. Esta capacidade das proteínas de alterarem as propriedades dos alimentos está intimamente ligada à sua estrutura molecular, fazendo-se necessário o entendimento destas estruturas para que suas propriedades funcionais possam ser utilizadas (FÆRGEMAND; OTTE; QVIST, 1997).

As caseínas podem ser separadas das proteínas do soro através da sua precipitação por acidificação em pH 4,6 a 20 °C ou pela ação da enzima renina. Quando a acidificação é utilizada, obtêm-se o “soro ácido” e quando a enzima renina é utilizada obtêm-se o “soro doce”. Em geral, o soro doce contém uma maior quantidade de peptídeos e aminoácidos livres resultados da ação da renina sobre as caseínas (SGARBIERI, 1996). Aproximadamente 95 % da caseína se encontra na forma de agregados coloidais nomeados micelas. A principal função das micelas de caseína na glândula mamária é promover fluidez e solubilizar os íons cálcio e fosfato. Isto pode ser evidenciado pois apesar da grande circulação de cálcio no tecido epitelial mamário, a formação de complexos da micela de caseína com o fosfato de cálcio presente previne o aparecimento de pedras de cálcio na glândula mamária (BHAT; DAR; SINGH, 2016).

### 2.1.1 Caseínas

As caseínas são as proteínas do leite que correspondem a cerca de 80 % de sua totalidade proteica e se caracterizam por precipitarem pH 4,6. São encontradas formando agregados com fosfato de cálcio dando origem às micelas (DICKINSON, 2006). A denominação de caseína corresponde a um grupo de proteínas que podem ser divididas em quatro subgrupos principais:  $\alpha_s$ -caseínas (50 a 55 % das caseínas totais), as  $\beta$ -caseínas (30 a 35 % das caseínas totais), as  $\kappa$ -caseínas (15 % das caseínas totais) e, por fim, em menor quantidade as  $\gamma$ -caseínas (SGARBIEIRI, 1996).

Em seu estado nativo, nenhuma das caseínas apresentam estruturas secundárias ou terciárias bem definidas. Uma das possíveis razões para a ausência dessas estruturas é a presença de prolina, uma vez que este aminoácido está associado à desestabilização das estruturas  $\alpha$ -hélice e  $\beta$ -folha. A  $\alpha_{s1}$ -caseína é a caseína que apresenta a maior quantidade de prolina razão pela qual cerca de 70 % de sua estrutura se encontra na forma desordenada (BHAT; DAR; SINGH, 2016).

As  $\alpha_s$ -caseínas são classificadas em  $\alpha_{s1}$ -caseínas e  $\alpha_{s2}$ -caseínas. As  $\alpha_{s1}$ -caseínas representam cerca de 40 % da totalidade de caseínas encontrada no leite bovino e consistem em cadeias peptídicas contendo 199 resíduos de aminoácidos (Figura 1) com massa molar média de 23000 Da. Todos os 16 resíduos de serina encontrados nesta caseína encontram-se fosforilados. Em relação às cargas encontradas nesta caseína, 25 dos resíduos podem ser carregados positivamente e 40 resíduos podem ser carregados negativamente (FOX; McSWEENEY, 2003).

Em relação a conformação estrutural das  $\alpha_{s1}$ -caseínas, utilizando a técnica de espectroscopia de Raman, foi determinado que a sua conformação majoritária é a  $\beta$ -folha (40 %), seguida pela estrutura na forma de curva (traduzido de *turn-like*) (24 %) e pela forma de  $\alpha$ -hélice (14 %) (FUQUAY; FOX; McSWEENEY, 2011).

Figura 1 – Sequência de aminoácidos que constituem a  $\alpha_{s1}$ -caseína.

<b>1</b>	<b>10</b>	<b>20</b>
Arg-Pro-Lys- His- Pro- Ile- Lys- His- Gln-Gly-Leu-Pro-Gln-Glu- Val- Leu-Asn-Glu-Asn-Leu-		
<b>21</b>	<b>30</b>	<b>40</b>
Leu-Arg-Phe- Phe- Val- Ala- Pro- Phe- Pro- Glu- Val- Phe-Gly-Lys- Glu- Lys- Val- Asn-Glu-Leu-		
<b>41</b>	<b>50</b>	<b>60</b>
Ser- Lys- Asp- Ile- Gly-SerP- Glu- SerP-Thr- Glu- Asp-Gln-Ala-Met- Glu- Asp- Ile- Lys-Gln-Met-		
<b>61</b>	<b>70</b>	<b>80</b>
Glu- Ala- Glu-SerP- Ile- SerP-SerP-SerP-Glu- Glu- Ile- Val- Pro- Asn-SerP- Val- Glu- Gln-Lys- His-		
<b>81</b>	<b>90</b>	<b>100</b>
Ile- Gln-Lys- Glu- Asp- Val- Pro- Ser- Glu- Arg- Tyr- Leu-Gly-Tyr- Leu- Glu- Gln-Leu-Leu-Arg-		
<b>101</b>	<b>110</b>	<b>120</b>
Leu-Lys-Lys- Tyr- Lys- Val- Pro- Gln- Leu-Glu- Ile- Val- Pro- Asn-SerP- Ala- Glu- Glu- Arg- Leu-		
<b>121</b>	<b>130</b>	<b>140</b>
His- Ser- Met- Lys- Glu- Gly- Ile- His- Ala-Gln-Gln-Lys-Glu- Pro- Met- Ile- Gly- Val- Asn-Gln-		
<b>141</b>	<b>150</b>	<b>160</b>
Glu-Leu-Ala- Tyr- Phe- Tyr- Pro- Glu- Leu-Phe- Arg-Gln-Phe-Tyr- Gln- Leu- Asp-Ala- Tyr- Pro-		
<b>161</b>	<b>170</b>	<b>180</b>
Ser- Gly- Ala- Trp- Tyr- Tyr- Val- Pro- Leu- Gly- Thr- Gln-Tyr- Thr- Asp- Ala- Pro- Ser- Phe- Ser-		
<b>181</b>	<b>190</b>	<b>200</b>
Asp- Ile- Pro- Asn- Pro- Ile- Gly- Ser- Glu- Asn- Ser- Glu- Lys- Thr- Thr- Met- Pro- Leu- Trp		

Fonte: McSweeney, Fox (2013).

Já as  $\alpha_{s2}$ -caseínas são constituídas por 207 resíduos de aminoácidos (Figura 2) com massa molar média como sendo 25000 Da. As  $\alpha_{s2}$ -caseínas possuem uma estrutura dipolar com grupos aniônicos concentrados em sua região N-terminal e grupos catiônicos em sua região C-terminal. Se caracterizam por precipitar mais facilmente em relação às outras caseínas na presença de íons  $\text{Ca}^{2+}$  pois contém em sua estrutura 11 resíduos de fosfoserina e 2 resíduos de cisteína. As proteínas  $\alpha_{s3}$ ,  $\alpha_{s4}$ ,  $\alpha_{s5}$  e  $\alpha_{s6}$ -caseínas, já foram classificadas separadamente, mas atualmente considera-se que pertencem ao grupo da  $\alpha_{s2}$ -caseína, diferenciando-se apenas pelo seu grau de fosforilação (BELITZ; GROSCH; SCHIERBELE, 2009; LI et al., 2016).

Estudos de dicroísmo circular permitiram elucidar a conformação estrutural das  $\alpha_{s2}$ -caseínas e foi observado que a conformação majoritária é a  $\alpha$ -hélice (30 – 40 %) seguida pela estrutura na forma de curva (traduzido de *turn-like*) (20 %) e  $\beta$ -folha (20 %) (FUQUAY; FOX; McSWEENEY, 2011).

Figura 2 – Sequência de aminoácidos que constituem a  $\alpha_{s2}$ -caseína.

1	10	20
Lys- Asn-Thr-Met-Glu-His- Val-SerP-SerP-SerP- Glu- Glu-Ser- Ile- Ile- SerP- Gln- Glu- Thr-Tyr-		
21	30	40
Lys- Gln-Glu-Lys-Asn-Met-Ala- Ile- Asn- Pro- Ser- Lys-Glu-Asn-Leu- Cys- Ser- Thr- Phe-Cys-		
41	50	60
Lys- Glu- Val- Val- Arg-Asn-Ala- Asn- Glu- Glu- Glu- Tyr-Ser- Ile- Gly-SerP-SerP-SerP-Glu-Glu-		
61	70	80
SerP-Ala- Glu- Val- Ala- Thr-Glu- Glu- Val- Lys- Ile- Thr-Val-Asp-Asp- Lys- His- Tyr- Gln-Lys-		
81	90	100
Ala- Leu-Asn-Glu- Ile- Asn-Gln- Phe- Tyr- Gln- Lys- Phe-Pro-Gln-Tyr- Leu- Gln- Tyr- Leu-Tyr-		
101	110	120
Gln- Gly-Pro- Ile- Val-Leu-Asn- Pro- Trp- Asn- Gln- Val-Lys-Arg-Asn- Ala- Val- Pro- Ile- Thr-		
121	130	140
Pro- Thr-Leu-Asn-Arg-Glu-Gln- Leu-SerP- Thr- SerP-Glu-Glu-Asn- Ser- Lys- Lys- Thr- Val-Asp-		
141	150	160
Met- Glu- Ser- Thr- Glu- Val- Phe- Thr- Lys- Lys- Thr- Lys-Leu-Thr-Glu- Glu- Glu- Lys- Asn-Arg-		
161	170	180
Leu- Asn-Phe-Leu-Lys-Lys- Ile- Ser- Gln- Arg- Tyr- Gln-Lys-Phe- Ala- Leu- Pro- Gln- Tyr-Leu-		
181	190	200
Lys- Thr- Val- Tyr-Gln-His- Gln- Lys- Ala- Met- Lys- Pro-Trp- Ile- Gln- Pro- Lys- Thr- Lys-Val-		
201	210	
Ile- Pro- Tyr- Val- Arg-Tyr-Leu		

Fonte: McSweeney, Fox (2013).

As  $\beta$ -caseínas são constituídas por cadeias peptídicas contendo 209 resíduos de aminoácidos (Figura 3) e apresentam massa molar média como sendo 24000 Da (GRAHAM; PHILLIPS, 1979). As regiões ionizáveis da molécula desta proteína encontram-se entre as posições 1 e 40, onde existem cinco resíduos de fosfoserinas e as regiões entre as posições 136 e 209 contêm maioritariamente resíduos com cadeias apolares. Ela é considerada a caseína mais hidrofóbica das caseínas e sua estrutura assemelha-se a dos surfactantes, possuindo uma região polar e outra apolar. Além disso, alguns estudos reportam que esta caseína é a que apresenta maior capacidade emulsificante quando comparada às demais caseínas, devido a sua maior capacidade de reduzir a tensão superficial do meio. As  $\beta$ -caseínas precipitam na presença de íons  $\text{Ca}^{2+}$  de forma semelhante às  $\alpha_{s2}$ -caseínas, porém em temperaturas próximas a 1 °C esse fenômeno não ocorre porque o sal de cálcio formado é solúvel (BELITZ; GROSCHE; SCHIERBELE, 2009; LI, et al. 2016).

A conformação estrutural das  $\beta$ -caseínas é principalmente constituída pela forma de  $\beta$ -folha (30 %), seguida pela estrutura na forma de curva (traduzido de *turn-like*) (29 %) e pela forma de  $\alpha$ -hélice (15 %) (FUQUAY; FOX; McSWEENEY, 2011).

Figura 3 – Sequência de aminoácidos que constituem a  $\beta$ -caseína.

1	10	20
Arg-Glu-Leu-Glu-Glu-Leu-Asn-Val-Pro-Gly-Glu-Ile-Val-Glu-SerP-Leu-SerP-SerP-SerP-Glu-		
21	30	40
Glu-Ser-Ile-Thr-Arg-Ile-Asn-Lys-Lys-Ile-Glu-Lys-Phe-Gln-SerP-Glu-Glu-Gln-Gln-Gln-		
41	50	60
Thr-Glu-Asp-Glu-Leu-Gln-Asp-Lys-Ile-His-Pro-Phe-Ala-Gln-Thr-Gln-Ser-Leu-Val-Tyr-		
61	70	80
Pro-Phe-Pro-Gly-Pro-Ile-Pro-Asn-Ser-Leu-Pro-Gln-Asn-Ile-Pro-Pro-Leu-Thr-Gln-Thr-		
81	90	100
Pro-Val-Val-Val-Pro-Pro-Phe-Leu-Gln-Pro-Glu-Val-Met-Gly-Val-Ser-Lys-Val-Lys-Glu-		
101	110	120
Ala-Met-Ala-Pro-Lys-His-Lys-Glu-Met-Pro-Phe-Pro-Lys-Tyr-Pro-Val-Glu-Pro-Phe-Thr-		
121	130	140
Glu-Ser-Gln-Ser-Leu-Thr-Leu-Thr-Asp-Val-Glu-Asn-Leu-His-Leu-Pro-Leu-Pro-Leu-Leu-		
141	150	160
Gln-Ser-Trp-Met-His-Gln-Pro-His-Gln-Pro-Leu-Pro-Pro-Thr-Val-Met-Phe-Pro-Pro-Gln-		
161	170	180
Ser-Val-Leu-Ser-Leu-Ser-Gln-Ser-Lys-Val-Leu-Pro-Val-Pro-Gln-Lys-Ala-Val-Pro-Tyr-		
181	190	200
Pro-Gln-Arg-Asp-Met-Pro-Ile-Gln-Ala-Phe-Leu-Leu-Tyr-Gln-Glu-Pro-Val-Leu-Gly-Pro-		
201		
Val-Arg-Gly-Pro-Phe-Pro-Ile-Ile-Val		

Fonte: McSweeney, Fox (2013).

As  $\kappa$ -caseínas são formadas por cadeias peptídicas contendo 169 resíduos de aminoácidos (Figura 4) e apresentam massa molar média de 18000 Da. Estas caseínas são principalmente encontradas na superfície das micelas onde estão ligadas através de ligações de dissulfeto formando trimêros ou até mesmo oligômeros. Ela é a única constituinte das caseínas que permanece solúvel mesmo na presença de íons  $\text{Ca}^{2+}$  nas concentrações encontradas no leite. Além disso, as  $\kappa$ -caseínas são capazes de se agregar com as  $\alpha_{s1}$ -caseínas e  $\beta$ -caseínas evitando sua coagulação na presença destes íons. Essa capacidade de agregação é muito importante para a manutenção da estabilidade dos complexos e micelas de caseína presentes no leite. Por fim, as  $\gamma$ -caseínas consistem principalmente em produtos de degradação das  $\beta$ -caseínas sendo formadas pela ação das proteases presentes no leite (BELITZ; GROSCH; SCHIERBELE, 2009; LI, et al. 2016).

A conformação estrutural maioritária das  $\kappa$ -caseínas é na forma de  $\beta$ -folha (30 %), seguida pela estrutura na forma de curva (traduzido de *turn-like*) (25 %) e pela forma de  $\alpha$ -hélice (15 %) (FUQUAY; FOX; McSWEENEY, 2011).

A razão pela qual as micelas de caseína não se precipitam no leite se deve à presença da  $\kappa$ -caseína. A presença desta proteína na superfície da micela forma uma interface entre as caseínas hidrofóbicas no interior

da estrutura e o meio aquoso que circunda a micela (CREAMER et al., 1998).

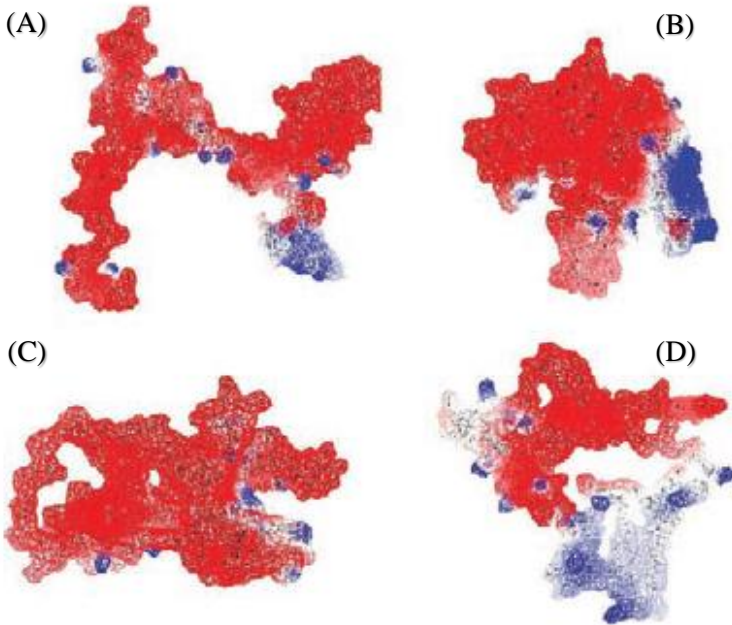
Figura 4 – Sequência de aminoácidos que constituem a  $\kappa$ -caseína.

1	10	20
Gln-Glu-Gln-Asn-Gln-Glu-Gln-Pro- Ile-	Arg-Cys-Glu-Lys-Asp-Glu-Arg-Phe-Phe-Ser- Asp-	
21	30	40
Lys- Ile- Ala-Lys-Tyr- Ile- Pro- Ile- Gln-	Tyr- Val-Leu- Ser- Arg- Tyr- Pro- Ser- Tyr-Gly-Leu-	
41	50	60
Asn-Tyr-Tyr-Gln-Gln-Lys-Pro- Val- Ala-	Leu Ile- Asn-Asn-Gln-Phe-Leu-Pro- Tyr- Pro- Tyr-	
61	70	80
Tyr-Ala-Lys-Pro- Ala-Ala- Val- Arg- Ser-	Pro Ala-Gln- Ile- Leu-Gln-Trp-Gln- Val-Leu- Ser-	
81	90	100
Asn-Thr- Val- Pro- Ala-Lys- Ser- Cys- Gln-	Ala Gln- Pro- Thr- Thr- Met- Ala- Arg- His- Pro- His-	
101	110	120
Pro- His- Leu- Ser- Phe- Met- Ala- Ile- Pro-	Pro Lys- Lys- Asn- Gln- Asp- Lys- Thr- Glu- Ile- Pro-	
121	130	140
Thr- Ile- Asn- Thr- Ile- Ala- Ser- Gly- Glu-	Pro Thr- Ser- Thr- Pro- Thr- Thr- Glu- Ala- Val- Glu-	
141	150	160
Ser- Thr- Val- Ala- Thr- Leu- Glu- Asp- SerP-	Pro Glu- Val- Ile- Glu- Ser- Pro- Pro- Glu- Ile- Asn-	
161		
Thr- Val- Gln- Val- Thr- Ser- Thr- Ala- Val		

Fonte: McSweeney, Fox (2013).

As estruturas primárias e terciárias específicas das caseínas fazem com que elas sofram fosforilação pós-translacional. Essa modificação, resulta na formação de aglomerados aniônicos de caseínas sensíveis ao cálcio. No caso da  $\kappa$ -caseína este fenômeno não ocorre, pois, esta caseína possui apenas um único resíduo fosforilado, sendo insensível ao cálcio. As demais caseínas são chamadas de sensíveis ao cálcio por apresentarem baixa solubilidade na presença de íons  $\text{Ca}^{2+}$ . A razão desta baixa solubilidade deve-se à ligação dos íons  $\text{Ca}^{2+}$  aos aglomerados, resultando na perda de carga e desidratação parcial destes complexos com conseqüente alteração do equilíbrio das interações hidrofóbicas e das forças eletrostáticas repulsivas, gerando uma diminuição na sua solubilidade. Embora as estruturas tridimensionais das caseínas ainda não serem totalmente conhecidas devido à incapacidade destas proteínas de formar cristais, estudos preditivos a partir de estruturas secundárias e de dados espectroscópicos vem sendo realizados com essa finalidade (Figura 5) (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Figura 5 – Estruturas tridimensionais propostas para as caseínas. (A)  $\alpha_{s1}$ -caseína; (B)  $\alpha_{s2}$ -caseína; (C)  $\beta$ -caseína e (D)  $\kappa$ -caseína. As regiões em vermelho representam as porções negativas e as regiões em azul as porções positivas das caseínas.



Fonte: Adaptado de Fuquay, Fox, McSweeney (2011).

Aproximadamente 95 % da caseína presente no leite se encontra na forma de partículas coloidais denominadas micelas. As micelas se formam principalmente devido à fosforilação de sua estrutura anfifílica, de modo que as caseínas interajam entre si e com o fosfato de cálcio. As micelas de caseína são altamente hidratadas, contendo cerca de 3,7 g de água por grama de caseína e, quando desidratadas, apresentam 94 % de proteínas e 6 % de fosfato de cálcio coloidal, constituído por cálcio, magnésio, fosfato e citrato (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; FOX et al., 2015).

As micelas de caseína são geralmente esféricas, com diâmetros variando de 50 a 500 nm, com diâmetro médio de 150 nm e apresentam massa molar variando de  $10^6$  a mais de  $10^9$  Da, com valor médio de  $10^8$  Da (BOLAND; SINGH; THOMPSON, 2009).



