

UFRRJ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA PROGRAMA DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS

DISSERTAÇÃO

Estudo das Interações dos Sistemas Formados por
Lipoproteínas da Gema de Ovo e Polissacarídeos

Clitor Junior Fernandes de Souza

2011



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

**ESTUDO DAS INTERAÇÕES DOS SISTEMAS FORMADOS POR
LIPOPROTEÍNAS DA GEMA DE OVO E POLISSACARÍDEOS**

CLITOR JUNIOR FERNANDES DE SOUZA

Sob a Orientação do Professor

Dr. Edwin Elard Garcia Rojas

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

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2011

641.375

S729e

T

Souza, Clitor Junior Fernandes de, 1982-
Estudo das interações dos sistemas
formados por lipoproteínas da gema de ovo e
polissacarídeos / Clitor Junior Fernandes
de Souza - 2011.
100 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.

Bibliografia: f. 86-88.

1. Ovos como alimento - Teses. 2. Ovos
- Teor proteico - Teses. 3. Lipoproteínas
- Teses. 4. Polissacarídeos - Teses. I.
Rojas, Edwin Elard Garcia, 1972-. 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**

CLITOR JUNIOR FERNANDES DE SOUZA

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

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 18/02/2011

Edwin Elard Garcia Rojas (Dr.) UFF.RJ

(Orientador)

José Luis Ramirez Ascheri (Dr.) Embrapa-CTAA

Nathália Ramos de Melo (Dr.^a) UFF.RJ

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação a Deus, aos meus pais e as minhas irmãs, pelo apoio e principalmente pelo carinho que sempre me foi dado ao longo de toda minha vida.

AGRADECIMENTOS

A DEUS em primeiro lugar por me orientar, por me dar motivação, perseverança, saúde e alegria de estudar .

Ao Dr. Edwin Elard Garcia Rojas por aceitar me orientar. “Eu queria te agradecer por tudo mais não sei como, você fez tanta coisa por mim, me ajudou quando mais precisei. O senhor é daquelas pessoas que nos ensinaram muito mais que teorias, que nos preparam também para vida. Faço registrar todo o meu carinho e gratidão”.

A Dr^a. Arlene que tanto me ajudou no momento mais crítico do início desta jornada. Muito obrigado.

A Dr^a. Marilene pelo carinho com que tem acompanhado a minha trajetória acadêmica

A Dr^a. Nathália Ramos de Melo que tanto contribuiu participando da minha banca. Muito obrigado por contribuir com tamanho carinho e conhecimento.

Agradeço à UFF pela permissão do uso de seus laboratórios e aos seus funcionários, em especial, meus grandes amigos “Jordana, Eduardo e Alexandre”. Meus amigos, vocês foram primordiais para o sucesso deste trabalho. “Muito obrigado”.

Agradeço muitíssimo a Capes pela bolsa de estudo que me manteve durante toda a jornada.

Agradeço a UFRRJ pelo conhecimento que adquirir durante esses dois anos.

Agradeço a uma amizade em especial construída durante a minha estadia no alojamento. “Juan muito obrigado pelo carinho e apoio durante toda esta jornada. Agora nos não somos apenas amigos e sim irmãos”.

Agradeço as amigas de classe Adriana, Elaine e Cinthia pela amizade duradoura que desenvolvemos.

Agradeço aos amigos de laboratório da UFF Julia, Andressa, Maria Angélica, Rafaela e Douglas. Obrigado pela paciência e apoio durante todo este percurso da minha vida.

Agradeço a um casal amigo muito especial “André e Kelly”. A amizade de vocês é essencial para minha vida.

Agradeço em especial a minha família “Mãe, Pai, Clis e Elinha”. Sem vocês eu não chegaria até aqui. “Eu os amo muito”.

Agradeço a alguns amigos em especial que torcem por mim: Geise (Sister), Deise, Paulina e Julio (Pastor).

MENSAGEM

“Quando pensamos que temos todas as respostas, o mundo vem e muda todas as perguntas”.

Autor desconhecido

RESUMO GERAL

SOUZA, Clitor Junior Fernandes. **Estudo das Interações dos Sistemas Formados por Lipoproteínas da Gema de Ovo e Polissacarídeos.** 2011. 100p. 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, 2011.

A indústria de alimentos tem sido confrontada a todo instante com as novas tendências nacionais e internacionais na área de produção e inovação de produtos. Este trabalho pretendeu avaliar a solubilidade, propriedades emulsificantes, e formação de coacervados dos sistemas contendo polissacarídeo e lipoproteínas da gema do ovo. Para avaliar a solubilidade buscou-se desenvolver um modelo matemático polinomial do sistema contendo lipoproteínas da gema do ovo e goma xantana em diferentes temperaturas, pHs, concentrações do polímero e de NaCl. Segundo os dados uma menor solubilidade das proteínas pode ser observado no sistema onde o pH é mais ácido. Um aumento da solubilidade das proteínas da gema do ovo também pode ser observado em altas concentrações de goma xantana associado com o aumento da concentração de NaCl. A partir dos resultados de solubilidade estudou-se a influência do pH, temperatura e concentração de polissacarídeo na formação dos coacervados complexos a partir das lipoproteínas da gema do ovo. A modelagem dos dados de turbidez demonstrou que para todos os polímeros o pH foi significativo na formação dos coacervados e que a morfologia dos encapsulados formados pela coacervação esteve diretamente ligada ao tipo de polímero utilizado e seu grau de interação. As propriedades emulsificantes das lipoproteínas da gema do ovo foram avaliadas com a associação de quatro polissacarídeos aniônicos (Goma Xantana, Pectina, CMC e Carragena) e três óleos vegetais (Girassol, Canola e Dendê). As maiores concentrações de gema de ovo e a menor massa de polímero apresentaram as melhores atividades emulsificantes e conseqüentemente o diâmetro das gotículas também sofreu influência da concentração de polímero, pois maiores concentrações de polímero interferiram no processo de homogeneização proporcionando um diâmetro maior para as gotículas.

Palavras chave: complexação, gema de ovo, propriedades funcionais.

ABSTRACT

SOUZA, Clitoria Fernandes Junior. Study of the Interaction of Systems Consisting of Lipoproteins from Egg Yolk and Polissacarídeos. 2011. 93p. Thesis (Master of Science and Food Technology) Institute of Technology, Department of Food Technology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, 2011.

The food industry has been confronted at every turn with new national and international trends in the area of production and product innovation. This study sought to evaluate the solubility, emulsifying properties, and formation of polysaccharide coacervates of systems containing lipoproteins the egg yolk. To evaluate the solubility sought to develop a mathematical model of the polynomial system containing lipoproteins of egg yolk and xanthan gum at different temperatures, pHs and concentrations of polymer and NaCl. According to data from a lower solubility of proteins can be observed in the system where the pH is more acidic. An increase in the soluble proteins from egg yolk can also be observed at high concentrations of xanthan gum associated with increased salt concentration. From the results of solubility studied the influence of pH, temperature and concentration of polysaccharide in the formation of complex coacervates of lipoproteins from egg yolk. From the results of solubility studied the influence of pH, temperature and concentration of polysaccharide in the formation of complex coacervates of lipoproteins from egg yolk. The modeling of turbidity data showed that for all polymers in pH was significant in the formation of coacervates and that the morphology of encapsulated formed by coacervation was directly linked to the type of polymer used and its degree of interaction. The emulsifying properties of lipoproteins from egg yolk were evaluated with the combination of four anionic polysaccharides (xanthan gum, pectin, CMC and carrageenan) and three vegetable oils (sunflower, canola and palm oil). The highest concentrations of egg yolk and the lower the polymer showed the best emulsifying activity and consequently the diameter of the droplets was also influenced by polymer concentration, because higher concentrations of polymer interfered in the process of homogenization to provide larger diameter droplets.

Keyword: complexation, egg yolk, emulsifying property.

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO I- INTRODUÇÃO	Pág
Figura 1- Estrutura e composição do ovo.....	01
Figura 2- Representação esquemática do comportamento de dispersões aquosa de misturas de polissacarídeos e proteínas (adaptado de TOLSTOGUZOV, 1991).....	25
Figura 3- Representação esquemática da metodologia utilizada para avaliar o grau e a formação dos coacervados.....	25
CAPÍTULO III- EMULSÃO DE SISTEMAS CONTENDO LIPOPROTEÍNAS DA GEMA DO OVO, POLISSACARÍDEOS E ÓLEOS VEGETAIS.	
Figura 1- Desenho esquemático do tubo de ensáio acoplada ao turrax e ao condutivímetro.....	52
1. Figura 2 – Representação das duas etapas da análise das propriedades emulsificantes...	53
Figura 3- Atividade emulsificante de diferentes concentrações de GO e PO= (GX,CA,CMC e PEC) com 7 ml de óleo de dendê 1-(0.02 g de GO/ 0,02 g PO), 2-(0.02 g de GO/ 0,04 g PO), 3-(0,02 g GO/ 0,08 g PO), 4-(0,2 g GO/ 0,02 g PO), 5-(0,2g de GO/ 0,04 g de PO), 6-(0.2 g de GO/ 0,08 g PO), 7-(0.5 g de GO/ 0,02 g PO), 8-(0,5 g GO/ 0,04 g PO), 9-(0,5 g GO/ 0,08 g PO).....	54
Figura 4 - Atividade emulsificante de diferentes concentrações de GO e PO= (GX,CA,CMC e PEC) com 7 ml de óleo de Girassol 1-(0.02 g de GO/ 0,02 g PO), 2-(0.02 g de GO/ 0,04 g PO), 3-(0,02 g GO/ 0,08 g PO), 4-(0,2 g GO/ 0,02 g PO), 5-(0,2g de GO/ 0,04 g de PO), 6-(0.2 g de GO/ 0,08 g PO), 7-(0.5 g de GO/ 0,02 g PO), 8-(0,5 g GO/ 0,04 g PO), 9-(0,5 g GO/ 0,08 g PO).....	56
Figura 5- Atividade emulsificante de diferentes concentrações de GO e PO= (GX,CA,CMC e PEC) com 7 ml de óleo de Canola 1-(0.02 g de GO/ 0,02 g PO), 2-(0.02 g de GO/ 0,04 g PO), 3-(0,02 g GO/ 0,08 g PO), 4-(0,2 g GO/ 0,02 g PO), 5-(0,2g de GO/ 0,04 g de PO), 6-(0.2 g de GO/ 0,08 g PO), 7-(0.5 g de GO/ 0,02 g PO), 8-(0,5 g GO/ 0,04 g PO), 9-(0,5 g GO/ 0,08 g PO).....	56
Figura 6 - Microfotografias das emulsões A (0.02 g XA/0,5 g GO/ Dendê. Diâmetro \bar{x} = 13.89 μm) B (0,02 g CA/ 0,5 g GO/Dendê. Diâmetro \bar{x} = 58.18 μm) C (0,02 g PEC/ 0,2 g GO/Girassol. Diâmetro \bar{x} = 7.63 μm) D (0,02 g CMC/0,2g GO/Girassol. Diâmetro \bar{x} = 27.10 μm) E (0,02 g CMC/ 0,5 GO/Canola. Diâmetro \bar{x} = 4.32 μm) F (0,02 g PEC/ 0,2 GO/Canola. Diâmetro \bar{x} = 24.10 μm) G (0,02 g XA/ 0,5 g GO/Girassol. Diâmetro	

\bar{x} = 6.39 μm) H (0,02 CMC/ 0,2 g GO/Dendê. Diâmetro \bar{x} = 24.29 μm)..... 58

Figura 7 - Fração de desvio $\Delta VFO = (VFO_{obs} - VFO_{pred})$ fração de óleo observada observada é VFO_{obs} e a fração predita é VFO_{pred} . Fração 7 mL de Canola. o PEC, ▼ CMC, Δ CA e ● XA..... 61

Figura 8 - Fração de desvio $\Delta VFO = (VFO_{obs} - VFO_{pred})$ fração de óleo observada observada é VFO_{obs} e a fração predita é VFO_{pred} . Fração 7 mL de Girassol. o PEC, ▼ CMC, Δ CA e ● XA..... 61

Figura 9 - Fração de desvio $\Delta VFO = (VFO_{obs} - VFO_{pred})$ fração de óleo observada observada é VFO_{obs} e a fração predita é VFO_{pred} . Fração 7 mL de Dendê. o PEC, ▼ CMC, Δ CA e ● XA..... 62

CAPÍTULO IV. ESTUDO DA FORMAÇÃO DOS COACERVADOS COMPLEXOS OBTIDOS A PARTIR DA INTERAÇÃO ENTRE AS LIPOPROTEÍNAS DA GEMA DO OVO E OS POLISSACARÍDEOS.

Figura 1 - Amostras contendo os diversos polímeros e seus aspectos de Turbidez. Figura 1-A: (CA na M1, pH4,0 ; 30°C), Figura 1-B: (CA na M1, pH10,0 ; 50°C), Figura 1-C: (CMC na M1, pH4,0 ; 30°C), Figura 1-D (CMC na M1, pH10,0 ; 50°C), Figura 1-E (PEC na M1, pH4,0 ; 30°C), Figura 1-F (PEC na M1, pH10,0 ; 50°C), Figura 1-G (GX na M1, pH4,0 ; 30°C), Figura 1-H (GX na M1, pH10 ; 50°C)..... 74

Figura 2- Fração de desvio da CA $\Delta T = (T_{obs} - T_{pred})$ onde a Turbidez observada é T_{obs} e a Turbidez predita é T_{pred} . A T_{pred} foi obtida através da equação (6). ▲(0,025 g CA), ○ (0,033 g CA) e ● (0,05 g CA)..... 77

Figura 3 - Fração de desvio da CMC $\Delta T = (T_{obs} - T_{pred})$ onde a Turbidez observada é T_{obs} e a Turbidez predita é T_{pred} . A T_{pred} foi obtida através da equação (3). ▲(0,025 g CMC), ○ (0,033 g CMC) e ● (0,05 g CMC)..... 77

Figura 4- Fração de desvio da GX $\Delta T = (T_{obs} - T_{pred})$ onde a Turbidez observada é T_{obs} e a Turbidez predita é T_{pred} . A T_{pred} foi obtida através da equação (5). ▲(0,025 g GX), ○ (0,033 g GX) e ● (0,05 g GX)..... 78

Figura 5 - Fração de desvio da PEC $\Delta T = (T_{obs} - T_{pred})$ onde a Turbidez observada é T_{obs} e a Turbidez predita é T_{pred} . A T_{pred} foi obtida através da equação (4). ▲(0,025 g PEC), ○ (0,033 g PEC) e ● (0,05 g PEC)..... 78

Figura 6 - Imagens de microscopia ótica das amostras contendo os diversos polímeros e seus respectivos coacervados. Figura 2-A: (CA na M1, pH4 ,30°C), Figura 2-B: (CA 80

na M1, pH10 ,50°C), Figura 2-C: (CMC na M1, pH4 ,30°C), Figura 2-D (CMC na M1, pH10 ,50°C), Figura 2-E (PEC na M1, pH4 ,30°C), Figura 2-F (PEC na M1, pH10 ,50°C), Figura 2-G (GX na M1, pH3 ,30°C), Figura 2-H (GX na M1, pH10 ,50°C).....

Figura 7 - Imagens do MEV. Proteína e os diversos polímeros desidratados com ampliação de 1000x: PEC (Figura 7-A),GX (Figura 7-B), CMC (Figura 7-C), CA (Figura 7-D) e gema do ovo (Figura 7-E)..... **81**

Figura 8 - Imagens do MEV. Proteína e os diversos polímeros desidratados com ampliação de 1000x: Figura 4-A (GX na M1 e pH 4), Figura 4-B (CMC na M1e pH4), Figura 4-C (CA na M1e pH4), Figura 3-D (PEC na M1, pH4) **83**

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO I- INTRODUÇÃO	Pág
Tabela 1 - Composição química do ovo.....	07
Tabela 2 - Composição de minerais da clara e da gema.....	07
Tabela 3 - Propriedades termofísicas do ovo, da clara e da gema.....	08
Tabela 4 – Composição de vitaminas e carotenóides do ovo (100g) – parte comestível.....	09
Tabela 5 - Composição protéica da gema.....	10
Tabela 6 - Composição dos ácidos graxos da fração lipídica da gema.....	11
Tabela 7 – Proteínas da clara do ovo.....	19
Tabela 8 - Principais estudos que avaliaram a funcionalidade da coacervação (Proteína-Polissacarídeo) de 2006 a 2010.....	27
CAPÍTULO II- SOLUBILIDADE DAS PROTEÍNAS DE GEMA DE OVO: MODELAGEM E PARÂMETROS TERMODINÂMICOS	
Tabela 1 - Solubilidade em função da goma xantana, pH, temperatura e 0.2 mol/L de NaCl.....	40
Tabela 2 - Solubilidade em função da goma xantana, pH, temperatura e 0.4 mol/L de NaCl.....	41
Tabela 3 - Solubilidade em função da goma xantana, pH, temperatura e 0.8 mol/L de NaCl.....	41
Tabela 4 - Parâmetros obtidos da equação 1	42
Tabela 5 - Tabela 5 Parâmetros Termodinâmicos (equação 3-6) solubilidade em pH 6.5.....	44
CAPÍTULO III- EMULSÃO DE SISTEMAS CONTENDO LIPOPROTEÍNAS DA GEMA DO OVO, POLISSACARÍDEOS E ÓLEOS VEGETAIS.	
Tabela 1 - Valores de VFO m diferentes concentrações de GO e PO.....	58
Tabela 2 - Valores de VFO em diferentes concentrações de GO e PO.....	59
Tabela 3 - Valores de VFO em diferentes concentrações de GO e PO.....	59

Tabela 4 - Parâmetros obtidos da equação 3.....	60
CAPÍTULO IV. ESTUDO DA FORMAÇÃO DOS COACERVADOS COMPLEXOS OBTIDOS A PARTIR DA INTERAÇÃO ENTRE AS LIPOPROTEÍNAS DA GEMA DO OVO E OS POLISSACARÍDEOS.	
Tabela 1 - Turbidez (cm^{-1}) em função da massa de gema de ovo, carragena, temperatura e pH.....	72
Tabela 2 - Turbidez (cm^{-1}) em função da massa de gema de ovo, goma xantana, temperatura e pH.....	72
Tabela 3 - Turbidez (cm^{-1}) em função da massa de gema de ovo, CMC, temperatura e pH.....	73
Tabela 4 - Turbidez (cm^{-1}) em função da massa de gema de ovo, pectina, temperatura e pH.....	73
Tabela 5 - Modelo ajustado para apresentação dos dados por meio de dispersão.....	76

NOMENCLATURA / ABREVIACOES

AE – Atividade Emulsificante

AG - Anidro-Galactose

AHA - American Heart Association

CA- Carragena

CMC - Carboximetilcelulose

GE - Grau de esterificaco

GO – Gema de ovo

GX - Goma Xantana

IUPAC - Unio Internacional de Química Pura e Aplicada

MEV – Microscpio Eletrônico de Varredura

PEC - Pectina

pKa – (- log Ka)

PO – Polímero

Ponto Isoelétrico-pI

S_o - Solubilidade

T - Turbidez

T_{obs} - Turbidez Observada

T_{pred} - Turbidez predita

VFO – Volume de fraco do leo

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	1
OBJETIVO GERAL	3
OBJETIVO ESPECÍFICO	3
CAPÍTULO I	4
REVISÃO DE LITERATURA	4
1. OVO DE GALINHA.....	5
1.1 Importância Econômica.....	5
1.2 Composição Físico-química do Ovo	6
1.3 Gema de Ovo	7
1.4 Proteínas da Gema do Ovo	10
1.4.1 Fosvitina	10
1.4.2 Lipovitelina	11
1.4.3 Livetina	11
1.5 Propriedades Funcionais das proteínas	12
1.5.1 Emulsificação.....	12
1.5.1.1 Características da emulsão.....	12
1.6 Solubilidade das proteínas	12
1.7 Fatores Intrínsecos que Influenciam a Solubilidade das Proteínas	13
1.7.1 pH.....	13
1.7.2 Força iônica.....	13
1.7.3 Temperatura.....	14
1.7.4 Presença de outros componentes.....	14
1.8 Clara do Ovo.....	15
1.9 Valor Biológico Das Proteínas	16
2. HIDROCOLÓIDES	16
2.1 Goma Xantana	17

2.2 Carboximetilcelulose.....	17
2.3 Pectina	17
2.4 Carragena.....	18
3.0 INTERAÇÃO ENTRE PROTEÍNA E POLISSACARÍDEO	19
3.1 Coacervação complexa - principais parâmetros que influenciam a formação do complexo proteína/polissacarídeo.....	20
3.2 Coacervação complexa: Principais aplicações	21
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	21
CAPÍTULO II.....	31
SOLUBILIDADE DAS PROTEÍNAS DE GEMA DE OVO: MODELAGEM E PARÂMETROS TERMODINÂMICOS	31
RESUMO	32
1 INTRODUÇÃO	32
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
2.1 Materiais	33
2.2 Preparação da solução aquosa da goma xantana	33
2.3 Quantificação da proteína.....	33
2.4 Determinação dos valores de solubilidade	33
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
4 CONCLUSÕES	40
5 REFERÊNCIAS BILIOGRÁFICAS	40
CAPÍTULO III	42
EMULSÃO DE SISTEMAS CONTENDO LIPOPROTEÍNAS DA GEMA DO OVO, POLISSACARÍDEOS E ÓLEOS VEGETAIS.....	42
RESUMO	43
1 Introdução.....	43
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	44
2.1Materiais	44

2.2 Metodologia	44
2.3 Preparação da solução aquosa dos polissacarídeos.....	44
2.4 Obtenção dos dados de condutividade elétrica	44
2.5 Determinação das propriedades emulsificantes	45
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
3.1 Avaliação da atividade emulsificante.....	46
3.2 Estabilidade da emulsão	49
4 CONCLUSÃO	54
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
CAPÍTULO IV	58
ESTUDO DA FORMAÇÃO DOS COACERVADOS COMPLEXOS OBTIDOS A PARTIR DA INTERAÇÃO ENTRE AS LIPOPROTEÍNAS DA GEMA DO OVO E OS POLISSACARÍDEOS.	58
RESUMO	59
1 INTRODUÇÃO	59
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	60
2.1 Materiais	60
2.2 Metodologia.....	61
2.3 Preparação da solução aquosa dos polissacarídeos.....	61
2.4 Preparação dos coacervados	61
2.1 Determinação da formação dos complexos.....	61
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	62
3.1 Relação do pH e da temperatura na turbidez.....	62
3.2 Modelagem dos dados de turbidez na formação dos coacervados	65
3.3 Características morfológicas dos coacervados	68
4 CONCLUSÃO	72
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72

CONCLUSÕES GERAIS	76
ANEXOS.....	77
ANEXO A.....	77
ANEXO B.....	86
ANEXO C.....	89
ANEXO D.....	91

INTRODUÇÃO GERAL

A indústria de alimentos tem sido confrontada a todo instante com as novas tendências nacionais e internacionais na área de produção e inovação de produtos. A fim de suprir esta demanda novas pesquisas têm surgido com o objetivo principal de oferecer alimentos nutritivos, funcionais e se possível de preparo rápido.

A indústria de alimentos utiliza a gema do ovo como ingrediente principalmente por que ela agrega ao alimento características nutricionais e funcionais diferenciadas, pois esta é rica em proteínas de alto valor biológico e também é uma excelente fonte de colina e outras vitaminas do complexo B, tais como vitamina B2, B6, ácido fólico e B12.

A funcionalidade é atribuída principalmente pelas lipoproteínas que a compõem, pois estas possuem boa solubilidade, fator este que está diretamente ligado a propriedades funcionais tais como, excelentes propriedades emulsificantes e capacidade de interagir e formar ligações com outros componentes.

As propriedades emulsificantes já conhecidas da gema podem ser potencializadas frente as características sensoriais e funcionais utilizando um conjugado de gema-polissacarídeo. Este conjugado vai utilizar as propriedades geralmente hidrofílicas do polissacarídeo para espessar e estabilizar o meio aquoso adjacente à interface da emulsão, ajudando assim, a estabilizar as gotas formadas pela proteína contra coalescência durante a emulsificação, bem como durante o armazenamento posterior das emulsões formadas.

A capacidade de formar ligações com outros componentes permite que a gema possa ser utilizada para produção de novos ingredientes funcionais como os coacervados. Um dos componentes comumente utilizados são os polissacarídeos, pois são atraentes para a indústria por serem produtos naturais obtidos através de ingredientes já comumente utilizados, e portanto, possuem baixo custo e fácil aprovação da utilização pelos órgãos reguladores de alimentos.

Os coacervados de proteína-polissacarídeo são atraentes para a indústria porque possuem características bem significativas de melhorar as propriedades funcionais das proteínas, tais como sua solubilidade, propriedade emulsificante, viscosidade e atividade antioxidante e antimicrobiana o que conseqüentemente modula as propriedades físico-químicas e sensoriais dos alimentos, tais como a sua aparência, textura, estabilidade ou sabor .

Outra inovação advinda dos coacervados e a encapsulação ou microencapsulação de substâncias bioativas que pode ocorrer no processo de coacervação. Esta encapsulação tem como principal finalidade encapsular, proteger e entregar os componentes bioativos ou funcionais, tais como minerais, vitaminas, peptídeos, proteínas, enzimas, drogas, lipídios e fibras alimentares de forma segura e funcional, evitando assim a degradação dos nutracêuticos por oxidação e reações químicas e enzimáticas indesejáveis durante o processo de produção e armazenagem do alimento.

OBJETIVO GERAL

Avaliar as propriedades funcionais das lipoproteínas sob a influência da interação dos sistemas contendo polissacarídeos e lipoproteínas da gema do ovo.

OBJETIVO ESPECÍFICO

Os objetivos específicos deste trabalho foram:

- Desenvolver um modelo para obtenção dos parâmetros termodinâmicos através dos dados de solubilidade das proteínas de gema de ovo em soluções aquosas contendo diferentes concentrações de goma xantana e NaCl.
- Avaliar as propriedades emulsificantes das lipoproteínas da gema do ovo associada a quatro polissacarídeos aniônicos (Goma Xantana, Pectina, CMC e Carragena) e três óleos vegetais (Girassol, Canola e Dendê).
- Elucidar a influência do pH, temperatura e concentração de polissacarídeo na formação dos coacervados complexos a partir das lipoproteínas da gema do ovo.

CAPÍTULO I

REVISÃO DE LITERATURA

1. OVO DE GALINHA

Segundo a Secretaria de Inspeção de Produto Animal (SIPA, 1990) do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), a designação “ovo” refere-se ao ovo de galinha com casca, composto por gema, clara, membranas testáceas (interna e externa) e casca, tal como se pode observar na Figura 1. A gema encontra-se firmemente situada na posição central de um gel denso, que constitui a clara, pela ação da calaza. A clara mantém-se firme na sua posição, por estar unida às membranas interiores da casca do ovo (ROBINSON, 1991). As quantidades relativas de cada fração são variáveis, mas se considera que os teores médios estejam entre 56 e 61% de clara, 27 e 32% de gema e 8 e 11% de casca (FENNEMA, 1993).

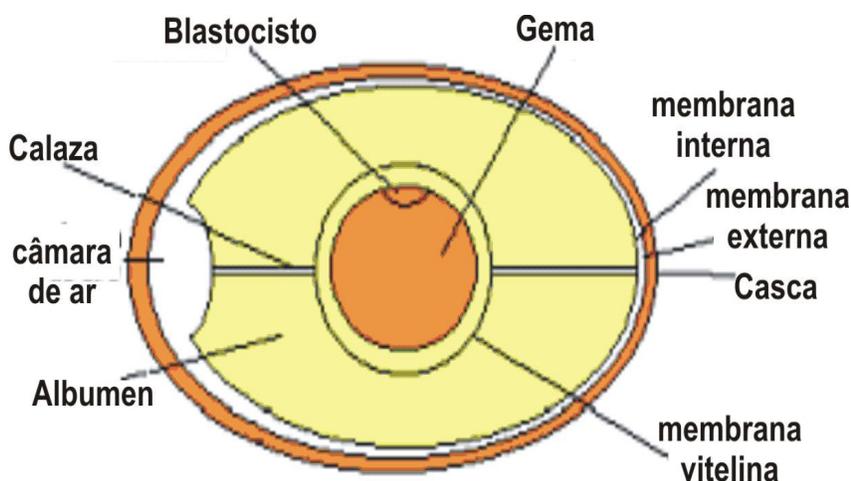


Figura 1 - Estrutura e composição do ovo

1.1 Importância Econômica

O ovo de galinha (*Gallus domesticus*) é um produto natural com alto valor nutricional, sendo um alimento completo para o organismo humano e de baixo custo, quando comparado as outras fontes de proteína de origem animal. Em 2001, o Brasil ocupou a sétima posição na produção mundial de ovos com 2,82 % do total comercializado. Em 2007 sua colocação mundial mudou passando a ocupar a oitava colocação mundial com 2,6% do total comercializado (FAO DATABASE, 2010).

Atualmente, o país continua com a oitava colocação mundial em uma crescente progressão na sua produção anual (FAO DATABASE, 2010). No primeiro trimestre de 2009 a produção de ovos de galinha no país foi de 580.832 milhões de dúzias, considerando-se apenas estabelecimentos com 10.000 ou mais galinhas de postura. Isto reflete uma variação positiva de 2,2% em comparação ao mesmo período de 2008 totalizando ao final de 2009 uma produção de 1.798,257 milhões de dúzias (IBGE, 2009) o que já em 2007 colocou o ovo como sendo o 14º produto agropecuário brasileiro segundo a renda com rendimento de 1.198 U\$ Bilhões (FAO DATABASE, 2010).

A principal região produtora de ovos de galinha é a região sudeste, 50,4% do total nacional. São Paulo é o maior estado produtor, representando 31,3% da produção (IBGE, 2009).

Sim (1994), destacou em seu trabalho que em média 20 % do ovo “in natura” de uma granja segue diretamente para o mercado consumidor. O restante destina-se ao uso industrial, geralmente na forma de clara, gema ou ovo integral desidratado. O produto desidratado é normalmente utilizado como ingrediente alimentar no preparo de biscoitos, bolos, doces, maioneses e massas. Os principais constituintes da gema, lipídios e proteínas, têm importância particular e essencial em vários segmentos da indústria e aqui podemos citar alguns exemplos como o processamento da indústria de alimentos onde esta é utilizada para elaboração de novos emulsificantes, na formulação de cosméticos como Shampoos e Condicionadores e como componente bioativos da indústria farmacêutica onde ela é utilizada como excelente meio de crescimento de vírus para elaboração de vacinas (ROJAS *et al.*, 2007; KWAN *et al.*, 1991; CARRILLO e KOKINI, 1988; AEB, 2009).

1.2 Composição Físico-química do Ovo

Na Tabela 1, observa-se que o componente majoritário dos sólidos na clara são as proteínas (9,7 a 10,6%). O conteúdo lipídico da clara é insignificante quando comparado com o da gema. Segundo ROMANOFF e ROMANOFF (1949), a quantidade de carboidratos livres, geralmente representados pela glicose, é de 0,4%.

Os componentes presentes na gema em maior quantidade são as proteínas (15,7 a 16,6%) e os lipídios (31,8 a 35,5%) (Tabela 1). O conteúdo de carboidratos em estado livre é de 0,2% aproximadamente. Os carboidratos unidos a proteínas são polissacarídeos de manoseglucosamina.

Tabela 1 - Composição química do ovo

Componente	Proteína (%)	Lipídios (%)	Carboidratos (%)	Cinzas (%)	Água (%)
Ovo integral	12,8-16,4	10,5-11,8	0,3-1,0	0,8-0,1	74,6
Gema	15,7-16,6	31,8-35,5	0,2-1,0	1,1	48,8
Clara	9,7-10,6	0,03	0,4-0,9	0,5-0,6	88,0
Casca	4,0	-	-	95	1,0

Fonte: Fennema (1993)

A composição mineral da clara, como pode ser observado na Tabela 2, é extremamente variável, mas, vale destacar que os cátions mais abundantes são o sódio, potássio e o fósforo (STADELMAN e COTTERILL, 1995; FENNEMA, 1993).

A casca do ovo é composta por uma matriz de fibras entrelaçadas de natureza protéica, por cristais de calcita (carbonato de cálcio) em uma proporção de 1:50 e por uma cutícula de natureza protéica, que cobre a sua superfície (POWRIE e NAKAI, 1993). Os elementos minerais presentes na casca são o cálcio (98%), magnésio (0,9%) e fósforo (0,9%) (ROMANOFF e ROMANOFF, 1949).

Tabela 2 – Composição de minerais da clara e da gema

Elemento	Clara (%)	gema(%)
Enxofre	0,195	0,016
Potássio	0,145-0,167	0,112-0,360
Sódio	0,161-0,169	0,070-0,093
Fósforo	0,018	0,543-0,980
Cálcio	0,008-0,02	0,121-0,262
Magnésio	0,009	0,032-0,128
Ferro	0,0009	0,0053-0,011

Fonte: Li-Chan *et al.* (1995)

Alguns dados de propriedades termofísicas de ovos e seus derivados são apresentados na Tabela 3. Essas propriedades são necessárias para o melhor aproveitamento de processos que envolvam derivados de ovos e operações unitárias de pasteurização, congelamento e refrigeração, por exemplo.

