

**UFRRJ**

INSTITUTO DE TECNOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

DISSERTAÇÃO

Complexos poliméricos obtidos a partir das proteínas do  
soro de queijo e polissacarídeos

Virginia Coimbra Zuvanov

2012



**UFRRJ**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
DE ALIMENTOS**

**COMPLEXOS POLIMÉRICOS OBTIDOS A PARTIR DAS PROTEÍNAS  
DO SORO DE QUEIJO E POLISSACARÍDEOS**

**VIRGINIA COIMBRA ZUVANOV**

*Sob a orientação do professor*  
**Edwin Elard Garcia Rojas**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de concentração em Tecnologia de Alimentos.

Seropédica, RJ  
Fevereiro de 2012

664.66

Zuvanov, Virginia Coimbra, 1985-

Z96c

T

Complexos poliméricos obtidos a partir das proteínas do soro de queijo e polissacarídeos / Virginia Coimbra Zuvanov. - 2012.

87 f.: il.

Orientador: Edwin Elard Garcia Rojas.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Inclui bibliografias.

1. Queijo - Teses. 2. Soro do leite - Teor protéico - Teses. 3. Polissacarídeos - Teses. I. Garcia Rojas, Edwin Elard. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS**

**VIRGINIA COIMBRA ZUVANOV**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de concentração em Tecnologia de Alimentos.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 29/02/2012.

---

Edwin Elard Garcia Rojas (D.Sc) UFF/EEIMVR  
(Orientador)

---

Wilmer Edgard Luera Pena (D.Sc) UFV/DTA

---

Nathália Ramos de Melo (D.Sc) UFF/EEIMVR

## DEDICATÓRIA

Dedido esta dissertação ao meu atual e futuro marido,  
por todas as belas palavras de otimismo,  
pela compreensão neste período que foi tão árduo, e principalmente,  
por todo amor!

## AGRADECIMENTOS

*A Deus por ter me dado força nos vários momentos que precisei*

*Às minhas amadas avós simplesmente por existirem na minha vida*

*Ao meu marido lindo pelo amor, companheirismo e paciência*

*Aos meus sogros por toda a ajuda e carinho*

*Às amigas Mariana e Patrícia pela amizade, conversas e risadas de sempre*

*À amiga Caroline por estar sempre tão presente*

*Ao amigo Vitor pelas belas palavras nos momentos certos*

*Aos amigos Nanda, Aninha, Quel, Rafael Tevez, Thi, Cris e Ana Paula pela  
amizade eterna*

*Ao professor Edwin pela confiança depositada e orientação durante o trabalho*

*Aos colegas de laboratório da UFF-VR, Clítor, Andresa, Júlia, Douglas,  
Jordana e Eduardo pela boa companhia e colaboração*

*À amiga Vanessa pelas longas conversas que tornaram a jornada de viagens e  
experimentos menos árduos*

*Aos meus amigos do LAAB, Taty, Lu, Lili e Juarez , e às professoras Tatiana,  
Simone e Arlene pelo incentivo e amizade*

*Às professoras Maria Júlia, Glória e Valéria por todo o carinho e palavras de  
sabedoria que me estimularam para que eu fizesse o mestrado*

*À minha Bellinha pelo companheirismo*

*“ isso de querer  
ser exatamente aquilo  
que a gente é  
ainda vai  
nos levar além ”*

Incenso Fosse Música, Paulo Leminski.

## RESUMO GERAL

ZUVANOV, Virginia Coimbra. **Complexos poliméricos obtidos a partir das proteínas do soro de queijo e polissacarídeos**. 2012. 75p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

O soro de queijo, subproduto da indústria de laticínios, possui proteínas com todos os aminoácidos em excesso à recomendação da FAO/WHO e com importantes propriedades funcionais. As proteínas solúveis podem ser precipitadas pelo calor ou recuperadas sem desnaturação por separação de membranas ou processos cromatográficos, gerando os produtos lactoalbumina e concentrado protéico de soro (WPC), respectivamente. Na indústria de alimentos, os polissacarídeos são conhecidos como hidrocolóides porque se ligam à água e garantem as propriedades gelificantes, espessantes e emulsificantes dos alimentos nos quais são adicionados. Diferentes estruturas podem ser formadas pela interação associativa eletrostática entre proteína e polissacarídeo, dependendo principalmente da afinidade de ligação proteína-polissacarídeo, da densidade de carga das moléculas e da conformação molecular. A potencialidade de aplicação dos complexos poliméricos formados entre proteínas e polissacarídeos ocorre do fato que certas propriedades do complexo apresentam-se superiores em relação aos materiais de partida isolados. Por isso, o objetivo deste trabalho foi otimizar o processo de obtenção destes complexos poliméricos formados entre lactoalbumina ou WPC com os polissacarídeos carragena, goma arábica, goma xantana e pectina. Como planejamento do experimento foi utilizado o delineamento composto central rotacional (DCCR) para três variáveis independentes (pH, concentração salina e massa de polissacarídeo). Nos complexos lactoalbumina-carragena e lactoalbumina-goma arábica foi significativa ( $Pr < 0,05$ ) apenas a variável pH e concentração salina, respectivamente. Já no complexo lactoalbumina-goma xantana foram significativas ( $Pr < 0,05$ ) todas as variáveis estudadas, enquanto no complexo lactoalbumina-pectina foram significativas ( $Pr < 0,05$ ) as variáveis concentração salina e massa de polissacarídeo. Para os complexos WPC-carragena e WPC-goma arábica apenas a variável pH foi significativa ( $Pr < 0,05$ ). Já no complexo WPC-goma xantana foram significativas ( $Pr < 0,05$ ) as variáveis concentração salina e massa de polissacarídeo. As variáveis do complexo WPC-pectina não puderam ser avaliadas porque nenhum modelo foi considerado significativo ( $Pr < 0,05$ ). As condições ótimas do processo também variaram para cada complexo formado. Para o complexo lactoalbumina-carragena o pH foi igual a 4,2, concentração salina de 0,5 mol/L e massa de polissacarídeo de 13,80 mg. No caso do complexo lactoalbumina-goma arábica, o pH foi de 5,0, concentração salina de 0,8 mol/L e massa de polissacarídeo de 15,40 mg. Enquanto para o complexo lactoalbumina-goma xantana, o pH foi de 6,6, concentração salina de 0,6 mol/L e massa de polissacarídeo de 8,3 mg. Já no complexo lactoalbumina-pectina, o pH foi de 6,6, concentração salina de 0,25 mol/L e massa de polissacarídeo de 10,6 mg. Para o complexo formado com WPC e carragena o pH foi igual a 4,4, concentração salina de 0,37 mol/L e massa de polissacarídeo de 14,6 mg. No caso do WPC-goma arábica, o pH foi de 4,3, concentração salina de 0,40 mol/L e massa de polissacarídeo de 12,6 mg. Enquanto para o WPC-goma xantana, o pH foi de 5,2, concentração salina de 0,35 mol/L e massa de polissacarídeo de 10,3 mg. Já o WPC-pectina, o pH foi de 5,9, concentração salina de 0,61 mol/L e massa de polissacarídeo de 7,5 mg.

Palavras-chave: otimização, concentrado protéico de soro, complexos poliméricos

## ABSTRACT

ZUVANOV, Virginia Coimbra. **Polimeric complexes obtained from whey proteins and polyssacharides**. 2012. 75p. Dissertation (Master Food Science and Technology), Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2012.

The cheese whey, a byproduct of the dairy industry, has proteins with all the aminoacids in excess due to the recommendation of the FAO / WHO and with important functional properties. Soluble proteins may be precipitated or recovered by heat denaturation without separation membranes or chromatographic processes, generating products lactalbumin and whey protein concentrate (WPC), respectively. In the food industry, polysaccharide hydrocolloids are known because they bind to ensure the water and gelling properties, thickeners and emulsifiers in the food which they are added. Different structures may be formed by association electrostatic interaction between protein and polysaccharide, mainly depending on the binding affinity protein-polysaccharide, the charge density of the molecules and the molecular conformation. The application potentiality of polymeric complexes formed between proteins and polysaccharides is the fact that certain properties of the complex are presented above in relation to the isolated starting materials. Therefore, the objective was to optimize the process of obtaining these polymeric complexes formed between WPC with lactalbumin or polysaccharides carrageenan, arabic gum, xanthan gum and pectin. As planning design of the experiment we used the central composite rotational design (CCRD) for three independent variables (pH, salt concentration and polysaccharide weight). In the complex lactalbumin-carrageenan and lactalbumin-arabic gum, there was significancy ( $Pr < 0.05$ ) only for the variables pH and salt concentration, respectively. For the lactalbumin-xanthan gum complex there was significancy ( $Pr < 0.05$ ) in all variables, while the lactalbumin-pectin complex there was significancu ( $Pr < 0.05$ ) in the variables of salt concentration and polysaccharide weight. For WPC-carrageenan complex and arabic gum-WPC, only the pH variable was significant ( $Pr < 0.05$ ). For the WPC-xanthan gum salt concentration and polysaccharide weight were significant ( $Pr < 0.05$ ). The variables of the WPC-pectin complex could not be assessed because no model was considered significant ( $Pr < 0.05$ ). The optimum process conditions also varied for each complex formed. To the lactalbumin-carrageenan complex, the values were pH equal to 4.2, 0.5 mol/L of salt concentration and 13.80 mg of polysaccharide weight. In the case of lactalbumin-arabic gum complex, the pH was 5.0, the salt concentration was 0.8 mol/L and the polysaccharide weight was 15.40 mg. As to the lactalbumin-xanthan gum complex, the pH was 6.6 and the salt concentration was 0.6 mol/L and whe polysaccharide weight was 8.3 mg. And for the lactalbumin-pectin complex, the pH was 6.6, the salt concentration was 0.25 mol/L and the polysaccharide weight was 10.6 mg. For the complex formed with WPC and carrageenan, the pH was 4.4, the salt concentration was 0.37 mol/L and the polysaccharide weight was 14.6 mg. In the case of the WPC-arabic gum complex, the pH was 4.3, the salt concentration was 0.40 mol/L and the polysaccharide weight was 12.6 mg. To the WPC-xanthan gum complex, the pH was 5.2, the salt concentration was 0.35 mol/L and the polysaccharide was 10.3 mg. The values to the WPC-pectin compound were 5.9 of pH, the 0.61 mol/L of salt concentration and 7.5 mg of polysaccharide weight.

Key-words: optimization, whey protein concentrated, polymeric complexes

## LISTA DE TABELAS

<b>CAPÍTULO I</b>	<b>PÁG.</b>
<b>Tabela 1.</b> Concentração de proteínas no soro de queijo.	07
<b>Tabela 2.</b> Composição de CPS e IPS do mercado internacional.	14
<b>CAPÍTULO II</b>	
<b>Tabela 1.</b> Variáveis e níveis do planejamento experimental para formação de coacervados.	39
<b>Tabela 2.</b> Condições experimentais do planejamento experimental fatorial completo de três variáveis independentes.	40
<b>Tabela 3.</b> Variável dependente (Y) de cada complexo formado entre lactalbumina e polissacarídeos.	42
<b>Tabela 4.</b> Análise de variância da variável resposta turbidez para o complexo lactalbumina-carragena.	42
<b>Tabela 5.</b> Análise de variância da variável resposta turbidez para o complexo lactalbumina-goma arábica.	43
<b>Tabela 6.</b> Análise de variância da variável resposta turbidez para o complexo lactalbumina-goma xantana.	43
<b>Tabela 7.</b> Análise de variância da variável resposta turbidez para o complexo lactalbumina-pectina.	43
<b>Tabela 8.</b> Parâmetros estimados do modelo linear – Complexo lactalbumina-carragena.	43

<b>Tabela 9.</b> Parâmetros estimados do modelo linear – Complexo lactoalbumina-goma arábica.	44
<b>Tabela 10.</b> Parâmetros estimados do modelo quadrático – Complexo lactoalbumina-goma xantana.	44
<b>Tabela 11.</b> Parâmetros estimados do modelo quadrático – Complexo lactoalbumina-pectina.	44
<b>Tabela 12.</b> Equações geradas pela minimização da variável resposta de cada complexo.	50
<b>Tabela 13.</b> Condições ótimas das variáveis codificadas e reais para os sistemas formados com lactoalbumina.	51

### **CAPÍTULO III**

<b>Tabela 1.</b> Variáveis e níveis do planejamento experimental para formação de coacervados.	61
<b>Tabela 2.</b> Condições experimentais do planejamento experimental fatorial completo de três variáveis independentes.	62
<b>Tabela 3.</b> Variável dependente (Y) de cada complexo formado entre WPC e polissacarídeos.	63
<b>Tabela 4.</b> Análise de variância da variável resposta turbidez para o complexo WPC-carragena.	64
<b>Tabela 5.</b> Análise de variância da variável resposta turbidez para o complexo WPC-goma arábica.	64
<b>Tabela 6.</b> Análise de variância da variável resposta turbidez para o complexo WPC-goma xantana.	64

<b>Tabela 7.</b> Análise de variância da variável resposta turbidez para o complexo WPC-pectina.	64
<b>Tabela 8.</b> Parâmetros estimados do modelo linear – Complexo WPC-carragena.	65
<b>Tabela 9.</b> Parâmetros estimados do modelo linear – Complexo WPC-goma arábica.	65
<b>Tabela 10.</b> Parâmetros estimados do modelo quadrático – Complexo WPC-goma xantana.	65
<b>Tabela 11.</b> Equações geradas pela minimização da variável resposta de cada complexo.	69
<b>Tabela 12.</b> Condições ótimas das variáveis codificadas e reais para os sistemas formados com WPC.	69

## LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I	PÁG.
<b>Figura 1.</b> Perspectiva sobre a valorização do soro de queijo.	06
<b>Figura 2.</b> Estrutura tridimensional da $\beta$ -lacloglobulina.	07
<b>Figura 3</b> Estrutura terciária da $\alpha$ -lactoalbumina.	08
<b>Figura 4.</b> Esquema de isolamento de proteína do soro.	13
<b>Figura 5.</b> Representação esquemática do comportamento de misturas de polissacarídeos e proteínas.	20
CAPÍTULO II	
<b>Figura 1.</b> Influência do pH e concentração salina na turbidez do sistema lactoalbumina-carragena.	45
<b>Figura 2.</b> Influência do pH e massa de polissacarídeo na turbidez do sistema lactoalbumina-carragena.	45
<b>Figura 3.</b> Influência do pH e concentração salina na turbidez do sistema lactoalbumina-goma arábica.	46
<b>Figura 4.</b> Influência da concentração salina e massa de polissacarídeo na turbidez do sistema lactoalbumina-goma arábica.	46
<b>Figura 5.</b> Influência do pH e concentração salina na turbidez do sobrenadante lactoalbumina-goma xantana.	47
<b>Figura 6.</b> Influência do pH e massa de polissacarídeo na turbidez do sistema lactoalbumina-goma xantana.	48

<b>Figura 7.</b> Influência da concentração salina e massa de polissacarídeo na turbidez do sistema lactoalbumina-goma xantana.	48
<b>Figura 8.</b> Influência do pH e concentração salina na turbidez do sobrenadante do sistema lactoalbumina-pectina.	49
<b>Figura 9.</b> Influência do pH e massa de polissacarídeo na turbidez do sobrenadante do sistema lactoalbumina-pectina.	49
<b>Figura 10.</b> Influência da concentração salina e massa de polissacarídeo na turbidez do sobrenadante do sistema lactoalbumina-pectina.	50
<b>Figura 11.</b> Fotomicrografias de lactoalbumina, polissacarídeos e complexos poliméricos preparados sob condições ótimas e secos em estufa à vácuo. (A) Lactoalbumina, (B) Carragena, (C) Goma arábica, (D) Goma xantana, (E) Pectina, (F) Complexo polimérico lactoalbumina-carragena, (G) Complexo polimérico lactoalbumina-goma arábica, (H) Complexo polimérico lactoalbumina-goma xantana, (I) Complexo polimérico lactoalbumina-pectina.	51

### **CAPÍTULO III**

<b>Figura 1.</b> Influência do pH e concentração salina na turbidez do sistema WPC-carragena.	66
<b>Figura 2.</b> Influência do pH e massa de polissacarídeo na turbidez do sistema WPC-carragena.	66
<b>Figura 3.</b> Influência do pH e concentração salina na turbidez do sistema WPC-goma arábica.	67
<b>Figura 4.</b> Influência do pH e massa de polissacarídeo na turbidez do sistema WPC-goma arábica.	67

<b>Figura 5.</b> Influência do pH e concentração salina na turbidez do sistema WPC-goma xantana.	68
<b>Figura 6.</b> Influência do pH e massa de polissacarídeo na turbidez do sistema WPC-goma xantana.	68
<b>Figura 7.</b> Influência da concentração salina e massa de polissacarídeo na turbidez do sistema WPC-goma xantana.	69
<b>Figura 8.</b> Fotomicrografias de WPC, polissacarídeos e complexos poliméricos preparados sob condições ótimas e secos em estufa à vácuo. (A) WPC, (B) Carragena, (C) Goma arábica, (D) Goma xantana, (E) Pectina, (F) Complexo polimérico WPC-carragena, (G) Complexo polimérico WPC-goma arábica, (H) Complexo polimérico WPC-goma xantana, (I) Complexo polimérico WPC-pectina.	70

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO I</b>		<b>PÁG.</b>
	<b>RESUMO</b>	<b>03</b>
	<b>ABSTRACT</b>	<b>04</b>
<b>1</b>	<b>SORO DE QUEIJO</b>	<b>05</b>
<b>2</b>	<b>PROTEÍNAS DO SORO DE QUEIJO</b>	<b>06</b>
2.1	Propriedades fisiológicas e nutricionais	09
2.2	Propriedades funcionais	09
2.2.1	Influência do pH, temperatura e força iônica	11
<b>3</b>	<b>PROCESSAMENTO DO SORO DE QUEIJO</b>	<b>12</b>
<b>4</b>	<b>APLICAÇÃO DO SORO NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS</b>	<b>14</b>
<b>5</b>	<b>POLISSACARÍDEOS</b>	<b>15</b>
5.1	Carragena	16
5.2	Pectina	17
5.3	Goma arábica	18
5.4	Goma xantana	19
<b>6</b>	<b>INTERAÇÃO ENTRE PROTEÍNAS E POLISSACARÍDEOS</b>	<b>19</b>
6.1	Parâmetros que afetam a interação eletrostática entre proteínas e polissacarídeos	21
6.1.1	Relação de proteína/polissacarídeo e concentração molecular	21
6.1.2	pH, força iônica e densidade de carga	22
6.2	Propriedades funcionais dos complexos poliméricos	22
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>23</b>
<b>CAPÍTULO II</b>		
	<b>RESUMO</b>	<b>35</b>
	<b>ABSTRACT</b>	<b>36</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>37</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>38</b>
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>41</b>
<b>4</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>53</b>
<b>5</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>53</b>

## **CAPÍTULO III**

<b>RESUMO</b>	<b>57</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>58</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>59</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>60</b>
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>63</b>
<b>4 CONCLUSÕES</b>	<b>72</b>
<b>5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>72</b>
<b>CONCLUSÕES GERAIS</b>	<b>75</b>

## INTRODUÇÃO GERAL

A formação de complexos eletrostáticos e coacervados entre proteínas e polissacarídeos ocorre naturalmente em vários sistemas, gerando uma grande variedade de funções biológicas nos sistemas biopoliméricos.

Existem dois tipos diferentes de interações que podem ocorrer quando proteínas e polissacarídeos são misturados juntos em um sistema aquoso: incompatibilidade termodinâmica e compatibilidade termodinâmica. Estas interações dependem, principalmente, das cargas elétricas dos biopolímeros e dos fatores que influenciam o sistema, como pH e força iônica. A compatibilidade termodinâmica, também conhecida como separação de fase associativa ou coacervação complexa, normalmente acontece a baixas concentrações e forças iônicas, no momento em que as moléculas estão com cargas elétricas opostas. Isso ocorre em uma faixa de pH localizada entre o ponto isoelétrico (pI) da proteína e o  $pK_a$  do polissacarídeo. Sob essas condições, as moléculas são espontaneamente atraídas umas pelas outras e há formação de duas fases, uma delas rica em proteína e polissacarídeo e a outra isenta desses biopolímeros, mas rica em solvente. A proteína e o polissacarídeo estão unidos na fase rica em biopolímeros pela força eletrostática e podem tomar a forma de um coacervado ou um precipitado.

O reconhecimento do valor nutricional das proteínas lácteas advém do fato delas conterem todos os aminoácidos essenciais ou indispensáveis nas proporções requeridas para crescimento e manutenção do organismo humano. Isso justifica a demanda crescente de derivados lácteos providos de teores protéicos elevados.

De uma forma geral, o lactosoro contém entre 0,8-0,9% de proteínas solúveis (albuminas e globulinas). As proteínas solúveis podem ser precipitadas pelo calor ou recuperadas sem desnaturação por separação de membranas ou processos cromatográficos. A lactoalbumina é inteiramente solúvel em água, não se coagula pelo coalho, mas sim por ácido e calor. Representa 75% das proteínas do soro lácteo e 15% do total das proteínas do leite, e é constituída por  $\alpha$ -lactoalbumina,  $\beta$ -lactoglobulina e soroalbumina. Já o concentrado protéico de soro de leite (*Whey Protein Concentrate-WPC*) é o produto obtido pela remoção dos constituintes não-protéicos do soro, de tal modo que o produto final seco tenha 25-89% de concentração de proteína. Contém lactose, gordura e minerais, sendo que o teor de lactose diminui à medida que o teor de proteína aumenta proporcionalmente.

Na indústria de alimentos os polissacarídeos são conhecidos como hidrocolóides porque se ligam à água e garantem as propriedades gelificantes, espessantes e emulsificantes dos alimentos nos quais são adicionados, devido aos seus grupos hidrofílico e hidrofóbico. Esses aditivos alimentares têm função de espessar, estabilizar, encorpar, conferir viscosidade, elasticidade e dar a textura desejada ao alimento produzido. Os principais polissacarídeos usados são os naturais (carragenas, gomas arábica, goma aguar, dextrana, goma xantana, alginatos e pectina) e polissacarídeos quimicamente modificados.

O principal objetivo deste trabalho foi avaliar a formação dos complexos poliméricos obtidos a partir das proteínas do soro de queijo e polissacarídeos pela otimização deste processo.

## **CAPÍTULO I**

### **REVISÃO DE LITERATURA**

## RESUMO

O soro de queijo é um subproduto de importância relevante, tendo em vista o volume produzido e sua composição nutricional. Representa a porção aquosa amarelo-esverdeada do leite que se separa do coágulo durante a precipitação da caseína do leite. As proteínas  $\alpha$ -La e  $\beta$ -Lg se destacam dentre os nutrientes presentes no soro pelo seu elevado valor nutricional e funcional. Cada uma delas apresenta diferentes propriedades, a  $\beta$ -Lg possui excelentes propriedades gelatinizantes e a  $\alpha$ -La tem a capacidade de formar espuma, similar à clara de ovo. As proteínas do soro apresentam quase todos os aminoácidos essenciais em excesso à recomendação da FAO/WHO e são classificadas como proteínas de metabolização rápida. Apresentam características funcionais desejáveis para a indústria de alimentos que podem ser influenciadas pelo pH, temperatura e força iônica. As proteínas solúveis podem ser precipitadas pelo calor ou recuperadas sem desnaturação por separação de membranas ou processos cromatográficos, gerando os produtos lactoalbumina e concentrado protéico de soro, respectivamente. Na indústria de alimentos, os polissacarídeos são conhecidos como hidrocolóides porque se ligam à água e garantem as propriedades gelificantes, espessantes e emulsificantes dos alimentos nos quais são adicionados. Diferentes estruturas podem ser formadas pela interação associativa eletrostática entre proteína e polissacarídeo, dependendo principalmente da afinidade de ligação proteína-polissacarídeo, da densidade de carga das moléculas e da conformação molecular. Além disso, vários parâmetros físico-químicos que influenciam a carga global e local das proteínas desempenham um papel importante no controle deste fenômeno. A potencialidade de aplicação dos complexos poliméricos formados entre proteínas e polissacarídeos ocorre do fato que certas propriedades do complexo apresentam-se superiores em relação aos materiais de partida isolados.

Palavras-chave: proteínas do soro, polissacarídeos, complexos poliméricos

## ABSTRACT

The cheese whey is a subproduct of relevant importance, considering the volume produced and its nutritional composition. It represents the greenish yellow aqueous portion from milk that separates itself from the clot during the casein precipitation from milk. The protein  $\alpha$ -La and  $\beta$ -Lg stand out among the nutrients present in the serum because of its high nutritional and functional values. Each one has different properties, while the  $\beta$ -Lg owns excellent gelling properties, the  $\alpha$ -La has the ability to form foam, similar to egg white. Whey proteins have almost all the essential aminoacids in excess due to the FAO/WHO recommendation and are classified as fast metabolism proteins. They also have functional characteristics desirable for food industry that can be influenced by pH, temperature and ionic strength. The soluble proteins can be precipitated by heat or recovered without denaturation through membranes separation or chromatographic processes, generating products like lactalbumin and whey protein concentrate, respectively. In food industry, the polysaccharides are known as hydrocolloids because they bind to water and guarantee the gelling, thickeners and emulsifiers properties in the foods which they are added. Different structures can be formed by the electrostatic associative interaction between protein and polysaccharide, mainly depending of the affinity of the protein-polysaccharide binding, of the charge density of molecules and of molecular conformation. Moreover, several physico-chemical parameters that influence the global and local proteins' charges play an important role in controlling this phenomenon. The potential application of polymeric complexes formed between proteins and polysaccharides happens because of the fact that certain properties of the complex are better than the isolated starting materials.

Key-words: whey protein, polysaccharides, polymeric complexes

## 1 SORO DE QUEIJO

O soro de queijo, também conhecido como soro de leite bovino, é um subproduto de importância relevante, tendo em vista o volume produzido e sua composição nutricional. Segundo EMBRAPA (2008), a produção mundial de queijos no ano de 2007 foi de 14 milhões de toneladas. Somente no Brasil, a produção neste mesmo período foi de 580 mil toneladas. Como a produção de queijos gera uma quantidade muito grande de soro de leite, aproximadamente 9 litros de soro por quilo de queijo produzido (BORGES et al., 2001), este subproduto das indústrias de laticínios representa um importante problema ambiental e econômico para este setor.

O soro de queijo é a porção aquosa amarelo-esverdeada do leite que se separa do coágulo durante a precipitação da caseína do leite. Existem dois tipos de soro, o soro ácido (pH < 5,1) e o soro doce (pH > 5,6). O soro doce é obtido pela fabricação do queijo por precipitação enzimática da quimosina. Já o soro ácido é resultado da acidificação do leite por adição direta de ácido durante a fabricação de caseína alimentar ou durante a fabricação de queijo fresco, onde ocorre fermentação láctica (MULVIHILL e DONOVAN, 1987; PAGNO et al., 2009)

É composto basicamente de 94 a 95% de água, 3,8 a 4,2% de lactose, 0,8 a 1,0% proteínas e 0,7 a 0,8% de minerais, justificando seu alto valor de demanda bioquímica de oxigênio (DBO). Apesar do seu descarte nos recursos hídricos não ser permitido, ainda é a principal fonte poluidora do meio ambiente gerada pela indústria de laticínios (PAGNO et al., 2009; ROCHA, 2007).

Há décadas o soro tem sido conhecido pelo seu alto valor nutritivo, mas atualmente o desenvolvimento do mercado utilizando o soro de leite em pó e frações de soro como ingredientes nos gêneros alimentícios para consumo humano e animal transformaram o então subproduto em um produto valioso para a indústria de laticínios.