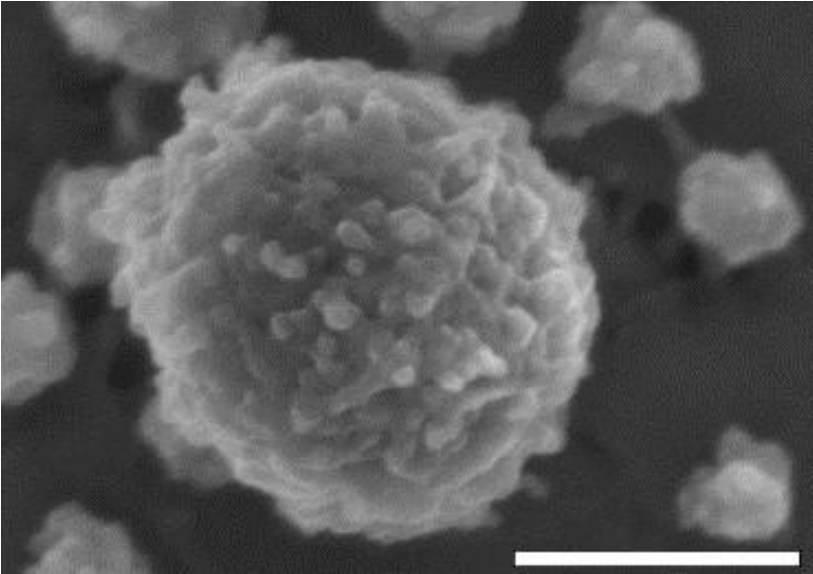
Waugh e Noble (1965) propuseram o primeiro modelo para estrutura da micela de caseína em 1965, o qual se baseia na solubilidade da caseína em soluções contendo íons  $\text{Ca}^{2+}$ . Primeiramente, em uma solução sem os íons  $\text{Ca}^{2+}$ , formam-se complexos de baixo peso molecular compostos de  $\alpha_1$  e  $\kappa$ -caseína, contendo fosfato em suas extremidades. Após o início da adição dos íons  $\text{Ca}^{2+}$  inicia-se a agregação destes complexos, através da interação dos íons cálcio e fosfato, formando as micelas.

Outro modelo foi proposto por Morr (1967) e sugere que as micelas de caseína são formadas por submicelas uniformes de  $\alpha_1$  e  $\beta$ -caseínas estabilizadas por ligações hidrofóbicas e pontes de caseinato de cálcio. Estas submicelas mantêm-se agregadas através de ligações de fosfato de cálcio coloidal com estruturas micelares cobertas por  $\alpha_1$  e  $\kappa$ -caseínas.

Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) mostram que a superfície da micela de caseína não se apresenta lisa e aparenta conter pequenas estruturas esféricas (Figura 6), conforme o modelo proposto por Morr em 1967. Apesar das diversas proposições para definição do modelo de estrutura da caseína, nenhum foi completamente satisfatório até o momento (DALGLEISH; SPAGNUOLO; GOFF, 2004; DALGLEISH, 2011).

Dentre as diversas propriedades da caseína, pode-se citar sua capacidade de estabilizar espumas devido a sua tendência de se auto organizar na interface líquido-gás formando uma camada visco elástica, favorecendo a diminuição da energia superficial e, com isso, facilitando a formação de bolhas de ar (DICKINSON, 2010).

Figura 6 – Imagem da estrutura da micela de caseína obtida por Microscopia Eletrônica de Varredura. A escala representa 200 nm.



Fonte: Dalgleish, Spagnuolo, Goff (2004).

## 2.2 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DAS PROTEÍNAS

As propriedades funcionais das proteínas são dependentes da composição de seus aminoácidos e de sua capacidade de estabelecer ligações que estabilizam sua estrutura. Dentre as propriedades funcionais das proteínas, podemos citar: hidratação, solubilidade, viscosidade, gelificação, texturização, emulsificação e propriedades espumantes. As propriedades funcionais das proteínas afetam as características sensoriais dos produtos onde elas se encontram ou são adicionadas, modificando a textura e alterando o comportamento dos alimentos durante o preparo, processamento e/ou armazenamento (OETTERER; D'ARCE; SPOTO, 2006; GAVA; SILVA; FRIAS, 2009).

Diversos mecanismos são responsáveis pelas propriedades funcionais das proteínas. No que se refere às propriedades espumantes, os principais mecanismos envolvidos são a adsorção interfacial e a formação de um filme estável entre as fases, facilitando a formação das bolhas de ar. A compreensão e estudo destes sistemas são relevantes

uma vez que as espumas são amplamente utilizadas em alimentos para promover modificações de textura e /ou mudar as características de determinados produtos. (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Além disso, estas espumas alimentares, quando submetidas a processos de liofilização podem se transformar em sistemas sólidos altamente porosos que apresentam crocância e alta retenção de sabor e aroma, características geralmente desejáveis pelo consumidor (CAMPBELL; MOUGEOT, 1999; CARVALHO; PEREZ-PALACIOS; RUIZ-CARRASCAL, 2017).

### **2.2.1 Espumas**

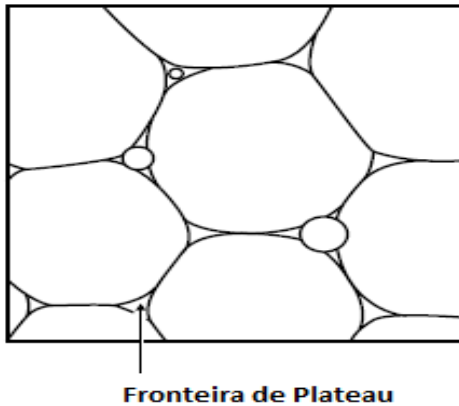
Espumas consistem em sistemas termodinamicamente instáveis, apresentando uma estrutura tridimensional caracterizada como uma dispersão de um gás em um líquido ou em um sólido. Esta dispersão do gás na fase contínua pode ser feita através de agitação, batimento ou também através de borbulhamento de gás no líquido. Embora a produção de espumas por batimento seja a técnica mais amplamente utilizada, a formação de espumas utilizando um borbulhador permite uma melhor estimativa do tamanho das bolhas através do controle das dimensões do instrumento utilizado para inserir o gás na fase líquida (KOCZÓ; RÁCZ, 1991; FIGUEREDO; RIBEIRO; SABADINI, 1999).

As espumas são separadas em duas classes: espumas sólidas e espumas líquidas. As espumas sólidas consistem em uma fase gasosa descontínua dispersa em uma fase sólida contínua e as espumas líquidas que consistem em uma fase gasosa descontínua dispersa em uma fase líquida contínua. Alguns exemplos de espumas sólidas na indústria alimentícia incluem pães e bolos. Espumas sólidas possuem tempos de vida muito longos, podendo chegar a dias. As espumas líquidas são classificadas como metaestáveis, podendo apresentar tempos de vida que variam de segundos até dias. Diferentemente das espumas sólidas, as espumas líquidas requerem um componente que seja capaz de estabilizá-las através da diminuição de sua tensão superficial (PERNELL et al., 2002).

Geralmente as espumas são compostas por bolhas com geometrias variáveis em função do estágio de incorporação de gás: as bolhas poliédricas ocorrem quando a fração gasosa é elevada, enquanto as bolhas com formato esférico são observadas em frações gasosas menores. Nas espumas, as bolhas se encontram circundadas por películas de filmes líquidos e a região onde os filmes das bolhas

formadas se encontram é chamada de fronteira de Plateau (Figura 7). Em uma espuma ideal, ou seja, em um estado de energia mínimo, o ângulo referente ao encontro de três bolhas corresponde a  $120^\circ$  e o encontro de quatro bolhas forma ângulos tetraédricos de aproximadamente  $109,47^\circ$  (NGUYEN, 2002; TEIXEIRA; FORTES, 2006).

Figura 7 – Ilustração da fronteira de Plateau.



Fonte: Damodaran, Parkin, Fennema (2010).

Na indústria, as espumas são largamente utilizadas, principalmente nos setores cosméticos e alimentícios. Muitos alimentos demandam a incorporação de espumas com a finalidade de modificar diversas propriedades do produto, como seu sabor, textura e em alguns casos até mesmo seu valor calórico. Porém, na indústria de alimentos, dada a complexidade das formulações, o uso de espumas em produtos que contenham lipídios constitui um desafio já que a presença destes compostos, mesmo em baixas concentrações (0,03 % em massa em alimentos) podem desestabilizar o sistema. Isto ocorre, devido a que os lipídeos, deslocam as proteínas da interface líquido-gás, aumentando a tensão superficial das espumas ocasionando a desestabilização do sistema (SCHRAMM, 2006; CAMPBELL-PLATT, 2015; JIMENEZ-JUNCA et al., 2015).

## 2.2.2 Estabilidade das espumas

O aumento da área interfacial entre o líquido e o gás durante a formação da espuma gera um aumento da tensão superficial entre estas duas fases, fazendo-se necessário a adição de energia ao sistema. Devido ao aumento da tensão superficial, as espumas tornam-se instáveis, requerendo agentes que sejam capazes de estabilizá-las. Os agentes mais utilizados para estabilização de espumas são os surfactantes (CAMPBELL-PLATT, 2015).

A estabilidade da espuma formada é muito importante, pois após a incorporação da espuma no produto de modo a obter as características desejadas, estas devem ser mantidas até seu consumo. O processo de desestabilização da espuma é consequência de vários fenômenos que podem ocorrer de forma independente, mas simultânea. Os principais fenômenos responsáveis pela desestabilização da espuma são: coalescência, *creaming*, maturação de Ostwald e drenagem do líquido (PRINCEN; KISS, 1989; FOEGEDING; LUCK; DAVIS, 2006).

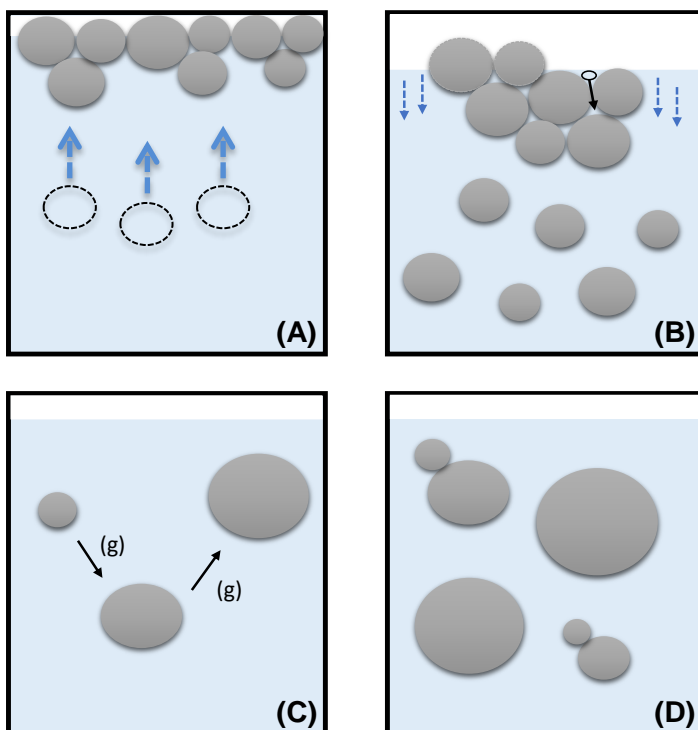
### 2.2.2.1 Mecanismos de desestabilização de espumas

Tanto o fenômeno de drenagem do líquido, quanto o de *creaming* estão relacionados ao movimento das bolhas de gás na fase líquida, embora ocorram por processos diferentes. Em espumas que contêm bolhas esféricas ou com baixa fração gasosa, o movimento das bolhas é maior do que o movimento do líquido fazendo com que as mesmas se desloquem para superfície do sistema. Este processo é denominado *creaming*. Por outro lado, quando o movimento do líquido é maior do que o das bolhas, comum em espumas com bolhas poliédricas, o processo de drenagem predomina (AGUILERA; LILLFORD, 2007). A drenagem ocorre quando a fase líquida migra para as fronteiras de Plateau adjacentes. Esse movimento ocorre geralmente devido ao afinamento das lamelas interfaciais ou quando a baixa viscosidade da fase líquida favorece o escoamento com consequente aumento da drenagem. Outro fator que pode contribuir é a diferença de densidade entre a fase gasosa e a fase líquida que induz gravitacionalmente o processo de drenagem. Conforme a fração líquida se separa da gasosa, o filme presente nas fronteiras de Plateau se afina, tornando as bolhas mais propensas a rupturas (ZAYAS, 2012).

Já o fenômeno conhecido como maturação de Ostwald ocorre quando há difusão de gás entre bolhas de diâmetros diferentes. A pressão interna das bolhas, também conhecida como pressão de Laplace

( $\Delta P$ ) é inversamente proporcional ao diâmetro da bolha, com isso, a concentração de gases dissolvidos na interface de uma bolha pequena é maior do que em bolhas maiores. Esta propriedade faz com que ocorra a migração de bolhas menores para bolhas maiores com consequente perda de gás. Este fenômeno depende não somente da pressão de Laplace mas também da solubilidade do gás através da fase contínua e fatores geométricos da bolha. Por fim, a coalescência das bolhas de gás consiste na junção de bolhas de diâmetros menores formando bolhas de diâmetros maiores, resultando numa diminuição na quantidade de bolhas de diâmetros menores com consequente aumento da quantidade de bolhas de diâmetros maiores, que são mais propensas a sofrerem rupturas. A coalescência é determinada principalmente pelas características do filme interfacial no que se refere a estabilidade e forças atrativas ou repulsivas que atuam sobre ele (DICKINSON, 1991; MORRIS; GROVES, 2013). Um esquema dos processos de desestabilização de espumas está ilustrado na Figura 8.

Figura 8 – Processos de desestabilização de espumas: (A) *Creaming*; (B) Drenagem do líquido; (C) Maturação de Ostwald; (D) Coalescência.



Fonte: Próprio autor (2017).

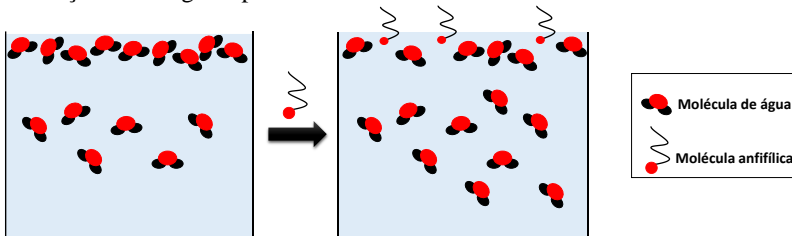
### 2.2.2.2 Agentes de estabilização de espumas

Uma maneira de aumentar a estabilidade das espumas é reforçar as propriedades mecânicas do filme, diminuindo sua susceptibilidade a distúrbios externos através da utilização de aditivos que sejam capazes de aumentar a elasticidade do filme, diminuir a drenagem do líquido e a difusão dos gases através das lamelas. Os aditivos de natureza anfifílica, tais como surfactantes, se organizam na superfície do filme da espuma diminuindo sua tensão superficial. A tensão superficial está relacionada com a interação das moléculas que compõem a fase líquida do sistema. Quanto maior forem as forças intermoleculares, mais próximas estarão as moléculas e consequentemente maior será a tensão superficial (PRUD'HOMME, 1995; ATKINS; JONES, 2009).

Vários surfactantes têm sido reportados na literatura como agentes de estabilização de espumas, dentre os que podemos citar: n-dodecil  $\beta$ -maltosídeo, éter monododecílico de hexaetilenoglicol, brometo de n-deciltrimetilamônio (BRICEÑO-AHUMADA; LANGEVIN 2017) e brometo de dodeciltrimetilamônio (DTAB) (LENCINA et al., 2018).

Moléculas anfifílicas capazes de se deslocar para a superfície são capazes de diminuir a tensão superficial do sistema, pois na interface líquido-gás, a porção hidrofílica polar destas moléculas volta-se para a fase líquida enquanto sua porção hidrofóbica apolar fica voltada para a fase gasosa. A presença destas moléculas na superfície diminui a interação das moléculas presentes anteriormente e como consequência a tensão superficial diminui (FUERSTENAU; HAN, 2003; ALLEN, 2009; KRONBERG; HOLMBERG; LINDMAN, 2014). Este processo está exemplificado na Figura 9.

Figura 9 – Representação de como as moléculas anfifílicas auxiliam na diminuição da energia superficial.



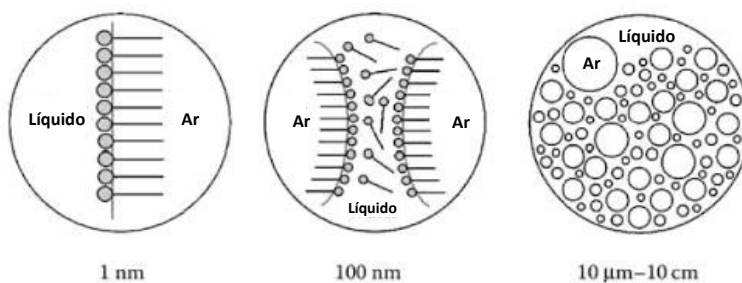
Fonte: Próprio autor (2018).

Além dos surfactantes, algumas proteínas também podem ser utilizadas na estabilização de espumas, porém para que isso seja possível, as proteínas selecionadas para atuar como estabilizantes devem ser capazes de se adsorver rapidamente na interface gás-líquido e se rearranjarem na interface de modo a formar um filme viscoso e coeso. Distintas proteínas, em função de suas características, se diferem na forma em que se adsorvem na interface gás-líquido. A  $\beta$ -caseína geralmente forma uma monocamada diluída na superfície, não havendo uma grande concentração de moléculas de  $\beta$ -caseína, enquanto as lisozimas formam filmes concentrados, contendo uma grande quantidade de moléculas de lisozimas na superfície do filme por exemplo. Apesar das diferenças na maneira em que as proteínas se adsorvem na interface, sua grande maioria atua de maneira semelhante



aos surfactantes, formando uma camada superficial em que sua porção hidrofílica fica exposta em direção ao líquido e sua porção hidrofóbica em direção ao gás (FENNEMA, 1996; ZAYAS, 2012). A forma em que moléculas anfifílicas (proteínas, surfactantes, etc.) estabilizam as espumas está ilustrada na Figura 10.

Figura 10 – Representação da estabilização de espumas por moléculas anfifílicas.



Fonte: Adaptado de Alvarez-Hidalgo (2009).

A capacidade das proteínas de estabilizarem espumas podem ser aprimoradas através de modificações físicas e/ou químicas. A utilização de NaCl tem sido largamente empregada na indústria alimentícia pois, na faixa de concentração de 0,5 a 1 mol L<sup>-1</sup>, ele é capaz de aumentar a solubilidade proteica através do aumento da solvatação das moléculas de proteína (*salting in*). Apesar promover a melhora das propriedades emulsificantes do produto, a incorporação de sal em excesso, irá fazer com que predominem as interações sal-água, diminuindo as interações água-proteína (*salting out*) e como consequência, diminuindo sua solubilidade proteica (DUARTE et al., 1998). A hidrólise parcial das proteínas gera moléculas menores, mais solúveis e capazes de se difundir mais rapidamente, porém esta quebra também faz com que a estabilidade do filme interfacial diminua (BELITZ; GROSCH; SCHIERBELE, 2009).

Para que uma solução proteica seja capaz de apresentar capacidade espumante, as proteínas presentes no meio devem ser capazes de se deslocar para interface gás-líquido favorecendo uma diminuição da tensão superficial do sistema e fazendo com que bolhas de gás possam ser formadas. Para apresentar tal propriedade, as

proteínas devem ser preferencialmente flexíveis, facilitando sua migração para superfície (WILSON, 2013).

Esta migração contribui para diminuição da tensão superficial uma vez que as características anfifílicas das proteínas as permitem formar um filme interfacial na superfície das bolhas de gás. Neste filme a porção apolar das proteínas fica direcionada para fase gasosa enquanto sua porção hidrofílica direciona-se para a fase líquida. O filme interfacial proteico consegue minimizar o colapso das espumas, porém a sua instabilidade constitui uma característica inerente destes sistemas devido a elevada área interfacial. (McCLEMENTS, 2004; BELITZ; GROSCH; SCHIERBELE, 2009; QIAN, CHEN, 2015).

Como já comentado anteriormente, a viscosidade da fase líquida é outro fator importante na estabilidade de espumas uma vez que soluções mais viscosas tendem a proporcionar maior estabilidade a estes sistemas coloidais. Dentre os aditivos amplamente utilizados na indústria de alimentos para promover o aumento de viscosidade em sistemas líquidos ou semissólidos se encontram os polissacarídeos.

Em soluções contendo proteínas e polissacarídeos, diferentes interações podem ocorrer entre estes componentes, podendo ser: covalentes, eletrostáticas, hidrofóbicas, ligações de hidrogênio, Van der Waals e pontes de íons (DICKINSON, 1998).

Os efeitos sinérgicos resultantes da interação entre proteínas e polissacarídeos tem sido associado à formação de conjugados estáveis que modificam as características de adsorção nos filmes interfaciais, a formação e a estabilidade das espumas produzidas a partir de misturas que os contêm. Quando se trata de soluções diluídas de polissacarídeos e proteínas, a entropia da mistura prevalece sobre processos de agregação e ambos constituintes são co-solúveis. Na medida que a concentração dos biopolímeros aumenta, fenômenos de associação e/ou agregação podem ocorrer que em função das características do sistema levando a formação de complexos solúveis e/ou insolúveis, com ou sem separação de fases. Em sistemas formados por proteínas carregadas positivamente, isto é, solubilizadas em pH menor que o ponto isoelétrico (PI), e polissacarídeos aniônicos, as interações eletrostáticas são predominantes, o que leva a formação de complexos estáveis. Por outro lado, se na mistura a carga da proteína for próxima a zero ( $\text{pH} \approx \text{PI}$ ) ou negativa ( $\text{pH} > \text{PI}$ ) e o polissacarídeo for aniônico, os complexos formados são reversíveis e se modificam dinamicamente durante os processos. Com isso, faz-se necessária a avaliação do pH da solução na qual será solubilizada a proteína e os polissacarídeos de interesse para

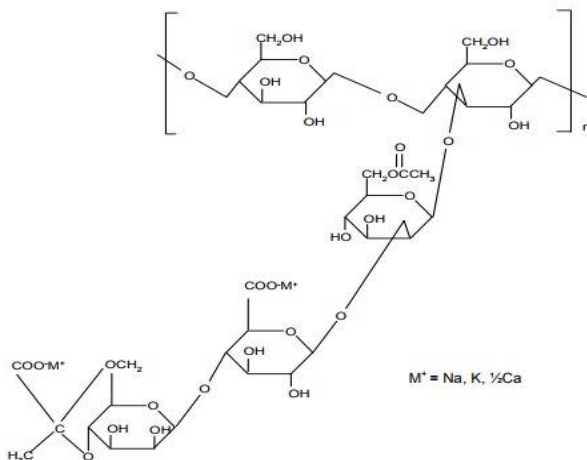
que seja possível prever as possíveis interações destes componentes na mistura (PATINO; PILOSO, 2011).

