

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DOS ALIMENTOS

ANA LUISA GOMES GENRO

**EFEITO DO ULTRASSOM NAS PROPRIEDADES
TECNOLÓGICAS DA PROTEÍNA ISOLADA DE SOJA**

Santa Maria

2018

Ana Luisa Gomes Genro

**EFEITO DO ULTRASSOM NAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DA
PROTEÍNA ISOLADA DE SOJA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre José Cichoski

Santa Maria

2018

Genro, Ana Luisa
EFEITO DO ULTRASSOM NAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DA
PROTEÍNA ISOLADA DE SOJA / Ana Luisa Genro.- 2018.
82 p.; 30 cm

Orientador: Alexandre José Cichoski
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, RS, 2018

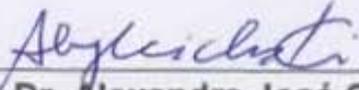
1. proteína isolada de soja 2. ultrassom 3. emulsão 4.
antioxidante I. José Cichoski, Alexandre II. Título.

Ana Luisa Gomes Genro

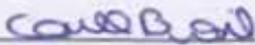
**EFEITO DO ULTRASSOM NAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DA
PROTEINA ISOLADA DE SOJA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**.

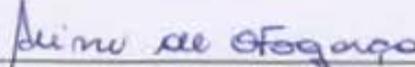
Aprovado em 28 de junho de 2018:



Prof. Dr. Alexandre José Cichoski
(Presidente/Orientador)



Prof. Drª. Carla Cristina Bauermann Brasil (UFSM)



Prof. Drª. Aline de Oliveira Fogaça (UFN)

Santa Maria, RS
2018

“Once you eliminate the impossible, whatever remains, no matter how improbable, must be the truth.”

Sir Arthur Conan Doyle

RESUMO

EFEITO DO ULTRASSOM NAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DA PROTEÍNA ISOLADA DE SOJA

AUTORA: ANA LUISA GOMES GENRO

ORIENTADOR: ALEXANDRE JOSÉ CICHOSKI

LOCAL E DATA DA DEFESA: SANTA MARIA, 28 DE JUNHO DE 2018.

A indústria de alimentos está em constante evolução em resposta às necessidades do mercado consumidor. A produção de alimentos seguros e de melhor qualidade torna necessária a busca por tecnologias que preservem as qualidades sensoriais e nutricionais dos alimentos processados sem prejudicar suas propriedades organolépticas. A tecnologia do ultrassom possui uma abordagem segura e sua aplicação pode alterar a estrutura das proteínas modificando suas propriedades tecnológicas, este processo pode resultar em maior rendimento e redução de custos para a indústria. A proteína isolada de soja (PIS) é amplamente utilizada como ingrediente alimentar devido ao seu potencial para substituir proteínas de custo mais elevado e manter as características do produto. Conhecer suas propriedades tecnológicas é importante para analisar sua possível utilização pela indústria. O objetivo deste estudo foi avaliar as propriedades tecnológicas da PIS, comercializada como aditivo alimentar para a indústria de produtos cárneos, quando submetida ao tratamento de ultrassônico de 35 kHz em diferentes amplitudes, tempos de exposição, temperaturas e concentrações. Para avaliar a influência do ultrassom montou-se um planejamento experimental utilizando a Metodologia de Superfície de Resposta (MSR) por meio do Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR). Avaliou-se a umidade, o pH, o potencial de oxidação-redução, a capacidade de retenção de água (CRA), a capacidade de retenção de gordura (CRG), a atividade emulsificante (AE), a estabilidade da emulsão (EE), a capacidade espumante (CE) e a atividade antioxidante (AA) da proteína. As análises de umidade, pH e AE apresentaram interações significativas entre as variáveis independentes de concentração, temperatura e amplitude. Os resultados de CRA e CRG foram inferiores aos resultados da amostra controle, porém nas análises de AE e EE foram obtidos resultados superiores aos da amostra controle que sugerem efeitos positivos da aplicação do US de alta intensidade.

Palavras-chave: proteína isolada de soja, ultrassom, emulsão, espuma, capacidade de retenção de água, capacidade de retenção de gordura, antioxidante.

ABSTRACT

ULTRASOUND EFFECT ON THE TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF SOY PROTEIN ISOLATE

AUTHOR: Ana Luisa Gomes Genro

ADVISOR: Alexandre José Cichoski

The food industry is in constantly evolution in response to consumer market needs. The production of higher quality and safer foods makes it necessary to search for technologies that preserve the sensorial and nutritional qualities of processed foods without harming their organoleptic properties. Ultrasound technology has a safe approach and its application can alter the structure of proteins and modify their technological properties, this process can result in higher yields and lower costs for the industry. Soy Protein Isolated (SPI) is widely used as a food ingredient due to its potential to replace higher cost proteins and maintain product characteristics. Understand its technological properties is important to analyze its possible use by industry. The objective of this study was to evaluate the technological properties of SPI, commercialized as a food additive for the meat products industry, when subjected to 35 kHz ultrasonic treatment in different amplitudes, exposure times, temperatures and concentrations. To evaluate the influence of ultrasound, an experimental design was set up using the Response Surface Methodology (RSM) through the Rotational Central Composite Design (RCCD). Moisture, pH, oxidation-reduction potential, water holding capacity (WHC), fat imbibing capacity (FIC), emulsifying activity (EA), emulsion stability (ES), the foaming capacity (FC) and the antioxidant activity (AA) of the protein. The moisture, pH and EA analysis showed significant interactions between the independent variables of concentration, temperature and amplitude. The results of WHC and FIC were lower than the results of the control sample, but in the analyzes of EA and ES the results obtained was superior to those of the control sample, which suggest positive effects of the application of high intensity US.

Keywords: soy protein isolate, ultrasound, emulsion, foam, water holding capacity, fat imbibing capacity, antioxidant.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Processo industrial típico para isolamento da proteína de soja a partir de farinha desengordurada de soja.....	18
Figura 2 – Espectro do som.....	26
Figura 3 – Bolhas de cavitação.....	27
Figura 4 – Tanque ultrassônico seccionado.....	28
Figura 5 – Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados das variáveis estudadas relacionadas com a análise de umidade.....	39
Figura 6 – Gráficos de superfície resposta da análise de umidade, gerados a partir do diagrama de Pareto com as interações das variáveis amplitude X concentração (a) e temperatura X amplitude (b).....	40
Figura 7 – Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados das variáveis estudadas relacionadas com a análise de pH.....	43
Figura 8 – Interação entre as variáveis independentes amplitude X concentração e os valores de pH obtidos.....	44
Figura 9 – Diagrama de Pareto dos efeitos das variáveis independentes no potencial redox.....	47
Figura 10 – Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados das variáveis estudadas relacionadas com a análise de capacidade de retenção de água.....	50
Figura 11 – Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados das variáveis estudadas relacionadas com a análise de capacidade de retenção de gordura.....	53
Figura 12 – Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados das variáveis estudadas relacionadas com a análise de atividade emulsificante.....	57
Figura 13 – Gráficos de superfície resposta da análise de atividade emulsificante, gerados a partir do diagrama de Pareto com as interações das variáveis temperatura X concentração (a) e temperatura X amplitude (b).....	58
Figura 14 – Amostra de PIS sem tratamento US (a), e amostra de PIS submetida ao tratamento de US (b), ensaio número 28. Amostras após etapa de homogeneização, antes da centrifugação.....	59
Figura 15 – Fases do teste de estabilidade de emulsão, ensaio 28. Emulsão recém-formada (a), a emulsão após banho-maria 80 °C, com separação das	

fases, na parte superior está a emulsão formada, no meio a gordura não absorvida e na base está a água e a PIS não emulsionadas (b), as imagens (c) e (d) apresentam o resultado final após centrifugação do ensaio 28 e da amostra controle, respectivamente.....63

Figura 16 – Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados das variáveis estudadas relacionadas com a análise de estabilidade da emulsão.....64

Figura 17 – Espuma da amostra de PIS sem tratamento por US (a) e de amostra de PIS que passou por tratamento com US (b), referente ao ensaio 28 com velocidade de agitação de 1200 rpm durante 3 minutos.....66

Figura 18 – Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados das variáveis estudadas relacionadas com a análise de atividade antioxidante.....70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Variáveis e domínio experimental utilizados na otimização das condições para avaliar a influência da frequência de 35 kHz no modo de operação normal do US na proteína isolada de soja.....	30
Tabela 2 – Planejamento experimental de superfície resposta utilizados na otimização das condições para avaliar a influência do US.....	31
Tabela 3 – Resultados (média \pm desvio padrão) da análise de umidade nos diferentes ensaios em que foi submetido a proteína isolada de soja no modo de operação normal e frequência de 35 kHz no ultrassom.....	38
Tabela 4 – Resultados (média \pm desvio padrão) da análise de pH nos diferentes ensaios em que foi submetido a proteína isolada de soja no modo de operação normal e frequência de 35 kHz no ultrassom.....	42
Tabela 5 – Resultados (média \pm desvio padrão) da análise de POR nos diferentes ensaios em que foi submetido a proteína isolada de soja no modo de operação normal e frequência de 35 kHz no ultrassom.....	46
Tabela 6 – Resultados (média \pm desvio padrão) da análise de capacidade de retenção de água (CRA) nos diferentes ensaios em que foi submetido a proteína isolada de soja no modo de operação normal e frequência de 35 kHz no ultrassom.....	49
Tabela 7 – Resultados (média \pm desvio padrão) da análise de capacidade de retenção de gordura (CRG) nos diferentes ensaios em que foi submetido a proteína isolada de soja no modo de operação normal e frequência de 35 kHz no ultrassom.....	52
Tabela 8 – Resultados (média \pm desvio padrão) da análise de atividade emulsificante (AE) nos diferentes ensaios em que foi submetido a proteína isolada de soja no modo de operação normal e frequência de 35 kHz no ultrassom.....	55
Tabela 9 – Resultados (média \pm desvio padrão) da análise de estabilidade da emulsão (EE) nos diferentes ensaios em que foi submetido a proteína isolada de soja no modo de operação normal e frequência de 35 kHz no ultrassom.....	61
Tabela 10 – Resultados (média \pm desvio padrão) da análise de atividade antioxidante (AA) nos diferentes ensaios em que foi submetido a proteína isolada	

de soja no modo de operação normal e frequência de 35 kHz no
ultrassom.....68

LISTA DE ABREVIATURAS

AA – Atividade Antioxidante

AE – Atividade Emulsificante

CE – Capacidade Espumante

CRA – Capacidade de Retenção de água

CRG – Capacidade de retenção de gordura

DCCR – Delineamento Composto Central Rotacional

EE – Estabilidade de Emulsão

kHz – Quilohertz

(L) - Linear

MSR – Metodologia de Superfície de Resposta

PIS – Proteína Isolada de Soja

pI – Ponto Isoelétrico

POR – Potencial de Oxidação-Redução

(Q) - Quadrática

rpm – Rotação por minuto

US – Ultrassom

DP – Desvio Padrão

Sumário

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVO	16
2.1	OBJETIVO GERAL	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1	PROTEÍNAS DE SOJA	16
3.2	pH E SOLUBILIDADE	20
3.3	PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS	20
3.3.1	Emulsão	20
3.3.2	Capacidade de retenção de água	21
3.3.3	Capacidade de retenção de gordura	22
3.3.4	Estabilidade de emulsão e Atividade Emulsificante	22
3.3.5	Capacidade espumante	23
3.4	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	24
3.5	ULTRASSOM	26
4	MATERIAIS E MÉTODOS	30
4.1	PLANEJAMENTO ESTATÍSTICO	30
4.2	OBTENÇÃO E PREPARO DAS AMOSTRAS	31
4.3	APLICAÇÃO DO ULTRASSOM	32
4.4	SECAGEM E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS	32
4.5	ANÁLISES REALIZADAS	32
4.5.1	Umidade	33
4.5.2	pH e Potencial de Oxidação-Redução	33
4.5.3	Capacidade de retenção de água	33
4.5.4	Capacidade de retenção de gordura	34
4.5.5	Atividade emulsificante	35

4.5.6 Estabilidade da emulsão	35
4.5.7 Capacidade espumante	36
4.5.8 Atividade antioxidante	36
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1 UMIDADE	37
5.2 pH	41
5.3 POTENCIAL REDOX (POR).....	44
5.4 CAPACIDADE DE RETENÇÃO DE ÁGUA (CRA).....	47
5.5 CAPACIDADE DE RETENÇÃO DE GORDURA (CRG)	51
5.6 ATIVIDADE EMULSIFICANTE (AE)	54
5.7 ESTABILIDADE DA EMULSÃO (EE).....	59
5.8 CAPACIDADE ESPUMANTE (CE)	64
5.9 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (AA).....	66
6 CONCLUSÃO	70
REFERÊNCIAS:	72

1 INTRODUÇÃO

O processamento do grão de soja resulta em diferentes produtos que são classificados para comercialização de acordo com seu método de processamento e teor de proteína. Os produtos obtidos são a farinha de soja, o extrato de soja, a proteína concentrada e a proteína isolada de soja (PIS), sendo que a primeira possui entre 56-59% de proteína e a PIS apresenta o maior teor de proteína, entre 88-92% (YASUMATSU et al., 1972; SILVA, 2007). No Brasil, segundo maior produtor mundial deste grão, a maior parte da produção é destinada à exportação, e grande parte do consumo interno é empregada na extração de óleo e seu resíduo é destinado a alimentação animal (EMBRAPA, 2017b). Porém, o uso da soja e de seus produtos derivados pela indústria de alimentos tem aumentado devido ao seu baixo custo, propriedades tecnológicas e alto valor nutricional (BARBOSA et al., 2006; WANG et al., 2010; CHEN et al., 2011a; MORALES et al., 2015).

A soja e seus produtos derivados possuem propriedades benéficas que são exploradas no mercado de alimentos funcionais devido à presença de compostos bioativos. A isoflavona tem sido muito estudada em relação aos seus efeitos positivos à saúde humana atribuídos ao seu potencial antioxidante, anti-inflamatório e anticarcinogênico (LUI et al., 2003; GÓES-FAVONI et al., 2004; MANTOVANI et al., 2018). Na indústria de alimentos, justifica-se a utilização da proteína isolada de soja devido às suas propriedades tecnológicas desejáveis no produto final e seu uso estende-se a uma variedade de alimentos, desde produtos lácteos e diferentes tipos de bebidas até produtos cárneos. A adição da proteína da soja resulta em alimentos menos calóricos, com teor reduzido de lipídios, elevado teor de proteína e de aminoácidos essenciais (YASUMATSU et al., 1972; SILVA et al., 2006; SALINAS e LÓPEZ-SOBALER, 2017).

O processamento de alimentos está em constante evolução em resposta às necessidades do mercado consumidor. A produção de alimentos seguros e de melhor qualidade torna necessário a evolução das tecnologias utilizadas e o desenvolvimento de novas técnicas de processamento nas indústrias. Esta necessidade tornou constante a busca por tecnologias, que não causem modificações físicas e químicas que prejudiquem as propriedades organolépticas e que preservem as qualidades sensoriais e nutricionais dos

alimentos processados (ASHOKKUMAR, et al., 2008; CÁRCEL, GÁRCIA-PEREZ e MULLET, 2012; ARZENI et al., 2012; PINGRET et al., 2013). Para atender essa demanda, uma das tecnologias emergentes é a do ultrassom (US), visto como uma tecnologia limpa, quando comparada com outros tipos de processamentos, seu uso pode minimizar processamento e manter a qualidade dos alimentos (KENTISH e FENG, 2014; ARVANITTOYANNIS, 2015).

O US é uma onda sonora que opera acima do alcance da audição humana. A onda se propaga na forma de compressões e rarefações pela amostra, sendo que essa transmissão pode ser influenciada pelo tipo de amostra, sua composição física e química (PICÓ, 2015). A aplicação do US de baixa frequência (20 kHz até 100 kHz) pela indústria de alimentos é algo relativamente novo, esta tecnologia possui uma abordagem segura que pode atuar em baixas temperaturas, sendo ideal para o processamento dos alimentos. O alcance das ondas produzidas pelo US pode resultar em alterações físicas, químicas ou mecânicas, sendo capazes de romper estruturas, modificar reações químicas acelerar a cristalização e transferências de massa (JAYASOORIYA et al., 2004; JAYASOORIYA et al., 2007; JAMBRAK et al., 2008; KENTISH e FENG, 2014).

Assim, neste estudo, serão avaliadas as propriedades tecnológicas da proteína isolada de soja, comercializada como aditivo alimentar na indústria de produtos cárneos, quando submetida ao tratamento de US em diferentes amplitudes, tempos de exposição, temperaturas e concentrações. Conhecer as propriedades tecnológicas de uma proteína é importante para avaliar suas possíveis aplicações pela indústria de alimentos e manter as características organolépticas desejáveis no produto final. A proteína isolada de soja é uma proteína que possui uma boa relação entre custo e funcionalidade e apresenta potencial para substituir proteínas de custo mais elevado sem prejudicar o produto desenvolvido. Porém deve-se considerar as condições de fabricação da proteína isolada para que suas características tecnológicas não sejam reduzidas no processamento.

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da aplicação do US de 35 kHz nas propriedades tecnológicas da proteína isolada de soja.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Aplicar ultrassom em diferentes concentrações de proteína isolada de soja utilizando diferentes amplitudes, tempos e temperatura,
- Avaliar a capacidade de retenção de água e gordura, as propriedades emulsificantes, estabilidade de emulsão e propriedades espumantes da proteína isolada de soja,
- Avaliar a capacidade antioxidante da proteína isolada de soja tratada pelo ultrassom pelo método de indução de oxidação,
- Determinar pH, potencial de oxidação-redução e umidade.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 PROTEÍNAS DE SOJA

A soja é uma leguminosa cultivada inicialmente na Ásia, há pelo menos três mil anos. A produção mundial de soja na safra 2016/2017 foi de 351,320 mil toneladas com uma área plantada de 120,958 milhões de hectares. O Brasil ocupa a posição de segundo maior produtor de soja mundial com 114,075 mil toneladas, sendo o Rio Grande do Sul o terceiro maior produtor brasileiro. Estima-se que na safra 2017/2018 o Brasil será responsável por 31,01% da produção mundial, ficando atrás somente dos Estados Unidos (33,60%). O consumo interno de grãos é de 45,781 milhões de toneladas, sendo a maior parte da produção destinada à exportação (EMBRAPA, 2017a; CONAB, 2017).