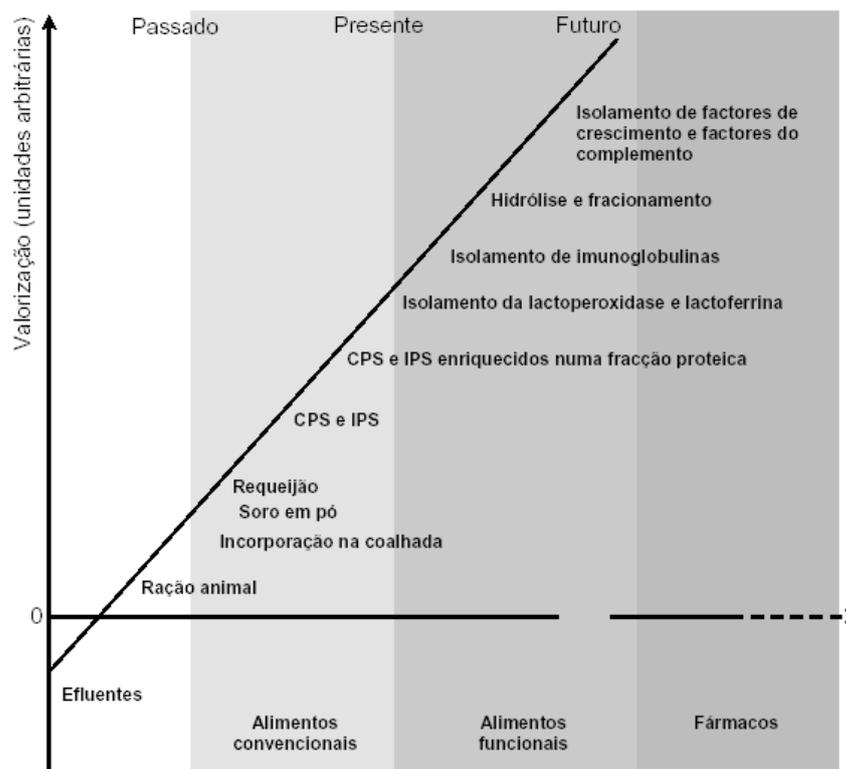
Na forma bruta é utilizado principalmente como alimento animal. Muitos produtores utilizam o soro *in natura* na alimentação do gado leiteiro em razão de sua grande disponibilidade e por ser oferecido gratuitamente ou a baixo preço. Na alimentação humana, depois de processado, é utilizado como aditivo alimentar. Também pode ser convertido em produtos químicos ou combustíveis através da fermentação. Um dos maiores obstáculos do seu uso na alimentação humana é a grande quantidade de lactose presente, a qual contribui para a sua baixa solubilidade e digestibilidade (EMBRAPA, 2006; YANG e OKOS, 1989).

Apesar disso, trata-se de alimento de grande interesse, não apenas pela presença de lactose, quando considera-se seu valor energético, mas também por seu conteúdo em proteínas solúveis ricas em aminoácidos essenciais, e pela presença de numerosas vitaminas do grupo B (VEISSEYRE, 1988).

Após o processamento, o soro pode ser apresentado sob três formas: soro concentrado, soro seco e soro modificado. O soro concentrado é a substância líquida obtida pela remoção parcial da água, deixando todos os outros constituintes nas mesmas proporções relativas do soro original, enquanto que o soro seco difere do soro concentrado pela remoção total da água. Já o soro modificado constitui uma classe de produtos obtidos do soro por vários processos e procedimentos. O procedimento de maior uso para o reaproveitamento do soro consiste na sua concentração em evaporadores, seguido da secagem e ensacamento final (de DE LA FUENTE et al., 2002).

Na última década, as pesquisas revelaram a existência de vários componentes bioativos no soro de queijo, assim como componentes com importantes propriedades funcionais. Estes componentes podem ser incorporados em vários alimentos de forma a conferir-lhes funções biológicas ou reológicas específicas. Segundo Torres (2005), os recentes avanços nas técnicas de processamento das proteínas do soro, como as técnicas de fracionamento, permitem produzir ingredientes variados, com diferentes composições e

aplicações, entre as quais se destacam os alimentos funcionais, os alimentos para desportistas, as dietas clínicas ou os fármacos, como mostra a Figura 1.



**Figura 1.** Perspectiva sobre a valorização do soro de queijo.

(Fonte: TORRES, 2005)

(CPS) Concentrado Proteico de Soro, (IPS) Isolado Proteico de Soro.

## 2 PROTEÍNAS DO SORO DE QUEIJO

O reconhecimento do valor nutricional das proteínas lácteas advém do fato delas conterem todos os aminoácidos essenciais ou indispensáveis nas proporções requeridas para crescimento e manutenção do organismo humano. Isso justifica a demanda crescente de derivados lácteos providos de teores protéicos elevados, a exemplo de queijos e outros produtos alimentícios. Convém ressaltar que o leite de vaca contém duas vezes mais proteínas que o leite humano (PINHEIRO e MOSQUIM, 1991).

Segundo Carvalho e Huhn (1999), as proteínas do leite podem ser facilmente separadas em duas frações: as caseínas (80%) e as proteínas do soro (20%). As caseínas são definidas como sendo as proteínas precipitadas pela acidificação do leite a um valor de pH próximo a 4,6. As proteínas restantes, após a remoção da caseína, são as proteínas do soro.

As proteínas do soro são complexas misturas de numerosas moléculas, cujas principais são:  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -Lg),  $\alpha$ -lactalbumina ( $\alpha$ -La), albumina sérica bovina (BSA), imunoglobulinas (Ig) (ALAIS, 1984; FENEMMA, 2000; SGARBIERI, 2004). Outras proteínas, embora em menores proporções, também estão presentes: lactoferrina, lisozima e peptídios derivados da caseína (BOSCHI, 2006). De forma geral, consideram-se três grupos: albuminas, imunoglobulinas e peptídeos. As albuminas representam cerca de 75% do total e incluem  $\beta$ -Lg,  $\alpha$ -La e BSA (ROCHA, 2007). A Tabela 1 apresenta a concentração das principais proteínas do soro de queijo.

**Tabela 1.** Concentração de proteínas no soro de queijo.

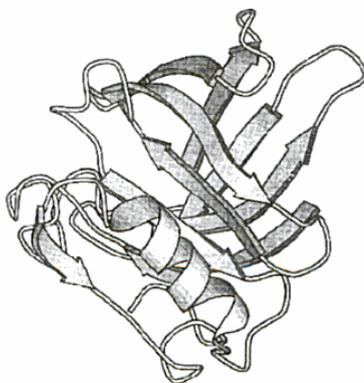
<b>Proteína</b>	<b>Concentração (g/L)</b>
$\beta$ -Lactoglobulina	3,50
$\alpha$ -Lactoalbumina	0,84
Albumina do soro bovino	0,70
Imunoglobulina	0,35
Protease-peptona	1,40

(Fonte: Bobbio e Bobbio, 2001)

Segundo Silva e Van Dender (2005), essas proteínas diferem da caseína por serem menores, globulares, compactas, solúveis em ampla faixa de pH, termolábeis e não-coaguláveis pela renina. As estruturas da  $\beta$ -lactoglobulina e da  $\alpha$ -lactoalbumina são típicas das proteínas globulares e da mesma forma que as caseínas, possuem carga líquida negativa no pH do leite. Contudo, diferente das caseínas, a sequência da distribuição dos resíduos hidrofóbicos, polares e carregados é bastante uniforme. Com isso, estas proteínas se doam intramolecularmente para alojar no seu interior a maioria dos seus grupos hidrofóbicos, evitando que ocorram grandes auto-associações ou interações com outras proteínas (ANTUNES, 2003).

De acordo com Chatterton et al. (2006), as proteínas  $\alpha$ -lactoalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina se destacam dentre os nutrientes presentes no soro pelo seu elevado valor nutricional e funcional, e além disso, são consideradas quantitativamente as duas mais importantes proteínas.

A  $\beta$ -lactoglobulina representa cerca de 60% da fração de albumina, sendo a proteína mais abundante no soro (2 a 3 g/L). É praticamente insolúvel em água, mas solúvel em presença de sais (PINHEIRO e MOSQUIM, 1991). Sua funcionalidade está relacionada, principalmente, pela presença de ligações dissulfeto e um grupo sulfidril (FENNEMA, 2000). Esta estrutura particular da  $\beta$ -LG, que forma uma espécie de cálice de caráter hidrofóbico, lhe confere propriedades funcionais de grande aplicação na indústria de alimentos, como capacidade de emulsificação, formação de espuma, geleificação e ligação de aroma e sabor (MORR e FOEGEDING, 1990). A estrutura tridimensional da  $\beta$ -lactoglobulina está ilustrada na Figura 2.



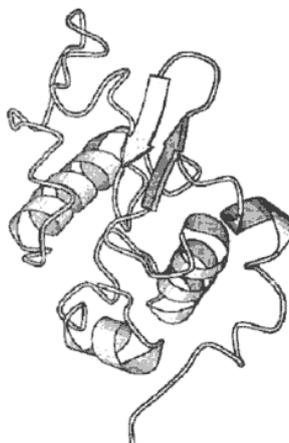
**Figura 2.** Estrutura tridimensional da  $\beta$ -lactoglobulina.

(Fonte: SWAISGOOD, 1996)

O ponto isoelétrico da  $\beta$ -LG é 5,3 à temperatura ambiente. Sua estrutura varia em função do valor do pH (KLEIN, 2010; TAULIER e CHALIKIAN, 2001). Ao pH do leite,  $\beta$ -lactoglobulina forma dímeros parecidos com duas esferas unidas; abaixo do pH 3,5 o dímero se dissocia e seus monômeros tornam-se ligeiramente expandidos; entre pH 3,5 e 5,2 o dímero se tetrameriza formando um octâmero; e pH acima de 7,5 o dímero se dissocia e depois de consequentes mudanças conformacionais, dá origem a monômeros expandidos (FENNEMA,

2000). A  $\beta$ -LG é uma proteína termossensível e vários efeitos são produzidos por ação da temperatura, entre eles perda de solubilidade e exposição de regiões da molécula apropriada para diferentes tipos de interação com outros componentes, em sistemas complexos modificações reversíveis começam ao redor de 50°C e irreversíveis acima de 65-70°C (IAMETTI et al., 1996).

A  $\alpha$ -lactoalbumina possui estrutura tridimensional, é muito compacta e quase esférica. Na sua forma nativa do leite, quando suas pontes dissulfeto estão intactas, a estrutura terciária se dobra e desdobra reversivelmente (FENNEMA, 2000). A Figura 3 ilustra a estrutura terciária da  $\alpha$ -lactoalbumina.



**Figura 3.** Estrutura terciária da  $\alpha$ -lactoalbumina.

(Fonte: SWAISGOOD, 1996)

A  $\alpha$ -LA é uma metaloproteína com alta afinidade pelo cálcio e esse sítio de ligação localiza-se no interior da região de sua fenda, que divide a molécula em dois lobos (SGARBIERI, 2005). Sua ligação com o cálcio funciona na estabilização da proteína contra a desnaturação térmica (STUART et al., 1986). A propriedade mais característica da  $\alpha$ -LA é a forte tendência de formar associações em pH abaixo de seu pI. No pH natural do leite, pH 6,6 e acima, apresenta-se como monômero com sua estrutura terciária (SGARBIERI, 2005). O pI da  $\alpha$ -LA é 4,1, logo, em pH menor de 4,1 a proteína está carregada positivamente (KLEIN, 2010). Embora a  $\alpha$ -lactoalbumina sofra desnaturação a uma temperatura mais baixa que a  $\beta$ -lactoglobulina, sua transição é reversível, exceto em temperaturas muito altas. Assim, a  $\alpha$ -lactoalbumina, diferente da  $\beta$ -lactoglobulina, não é desnaturada termicamente de forma irreversível na maioria das condições de processamento do leite (FENNEMA, 2000).

Quanto à funcionalidade, cada uma delas apresenta diferentes propriedades. Assim, por exemplo, a  $\beta$ -lactoglobulina possui excelentes propriedades gelatinizantes e a  $\alpha$ -lactoalbumina tem a capacidade de formar espuma similar à clara de ovo (ANTUNES, 2003).

Novas metodologias que permitem a concentração dessas proteínas por separação do tipo sólido-líquido vêm sendo desenvolvidas pelas indústrias (MATTHEWS, 1984; BALDASSO, 2008). A ultrafiltração (UF) tornou-se uma das técnicas mais utilizadas para recuperação das proteínas solúveis do soro. Além disso, o uso da diafiltração, um modo de operação da UF, foi um fator significativo para a intensificação do uso desse processo na purificação e concentração de proteínas (BRANS et al., 2004).

A composição dos produtos obtidos de proteínas do soro varia segundo diversos fatores: fonte do leite, método de preparação, tipo de queijo produzido e especificações individuais dos processadores. Todos esses fatores influenciam de forma significativa nas características funcionais dos diversos produtos do soro (ANTUNES, 2003).

## 2.1 Propriedades fisiológicas e nutricionais

De acordo com Antunes (2003), as proteínas do soro exercem perfeitamente as funções biológicas das proteínas, como reparação celular, construção e reparação de músculos e ossos, prover energia e regular uma série de importantes processos metabólicos do corpo.

As proteínas do soro de queijo apresentam quase todos os aminoácidos essenciais em excesso à recomendação da FAO/WHO (2001) e são classificadas por pesquisadores como proteínas de metabolização rápida porque são altamente digeríveis e rapidamente absorvidas pelo organismo, estimulando a síntese de proteínas sanguíneas e teciduais. O seu valor biológico excede até mesmo os das proteínas do ovo (SGARBIERI, 2004; SISO, 1996).

Segundo Siso (1996), o teor de aminoácidos contendo enxofre nas proteínas do soro de leite é maior que o das proteínas do leite (1,35% versus 0,36%) e estes aminoácidos são importantes nas funções antioxidantes do organismo. O conteúdo de lisina também é maior no soro do que no total de proteínas do leite (10,5% versus 7,75%), tornando-o apto para ser utilizado em dietas específicas para deficientes neste aminoácido.

As principais proteínas do soro,  $\alpha$ -lactalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina, são uma importante fonte de peptídeos bioativos, compostos com potencial de promoção da saúde. Uma forma comum para produzir esses peptídeos é através da digestão enzimática (ROCHA, 2007).

De uma forma geral, diversos estudos demonstram os benefícios do consumo dessas proteínas em relação às suas propriedades fisiológico-funcionais, tais como: atividade anticâncer, atividades antiúlcera, proteção ao sistema cardiovascular, supressão da absorção de colesterol, entre outras (PACHECO et al., 2005, 2006; POPPI et al., 2010; SGARBIERI, 2004; SHAH, 2000).

## **2.2 Propriedades funcionais**

O desejo da indústria de alimentos de converter resíduos em valor agregado, tem gerado um crescente interesse no desenvolvimento de processos para o reforço da funcionalidade de proteína de soro de leite (HUDSON et al., 2000). Assim, a modificação das proteínas do soro a fim de melhorar suas propriedades funcionais em sistemas alimentares específicos tornou-se um foco de pesquisa da última década (WILCOX e SWAISGOOD, 2002).

As propriedades funcionais são um elo entre as propriedades físico-químicas e as características sensoriais dos alimentos, e as proteínas do soro possuem propriedades físico-químicas que lhes conferem propriedades funcionais interessantes para aplicações alimentares (KORHONEN et al., 1998; LORIENT, 1988).

Os atributos sensoriais dos alimentos, como a textura, a cor, o sabor e o aspecto, são consequência do efeito de interações complexas entre os seus diversos componentes. Geralmente, as proteínas têm uma grande influência sobre as características sensoriais dos alimentos porque podem estar relacionadas com as suas propriedades viscoelásticas, de textura e suculência, ou formação do coalho, de acordo com o tipo do alimento (FENNEMA, 2000).

O termo “funcionalidade das proteínas alimentares” é definido como sendo aquelas propriedades físicas e químicas dos sistemas alimentícios durante o processamento, armazenamento, preparação e consumo, que derivam do comportamento das proteínas. Entre as propriedades físico-químicas que regem a funcionalidade das proteínas incluem-se o tamanho, a forma, a composição e sequência de aminoácidos, a carga líquida e distribuição de cargas, a relação hidrofobia/hidrofilia, as estruturas secundária, terciária e quaternária, o grau de flexibilidade-rigidez e a capacidade de interagir ou de repelir outros componentes (FENNEMA, 2000). Além disso, a funcionalidade também depende de fatores extrínsecos como pH, temperatura, concentração de proteína e tipos de íons presentes na solução

(RODRIGUES et al., 2001), e por efeitos do processamento, como homogeneização, aquecimento ou congelamento, e armazenamento (DE WIT, 1998).

As propriedades funcionais das proteínas classificam-se em três principais grupos: propriedades de hidratação, as quais são dependentes da interação proteína-água (absorção, retenção, molhabilidade, adesão, dispersibilidade, solubilidade e viscosidade); propriedades que estão relacionadas às interações proteína-proteína (precipitação e geleificação) e propriedade de superfície (tensão superficial, emulsificação e formação de espuma) (MESSENS et al., 1997).

De forma empírica, as propriedades funcionais das proteínas podem ser consideradas uma manifestação dos aspectos moleculares das proteínas: as propriedades hidrodinâmicas e as propriedades relacionadas com a superfície. A viscosidade, a gelificação e a textura estão relacionadas com as propriedades hidrodinâmicas, que dependem do tamanho, da forma e flexibilidade molecular. Já a humectabilidade, a dispersibilidade, a solubilidade, as propriedades espumantes, emulsificantes e de fixação de aroma, estão relacionadas com as propriedades químicas e topográficas da superfície das proteínas (FENNEMA, 2000).

Apesar de tudo que se sabe sobre as características físico-químicas das proteínas, não é possível afirmar com segurança suas propriedades funcionais a partir de suas propriedades moleculares porque seu comportamento nos sistemas-modelo não é sempre o mesmo que nos produtos alimentícios reais. Em parte, isso se deve ao fato das proteínas sofrerem desnaturação durante a fabricação dos alimentos. O grau de desnaturação alcançado depende do pH, da temperatura e outras condições de processamento, assim como de determinadas características do produto. Além disso, nos alimentos, as proteínas interagem com outros componentes, como os lipídeos, os açúcares e os polissacarídeos, modificando seu comportamento funcional (FENNEMA, 2000).

A proteínas do soro apresentam características funcionais desejáveis para a indústria de alimentos: boa solubilidade, viscosidade, capacidade estabilizante, emulsificante, formação e estabilidade de espuma, gelificante e boa absorção de água, formação de filmes e cápsulas protetoras (MATHUR e SHAHANI, 1979; MODLER, 2000; WONG et al., 1996).

Segundo Nakai e Chan (1985) e Cândido (1998), o fator primordial para que as proteínas acima citadas exibam características gelatinizantes, espumantes e emulsificantes é que tais proteínas sejam solúveis, sendo a solubilidade a propriedade funcional primária na determinação das demais propriedades. A solubilidade da proteína em um sistema de multicomponentes também é de grande importância na escolha de métodos para a produção de isolados protéicos, fracionamento de proteínas e purificação.

Uma das principais desvantagens das proteínas do soro é que elas são instáveis durante um tratamento térmico, reduzindo assim a sua aplicabilidade ao alimento pasteurizado (DOUCET et al., 2001). No entanto, esta característica pode ser usada para adaptar as suas propriedades funcionais, tais como formação de espuma e emulsificação (GALANI e APENTEN, 1999).

As propriedades de superfície das proteínas do soro as tornam bons agentes emulsificantes, pois facilitam a formação de pequenas gotículas de óleo durante a homogeneização através da redução da tensão interfacial. Além disso, aumentam a estabilidade das gotículas formadas, impedindo a agregação entre elas pelo aumento das interações coloidais repulsivas (SURH et al., 2006).

A funcionalidade das proteínas do soro pode ser melhorada alterando a proporção de proteína/não-proteína e/ou modificando as proteínas. A modificação direta das proteínas pode ser feita através de: (1) anexando covalentemente outros compostos, como carboidratos; (2) produzindo agregados ou polímeros através de interações não-covalentes e/ou covalentes entre as proteínas, ou; (3) hidrolisando as proteínas em vários graus (FOEGEDING et al., 2002).

### 2.2.1 Influência do pH, temperatura e força iônica

A proteína nativa é aquela que se apresenta numa conformação espacial que permite a sua funcionalidade. A desnaturação protéica é a perda da funcionalidade em decorrência de uma alteração conformacional, originada pela ruptura de algumas ligações de sua estrutura. A desnaturação de uma proteína pode ser reversível ou irreversível. Os fatores que podem ocasionar a desnaturação protéica são as variações de temperatura e o pH (FENNEMA, 2000). Segundo Antunes (2003), as diferentes proteínas presentes no soro apresentam funcionalidades distintas no seu estado nativo e após tratamento físico, químico ou enzimático, devido às várias estruturas conformacionais que possuem e/ou adquirem.

O pH afeta a natureza e a distribuição de cargas de uma proteína. Em geral, as proteínas são mais solúveis em pHs ácidos ou alcalinos por causa do excesso de cargas do mesmo sinal, produzindo repulsão entre as moléculas e, conseqüentemente, contribuindo para sua maior solubilidade. De acordo com as observações de vários autores (KAKALIS e REGENSTREIN, 1986; MANN e MALIK, 1996; DE WIT, 1989; WONG et al., 1996), quando uma solução protéica está no seu pI, as interações proteína-proteína aumentam, pois as forças eletrostáticas moleculares estão num mínimo; conseqüentemente, menos água interage com as moléculas de proteína, condição favorável para que as moléculas de proteína se aproximem, agreguem e precipitem. Ou seja, quanto mais próximo for o pH de uma solução protéica do seu ponto isoelétrico (pI), mais baixa será a solubilidade da mesma.

A temperatura também é um fator que muito influencia na solubilidade protéica, já que quando esta aumenta suficientemente por um determinado período de tempo, a proteína é desnaturada devido à exposição dos grupos sulfidrila (SH<sup>-</sup>), inicialmente no interior das moléculas protéicas (KIM, 1998; LANGENDORFF et al., 1999; MINE, 1996; SOOD et al., 1976).

De acordo com LUCARINI et al. (2005), a presença de sais neutros em concentrações de 0,1 a 1 mol/L podem aumentar sua solubilidade dependendo da proteína, do sal utilizado, do pH e temperatura da solução. Esse fenômeno, conhecido como *salting-in*, ocorre porque as cargas iônicas do sal vão interagir com as cargas opostas das proteínas, diminuindo a interação eletrostática entre as moléculas de proteína. Ao contrário, com o aumento da concentração de sal neutro na solução a solubilidade da proteína pode ser diminuída. Neste caso, o fenômeno conhecido como *salting-out* ocorre porque em concentrações entre 1,5 mol/L e 3,0 mol/L as moléculas do sal competem com a proteína pela água. A retenção do solvente pelo sal força uma reorganização da água em torno da proteína, o que deixa as regiões hidrofóbicas da proteína expostas e permite a interação entre as moléculas de proteína. A precipitação ocorre quando a força entre as moléculas de água e de proteína é menor que a interação entre as moléculas de proteína, que se agregam formando moléculas maiores insolúveis, tornando-se visíveis a olho nu (VOJDANI, 1996). O *salting-out* é comumente empregado como técnica de fracionamento de proteínas, uma vez que cada uma delas precipita em uma faixa pequena de concentração de sal. Contudo o sal utilizado deve ser altamente solúvel, porque quanto menor a quantidade de água no entorno das moléculas de proteína, mais expostas estarão suas regiões hidrofóbicas (LUCARINI et al., 2005).

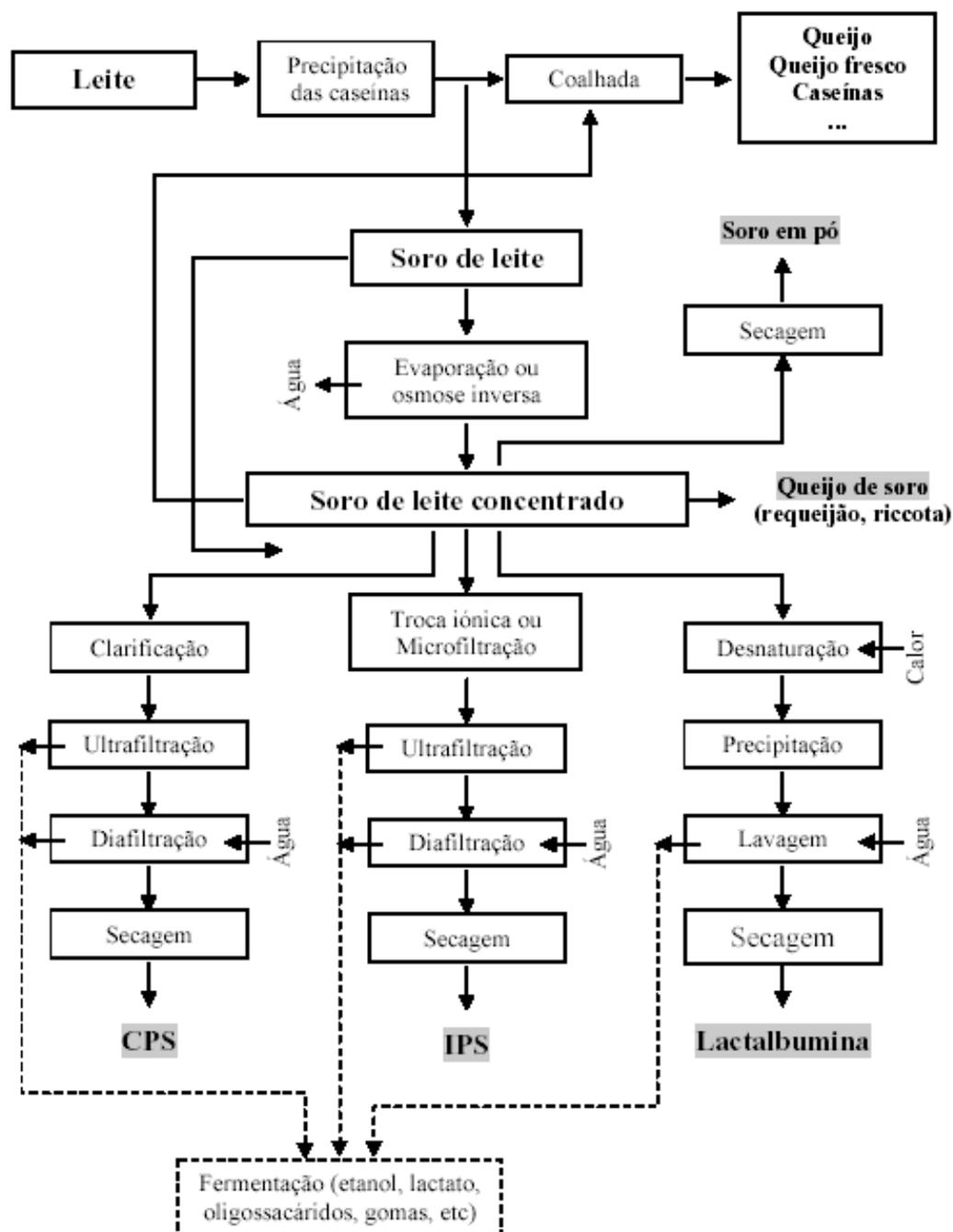
Outras propriedades funcionais das proteínas também são afetadas pelo pH, de acordo com seus pontos isoelétricos (pI). No pI, devido à atração eletrostática de grupos de cargas opostas, as propriedades da proteína coincidem nos valores máximo e mínimo: intumescimento, viscosidade e congelamento são mínimos no pI; enquanto que turbidez, força de gel, formação de espuma e sinérese são máximos (FENNEMA, 2000).

## 3 PROCESSAMENTO DO SORO DE QUEIJO

No Brasil, a secagem do soro de queijo em produtos mais simples foi o caminho mais econômico e mais rápido para se dar vazão do grande volume diário resultante da produção de queijos. Com o tempo, a indústria desenvolveu frações do soro, desde minerais isolados até proteínas concentradas e também frações isoladas da proteína de soro do leite como lactoferrina, lactoperoxidase, globulinas, além da lactose, componente encontrado em maior porcentagem no leite e no soro líquido (FARIAS, 2011).

As frações do soro podem ser agrupadas em categorias, de acordo com as características determinadas pelo tipo e grau de processamento aos quais são submetidas. Cada um desses produtos soro é utilizado com base nas características funcionais específicas apresentadas por cada um deles (ANTUNES, 2003).

De uma forma geral, o lactosoro contém entre 0,8-0,9% de proteínas solúveis (albuminas e globulinas). As proteínas solúveis podem ser precipitadas pelo calor ou recuperadas sem desnaturação por separação de membranas ou processos cromatográficos (RÉVILLION, 2011), como mostra a Figura 4.



**Figura 4.** Esquema de isolamento de proteína do soro

(Fonte: TORRES, 2005)

(CPS) Concentrado Protéico de Soro, (IPS) Isolado Proteico de Soro.

Na década de 40 surgiu no mercado internacional um produto derivado do soro com alto teor protéico, a lactoalbumina ou lactalbumina, obtido através de uma desnaturação a quente das proteínas e consequente precipitação a pH controlado. A lactoalbumina é inteiramente solúvel em água, não se coagula pelo coalho, mas sim por ácido e calor. A albumina do leite é a película que se forma no leite logo após o seu cozimento, ou ainda, ela é a espuma que se observa quando o leite é fervido ou desnatado. Representa 75% das proteínas do soro lácteo e 15% do total das proteínas do leite, e é constituída por  $\alpha$ -lactoalbumina,  $\beta$ -lactoglobulina e soroalbumina. Apesar do nome semelhante, a lactoalbumina não deve ser confundida com  $\alpha$ -lactoalbumina, que é uma das proteínas do soro (BEHMER, 1984;

FENNEMA, 2000; HUFFMAN e HARPER, 1999).