Além disso, a incorporação de polissacarídeos em soluções proteicas visando a produção de espumas tem efeitos significativos na estabilidade uma vez que estas macromoléculas aumentam a viscosidade do sistema. O aumento da viscosidade reduz a drenagem líquida entre as lamelas das bolhas, retardando a coalescência e consequentemente estendendo o tempo de vida da espuma formada (DICKINSON; IZGI, 1996). O efeito positivo da incorporação de polissacarídeos em soluções proteicas sobre a minimização do fenômeno de coalescência das espumas tem sido reportado por diversos autores (DICKINSON; GALAZKA, 1991; SARKER; WILDE; CLARK, 1998). Martínez-Padilla e colaboradores (2015) relatam que a adição de polissacarídeos ao sistema diminui a drenagem líquida, retardando o processo de *creaming* da espuma e consequente aumentando sua estabilidade.

Dentre os polissacarídeos utilizados com essa finalidade, pode-se citar a goma xantana, a carboximetilcelulose e o alginato de sódio.

A goma xantana é um polissacarídeo amplamente utilizado na indústria de alimentos que se caracteriza por ser um heteropolissacarídeo aniônico cuja estrutura primária é constituída por unidades repetidas de pentassacarídeos formados por duas unidades de glicose, duas unidades de manose e uma unidade de ácido glucurônico (Figura 11). As principais razões pela ampla utilização da goma xantana indústria de alimentos são: atoxicidade, formar soluções de alta viscosidade quando em repouso e capacidade de fluir facilmente no escoamento, o que lhe confere boas propriedades estabilizantes em sistemas coloidais (GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

Figura 11 – Estrutura química da goma xantana.



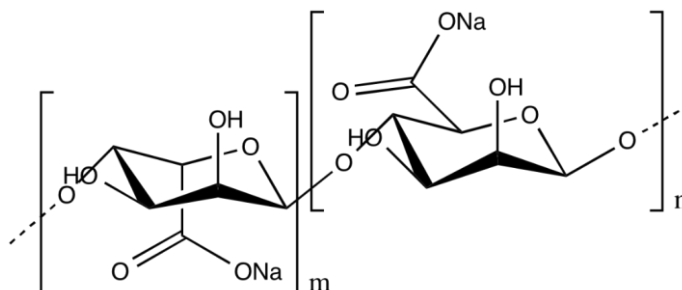
Fonte: Sharma et al. (2006).

Outro polissacarídeo de destaque é o alginato de sódio, obtido a partir das algas marinhas marrons onde constitui aproximadamente 40 % de sua matéria seca. Este polissacarídeo aniônico é largamente utilizado na indústria de alimentos devido às suas propriedades estabilizantes, capacidade de aumentar a viscosidade de diversos sistemas, alta capacidade de retenção de água e de gelificação, além de auxiliar na manutenção da estrutura de alimentos congelados (PHILLIPS; WILLIAMS, 2009; VENKATESAN; SUKUMARAN; KIM, 2017).

A estrutura do alginato proveniente das algas marrons consiste em um copolímero linear não ramificado formado pelo ácido  $\alpha$ -L-gulurônico e  $\beta$ -D-manurônico com ligações 1-4. Os alginatos podem se diferenciar de acordo com a proporção dos resíduos manurônicos (M) e gulurônicos (G), sua estrutura sequencial e seu grau de polimerização, podendo apresentar sequências alternadas de resíduos MG e blocos constituídos de dois ou mais resíduos M ou G (MÜLLER; SANTOS; BRIGIDO, 2011).

Uma propriedade interessante do alginato está associada a suas características sensoriais uma vez que ele não possui sabor ou odor, podendo ser aplicado em diversos produtos (SARKER; WILDE, 1999; BURDOCK, 2001). A estrutura química do alginato de sódio está ilustrada na Figura 12.

Figura 12 – Estrutura química do alginato de sódio.



Fonte: iGEM (2017).

Além dos polissacarídeos mencionados anteriormente, a carboximetilcelulose (CMC) é um polissacarídeo muito utilizado na indústria alimentícia na produção de gelados comestíveis, alimentos dietéticos, leites esterilizados e gelificados, dentre outros (BeMILLER; WHISTLER, 1993).

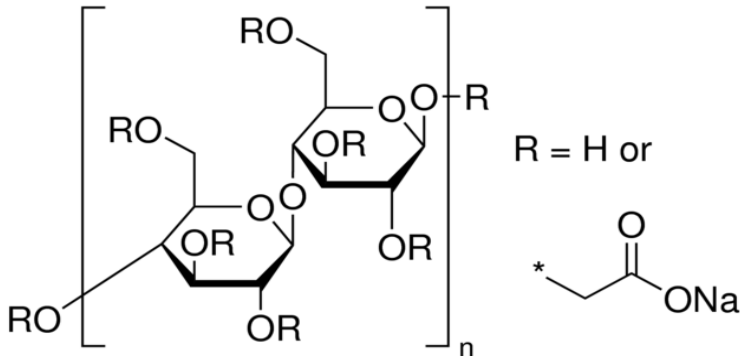
A carboximetilcelulose consiste em uma cadeia de celulose modificada com grupos  $-\text{CH}_2\text{-COOH}$ . Devido ao fato desta reação ser executada em meio alcalino, o produto final consiste em um sal de sódio do ácido carboxílico ( $\text{R-O-CH}_2\text{-COONa}$ ) (GHANNAM; ESMAIL, 1997).

Sua utilização está associada à sua capacidade de auxiliar na solubilização de proteínas comuns a alimentos como a gelatina, caseína e proteínas da soja, além evitar a formação de grandes cristais de gelo em produtos congelados, como sorvetes. Na formação de espumas a carboximetilcelulose auxilia na minimização dos processos de desestabilização da espuma, como a drenagem líquida, pois sua presença aumenta a viscosidade da solução (GAVA; SILVA; FRIAS, 2009; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; CAMPBELL-PLATT, 2015).

Em relação a sua estabilidade, desde que as soluções contendo carboximetilcelulose não fiquem por longos períodos de tempo a altas temperaturas, sua viscosidade não é significativamente alterada. As melhores condições de pH para utilização da carboximetilcelulose encontram-se na faixa de pH ente 7 e 9, onde as soluções contendo este polissacarídeo apresentam a melhor estabilidade e máxima viscosidade

(BeMILLER; WHISTLER, 1993). A estrutura química da carboximetilcelulose está ilustrada na Figura 13.

Figura 13 – Estrutura química da carboximetilcelulose.



Fonte: Sigma-Aldrich (2017).

Estes polissacarídeos promovem o aumento da viscosidade e retardam a drenagem do líquido das lamelas, aumentando a estabilidade da espuma formada (MITTAL; KUMAR, 2000). Liu e colaboradores (2012) avaliaram as mudanças de viscosidade em soluções contendo caseinato de sódio e goma xantana em diferentes pHs. Esses pesquisadores determinaram que a mudança do pH da solução contendo apenas a goma xantana não causou uma alteração significativa na viscosidade do sistema, porém as soluções contendo caseinato de sódio e goma xantana tiveram sua viscosidade drasticamente alterada com a mudança do pH, evidenciando as fortes interações entre estes dois biopolímeros.

### 2.3 ESPUMAS DE CASEÍNA

As caseínas são usadas como ingrediente em diversos produtos alimentícios devido a suas propriedades funcionais associadas à sua capacidade espumante e emulsificante além de seu valor nutricional (RANADHEERA et al., 2016). Em geral, todas as caseínas apresentam excelentes propriedades emulsificantes como consequência de sua composição de aminoácidos e suas estruturas conformacionais. Com exceção da  $\kappa$ -caseína, as demais caseínas apresentam uma grande

tendência a se adsorver em interfaces fluídas, devido a sua natureza anfifílica, semelhante à dos surfactantes. Devido a sua alta atividade superficial e estrutura flexível, as caseínas também se adsorvem rapidamente em interfaces ar-água. Além das frações de caseínas, seus caseinatos também apresentam capacidade de se adsorver nesta interface de forma semelhantemente à  $\beta$ -caseína, que é a fração com a maior atividade superficial (MARTÍNEZ-PADILLA et al., 2014).

Valderrama-Maldonado e colaboradores (2008) avaliaram a capacidade espumante de soluções com diferentes concentrações de  $\beta$ -caseína utilizando um sistema de borbulhamento. O sistema consistiu de uma coluna vertical de *plexiglass*, onde a solução espumante foi adicionada em um prisma retangular oco de seção de  $2,56 \times 10^{-2} \text{ m}^2$  e altura de 1 m. A coluna foi conectada a um filtro de vidro com porosidade específica com a finalidade de controlar o tamanho das bolhas. Um fluxo de ar controlado por um medidor de vazão foi soprado para coluna através do filtro, mantendo-se um fluxo constante de  $5 \times 10^{-4} \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ . Para os ensaios de formação da espuma foram adicionados 200 mL da solução de  $\beta$ -caseína na coluna e subsequentemente ligando-se a vazão de ar. A formação da espuma foi monitorada registrando-se o volume da espuma em função do tempo, sendo que ao atingir a altura de 0,8 m o fluxo de ar foi desligado e deu início ao estudo da estabilidade da espuma formada. Nos ensaios de estabilidade foi feito o registro do volume de espuma em função do tempo. Os resultados do estudo demonstraram que as soluções com baixas concentrações ( $0,01 \text{ g L}^{-1}$ ) de  $\beta$ -caseína não apresentaram boa capacidade espumante, porém, com o aumento da concentração proteica nas soluções observaram uma maior na formação de espuma. No entanto, os pesquisadores observaram que a partir soluções com concentrações de  $\beta$ -caseína de  $0,1 \text{ g L}^{-1}$  o incremento da concentração proteica não alterou a capacidade espumante. Embora a porosidade do filtro de vidro não tenha afetado a formação da espuma, este parâmetro juntamente com a concentração da solução proteica afetaram a estabilidade da espuma. Filtro com poros menores ( $40 - 100 \text{ }\mu\text{m}$ ) e soluções mais concentradas ( $0,1 \text{ g L}^{-1}$ ) geraram espumas mais estáveis quando comparadas aos filtros com poros maiores ( $160 - 250 \text{ }\mu\text{m}$ ) e as soluções menos concentradas ( $0,05 \text{ g L}^{-1}$ ).

Ahmed e Dickinson (1991) avaliaram a capacidade espumante e a estabilidade de espumas obtidas por soluções de proteínas juntamente com alginato. Este polissacarídeo é geralmente utilizado na indústria cervejeira para garantir uma espuma mais estável na cerveja. Neste trabalho, o alginato foi dissolvido na solução de proteína a ser utilizada

para formação da espuma. Diferentes proteínas foram utilizadas, sendo elas a  $\beta$ -caseína,  $\beta$ -lactoglobulina, gelatina e proteína de soja. As soluções utilizadas para formação da espuma foram preparadas utilizando o alginato na concentração de  $5 \times 10^{-2}$  % (m/m) e a proteína a ser estudada na concentração de  $5 \times 10^{-3}$  % (m/m). Dentre as proteínas utilizadas a que apresentou maior capacidade espumante foi a  $\beta$ -caseína.

## 2.4 PLANEJAMENTO DE MISTURAS

O planejamento de misturas permite verificar como as propriedades de interesse são afetadas pela proporção que os componentes são adicionados e desta forma possibilita a previsão das propriedades dependentes de interesse do sistema com um pequeno número de experimentos. Alterações na composição das misturas podem alterar uma determinada propriedade do sistema através dos efeitos individuais dos componentes ou das interações entre eles. Os níveis dos componentes podem ser variados independentemente, como em todo planejamento fatorial, entretanto na metodologia de planejamento de misturas visando a otimização de uma propriedade, esses níveis não podem ser variados sem considerar os demais componentes. Portanto, em misturas como é o caso de sistemas que utilizam diferentes polissacarídeos, as propriedades finais dependem da proporção relativa de cada um dos seus componentes.

Independentemente da quantidade de componentes de uma mistura, a soma de suas proporções deve sempre ser 100 %, conforme a Equação 1. Conforme deseja-se alterar as propriedades de uma mistura, pode-se modificar a proporção de seus componentes desde que eles obedeçam a Equação 1 (NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

$$\sum_{i=1}^q x_i = 100 \% \quad (1)$$

Onde:

q = Qualquer componente;

$x_i$  = Proporção do  $i$ -ésimo componente.

Para avaliação da contribuição de cada componente das misturas pode-se primeiro planejar experimentos envolvendo somente componentes puros (COSCIONE; ANDRADE; MAY, 2005). Após esta



avaliação pode-se utilizar o componente que produziu a melhor resposta em maior proporção enquanto os demais são utilizados em proporções menores, atuando como pseudocomponentes da mistura. A utilização de pseudocomponentes geralmente fornece melhores ajustes ao modelo matemático (CORNELL, 2002).

No planejamento de mistura três modelos são comumente utilizados para descrever o comportamento experimental: modelo linear, modelo quadrático e modelo cúbico especial, conforme apresentados nas equações 2, 3 e 4, respectivamente (CORNELL, 2002).

$$y = \sum \beta_i x_i \quad (2)$$

$$y = \sum \beta_i x_i + \sum \sum_{i < j} \beta_i \beta_j x_i x_j \quad (3)$$

$$y = \sum \beta_i x_i + \sum \sum_{i < j} \beta_i \beta_j x_i x_j + \sum \sum \sum_{i < j < k} \beta_i \beta_j \beta_k x_i x_j x_k \quad (4)$$

Onde os coeficientes  $\beta_i$ ,  $\beta_{ij}$  e  $\beta_{ijk}$  correspondem os coeficientes de interação de primeira, segunda e terceira ordens calculadas para os fatores  $x_i$ ,  $x_j$  e  $x_k$  avaliados,  $i$  indica o número do componente ( $i = 1, 2, 3, \dots$ ) e  $y$  é a variável dependente (resposta experimental).

O planejamento de misturas é amplamente utilizado na área de alimentos, como, por exemplo, na avaliação das propriedades funcionais de misturas de proteínas (MATRINGE; LUU; LORIENT, 1999), na formulação de maionese com baixos teores de colesterol e gordura utilizando leite de soja e estabilizantes (NIKZADE; TEHRANI; SAADATMAND-TARZJAN, 2012) e também na avaliação de estabilizantes para sorvetes (PARVAR et al., 2015). Sendo assim, esta metodologia permite definir a composição das misturas de forma a otimizar uma ou mais propriedades visando uma determinada aplicação.

Especificamente, esta técnica ganha destaque quando os componentes das misturas apresentam efeitos sinérgicos ou antagônicos

sobre uma determinada propriedade, como é o caso de sistemas que utilizam polissacarídeos onde esses efeitos são avaliados através das interações de primeira e segunda ordem.

## 2.5 LIOFILIZAÇÃO

O processo de liofilização é um excelente método de preservar os alimentos devido a redução da atividade de água com minimização de danos térmicos. A liofilização é especialmente indicada para alimentos que contenham grande quantidade de líquidos, como cafés, sucos e também alimentos sólidos, como morangos, camarão, frango fatiado, cogumelos fatiados e até mesmo carnes onde os processos de secagem convectiva causam danos térmicos significativos. No processo de secagem, as temperaturas de processo usualmente utilizadas provocam modificações nas características sensoriais e nutricionais dos alimentos. A técnica de liofilização consegue contornar estas desvantagens utilizando temperaturas inferiores às comumente utilizadas para remoção da água presente no produto devido ao vácuo aplicado (NOLLET, 2004; CARDOSO; RUBENSAM, 2011).

A técnica de liofilização consiste primeiramente no congelamento do produto a ser liofilizado e posterior aplicação de vácuo no sistema (pressões geralmente abaixo de 4,6 mm Hg) fazendo com que a água presente no alimento seja removida por sublimação (passagem do estado sólido para o estado gasoso) sem comprometer as propriedades nutricionais e a estrutura do produto. Também pode ser utilizado aquecimento com baixas temperaturas (até 50 °C) para melhorar a taxa de sublimação (NOLLET, 2004; CARDOSO; RUBENSAM, 2011).

O processo de liofilização ocorre em três etapas: congelamento do produto a baixas temperaturas, desidratação do produto através da sublimação e armazenamento do produto final em recipientes devidamente selados e livres de umidade. Quando armazenados apropriadamente, alimentos que passaram pela liofilização podem ter sua vida de prateleira estendida consideravelmente (RATTI, 2008; HARTEL; HELDMAN, 2012).

O congelamento é rápido e a remoção do gelo formado através da sublimação é realizada à baixas temperaturas devido à aplicação de vácuo. A característica mais significativa dos produtos sólidos liofilizados é o fato deles não apresentarem encolhimento, mantendo suas dimensões originais e sua forma. Além disso, a remoção do gelo formado através da sublimação faz com que as cavidades deixadas pelo

gelo confirmam ao produto final características como porosidade, leveza e crocância (LENIGER; BEVERLOO, 2012).

As principais vantagens da liofilização estão relacionadas às baixas temperaturas utilizadas no processo para remoção da água dos alimentos, fazendo com que esta técnica permita manter as propriedades nutricionais, a estrutura, a textura e até mesmo o aroma original dos alimentos que passam por este processo. Devido à qualidade superior dos alimentos liofilizados, bem como os custos agregados à técnica de liofilização, o preço de mercado dos alimentos liofilizados chega a custar de 7 a 8 vezes mais que os produtos congelados (FELLOWS, 2000; HUA; LIU; ZHANG, 2010).

Ratti (2001) comparou a secagem de morangos utilizando ar quente e a técnica de liofilização. As principais diferenças entre os produtos finais obtidos residem em sua coloração e volume final. Os morangos liofilizados mantiveram sua coloração enquanto que os morangos secos utilizando ar quente tiveram sua coloração significativamente alterada. Em relação ao seu volume final, os morangos liofilizados apresentaram uma redução significativamente menor (5–15 %) do que os morangos secos utilizando ar quente (80 %) evidenciando a superioridade dos produtos secos utilizando a técnica de liofilização.

Atualmente, além de sua utilização na conservação de alimentos, a técnica de liofilização tem sido muito utilizada na indústria biotecnológica, farmacêutica e biomédica na preservação de produtos como antibióticos, macromoléculas, proteínas, hormônios, vacinas, dentre outros produtos (VARSHNEY; SINGH, 2015).

O processo de liofilização tem evoluído em um método altamente avançado de desidratação, entretanto a grande limitação deste processo é o seu custo, podendo custar duas ou até cinco vezes mais por peso do que outros métodos como a secagem. Para contornar esta limitação, estudos tem se focado na otimização das condições de processo e no projeto de equipamentos, visando redução de custo.

A liofilização é conhecida desde o século XIX, porém ela só começou a ser utilizada na indústria após a Segunda Guerra Mundial. As suas primeiras aplicações comerciais foram na indústria farmacêutica, onde ainda é mais amplamente utilizada em comparação com a indústria de alimentos. A utilização da liofilização na indústria alimentícia teve início no final de 1950 e apesar do custo, a excelente qualidade dos produtos obtidos, justifica o uso desta técnica que se encontra em processo de expansão (BERK, 2013).



### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAL

A caseína (85 % de proteína, 10 % de água, 2,2 % de cinzas, 1,5 % de gordura e 0,5 % de lactose) utilizada neste trabalho foi adquirida da empresa Lactoprot (Alemanha). A goma xantana e o alginato de sódio foram cedidos pela empresa Danisco e a carboximetilcelulose foi obtida da empresa Synth (Brasil).

O tampão McIlvaine pH 8,0 foi preparado utilizando 972,5 mL de uma solução de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (LAFAN, Brasil)  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  e 27,5 mL de uma solução de ácido cítrico  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (Vetec, Brasil) conforme descrito por Morita e Assumpção (2007). O pH 8,0 foi selecionado para os ensaios em virtude de ser o pH em que a caseína e as polissacarídeos apresentam boa solubilidade e segundo Duarte et al. (1998).

Os sais utilizados na preparação das soluções saturadas para fornecer a umidade relativa (UR) desejada para o estudo de cinética de adsorção de água foram o cloreto de magnésio (UR 33 %) e o brometo de potássio (UR 80 %).

#### 3.2 SOLUBILIDADE DA CASEÍNA

Para a produção de uma espuma estável, a proteína deve estar solubilizada na solução para que ela consiga se adsorver na superfície da bolha de forma a diminuir da tensão superficial entre a fase gasosa e a fase líquida (HAILING; WALSTRA, 1981; DICKINSON; IZGI, 1996; FIGUEREDO; RIBEIRO; SABADINI, 1999).

Desta forma, foi necessário garantir que na concentração de caseína a ser utilizada nos ensaios de produção de espuma a caseína estivesse solubilizada.

Para este estudo, foi utilizada a metodologia 347/IV do Instituto Adolfo Lutz (2008) com algumas modificações. Foram avaliadas três concentrações de caseína para o preparo da solução proteica a ser utilizada na formação das espumas.