Tabela 3 - Propriedades termo físicas do ovo integral, da clara e da gema

Propriedade	Ovo integral	Clara	Gema
Sólidos (%)	26,4	11,5	52,5
pH		7,6	6,0
Densidade ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$)	1080	1033	1131
Ponto de congelamento ($^{\circ}\text{C}$)		-0,42	-0,57
Calor específico ($\text{kJ} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$)	3,23	2,68	3,54
Condutividade térmica ($\text{W} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$)		0,55	0,39
Viscosidade aparente (mPa·s)			
Clara concentrada		164	
Clara diluída		4	
Conductividade elétrica ($\text{mS} \cdot \text{m}^{-1}$)		82,5	0,7
Atividade de água		0,978	0,981

Fonte: ASHRAE (1994)

1.3 Gema de Ovo

A gema do ovo representa 32% da composição total do ovo e contém a maior fração de nutrientes. Apresenta baixo teor em carboidratos, sendo, entretanto, rica em triacilgliceróis e proteínas de alto valor biológico (97,3%), como a fosfovítina e a lipovítina, constituído também de uma expressiva fonte de vitaminas (Tabela 4), vitamina A, vitaminas do complexo B, vitamina D, vitamina E, ácidos graxos como, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oléico, ácido linoléico, ácido linolênico, carotenóides como a luteína e zeaxantina, colina, e minerais

como, Ca, Fe, Mg, Na, Se e Zn (ALLEONI e ANTUNES, 2004, BERTECHINI, 2003, NOVELLO *et al*, 2006).

A gema é uma dispersão composta por gotas de lipídios na fase aquosa contínua (ou plasma) e possui cerca de 50% de sólidos. As proteínas e os lipídios são os seus maiores constituintes, em uma razão aproximada de 2:1 de lipídios para proteínas sendo que as proteínas da gema podem ser simples (globulares) ou complexas (lipoproteínas). O plasma da gema é solúvel (em torno de 78% do total líquido da gema) composto por livetinas e lipoproteínas de baixa densidade (LDL). Os lipídios presentes na gema são 65% triglicerídeos, 23,3% fosfolipídios, e 5,2% colesterol. Já os fosfolipídios são predominantemente a fosfatidilcolina (73%) e a fosfatidiletanolamina (15%). Os principais ácidos graxos componentes da gema são o palmítico e o esteárico (30 e 38%), compondo cerca de 30% dos triglicerídeos, mas estes valores são maiores nas frações fosfolipídicas chegando a 49% no caso da fosfatidilcolina (LINDEN e LORIENT 1996; CHUNG e FERRIER, 1991; MINE e BERGOUGNOUX, 1998). Tanto do ponto de vista químico quanto funcional, as proteínas e os lipídios da gema devem ser considerados em conjunto, pois é fato que todos os lipídios (incluindo os triglicerídeos) são associados à pelo menos duas proteínas, a vitelina e a vitelenina. Este complexo proteína-fosfolipídio (lipoproteínas) é o principal responsável pelas propriedades emulsificantes da gema (MINE e BERGOUGNOUX, 1998). Na Tabela 5 é apresentada a composição protéica da gema.

Tabela 4 – Composição de vitaminas e carotenóides do ovo (100g) – parte comestível

Vitaminas	Valor	Carotenóides	Valor
A (UI)	488	Betacaroteno (mg)	10
D (UI)	36	Beta criptoxantina (mcg)	9
E (mg)	0,96	Luteína e zeaxantina (mcg)	321
K (mcg)	0,2		
Tiamina (mg)	0,07		
Riboflavina(mg)	0,478		
Niacina (mg)	0,07		
Piridoxina (mg)	0,142		
Folato (mcg)	48		
B12 (mcg)	1,3		
Pantotênico (mg)	1,44		
Colina(mg)	251		

Fonte: Tabela brasileira de composição de alimentos (Taco), 2006.

USDA national Nutrient Database for Standard Release 21 (2008)

Os fosfolipídios são ésteres derivados dos ácidos fosfatídicos, compostos por glicerol, dois ácidos graxos e um grupo fosfato. Os fosfolipídios diferem-se, principalmente, no composto específico ligado ao grupo fosfato. Quando a base nitrogenada é a colina, tem-se a lecitina; caso seja a etanolamina ou serina, tem-se a cefalina (SANTOS 1999). Segundo LINDEN e LORIET (1996), os fosfolipídios da gema de ovo são compostos de 71 a 76 % de

fosfatidilcolina (lecitina), 16 a 20% de fosfatidiletanolamina (cefalina) e 8% de esfingomelina e 9% de lisofosfolipídios.

Tabela 5 – Composição protéica da gema

Proteína	Extrato Seco (%)	Fração Protéica (%)	Massa Molar (kDa)	Conteúdo de Lipídios (%)	Teor de Fósforo (%)	Localização
Fosvitina	4	10	36	0	10	Grânulos
Lipoviteline HDL	16	36	400	20	α :0,5; β :0,25	Grânulos
Lipovitelinas LDL	68	24	300-1000	88	0,1	Fase contínua
Livetinas	10	30	α : 80 β : 45 γ : 150	0	-	Fase contínua
YRBP (proteína de ligação da riboflavina)	1,5	0,4	36	0	0,2	

Fonte: Linden e Loriet (1996).

O colesterol é um esteróide de 27 carbonos derivado de uma estrutura cíclica denominada ciclopentaperidrofenantreno de natureza não-polar, devido à presença de grupos hidrofóbicos metil (CH₃) na sua estrutura (BRAGAGNLO, 1992; SION *et al.*, 2001). O colesterol está presente na gema do ovo em quantidades variáveis, dependendo do genótipo das aves (STADELMAN e COTTERILL, 1995). Considerando que um ovo possui uma faixa de 180 a 250 mg de colesterol (ELSWYK *et al.*, 1991; MCNAMARA, 1987) e que, para o homem, a ingestão diária recomenda pela Associação Norte-Americana do Coração (“American Heart Association”, AHA) é de 300 mg por dia, tem-se que um ovo contribui em média, com aproximadamente 71% da quantidade diária recomendada.

Segundo Metzler (1997), a importância biológica do colesterol reside no fato de serem precursores de esteróis nos tecidos animais, incluindo os ácidos biliares, androgênios, estrogênios, progesterona e os hormônios adrenocorticais; além de ser um constituinte da membrana celular e ainda participar da síntese da vitamina D₃. Níveis de colesterol elevados ou sua presença em gorduras saturadas nos alimentos têm sido relacionados com cardiopatias coronárias e arteriosclerose (ANDERSON *et al.*, 1976; JOHNSON, 1996; MISSLER *et al.*, 1985; REISER, 1978). Adicionalmente, estudos toxicológicos evidenciam que produtos de autooxidação do colesterol também estão relacionados a doenças coronárias, além de serem potencialmente citotóxicos, mutagênicos, carcinogênicos e inibidores de biossíntese de esteróides (ADDIS e WARNER, 1991; SMITH, 1981; BISHOFF, 1969). Produtos da oxidação do colesterol, já foram detectados em ovos desidratados por atomização, como por exemplo, o 5,6 α -epoxicolesterol, potencialmente carcinogênico (NABER e BIGGERT, 1985; TSAI e HUDSON, 1984).

Tal discussão havia levado o consumidor a adquirir no mercado, alimentos mais saudáveis, com baixas concentrações ou isentos de colesterol, e por falta de estudos mais aprofundados o ovo foi associado ao aumento do nível de colesterol e a AHA sugeriu, ainda, que fosse limita o consumo de ovo a três por semana (SANTOS, 1999). Atualmente diversos estudos comprovaram que esta associação esta totalmente errada, pois o ovo é considerado um alimento com efeito protetor por ser rico em ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados, baixo teor de gordura saturada além de ser fonte de colina que é um nutriente

expressivo, pois atua na redução da homocisteína com conseqüente redução do colesterol. (MARTIN *et al* ,2006; MUTUNGI *et al* ,2008; HAMAM, NICOLA E GRIFFIN, 2008)

Os ácidos graxos presentes na gema de ovo são usualmente saturados na posição α e insaturados na posição β , possuindo grupos hidrofílicos e hidrofóbicos que lhes permitem desempenhar importante papel como agentes emulsificantes de gorduras (DEUEL, 1951). A composição dos ácidos graxos depende diretamente da dieta do animal. Assim, a quantidade de ácidos graxos saturado, principalmente palmítico e esteárico, não varia com as mudanças na composição dos ácidos graxos da dieta, mas o ácido linoléico aumenta e o oléico diminui com a elevação do teor de ácidos graxos poli-insaturados na dieta (POWRIE e NAKAI, 1993). Na Tabela 6, pode-se observar o conteúdo, em ácidos graxos, das distintas frações lipídicas da gema. O ácido palmítico (16:0) e o esteárico (18:0) representam 30% dos ácidos graxos totais dos triglicerídeos, no entanto a soma de ambos representa 49% da fosfatidilcolina (lecitina) e 54% da fosfatidiletanolamina (cefalina).

Tabela 6 - Composição dos ácidos graxos da fração lipídica da gema

Ácido Graxo	Total de Ácidos Graxos (%)			
	Lipídios totais	Triglicerídios	Lecitina	Cefalina
16:0	23,5	22,5	37	21,6
16:1	3,8	7,3	0,6	-
18:0	14	7,5	12,4	32,5
18:1	38,4	44,7	31,4	17,3
18:2	16,4	15,4	12	7
18:3	1,4	1,3	1	2
20:4	1,3	0,5	2,7	10,2
20:5	0,4	0,2	0,8	3
22:5	-	-	-	-
22:6	0,8	0,6	2,1	6,4

Fonte: Fenema (1993).

1.4 Proteínas da Gema do Ovo

1.4.1 Fosvitina

Na gema do ovo encontra-se a proteína denominada fosvitina, que atua como carreadora do ferro se ligando a ele, fazendo com que este não esteja disponível para absorção. Segundo Jiang e Mine (2000), 95% do ferro presente na gema está ligado à fosvitina, numa conformação muito estável.

A fosvitina é sintetizada no fígado de galinhas em postura (SCHIRM; GRUBER, 1973). Ocorrendo a produção de enzimas como a vitelogenina, que é produzida em resposta a estrógenos ovarianos, a vitelogenina é transportada por via sanguínea ao ovário onde é

endocitada e fragmentada em duas proteínas vitelínicas: lipovitelina e fosvitina (WALLACE; SELMAN, 1981; MATSUBARA e SAWANO, 1995).

A fosvitina tem peso molecular de 35 kDa, representa cerca de 11% das proteínas da gema do ovo de galinha (ANTON, 1998; POWRIE e NAKAI, 1986) e é reconhecida como uma das proteínas mais fosforiladas (CLARK, 1985; TABORSKY, 1983). Este estado fosforilado é responsável pela sua alta carga negativa que é de aproximadamente - 179 (DAMODARAN e XU, 1996). Esta característica é um fator essencial para que esta proteína possa exercer sua atividade transportadora de íons (Ca^{+2} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+}) (GRIZZUTI E PERLMANN, 1973 e 1975).

Alguns polipeptídios da fosvitina já foram seqüenciados e a partir das seqüências de aminoácidos a fosvitina pode ser representada como um núcleo alongado de carga negativa com um C-terminal de aproximadamente 15 resíduos hidrofóbicos relativamente ricos em aminoácidos (BYRNEET *et al*, 1984).

Recentemente, foi demonstrado que esta proteína tem boas propriedades emulsificantes, e que em pH 7,0, estas características podem ser modificadas pela adição de NaCl. Também foi demonstrado que fosvitina pode apresentar melhores propriedades emulsificantes quando comparada a albumina do soro bovino na zona de pH neutro (CHUNG e FERRIER, 1991, 1992). Além disso, tem sido descrito que a estabilidade da emulsão de fosvitina em pH 7,0 é muito influenciada pela adição de íons de cálcio que poderiam provocar a agregação de moléculas de fosvitina. Os mecanismos implicados podem ser a diminuição na carga de superfície e / ou a formação de pontes de cálcio intermoleculares (DICKINSON *et al*, 1992).

1.4.2 Lipovitelina

É uma proteína cujo grupo prostético é um fosfolípido que contém 10% de fósforo alguns grupos de ferro ligados a sua estrutura. Tem peso molecular ao redor de 500.000 kDa. Em pH ácido forma um dímero de α - β lipovitelina; à medida que o pH aumenta, as cadeias peptídicas que formam o dímero vão se separando até chegarem à forma monômera. Grupos sulfidrilos e fosfóricos não estão envolvidos na dimerização, o que parece indicar que as associações são, predominantemente, do tipo hidrofóbico (BOBBIO e BOBBIO, 2003).

1.4.3 Livetina

A vitelogenina é produzida no fígado em resposta à estrógenos e só está presente na ave em reprodução. A vitelogenina produz duas proteínas que contêm fósforo: a fosvitina e a lipovitelina. As lipovitelinas contêm cerca de 20% de lipídios, dos quais 60% são fosfolípídios. As livetinas são proteínas que possuem peso molecular de 70 kDa, ponto isoelétrico entre 4.3 - 5.7 e estas são componentes do plasma da gema, ao contrário das lipovitelinas que fazem parte dos grânulos (de BLAY *et al*, 1994 e SZEPPALUSI *et al*, 1994). Estas podem ser divididas em α -, β - e γ -livetinas, correspondendo à proteínas do soro das aves: α -livetinas são albuminas do soro, β -livetinas são glicoproteínas e γ -livetinas são γ -globulinas. As α -livetinas correspondem ao IgG, comumente referido como imunoglobulina da gema ou IgY (MAGNUSSON e NILSSON, 2010). Estudos tem ligado a IgG como sendo umas das proteínas responsáveis pelas reações alérgicas na ingestão de alimentos contendo ovo, mas estima-se que sua ação alérgica seja mais efetiva na sensibilidade cruzada causada pela presença de outras proteínas mais alérgicas do ovo (SAPFALUSI *et al*, 1994. LICCARDI *et al*, 1997)

1.5 Propriedades Funcionais das proteínas

1.5.1 Emulsificação

Uma emulsão pode ser definida como uma mistura de dois líquidos imiscíveis, um dos quais é disperso na forma de glóbulos no outro líquido (SGARBIERI, 1996). De acordo com Linden e Loriet (1996), as propriedades emulsificantes da gema de ovo são atribuídas aos fosfolipídios e, principalmente, às lecitinas presentes na forma de complexos lipoprotéicos. As livetinas e lipovitelininas diminuem a tensão interfacial e facilitam a formação da emulsão, mas não influenciam a estabilidade. A gema do ovo vem sendo amplamente utilizada como ingrediente na indústria de alimentos, pois constitui um excelente agente emulsificante em produtos como maioneses, molhos para saladas, cremes e produtos de confeitaria (CHUNG e FERRIER, 1991). Contribui, também, para o estabelecimento de sabor, cor, textura, estabilidade e aumento da qualidade nutricional (BRINGE e CHENG, 1995).

1.5.1.1 Características da emulsão

As características que interessam em uma emulsão são a capacidade de emulsificação, atividade emulsificante e estabilidade.

A capacidade máxima de emulsificação da proteína é determinada no ponto em que se verifica o colapso ou quebra da emulsão. A quebra da emulsão poderá ser percebida de três maneiras diferentes: a) visualmente, pela separação de fases; b) por um som diferente produzido como consequência da separação das fases; c) pela queda de condutividade ou pelo aumento da resistência elétrica (AZZAM e OMARI, 2002).

A atividade emulsificante é definida como a área de interface estabilizada por uma dada concentração de emulsificante (m_2/g), sendo medida por método turbidimétrico (PEARCE e KINSELLA, 1998). Essa técnica relaciona as densidades óticas, a 550 nm de emulsões diluídas, com as áreas das superfícies interfaciais dos filmes da proteína, que envolvem as gotículas de óleo emulsificadas.

A estabilidade da emulsão pode ser compreendida como a capacidade da emulsão para conservar a sua estrutura ao longo do tempo. A medida pode ser direta (evolução do tamanho das gotículas ao longo do tempo, empregando-se um granulômetro) ou indireta, através da evolução das quantidades de óleo ou de fase aquosas separadas após um tratamento de desestabilização por centrifugação ou aquecimento (ANTON *et al.*, 2000).

1.6 Solubilidade das proteínas

Entre as propriedades funcionais da proteína, a solubilidade é de fundamental importância devido à sua influência direta sobre outras propriedades funcionais de proteínas (HALLING, 1981). Muitos pesquisadores usam a solubilidade das proteínas como uma segunda categoria de teste referente ao índice termodinâmica da estrutura da proteína (KILARA e SHARKASI, 1986). Em geral, as proteínas mais funcionais possuem alta solubilidade, o que lhes garante excelente capacidade de formar emulsões, espuma e/ou propriedades espumantes e gelificação.

A solubilidade de uma proteína, termodinamicamente, é a concentração de proteína em um sistema único ou em duas fases (solução de proteína em duas fases líquido-líquido ou em

sistema líquido-sólido) até o estado de equilíbrio. Algumas proteínas em seu estado natural são insolúveis, mas ao serem desnaturadas esta característica é alterada, já outras, necessitam de um pH tendendo para o básico pois em soluções ácidas próximas ao seu ponto isoelétrico (pI) estas não são solúveis (MORR e HÁ, 1993). Além das características que inferem a solubilidade das proteínas citadas anteriormente ainda há outros fatores intrínsecos muito importantes que serão discutidos mais detalhados em seguida.

1.7 Fatores Intrínsecos que Influenciam a Solubilidade das Proteínas

1.7.1 pH

A solubilidade de algumas proteínas está diretamente ligada ao pH da solução em que ela se encontra. Quando este pH está dentro da faixa do seu ponto isoelétrico esta solubilidade é praticamente zero porque a interação proteína-proteína aumenta a força eletrostática das moléculas fazendo com que elas se aproximem e formem agregados, e possivelmente, precipitem. Esta característica não pode ser utilizada como parâmetro para todas as proteínas, pois existem exceções como a β -Lactoalbumina que apresenta uma solubilidade de aproximadamente 90% quando a solução está com pH dentro do seu pI. (HAMAGUCHI, 1992).

Quando uma solução possui pH com valor extremamente ácido ou básico pode ocorrer o fenômeno de desdobramento da proteína. Ao se desdobrar (desnaturação), ela expõe ainda mais seus grupos hidrofóbicos pela diminuição das ligações eletrostáticas. Este desdobramento pode ocasionar a agregação e a precipitação da proteína, mas uma forma de diminuir este desdobramento é a adição de sais no meio, pois estes podem reverter ou estabilizar este processo garantindo assim uma melhor solubilidade da proteína (HAMAGUCHI, 1992)

1.7.2 Força iônica

In vivo, as proteínas não são encontradas na água pura, no entanto, *in vitro*, algumas proteínas como a albumina são solúveis em água pura. Na maioria dos sistemas biológicos, a força iônica é aproximadamente equivalente a 0,15 M NaCl (CREIGHTON, 1984).

Quando se acrescenta sais em um sistema há uma competição entre os íons da proteína e do sal pela ligação com a água. A fase em que ocorre aumento da solubilidade é chamada de *salting-in* e a fase que ocorre diminuição é chamada *salting-out*. Sais neutros, com uma concentração na ordem de 0,1-1Mol podem aumentar a solubilidade das proteínas em função da composição das mesmas, o tipo de sal, pH e temperatura em que se encontra o sistema. Em concentrações superiores a 1 Mol, ocorre o aumento do efeito (*Salting-out*), aumentando assim, a interação hidrofóbica e agregação por haver uma competição com a proteína pela água, causando a precipitação da proteína. Quando há uma maior concentração de íons de sal, a maioria das moléculas de água estão fortemente ligadas aos íons de sal, enquanto há uma reorganização das moléculas de água ao redor da molécula de proteína e isso pode resultar em maior interação proteína-proteína (principalmente através da interação superfície hidrofóbica) do que a interação proteína-água, sendo que essa associação é seguida da precipitação da proteína (CREIGHTON, 1984).

1.7.3 Temperatura

Em geral, a solubilidade da proteína é favorecida quando a temperatura se encontra entre 0-50 °C. Quando a temperatura da solução está acima desta faixa ideal e a proteína fica exposta a esta condição por um período determinado, a proteína é desnaturada. Proteínas são desnaturadas pelo efeito da temperatura sobre as ligações não-covalentes envolvidos na estabilização da estrutura secundária e terciária (ENGLARD e SEIFTER, 1990);

A desnaturação das proteínas não é muito favorável à solubilidade da mesma, pois ela promove a formação de resíduos hidrofóbicos que se ligam formando agregados que precipitam. Uma forma de evitar a desnaturação das proteínas é aumentar a sua diluição (HAMAGUCHI, 1992).

Diferentes proteínas requerem diferentes exposições ao calor para desnaturar, pois está desnaturação também pode estar associada ao pH. Por exemplo, em um pH extremamente ácido ou básico a desnaturação pode ocorrer em uma temperatura mais baixa que a comumente observada (KILARA e SHAKASI, 1986).

As baixas temperaturas, por vezes, podem desestabilizar as proteínas quando o principal fator de estabilização está na estrutura das ligações hidrofóbicas terciárias. Ligações hidrofóbicas, diferente das ligações eletrostáticas com o hidrogênio, são mais fracas em temperatura mais baixa o que pode ocasionar fenômenos semelhantes de precipitação, agregação e coagulação das proteínas. Se a estrutura nativa de uma proteína é importante para a funcionalidade, não menos importante e a escolha de uma temperatura onde está se encontra estável. Para a maioria das proteínas, a faixa de temperatura ideal para medir a solubilidade está entre 5-54 ° C, ou em alguns casos de até 37 ° C, dependendo da proteína. Por exemplo, L-treonina desaminase é menos estável a 0 ° C. Certas proteínas, como 11S proteína de soja, gliadina, algumas proteínas do ovo e proteínas desnaturadas do leite agregam e precipitam quando são expostas à temperatura muito baixas ou são congeladas. (CHEFTEL *et al*, 1985).

1.7.4 Presença de outros componentes

Outros componentes da solução tais como certos íons ou solventes orgânicos miscíveis podem também influenciar o comportamento da solubilidade de proteínas. Alguns íons metálicos como Zn^{2+} , Cd^{2+} e o ácido tricloroacético podem precipitar as proteínas dependendo do pH do Meio (OLLIS e WHITE, 1990). A solubilidade das proteínas é reduzida pela água miscível com solventes orgânicos tais como acetona e metanol que desnaturam as proteínas em soluções expostas a altas temperaturas.

A concentração de sal deve ser tão baixa quanto possível, quando solúvel em água solventes orgânicos são utilizados para precipitar proteínas. A solubilidade das proteínas é aumentada na presença de glicina e outras moléculas dipolares que levantam a constante dielétrica da água (HAUROWITZ, 1963).

Polietileno glicol (PEG), também diminui a solubilidade das proteínas. Ele é usado para a precipitação e formação de cristais de proteínas (OLLIS e WHITE, 1990). Ele afeta a solubilidade alterando as propriedades dielétricas da solução com a água.

Lipídios interagem com as proteínas em sistemas biológicos tais como as membranas celulares, lipoproteínas plasmáticas ou em emulsões alimentares. Interações hidrofóbicas entre a cadeia apolar alifática do lipídico e regiões hidrofóbicas na proteína podem reduzir a solubilidade água-proteína. Proteínas altamente hidrofóbicas tem uma interação mais forte com lipídios. Tenso ativos como dodecil sulfato de sódio (SDS), são fortes agentes de

desnaturação e solubilização da proteína pelo desdobramento da estrutura nativa vinculada as regiões hidrofóbicas das proteínas desnaturadas. Detergentes aumentam as forças de repulsão e desdobramento da estrutura das proteínas devido ao pK_a das mesmas somadas as suas cargas aniônicas negativas (HAUROWITZ, 1963).

Em alimentos, sistema este mais complexo, existem outros componentes que interagem com as proteínas contribuindo para funcionalidade das mesmas. Interações Proteína-proteína, proteína-gordura e proteína-carboidrato influenciam a solubilidade das proteínas, bem como outras propriedades físico-químicas (SCHWENKE e RAAB, 1989)

1.8 Clara do Ovo

A clara de ovo é rica em água e entre os 12% de sólidos presentes na clara, as proteínas são seus principais componentes. A clara pode ser considerada um sistema protéico composto de fibras de ovomucina e de uma solução coloidal de várias proteínas globulares (ASHRAE, 1994). A ovalbumina, a conalbumina ou ovotransferrina e a ovomucóide são três glicoproteínas que representam mais de 80% da proteína total (LINDEN e LORIENT, 1996). A clara contém outras proteínas em menor quantidade, como podem ser observadas na Tabela 7, estas também apresentam propriedades funcionais e nutricionais importantes (CHARLEY, 1982; KORHONEN *et al.*, 1998).

A avidina é uma proteína que se encontra unida à biotina. Está é uma glicoproteína básica constituída por 128 resíduos de aminoácidos e tem ponto isoelétrico em torno de 10. Podemos também citar as funções de outros componentes como as globulinas G1 e G2 do ovo que são consideradas agentes espumantes, o ovoinibidor que é capaz de inibir a tripsina (LINDEN e LORIENT, 1996; SGARBIERI, 1996).

Tabela 7 - Proteínas da clara de ovo

Proteína	Extrato Seco (%)	Massa Molar (kDa)	Ponto Isoelétrico	Resíduos de Aminoácidos	Hidrofobicidade (cal/res)	Temp. de Desnaturação (°C)
Ovalbumina	54	46	4,6	385	1.110	84,0
Conalbumina	12	76	6,5	-	1.080	61,0
Ovomucóide	11	28	4,0	185	920	70,0
Ovoglobulina	4	36	5,6	-	-	92,5
Lisozima	3,5	14,3	10,5	129	970	75,0
Ovomucina	3	5,5 x10 ³	4,5 - 5,0	-	-	-
Ovoinibidor	1,5	49	5,1	-	-	-
Ovoglicoproteína	1,0	24,4	3,9	-	-	-
Ovoflavoproteína	0,8	34	4,0	-	-	-
Ovomacroglobulin	0,5	770	4,5	-	-	-
Ficíneo inibidor	0,05	12,7	5,1	-	-	-
Avidina	0,05	68,3	10	512	1,060	-

Fonte: FENNEMA (1993) e LINDEN e LORIENT (1996)

1.9 Valor Biológico Das Proteínas

As proteínas do ovo são consideradas de alto valor nutritivo por conterem todos os aminoácidos essenciais necessários à espécie humana em quantidades superiores às requeridas para o crescimento e demais funções vitais (SURAI e SPARKS, 2000; LINDEN e LORIET, 1996). A utilização protéica líquida (coeficiente de uso digestivo x valor biológico) das proteínas do ovo integral e cozido alcança 94%, o que demonstra seu elevado valor biológico.

As proteínas da clara consumidas in natura apresentam digestibilidade de somente 50%, devido à presença de fatores antitripsínicos (ovomucóide) e ao fato de a clara de ovo cru estimula pouca secreção dos sucos gástricos e pancreáticos. A cocção, ao coagular as proteínas, facilita o trabalho das enzimas digestivas e permite alcançar uma digestibilidade de 92%, principalmente se o ovo for acompanhado de outros alimentos. Assim, a cocção destrói a ligação biotina-avidina. As proteínas da clara contêm ainda, propriedades biológicas antibacterianas diretas ou indiretas (atividades antiproteásicas, formação de complexos com vitaminas ou metais) que contribuem para a boa conservação dos ovos (LINDEN e LORIET, 1996; SGARBIERI, 1996).

As proteínas da gema são facilmente digeríveis em estado cru. Toda cocção excessiva diminui seu potencial digestivo. Os lipídios da gema de ovo são facilmente digeridos pelo homem por se encontrarem em estado emulsificado apresentando digestibilidade por volta de 94 a 96%. A digestibilidade é maior nos triglicerídeos (98%), fração mais rica em ácidos graxos saturados. A digestibilidade dos fosfolipídios é de cerca de 90%. A riqueza da gema de ovo em ácidos graxos insaturados (aproximadamente dois terços dos ácidos graxos totais) e especialmente em ácido linoleico (ômega-6) é também um elemento nutricional importante (LINDEN e LORIET, 1996; SGARBIERI, 1996).

2. HIDROCOLÓIDES

Por definição os hidrocolóides são compostos poliméricos que formam gel ou atuam como espessantes em sistemas aquosos, como as gomas. Podem também apresentar outras propriedades funcionais muito exploradas pela indústria como ação emulsificante, inibidores da formação de cristais de açúcar, controle do “flavours” dos alimentos processados, estabilizante, encapsulante e espumante. Sendo polímeros de cadeia longa, com estrutura predominante de carboidratos, apresentam capacidade de se solubilizar ou inchar em sistemas aquosos, fornecendo características de viscosidade semelhante às gorduras (LEWIS, 1993; GLICKSMAN 1991; ARAÚJO, 1999).

Estes ingredientes funcionais têm sido amplamente utilizados em produtos lácteos, alimentos enlatados, produtos de panificação, bebidas, molhos, sopas e outros alimentos processados para melhorar as características sensoriais, vida de prateleira e teor calóricos destes alimentos, pois fisiologicamente, os hidrocolóides funcionam como fibras solúveis e, portanto, não contribuem com calorias. (GLICKSMAN 1991; SAHIN e OZDEMIR, 2004).

Os principais hidrocolóides empregados como ingredientes na indústria de alimentos podem-se citar as gomas (xantana, arábica, guar,) carragena, carboximetilcelulose, gelatina, pectina, proteínas do soro de leite, proteínas da soja e do ovo (PHILLIPS e WILLIAMS, 2000; SAHIN e OZDEMIR, 2004).

2.1 Goma Xantana

A goma xantana (GX) é um heteropolissacarídeo produzido a partir do microorganismo (*Xanthomonas campestris*) através de uma fermentação extracelular aeróbia. Foi descoberta por volta de 1960 e hoje ocupa uma posição de destaque dentre os aditivos utilizados pela indústria de alimentos (BRESOLIN *et al*, 1998).

A estrutura química da GX consiste em uma espinha dorsal de celulose com uma cadeia lateral composta por duas unidades de manose separadas por um resíduo de ácido glucurônico. O resíduo de manose ligado à coluna vertebral celulósico é acetilado variável, e a manose terminal pode conter um grupo de piruvato. A proporção de acetil e substituintes do piruvato é determinada pela tensão após as condições da fermentação (SCHORSCH *et al* 1997). A natureza de suas cadeias confere as suas ramificações características reológicas incomuns, melhores até que outras gomas naturais, tais como goma de alfarroba ou goma guar (CASAS *et al*, 2000).

Pelo fato de possuir propriedades reológicas únicas e por sua estabilidade frente ao calor, frio, presença de sal e aos meios ácidos. A xantana vem sendo amplamente utilizada como agente suspensivo, espessante, emulsificante e estabilizante principalmente na indústria de alimentos (PHILLIPS e WILLIAMS, 2000; CASAS, SANTOSA e GARCÍA, 2000).

2.2 Carboximetilcelulose

A carboximetilcelulose (CMC), resulta do tratamento da celulose, via reação de Williamson, à pressão atmosférica (diferentemente dos outros ésteres da celulose), que se dá através de solução de hidróxido de sódio (NaOH) e monocloroacetato de sódio (ClCH₂-COONa), resultando na substituição parcial de grupos hidroxilas da glicose pelo grupo -CH₂-COOH, o que atribui à celulose modificada qualidades de solubilidade e viscosidade em água fria ou quente (FUJIMOTO *et al*, 2002).

Para facilitar a hidratação da molécula, normalmente, ela se apresenta na forma sódica (sal de sódio), como carboximetilcelulose de sódio. Suas propriedades reológicas permitem que ele seja utilizado com aditivo em alimentos com propriedades espessantes, estabilizantes e emulsionantes (KÄISTNER *et al* 1997).

2.3 Pectina

A pectina é um polissacarídeo estrutural encontrado na parede celular de vegetais com a função de conferir rigidez. Na indústria de alimentos ela é utilizada para as propriedades de gelificação, espessamento e estabilização. Comercialmente, é extraído principalmente a partir de cascas de cítricos (limão, laranja e grapefruit) e polpa de maçã (AKHTAR, 2002). Também chamada de ácido pectínico, a pectina é menos metilada que a protopectina (BOBBIO & BOBBIO, 1995).

A estrutura do polissacarídeo é baseada em ligações 1,4 ligadas α -D-ácido galacturônico, interrompida pela L-ramnose residual com cadeias laterais de açúcares neutros (principalmente D-galactose e L-arabinose). As propriedades funcionais são sensíveis ao grau de esterificação (GE), que por sua vez é dependente do tipo de tecido vegetal a partir da qual é extraída a pectina. Pectinas de alta metoxilação (GE \geq 50% gel) se formam sob condições ácidas (pH \leq 3,5) na presença de um co-solutos (tipicamente > 50% em peso de sacarose), enquanto pectinas de baixa metoxilação (<50% GE géis) são formadas por um mecanismo diferente na presença de íons cálcio (AKHTAR, 2002).

A pectina tem a propriedade de formar gel em condições específicas podendo formar soluções viscoelásticas e redes estruturadas, sendo que a rigidez do gel formado é diretamente proporcional ao peso molecular da pectina utilizada.. Suas propriedades reológicas são exploradas no controle da textura das emulsões e dispersões em alimentos com baixo pH (COSTELL, CARBONELL e DURAN, 1993)

A capacidade e a qualidade do gel formado permitem o uso da pectina como estabilizante em produtos alimentícios e agente espessante na indústria de alimentos, farmacêutica e de cosméticos (BOBBIO e BOBBIO, 1995).

2.4 Carragena

A carragena é um polímero obtido de diversos gêneros e espécies de algas marinhas da classe Rodophyta. As algas são em geral coletadas manualmente por pescadores em zonas intermareais ou por mergulho através do uso de equipamentos adequados. Após a coleta, as algas são colocadas ao sol para secagem até atingirem um nível de umidade ideal para seu processamento (de RUITER E RUDOLPH, 1997).