Segundo Huffman e Harper (1999), nas três últimas décadas, desenvolveram-se processos que permitem obter produtos com alto teor em proteínas nativas, preservando assim as suas propriedades intrínsecas: os concentrados de proteínas de soro (CPS) e os isolados de proteínas do soro (IPS). O concentrado protéico de soro de leite, também conhecido como *Whey Protein Concentrate (WPC)*, é o produto obtido pela remoção dos constituintes não-protéicos do soro, de tal modo que o produto final seco tenha 25-89% de concentração de proteína. Contém lactose, gordura e minerais, sendo que o teor de lactose diminui à medida que o teor de proteína aumenta proporcionalmente. Indispensável na manipulação de diversos produtos, tais como laticínios, produtos cárneos, fórmulas infantis e produtos de panificação, devido aos seus efeitos emulsificantes, espessantes e anti-alérgicos. O isolado protéico de soro de leite (*Whey Protein Isolate-WPI*) é a forma mais pura das proteínas do soro e contém entre 90-95% de proteína. O teor de lactose e minerais é mínimo, sendo na maioria das vezes isento desses componentes. Para a obtenção do isolado é feito um pré-tratamento para remoção da lactose e da gordura, que pode ser pela combinação de duas operações, a de microfiltração para remoção da gordura e a de hidrólise para remoção da lactose. Também pode ser utilizado como pré-tratamento a troca-iônica e em seguida as operações de ultrafiltração e diafiltração (ANTUNES, 2003).

A Tabela 2 apresenta a composição de alguns concentrados protéicos americanos e europeus (CPS 80% e IPS). Essa diferença pode ser explicada pelas diferenças na composição inicial do soro, que depende da composição do leite e, principalmente, dos processos de obtenção de queijos ou caseínas (DE LA FUENTE et al., 2002).

**Tabela 2.** Composição de CPS e IPS do mercado internacional.

	Composição aproximada (%p/p)					pH
	Proteína	Lactose	Gordura	Cinzas	Umidade	
CPS 80%	71,9 - 76,6	2,1 - 13,4	0,3 - 7,4	2,5 - 6,0	3,8 - 6,0	6,2 - 7,0
IPS	83,2 - 92,7	0,1 - 0,5	0,2 - 0,7	1,4 - 4,2	2,4 - 5,6	6,9 - 7,4

(Fonte: HOLT et al. 1999; MORR e FOEGEDING, 1990)

A proteína de soro hidrolisada é o produto resultante da hidrólise das moléculas de proteína, resultando em peptídeos. Quando a hidrólise das proteínas do soro ocorre por via enzimática, permite que o processo ocorra em condições suaves, protegendo assim as suas propriedades nutricionais. Os hidrolisados são mais facilmente digeridos e tem potencial reduzido em termos de alergenicidade, quando comparados com os concentrados e isolados. Geralmente, são empregados em alimentos infantis e para atletas (ANTUNES, 2003; CLEMENTE, 2000; FOEGEDING et al., 2002).

#### 4 APLICAÇÃO DO SORO NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

O soro de leite no Brasil tem sido usado historicamente em bebidas lácteas, produção de ricota e também usado em combinação com leite para produção das misturas lácteas ou "leites modificados" (FARIAS, 2011).

O soro é utilizado em produtos derivados do leite, como o queijo "Ras Cheese", oriundo da coagulação de uma mistura de leite de vaca e leite de búfala, fabricado no Egito (OMAR & ASHOUR, 1981) e uso de creme à base de soro de queijo Cottage como ingrediente na elaboração do mesmo (FAIN et al., 1980). Nos países escandinavos, são tradicionalmente fabricados produtos à base de soro concentrado sob a denominação de queijo de soro em pasta (*Whey Cheese*).

As proteínas do soro têm encontrado uma série de aplicações na indústria de alimentos, incluindo sopas desidratadas, molho para saladas, alimentos infantis, dietéticos e geriátricos, sorvetes, queijos, produtos de panificação, confeitarias, iogurtes, carnes, bebidas lácteas e como suplemento alimentar (HIDALGO e CAMPER, 1977).

Segundo Singleton (1972), o sorvete é o produto lácteo que mais usa soro. Os produtos protéicos do soro de leite têm sido incluídos nas formulações de sorvetes devido à sua contribuição para a qualidade sensorial e de textura do produto, e ainda fonte alternativa de sólidos não gordurosos do leite de baixo custo. Na produção de sorvete as proteínas lácteas atuam como emulsificante e estabilizante, prevenindo a aglomeração dos glóbulos de gordura e permitindo a estabilidade da aeração durante o congelamento. As proteínas do soro de leite são incorporadas em produtos manufaturados ou por sua funcionalidade ou para fortificação e não se espera geralmente que contribuam para o sabor (SILVA et al., 2004).

O enriquecimento dos produtos de panificação com soro de leite confere vantagens a esses produtos como melhoria da textura, realçamento do sabor e cor, melhoria da estabilidade e da capacidade emulsificante, além do aumento do valor nutricional (ZAVAREZA et al., 2010).

A fabricação de bebidas e refrescos a partir do soro integral já tem sido desenvolvida em diversos países há décadas, adicionando-se ao soro, aroma, suco de frutas, grãos de kefir, iogurte, leite desnatado e estabilizante (GODINA, 1974; MANN, 1976). Holsinger et al. (1974) relataram que o soro é usado na produção de diversas bebidas onde são adicionados sucos de frutas, como tomate, morango e pêra, além do uso na produção de bebidas fermentadas não alcoólicas, alcoólicas e com baixo teor de álcool, como exemplo, o champagne, cerveja e vinhos.

Vários trabalhos têm sido conduzidos para utilizar esta econômica fonte protéica, o soro de leite, em produtos cárneos. Na maioria deles são utilizadas proteínas de leite ou do soro em pó. Em geral, a indústria cárnea usa concentrado de proteína de soro, isolado de proteína de soro ou soro em pó, que são mais caros (TERRA et al., 2009). De acordo com Yamauch et al. (1980), os concentrados protéicos do soro podem ser empregados como substitutos da gordura em embutidos. Nas carnes e nos produtos cárneos a solubilidade, hidratação e capacidade de retenção de água são fatores importantes que interferem na textura, suculência e maciez (MENDES, 1998), e estes concentrados possuem características físico-químicas e sensoriais favoráveis para o seu uso em alimentos. Dentre estas, podem ser citadas: boa solubilidade em água; capacidade de transportar pequenas moléculas lipofílicas; ação tensoativa; propriedades geleificantes (KORHONEN, 2002).

Embora já exista uma grande variedade de produtos alimentícios que utilizem derivados protéicos do soro de queijo, novos processos de fracionamento ou isolamento economicamente viáveis deverão contribuir ainda mais para o desenvolvimento de novas aplicações para essas proteínas.

## **5 POLISSACARÍDEOS**

Os polissacarídeos são polímeros de condensação de elevado peso molecular, com dezenas ou mesmo centenas de resíduos de monossacarídeos por cadeia. As unidades de monossacarídeos que os constituem podem ser de natureza básica, neutra ou ácida. Com isso, os polissacarídeos podem apresentar qualquer uma das características mencionadas ou a combinação entre elas (GIL e FERREIRA, 2006).

Na indústria de alimentos são conhecidos como hidrocolóides porque se ligam à água e garantem as propriedades gelificantes, espessantes e emulsificantes dos alimentos nos quais são adicionados. Designam-se por colóides, misturas constituídas por uma fase sólida dispersa numa líquida. São assim, dispersões intermediárias entre as soluções verdadeiras e os sistemas

heterogêneos, onde as partículas dispersas são maiores do que as moléculas, mas não suficientemente grandes para se depositar pela ação da gravidade (GARCIA-CRUZ, 2001).

Esses aditivos alimentares têm função de espessar, estabilizar, encorpar, conferir viscosidade, elasticidade e dar a textura desejada ao alimento produzido (MARUYAMA et al., 2006). Devido aos seus grupos hidrofílico e hidrofóbico conferem maior viscosidade e consistência gelatinosa aos produtos nos quais são adicionados (TONELI et al., 2005). Podem ser utilizados como substituintes de gordura, onde são frequentemente empregados em produtos alimentícios *light*. Também podem ser utilizados como substituintes de açúcar e como fontes de fibras em dietas (MARUYAMA et al., 2006).

Os principais polissacarídeos usados são os naturais (carragenas, gomas arábica, goma aguar, dextrana, goma xantana, alginatos e pectina) e polissacarídeos quimicamente modificados (PAGNO, 2009).

## 5.1 Carragena

As carragenas são um grupo de polissacarídeos naturais que estão presentes na estrutura celular de algas do tipo *Rhodophyceae*. Este tipo de polissacarídeo presente em algas possui características que o diferencia dos polissacarídeos isolados de outros vegetais, como por exemplo, presença de unidades de 3,6- anidrogactose e de grupos sulfato. Trata-se de um polímero de galactose solúvel em água com aplicação na indústria farmacêutica e alimentícia como agente gelificante e estabilizante (SPAGNUOLO et al., 2005).

Têm a particularidade de formar colóides e géis em meios aquosos a concentrações muito baixas. Esses géis são transparentes e termorreversíveis, conseguindo uma ampla variedade de texturas, desde muito elásticas e coesas, até géis firmes e quebradiços, dependendo da combinação de frações que se utiliza. Esta goma, também conhecida como musgo irlandês, tem a propriedade de fazer pontes de hidrogênio com a água, fazendo com que o volume do produto, onde adicionado a carragena, aumente, trazendo vantagens em relação ao custo do produto final (SANTOS et al., 2008).

Quimicamente, as carragenas são poligalactanos, polímeros sulfatados de moléculas alternadas de D-galactose e 3-6 anidro-D- galactose (3,6-AG) unidas por ligações  $\alpha(1-3)$  e  $\beta(1-4)$  glicosídicas. As moléculas de galactose e 3,6-AG encontram-se parcialmente substituídas por grupos sulfato e parcialmente substituídas por grupos sulfato e piruvato, razão pela qual as carragenas apresentam-se geralmente como sais de sódio, potássio ou cálcio. O conteúdo e distribuição dos grupos éster sulfato nessas moléculas são responsáveis pelas diferenças primárias entre os diversos tipos de carragenas. A proporção dessas diferentes frações também varia em função da espécie, do habitat e da época da colheita das algas (GLICKSMAN, 1983).

Os diferentes tipos de carragenas são Lambda, Kappa, Iota, Mu e Nu, das quais, Lambda, Kappa e Iota são as principais. As carragenas do tipo Lambda, Kappa e Iota atuam como agentes espessantes, sendo que as do tipo Lambda podem atuar a quente ou a frio e as do tipo Iota e Kappa, em produtos preparados em altas temperaturas, além de permitirem a obtenção de géis estáveis em água a temperatura ambiente sem necessidade de refrigeração. A posição e o número de grupos de éster sulfato, bem como o conteúdo de 3,6-AG determinam as diferenças primárias entre os tipos de carragena Kappa, Iota e Lambda. Maiores níveis de éster sulfato implicam em menor força de gelificação e baixa temperatura de solubilização (TONELI et al., 2005).

Em pH neutro ou alcalino, a solução de carragena é bastante estável. Entretanto, valores de pH baixos afetam a sua estabilidade, especialmente a altas temperaturas. A diminuição do pH causa a hidrólise do polímero da carragena resultando na diminuição da viscosidade e da força de gelificação. Entretanto, uma vez formado o gel, mesmo a pH baixos (3,5 a 4,0) não

há mais ocorrência da hidrólise e o gel permanece estável (SANTOS, 2008).

A carragena é um ingrediente alimentar bem estabelecido, com um amplo número de aplicações devido às suas propriedades físico-químicas. Confere estabilidade, corpo e diminuição da atividade de água quando adicionadas a produtos lácteos, cárneos, sorvetes, entre outros. Possui amplo histórico de emprego em laticínios, uma vez que interage de forma muito favorável com as proteínas do leite. A mais específica propriedade da carragena como hidrocolóide é seu alto grau de reatividade com certas proteínas e sua reatividade com proteína de leite em particular, que é a base para um grande número de aplicações de carragena em alimentos. Essa reação entre caseína e carragena, chamada “reatividade do leite”, torna possível a suspensão de chocolate e outras partículas em leite, com o uso de pequenas quantidades de carragena (0,025%), formando um delicado gel. Além disso, permite uma resistência ao corte e à mordida, conferindo firmeza e resistência ao produto final (BALDASSO, 2004; BELLAVITA e GUANANJA, 1999; SPAGNUOLO et al., 2005).

## 5.2 Pectina

As substâncias pécticas são macromoléculas glicosídicas de alto peso molecular que formam o maior componente da lamela média, uma fina camada de material extracelular presente entre as paredes primárias de células de vegetais superiores. As substâncias pécticas são classificadas em protopectina, ácido pectínico, ácido péctico e pectina, sendo estes três últimos total ou parcialmente solúveis em água. Quimicamente, são um complexo coloidal de polissacarídeos ácidos, composto de resíduos de ácido galacturônico unidos por ligações  $\alpha$ -1,4, parcialmente esterificados por grupos metil éster e parcial ou completamente neutralizadas por uma ou mais bases (íons sódio, potássio ou amônio). Ao contrário das proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos, as substâncias pécticas não possuem massa molecular definida, variando de 25 a 360 kDa (RIDLEY et al., 2001; UENOJO e PASTORE, 2007).

O termo geral pectina designa ácidos pectínicos solúveis em água, com grau variável de grupos metil éster e um grau de neutralização capaz de formar gel com açúcares e ácidos em condições adequadas. Consiste em uma estrutura de ligações axiais de unidades de ácido  $\alpha$ -1, 4-D-galacturônico e contém moléculas de L-ramnose, arabinose, galactose e xilose como correntes laterais (UENOJO e PASTORE, 2007).

A pectina purificada foi primeiramente extraída do bagaço de maçãs e mais tarde das frutas cítricas. Atualmente, é extraída da casca das frutas cítricas e da maçã por hidrólise ácida à quente seguida de precipitação alcoólica ou alcalina. A seguir é submetida à purificação, secagem, moagem e homogeneização. O controle das fases do processo de extração permite a obtenção da pectina sob duas formas: Pectinas de alto teor de metoxilas (ATM), com grau de esterificação maior que 50% e; Pectinas de baixo teor de metoxilas (BTM), com grau de esterificação menor que 50% (BALDASSO, 2004; WILLATS et al., 2006).

A pectina ATM forma géis com conteúdo de sólidos solúveis acima de 55% e pH de 2,0 a 3,5. Este gel se estabiliza por interações hidrofóbicas do grupo éster metílico e por formação de pontes de hidrogênio intermoleculares. O pH ácido provoca a protonação dos grupos carboxílicos, diminui a repulsão eletrostática entre as cadeias e aumenta a formação de pontes de H. A adição de um sólido solúvel (como a sacarose), diminui a atividade de água, diminuindo a disponibilidade de água livre para solvatar o polissacarídeo, aumentando as interações hidrofóbicas entre os grupos éster metílicos. O gel ATM pode ser utilizado em geléias com pedaços ou poupa de frutas, iogurte líquido, sucos concentrados, bebidas lácteas acidificadas, sorvetes de frutas, entre outros (BALDASSO, 2004).

Para a formação de géis, a pectina BTM necessita de sais de cálcio solúveis que podem estar presentes nas frutas, no leite ou podem ser adicionadas como soluções diluídas

de fosfato, cloreto. O gel de pectina BTM se estabiliza por interações entre os grupos carboxílicos e íons divalentes, como o cálcio. Esta pectina não necessita de açúcar para geleificar, porém a adição de 10 a 20% melhora a textura do gel, tornando mais elástico e menos frágil. A pectina BTM pode ser utilizada em geléias de baixo teor de sólidos (15-60%), geléias dietéticas, iogurtes, doces de leite, entre outros (BALDASSO, 2004).

As pectinas têm a capacidade de formar géis, sob certas circunstâncias, o que faz delas um importante aditivo em geléias, marmeladas e na indústria confeitaria. O comprimento da cadeia e a natureza química das zonas de conexão das moléculas de pectina influenciam diretamente nas condições de formação do gel e na sua força. Sob condições iguais, a força do gel aumenta com o aumento do peso molecular da pectina e qualquer tratamento que despolimerize as cadeias de pectina refletirá em géis mais fracos. As pectinas têm pouco uso como espessantes devido à sua baixa capacidade em formar soluções viscosas, quando comparadas com outros biopolímeros na indústria de alimentos (TONELI et al., 2005).

A pectina é um dos espessantes mais economicamente viáveis do mercado uma vez que apresenta baixo custo de obtenção (MARUYAMA et al., 2006). Outra característica favorável da pectina é o seu valor dietético e nutritivo, além de estimular a saliva e ajudar aos movimentos peristálticos do intestino (BALDASSO, 2004).

### 5.3 Goma Arábica

A goma arábica ou goma acácia é usada há mais de 5.000 anos, sendo conhecida desde os antigos egípcios. É a mais antiga e a mais conhecida das gomas naturais. A goma arábica é o exsudado gomoso dessecado dos troncos e dos ramos de *Acacia senegal* ou de outras espécies africanas de acácia. Caracteriza a goma vegetal mais utilizada pois além de espessante, é também um ótimo estabilizante de emulsões (BARUFFALDI, 1998).

É classificada como um complexo arabinogalactano e tem em média um peso molecular entre 300 e 800 kDa. Sua composição é 95% de polissacarídeos em base seca e de 1% a 2% de diferentes proteínas. Além disso, contém substâncias associadas, como polifenóis e minerais em cerca de 3% a 4%. A fração polissacarídica é composta por uma cadeia linear de galactose  $\beta$ -1,3 ligadas que é ramificada na posição 1,6 com cadeias de galactose e arabinose. Ramnose, unidades de ácido glucurônico ou ácido metilglucurônico são encontrados nas extremidades das cadeias. A goma arábica é constituída principalmente por arabina, mistura complexa de sais de cálcio, magnésio e potássio do ácido arábico (WHISTLER e DANIEL, 1997).

A goma arábica dissolve facilmente em água, gerando soluções claras que variam da coloração amarelo muito pálido para laranja dourado. A estrutura altamente ramificada da goma dá origem às moléculas compactas, com volume hidrodinâmico relativamente pequeno e, conseqüentemente, as soluções de goma tornam-se viscosas somente a altas concentrações. Os três grandes campos de aplicação da goma arábica na indústria de alimentos são: confeitos, emulsão de aromas em bebidas e encapsulamento de aromas. A goma arábica é também um ingrediente bi-funcional, além de suas propriedades funcionais como espessante e estabilizante, possui efeito prébiótico no organismo humano (HEBBEL, 1979).

É um espessante bastante caro, emulsionante e texturante. Na indústria de bebidas esta goma funciona como estabilizante de emulsões e espumas, e como fixador de aromas. Nas docerias é usada em confeitos e em gomas tipo *marshmallow* como estabilizador de espuma. Evita a cristalização do açúcar nos produtos de confeitaria e evita a absorção excessiva de umidade dos recheios e de coberturas. Constantemente é usada juntamente com outros tipos de polissacarídeos, devido ao fato de apresentar baixa viscosidade quando em pequenas concentrações. A goma arábica por sua fácil e rápida solubilidade em água facilita a

reconstrução de produtos desidratados e concentrados (HEBBEL, 1979; WHISTLER e DANIEL, 1997).

#### 5.4 Goma Xantana

A goma xantana é um polissacarídeo sintetizado pela bactéria fitopatogênica *Xanthomonas campestris*. Apresenta-se com uma estrutura primária composta de repetidas unidades pentassacarídicas. É constituída, normalmente, de unidades de  $\beta$ -D-glicose unidas por ligação 1-4, formando a cadeia principal celulósica; na posição C(3) de cada resíduo de glicose alternada existe uma cadeia lateral trissacarídica contendo unidades de  $\beta$ -D-manose-1,4- $\beta$ -D-ácido glicurônico-1,2- $\alpha$ -D-manose, podendo apresentar na posição C(6) da  $\alpha$ -D-manose interna grupos O-acetil e na  $\beta$ -D-manose terminal substituinte 4,6-ácido pirúvico (JANSSON et al., 1975; SLONEKER e JEANES, 1962).

A FDA (*Food and Drug Administration*) aprovou seu uso em 1969, sendo aplicado a inúmeros produtos em diferentes segmentos industriais, entre eles, alimentos, fármacos, cosméticos químico e petroquímico, o que se deve principalmente a suas propriedades reológicas que permitem a formação de soluções viscosas a baixas concentrações (0,05-1,0%), e estabilidade em ampla faixa de pH e temperatura. Na indústria alimentícia, esse polímero tem sido o mais utilizado no Brasil e no mundo (FONTANIELLA et al., 2002; MEYER et al., 1993; NAVARRETE et al., 2001; SCAMPARINI et al., 2000; SUTHERLAND e KENNEDY, 1996).

A xantana é solúvel em água fria ou quente, exibindo alta viscosidade até mesmo em baixas concentrações (JEANES, 1974; ROCKS, 1971). Funciona muito bem como estabilizante em produtos à base de água, possui boa solubilidade. No entanto, é altamente higroscópica. Possui comportamento pseudoplástico quando em solução, torna-se rala quando sobre ela é aplicada força de cisalhamento (BALDASSO, 2004; PAGNO, 2009).

A viscosidade das soluções de xantana é muito estável em termos de variações no pH, temperatura e força iônica (ROCKS, 1971). A estabilidade quanto às variações de pH depende da concentração: quanto maior a concentração, maior a estabilidade da solução (PETTITT, 1982). A goma xantana é também estável em ampla faixa de temperatura (10°C a 90°C) e a viscosidade é pouco afetada na presença de sais. Após a esterilização (120°C/30 min) de produtos alimentícios contendo diferentes gomas, apenas 10% da viscosidade é perdida em produtos que contêm a goma xantana, redução inferior a observada nos produtos que contêm outros hidrocolóides, como a goma guar, alginato e carboximetilcelulose (URLACHER e DALBE, 1992).

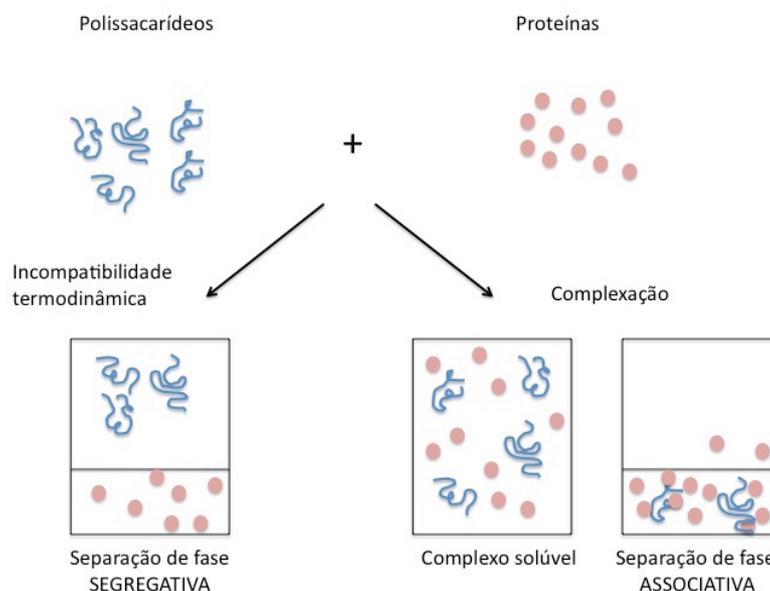
As operações de bombeamento na fase de produção do alimento são facilitadas pelo seu comportamento pseudoplástico, fazendo com que produtos como, cremes para saladas fluam com facilidade de um frasco ou garrafa. Por isso, é utilizada na fabricação de molhos para saladas, bebidas, geléias, produtos cárneos, enlatados, e sopas (BALDASSO, 2004).

De uma forma geral, na literatura é citado que as soluções de goma xantana, comparativamente a outros polímeros, são resistentes à degradação pelo calor, mantêm-se a elevadas temperaturas por prolongados períodos de tempo, sem nenhuma grande alteração de viscosidade.

## 6 INTERAÇÃO ENTRE PROTEÍNAS E POLISSACARÍDEOS

Segundo Schmitt e Turgeon (2010), a formação de complexos eletrostáticos e coacervados entre proteínas e polissacarídeos ocorre naturalmente em vários sistemas, gerando uma grande variedade de funções biológicas nos sistemas biopoliméricos.

Existem dois tipos diferentes de interações que podem ocorrer quando proteínas e polissacarídeos são misturados juntos em um sistema aquoso: incompatibilidade termodinâmica e compatibilidade termodinâmica, como mostra a Figura 5. Estas interações dependem, principalmente, das cargas elétricas dos biopolímeros e dos fatores que influenciam o sistema, como pH e força iônica (TOLSTOGUZOV, 2003).



**Figura 5.** Representação esquemática do comportamento de misturas de polissacarídeos e proteínas. (Fonte: Adaptado de Tolstoguzov, 1991).

Em geral, a incompatibilidade termodinâmica, também conhecida como separação de fase segregativa, ocorre em elevadas concentrações e forças iônicas, quando ambas as moléculas estão carregadas eletricamente de forma similar, resultando em uma repulsão eletrostática entre as moléculas. Neste caso, ocorre a formação de duas fases diferentes, uma rica em proteína e outra rica em polissacarídeos (TOLSTOGUZOV, 2007).

A compatibilidade termodinâmica, também conhecida como separação de fase associativa ou coacervação complexa, normalmente acontece a baixas concentrações e forças iônicas, no momento em que as moléculas estão com cargas elétricas opostas (TOLSTOGUZOV, 2007). Isso ocorre em uma faixa de pH localizada entre o ponto isoelétrico da proteína (pI) e o  $pK_a$  do polissacarídeo (TOLSTOGUZOV, 1997). Sob essas condições, as moléculas são espontaneamente atraídas umas pelas outras e há formação de duas fases, uma delas rica em proteína e polissacarídeo e a outra isenta desses biopolímeros, mas rica em solvente. A proteína e o polissacarídeo estão unidos na fase rica em biopolímeros pela força eletrostática e podem tomar a forma de um coacervado ou um precipitado (TOLSTOGUZOV, 2007).

Desta forma, pode-se verificar que diferentes estruturas podem ser formadas pela interação associativa eletrostática entre proteína e polissacarídeo, dependendo principalmente da afinidade de ligação proteína-polissacarídeo, da densidade de carga das moléculas e da conformação molecular: os coacervados (líquidos *in natura*); os complexos (complexos interpoliméricos ou co-precipitados, solúveis ou insolúveis) e; os géis (rede estabilizada por interações eletrostáticas) (LESER e DICKINSON, 2007).

O coacervado é um material viscoelástico super concentrado, rico em polímero, que se mantém em equilíbrio com o sobrenadante. O complexo solúvel é formado em valor de pH acima do ponto isoelétrico (pI) da proteína. Quando o pH for maior que o pI, a maioria dos

grupos da proteína estão carregados negativamente, mas alguns fragmentos ainda estão carregados positivamente. Os “fragmentos peptídicos” estão carregados positivamente e podem interagir com o polissacarídeo carregado negativamente, formando um coacervado complexo fraco que não precipita. Já o complexo interpolimérico (precipitado) é formado quando a distância entre as cargas dos polieletrólitos é tão grande que acaba causando uma precipitação (KLEIN et al., 2010; SINGH et al., 2007).

No caso de polieletrólitos fortes, a formação de complexos proteína-polissacarídeo e coacervados é impulsionado principalmente pela redução favorável na energia eletrostática livre total do sistema devido à liberação de contra-íons sobre a formação do complexo. Para polieletrólitos mais fracos, parece que uma redução mais favorável da entalpia devido à atração eletrostática representa a força necessária para a formação do complexo. Portanto, a energética da formação do complexo tem sido descrita, principalmente, por ser conduzida pela entalpia do sistema (SCHMITT e TURGEON, 2010).

Na maioria dos casos, os complexos formados entre proteínas e polissacarídeos são provenientes de interações eletrostáticas de cargas opostas. Para reduzir ainda mais a energia livre do sistema, estes complexos solúveis se agregam até que o seu tamanho e propriedades de superfície levem a insolubilização. Então, uma separação de fase macroscópica do tipo líquido-líquido ocorre, gerando discretas gotículas líquidas de coacervado que coexistem com uma fase diluída. Em um equilíbrio termodinâmico, um sistema de duas fases é obtido através de uma fase de coacervado coexistindo com uma sub-fase rica em solvente (SCHMITT e TURGEON, 2010).

Existem diversos métodos de caracterização do processo de coacervação complexa, mas deve-se observar que o método empregado depende dos poli-íons envolvidos. A turbidimetria apresenta como principal vantagem o baixo custo, uma vez que pode ser executada com equipamentos facilmente encontrados na maioria dos laboratórios (KOH e TUCKER, 1988).