Cerca de 70% do farelo de soja é destinado à exportação e o restante é utilizado em ração animal, sendo que uma proporção reduzida é utilizada como

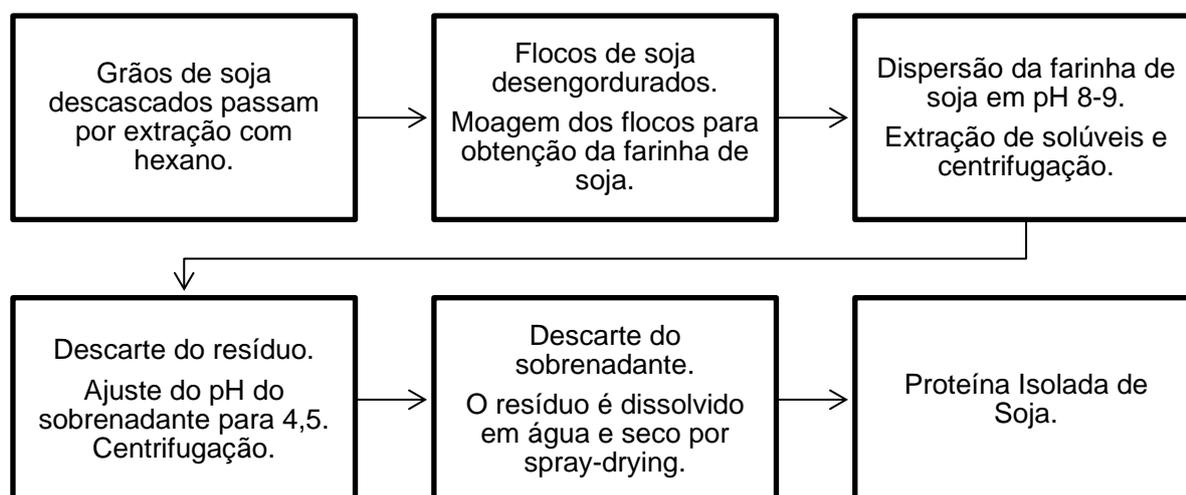
matéria-prima industrial. Devido a versatilidade da soja obtêm-se vários derivados como, proteínas isoladas, concentrada e texturizada, óleo vegetal, gordura vegetal hidrogenada, lecitina, farinha de soja, fibra dietética, farelo de soja e óleo bruto, que podem ser utilizados na produção de diversos alimentos. Ao adicionar derivados de soja em produtos alimentícios obtêm-se menor valor calórico, teor de lipídios reduzido, maior conteúdo de proteínas e redução de custo, sendo possível preservar as características físicas e sensoriais do produto tradicional através de sua habilidade na formação de gel, emulsão, capacidade de retenção de água e gordura (GÓES-FAVONI et al., 2004; TAKAHARA e TANNO, 2013; NISHINARI et al., 2014).

A soja pode ser considerada como um alimento completo, apresenta em sua composição cerca de 40% de proteínas, 20% de lipídios e 34% de carboidratos (MORAES et al., 2006; ZAKIR e FREITAS, 2015). A qualidade de uma proteína é determinada por sua composição de aminoácidos. A soja apresenta em sua composição aminoácidos polares, tirosina, histidina, cisteína, treonina, glicina e serina; apolares, fenilalanina, isoleucina, leucina, metionina, valina, triptofano, alanina e prolina; ácidos, ácido aspártico e glutâmico e básicos, lisina e arginina, sendo considerada uma proteína completa em aminoácidos essenciais. A utilização de tratamento térmico no processamento dos produtos da soja pode inativar os fatores antinutricionais presentes na soja como saponinas e fitato, que podem influenciar em sua digestibilidade e biodisponibilidade dos nutrientes (MORAIS e SILVA, 1996; PIRES et al., 2006; ALMEIDA, 2011; MIRANDA, 2012).

A soja é rica em muitos minerais, entre eles magnésio, fósforo, ferro, cobre cálcio, potássio, sódio, manganês, selênio e zinco. A soja é também uma boa fonte de vitaminas como, A, E, K, C, B₁, B₂, niacina, ácido pantotênico, B₆, folato e colina (MORAIS e SILVA, 1996; SALINAS e LÓPEZ-SOBALER, 2017). No oriente seu consumo é observado na forma de produtos fermentados (*shoyo* e outros molhos) e não fermentados, como tofu, soja seca, extrato de soja e outros. No Brasil, a disseminação de informações sobre os benefícios do consumo dos produtos da soja para à saúde aliado ao baixo custo, aumentou seu espaço no mercado interno, aumentando a disponibilidade e variedade produtos à base de soja para consumo (PAULETTO e FOGAÇA, 2012; TAKAHARA e TANNO, 2013).

Os três maiores produtos derivados da soja, são a farinha de soja, a proteína concentrada de soja e a proteína isolada de soja (PIS); eles possuem diferentes conteúdos de proteína e são utilizados em diferentes aplicações. A PIS é o produto da soja mais refinado, com um conteúdo de proteína maior que 90%. A PIS é feita a partir de uma extração alcalina da proteína para remover a fibra insolúvel, com subsequente precipitação ácida para remoção dos açúcares solúveis (Figura 1) (WANG, 1998; CHEN et al., 2011b). A proteína isolada de soja é de grande interesse para a indústria de alimentos pois apresenta propriedades de emulsificação e gelificação que a caracterizam como um ingrediente altamente funcional. A utilização de um aditivo alimentar no desenvolvimento de produtos pela indústria baseia-se tanto na qualidade nutricional como nas propriedades tecnológicas do alimento para definir suas aplicações (VIEIRA, 2007; O'SULLIVAN et al., 2016).

Figura 1 – Processo industrial típico para isolamento da proteína de soja a partir de farinha desengordurada de soja.



Fonte: Adaptado (DAMODARAN, PARKIN E FENNEMA, 2010)

As propriedades tecnológicas da PIS, como o comportamento hidrodinâmico e as interações entre proteínas, refletem a sua composição e

estrutura. As proteínas em maiores concentrações, aproximadamente 75%, na PIS são as globulinas glicinina (11S) e a β -conglucina (7S). Outras proteínas também estão presentes, como a lipoxigenase, o inibidor de tripsina Kunitz, inibidores de protease de baixo peso molecular, urease e lecitina. A proteína da soja apresenta uma estrutura globular compacta, estabilizada principalmente por ligações dissulfeto e pontes de hidrogênio. Este tipo de estrutura possui baixa flexibilidade molecular e quando comparada com outras proteínas como as do leite, apresenta baixa capacidade emulsificante (WAGNER et al., 2000; MORAES et al., 2006; LACERDA, 2008; CHEN et al., 2011a).

A estrutura da globulina 11S é composta por 12 subunidades, onde metade apresenta características ácidas e a outra metade são de natureza básica, cada par de subunidades está unido por ligações dissulfeto. A globulina 7S apresenta apenas três subunidades, é caracterizada como uma glicoproteína com baixo conteúdo de enxofre e sem ligações dissulfeto (YU, DAMODARAN, 1991; LACERDA, 2008). As frações β -conglucina (7S) e glicinina (11S) constituem aproximadamente 70% das proteínas presentes na PIS, sendo que desta porção 46% é composto pela globulina 11S, e o restante é representado por uma lipoproteína (LP). O tratamento térmico aplicado na farinha desengordurada de soja, antes da precipitação e separação da PIS, pode influenciar esta proporção, ao reduzir o conteúdo de nitrogênio, e conseqüentemente a fração lipoproteica (SAMOTO et al., 2007; SILVA, 2007).

As propriedades das globulinas 11S e 7S dependem basicamente do grau de agregação, dissociação e desnaturação da proteína. A solubilidade e agregabilidade são características importantes nas proteínas e sua diminuição pode limitar a aplicação prática da PIS pela indústria de alimentos. A modificação estrutural da proteína pode melhorar suas propriedades tecnológicas alterando sua conformação e a distribuição dos resíduos hidrofóbicos e hidrofílicos dos aminoácidos, e pode ser obtida através de tratamentos térmicos ou químicos, sendo o último o mais utilizado. A maioria dos tratamentos com ácido incluem aquecimento, o que adiciona outras modificações como hidrólise e desaminação. Os efeitos de diferentes tratamentos dependem de diferentes condições, como temperatura, tempo, concentração de proteína, pH e força iônica (WAGNER et al., 2000; MOURE et al., 2006; AÑÓN et al., 2012).

3.2 pH E SOLUBILIDADE

As propriedades tecnológicas das proteínas podem ser afetadas por alterações em sua solubilidade. Ao relacionar o pH da proteína com sua solubilidade é possível observar que em valores de pH próximos do ponto isoelétrico (pI) sua solubilidade é mínima. O pI é o ponto representado pelo pH no qual a carga elétrica de uma molécula carregada em solução é igual a zero, ou seja, as cargas positivas e negativas se equilibram e ocorre uma atração entre elas, levando a redução da solubilidade e precipitação. As globulinas da soja apresentam solubilidade mínima em pH entre 3,7 e 5,2 e seu ponto isoelétrico é observado em pH próximo a 4,5 (SILVA, 2007; LACERDA, 2008; DAMODARAN et al., 2010).

3.3 PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS

3.3.1 Emulsão

Emulsões são dispersões entre dois líquidos imiscíveis, são pequenas gotas dispersas na fase contínua de outro líquido. Na indústria de alimentos possuímos diversos produtos emulsionados, como o leite, a manteiga, a mortadela, salsichas e outros. Pode-se caracterizar uma emulsão como água em óleo (a/o) ou óleo em água (o/a), esta definição determina com que líquido pode ser diluída (DAMODARAN et al., 2010). Para formar uma emulsão, um tipo de energia externa, como agitação, é necessário para diminuir o tamanho dos glóbulos e aumentar a área interfacial. Com a exceção de micro emulsões, as emulsões em geral são termodinamicamente instáveis, o uso de proteínas auxilia na formação e estabilização destes sistemas (WILDE, 2000; SIKORSKI, 2007).

As proteínas, ou surfactantes, são utilizadas pela indústria para melhorar a emulsificação dos produtos, sua funcionalidade deve-se a sua estrutura anfifílica que torna possível sua adsorção e formação de filmes em interfaces óleo-água, associando-se as suas respectivas fases polar e apolar (O'SULLIVAN; PARK e BEEVERS, 2016). Os surfactantes possuem a habilidade de gerar interações repulsivas entre as gotas de óleo e formar uma membrana

interfacial resistente. O processo de emulsificação é afetado pelas proteínas, pois reduzem a tensão interfacial promovendo a quebra da gota, o que também é importante para a estabilização do sistema (MCCLEMENTS, 2004; CHEN et al., 2011b).

A aplicação de proteínas vegetais que não alterem as características dos produtos emulsionados surgiu como alternativa para as proteínas tradicionalmente utilizadas, como a do leite, do ovo e da carne animal. Fontanari et al. (2007) avaliou a utilização de um isolado proteico de semente de goiaba, produzido a partir de resíduo industrial, onde foi observado que o isolado apresentou características emulsificantes semelhantes a outras proteínas utilizadas como ingrediente alimentício. Santana et al. (2017), avaliou as propriedades emulsificantes de diferentes farinhas vegetais e verificou que as farinhas de aveia, feijão branco, linhaça, banana, maracujá, soja e trigo integral apresentavam boa atividade emulsificante, podendo ser utilizadas como ingredientes em formulações industrializadas reduzindo custos de produção e mantendo a qualidade nutricional do produto.

As proteínas da soja possuem características como solubilidade, capacidade emulsificante, de retenção de água e gordura, que podem ser utilizadas na formulação de alimentos como ingrediente proteico, podendo ser adicionadas na produção de maioneses, sopas, molhos e produtos cárneos. Em um estudo sobre as propriedades emulsificantes da proteína de soja decorticada branqueada, em concentrações de 0,25 e 0,75% de NaHCO_3 , durante 25 minutos de branqueamento, observou-se que a farinha de soja apresentou maior capacidade de formação de emulsão, indicando a possibilidade de sua utilização pela indústria (WANG et al., 2010). Chen et al., (2011a), avaliou o efeito da combinação de um pré-tratamento de extrusão e hidrólise enzimática, nas propriedades interfaciais e emulsificantes de PIS e confirmou que a combinação melhorou a capacidade emulsificante e a estabilidade das emulsões com PIS.

3.3.2 Capacidade de retenção de água

A capacidade de retenção de água (CRA) refere-se à capacidade da proteína de absorver e reter a água dentro de uma matriz proteica apesar da força gravitacional. A água pode apresentar-se na forma de água absorvida que

está mantida na estrutura da proteína, pode estar ligada à molécula e assim não está mais disponível como solvente, ou na forma de água retida, presa na matriz da proteína (KNEIFEL et al., 1991; DAMODARAN et al., 2010). Proteínas de soja são frequentemente adicionadas em produtos embutidos, em quantidades máximas entre 2,5 - 4,0% de acordo com a Instrução Normativa nº 04, do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2000), com o objetivo de melhorar suas propriedades físicas. Em alimentos processados uma maior CRA pode proporcionar uma redução da perda de peso durante o cozimento, e produtos com melhor textura e maciez (FACCHINI, 2016; SIRISON et al., 2017).

3.3.3 Capacidade de retenção de gordura

A capacidade de retenção de gordura (CRG) pode ser definida como a aptidão para reter gordura durante o processamento dos produtos emulsionados. Uma boa capacidade de retenção de gordura é importante para evitar a formação de bolsas de gordura que podem propiciar fenômenos de degradação dos produtos, como a oxidação lipídica. A separação das fases é um ponto crítico em alimentos emulsionados devido à mobilidade molecular, assim a estabilidade da fase dispersa de gordura, presente na forma de partículas é essencial para a aceitação do produto pelo consumidor (DAMODARAN, 2005; DAMODARAN et al., 2010).

3.3.4 Estabilidade de emulsão e Atividade Emulsificante

As emulsões estabilizadas por proteínas animal ou vegetal, podem permanecer estáveis durante dias, assim não se observa uma quantidade detectável de separação de fase em um determinado intervalo de tempo durante o armazenamento. Para avaliar a estabilidade de um produto de forma rápida, frequentemente usam-se condições drásticas, como temperatura elevada ou separação sob força centrífuga. O período de estabilidade depende das características da interface separando a fase dispersa da fase contínua. Para que uma proteína aja de forma efetiva como agente emulsificador, ela deve ser

capaz de adsorver-se com rapidez à interface, desdobrar-se prontamente e rearranjar-se na interface, e ser capaz de formar uma película coesiva viscosa por meio de interações intermoleculares (WILDE, 2000; DAMODARAN et al., 2010).

O uso de novas tecnologias, como alta pressão e ultrassom, podem melhorar as propriedades tecnológicas da PIS. A utilização de tratamentos com alta pressão pode melhorar a atividade emulsificante de proteínas de soja, porém não influenciam positivamente a estabilidade emulsificante. O US altera as propriedades emulsificantes da PIS principalmente através da redução do tamanho das partículas da proteína (MOLINA et al., 2001; PUPPO et al., 2005; JAMBRAK et al., 2009). Yasumatsu (1972) descreve que a atividade emulsificante (AE) da soja se relaciona positivamente com o conteúdo de nitrogênio, em outro trabalho de Seibel e Beléia (2009), observaram que a AE era maior na amostra de soja que possuía o maior teor de proteína, uma vez que a AE avalia de forma indireta a área superficial da membrana proteica que recobre as gotículas de óleo.

3.3.5 Capacidade espumante

Espumas são dispersões de um fluido hidrofóbico em um líquido hidrofílico, são constituídas por uma fase contínua aquosa e uma fase dispersa gasosa. A propriedade de uma proteína para formar espuma depende de sua capacidade de desenvolver uma película fina e resistente na interface gás-líquido, de modo que grandes quantidades de bolhas de gás possam ser incorporadas e estabilizadas. A produção de espuma depende do processo de aeração, uma película é formada ao redor da bolha de ar e as bolhas são empacotadas em uma estrutura maior. Entender estes mecanismos é importante para a indústria de alimentos no desenvolvimento de produtos de alta qualidade (FOEGEDING e DAVIS, 2006; DAMODARAN et al., 2010).

A capacidade de uma proteína para formar espuma é muito importante, porém o principal critério para definir seu uso é a estabilidade após a formação da espuma. Esta estabilidade refere-se à capacidade da proteína de estabilizar a espuma contra as tensões gravitacionais e mecânicas. De forma geral, as espumas são termodinamicamente instáveis, pois a fase imiscível dispersa só

se mantém como uma fina dispersão por um período limitado de tempo, uma vez que as bolhas vão eventualmente coalescer e separar em seus componentes iniciais. A estabilidade pode ser expressa como o tempo necessário à drenagem de 50% do líquido da espuma ou para redução de metade de seu volume (CARP et al., 1997; WILDE, 2000; DAMODARAN et al., 2010).

A utilização de proteínas como agentes espumantes em alimentos deve-se a sua contribuição para a formação e estabilidade da estrutura da espuma. A desestabilização da espuma em repouso é determinada por fatores como drenagem ou ruptura do filme e desproporção no tamanho das bolhas. Uma vez que a espuma é formada, ela pode ser caracterizada pelo volume da fase (overrun), propriedades reológicas e estabilidade. A avaliação destas características não é sempre exata, pois o processo de desestabilização ocorre simultaneamente com a formação da espuma e imediatamente após a formação (FOEGEDING e DAVIS, 2006). Produtos de soja podem ser utilizados com sucesso como substitutos da clara de ovo em vários alimentos industrializados, como sobremesas geladas, sorvetes e coberturas, devido a sua habilidade de formação de espuma (YASUMATSU et al., 1972).

3.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os processos de fabricação de um produto na indústria de alimentos potencializam o estresse oxidativo, pois aumentam a área de contato do alimento com o oxigênio em etapas de corte, mistura e homogeneização. O processamento pode remover antioxidantes naturais e endógenos dos alimentos e aumentar os fatores pró-oxidantes, em casos de exposição a luz e de tratamentos térmicos. A incorporação de ácidos graxos como o ômega-3 também pode reduzir a estabilidade do alimento. A estabilidade oxidativa do produto pode ser alterada ao aprimorar a atividade das proteínas encontradas naturalmente e modificar sua estrutura, ou com a utilização de proteínas ou peptídeos com atividade antioxidante (AA) como aditivos alimentares (ELIAS et al., 2008).

Os atributos de qualidade, como sabor, aroma, textura e cor dos alimentos podem ser alterados por reações de oxidação. Os antioxidantes mais utilizados pela indústria, em alimentos que contém gorduras são compostos fenólicos

como hidróxianisol butilado (BHA) e hidróxitolueno butilado (BHT), que são sintéticos, e o tocoferol que é um antioxidante natural. Estes compostos atuam doando elétrons de hidrogênio que inativam os radicais livres formados durante a reação de oxidação, interrompendo a reação em cadeia. A substituição de antioxidantes sintéticos por naturais está ganhando espaço no mercado de alimentos. A utilização de proteínas ou seus hidrolisados possuem vantagens adicionais quando comparados com outros antioxidantes, pois conferem propriedades tecnológicas e nutricionais (RAMALHO e JORGE, 2006; MOURE et al., 2006; ALVES et al., 2010).

A oxidação de proteínas pode ocorrer diretamente através de espécies reativas de oxigênio e do nitrogênio, ou indiretamente através de produtos secundários do estresse oxidativo. Os radicais livres podem oxidar resíduos individuais de aminoácidos, principalmente os que possuem enxofre ou grupos aromáticos, modificando suas cadeias laterais ou podem atacar diretamente a cadeia polipeptídica da proteína (CHEN et al., 1995; SOLADOYE et al., 2015). A estabilidade oxidativa relaciona-se com o balanço entre antioxidantes e pró-oxidantes nos tecidos biológicos dos quais obtemos os alimentos. O estresse oxidativo ocorre em todos os organismos expostos ao oxigênio, esta oxidação pode ser inibida através de diversos mecanismos que podem ser endógenos ou exógenos do alimento. Uma prática comum em alimentos industrializados é a adição de antioxidantes que podem controlar os radicais livres, pró-oxidantes e intermediários da oxidação (ELIAS, 2008; DAMODARAN et al., 2010).