O teor de carragena nas algas varia de 30% a 60% do peso seco, dependendo da espécie da alga e das condições marinhas tais como luminosidade, nutrientes, temperatura e oxigenação da água. Algas de diferentes espécies e fontes produzem carragenas de diferentes tipos: kappa (κ), iota (ι) e lambda (λ). Algumas espécies de algas podem produzir carragenas de composição mista como kappa/iota, kappa/lambda ou iota/lambda. As espécies produtoras de κ -carragena são a *Hypnea Musciformis*, *Gigartina Stellata*, *Euclima Cottonii*, *Chondrus Crispus* e a *Iridaea*. As espécies produtoras de ι -carragena são a *Gigartina Teedi* e a *Euclima Spinosum*. As espécies produtoras de λ -carragena são em geral do gênero *Gigartina* (NIJENHUIS, 1997; DE RUITER E RUDOLPH, 1997; SHCHIPUNOV, 2003)

A carragena localiza-se na parede das células e na matriz intercelular do tecido das algas. É um polissacarídeo de alto peso molecular com conteúdo de éster sulfato de 15% a 40% formado por unidades alternadas de D-galactose e 3,6-anidro-galactose (3,6-AG) unidas por ligações α -1,3 e β -1,4-glicosídica. 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. A carragena tipo kappa contém de 25% a 30% de éster sulfato e de 28% a 35% de 3,6-AG. A carragena tipo iota contém de 28% a 35% de éster sulfato e de 25% a 30% de 3,6-AG. A carragena tipo lambda contém de 32% a 39% de éster sulfato e não contém 3,6-AG (CIANCIA *et al*, 1997; DE RUITER e RUDOLPH, 1997; HILLIOU *et al*, 2006)

A carragena é um ingrediente multifuncional e comporta-se diferentemente em água e em leite. Na água, apresenta-se tipicamente como hidrocolóide com propriedades espessantes e gelificantes. No leite, tem ainda a propriedade de reagir com as proteínas e fornecer funções estabilizantes (DICKINSON e PAWLOWSKY, 1998).

A carragena possui uma habilidade única de formar uma ampla variedade de texturas de gel à temperatura ambiente: gel firme ou elástico; transparente ou turvo; forte ou fraco; termo-reversível ou estável ao calor; alta ou baixa temperatura de fusão/gelificação. (OULD ELEYA, e TURGEON, 2000a e 2000b; SANTIAGO e TECANTE, 2007)

As principais aplicações da carragena estão concentradas na indústria alimentícia. As aplicações podem ser divididas em sistemas lácteos, aquosos e bebidas tendo como principais

funções: gelificação, espessamento, estabilização de emulsões, estabilização de proteínas, suspensão de partículas, controle de fluidez e retenção de água (ANDERSON *et al*, 2002; GONZALEZ-TOMAS e COSTELL, 2006; VAN DE VELDE *et al*, 2008). Entretanto, diversas outras aplicações de carragena podem ser citadas como a sua utilização em cremes dentais, odorizadores de ar, Pet foods, Cosméticos, fármacos e Tintas (de RUITER e RUDOLPH, 1997; TYE, 1989; GONZALEZ-TOMAS e COSTELL, 2006).

3.0 INTERAÇÃO ENTRE PROTEÍNA E POLISSACARÍDEO

As proteínas e os polissacarídeos classificam-se como biopolímeros e são encontrados com grande frequência em estruturas fundamentais que compõem diferentes organismos vivos. Uma grande variedade de produtos alimentícios tem em sua composição ingredientes como proteínas e polissacarídeos. A interação entre proteína e polissacarídeo exerce influência direta sobre as propriedades macroscópicas dos alimentos, tais como fluidez, estabilidade, textura e sensação bucal. Segundo TOLSTOGUZOV (1991) e TURGEON *et al*. (2007), a mistura de biopolímeros é, em sua grande maioria, instáveis visto que são susceptíveis ao fenômeno de separação de fases. A separação de fases pode ocorrer através de dois caminhos distintos: 1) incompatibilidade termodinâmica (segregação), também conhecida como separação de fase segregativa e 2) complexação (coacervação complexa), conhecida por separação de fases associativa, como ilustra a Figura 2.

Para o caso em que exista incompatibilidade entre os biopolímeros, por exemplo, há predominância de repulsão de cargas entre os mesmos após a separação, a dispersão apresenta duas fases sendo uma rica em proteína e a outra em polissacarídeo. Ao contrário, caso predomine a atração entre os biopolímeros em virtude de interações eletrostáticas (quando os dois polímeros apresentam grupos funcionais carregados com cargas opostas), ocorre à separação de fases do tipo associativa, também conhecida como coacervação complexa, resultando na formação do complexo proteína/polissacarídeo (coacervado) (TURGEON *et al.*, 2003, TURGEON *et al*, 2007). Verifica-se também a separação da mistura em duas fases, uma fase rica em polímero, e outra constituída essencialmente pelo solvente, conforme ilustra a Figura 3.

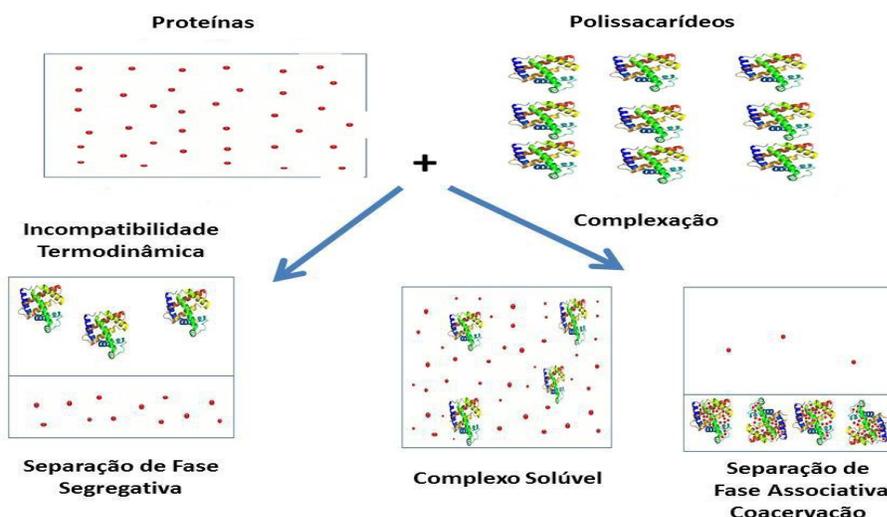


Figura 2 - Representação esquemática do comportamento de dispersões aquosa de misturas de polissacarídeos e proteínas (adaptado de TOLSTOGUZOV, 1991).

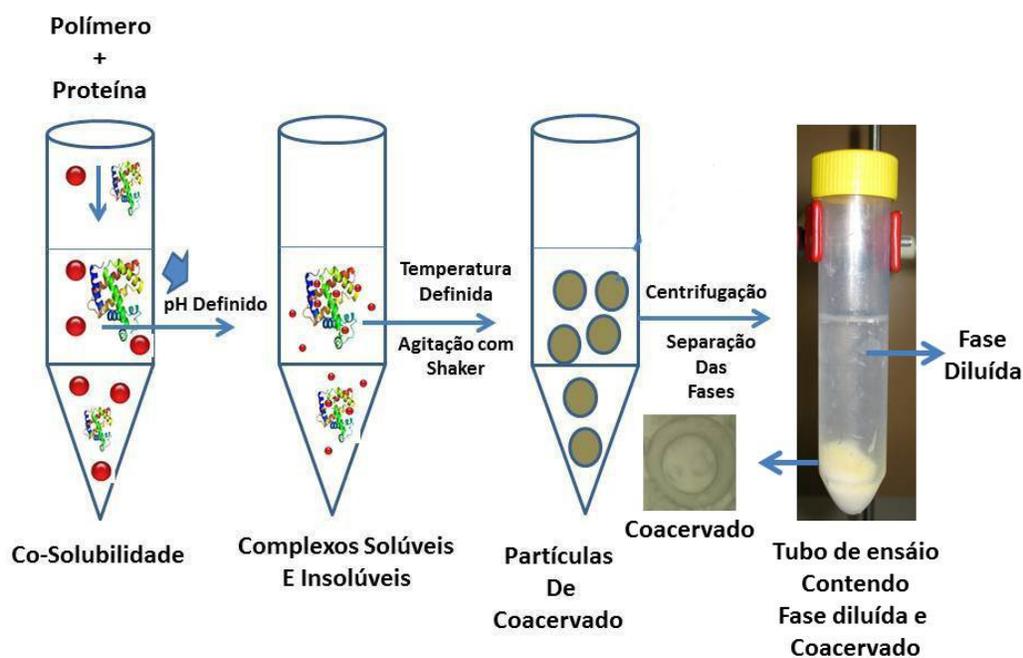


Figura 3 - Representação esquemática da metodologia utilizada para avaliar o grau e a formação dos coacervados.

3.1 Coacervação complexa - principais parâmetros que influenciam a formação do complexo proteína/polissacarídeo

Os hidrocolóides são macromoléculas que contêm um grande número de grupos funcionais carregados ou que, em condições favoráveis, tornam-se carregados. Estas macromoléculas podem ser constituídas por poliânions ou policátions, dependendo do grupo funcional disponível na molécula. A interação entre dois polieletrólitos apresentando cargas de sinal oposto possibilita a formação do complexo em decorrência da neutralização mútua das espécies (BURGESS, 1990). Diversos parâmetros físico-químicos interferem no grau de interação entre as espécies, favorecendo ou suprimindo a formação do complexo coacervado.

A separação de fase ou coacervação pode ser induzida pela ação de um agente externo que promova repulsão iônica entre os polímeros. Como o grau de dissociação (ionização) dos grupos funcionais e, portanto, a densidade líquida de carga associada varia em função do pH é evidente que a variação do pH (intervalo de pH), pode influenciar no processo.

A formação do complexo é influenciada por parâmetros intrínsecos dos polímeros, como a estrutura e a densidade de cargas. Por outro lado, estes fatores podem ser influenciados por parâmetros externos como a força iônica e os valores de pH (DICKINSON, 1998). A força iônica do meio, a natureza e concentração dos polieletrólitos presentes em solução e a razão entre os polímeros desempenham importância relevante para evitar a supressão do fenômeno (BURGESS e CARLESS, 1984). Parte-se do pressuposto que deva haver uma equivalência elétrica entre as espécies para que ocorra o que denominamos de ponto ótimo para formação do complexo coacervado.

BENICHO, ASERIN e GARTI (2002) afirmaram que, em proporções adequadas de biopolímeros e sob condições específicas (pH, força iônica, temperatura e procedimento de

mistura), as proteínas e polissacarídeos formam complexos com propriedades funcionais melhores em comparação às proteínas e polissacarídeos utilizados separadamente.

3.2 Coacervação complexa: Principais aplicações

A formação de complexos coacervados tem por finalidade melhorar as características funcionais dos polímeros de origem. A potencialidade de aplicação decorre pelo fato de que certas propriedades do complexo formado apresentam-se superiores em relação aos materiais de origem. Diversos setores industriais utilizam o processo de coacervação complexa como ferramenta tecnológica para a encapsulação de agentes ativos. Dentre os principais destacam-se: nutrição e alimentos, higiene pessoal e cosmético, agropecuário, fármacos e medicamentos, entre outros (TURGEON *et al.*, 2003). Na tabela 7 podemos observar os principais estudos realizados com o processo de coacervação nos últimos 5 anos.

Tabela 7 Principais estudos que avaliaram a funcionalidade da coacervação (Proteína-Polissacarídeo) de 2006 a 2010

Proteína	Polímero	Referência
β -Casein	Dextrana	MU <i>et al.</i> , 2006
β -Lactoglobulina	Dextrana	WOOSTER e AUGUSTIN, 2006
Proteína Hidrolisada de Soja	Curdlan	FAN <i>et al.</i> , 2006
Soro do leite Concentrado	Maltodextrina	AKHTAR E DICHINSON, 2007
Soro do leite Concentrado	Carboximetilcelulose	KITA <i>et al.</i> , 2007
Soja	Porphyran	TAKANO <i>et al.</i> , 2007
Caseinato de sódio	Dextrana	FECHNER <i>et al.</i> , 2007
β -Lactoglobulina	Dextrana	JIMENEZ-CASTAÑO, <i>et al.</i> , 2007
β -Lactoglobulina	Quitossana	MIRALLES <i>et al.</i> , 2007
Soro do leite Concentrado	Alginato de Sódio e κ -carrageena	PEREZ <i>et al.</i> , 2009
Soja	Pectina	BUENO <i>et al.</i> , 2009
Soro do leite Concentrado	Goma Gelana	PICONEA e CUNHA, 2010
Clara de Ovo	Pectina	AI-HAKKAK e AI-HAKKAK, 2010

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADDIS, P. B.; WARNER, G. J. The potential health aspects of lipid oxidation products in food. **Free radicals and food additives**. London: Aruoma O I. and Halliwell B. Ed., p.77-119. 1991

AEB - American Egg Board (2009) Disponível em : www.aeb.org. Acesso em: 1 de março 2010

- ASHRAE. American Society of Heating, Refrigerating and Air-Conditioning Engineers. Refrigeration, **System and Applications**. Cap. 25. 1994.
- AKHTAR, M., DICKINSON, E. Whey protein–maltodextrin conjugates as emulsifying agents: an alternative to gum arabic. **Food Hydrocolloids**. v 21, p. 607–616.2007
- AKHTAR, M., DICKINSON, E. Whey protein–maltodextrin conjugates as emulsifying agents: an alternative to gum arabic. **Food Hydrocolloids**, v.21,p.607–616.2007
- AKHTAR,M., DICKINSON, E., MAZOYER ,J., LANGENDORFF,V., Emulsion stabilizing properties of depolymerized pectin, **Food Hydrocolloids**, v. 16, , p. 249-256. 2002
- AL-HAKKAK,J E AL-HAKKAK, F. Functional egg white–pectin conjugates prepared by controlled Maillard reaction. **Journal of Food Engineering**. v.100, p.152-159.2010
- ALLEONI, A. C. C. and ANTUNES, A. J. Internal quality of eggs coated with whey protein concentrate. **Scient. Agric.**, v. 61, p. 276–280, 2004.
- ANDERSON, A. D., DAUBERT, C. R., E FARKAS, B. E. Rheological characterization of skim milk stabilized with carrageenan at high temperatures. **Journal of Food Science**,v 67, p.649–652. 2002.
- ANDERSON, J. T.; GRANDE, F.; KEYS, A. Independence of the effects of cholesterol and degree of saturation of the fat in the diet on serum cholesterol in man. **The American of Clinical Nutrition**, v. 29, p. 1184-1187, 1976.
- ANTON M. Structure and functional properties of hen egg yolk constituents, **Recent Research Developments in Agricultural and Food Chemistry 2**, p. 839–864. 1998.
- ANTON, M.; BEAUMAL, V.; GANDEMER, G. Adsorption at the oil-water interface and emulsifying properties of native granules from egg yolk: effect of aggregated state. **Food Hydrocolloids**, v. 14, p. 327-335, 2000.
- ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos: Teoria e pratica**. Viçosa: Editora UFV, p.336-339.1999.
- AZZAM, M. O. J.; OMARI, R. M. Stability of egg white-stabilized edible oil emulsions using conductivity technique. **Food Hydrocolloids**. v. 16, p. 105-110, 2002.
- BENICHOU, A.; ASERIN, A.; GARTI, N. Protein polysaccharide interactions for stabilization of food emulsions. **J Disper Sci Technol**, v. 23, n. 1-3, p. 93-123, 2002
- BERTECHINI, A. G. Ovo é Saúde. **Revista Avicultura Industrial**. n. 6, p. 40-42, 2003.
- BISHOFF, F. F. Carcinogenic effects of steroids. **Advances in lipid research**. New york: R. Paoletti and Kritchevsky, p.165-244. 1969
- BOBBIO, F. O., BOBBIO, P. A. **Introdução à química de Alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2003.
- BOBBIO, P.A., BOBBIO, F.O. **Introdução à química de alimentos**. 2.ed. São Paulo : Varela, 222p, 1995.

- BRAGAGNLO, N. **Determinação dos teores de colesterol em carnes, ovos e massa com ovos.** Campinas, SP: UNICAMP, 1992. 105 f. Dissertação (Mestrado).
- BRESOLIN, T.M.B., MILAS, M., RINAUDO, M. e GANTER, J.L.M.S.,. Xanthan-galactomannan interactions as related to xanthan conformations. **International Journal of Biological Macromolecules**.v. 23, p.263–275. 1998.
- BRINGE, N. A.; CHENG, J. Low-Fat, Low- Cholesterol Egg Yolk in Food Applications. **Food Technology**, ,v.8. p. 94-104, 1995.
- BUENO, A. S., PEREIRA, C. M.,MENEGASSI, B. Effect of extrusion on the emulsifying properties of soybean proteins and pectin mixtures modelled by response surface methodology. **Journal of Food Engineering** ,v. 90,p. 504–510. 2009
- BURGESS, D.J. Practical analysis of complex coacervate systems. **J Colloid Interf Sci**,v.140, n.1, p. 227-238, 1990.
- BURGESS, D.J.; CARLESS, J.E. Microelectrophoretic studies of gelatin and acacia for the prediction of complex coacervation. **J Colloid Interf Sci**, v.98, n.1, p.1-8, 1984.
- BYRNE ,B.M., VAN, A.D., VAN , K. J.A.M., ARNBERG, A.C., GRUBER, M. GEERT, A.B., Amino acid sequence of phosvitin derived from the nucleotide sequence of part of the chicken vitellogenin gene, **Biochemistry** ,v 23, p. 4275–4279. 1984.
- CARRILLO, A. R.;KOKINI, J. L. Effect of egg yolk and egg yolk + salt on rheological properties and particle size distribution of model oil-water salad dressing emulsions. **J. Food Sci.** V.53.p 1352-1355, 1988.
- CASAS, J.A., SANTOSA, V.E. GARCÍA,O, A. Xanthan gum production under several operational conditions: Molecular structure and rheological properties. **Enzyme and Microbial Technology** v.26, p. 282–291.2000.
- CHARLEY, H. **Food Science.** 2 ed. New York: John Willey & Sons, 1982, 564p.
- CHEFTEL.J.C., CUQ.J.L e LORIENT, D. **Amino acids, peptides e proteínas in Food Chemistry**, ed.2 (ed. O.R. Fennema), Marcel Derkker, Inc., p. 44, 140-145. 1985
- CHOBERT ,J.M., BERTRAND-HARB e NICOLAS, M.G. Solubility and emulsion properties of caseins and whey proteins modified enzymatically by trypsin. **J.Agric. Food Chem.**, v36,p. 220-224. 1988a.
- CHUNG, S. L., FERRIER, L. K. pH and sodium chloride effects on emulsifying properties of egg yolk phosvitin. **Journal of Food Science**, v.57, p.40–42. 1992.
- CHUNG, S. L.; FERRIER, L. K. Partial lipid extraction of egg yolk powder: effects on emulsifying properties and soluble protein fraction. **J. Food Sci.**, v. 56, n. 5, p. 1255-1258, 1991.
- CIANCIA, M., MILAS, M., E RINAUDO, M. On the specific role of coions and counterions on k-carrageenan conformation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.20,p. 35. 1997.

CLARK R.C., The primary structure of avian phosvitins (contributions through the Edman degradation of methylmercaptovitins prepared from the constituent phosphoproteins), **International Journal of Biochemistry**, v. 17, p. 983–988.1985.

COSTELL, E., CARBONELL, E. DURAN, L., Rheological indexes of fruit content in jams—effect of formulation on flow plasticity of sheared strawberry and peach jams. **Journal of Texture Studies** v.24, p. 375–390. 1993.

CREIGHTON, T.E. **Proteins structures and molecular principles**. Freeman and company, p.220-224.1984

DAMODARAN S.; XU S., The role of electrostatic forces in anomalous adsorption behavior of phosvitin at the air/water interface, **Journal of Colloid and Interface Science**, vol 178, p. 426–435. 1996.

De BLAY, F., HOYET, C., CANDOLFI, E., THIERRY, R., PAULI, G., Identification of alpha livetin as a cross reacting allergen in a bird-egg syndrome, **Allergy Proc** v.15n°.2. p.77-8. 1994

de KRUIF, C. G.; TUINIER, R. Polysaccharide protein interactions.**Food Hydrocolloids**, v. 15, n. 4-6, p. 555-563, 2001

de RUITER, G. A., E RUDOLPH, B. Carrageenan biotechnology. **Trends in Food Science & Technology**, v.8, p.389–395. 1997.

DEUEL, H. J. **The lipids their chemistry and biochemistry**. New york: Interscience Publishers, Inc.,v.1, p.982. 1951.

DICKINSON, E., e PAWLOWSKY, K. Influence of kappa-carrageenan on the properties of a protein-stabilized emulsion. **Food Hydrocolloids**,v. 12, p.417–423. 1998.

DICKINSON, E., HUNT, J. A., HORNE, D. S. Calcium induced flocculation of emulsions containing adsorbed b-casein or phosvitin. **Food Hydrocolloids**,v. 6, p.359–370. 1992.

DICKINSON, E.; SEMENOVA, M.G.; ANTIPOVA, A.S.; PELAN, E.G. Effect of highmethoxy pectin on properties of casein-stabilized emulsions. **Food Hydrocolloid**, v.12, p.425-432, 1998.

ELSWYK, M. E. V.; SCHAKE, L. S.; HARGIS, P. S. Evaluation of two extraction methods for the determination of egg yolk cholesterol, **Poultry Sci.**, v. 70, p. 1258-1260, 1991.

ENGLARD, S e SEIFTER, S. Precipitation techniques, in **Methods in Enzymology**. Vol. 182 (ed M.P. Deustscher) Academic Press Inc., New York, p. 285-300. 1990

FAN, J. F., ZHANG, Y. Y., SZESZE, T., LI, F. J., ZHOU, M. Y., SAITO, M., Improving functional properties of soy protein hydrolysate by conjugation with curdlan. **Journal of Food Science**,v 71, p.285–291.2006

FAN, J. F., ZHANG, Y. Y., SZESZE, T., Li, F. J., ZHOU, M. Y., SAITO, M., *et al.* . Improving functional properties of soy protein hydrolysate by conjugation with curdlan. **Journal of Food Science**, v.71, p.285–291.2006

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS .
Disponível em: www.fao.org. Acesso em: 20 fevereiro 2010.

FECHNER, A., KNOTH, A., SCHERZE, I., MUSCHIOLIK, G. Stability and release properties of double emulsions stabilized by caseinate–dextran conjugates. **Food Hydrocolloids**, 21, 943–952.2007

FENNEMA, O. R. **Química de los alimentos**. 2 ed. Zaragoza: Editorial Acribia, S.A, 1993. 1095p.

FUJIMOTO, J; REIS, E. A.O; PETRI, D F. S.CAMPANA FILHO, S P.. Formação de multicamadas de polissacarídeos e proteína. **Quím. Nova** . v..25, n.5, p. 757-761. 2002

GLICKSMAN, M. Hydrocolloids and the search for the “Oily Grail”. **Food Technology**, Chicago, v. 45, n. 10, p. 94, 96-101, 103, 1991.

GONZALEZ-TOMAS, L., E COSTELL, E. Relation between consumers’ perceptions of color and texture of dairy desserts and instrumental measurements using a generalized procrustes analysis. **Journal of Dairy Science**, v.89,p. 4511–4519. 2006.

GRIZZUTI, K., PERLMANN, G. E.. Binding of magnesium and calcium ions to the phosphoglycoprotein phosvitin. **Biochemistry**, v.12,p.4399–4403. 1973.

GRIZZUTI, K., PERLMANN, G. E.. Further studies on the binding of divalent cations to the phosphoglycoprotein phosvitin. **Biochemistry**,v. 14,p. 2171–2175. 1975.

HALLING, P.J Protein-stabilized foams and emulsions. **Rev.Food Sci. Nutri**.v.13. p. 155-203. 1981

HAMAGUCHI, K. The protein molecule conformation, stability and folding. **Springer-Verlag**, New York, p 195-205, 1992

HARMAN, N.L.; LEEDS A.R.; GRIFFIN, B.A. Increased dietary cholesterol does not increase plasma low density lipoprotein when accompanied by an energy-restricted diet and weight loss. **Eur J Nutr**, v. 47. n°.7. p287-293.2008

HAUROWITZ,F. **The chemistry and Function of Proteins**, ed 2, Academic Press, Nova York e Londres. 1963

HILLIOU, L., LAROTONDA, F. D. S., SERENO, A. M., & GONCALVES, M. P. Thermal and viscoelastic properties of kappa/iota-hybrid carrageenan gels obtained from the Portuguese sea weed *Mastocarpus stellatus*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,v. 54, p.7870–7878. 2006.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). Disponível em: www.ibge.gov.br. Acesso em: 20 fevereiro 2010.

Increases Plasma HDL Cholesterol in Overweight Men Consuming a Carbohydrate-Restricted Diet.**Jornal Nutrition**, v. 138, n.2.p. 272 - 276. 2008

JIANG, B.; MINE, Y. Preparation of novel functional oligophosphopeptides from hen egg yolk phosvitin. **Journal Agriculture Food Chemical**, v. 48, n. 4, p. 990-994, 2000.

- JIMENEZ-CASTAÑO, L., VILLAMIEL, M., LOPEZ-FANDIÑO, R. Glycosylation of individual whey proteins by Maillard reaction using dextran of different molecular mass. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 433–443. 2007
- JOHNSON, C. B. Isolation of Cholesterol Oxidation Products from Animal Fat Using Aminopropyl Solid-Phase Extrsaction, **J. Chromatogr. A**, v. 736, p. 205-210, 1996.
- KÄISTNER, U. H. HOFFMANN, R. DÖNGES e J. HILBIG, **Colloids Surfaces A: Physicochem. Eng. Asp**, v. 123–124, p. 307–328. 1997,
- KILARA, A. e SHARKASI, T.Y. Effect of temperature on food proteins and its implications on functional properties. **CRC CRIT. Rev.Food Sci. Nutr.**, v.23.p.323-339 . 1986
- KITA, K., KORLOS, F., KIOSSEOGLOU, V. Improvement, by dry-heating, of the emulsion-stabilizing properties of a whey protein concentrate obtained through carboxymethylcellulose complexation. **Food Chemistry**, 104, 1153–1159. 2007
- KORHONEN, H.; PIHLANTE-LEPPALA, A.; PIRJO, R.; TUPASELA, T. Impact of processing on bioactive proteins and peptides. **Trends in Food Science & Technology** v. 9, p. 307-319, 1998.
- KWAN, L. E.; LICHAN, N.; HELBIG, NAKAI, S. Fractionating of water-soluble and Insoluble Components from egg yolk with minimum use of organic solvents. **Journal of Food Science**. v.56, n°6, p. 1537-1541, 1991.
- LEWIS, M. J. **Propriedades físicas de los alimentos y de los sistemas de procesado**. Zaragoza: Editorial Acribia S.A., 1993.
- LICCARDI,G., SZÉPFALUSI, Z., NOSCHESI, P., NENTWICH I., D'AMATO, M., e D'AMATO, G. Allergy to chicken meat without sensitization to egg proteins: A case report. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**. v.100. p.577-579. 1997
- LI-CHAN, E. C. Y.; POWRIE, W. D.; NAKAI, S. **The chemistry of eggs and egg products**. In: STADELMAN W. J.; COTTERILL O. J. (Eds.). **Egg Science and Technology** New York: The Haworth Press, p. 105-176. 1995
- LINDEN, G.; LORIENT, D. **Bioquímica agroindustrial.**, Zaragoza: Editorial Acribia, S.A. 1996.
- MAGNUSSON, E., NILSSON, L. Interactions between hydrophobically modified starch and egg yolk proteins in solution and emulsions. **Food Hydrocolloides**. v.9.p1-9.2010
- MANGIONE, M. R., GIACOMAZZA, D., BULONE, D., MARTORANA, V.,E SAN BIAGIO, P. L. Thermoreversible gelation of j-carrageenan: relation between conformational transition and aggregation. **Biophysical Chemistry**, v.104,p. 95–105. 2003.
- MARTIN, C.A. ALMEIDA, V.V; RUIZ, M.R; VISENTAINER, J.E.L; MATSHUSHITA, M; SOUZA, N.E; VISENTAINER, J.V.. Ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 e ômega 6: importância e ocorrência em alimentos. **Rev. Nutri.** v.19.n.6,2006

- MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Rev. Nutr.**, v.19, n.6, p. 761-770. 2006
- MATSUBARA, T.; SAWANO, K. Proteolytic Cleavage of Vitellogenin and Yolk Proteins During Vitellogenin Uptake and Oocyte Maturation in Barfin Flounder (*Verasper moseri*). **Journal Experimental Zoology**, v. 272, n°. 1, p. 34-35, 1995.
- MCNAMARA, D. J. The role of cholesterol and fat. **Journal of american Oil chemistry society**, v. 64, n°. 12, p. 1565-1574, 1987.
- METZLER, D. E. **Biochemistry- the chemical reactions of living cells**. London: Academic Press, p. 727 –735, 1997.
- MINE, Y.; BERGOUGNOUX M. Adsorption properties of cholesterol reduced egg yolk low-density lipoprotein at oil-in- water interfaces. **J. Agric. Food Chem.** v. 46, p. 2152-2158, 1998.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA, PECUARIA E ABASTECIMENTO (MAPA) **Decreto** N° 56.585, de 20 de julho de 1965. (Brasil).
- MIRALLES, B., MARTINEZ-RODRIGUEZ, A., SANTIAGO, A., VAN DE LAGEMAAT, J., HERAS, A. The occurrence of a Maillard-type protein–polysaccharide interaction reaction between β -lactoglobulin and chitosan. **Food Chemistry**. v.100, p.1071–1075.2007
- MIRALLES, B., MARTINEZ-RODRIGUEZ, A., SANTIAGO, A., VAN DE LAGEMAAT, J., HERAS, A. The occurrence of a Maillard-type protein–polysaccharide interaction reaction between β -lactoglobulin and chitosan. **Food Chemistry**, v.100,p. 1071–1075.2007
- MISSLER, S. R.; WASILCHUCK B. A.; MERRITTT Jr. Separation and Identification of Cholesterol Oxidation Products in Dried Egg Preparations, **J. Food Sc.**, v. 50, p. 595-598, 1985.
- MU, M. F., PAN, X. Y., YAO, P., JIANG, M. Acidic solution properties of b-casein-graft-dextran copolymer prepared through Maillard reaction. **Journal of Colloid and Interface Science**, 301, 98–106. 2006
- MUTUNGI, G.; RATLIFF J.; PUGLISI M.; GONZALEZ, M. T.; VAISHNAV, U.; LEITE, J. O.; QUANN, E.; VOLEK, J. S., FERNANDEZ, M. L. Dietary cholesterol from eggs increases plasma HDL cholesterol in overweight men consuming a carbohydrate-restricted diet. **J Nutr.** v.2, p.272-6.2008
- NABER, E. C.; BIGGERT, M. D. Analysis for and generation of cholesterol oxidation products in egg yolk by heat treatment. **Poultry Science**, v. 64, p. 341-347, 1985.
- NIJENHUIS, K. T. Thermoreversible networks-viscoelastic properties and structure of gels. **Advances in Polymer Science**, v.130, p.1–12. 1997.
- NOVELLO, D., FRANCESCHINI, P., QUINTILIANO. D. A., OST, P. R. Ovo: Conceitos, análises e controvérsias na saúde humana. **ALAN**. v..56, n° 4 p.315-320.2006,
- OLLIS, D. e WHITE, S. Protein crystallization, in **Methods in Enzymology**. Vol. 182 (ed M.P. Deutscher) Academic Press Inc., New York, p. 646-659. 1990

OULD ELEYA, M. M., E TURGEON, S. L. Rheology of k-carrageenan and b-lactoglobulin mixed gels. **Food Hydrocolloids**, v.14, p.29–40. (2000a).

OULD ELEYA, M. M., E TURGEON, S. L. The effects of pH on the rheology of k carrageenan and b-lactoglobulin mixed gels. **Food Hydrocolloids**, v.14, p.245–251. (2000b).

PEARCE, K. N.; KINSELLA, J. E. Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbidimetric technique. **J. Agri. Food Chem.**, v. 26, p. 716-723, 1998.

PEREZ, A. A. ,CARRARA, C. R., SÁNCHEZ, C. C.,PATINO, J. M. R., SANTIAGO, L. G. Interactions between milk whey protein and polysaccharide in solution. **Food Chemistry**, v.116, p.104–113.2009

PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A. **Handbook of hydrocolloids**. Boca Raton, CRC Press LLC, 2000.

PICONEA, C. S. F., CUNHA, R.L. Interactions between milk proteins and gellan gum in acidified gels.**Food Hydrocolloids**, v.24, p.502-511. 2010

POWRIE W.D.; NAKAI S., The chemistry of eggs and egg products. In: W.J. Stadelman and O.J. Cotterill, Editors, **Egg science and technology** Vol. 6, The Avi Publishing Company Inc, Westport, pp. 97–139. 1986.

POWRIE, D. W.; NAKAI , S. Características de los alimentos líquidos de origen animal: huevos. In FENNELMA O. R. (ed.) **Química de los alimentos**, 2 ed. Zaragoza: Editorial Acribia S.A. p 931-958, 1993.

REISER, R. Oversimplification of diet: coronary heart disease relationship and exaggerated diet recommendation. **The american journal of clinical nutrition**, v. 31, p. 865-867, 1978.

ROBINSON, S. D. **Bioquímica y valor nutritivo de los alimentos**. Zaragoza: Editorial Acribia S.A. 1991.