## **6.1 Parâmetros que afetam a interação eletrostática entre proteínas e polissacarídeos**

Outra consequência da formação dos complexos ser conduzida eletrostaticamente é que vários parâmetros físico-químicos que influenciam a carga global e local das proteínas desempenham um papel importante no controle deste fenômeno. Os parâmetros principais são pH, força iônica, a relação proteína/polissacarídeo e a concentração de biopolímero total. Alguns parâmetros como peso molecular e flexibilidade do biopolímero, densidade de carga, agitação, pressão ou temperatura têm sido mostrados que também influenciam a formação do complexo (SCHMITT e TURGEON, 2010).

### **6.1.1 Relação de proteína/polissacarídeo e concentração molecular**

Alguns estudos demonstraram que a proporção da mistura proteína-polissacarídeo gera um grande efeito nas características dos complexos formados, principalmente no tamanho dos complexos, composição e viscosidade em solução (WEINBRECK et al., 2004; LANEUVILLE et al., 2005; GANZEVLES et al., 2007; TURGEON et al., 2007; WANG et al., 2007). Em baixas proporções, somente complexos intrapoliméricos são formados (WANG et al., 2000), enquanto que em altas proporções, o volume dos coacervados ou complexos interpoliméricos é aumentado.

A estrutura dos complexos ou coacervados é influenciada pela proporção da mistura. Em baixas proporções da mistura são formados coacervados pequenos e que coalescem rapidamente em coacervados maiores. Já em altas proporções, os coacervados não coalescem tão rapidamente (SCHMITT et al., 2001). No caso dos complexos, proporções pequenas da

mistura também formam complexos pequenos, entretanto, em uma mistura de alto teor protéico, os complexos grandes formados possuem um excesso de forma protéica (LANEUVILLE et al., 2005).

A complexação eletrostática pode ocorrer em uma larga faixa de concentração biopolimérica, começando em concentrações extremamente baixas (se a força iônica for baixa o suficiente), quando comparada com a concentração necessária na separação de fase segregativa (TOLSTOGUZOV, 1986). Entretanto, em altas concentrações ocorre uma auto-supressão das interações, pelo fato de que a coacervação complexa é influenciada por fatores entrópicos (BURGESS, 1994; LI et al., 1994).

### **6.1.2 pH, força iônica e densidade de carga**

Os processos de coacervação e complexação são muito influenciados por fatores que modificam a densidade de carga elétrica das moléculas, como pH e força iônica, uma vez que são de natureza eletrostática (BURGESS e CARLESS, 1984; MATTISON et al., 1995; WANG et al., 1999; WEINBRECK et al., 2003).

Os contraíons presentes nos grupamentos carregados das proteínas e dos polissacarídeos reduzem suas densidades de carga e com isso, a força de interação entre eles. A força da interação é proporcional ao número de grupamentos carregados. Por exemplo, quanto mais moléculas carregadas, mais fortes são os complexos formados (GIRARD et al., 2002), embora a distribuição de carga também exerça um papel importante. De acordo com Wang et al. (2007a) e Laneuville (2007), um pequeno aumento na força iônica da mistura já pode trazer efeitos benéficos como a formação de coacervado com maiores conteúdos de proteína e polissacarídeo, ou formação de gel estável.

A densidade de carga também pode ter um papel importante no tipo de estrutura formada. Alguns estudos demonstraram que em densidades de carga bem baixas a coacervação não ocorre, e por outro lado, em densidades de carga muito altas, ocorre a precipitação de complexos interpoliméricos (WANG et al., 1999, 2000).

A natureza do grupamento carregado eletricamente também influencia na força das interações. Por exemplo, determinadas proteínas interagem mais fortemente com polissacarídeos que contêm grupamentos sulfônicos e até mesmo acima do pI destas proteínas quando comparados com polissacarídeos que possuem somente grupamentos carboxílicos, que interagem fortemente com as proteínas somente abaixo dos seus pI (TERAMOTO et al., 1999).

## **6.2 Propriedades funcionais dos complexos poliméricos**

A formação de complexos coacervados tem por finalidade melhorar as características funcionais dos biopolímeros de origem. A potencialidade de aplicação ocorre do fato que certas propriedades do complexo apresentam-se superiores em relação aos materiais de partida isolados (CAMILO, 2007; SCHMITT et al., 1998).

A interação que ocorre entre proteínas e polissacarídeos exerce influência direta sobre as propriedades macroscópicas dos alimentos, tais como fluidez, estabilidade e textura, por isso, são muito utilizados pelas indústrias alimentícias (TOLSTOGUZOV, 2003). Devido às suas estruturas específicas, tamanho e composição, os complexos proteína-polissacarídeo e os coacervados estão exibindo uma ampla gama de propriedades funcionalidades úteis para o desenvolvimento de produtos alimentares complexos (SCHMITT e TURGEON, 2010).

Com a adição de misturas de proteínas e polissacarídeos em condições que favoreçam a separação de fases ocorre uma alteração no perfil de solubilidade das proteínas de forma diferente, dependendo das características biopolímero-biopolímero e biopolímero-solvente. A

solubilidade é altamente dependente da carga de superfície total dos complexos formados, que se relaciona com o nível de hidrofobicidade da superfície, a proporção de biopolímeros e as condições do solvente. Em geral, polissacarídeos altamente carregados, baixos níveis de hidrofobicidade de superfície ou misturas de biopolímeros longe de suas relações de equivalência elétrica, podem exercer uma carga líquida negativa global sobre os complexos formados a fim de melhorar sua solubilidade em relação à proteína isolada (principalmente no seu pI) (LIU et al., 2010).

O comportamento reológico dos sistemas contendo proteínas e polissacarídeos tem sido estudado e demonstrou-se que as propriedades variaram de viscosa a viscoelástica, sendo que alguns sistemas apresentaram até mesmo comportamento elástico. Efetivamente, condições que resultaram na hidratação de complexos interpoliméricos e coacervados mostraram um aumento na viscosidade e que as propriedades dependem da natureza polissacarídica. Como as principais interações entre proteínas e polissacarídeos são eletrostáticas, a proporção proteína-polissacarídeo, o pH e a força iônica são fatores importantes do comportamento reológico de complexos e coacervados. A viscosidade máxima foi relatada em condições de neutralização de cargas. Se estiverem no sistema polieletrólitos fortes e perto do ponto isoelétrico da proteína, estes serão submetidos a fortes forças atrativas intermoleculares. Com isso, haverá uma diminuição da capacidade de hidratação do sistema e conseqüente diminuição da viscosidade (SCHMITT e TURGEON, 2010).

Alguns dos sistemas contendo misturas de proteína e polissacarídeo tem mostrado propriedades gelificantes. Atualmente já se sabe do efeito da interação de um polissacarídeo no comportamento reológico de alimentos constituídos basicamente de proteína e vários exemplos podem ser encontrados na indústria de laticínios. A força das interações associativas modulam a capacidade de reconstituição do gel, importante no caso de um iogurte batido (SCHMITT e TURGEON, 2010).

Os complexos coacervados combinam as propriedades físico-químicas e funcionais das macromoléculas que os constituem, especialmente seu caráter hidrofóbico/hidrofílico. Por isso, estes complexos podem ser usados como ingredientes para estabilizar interfaces água/óleo ou óleo/água em uma variedade de sistemas alimentícios complexos. Além disso, devido às notáveis propriedades interfaciais, os complexos são valiosos ingredientes na produção de microcápsulas ou diferentes tipos de emulsões (simples, múltipla, camada por camada, etc.), com o objetivo de encapsular ou proteger compostos sensíveis. A utilização do processo de coacervação complexa por meio desta técnica é bem adaptada para a indústria de alimentos, uma vez que não usa solventes orgânicos, nem temperaturas drásticas (SCHMITT e TURGEON, 2010).

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAIS, C. Science du lait. Paris: SEPAIC; 1984.

ANTUNES, A. J. **Funcionalidade de proteínas do soro de leite bovino**, 1ª. ed., Editora Manole Ltda., 2003. Editora Manole Ltda., 2003.

BALDASSO, C. **Concentração e purificação das proteínas do soro lácteo através da tecnologia de separação por membranas**. 2008. 163 f. Dissertação (mestrado) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

BALDASSO, C.; MARTINS, S.; SANGIOVANNI, P. Espessantes. Universidade Federal do

Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M. N. Fundamentos de Tecnologia de Alimentos. Vol.3. Ed. Atheneu. São Paulo, 1998.

BEHMER, M. L. A. Tecnologia do leite. 13ed. São Paulo: Ed. Nobel, 1984. 320p.

BELLAVITA, R.; GUANANJA, G. Carragenina con nuevas propiedades: La alternativa vegetal de la gelatina. Revista Ênfasis Alimentacion, Argentina, Ano 5, n. 4, p. 42-43, abr. 1999.

BORGES, P. F. Z.; SGARBIERI, V. C.; DIAS, N. F. G. P.; JACOBUCCI, H. B.; PACHECO, M. T. B.; BALDINI, V. L. S. Produção Piloto de Concentrados de Proteínas de Leite Bovino: Composição e Valor Nutritivo. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas: ITAL, v. 4, n. 52, p. 1-4, 2001.

BOSCHI, J. R. **Concentração e Purificação das Proteínas do Soro de Queijo por Ultrafiltração**. 2006. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

BRANS, G.; SCHRO, C. G. P. H.; VAN DER SMAN, R. G. M.; BOOM, R. M. Membrane fractionation of milk: state of the art and challenges. **J. Memb. Sci.**, Amsterdam, v. 243, p. 263-272, 2004.

BULLERMAN, L. B., BERRY, E. C. Use of cheese whey for vitamin B12 production. **Applied Microbiology**, v. 14, p. 353-355, 1966.

CAMILO, K. F. B. Complexo pectina/caseína: aspectos básicos e aplicados. 2007. 147 f. Tese de doutorado – USP, Ribeirão preto, SP, 2007.

CÂNDIDO, L. M. B. Obtenção de concentrados e hidrolisados protéicos de Tilápia do **Nilo (*Oreochromis niloticus*): composição, propriedades nutritivas e funcionais**. 1998. 207 f. Tese de doutorado - UNICAMP/FEA, Campinas, 1998.

CARVALHO, I. C., HUHN, S., Distribuição de nitrogênio no leite e índice de caseína. **Anais do V Congresso Nacional de Laticínios**, p. 49-58, 1999.

CHATTERTON, D. E. W. et al. Bioactivity of  $\beta$ -lactoglobulin and  $\alpha$ -lactalbumin – Technological implications for processing. **International Dairy Journal**, Barking, v. 16, p. 1229-1240, 2006.

CLEMENTE, A. Enzymatic protein hydrolysate in human nutrition. **Trends in Food Science and Technology**, v. 11, p. 254-262, 2000.

COFFIN, D. R.; FISHMAN, M. L. Films fabricated from mixtures of pectin and Poly(vinyl alcohol) U. S. Patent 5,646,206, 1997.

DAY, C. E.; KUHRTS E. H. Method and composition for reducing serum cholesterol. U. S. Patent 4,824,672, 1989.

DE LA FUENTE, M. A., HEMAR, Y., TAMEHANA, M., MUNRO, P. A., SINGH, H.,

Process- induced changes in whey proteins during the manufacture of whey protein concentrates, **International Dairy Journal**, v. 12, p. 361-369, 2002.

DE WIT, J. N. Functional Properties of Whey Proteins. In: *Developments in Dairy Chemistry-4*, cap. 8, p. 285-321, London: Elsevier Applied Science, 1989.

DE WIT, J. N. Nutritional and functional characteristics of whey proteins in food products. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 597-608, 1998.

DOUCET, D.; GAUTHIER, S. F.; FOEGEDING, E. A. Rheological characterization of a gel formed during extensive enzymatic hydrolysis. **Journal of Food Science**, v. 66, p. 711-715, 2001.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Produção Mundial de Queijos 200/2008. Disponível em: <<http://www.cnpqgl.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/industria/tabela0423.php>> Acesso em: 30 mar. 2011.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Instrução técnica para o produtor de leite n.44/2006. Soro de queijo “in natura” na alimentação do gado de leite. Disponível em: <<http://www.cileite.com.br/sites/default/files/44Instrucao.pdf>> Acesso em: 10 set. 2011.

FAO/WHO – Food and Agriculture Organization of United Nations/World Health Organization. Human Vitamin and Mineral Requirements. Food and Nutrition Division. Bangkok, Thailand, 2001.

FAIN, J. R.; LOEWENSTEIN, M.; SPECK, S. J.; BARNHART, H. M.; FRANK, J. F. Cottage cheese whey derivatives as ingredients of cottage cheese creaming mixes. **Journal of Dairy Science**, v. 63, n. 6, p. 905-911, 1980.

FARIAS, O. A. C. Soro de Leite em Pó: Brasil caminha para autossuficiência. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/mercado/espaco-aberto/soro-de-leite-em-po-brasil-caminha-para-autossuficiencia-71038n.aspx>> Acesso em: 5 out. 2011.

FENNEMA, O.R. **Química de los alimentos**. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 2000. 1258p.

FISHMAN, M. L.; COFFIN, D. R. Films fabricated from mixtures of pectin and starch. U. S. Patent 5,451,673, 1995.

FOEGEDIND, E. A.; DAVIS, J. P.; DOUCET, D.; MCGUFFEY, M. K. Advances in modifying and understanding whey protein functionality. **Trends in Food Science & Technology**, v. 13, p. 151-159, 2002.

FONTANIELLA, B.; RODRÍGUES, C. W.; PIÑÓN, D.; VICENTE, C.; LEGAZ, M. E. Identification of xanthans isolated from sugarcane juices obtained from scalded plants infected by *Xanthomonas albilineans*. *Journal of Chromatography B*, v. 770, p. 275-81, 2002.

GALANI, D.; APENTEN, R. K. O. Heat-induced denaturation and aggregation of  $\beta$ -Lactoglobulin: kinetics of formation of hydrophobic and disulphide-linked aggregates. **Int. J. Food Sci. Technol.**, v. 34, p. 467-476, 1999.

GANZEVLES, R. A.; COHEN STUART, M. A.; VAN BOEKEL, M. A. J. S.; DE JONGH, H. H. J. Manipulation of adsorption behaviour at liquid interfaces by changing protein/polysaccharide electrostatic interactions. *In: Food Colloids: Self-assembly and material science*. p. 195-208. Leser, M. E. and Dickinson, E. (ed). Royal Society of Chemistry, Cambridge.

GARCIA-CRUZ, C. H. Uso de hidrocolóides em alimentos: revisão. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, n. 87, p. 19-29, 2001.

GIL, M. H.; FERREIRA, P. Polissacarídeos como biomateriais. *In: Química*, 100, p. 72-74, 2006.

GIRARD, M.; TURGEON, S. L.; GAUTHIER, S. F. Interbiopolymer complexing between b-lactoglobulin and low- and high-methylated pectin measured by potentiometric titration and ultrafiltration. *Food Hydrocolloids*, v. 16, n. 6, p. 585-591, 2002.

GLICKSMAN, M. The role of hydrocolloids in food processing - cause and effect. *In: Gums and stabilisers for the food industry*. Oxford: Pergamon Press, 1983. v. 2, p. 297-320.

GODINA, A. L. Proteínas de origem láctea em preparados alimentícios. *Via Láctea*, v. 25, n. 21, 1974.

HEBBEL, H. S. Aditivos y Contaminantes de Alimentos. Ed. Fundacion Chile. Santiago-Chile. 1979.

HIDALGO, J.; CAMPER, E. Solubility and heat stability of whey protein concentrates. **Journal of Dairy Science**, v. 60, n. 1515, 1977.

HOLSINGER, V. H.; POSATI, L. P.; DEVILBISS, E. D. Whey beverages: A review. **Journal of Dairy Science**, v. 57, p. 849-859, 1974.

HOLT, C.; MCPHAIL, D.; NEVISON, I.; NYLANDER, T.; OTTE, J.; IPSEN, R. H.; BAUER, R.; OGENDAL, L. OLEIMAN, K.; DE KRUIF, K. G.; LÉONIL, J.; MOLLÉ, D.; HENRY, G.; MAUBOIS, J-L; PÉREZ, M. D.; PUYOL, P.; CALVO, M.; BURY, S. M.; KONTOPIDIS, G.; MCNAE, I.; SAWYER, L.; RAGONA, L.; ZETTA, L.; MOLINARI, H.; KLARENBEEK, B.; JONKMAN, M. J.; MOULIN, J.; CHATTERTON, D. Apparent chemical composition of nine commercial or semi-commercial whey protein concentrates, isolates and fractions. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 34, p. 543-556, 1999.

HUDSON, H. M.; DAUBERT, C. R.; FOEGEDING, E. A. Rheological and physical properties of derivitized whey protein isolate powders. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 3112-3119, 2000.

HUFFMAN, L. M.; HARPER, W. J. Maximizing the value of milk through separation technologies. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2238-2244, 1999.

IAMETTI, S.; DE GREGORI, B.; VECCHIO, G.; BONOMI, F. Modifications occur at different structural levels during the heat denaturation of  $\beta$ -lactoglobulin. **Eur. J. Biochem.**, v. 237, p.106-112, 1996.

- JANSSON, P. E.; KENNE, L.; LINDBERG, B. Structure of the extracellular polysaccharide from *Xanthomonas campestris*. **Carbohydrate Research**, v. 45, p. 275-282, 1975.
- JEANES, A. Extracellular microbial polysaccharides – New hydrocolloids of interest to the food industry. **Food Technology**, v. 28, n. 5, p. 34-38, 1974.
- JUDD, P. A.; TRUSWELL, A. S. Comparison of the effects of high and low methoxyl pectins on blood and faecal lipids in man. **Br. J. Nutri.**, v. 48, p. 451-458, 1982.
- KAKALIS, L. T.; REGENSTREIN, J. M. Effect of pH and salts on the solubility of egg white protein. **Journal of Food Science**, v. 51, n. 6, p. 1445-1455, 1986.
- KIM, J.C. Milk protein/stainless steel interaction relevant to the initial stage of fouling in thermal processing. **Journal of Food Process Engineering**, v. 21, n. 5, p. 369-386, 1998.
- KLEIN, M.; ASERIN, A; ISHAI, P. B.; GARTI, N. Interactions between whey protein isolate and gum Arabic. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 79, p. 377-383, 2010.
- KOH, G. L. & TUCKER, I. G. Characterization of sodium carboxy-methylcellulose-gelatin complex coacervation by viscosity, turbidity and coacervate wet weight and volume measurements. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 40, p. 233-236, 1988.
- KORHONEN, H. Technology option for new nutritional concepts. **International Journal of Dairy Technology**, v. 55, p. 79-88, 2002.
- KORHONEN, H.; PHILANTO-LEPPÄLÄ, A.; RANTAMÄKI, P.; TUPASELA, T. The functional and biological properties of whey proteins: prospects for the development of functional foods. **Agricultural and Food Science in Finland**, v. 7, p. 283-296, 1998.
- LANGERDORFF, V.; CUVELIER, G.; LAUNAV, B.; MICHIN, C.; PARKER, A.; KRUIF, C. G. Casein micelle/iota carragenan interactions in milk: influence of temperature. **Food Hydrocolloids**, v.13, n.1, p. 211-218, 1999.
- LESER, M. E.; DICKINSON, E. Food Colloids: Self-assembly and material science. Ed. Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 2007.
- LORIENT, D. **Les propriétés fonctionnelles: interface entre propriétés physique, physico-chimique et sensorielle**. In: Lorient D, Colas B, Le Meste M (eds) Propriétés Fonctionnelles des Macromolécules Alimentaires. Ecole Nationale Supérieure de Biologie Appliquée a la Nutrition et a l'Alimentation, Dijon, p.1-7, 1988.
- LUCARINI, A. C.; KILIKIAN, B. V.; PESSOA, A. Precipitação in: Purificação de produtos biotecnológicos, Barueri, Manole, cap. 5, p. 89-113, 2005.
- MANN, E. J. Whey utilization. Part 1. **Dairy Industries International**, v. 7, n. 21, 1976.
- MANN, B.; MALIK, R. C. Studies on some functional characteristics of whey protein polysaccharide complex. **Journal of Food Science and Technology**, v. 33, n. 3, p. 202-6, 1996.

MARUYAMA, L. Y.; CARDARELLI, H. R.; BURITI, F. C. L.; SAAD, S. M. I. Textura instrumental de queijo *petit-suisse* potencialmente probiótico: influência de diferentes combinações de gomas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v, 26, p. 386-393, 2006.

MATHUR, B. N.; SHAHANI, K. M. Use of total whey constituents for human food. **J. Dairy Sci.**, v. 62, n. 1, p. 99-105, 1979.

MATTHEWS, M. E. Whey protein recovery processes and products. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 67, n. 11, p. 2680-2692, 1984.

MATTISON, K. W.; BRITAIN, I. J.; DUBIN, P. L. Protein-polyelectrolyte phase boundaries. **Biotechnology Progress**, v. 11, p. 632-637, 1995.

MENDES, A. C. R. Propriedades funcionais das proteínas: sua importância e aplicabilidade em produtos alimentícios. **Higiene Alimentar**, v. 12, n. 56, 1998.

MESSENS, W.; VAN CAMP, J.; HUYGHEBAERT. The use of high pressure to modify the functionality of food proteins. **Trends in Food Science & Technology**. v. 8, p. 107-112, 1997.

MEYER, E. L.; FULLER, G. G.; CLARK, R. C.; KULICKE, W. M. 1993. Investigation of xanthan gum solution behavior under shear-flow using rheoptical techniques. **Macromolecules**, v. 26, n. 3, p. 504-511.

MINE, Y. Effect of pH during the dry heating on the gelling properties of egg white proteins. **Food Research International**, v. 29, n. 2, p. 155-161, 1996.

MODLER, H.W. Milk processing. In: NAKAI, S.; MODLER, W. (Eds.). Food proteins: processing applications. Wiley-VCH, Inc., 2000. p.1-21.

MORESI, M. Cost/benefit analysis of yeast and yeast autolysate production from cheese whey. Italian **Journal of Food Science**, v. 6, p. 357-370, 1994.

MORR, C. V.; FOEGEDING, E. A. Composition and functionality of commercial whey and milk protein concentrates and isolates: a status report. **Food Technology**, v. 44, p. 100-112, 1990.

MULVIHILL, D. M.; DONOVAN, M. Whey proteins and their thermal denaturation – a review. **Irish Journal of Food Science and Technology**, v. 11, p. 43-75, 1987.

NAKAI, S.; CHAN, L. Structure modification and functionality of whey proteins: quantitative structure-activity relationship approach. **Journal of Dairy Science**. v. 68, n. 10, p. 2763-2772, 1985.

NAVARRETE, R. C.; SEHEULT, J. M.; COFFEY, M. D. New Biopolymer for drilling, drill-in, completions, spacer, and coil-tubing fluid, Part II. In: International Symposium on Oilfield Chemistry SPE 64982, Houston, 2001. Anais... Houston, p. 1-15, 2001.

OAKENFULL, D.; SCOTT, A. Hydrophobic interaction in the gelation of high methoxyl pectins. **J. Food Sci.** v. 49, p. 1093-1098, 1984.

OMAR, M. M.; ASHOUR, M. M. Studies on the whey utilization in cheese making Ras Cheese. **Mahrunj**, v. 25, n. 8, p. 741-748, 1981.

PACHECO, M. T. B.; DIAS, N. F.G.; BALDINI, V. L. S. Propriedades funcionais de hidrolisados obtidos a partir de concentrados protéicos de soro de leite. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 25, n. 2, p. 333-338, abr-jun. 2005.

PACHECO, M. T. B. et al . Efeito de um hidrolisado de proteínas de soro de leite e de seus peptídeos na proteção de lesões ulcerativas da mucosa gástrica de ratos. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 19, n. 1, 2006.

PAGNO, C. H.; BALDASSO, C.; TESSARO, I. C.; FLORES, S. H.; JONG, E. V. Obtenção de concentrados protéicos de soro de leite e caracterização de suas propriedades funcionais tecnológicas. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 20, n. 2, p. 231-239, abr./jun. 2009.

PETTITT, D. J. Xanthan gum. *In*: M. GLICKSMAN (ed.), Food Hydrocolloids. Boca Raton, Ed. CRC Press, vol. 1, p. 127-149, 1982.

PHINNEY, K. W.; JINADU, L. A.; SANDER, L. C. Chiral selectors from fruit: application of citrus pectins to enantiomer separations in capillary electrophoresis. **J. Chromatogr. A**, v. 857, p. 285-293, 1999.

PINHEIRO, A. J. R.; MOSQUIM, M. C. A. V. Apostila: Processamento de leite de consumo. Dep. Tecnologia de Alimentos. UFV: Viçosa, 1991.

POPPI, F. A.; COSTA, M. R., DE RENSIS, C. M. V. B., SIVIERI, K. *Cient.*, **Ciênc. Biol. Saúde.**, v. 12, n. 2, p. 31-37, 2010.

RÉVILLION, J. P. Lacto-Albumina in: Derivados do soro do leite – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Disponível em: <[http://www.ufrgs.br/alimentus/laticinios/soro/soro\\_lactoalbumina.htm](http://www.ufrgs.br/alimentus/laticinios/soro/soro_lactoalbumina.htm)> Acesso em: 3 dez. 2011.

RIDLEY, B. L.; O'NEIL, M. A.; MOHNEN, D. Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signalling. **Phytochemistry**, v. 57, p. 929-967, 2001.

ROCHA, G. L. **Influência do Tratamento Térmico no Valor Nutricional do Leite Fluido**. 2004. 53f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Alimentos) - Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2004.

ROCHA, R. A. Combinação das técnicas de precipitação ácida e complexação para obtenção de frações enriquecidas de  $\alpha$ -lactoalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina do isolado protéico de soro de leite. 2008. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

ROCKS, J. K. Xanthan gum. **Food Technology**, Chicago, v. 25, n. 5, p. 476-483, 1971.

ROLLERS, S.; JONES, S. A. Handbook of fat replacers. New York: CRC Press Inc., 1996.

SANTOS, F. P.; BRUNIERA, L. B.; ROCHA GARCIA, C. E. Carragena: uma visão

ambiental. **Terra e Cultura**, v. 24, p. 58-65, 2008.

SCAMPARINI, A. R. P.; DRUZIAN, J. I.; MALDONADE, I.; MARIUZZO, D. New biopolymers produced by nitrogen fixing microorganisms for use in foods. *In*: K. NISHINARI (ed.), *Hydrocolloids. Part 1: Physical Chemistry and Industrial Application of Gels, Polysaccharides and Proteins*. Osaka, Elsevier Science B.V., p. 169-178, 2000.

SCHMITT, C.; SANCHEZ, C.; DESPOND, S.; RENARD, D.; ROBERT, P.; HARDY, J. Structural modification of  $\beta$ -lactoglobulin as induced by complex coacervation with acacia gum. **Food Colloids**, v. 258, p. 323-331, 2001.

SCHMITT, C.; SANCHEZ, C.; DESOBRY-BANON, S.; HARDY, J.C. Structure and technofunctional properties of protein-polysaccharide complexes: a review. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 38, p. 689-753, 1998.

SCHMITT, C.; TURGEON, S. L. Protein/polysaccharide complexes and coacervates in food systems. **Adv. Colloid Interface Sci**, v. 167, p. 63-70, 2010.

SGARBIERI, V. C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro do leite. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 4, p. 397-409, 2004.

SGARBIERI, V. C. Revisão: Propriedades Estruturais e Físico-Químicas das Proteínas do Leite. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 8, n. 1, p. 43-56, 2005.

SHAH, N. P. Effects of milk-derived bioactives: an overview. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 84, n. 1, p. 3-10, 2000.

SILVA, A.T.; VAN DENDER, A.G.F. Produtos lácteos com teor reduzido de gordura: Importância e estratégias para obtenção e otimização da qualidade sensorial. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora*, v. 60, n. 342, p. 3-12, 2005.

SILVA, K.; BOLINI, H. M. A.; ANTUNES, A. J. Soro de leite bovino em sorvete. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 15, n. 2, p. 187-196, 2004.

SINGH, S. S.; SIDDHANTA, A. K.; MEENAB, R.; PRASAD, K.; BANDYOPADHYAY, S.; BOHIDAR, H. B. Intermolecular complexation and phase separation in aqueous solutions of oppositely charged biopolymers. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 41, p. 185-192, 2007.

SINGLETON, A. D. *The use of whey in dairy products*. Illinois, 1972.

SINHA, R.; RADHA, C.; PRAKASH, J.; KAUL, P. Whey protein hydrolysate: Functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation. **Food Chemistry**, v. 101, n. 4, p. 1484-1491, 2007.

SISO, G. M. I. The buof cheese food: a review. **Bioresource Technology**, v. 57, p. 1-11, 1996.

SLONEKER, J. H.; JEANES, A. Exocellular bacterial polysaccharide from *Xanthomonas campestris* NRRL B – 1459. **Canadian Journal of Chemistry**, Ottawa, v. 40, n. 11, p. 2066-

2071, 1962.