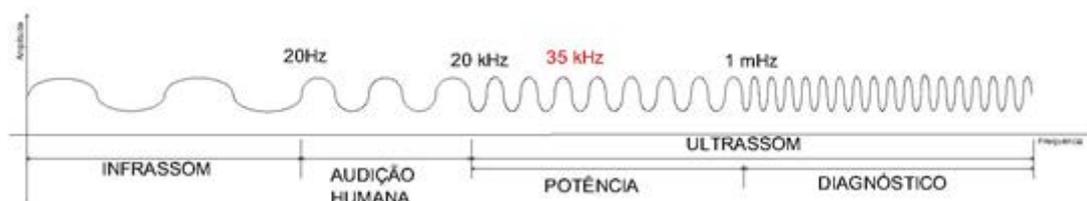
Peptídeos bioativos são fragmentos específicos de proteínas que estão inativados dentro da sequência principal da proteína que são liberados por hidrólise enzimática. A AA dos peptídeos deve-se a interações entre a habilidade de doar elétrons, inativar espécies reativas de oxigênio, eliminar radicais livres, quelar metais de transição e reduzir hidroperóxidos. A oxidação lipídica durante o processamento e armazenamento de produtos alimentícios prejudica sua qualidade e valor nutricional, o seu consumo pode ser potencialmente tóxico e prejudicial para a saúde do consumidor (ELIAS et al., 2008; SARMADI e ISMAIL, 2010; ZOU et al., 2016). Xie et al. (2008), avaliaram a AA de peptídeos extraídos da folha de alfafa e observaram que as amostras apresentavam habilidade de doar elétrons ou hidrogênio e eram capazes de eliminar os radicais livres. Chen

et al., (1995), avaliaram os efeitos antioxidantes da β - conglucina com cinco diferentes proteases e isolaram seis diferentes peptídeos que apresentavam AA.

3.5 ULTRASSOM

O ultrassom (US) caracteriza-se como uma onda sonora que opera acima do alcance da audição humana. As ondas são classificadas por parâmetros como amplitude, comprimento de onda e frequência (Figura 2). As aplicações nas quais a energia ultrassônica é utilizada para produzir mudanças permanentes no meio de propagação constituem a área de alta intensidade e baixa frequência, com ondas entre 20-100 kHz. As aplicações de alta intensidade incluem uma grande variedade de efeitos, como limpeza, secagem, mistura, homogeneização, emulsificação, desgaseificação, atomização, entre outras aplicações típicas do US de alta frequência (>1 MHz) incluem testes não-destrutivos, determinação de composição e estrutura, controle de processos e diagnósticos médicos (KENTISH e FENG, 2014; VILLAMIEL et al., 2017).

Figura 2 – Espectro do som.



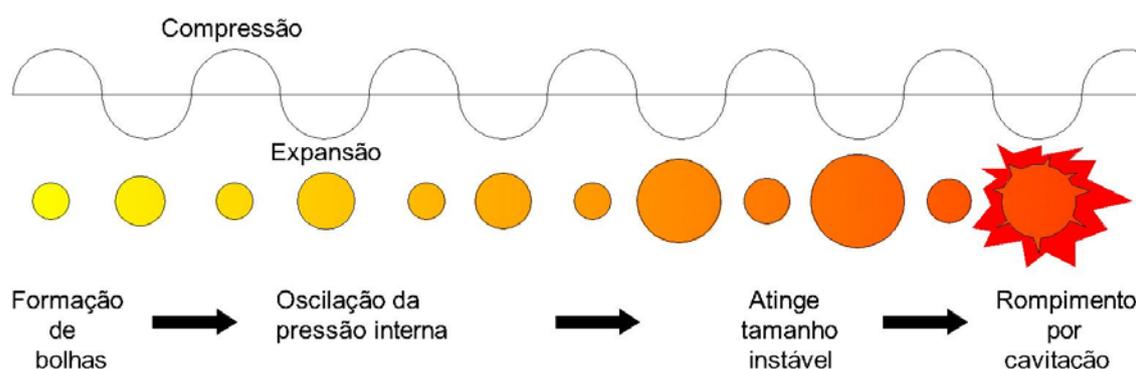
Fonte: adaptado (FENG, BARBOSA-CÁNOVAS e WEISS, 2010).

A onda é uma forma de energia mecânica do som que se propaga por meio de um condutor como uma onda longitudinal produzindo compressão alternada com rarefação. Estas ondas são geradas e recebidas por transdutores piezoelétricos que convertem energia elétrica em energia mecânica, e podem atravessar diferentes materiais como líquidos, tecidos e sólidos. A propagação das ondas depende das propriedades acústicas, da composição física e química da amostra e do meio em que a onda se propaga. A propagação de uma onda ultrassônica resulta em vários efeitos, dentre eles os principais são a cavitação

acústica e a transmissão acústica. Estes efeitos podem causar alterações macroscópicas e assim aumentar a transferência de calor, este aquecimento do meio é um efeito subsequente que ocorre devido a dissipação de energia mecânica (BISCEGLI, 2003; LEGAY et al., 2011; PICÓ, 2015).

A cavitação acústica pode ser definida como um fenômeno de criação, expansão e colapso de microbolhas em um líquido irradiado com ultrassom, estas bolhas expandem e entram em um colapso violento que resulta em altas temperatura (5000 K) e pressão (1000atm), ondas de alta energia de cisalhamento e turbulência na área de cavitação, estes eventos resultam em mudanças físico-químicas nas propriedades das proteínas expostas ao tratamento ultrassônico. As bolhas formadas podem ser divididas em cavitação estável, onde permanecem estáveis ao longo de vários ciclos de compressão e rarefação, e cavitação transiente, onde as bolhas existem por um curto período e entram em colapso (Figura 3). A transmissão acústica ocorre em frequências acima de 1 MHz, onde a zona de cavitação torna-se menos violenta e os efeitos da transmissão acústica são predominantes (PATIST e BATES, 2008; TIWARI, 2015; HIGUERA-BARRAZA et al., 2016).

Figura 3 – Bolhas de cavitação

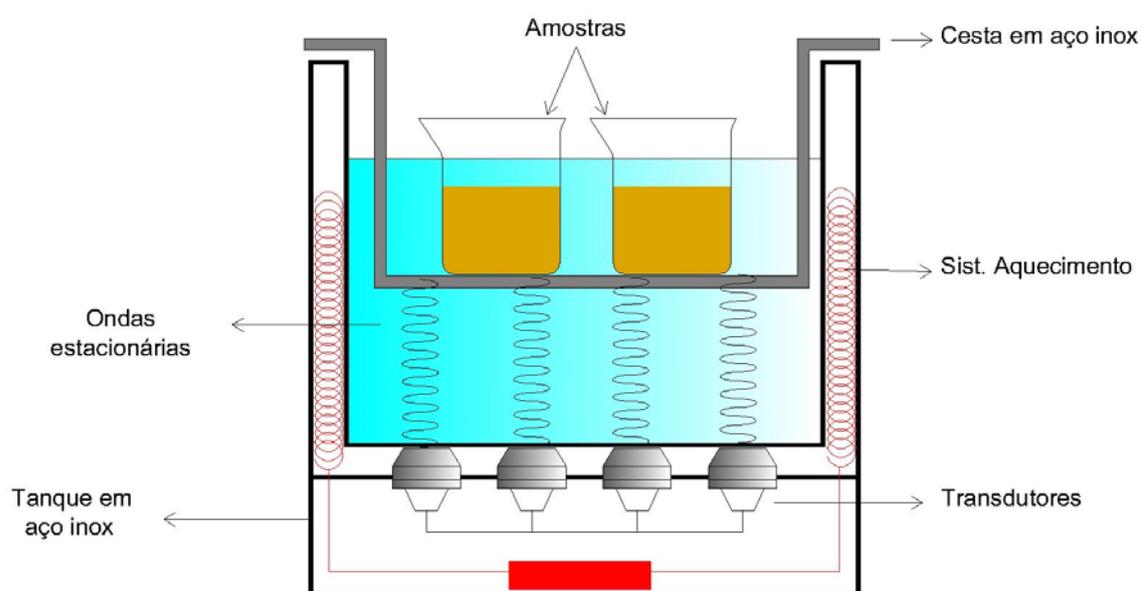


Fonte: Adaptado (SORIA e VILLAMIEL, 2010)

A aplicação do US necessita de um equipamento confiável e resistente, todos os equipamentos ultrassônicos apresentam três partes essenciais, o gerador, os transdutores que podem variar em número e localização, mas devem

vibrar na mesma fase, e sistema de distribuição. O gerador transforma eletricidade em corrente alternada, na sequência o transdutor converte a corrente em vibrações mecânicas e por fim o sistema de distribuição transmite a vibração. O ultrassom pode ser utilizado de diferentes formas pela indústria de alimentos, e são geralmente aplicados em sistemas líquidos ou liquido-sólido. As amostras podem ser submersas em banhos ultrassônicos (Figura 4) ou uma sonda pode ser introduzida no sistema (CÁRCEL, GÁRCIA-PEREZ e MULLET, 2012; TAO e SUN, 2015).

Figura 4 – Tanque ultrassônico seccionado



Fonte: Adaptado (POVEY; MASON, 1998)

A tecnologia do US é uma forma rápida e economicamente viável para modificar a estrutura e propriedades tecnológicas das proteínas. Os efeitos positivos da aplicação do US devem-se aos efeitos químicos, mecânicos e físicos da cavitação acústica. O tratamento com US de alta intensidade pode modificar a conformação da proteína ao afetar as pontes de hidrogênio e interações hidrofóbicas, rompendo as estruturas quaternárias e/ou terciárias das proteínas globulares (CHEN et al., 2011b). Em um estudo conduzido por Xiong et al. (2018) utilizando proteína isolada de ervilha, observaram que as estruturas primárias e secundárias da proteína não apresentaram alterações após o tratamento com

sonda US de 20 kHz. A amostra apresentou um aumento do conteúdo de grupos sulfidríla na superfície da proteína, o que foi atribuído ao rompimento das ligações dissulfito pelo efeito da cavitação, o que pode sugerir um desdobramento parcial da estrutura da proteína.

Na indústria de alimentos o ultrassom possui diversas aplicações que podem melhorar a produção e reduzir custos. Villamiel e Jong (2000), avaliaram os efeitos do tratamento ultrassônico de 20 kHz em fluxo contínuo e temperaturas próximas a 62 °C, utilizando o aquecimento produzido pelo US no leite cru em *P. fluorescens*, *S. thermophilus* e na contagem total de bactérias do leite. Os resultados apresentados sugerem que o tratamento US é uma técnica promissora, pois além do leite apresentar condições microbiológicas semelhantes ao tratamento térmico convencional, os glóbulos de gordura eram menores. José (2009), avaliou a eficiência da utilização do US de 45 kHz na redução microbiana de mesófilos aeróbios, fungos e leveduras em frutas e hortaliças minimamente processadas. O uso do US reduziu a contaminação em aproximadamente um ciclo logarítmico.

A aplicação do US também pode ser utilizada em proteínas animal ou vegetal, que são empregadas pela indústria como ingredientes. Arzeni et al. (2012), compararam os efeitos do uso de US de 20 kHz, 20% de amplitude e temperaturas inferiores a 49 °C em proteínas isoladas do ovo, do soro do leite e da soja utilizadas comercialmente e observaram modificações nas propriedades tecnológicas como solubilidade, gelificação e viscosidade. A aplicação do ultrassom é uma alternativa promissora para melhorar características como solubilidade, CRA, gelificação, formação de espuma e emulsificação de proteínas vegetais. A definição das condições ótimas para aplicação do US, como pH, concentração, temperatura, frequência, amplitude e tempo influenciam na obtenção dos resultados, sendo que os parâmetros de aplicação devem ser definidos de acordo com a fonte da proteína e suas características intrínsecas.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 PLANEJAMENTO ESTATÍSTICO

Para avaliar a influência do ultrassom na proteína isolada de soja montou-se um planejamento experimental utilizando a Metodologia de Superfície de Resposta (MSR) por meio do Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), conforme metodologia descrita em Rodrigues & lemma (2009). Foram consideradas como variáveis independentes, a temperatura, o tempo, a amplitude e a concentração de PIS. A capacidade de retenção de água, capacidade de retenção de gordura, pH, potencial de oxidação-redução (POR), capacidade emulsificante, estabilidade da emulsão, umidade, capacidade espumante e atividade antioxidante foram consideradas como as variáveis dependentes.

O cálculo dos principais efeitos e suas interações sobre as variáveis respostas foi feito através do programa *Statistica 7.0*. Os valores utilizados no delineamento composto central rotacional (DCCR) para as 4 variáveis independentes estão apresentados na Tabela 1. Na Tabela 2 encontra-se o planejamento experimental de superfície de resposta utilizados na otimização das condições para avaliar a influência do ultrassom.

Tabela 1 – Variáveis e domínio experimental utilizados na otimização das condições para avaliar a influência da frequência de 35 kHz no modo de operação normal do US na proteína isolada de soja.

Variáveis	Níveis codificados				
	-2	-1	0	+1	+2
Temperatura (°C)	20	30	40	50	60
Tempo (minutos)	2	9	16	23	30
Amplitude da onda (%)	20	35	50	65	80
Concentração (%)	7	8,5	10	11,5	13

Tabela 2 – Planejamento experimental de superfície de resposta utilizados na otimização das condições para avaliar a influência do US.

Ensaio	Variáveis			
	T °C	T' min.	Amplitude (%)	Concentração (%)
1	30	9	35	8,5
2	50	9	35	8,5
3	30	23	35	8,5
4	50	23	35	8,5
5	30	9	65	8,5
6	50	9	65	8,5
7	30	23	65	8,5
8	50	23	65	8,5
9	30	9	35	11,5
10	50	9	35	11,5
11	30	23	35	11,5
12	50	23	35	11,5
13	30	9	65	11,5
14	50	9	65	11,5
15	30	23	65	11,5
16	50	23	65	11,5
17	20	16	50	10
18	60	16	50	10
19	40	2	50	10
20	40	30	50	10
21	40	16	20	10
22	40	16	80	10
23	40	16	50	7
24	40	16	50	13
25	40	16	50	10
26	40	16	50	10
27	40	16	50	10
28	40	16	50	10

Nota: T °C = temperatura utilizada; T'min = tempo aplicação em minutos; A (%) = amplitude de onda utilizada; Conc. (%) = concentração da amostra de PIS.

4.2 OBTENÇÃO E PREPARO DAS AMOSTRAS

As amostras de proteína isolada de soja foram obtidas em uma indústria na cidade de Montenegro, Rio Grande do Sul. A PIS estava embalada em

pacotes de 1 kg fechados à vácuo. No laboratório foram armazenados em seus pacotes originais, em ambiente protegido da luz em temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 2$). As análises foram feitas na Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, no Núcleo de Tecnologias de Alimentos. A pesagem das amostras de PIS foi realizada em balança analítica (Shimadzu AUY220, Filipinas), e as amostras foram diluídas em tampão fosfato 0,03 M em pH 7,4 de acordo com a concentração definida pelo planejamento experimental de superfície resposta (Tabela 2).

4.3 APLICAÇÃO DO ULTRASSOM

Para a realização dos ensaios (Tabela 2) utilizou-se um banho de ultrassom (modelo TI-HI-10 marca Elma®) na frequência de 35 kHz no modo de operação normal, testes de secagem conduzidos previamente definiram as melhores condições de aplicação. A PIS em solução tampão foi colocada em béquer de vidro, de 500mL, fechado com filme de plástico. As amostras foram levadas ao banho de US para serem submetidas as diferentes condições propostas no estudo, sendo a temperatura monitorada com um termômetro digital do tipo espeto, com precisão de $\pm 1^{\circ}\text{C}$.

4.4 SECAGEM E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS

Após o tratamento de ultrassom as amostras foram secas em estufa a temperatura de 40°C por 50 horas (modelo MDH, marca DeLeo). Imediatamente após a secagem as amostras foram moídas moinho (modelo MA 630/1, marca Delta) na velocidade 7 por 20 segundos. As amostras foram armazenadas em tubos Falcon de 50 mL fechados e mantidos em dessecador até a realização das análises.

4.5 ANÁLISES REALIZADAS

Todas as análises foram feitas em triplicata, com exceção da análise de estabilidade oxidativa em equipamento Metrohm Rancimat modelo 892 (Herisau,

Switzerland) que foi realizada em duplicata. A amostra controle de PIS utilizada nas análises correspondeu a amostra original obtida na indústria.

4.5.1 Umidade

A determinação da umidade seguiu a metodologia descrita pela Official Methods of Analysis - AOAC 925.10 (1998). Pesou-se aproximadamente 2,0g de amostra em béquer previamente seco (130°C/ 1h) e foi colocada em estufa (MARCONI modelo MA033 marca DeLeo) na temperatura de 130 °C durante uma hora. A amostra foi retirada da estufa e colocada em dessecador por 30 minutos, e posteriormente pesada. A umidade da amostra foi calculada como a redução da porcentagem do peso após secagem, seu resultado foi expresso em porcentagem (Fórmula 1).

$$Umidade (\%) = \frac{(\text{peso amostra inicial (g)} - \text{peso da amostra seca (g)})}{\text{peso da amostra inicial (g)}} \times 100 \quad (1)$$

4.5.2 pH e Potencial de Oxidação-Redução

A determinação de pH e potencial de oxidação-redução (POR) das amostras de proteína isolada de soja seguiu a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). Foi pesado 1g de amostra e homogeneizado em 10 mL de água destilada. Para a aferição, foi utilizado um medidor de pH/mV/temperatura (modelo DM-23-DC DIGIMED®), equipado com um eletrodo de platina (modelo DME-CP1) para determinação de POR, um eletrodo de vidro (modelo DME-CV1) para determinação de pH e um termocompensador (modelo DMF-N1) previamente calibrado com solução padrão a 25 °C. Os eletrodos foram mergulhados na amostra homogeneizada e os valores de pH e POR anotados para posterior análise estatística.

4.5.3 Capacidade de retenção de água

A determinação da capacidade de retenção de água seguiu a metodologia descrita por Lin et al. (1974), com modificações. Foi utilizada a proporção de 1:6

(proteína isolada de soja e água). Em tubo Falcon de 15mL pipetou-se primeiro 6 mL de água e depois pesou-se 1,0g da amostra de PIS, a amostra foi pesada em balança analítica (modelo AUY220, marca Shimadzu). O tubo com a amostra foi agitado por um minuto em vórtex em velocidade 1 e deixado em repouso por 30 minutos 25 ± 2 °C. A amostra foi então centrifugada na velocidade de 3000rpm por 15 minutos (modelo 80-2Ba, marca Edulab). Após a centrifugação, em béquer tarado pesou-se a quantidade de água que não foi absorvida (sobrenadante) pela amostra no tubo Falcon. Os resultados calculados foram expressos em mL/g (Figura 2).

$$CRA = \text{Volume inicial (mL)} - \text{Volume final (mL)} \quad (2)$$

4.5.4 Capacidade de retenção de gordura

A determinação da capacidade de retenção de gordura também seguiu a metodologia descrita por Lin et al. (1974), com modificações. Foi utilizada a proporção de 1:6 (proteína isolada de soja e gordura). A banha foi mantida em banho-maria a 25° C para não solidificar, pipetou-se 6 mL de banha em tubo Falcon de 15mL, e depois foi pesado em balança analítica (modelo AUY220 marca Shimadzu) 1,0g de amostra de PIS. A amostra foi agitada em vórtex na velocidade 1 durante 1 minuto e mantida em repouso por 30 minutos em banho-maria a 25 °C.

A amostra foi centrifugada na velocidade de 3000rpm por 15 minutos (modelo 80-2Ba, marca Edulab). Um sistema de ar quente foi adaptado na centrifuga, para manter as amostras entre 48-50 °C durante a centrifugação, e assim evitando a sua solidificação. Após a centrifugação, em béquer pesou-se a quantidade de banha que não foi absorvida pela amostra (sobrenadante) no tubo Falcon. Os resultados calculados foram expressos em mL/g (Figura 3).

$$CRG = \text{Volume inicial (mL)} - \text{Volume final (mL)} \quad (3)$$

4.5.5 Atividade emulsificante

A determinação das propriedades emulsificantes seguiu metodologia de Yasumatsu et al. (1972) com adaptações. Utilizou-se a relação de 1:6:6 (proteína isolada de soja : água : banha), com tempo de hidratação de 2 minutos, e tempo total de agitação de 15 minutos a 1200rpm em agitador de haste (modelo 713D marca Fisatom, 60Hz), em béquer de 100mL 25 ± 2 °C . As amostras foram coloridas com corantes Azul de Metileno (Vetec) e Vermelho Sudan B (Vetec) na proporção de 1:1, para visualização das fases da emulsão. Em cada amostra foi adicionado 15 mcg de corante.