ROJAS, E. E. G.; COIMBRA, J. S. R.; MINIM, L. A.; FREITAS, J. F. Cholesterol removal in liquid egg yolk using high methoxyl pectins. **Carbohydrate Polymers**, v.69 n°1, p.72-78, 2007.

ROMANOFF, A. L.; ROMANOFF, A. J. **The Avian Egg**. New York: Jhon wiley Sons, Inc. 1949.

SAHIN, H., OZDEMIR, F. Effect of some hydrocolloids on the rheological properties of different formulated ketchups, **Food Hydrocolloids**,v. 18 n.6, pp. 1015-1022. 2004.

SANTIAGO, M D. C. N., TECANTE, A. Rheological and calorimetric study of the sol-gel transition of κ -carrageenan.**Carbohydrate Polymers**, v.69, p.763–773. 2007.

SANTOS, G.F. **Influência dos parâmetros de extração do sistema gema desidratada - acetona, sobre as características químicas e funcionais da gema com baixo teor de colesterol**. Rio de Janeiro: UFRRJ, 1999. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

SAPFALUSI, Z., EBNER, C., PANDJAITAN, R., ORLICEK, F., SCHEINER, O., BOLTZNITULESCU, G., KRAF, D., EBNER, H. Egg yolk α -livetin (chicken serum albumin) allergen in the bird-egg syndrome. **J Allergy Clin Immunol.** v.93. n°93. 934-942. 1994

SCHIRM, J.; GRUBER, M.; AB, G. Post-translational phosphorylation of phosvitin. **Febs Letters**, v. 30, 8 p, março 1973.

SCHORSCH, C., GARNIER, C. e DOUBLIER, J.L., Viscoelastic properties of xanthan/galactomannan mixtures: Comparison of guar gum with locust bean gum. **Carbohydrate Polymers**, v.34, pp. 165–175. 1997.

SCHWENKE, K.D e RAAB, B. **Interaction in Protein Systems**. Proceedings of the 3° Symposium on Food Proteins. Akademie-Verlag, Berlin

SECRETARIA DE INSPEÇÃO DE PRODUTO ANIMAL (SIPA) **Portaria** N° 01, de 21 de fevereiro de 1990, Brasil.

SGARBIERI, V. **Proteínas em alimentos protéicos**. Propriedades. Degradações . modificações. São Paulo -SP: Ed Livraria Valeria. 1996.

SIM, J. S. **Eggs Uses and Processing Technologies**: New Developments. University of British Columbia: Columbia, CA, Marcel Dekker, Inc.: New York, NY, 1994.

SION, B., GRIZARD, G.; BOUCHER, D. Quantitative analysis of desmosterol, cholesterol and cholesterol sulfate in semen by high-performance liquid chromatography. **J. of Cromatogr. A**, v. 935, p. 259-265, 2001.

SMITH, L. L. **Cholesterol autooxidation**. London: Plenum Press. 1981.

STADELMAN, W. J.; COTTERILL, O. J. **Egg Science and Technology**. 3 ed. Wesport: AVI Publisher company, 1995. 449p.

SURAI, P. F.; SPARKS, N. H. C. Designer eggs: from improvement of egg composition to functional food. **Trends in Food Science & Technology**, v. 12, p. 7-16, 2000.

SZEPFALUSI, Z., EBNER, C., PANDJAITAN, R., ORLICEK, F., SCHEINER, O., NITULESCU, B. G., KRAFT, D., EBNER, H., Egg yolk alpha-livetin (chicken serum albumin) is a cross-reactive allergen in the bird-egg syndrome. **J Allergy Clin Immunol** .v.93.n°5.p.32-42.1994

TABORSKY G., Phosvitin, **Advances in Inorganic Biochemistry** vol 5, pp. 235–279. 1983.
TAKANO, K., HATTORI, M., YOSHIDA, T., KANUMA, S., TAKAHASHI, K. Porphyrin as a functional modifier of a soybean protein isolate through conjugation by the Maillard reaction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 55, 5796–5802.2007

TAKANO, K., HATTORI, M., YOSHIDA, T., KANUMA, S., TAKAHASHI, K. Porphyrin as a functional modifier of a soybean protein isolate through conjugation by the Maillard reaction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.55, p. 5796–5802.2007

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

- TSAI, L. S.; HUDSON ,C. A. Cholesterol oxides in commercial dry egg products: isolation and identification. **J. Food Sci.**,v. 49, p. 1245-1248, 1984.
- TURGEON, S. L., BEAULIEU, M., SCHMITT, C., Sanchez, C. Protein-polysaccharide interactions: phase-ordering kinetics, thermodynamic and structural aspects. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**,v. 8. p.01–414. 2003.
- TURGEON, S. L., SCHMITT, C., SANCHEZ, C. Protein-polysaccharide complexes and coacervates. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v.12. p.166–178. 2007.
- TYE, R. J. Industrial and non-food uses for carrageenan. **Carbohydrate Polymers**, v.10, p.259–280. 1989.
- Universidade Federal de São Paulo – Departamento de informática em saúde. Tabela de composição de Química dos alimentos. Disponível em: [HTTP//WWW.unifesp.br/dis/serviços/nutri](http://www.unifesp.br/dis/serviços/nutri). Acesso em 19.4.2010
- USDA National Nutrient Database for Standard reference, Release 21 (2008).disponível em . [HTTP//www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/CGI-bin/list_nut_edit.pl](http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/CGI-bin/list_nut_edit.pl). Acesso em 19.04.2010
- VAN DE VELDE, F., KNUTSEN, S. H., USOV, A. I., ROLLEMA, H. S., E CERREZO, A. S. ¹H and ¹³C high resolution NMR spectroscopy of carrageenans: application in research and industry. **Trends in Food Science & Technology**,v. 13, p.73–92. 2002.
- WALLACE, R. A.; SELMAN, K. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in Teleosts. **American Zoology**, v. 21, n. 2, p. 325-343, 1981.
- WOOSTER, T. J., AUGUSTIN, M. A. β -Lactoglobulin–dextran Maillard conjugates: their effect on interfacial thickness and emulsion stability. **Journal of Colloid and Interface Science**, 303, 564–572.2007.

CAPÍTULO II

SOLUBILIDADE DAS PROTEÍNAS DE GEMA DE OVO: MODELAGEM E PARÂMETROS TERMODINÂMICOS

RESUMO

Solubilidade de sistemas contendo proteínas da gema do ovo e goma xantana (0,083, 0,042, 0,021, 0,11% M/V) foram estudadas em diferentes temperaturas (10, 25, e 35° C), pH (3,0, 4,0, 6,5, 8,5, 10,0) e concentração de NaCl (0,2, 0,4, 0,8) mol/L. Segundo os dados uma menor solubilidade das proteínas pode ser observado no sistema onde o pH é mais ácido. Um aumento da solubilidade das proteínas da gema do ovo também pode ser observado em altas concentrações de goma xantana associado com o aumento da concentração de NaCl. O modelo linear utilizado se ajustou muito bem aos dados de solubilidade nas condições estudadas. Os parâmetros termodinâmicos foram calculados, indicando que os efeitos entrópicos no processo solubilidade são mais importante do que os efeitos de entalpia Os valores negativos encontrados para a energia livre indicam a espontânea heterogeneidade e a viabilidade do processo da solubilidade das proteínas.

Palavras chave: Solubilidade, goma xantana e gema de ovo

1. INTRODUÇÃO

A gema de ovo é uma dispersão composta de gotículas de lipídios em fase aquosa contínua (ou plasma), e contém aproximadamente 50% de sólidos (MINE e BERGOUGNOUX, 1998). Os principais constituintes da matéria sólida são lipídios (65-70% em base seca) e proteínas (30% em base seca), sendo as proteínas compostas principalmente por livetinas, lipoproteína incluindo lipoproteínas de alta densidade, HDL, lipoproteínas de baixa densidade, LDL, e fosvitina (Li-CHAN *et al*, 1995) sendo estes constituintes os principais responsáveis pelas características físicas e químicas especiais da gema de ovo. Assim, a gema representa uma das principais fontes de princípios ativos utilizáveis em indústrias médica, farmacêutica, cosmética e biotecnologia (LACA *et al*, 2010; FENNEMA, 1993).

As proteínas são macromoléculas que possuem uma grande importância na funcionalidade dos alimentos, produtos farmacêuticos e sistemas biológicos (VOJDANI, 1996; KORHONEN *et al*, 1998; KINSELLA, 1982). Uma das manifestações das propriedades físico-químicas das proteínas é interação entre a proteína e o solvente sob determinadas condições. Muitas propriedades funcionais importantes dos alimentos incluindo a solubilidade podem ser descritos através das interações proteína-proteína ou proteína- solvente (KAKALIS e REGENSTEIN, 1986).

A importância da solubilidade das proteínas é o fato de que esta influencia as outras propriedades, tais como gelatinização emulsificação e formação de espuma. Em outras palavras, o fato mais importante em relação à proteína possuir característica gelatinizantes, espumantes ou emulsificantes é que essa têm de ser solúveis (KAKALIS e REGENSTEIN, 1986; TIMASHEFF, 1993; NAKAI e CHAN, 1985; WIT, 1989). E, além disso, os dados da solubilidade são aplicados na determinação das melhores condições de extração e purificação de proteínas (FENNEMA, 1993). A solubilidade é afetada por muitos fatores, tais como a composição de aminoácidos, a condição da proteína e outros fatores tais como pH, temperatura, pressão, natureza e concentração de sal, a concentração de proteínas e outros compostos, como polímero, lipídios, agentes redutores e surfactantes (VOJDANI, 1996; RUCKENSTEIN e SHULGIN, 2006; SHULGIN e RUCKENSTEIN, 2006; GIROUX e BRITTEN, 2007; SOUSA, *et al*, 2007; MACHADO *et al*, 2007).

Interações proteína-polissacarídeo foram extensivamente estudadas uma vez que desempenham um papel essencial na estabilidade, estrutura e características reológicas de muitos sistemas alimentares. Do ponto de vista termodinâmico, proteínas e polissacarídeos pode ser compatíveis ou incompatíveis em uma solução aquosa (LANEUVILLE, 2000). A Complexação entre as proteínas e os polissacarídeos aniônicos, como goma xantana, ocorre em pH abaixo de pI da proteína onde uma compatibilidade total existe em virtude das cargas elétricas opostas que os líquidos transportam (SAMANT *et al*, 1993; LANEUVILLE, 2000). Os fatores que afetam a compatibilidade de polissacarídeo-proteína, bem como as características dos complexos formados são os proporção entre proteína-polissacarídeo, o pH, força iônica, total teor de sólidos, temperatura, taxa de acidificação, a taxa de cisalhamento durante a acidificação, e à natureza dos polímeros (SAMANT *et al*, 1993; SHU, 1993).

O objetivo deste trabalho foi desenvolver um modelo matemático para obtenção dos parâmetros termodinâmicos através dos dados de solubilidade das proteínas de gema de ovo em soluções aquosas contendo diferentes concentrações de goma xantana.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

Amostras de gemas de ovos desidratadas por spray dry (continham 35,5% proteínas) e foram obtidas com a ajuda de Sohovos Industrial Ltda (Sorocaba, Brasil). A goma xantana (CAS:11138-66-2) foi obtida da CP Kelco Brasil SA (São Paulo, Brasil) e o cloreto de sódio (PA) foi obtido da Vetec (RJ, Brasil). Neste experimento foi utilizada água deionizada e reagentes do nível analítico.

2.2 Preparação da solução aquosa da goma xantana

Goma xantana (XG) foi solubilizada em água em uma concentração de 2,0% m/m, usando uma balança analítica (Tecnal, mod. B-TEC-210A, Brasil) com a incerteza de $\pm 0,0001$ mg. Essa solução foi agitada por 3 h usando um agitador magnético (NOVATECNICA modelo NT101, Brasil).

2.3 Quantificação da proteína

A concentração da proteína foi analisada pela Método de Biureto (GORNALL, *et al*, 1949) a 540 nm em espectrofotômetro (Biochrom mod. LIBRA S12, Inglaterra). A analítica curva foi construída usando albumina bovina (BSA, Sigma Produtos químicos, St. Louis, EUA).

2.4 Determinação dos valores de solubilidade

Os dados de solubilidade foram obtidos de acordo com os métodos propostos na literatura (SOUSA, *et al*, 2007; ANTON e GANDEMÉR, 1997). Os dados foram obtidos a partir de uma mistura de 200 mg de gema de ovo desidratado em 30 mL de uma solução tampão no pH pré definido de (3,0 ; 4,0 ; 6,5 ; 8,5 e 10,0) contendo NaCl em concentrações pré-definidas (0,2 ; 0,4 e 0,8 mol / L). A goma xantana foi adicionada ao sistema em

concentrações pré-definidas de (0,083, 0,042, 0,021 e 0,011% m/v). As misturas foram agitadas por 2 h, com a temperatura preestabelecida de (10, 25 e 35 °C), usando um agitador orbital (Tecnal, mod. TE 420, Brasil) e depois foram centrifugadas (CIENTEC, mod. TC-6000, Brasil) a 6.000 rpm por 30 min. Após a centrifugação uma alíquota do sobrenadante foi retirada para subsequente análise com o método de biureto. A solubilidade (S_o) foi demonstrada em termos de massa de proteínas solúveis de gema de ovo em volume de solução (mg / mL). Os dados experimentais foram analisados utilizando o pacote estatístico SAS (SAS, 1998).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As Tabelas 1, 2, 3 demonstram os dados de solubilidade das proteínas da gema de ovo, nas condições estudadas. Nestas tabelas, pode-se observar que o valor da solubilidade das proteínas estudadas foi menor em pH mais ácidos do que o pHs mais básicos. Nessas regiões com pHs mais básicos os valores de repulsão entre as moléculas aumentam a carga elétrica do meio líquido aumentando assim a interação da proteína com a água. Nos pHs mais ácidos abaixo do ponto isoelétrico (pI) da proteína há um aumento da interação proteína-proteína porque as forças eletrostáticas de repulsão entre as moléculas estão com uma carga mínima quando comparamos a carga do meio durante a interação proteína-água (VOJDANI, 1996).

Um aumento na solubilidade das proteínas da gema de ovo também pode ser observado em altas concentrações de goma xantana associado com o aumento da concentração de NaCl. De acordo com Kinsela (1982), os sais neutros na concentração na ordem de 0,1-1 mol / L, também podem afetar as interações eletrostáticas entre as macromoléculas e aumentar a solubilidade das proteínas.

Tabela 1. Solubilidade em função da goma xantana, pH, temperatura e 0.2 mol/L de NaCl.

Goma xantana (% m/v)	Temperatura °C	pH				
		3	4	6.5	8.5	10.0
0.083	10	0.16	0.41	2.70	1.99	1.05
0.083	25	0.19	0.53	2.78	1.57	2.76
0.083	35	0.18	0.50	3.19	2.46	2.91
0.042	10	0.31	0.34	2.54	1.64	1.29
0.042	25	0.38	0.34	2.62	1.65	2.27
0.042	35	0.28	0.35	2.95	2.06	2.77
0.021	10	0.30	0.46	1.89	1.81	1.37
0.021	25	0.37	0.34	1.73	2.22	2.21
0.021	35	0.42	0.30	2.06	2.22	2.81
0.011	10	0.39	0.54	1.81	2.46	1.37
0.011	25	0.42	0.37	1.57	2.38	2.19
0.011	35	0.39	0.32	2.38	2.78	2.66

Um aumento da solubilidade associada com o aumento da concentração de polissacarídeos do sistema também foi observado por Perez *et al* (2009) quando observaram que as baixas concentrações de alginato de sódio foram associados com baixos valores de solubilidade das proteínas do soro de queijo. Porém, com o aumento da concentração dos

polissacarídeos, o efeito foi contrário, causado principalmente por uma grande exposição dos segmentos hidrofóbicos das proteínas durante a interação polissacarídeo-proteína, tendo como resultado final uma maior solubilidade das proteínas do soro na maior concentração de alginato de sódio.

Tabela 2. Solubilidade em função da goma xantana, pH, temperatura e 0.4 mol/L de NaCl.

Goma xantana (% m/v)	Temperatura °C	pH				
		3.0	4.0	6.5	8.5	10.0
0.083	10	0.41	0.74	2.95	1.65	3.66
0.083	25	0.32	0.77	3.59	2.38	3.41
0.083	35	0.36	0.75	4.16	2.62	2.92
0.042	10	0.36	0.48	2.70	1.81	3.01
0.042	25	0.28	0.67	3.11	2.62	2.84
0.042	35	0.31	0.46	3.83	2.70	3.17
0.021	10	0.35	0.59	2.78	1.09	2.30
0.021	25	0.26	0.61	2.22	2.70	2.68
0.021	35	0.25	0.41	3.51	3.11	2.76
0.011	10	0.33	0.54	2.95	0.76	2.17
0.011	25	0.28	0.52	2.70	2.74	2.52
0.011	35	0.25	0.42	4.08	3.11	2.68

Tabela 3. Solubilidade em função da goma xantana, pH, temperatura e 0.8 mol/L de NaCl.

Goma xantana (% m/v)	Temperatura °C	pH				
		3.0	4.0	6.5	8.5	10.0
0.083	10	0.49	0.72	4.24	6.34	4.88
0.083	25	0.49	0.97	4.08	3.51	4.47
0.083	35	0.49	0.66	3.91	4.00	4.88
0.042	10	0.78	0.73	3.43	6.50	4.15
0.042	25	0.44	1.02	3.91	4.08	3.82
0.042	35	0.75	0.79	3.43	4.00	4.55
0.021	10	0.56	1.34	2.46	6.58	4.31
0.021	25	0.44	1.20	2.78	4.24	4.23
0.021	35	0.75	1.28	2.46	4.00	3.90
0.011	10	0.63	1.86	4.08	6.50	3.74
0.011	25	0.53	1.34	3.11	5.13	4.39
0.011	35	0.86	1.58	2.78	3.75	4.23

O processo de dados de solubilidade foi analisado a partir de um ponto de vista matemático, utilizando o modelo polinomial a seguir:

$$So = y_0 + a \cdot pH + b \cdot T + c \cdot pH^2 + d \cdot T^2 + e \cdot pH \cdot T + f \cdot pH^2 \cdot T + g \cdot T^2 \cdot pH + h \cdot pH^2 \cdot T^2 + i \cdot pH^3 \cdot T^2 + j \cdot pH^3 \cdot T \quad (1)$$

Onde So é a solubilidade (mg / mL), T é a temperatura (°C), pH representa o pH da solução, e as letras $a, b, c, d, e, f, g, h, i, j$ representam os parâmetros a serem calculados.

Na Tabela 4 os parâmetros obtidos através da equação 1, bem como os valores do desvio padrão (SD) em função da temperatura, a goma xantana e a concentração de NaCl, são apresentados. Nesta tabela pode-se observar que os valores de SD mostram que o modelo não-linear utilizado foi uma boa alternativa ajustando-se bem aos dados de solubilidade nas condições estudadas. Isto também pode ser observado na dispersão dos dados apresentados nas Figuras. 1, 2, 3. A equação utilizada para calcular a SD é representado da seguinte forma: o modelo não-linear utilizado ajustou-se bem aos dados de solubilidade nas condições estudadas.

$$SD = \left[\frac{\sum_{i=1}^m (s_{\text{exp},i} - s_{\text{cal},i})^2}{(m-p)} \right]^{\frac{1}{2}} \quad (2)$$

Onde S_{exp} , e S_{ocal} são os valores da solubilidade calculados dos dados experimentais, m é o número de pontos experimentais e p é o número de ajuste dos parâmetros.

Tabela 4. Parâmetros obtidos da equação 1 .

	Y_0	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	SD
0.2 mol/L NaCl												
0.083 a	1123.592	-436.131	7.664	-33.462	-0.013	-3.003	0.238	0.005	0.001	0.002	-0.027	0.36
0.042 a	-495.955	180.069	3.453	-12.225	-0.006	-1.287	0.097	0.002	0.001	0.002	-0.030	0.16
0.021 a	-175.083	76.794	1.190	-5.881	-0.002	-0.534	0.044	0.001	0.001	0.001	-0.012	0.14
0.011 a	-881.33	352.910	6.003	-26.561	-0.010	-2.409	0.183	0.004	0.001	0.000	-0.006	0.20
0.4 mol/L NaCl												
0.083 a	-17.831	15.252	0.424	-1.061	-0.001	-0.263	0.030	0.001	0.001	0.002	-0.037	0.24
0.042 a	135.992	-67.705	-0.683	7.462	0.001	0.332	-0.032	-0.001	0.001	0.002	-0.031	0.25
0.021 a	-899.874	369.956	6.311	-29.006	-0.011	-2.612	0.211	0.005	0.001	0.001	-0.024	0.56
0.011 a	-658.369	279.135	4.748	-21.967	-0.008	-2.036	0.169	0.004	0.001	0.002	-0.032	0.60
0.8 mol/L NaCl												
0.083 a	-572.679	155.579	3.855	-4.185	-0.006	-1.073	0.038	0.002	0.001	0.001	-0.022	0.76
0.042 a	783.676	-328.223	-5.371	30.641	0.009	2.232	-0.204	-0.004	0.001	0.001	-0.009	0.86
0.021 a	73.661	2.642	-0.670	-0.701	0.001	0.063	-0.006	0.001	0.001	0.001	0.019	0.78
0.011 a	2758.951	-689.716	-19.228	40.177	0.034	4.847	-0.283	-0.009	0.001	0.001	0.001	0.74

^a % (g de goma xantana / mL de solução)

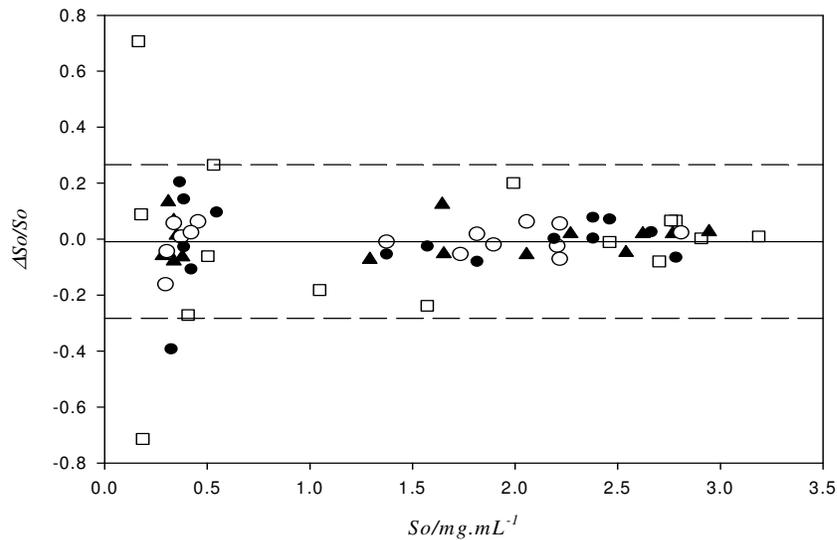


Figura 1. Fração de desvio $\Delta S_o = (S_{o_{obs}} - S_{o_{pred}})$ da solubilidade observada $S_{o_{obs}}$ da proteína da gema do ovo em função da $S_{o_{obs}}$. Concentração de NaCl 0.2 mol/L. O desvio padrão do ajuste foi calculado através da equação 1 ($\pm 2\sigma$). \square , 125.1 mg XG; \blacktriangle , 62,4 mg XG; \circ , 31.2 mg XG and \bullet , 15.6 mg XG.

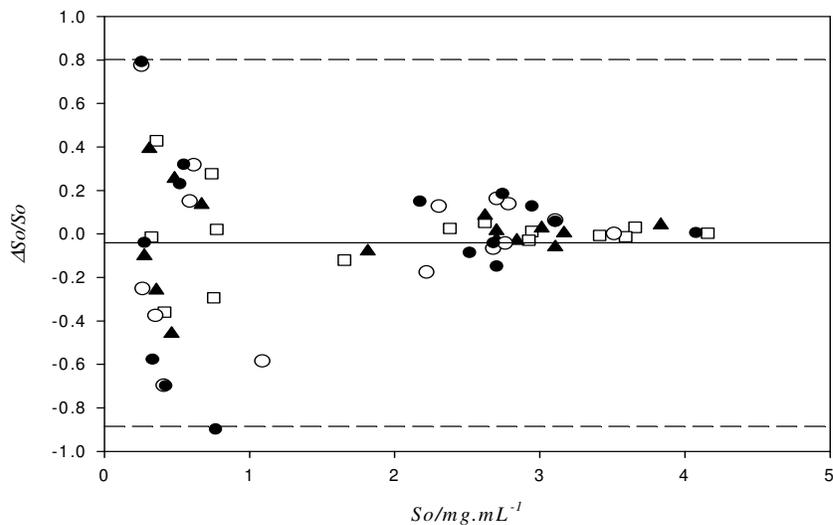


Figura 2. Fração de desvio $\Delta S_o = (S_{o_{obs}} - S_{o_{pred}})$ da solubilidade observada $S_{o_{obs}}$ da proteína da gema do ovo em função da $S_{o_{obs}}$. Concentração de NaCl 0.4 mol/L. O desvio padrão do ajuste foi calculado através da equação 1 ($\pm 2\sigma$). \square , 125.1 mg XG; \blacktriangle , 62,4 mg XG; \circ , 31.2 mg XG and \bullet , 15.6 mg XG.

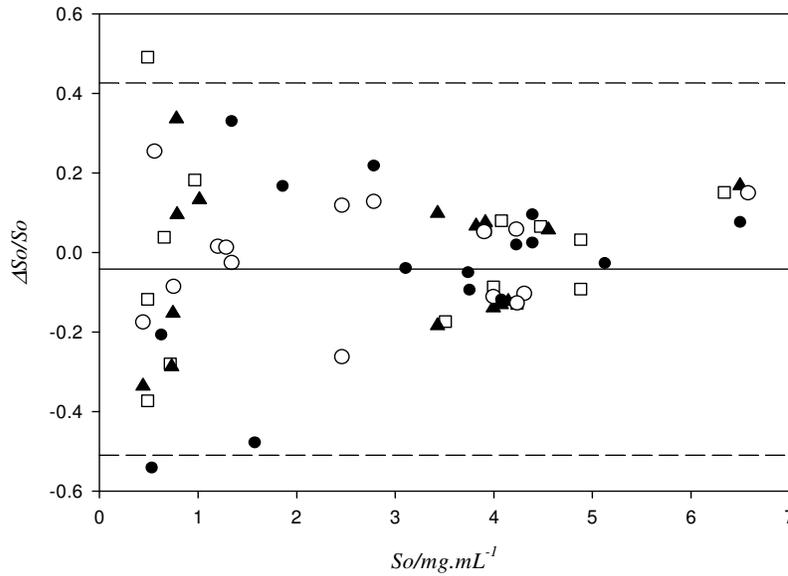


Figura 3: Fração de desvio $\Delta S_o = (S_{o_{obs}} - S_{o_{pred}})$ da solubilidade observada $S_{o_{obs}}$ da proteína da gema do ovo em função da $S_{o_{obs}}$. Concentração de NaCl 0.2 mol/L. O desvio padrão do ajuste foi calculado através da equação 1 ($\pm 2\sigma$). \square , 125.1 mg XG; \blacktriangle , 62,4 mg XG; \circ , 31.2 mg XG and \bullet , 15.6 mg XG.

Na Tabela 5 são apresentados os dados termodinâmicos para pH 6,5, onde a amostra apresentou uma media alta de solubilidade em relação aos outros pH estudados. Na análise termodinâmica, os parâmetros termodinâmicos de entalpia (ΔH), entropia (ΔS) e energia livre (ΔG), foram calculados com base na equação de Van Hoff (Eqs. 3, 4) de acordo com a metodologia descrita na literatura (CHEN *et al*,2003; BALUJA *et al*,2009).

$$\Delta G = -RT \ln S_o \quad (3)$$

$$\Delta S = \frac{1}{T}(\Delta H - \Delta G) \quad (4)$$

Onde R é a constante universal dos gases, T é a temperatura em K .

Os valores negativos encontrados para ΔG° indicam a espontaneidade do processo da solubilidade das proteínas e sua viabilidade (Tabela 5). Ela também pode ser observada pelos efeitos mais significativos de entropia (ζ_{TS}) do que os efeitos de entalpia (ζ_H). Estes efeitos foram calculados através das equações. 5 e 6, respectivamente. Resultados semelhantes foram encontrados na literatura (SZTERNER, 2008)

$$\zeta_H = \frac{\Delta H}{\Delta H + T\Delta S} \cdot 100 \quad (5)$$

$$\zeta_{TS} = \frac{T\Delta S}{\Delta H + T\Delta S} \cdot 100 \quad (6)$$

Tabela 5: Parâmetros Termodinâmicos (equação 3 - 6) solubilidade em pH 6.5

	ΔG (KJ/mol)	ΔH (KJ/mol)	ΔS (J/mol.K)	$T\Delta S$ (J/mol.K)	ζ_H	ζ_{TS}
0.2 mol/L NaCl						
125.1 mg of XG						
10°C	-2.34	4.56	24.21	7.17	38.86	61.14
25°C	-2.54					
35°C	-2.97					
62.4 mg of XG						
10°C	-2.19					
25°C	-2.39	4.09	22.07	6.54	38.48	61.52
35°C	-2.77					
31.2 mg of XG						
10°C	-1.50					
25°C	-1.36	1.94	11.87	3.51	35.63	64.37
35°C	-1.85					
15.6 mg of XG						
10°C	-1.40					
25°C	-1.12	6.91	28.67	8.49	44.88	55.12
35°C	-2.22					
0.4 mol/L NaCl						
125.1 mg of XG						
10°C	-2.54					
25°C	-3.17	9.94	44.07	13.06	43.22	56.78
35°C	-3.65					
62.4 mg of XG						
10°C	-2.34					
25°C	-2.81	9.89	43.05	12.75	43.68	56.32
35°C	-3.44					
31.2 mg of XG						
10°C	-2.41					
25°C	-1.97	5.59	27.44	8.13	40.78	59.22
35°C	-3.22					
15.6 mg of XG						
10°C	-2.54					
25°C	-2.46	8.54	35.51	11.41	42.82	57.18
35°C	-3.59					
0.8 mol/L NaCl						
125.1 mg of XG						
10°C	-3.39					
25°C	-3.48	2.26	4.015	5.72	28.37	71.63
35°C	-3.49					
62.4 mg of XG						
10°C	-2.89					
25°C	-3.38	0.40	11.97	3.54	10.17	89.83
35°C	-3.15					
31.2 mg of XG						
10°C	-2.12					
25°C	-2.54	0.37	9.094	2.69	12.21	87.79
35°C	-2.31					
15.6 mg of XG						
10°C	-3.31					
25°C	-2.81	11.16	27.83	14.07	44.23	55.77
35°C	-2.62					

4 CONCLUSÕES

Foi observada uma menor solubilidade das proteínas em sistemas de pHs que são mais ácidas. O modelo não linear utilizado foi bem ajustado em relação aos dados de solubilidade nas condições estudadas. Os parâmetros termodinâmicos foram calculados, indicando que os efeitos entrópicos no processo da solubilidade são mais significativos do que os efeitos de entalpia.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTON, M., GANDEMER, G. Composition, solubility and emulsifying properties of granules and plasma of egg yolk. **J Food Sci** v.62. p.484–487. 1997

BALUJA, S, BHALODIA, R., GAJERA, R., VEKARIYA, N., BHATT, M., Solubility of Difloxacin in acetone, methanol and ethanol from (293.15 to 313.15) K. **J Chem Eng Data** v. 54. p. 1091–1093. 2009

CHEN, W.Y., HUANG, H.M., LIN, C.C, LIN, F.Y., CHAN, Y.C Effect of temperature on hydrophobic interaction between proteins and hydrophobic adsorbents: studies by isothermal titration calorimetry and the Vant Hoff equation. **J Langmuir** v.19. p.9395–9403. 2003

FENNEMA, O.R. **Principles of food science: food chemistry**. Marcel Dekker, New or.1993.