SPAGNUOLO, P. A.; DALGLEISH, D. G.; GOFF, H. D.; MORRIS, E. R. Kappa-carrageenan interactions in systems containing casein micelles and polysaccharide stabilizers. **Food Hydrocolloids**, v. 19, p. 371-377, 2005.

SOOD, S. M.; SIDHU, K. S.; DEWAN, R. K. Voluminosity of bovine and buffalo casein micelles at different temperatures., **Milchwissenschaft**, v. 31, n. 8, p. 470-473, 1976.

STUART, D.I.; ACHARYA, K.R.; WALKER, N.P.C.; SMITH, S.G.; LEWIS, M.; PHILLIPS, D.C.  $\alpha$ -lactalbumin possesses a novel calcium binding loop. **Nature**, v. 324, p. 84-87, 1986.

SUTHERLAND, I. W.; KENNEDY, L. 1996. Polysaccharide lyases from gellan-producing *Sphingomonas spp.* **Microbiology**, v. 142, p. 867-872, 1996.

SWAISGOOD, H. E. Characteristics of milk. In Food Chemistry. Ed. Fennema, O. 3rd edn, New York, Marcel Dekker Inc., 842-878.

TAULIER, N.; CHALIKIAN, T. Characterization of pH-induced transitions of  $\beta$ -LG: ultrasonic, densitometric, and spectroscopy studies. **J. Mol. Biol.**, v. 14, p. 873-889, 2001.

TERAMOTO, A.; TAKAGI, Y.; HACHIMORI, A.; ABE, K. Interaction of albumin with polysaccharides containing ionic groups. **Polym. Adv. Technol.**, v. 10, p. 681-686, 1999.

TERRA, N. N.; FRIES, L. L. M.; MILANI, L. I. G.; RICHARDS, N. S. P. S.; REZER, A. P. S.; BACKES, A. M.; BEULCH, S.; DOS SANTOS, B. A. Emprego do soro de leite líquido na elaboração de mortadela. **Ciência Rural**, v. 39, n. 3, p. 885-890, mai.-jun. 2009.

TOLSTOGUZOV, V. B. Functional properties of protein-polysaccharide mixtures. In Functional Properties of Food Macromolecules; Mitchell, J. B., Ledward, D. A., Eds.; Elsevier Applied Science Publishers: London, 1986.

TOLSTOGUZOV, V. B. Functional properties of food proteins and role of protein-polysaccharide interaction. **Food Hydrocolloids**, v. 4, n. 6, p. 429-468, 1991.

TOLSTOGUZOV, V. B. Protein-polysaccharide interactions. In: S. Damodaran, & A. Paraf (Eds.), Food proteins and their application (pp.171-198). New York: Marcel Dekker, p. 171-198, 1997.

TOLSTOGUZOV, V. B. Thermodynamic considerations on polysaccharide functions. Polysaccharides came first. **Carbohydrate Polymers**, v. 54, p. 371-380, 2003.

TOLSTOGUZOV, V. B. Ingredient interactions: in complex foods: Aggregation and phase separation. In: Understanding and controlling the microstructure of complex foods. D. J. McClements ed, Chapter 7. CRC Press, Boca Raton, Woodhead Publishing Limited. Cambridge, UK. p. 185-206, 2007.

TONELI, J. T. C. L.; MURR, F. E. X.; PARK, K. J. Estudo da reologia de polissacarídeos utilizados na indústria de alimentos. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**,

Campina Grande, Especial, v. 7, n. 2, p. 181-204, 2005.

TORRES, D. P. M. Gelificação térmica de hidrolisados enzimáticos de proteínas do soro de leite bovino. 2005. 100 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia/Engenharia de Bioprocessos) - Universidade do Minho, Braga, 2005.

TURGEON, S. L.; SCHMITT, C.; SANCHEZ, C. Protein-polysaccharide complexes and coacervates. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 12, p. 166-178, 2007.

UENOJO, M.; PASTORE, G. M. Pectinases: aplicações industriais e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, 2007.

URLACHER, B.; DALBE, B. Xanthan gum. *In*: A. IMESON (ed.), *Thickening and Gelling Agents for foods*. Londres, Blackie Academic & Professional, p. 206-226, 1992.

VEISSEYRE, R. *Lactologia técnica*. 2.ed. Zaragoza : Editora Acribia S.A., 1988.

VOJDANI, F. Solubility. *In*: Hall, G.M. *Methods of testing protein functionality*. London: Blackie Academic & Professional, 1996. cap. 2, p.11-60.

WEINBRECK, F. Whey protein/polysaccharide coacervates: structure and dynamics. Tese de doutorado - Utrecht University, 2004.

WEINBRECK, F. et al. Complex coacervation of whey proteins and gum arabic. **Biomacromolecules**, v. 4, n. 2, p. 293-303, 2003.

WHISTLER, R.L.; DANIEL, J.R. Carbohidratos. *In*: FENNEMA, O.R. *Química de los alimentos*. Editorial Acribia S.A.Zaragoza p. 81-156. 1997.

WILCOX, C. P.; CLARE, D. A.; VALENTINE, V. W. Immobilization and utilization of the recombinant fusion proteins trypsin-streptavidin and streptavidin-transglutaminase for modification of whey protein isolate functionality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 13, p. 3723-3730, 2002.

WILLATS, W. G. T; KNOX, J. P., MIKKELSEN, J. D. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, p. 97-104, 2006.

WONG, D. W. S. *Química de los alimentos: Mecanismos y teoría*. Zaragoza: Acribia, 1995.

WONG, D. W. S.; CARMIRAND, W. M.; PAVLAT, A. E. Structures and functionalities of milk proteins. **Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.**, v. 36, n. 8, p. 807-844, 1996.

YAMAUCHI, K. et al. Emulsifying properties of whey protein. **Journal of Food Science**, v. 45, n. 5, p. 1237-1242, 1980.

YANG, S.; OKOS, M. R. Effects of temperature on lactose hydrolysis by immobilized beta-galactosidase in plug-flow reactor. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 33, n.7, p. 873-885, 1989.

YOKOI, H.; OBITA, T.; HIROSE, J.; HAYASHI, S.; TAKASAKI, Y. Flocculation

properties of pectin in various suspensions. **Bioresourse Technology**, v. 84, p. 287-290, 2002.

ZAVAREZE, E. R. MORAES, K. S.; SALASMELLADO, M. M. Qualidade tecnológica e sensorial de bolos elaborados com soro de leite. **Ciênc. Technol. Aliment.**, Campinas, v. 30, n. 1, p. 100-105, jan.-mar. 2010.

## **CAPÍTULO II**

### **COMPLEXOS POLIMÉRICOS OBTIDOS A PARTIR DE LACTOALBUMINA E POLISSACARÍDEOS**

## RESUMO

A otimização do processo de formação de complexos poliméricos entre lactoalbumina e os polissacarídeos carragena, goma arábica, goma xantana e pectina foi realizada através da metodologia de superfície de resposta, com o objetivo de definir as condições ótimas para a formação de cada complexo. O delineamento composto central rotacional (DCCR) para três variáveis independentes foi utilizado como planejamento do experimento. Nos complexos lactoalbumina–carragena e lactoalbumina–goma arábica apenas uma variável foi significativa ( $Pr < 0,05$ ): pH e concentração salina, respectivamente. Já no complexo lactoalbumina–goma xantana foram significativas ( $Pr < 0,05$ ) todas as variáveis estudadas (pH, concentração salina e massa de polissacarídeo), enquanto no complexo lactoalbumina–pectina foram significativas ( $Pr < 0,05$ ) as variáveis concentração salina e massa de polissacarídeo. As condições ótimas do processo variaram para cada polissacarídeo. Para a carragena o pH foi igual a 4,2, concentração salina de 0,5 mol/L e massa de polissacarídeo de 13,80 mg. No caso da goma arábica, o pH foi de 5,0, concentração salina de 0,8 mol/L e massa de polissacarídeo de 15,40 mg. Enquanto para a goma xantana, o pH foi de 6,6, concentração salina de 0,6 mol/L e massa de polissacarídeo de 8,3 mg. Já a pectina, o pH foi de 6,6, concentração salina de 0,25 mol/L e massa de polissacarídeo de 10,6 mg. O modelo matemático que melhor se ajustou aos dados experimentais foi o do complexo lactoalbumina–goma xantana que apresentou alto coeficiente de determinação ( $R^2 = 0,98$ ).

Palavras-chave: otimização, lactoalbumina, complexos poliméricos

## ABSTRACT

The optimization of complex formation between polymer lactalbumin and polysaccharides carrageenan, arabic gum, xanthan gum and pectin was performed by response surface methodology, in order to define the optimal conditions for each complex formation. The central composite rotational design (CCRD) for three independent variables was used as planning design for the experiment. In the lactalbumin-carrageenan complex and in the lactalbumin-arabic gum complex, there was only one variable that was significant for each one of them: pH and salt concentration, respectively. On the other hand, in the lactalbumin-xanthan gum complex, all the studied variables were significant (pH, salt concentration and mass polysaccharide), while the pectin-lactalbumin complex were significant only the variables salt concentration and polysaccharide weight. The optimum process conditions varied for each polysaccharide. For the carrageenan, the pH value was equal to 4.2, the salt concentration value was 0.5 mol/L and the polysaccharide weight was 13.80 mg. For the arabic gum, the pH was 5.0, the salt concentration was 0.8 mol/L and the polysaccharide weight was 15.40 mg. And for the xanthan gum, the pH was 6.6, the salt concentration was 0.6 mol/L and the polysaccharide weight was 8.3 mg. The values for the pectin were pH of 6.6, salt concentration of 0.25 mol/L and polysaccharide weight of 10.6 mg. The mathematical model that best fitted the experimental data was the lactalbumin-xanthan gum complex, which determination coefficient ( $R^2$ ) was 0.98.

Key-words: optimization, lactalbumin, polymeric complexes

## 1 INTRODUÇÃO

Segundo EMBRAPA (2007), a produção brasileira de queijos no ano de 2007 foi de 580 mil toneladas. Como a produção de queijos gera uma quantidade muito grande de soro de leite, aproximadamente 9 litros de soro por quilo de queijo produzido, este subproduto representa um grande problema ambiental e econômico para as indústrias de laticínios (BORGES et al., 2001). O soro de queijo, é a porção aquosa amarelo-esverdeada do leite que se separa do coágulo durante a fabricação do queijo por precipitação enzimática ou na produção de caseína por precipitação ácida. É composto basicamente de 94 a 95% de água, 3,8 a 4,2% de lactose, 0,8 a 1,0% proteínas e 0,7 a 0,8% de minerais, justificando seu alto valor de demanda bioquímica de oxigênio (DBO). Há décadas o soro tem sido conhecido pelo seu alto valor nutritivo, mas atualmente o desenvolvimento do mercado utilizando o soro de leite em pó e frações de soro como ingredientes nos gêneros alimentícios para consumo humano e animal, transformaram o então subproduto em um produto valioso para a indústria de laticínios (PAGNO et al., 2009).

A lactoalbumina é um produto derivado do soro obtido através de uma desnaturação a quente das proteínas e consequente precipitação a pH controlado. Apesar do nome semelhante, a lactoalbumina não deve ser confundida com  $\alpha$ -lactoalbumina, que é uma das proteínas do soro (FENNEMA, 2000; HUFFMAN e HARPER, 1999). Segundo Antunes (2003), o tratamento térmico pelo qual a lactoalbumina sofre ao ser obtida altera sua funcionalidade quando comparada ao seu estado nativo, devido às várias estruturas conformacionais que possui e/ou adquire.

As carragenas são um grupo de polissacarídeos naturais que estão presentes na estrutura celular de algas do tipo *Rhodophyceae*. Este tipo de polissacarídeo presente em algas possui características que o diferencia dos polissacarídeos isolados de outros vegetais, como por exemplo, presença de unidades de 3,6-anidrogactose e de grupos sulfato. (SPAGNUOLO et al., 2005). A carragena é um ingrediente alimentar bem estabelecido, com um amplo número de aplicações devido às suas propriedades físico-químicas. Confere estabilidade, corpo e diminuição da atividade de água quando adicionadas a produtos lácteos, cárneos, sorvetes, entre outros. Possui amplo histórico de emprego em laticínios, uma vez que interage de forma muito favorável com as proteínas do leite. A mais específica propriedade da carragena como hidrocolóide é seu alto grau de reatividade com certas proteínas e sua reatividade com proteína de leite em particular, que é a base para um grande número de aplicações de carragena em alimentos. (BALDASSO, 2004; BELLAVITA e GUANANJA, 1999; SPAGNUOLO et al., 2005).

O termo geral pectina designa ácidos pectínicos solúveis em água, com grau variável de grupos metil éster e um grau de neutralização capaz de formar gel com açúcares e ácidos em condições adequadas (UENOJO e PASTORE, 2007). A pectina é um polissacarídeo utilizado como espessante e é o mais economicamente viável do mercado, uma vez que apresenta baixo custo de obtenção (MARUYAMA et al., 2006). Têm a capacidade de formar géis, sob certas circunstâncias, o que faz delas um importante aditivo em geléias, marmeladas e na indústria confeitaria. O comprimento da cadeia e a natureza química das zonas de conexão das moléculas de pectina influenciam diretamente nas condições de formação do gel e na sua força. Sob condições iguais, a força do gel aumenta com o aumento do peso molecular da pectina e qualquer tratamento que despolimerize as cadeias de pectina refletirá em géis mais fracos. (TONELI et al., 2005).

A goma arábica é o exsudato gomoso dessecado dos troncos e dos ramos de *Acacia senegal* ou de outras espécies africanas de acácia. Caracteriza o polissacarídeo vegetal mais utilizado, pois além de espessante é também um ótimo estabilizante de emulsões (BARUFFALDI, 1998). Esta goma dissolve facilmente em água, gerando soluções claras que

variam da coloração amarelo muito pálido para laranja dourado. A estrutura altamente ramificada da goma dá origem às moléculas compactas, com volume hidrodinâmico relativamente pequeno e, conseqüentemente, as soluções de goma tornam-se viscosas somente a altas concentrações. Os três grandes campos de aplicação da goma arábica na indústria de alimentos são: confeitos, emulsão de aromas em bebidas e encapsulamento de aromas. A goma arábica é também um ingrediente bi-funcional, além de suas propriedades funcionais como espessante e estabilizante, possui efeito prébiótico no organismo humano (HEBBEL, 1979).

A goma xantana é um polissacarídeo sintetizado pela bactéria fitopatogênica *Xanthomonas campestris*. Apresenta-se com uma estrutura primária composta de repetidas unidades pentassacarídicas (JANSSON et al., 1975). A xantana é solúvel em água fria ou quente, exibindo alta viscosidade até mesmo em baixas concentrações (JEANES, 1974; ROCKS, 1971). Funciona muito bem como estabilizante em produtos à base de água, possui boa solubilidade. Possui comportamento pseudoplástico quando em solução, torna-se rala quando sobre ela é aplicada força de cisalhamento (BALDASSO, 2004; PAGNO, 2009). A viscosidade das soluções de xantana é muito estável em termos de variações no pH, temperatura e força iônica (ROCKS, 1971). A estabilidade quanto às variações de pH depende da concentração: quanto maior a concentração, maior a estabilidade da solução (PETTITT, 1982). As operações de bombeamento na fase de produção do alimento são facilitadas pelo seu comportamento pseudoplástico, fazendo com que produtos como, cremes para saladas fluam com facilidade de um frasco ou garrafa. Por isso, é utilizada na fabricação de molhos para saladas, bebidas, geléias, produtos cárneos, enlatados, e sopas (BALDASSO, 2004).

A interação que ocorre entre proteínas e polissacarídeos exerce influência direta sobre as propriedades macroscópicas dos alimentos, tais como fluidez, estabilidade e textura, por isso, são muito utilizados pelas indústrias alimentícias (TOLSTOGUZOV, 2003). A compatibilidade termodinâmica é uma das formas de interação que pode ocorrer quando proteínas e polissacarídeos são misturados juntos em um sistema aquoso. Esta interação depende, principalmente, das cargas elétricas dos biopolímeros e dos fatores que influenciam o sistema, como pH e força iônica (TOLSTOGUZOV, 2003). Normalmente acontece a baixas concentrações e forças iônicas, no momento em que as moléculas estão com cargas elétricas opostas (TOLSTOGUZOV, 2007). Sob essas condições, as moléculas são espontaneamente atraídas umas pelas outras e há formação de duas fases, uma delas rica em proteína e polissacarídeo e a outra isenta desses biopolímeros, mas rica em solvente. A proteína e o polissacarídeo estão unidos na fase rica em biopolímeros pela força eletrostática e podem tomar a forma de um coacervado ou um precipitado (TOLSTOGUZOV, 2007). Os complexos coacervados combinam as propriedades físico-químicas e funcionais das macromoléculas que os constituem, especialmente seu caráter hidrofóbico/hidrofílico. Devido às suas estruturas específicas, tamanho e composição, os complexos proteína-polissacarídeo e os coacervados estão exibindo uma ampla gama de propriedades funcionalidades úteis para o desenvolvimento de produtos alimentares complexos (SCHMITT e TURGEON, 2010).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi otimizar o processo de obtenção de complexos poliméricos obtidos a partir da lactoalbumina e dos polissacarídeos carragena, goma arábica, goma xantana e pectina.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Material**

Os polissacarídeos carragena, goma arábica, goma xantana e pectina, assim como o concentrado protéico lactoalbumina foram adquiridos de Sigma Aldrich (St. Louis, USA). Como indicado pelo fabricante, a composição da lactoalbumina é de 89,9% de proteína, 0,5% de cinzas, 4,0% de umidade, 3,8% de lipídeos e 0,3% de lactose. Nos experimentos foram empregados reagentes químicos de grau analítico e água deionizada.

## 2.2 Metodologia

### 2.2.1 Planejamento experimental

Foi empregado o delineamento composto central rotacional (DCCR) para três variáveis independentes, com cinco níveis cada uma (RODRIGUES e IEMMA, 2005), como mostra a Tabela 1. A variável dependente (Y) foi a turbidez, calculada a partir da leitura de transmitância do sobrenadante. Foi realizado um fatorial completo  $2^3$ , seis repetições do ponto central e seis pontos axiais, totalizando 20 experimentos (Tabela 2). Na otimização do processo de formação dos coacervados foi utilizada a metodologia de superfície de resposta (MSR) que avalia simultaneamente a influência das três variáveis pH, concentração salina e massa de polissacarídeo.

**Tabela 1.** Variáveis e níveis do planejamento experimental para formação de coacervados.

Variáveis	Símbolo	Níveis				
		-1,68	-1	0	1	1,68
pH	X <sub>1</sub>	3,0	4,2	6,0	7,8	9,0
Concentração de NaCl (mol/L)	X <sub>2</sub>	0	0,20	0,50	0,80	1,0
Polissacarídeo (mg)	X <sub>3</sub>	2,5	7,0	13,8	20,4	25,0

### 2.2.2 Formação dos complexos coacervados

As misturas contendo lactoalbumina - polissacarídeo foram preparadas seguindo a metodologia proposta na literatura (BASTOS et al., 2010; ABERKANE et al., 2010; WEINBRECK et al., 2003), considerando os fatores pH (3,0; 4,2; 6,0; 7,8; 9,0), concentração salina (0; 0,20; 0,50; 0,80; 1,0 mol/L) e massa de polissacarídeo (2,5; 7,0; 13,8; 20,4; 25,0 mg).

Inicialmente, foram preparadas soluções a 1% (m/v) de cada polissacarídeo e soluções-tampão com pH e concentração salina pré-determinados. Para o preparo da mistura, pesou-se a 100 mg de lactoalbumina e em seguida adicionou-se a solução-tampão específica e o volume de polissacarídeo (pré-determinado). As amostras foram agitadas durante 2 horas a 25°C no agitador orbital (TECNAL, TE 420, Brasil). A fim de garantir a formação dos complexos poliméricos, as amostras foram mantidas sob refrigeração por 24 h (CAMILO, 2007) e depois centrifugadas (CIENEC, mod. TC-6000, Brasil) a 6.000 rpm durante 30 min. A Tabela 2 apresenta as condições experimentais do planejamento experimental.

**Tabela 2.** Condições experimentais do planejamento experimental fatorial completo de três variáveis independentes.

Ensaio	pH (X <sub>1</sub> )	Conc. salina (X <sub>2</sub> )	Polissac. (X <sub>3</sub> )
1	-1	-1	-1
2	-1	-1	+1
3	-1	+1	-1
4	-1	+1	+1
5	+1	-1	-1
6	+1	-1	+1
7	+1	+1	-1
8	+1	+1	+1
9	-1,682	0	0
10	+1,682	0	0
11	0	-1,682	0
12	0	+1,682	0
13	0	0	-1,682
14	0	0	+1,682
15	0	0	0
16	0	0	0
17	0	0	0
18	0	0	0
19	0	0	0
20	0	0	0

### 2.2.3 Caracterização dos complexos coacervados

#### Turbidimetria

Após a centrifugação, foi retirada uma alíquota de 4 mL do sobrenadante para determinação da transmitância no espectrofotômetro (Biochrom mod. LIBRA S12, Inglaterra) com comprimento de onda de 400 nm. Segundo ABERKANE et al. (2010) e CHOLLAKUP et al. (2010), a turbidez (T) é definida por:

$$T = -\ln(I/I_0) \quad (1)$$

onde, I<sub>0</sub>= Intensidade da incidência de luz e I= é a intensidade de luz que passou pelo volume da amostra.

#### Caracterização morfológica

Foram preparadas amostras apontadas pela análise estatística como ótimas em relação à turbidez (ponto ótimo de minimização). Seus complexos precipitados foram secos à vácuo (SPEED VAC SC 110, SAVANT INC., USA) e posteriormente analisados quanto à sua microestrutura por microscopia eletrônica de varredura – MEV (ZEISS, EVO MA10, Alemanha). O microscópio foi operado no modo de elétrons secundários com tensão de aceleração de 20 kV.

#### 2.2.4 Análise estatística

Os dados experimentais da Tabela 3 foram ajustados por regressão não linear à equação polinomial de 2<sup>o</sup>. grau. Para tanto, foi usado o pacote estatístico SAS<sup>®</sup> v. 9.0 (SAS Institute Inc., NC, USA). O modelo obtido foi validado estatisticamente através da análise de variância.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Formação de complexos poliméricos lactoalbumina-polissacarídeos

Em todos os experimentos estudados foram formados complexos poliméricos insolúveis que precipitaram, independente do polissacarídeo utilizado ou valor de pH, concentração salina e massa de polissacarídeo, variando apenas a quantidade de complexo formado. Segundo Kruif et al. (2004), proteínas e polieletrólitos fortes tendem a formar complexos de estrutura tipo sólido ou precipitados.

Observou-se que em todos os valores de pH, acima e abaixo do pI da lactoalbumina, complexos poliméricos foram formados. De acordo com Stone e Nickerson (2012), a atração eletrostática entre biopolímeros ocorre normalmente quando os biopolímeros possuem cargas líquidas opostas, por exemplo em valores de pH menores que o pI das proteínas. Entretanto, podem ocorrer interações entre polieletrólitos altamente carregados em valores de pH maiores que o pI das proteínas. Isso acontece devido às regiões de carga positiva na superfície das proteínas, denominadas *patches*, e à presença de cargas flutuantes na superfície da proteína em valores de pH próximos ao seu pI.

Stone e Nickerson (2012) sugerem que os íons Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> atuam com uma camada dupla de proteção nas proteínas e polissacarídeos, interrompendo a atração eletrostática entre ambos. Provavelmente, nos experimentos realizados, a concentração salina não foi alta suficiente para impedir a formação do complexo poliméricos entre os biopolímeros. Segundo Kruif et al. (2004), o sal enfraquece as interações, mas no caso de polieletrólitos fortes não se observa fase líquida, somente um precipitado, e muito mais sal é necessário para suprimir a separação de fases.

A estrutura macro do complexo estudado não foi alterada nos experimentos. Independente da massa de polissacarídeo testada, o complexo polimérico não variou sua forma precipitada. Conforme Chodankar et al. (2008), essa estrutura do complexo independe das concentrações de proteína e polissacarídeo. O autor sugere que as macromoléculas de proteína não se distribuem uniformemente em todas as de polissacarídeo. Ao invés disso, é formado um complexo em equilíbrio somente com um número limitado de polissacarídeos, dependendo do número de macromoléculas de proteína utilizadas.

A Tabela 3 apresenta os resultados da variável dependente (Y) Turbidez para os complexos formados entre lactoalbumina e polissacarídeos.

**Tabela 3.** Variável dependente (Y) de cada complexo formado entre lactoalbumina e polissacarídeos.

Y <sub>1</sub> (CA)	Y <sub>2</sub> (GA)	Y <sub>3</sub> (GX)	Y <sub>4</sub> (PE)
0,024	0,207	0,138	0,101
0,011	0,219	0,284	0,091
0,027	0,056	0,087	0,099
0,040	0,048	0,304	0,119
0,051	0,125	0,089	0,048
0,063	0,216	0,241	0,081
0,076	0,066	0,063	0,087
0,077	0,074	0,236	0,094
0,013	0,041	0,168	0,111
0,112	0,068	0,142	0,108
0,120	0,112	0,183	0,057
0,062	0,048	0,131	0,086
0,053	0,055	0,109	0,057
0,064	0,048	0,408	0,136
0,048	0,070	0,189	0,069
0,059	0,069	0,191	0,073
0,057	0,066	0,217	0,067
0,063	0,065	0,206	0,065
0,050	0,068	0,221	0,064
0,049	0,070	0,218	0,064

(CA) carragena; (GA) goma arábica; (GX) goma xantana; (PE) pectina.

A análise de variância variável resposta turbidez, disposta nas Tabelas 4 e 5, permite dizer que o modelo linear foi significativo para os complexos formados com carragena e goma arábica. O modelo quadrático foi significativo para os complexos formados com goma xantana e pectina, como mostram as Tabelas 6 e 7. Verificou-se que o modelo matemático do complexo lactoalbumina-goma xantana foi o que melhor se ajustou aos dados experimentais, devido ao seu alto coeficiente de determinação  $R^2$  (Tabela 11).

**Tabela 4.** Análise de variância da variável resposta turbidez para o complexo lactoalbumina-carragena.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	Valor F	Pr>F
Modelo linear	1	0,0080	0,0080	22,58	<b>0,0001</b>
Resíduo (erro)	18	0,0064	0,0003		
Falta de Ajuste	3	0,0015	0,0005	1,59	0,2340
Erro Puro	15	0,0049	0,0003		
Total	19	0,0144			

**Tabela 5.** Análise de variância da variável resposta turbidez para o complexo lactoalbumina-goma arábica.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	Valor F	Pr>F
Modelo linear	1	0,0291	0,0291	15,85	<b>0,0009</b>
Resíduo (erro)	18	0,0331	0,0018		
Falta de Ajuste	3	0,0257	0,0086	17,46	0,0001
Erro Puro	15	0,0074	0,0005		
Total	19	0,0622			

**Tabela 6.** Análise de variância da variável resposta turbidez para o complexo lactoalbumina-goma xantana.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	Valor F	Pr>F
Modelo quadrático	7	0,1257	0,0179	59,58	<b>0,0001</b>
Resíduo (erro)	12	0,0036	0,0003		
Falta de Ajuste	7	0,0026	0,0004	1,8740	0,2536
Erro Puro	5	0,0010	0,0002		
Total	19	0,1293			

**Tabela 7.** Análise de variância da variável resposta turbidez para o complexo lactoalbumina-pectina.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	Valor F	Pr>F
Modelo quadrático	4	0,0071	0,0018	8,58	<b>0,0008</b>
Resíduo (erro)	15	0,0031	0,0002		
Falta de Ajuste	4	0,0022	0,0005	6,64	0,0057
Erro Puro	11	0,0009	0,0001		
Total	19	0,0102			

As estimativas de cada parâmetro do modelo de primeira ordem ou segunda ordem considerado significativo, além do valor t do teste de Student e do valor da probabilidade (Pr) de cada parâmetro podem ser encontrados nas Tabela 8, 9, 10 e 11.