A proteína isolada de soja foi hidratada com a água e homogeneizada por 2 minutos em temperatura de 25 ± 2 °C, após este tempo adicionou-se a banha e manteve-se a agitação até o tempo final de 15 minutos, a banha era mantida em banho-maria na temperatura de 25 °C. As amostras foram colocadas em tubos Falcon de 15mL e centrifugadas por 5 minutos a 3000rpm em centrífuga (modelo 80-2B, marca Edulab). A atividade emulsificante foi medida com paquímetro (Worker) 150mm em mm e foi calculada de acordo com a Fórmula (4) e seus resultados foram expressos em mL.

$$V = \frac{\pi h}{3(R^2 + R \cdot r + r^2)} \quad (4)$$

Nota: V = volume; h = altura; R = raio da maior circunferência; r = raio da menor circunferência.

4.5.6 Estabilidade da emulsão

A determinação da estabilidade de emulsão seguiu metodologia de Yasumatsu et al. (1972) com adaptações. As amostras foram coloridas com corantes Azul de Metileno (Vetec) e Vermelho Sudan B (Vetec) na proporção de 1:1, para visualização das fases da emulsão, foi utilizado 15mcg de corante por amostra. Após a etapa de homogeneização em agitador de haste (modelo 713D marca Fisatom, 60Hz) por 15 minutos a 1200rpm em béquer de 100mL, as amostras foram colocadas em banho-maria a 80°C por 30 minutos, e resfriadas em banho de gelo até atingirem a temperatura de 25°C. As amostras foram

centrifugadas por 5 minutos a 3000rpm em centrífuga (modelo 80-2B, marca Edulab). A atividade emulsificante foi medida com paquímetro (Worker) 150mm em mm e foi calculada de acordo com a Fórmula (4) e seus resultados foram expressos em mL.

4.5.7 Capacidade espumante

Para determinação da capacidade espumante foi utilizada a metodologia de Yasumatsu et al. (1972). Adicionou-se 1,5g de proteína isolada de soja em 50mL de água em um béquer de 250mL, então procedeu-se a homogeneização em agitador de haste (modelo 713D marca Fisatom, 60Hz) por 3 minutos a 1200rpm 25 ± 2 °C. O aumento de volume foi calculado com base no volume inicial e final da formação da espuma, utilizando a Fórmula (5). O béquer foi mantido em repouso por 30 minutos a 25 ± 2 °C para avaliar a estabilidade da espuma através da porcentagem de redução de volume, e os resultados foram expressos em porcentagem.

$$Espuma = \frac{(volume\ final\ (mL) - volume\ inicial\ (mL))}{volume\ inicial\ (mL)} \times 100 \quad (5)$$

4.5.8 Atividade antioxidante

A análise da capacidade antioxidante (AA) foi avaliada Metrohm Rancimat 892 (Herisau, Switzerland) com o software Stabnet 1.1. Foi utilizada uma alíquota de 3mL de azeite de oliva extra-virgem (marca Andorinha®). O azeite foi separado em frascos menores e acondicionado entre 2-2,5 °C. Para a análise foi adicionado 500 partes por milhão (ppm) de proteína isolada de soja no tubo de reação. Essa quantidade utilizada de PSI é a máxima quantidade permitida de adição de agente antioxidante em alimentos de acordo com a Resolução da ANVISA (Brasil, 1961). Para a comparação dos resultados de AA, utilizou-se como amostra controle um tubo de reação onde foi adicionado o mesmo azeite de oliva, sem adição da amostra de PIS. Os tubos foram levados ao aparelho Rancimat, onde programou-se a temperatura de 140 °C e o fluxo de ar de 20L/h.

Os resultados foram avaliados de acordo com o tempo de indução em horas, quanto maior o tempo maior a estabilidade oxidativa (APARICIO et al., 1999).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 UMIDADE

O teor de umidade de um determinado produto é a soma das parcelas de água livre e água ligada. A remoção da umidade dos alimentos reduz o crescimento microbiológico, a oxidação, a atividade enzimática e algumas reações químicas, como a reação de Maillard, que estão relacionadas com a redução da qualidade e vida de prateleira de produtos em pó (MARCINKOWSKI, 2006; HORUZ et al., 20017). Nos ensaios realizados o valor de umidade da PIS variou entre 5,15 - 7,6%. A resolução da ANVISA (1978), define que a PIS deve conter no máximo 6% de umidade. Os ensaios mais próximos do valor estipulado por lei foram das amostras 20 (5,95%), 7 (5,87%), 5 (6,0%), 9 (6,05%) e 2 (6,09%) e 16 amostras apresentaram valores de umidade superior ao previsto pela legislação (Tabela 3).

Tabela 3 – Resultados (média \pm desvio padrão) da análise de umidade nos diferentes ensaios em que foi submetido a proteína isolada de soja no modo de operação normal e frequência de 35 kHz no ultrassom.

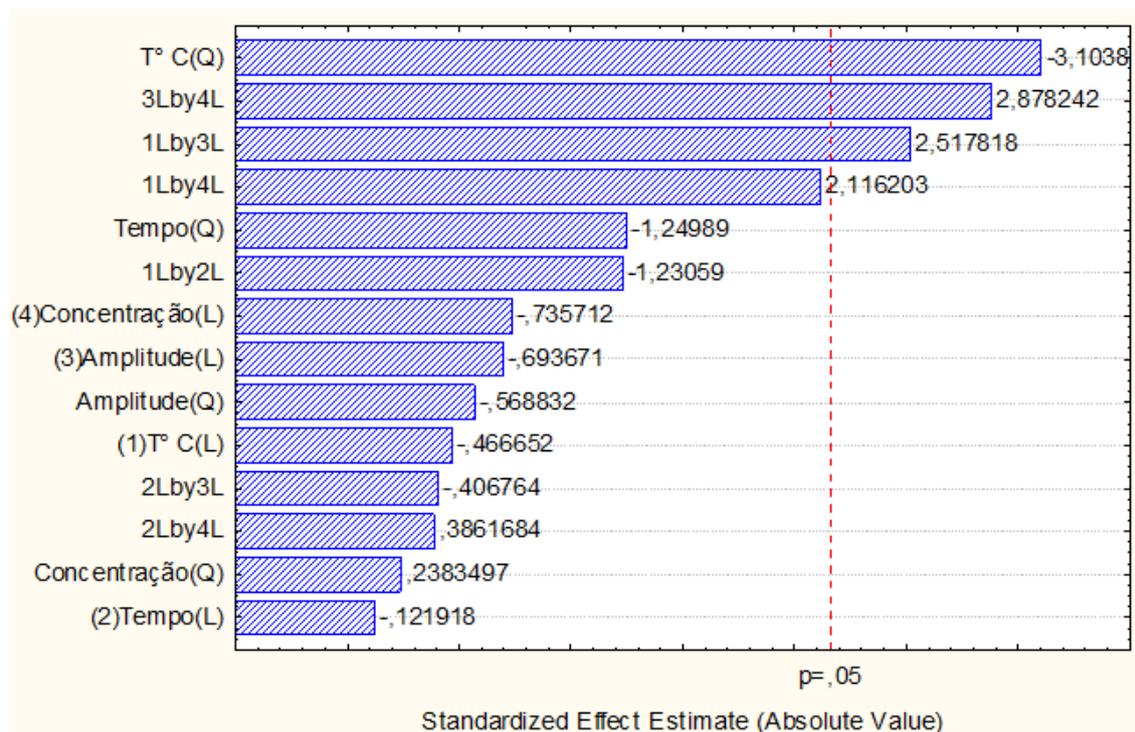
Ensaio	Variáveis				Umidade (%)
	T °C	T' min.	A (%)	Conc. (%)	
1	30	9	35	8,5	6,88 \pm 0,02
2	50	9	35	8,5	6,09 \pm 0,03
3	30	23	35	8,5	7,18 \pm 0,05
4	50	23	35	8,5	6,34 \pm 0,15
5	30	9	65	8,5	6,00 \pm 0,12
6	50	9	65	8,5	5,60 \pm 0,12
7	30	23	65	8,5	5,87 \pm 0,24
8	50	23	65	8,5	5,51 \pm 0,05
9	30	9	35	11,5	6,05 \pm 0,03
10	50	9	35	11,5	5,65 \pm 0,07
11	30	23	35	11,5	6,50 \pm 0,15
12	50	23	35	11,5	5,75 \pm 0,08
13	30	9	65	11,5	5,15 \pm 0,17
14	50	9	65	11,5	7,60 \pm 0,02
15	30	23	65	11,5	6,43 \pm 0,27
16	50	23	65	11,5	6,85 \pm 0,15
17	20	16	50	10	5,75 \pm 0,08
18	60	16	50	10	5,53 \pm 0,27
19	40	2	50	10	6,80 \pm 0,17
20	40	30	50	10	5,95 \pm 0,02
21	40	16	20	10	6,70 \pm 0,18
22	40	16	80	10	6,59 \pm 0,02
23	40	16	50	7	7,53 \pm 0,14
24	40	16	50	13	6,40 \pm 0,07
25	40	16	50	10	6,48 \pm 0,14
26	40	16	50	10	7,20 \pm 0,05
27	40	16	50	10	6,95 \pm 0,11
28	40	16	50	10	6,34 \pm 0,13
Controle					5,70 \pm 0,28

Nota: T °C = temperatura utilizada; T' min = tempo aplicação em minutos; A (%) = amplitude de onda utilizada; Conc. (%) = concentração da amostra de PIS.

Augustin et al., (2012) avaliaram a umidade de amostras de proteína concentrada de leite antes e depois da aplicação de US 24 kHz em um sistema com fluxo de 160mL/min, a amostra sem tratamento US apresentou umidade de

5,6% que reduziu para 5,1% após o US, resultado contrário ao obtido no presente estudo. A umidade da amostra controle foi de $5,7\% \pm 0,28$ e dos 28 ensaios realizados 8 amostras apresentaram valores na faixa de 5,42 - 5,98%, e apenas o ensaio 13 (5,15%) apresentou resultado inferior a umidade da amostra controle. O teste de ANOVA não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) entre as variáveis independentes utilizadas e a umidade das amostras. O diagrama de Pareto (Figura 5) apresentou interação significativa entre as variáveis de concentração X amplitude e temperatura X amplitude. Comprovando a influência das variáveis independentes e a sua interação no resultado do teor de umidade (Tabela 3).

Figura 5 – Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados das variáveis estudadas relacionadas com a análise de umidade.

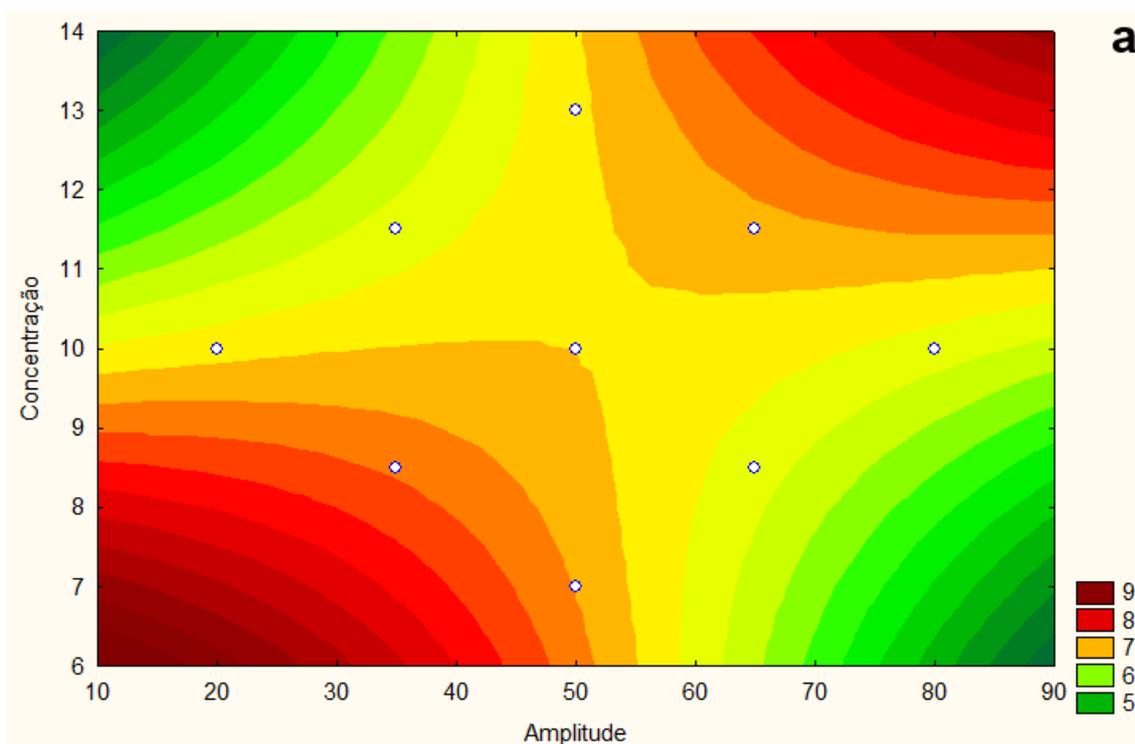


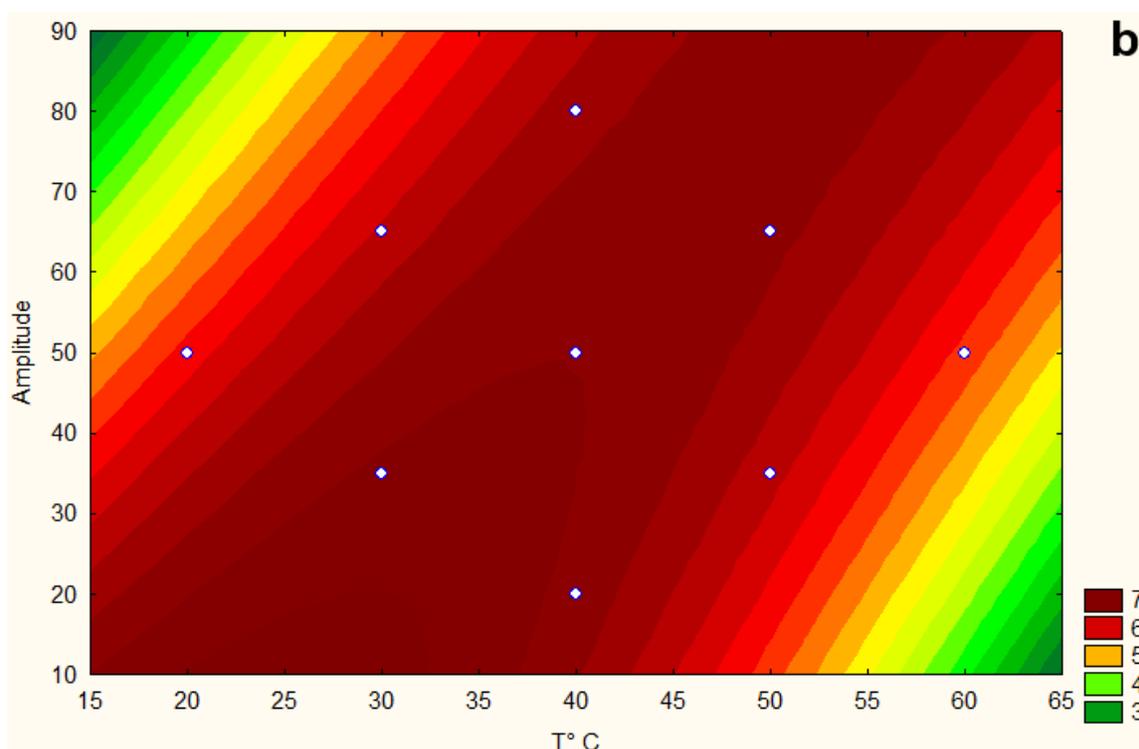
Nota: Q = quadrática; L = linear; 3Lby4L = amplitude (L) X concentração (L); 1Lby3L = temperatura (L) X amplitude (L).

Verificou-se que as interações entre amplitude X concentração e temperatura X amplitude foram significativas na obtenção do valor máximo de 6% de umidade na PIS, demonstrado nos gráficos de superfície de resposta (Figura 6). A utilização de concentrações entre 11-13% e amplitude na faixa de

10-30% ou concentrações entre 6-8% e amplitudes variando entre 70-80% resulta em amostras de PIS com a umidade desejada (a). Ao relacionarmos a amplitude de 70-80% (b) observamos que a utilização de temperaturas entre 25-30 °C resultam em valores de umidade próximos de 6%, considerada ideal. A utilização de amplitudes mais altas possibilita o uso de temperaturas mais baixas devido ao aumento do efeito da cavitação. O efeito da cavitação produzida pelo US gera sucessivas compressões e expansões do material levando a um estresse na estrutura (efeito esponja) e formando canais microscópicos que permitem um movimento mais fácil da água dentro da estrutura, facilitando sua secagem (RODRIGUEZ et al., 2018).

Figura 6 – Gráficos de superfície resposta da análise de umidade, gerados a partir do diagrama de Pareto com as interações das variáveis amplitude X concentração (a) e temperatura X amplitude (b).





5.2 pH

A PIS apresenta solubilidade mínima em seu ponto isoelétrico (pI) que corresponde ao pH 4,5, em valores de pH mais alcalinos sua solubilidade aumenta. A redução da solubilidade principalmente pela falta de repulsão eletrostática leva a precipitação através das interações hidrofóbicas, ou seja, quanto maior o número de interações hidrofóbicas (proteína-proteína) menor a solubilidade (WAGNER et al., 1996; DAMODARAN et al., 2010). Alguns processos aplicados, como a esterilização, spray-drying, e o uso de pressões na PIS também diminuem sua solubilidade, fato que pode ser atribuído a desnaturação das proteínas (MORAES e SILVA, 1996; OETTERER, 2006; SIRISON et al., 2017). Para amenizar possíveis alterações no pH da PIS durante a aplicação do US e manter o pH na faixa de melhor solubilidade, todas as 28 amostras foram diluídas em tampão fosfato com pH 7,4 para aplicação do US. Esse procedimento proporcionou variação de pH de 7,10 a 7,30 nas PIS após o tratamento com US (Tabela 4).

Tabela 4 – Resultados (média \pm desvio padrão) da análise de pH nos diferentes ensaios em que foi submetido a proteína isolada de soja no modo de operação normal e frequência de 35 kHz no ultrassom.