As soluções de caseína foram preparadas em triplicata em tampão McIlvaine ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  e ácido cítrico) pH 8,0 em três diferentes concentrações, sendo elas: 1 %, 3 % e 5 %.

Para avaliação da solubilidade foram preparadas triplicatas de 20 mL de soluções de caseína 1%, 3% e 5% e em seguida cada solução foi transferida para tubos Falcon® de 50 mL e homogeneizadas em Vortex (Biomixer QL-901) por 30 minutos. Após isso, as soluções foram

centrifugadas utilizando uma centrífuga (Hermle Z 200 A, Alemanha) para precipitação da caseína não solubilizada.

Após a centrifugação o material sobrenadante foi removido e o precipitado transferido para uma placa de secagem previamente tarada. As placas foram colocadas em uma estufa (DeLeo, Brasil) durante 24 horas à 60 °C para total remoção da água.

A solubilidade de cada solução foi determinada relacionando a massa de caseína restante após a secagem do precipitado com a massa de caseína utilizada para o preparo da solução.

### 3.3 PREPARO DAS SOLUÇÕES ESTOQUE

O preparo das soluções foi feito à temperatura ambiente (25 °C). Após realizados os testes de solubilidade das soluções de caseína em tampão McIlvaine pH 8,0, a melhor concentração determinada foi utilizada para o preparo das soluções contendo apenas caseína e também para o preparo das soluções contendo caseína e polissacarídeos.

As soluções estoque de alginato de sódio, goma xantana e carboximetilcelulose foram preparadas também em tampão McIlvaine pH 8,0 na concentração de 2 %.

### 3.4 PLANEJAMENTO DE PRODUÇÃO DAS ESPUMAS

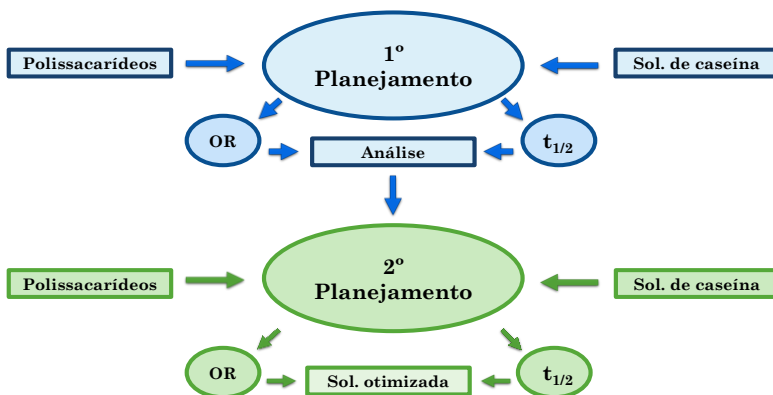
Para produção das espumas foram preparadas 140 mL de cada solução a ser utilizada no estudo. Foram utilizadas soluções contendo 1 % de caseína e também soluções contendo 1 % de caseína e 0,4 % de polissacarídeos em diferentes proporções, sendo eles o alginato de sódio, a goma xantana e a carboximetilcelulose.

O tempo de batimento para produção da espuma de caseína foi determinado como sendo o tempo necessário para cada sistema atingir o *overrun* máximo (máxima incorporação de ar).

O planejamento foi realizado em duas etapas: primeiro foi realizado um planejamento no qual os polissacarídeos foram adicionados individualmente, em pares e por fim os três juntos em iguais proporções à solução contendo 1 % de caseína. Após a avaliação da contribuição dos polissacarídeos no primeiro planejamento, o polissacarídeo que apresentou uma maior contribuição para o aumento do *overrun* e tempo de meia-vida foi escolhido para o segundo planejamento. Neste segundo planejamento com pseudocomponentes, o polissacarídeo selecionado na primeira etapa foi utilizado em maiores concentrações em relação aos demais polissacarídeos. Em ambos

planejamentos a ordem dos experimentos foi aleatorizada. O esquema utilizado para o planejamento de produção das espumas está apresentado na Figura 14.

Figura 14 – Esquema utilizado para o planejamento de produção das espumas.



Fonte: Próprio autor (2018).

O primeiro planejamento está ilustrado na Tabela 2, sendo que  $x_1$ ,  $x_2$  e  $x_3$  são as variáveis codificadas para a concentração de alginato de sódio, goma xantana e carboximetilcelulose, respectivamente.

Tabela 2 – Variáveis codificadas e respectivas concentrações de polissacarídeos utilizadas no primeiro planejamento de misturas.

Experimento	$x_1$	$x_2$	$x_3$	Concentração de alginato de sódio (%)	Concentração de goma xantana (%)	Concentração de carboximetilcelulose (%)
1	1	0	0	0,400	-	-
2	0	1	0	-	0,400	-
3	0	0	1	-	-	0,400
4	0,500	0,500	0	0,200	0,200	-
5	0,500	0	0,500	0,200	-	0,200
6	0	0,500	0,500	-	0,200	0,200
7	0,333	0,333	0,333	0,133	0,133	0,133
8	0,333	0,333	0,333	0,133	0,133	0,133

Fonte: Próprio autor (2017).

A partir da análise dos resultados de *overrun* e tempo de meia-vida do primeiro planejamento, foi observado que a goma xantana foi o polissacarídeo que apresentou o maior efeito positivo sobre a capacidade espumante e tempo de meia-vida das espumas. Sendo assim, o segundo planejamento (Tabela 3) foi realizado utilizando a goma xantana em maior concentração. Os polissacarídeos foram utilizados na forma de pseudocomponentes.

Tabela 3 – Variáveis codificadas e respectivas concentrações de polissacarídeos utilizadas no segundo planejamento de misturas.

Experimento	x <sub>1</sub>	x <sub>2</sub>	x <sub>3</sub>	Concentração de alginato de sódio (%)	Concentração de goma xantana (%)	Concentração de carboximetilcelulose (%)
1	0,100	0,850	0,050	0,040	0,340	0,020
2	0,150	0,800	0,050	0,060	0,320	0,020
3	0,100	0,800	0,100	0,040	0,320	0,040
4	0,125	0,825	0,050	0,050	0,330	0,020
5	0,100	0,825	0,075	0,040	0,330	0,030
6	0,125	0,800	0,075	0,050	0,320	0,030
7	0,117	0,817	0,067	0,047	0,327	0,027
8	0,117	0,817	0,067	0,047	0,327	0,027

Fonte: Próprio autor (2017).

### 3.5 CARACTERIZAÇÃO DAS ESPUMAS PRODUZIDAS A PARTIR DAS SOLUÇÕES ESTABELECIDAS NOS PLANEJAMENTOS

As soluções estabelecidas nas duas etapas de planejamento foram avaliadas em termos de capacidade espumante (*overrun*) e estabilidade (tempo de meia-vida). Estas variáveis foram consideradas as variáveis dependentes nos modelos polinomiais aplicados aos resultados experimentais visando sua maximização.

#### 3.5.1 *Overrun*

O *overrun* indica a capacidade de uma solução proteica de incorporar ar e pode ser determinado através da diferença entre a massa (g) da solução de proteína e a massa (g) da espuma formada a partir desta solução proteica dentro de um volume pré-determinado.



O *overrun* foi determinado à temperatura ambiente (25 °C) seguindo a metodologia descrita por Phillips e colaboradores (1990) com algumas adaptações. Primeiramente, recipientes calibrados com um volume de 140 mL foram preenchidos com cada uma das formulações e pesados de modo a determinar a massa correspondente a cada formulação. A seguir a solução foi transferida para um recipiente específico com capacidade para 1,5 L e batida com o auxílio de uma batedeira comercial (Britania Bellagio) durante 10 minutos com velocidade constante de modo a promover a formação da espuma. Durante o processo de batimento a batedeira foi desligada a cada 2 minutos e uma alíquota da espuma produzida foi delicadamente transferida para um recipiente previamente calibrado e tarado com volume de 140 mL. Essa transferência foi realizada cuidadosamente de modo a evitar o aprisionamento de ar e a massa de espuma foi pesada. Após a pesagem, a espuma foi transferida novamente para a batedeira e batida durante mais 2 minutos. O procedimento foi executado até que o tempo total de 10 minutos fosse atingido. A Equação 2 foi utilizada para determinação do *overrun*.

$$\% \textit{Overrun} (t) = \frac{\text{wt.140 mL da solução de proteína} - \text{wt.140 mL da espuma}}{\text{wt.140 mL da espuma}} \times 100 \quad (2)$$

Onde:

% *Overrun* (t) = Porcentagem de *overrun* no tempo;

Wt. = Massa em um volume de 140 mL.

A capacidade espumante de cada solução testada foi determinada avaliando a diminuição do peso da solução proteica inicial devido a incorporação de ar durante a formação da espuma. Quanto mais ar for incorporado, maior a capacidade espumante da solução estudada.

### 3.5.2 Estabilidade da espuma

A estabilidade da espuma foi baseada na metodologia descrita por Phillips e colaboradores (1987) e por Ellis e colaboradores (2017). Para tal, 140 ± 0,1g da solução utilizada para produção da espuma foi batida até atingir o *overrun* máximo (previamente determinado), cuidadosamente transferida para um bécquer e iniciou-se a contagem do tempo.

Durante os ensaios foi possível visualizar a separação de fases (espuma/líquido) e o acúmulo do líquido no fundo do béquer devido ao processo de drenagem líquida. Este líquido foi recolhido em uma proveta graduada e quando seu volume se aproximava da metade do volume inicial ocupado pela solução proteica utilizada no batimento para formação da espuma, o líquido foi pesado de 5 em 5 minutos, até que a massa do drenado fosse correspondente a metade da massa inicial da solução proteica. O tempo necessário para que esta massa atingisse a metade da massa inicial foi definido como o tempo de meia-vida da espuma.

A relação da massa do líquido drenado com a massa da espuma foi determinada utilizando a Equação 3.

$$\% \text{ DR} = \frac{\text{Mld}(t)}{\text{Msp}} \times 100 \quad (3)$$

Onde:

% DR = Razão de drenagem;

Mld (t) = Massa (g) do líquido drenado no tempo;

Msp = Massa (g) da solução de proteína inicial.

### 3.6 CARACTERIZAÇÃO DA SOLUÇÃO OTIMIZADA NO PLANEJAMENTO DE MISTURAS

A solução de caseína e polissacarídeos que nos experimentos de planejamento de mistura promoveu a produção da espuma com maior *overrun* e maior estabilidade foi caracterizada em termos de: teor de umidade, viscosidade aparente e tensão superficial.

#### 3.6.1 Teor de umidade

Foi utilizado o método gravimétrico, utilizando temperatura de de secagem de 105 °C, até atingir peso constante, seguindo a metodologia (012/IV) do Instituto Adolfo Lutz (2008).

Para este estudo, três placas de alumínio foram previamente secas em uma estufa (Tecnal – TE 394/2) à 70 °C durante 3 horas e em seguida transferidas para um dessecador. Após o resfriamento das placas até a temperatura ambiente suas massas foram determinadas.

A solução utilizada para formação das espumas foi preparada conforme metodologia descrita anteriormente, em seguida

aproximadamente 15 g foram distribuídas em três placas alumínio, colocadas na estufa até atingirem massa constante, resfriadas em dessecador até temperatura ambiente e pesadas.

A umidade da amostra foi determinada após verificado que a massa da amostra seca permanecia constante, seu teor de umidade foi calculado a partir da Equação (4):

$$U (\%)_{b.u} = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100 \quad (4)$$

Onde:

U = Umidade em base úmida (%);

$m_i$  = massa inicial (g);

$m_f$  = massa final.

### 3.6.2 Viscosidade aparente

Com o auxílio de um reômetro Brookfield (modelo DV-II), ligado a um banho termostático Quimis (modelo MQBTC 99-20) foram realizadas as medidas de viscosidade a 25 °C da solução contendo 1 % de caseína e das soluções contendo 1 % de caseína e 0,4 % de polissacarídeos nas proporções de 0,117 de alginato de sódio, 0,817 de goma xantana e 0,067 de carboximetilcelulose. Para o ajuste dos parâmetros foi utilizado o modelo matemático de Ostwald-de Waele, também conhecido como Lei da Potência (Equação 5).

$$\tau = K \dot{\gamma}^n \quad (5)$$

Onde:

$\tau$  = Tensão de cisalhamento (Pa);

K = Índice de consistência do fluído (Pa s<sup>-1</sup>);

$\dot{\gamma}$  = Taxa de deformação (s<sup>-1</sup>);

n = Índice de comportamento do fluido (adimensional).

A viscosidade aparente foi determinada através do modelo Newtoniano (Equação 6).

$$\tau = n_a \dot{\gamma} \quad (6)$$

Onde:

$\tau$  = Tensão de cisalhamento (Pa);

$\dot{\gamma}$  = Taxa de deformação ( $s^{-1}$ );

$\eta_a$  = Viscosidade aparente do fluido (Pa s).

### 3.6.3 Tensão superficial

A tensão superficial da solução foi determinada utilizando o método do Anel Du Noüy (Figura 15). Este método consiste na medida da força ( $mN\ m^{-1}$ ) necessária para retirar um anel metálico de área conhecida da superfície do líquido estudado.

Figura 15 – Representação do Anel Du Noüy para determinação da tensão superficial.



Fonte: Thermal Exchange (2017).

## 3.7 CARACTERIZAÇÃO DA ESPUMA PRODUZIDA A PARTIR DA SOLUÇÃO OTIMIZADA ATRAVÉS DO PLANEJAMENTO DE MISTURAS

A espuma com maior capacidade espumante (*overrun*) e maior estabilidade (tempo de meia-vida) produzida a partir da solução

otimizada através do planejamento de misturas teve sua fração da fase gasosa avaliada e também foi avaliada morfológicamente através de Microscopia Óptica.

### 3.7.1 Fração da fase gasosa

A espuma produzida a partir da solução espumante otimizada, que apresentou maiores valores de *overrun* e maior tempo de meia-vida, foi transferida para tubos Falcon de 50 mL ( $V_f$ ) previamente tarados. Após a transferência, os tubos foram centrifugados a 2660g e 25 °C até que toda espuma fosse destruída para que pudesse ser feita a medida da fase contínua ( $V_t$ ).

O cálculo da fração da fase gasosa foi feito relacionando o volume da espuma com o volume da fase contínua obtida após a centrifugação, como demonstra a Equação 7.

$$\phi = \frac{V_f - V_t}{V_f} \quad (7)$$

Onde:

$\phi$  = Fração do volume da fase gasosa;

$V_f$  = Volume da espuma (mL);

$V_t$  = Volume do líquido (mL).

Além do método descrito anteriormente, pode-se utilizar a Equação (8) para a determinação da fração gasosa da espuma formada.

$$\phi = \frac{\% \textit{overrun}}{(\% \textit{overrun} + 100)} \quad (8)$$

Onde:

$\phi$  = Fração da fase gasosa.

### 3.7.2 Microscopia Óptica

A técnica de Microscopia Óptica foi utilizada para avaliar a morfologia da espuma formada após diferentes tempos de batimento. Para tal, a solução espumante otimizada contendo 1 % de caseína e 0,4 % de polissacarídeos nas proporções de 0,117 de alginato de sódio,

0,817 de goma xantana e 0,067 de carboximetilcelulose foi transferida para a mesma batedeira utilizada no estudo de *overrun* e batida durante 3, 5 e 10 min. Após cada tempo de batimento, uma alíquota da espuma foi transferida para um vidro relógio e visualizada com um aumento de 10x através de um Microscópio Esteroscópico (Leica - MZ16).

Além de avaliar o processo de formação da espuma, a solução batida durante 10 min (*overrun* máximo) foi deixada em repouso durante 1 hora com a finalidade de avaliar os processos de desestabilização durante este período.

A captura das imagens foi feita utilizando um *software* de captura de imagens.

### 3.8 ESPUMA ESTRUTURADA

A espuma que apresentou maior capacidade espumante (*overrun*) e estabilidade (tempo de meia-vida) foi selecionada para submeter ao processo de liofilização. Para tal, uma vez produzida a espuma nas condições de batimento estabelecidas anteriormente, as mesmas foram colocadas em recipientes metálicos, congeladas utilizando nitrogênio líquido e transferidas para um liofilizador Terroni \* Fauvel (modelo LT 1000/8). As condições de liofilização foram previamente testadas de modo a garantir que o processo de liofilização ocorresse sem descongelamento da amostra. As espumas estruturadas, foram avaliadas em termos morfologia através de microscopia eletrônica de varredura e cinéticas de adsorção de umidade a 25°C.

### 3.9 CARACTERIZAÇÃO DA ESPUMA OTIMIZADA ESTRUTURADA

#### 3.9.1 Cinética de adsorção de umidade

As espumas liofilizadas foram mantidas em um dessecador por um período de 7 dias e após este tempo foram transferidas para 6 placas de alumínio previamente taradas. Destas 6 amostras, 3 foram acondicionadas em um recipiente hermeticamente fechado contendo solução saturada de cloreto de magnésio (UR = 33 %) e as 3 restantes foram acondicionadas em outro recipiente hermeticamente fechado contendo solução de brometo de potássio (UR = 80 %). Ambos recipientes foram mantidos em uma estufa incubadora BOD com temperatura constante de 25 °C.

As amostras foram pesadas em intervalos regulares de tempo até que sua massa permanecesse constante, considerando que o sistema atingiu o equilíbrio. A partir dos resultados de ganho de massa no tempo foi calculada a umidade em base seca ( $\text{g H}_2\text{O g de sólidos secos}^{-1}$ ) e elaboradas as curvas cinéticas relacionando o ganho de umidade por tempo (min).

O modelo de Peleg (Equação 9) foi ajustado aos resultados experimentais da cinética de adsorção de água das espumas liofilizadas nas diferentes umidades relativas (PELEG, 1988).

$$M(t) = M_0 + \frac{t}{(k_1 + k_2 t)} \quad (9)$$

Onde:

$M(t)$  = Umidade da amostra no tempo ( $\text{g H}_2\text{O g de sólidos secos}^{-1}$ );

$M_0$  = Umidade inicial ( $\text{g H}_2\text{O g de sólidos secos}^{-1}$ );

$t$  = Tempo (min);

$k_1$  = Constante de Peleg ( $\text{min gms gH}_2\text{O}^{-1}$ );

$k_2$  = Constante de Peleg ( $\text{gms gH}_2\text{O}^{-1}$ ).

### 3.9.2 Morfologia

Para avaliar a morfologia das espumas estruturadas foi utilizada a técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (equipamento modelo JSM-6390LV, JEOL, Japão) no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (UFSC). As espumas liofilizadas foram fixadas em *stubs* e cobertas com uma fina camada de ouro para amplificação do sinal.

### 3.10 ANÁLISES ESTÁTISTICAS

As modelagens de misturas e a avaliação dos ajustes dos modelos matemáticos utilizando análise de variância (ANOVA) foram realizadas com o auxílio do *software* Statistica 12.0<sup>®</sup> (Starsoft, USA).



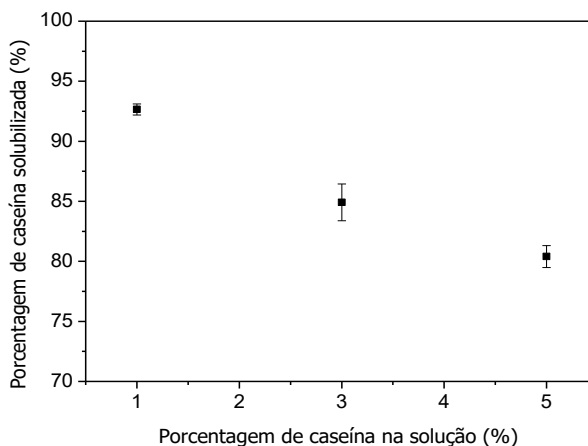


## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 SOLUBILIDADE DA CASEÍNA

Os resultados referentes à avaliação da solubilidade da caseína estão apresentados na Figura 16. As porcentagens de caseína solubilizada nas soluções contendo 1, 3 e 5 % desta proteína foram respectivamente:  $92,65 \pm 0,46$  %;  $84,92 \pm 1,53$  % e  $80,40 \pm 0,91$  %.

Figura 16 – Porcentagem de caseína solubilizada em solução em tampão McIlvaine pH 8,0 em função da concentração.



Fonte: Próprio autor (2018).

Observa-se que na medida que o teor de caseína na solução aumenta, ocorre uma diminuição porcentagem de caseína solubilizada. Quanto maior for a quantidade de proteína adicionada ao sistema, mais saturado ele irá ficar diminuindo gradativamente a concentração de proteína capaz de ser solubilizada em um determinado volume de solvente.

As solubilidades das soluções de caseína apresentaram valores que corroboram os resultados de outros autores que reportam solubilidade da caseína entre 49,2% e 95,1% (WOHLT; SNIFFE; HOOVER 1972). Biasutti e colaboradores (2007) avaliaram a solubilidade de caseína comercial e caseína hidrolisada utilizando tripsina. Estes autores reportam que a caseína apresentou solubilidade mínima em pH entre 3,0 e 5,0, região que corresponde ao ponto

isoeletrico, e para pH acima desta faixa houve um aumento da solubilidade, atingindo o máximo em pH acima de 7,0. Resultados semelhantes foram reportados por Chobert e colaboradores (1988) que avaliaram a solubilidade de caseína e caseína hidrolisada em diferentes condições de pH. Em função da solução contendo 1 % de caseína apresentar a maior solubilidade dentre as soluções estudadas ( $92,65 \pm 0,46$  %), esta foi selecionada para ser utilizada como base na preparação das soluções dos planejamentos de misturas. Este alto valor de solubilidade está associado a que no pH 8,0, utilizado neste experimento, a caseína encontra-se em condições de alta solubilidade, conforme discutido anteriormente.