**Tabela 8.** Parâmetros estimados do modelo linear – Complexo lactoalbumina-carragena.

Parâmetro	Estimativa	Valor t	Pr >  t
x <sub>1</sub>	0,0243	4,75	< <b>0,05</b>
x <sub>2</sub>	-0,0019	-0,32	0,75
x <sub>3</sub>	0,0023	0,38	0,71
x <sub>1</sub> *x <sub>1</sub>	-0,0025	-0,43	0,68
x <sub>1</sub> *x <sub>2</sub>	0,0009	0,11	0,91
x <sub>1</sub> *x <sub>3</sub>	0,0016	0,21	0,84
x <sub>2</sub> *x <sub>2</sub>	0,0076	1,29	0,23
x <sub>2</sub> *x <sub>3</sub>	0,0019	0,24	0,82
x <sub>3</sub> *x <sub>3</sub>	-0,0039	-0,67	0,52

**Tabela 9.** Parâmetros estimados do modelo linear – Complexo lactoalbumina-goma arábica.

Parâmetro	Estimativa	Valor <i>t</i>	Pr >   <i>t</i>
x <sub>1</sub>	-0,0003	-0,02	0,98
x <sub>2</sub>	-0,0462	-3,61	< <b>0,05</b>
x <sub>3</sub>	0,0067	0,52	0,49
x <sub>1</sub> *x <sub>1</sub>	0,0089	0,71	0,68
x <sub>1</sub> *x <sub>2</sub>	0,0151	0,90	0,39
x <sub>1</sub> *x <sub>3</sub>	0,0119	0,71	0,49
x <sub>2</sub> *x <sub>2</sub>	0,0180	1,44	0,18
x <sub>2</sub> *x <sub>3</sub>	-0,0129	-0,77	0,46
x <sub>3</sub> *x <sub>3</sub>	0,0079	0,63	0,54

**Tabela 10.** Parâmetros estimados do modelo quadrático – Complexo lactoalbumina-goma xantana.

Parâmetro	Estimativa	Valor <i>t</i>	Pr >   <i>t</i>
x <sub>1</sub>	-0,0167	-3,85	< <b>0,05</b>
x <sub>2</sub>	-0,0109	-2,53	< <b>0,05</b>
x <sub>3</sub>	0,0872	20,15	< <b>0,05</b>
x <sub>1</sub> *x <sub>1</sub>	-0,0203	-4,81	< <b>0,05</b>
x <sub>1</sub> *x <sub>2</sub>	-6,45x10 <sup>-18</sup>	123x10 <sup>-17</sup>	1
x <sub>1</sub> *x <sub>3</sub>	-0,0048	-0,84	0,42
x <sub>2</sub> *x <sub>2</sub>	-0,0196	-4,64	< <b>0,05</b>
x <sub>2</sub> *x <sub>3</sub>	-0,0115	2,03	0,07
x <sub>3</sub> *x <sub>3</sub>	0,1634	3,88	< <b>0,05</b>

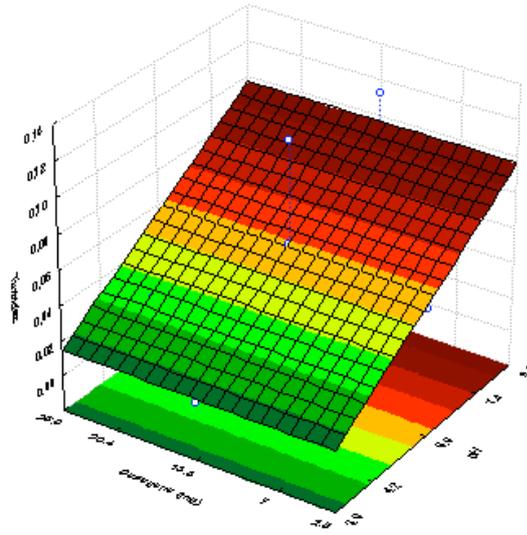
**Tabela 11.** Parâmetros estimados do modelo quadrático – Complexo lactoalbumina-pectina.

Parâmetro	Estimativa	Valor <i>t</i>	Pr >   <i>t</i>
x <sub>1</sub>	-0,0077	-2,07	<b>0,07</b>
x <sub>2</sub>	0,0093	2,46	< <b>0,05</b>
x <sub>3</sub>	0,0134	3,55	< <b>0,05</b>
x <sub>1</sub> *x <sub>1</sub>	0,0142	3,86	< <b>0,05</b>
x <sub>1</sub> *x <sub>2</sub>	0,0032	0,66	0,52
x <sub>1</sub> *x <sub>3</sub>	0,0037	0,76	0,46
x <sub>2</sub> *x <sub>2</sub>	0,0007	0,20	0,85
x <sub>2</sub> *x <sub>3</sub>	0,0005	0,10	0,92
x <sub>3</sub> *x <sub>3</sub>	0,0096	2,60	< <b>0,05</b>

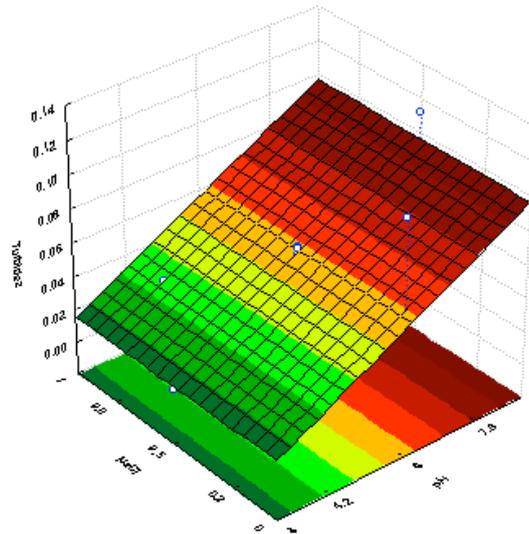
No processo de formação do complexo polimérico lactoalbumina-carragena verificou-se que apenas a variável pH foi considerada significativa (Pr < 0,05), enquanto no do complexo polimérico lactoalbumina-goma arábica apenas a variável concentração salina foi considerada significativa (Pr < 0,05).

Para o complexo lactoalbumina-carragena, as Figuras 1 e 2 mostram que o valor de turbidez aumentou com o incremento do pH. Isso significa que quanto menor o valor de pH na faixa estudada, mais complexo polimérico foi formado entre lactoalbumina e carragena. Neste trabalho, a condição ótima para formação do complexo foi em pH 4,2 (Tabela 13), valor localizado entre o pKa da carragena (2,0) e o pI da β-lactoglobulina (5,3), proteína presente em maior concentração no soro de queijo. Segundo Stone e Nickerson (2012), que estudaram a influência do pH na formação do complexo polimérico entre isolado protéico de soro (*Whey Protein Isolate - WPI*) e três tipos de carragena, mudanças no pH alteram a

ionização dos grupamentos carregados da proteína, promovendo a interação entre os dois biopolímeros quando as cargas estão opostas em  $\text{pH} < \text{pI}$  da lactoalbumina e  $\text{pH} > \text{pKa}$  de regiões carregadas na estrutura da carragena.



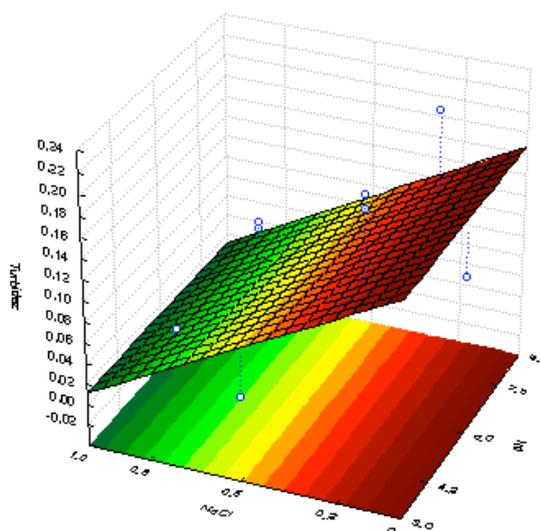
**Figura 1.** Influência do pH e concentração salina na turbidez do sistema lactoalbumina-carragena.



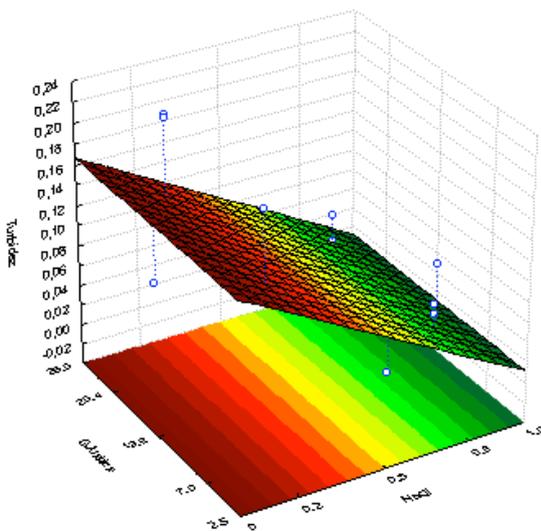
**Figura 2.** Influência do pH e massa de polissacarídeo na turbidez do sistema lactoalbumina-carragena

No caso do complexo lactoalbumina-goma arábica, verificou-se que o valor de turbidez aumentou com a diminuição da concentração salina, ou seja, quanto maior a concentração salina na faixa estudada, mais complexo polimérico foi formado entre lactoalbumina e goma arábica (Figuras 3 e 4). Liu et al. (2010) estudaram a influência de agentes desestabilizantes na formação do complexo entre proteína isolada de ervilha e goma arábica, e puderam observar que os íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  atuam protegendo as cargas das moléculas de proteína e de goma arábica, o que promove a ruptura das ligações eletrostáticas entre os biopolímeros e dificulta a formação do complexo. Entretanto, Weinbreck et al. (2003) verificaram que a coacervação somente é influenciada de forma negativa pela concentração salina acima de um determinado valor de concentração. Os autores estudaram a influência de diversas faixas de concentração salina em misturas de WPI e goma arábica e concluíram que a

adição de pequenas quantidades de microíons, mesmo que de forma rápida, facilita o processo de coacervação. Isso ocorre porque os microíons ajudam a solubilização dos polímeros (enrolamento da molécula) e os grupamentos carregados ficam expostos, facilitando a atração eletrostática entre os biopolímeros. Por outro lado, uma alta concentração de sal inibe a complexação pela proteção total das cargas. Neste trabalho, mesmo o mais elevado valor de concentração salina facilitou a atração eletrostática entre os biopolímeros e formou o complexo polimérico, indicando que dentro da faixa estudada não houve concentração salina alta o suficiente para prejudicar o processo de coacervação.



**Figura 3.** Influência do pH e concentração salina na turbidez do sistema lactoalbumina-goma arábica.

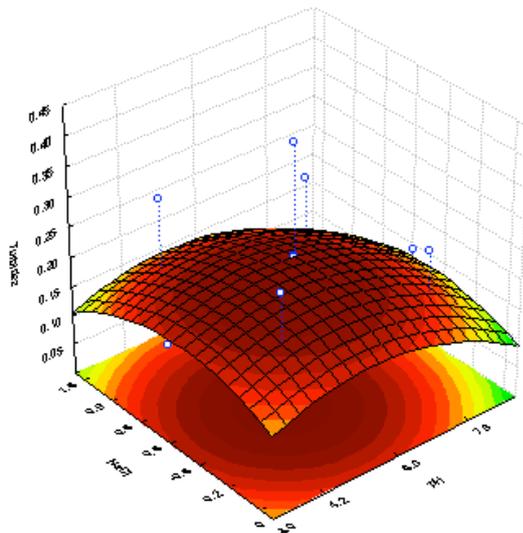


**Figura 4.** Influência da concentração salina e massa de polissacarídeo na turbidez do sistema lactoalbumina-goma arábica

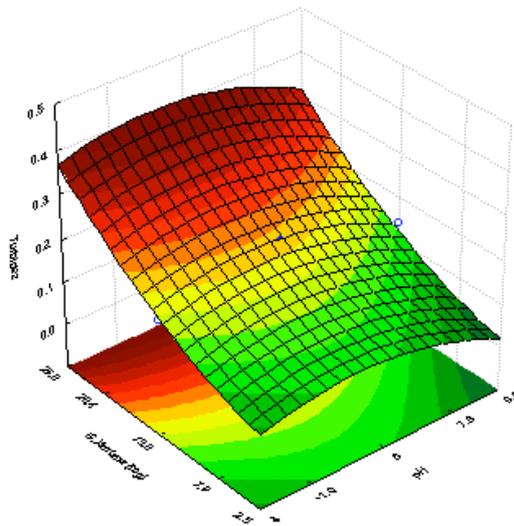
No processo de formação dos complexos poliméricos lactoalbumina-goma xantana e lactoalbumina-pectina todas as variáveis foram consideradas significativas ( $Pr < 0,05$ ), resultando em modelos matemáticos de segunda ordem.

Analisando-se a Figura 5, observou-se o efeito da interação pH x [NaCl], em que, para valores de pH superiores a 8,0, aproximadamente, há uma diminuição da resposta com a

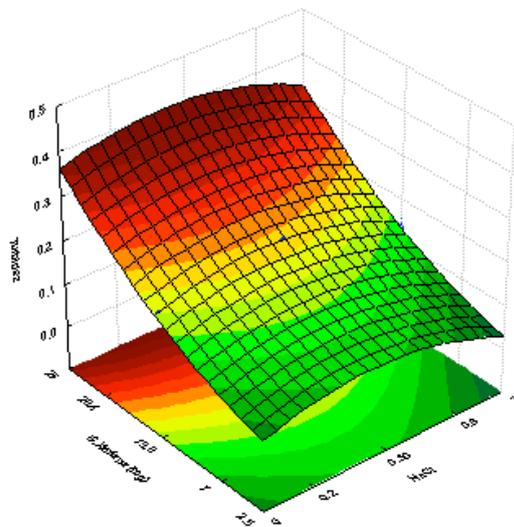
diminuição da concentração salina, enquanto que para valores de pH próximos a zero e concentração salina acima de 0,8 mol/L, aproximadamente, o mesmo comportamento foi obtido. Na Figura 6, verificou-se que em qualquer valor de pH, dentro da faixa estudada, e valores de massa de goma xantana abaixo de 13,8 mg, aproximadamente, houve diminuição da turbidez do sistema. A Figura 7 também mostra comportamento semelhante que em qualquer valor de [NaCl], dentro da faixa estudada, e valores de massa de goma xantana abaixo de 13,8 mg, aproximadamente. Segundo Laneuville et al. (2000), de certa forma, a quantidade de goma xantana adicionada ao sistema controla o tamanho final dos complexos e além disso, uma porcentagem de xantana afeta a viscosidade global. Um aumento da viscosidade do sistema pode limitar a formação de agregados proteína-polissacarídeo, através da diminuição da taxa de colisão entre as partículas. Neste trabalho, os valores de pH e concentração salina dentro das faixas estudadas não influenciaram na turbidez do sistema quando a massa de polissacarídeo foi abaixo de 13,8 mg. Isso significa que estes parâmetros não foram altos o suficiente para alterar a conformação estrutural das moléculas envolvidas. Entretanto, quando somente os parâmetros pH e concentração salina estavam envolvidos, verificou-se que ambos influenciaram na formação do complexo polimérico, e somente quando um deles tinha seu valor próximo a zero e outro parâmetro com valor alto, a turbidez do sistema começou a diminuir e mais complexo polimérico era formado. De acordo com o mesmo autor, a mudança conformacional causada pela força iônica depende do tipo de sal utilizado e do grau de piruvilação e acetilação da amostra de goma xantana.



**Figura 5.** Influência do pH e concentração salina na turbidez do sobrenadante lactoalbumina-goma xantana.



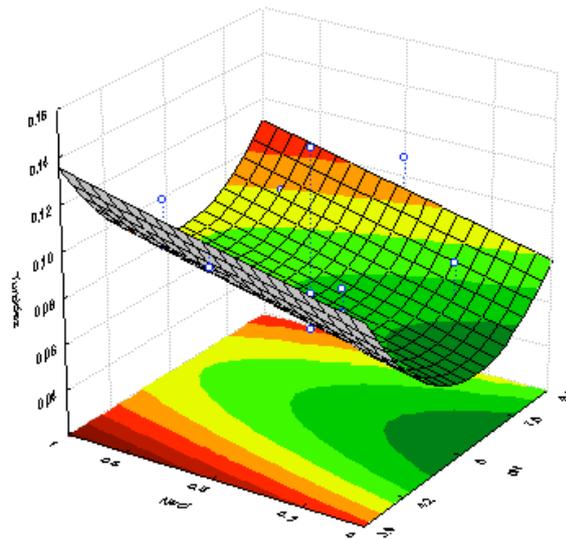
**Figura 6.** Influência do pH e massa de polissacarídeo na turbidez do sistema lactoalbumina-goma xantana.



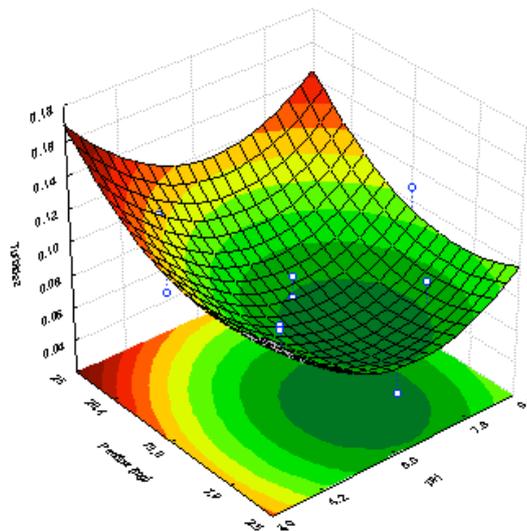
**Figura 7.** Influência da concentração salina e massa de polissacarídeo na turbidez do sistema lactoalbumina-goma xantana.

Para o complexo lactoalbumina-pectina observou-se que sobre o efeito da interação pH x [NaCl], na grande maioria dos valores de pH e concentração salina, dentro das faixas estudadas, houve baixa turbidez do sistema, mas foi em valores de pH próximos ao pI da proteína  $\beta$ -lactoglobulina (5,3) e em baixas concentrações de sal (abaixo de 0,2 mol/L) que estes valores foram ótimos (Figura 8). Na Figura 9, onde foi analisado o efeito da interação pH x massa de pectina, verificou-se que o mesmo comportamento aconteceu, mas os valores ótimos também foram observados em valores de pH próximos aos do pI da proteína e massas de pectina abaixo de 13,8 mg, aproximadamente. Na Figura 10, que mostra a interação [NaCl] x massa de pectina, observou-se que embora uma grande faixa de valores dos parâmetros tenham gerado baixos valores de turbidez, as condições ótimas foram obtidas em valores de concentração salina abaixo de 0,2 mol/L e massa de pectina abaixo de 13,8 mg, aproximadamente.

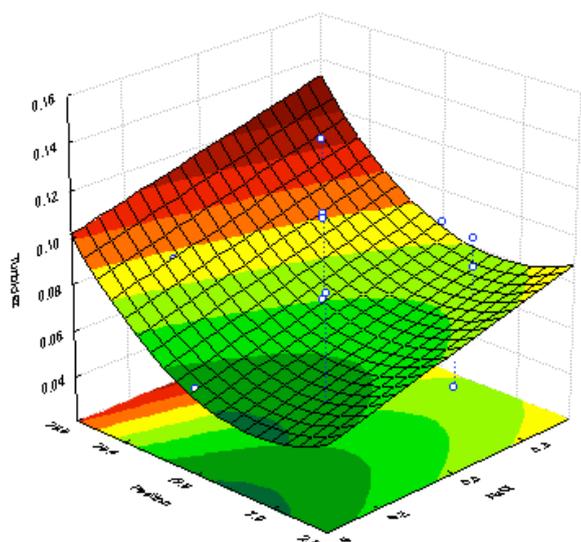
No caso da concentração salina, quanto menor a força iônica do sistema, mais complexo polimérico foi formado. De acordo com Girard et al. (2002), que estudaram a influência da concentração salina na formação de complexos entre  $\beta$ -lactoglobulina e pectinas de alta e baixa metoxilação, a desestabilização causada pelo cloreto de sódio demonstra a presença de interações eletrostáticas entre o polissacarídeo e a proteína. O autor verificou que a interação eletrostática entre a  $\beta$ -lactoglobulina e a pectina de alta metoxilação não foi forte o suficiente para compensar o efeito desestabilizante causado pelo cloreto de sódio. Neste trabalho, isso também ocorreu, entretanto a concentração salina mais elevada dentro da faixa estudada não foi alta o suficiente para romper as ligações eletrostáticas e impedir a formação do complexo polimérico.



**Figura 8.** Influência do pH e concentração salina na turbidez do sobrenadante do sistema lactoalbumina-pectina.



**Figura 9.** Influência do pH e massa de polissacarídeo na turbidez do sobrenadante do sistema lactoalbumina-pectina.



**Figura 10.** Influência da concentração salina e massa de polissacarídeo na turbidez do sobrenadante do sistema lactoalbumina-pectina.

### 3.2 Otimização da formação dos complexos poliméricos

A Tabela 12 apresenta as equações de primeira ou segunda ordem, considerando as variáveis significativas ( $Pr < 0,05$ ) de cada complexo, como resultado da minimização da variável resposta turbidez.

**Tabela 12.** Equações geradas pela minimização da variável resposta de cada complexo.

Equação	R <sup>2</sup>
(1) $Y1 = -0,02499 + 0,01349*X1$	0,56
(2) $Y1 = 0,166566 - 0,154032*X2$	0,47
(3) $Y1 = -0,14111 + 0,07131*X1 + 0,8119*X2 + 0,005391*X3 - 0,006265*X1^2 - 0,000394*X1*X3 - 0,217678*X2^2 + 0,000365*X3^2$	0,97
(4) $Y1 = 0,205001 - 0,053411*X1 + 0,030957*X2 + 0,001999*X3 + 0,004094*X1^2$	0,70

(1) Complexo lactoalbumina-carragena; (2) Complexo lactoalbumina-goma arábica; (3) Complexo lactoalbumina-goma xantana; (4) Complexo lactoalbumina-pectina.

A Tabela 13 apresenta as condições ótimas para minimização da turbidez do sobrenadante de cada sistema, o que caracteriza uma maior precipitação dos complexos poliméricos.

**Tabela 13.** Condições ótimas das variáveis codificadas e reais para os sistemas formados com lactoalbumina.

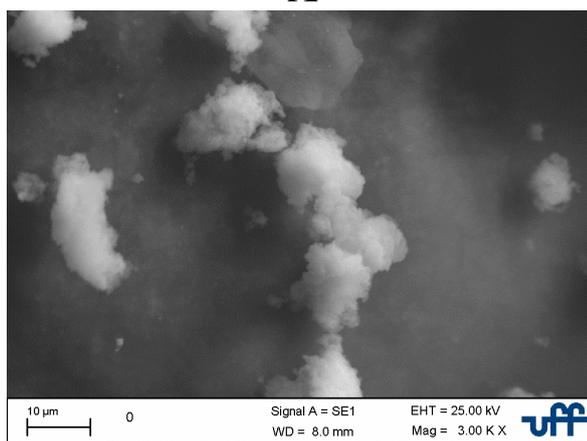
Variável		CA	GA	GX	PE
X <sub>1</sub>	Codificada	-0,9972	-0,3739	0,3236	0,3106
	Real	4,2	5,0	6,6	6,6
X <sub>2</sub>	Codificada	0,0647	0,8988	0,4922	-0,8346
	Real	0,5	0,8	0,6	0,25
X <sub>3</sub>	Codificada	-0,0376	0,2287	-0,8081	-0,4728
	Real	13,80	15,40	8,3	10,60
Y <sub>1</sub>	Codificada	0,0283	0,0334	0,1265	0,0538
	Real	0,03	0,04	0,51	0,06

(CA) carragena; (GA) goma arábica; (GX) goma xantana; (PE) pectina

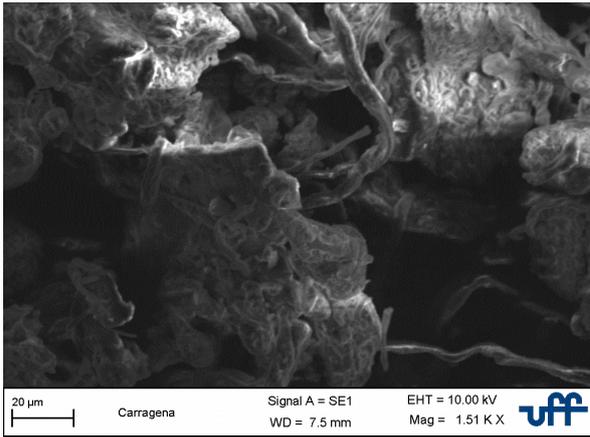
### 3.3 Caracterização morfológica

Utilizando as condições ótimas de preparo para os complexos poliméricos (Tabela 13), as imagens de MEV destas estruturas são apresentadas na Figura 11. A Figura 11A demonstra a estrutura da lactoalbumina caracterizada por aglomerados desiguais. Isso provavelmente se deve ao fato da lactoalbumina ter sofrido tratamento térmico durante o processo de obtenção, o que alterou a sua estrutura nativa para a forma desnaturada. As Figuras 11B-E demonstram a estruturas dos polissacarídeos isolados. É possível também visualizar a formação do complexo polimérico entre lactoalbumina e os polissacarídeos carragena, goma arábica, goma xantana e pectina (Figuras 11F-I). Estes complexos possuem características morfológicas específicas para cada um deles e demonstram ser estruturas diferentes das iniciais.

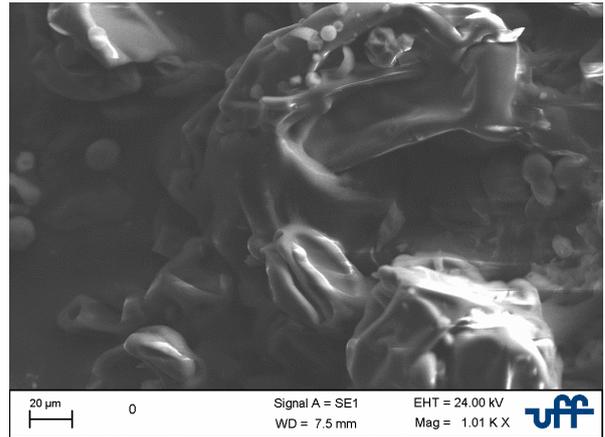
A



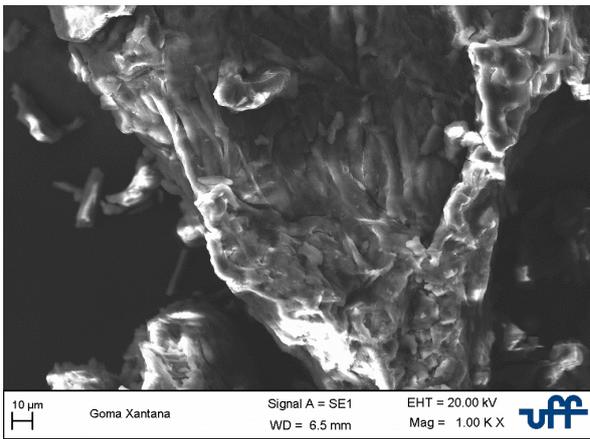
**B**



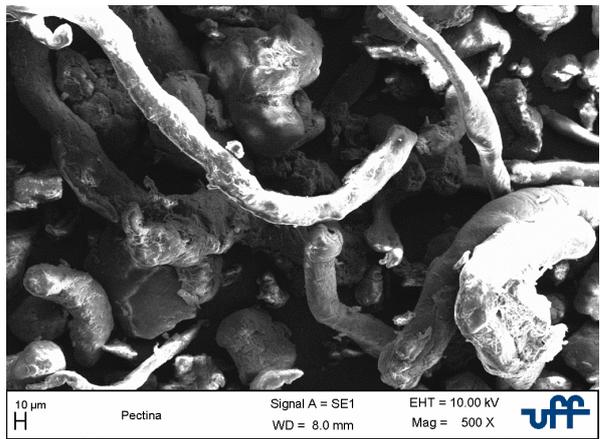
**C**



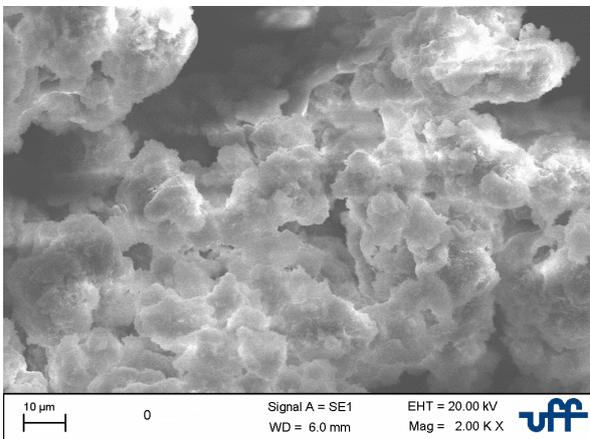
**D**



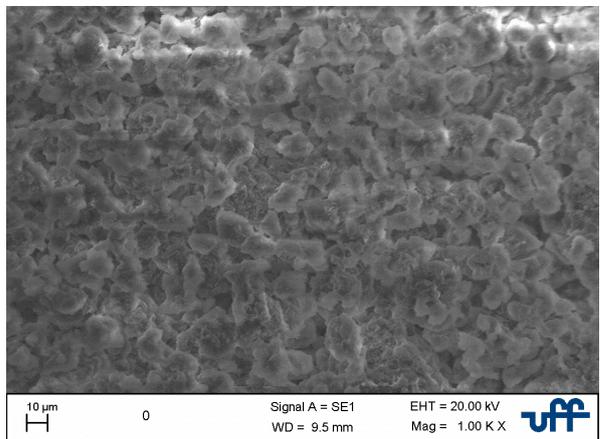
**E**

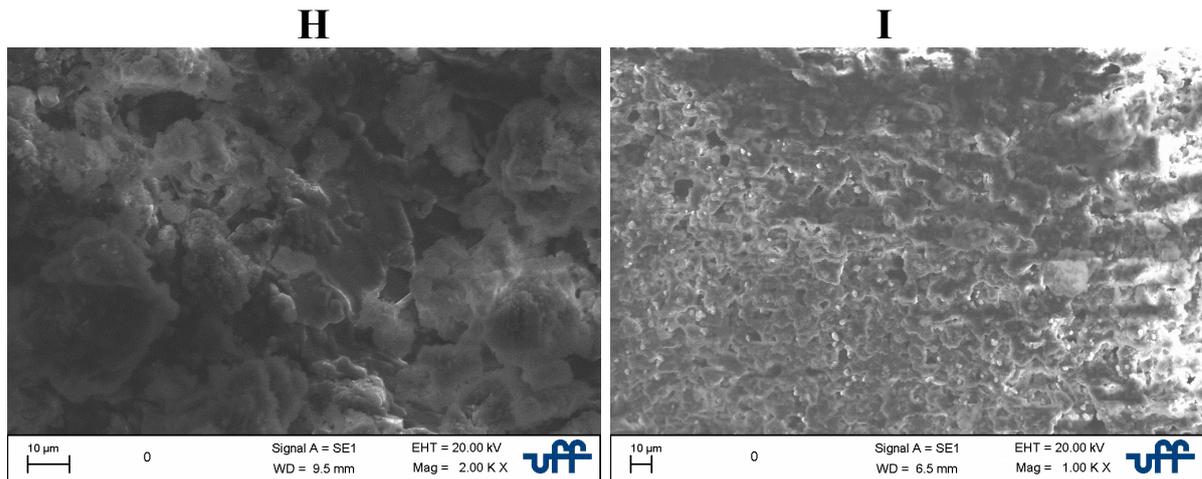


**F**



**G**





**Figura 11.** Fotomicrografias de lactalbumina, polissacarídeos e complexos poliméricos preparados sob condições ótimas e secos em estufa à vácuo. (A) Lactoalbumina, (B) Carragena, (C) Goma arábica, (D) Goma xantana, (E) Pectina, (F) Complexo polimérico lactoalbumina-carragena, (G) Complexo polimérico lactoalbumina-goma arábica, (H) Complexo polimérico lactoalbumina-goma xantana, (I) Complexo polimérico lactoalbumina-pectina.