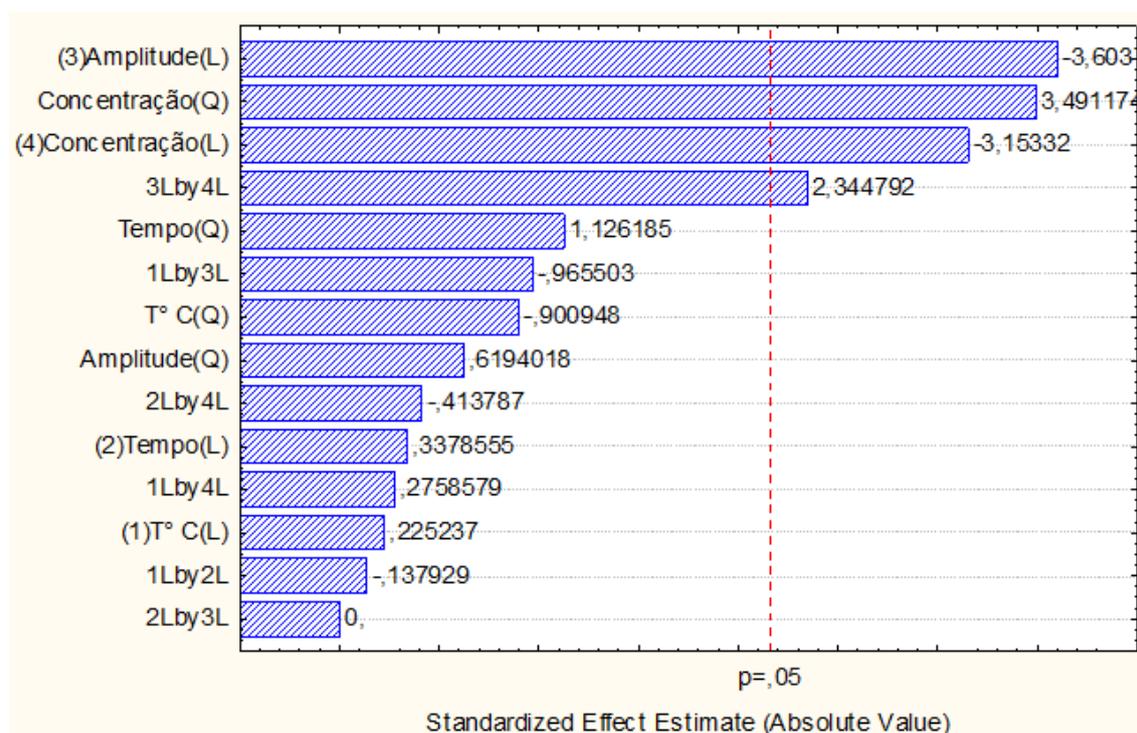
Ensaio	Variáveis				pH
	T °C	T' min.	A (%)	Conc. (%)	
1	30	9	35	8,5	7,22 \pm 0,01
2	50	9	35	8,5	7,28 \pm 0,02
3	30	23	35	8,5	7,29 \pm 0,01
4	50	23	35	8,5	7,29 \pm 0,01
5	30	9	65	8,5	7,17 \pm 0,01
6	50	9	65	8,5	7,11 \pm 0,00
7	30	23	65	8,5	7,17 \pm 0,00
8	50	23	65	8,5	7,13 \pm 0,00
9	30	9	35	11,5	7,20 \pm 0,00
10	50	9	35	11,5	7,16 \pm 0,01
11	30	23	35	11,5	7,16 \pm 0,00
12	50	23	35	11,5	7,19 \pm 0,00
13	30	9	65	11,5	7,13 \pm 0,00
14	50	9	65	11,5	7,13 \pm 0,00
15	30	23	65	11,5	7,16 \pm 0,00
16	50	23	65	11,5	7,16 \pm 0,00
17	20	16	50	10	7,10 \pm 0,00
18	60	16	50	10	7,14 \pm 0,00
19	40	2	50	10	7,20 \pm 0,00
20	40	30	50	10	7,16 \pm 0,00
21	40	16	20	10	7,17 \pm 0,00
22	40	16	80	10	7,16 \pm 0,00
23	40	16	50	7	7,30 \pm 0,00
24	40	16	50	13	7,20 \pm 0,00
25	40	16	50	10	7,16 \pm 0,01
26	40	16	50	10	7,20 \pm 0,00
27	40	16	50	10	7,15 \pm 0,01
28	40	16	50	10	7,12 \pm 0,02
Controle					7,26 \pm 0,04

Nota: T °C = temperatura utilizada; T' min = tempo aplicação em minutos; A (%) = amplitude de onda utilizada; Conc. (%) = concentração da amostra de PIS.

Mudanças no pH podem influenciar nas propriedades tecnológicas da PIS, como a solubilidade e a formação de espuma, pois grande parte depende do estado de ionização de grupos da molécula proteica (JIANG et al., 2010). A

interação amplitude (L) X concentração (L), apresentou diferença significativa ($p \leq 0,05$) em relação ao pH (Figura 7). Arzeni, Pérez e Pilosof (2012) avaliaram a superfície de hidrofobicidade (H_o) de amostras de clara de ovo durante 20 minutos de aplicação de US 20 kHz, amplitude de 20% e concentração de 10%. A amostra apresentou um aumento significativo na H_o após a aplicação, os resultados indicaram que os resíduos aromáticos foram expostos para o meio aquoso, promovendo um aumento na solubilidade da proteína. Condições similares foram aplicadas no ensaio 21 do presente estudo, durante 16 minutos foi aplicado US de 35 kHz, 20% de amplitude e 10% de concentração de PIS, a amostra tratada apresentou pH de 7,17 que indica uma boa solubilidade para a proteína.

Figura 7 – Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados das variáveis independentes estudadas relacionadas com o pH.

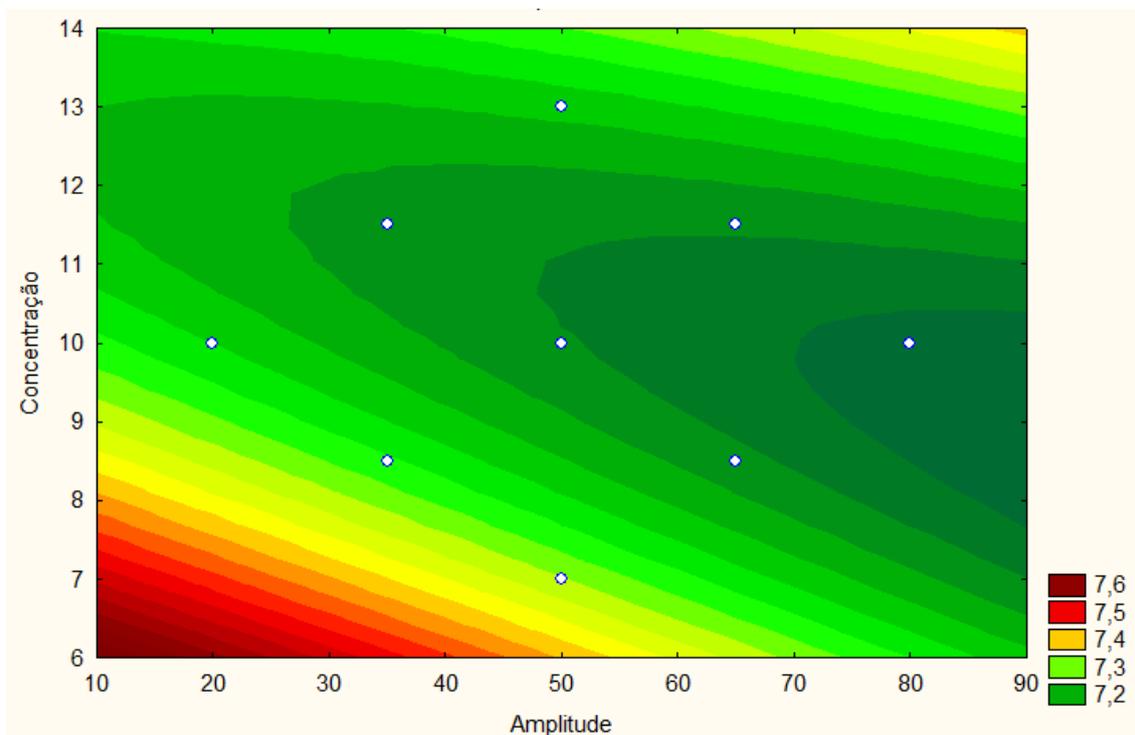


Nota: Q = quadrática; L = linear; 3Lby4L = amplitude (L) X concentração (L).

Karki et al. (2009) avaliaram o efeito do US na PIS extraída de flocos desengordurados de soja que passaram por tratamento US de 20 kHz e amplitudes de 21 e 84µm, baixa e alta potência, respectivamente. Observaram que independente da amplitude e do tempo utilizados, em pH 3,0, 7,0 e 9,0 não houve diferença significativa na solubilidade entre as amostras e com o controle.

Chandrapala et al. (2011) aplicaram US de 20 kHz e amplitude de 50% em proteína do soro do leite. Após 5 minutos de aplicação a H_0 da proteína aumentou, resultado atribuído ao desdobramento das proteínas causado por modificações na estrutura. No presente estudo a amplitude de 50% foi aplicada nos ensaios de menor (7%) e maior (13%) concentração de PIS, seus valores de pH foram de 7,3 e 7,2 respectivamente, resultado similar ao apresentado no gráfico de superfície de resposta (Figura 8), que indica que concentrações na faixa de 6 a 14% e amplitude entre 10 a 90% a PIS manteria o pH na faixa de 7,2 a 7,6 o qual proporciona uma boa solubilidade para esse tipo de proteína

Figura 8 – Interação entre as variáveis independentes amplitude X concentração e os valores de pH obtidos.



5.3 POTENCIAL REDOX (POR)

A análise de potencial redox (POR) avalia a tendência do sistema em se oxidar (perder elétrons) ou reduzir (ganhar elétrons), ou seja, valores positivos indicam condições oxidantes (SILVA, 2008; JARDIM, 2014). O valor do POR da PIS antes da realização dos ensaios foi de 61,67 mV. Os valores de POR

variaram de 86,34 mV a 112,34 mV (Tabela 5), demonstrando que a frequência de 35 kHz com as diferentes condições de temperatura, concentração de PIS, amplitude e tempo de exposição ao US, podem alterar as condições oxidantes da PIS, porém nenhuma das variáveis independentes estudadas apresentaram efeito significativo ($p > 0,05$) na variável dependente de potencial redox.

Tabela 5 – Resultados (média \pm desvio padrão) da análise de POR nos diferentes ensaios em que foi submetido a proteína isolada de soja no modo de operação normal e frequência de 35 kHz no ultrassom.

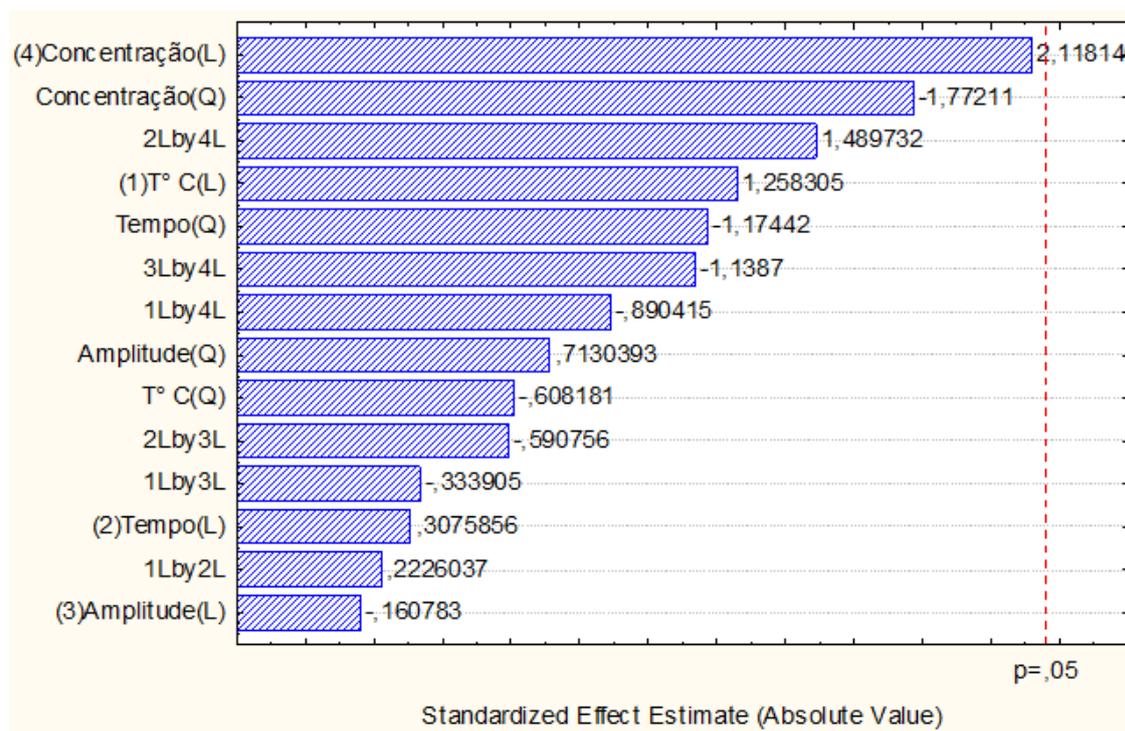
Ensaio	Variáveis				POR (mV)
	T °C	T' min.	A (%)	Conc. (%)	
1	30	9	35	8,5	99,34 \pm 5,50
2	50	9	35	8,5	96,34 \pm 5,50
3	30	23	35	8,5	86,34 \pm 3,21
4	50	23	35	8,5	100,67 \pm 5,03
5	30	9	65	8,5	102,00 \pm 8,18
6	50	9	65	8,5	104,34 \pm 5,50
7	30	23	65	8,5	94,67 \pm 3,05
8	50	23	65	8,5	96,34 \pm 3,51
9	30	9	35	11,5	94,67 \pm 3,05
10	50	9	35	11,5	106,67 \pm 4,50
11	30	23	35	11,5	112,34 \pm 4,50
12	50	23	35	11,5	98,00 \pm 3,00
13	30	9	65	11,5	104,00 \pm 5,00
14	50	9	65	11,5	95,00 \pm 3,00
15	30	23	65	11,5	97,34 \pm 4,16
16	50	23	65	11,5	103,34 \pm 3,51
17	20	16	50	10	92,34 \pm 3,51
18	60	16	50	10	105,34 \pm 3,51
19	40	2	50	10	90,67 \pm 4,04
20	40	30	50	10	101,67 \pm 4,04
21	40	16	20	10	107,00 \pm 4,58
22	40	16	80	10	103,34 \pm 3,51
23	40	16	50	7	86,00 \pm 3,60
24	40	16	50	13	100,67 \pm 4,50
25	40	16	50	10	102,67 \pm 4,04
26	40	16	50	10	103,67 \pm 2,30
27	40	16	50	10	102,67 \pm 2,51
28	40	16	50	10	101,00 \pm 4,00
Controle					61,67 \pm 0,57

Nota: T °C = temperatura utilizada; T' min = tempo aplicação em minutos; A (%) = amplitude de onda utilizada; Conc. (%) = concentração da amostra de PIS.

Arzeni et al., (2012), aplicaram US de 20 kHz com amplitude de 20% durante 20 minutos em proteína do soro do leite, PIS e clara do ovo. A condutividade das proteínas depende da natureza e da quantidade das espécies carregadas presentes na solução. As amostras de proteínas do soro do leite, da

clara de ovo e PIS não apresentaram diferença significativa após o tratamento com US. Yanjun et al., (2014), aplicaram US de 20 kHz com amplitude de 50% em proteína concentrada de leite durante 30 segundos, 1, 2 e 5 minutos com temperaturas inferiores a 50 °C. As amostras tratadas não apresentaram diferença significativa nos valores de POR (Figura 9) independente do tempo de aplicação. Resultados semelhantes aos encontrados no presente estudo, a utilização de diferentes valores de temperatura, concentração, amplitude e tempo de aplicação não apresentou diferença significativa nos resultados de POR.

Figura 9 – Diagrama de Pareto dos efeitos das variáveis independentes no potencial redox.



Nota: Q = quadrática; L = linear.

5.4 CAPACIDADE DE RETENÇÃO DE ÁGUA (CRA)

Algumas PIS comerciais, obtidas por processamento térmico, podem apresentar redução em suas propriedades tecnológicas, caso ocorra desnaturação ou agregação. Em produtos cárneos a utilização de uma proteína

com CRA reduzida pode prejudicar o rendimento da produção, a textura e a suculência do produto final (CRISTAS, 2012). Os valores da CRA nos ensaios realizados variaram de 3,53 a 4,01mL/g (Tabela 6), sendo esses valores inferiores ao valor da CRA da amostra controle que foi de 5,93mL/g. A cavitação gerada pelo US nas diferentes amplitudes nos ensaios realizados, pode ter promovido alterações na conformação estrutural da PIS, modificando as cadeias laterais dos aminoácidos. Silva (2007) e Santana et al (2017) mencionaram que as proteínas interagem melhor com a água quando há maior proporção de aminoácidos com cadeias laterais hidrofílicas.

Tabela 6 – Resultados (média \pm desvio padrão) da análise de capacidade de retenção de água (CRA) nos diferentes ensaios em que foi submetido a proteína isolada de soja no modo de operação normal e frequência de 35 kHz no ultrassom.

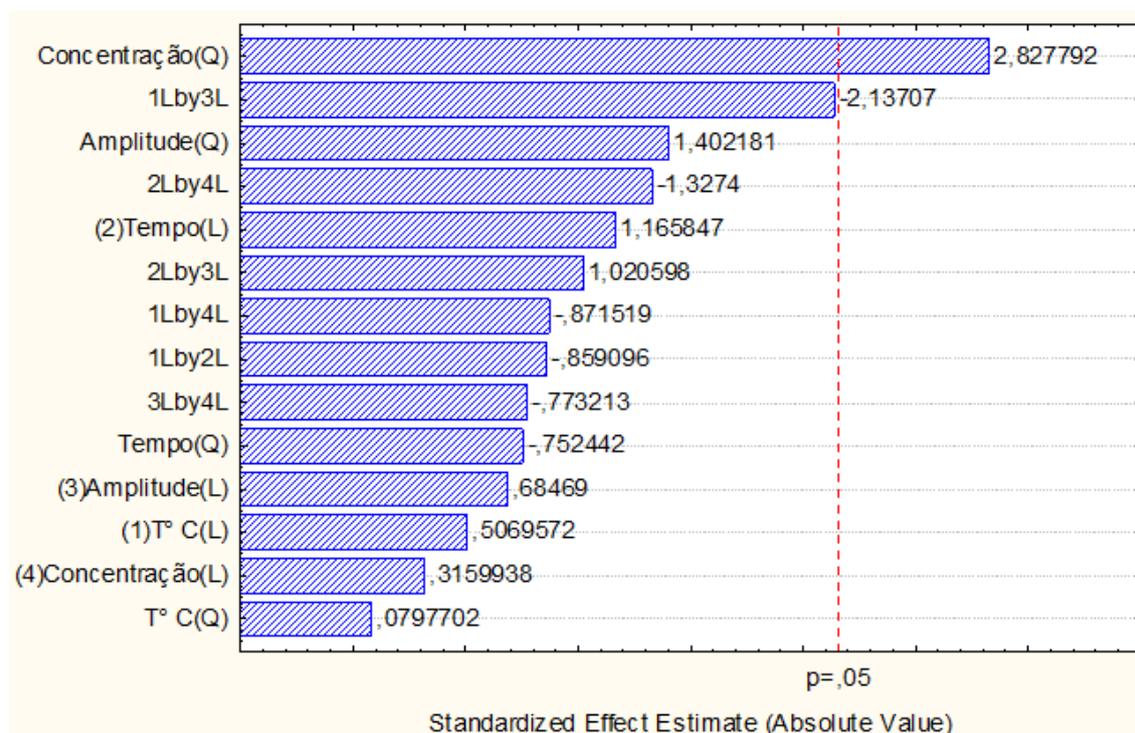
Ensaio	Variáveis				CRA (mL/g)
	T °C	T' min.	A (%)	Conc. (%)	
1	30	9	35	8,5	3,63 \pm 0,12
2	50	9	35	8,5	3,77 \pm 0,05
3	30	23	35	8,5	3,76 \pm 0,14
4	50	23	35	8,5	3,85 \pm 0,05
5	30	9	65	8,5	3,76 \pm 0,07
6	50	9	65	8,5	3,72 \pm 0,08
7	30	23	65	8,5	3,90 \pm 0,10
8	50	23	65	8,5	3,79 \pm 0,07
9	30	9	35	11,5	3,79 \pm 0,04
10	50	9	35	11,5	3,85 \pm 0,03
11	30	23	35	11,5	3,70 \pm 0,05
12	50	23	35	11,5	3,71 \pm 0,03
13	30	9	65	11,5	3,74 \pm 0,07
14	50	9	65	11,5	3,65 \pm 0,06
15	30	23	65	11,5	3,89 \pm 0,04
16	50	23	65	11,5	3,65 \pm 0,04
17	20	16	50	10	3,62 \pm 0,07
18	60	16	50	10	3,82 \pm 0,03
19	40	2	50	10	3,61 \pm 0,14
20	40	30	50	10	3,71 \pm 0,07
21	40	16	20	10	3,76 \pm 0,05
22	40	16	80	10	3,89 \pm 0,01
23	40	16	50	7	3,85 \pm 0,14
24	40	16	50	13	4,01 \pm 0,08
25	40	16	50	10	3,76 \pm 0,06
26	40	16	50	10	3,53 \pm 0,09
27	40	16	50	10	3,85 \pm 0,05
28	40	16	50	10	3,66 \pm 0,14
Controle					5,93 \pm 0,04

Nota: T °C = temperatura utilizada; T' min = tempo aplicação em minutos; A (%) = amplitude de onda utilizada; Conc. (%) = concentração da amostra de PIS.