## 4.2 PLANEJAMENTO DE MISTURAS

### 4.2.1 Primeiro planejamento de misturas

Na Tabela 4 são apresentados os resultados de *overrun* máximo das espumas elaboradas com as soluções estabelecidas no primeiro planejamento. Observa-se que todas as formulações avaliadas apresentaram *overrun* acima de 500% e que a formulação com maior capacidade espumante foi a solução que continha a maior concentração de goma xantana.

Tabela 4 – Resultados do estudo de *overrun* das espumas formadas a partir de soluções contendo caseína e polissacarídeos estabelecidos no primeiro planejamento de misturas.

$x_1$	$x_2$	$x_3$	Concentração de alginato de sódio (%)	Concentração de goma xantana (%)	Concentração de carboximetilcelulose (%)	<i>Overrun</i> máximo (%)
1	0	0	0,400	-	-	611,0
0	1	0	-	0,400	-	629,3
0	0	1	-	-	0,400	584,2
0,500	0,500	0	0,200	0,200	-	577,8
0,500	0	0,500	0,200	-	0,200	617,3
0	0,500	0,500	-	0,200	0,200	629,0
0,333	0,333	0,333	0,133	0,133	0,133	504,7
0,333	0,333	0,333	0,133	0,133	0,133	516,9

Fonte: Próprio autor (2018).

Por outro lado, o menor *overrun* foi observado na espuma produzida a partir da solução contendo caseína e os três polissacarídeos avaliados na mesma concentração, evidenciando uma possível interação antagonista entre os três nestas proporções.

No experimento envolvendo a solução de caseína contendo alginato de sódio e goma xantana também pode ser percebido um possível efeito antagonista entre os dois polissacarídeos envolvidos, pois o *overrun* máximo deste experimento foi menor do que o *overrun* observado para as soluções de caseína contendo estes polissacarídeos de forma individual.

O modelo estatístico que melhor se ajustou aos valores experimentais de *overrun* foi o especial cúbico, com um valor de  $R^2$  de 0,980. A Equação 10 obtida utilizando este modelo está ilustrada a seguir, sendo que os parâmetros com significância estatística ( $p < 0,05$ ) estão destacados em negrito.

$$Y = \mathbf{617,6}x_1 + \mathbf{629,3}x_2 + \mathbf{590,7}x_3 - 182,8x_1x_2 + 78,6x_1x_3 + 75,7x_2x_3 - \mathbf{2426,2}x_1x_2x_3 \quad (10)$$

Onde:

$x_1$  = Alginato de sódio;

$x_2$  = Goma xantana;

$x_3$  = Carboximetilcelulose.

Para avaliar a qualidade do ajuste do modelo estatístico aos dados experimentais apresenta-se os resultados da análise de variância (ANOVA) (Tabela 5).

Tabela 5 – Análise de variância (ANOVA) dos resultados de *overrun* das espumas formadas a partir de soluções contendo caseína e polissacarídeos estabelecidos no primeiro planejamento de misturas.

	Soma quadrática	Grau de liberdade	Média quadrática	F	p
<b>Modelo</b>	16412,980	5	3282,596	19,825	0,049
<b>Erro total</b>	331,158	2	165,579		
<b>Falta de ajuste</b>	257,726	1	257,726	3,510	0,312
<b>Erro puro</b>	73,432	1	73,432		
<b>Ajuste total</b>	16744,137	7	2392,020		

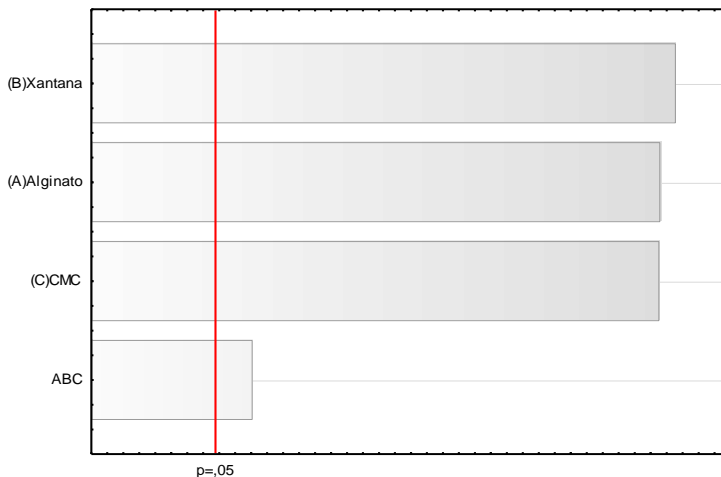
Fonte: Próprio autor (2018).

Através dos dados fornecidos pela tabela de ANOVA pode-se confirmar o bom ajuste do modelo estatístico aos dados experimentais, pois o modelo apresentou significância estatística ( $p < 0,05$ ), com um valor de F calculado ( $F_{5,2} = 19,82$ ) maior do que o tabelado ( $F_{5,2} = 19,30$ ), enquanto a falta de ajuste não apresentou significância estatística ( $p > 0,05$ ).

A equação obtida a partir do ajuste do modelo matemático corrobora as observações dos valores de *overrun* máximo obtidos. Pode-se avaliar a relação de antagonismo ou sinergismo dos polissacarídeos através dos sinais que antecedem seus parâmetros. No caso da interação entre o alginato de sódio e a carboximetilcelulose ( $x_1x_3$ ), o sinal que antecede seu parâmetro é positivo, ou seja, há um sinergismo entre estes dois polissacarídeos. Já a interação entre o alginato de sódio e a goma xantana ( $x_1x_2$ ) é de antagonismo, por isso o sinal que antecede seu parâmetro na equação é negativo.

Através da avaliação do gráfico de pareto contendo apenas os elementos significativos ( $p < 0,05$ ) (Figura 17), é possível verificar que o polissacarídeo que teve maior influência no *overrun* máximo da espuma produzida foi a goma xantana, seguida pelo alginato de sódio e pela carboximetilcelulose, nesta ordem.

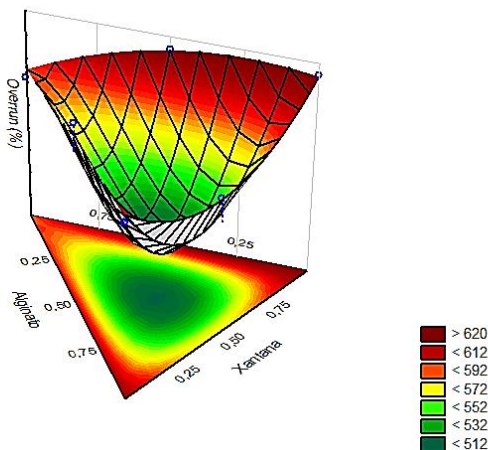
Figura 17 – Gráfico de pareto do estudo de *overrun* das espumas produzidas a partir das soluções de caseína e polissacarídeos estabelecidas no primeiro planejamento de misturas.



Fonte: Próprio autor (2018).

O gráfico de superfície contendo os elementos significativos (Figura 18) obtidos a partir dos resultados indica que a combinação dos polissacarídeos em proporções iguais gera os menores resultados de *overrun* máximo enquanto que nas extremidades este valor aumenta. Por não ser possível observarmos um ponto ótimo de proporções dos polissacarídeos para o valor de *overrun* máximo, um novo planejamento foi feito e seus resultados avaliados.

Figura 18 – Gráfico de superfície de resposta para o estudo de *overrun* das espumas formadas a partir de soluções contendo caseína e polissacarídeos estabelecidos no primeiro planejamento de misturas.



Fonte: Próprio autor (2018).

Avaliar somente a incorporação de ar de uma espuma, isto é, o *overrun*, não é o suficiente para determinar sua utilização tecnológica. Para que possam ser produzidas espumas estruturadas utilizando a técnica de liofilização ou incorporada em outros produtos alimentares, além formar a espuma com elevada capacidade de incorporação de ar, a mesma deve estável. Espumas que não colapsam em um período de pelo menos uma hora podem ser consideradas mecanicamente estáveis (RATTI; KUDRA, 2007).

O estudo de estabilidade foi realizado com o interesse de avaliar a minimização dos fenômenos de desestabilização das espumas formadas após a adição de diferentes proporções dos três polissacarídeos utilizados.

Assim como no estudo de *overrun*, a estabilidade das espumas foi avaliada a partir de um primeiro planejamento no qual a solução utilizada para formação da espuma continha apenas um dos polissacarídeos estudados, outra solução contendo dois dos polissacarídeos em igual proporção e por fim uma solução contendo os três polissacarídeos avaliados em iguais proporções.

Para que esta avaliação fosse feita, foi cronometrado o tempo necessário para que metade da massa de solução utilizada para formação da espuma fosse drenada, sendo este tempo correspondente ao tempo de meia-vida da espuma.

Os resultados de tempo de meia-vida e razão de drenagem (RD) para cada solução estudada estão ilustrados na Tabela 6.

Tabela 6 – Resultados do estudo de tempo de meia-vida das espumas formadas a partir de soluções contendo caseína e polissacarídeos estabelecidos no primeiro planejamento de misturas.

$x_1$	$x_2$	$x_3$	Concentração de alginato de sódio (%)	Concentração de goma xantana (%)	Concentração de carboximetilcelulose (%)	Meia-vida (min)	RD (%)
1	0	0	0,400	-	-	105	50,1
0	1	0	-	0,400	-	405	49,6
0	0	1	-	-	0,400	170	49,0
0,500	0,500	0	0,200	0,200	-	395	50,7
0,500	0	0,500	0,200	-	0,200	130	50,5
0	0,500	0,500	-	0,200	0,200	155	49,8
0,333	0,333	0,333	0,133	0,133	0,133	380	51,9
0,333	0,333	0,333	0,133	0,133	0,133	380	53,1

Fonte: Próprio autor (2018).

O maior tempo de meia-vida foi observado na espuma produzida a partir da solução de caseína contendo somente goma xantana (405 min), seguida pela solução de caseína contendo goma xantana e alginato de sódio em iguais proporções (395 min) e pela solução de caseína contendo todos os polissacarídeos avaliados (380 min).

O modelo matemático que melhor se ajustou aos dados experimentais foi o especial cúbico, com um valor de  $R^2$  de 0,999. A Equação 11 obtida utilizando este modelo está ilustrada a seguir, sendo que os parâmetros com significância estatística ( $p < 0,05$ ) estão destacados em negrito.

$$Y = 102,5x_1 + 405,0x_2 + 167,5x_3 + 565,0x_1x_2 - 30,0x_1x_3 - 525,0x_2x_3 + 4065,0x_1x_2x_3 \quad (11)$$

Onde:

$x_1$  = Alginato de sódio;

$x_2$  = Goma xantana;

$x_3$  = Carboximetilcelulose.

Através da análise da equação obtida a partir do modelo matemático, é possível afirmar que todas as interações com exceção da interação de segunda ordem entre o alginato de sódio e o carboximetilcelulose foram significativas. Por outro lado, observou-se um efeito antagônico foi observada na espuma formada a partir da solução de goma xantana e carboximetilcelulose. A maior relação de sinergismo pode ser observada na espuma formada a partir da solução contendo todos os polissacarídeos avaliados.

Para confirmação do bom ajuste do modelo matemático aos dados experimentais, foi avaliado o valor de  $R^2$  (0,999) juntamente com os dados da análise de variância (ANOVA) (Tabela 7).

Tabela 7 – Análise de variância (ANOVA) dos resultados de meia-vida das espumas formadas a partir de soluções contendo caseína e polissacarídeos estabelecidos no primeiro planejamento de misturas.

	Soma quadrática	Grau de liberdade	Média quadrática	F	p
<b>Modelo</b>	127862,500	5	25572,500	1363,867	0,0007
<b>Erro total</b>	37,500	2	18,750		
<b>Falta de ajuste</b>	37,500	1	37,500		
<b>Erro puro</b>	0,000	1	0,000		
<b>Ajuste total</b>	127900,000	7	182741,429		

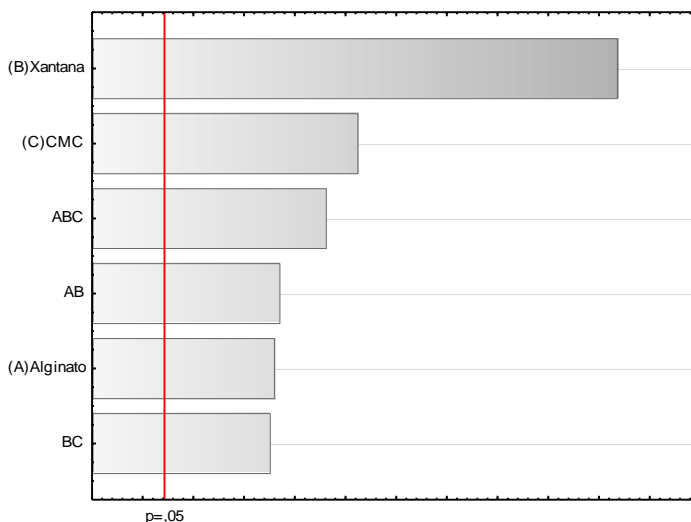
Fonte: Próprio autor (2018).

O bom ajuste do modelo matemático aos dados experimentais é confirmado pela tabela de ANOVA, sendo que o modelo apresentou significância estatística ( $p < 0,05$ ) e não foi observado erro puro nas análises.



A contribuição de cada polissacarídeo bem como de cada mistura de polissacarídeos no aumento do tempo de meia-vida das espumas formadas pode ser avaliada através do gráfico de pareto contendo apenas os elementos significativos ( $p < 0,05$ ) (Figura 19). Esta avaliação confirma que a goma xantana foi o componente que melhor contribuiu para estabilização da espuma formada, aumentando seu tempo de meia-vida e devido a isso, este polissacarídeo foi escolhido para ser utilizado em maior proporção no segundo planejamento, enquanto os demais polissacarídeos

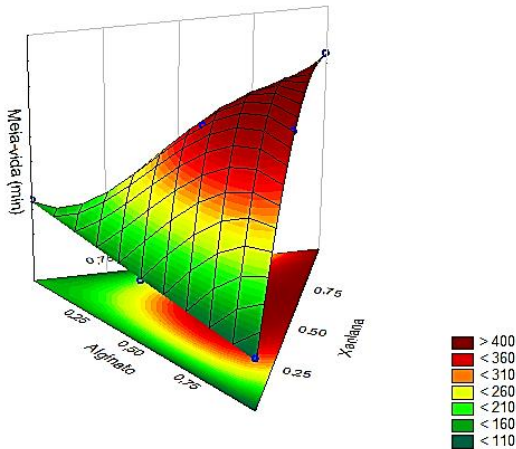
Figura 19 – Gráfico de pareto do estudo de meia-vida das espumas produzidas a partir das soluções de caseína e polissacarídeos estabelecidas no primeiro planejamento de misturas.



Fonte: Próprio autor (2018).

O gráfico de superfície de resposta contendo os elementos significativos ( $p < 0,05$ ) (Figura 20) corrobora com os resultados observados no gráfico de pareto. Conforme a proporção de goma xantana aumenta na mistura, maior é o tempo de meia-vida observado para a espuma formada.

Figura 20 – Gráfico de superfície de resposta para o estudo de meia-vida das espumas formadas a partir de soluções contendo caseína e polissacarídeos estabelecidos no primeiro planejamento de misturas.



Fonte: Próprio autor (2018).

Os resultados obtidos no estudo de *overrun* e estabilidade das espumas no primeiro planejamento, indicaram que a goma xantana foi o polissacarídeo que promoveu maior incorporação de ar (*overrun*) e produziu espumas mais estáveis. Em virtude disso, a goma xantana foi selecionada como o polissacarídeo a ser utilizado em maior concentração no segundo planejamento.

#### 4.2.2 Segundo planejamento de misturas

Os resultados referentes ao segundo planejamento (Tabela 8), no qual a proporção de goma xantana utilizada em relação aos outros polissacarídeos, foram condizentes ao que foi observado no estudo anterior.

Tabela 8 – Resultados do estudo de *overrun* das espumas formadas a partir de soluções contendo caseína e polissacarídeos estabelecidos no segundo planejamento de misturas.

$x_1$	$x_2$	$x_3$	Concentração de alginato de sódio (%)	Concentração de goma xantana (%)	Concentração de carboximetilcelulose (%)	<i>Overrun</i> máximo (%)
0,100	0,850	0,050	0,040	0,340	0,020	586,6
0,150	0,800	0,050	0,060	0,320	0,020	553,3
0,100	0,800	0,100	0,040	0,320	0,040	546,9
0,125	0,825	0,050	0,050	0,330	0,020	568,8
0,100	0,825	0,075	0,040	0,330	0,030	584,2
0,125	0,800	0,075	0,050	0,320	0,030	562,1
0,117	0,817	0,067	0,047	0,327	0,027	609,8
0,117	0,817	0,067	0,047	0,327	0,027	605,1

Fonte: Próprio autor (2018).

O modelo estatístico que melhor se ajustou aos valores experimentais deste estudo, também foi o especial cúbico, com um valor de  $R^2$  de 0,997. A Equação 12 obtida utilizando este modelo está ilustrada a seguir, sendo que os parâmetros com significância estatística ( $p < 0,05$ ) estão destacados em negrito.

$$Y = \mathbf{552,9x_1} + \mathbf{586,2x_2} + \mathbf{546,9x_3} - 4,3x_1x_2 + \mathbf{48,5x_1x_3} + \mathbf{70,4x_2x_3} + \mathbf{869,4x_1x_2x_3} \quad (12)$$

Onde:

$x_1$  = Alginato de sódio;

$x_2$  = Goma xantana;

$x_3$  = Carboximetilcelulose.

Através da análise da equação do modelo especial cúbico ajustado aos resultados experimentais, pode-se perceber apenas uma interação antagonica, sendo esta muito menor do que as interações sinérgicas existentes.

Para confirmar o bom ajuste do modelo estatístico aos dados experimentais deste novo estudo, foram avaliados o valor de  $R^2$  (0,980) juntamente com os dados da análise de variância (ANOVA) (Tabela 9).

Tabela 9 – Análise de variância (ANOVA) dos resultados de *overrun* das espumas formadas a partir de soluções contendo caseína e polissacarídeos estabelecidos no segundo planejamento de misturas.

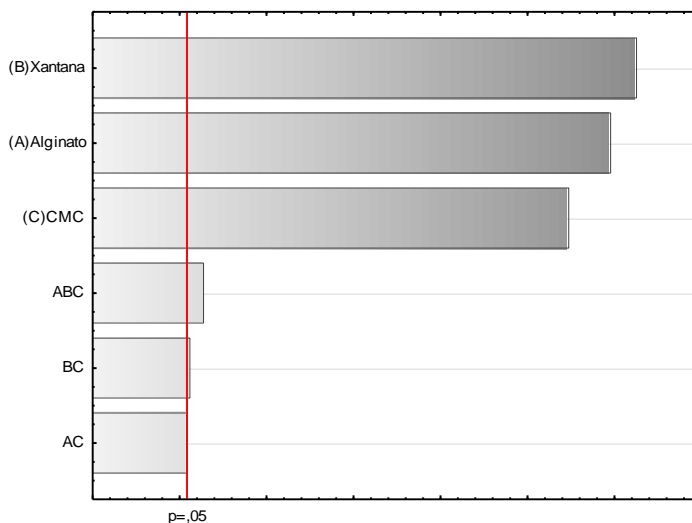
	Soma quadrática	Grau de liberdade	Média quadrática	F	p
<b>Modelo</b>	3751,114	5	750,223	127,861	0,008
<b>Erro total</b>	11,735	2	5,867		
<b>Falta de ajuste</b>	0,788	1	0,788	0,072	0,833
<b>Erro puro</b>	10,947	1	10,947		
<b>Ajuste total</b>	3762,849	7	537,550		

Fonte: Próprio autor (2018).

Para este novo planejamento, o ajuste do modelo estatístico aos dados experimentais foi muito maior do que para o planejamento anterior, pois através da avaliação da tabela ANOVA pode-se avaliar o valor de F calculado (127,86) como sendo muito maior do que o valor de F tabelado (19,30), indicando o excelente ajuste do modelo aos dados experimentais. Para este estudo, a falta de ajuste também não apresentou significância estatística ( $p > 0,05$ ).

Como pode ser observado no gráfico de pareto contendo apenas os elementos significativos ( $p < 0,05$ ) (Figura 21), novamente a goma xantana foi o componente da mistura que apresentou maior significância no valor de *overrun* máximo.

Figura 21 – Gráfico de pareto do estudo de *overrun* das espumas produzidas a partir das soluções de caseína e polissacarídeos estabelecidas no segundo planejamento de misturas.

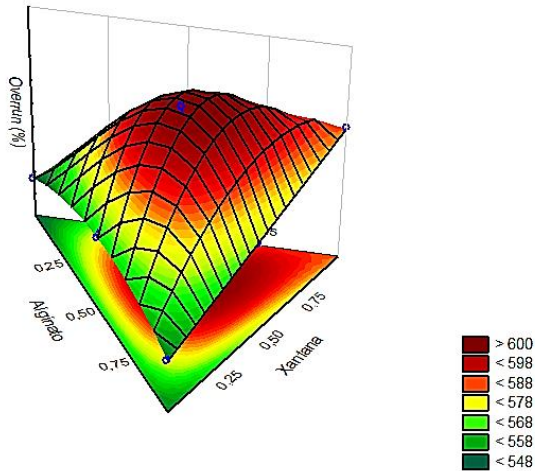


Fonte: Próprio autor (2018).