#### 4 CONCLUSÕES

Foi possível otimizar o processo de obtenção de complexos poliméricos formados a partir da lactoalbumina e os polissacarídeos carragena, goma arábica, goma xantana e pectina através da metodologia de superfície de resposta. A influência das variáveis estudadas na formação do complexo foi estudada e conclui-se que cada sistema lactoalbumina-polissacarídeo obteve um comportamento específico, de acordo com a estrutura do polissacarídeo envolvido e consequente interação proteína-polissacarídeo.

#### 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABERKANE, L.; JASNIEWSKI, J.; GAIANI, C.; SCHER, J.; SANCHEZ, C. Thermodynamic Characterization of Acacia Gum- $\beta$ -Lactoglobulin Complex Coacervation. *Langmuir*, v. 26, n. 15, p. 12523-12533, 2010.

BALDASSO, C.; MARTINS, S.; SANGIOVANNI, P. **Espessantes**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M. N. **Fundamentos de Tecnologia de Alimentos**. Vol.3. Ed. Atheneu. São Paulo, 1998.

BASTOS, D. S.; BARRETO, B. N.; SOUZA, H. K. S.; BASTOS, M.; ROCHA-LEÃO, M. H. M.; ANDRADE, C. T.; GONÇALVES, M. P. Characterization Of A Chitosan Sample Extracted From Brazilian Shrimps And Its Application To Obtain Insoluble Complexes With A Commercial Whey Protein Isolate. *Food Hydrocolloids*, v. 24, p. 709-718, 2010.

BELLAVITA, R.; GUANANJA, G. Carragenina con nuevas propiedades: La alternativa vegetal de la gelatina. *Revista Ênfasis Alimentacion*, Argentina, Año 5, n. 4, p. 42-43, abr. 1999.

BORGES, P. F. Z.; SGARBIERI, V. C.; DIAS, N. F. G. P.; JACOBUCCI, H. B.; PACHECO, M. T. B.; BALDINI, V. L. S. Produção Piloto de Concentrados de Proteínas de Leite Bovino: Composição e Valor Nutritivo. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas: ITAL, v. 4, n. 52, p. 1-4, 2001.

CAMILO, K. F. B. **Complexo pectina/caseína: aspectos básicos e aplicados**. Ribeirão Preto, 2007. 147 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2007.

CHODANKAR, S.; ASWAL, V. K.; KOHLBRECHER, J.; VAVRIN, R.; WAGH, A. G. Structural study of coacervation in protein-polyelectrolyte complexes. **Physical Review**, v. 78, 2008.

CHOLLAKUP, R.; SMITTHIPONG, W.; EISENBACH, C. D.; TIRREL, M. Phase behavior and coacervation of aqueous poly(acrylic acid)-poly(allylamine) solutions. **Macromolecules**. v. 43, p. 2518-2528, 2010.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Produção Mundial de Queijos 2007/2008**. Disponível em: <<http://www.cnpqgl.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/industria/tabela0423.php>> Acesso em: 30 mar. 2011.

FENNEMA, O. R. **Química de los alimentos**. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 2000. 1258p.

GIRARD, M.; TURGEON, S. L.; GAUTHIERG, S. F. Interbiopolymer complexing between  $\beta$ -lactoglobulin and low- and high- methylated pectin measured by potentiometric titration and ultrafiltration. **Food Hydrocolloids**, v. 16, p. 585-591, 2002.

HEBBEL, H. S. **Aditivos y Contaminantes de Alimentos**. Ed. Fundacion Chile. Santiago-Chile. 1979.

HUFFMAN, L. M.; HARPER, W. J. Maximizing the value of milk through separation technologies. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2238-2244, 1999.

JANSSON, P. E.; KENNE, L.; LINDBERG, B. Structure of the extracellular polysaccharide from *Xanthomonas campestris*. **Carbohydrate Research**, v. 45, p. 275-282, 1975.

JEANES, A. Extracellular microbial polysaccharides – New hydrocolloids of interest to the food industry. **Food Technology**, v. 28, n. 5, p. 34-38, 1974.

LANEUVILLE, S. I.; PAQUIN, P.; TURGEON, S. L. Effect of preparation conditions on the characteristics of whey protein-xanthan gum complexes. **Food Hydrocolloids**, v. 14, p. 305-314, 2000.

LIU, S.; CAO, Y. L.; GHOSH, S.; ROUSSEAU, D.; LOW, N. H.; NICKERSON, M. T. Intermolecular interactions during complex coacervation of pea protein isolate and gum Arabic. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 552-556, 2010.

MARUYAMA, L. Y.; CARDARELLI, H. R.; BURITI, F. C. L.; SAAD, S. M. I. Textura instrumental de queijo *petit-suisse* potencialmente probiótico: influência de diferentes combinações de gomas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 26, p. 386-393, 2006.

PAGNO, C. H.; BALDASSO, C.; TESSARO, I. C.; FLORES, S. H.; JONG, E. V. Obtenção de concentrados protéicos de soro de leite e caracterização de suas propriedades funcionais tecnológicas. **Alim. Nutr., Araraquara**, v. 20, n. 2, p. 231-239, abr./jun. 2009.

PETTITT, D. J. Xanthan gum. *In*: M. GLICKSMAN (ed.), **Food Hydrocolloids**. Boca Raton, Ed. CRC Press, vol. 1, p. 127-149, 1982.

ROCKS, J. K. Xanthan gum. **Food Technology**, Chicago, v. 25, n. 5, p. 476-483, 1971.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos: uma estratégia seqüencial de planejamentos**. Campinas: Editora Casa do Pão, 2005. 325 p.

SCHMITT, C.; TURGEON, S. L. Protein/polysaccharide complexes and coacervates in food systems. **Adv. Colloid Interface Sci**, v. 167, p. 63-70, 2010.

SPAGNUOLO, P. A.; DALGLEISH, D. G.; GOFF, H. D.; MORRIS, E. R. Kappa-carrageenan interactions in systems containing casein micelles and polysaccharide stabilizers. **Food Hydrocolloids**, v. 19, p. 371-377, 2005.

STONE, A. K.; NICKERSON, M. T. Formation and functionality of whey protein isolate (kappa-, iota-, and lambda-type) carrageenan electrostatic complexes. **Food Hydrocolloids**, n. 27, p. 271-277, 2012.

TOLSTOGUZOV, V. B. Thermodynamic considerations on polysaccharide functions. Polysaccharides came first. **Carbohydrate Polymers**, v. 54, p. 371-380, 2003.

TOLSTOGUZOV, V. B. Ingredient interactions: in complex foods: Aggregation and phase separation. *In*: Understanding and controlling the microstructure of complex foods. D. J. McClements ed, Chapter 7. CRC Press, Boca Raton, Woodhead Publishing Limited. Cambridge, UK. p. 185-206, 2007.

TONELI, J. T. C. L.; MURR, F. E. X.; PARK, K. J. Estudo da reologia de polissacarídeos utilizados na indústria de alimentos. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, Especial, v. 7, n. 2, p. 181-204, 2005.

UENOJO, M.; PASTORE, G. M. Pectinases: aplicações industriais e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, 2007.

WEINBRECK, F. et al. Complex coacervation of whey proteins and gum arabic. **Biomacromolecules**, v. 4, n. 2, p. 293-303, 2003.

## **CAPÍTULO III**

### **COMPLEXOS POLIMÉRICOS OBTIDOS A PARTIR DE CONCENTRADO PROTEÍCO DE SORO (WPC) E POLISSACARÍDEOS**

## RESUMO

A otimização do processo de formação de complexos poliméricos entre WPC e os polissacarídeos carragena, goma arábica, goma xantana e pectina foi realizada através da metodologia de superfície de resposta, com o objetivo de definir as condições ótimas para a formação de cada complexo. O delineamento composto central rotacional (DCCR) para três variáveis independentes foi utilizado como planejamento do experimento. Nos complexos WPC–carragena e WPC–goma arábica apenas a variável pH foi significativa ( $Pr < 0,05$ ). Já no complexo WPC–goma xantana foram significativas ( $Pr < 0,05$ ) as variáveis concentração salina e massa de polissacarídeo. As variáveis do complexo WPC–pectina não foram consideradas significativas ( $Pr < 0,05$ ). As condições ótimas do processo variaram para cada polissacarídeo. Para a carragena o pH foi igual a 4,4, concentração salina de 0,37 mol/L e massa de polissacarídeo de 14,6 mg. No caso da goma arábica, o pH foi de 4,3, concentração salina de 0,40 mol/L e massa de polissacarídeo de 12,6 mg. Enquanto para a goma xantana, o pH foi de 5,2, concentração salina de 0,35 mol/L e massa de polissacarídeo de 10,3 mg. Já a pectina, o pH foi de 5,9, concentração salina de 0,61 mol/L e massa de polissacarídeo de 7,5 mg. O modelo matemático que melhor se ajustou aos dados experimentais foi o do complexo WPC–goma arábica que apresentou alto coeficiente de determinação ( $R^2 = 0,88$ ).

Palavras-chave: otimização, WPC, complexos poliméricos

## ABSTRACT

The optimization of the complex formation between WPC and polymeric polysaccharides carrageenan, gum arabic, xanthan gum and pectin was performed by response surface methodology, in order to define the optimal conditions for the formation of each complex. The central composite rotational design (CCRD) for three independent variables was used as planning design for the experiment. In complex WPC-carrageenan and WPC-arabic gum only the variable of pH was significant ( $Pr < 0.05$ ). For compound WPC-xanthan gum there was significance ( $Pr < 0.05$ ) in variables of salt concentration and polysaccharide weight. The variables of the WPC-pectin complex could not be assessed because there was not any model considered significant ( $Pr < 0.05$ ). The optimum process conditions varied for each polysaccharide. To the carrageenan, the pH was 4.4, the salt concentration was 0.37 mol/L and the polysaccharide weight was 14.6 mg. To the arabic gum, the pH was 4.3, the salt concentration was 0.40 mol/L and the polysaccharide weight was 12.6 mg. The values for the xanthan gum were 5.2 of pH, 0.35 mol/L of salt concentration and 10.3 mg of polysaccharide weight. To the pectin, the pH was 5.9, the salt concentration was 0.61 mol/L and the polysaccharide weight was 7.5 mg. The mathematical model that best fitted the experimental data was the one from the complex WPC-arabic gum, which showed high determination coefficient ( $R^2 = 0.88$ ).

Key-words: optimization, WPC, polimeric complexes

## 1 INTRODUÇÃO

A interação que ocorre entre proteínas e polissacarídeos exerce influência direta sobre as propriedades macroscópicas dos alimentos, tais como fluidez, estabilidade e textura, por isso, são muito utilizados pelas indústrias alimentícias (TOLSTOGUZOV, 2003). A compatibilidade termodinâmica é uma das formas de interação que pode ocorrer quando proteínas e polissacarídeos são misturados juntos em um sistema aquoso. Esta interação depende, principalmente, das cargas elétricas dos biopolímeros e dos fatores que influenciam o sistema, como pH e força iônica (TOLSTOGUZOV, 2003). Normalmente acontece a baixas concentrações e forças iônicas, no momento em que as moléculas estão com cargas elétricas opostas (TOLSTOGUZOV, 2007). Sob essas condições, as moléculas são espontaneamente atraídas umas pelas outras e há formação de duas fases, uma delas rica em proteína e polissacarídeo e a outra isenta desses biopolímeros, mas rica em solvente. A proteína e o polissacarídeo estão unidos na fase rica em biopolímeros pela força eletrostática e podem tomar a forma de um coacervado ou um precipitado (TOLSTOGUZOV, 2007). Os complexos coacervados combinam as propriedades físico-químicas e funcionais das macromoléculas que os constituem, especialmente seu caráter hidrofóbico/hidrofílico. Devido às suas estruturas específicas, tamanho e composição, os complexos proteína-polissacarídeo e os coacervados estão exibindo uma ampla gama de propriedades funcionalidades úteis para o desenvolvimento de produtos alimentares complexos (SCHMITT e TURGEON, 2010).

O concentrado protéico de soro de leite (*Whey Protein Concentrate-WPC*) é o produto obtido pela remoção dos constituintes não-protéicos do soro, de tal modo que o produto final seco tenha 25-89% de concentração de proteína. Contém lactose, gordura e minerais, sendo que o teor de lactose diminui à medida que o teor de proteína aumenta proporcionalmente. É obtido por métodos de separação que não utilizam tratamento térmico (por exemplo, ultrafiltração), por isso se diferencia de outros produtos quanto às suas propriedades funcionais, uma vez que apresenta conformação estrutural preservada (ANTUNES, 2003).

As carragenas são um grupo de polissacarídeos naturais que estão presentes na estrutura celular de algas do tipo *Rodophyceae*. Este tipo de polissacarídeo presente em algas possui características que o diferencia dos polissacarídeos isolados de outros vegetais, como por exemplo, presença de unidades de 3,6-anidrogactose e de grupos sulfato. (SPAGNUOLO et al., 2005). A carragena é um ingrediente alimentar bem estabelecido, com um amplo número de aplicações devido às suas propriedades físico-químicas. Confere estabilidade, corpo e diminuição da atividade de água quando adicionadas a produtos lácteos, cárneos, sorvetes, entre outros. Possui amplo histórico de emprego em laticínios, uma vez que interage de forma muito favorável com as proteínas do leite. A mais específica propriedade da carragena como hidrocolóide é seu alto grau de reatividade com certas proteínas e sua reatividade com proteína de leite em particular, que é a base para um grande número de aplicações de carragena em alimentos. (BALDASSO, 2004; BELLAVITA e GUANANJA, 1999; SPAGNUOLO et al., 2005).

O termo geral pectina designa ácidos pectínicos solúveis em água, com grau variável de grupos metil éster e um grau de neutralização capaz de formar gel com açúcares e ácidos em condições adequadas (UENOJO e PASTORE, 2007). A pectina é um dos espessantes mais economicamente viáveis do mercado uma vez que apresenta baixo custo de obtenção (MARUYAMA et al., 2006). Têm a capacidade de formar géis, sob certas circunstâncias, o que faz delas um importante aditivo em geléias, marmeladas e na indústria confeitaria. O comprimento da cadeia e a natureza química das zonas de conexão das moléculas de pectina influenciam diretamente nas condições de formação do gel e na sua força. Sob condições iguais, a força do gel aumenta com o aumento do peso molecular da pectina e qualquer

tratamento que despolimerize as cadeias de pectina refletirá em géis mais fracos. (TONELI et al., 2005).

A goma arábica é o exsudato gomoso dessecado dos troncos e dos ramos de *Acacia senegal* ou de outras espécies africanas de acácia. Caracteriza a goma vegetal mais utilizada pois além de espessante, é também um ótimo estabilizante de emulsões (BARUFFALDI, 1998). A goma arábica dissolve facilmente em água, gerando soluções claras que variam da coloração amarelo muito pálido para laranja dourado. A estrutura altamente ramificada da goma dá origem às moléculas compactas, com volume hidrodinâmico relativamente pequeno e, conseqüentemente, as soluções de goma tornam-se viscosas somente a altas concentrações. Os três grandes campos de aplicação da goma arábica na indústria de alimentos são: confeitos, emulsão de aromas em bebidas e encapsulamento de aromas. A goma arábica é também um ingrediente bi-funcional, além de suas propriedades funcionais como espessante e estabilizante, possui efeito prébiótico no organismo humano (HEBBEL, 1979).

A goma xantana é um polissacarídeo sintetizado pela bactéria fitopatogênica *Xanthomonas campestris*. Apresenta-se com uma estrutura primária composta de repetidas unidades pentassacarídicas (JANSSON et al., 1975). A xantana é solúvel em água fria ou quente, exibindo alta viscosidade até mesmo em baixas concentrações (JEANES, 1974; ROCKS, 1971). Funciona muito bem como estabilizante em produtos à base de água, possui boa solubilidade. Possui comportamento pseudoplástico quando em solução, torna-se rala quando sobre ela é aplicada força de cisalhamento (BALDASSO, 2004; PAGNO, 2009). A viscosidade das soluções de xantana é muito estável em termos de variações no pH, temperatura e força iônica (ROCKS, 1971). A estabilidade quanto às variações de pH depende da concentração: quanto maior a concentração, maior a estabilidade da solução (PETTITT, 1982). As operações de bombeamento na fase de produção do alimento são facilitadas pelo seu comportamento pseudoplástico, fazendo com que produtos como, cremes para saladas fluam com facilidade de um frasco ou garrafa. Por isso, é utilizada na fabricação de molhos para saladas, bebidas, geléias, produtos cárneos, enlatados, e sopas (BALDASSO, 2004).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi otimizar o processo de obtenção de complexos poliméricos obtidos a partir do WPC e dos polissacarídeos carragena, goma arábica, goma xantana e pectina.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Material**

Os polissacarídeos carragena, goma arábica, goma xantana e pectina foram adquiridos de Sigma Aldrich (St. Louis, USA). O concentrado protéico de soro de leite (WPC), com teor de proteína de 53%, foi adquirido de CPKelco (Atlanta, USA). Nos experimentos foram empregados reagentes químicos de grau analítico e água deionizada.

### **2.2 Metodologia**

#### **2.2.1 Planejamento experimental**

Foi empregado o delineamento composto central rotacional (DCCR) para três variáveis independentes, com cinco níveis cada uma (RODRIGUES e IEMMA, 2005), como mostra a Tabela 1. A variável dependente (Y) foi a turbidez, calculada a partir da leitura de transmitância do sobrenadante. Foi realizado um fatorial completo  $2^3$ , seis repetições do ponto central e seis pontos axiais, totalizando 20 experimentos (Tabela 2). Na otimização do

processo de formação dos coacervados foi utilizada a metodologia de superfície de resposta (MSR) que avalia simultaneamente a influência das três variáveis pH, concentração salina e massa de polissacarídeo.

**Tabela 1.** Variáveis e níveis do planejamento experimental para formação de coacervados.

Variáveis	Símbolo	Níveis				
		-1,68	-1	0	1	1,68
pH	X <sub>1</sub>	3,0	4,2	6,0	7,8	9,0
Concentração de NaCl (mol/L)	X <sub>2</sub>	0	0,20	0,50	0,80	1,0
Polissacarídeo (mg)	X <sub>3</sub>	2,5	7,0	13,8	20,4	25,0

### 2.2.2 Formação dos complexos coacervados

As misturas contendo WPC - polissacarídeo foram preparadas seguindo a metodologia proposta na literatura (BASTOS et al., 2010; ABERKANE et al., 2010; WEINBRECK et al., 2003), considerando os fatores pH (3,0; 4,2; 6,0; 7,8; 9,0), concentração salina (0; 0,20; 0,50; 0,80; 1,0 mol/L) e massa de polissacarídeo (2,5; 7,0; 13,8; 20,4; 25,0 mg).

Inicialmente, foram preparadas soluções a 1% (m/v) de cada polissacarídeo e soluções-tampão com pH e concentração salina pré-determinados. Para o preparo da mistura, pesou-se a 100 mg de WPC e em seguida adicionou-se a solução-tampão específica e o volume de polissacarídeo (pré-determinado). As amostras foram agitadas durante 2 horas a 25°C no agitador orbital (TECNAL, TE 420, Brasil). A fim de garantir a formação dos complexos poliméricos, as amostras foram mantidas sob refrigeração por 24 h (CAMILO, 2007) e depois centrifugadas (CIENITEC, mod. TC-6000, Brasil) a 6.000 rpm durante 30 min. A Tabela 2 apresenta as condições experimentais do planejamento experimental.

**Tabela 2.** Condições experimentais do planejamento experimental fatorial completo de três variáveis independentes.

Ensaio	pH (X <sub>1</sub> )	Conc. salina (X <sub>2</sub> )	Polissac. (X <sub>3</sub> )
1	-1	-1	-1
2	-1	-1	+1
3	-1	+1	-1
4	-1	+1	+1
5	+1	-1	-1
6	+1	-1	+1
7	+1	+1	-1
8	+1	+1	+1
9	-1,682	0	0
10	+1,682	0	0
11	0	-1,682	0
12	0	+1,682	0
13	0	0	-1,682
14	0	0	+1,682
15	0	0	0
16	0	0	0
17	0	0	0
18	0	0	0
19	0	0	0
20	0	0	0

### 2.2.3 Caracterização dos complexos coacervados

#### Turbidimetria

Após a centrifugação, foi retirada uma alíquota de 4 mL do sobrenadante para determinação da transmitância no espectrofotômetro (Biochrom mod. LIBRA S12, Inglaterra) com comprimento de onda de 400 nm. Segundo ABERKANE et al. (2010) e CHOLLAKUP et al. (2010), a turbidez (T) é definida por:

$$T = -\ln(I/I_0) \quad (1)$$

onde, I<sub>0</sub>= Intensidade da incidência de luz e I= é a intensidade de luz que passou pelo volume da amostra.

#### Caracterização morfológica

Foram preparadas amostras apontadas pela análise estatística como ótimas em relação à turbidez (ponto ótimo de minimização). Seus complexos precipitados foram secos à vácuo (SPEED VAC SC 110, SAVANT INC., USA) e posteriormente analisados quanto à sua microestrutura por microscopia eletrônica de varredura – MEV (ZEISS, EVO MA10, Alemanha). O microscópio foi operado no modo de elétrons secundários com tensão de aceleração de 20 kV.

## 2.2.4 Análise estatística

Os dados experimentais da Tabela 3 foram ajustados por regressão não linear à equação polinomial de 2<sup>o</sup>. grau. Para tanto, foi usado o pacote estatístico SAS<sup>®</sup> v. 9.0 (SAS Institute Inc., NC, USA). O modelo obtido foi validado estatisticamente através da análise de variância.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Formação de complexos poliméricos WPC-polissacarídeos

De acordo com Tolstoguzov et al., (2007) proteína e polissacarídeo estão unidos na fase rica em biopolímeros pela força eletrostática e podem tomar a forma de um coacervado ou um precipitado. Em todos os experimentos estudados foram formados complexos poliméricos insolúveis que precipitaram, independente do polissacarídeo utilizado ou valor de pH, concentração salina e massa de polissacarídeo, variando apenas a quantidade de complexo formado.

A Tabela 3 apresenta os resultados da variável dependente Turbidez (Y) para os complexos formados entre WPC e polissacarídeos.

**Tabela 3.** Variável dependente (Y) de cada complexo formado entre WPC e polissacarídeos.

Y <sub>1</sub> (CA)	Y <sub>2</sub> (GA)	Y <sub>3</sub> (GX)	Y <sub>4</sub> (PE)
0,036	0,120	0,242	0,480
0,036	0,155	1,115	0,607
0,158	0,159	0,443	0,574
0,114	0,203	2,244	0,662
0,272	0,544	0,591	0,646
0,232	0,389	1,309	0,625
0,305	0,440	0,465	0,569
0,203	0,345	0,858	0,734
0,035	0,070	0,511	0,449
0,566	0,652	1,027	0,308
0,221	0,204	0,406	0,533
0,228	0,355	3,107	0,285
0,264	0,332	0,796	0,378
0,165	0,390	4,017	0,242
0,177	0,311	2,996	0,622
0,166	0,304	2,976	0,654
0,171	0,326	2,830	0,607
0,163	0,278	2,976	0,792
0,209	0,315	2,976	0,681
0,212	0,319	2,781	0,717

(CA) carragena; (GA) goma arábica; (GX) goma xantana; (PE) pectina.

A análise de variância da regressão da variável resposta turbidez, disposta nas Tabelas 4 e 5, permite dizer que o modelo linear foi significativo para o complexo formado com carragena e goma arábica. O modelo quadrático foi significativo para os complexos formados

com goma xantana, como mostra a Tabelas 6. Na Tabela 7 é possível verificar que nenhum modelo foi significativo para os complexos formados com pectina, logo não foi possível discutir seus resultados. Verificou-se que o modelo matemático do complexo WPC-goma arábica foi o que melhor se ajustou aos dados experimentais, devido ao seu alto coeficiente de determinação  $R^2$  (Tabela 11).

**Tabela 4.** Análise de variância da variável resposta turbidez para o complexo WPC-carragena.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	Valor F	Pr>F
Modelo linear	2	0,1867	0,0934	26,19	<b>0,0001</b>
Resíduo (erro)	17	0,0606	0,0036		
Falta de Ajuste	2	0,0360	0,0180	10,95	0,0012
Erro Puro	15	0,0247	0,0016		
Total	19	0,2473			

**Tabela 5.** Análise de variância da variável resposta turbidez para o complexo WPC-goma arábica.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	Valor F	Pr>F
Modelo linear	3	0,3246	0,1082	38,41	<b>0,0001</b>
Resíduo (erro)	16	0,0451	0,0028		
Falta de Ajuste	5	0,0227	0,0045	2,23	0,1247
Erro Puro	11	0,0224	0,0020		
Total	19	0,3696			

**Tabela 6.** Análise de variância da variável resposta turbidez para o complexo WPC-goma xantana.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	Valor F	Pr>F
Modelo quadrático	3	23,5804	3,9301	9,47	<b>0,0004</b>
Resíduo (erro)	13	5,3948	0,4150		
Falta de Ajuste	8	5,3522	0,6690	78,58	0,0001
Erro Puro	5	0,0426	0,0085		
Total	19	28,98			

**Tabela 7.** Análise de variância da variável resposta turbidez para o complexo WPC-pectina.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	Valor F	Pr>F
Modelo linear	3	0,0053	0,0018	0,08	<b>0,9713</b>
Modelo quadrático	3	0,1175	0,0392	1,71	<b>0,2031</b>
Resíduo (erro)	17	0,3899	0,0229		
Falta de Ajuste	2	0,1066	0,0533	2,82	0,0911
Erro Puro	15	0,2833	0,0189		
Total	19	0,4556			

As estimativas de cada parâmetro do modelo de primeira ordem ou segunda ordem considerado significativo, além do valor t do teste de Student e do valor da probabilidade (Pr) de cada parâmetro podem ser encontrados nas Tabela 8, 9, 10.