A CRA é uma interação importante que ocorre entre a água e a proteína em diferentes sistemas alimentares pois avalia a habilidade de uma matriz de

proteína absorver e reter água contra a força da gravidade. Os principais fatores que afetam a CRA incluem a estrutura e conformação da proteína, a composição de aminoácidos, a polaridade, a força iônica, a temperatura e o pH (KNEIFEL et al., 1991; DAMODARAN et al., 2010). De acordo com o teste de ANOVA a análise de CRA não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) para nenhuma variável independente, porém o diagrama de Pareto apresentou diferença significativa com a variável independente de concentração (Figura 10). Para a concentração de 7% o valor de CRA foi de $3,85 \pm 0,14$ e para a concentração de 13% o resultado foi de $4,01 \pm 0,08$. Analisados os dados de CRA obtidos em relação as concentrações de PIS utilizadas (Tabela 6), não se nota muita diferença entre os resultados o que corrobora com o resultado do teste de ANOVA.

Figura 10 – Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados das variáveis estudadas relacionadas com a análise de capacidade de retenção de água.



Nota: Q = quadrático; L = linear.

Hu et al. (2013b) utilizaram uma sonda US 20kHz em amostras de PIS em concentrações de 10%. A amostra tratada por 20 minutos apresentou aumento na temperatura de 0,5 para 4,9 °C e obteve o maior valor de CRA. Os resultados

foram atribuídos ao aumento da solubilidade da proteína e redução do tamanho das partículas. As amostras tratadas por 40 minutos aumentaram a temperatura de 0,7 para 11,2 °C e obtiveram resultados de CRA menores e partículas de proteínas maiores, o resultado foi associado desnaturação da amostra. Malik et al. (2017) observaram resultados similares na CRA ao utilizarem tanto a sonda como o banho US, o que foi atribuído ao principal efeito do US, a cavitação que ocorre dentro da solução. No presente trabalho das amostras preparadas na concentração de 10%, 8 foram tratadas durante 16 minutos e outras duas durante 2 e 30 minutos, as temperaturas variaram entre 20 e 60 °C, com resultados na faixa de 3,53 a 3,89mL/g, ou seja, as variáveis de temperatura e tempo não apresentaram influência significativa na CRA da PIS.

5.5 CAPACIDADE DE RETENÇÃO DE GORDURA (CRG)

A ligação dos grupos hidrofóbicos da proteína com moléculas de óleo, define a capacidade de retenção de gordura (CRG). Assim como na CRA, o índice de absorção de gordura determina o tipo de produto alimentício que a proteína poderá ser utilizada. A absorção de gordura melhora a palatabilidade do alimento e altera a textura e a qualidade do produto final (RODRIGUEZ-AMBRIZ et al., 2005; SANTANA et al., 2017). A absorção de gordura varia de acordo com o número de grupos lipofílicos expostos na superfície da proteína. (WANG et al., 2010). Os resultados da CRG das amostras avaliadas neste trabalho variaram entre 2,00 a 2,32mL/g, (Tabela 7), sendo que a amostra controle apresentou 3,21mL/g.

Tabela 7 – Resultados (média \pm desvio padrão) da análise de capacidade de retenção de gordura (CRG) nos diferentes ensaios em que foi submetido a proteína isolada de soja no modo de operação normal e frequência de 35 kHz no ultrassom.

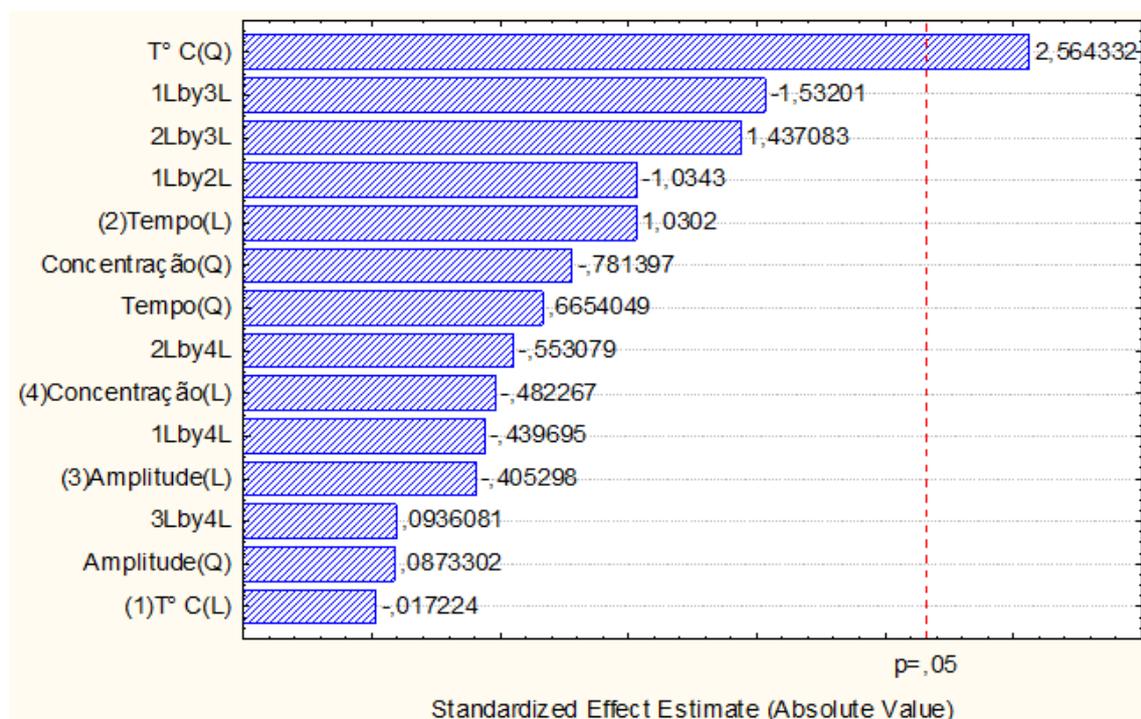
Ensaio	Variáveis				CRG (mL/g)
	T °C	T' min.	A(%)	Conc. (%)	
1	30	9	35	8,5	2,16 \pm 0,01
2	50	9	35	8,5	2,17 \pm 0,09
3	30	23	35	8,5	2,14 \pm 0,03
4	50	23	35	8,5	2,21 \pm 0,05
5	30	9	65	8,5	2,06 \pm 0,01
6	50	9	65	8,5	2,14 \pm 0,09
7	30	23	65	8,5	2,18 \pm 0,10
8	50	23	65	8,5	2,12 \pm 0,00
9	30	9	35	11,5	2,09 \pm 0,00
10	50	9	35	11,5	2,28 \pm 0,10
11	30	23	35	11,5	2,08 \pm 0,05
12	50	23	35	11,5	2,08 \pm 0,04
13	30	9	65	11,5	2,09 \pm 0,05
14	50	9	65	11,5	2,00 \pm 0,07
15	30	23	65	11,5	2,19 \pm 0,08
16	50	23	65	11,5	2,07 \pm 0,08
17	20	16	50	10	2,32 \pm 0,07
18	60	16	50	10	2,27 \pm 0,01
19	40	2	50	10	2,10 \pm 0,02
20	40	30	50	10	2,26 \pm 0,05
21	40	16	20	10	2,10 \pm 0,02
22	40	16	80	10	2,19 \pm 0,11
23	40	16	50	7	2,06 \pm 0,02
24	40	16	50	13	2,12 \pm 0,01
25	40	16	50	10	2,07 \pm 0,04
26	40	16	50	10	2,06 \pm 0,00
27	40	16	50	10	2,10 \pm 0,08
28	40	16	50	10	2,20 \pm 0,07
Controle					3,21 \pm 0,30

Nota: T °C = temperatura utilizada; T' min = tempo aplicação em minutos; A (%) = amplitude de onda utilizada; Conc. (%) = concentração da amostra de PIS.

Malik et al. (2017) aplicaram banho US 40 kHz em proteína isolada de semente de girassol sem utilização de altas temperaturas. A CRG apresentou

melhores resultados após o tratamento US durante 20 minutos. Resendiz-Vazquez et al. (2017) relataram um aumento na CRG após aplicação do US com sonda de 20 kHz e temperaturas inferiores a 15 °C por 15 minutos em proteína isolada de semente de jaca. O aumento da CRG nos estudos citados foi atribuído a desnaturação da proteína com exposição de grupos hidrofóbicos. No presente trabalho a amostra 17 (2,32mL/g) apresentou o valor de CRG mais alto entre os ensaios e a temperatura de tratamento foi de 20 °C, porém também foram utilizadas temperaturas de 50 e 60 °C com resultados semelhantes, o que sugere a possibilidade de utilização de temperaturas próximas a 20 °C que poderão exercer um efeito positivo na CRG . De acordo com o teste de ANOVA a análise de CRG apresentou diferença significativa ($p \leq 0,05$) com a variável de temperatura, resultado de acordo com o diagrama de Pareto (Figura 11).

Figura 11 – Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados das variáveis estudadas relacionadas com a análise de capacidade de retenção de gordura.



Nota: Q = quadrática; L = linear.

Padilla e Alfaro (1996), observaram que a farinha desengordurada de soja (FDS) apresenta maior CRA do que CRG, e sugeriram que a proteína de soja apresenta mais grupos hidrofílicos, porém consideraram também que a FDS

contém mais carboidratos, o que pode ter contribuído para aumentar a CRA. Rodriguez-Ambriz et al. (2005) relataram o conteúdo de carboidrato da FDS e da PIS, 37,9g/100g e 3,0g/100g, respectivamente. A CRG (1,5mL/g) da PIS foi inferior ao resultado de CRA (2,2mL/g). Resultados semelhantes foram encontrados no presente estudo, apesar dos 28 ensaios apresentarem resultados inferiores aos da amostra controle, a CRA (Tabela 6) obteve melhor desempenho que a CRG (Tabela 7), o valor médio das análises foi de 3,75mL/g e 2,17mL/g, respectivamente. Al-Katani e Abou-Arab (1993), observaram que a PIS obteve o menor valor de CRG entre as amostras de FDS, e proteína concentrada de soja, o que pode ser prejudicial para produtos emulsificados pois a CRG está relacionada com a estabilidade da emulsão.

5.6 ATIVIDADE EMULSIFICANTE (AE)

A desnaturação parcial das proteínas antes da emulsificação, a qual não resulta em insolubilização, melhora suas propriedades emulsificantes através do aumento da flexibilidade molecular e da Ho. (MCCLEMENTS, 2004; DAMODARAN et al., 2010). De modo geral, as propriedades emulsificantes da PIS aumentam com o aumento da solubilidade da proteína. A PIS comercial geralmente é seca através de processamento térmico com temperaturas entre 95 – 220 °C e apresenta uma baixa solubilidade (SILVA, 2007). Dos 28 ensaios produzidos, 50% (n=14) apresentaram valores de AE superiores aos da amostra controle (2,64mL), uma vez que os resultados variaram entre 2,97 a 6,51mL de camada emulsificada (Tabela 8). O' Sullivan et al. (2016) observaram que após o tratamento US a PIS apresentou redução significativa no tamanho das partículas das proteínas, esta redução melhora a solubilização da proteína na interface óleo-água resultando em uma emulsão mais estável.

Tabela 8 – Resultados (média \pm desvio padrão) da análise de atividade emulsificante (AE) nos diferentes ensaios em que foi submetido a proteína isolada de soja no modo de operação normal e frequência de 35 kHz no ultrassom.

Ensaio	Variáveis				AE (mL)
	T °C	T' min.	A(%)	Conc. (%)	
1	30	9	35	8,5	0,92 \pm 0,00
2	50	9	35	8,5	0,87 \pm 0,08
3	30	23	35	8,5	0,97 \pm 0,08
4	50	23	35	8,5	0,92 \pm 0,00
5	30	9	65	8,5	5,26 \pm 0,08
6	50	9	65	8,5	1,41 \pm 0,19
7	30	23	65	8,5	5,08 \pm 0,35
8	50	23	65	8,5	1,51 \pm 0,04
9	30	9	35	11,5	1,62 \pm 0,13
10	50	9	35	11,5	5,85 \pm 0,39
11	30	23	35	11,5	1,13 \pm 0,08
12	50	23	35	11,5	2,23 \pm 0,53
13	30	9	65	11,5	1,05 \pm 0,08
14	50	9	65	11,5	1,03 \pm 0,17
15	30	23	65	11,5	5,34 \pm 0,08
16	50	23	65	11,5	5,70 \pm 0,00
17	20	16	50	10	1,34 \pm 0,04
18	60	16	50	10	1,90 \pm 0,31
19	40	2	50	10	6,52 \pm 0,57
20	40	30	50	10	3,28 \pm 0,08
21	40	16	20	10	2,97 \pm 0,35
22	40	16	80	10	2,59 \pm 0,04
23	40	16	50	7	3,41 \pm 0,17
24	40	16	50	13	3,36 \pm 0,04
25	40	16	50	10	3,65 \pm 0,23
26	40	16	50	10	3,74 \pm 0,31
27	40	16	50	10	3,67 \pm 0,13
28	40	16	50	10	3,76 \pm 0,05
Controle					2,64 \pm 0,23

Nota: T °C = temperatura utilizada; T' min = tempo aplicação em minutos; A (%) = amplitude de onda utilizada; Conc. (%) = concentração da amostra de PIS.

Silva (2007), avaliou a AE da PIS em diferentes valores de pH, e o melhor desempenho apresentou-se nos valores extremos da faixa avaliada, referente

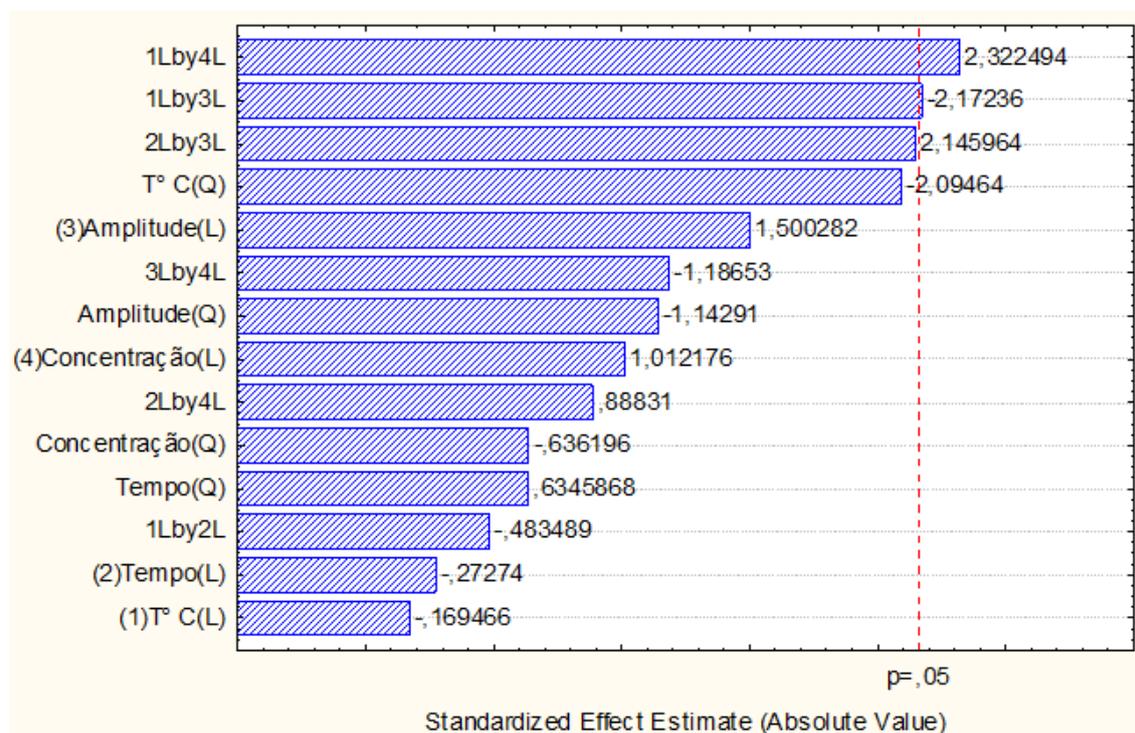
aos valores de pH 3,0 e 8,0. A diferença entre as cargas positivas e negativas facilita a emulsificação ao modificar as interações da proteína. No presente trabalho, com pH próximo a 7,2, metade dos ensaios conduzidos apresentaram resultados de AE superiores ao controle. O pH pode ter influenciado a AE, pois quanto mais próximo da alcalinidade maior o número de cargas negativas que facilitam a interação proteína-gordura. Hu et al., (2013a), utilizaram uma sonda US de 20 kHz durante 15 e 30 minutos, e observaram um aumento da solubilidade e da Ho na PIS. Os resultados sugerem uma redução do tamanho das partículas sem a necessidade da utilização de altas temperaturas e alteração de pH. No presente trabalho os ensaios 17 e 18 tratados durante 16 minutos nas temperaturas de 20 e 60 °C resultaram em valores de AE inferiores ao controle, o que pode indicar que essa faixa de temperatura não influenciou na AE.

Jambrak et al. (2009) observaram que quando aplicado tratamentos de 30 minutos e 20 kHz com sonda ou 15 minutos e 40 kHz em banho, a PIS apresentou um aumento da solubilidade e melhora significativa na AE após o tratamento US quando comparada com o controle, porém não houve diferença significativa entre os tratamentos. O efeito da cavitação gerado pela aplicação do US provoca um desdobramento da proteína e rompe as ligações peptídicas por hidrólise, este efeito altera a conformação estrutural da proteína de uma forma que os resíduos de aminoácidos hidrofílicos são reorientados em direção à água (JAMBRAK et al., 2008). No presente trabalho metade dos ensaios (21, 20, 24, 23, 25, 27, 26, 28, 7, 5, 15, 16, 10 e 19) resultaram em valores de AE superiores ao controle, com tempo de aplicação que variou entre 2 e 30 minutos, o que indica que houve uma influência do US na estrutura da PIS e conseqüentemente nos resultados de AE independente do tempo de aplicação.

Nazari et al. (2018) utilizaram uma sonda US de 20kHz nos tempos de 5, 12,5 e 20 minutos e amplitudes de 20%, 60% e 100% em proteína concentrada de painço e observaram melhores resultados de AE em amplitude de 100% no tempo de 12,5 minutos. Dos 14 ensaios de PIS que apresentaram AE superior ao controle no presente trabalho, 12 ensaios utilizaram amplitudes de 50 e 65%. Estes resultados sugerem o efeito positivo de amplitudes mais altas na AE e na modificação da estrutura da proteína. De acordo com o teste de ANOVA a análise de AE não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) com as variáveis utilizadas, porém no diagrama de Pareto a interação das variáveis de

temperatura (L) X concentração (L) e temperatura (L) X amplitude (L) apresentaram diferença significativa (Figura 12).