GIROUX, H.J, BRITTEN, M Heat treatment of whey proteins in the presence of egg yolk and plasma egg yolk. **J LWT Food Sci Technol** v.40. p.1253–1258.2007

GORNALL, A.G, BARDAWILL, C.J, DAVID, M.M Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. **J Biol Chem** . v. 177. p. 751–766. 1949

KAKALIS, L.T., REGENSTEIN, J.M. Effect of pH and Salts on the Solubility of egg white protein. **J Food Sci** v.51n°6. p.1445–1447.1986

KINSELLA, J.E In: Fox PP, Condon JJ (eds) **Food proteins**.Applied Science Published, London.1982

KORHONEN, H., LEPPALA, A.P., RANTAMAKI, P., TUPASELA, T. Impact of processing on bioactive proteins and peptides. **Trends Food Sci Technol** v.9.p.307–319.1998

LACA ,A., PAREDES, B., DIAZ, M.A. Method of egg yolk fractionation. Characterization of fractions. **Food Hydrocolloids**. v. 24. p. 434–443.2010

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

Li-CHAN, ECY., POWRIE ,W.D., NAKAI . In: Stadelman WJ, Cotterill OJ (eds) **Egg science and technology**. Haworth Press Inc, New York.1995

MACHADO, F.F, COIMBRA, J.S.R., ROJAS, E.E.G., MINIM, L.A, OLIVEIRA, F.C,

- MINE, Y., BERGOUGNOUX, M. Adsorption properties of cholesterol reduced egg yolk low-density lipoprotein at oil-in-water interfaces. **J Agric Food Chem** v.46 .p. 2152–2158.1998
- NAKAI, S., CHAN, L. Structure modification and functionality of whey proteins: quantitative structure activity relationship approach. **J Dairy Sci** v.68. n°10. p. 2763–2772.1985
- PEREZ, A.A., CARRARA, C.R., SANCHES, .CC., PATINO, J.M.R., SANTIAGO, L.G. Interactions between milk whey protein and polysaccharide in solution. **J Food Chem** v.116.p.104–113. 2009
- RUCKENSTEIN, E., SHULGIN, I.L. Effect of salts and organic additives on the solubility of proteins in aqueous solutions. **Rev Adv Colloid Interface Sci** v.123–126..p 97–103.2006
- SAMANT, S.K., SINGHAL, R.S., KULKARNI, P.R., REGE, D Review. Protein–polysaccharide interactions: a new approach in food formulations. **Int J Food Sci Technol** v.28. p.247–562.1993
- SAS Institute, Inc SAS/STAT user's guide release 6.03. Cary, NC. 1998
- SHU, Y-W., SAHARA, S., NAKAMURA, S., KATO, A Effects of the length of polysaccharide chains on the functional properties of the maillard-type lysozyme—polysaccharide conjugate. **J Agric Food Chem** v.44.p. 2544–2548. 1996
- SHULGIN, I.L., RUCKENSTEIN, E. Preferential hydration and solubility of proteins in aqueous solutions of polyethylene glycol. **Rev Biophys Chem** v.120.p.188–198.2006
- SOUSA, R.C.S .Solubility and density of egg white proteins: effect of pH and saline concentration. **J LWT Food Sci Technol** v.40. n°7. p.1304–1307. 2007
- SOUSA, R.C.S., COIMBRA, J.S.R, ROJAS, E.E.G, MINIM, L.A, OLIVEIRA, F.C., MINIM V.P.R Effect of pH and salt concentration on the solubility and density of egg yolk and plasma egg yolk. **J LWT Food Sci Technol** v.40.p.1253–1258.2007
- SZTERNER, P Solubilities in water of uracil and its halogenated derivatives. **J Chem Eng Data** v.53. p.1738–1744. 2008
- TIMASHEFF, S.N. The control of protein stability and association by weak interactions with water: how do solvents affect these processes. **Annu Rev Biophys Biomol** v.22. p.67–97.1993
- VOJDANI, F. In: Hall GM (ed) **Methods of testing protein functionality**. Blackie Academic & Professional, London.1996
- WIT, J.N In: Fox PF (ed) **Developments in dairy chemistry**. Elsevier Applied Science, London.1989

CAPÍTULO III

EMULSÃO DE SISTEMAS CONTENDO LIPOPROTEÍNAS DA GEMA DO OVO, POLISSACARÍDEOS E ÓLEOS VEGETAIS.

RESUMO

As propriedades emulsificantes foram estudadas sob diversas concentrações de gema de ovo (0,02, 0,2 e 0,5 g) e polissacarídeos (goma xantana, carragena, carboximetilcelulose, pectina) em diferentes concentrações (0, 0,02, 0,04 e 0,08 g) além de três óleos vegetais (Girassol, Canola e Dendê). A influência do óleo na formação da emulsão esteve diretamente ligada ao seu teor de ácidos graxos, no entanto quando observada a concentração de proteína em relação à atividade emulsificante podemos notar que as maiores concentrações de moléculas de proteínas formaram adsorções mais espessas ao redor das moléculas de óleo e isso diminui ainda mais a coalescência das partículas de óleo e aumentou atividade emulsificante. As maiores concentrações de gema de ovo e a menor massa de polímero apresentaram as melhores atividades emulsificantes os menores diâmetros das gotículas de óleo. Em contra partida conforme era aumentada a massa de polímero uma diminuição gradativa dos valores de atividade emulsificante foi observada juntamente com o aumento do diâmetro das gotículas sofreu. As maiores concentrações de polímero interferiram no processo de homogeneização o que pode ter contribuído para os maiores diâmetros, menor atividade emulsificante e maior fração de volume de óleo.

Palavras chave: Emulsão, Lipoproteínas, Gema de ovo

1 INTRODUÇÃO

Uma emulsão é uma dispersão macroscópica de dois líquidos na qual, um dos líquidos constitui a parte contínua dispersa em pequenas gotas esféricas no sistema (MORR,1981). Muitas proteínas são altamente eficazes como emulsionantes porque possuem ambas as regiões hidrofóbicas e hidrofílicas carregadas o que diminui a tensão superficial (redução da tensão interfacial água-óleo) facilitando assim a quebra das gotículas de óleo e a formação de uma fina película ao redor da superfície das gotículas emulsionadas (TCHOLAKOVA *et al.*,2004; WALSTRA,1983).

A gema do ovo se enquadra no seletivo grupo das proteínas altamente emulsificantes porque é composta por livetinas e lipoproteínas de baixa densidade (LDL). Os lipídios presentes na gema correspondem a 65% de triglicerídeos, 23,3% de fosfolipídios, e 5,2% de colesterol. Os fosfolipídios são predominantemente a fosfatidilcolina (73%) e a fosfatidiletanolamina (15%). Os principais ácidos graxos que compõem a gema são o palmítico e o esteárico (30 e 38%), compondo cerca de 30% dos triglicerídeos, mas estes valores são maiores nas frações fosfolipídicas chegando a 49% no caso da fosfatidilcolina (BURLEY *et al.*,1984). A presença de proteínas hidrofóbicas e hidrofílicas bem como os já mencionados fosfolipídios e colesterol são os principais responsáveis pelas excelentes propriedades emulsificantes de gema de ovo, pois esta porção lipídica diminui a tensão superficial e facilita a fixação da macromolécula na interface água-óleo (MINE e BERGOUGNOUX, 1998; ALUKO *et al.*, 1998).

Quando associamos polissacarídeos aniônicos (goma xantana, carragena, cmc e pectina) e proteínas formamos um conjugado que vai utilizar as propriedades geralmente hidrofílicas do polissacarídeo para espessar e estabilizar o meio aquoso adjacente à interface da emulsão, ajudando assim, a estabilizar as gotas formadas pela proteína contra coalescência durante a emulsificação, bem como durante o armazenamento posterior das emulsões formadas (McCLEMENTS, 2005; SHEPHERD *et al.*, 1995). A maioria dos hidrocolóides pode atuar como estabilizante de emulsões de óleo-agua, mas apenas alguns podem agir como

emulsificantes. Esta última funcionalidade requer uma substancial atividade de superfície na interface óleo-água, e, portanto, requer que este facilite a formação e estabilização das gotículas durante e após a emulsificação (DICKINSON, 2004).

Os polissacarídeos emulsionantes mais usados em alimentos são a goma arábica (*Acacia senegal*) (CHAROEN et al, 2011; CASTELLANI et al, 2010), amidos modificados (MARTÍNEZ et al, 2003; FARRAG, 2008), celuloses modificadas (SUN et al, 2007; AMIRKHANIA et al, 2008), alguns tipos de pectina (LITTOZA, e McCLEMENTS, 2008; JONES e McCLEMENTS, 2010), e algumas galactomananas (MIKKONENA et al, 2009; WUA et al, 2009)

Ingredientes proteicos derivados de leite e/ou ovo são os alimentos mais comumente utilizados como agentes emulsificantes (JONES e McCLEMENTS, 2010). A estabilidade dos sistemas da emulsão é em geral, em função da fração de volume de óleo, tipo de óleo, temperatura, pH, tipo e quantidade de emulsificante (s), e a presença de contra íons como por exemplo, sais, açúcares e carboidratos (McCLEMENTS, 2005; MORR, 1981).

Assim este trabalho teve por objetivo avaliar as propriedades emulsificantes das lipoproteínas da gema do ovo associada a quatro polissacarídeos aniônicos (Goma Xantana, Pectina, CMC e Carragena) e três óleos vegetais (Girassol, Canola e Dendê).

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

As amostras de gema de ovo desidratada por Spray Dry continham 35,5% de proteínas (Referência do produto: EO-625) (St. Luis, USA). Os polissacarídeos goma xantana (Referência do produto G1253: EC 234-394-2), Carboximetilcelulose sódio (Referência do produto C4888-500), Pectina de cascas de frutas cítricas de baixo grau de metoxilação (Referência do produto: P9135) e κ -carragena (Referência do produto: C1013) além da gema foram obtidos da Sigma-Aldrich (St. Luis, USA). Os óleos de canola, girassol e dendê foram adquiridos nos estabelecimentos comerciais locais. Neste experimento foram utilizados reagentes de grau analítico e água deionizada.

2.2 Metodologia

2.3 Preparação da solução aquosa dos polissacarídeos

Os polissacarídeos (PO) goma xantana (GX), carragena (CA), Carboximetilcelulose (CMC) e pectina de baixo grau de metoxilação (PEC) foram solubilizados em água destilada em uma concentração de 1% M/M, usando uma balança analítica (Tecnal, mod.B-TEC-210^a, Brasil) com a incerteza de $\pm 0,0001$ mg. Após este procedimento, essa solução foi agitada por 3 horas com agitador magnético (NOVATECNICA ,Modelo NT101, Brasil).

2.4 Obtenção dos dados de condutividade elétrica

A metodologia utilizada para elaboração das amostras foi adaptada de acordo com os métodos propostos na literatura (AL-MALAH *et al*, 2000; AZZAM e OMARIA, 2002). A gema do ovo (GO) foi dissolvida em um becker com suas respectivas concentrações (0,02 , 0,2 e 0,5 g) em 20 ml de solução tampão pH 7,0. Após a dissolução da gema, foi adicionado

ao recipiente o polímero em uma das seguintes massas, (0,02; 0,04 e 0,08 g) da solução aquosa para posteriormente ser feita uma homogeneização do sistema. A amostra homogeneizada foi transferida para um tubo (Figura 1) para a aferição da condutividade inicial da através de um medidor de condutividade (MCA 150, TecnoPON, Brasil). Os óleos vegetais (canola, girassol e Dendê) foram adicionados ao sistema proteína-polissacarídeo no volume definido de 7 mL. As duas fases foram homogeneizadas com um Turrax (T 10 Basic, Gehaka, BRA) por 2 minutos a uma velocidade de 18.600 rpm. A condutividade registrada foi obtida sob temperatura ambiente (média de 25-28 ° C), durante o período de homogeneização e 20 min após a interrupção do homogeneizador.

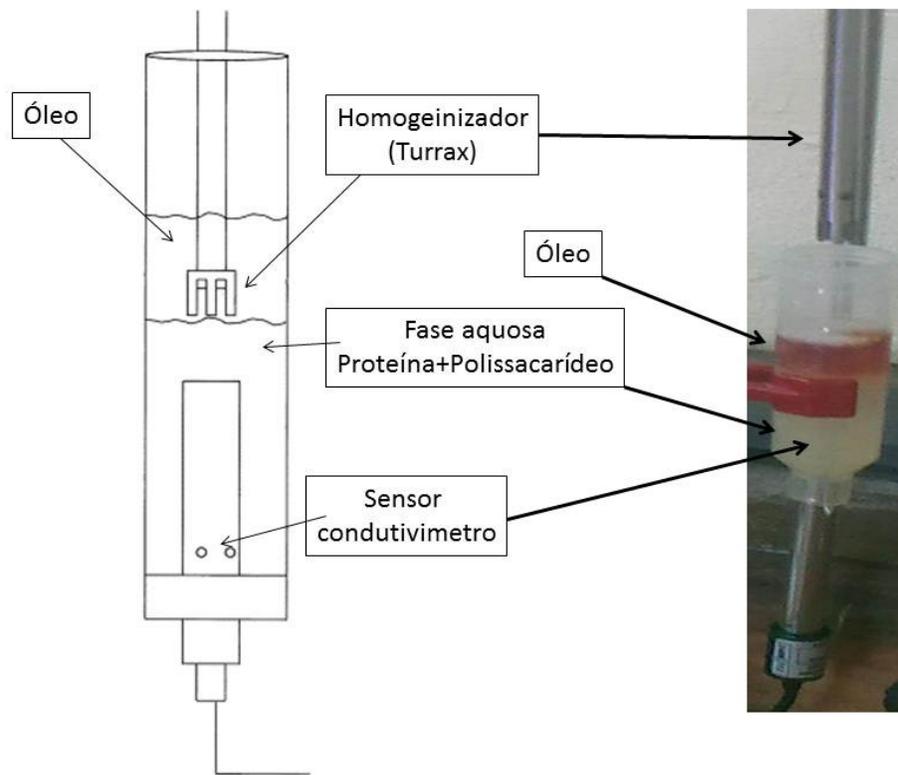


Figura 1: Desenho esquemático do tubo de ensaio acoplado ao turrax e ao condutímetro.

2.5 Determinação das propriedades emulsificantes

Para determinar a atividade emulsificante e volume final da fração do óleo os dados foram divididos em duas etapas respectivamente como pode ser observado na figura 2. A primeira etapa, foi observada até o final dos dois primeiros minutos de homogeneização do Turrax, e foi usada para a medida da atividade emulsificante. A segunda etapa, logo após a interrupção do homogeneizador, foi usada para determinar a estabilidade da emulsão.

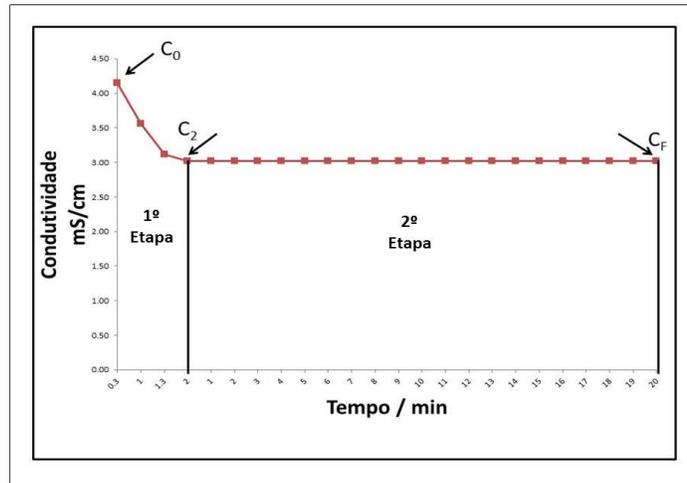


Figura 2 – Representação das duas etapas da análise das propriedades emulsificantes

Kato *et al* (1985) definiu a atividade emulsificante de uma determinada proteína como a diferença entre a condutividade da solução de proteína antes da homogeneização (C_0) e condutividade da emulsão pouco antes de parar o homogeneizador (C_2), portanto, a atividade de emulsão (AE) torna-se:

$$AE = C_0 - C_2 \quad (1)$$

Para determinação o volume final da fração do óleo (VFO) foi utilizado um modelo matemático proposto por Kato *et al.* (1985). A volume de fração de óleo da fase emulsificada (VFO) está ligada à condutividade pela relação onde C_F é a condutividade final da emulsão e C_0 é a condutividade inicial da solução aquosa.

$$VFO = 1 - [(20/7) (1 - C_F/C_0)] \quad (2)$$

O VFO foi calculado durante 20 min para avaliar a evolução da coalescência das gotículas bem como a estabilidade das emulsões.

Após a avaliação da estabilidade da emulsão uma alíquota de 1mL foi retirada para ser observado o tamanho e a distribuição das gotículas da emulsão no microscópio ótico NIKON (modelo:LV 150,CHN) em ampliação de 20x com câmera acoplada (DS-Fi1,CHN) e Software (NSI-Elements D 3.0,USA). As imagens foram feitas em triplicada para cada repetição onde o diâmetro foi avaliado com os recursos do software.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação da atividade emulsificante

Atividade emulsificante está relacionada com a capacidade que um determinado emulsificante tem de promover três processos sequenciados que são: (I) uma ruptura do óleo

formando pequenas gotas, (II) adsorção das moléculas de proteína nas superfícies recém-criadas de óleo e (III) coalescência (DICKINSON,2009).

Podemos observar no dendê, girassol e na canola (Figuras 3, 4 e 5) que conforme foi aumentada a concentração de proteína os valores de AE foram aumentando gradualmente. Isso ocorre porque as proteínas chegam à interface óleo-água recém-formada (durante a homogeneização) a uma taxa proporcional à sua concentração. Maiores concentrações de moléculas de proteínas formam adsorções mais espessas ao redor das moléculas de óleo e isso diminui ainda mais a coalescência das partículas de óleo (SURH *et al*,2006; DICKINSON,2009). Acreditamos que esta característica se deva principalmente aos fosfolipídios presentes na GO que possuem características hidrofílicas e hidrofóbicas que aumentam a tensão superficial e conseqüentemente o rendimento da quebra das gotículas (ALUKO *et al*, 1998).

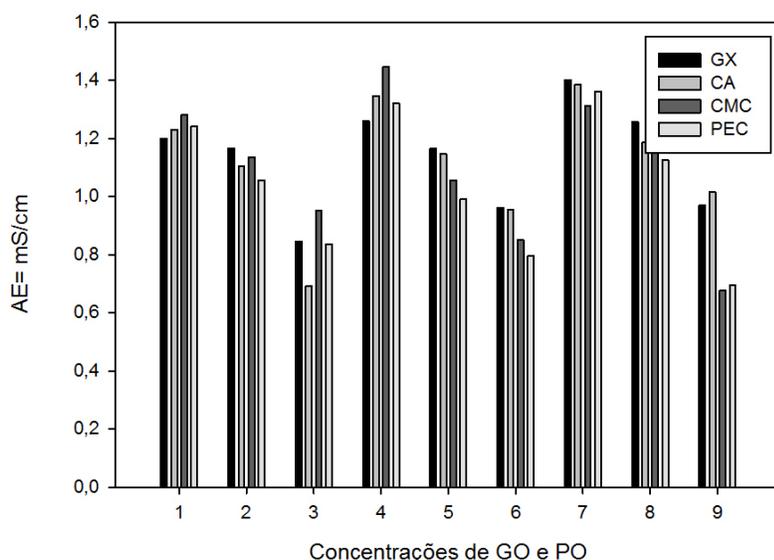


Figura 3 - Atividade emulsificante de diferentes concentrações de GO e PO= (GX,CA,CMC ou PEC) com 7 ml de óleo de dendê **1-**(0,02 g de GO/ 0,02 g PO), **2-**(0,02 g de GO/ 0,04 g PO), **3-**(0,02 g GO/ 0,08 g PO), **4-**(0,2 g GO/ 0,02 g PO), **5-**(0,2g de GO/ 0,04 g de PO), **6-**(0,2 g de GO/ 0,08 g PO), **7-**(0,5 g de GO/ 0,02 g PO), **8-**(0,5 g GO/ 0,04 g PO), **9-**(0,5 g GO/ 0,08 g PO).

Em contra partida, podemos observar outra característica unânime entre os óleos (Figuras 3, 4 e 5) que foi a diminuição gradativa dos valores de AE quando foi aumentada a concentração de polímero nas três concentrações de proteína estudadas. Este comportamento não está bem elucidado pela literatura, mas acreditamos que isso tenha ocorrido pelo aumento gradativo da viscosidade do meio o que diminui a quebra e a camada de adsorção das gotículas de óleo por diminuição da homogeneização o que conseqüentemente gerou maiores gotículas de óleo e menor AE (McCLEMENTS,2004; WANG *et al* 2010). O aspecto consoante ao tamanho da partícula e sua relevância na emulsão será melhor elucidado no próximo tópico desta discussão.

Ao analisarmos a influencia da fração de volume de óleo na AE podemos concluir que, em geral, à medida que a AE é obtida é difícil sugerir que certo tipo de óleo vai propiciar uma excelente AE frente a toda a gama de concentrações de GO e PO avaliados. Em outras

palavras, não existiu um comportamento padrão para a estabilidade da emulsão em relação ao tipo de óleo, mas podemos constatar que o óleo de dendê obteve o menor valor de AE total se comparado com o girassol e a canola. Acreditamos que a canola (Figura 5) obteve a maior AE total por causa do grande teor de ácidos graxos monoinsaturados especificamente pelo teor de ácido oleico 55-58% (ω -9) (MORAES *et al* 1993) quando comparado ao Girassol 15-25% (ω -9) (BITTENCOURT *et al*, 1990) e ao Dendê 35-40% (ω -9) (BORA *et al*,2003). Os mesmos resultados foram observados por Wan *et al* (2000) ao considerar que o grande diferencial do azeite de oliva sobre os outras óleos no tocante atividade e agente emulsificante foi seu alto teor de ácidos oleicos.

Podemos observar também que alguns polímeros apresentaram comportamentos bem particulares nos diversos óleos estudados. O CMC apresentou os melhores valores de AE no grupo 1 e 4 respectivamente da Figura 3, mas quando a GO foi avaliada em sua maior concentração e os polímeros em sua menor concentração os valores de AE foram bem similares entre os PO estudados.

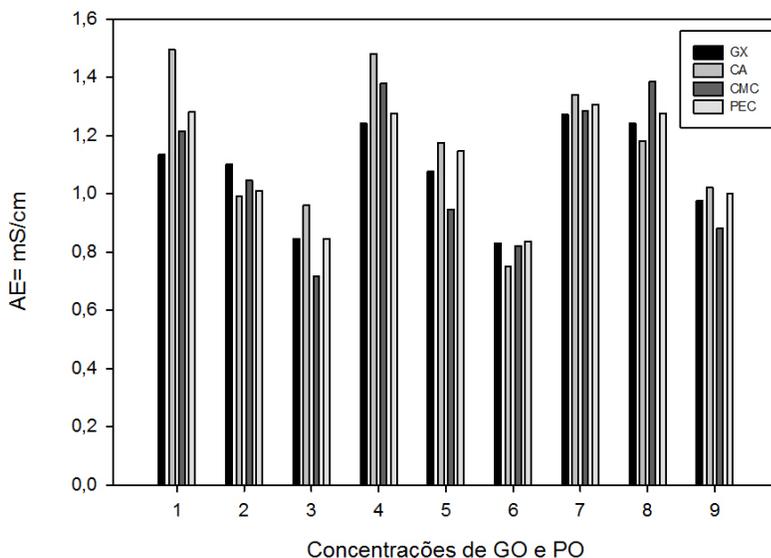


Figura 4: Atividade emulsificante de diferentes concentrações de GO e PO= (GX,CA,CMC ou PEC) com 7 ml de óleo de Girassol **1-**(0,02 g de GO/ 0,02 g PO), **2-**(0,02 g de GO/ 0,04 g PO), **3-**(0,02 g GO/ 0,08 g PO), **4-**(0,2 g GO/ 0,02 g PO), **5-**(0,2g de GO/ 0,04 g de PO), **6-**(0,2 g de GO/ 0,08 g PO), **7-**(0,5 g de GO/ 0,02 g PO), **8-**(0,5 g GO/ 0,04 g PO), **9-**(0,5 g GO/ 0,08 g PO).

Quando avaliamos a emulsão formada com girassol (Figura 4) podemos observar que a CA e CMC apresentaram altos valores de AE na menor e na maior concentração de GO. Já quando avaliamos as emulsões formadas com canola (Figura 5) vimos que os polímeros GX e a CA apresentaram altos valores de AE em todas as concentrações de GO. Os valores de AE emulsificante no óleo de canola foram os maiores de todos os óleos e os PO com menor rendimento foram o CMC e a PEC.

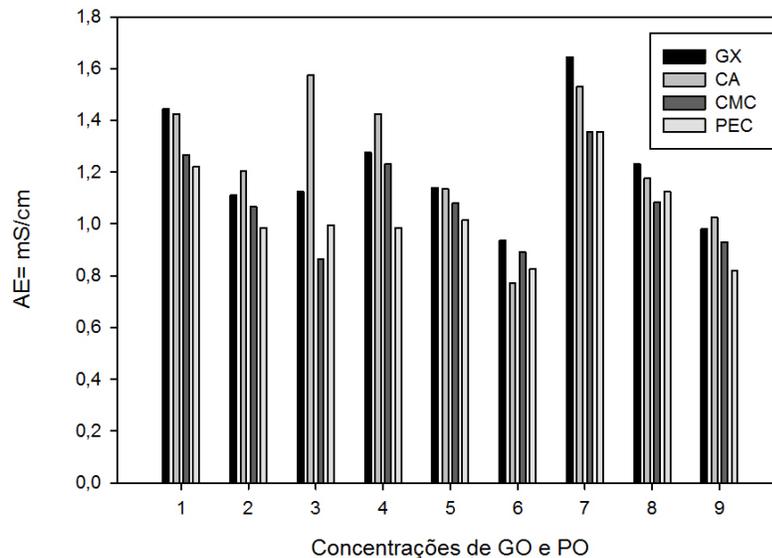
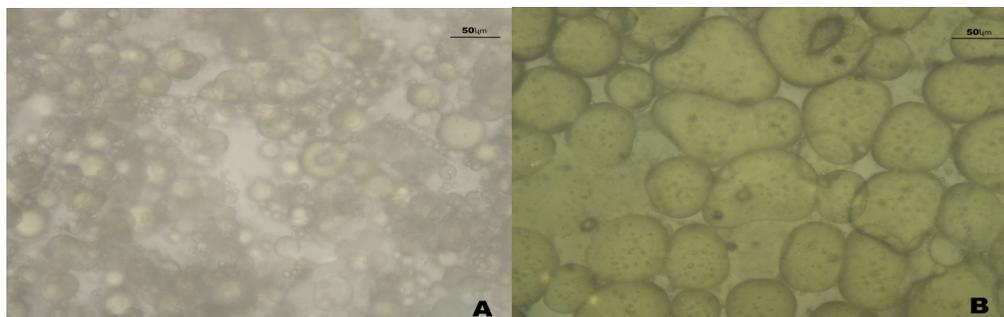


Figura 5: Atividade emulsificante de diferentes concentrações de GO e PO= (GX,CA,CMC ou PEC) com 7 ml de óleo de Canola **1-**(0.02 g de GO/ 0,02 g PO), **2-**(0.02 g de GO/ 0,04 g PO), **3-**(0,02 g GO/ 0,08 g PO), **4-**(0,2 g GO/ 0,02 g PO), **5-**(0,2g de GO/ 0,04 g de PO), **6-**(0.2 g de GO/ 0,08 g PO), **7-**(0.5 g de GO/ 0,02 g PO), **8-**(0,5 g GO/ 0,04 g PO), **9-**(0,5 g GO/ 0,08 g PO).

3.2 Estabilidade da emulsão

Na Figura 6 podemos observar microfotografias de algumas emulsões formadas e as respectivas gotículas de óleo. Nestas imagens podemos constatar que diferentes concentrações de PO e GO influenciaram diretamente o tamanho das gotículas sobre os óleos estudados. Podemos observar que as concentrações que apresentaram as melhores AE também foram às concentrações que obtiveram os menores diâmetros das gotículas Figura 6 (A,C,E e G). Este comportamento já foi discutido anteriormente , mas podemos acrescentar que o menor diâmetro das gotículas foi diretamente dependente da maior concentração de proteína ,característica essa, que já foi relatada por outros autores (LIZARRAGA *et al* 2008; RANGSANSARID e FUKADA,2007; SURH *et al* 2006). Quando falamos da concentração de PO podemos observar que as maiores gotículas foram diretamente ligadas as maiores concentrações de PO Figuras 6 (B, D, F e H) O fato do menor rendimento da homogeneização não necessariamente alterou significativamente a estabilidade das emulsões, mas contribui em alguns casos para a instabilidade.



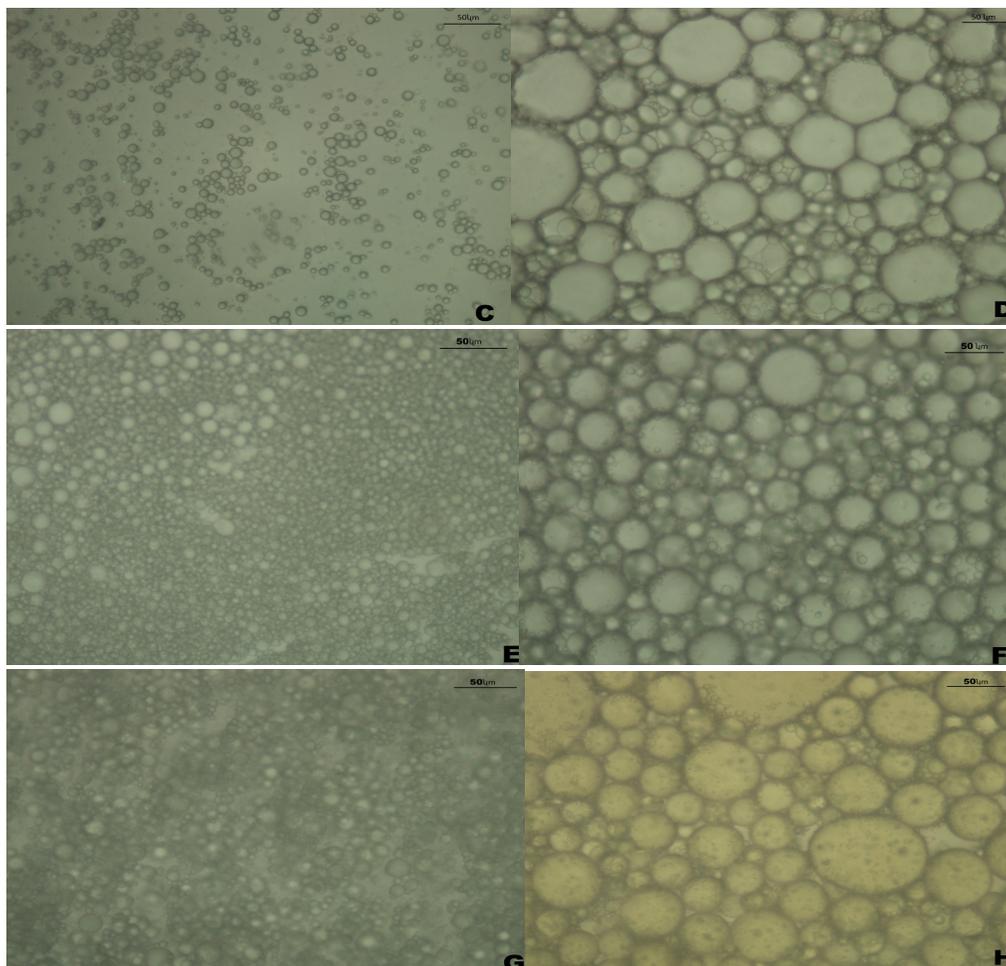


Figura 6. Microfotografias das emulsões **A** (0,02 g XA/0,5 g GO/ Dendê. Diâmetro \bar{x} = 13.89 μm) **B** (0,02 g CA/ 0,5 g GO/Dendê. Diâmetro \bar{x} = 58.18 μm) **C** (0,02 g PEC/ 0,2 g GO/Girassol. Diâmetro \bar{x} = 7.63 μm) **D** (0,02 g CMC/0,2g GO/Girassol. Diâmetro \bar{x} = 27.10 μm) **E** (0,02 g CMC/ 0,5 GO/Canola. Diâmetro \bar{x} = 4.32 μm) **F** (0,02 g PEC/ 0,2 GO/Canola. Diâmetro \bar{x} = 24.10 μm) **G** (0,02 g XA/ 0,5 g GO/Girassol. Diâmetro \bar{x} = 6.39 μm) **H** (0,02 CMC/ 0,2 g GO/Dendê. Diâmetro \bar{x} = 24.29 μm).

Ao analisarmos a estabilidade frente aos óleos utilizados podemos perceber que alguns óleos como o dendê não apresentaram boa AE, mas em contra partida, eles foram bem estáveis no período avaliado. Como foi observado na AE alguns polímeros como a PEC e o CMC (Figura 3) apresentaram baixa AE e altos valores de VFO nas menores concentrações de GO e maiores concentrações de PO (Tabela1). Este fato aconteceu principalmente pela frágil camada de proteína que envolvia a gotícula somada a pouca estabilização do polímero.

Tabela 1. Valores de VFO m diferentes concentrações de GO , PO e Óleo de dendê

Óleo de Dendê		Xantana	Carragena	CMC	Pectina
Gema de ovo g	Polímero g	VFO	VFO	VFO	VFO
0,02	0,02	0,1478	0,2084	0,0867	0,0325
0,02	0,04	0,1194	0,2047	0,1488	0,154
0,02	0,08	0,294	0,4334	0,2503	0,2638
0,2	0,02	0,1184	0,1305	0,0498	0,0498
0,2	0,04	0,1428	0,1857	0,2271	0,2396
0,2	0,08	0,2255	0,2912	0,296	0,3197
0,5	0,02	0,0771	0,1087	0,1512	0,0909
0,5	0,04	0,1262	0,2252	0,1766	0,1541
0,5	0,08	0,3528	0,2685	0,4464	0,3945

Nas emulsões onde havia uma concentração maior de polímero as gotículas de óleo eram maiores, porém a estabilidade foi um pouco maior, pois o polissacarídeo formou uma pequena camada protetora ao redor da gotícula impedindo a coalescência.

Tabela 2. Valores de VFO em diferentes concentrações de GO, PO e Óleo de girassol

Óleo de Girassol		Xantana	Carragena	CMC	Pectina
Gema de ovo g	Polímero g	VFO	VFO	VFO	VFO
0,02	0,02	0,1904	0,3802	0,1512	0,1435
0,02	0,04	0,3216	0,282	0,2105	0,1988
0,02	0,08	0,294	0,2966	0,4309	0,2857
0,2	0,02	0,1281	0,0644	0,8538	0,9062
0,2	0,04	0,2148	0,1871	0,9964	0,1398
0,2	0,08	0,3517	0,4145	0,3341	0,2941
0,5	0,02	0,16	0,1572	0,1693	0,1288
0,5	0,04	0,1683	0,2322	0,7807	0,096
0,5	0,08	0,2746	0,3205	0,3466	0,2045

Ao observarmos os valores de VFO das emulsões formadas com o óleo de girassol e canola podemos notar uma estabilidade quase unânime entre os polímeros, mas o CMC e a PE foram pouco eficientes em estabilizar a emulsão (Tabela 2 e 3) na concentração (0,2 g GO e 0,02 g PO; 0,2 g GO e 0,04 g PO; 0,5 g GO e 0,04 g PO).Outro fator importante é a significativa diferença dos valores de VFO obtidos com óleo de canola, pois estes foram os menores comparando com os outros óleos.