Através da avaliação do gráfico de pareto para o estudo de *overrun* utilizando a goma xantana como componente da mistura presente na maior proporção, pode-se afirmar que este polissacarídeo é o que apresenta maior significância nos resultados de *overrun* obtidos.

O gráfico de superfície de resposta contendo os elementos significativos (Figura 22) obtido a partir dos dados experimentais possibilita a visualização de um ponto de máximo no próximo ao ponto central do planejamento deslocando-se para regiões em que a goma xantana encontra-se em maiores proporções, correspondendo a solução contendo 1 % de caseína e 0,4 % de polissacarídeos nas proporções de 0,117 de alginato de sódio, 0,817 de goma xantana e 0,067 de carboximetilcelulose.

Figura 22 – Gráfico de superfície de resposta para o estudo de *overrun* das espumas formadas a partir de soluções contendo caseína e polissacarídeos estabelecidos no segundo planejamento de misturas.



Fonte: Próprio autor (2018).

Assim como no estudo do *overrun*, devido à grande influência da goma xantana no tempo de meia-vida das espumas formadas, o planejamento utilizando este polissacarídeo em maior proporção (Tabela 10) também foi executado.

Tabela 10 – Resultados do estudo de tempo de meia-vida das espumas formadas a partir de soluções contendo caseína e polissacarídeos estabelecidos no segundo planejamento de misturas.

x <sub>1</sub>	x <sub>2</sub>	x <sub>3</sub>	Concentração de alginato de sódio (%)	Concentração de goma xantana (%)	Concentração de carboximetilcelulose (%)	Meia-vida (min)	RD (%)
0,100	0,850	0,050	0,040	0,340	0,020	495	50,2
0,150	0,800	0,050	0,060	0,320	0,020	470	49,7
0,100	0,800	0,100	0,040	0,320	0,040	460	49,9
0,125	0,825	0,050	0,050	0,330	0,020	495	49,2
0,100	0,825	0,075	0,040	0,330	0,030	490	49,7
0,125	0,800	0,075	0,050	0,320	0,030	520	49,7
0,117	0,817	0,067	0,047	0,327	0,027	500	50,4
0,117	0,817	0,067	0,047	0,327	0,027	485	50,6

Fonte: Próprio autor (2018).

Ao analisarmos os resultados obtidos, é possível observar uma menor variação nos tempos de meia-vida das espumas elaboradas neste planejamento quando comparados ao planejamento anterior. Este comportamento pode estar associado a o efeito estabilizante da goma xantana, que neste segundo planejamento, se encontra em maior concentração quando comparada às concentrações dos outros polissacarídeos avaliados.

Este efeito estabilizante da goma xantana pode ser resultado de dois mecanismos sinérgicos. Por um lado, o processo de drenagem líquida é retardado em função da maior viscosidade da goma xantana em relação ao alginato de sódio e a carboximetilcelulose e sua maior proporção na solução. Além disso, em virtude de a caseína encontrar-se com carga líquida negativa ( $\text{pH} > \text{pI}$ ) e a goma xantana ser um polissacarídeo aniônico, ocorre a formação de complexos reversíveis em função das interações eletroestáticas. Estes complexos, mesmo reversíveis, tem implicações nas características de adsorção dos filmes interfaciais, na formação e na estabilidade das espumas (PATINO; PILOSO, 2011).

O modelo matemático que melhor se ajustou aos dados experimentais foi o especial cúbico, com um valor de  $R^2$  de 0,822. A Equação 13 obtida utilizando este modelo está ilustrada a seguir, sendo que os parâmetros com significância estatística ( $p < 0,05$ ) estão destacados em negrito.

$$Y = 473,6x_1 + 502,1x_2 + 463,6x_3 + 50,0x_1x_2 + 205,7x_1x_3 + 50,0x_2x_3 - 273,1x_1x_2x_3 \quad (13)$$

Onde:

- $x_1$  = Alginato de sódio;
- $x_2$  = Goma xantana;
- $x_3$  = Carboximetilcelulose.

De acordo com a equação obtida, todos parâmetros avaliados apresentaram propriedades benéficas ao interesse do estudo, com exceção da interação entre os três componentes da mistura, porém a única interação significativa foi a do alginato de sódio com a carboximetilcelulose. Devido ao fato de que os tempos de meia-vida observados neste estudo não apresentaram grandes diferenças entre si, isto pode ter ocasionado uma menor qualidade do ajuste matemático aos dados experimentais.

Para confirmação do ajuste do modelo matemático aos dados experimentais, foi avaliado o valor de  $R^2$  (0,822) juntamente com os dados da análise de variância (ANOVA) (Tabela 11).

Tabela 11 – Análise de variância (ANOVA) dos resultados de meia-vida das espumas formadas a partir de soluções contendo caseína e polissacarídeos estabelecidos no segundo planejamento de misturas.

	Soma quadrática	Grau de liberdade	Média quadrática	F	P
<b>Modelo</b>	1949,007	3	649,689	6,145	0,056
<b>Erro total</b>	422,868	4	105,717		
<b>Falta de ajuste</b>	310,368	3	103,456		0,626
<b>Erro puro</b>	112,500	1	112,500		
<b>Ajuste total</b>	2371,875	7	182741,429		

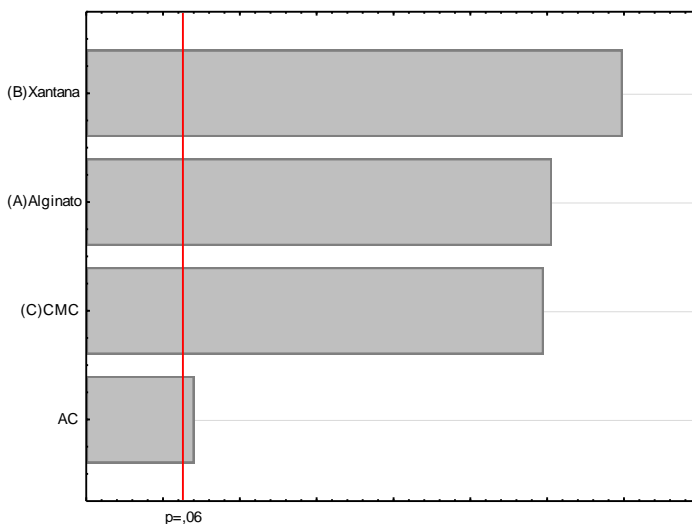
Fonte: Próprio autor (2018).

O bom ajuste do modelo matemático aos dados experimentais é confirmado através da avaliação da tabela de ANOVA pela significância estatística apresentada pelo modelo ( $p < 0,06$ ). A falta de ajuste não apresentou significância estatística ( $p > 0,06$ ).



A análise do gráfico de pareto contendo apenas os elementos significativos ( $p < 0,06$ ) (Figura 23) confirma que a goma xantana permanece o elemento da mistura de maior influência no tempo de meia-vida das espumas formadas.

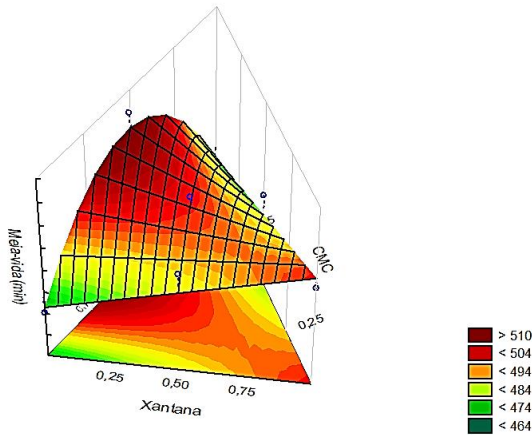
Figura 23 – Gráfico de pareto do estudo de meia-vida das espumas produzidas a partir das soluções de caseína e polissacarídeos estabelecidas no segundo planejamento de misturas.



Fonte: Próprio autor (2018).

Através da análise do gráfico de superfície de resposta contendo os elementos significativos ( $p < 0,06$ ) (Figura 24), é possível observar o ponto central da mistura na região referente a tempos de meia-vida acima de 500 minutos, condizente aos resultados experimentais obtidos neste estudo.

Figura 24 – Gráfico de superfície de resposta para o estudo de meia-vida das espumas formadas a partir de soluções contendo caseína e polissacarídeos estabelecidos no segundo planejamento de misturas.



Fonte: Próprio autor (2018).

Neste trabalho, a caseína foi solubilizada em um pH maior do que seu ponto isoelétrico, apresentando uma maior concentração de cargas negativas em sua estrutura. O caráter aniônico da goma xantana presente em maior proporção na mistura em relação aos outros polissacarídeos não acarretou em uma diminuição da solubilidade destes componentes nem na separação de fase da solução, pois como discutido no item 2.2.2.2 deste trabalho, em baixas concentrações, mesmo com a possível repulsão das moléculas de proteína e polissacarídeos, os componentes apresentam-se co-solúveis. Com isso, tanto a capacidade da caseína de se adsorver na interface líquido-gás facilitando a formação das bolhas de ar quanto a capacidade da goma xantana de aumentar a viscosidade da solução estendendo a estabilidade da espuma formada permaneceram funcionais.

Os resultados obtidos no estudo de *overrun* aliados aos resultados obtidos no estudo de estabilidade das espumas de caseína produzidas tornam possível a escolha da formulação da solução contendo 1 % de caseína e 0,4 % de polissacarídeos nas proporções de 0,117 de alginato de sódio, 0,817 de goma xantana e 0,067 de carboximetilcelulose para os estudos subsequentes.

## 4.3 CARACTERIZAÇÃO DA SOLUÇÃO OTIMIZADA

### 4.3.1 Teor de umidade

O teor de umidade da solução espumante otimizada contendo 1 % de caseína e 0,4 % de polissacarídeos nas proporções de 0,117 de alginato de sódio, 0,817 de goma xantana e 0,067 de carboximetilcelulose foi determinado como sendo  $96,034 \pm 0,007$  % e sua porcentagem de sólidos totais como sendo  $3,966 \pm 0,007$  %.

### 4.3.2 Viscosidade aparente

O aumento da viscosidade da fase líquida dificulta a desestabilização da espuma formada devido ao fenômeno de drenagem líquida (CHEN et al., 2013).

Neste estudo, foram avaliadas as viscosidades de uma solução contendo apenas 1 % de caseína e da solução utilizada para produção das espumas contendo 1 % de caseína com adição de 0,4 % de polissacarídeos nas proporções de 0,117 de alginato de sódio, 0,817 de goma xantana e 0,067 de carboximetilcelulose.

Os resultados obtidos para solução contendo somente 1 % caseína podem ser observados na Tabela 12 enquanto que os resultados obtidos para solução contendo caseína e polissacarídeos estão ilustrados na Tabela 13.

Tabela 12 – Resultados referentes a análise reológica da solução contendo somente 1 % de caseína.

Viscosidade (mPa s)	Velocidade (rpm)	Tensão de cisalhamento (mPa)	Taxa de cisalhamento ( $s^{-1}$ )
$2,145 \pm 0,433$	2,000	$0,032 \pm 0,007$	15,000
$1,507 \pm 0,253$	6,000	$0,068 \pm 0,011$	45,000
$1,349 \pm 0,217$	10,000	$0,101 \pm 0,016$	75,000
$1,292 \pm 0,186$	14,000	$0,136 \pm 0,020$	105,000
$1,277 \pm 0,169$	18,000	$0,172 \pm 0,023$	135,000

Fonte: Próprio autor (2018).

Tabela 13 – Resultados referentes a análise reológica da solução contendo 1 % caseína e 0,4 % de polissacarídeos nas proporções otimizadas pelo segundo planejamento de misturas.

Viscosidade (mPa s)	Velocidade (rpm)	Tensão de cisalhamento (mPa)	Taxa de cisalhamento (s <sup>-1</sup> )
412,534 ± 10,295	2,000	3,168 ± 0,079	7,680
178,360 ± 1,716	6,000	4,109 ± 0,040	23,040
123,517 ± 1,030	10,000	4,743 ± 0,040	38,400
95,680 ± 0,000	14,000	5,144 ± 0,000	53,760
79,810 ± 0,000	18,000	5,516 ± 0,000	69,120

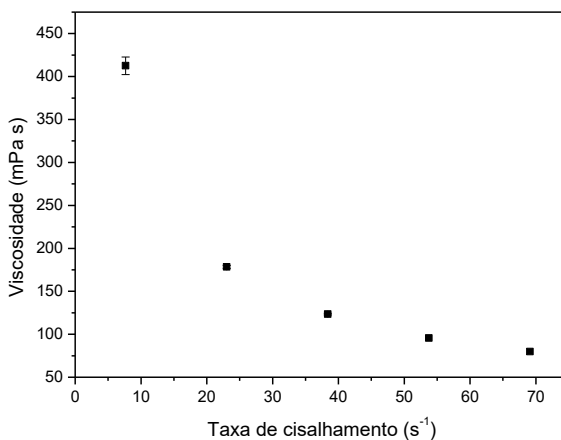
Fonte: Próprio autor (2018).

A presença da goma xantana e dos demais polissacarídeos na solução contendo 1 % de caseína causou um grande aumento no valor da viscosidade em relação a solução contendo apenas caseína. Pode-se observar uma viscosidade maior com baixas taxas de cisalhamento pois estes polissacarídeos formam agregados complexos através de ligações de hidrogênio e conforme a taxa de cisalhamento é aumentada, a viscosidade das soluções tende a diminuir devido ao alinhamento das moléculas dos polissacarídeos na direção do cisalhamento (HEMAR et al., 2001). Este comportamento pode ser melhor observado no gráfico de viscosidade *vs* taxa de cisalhamento (Figura 25) construído a partir dos resultados ilustrados na Tabela 12.

A análise do gráfico de viscosidade *vs* taxa de cisalhamento (Figura 25) juntamente com o gráfico de tensão de cisalhamento *vs* taxa de cisalhamento (Figura 26) construídos a partir dos resultados ilustrados na Tabela 12, ainda possibilita inferir que a solução contendo 1 % de caseína e 0,4 % de polissacarídeos nas proporções de 0,117 de alginato de sódio, 0,817 de goma xantana e 0,067 de carboximetilcelulose trata-se de um fluido não Newtoniano pseudoplástico, visto que a sua viscosidade diminui conforme taxa de cisalhamento aumenta (ÇENGEL; CIMBALA, 2015; SHENOY, 2018).

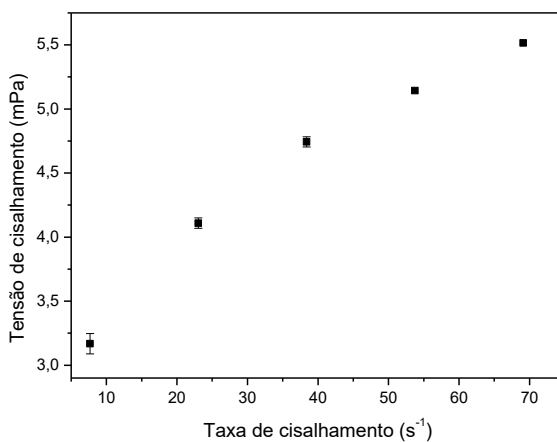
A grande concentração de goma xantana presente nesta solução (0,327 %) justifica o caráter não Newtoniano pseudoplástico observado (SONG; KIM; CHANG, 2006). Isto se deve ao fato das moléculas de goma xantana na solução estarem agregadas através de ligações de hidrogênio e conforme a taxa de cisalhamento aumenta esta agregação diminui fazendo com que o valor da viscosidade também diminua (KATZBAUER, 1998).

Figura 25 – Gráfico de viscosidade vs taxa de cisalhamento da solução espumante otimizada pelo segundo planejamento de misturas.



Fonte: Próprio autor (2018).

Figura 26 – Gráfico de tensão de cisalhamento vs taxa de cisalhamento da solução da solução espumante otimizada pelo segundo planejamento de misturas.



Fonte: Próprio autor (2018).

### 4.3.3 Tensão superficial

Neste trabalho, a adição de 1 % de caseína ao tampão McIlvaine pH 8,0 diminuiu a tensão superficial de  $62,03 \pm 0,93 \text{ mN m}^{-1}$  para  $47,23 \pm 0,30 \text{ mN m}^{-1}$ . Este comportamento é semelhante ao reportado por Saint-Jalmes e colaboradores (2005), onde a tensão superficial do tampão fosfato pH 5,6 utilizada por este autor diminuiu de aproximadamente  $71,0 \text{ mN m}^{-1}$  para aproximadamente  $65,0 \text{ mN m}^{-1}$  após a adição da caseína. A diferença entre as tensões superficiais relatadas neste trabalho e no trabalho de Saint-Jalmes e colaboradores (2005) pode estar associada aos diferentes reagentes utilizados em cada trabalho (soluções tampão e caseínas).

Esta diminuição da tensão superficial ocorre devido ao fato da caseína apresentar características anfifílicas, fazendo com que ela seja capaz de se deslocar para a interface líquido-gás favorecendo a diminuição da tensão superficial.

A adição dos polissacarídeos causou um leve aumento no valor da tensão superficial. Isto pode ser justificado devido as possíveis interações das moléculas de caseína com os polissacarídeos presentes na solução, o que causa um deslocamento destas proteínas da interface líquido-gás para o interior da solução.

Krstonošić e colaboradores (2011) relatam que devido ao fato da goma xantana não se adsorver na interface líquido-gás, as moléculas anfifílicas adsorvidas nesta interface são atraídas para o interior da solução devido às suas interações com este polissacarídeo.

Este fato foi confirmado pois como a goma xantana foi o polissacarídeo adicionado em maior proporção à solução contendo 1 % de caseína, o valor de tensão superficial observado aumentou de  $47,23 \pm 0,30 \text{ mN m}^{-1}$  para  $51,93 \pm 0,45 \text{ mN m}^{-1}$ , valor semelhante ao reportado por outros autores (MIQUELIM; LANNES; MEZZENGA, 2010).

## 4.4 CARACTERIZAÇÃO DA ESPUMA PRODUZIDA A PARTIR DA SOLUÇÃO OTIMIZADA

A espumas produzida a partir da solução otimizada contendo 1 % de caseína e 0,4 % de polissacarídeos nas proporções de 0,117 de alginato de sódio, 0,817 de goma xantana e 0,067 de carboximetilcelulose, que apresentou maior *overrun* (605,1 %) e tempo de meia-vida (485 min) teve sua fração da fase gasosa determinado e também foi caracterizada utilizando a técnica de Microscopia Óptica.

#### 4.4.1 Fração da fase gasosa

O volume da fase líquida após a centrifugação das espumas foi medido e a fração da fase gasosa foi calculada como sendo  $0,883 \pm 0,006$ . Com este resultado, é possível afirmar que a espuma produzida neste trabalho apresenta uma fração gasosa elevada, sendo muito difícil observar o processo de *creaming*, que está relacionado a espumas com frações gasosas menores (AGUILERA; LILLFORD, 2007).

Utilizando a Equação 8, o valor de fração gasosa obtido é muito próximo ao determinado experimentalmente, correspondendo a 0,860, confirmando as características observadas da espuma produzida (LUCK; BRAY; FOGEDING, 2001).

Para corroborar esta afirmação, a técnica de microscopia óptica foi utilizada, na qual as bolhas observadas apresentavam um formato cilíndrico compacto, como já descrito na literatura para espumas com frações gasosas próximas a obtida neste trabalho (KHAN; ARMSTRONG, 1989).

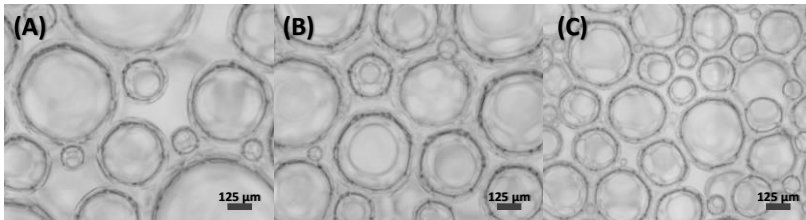
#### 4.4.2 Microscopia Óptica

As imagens das espumas obtidas com uma ampliação de 10x durante diferentes tempos de batimento da solução espumante otimizada contendo 1 % caseína e 0,4 % de polissacarídeos nas proporções de 0,117 de alginato de sódio, 0,817 de goma xantana e 0,067 de carboximetilcelulose (Figura 27) possibilitam a observação de bolhas predominantemente esféricas, conformações presentes em espumas contendo frações líquidas com alta viscosidade como é o caso deste trabalho (FIGUEREDO; RIBEIRO; SABADINI, 1999). Também é observa-se o aumento do número de bolhas de ar presentes no sistema juntamente com a diminuição de seu diâmetro, pois conforme o tempo de batimento aumenta, maior é a incorporação de ar no sistema formando um maior número de bolhas cada vez menores. Resultados semelhantes já foram reportados por Santana (2017), onde também foi possível a observação do aumento do número de bolhas juntamente à diminuição de seu diâmetro conforme o tempo de batimento de claras de ovo frescas, pasteurizadas e desidratadas aumentava.