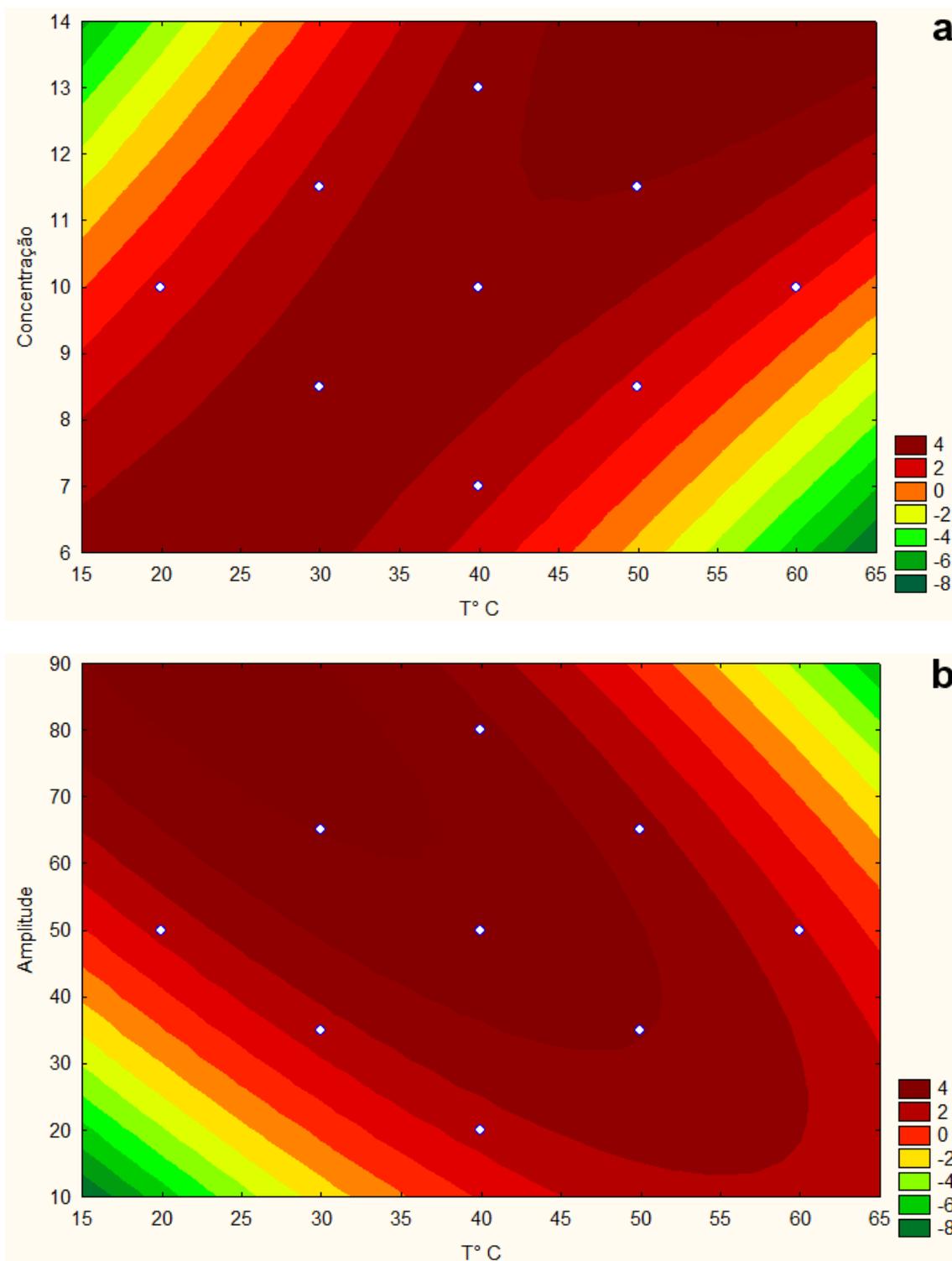
Figura 12 – Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados das variáveis estudadas relacionadas com a atividade emulsificante.



Nota: Q = quadrática; L = linear; 1Lby4L = temperatura (L) X concentração (L); 1Lby3L = temperatura (L) X amplitude (L).

A interação de concentração com a temperatura para a variável de atividade emulsificante (Figura 13 a), demonstra que os melhores resultados de AE seriam obtidos em concentrações entre 11-14% com temperaturas entre 40-65 °C. Zhang et al. (2011) avaliaram a AE do glúten de trigo utilizando US 20 kHz por 10 minutos e 25 °C em amplitudes de 60, 80 e 100% e observaram que à medida que a amplitude aumentava melhores resultados eram obtidos. O resultado foi atribuído a redução do tamanho das partículas da emulsão. Condições similares foram encontradas na segunda interação a qual apresentou as variáveis independentes de temperatura X amplitude (b). O uso de amplitudes entre 60-90% combinada com temperaturas entre 15-35 °C resultou em melhores valores de atividade emulsificante, o que sugere a possibilidade de resultados positivos de AE sem a utilização de altas temperaturas.

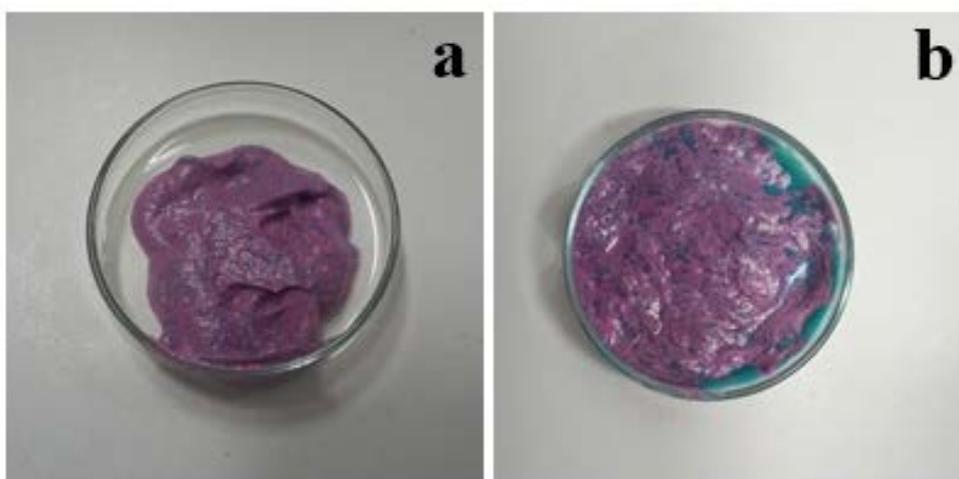
Figura 13 – Gráficos de superfície resposta da análise de atividade emulsificante, gerados a partir do diagrama de Pareto com as interações das variáveis temperatura X concentração (a) e temperatura X amplitude (b).



Ao comparar a emulsão formada com a PIS sem tratamento de US e a amostra do ensaio 28, tratada em US (Figura 14), pode-se observar que a

emulsão formada na amostra sem tratamento é mais estável (a). O uso dos corantes Vermelho de Sudan e Azul de Metileno torna possível a visualização da separação da água na emulsão (b). Apesar de separar as fases óleo-água visivelmente, o ensaio 28 (3,75mL) apresentou valor de AE superior ao da amostra controle (2,64mL). Zhu et al. (2018) utilizaram uma sonda US de 25kHz durante 15 ou 30 minutos com potência de 200, 400 e 600 W, em proteína isolada de noz e observaram que a AE aumentou significativamente após o tratamento US quando comparada com a amostra controle. Os resultados encontrados no estudo citado sugerem efeitos positivos da aplicação do US na AE, o que pode esclarecer a AE superior do ensaio 28 quando comparado com a amostra controle no presente estudo.

Figura 14 – Amostra de PIS sem tratamento US (a), e amostra de PIS submetida ao tratamento de US (b), ensaio número 28. Amostras após etapa de homogeneização, antes da centrifugação.



Nota: ensaio 28, foi aplicado US durante 16 minutos, com temperatura de 40 °C e amplitude de 50% em amostra de PIS com 10% de concentração.

5.7 ESTABILIDADE DA EMULSÃO (EE)

Durante a emulsificação, a função da proteína é adsorver na superfície das gotas recém-formadas prevenindo sua coalescência, essa habilidade deve-se a sua estrutura anfifílica. A estabilidade da emulsão (EE) refere-se à habilidade da proteína formar uma emulsão que permaneça inalterada durante tempo e condições específicas. O sucesso de um produto emulsionado depende

da habilidade da proteína em manter-se estável nos processos subsequentes (KINSELLA e MELACHOURIS, 1976; AL-KAHTANI e ABOU-ARAB, 1993; NISHINARI, 2014). A amostra controle de PIS formou 5,54mL de emulsão, a emulsão formada pelas amostras dos 28 ensaios variou entre 4,23 até 6,05mL (Tabela 9). Os resultados encontrados no presente estudo sugerem uma baixa EE dos 28 ensaios, sendo que apenas 3 amostras apresentaram volume de camada emulsificada superior ao da amostra controle, os ensaios 1 (6,05mL), 3 (5,64mL) e 4 (5,56mL).

Tabela 9 – Resultados (média \pm desvio padrão) da análise de estabilidade da emulsão (EE) nos diferentes ensaios em que foi submetido a proteína isolada de soja no modo de operação normal e frequência de 35 kHz no ultrassom.

Ensaio	Variáveis				EE (mL)
	T °C	T' min.	A(%)	Conc. (%)	
1	30	9	35	8,5	6,05 \pm 0,17
2	50	9	35	8,5	5,44 \pm 0,04
3	30	23	35	8,5	5,64 \pm 0,11
4	50	23	35	8,5	5,57 \pm 0,16
5	30	9	65	8,5	5,18 \pm 0,29
6	50	9	65	8,5	5,05 \pm 0,36
7	30	23	65	8,5	4,90 \pm 0,27
8	50	23	65	8,5	5,07 \pm 0,26
9	30	9	35	11,5	5,05 \pm 0,08
10	50	9	35	11,5	4,77 \pm 0,26
11	30	23	35	11,5	4,86 \pm 0,05
12	50	23	35	11,5	4,74 \pm 0,04
13	30	9	65	11,5	5,23 \pm 0,39
14	50	9	65	11,5	4,70 \pm 0,07
15	30	23	65	11,5	4,77 \pm 0,26
16	50	23	65	11,5	4,23 \pm 0,13
17	20	16	50	10	4,62 \pm 0,21
18	60	16	50	10	4,95 \pm 0,04
19	40	2	50	10	5,10 \pm 0,04
20	40	30	50	10	4,80 \pm 0,08
21	40	16	20	10	4,97 \pm 0,16
22	40	16	80	10	5,28 \pm 0,89
23	40	16	50	7	4,98 \pm 0,89
24	40	16	50	13	4,72 \pm 0,89
25	40	16	50	10	4,98 \pm 0,71
26	40	16	50	10	4,91 \pm 0,64
27	40	16	50	10	4,98 \pm 0,70
28	40	16	50	10	4,94 \pm 0,67
Controle					5,54 \pm 0,13

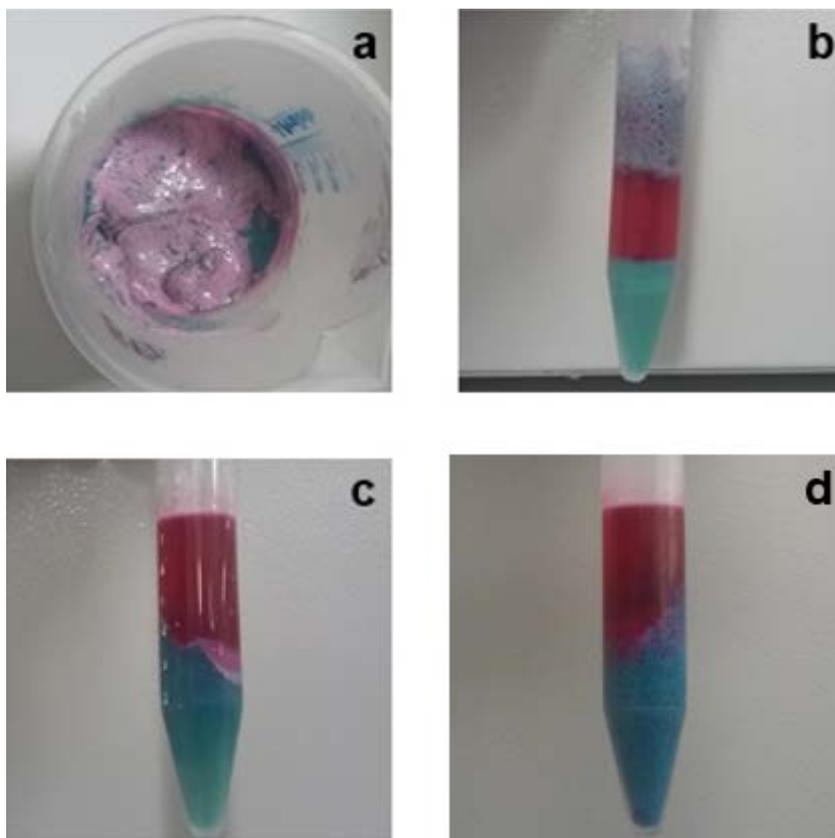
Nota: T °C = temperatura utilizada; T' min = tempo aplicação em minutos; A (%) = amplitude de onda utilizada; Conc. (%) = concentração da amostra de PIS.

Trabalhos conduzidos por Al-Kahtani e Abou-Arab (1993) e Jiang et al., (2009) avaliaram a EE da PIS, em diferentes valores de pH. Os melhores resultados obtidos foram encontrados em valores de pH extremos, entre 1,5 –

2,0 e 10,0 – 12,0, os resultados apresentados sugerem que a PIS apresentou estrutura mais capaz de estabilizar a emulsão em valores de pH mais extremos quando comparada com o controle em pH 7,0. Os resultados foram atribuídos ao aumento da H_o causado pelo desdobramento parcial da estrutura da PIS. No presente trabalho o pH das amostras tratadas variou entre 7,1 e 7,3, fator que pode ter influenciado a exposição dos grupos hidrofóbicos da PIS.

A amostra referente ao ensaio 28 (Figura 15), não apresentou boa homogeneidade após agitação em 1200rpm por 15 minutos (a). Ao passar por banho-maria durante 30 minutos a 80 °C a amostra separou visivelmente (b) e após a etapa de centrifugação a separação foi mais evidente (c). Com a utilização dos corantes Vermelho de Sudan (lipossolúvel) e Azul de Metileno (hidrossolúvel) foi possível observar que a PIS absorveu aproximadamente a metade da quantidade total de gordura adicionada. A amostra apresentou duas fases (c), na parte superior está a gordura não absorvida na cor vermelha e na base, em cor azul, está a água e a PIS. Todos os 28 ensaios e o controle (d) apresentaram o mesmo comportamento descrito. Taha et al. (2018) observaram um comportamento semelhante ao avaliarem a EE da PIS após tratamento térmico de 50 °C e 90 °C por 30 minutos, as amostras apresentaram instabilidade com a elevação da temperatura, observaram que o tratamento térmico causava uma interação seletiva entre as subunidades 7S e 11S formando emulsões instáveis, este resultado pode justificar a separação de fases observada nos testes conduzidos no presente trabalho (Figura 15).

Figura 15 – Fases do teste de estabilidade de emulsão, ensaio 28. Emulsão recém-formada (a), a emulsão após banho-maria 80 °C, com separação das fases, na parte superior está a emulsão formada, no meio a gordura não absorvida e na base está a água e a PIS não emulsionadas (b), as imagens (c) e (d) apresentam o resultado final após centrifugação do ensaio 28 e da amostra controle, respectivamente.

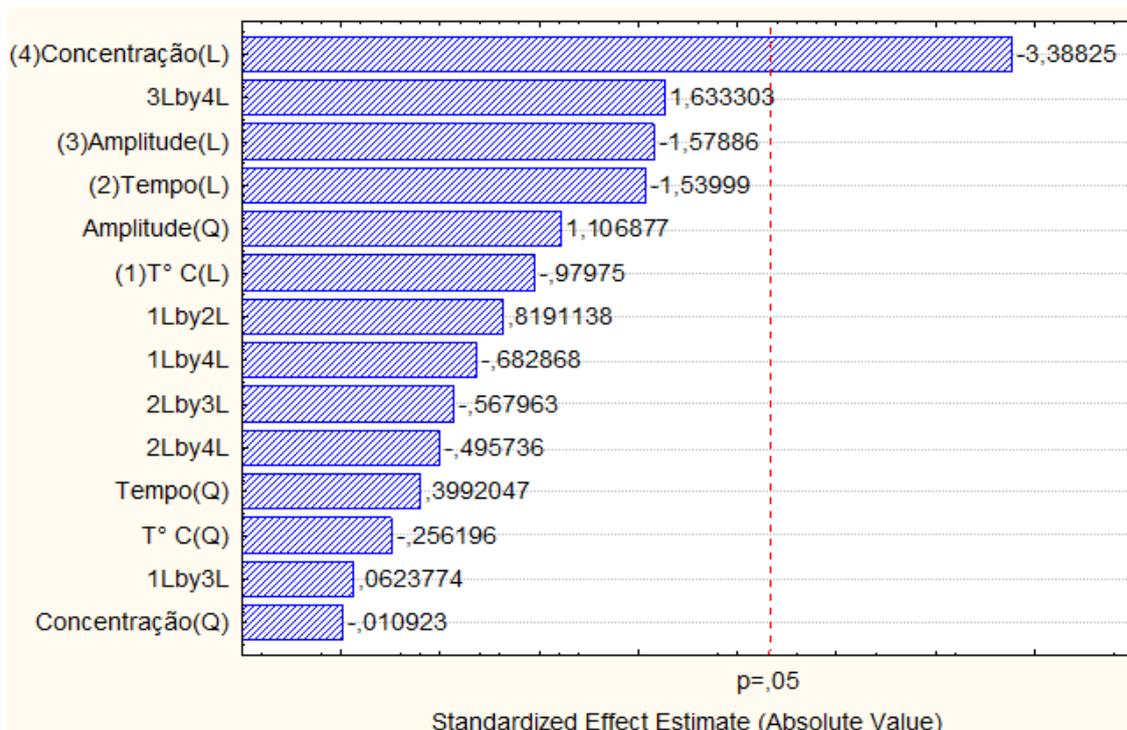


Nota: ensaio 28, foi aplicado US durante 16 minutos, com temperatura de 40 °C e amplitude de 50% em amostra de PIS com 10% de concentração.

O teste de ANOVA apresentou diferença significativa ($p \leq 0,05$) para a análise de EE em relação a variável independente de concentração, resultado de acordo com o diagrama de Pareto (Figura 16). O'Sullivan, Park e Beevers (2016) utilizaram uma sonda US de 20 kHz, 95% de amplitude por 2 minutos e observaram que a EE ao longo de 28 dias foi superior na amostra tratada quando comparada com a amostra controle na mesma concentração de PIS, porém quando a concentração de PIS do controle era maior do que da amostra tratada, ambas exibiram o mesmo comportamento de EE. No presente trabalho a maior amplitude utilizada foi 80% no ensaio 22 ($5,28 \pm 0,89$), o resultado de EE foi superior ao do controle ($5,54 \pm 0,13$), o que sugere que houve efeito da amplitude

da onda US na estrutura da PIS de modo que a utilização de uma concentração baixa pode resultar em uma boa estabilidade de emulsão.

Figura 16 – Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados das variáveis estudadas relacionadas com a análise de estabilidade da emulsão.