Tabela 3. Valores de VFO em diferentes concentrações de GO, PO e óleo de canola

Óleo de canola		Xantana	Carragena	CMC	Pectina
Gema de ovo g	Polímero g	VFO	VFO	VFO	VFO
0,02	0,02	0,0216	0,1051	0,1163	0,1855
0,02	0,04	0,1609	0,1442	0,2075	0,2352
0,02	0,08	0,2762	0,1037	0,3496	0,1445
0,2	0,02	0,1058	0,1071	0,1921	0,9828
0,2	0,04	0,169	0,217	0,8634	0,2564
0,2	0,08	0,2913	0,4351	0,3013	0,3284
0,5	0,02	0,0219	0,0339	0,126	0,0996
0,5	0,04	0,1449	0,2282	0,8729	0,2004
0,5	0,08	0,2838	0,2993	0,3007	0,3524

A fim de analisar estatisticamente os valores obtidos de VFO das amostras foi elaborado um modelo matemático polinomial

$$VFO = y_0 + a \cdot W + b \cdot P + d \cdot W^2 + e \cdot P^2 + g \cdot W \cdot P + h \cdot W^2 \cdot P + i \cdot P^2 \cdot W + j \cdot W^3 + k \cdot P^3 \quad (3)$$

Onde VFO é o volume de fração do óleo, W é a concentração gema de ovo, P é a concentração de polímero e as letras $a, b, d, e, g, h, i, j, k$ correspondem aos parâmetros calculados da equação.

Na Tabela 4 podemos observar os parâmetros obtidos através da equação 3. Ao analisarmos os valores obtidos podemos concluir que o modelo polinomial foi uma boa alternativa ajustando-se bem aos valores de VFO.

Tabela 4. Parâmetros obtidos da equação 3

Óleo-Polímero	Y_0	a	b	d	e	g	h	i	j	k	R^2
Canola-CA	0.132	-1.547	0.147	0.142	-4.255	81.696	117.875	-38.053	3.519	-544.552	0.99
Canola-CMC	-0.253	-0.216	12.989	1.759	60.081	128.648	55.876	1601.850	-5.025	-1662.290	0.96
Canola-PEC	0.439	5.015	11.724	2.261	-11.562	-74.838	186.681	-113.613	17.274	1552.250	0.88
Canola-GX	-0.088	0.508	4.987	0.297	41.175	-5.213	23.472	51.488	-2.196	-565.065	0.99
Dendê-CA	0.246	-0.779	-2.359	0.271	20.829	26.184	14.092	-358.092	0.728	506.263	0.99
Dendê-CMC	-0.059	0.343	0.343	5.810	36.576	-20.284	-2.466	259.928	-0.076	-795.537	0.96
Dendê-PEC	1.468	-6.697	31.656	0.579	103.136	197.024	130.111	-995.876	12.771	3715.030	0.88
Dendê-GX	0.174	0.058	-2.244	0.251	18.256	-4.769	30.559	-66.894	-1.009	374.848	0.99
Girassol-CA	0.531	-3.212	-3.212	0.366	-13.654	83.691	102.488	-218.757	7.844	602.801	0.99
Girassol-CMC	0.087	5.121	4.972	3.473	51.379	16.823	243.470	1471.410	21.268	-327.320	0.99
Girassol-PEC	0.071	-0.378	6.574	0.501	30.013	-11.087	-38.214	313.853	2.084	-987.335	0.87
Girassol-GX	0.412	5.074	12.618	1.901	-1.603	-93.918	189.031	-60.247	16.356	1937.650	0.99

Os dados da Tabela 4 também podem ser vistos nas Figuras 7-9 onde podemos observar os desvios relativos entre os valores observados e preditos de VFO.

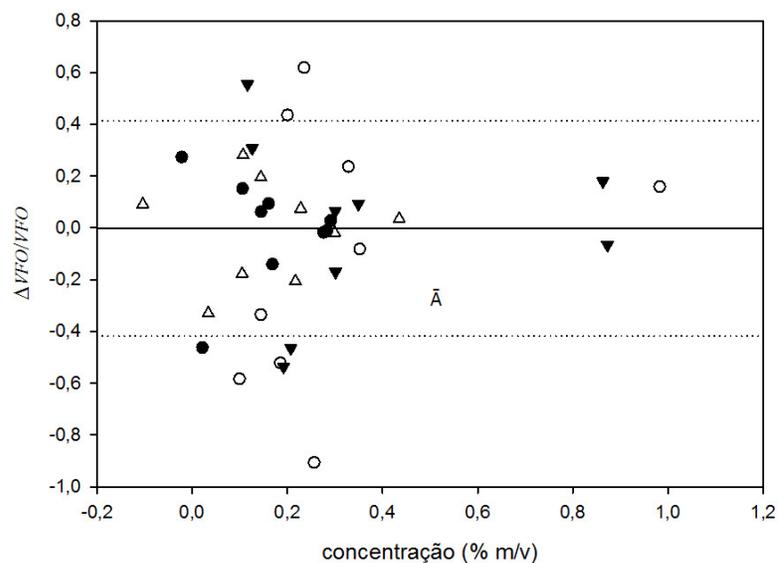


Figura 7. Fração de desvio $\Delta VFO = (VFO_{obs} - VFO_{pred})$ onde fração de óleo observada é VFO_{obs} e a fração predita é VFO_{pred} . Fração 7 mL de canola. o PEC, \blacktriangledown CMC, Δ CA e \bullet XA.

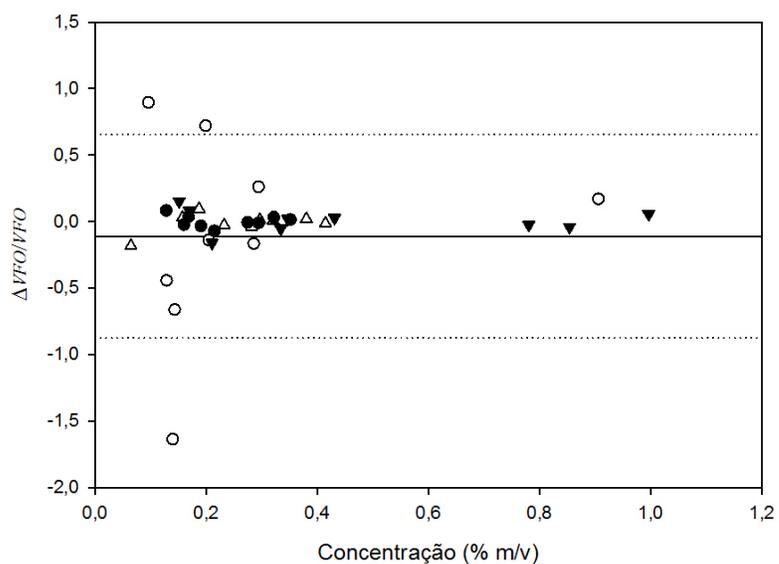


Figura 8. Fração de desvio $\Delta VFO = (VFO_{obs} - VFO_{pred})$ fração de óleo observada é VFO_{obs} e a fração predita é VFO_{pred} . Fração 7 mL de girassol. o PEC, \blacktriangledown CMC, Δ CA e \bullet XA.

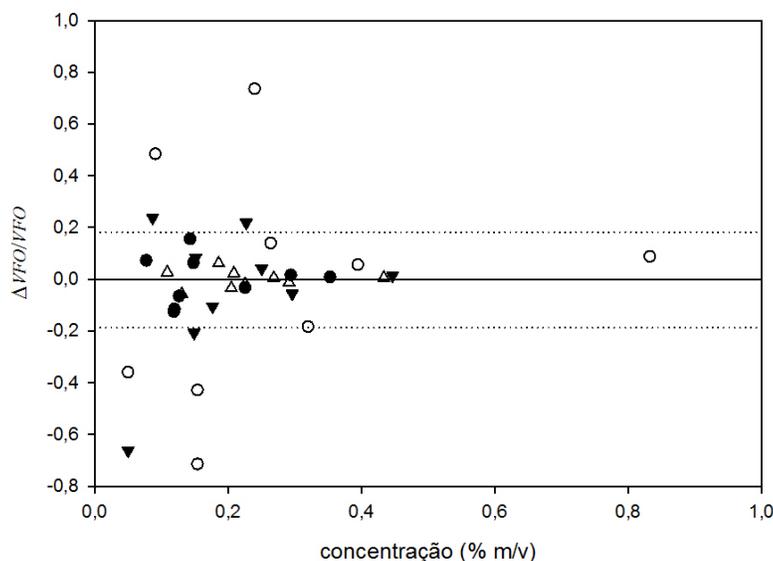


Figura 9. Fração de desvio $\Delta VFO = (VFO_{obs} - VFO_{pred})$ fração de óleo observada é VFO_{obs} e a fração predita é VFO_{pred} . Fração 7 mL de Dendê, o PEC, \blacktriangledown CMC, Δ CA e \bullet XA.

4 CONCLUSÃO

Este estudo foi caracterizado principalmente pela influência da concentração de GO e PO na formação das emulsões. Os óleos obtiveram uma participação importante na formação das emulsões principalmente por facilitar o processo de emulsificação e o responsável pela melhora na emulsão foi o teor de ácidos graxos. Quando comparamos o tamanho das gotículas com a estabilidade da emulsão podemos perceber que as pequenas gotículas proporcionaram sim maior estabilidade e o requisito mínimo para que elas fossem formadas era maior concentração de GO e menor concentração de PO. O modelo polinomial utilizado ajustou-se bem em relação aos dados de volume de fração de óleo nas condições estudadas.

Este estudo forneceu informações pertinentes sobre a potencialização das propriedades emulsificantes das lipoproteínas da gema de ovo quando associada a polissacarídeos. Esta associação pode fornecer ingredientes de alta funcionalidade para a indústria alimentícia que já utiliza a gema como emulsificante.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-MALAH, K. I., AZZAM, M. O. J., OMARI, R. M. Emulsifying properties of BSA in different vegetable oil emulsions using conductivity technique. **Food Hydrocolloids** v.14.p 485-490.2000

ALUKO, R. E., KEERATIURAI, M, MINE, Y. Competitive adsorption between egg yolk lipoproteins and whey proteins on oil-in-water interfaces. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v.10.p 385-393 .1998

ALUKO, R.E. MINE, Y. Characterization of oil-in-water emulsions stabilized by hen's egg yolk granule. **Food Hydrocolloids**. v.12. p. 203-210. 1998

- AMIRKHANIA, M., VOLDENB, S., ZHUA, K., GLOMMB, W. R., NYSTRÖMA, B. Adsorption of cellulose derivatives on flat gold surfaces and on spherical gold particles. **Journal of Colloid and Interface Science**. v. 328. p. 20-28.2008
- AZZAM, M.O.J., OMARIA, R.M. Stability of egg white-stabilized edible oil emulsions using conductivity technique. **Food Hydrocolloids**. v.16.p 105-110.2002
- BITTENCOURT, J. F. N., SADER, R., MORAES, R. M., Variação dos teores de proteína, óleo e ácidos oleico e linoleico durante a maturação de sementes de girassol. **Revista Brasileira de Sementes**. v. 12. p. 76-88. 1990
- BORA, P. S., ROCHAA, R.V. M., NARAINA, N., MOREIRA-MONTEIRO A. C., MOREIRA R. A. Characterization of principal nutritional components of Brazilian oil palm (*Elaeis guineensis*) fruits. **Bioresource Technology**. v. 87.p. 1-5.2003
- BURLEY, R. W., SLEIGH, R. W., F. SHENSTONE, S. Lipoproteins from the blood and egg yolk of the hen. The transfer of very-low-density lipoprotein to egg yolk and possible changes to apoprotein B. **European Journal of Biochemistry** v.142, p.171–176, 1984
- CASTELLANI, O., GUIBERT, D., AL-ASSAF, S., AXELOS, M., PHILLIPS, G.O, ANTON, M. Hydrocolloids with emulsifying capacity. Part 1-Emulsifying properties and interfacial characteristics of conventional (Acacia senegal (L.) Willd. var. senegal) and matured (Acacia (sen) SUPER GUM (TM)) Acacia senegal. **Food Hydrocolloids**.v 24.p.193–9. 2010.
- CHAROEN, R., JANGCHUD, A., JANGCHUD, K., HARNSILAWAT, T., NAIVIKUL, O., McCLEMENTS, D. J. Influence of Biopolymer Emulsifier Type on Formation and Stability of Rice Bran Oil-in-Water Emulsions: Whey Protein, Gum Arabic, and Modified Starch. **Journal of Food Science**. V.76, p.E165–E172.2011
- DICKINSON, E. Effect of hydrocolloids on emulsion stability. In Williams, P. A., Phillips, G. O. **Gums and stabilizer's for the food industry** .12 pp. 394–404 Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry. 2004
- DICKINSON, E. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. **Food Hydrocolloids** v.23.p. 1473–1482. 2009
- FARRAG A.F. Emulsifying and Foaming Properties of Whey Protein Concentrates in the Presence of Some Carbohydrates. **International Journal of Dairy Science**. v. 3 .p.20-28.2008
- JAFARI,S. M., HE,Y. BHANDARI, B. Optimization of nano-emulsions production by microfluidization. **European Food Research and Technology**. v. 225. N. 5-6.p.733-741. 2006
- JONES, O. G., McCLEMENTS, D. J.Functional Biopolymer Particles: Design, Fabrication, and Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. v. 9.p. 374–397.2010
- KATO, A., FUJISHIGE, T., MATSUDOMI, N. KOBAYASHI, K., Determination of emulsifying properties of some proteins by conductivity measurements. **Journal of Food Science**.50, pp. 56–62. 1985.

- LITTOZA, F., McCLEMENTS, D. J., Bio-mimetic approach to improving emulsion stability: Cross-linking adsorbed beet pectin layers using laccase. **Food Hydrocolloids**. v. 22. p. 1203-1211. 2008.
- LIZARRAGA, M. S., PAN, L. G., AÑÓN, M. C., SANTIAGO, L. G. Stability of concentrated emulsions measured by optical and rheological methods. Effect of processing conditions-I. Whey protein concentrate. **Food Hydrocolloids**, 22, 2008.
- MARTÍNEZ, I., PARTAL, P., MUÑOZ, J., GALLEGOS, C. Influence of thermal treatment on the flow of starch-based food emulsions. **European Food Research and Technology**. V.217, n.1, p.17-22.2003
- McCLEMENTS D.J.. **Food emulsions: principles, practices, and techniques**. Ed 2. Boca Raton, Fla.: CRC Press. p. 543. 2005
- McCLEMENTS, D. J. Protein-stabilized emulsions. **Current Opinion in Colloid and interface Science**, 9, 305-313. 2004.
- MIKKONENA, K. S., TENKANENA, M., COOKEC, P., XUD, C., RITAE, H., WILLFÖRD, S., HOLMBOMD, B, HICKSC, K. B. YADAV, M. P. Mannans as stabilizers of oil-in-water beverage emulsions. **LWT - Food Science and Technology**. v. 42. p. 849-855.2009.
- MINE, Y.; BERGOUGNOUX M. Adsorption properties of cholesterol reduced egg yolk low-density liprotein at oil-in- water interfaces. **J. Agric. Food Chem**. v. 46, p. 2152-2158, 1998.
- MORR. C. V. Emulsifiers: Milk Proteins. **American Chemical Society**.v.147. p 201–215.1981
- MORAES, M., BELL, J.M. Factor affecting the nutritional value of canola meal: a review. **Journal of Animal Science**, v.73, n.3, p.679-697.1993
- RANGSANSARID, J., FUKADA, K. Factors affecting the stability of O/W emulsion in BSA solution: stabilization by electrically neutral protein at high ionic strength. **Journal of Colloid and Interface Science**, 316, 779e786. 2007.
- SHEPHERD, R.; ROCKEY, J.; SUTHERLAND, I. W.;ROLLER, S. Novel bioemulsifiers from microorganisms for use in foods. **Journal of Biotechnology**, v.40, p.207-217, 1995.
- SUN. W., SUN, D., WEI. Y., LIU, S., ZHANG. S. Oil-in-water emulsions stabilized by hydrophobically modified hydroxyethyl cellulose: adsorption and thickening effect. **J Colloid Interface Sci**. v.1.p.228-36. 2007
- SURH, J., DECKER, E. A., McCLEMENTS, D. J. Properties and stability of oil-in-water emulsions stabilized by fish gelatin. **Food Hydrocolloids**, 20, 596-606. 2006.
- TCHOLAKOVA S., DENKOV, N.D, DANNER T. Role of surfactant type and concentration for the mean drop size during emulsification in turbulent flow. **Langmuir**.v.20. 7444-58. 2004
- TESCH, S., GERHARDS, C., SCHUBERT, H. Stabilization of emulsions by OSA starches. **Journal of Food Engineering**, v.54.p.167-174.2002.

WALSTRA P. Formation of emulsions. In: BECHER P. **Encyclopedia of Emulsion Technology**. New York: Marcel Dekker; p.26-41.1983.

WAN, P.J. **Introduction to fats and oils technology**, AOCS Press,Champaign, Illinois, pp. 108–135. 2000

WANG, B., LI, D., WANG, L. J., ÖZKAN, N. Effect of concentrated flaxseed protein on the stability and rheological properties of soybean oil-in-water emulsions. **Journal of Food Engineering**, v.96. p. 555-561. 2010.

WOOSTER, T. J., AUGUSTIN, M. A. β -Lactoglobulin–dextran Maillard conjugates: their effect on interfacial thickness and emulsion stability. **Journal of Colloid and Interface Science**, 303, 564–572. 2006.

WUA, Y., CUIA, W., ESKINB, N.A.M., GOFFC, H.D. An investigation of four commercial galactomannans on their emulsion and rheological properties. **Food Research International**.v.42.p. 1141-1146. 2009

CAPÍTULO IV

ESTUDO DA FORMAÇÃO DOS COACERVADOS COMPLEXOS OBTIDOS A PARTIR DA INTERAÇÃO ENTRE AS LIPOPROTEÍNAS DA GEMA DO OVO E OS POLISSACARÍDEOS.

RESUMO

A formação dos coacervados de proteína-polissacarídeo foi avaliada sob a influência do pH (3,0, 4,0, 6,5, 8,5 e 10,0), temperatura (10, 20, 30, 40 e 50 °C), e massa dos polissacarídeo (0,025 mg, 0,033 mg e 0,050 mg) . Pode-se notar que as soluções com os menores valores de turbidez encontraram-se na faixa do pH 3,0 - 4,0. As análises estatísticas dos dados de turbidez mostraram que para todos os polímeros o pH foi significativo na formação dos coacervados, embora para alguns além do pH a temperatura e a concentração de polímero também puderam influenciar significativamente ($p < 0,05$) no rendimento da formação do coacervado. A morfologia dos encapsulados formados pela coacervação esteve diretamente ligada ao tipo de polímero utilizado e seu grau de interação. Os coacervados desidratados apresentaram morfologias heterogêneas diferentes das suas estruturas originais o que foi mais uma evidência da sua formação.

Palavras chave: complexação, biopolímero, modelagem

1 INTRODUÇÃO

Coacervação é definida pela IUPAC (União Internacional de Química Pura e Aplicada) como a separação coloidal de sistemas em duas fases líquidas. A coacervação complexa é essencialmente impulsionada pela força atrativa de polímeros com cargas opostas (GANDER *et al* ,2006). A natureza destas interações pode levar a uma segregação ou comportamento de fase associativa, dependendo das características do biopolímero como a sua densidade de carga, o tipo e a distribuição dos seus grupos reativos, a proporção e concentração de biopolímero e em outra vertente, outro fator importante são as condições do solvente como, pH, temperatura e força iônica (CHOURPA *et al* 2006).

Os conjugados ou coacervados de proteína-polissacarídeo são atraentes para a indústria porque são produtos naturais obtidos através de ingredientes já comumente utilizados, portanto, possuem baixo custo, fácil aprovação da utilização do mesmo pelos órgãos reguladores de alimentos (CHAMPAGNE e FUSTIER, 2007) além da vantagem bem significativa de melhorar as propriedades funcionais das proteínas, tais como sua solubilidade, propriedade emulsificante e/ ou gelificante, viscosidade e atividade antioxidante e antimicrobiana (OLIVER *et al* 2006) o que conseqüentemente modula as propriedades físico-químicas e sensoriais dos alimentos, tais como a sua aparência, textura, estabilidade ou sabor (SALA *et al* 2008).

Outra inovação advinda dos coacervados e a encapsulação ou microencapsulação de substâncias bioativas que pode ocorrer no processo de coacervação. Esta encapsulação tem como principal finalidade encapsular, proteger e entregar os componentes bioativos ou funcionais, tais como minerais, vitaminas, peptídeos, proteínas, enzimas, drogas, lipídios e fibras alimentares de forma segura e funcional, evitando assim a degradação dos nutracêuticos por oxidação e reações químicas e enzimáticas indesejáveis durante o processo de produção e armazenagem do alimento (CHEN, *et al* 2006; UBBINK e KRUGER, 2006).

A pectina é um polissacarídeo associado com a parede celular e intercelular de plantas e frutos (SCHOLS e VORAGEN, 2002; VORAGEN *et al*, 1995). É um polissacarídeo aniônico comercial com unidades de ácido D-galacturônico obtidos a partir da esterificação de pectina de alto grau de metoxilação. O grau de esterificação (relação entre os grupos de ácido galacturônico esterificados e o total de grupos de ácido galacturônico) divide a pectina

comercial em éster de alta metoxilação (EAM) e éster baixa metoxilação (EBM) (ROBIN, 2002). Sua capacidade de complexação e encapsulação quando associada a proteínas é amplamente conhecida e discutida, mas podemos citar aqui como as principais características que afetam a formação do biopolímero sua principal estrutura ser em formato de bobina altamente ramificada, seu $pK_a = 3,6$ e seu principal monômero ser o glucoronato (ZIMET e LIVNEY, 2009; AI-HAKKAK e AI-HAKKAK, 2010). A carboximetilcelulose (CMC) também é obtida das plantas, só que está é resulta do tratamento da celulose via reação de Williamson que resulta na substituição parcial de grupos hidroxilas da glicose pelo grupo $-CH_2-COOH$, o que atribui à celulose modificada propriedades funcionais interessantes como alta solubilidade e viscosidade em água fria ou quente, (FUJIMOTO *et al*, 2002). As principais características que este polissacarídeo possui para a formação do biopolímero é a sua principal estrutura ter uma forma linear, o seu $pK_a = 2$ e seu principal monômero é a glicose metilada (KITA *et al*, 2007; WALTER, 1998).

A goma xantana (GX) é um heteropolissacarídeo produzido a partir do microrganismo (*Xanthomonas campestris*) através de uma fermentação extracelular aeróbia (BRESOLIN *et al*, 1998). A estrutura química da GX consiste em uma espinha dorsal de celulose com uma cadeia lateral composta por duas unidades de manose separadas por um resíduo de ácido glucurônico (SCHORSCH *et al* 1997). As principais características que este polissacarídeo possui para a formação do biopolímero é a sua principal estrutura ter uma forma Linear / helicoidal, seu pK_a estar entorno de 2,8 e seu principal monômero ser a β -D-glicose (STEPHEN *et al*, 2006; YE, 2008; NOLTE *et al*, 1995).

A carragena é um polímero obtido de diversos gêneros e espécies de algas marinhas da classe *Rodophyta* (de RUITER e RUDOLPH, 1997). Algas de diferentes espécies e fontes produzem carragenas de diferentes tipos: kappa (κ), iota (ι) e lambda (λ). Algumas espécies de algas podem produzir carragenas de composição mista como kappa/iota, kappa/lambda ou iota/lambda (SHCHIPUNOV, 2003;). A carragena localiza-se na parede das células e na matriz intercelular do tecido das algas e tem como principais características para a formação dos biopolímeros uma estrutura Linear / helicoidal, pK_a por volta de 4,3 e seus principais monômeros são galactonas sulfatadas (STEPHEN *et al*, 2006; TIANA *et al*, 2006)

A maioria dos estudos sobre coacervação complexa têm investigado a complexação entre proteínas do leite (GLISENAN *et al* 2003; MEEREN *et al*, 2004), caseína (de KRUIF e TUINIER, 2001; TURGEON *et al*, 2003; MU *et al*, 2006), β -Lactoglobulina (WOOSTER e AUGUSTIN, 2007; JIMENEZ-CASTAÑO, *et al*, 2007; MIRALLES *et al*, 2007) ou soro de leite (PEREZ *et al*, 2009; PICONEA e CUNHA, 2010; WEINBRECK, *et al*, 2004;) com polissacarídeos aniônicos.

O presente estudo teve por objetivo elucidar a influência do pH, temperatura e concentração de polissacarídeo na formação dos coacervados complexos a partir das lipoproteínas da gema do ovo.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

As amostras de gema de ovo desidratada por Spray Dry (continham 35,5% de proteínas) (Referência: EO-625). Os polissacarídeos Goma Xantana (G1253),

Carboximetilcelulose sódio (C4888-500), Pectina de cascas de frutas cítricas de baixo grau de metoxilação (P9135) e κ -Carragena (C1013) além da gema do ovo foram obtidos da Sigma-Aldrich (St. Luis, USA). Neste experimento foram utilizados reagentes de grau analítico e água deionizada.

2.2 Metodologia

2.3 Preparação da solução aquosa dos polissacarídeos

Os polissacarídeos goma xantana (GX), carragena (CA), Carboximetilcelulose (CMC) e pectina (PEC) foram solubilizados em água destilada em uma concentração de 1% m/m, usando uma balança analítica (Tecnal, mod.B-TEC-210^a, Brasil) com a incerteza de $\pm 0,0001$ mg. Após este procedimento, essa solução foi agitada por 3 horas com um agitador magnético NOVATECNICA Modelo NT101, Brasil).

2.4 Preparação dos coacervados

A metodologia utilizada para elaboração das amostras foi adaptada de acordo com os métodos propostos na literatura (BASTOS *et al*, 2010). Foi elaborada uma mistura a partir de 200 mg de gema de ovo desidratado em 30 mL de uma solução tampão no pH pré-definidos (3,0, 4,0, 6,5, 8,5 e 10,0). Os polissacarídeos foram adicionados ao sistema em massas pré-definidas que foram denominadas massa 1 (M1= 0,025 mg), massa 2 (M2 = 0,033 mg) e massa 3 (M3 = 0,050 mg). As misturas foram agitadas por 2 horas em temperatura pré-estabelecida de (10, 20, 30, 40 e 50 °C), utilizando agitador orbital (TECNAL, TE 420, Brasil) e em seguida foram centrifugadas a 5°C (CIENITEC,TC-6000, Brasil) à 6000 rpm por 30 minutos.

Os ensaios foram realizados com 2 repetições e após a centrifugação uma alíquota de 1 mL do sobrenadante foi retirada para determinação da transmitância no espectrofotômetro (Biochrom mod. LIBRA S12, Inglaterra) com comprimento de onda de 540 nm. O precipitado foi acondicionado sob refrigeração por 24 horas com objetivo de garantir uma maior estabilidade do complexo formado para posterior análise da complexação. A turbidez foi obtida através da metodologia apresentada por Chollakup *et al* (2010) onde turbidez (T) é definida por

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

sendo I_0 = Intensidade da incidência de luz e I = é a intensidade de luz que passou pelo volume da amostra.

2.5 Determinação da formação dos complexos

Para determinar a formação dos complexados foi adaptada uma metodologia proposta por Camilo (2007), onde após a centrifugação as amostras contendo os precipitados foram mantidas sob-refrigeração por 24 h para assegurar a formação da complexação. A fase líquida superior foi removida com o auxílio de pipeta, e o precipitado (coacervado) foi ressuspenso em 3,0 mL de água deionizada e logo em seguida foi retirada uma alíquota de 1 mL para ser observada no microscópio óptico (NIKON LV 150,USA) em ampliação de 20x com câmera acoplada (High-definition DS-Fi1) e Software (NSI-Elements D 3.0).

Para a obtenção das imagens no Microscópio Eletrônico de Varredura (ZEISS EVO MA 10 com filamento de tungstênio) as amostras foram acondicionadas em placas de petri e mantidas em estufa Marconi (MA-033/1, BR) a 50°C até peso constante. O microscópio foi operado no modo de elétrons secundários com tensão de aceleração de 20 kV. Os ensaios foram realizados em repetição.

Os dados experimentais foram analisados usando o pacote estatístico SAS® (1998).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Relação do pH e da temperatura na turbidez

Medições turbidimétricas podem ser empregadas para acompanhar a coacervação complexa. A turbidez está relacionada com a formação de uma fase solúvel que pode precipitar ou permanecer estável por um tempo curto ou longo. Isto implica que as soluções com maior turbidez tem uma maior quantidade de macromoléculas dispersas no meio que as soluções translúcidas, portanto, as soluções translúcidas são o principal indicativo da formação de complexos de coacervação (TURGEON *et al*, 2007). Os dados de turbidez das diferentes proporções de biopolímeros, pH e temperatura são mostrados nas tabelas 1- 4.

Tabela 1: Turbidez (cm^{-1}) em função da massa de gema de ovo, carragena, temperatura e pH.

Carragena (g)	Temperatura (°C)	pH				
		3	4	6.5	8.5	10
0,025	10	0,389	0,564	2,703	5,250	7,428
0,025	20	0,389	0,758	1,925	3,910	8,013
0,025	30	0,389	0,272	2,742	4,881	9,67
0,025	40	0,583	0,467	3,092	6,574	10,171
0,025	50	0,875	1,108	3,286	7,156	9,986
0,033	10	0,746	0,923	2,307	2,749	7,113
0,033	20	0,638	1,349	2,662	5,268	9,047
0,033	30	0,62	0,638	2,323	6,919	8,05
0,033	40	1,011	0,426	2,093	8,692	9,065
0,033	50	0,923	0,781	2,662	8,107	12,222
0,05	10	0,355	0,426	2,075	4,879	6,263
0,05	20	0,283	0,746	2,252	6,988	8,658
0,05	30	0,852	0,622	2,413	7,237	8,764
0,05	40	0,656	0,426	1,987	8,798	7,345
0,05	50	0,992	0,355	2,662	9,118	7,98

Tabela 2: Turbidez (cm^{-1}) em função da massa de gema de ovo, goma xantana, temperatura e pH

Xantana (g)	Temperatura (°C)	pH				
		3	4	6.5	8.5	10
0,025	10	4,304	0,741	2,544	13,825	9,033
0,025	20	7,295	0,997	2,756	10,304	9,754
0,025	30	13,910	0,721	2,841	11,322	9,648
0,025	40	18,616	0,741	3,521	11,366	10,348
0,025	50	14,693	1,082	2,650	11,513	9,710
0,033	10	3,944	0,976	3,074	9,860	9,689
0,033	20	8,12	2,015	3,201	10,072	9,945
0,033	30	8,354	0,997	3,138	11,577	11,025
0,033	40	13,104	0,912	3,859	12,148	10,940
0,033	50	16,813	0,953	3,562	11,280	11,110
0,05	10	2,650	1,250	3,265	10,792	10,410
0,05	20	1,485	1,335	3,307	10,857	10,686
0,05	30	10,177	1,421	3,244	9,054	9,901
0,05	40	16,687	1,294	4,135	10,242	10,963
0,05	50	18,467	1,315	3,901	11,110	12,022

Tabela 3: Turbidez (cm^{-1}) em função da massa de gema de ovo, CMC, temperatura e pH

CMC (g)	Temperatura (°C)	pH				
		3	4	6.5	8.5	10
0,025	10	1,536	1,771	2,100	5,153	8,421
0,025	20	1,575	1,011	1,653	6,689	7,313
0,025	30	1,147	1,246	1,789	9,567	10,366
0,025	40	0,896	1,246	2,335	10,910	10,131
0,025	50	0,896	1,186	2,471	12,485	12,056
0,033	10	2,41	1,271	1,865	7,612	6,615
0,033	20	1,547	1,271	1,780	8,098	8,545
0,033	30	1,844	2,247	2,289	8,566	9,095
0,033	40	1,697	1,356	2,650	10,092	10,771
0,033	50	1,271	1,718	2,247	10,792	12,595
0,05	10	2,542	1,536	1,478	0,688	4,667
0,05	20	1,886	1,108	1,867	7,585	6,477
0,05	30	1,596	1,421	1,946	8,342	6,553
0,05	40	1,575	1,964	2,450	5,068	10,055
0,05	50	1,497	1,771	2,042	11,513	8,517

Tabela 4: Turbidez (cm^{-1}) em função da massa de gema de ovo, pectina, temperatura e pH

Pectina (g)	Temperatura (°C)	pH				
		3	4	6.5	8.5	10
0,025	10	3,859	5,851	5,236	9,266	11,937
0,025	20	5,386	6,042	5,851	10,072	12,848
0,025	30	4,324	5,577	6,615	11,874	14,200
0,025	40	3,521	5,895	5,874	15,326	15,837
0,025	50	2,673	5,448	5,915	15,669	16,411
0,033	10	1,536	1,771	2,100	5,153	8,421
0,033	20	1,761	1,983	2,217	6,689	8,752
0,033	30	2,878	3,307	3,092	8,713	9,549
0,033	40	1,458	1,808	2,996	10,521	10,560
0,033	50	0,992	1,575	3,014	10,891	11,416
0,05	10	2,314	2,975	3,657	5,153	6,535
0,05	20	3,053	3,132	4,142	6,263	8,927
0,05	30	2,082	2,625	2,800	7,389	9,374
0,05	40	1,867	1,983	2,839	10,074	10,463
0,05	50	0,953	3,735	6,553	13,944	11,105

Os sistemas contendo CMC-gema, CA-gema, PEC-gema e GX-gema apresentaram resultados bem parecidos sobre a influência do pH e da temperatura. No geral os menores valores de turbidez encontraram-se na faixa do pH 3 e pH 4 (Tabelas 1-4) em todas as três concentrações. Isso pode ser explicado da seguinte forma. Primeiro, o pI das proteínas da gema gira em torno de 4,5 e 4,7 (TUDOSE, *et al*,2009; DAMODARAN, 1996) e como estes pHs estavam abaixo do seu pI houve uma protonação positiva das cargas na sua superfície promovendo assim uma menor repulsão eletrostática. Segundo, quando os valores de pH estão mais distantes dos valores de pKa do polissacarídeo este se encontra com a densidade de carga negativa maior o que propicia uma maior interação com a proteína e consequentemente uma maior formação dos complexos insolúveis (coacervados e precipitados) (Figura 1 A, C, E e G) (TURGEON *et al*, 2007; KRUIF e TUINIER, 2001; TURGEON *et al*, 2003).