Nas microscopias da espuma produzida a partir do batimento da solução durante 10 min (*overrun* máximo) e deixada em repouso durante 1 hora, foi possível observar a presença de bolhas com maior diâmetro (Figura 28) em relação às observadas anteriormente

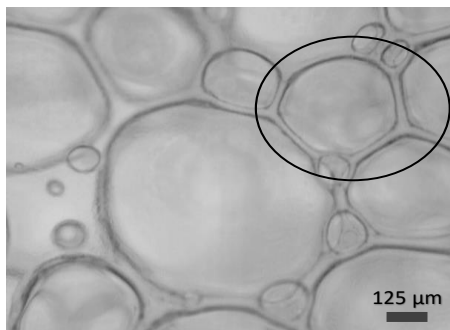
(Figura 27 – (C)). Este aumento no diâmetro das bolhas em função do tempo de repouso está associado aos fenômenos de desestabilização discutidos anteriormente, sendo os principais responsáveis por esta alteração a drenagem líquida, a coalescência e a maturação de Ostwald. A região em destaque na Figura 27 sinaliza um local em que a lamela entre as bolhas é mais fina em relação às demais devido ao fenômeno de drenagem líquida, fazendo com que a distância entre as bolhas diminua, e, devido a este fato, pode-se perceber que as bolhas presentes naquela região modificam seu formato passando de esféricas para poliédricas, como já relatado na literatura (VRIES, 1958; SANTANA, 2017).

Figura 27 – Imagens de Microscopia Óptica com uma ampliação de 10x das espumas produzidas a partir da solução espumante otimizada pelo segundo planejamento de misturas. (A) 3 min de batimento; (B) 5 min de batimento; (C) 10 min de batimento.



Fonte: Próprio autor (2018).

Figura 28 – Imagens de Microscopia Óptica com uma ampliação de 10x da espuma produzida a partir da solução espumante otimizada pelo segundo planejamento de misturas batida durante 10 min e deixada em repouso durante 1 hora.



Fonte: Próprio autor (2018).



## 4.5 ESPUMA ESTRUTURADA

Uma etapa muito importante que antecede o processo de liofilização é o congelamento do produto a ser liofilizado. Baixas taxas de congelamento geralmente acarretam na formação de grandes cristais de gelo que podem desestruturar o material a ser congelado razão pela qual são altas taxas de congelamento são recomendadas uma vez que, nestas condições, os cristais de gelo formados são menores, aumentando a porosidade final do material liofilizado (CEBALLOS; GIRALDO; ORREGO, 2012; HARNKARNSUJARIT et al., 2016).

A metodologia empregada no congelamento da amostra utilizando nitrogênio líquido e posterior aplicação de vácuo durante 36 horas à temperatura de  $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$  foi adequada, uma vez que permitiu a formação de espumas estruturadas (embora frágeis) conforme pode ser observado nas imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura. Mesmo com a fragilidade apresentada pelas amostras devido principalmente à baixa concentração de sólidos em sua composição, a formação de uma espuma estruturada foi possível, indicando a possibilidade de sua incorporação em matrizes onde há interesse de obter texturas mais aeradas.

## 4.6 CARACTERIZAÇÃO DA ESPUMA OTIMIZADA ESTRUTURADA

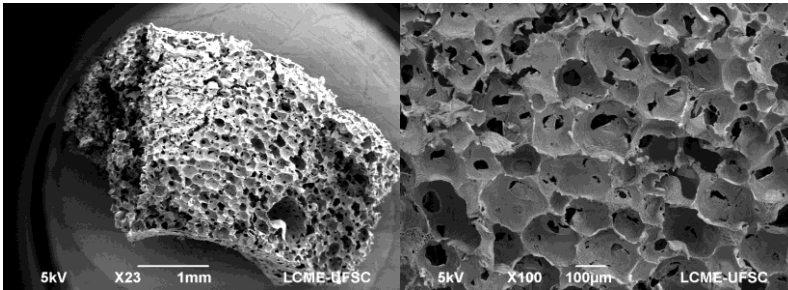
### 4.6.1 Morfologia

Como pode ser observado nas imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (Figura 29), a amostra liofilizada apresenta uma rede de poros esféricos moderadamente homogêneos. A alta porosidade exibida pela amostra deve-se principalmente pela presença das cavidades deixadas pelas bolhas de ar formadas durante a produção da espuma. Após o congelamento da espuma, pequenos cristais de gelo também foram formados e após sua sublimação as cavidades deixadas por eles permaneceram na amostra, contribuindo para porosidade do produto final.

As regiões côncavas observadas correspondem aos locais em que as bolhas de ar recobertas pelo filme interfacial permaneceram durante o congelamento. As regiões do filme interfacial que apresentam pequenas rupturas podem estar associadas ao efeito causado pela sublimação da água durante o processo de liofilização.

Devido à ausência de gradientes de secagem típicos de outras técnicas, a amostra liofilizada não apresentou alterações significativas em sua estrutura como colapso e encolhimento (CARVALHO; PEREZ-PALACIOS, RUIZ-CARRASCAL, 2017).

Figura 29 – Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura das espumas estruturadas por liofilização produzidas partir da solução espumante otimizada pelo segundo planejamento de misturas.

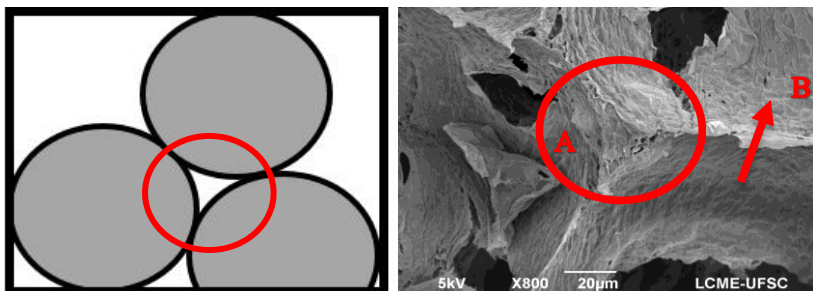


Fonte: Próprio autor (2018).

A estrutura altamente porosa observada com aumento de 100x é semelhante às observadas em outros trabalhos envolvendo liofilizações de espumas de ácido poli-L-láctico (NAM; PARK, 1999) e espumas de carbono (FARHAN et al., 2016).

A região (A) da Figura 30 ilustra a fronteira de Plateau, região característica de espumas, evidenciando a boa preservação do material durante a liofilização. Já a região (B) indica o filme interfacial que recobre as bolhas durante o processo de formação da espuma, como discutido anteriormente.

Figura 30 – Imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura da fronteira de Plateau observada na espuma estruturada por liofilização produzida partir da solução espumante otimizada pelo segundo planejamento de misturas. A região A corresponde a fronteira de Plateau enquanto a região B corresponde ao filme interfacial.

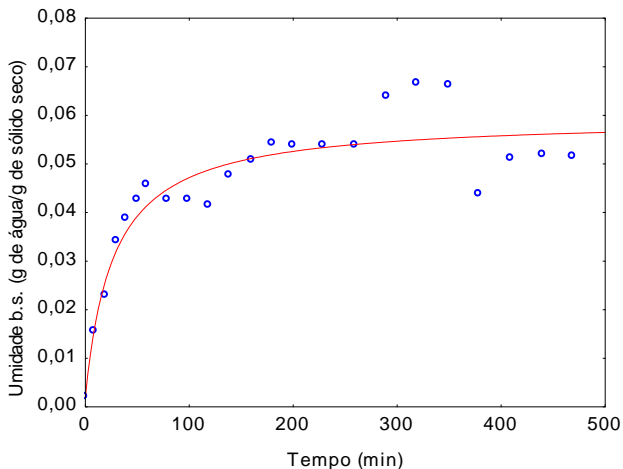


Fonte: Próprio autor (2018).

#### 4.6.2 Cinética de adsorção de umidade

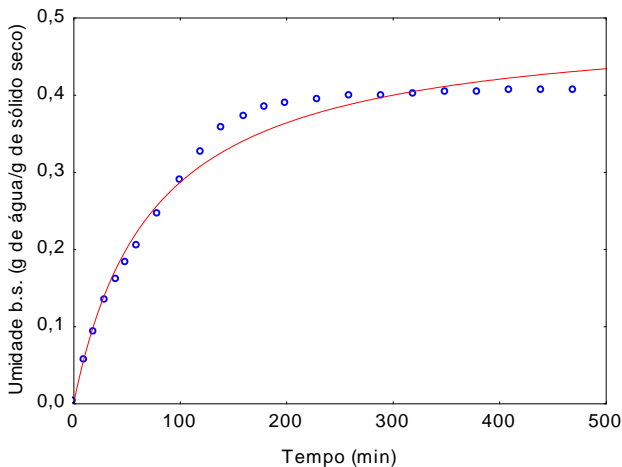
O tempo necessário para que as amostras atingissem o equilíbrio foi de 470 minutos, tanto para as acondicionadas em umidade relativa de 33 % quanto para as acondicionadas em umidade relativa de 80 %. Os gráficos cinéticos de ganho de umidade (base seca) em função do tempo para ambas UR de condicionamento e os respectivos ajustes do modelo de Peleg são apresentados nas Figuras 31 e 32, a seguir.

Figura 31 – Gráfico cinéticos de adsorção de umidade (b.s.) em função do tempo para as espumas estruturadas e condicionadas em umidade relativa de 33 %.



Fonte: Próprio autor (2018).

Figura 32 – Gráfico de U b.s. em função do tempo para as espumas estruturadas e condicionadas em umidade relativa de 80 %.



Fonte: Próprio autor (2018).

Observa-se que para ambas amostras houve um aumento do ganho de umidade em função do tempo em uma taxa elevada, posteriormente tendendo a valores constantes até chegar a valores assintóticos, sendo este considerado o equilíbrio. No ambiente com UR de 80 % a pressão de vapor de água é maior em relação ao ambiente com UR 33 %, resultando em uma maior quantidade de umidade adsorvida pela espuma liofilizada no ambiente com maior umidade relativa. A higroscopicidade apresentada pelo material liofilizado deve-se principalmente a dois fatores, a higroscopicidade natural dos componentes da matriz, sendo eles a caseína, o alginato de sódio, a goma xantana e a carboximetilcelulose, e a alta porosidade apresentada pelo produto final, o que faz com que a difusão da água em sua superfície seja facilitada.

O modelo de Peleg se ajustou satisfatoriamente aos dados experimentais para ambas as umidades relativas avaliadas o que foi verificado pelos coeficientes de determinação (33 %:  $R^2 = 0,930$ ; 80 %:  $R^2 = 0,990$ ) e pela análise dos resíduos.

O ajuste do modelo aos dados experimentais permitiu a determinação dos parâmetros  $k_1$  e  $k_2$  para cada umidade relativa de condicionamento estudada. Os inversos dos parâmetros ajustados estão apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 – Parâmetros do modelo de Peleg das amostras de espuma estruturada condicionadas a 33% e 80% de umidade relativa.

UR de condicionamento	Parâmetros do Modelo de Peleg	
	$k_1^{-1}$ ( $\text{gH}_2\text{O gss}^{-1} \text{ min}^{-1}$ )	$k_2^{-1}$ ( $\text{gH}_2\text{O gss}^{-1}$ )
33 %	0,002	0,057
80 %	0,007	0,496

Fonte: Próprio autor (2018).

No modelo de Peleg, o coeficiente  $k_1$  está relacionado à taxa de transferência de massa inicial, sendo seu inverso corresponde à velocidade de adsoção de umidade no início do condicionamento onde a taxa é praticamente constante. Já o coeficiente  $k_2$  está relacionado à quantidade máxima de umidade que o produto pode adsorver, sendo seu inverso correspondente a umidade absorvida pelo produto durante o processo, podendo ser correlacionada à umidade de equilíbrio na

condição de UR avaliada (TURHAN; SAYAR; GUNASEKARAN, 2002; CHECMAREV; CASALES; YEANNES, 2013).

Ao avaliarmos os valores de  $k_1^{-1}$  e  $k_2^{-1}$  obtidos neste estudo, pode-se concluir que quando acondicionadas em um ambiente com umidade relativa de 80 %, as espumas liofilizadas apresentaram uma maior taxa de ganho de umidade e maior umidade de equilíbrio comparadas as espumas acondicionadas em um ambiente com umidade relativa de 33 %. Este comportamento já foi observado por outros autores avaliaram produtos desidratados higroscópicos. As diferenças no que se refere às taxas de ganho de umidade estão relacionadas a que em ambientes com maior umidade relativa (maior pressão de vapor), o gradiente de umidade entre a amostra e o ambiente é maior o que leva a uma maior velocidade de transferência de massa.

Santana (2017) avaliou as cinéticas de adsorção de umidade de flocos de milho condicionados em ambientes com diferentes UR e ajustou o modelo de Peleg aos dados experimentais reportando valores de taxa ( $k^{-1}$ ) entre 0,0001 e 0,0003 g de água/g ss min para 33 % e 80 % de UR, respectivamente. Embora o comportamento observado neste estudo corrobore com os resultados desta pesquisadora observa-se diferenças na ordem dos valores, sendo as taxas obtidas na avaliação da espuma estruturada aproximadamente 10 vezes maiores que as taxas dos flocos de milho. Este comportamento pode estar associado a alta porosidade da espuma que além de promover uma maior área de transferência de massa, aumenta os fenômenos de capilaridade.

Por outro lado, o aumento da umidade de equilíbrio em função da umidade relativa do ambiente de condicionamento observado nas amostras de espuma estruturada, está associado ao caráter higroscópico do material e é reportado por vários autores que avaliaram a higroscopicidade de materiais desidratados (SALTMARCH; LABUZA, 1980; GIOVANELLI et al., 2002; GOULA et al., 2008; PACHECO et al. 2011).

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

O planejamento de misturas utilizando pseudocomponentes demonstrou-se eficaz para formulação de uma solução contendo caseína e polissacarídeos para formação de uma espuma com alta incorporação do ar (*overrun* máximo de 605,1 %) e estabilidade (tempo de meia-vida de 485 min).

Além do baixo número de experimentos necessários para a otimização da solução contendo caseína e polissacarídeos para produção das espumas, o planejamento de misturas também tornou possível a observação de interações de 2ª ordem entre seus componentes (sinergia).

O aumento da capacidade espumante e a estabilidade da espuma se deve a efeitos sinérgicos entre os polissacarídeos que promovem modificações nos filmes interfaciais.

A capacidade da solução de incorporar ar em sua estrutura se deve à adsorção da caseína na interface líquido-gás fazendo com que a tensão superficial diminua e facilitando a formação das bolhas de ar. Isto foi evidenciado através da medida da tensão superficial antes ( $62,03 \pm 0,93 \text{ mN m}^{-1}$ ) e após a adição de 1 % de caseína ( $47,23 \pm 0,30 \text{ mN m}^{-1}$ ). Apesar da adição dos polissacarídeos ter elevado a tensão superficial da solução de  $47,23 \pm 0,30 \text{ mN m}^{-1}$  para  $51,93 \pm 0,45 \text{ mN m}^{-1}$ , devido ao fato da caseína estar solubilizada em um pH maior que seu PI e o polissacarídeo em maior concentração na solução ser a goma xantana (polissacarídeo aniônico), as moléculas de goma xantana não atraíram as moléculas de caseína adsorvidas na região interfacial para o interior da solução, não comprometendo a capacidade da caseína de auxiliar na formação das espumas.

O elevado tempo de meia-vida da espuma formada utilizando polissacarídeos deve-se principalmente ao incremento da viscosidade promovido pela goma xantana e os demais polissacarídeos avaliados, o que retardou os processos de desestabilização da espuma associados a drenagem líquida.

A estabilidade da espuma permitiu a produção da espuma estruturada utilizando liofilização com características de alta porosidade.

As espumas estruturadas apresentaram elevadas taxas de adsorção de umidade e umidade de equilíbrio, associadas a higroscopicidade da matriz e a alta porosidade da espuma.

A espuma estruturada produzida utilizando liofilização apresentou estabilidade estrutural e preservação da porosidade, um indicativo de que soluções de caseína e polissacarídeos podem ser

utilizadas na produção de espumas e incorporadas em diferentes produtos onde há interesse de obter texturas mais aeradas.

O presente trabalho possibilita a elaboração de novos estudos com foco na aplicação de espumas de caseína e polissacarídeos em produtos inovadores. Esta espuma apresenta potencial aplicação tanto em sua forma não estruturada, em musses e iogurtes, quanto em sua forma estruturada, em *snacks* ou sobremesas. Além disso, o aumento de sólidos na composição desta espuma pode auxiliar em sua estruturação, resultando em um produto mais resistente e com maior crocância.



## REFERÊNCIAS

AGUILERA, J. M.; LILLFORD, P. J. **Food Materials Science: Principles and Practice**. Springer Science & Business Media, 2007. 616 p.

AHMED, M.; DICKINSON, E. Foaming of aqueous solutions of protein + propylene glycol alginate. **Food Hydrocolloids**, v. 4, n. 5, p. 395-402, 1991.

ALLEN, J. P. **Biophysical Chemistry**. John Wiley & Sons, 2009. 512 p.

ALVAREZ-HIDALGO, R. **Structure and Functional Properties of Colloidal Systems**. CRC Press, 2009. 518 p.

ATKINS, P. W.; JONES, L. **Princípios de Química: Questionando a Vida Moderna e o Meio Ambiente - 5ª Ed**. Bookman Editora, 2009. 1048 p.

BELITZ, H. D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. **Food Chemistry**. Springer Science & Business Media, 2009. 1070 p.

BeMILLER, J. N.; WHISTLER, R. L. **Industrial Gums, Third Edition: Polysaccharides and Their Derivatives**. Academic Press, 1993. 642 p.

BERK, Z. **Food Process Engineering and Technology**. Academic Press, 2013. 720 p.

BHAT, M. Y.; DAR, T. A.; SINGH, L. R. Milk Proteins - From Structure to Biological Properties and Health Aspects - Casein Proteins: Structural and Functional Aspects. **InTech**, 2016.

BIASUTTI, E. A. R.; VIEIRA, C. R.; CAPOBIANGO, M.; SILVA, V. D. M.; SILVESTRE, M. P. C. Study of Some Functional Properties of Casein: Effect of pH and Tryptic Hydrolysis. **International Journal of Food Properties**. v. 10, n. 1, p. 173-183, 2007.

BOLAND, M.; SINGH, H.; THOMPSON, A. **Milk Proteins: From Expression to Food**. Academic Press, 2009. 622 p.

- BRICEÑO-AHUMADA, Z.; LANGEVIN, D. On the influence of surfactant on the coarsening of aqueous foams. **Advances in Colloid and Interface Science**. v. 244, p. 124-131, 2017.
- BURDOCK, G. A. **Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients, Fourth Edition**. CRC Press, 2001. 1864 p.
- CAMPBELL, G. M.; MOUGEOT, E. Creation and characterisation of aerated food products. **Trends in Food Science & Technology**. v. 10, n. 9, p. 283-296, 1999.
- CAMPBELL-PLATT, G. Ciência e Tecnologia de Alimentos. **Editora Manole**, 2015. 548 p.
- CARDOSO, S.; RUBENSAM, J. M. **Elaboração e Avaliação de Projetos para Agroindústrias**. Ed. da UFRGS, 2011. 64 p.
- CARVALHO, M. J; PEREZ-PALACIOS, T.; RUIZ-CARRASCAL, J. Physico-chemical and sensory characteristics of freeze-dried and air-dehydrated yogurt foam. **Food Science and Technology**. v. 80, p. 328-334, 2017.
- CEBALLOS, A. M.; GIRALDO, G. I.; ORREGO, C. E. Effect of freezing rate on quality parameters of freeze dried soursop fruit pulp. **Journal of Food Engineering**. v. 111, n. 2, p. 360-365, 2012.
- ÇENGEL, Y. A.; CIMBALA, J. M. **Mecânica dos fluidos: Fundamentos e aplicações. 3 Ed.** AMGH Editora, 2015. 1016 p.
- CHECMAREV, G.; CASALES, M. R.; YEANNES, M. I. Analysis of applicability of Peleg Model to the cooking-infusion of mackerel (*Scomber japonicus*) slices. **Food Science and Technology**. v. 33, n. 4, p. 685-689, 2013.
- CHEFTEL, J. C.; CUQ, J. L.; LORIENT, D. **Proteínas alimentarias**. Acribia, 1989. 346 p.
- CHEN, S.; HOU, Q.; ZHU, Y.; WANG, D.; LI, W. On the Origin of Foam Stability: Understanding From Viscoelasticity of Foaming Solutions and Liquid Films. **Journal of Dispersion Science and Technology**. v. 35, n. 9, p. 1214-1221, 2013.

CHOBERT, J. BERTRAND-HARB, C.; NICOLAS, M. Solubility and Emulsifying Properties of Caseins and Whey Proteins Modified Enzymatically by Trypsin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 36, n. 5, p. 883-892, 1988.

CORNELL, J. A. **Experiments with Mixtures: Designs, Models, and the Analysis of Mixture Data. 3rd Edition.** John Wiley & Sons, 2002. 680 p.

COSCIONE, A. R.; ANDRADE, J. C.; MAY, G. M. Statistical modeling of mixtures: a tutorial experiment using anodic stripping voltammetry. **Química Nova**. v. 28, n. 6, p. 1116-1122, 2005.

CREAMER, L. K.; PLOWMAN, J. E.; SMITH, M. H.; HILL, J. P. Micelle stability: kappa-casein structure and function. **Journal of Dairy Science**. v. 81, n. 11, p. 3004-3012, 1998.

DALGLEISH, D. G. On the structural models of bovine casein micelles—review and possible improvements. **Soft Matter**. v. 7, n. 6, p. 2265-2272, 2011.

DALGLEISH, D. G.; SPAGNUOLO, P. A.; GOFF, H. D. A possible structure of the casein micelle based on high-resolution field-emission scanning electron microscopy. **International Dairy Journal**. v. 14, n. 12, p. 1025-1031, 2004.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema.** Tradução da 4ª ed. Artmed, 2010. 900 p.

DICKINSON, E. Food emulsions and foams: Stabilization by particles. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**. v. 15, n. 1-2, p. 40-49, 2010.

DICKINSON, E. **Food Polymers, Gels and Colloids.** Elsevier, 1991. 588 p.