**Tabela 8.** Parâmetros estimados do modelo linear – Complexo WPC-carragena.

Parâmetro	Estimativa	Valor <i>t</i>	Pr >   <i>t</i>
x <sub>1</sub>	0,1143	6,39	< <b>0,05</b>
x <sub>2</sub>	0,0158	0,88	0,40
x <sub>3</sub>	-0,0258	-1,44	0,18
x <sub>1</sub> *x <sub>1</sub>	0,0245	1,40	0,19
x <sub>1</sub> *x <sub>2</sub>	-0,0245	-1,05	0,32
x <sub>1</sub> *x <sub>3</sub>	-0,0122	0,02	0,61
x <sub>2</sub> *x <sub>2</sub>	0,0076	1,29	0,23
x <sub>2</sub> *x <sub>3</sub>	-0,0024	-0,14	0,89
x <sub>3</sub> *x <sub>3</sub>	-0,0132	-0,06	0,58

**Tabela 9.** Parâmetros estimados do modelo linear – Complexo WPC-goma arábica.

Parâmetro	Estimativa	Valor <i>t</i>	Pr >   <i>t</i>
x <sub>1</sub>	0,01509	10,93	< <b>0,05</b>
x <sub>2</sub>	0,0141	1,02	0,33
x <sub>3</sub>	-0,0054	-0,39	0,70
x <sub>1</sub> *x <sub>1</sub>	0,0098	0,73	0,48
x <sub>1</sub> *x <sub>2</sub>	-0,0294	-1,63	0,13
x <sub>1</sub> *x <sub>3</sub>	-0,0411	-2,28	< 0,05
x <sub>2</sub> *x <sub>2</sub>	-0,0191	-1,42	0,19
x <sub>2</sub> *x <sub>3</sub>	0,0086	0,48	0,64
x <sub>3</sub> *x <sub>3</sub>	0,0098	0,73	0,48

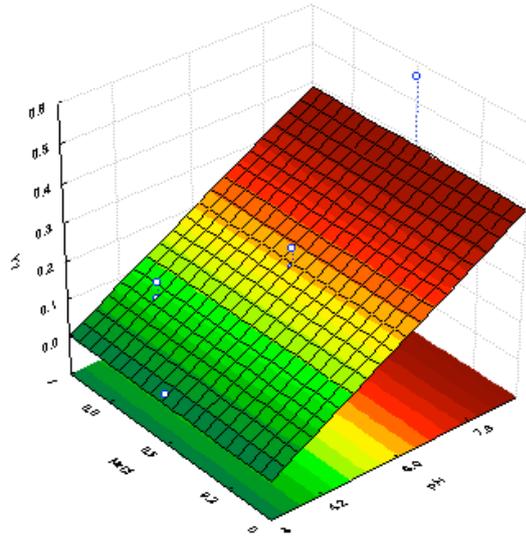
**Tabela 10.** Parâmetros estimados do modelo quadrático – Complexo WPC-goma xantana.

Parâmetro	Estimativa	Valor <i>t</i>	Pr >   <i>t</i>
x <sub>1</sub>	0,0034	0,02	0,99
x <sub>2</sub>	0,3877	2,19	<b>0,05</b>
x <sub>3</sub>	0,6740	3,81	< <b>0,05</b>
x <sub>1</sub> *x <sub>1</sub>	-0,9017	-5,23	< 0,05
x <sub>1</sub> *x <sub>2</sub>	-0,2384	-1,03	0,33
x <sub>1</sub> *x <sub>3</sub>	-0,1954	-0,85	0,42
x <sub>2</sub> *x <sub>2</sub>	-0,5519	-3,20	< <b>0,05</b>
x <sub>2</sub> *x <sub>3</sub>	0,0754	0,33	0,75
x <sub>3</sub> *x <sub>3</sub>	-0,3216	-1,87	0,09

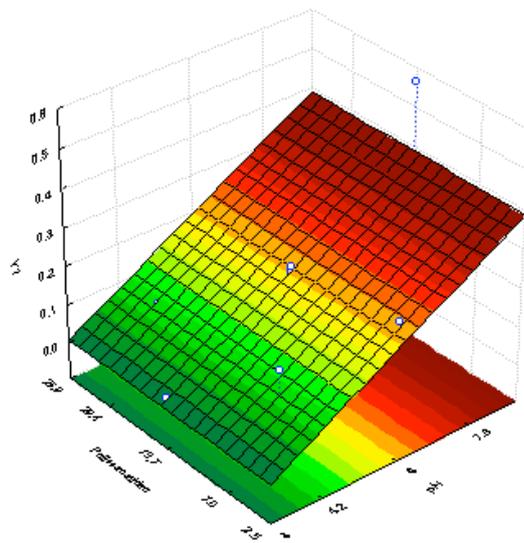
Apenas a variável pH foi considerada significativa (Pr < 0,05) no processo de formação do complexo polimérico com carragena e goma arábica.

Para o complexo WPC-carragena, as Figuras 1 e 2 mostram que o valor de turbidez aumentou com o incremento do pH. Isso significa que quanto menor o valor de pH na faixa estudada, mais complexo polimérico foi formado entre WPC e carragena. Neste trabalho, a condição ótima para formação do complexo foi em pH 4,4 (Tabela 13), valor localizado entre o pKa da carragena (2,0) e o pI da β-lactoglobulina (5,3), proteína presente em maior concentração no soro de queijo. A interação entre proteína e carragena é naturalmente eletrostática e devido à influência do pH na ionização das cargas das proteínas, complexos eletrostáticos devem se formar na estreita faixa de pH onde os biopolímeros possuem cargas opostas (WEINBRECK et al., 2004).

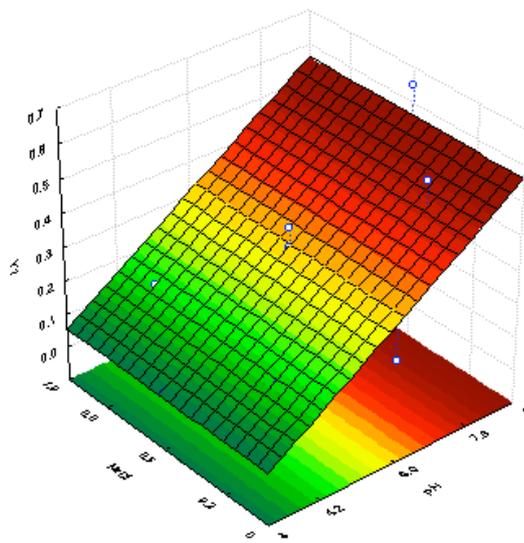
As Figuras 3 e 4 mostram que o mesmo comportamento foi obtido em relação ao complexo WPC-goma arábica, onde mais complexo polimérico foi formado com a diminuição do pH. A condição ótima para a formação do complexo foi pH 4,3, valor bem próximo ao do complexo discutido anteriormente. Conforme discussão acima, o resultado encontrado também foi como o esperado.



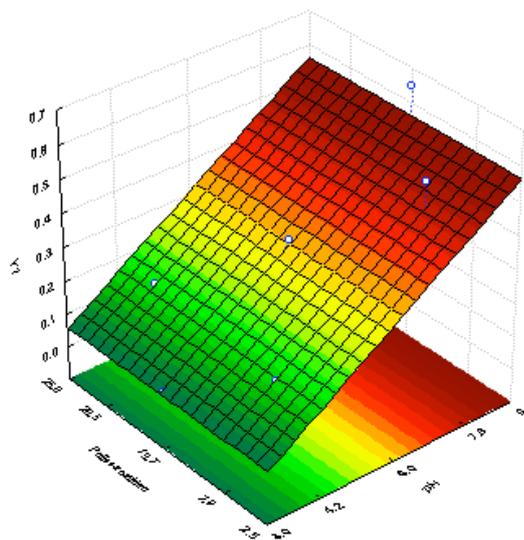
**Figura 1.** Influência do pH e concentração salina na turbidez do sistema WPC-carragena.



**Figura 2.** Influência do pH e massa de polissacarídeo na turbidez do sistema WPC-carragena.



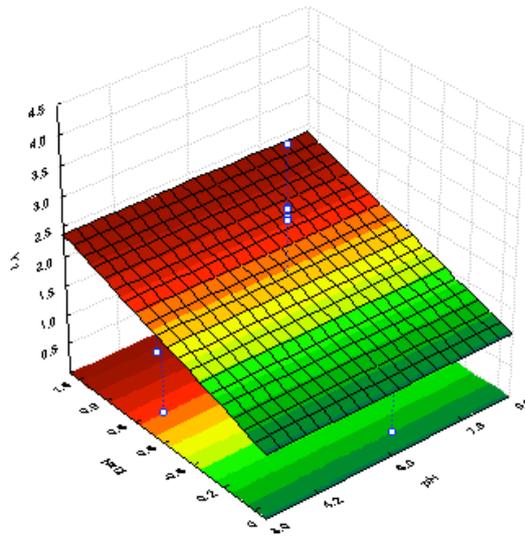
**Figura 3.** Influência do pH e concentração salina na turbidez do sistema WPC-goma arábica.



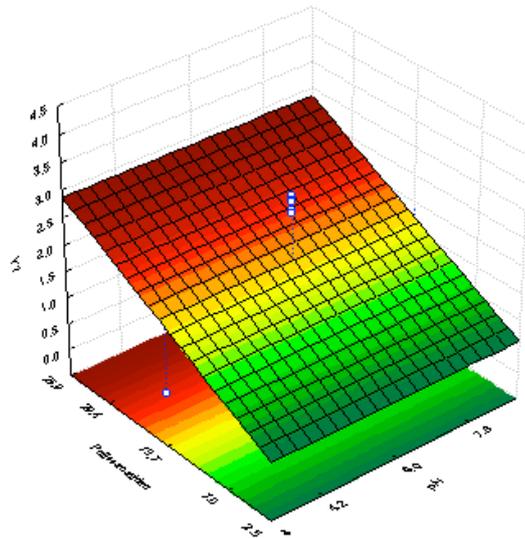
**Figura 4.** Influência do pH e massa de polissacarídeo na turbidez do sistema WPC-goma arábica.

No caso do complexo WPC-goma xantana, as Figuras 5 e 7 mostram que a turbidez do sistema aumenta com o incremento da concentração salina, ou seja, mais complexo polimérico é formado em valores mais baixos de concentração salina. De acordo com Bertrand e Turgeon (2007) que estudaram o melhoramento das propriedades gelificantes do isolado protéico de soro com a adição de goma xantana, a incorporação de sal em uma solução mista de proteína-polissacarídeo favorece a separação de fase segregativa porque o sal gera uma proteção das cargas presentes nos biopolímeros, e conseqüentemente reduz as interações eletrostáticas entre eles. As Figuras 6 e 7 mostram que em valores mais baixos de massa de goma xantana, dentro da faixa estudada, menor é a turbidez do sistema. Segundo Lii et al. (2003) que estudaram os complexos formados entre goma xantana e ovoalbumina, provavelmente a faixa de valores baixos de massa de goma xantana onde mais complexo foi formado tratava-se de uma região próxima à relação estequiométrica

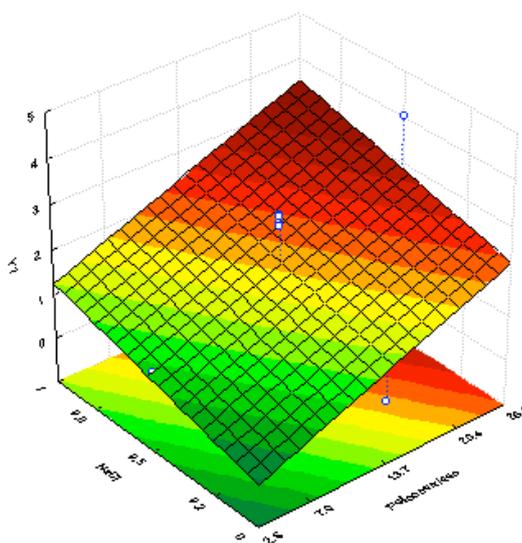
massa de goma xantana : proteína, e acima dessa região, o componente goma xantana estava em excesso e o valor de turbidez do sistema foi maior.



**Figura 5.** Influência do pH e concentração salina na turbidez do sistema WPC-goma xantana.



**Figura 6.** Influência do pH e massa de polissacarídeo na turbidez do sistema WPC-goma xantana.



**Figura 7.** Influência da concentração salina e massa de polissacarídeo na turbidez do sistema WPC-goma xantana.

### 3.2 Otimização da formação de complexo polimérico

A Tabela 11 apresenta as equações de primeira ou segunda ordem, considerando as variáveis significativas ( $Pr < 0,05$ ) de cada complexo, como resultado da minimização da variável resposta turbidez.

**Tabela 11.** Equações geradas pela minimização da variável resposta de cada complexo.

Equação	R <sup>2</sup>
(1) $Y1 = -0,18447 + 0,06352 * X1$	0,75
(2) $Y1 = -0,46167 + 0,130541 * X1 + 0,019656 * X3 - 0,00341 * X1 * X3$	0,88
(3) $Y1 = -9,08875 + 3,224549 * X1 + 7,07297 * X2 - 0,268557 * X1^2 - 5,780493 * X2^2$	0,81

(1) Complexo WPC-carragena; (2) Complexo WPC -goma arábica;  
(3) Complexo WPC -goma xantana

A Tabela 12 apresenta as condições ótimas para minimização da turbidez do sobrenadante de cada sistema, o que caracteriza uma maior precipitação dos complexos poliméricos.

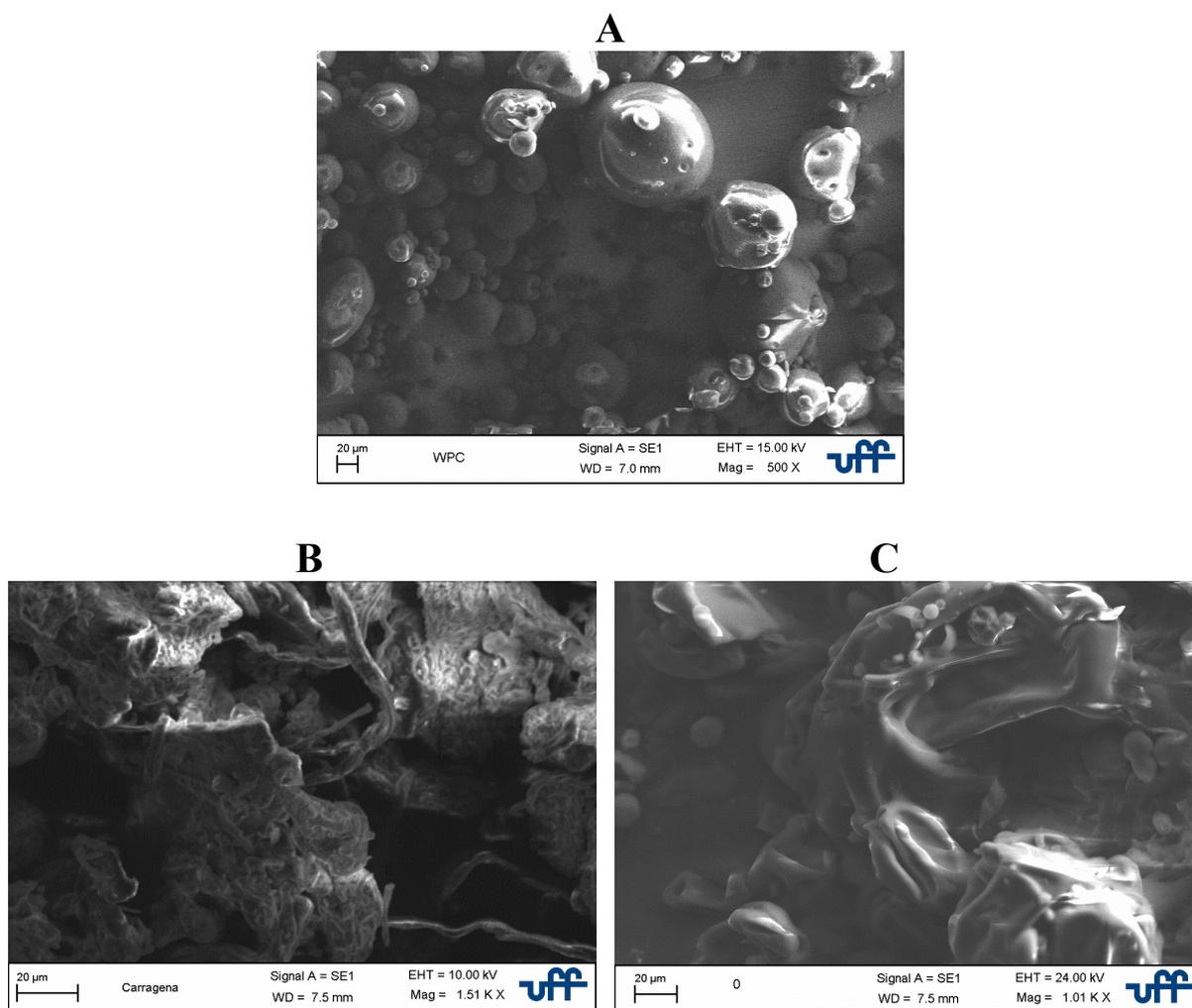
**Tabela 12.** Condições ótimas das variáveis codificadas e reais para os sistemas formados com WPC.

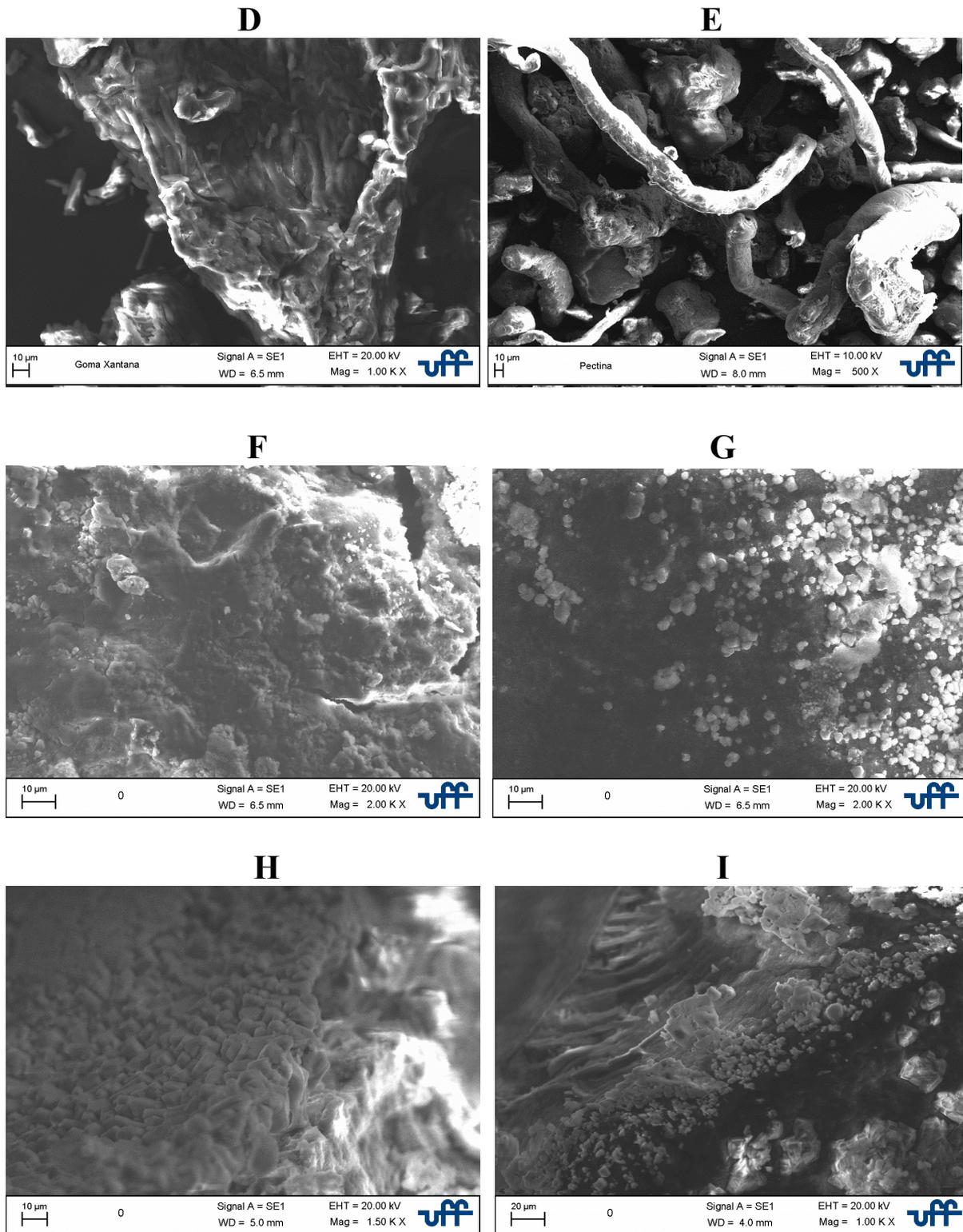
Variável		CA	GA	GX	PE
X <sub>1</sub>	Codificada	-0,8949	-0,9300	-0,6918	0
	Real	4,4	4,3	5,2	6,0
X <sub>2</sub>	Codificada	-0,4302	-0,3273	-0,5014	0
	Real	0,37	0,40	0,35	0,5
X <sub>3</sub>	Codificada	-0,0376	-0,1669	-0,5195	0
	Real	14,6	12,6	10,3	13,8
Y	Codificada	0,0851	0,1580	1,6070	0,3065
	Real	0,0950	0,1626	2,3214	0,3195

(CA) carragena; (GA) goma arábica; (GX) goma xantana; (PE) pectina.

### 3.3 Caracterização morfológica

Utilizando as condições ótimas de preparo para os complexos poliméricos (Tabela 12), as imagens de MEV destas estruturas são apresentadas na Figura 8. A Figura 8A demonstra a estrutura do WPC caracterizado por estruturas globulares, correspondendo às formas globulares das proteínas  $\beta$ -lactoglobulina e  $\alpha$ -lactoalbumina, proteínas presentes em maior concentração no soro de queijo. As Figuras 8B-E demonstram a estruturas dos polissacarídeos isolados. É possível também visualizar a formação do complexo polimérico entre WPC e os polissacarídeos carragena, goma arábica, goma xantana e pectina (Figuras 8F-I). Estes complexos possuem características morfológicas específicas para cada um deles e demonstram ser estruturas diferentes das iniciais.





**Figura 8.** Fotomicrografias de WPC, polissacarídeos e complexos poliméricos preparados sob condições ótimas e secos em estufa à vácuo. (A) WPC, (B) Carragena, (C) Goma arábica, (D) Goma xantana, (E) Pectina, (F) Complexo polimérico WPC-carragena, (G) Complexo polimérico WPC-goma arábica, (H) Complexo polimérico WPC-goma xantana, (I) Complexo polimérico WPC-pectina.

## 4 CONCLUSÕES

Foi possível otimizar o processo de obtenção de complexos poliméricos formados a partir do WPC e os polissacarídeos carragena, goma arábica, goma xantana e pectina através da metodologia de superfície de resposta. A influência das variáveis estudadas na formação do complexo foi estudada e conclui-se que cada sistema WPC-polissacarídeo obteve um comportamento específico, de acordo com a estrutura do polissacarídeo envolvido e consequente interação proteína-polissacarídeo.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABERKANE, L.; JASNIEWSKI, J.; GAIANI, C.; SCHER, J.; SANCHEZ, C. Thermodynamic Characterization of Acacia Gum- $\beta$ -Lactoglobulin Complex Coacervation. **Langmuir**, v. 26, n. 15, p. 12523-12533, 2010.

ANTUNES, A. J. **Funcionalidade de proteínas do soro de leite bovino**, 1ª. ed., Editora Manole Ltda., 2003. Editora Manole Ltda., 2003.

BALDASSO, C.; MARTINS, S.; SANGIOVANNI, P. **Espessantes**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M. N. Fundamentos de Tecnologia de Alimentos. Vol.3. Ed. Atheneu. São Paulo, 1998.

BASTOS, D. S.; BARRETO, B. N.; SOUZA, H. K. S.; BASTOS, M.; ROCHA-LEÃO, M. H. M.; ANDRADE, C. T.; GONÇALVES, M. P. Characterization Of A Chitosan Sample Extracted From Brazilian Shrimps And Its Application To Obtain Insoluble Complexes With A Commercial Whey Protein Isolate. **Food Hydrocolloids**, v. 24, p. 709-718, 2010.

BELLAVITA, R.; GUANANJA, G. Carragenina con nuevas propiedades: La alternativa vegetal de la gelatina. **Revista Ênfasis Alimentacion**, Argentina, Ano 5, n. 4, p. 42-43, abr. 1999.

BERTRAND, M. E.; TURGEON, S. L. Improved gelling properties of whey protein isolate by addition of xanthan gum. **Food Hydrocolloids**, n. 21, v. 2, p. 159-166, 2007.

CAMILO, K. F. B. **Complexo pectina/caseína: aspectos básicos e aplicados**. Ribeirão Preto, 2007. 147 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2007.

CHODANKAR, S.; ASWAL, V. K.; KOHLBRECHER, J.; VAVRIN, R.; WAGH, A. G. Structural study of coacervation in protein-polyelectrolyte complexes. **Physical Review**, v. 78, 2008.

CHOLLAKUP, R.; SMITTHIPONG, W.; EISENBACH, C. D.; TIRREL, M. Phase behavior and coacervation of aqueous poly(acrylic acid)-poly(allylamine) solutions. **Macromolecules**. v. 43, p. 2518-2528, 2010.

FENNEMA, O. R. **Química de los alimentos**. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 2000. 1258p.

HEBBEL, H. S. **Aditivos y Contaminantes de Alimentos**. Ed. Fundacion Chile. Santiago-Chile. 1979.

JANSSON, P. E.; KENNE, L.; LINDBERG, B. Structure of the extracellular polysaccharide from *Xanthomonas campestris*. **Carbohydrate Research**, v. 45, p. 275-282, 1975.

JEANES, A. Extracellular microbial polysaccharides – New hydrocolloids of interest to the food industry. **Food Technology**, v. 28, n. 5, p. 34-38, 1974.

LII, C. Y.; LIAW, S. C.; TOMASIK, P. Xanthan gum-ovalbumin complexes from electrosynthesis and coacervation. **Pol. J. Food Nutr. Sci.**, v. 12/53, n. 3, p. 25-29, 2003.

MARUYAMA, L. Y.; CARDARELLI, H. R.; BURITI, F. C. L.; SAAD, S. M. I. Textura instrumental de queijo *petit-suisse* potencialmente probiótico: influência de diferentes combinações de gomas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v, 26, p. 386-393, 2006.

ROCKS, J. K. Xanthan gum. **Food Technology**, Chicago, v. 25, n. 5, p. 476-483, 1971.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos: uma estratégia seqüencial de planejamentos**. Campinas: Editora Casa do Pão, 2005. 325 p.

SCHMITT, C.; TURGEON, S. L. Protein/polysaccharide complexes and coacervates in food systems. **Adv. Colloid Interface Sci**, v. 167, p. 63-70, 2010.

SPAGNUOLO, P. A.; DALGLEISH, D. G.; GOFF, H. D.; MORRIS, E. R. Kappa-carrageenan interactions in systems containing casein micelles and polysaccharide stabilizers. **Food Hydrocolloids**, v. 19, p. 371-377, 2005.

STONE, A. K.; NICKERSON, M. T. Formation and functionality of whey protein isolate(kappa-, iota-,and lambda-type) carrageenan electrostatic complexes. **Food Hydrocolloids**, n. 27, p. 271-277, 2012.

TOLSTOGUZOV, V. B. Thermodynamic considerations on polysaccharide functions. Polysaccharides came first. **Carbohydrate Polymers**, v. 54, p. 371-380, 2003.

TOLSTOGUZOV, V. B. Ingredient interactions: in complex foods: Aggregation and phase separation. *In: Understanding and controlling the microstructure of complex foods*. D. J. McClements ed, Chapter 7. CRC Press, BocaRaton, Woodhead Publishing Limited. Cambridge, UK. p. 185-206, 2007.

TONELI, J. T. C. L.; MURR, F. E. X.; PARK, K. J. Estudo da reologia de polissacarídeos utilizados na indústria de alimentos. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, Especial, v. 7, n. 2, p. 181-204, 2005.

UENOJO, M.; PASTORE, G. M. Pectinases: aplicações industriais e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, 2007.

WEINBRECK, F.; NIEUWENHUIJSE, H.; ROBINJN, G. W.; KRUIF, C. G. Complexation of whey proteins with carrageenan. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, ACS Publication, n. 52, p. 3550-3555, 2004.

## CONCLUSÕES GERAIS

As proteínas e os polissacarídeos podem formar complexos poliméricos e esta interação depende de fatores que influenciam o sistema, como pH, concentração salina e massa de polissacarídeo.

A metodologia de superfície de resposta foi eficaz para otimizar o processo de obtenção dos complexos poliméricos formados entre concentrados protéicos do soro de queijo e polissacarídeos.

Os concentrados protéicos, Lactoalbumina e WPC, apresentaram diferentes comportamentos de interação com os polissacarídeos. Isso aconteceu devido aos diferentes processos de obtenção ao qual foram submetidos, que alteraram ou não a estrutura nativa das proteínas.