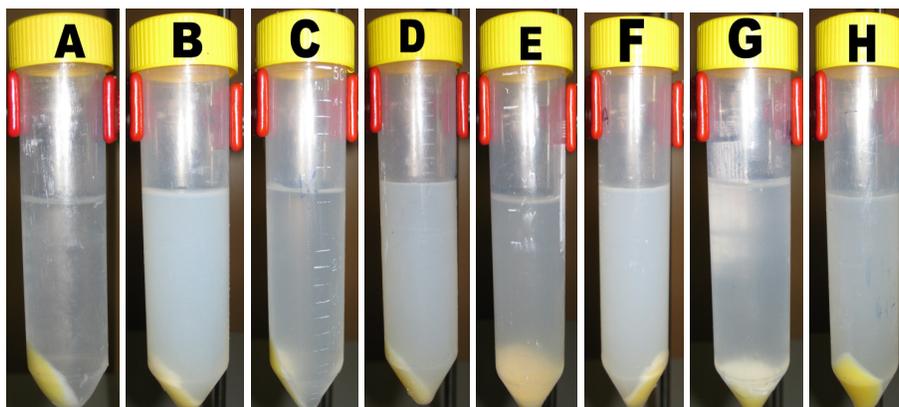


Figura 1 : Amostras contendo os diversos polímeros e seus aspectos de Turbidez. A: (CA na M1, pH4,0 ; 30°C), B: (CA na M1, pH10,0 ; 50°C), C: (CMC na M1, pH4,0 ; 30°C), D (CMC na M1, pH10,0 ; 50°C), E (PEC na M1, pH4,0 ; 30°C), F (PEC na M1, pH10,0 ; 50°C), G (GX na M1, pH4,0 ; 30°C), H (GX na M1, pH10 ; 50°C).

Quando comparamos os menores valores de turbidez entre os polímeros o que se pode observar é que dentre os polissacarídeos estudados o que apresentou os menores valores de turbidez foi a carragena no pH 4,0 nas concentrações C1 e C3 (Tabela 1). Acredita-se que isto aconteceu porque seu valor de $pka = 2$ promoveu a maior carga negativa entre os polissacarídeos estudados e, portanto, menor repulsão eletrostática entre a proteína e os seus grupos sulfato ($-OSO_3$) (WALTER, 1998). Continuando a comparação a GX, CMC e a PEC apresentaram valores subsequentes mais baixos e isso já era esperado pois seus valores de pKa (GX=2,9, CMC=4,3 e PEC=3,5) estão diretamente mais próximos do pH 4 e isso proporcionou cargas eletrostáticas negativas um pouco menores quando comparada à CA culminando em uma menor interação eletrostática entre os biopolímeros (CHANASATTRU *et al*, 2009; WALTER, 1998).

Pôde também ser observado que conforme era aumentada a temperatura ou/ pH a turbidez era ligeiramente aumentada em pH 6,5 e temperatura de 30°C, acentuadamente aumentada em pH 8,5 e temperatura de 40°C e potencialmente aumentada em pH 10 e temperatura de 50 °C (Figura1-B, Figura1-D, Figura1-F e Figura1-G) em todos os polissacarídeos avaliados. Este comportamento ocorreu por dois motivos principais. Primeiro, conforme o pH se distanciava do pI das proteínas da gema e do pka dos polímeros os grupos amino das proteínas e os grupos carboxila ou sulfato tornavam-se mais carregados eletronegativamente e conseqüentemente houve um aumento da repulsão eletrostática negativa (DAMODARAN, 1996; GAO *et al*, 1997). Com o aumento da temperatura, as forças hidrofóbicas são reforçadas pelo enfraquecimento das ligações de hidrogênio e seu efeito principal é o aumento da entropia, surge então, o segundo motivo do aumento da turbidez (BUREY *et al*, 2008).

Esta repulsão diminui a formação dos coacervados e não obstante a proteção térmica que este exercia sobre a proteína promovendo a desnaturação que tem como resultado o aumento da agregação entre as proteínas e aumento na turbidez. Nosso trabalho não expôs a gema a temperaturas muito altas, mas, pode-se presumir através dos dados que a partir dos 40 °C começou-se a desnaturar as proteínas que não estavam complexadas. Este fenômeno já foi observado em complexos formados entre CA- β -Lg, GX- β -Lg (IBANOGLU, 2005; JONES *et al*, 2009) e PEC- β -Lg (IBANOGLU, 2005; JONES *et al*, 2009).

3.2 Modelagem dos dados de turbidez na formação dos coacervados

A fim de demonstrar os parâmetros que mais influenciaram a formação dos complexados foi desenvolvido um modelo matemático polinomial:

$$T = y_0 + a * x_1 + b * x_2 + c * x_3 + d * x_1^2 + e * x_2^2 + f * x_3^2 + g * x_1 * x_3 + h * x_1 * x_3 + i * x_2 * x_3 \quad (2)$$

Onde T é a turbidez (cm^{-1}), x_1 corresponde ao pH, x_2 a Temperatura e x_3 a Concentração de polímero e as letras a, b, c, d, e, f, g, h, i correspondem aos parâmetros calculados da equação

O modelo geral quadrática, equação 2, foi analisado e os parâmetros não significativos foram eliminados com base no teste t (Student) do programa SAS® com $p > 0,05$. A Tabela 5 mostra os modelos preditivos com base no modelo da equação 2.

Tabela 5: Modelo ajustado para apresentação dos dados por meio de dispersão

Polímero	Modelo	R2	Equação
CMC	$21.68287 - 11.58353 * X_1 - 0.09453 * X_2 + 88.91929 * X_3 + 1.89932 * X_1^2 + 0.02332 * X_1 * X_2 - 19.4165 * X_1 * X_3 - 0.08704 * X_1^3$	0,889	3
PEC	$40.34685 - 5.95023 * X_1 - 0.10485 * X_2 - 1391.15832 * X_3 + 0.97602 * X_1^2 + 18066 * X_3^2 + 0.02502 * X_1 * X_3 - 13.72939 * X_1^3$	0,913	4
GX	$90.30598 - 48.19667 * X_1 + 0.28806 * X_2 + 7.63484 * X_1^2 - 0.03207 * X_1 * X_2 - 0.36058 * X_1^3$	0,831	5
CA	$8.86377 - 5.05698 * X_1 + 0.82181 * X_1^2 + 0.00663 * X_1 * X_2 - 0.03375 * X_1^3$	0,934	6

Com base nos dados da Tabela 5 podemos citar que cada polímero apresentou um conjunto de parâmetros estatísticos significativos frente aos fatores que influenciavam a formação do complexado. Para a CA os parâmetros que mais influenciaram significativamente foram o pH e a relação deste com a temperatura. Quando observamos a GX podemos perceber que os parâmetros mais significativos foram o pH a temperatura e a relação entre pH e temperatura. Finalmente ao analisarmos a CMC e a PEC podemos observar que ambos PEC e CMC demonstraram que todos os parâmetros isolados (pH, temperatura e massa de PO) foram significativos, mas ao relacionarmos os parâmetros podemos perceber que para a PEC apenas a relação entre pH e concentração foi mais significativa e para a CMC além da relação entre pH e concentração também foi bastante significativa a relação entre pH e temperatura.

Nas Figuras 2-5 podemos observar os desvios relativos entre os valores observados e previstos de T . A relação entre os valores experimentais e preditos de Turbidez foi satisfatória para todos os sistemas estudados. Em todos os casos, a determinação (R^2) foi superior ao coeficiente de 0,83.

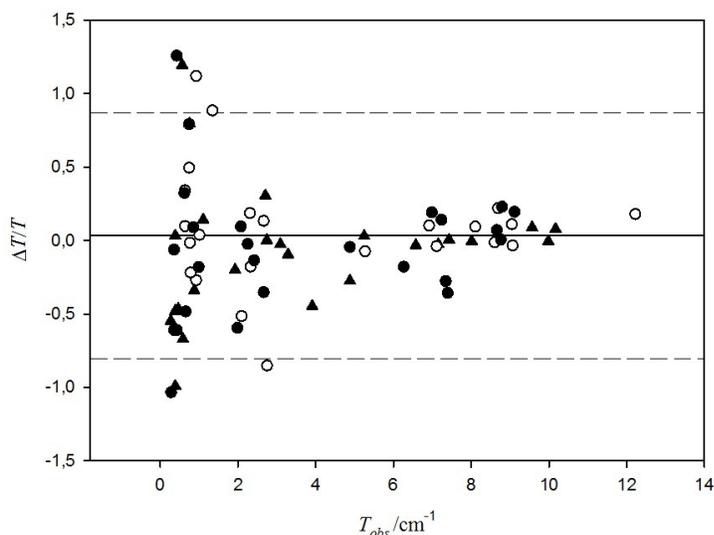


Figura 2: Fração de desvio da CA $\Delta T = (T_{obs} - T_{pred})$ onde a Turbidez observada é T_{obs} e a Turbidez predita é T_{pred} . A T_{pred} foi obtida através da equação (6). ▲ (0,025 g CA), ○ (0,033 g CA) e ● (0,05 g CA).

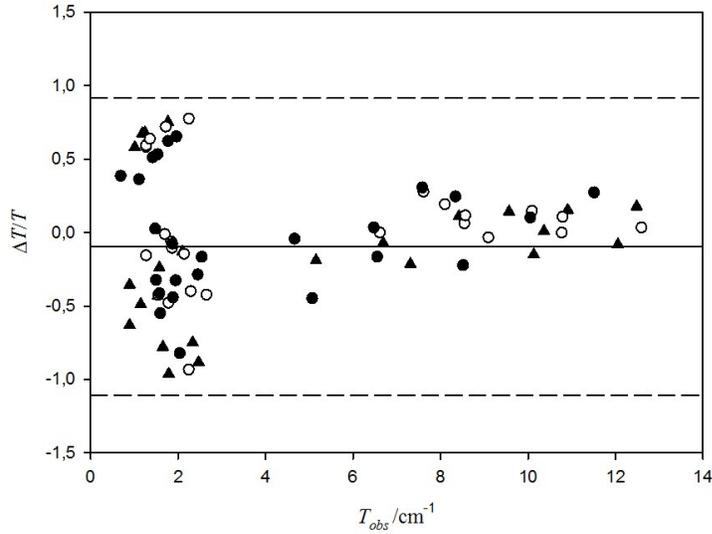


Figura 3: Fração de desvio da CMC $\Delta T = (T_{obs} - T_{pred})$ onde a Turbidez observada é T_{obs} e a Turbidez predita é T_{pred} . A T_{pred} foi obtida através da equação (3). ▲ (0,025 g CMC), ○ (0,033 g CMC) e ● (0,05 g CMC).

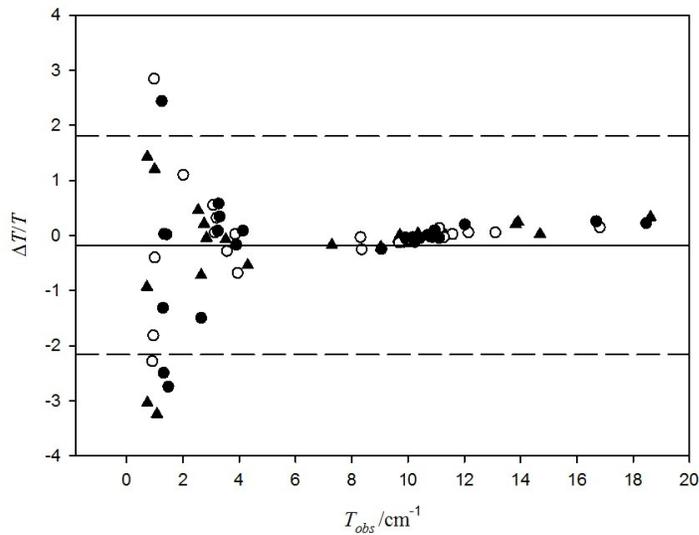


Figura 4: Fração de desvio da GX $\Delta T = (T_{obs} - T_{pred})$ onde a Turbidez observada é T_{obs} e a Turbidez predita é T_{pred} . A T_{pred} foi obtida através da equação (5). ▲ (0,025 g GX), ○ (0,033 g GX) e ● (0,05 g GX).

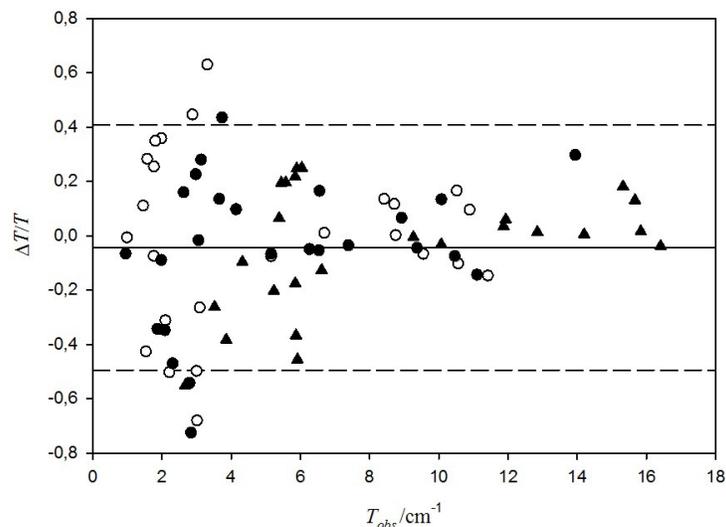


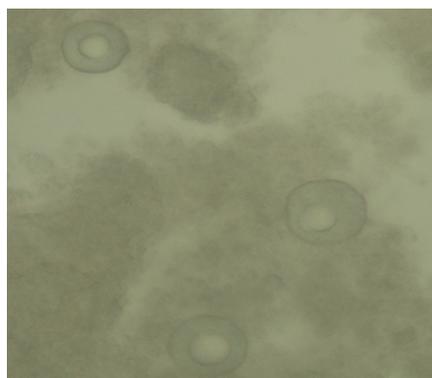
Figura 5: Fração de desvio da PEC $\Delta T = (T_{obs} - T_{pred})$ onde a Turbidez observada é T_{obs} e a Turbidez predita é T_{pred} . A T_{pred} foi obtida através da equação (4). ▲ (0,025 g PEC), ○ (0,033 g PEC) e ● (0,05 g PEC).

3.3 Características morfológicas dos coacervados

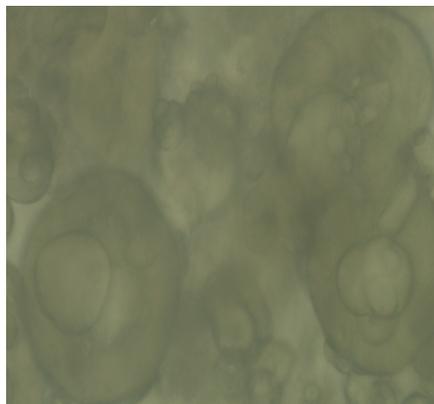
Quando observamos morfológicamente o coacervado formado no pH 4,0 podemos constatar que durante a interação eletrostática diferentes formas e estruturas internas foram formadas em função da natureza dos polímeros utilizados. Nas amostras contendo CA, CMC e GX (Figura 6-A, 6-C e 6-G,) pode-se observar que as capsulas formadas possuem uma dispersão-heterogênia com vários núcleos dispersos na fase polimérica (AUGUSTIN e HEMAR, 2009). O mecanismo responsável por esta forma de estrutura interna ainda não está bem elucidado, mas vale ressaltar que foram estas estruturas que possibilitaram os menores valores de turbidez das amostras aqui estudadas.



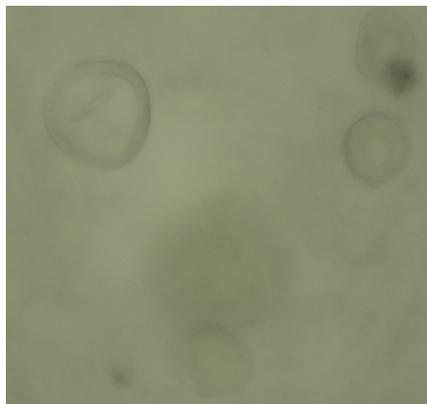
6-A



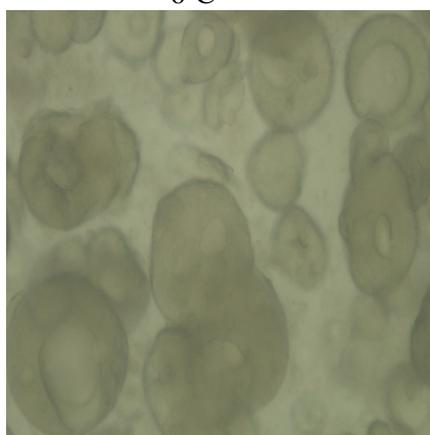
6-B



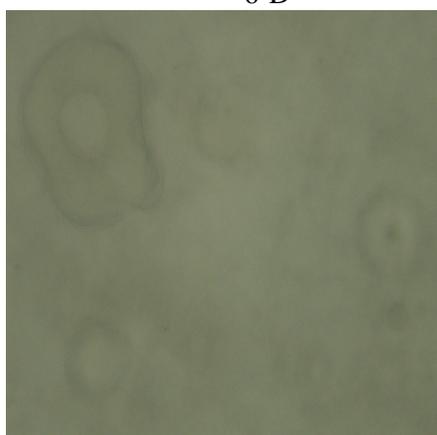
6-C



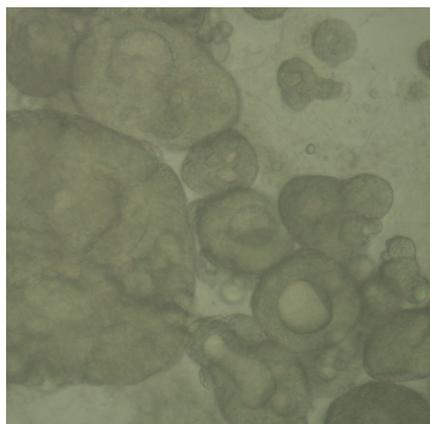
6-D



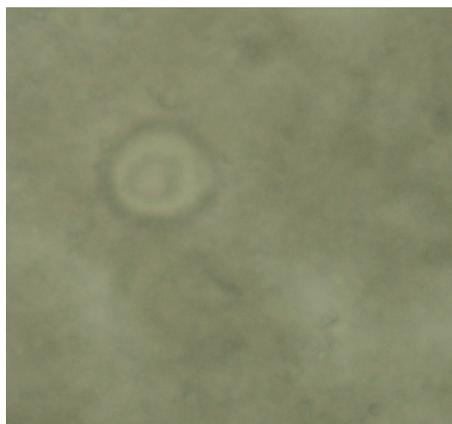
6-E



6-F



6-G

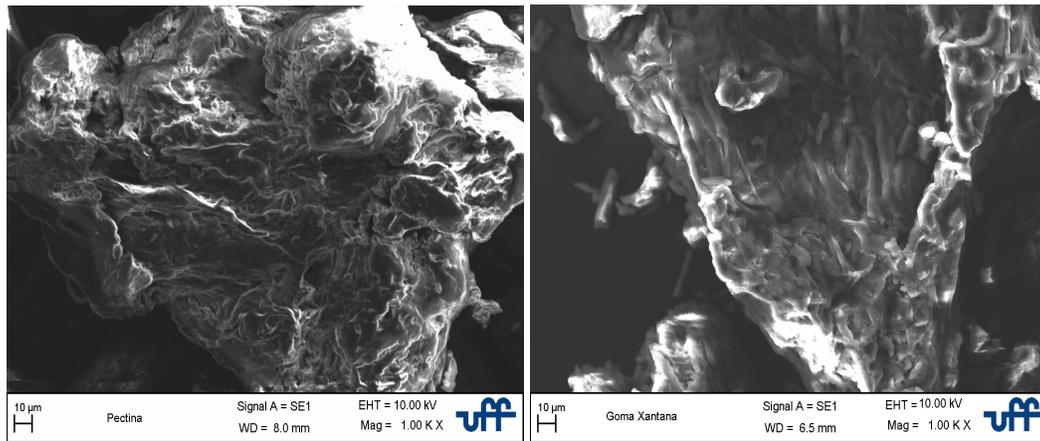


6-H

Figura 6 - Imagens de microscopia ótica das amostras contendo os diversos polímeros e seus respectivos coacervados. Figura 6-A: (CA na M1, pH4 ,30°C), Figura 6-B: (CA na M1, pH10 ,50°C), Figura 6-C: (CMC na M1, pH4 ,30°C), Figura 2-D (CMC na M1, pH10 ,50°C), Figura 6-E (PEC na M1, pH4 ,30°C), Figura 6-F (PEC na M1, pH10 ,50°C), Figura 6-G (GX na M1, pH3 ,30°C), Figura 6-H (GX na M1, pH10 ,50°C).

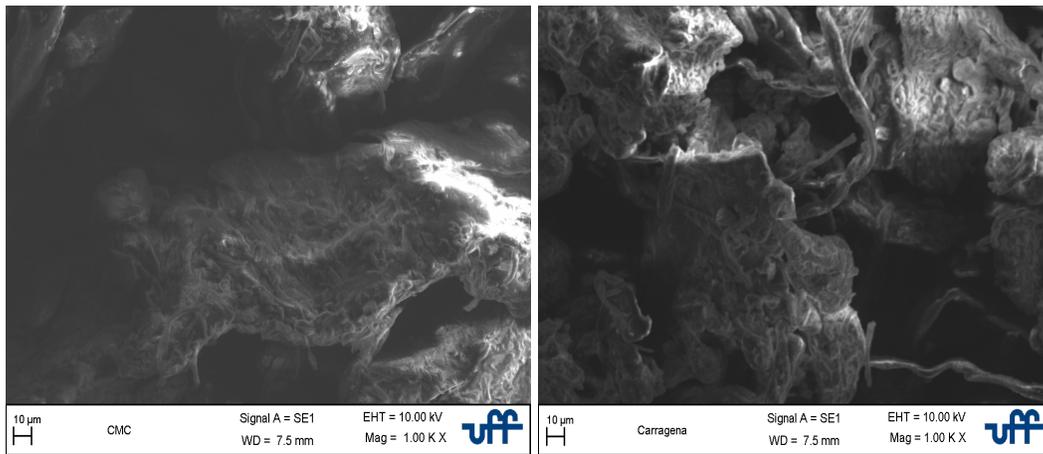
Quando observamos a PEC (Figura 6-E) vimos outra estrutura que é denominada capsula de núcleo simples onde encontramos apenas um núcleo na matriz polimérica (AUGUSTIN e HEMAR, 2009). Esta mesma estrutura foi observada em todas os encapsulados formados no pH10 (Figura 6-B, D, Fe H) , e talvez seja este o motivo pelo qual a pectina não apresentou o melhor rendimento de formação de coacervado complexo. Esta estrutura pode estar ligada a baixa interação eletrostática entre o polímero e a gema do ovo.

Na Figura 7 são apresentadas as estruturas dos polissacarídeos e da gema de ovo utilizados. Estas imagens foram obtidas dos materiais desidratados assim como são comercializados e encontrados em suas respectivas embalagens.



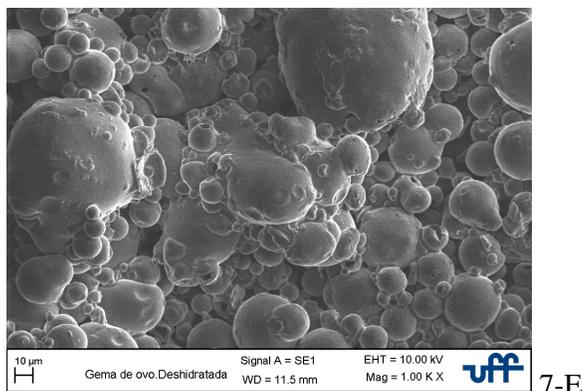
7-A

7-B



7-C

7-D



7-E

Figura 7: Imagens do MEV. Proteína e os diversos polímeros desidratados com ampliação de 1000x: PEC (Figura 7-A),GX (Figura 7-B), CMC (Figura 7-C), CA (Figura 7-D) e gema do ovo (Figura 7-E)

Podemos perceber que os polissacarídeos apresentaram estruturas totalmente distintas, haja vista, sua matéria prima que podem ser subproduto de microrganismo (GX/ Figura 7-B) ou extratos retirados de vegetais (PEC/ Figura 7-A e CMC Figura 7-C) e algas (CA/ Figura 7-D). Porém quando observamos a gema de ovo desidratada constatamos que sua estrutura globular é bem característica. Esta estrutura é formada principalmente pelas lipoproteínas (ANTON e GANDEMER, 1999)

Para melhor compreensão do novo biopolímero formado os precipitados obtidos no pH 4 foram separados e desidratados com o objetivo de demonstrar as novas estruturas formadas Figura 8.

A partir das imagens da figura 8 podemos observar que os complexos coacervados proporcionaram estruturas heterogêneas (Figura 8-A a D) totalmente diferentes das originais reafirmando mais uma vez que houve a interação entre os polímeros e as lipoproteínas da gema do ovo.

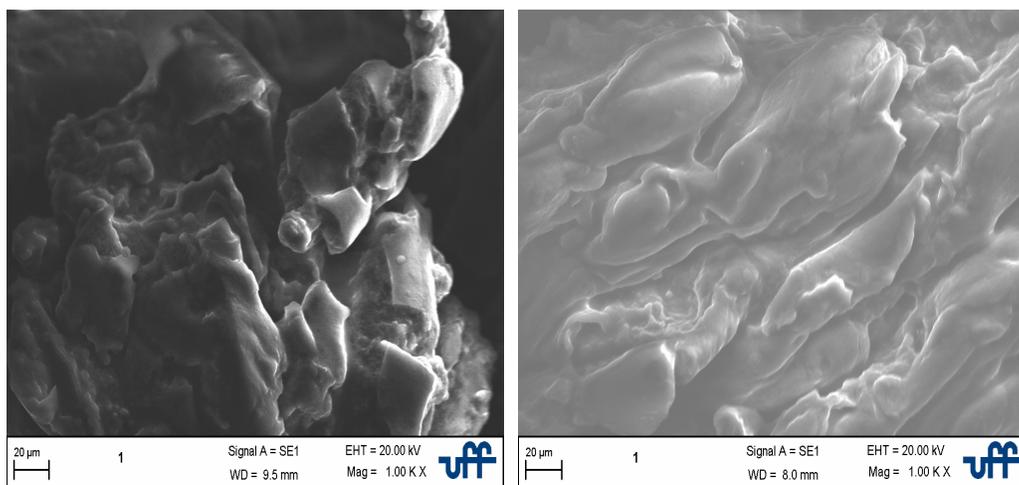


Figura 8-A

Figura 8-B

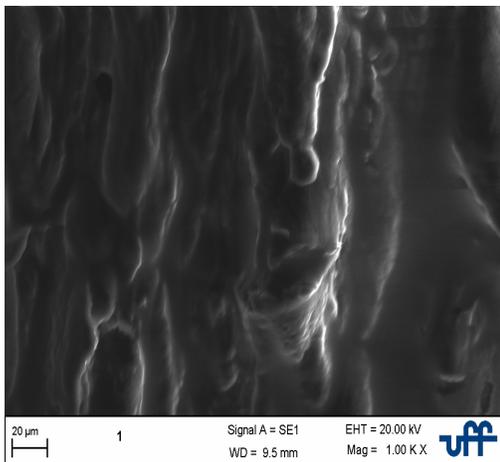


Figura 8-C

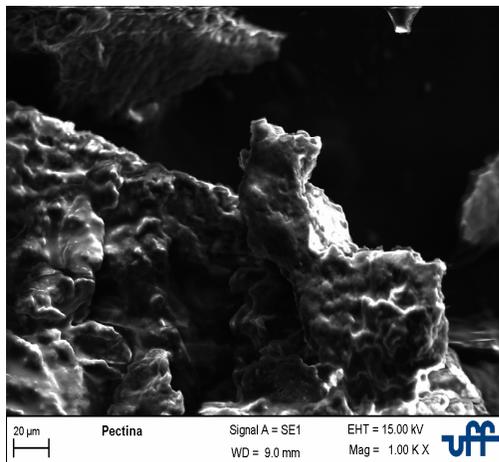


Figura 8-D

Figura 8: Imagens do MEV. Proteína e os diversos polímeros desidratados com ampliação de 1000x: Figura 4-A (GX na M1 e pH 4), Figura 4-B (CMC na M1e pH4), Figura 4-C (CA na M1e pH4), Figura 3-D (PEC na M1, pH4) .

4 CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou que as lipoproteínas da gema do ovo podem interagir com alguns polímeros formando complexos solúveis ou insolúveis em função do pH. As análises estatísticas demonstraram que o pH foi significativo no processo de coacervação com $p < 0,05$ para todos os polímeros estudados, mas alguns polímeros apresentaram outros parâmetros significativos além do pH como a temperatura para goma xantana e a associação entre estes parâmetros para pectina e o CMC. Quando os valores de pH estavam acima de 4,0 a repulsão eletrostática tornava os complexos solúveis e aumentava a turbidez, mas no pH 4 as cargas eletrostáticas opostas eram mais fortes e conseqüentemente havia maior interação e formação dos complexos insolúveis.

O complexo formado demonstrou uma excelente capacidade do polímero de formar uma capsula ao redor da proteína e isso pode possibilitar que novas pesquisas desenvolvam ingredientes que irão atribuir ao alimento nova aparência, textura, sabor, estabilidade e até nova funcionalidade.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Al-HAKKAK, J e Al-HAKKAK, F. Functional egg white–pectin conjugates prepared by controlled Maillard reaction. **Journal of Food Engineering**. v.100.,p.152-159.2010
- ALLEONI, A. C. C. and ANTUNES, A. J. Internal quality of eggs coated with whey protein concentrate. **Scient. Agric.**, v. 61, p. 276–280, 2004.

- ANDREWS, H. E., GONZÁLEZ, J. G. B., SOSA, F. C., CARTER, E. J. V. Gum Arabic Chitosan Complex Coacervation. **Biomacromolecules**, v.8, p. 1313-1318.2007
- ANTON, M., GANDEMER, G. Composition, Solubility and Emulsifying Properties of Granules and Plasma of Egg Yolk. **Food Science**. v.62. p.484–487. 1997
- ASSIS, T. F., ROJAS, E. E. G., SOUZA, C. J. F., GIRALDO-ZUNIGA, A. D. e MELO, N. R. Solubility of egg yolk proteins: modelling and thermodynamic parameters. **European Food Research and Technology**. v.231.n.5.p 745-750, 2010
- AUGUSTIN, M. A., HEMAR, Y. Nano- and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. **Chemical Society Reviews**. V.38, p.902–912.2009
- BASTOS, D. S., BARRETO, B. N., SOUZA, H. K.S., BASTO, 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, 709-718.2010
- BERTECHINI, A. G. Ovo é Saúde. **Revista Avicultura Industrial**. n. 6, p. 40-42, 2003.
- BRESOLIN, T.M.B., MILAS, M., RINAUDO, M. e GANTER, J.L.M.S.,. Xanthan-galactomannan interactions as related to xanthan conformations. **International Journal of Biological Macromolecules** v.23, p. 263–275. 1998.
- BUREY P, BHANDARI B.R, HOWES T, GIDLEY M.J. Hydrocolloid gel particles: formation, characterization, and application. **Crit Rev Food Sci Nutr** v.48.p.361–77. 2008
- CAMILO, K, F.B. **Complexo pectina/caseína:aspectos básicos e aplicados** Ribeirão preto, SP: USP, 2007. 147 f. Tese (Doutorado).
- CHAMPAGNE C.P, FUSTIER P. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. **Curr Opin Biotechnol** v.18.p.184–90. 2007.
- CHANASATTRU, W., JONES, O. G., DECKER, E. A., McCLEMENTS, D. J. Impact of cosolvents on formation and properties of biopolymer nanoparticles formed by heat treatment of b-lactoglobulin–Pectin complexes. **Food Hydrocolloids**,v. 23 .p. 2450–2457. 2009
- CHEN, L. Y., REMONDETTO, G. E., e SUBIRADE, M. Food protein-based material as nutraceutical delivery systems. **Trends in Food Science & Technology**, v.17.p. 272–283 ,2006.
- CHOLLAKUP,R., SMITHIPONG,W., EISENBACH, C.D e TIRRELL,M. Phase behavior and coacervation of aqueous poly(acrylic acid)-poly(allylamine) solutions. **Macromolecules** v.43.p. 2518-2528.2010
- DAMODARAN, S. Amino acids, peptides, and proteins. In: Fennema OR,editor. **Food chemistry**. 3rd ed. New York, N.Y.: Marcel Dekker.p 321–429. 1996
- de KRUIF, C. G.,TUINIER, R. Polysaccharide protein interactions. **Food Hydrocolloids**, v.15. p. 555–563.2001.
- de RUITER, G. A., E RUDOLPH, B. Carrageenan biotechnology. **Trends in Food Science & Technology**, v.8, p. 389–395. 1997.