DICKINSON, E. Stability and rheological implications of electrostatic milk protein-polysaccharide interactions. **Trends in Food Science & Technology**. Technol. v. 9, n. 10, p. 347-354, 1998.

DICKINSON, E.; GALAZKA, V. B. Emulsion stabilization by ionic and covalent complexes of  $\beta$ -lactoglobulin with polysaccharides. **Food Hydrocolloids**. v. 5, n. 3, p. 281-296, 1991.

DICKINSON, E.; IZGI, E. Foam stabilization by protein-polysaccharide complexes. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. v. 113, n. 1-2, p. 191-201, 1996.

DICKINSON, E.; Structure formation in casein-based gels, foams, and emulsions, **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. v. 288, n. 1-3, pg. 3-11, 2006.

DUARTE, A. J.; CARREIRA, R. L.; JUNQUEIRA, R. G.; COELHO, J. V.; SILVESTRE, M. P. C. Propriedades Emulsionantes e Solubilidade da Caseína Bovina: 2. Efeito da Adição de NaCl. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 18, n. 3, 1998.

DUARTE, A. J.; CARREIRA, R. L.; JUNQUEIRA, R. G.; COELHO, J. V.; SILVESTRE, M. P. C. Propriedades Emulsificantes e Solubilidade da Caseína Bovina e de Seus Hidrolisados Trípticos: 1. Efeito do pH e do tempo de hidrólise. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 18, n. 3, p. 295-302, 1998.

ELLIS, A. L.; NORTON, A. B.; NORTON, I. T. Stabilisation of foams by agar gel particles. **Food Hydrocolloids**. v. 73, p. 222-228, 2017.

ESKIN, M.; **Bioquímica de alimentos**. Tradução da 3<sup>a</sup> ed. Elsevier Brasil, 2015. 536 p.

EXCHANGE, Thermal. **Lauda Ring/Plate-Tensiometer TD1C**. Disponível em:

<<http://www.thermalexchange.co.uk/product/ringplate-tensiometer-td1c/>>. Acesso em: 05 maio 2017.

FÆRGEMAND, M.; OTTE, J.; QVIST, K. B. Enzymatic cross-linking of whey proteins by a  $\text{Ca}^{2+}$ -independent microbial transglutaminase from *Streptomyces lydicus*. **Food Hydrocolloids**. v. 11, n. 1, p. 19-25, 1997.

FARHAN, S.; WANG, R.; JIANG, H.; LI, K.; WANG, C. A novel combination of simple foaming and freeze-drying processes for making carbon foam containing multiwalled carbon nanotubes. **Ceramics International**. v. 42, n. 7, p. 8980-8989, 2016.

FELLOWS, P. J. **Food Processing Technology: Principles and Practice, Second Edition**. CRC Press, 2000. 608 p.

FENNEMA, O. R. **Food Chemistry, Third Edition**. CRC Press, 1996. 1088 p.

FIGUEREDO, C. R.; RIBEIRO, F. A. L.; SABADINI, E. Ciência de espumas - aplicação na extinção de incêndios. **Química Nova**. v. 22, n. 1, 1999.

FOEGEDING, E. A.; LUCK, P. J.; DAVIS, J. P. Factors determining the physical properties of protein foams. **Food Hydrocolloids**., v. 20, n. 2-3, p. 284-292, 2006.

FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H. **Advanced Dairy Chemistry: Volume 1: Proteins, PARTS A&B Third Edition**. Springer, 2003. 1349 p.

FOX, P. F.; UNIACKE-LOWE, T.; McSWEENEY, P. L. H.; O'MAHONY, J. A. **Dairy Chemistry and Biochemistry - Second Edition**. Springer, 2015. 584 p.

FREITAS, J. B.; REVILLION, J. P. P. **Agronegócio Do Leite Em PÓ Integral: Setor produtivo no Brasil e no mundo**. Clube de Autores, 2014. 100 p.

FUERSTENAU, M. C.; HAN, K. N. **Principles of Mineral Processing**. Society for Mining, Metallurgy, and Exploration, 2003. 573 p.

FUQUAY, J. W.; FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H. **Encyclopedia of Dairy Sciences, 2nd. Edition**. Academic Press, 2011. 4170 p.

GARCÍA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; CASAS, J. A.; GÓMEZ, E. Xanthan gum: production, recovery, and properties. **Biotechnology Advances**. v. 18, n. 7, p. 549-579, 2000.

GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B.; FRIAS, J. R. G. **Tecnologia de Alimentos: Princípios e Aplicações**. NBL Editora, 2009. 511 p.

GHANNAM, M. T.; ESMAIL, M. N. Rheological properties of carboxymethyl cellulose. **Journal of Applied Polymer Science**. v. 64, n. 2, p. 289-301, 1997.

GIOVANELLI, G.; ZANONI, B.; LAVELLI V.; NANI, R. Water sorption, drying and antioxidant properties of dried tomato products. **Journal of Food Engineering**. v. 52, n. 2, p. 135-141, 2002.

GOULA, A. M.; KARAPANTSIOS, T. D.; ACHILIAS, D. S.; ADAMOPOULOS, K. G. Water sorption isotherms and glass transition temperature of spray dried tomato pulp. **Journal of Food Engineering**. v. 85, n. 1, p. 73-83, 2008.

GRAHAM, D. E.; PHILLIPS, M. C. Proteins at liquid interfaces: I. Kinetics of adsorption and surface denaturation. **Journal of Colloid and Interface Science**. v. 70, n. 3, p. 403-414, 1979.

HAILING, P. J.; WALSTRA, P. Protein - stabilized foams and emulsions. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. v. 15, n. 2, p. 155-203, 1981.

HARNKARNSUJARIT, N.; KAWAI, K.; WATANABE, M.; SUZUKI, T. Effects of freezing on microstructure and rehydration properties of freeze-dried soybean curd. **Journal of Food Engineering**. v. 184, p. 10-20, 2016.

HARTEL, R. W.; HELDMAN, D. R. **Principles of Food Processing**. Springer Science & Business Media, 2012. 288 p.

HEMAR, Y.; TAMEHANA, M.; MUNRO, P. A.; SINGH, H. Viscosity, microstructure and phase behavior of aqueous mixtures of commercial milk protein products and xanthan gum. **Food Hydrocolloids**. v. 5, n. 4-6, p. 565-574, 2001.

HUA, T.; LIU, B.; ZHANG, H. **Freeze-drying of pharmaceutical and food products**. Elsevier, 2010. 280 p.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p. Primeira edição digital.

JIMENEZ-JUNCA, C.; SHER, A.; GUMY, J.; NIRANJAN, K.; Production of milk foams by steam injection: The effects of steam pressure and nozzle design, **Journal of Food Engineering**. v. 166, p. 247-254, 2015.

KATZBAUER, B. Properties and applications of xanthan gum. **Polymer Degradation and Stability**. v. 59, n. 1-3, p. 81-84, 1998.

KHAN, S. A.; ARMSTRONG, R. C. Rheology of Foams IV. Effects of Gas Volume Fraction. **Journal of Rheology**. v. 33, p. 881-911, 1989.

KOCZÓ, K.; RÁCZ, G. Foaming properties of surfactant solutions. **Colloids and Surfaces**. v. 56, p. 59-82, 1991.

KRONBERG, B.; HOLMBERG, K.; LINDMAN, B. **Surface Chemistry of Surfactants and Polymers**. John Wiley & Sons, 2014. 492 p.

KRSTONOŠIĆ, V.; DOKIĆ, L.; MILANOVIĆ, J. Micellar properties of OSA starch and interaction with xanthan gum in aqueous solution. **Food Hydrocolloids**. v. 25, n. 3, p. 361-367, 2011.

LENCINA, M. M. S.; MICONI, E. F.; LEYES, M. D. F.; DOMÍNGUEZ, C.; CUENCA, E.; RITACCO, H. A. Effect of surfactant concentration on the responsiveness of a thermoresponsive copolymer/surfactant mixture with potential application on “Smart” foams formulations. **Journal of Colloid and Interface Science**. v. 512, p. 455-465, 2018.

LENIGER, H. A.; BEVERLOO, W. A. **Food Process Engineering**. Spring Science & Business Media, 2012. 552 p.

- LI, M.; AUTY, M. A. E.; O'MAHONY, J. A.; KELLY, A. L.; BRODKORB, A. Covalent labelling of  $\beta$ -casein and its effect on the microstructure and physico-chemical properties of emulsions stabilized by  $\beta$ -casein and whey protein isolate. **Food Hydrocolloids**. v. 61, p. 504-513, 2016.
- LIU, L.; ZHAO, Q.; LIU, T.; LONG, Z.; KONG, J.; ZHAO, M. Sodium caseinate/xanthan gum interactions in aqueous solution: Effect on protein adsorption at the oil–water interface. **Food Hydrocolloids**. v. 26, n. 2, p. 339-346, 2012.
- LUCK, P. J.; BRAY, N.; FOEGEDING, E. A. Factors Determining Yield Stress and Overrun of Whey Protein Foams. **Journal of Food Science**. v. 67, n. 5, p. 1677-1681, 2001.
- MARTÍNEZ-PADILLA, L. P.; GARCÍA-MEA, V.; CASAS-ALENCÁSTER, N. B.; SOSA-HERRERA, M. G. Foaming properties of skim milk powder fortified with proteins. **International Dairy Journal**. v. 36, p. 21-28, 2014.
- MARTÍNEZ-PADILLA, L. P.; GARCÍA-RIVERA, J. L.; ROMERO-ARREOLA, V.; CASAS-ALENCÁSTER, N. B. Effects of xanthan gum rheology on the foaming properties of whey protein concentrate. **Journal of Food Engineering**. v. 156, p. 22-30, 2015.
- MATRINGE, E.; LUU, R. P. T.; LORIENT, D. Functional Properties of Milk-Egg Mixtures. **Journal of Food Science**. v. 64, n. 5, p. 787-791, 1999.
- McSWEENEY, P. L. H.; FOX, P. F. **Advanced Dairy Chemistry - Volume 1A: Proteins: Basic Aspects, 4th. Edition**. Springer Science & Business Media, 2013. 548 p.
- MIQUELIM, J. N.; LANNES, S. C. S.; MEZZENGA, R. pH Influence on the stability of foams with protein-polysaccharide complexes at their interfaces. **Food Hydrocolloids**. v. 24, n. 4, p. 398-405, 2010.
- MITTAL, K. L.; KUMAR, P. **Emulsions, Foams, and Thin Films**. CRC Press, 2000. 520 p.



- MORITA, T.; ASSUMPÇÃO, R. M. V. **Manual de Soluções, Reagentes e Solventes, 2ª Ed.** Editora Blucher, 2007. 754 p.
- MORR, C. V. Effect of Oxalate and Urea upon Ultracentrifugation Properties of Raw and Heated Skimmilk Casein Micelles. **Journal of Dairy Science.** v. 50, n. 1, p. 1744-1751, 1967.
- MORRIS, V.; GROVES, K. **Food Microstructures: Microscopy, measurement and modelling.** Elsevier, 2013. 473 p.
- MÜLLER, J. M.; SANTOS, R. L. S.; BRIGIDO, R. V. Alginate production by microorganisms. **Polímeros.** v. 1, n. 4, p. 305-310, 2011.
- NAM, Y. S.; PARK, T. G. Biodegradable polymeric microcellular foams by modified thermally induced phase separation method. **Biomaterials.** v. 20, n. 19, p. 1783-1790, 1999.
- NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer Experimentos - 4ª Ed.** Bookman Editora, 2010. 414 p.
- NGUYEN, A. V. Liquid Drainage in Single Plateau Borders of Foam. **Journal of Colloid and Interface Science.** v. 249, p. 194-199, 2002.
- NIKZADE, V.; TEHRANI, M. M.; SAADATMAND-TARZJAN, M. Optimization of low-cholesterol-low-fat mayonnaise formulation: Effect of using soy milk and some stabilizer by a mixture design approach. **Food Hydrocolloids.** v. 28, n. 2, p. 344-352, 2012.
- NOLLET, L. M. **Handbook of Food Analysis: Physical characterization and nutrient analysis, Volume 1.** CRC Press, 2004. 2226 p.
- OETTERER, M.; D'ARCE, M. A. B. R.; SPOTO, M. **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos.** Editora Manole Ltda., 2006. 612 p.
- PACHECO, A. C. W.; LUZ, G. R.; POLON, P; E; JORGE, L. M. M.; PARAÍSO, P; R. Modeling of Drying and Adsorption Isotherms of the Fish Feed. **Brazilian Archives of Biology and Technology.** v. 54, n. 3, p. 577-588, 2011.

PALMQUIST, D. L. Great discoveries of milk for a healthy diet and a healthy life. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 39, 2010.

PARVAR, M. B.; THERANI, M. M.; RAZAVI, S. M. A.; KOOCHEKI, A. Application of simplex-centroid mixture design to optimize stabilizer combinations for ice cream manufacture. **Journal of Food Science and Technology**. v. 52, n. 3, p. 1480-1488, 2015.

PATINO, J. M. R.; PILOSOF, A. M. R. Protein-polysaccharide interactions at fluid interfaces. **Food Hydrocolloids**. v. 25, n. 8, p. 1925-1937, 2011.

PELEG, M. An Empirical Model for the Description of Moisture Sorption Curves. **Journal of Food Science**. v. 53, n. 4, p. 1216-1217, 1988.

PERNELL, C. W.; FOEGEDING, E. A.; LUCK, P. J.; DAVIS, J. P. Properties of whey and egg white protein foams. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. v. 204, p. 9-21, 2002.

PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A. **Handbook of Hydrocolloids, Second Edition**. Woodhead Publishing, 2009. 948 p.

PHILLIPS, L. G.; GERMAN, B.; O'NEILL, T. E.; FOEGEDING, E. A.; HARWALKAR, V. R.; KILARA, A.; LEWIS, B. A.; MANGINO, M. E.; MORR, C. V.; REGENSTEIN, J. M.; SMITH, D. M.; KINSELLA, J. E. Standardized Procedure for Measuring Foaming Properties of Three Proteins, A Collaborative Study. **Journal of Food Science**. v. 55, n. 5, p. 1441-1444, 1990.

PHILLIPS, L. G.; HAQUE, Z.; KINSELLA, J. E. A Method for the Measurement of Foam Formation and Stability. **Journal of Food Science**. v. 52, n. 4, p. 1074-1077, 1987.

PRINCEN, H. M.; KISS, A. D. Rheology of foams and highly concentrated emulsions: IV. An experimental study of the shear viscosity and yield stress of concentrated emulsions. **Journal of Colloid and Interface Science**. v. 128, n. 1, p. 176-187, 1989.

PRUD'HOMME, R. K.; **Foams: Theory, Measurements, and Applications**. CRC Press, 1995. 610 p.

QIAN, S.; CHEN, J. J. J.; Effect of liquid fraction and bubble size distribution on the polarised light scattering characteristics of Casein foam. **Chemical Engineering Science**. v. 122, p. 250-269, 2015.

RANADHEERA, C. S.; LIYANAARACHCHI, W. S.; CHANDRAPALA, J.; DISSANAYAKE, M.; VASILJEVIC, T. Utilizing unique properties of caseins and the casein micelle for delivery of sensitive food ingredients and bioactives. **Trends in Food Science and Technology**. v. 57, p. 178-187, 2016.

RATTI, C. **Advances in Food Dehydration**. CRC Press, 2008. 467 p.

RATTI, C. Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review. **Journal of Food Engineering**. v. 49, n. 4, p. 311-319, 2001.

RATTI, C.; KUDRA, T. Drying of Foamed Biological Materials: Opportunities and Challenges. **Drying Technology**. v. 24, n. 9, p. 1101-1108, 2006.

RENPU, W. **ENGENHARIA DE COMPLETAÇÃO DE POÇOS - TRADUÇÃO DA 3ª EDIÇÃO**. Elsevier Brasil, 2015. 744 p.

SAINT-JALMES, A.; PEUGEOT, M. L.; FERRAZ, H.; LANGEVIN, D. Differences between protein and surfactant foams: Microscopic properties, stability and coarsening. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. v. 263, n. 1-3, p. 219-225, 2005.

SALTMARCH, M.; LABUZA, T. P. Influence of relative humidity on the physicochemical state of lactose in spray-dried sweet whey powders. **Journal of Food Science**. v. 45, n. 5, p. 1231-1236, 1980.

SANTANA, F. C. O. **Caracterização, capacidade espumante e estabilidade de espumas de claras de ovos frescas, pasteurizadas e desidratadas**. 2017. 194 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)-Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

SARKER, D. K.; WILDE, P. J. Restoration of protein foam stability through electrostatic propylene glycol alginate-mediated protein-protein interactions. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 15, n. 3-4, p. 203-213, 1999.

SARKER, D. K.; WILDE, P. J.; CLARK, D. C. Enhancement of Protein Foam Stability by Formation of Wheat Arabinoxylan-Protein Crosslinks. **Cereal Chemistry**. v. 75, n. 4, p. 493-499, 1998.

SCHRAMM, L. L. **Emulsions, Foams, and Suspensions: Fundamentals and Applications**. John Wiley & Sons, 2006. 463 p.

SGARBIERI, V. C. **PROTEÍNAS EM ALIMENTOS PROTÉICOS: Propriedades – Degradações – Modificações**. Varela, 1996. 517 p.

SGARBIERI, V. C. Revisão: Propriedades Estruturais e Físico-Químicas das Proteínas do Leite. **Brazilian Journal of Food Technology**. v. 8, n.1, p. 43-65, 2005.

SHARMA, B. R.; NARESH, L.; DHULDHOYA, N. C.; MERCHANT, S. U.; MERCHANT, U. C. Xanthan Gum - A boon to Food Industry. **Food Promotion Chronicle**. v. 1, n. 5, p. 27-30, 2006.

SHENOY, A. **Heat Transfer to Non-Newtonian Fluids: Fundamentals and Analytical Expressions 1st Edition**. John Wiley & Sons, 2018. 312 p.

SINGH, H.; FOX, P.F.; CUDDIGAN, M. Emulsifying properties of protein fractions prepared from heated milk. **Food Chemistry**. v. 47, n. 1, p. 1-6, 1993.

**Sodium Alginate**. Disponível em:

<<http://2015.igem.org/Team:Oxford/Chemicals>>. Acesso em: 06 novembro 2017.

**Sodium carboxymethyl cellulose**. Disponível em:

<<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/sodiumcarboxymethylcellulose12345900432411?lang=pt&region=BR>>. Acesso em: 06 novembro 2017

SONG, K.; KIM, Y.; CHANG, G. Rheology of Concentrated Xanthan Gum Solutions: Steady Shear Flow Behavior. **Fibers and Polymers**. v. 7, n. 2, p. 129-138, 2006.

SOUZA, J. S. I.; PEIXOTO, A. M.; TOLEDO, F. F.; **Enciclopédia agrícola brasileira: C-D**, EdUSP, 1995. 608 p.

TEIXEIRA, P. I. C.; FORTES, M. A. Energy and tension of films and Plateau borders in a foam. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. v. 309, n. 1-3, p. 3-6, 2006.

TURHAN, M.; SAYAR, S.; GUNASEKARAN, S. Application of Peleg model to study water absorption in chickpea during soaking. **Journal of Food Engineering**. v. 53, p. 153-159, 2002.

VALDERRAMA-MALDONADO, J; MARTÍN-RODRIGUEZ, A.; GÁLVEZ-RUIZ, M.; LAGEVIN, D.; CABRERIZO-VÍLCHEZ, M. Foams and emulsions of  $\beta$ -casein examined by interfacial rheology. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. v. 323, n. 1-3, p. 116-122, 2008.

VARSHNEY, D.; SINGH, M. **Lyophilized Biologics and Vaccines: Modality-Based Approaches**. Springer, 2015. 401 p.

VENKATESAN, J.; SUKUMARAN, A.; KIM, S. **Seaweed Polysaccharides: Isolation, Biological and Biomedical Applications**. Elsevier, 2017. 408 p.

VRIES, A. J. Foam stability,. Part I. Structure and stability of foams. **Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas**. v. 77, n. 1, p. 81-91, 1958.

WAUGH, D. F.; NOBLE, R. W. Casein Micelles. Formation and Structure II. **Journal of the American Chemical Society**. v. 87, n. 10, p. 2246-2257, 1965.

WILSON, A. J. **Foams: Physics, Chemistry and Structure**. Springer Science & Business Media, 2013. 233 p.

WOHLT, J. E.; SNIFFE, C. J.; HOOVER, W. H. Measurement of Protein Solubility in Common Feedstuffs. **Journal of Dairy Science**. v. 56, n. 8, p. 1052-1057, 1973.

ZAYAS, J.F. **Functionality of Proteins in Food**. Springer Science & Business Media, 2012. 373 p.

## O artigo foi submetido à revista Food Hydrocolloids.

Reference: FOODHYD\_2018\_1680

Title: Casein structured foams: Optimization of the production process and physico-chemical characterization

Journal: Food Hydrocolloids

Dear Dr. Müller,

I am pleased to inform you that I have received all the required reviews, which I will now evaluate before making a decision on your manuscript referenced above.

In the event that I need to seek the opinion of an additional reviewer, you may see the status of your manuscript revert briefly from 'Ready for Decision' to 'Under Review'.

To track the status of your manuscript, please log into EVISE®

[http://www.evise.com/evise/faces/pages/navigation/NavController.jspx?JRNL\\_ACR=FOODHYD](http://www.evise.com/evise/faces/pages/navigation/NavController.jspx?JRNL_ACR=FOODHYD) and go to 'My Submissions'.

I will inform you once I have made a decision.

Thank you again for submitting your manuscript to Food Hydrocolloids and for giving me the opportunity to consider your work.

Kind regards,

Food Hydrocolloids