- de VRIES, R.; WEINBRECK, F.; de KRUIF, C. G. Theory of polyelectrolyte adsorption on heterogeneously charged surfaces applied to soluble protein-polyelectrolyte complexes. **J. Chem. Phys.**, v.118. p. 4649–4659,2003
- FUJIMOTO, J; REIS, E. A.O; PETRI, D F. S.CAMPANA FILHO, S P.. Formação de multicamadas de polissacarídeos e proteína. **Quím. Nova** . v.25, p. 757-761. 2002
- GANDER, B., BLANCO-PRIETO, M. J., THOMASIN, C., WANDREY, C., e HUNKELER, D. Coacervation and phase separation. **Encyclopedia of Pharmaceutical Technology**,v.1. p.10–15. 2006.
- GAO, J. Y., DUBIN, P. L., MUHOBERAC, B. B. Measurement of the binding of proteins to polyelectrolytes by frontal analysis continuous capillary electro-phoresis. **Analytical Chemistry**, v.69.p. 2945–2951.1997.
- GLISENAN, P. M.; RICHARDON, R. K.; MORRIS, E. R. Associative and segregative interactions between gelatin and low-methoxy pectin:Part 1. Associative interactions in the absence of Ca^{2+} . **Food Hydrocolloids**, v.17.p. 723–737. 2003
- IBANOGLU, E.. Effect of hydrocolloids on the thermal denaturation of proteins. **Food Chemistry**. v. 90. p. 621–626. 2005
- JIMENEZ-CASTAÑO, L., VILLAMIEL, M., LOPEZ-FANDIÑO, R. Glycosylation of individual whey proteins by Maillard reaction using dextran of different molecular mass. **Food Hydrocolloids** v.21.p. 433–443. 2007
- JONES, O., DECKER, E. A., McCLEMENTS, D. J. Thermal analysis of b-lactoglobulin complexes with pectins or carrageenan for production of stable biopolymer particles. **Food Hydrocolloids**. .v. 24 p.239–248.2010
- KITA, K., KORLOS, F., KIOSSEOGLOU, V. Improvement, by dry-heating, of the emulsion-stabilizing properties of a whey protein concentrate obtained through carboxymethylcellulose complexation. **Food Chemistry**. v.104, p.1153–1159. 2007.
- MIRALLES, B., MARTINEZ-RODRIGUEZ, A., Santiago, A., van de Lagemaat, J., & Heras, A. The occurrence of a Maillard-type protein–polysaccharide interaction reaction between β -lactoglobulin and chitosan. **Food Chemistry**, v.100, p.1071–1075.2007
- MU, M. F., PAN, X. Y., YAO, P., JIANG, M. Acidic solution properties of β -casein-graft-dextran copolymer prepared through Maillard reaction. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.301.p.98–106. 2006
- NOLTE, H., JOHN, S., SMIDSROD, O., STOKKE, B.T Gelation of xanthan with trivalent metal ions. **Carbohydrate Polymer** v.18. p.243-25.1995
- NOVELLO, D., FRANCESCHINI, P., QUINTILIANO. D. A., OST, P. R. Ovo: Conceitos, análises e controvérsias na saúde humana. **ALAN**. v.56, p.315-320.2006
- OLIVER, C.M., MELTON, L.D. e STANLEY, R.A. Creating proteins with novel functionality via the Maillard reaction: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.46,p. 337–350. 2006.
- PEREZ, A. A. ,CARRARA, C. R., SÁNCHEZ, C. C.,PATINO, J. M. R., Santiago, L. G. Interactions between milk whey protein and polysaccharide in solution. **Food Chemistry**, v.116, p.104–113.2009

- PICONEA, C. S. F., CUNHA, R.L. Interactions between milk proteins and gellan gum in acidified gels. **Food Hydrocolloids**, v. 24 p.502-511. 2010
- SALA, G., de WIJK R.A, VAN DE VELDE, F., VAN AKEN, G.A. Matrix properties affect the sensory perception of emulsion-filled gels. **Food Hydrocolloids** v.22. p.353–63. 2008
- SAS Institute, Inc SAS/STAT user's guide release 6.03.Cary, NC.1998
- SCHOLS, H. A., e Voragen, A. G. J. The chemical structure of pectins. In G. B. Seymour, J. P. Knox (Eds.), **Pectins and their manipulation** Florida: CRC Press. p. 1–29. 2002.
- SCHORSCH, C., GARNIER, C. e DOUBLIER, J.L., Viscoelastic properties of xanthan/galactomannan mixtures: Comparison of guar gum with locust bean gum. **Carbohydrate Polymers**, v.34, p. 165–175. 1997.
- SHCHIPUNOV, Y. A. Sol-gel derived biomaterials of silica and carrageenans. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.268 p.68–76. 2003.
- SOUSA, R. C. S., COIMBRA, J. S. R., ROJAS, E. E. G., MINIM, L. A, OLIVEIRA, F. C., MINIM, V. P. R. Effect of pH and salt concentration on the solubility and density of egg yolk and plasma egg yolk. **Jornal LWT - Food Science and Technology** v.40. p. 1253-1258. 2007.
- STEPHEN A.M, PHILLIPS G.O, WILLIAMS P.A. Food polysaccharides and their applications.. 2nd ed. Boca Raton, Fla.: Taylor & Francis. p 733, 2006.
- TUDOSE,A.M., DUMITRESCU, N. V., NIMIGEANU, G. E. ALERGENE DE ORIGINE AVIARĂ. **Journal of the Romanian Society of Allergology and Clinical Immunology**. v.6, p.25-27.2009
- TURGEON, S. L., BEAULIEU, M., SCHMITT, C., Sanchez, C. Protein-polysaccharide interactions: phase-ordering kinetics, thermodynamic and structural aspects. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**,v. 8. p.01–414. 2003.
- TURGEON, S. L., SCHMITT, C., SANCHEZ, C. Protein-polysaccharide complexes and coacervates. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v.12. p.166–178. 2007.
- UBBINK J, KRUEGER J. Physical approaches for the delivery of active ingredients in foods. **Trends Food Sci Technol** . v.17. p.244–54, 2006
- MEEREN, V, N. N., P., BAYARRI G, S., DIERCKX, S., e Dewettinck, K.. Improved emulsion stabilizing properties of whey protein isolate by conjugation with pectins. **Food Hydrocolloids**, v.18 p. 949–957.2004
- VORAGEN, A. G. J., Pilnik, W., Thibault, J.-F., Axelos, M. A. V.,Renard, C. M. G. C. Pectins. In A. M. Stephen (Ed.), **Food polysaccharides and their applications** . New York: CRC Press. p. 287–339.1995.
- WALTER, R. H. Polysaccharide dispersions: **Chemistry and technology in food**.San Diego, CA: Academic Press. P. 199-210. 1998.
- WEINBRECK, F., NIEUWENHUIJSE, H., ROBIJN, G.W. de KRUIF, C.G. Complexation of whey proteins with carrageenan. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52. p. 3550–3555.2004.

WEINBRECK, F.; NIEUWENHUIJSE, H.; ROBIJN, G. W.; de KRUIF, C. G. Complex formation of whey proteins: exocellular polysaccharide EPS B40. **Langmuir**, v. 19, p. 9404–9410. 2003b

WEINBRECK, F.; ROLLEMA, H. S.; TROMP, R. H.; de KRUIF, C. G. Diffusivity of whey protein and gum arabic in their coacervates. **Langmuir**, v.20, p. 6389–6395. 2004

WOOSTER, T. J., AUGUSTIN, M. A. β -Lactoglobulin–dextran Maillard conjugates: their effect on interfacial thickness and emulsion stability. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 303, p. 564–572. 2007.

YE, A. Complexation between milk proteins and polysaccharides via electrostatic interactions: principles and applications-a review. **Int. J. Food Sci. Technol.**, v.43, p.406–415. 2008

ZIMET, P., LIVNEY, Y. D. Beta-lactoglobulin and its nanocomplexes with pectin as vehicles for ω -3 polyunsaturated fatty acids. **Food Hydrocolloids**, v.23, p. 1120–1126. 2009

CONCLUSÕES GERAIS

A solubilidade das proteínas é maior em sistemas de pHs que são mais ácidas e concentrações maiores de NaCl. Os parâmetros termodinâmicos foram calculados, indicando que os efeitos entrópicos no processo da solubilidade são mais significativos do que os efeitos de entalpia.

Os óleos obtiveram uma participação importante na formação das emulsões e a principal característica responsável pela melhora na emulsão foi o teor de ácidos graxos. Podemos notar também que as lipoproteínas da gema nas maiores concentrações foram muito eficazes na atividade emulsificante e na diminuição das gotículas, contudo as maiores concentrações de polímero estabilizaram a amostra, mas proporcionaram gotículas maiores.

A formação dos coacervados complexos demonstrou que as lipoproteínas da gema do ovo podem interagir com alguns polímeros formando complexos solúveis ou insolúveis em função do pH. Estes novos produtos possibilitam que novas pesquisas desenvolvam ingredientes que irão atribuir ao alimento nova aparência, textura, sabor, estabilidade e até nova funcionalidade.

ANEXO A

Análise estatística dos dados obtidos do complexos formados entre Carragena e lipoproteínas da gema do ovo

The REG Procedure

Model: m2

Dependent Variable: y turbidez

Backward Elimination: Step 0

All Variables Entered: R-Square = 0.9396 and C(p) = 11.0000

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	10	811.85656	81.18566	99.53	<.0001
Error	64	52.20278	0.81567		
Corrected Total	74	864.05935			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type III SS	F Value	Pr > F
Intercept	6.87018	3.84947	2.59806	3.19	0.0790
x1	-5.15354	1.54041	9.12955	11.19	0.0014
x2	-0.00636	0.04929	0.01360	0.02	0.8977
x3	144.84586	128.42590	1.03758	1.27	0.2636
a	0.82181	0.24902	8.88325	10.89	0.0016
b	-0.00022108	0.00062323	0.10264	0.13	0.7240
c	-1595.94881	1625.77178	0.78602	0.96	0.3300
d	0.01170	0.00280	14.24773	17.47	<.0001

e	-1.53628	3.80768	0.13278	0.16	0.6879
f	-0.50679	0.70929	0.41640	0.51	0.4775
g	-0.03375	0.01255	5.89687	7.23	0.0091

Bounds on condition number: 6694.3, 105966

Backward Elimination: Step 1

Variable x2 Removed: R-Square = 0.9396 and C(p) = 9.0167

Analysis pH forza iônica na solubilidade e analises da iteracao 2

14:29 Thursday, January 21, 2011

The REG Procedure

Model: m2

Dependent Variable: y turbidez

Backward Elimination: Step 1

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	9	811.84296	90.20477	112.29	<.0001
Error	65	52.21639	0.80333		
Corrected Total	74	864.05935			

Parameter	Standard
-----------	----------

Variable	Estimate	Error	Type II SS	F Value	Pr > F
Intercept	6.74640	3.69992	2.67087	3.32	0.0728
x1	-5.14960	1.52842	9.11917	11.35	0.0013
x3	146.27344	126.97774	1.06603	1.33	0.2536
a	0.82181	0.24713	8.88325	11.06	0.0015
b	-0.00028214	0.00040292	0.39389	0.49	0.4863
c	-1595.94881	1613.42754	0.78602	0.98	0.3262
d	0.01157	0.00259	16.04993	19.98	<.0001
e	-1.53628	3.77877	0.13278	0.17	0.6857
f	-0.55437	0.60146	0.68246	0.85	0.3601
g	-0.03375	0.01246	5.89687	7.34	0.0086

Bounds on condition number: 6694.3, 94757

Backward Elimination: Step 2

Variable e Removed: R-Square = 0.9394 and C(p) = 7.1795

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	811.71018	101.46377	127.92	<.0001
Error	66	52.34917	0.79317		
Corrected Total	74	864.05935			

Analysis pH força iônica na solubilidade e análises da iteração

3

14:29 Thursday, January 21, 2011

The REG Procedure

Model: m2

Dependent Variable: y turbidez

Backward Elimination: Step 2

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type III SS	F Value	Pr > F
Intercept	7.10134	3.57263	3.13379	3.95	0.0510
x1	-5.20506	1.51266	9.39147	11.84	0.0010
x3	136.44123	123.86265	0.96245	1.21	0.2747
a	0.82181	0.24557	8.88325	11.20	0.0014
b	-0.00028214	0.00040037	0.39389	0.50	0.4835
c	-1595.94881	1603.19245	0.78602	0.99	0.3231
d	0.01157	0.00257	16.04993	20.24	<.0001
f	-0.55437	0.59765	0.68246	0.86	0.3570
g	-0.03375	0.01238	5.89687	7.43	0.0082

Bounds on condition number: 6694.3, 83933

Backward Elimination: Step 3

Variable b Removed: R-Square = 0.9390 and C(p) = 5.6624

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
--------	----	----------------	-------------	---------	--------

Model	7	811.31629	115.90233	147.23	<.0001
Error	67	52.74305	0.78721		
Corrected Total	74	864.05935			

Variable	Parameter	Standard	Type II SS	F Value	Pr > F
	Estimate	Error			
Intercept	6.79099	3.53204	2.91009	3.70	0.0588
x1	-5.18035	1.50656	9.30753	11.82	0.0010
x3	145.38768	122.74658	1.10440	1.40	0.2404
a	0.82181	0.24464	8.88325	11.28	0.0013
c	-1595.94881	1597.15836	0.78602	1.00	0.3213
d	0.01074	0.00228	17.44889	22.17	<.0001
f	-0.85259	0.42043	3.23729	4.11	0.0466
g	-0.03375	0.01233	5.89687	7.49	0.0079

Analysis pH forza iônica na solubilidade e análises da iteracao 4

14:29 Thursday, January 21, 2011

The REG Procedure

Model: m2

Dependent Variable: y turbidez

Backward Elimination: Step 3

Bounds on condition number: 6694.3, 73285

Backward Elimination: Step 4

Variable c Removed: R-Square = 0.9380 and C(p) = 4.6260

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	810.53027	135.08838	171.61	<.0001
Error	68	53.52907	0.78719		
Corrected Total	74	864.05935			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type III SS	F Value	Pr > F
Intercept	8.92862	2.81046	7.94499	10.09	0.0022
x1	-5.18035	1.50655	9.30753	11.82	0.0010
x3	23.78132	16.00585	1.73778	2.21	0.1420
a	0.82181	0.24464	8.88325	11.28	0.0013
d	0.01074	0.00228	17.44889	22.17	<.0001
f	-0.85259	0.42042	3.23729	4.11	0.0465
g	-0.03375	0.01233	5.89687	7.49	0.0079

Bounds on condition number: 6694.3, 60980

Backward Elimination: Step 5

Variable x3 Removed: R-Square = 0.9360 and C(p) = 4.7565

The REG Procedure

Model: m2

Dependent Variable: y turbidez

Backward Elimination: Step 5

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	808.79249	161.75850	201.95	<.0001
Error	69	55.26685	0.80097		
Corrected Total	74	864.05935			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type III SS	F Value	Pr > F
Intercept	9.25403	2.82633	8.58681	10.72	0.0017
x1	-5.10913	1.51890	9.06252	11.31	0.0013
a	0.82181	0.24677	8.88325	11.09	0.0014
d	0.00837	0.00164	20.77630	25.94	<.0001
f	-0.36035	0.26110	1.52567	1.90	0.1720
g	-0.03375	0.01244	5.89687	7.36	0.0084

Bounds on condition number: 6694.3, 50757

Backward Elimination: Step 6

Variable f Removed: R-Square = 0.9343 and C(p) = 4.6270

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	807.26682	201.81671	248.75	<.0001
Error	70	56.79252	0.81132		
Corrected Total	74	864.05935			

Analysis pH forza iônica na solubilidade e análises da iteracao

6

14:29 Thursday, January 21, 2011

The REG Procedure

Model: m2

Dependent Variable: y turbidez

Backward Elimination: Step 6

Variable	Parameter	Standard	Type II SS	F Value	Pr > F
	Estimate	Error			
Intercept	8.86377	2.83027	7.95749	9.81	0.0025
x1	-5.05698	1.52821	8.88398	10.95	0.0015
a	0.82181	0.24836	8.88325	10.95	0.0015
d	0.00663	0.00106	31.60034	38.95	<.0001
g	-0.03375	0.01252	5.89687	7.27	0.0088

Bounds on condition number: 6694.3, 40583

All variables left in the model are significant at the 0.1000 level.

Summary of Backward Elimination

Step	Variable		Number Vars In	Partial R-Square	Model R-Square	C(p)	F Value	Pr > F
	Removed	Label						
1	x2	Temp	9	0.0000	0.9396	9.0167	0.02	0.8977
2	e		8	0.0002	0.9394	7.1795	0.17	0.6857
3	b		7	0.0005	0.9390	5.6624	0.50	0.4835
4	c		6	0.0009	0.9380	4.6260	1.00	0.3213
5	x3	concentrpolim	5	0.0020	0.9360	4.7565	2.21	0.1420
6	f		4	0.0018	0.9343	4.6270	1.90	0.1720

ANEXO B

Análise estatística dos dados obtidos do complexos formados entre CMC e lipoproteínas da gema do ovo

The REG Procedure
 Model: m2
 Dependent Variable: y turbidez

Backward Elimination: Step 0

All Variables Entered: R-Square = 0.8929 and C(p) = 11.0000

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	10	930.88836	93.08884	53.34	<.0001
Error	64	111.69698	1.74527		
Corrected Total	74	1042.58533			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type III SS	F Value	Pr > F
Intercept	17.89546	5.63086	17.62781	10.10	0.0023
x1	-11.58353	2.25326	46.12331	26.43	<.0001
x2	-0.10018	0.07210	3.36969	1.93	0.1695
x3	310.97271	187.85662	4.78248	2.74	0.1027
a	1.89932	0.36426	47.44873	27.19	<.0001
b	-0.00012961	0.00091164	0.03528	0.02	0.8874
c	-3060.62501	2378.11836	2.89078	1.66	0.2027
d	0.02332	0.00409	56.62849	32.45	<.0001
e	-19.41650	5.56973	21.20971	12.15	0.0009
f	0.37189	1.03753	0.22423	0.13	0.7212
g	-0.08704	0.01836	39.22425	22.47	<.0001

Bounds on condition number: 6694.3, 105966

Backward Elimination: Step 1

Variable b Removed: R-Square = 0.8928 and C(p) = 9.0202

Analysis pH força iônica na solubilidade e análises da iteração 2
 14:33 Thursday, January 21, 2011

The REG Procedure
 Model: m2
 Dependent Variable: y turbidez

Backward Elimination: Step 1

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	9	930.85308	103.42812	60.17	<.0001
Error	65	111.73226	1.71896		
Corrected Total	74	1042.58533			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type III SS	F Value	Pr > F
----------	--------------------	----------------	-------------	---------	--------

Intercept	17.98619	5.55225	18.03869	10.49	0.0019
x1	-11.58353	2.23621	46.12331	26.83	<.0001
x2	-0.10796	0.04661	9.22063	5.36	0.0237
x3	310.97271	186.43540	4.78248	2.78	0.1001
a	1.89932	0.36151	47.44873	27.60	<.0001
c	-3060.62501	2360.12688	2.89078	1.68	0.1993
d	0.02332	0.00406	56.62849	32.94	<.0001
e	-19.41650	5.52759	21.20971	12.34	0.0008
f	0.37189	1.02968	0.22423	0.13	0.7191
g	-0.08704	0.01822	39.22425	22.82	<.0001

Bounds on condition number: 6694.3, 94898

Backward Elimination: Step 2

Variable f Removed: R-Square = 0.8926 and C(p) = 7.1487

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	930.62885	116.32861	68.58	<.0001
Error	66	111.95649	1.69631		
Corrected Total	74	1042.58533			

Analysis pH forca iônica na solubilidade e análises da iteracao 3
14:33 Thursday, January 21, 2011

The REG Procedure

Model: m2

Dependent Variable: y turbidez

Backward Elimination: Step 2

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II SS	F Value	Pr > F
Intercept	17.58343	5.40317	17.96453	10.59	0.0018
x1	-11.58353	2.22143	46.12331	27.19	<.0001
x2	-0.09453	0.02794	19.42020	11.45	0.0012
x3	322.12944	182.64331	5.27665	3.11	0.0824
a	1.89932	0.35912	47.44873	27.97	<.0001
c	-3060.62501	2344.52791	2.89078	1.70	0.1963
d	0.02332	0.00404	56.62849	33.38	<.0001
e	-19.41650	5.49106	21.20971	12.50	0.0007
g	-0.08704	0.01810	39.22425	23.12	<.0001

Bounds on condition number: 6694.3, 84081

Backward Elimination: Step 3

Variable c Removed: R-Square = 0.8898 and C(p) = 6.8050

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	7	927.73807	132.53401	77.32	<.0001
Error	67	114.84727	1.71414		
Corrected Total	74	1042.58533			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II SS	F Value	Pr > F
----------	--------------------	----------------	------------	---------	--------

Intercept	21.68287	4.41995	41.25190	24.07	<.0001
x1	-11.58353	2.23308	46.12331	26.91	<.0001
x2	-0.09453	0.02808	19.42020	11.33	0.0013
x3	88.91929	38.20272	9.28644	5.42	0.0230
a	1.89932	0.36100	47.44873	27.68	<.0001
d	0.02332	0.00406	56.62849	33.04	<.0001
e	-19.41650	5.51984	21.20971	12.37	0.0008
g	-0.08704	0.01820	39.22425	22.88	<.0001

Analysis pH forca iônica na solubilidade e analises da iteracao 4
14:33 Thursday, January 21, 2011

The REG Procedure
Model: m2
Dependent Variable: y turbidez

Backward Elimination: Step 3

Bounds on condition number: 6694.3, 71428

All variables left in the model are significant at the 0.1000 level.

Summary of Backward Elimination

Step	Variable Removed	Label	Number Vars In	Partial R-Square	Model R-Square	C(p)	F Value	Pr > F
1	b		9	0.0000	0.8928	9.0202	0.02	0.8874
2	f		8	0.0002	0.8926	7.1487	0.13	0.7191
3	c		7	0.0028	0.8898	6.8050	1.70	0.1963

ANEXO C

Análise estatística dos dados obtidos do complexos formados entre Pectina e lipoproteínas da gema do ovo

The REG Procedure

Model: m2
Dependent Variable: y turbidez

Backward Elimination: Step 0

All Variables Entered: R-Square = 0.9164 and C(p) = 11.0000

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	10	1176.38365	117.63837	70.12	<.0001
Error	64	107.37165	1.67768		
Corrected Total	74	1283.75530			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II SS	F Value	Pr > F
Intercept	40.86634	5.52076	91.92724	54.79	<.0001
x1	-5.95023	2.20920	12.17046	7.25	0.0090
x2	-0.11375	0.07069	4.34456	2.59	0.1125
x3	-1409.99799	184.18345	98.32081	58.61	<.0001
a	0.97602	0.35714	12.52990	7.47	0.0081
b	-0.00022946	0.00089381	0.11057	0.07	0.7982
c	18066	2331.61894	100.71546	60.03	<.0001
d	0.02502	0.00401	65.19262	38.86	<.0001
e	-13.72939	5.46083	10.60463	6.32	0.0145
f	0.62799	1.01724	0.63939	0.38	0.5392
g	-0.04175	0.01800	9.02457	5.38	0.0236

Bounds on condition number: 6694.3, 105966

Backward Elimination: Step 1

Variable b Removed: R-Square = 0.9163 and C(p) = 9.0659

Analysis pH força iônica na solubilidade e análises da iteração 2
14:36 Thursday, January 21, 2011

The REG Procedure

Model: m2
Dependent Variable: y turbidez

Backward Elimination: Step 1

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	9	1176.27308	130.69701	79.04	<.0001
Error	65	107.48222	1.65357		
Corrected Total	74	1283.75530			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II SS	F Value	Pr > F
----------	--------------------	----------------	------------	---------	--------

Intercept	41.02696	5.44563	93.85675	56.76	<.0001
x1	-5.95023	2.19327	12.17046	7.36	0.0085
x2	-0.12752	0.04572	12.86510	7.78	0.0069
x3	-1409.99799	182.85524	98.32081	59.46	<.0001
a	0.97602	0.35457	12.52990	7.58	0.0077
c	18066	2314.80481	100.71546	60.91	<.0001
d	0.02502	0.00399	65.19262	39.43	<.0001
e	-13.72939	5.42145	10.60463	6.41	0.0138
f	0.62799	1.00990	0.63939	0.39	0.5362
g	-0.04175	0.01787	9.02457	5.46	0.0226

Bounds on condition number: 6694.3, 94898

Backward Elimination: Step 2

Variable f Removed: R-Square = 0.9158 and C(p) = 7.4470

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	1175.63369	146.95421	89.70	<.0001
Error	66	108.12161	1.63821		
Corrected Total	74	1283.75530			

Analysis pH forca iônica na solubilidade e análises da iteracao 3
14:36 Thursday, January 21, 2011

The REG Procedure

Model: m2

Dependent Variable: y turbidez

Backward Elimination: Step 2

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type III SS	F Value	Pr > F
Intercept	40.34685	5.30982	94.58625	57.74	<.0001
x1	-5.95023	2.18306	12.17046	7.43	0.0082
x2	-0.10485	0.02746	23.89066	14.58	0.0003
x3	-1391.15832	179.48799	98.41265	60.07	<.0001
a	0.97602	0.35291	12.52990	7.65	0.0074
c	18066	2304.02416	100.71546	61.48	<.0001
d	0.02502	0.00397	65.19262	39.80	<.0001
e	-13.72939	5.39620	10.60463	6.47	0.0133
g	-0.04175	0.01779	9.02457	5.51	0.0219

Bounds on condition number: 6694.3, 84081

All variables left in the model are significant at the 0.1000 level.

Summary of Backward Elimination

Step	Variable Removed	Label	Number Vars In	Partial R-Square	Model R-Square	C(p)	F Value	Pr > F
1	b		9	0.0001	0.9163	9.0659	0.07	0.7982
2	f		8	0.0005	0.9158	7.4470	0.39	0.5362

ANEXO D

Análise estatística dos dados obtidos do complexos formados entre Goma Xantana e lipoproteínas da gema do ovo

The REG Procedure

Model: m2

Dependent Variable: y turbidez

Backward Elimination: Step 0

All Variables Entered: R-Square = 0.8349 and C(p) = 11.0000

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	10	1539.64720	153.96472	32.36	<.0001
Error	64	304.54285	4.75848		
Corrected Total	74	1844.19005			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type III SS	F Value	Pr > F
Intercept	94.47731	9.29775	491.32366	103.25	<.0001
x1	-48.43340	3.72062	806.35955	169.46	<.0001
x2	0.23698	0.11905	18.85748	3.96	0.0508
x3	-140.19522	310.19157	0.97202	0.20	0.6528
a	7.63484	0.60148	766.70542	161.12	<.0001
b	-0.00013221	0.00151	0.03671	0.01	0.9303
c	564.85171	3926.78352	0.09846	0.02	0.8861

d	-0.03207	0.00676	107.07927	22.50	<.0001
e	6.55776	9.19682	2.41938	0.51	0.4784
f	1.63463	1.71318	4.33212	0.91	0.3436
g	-0.36058	0.03032	673.14102	141.46	<.0001

Bounds on condition number: 6694.3, 105966

Backward Elimination: Step 1

Variable b Removed: R-Square = 0.8348 and C(p) = 9.0077

Analysis pH forca iônica na solubilidade e análises da iteracao 2

14:34 Thursday, January 21, 2011

The REG Procedure

Model: m2

Dependent Variable: y turbidez

Backward Elimination: Step 1

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	9	1539.61049	171.06783	36.51	<.0001
Error	65	304.57956	4.68584		
Corrected Total	74	1844.19005			

Variable	Parameter	Standard	Type II SS	F Value	Pr > F
	Estimate	Error			
Intercept	94.56985	9.16707	498.69174	106.43	<.0001
x1	-48.43340	3.69211	806.35955	172.08	<.0001
x2	0.22905	0.07696	41.50905	8.86	0.0041
x3	-140.19522	307.81478	0.97202	0.21	0.6503
a	7.63484	0.59687	766.70542	163.62	<.0001
c	564.85171	3896.69523	0.09846	0.02	0.8852
d	-0.03207	0.00671	107.07927	22.85	<.0001
e	6.55776	9.12635	2.41938	0.52	0.4750
f	1.63463	1.70005	4.33212	0.92	0.3399
g	-0.36058	0.03008	673.14102	143.65	<.0001

Bounds on condition number: 6694.3, 94898

Backward Elimination: Step 2

Variable c Removed: R-Square = 0.8348 and C(p) = 7.0284

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	1539.51203	192.43900	41.69	<.0001
Error	66	304.67802	4.61633		
Corrected Total	74	1844.19005			

Analysis pH força iônica na solubilidade e análises da iteração

3

14:34 Thursday, January 21, 2011

The REG Procedure

Model: m2

Dependent Variable: y turbidez

Backward Elimination: Step 2

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type III SS	F Value	Pr > F
Intercept	93.81329	7.48009	726.12593	157.29	<.0001
x1	-48.43340	3.66462	806.35955	174.68	<.0001
x2	0.22905	0.07639	41.50905	8.99	0.0038
x3	-97.15526	80.57916	6.71096	1.45	0.2322
a	7.63484	0.59243	766.70542	166.09	<.0001
d	-0.03207	0.00666	107.07927	23.20	<.0001
e	6.55776	9.05841	2.41938	0.52	0.4717
f	1.63463	1.68740	4.33212	0.94	0.3362
g	-0.36058	0.02986	673.14102	145.82	<.0001

Bounds on condition number: 6694.3, 81905

Backward Elimination: Step 3

Variable e Removed: R-Square = 0.8335 and C(p) = 5.5368

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
--------	----	----------------	-------------	---------	--------

Model	7	1537.09265	219.58466	47.91	<.0001
Error	67	307.09740	4.58354		
Corrected Total	74	1844.19005			

Variable	Parameter		Type II SS	F Value	Pr > F
	Estimate	Standard Error			
Intercept	92.29818	7.15580	762.55595	166.37	<.0001
x1	-48.19667	3.63702	804.90531	175.61	<.0001
x2	0.22905	0.07611	41.50905	9.06	0.0037
x3	-55.18563	55.76546	4.48872	0.98	0.3259
a	7.63484	0.59032	766.70542	167.27	<.0001
d	-0.03207	0.00664	107.07927	23.36	<.0001
f	1.63463	1.68139	4.33212	0.95	0.3345
g	-0.36058	0.02975	673.14102	146.86	<.0001

Analysis pH forca iônica na solubilidade e análises da iteracao

4

14:34 Thursday, January 21, 2011

The REG Procedure

Model: m2

Dependent Variable: y turbidez

Backward Elimination: Step 3

Bounds on condition number: 6694.3, 71409

Backward Elimination: Step 4

Variable f Removed: R-Square = 0.8311 and C(p) = 4.4472

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	1532.76053	255.46009	55.78	<.0001
Error	68	311.42952	4.57985		
Corrected Total	74	1844.19005			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type III SS	F Value	Pr > F
Intercept	90.52788	6.91744	784.37750	171.27	<.0001
x1	-48.19667	3.63555	804.90531	175.75	<.0001
x2	0.28806	0.04591	180.33839	39.38	<.0001
x3	-6.14681	23.76888	0.30629	0.07	0.7967
a	7.63484	0.59008	766.70542	167.41	<.0001
d	-0.03207	0.00663	107.07927	23.38	<.0001
g	-0.36058	0.02974	673.14102	146.98	<.0001

Bounds on condition number: 6694.3, 61003

Backward Elimination: Step 5

Variable x3 Removed: R-Square = 0.8310 and C(p) = 2.5116

The REG Procedure

Model: m2

Dependent Variable: y turbidez

Backward Elimination: Step 5

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	1532.45424	306.49085	67.84	<.0001
Error	69	311.73581	4.51791		
Corrected Total	74	1844.19005			

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type III SS	F Value	Pr > F
Intercept	90.30598	6.81744	792.73437	175.46	<.0001
x1	-48.19667	3.61088	804.90531	178.16	<.0001
x2	0.28806	0.04559	180.33839	39.92	<.0001
a	7.63484	0.58608	766.70542	169.70	<.0001
d	-0.03207	0.00659	107.07927	23.70	<.0001
g	-0.36058	0.02954	673.14102	148.99	<.0001

Bounds on condition number: 6694.3, 50831

All variables left in the model are significant at the 0.1000 level.

Summary of Backward Elimination

Step	Variable		Number Vars In	Partial R-Square	Model R-Square	C(p)	F Value	Pr > F
	Removed	Label						
1	b		9	0.0000	0.8348	9.0077	0.01	0.9303
2	c		8	0.0001	0.8348	7.0284	0.02	0.8852
3	e		7	0.0013	0.8335	5.5368	0.52	0.4717
4	f		6	0.0023	0.8311	4.4472	0.95	0.3345
5	x3	concentrpolim	5	0.0002	0.8310	2.5116	0.07	0.7967