Nota: Q = quadrática; L = linear.

5.8 CAPACIDADE ESPUMANTE (CE)

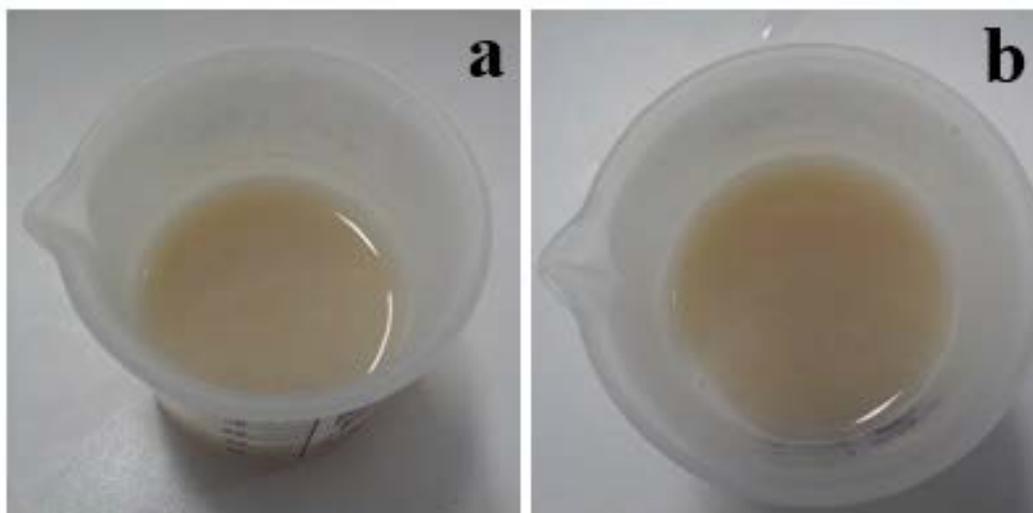
A capacidade espumante (CE) pode ser afetada por diversas variáveis, como método utilizado, o tipo e a concentração de proteína, enquanto que a velocidade de agitação influencia no aumento do volume da espuma. A utilização de velocidades entre 2000 e 3000 rpm na formação de espumas utilizando proteínas extraídas da batata resultaram em um aumento gradual no volume produzido, ao empregar velocidades acima de 3000 rpm a espuma apresentou características diferentes, com estrutura mais firme e bolhas visivelmente menores (KONINGSVELD et al., 2002). No presente trabalho, em todos os ensaios realizados com a PIS para avaliar a formação da espuma, a velocidade de agitação foi de 1200 rpm, velocidade essa menor do que a empregada no experimento citado anteriormente, podendo ser a causa da não produção de espuma.

Morales et al. (2015) avaliaram a formação de espuma da PIS tratada com uma sonda ultrassônica de 20 kHz, com amplitude de 20%, 20 minutos de aplicação e temperaturas de 75, 80 e 85 °C. A formação de espuma aumentou 240% com a combinação do US nas três temperaturas utilizadas. O uso do US melhorou a capacidade de formação de espuma, sem diferença significativa na estabilidade. No presente trabalho a maior temperatura de aplicação utilizada foi de 60 °C durante 16 minutos e 50% de amplitude, onde apenas a amplitude foi superior ao estudo citado anteriormente. A diferença entre as condições de aplicação pode sugerir que a temperatura e o tempo utilizados não foram suficientes para promoverem alterações estruturais na PIS utilizada para ocorrer a formação de espuma, mesmo empregando uma amplitude maior.

Arzeni, Pérez e Pilosof (2012) atribuíram a redução da viscosidade e da formação de espuma em amostras de clara de ovo a efeitos negativos do uso de US. Foram utilizadas frequência de 20 kHz, amplitude de 20% e 20 minutos de aplicação com temperaturas próximas de 49 °C, condições essas similares as utilizadas no presente trabalho, onde a frequência de 35kHz e temperatura de 50 °C foi associada com as duas amplitudes de aplicação, 35% e 65%. Os resultados obtidos sugerem que a temperatura influencia mais na aplicação do US, pois independente da amplitude utilizada não houve formação de espuma nas amostras de PIS tratadas.

Damodaran et al. (2010) relatam que a formação de espumas estabilizadas por proteínas é mais estável em pH próximo do pI, nesta região a falta de interações repulsivas torna favorável a interação proteína-proteína com maior adsorção da proteína à interface. O valor do pH utilizado nas amostras do presente trabalho foi próximo da neutralidade enquanto o pI da amostra de PIS é de 4,5. Martin et al. (2002) relataram que a globulina glicínica apresenta melhor CE em pH 3,0 do que em pH 6,7. As amostras de PIS no presente estudo possuíam pH entre 7,1 e 7,3 e não houve formação de espuma (Figura 20) tanto na amostra controle (a) quanto nas amostras tratadas (b). Como a PIS é constituída por aproximadamente 46% de glicínica, o pH utilizado pode não ter favorecido a formação de espuma.

Figura 17 – Espuma da amostra de PIS sem tratamento por US (a) e de amostra de PIS que passou por tratamento com US (b), referente ao ensaio 28 com velocidade de agitação de 1200 rpm durante 3 minutos.



Nota: ensaio 28, foi aplicado US durante 16 minutos, com temperatura de 40 °C e amplitude de 50% em amostra de PIS com 10% de concentração.

5.9 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (AA)

A oxidação pode deteriorar a qualidade, sabor, aroma, cor e textura dos alimentos e seu principal foco são lipídeos e proteínas. A oxidação lipídica geralmente envolve radicais livres com formação de compostos carbonílicos de baixo peso molecular. Em proteínas, resíduos de aminoácidos que contém grupos sulfidril ou anéis aromáticos podem ser oxidados e estas modificações podem alterar a eficácia dos peptídeos na estabilização durante a preparação ou armazenamento de uma emulsão (ELIAS et al., 2008; ZHAO e Xiong, 2015). A presença dos aminoácidos fenilalanina, triptofano e tirosina que possuem anéis aromáticos e o conteúdo de enxofre nas globulinas 7S e 11S torna possível a oxidação proteica da PIS. Por outro lado, os fragmentos de peptídeos da fração 11S, valina ou leucina na posição N-terminal e prolina, histidina e tirosina apresentam potencial antioxidante, sua ação está relacionada com a composição, estrutura e hidrofobicidade (CHEN et al., 1996; SARMADI e ISMAIL, 2010).

A oxidação de lipídios e proteínas em sistemas alimentares dependem de diversos fatores, como a composição do alimento, a presença de pró-oxidantes

e antioxidantes, exposição ao oxigênio, luz e temperatura (BARTOSZ, 2014). A técnica utilizada neste trabalho, leva em consideração a temperatura e fluxo de oxigênio. Para avaliar a AA, uma amostra controle, composta apenas pelo azeite de oliva mantida nas mesmas condições em que foram realizados os ensaios, foi empregada para comparação. O tempo de indução obtido nos 28 ensaios variou entre 2,77 a 3,46 e a amostra controle foi de 3,33 (Tabela 10). A variação do tempo de indução nos ensaios não apresentou diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre eles e quando comparado com a amostra controle pelo teste de ANOVA. Os resultados demonstram que os fragmentos peptídicos que apresentam potencial antioxidante não foram expostos quando submetidos aos diferentes tratamentos realizados.

Tabela 10 – Resultados (média \pm desvio padrão) da análise de atividade antioxidante (AA) nos diferentes ensaios em que foi submetido a proteína isolada de soja no modo de operação normal e frequência de 35 kHz no ultrassom.

Ensaio	Variáveis				AA (h)
	T °C	T' min.	A (%)	Conc. (%)	
1	30	9	35	8,5	3,30 \pm 0,00
2	50	9	35	8,5	3,23 \pm 0,04
3	30	23	35	8,5	3,33 \pm 0,06
4	50	23	35	8,5	3,32 \pm 0,16
5	30	9	65	8,5	3,28 \pm 0,01
6	50	9	65	8,5	3,23 \pm 0,00
7	30	23	65	8,5	2,77 \pm 0,08
8	50	23	65	8,5	3,41 \pm 0,07
9	30	9	35	11,5	3,31 \pm 0,03
10	50	9	35	11,5	3,31 \pm 0,07
11	30	23	35	11,5	3,35 \pm 0,04
12	50	23	35	11,5	3,26 \pm 0,11
13	30	9	65	11,5	3,25 \pm 0,04
14	50	9	65	11,5	3,23 \pm 0,04
15	30	23	65	11,5	3,30 \pm 0,09
16	50	23	65	11,5	3,38 \pm 0,03
17	20	16	50	10	3,29 \pm 0,04
18	60	16	50	10	3,40 \pm 0,05
19	40	2	50	10	3,39 \pm 0,06
20	40	30	50	10	3,30 \pm 0,04
21	40	16	20	10	3,33 \pm 0,16
22	40	16	80	10	3,46 \pm 0,02
23	40	16	50	7	3,27 \pm 0,00
24	40	16	50	13	3,27 \pm 0,03
25	40	16	50	10	3,31 \pm 0,07
26	40	16	50	10	3,33 \pm 0,06
27	40	16	50	10	3,30 \pm 0,12
28	40	16	50	10	3,41 \pm 0,02
Controle	-	-	-	-	3,33 \pm 0,04

Nota: T °C = temperatura utilizada; T' min = tempo aplicação em minutos; A (%) = amplitude de onda utilizada; Conc. (%) = concentração da amostra de PIS.

O azeite de oliva é rico em ácidos graxos monoinsaturados, como o ácido oleico, baixo em ácidos graxos saturados e contém compostos fenólicos que apresentam propriedades antioxidantes (NOGUEIRA-DE-ALMEIDA et al., 2015),

por este motivo foi utilizado como controle no experimento. Gharby et al. (2016), avaliaram a estabilidade oxidativa do azeite de oliva virgem das variedades Arebiquina, Picholine, Picual e Koroneiki, cultivadas no Marrocos em temperaturas entre 100 a 150 °C. Na temperatura de 140 °C com fluxo de ar de 20 L/h os resultados obtidos foram entre 1,4 e 4,4 horas, esta diferença foi atribuída a composição dos azeites utilizados, que variaram no conteúdo de ácidos graxos, esterol, tocoferol e conteúdo total de fenol. Resultados semelhantes foram obtidos no presente trabalho, a amostra controle de azeite de oliva apresentou estabilidade oxidativa durante 3,33 horas na temperatura de 140 °C e fluxo de ar de 20 L/h.

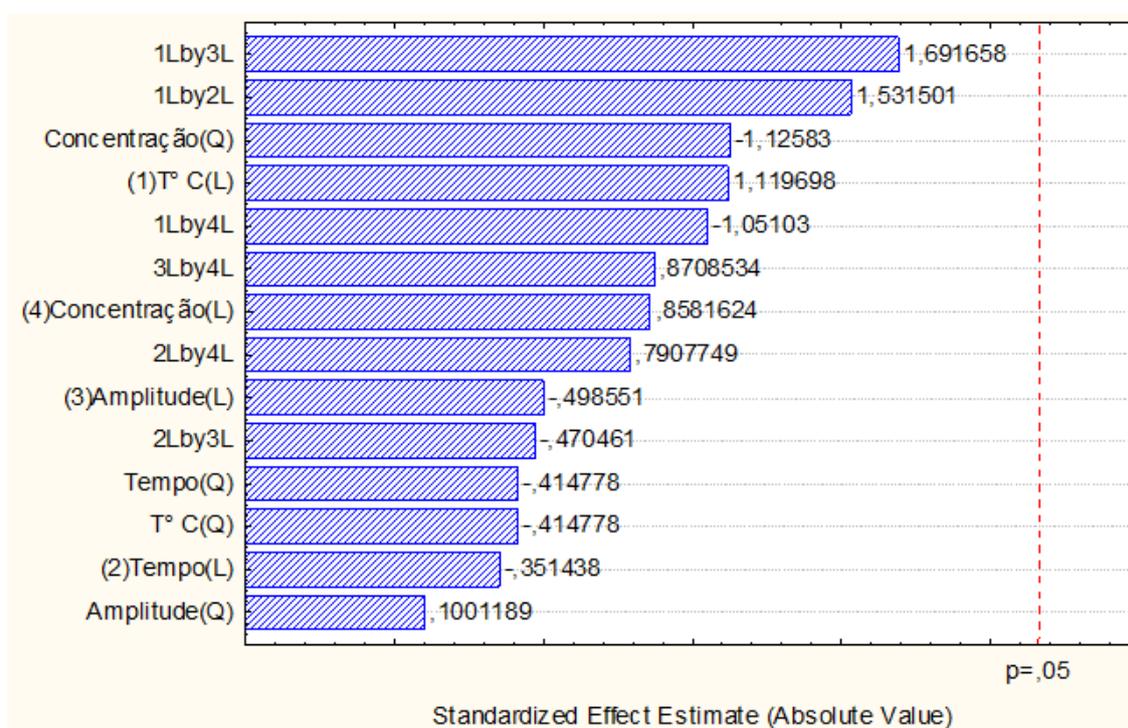
Entre as amostras avaliadas neste trabalho a que obteve maior tempo de indução foi a amostra 22 (3,46h), resultado semelhante ao encontrado na literatura para o índice de estabilidade do azeite de oliva, porém o resultado não apresentou diferença significativa entre as amostras com PIS e a controle. Farhoosh e Hoseini-Yazdi (2014) avaliaram o índice de estabilidade do azeite de oliva extra virgem em diferentes temperaturas. Os resultados obtidos para cada temperatura foram de 37,7h (100 °C), 15,2h (110 °C), 6,5h (120 °C) e 2,9h (130 °C). Podemos observar uma relação entre o aumento de 10 °C na temperatura com uma redução no tempo de indução aproximadamente pela metade.

O menor valor de AA (Tabela 10) foi observado na menor concentração de proteína utilizada o que poderia indicar uma relação positiva entre o aumento da concentração de PIS e seu potencial antioxidante. Chen et al. (2007), avaliaram a atividade antioxidante de diferentes concentrações da proteína hidrolisada de amendoim. As concentrações aplicadas variaram entre 0,2 a 20mg mL⁻¹ de proteína e observaram que o potencial antioxidante aumentou em amostras com maiores concentrações de proteínas. No presente trabalho 10 ensaios obtiveram resultados de tempo de indução superior ao da amostra controle. A frequência de 35 kHz utilizada pode não ter resultado em mudanças suficientes para a hidrólise e desdobramento da estrutura da PIS para expor os peptídeos necessários para uma AA significativa.

Peña-Ramos e Xiong (2002) compararam uma amostra de PIS sem tratamento com outra onde foi aplicado o efeito combinado de hidrólise enzimática com temperaturas de 37 e 50 °C e observaram que a amostra tratada

apresentou atividade antioxidante maior. No presente trabalho temperaturas entre 20-60 °C foram utilizadas, apesar da PIS apresentar naturalmente um potencial antioxidante devido a sua estrutura a diferença não foi significativa com a variável de temperatura. O teste de ANOVA aplicado na análise de atividade antioxidante não apresentou diferença significativa ($p \leq 0,05$) com as variáveis independentes, resultado de acordo com o diagrama de Pareto (Figura 18).

Figura 18 – Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados das variáveis estudadas relacionadas com a análise de atividade antioxidante.



Nota: L = linear; Q = quadrática.

6 CONCLUSÃO

A temperatura influenciou significativamente nas análises de umidade e capacidade de retenção de gordura, e a interação entre a temperatura e amplitude foi significativa nas análises de umidade e atividade emulsificante. A amplitude influenciou significativamente na análise de pH e a interação entre a amplitude e a concentração foi significativa nas análises de umidade e pH. O efeito de cavitação gerado pelo ultrassom pode ter promovido um desdobramento da estrutura da proteína alterando assim sua conformação

estrutural. O uso de amplitudes mais altas pode modificar de forma positiva as propriedades tecnológicas das proteínas sem a utilização de altas temperaturas demonstrando a possibilidade do uso do ultrassom como alternativa para os processamentos térmicos convencionais.

A concentração influenciou significativamente nas análises de pH, capacidade de retenção de água e estabilidade da emulsão e a interação entre a concentração e temperatura foi significativa para a análise de atividade emulsificante. Concentrações mais altas de proteínas podem ter possibilitado maior número de sítios disponíveis para ligações, porém as modificações estruturais produzidas pelo ultrassom, expõe as zonas hidrofóbicas que estavam no interior da estrutura da proteína aumentando sua superfície de hidrofobicidade. O tempo de aplicação foi a única variável independente que não influenciou significativamente nos ensaios conduzidos. A aplicação do US pela indústria de alimentos é uma abordagem segura que pode melhorar as propriedades tecnológicas das proteínas aumentando o rendimento de produção e reduzindo custos.

REFERÊNCIAS:

ASHOKKUMAR, M. et al. **Modification of Food Ingredients by Ultrasound to Improve Functionality: A Preliminary Study on a Model System.** Innovative Food Science and Emerging Technologies. v.9, p. 155-160. 2008.

AL-KAHTANI, H. A.; ABOU-ARAB, A. A. **Comparison of Physical, Chemical, and Functional Properties of *Moringa peregrina* (Al-Yassar or Al-Ban) and Soybean Proteins.** Cereal Chem. v. 70, n. 6, p. 619-626. 1993.

ALMEIDA, G. P. D. **Avaliação de Resíduos de Glyphosate e AMPA, Produtividade, Teor de Óleo, Conteúdo de Proteína Bruta e Aminoácidos na Soja (*Glycine max* (L) Merrill) Resistente ao Glyphosate.** 2011, 107 p. Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

ALVES, C. Q. et al. **Métodos para Determinação de Atividade Antioxidante *In Vitro* em Substratos Orgânicos.** Quim. Nova, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.

AÑÓN, M.C.; LAMBALLERIE, M. de.; SPERONI, F. **Effect of High pressure on solubility and Aggregability of Calcium-Added Soybean Proteins.** Innovative Food Science and Emerging Technologies. v. 16, p. 155-162, 2012.

AOAC, Official Methods of Analysis of the **Association of Official Analytical Chemists.** 16th ed. v. 2, AOAC: New York, 1998.

APARICIO, R. et al. **Effect of Various Compounds on Virgin Olive Oil Stability Measured by Rancimat.** J. Agric. Food Chem., v. 47, p. 4150-4155, 1999.

ARVANITOYANNIS, I. S.; KOTSANOPOULOS, K. V.; SAVVA, A. G. **Use of Ultrasounds in the Food Industry – Methods and Effects on Quality, Safety and Organoleptic Characteristics of Foods: A Review.** Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v. 57, n. 1, p. 109-128, out., 2015.

ARZENI, C. et al. **Comparative Study of High Intensity Ultrasound Effects on Food Proteins Functionality.** Journal of Food Engineering., v. 108, p. 463-472. 2012.

ARZENI, C.; PÉREZ, O. E.; PILOZOF, A. M. R. **Functionality of Egg White Proteins as Affected by High Intensity Ultrasound.** Food Hydrocolloids, v. 29, p. 308-316, 2012.

AUGUSTIN, M. A. et al. **High Shear Treatment of Concentrates and Drying Conditions Influence the Solubility of Milk Protein Concentrate Powders.** Journal of Dairy Research, v. 79, p. 459-468, 2012.

BARBOSA, A. C. L. et al. **Teores de Isoflavonas e Capacidade Antioxidante da Soja e Produtos Derivados.** Ciência Tecnologia Alimentos. v. 26, n. 4, p. 921-926, out/dez, 2006.

BARTOSZ, G. **Food Oxidants and Antioxidants: Chemical, Biological, and Functional Properties**. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, 2014.

BISCEGLI, C. I. **Conceitos da Física do Ultra-som**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. São Carlos, SP: Embrapa Instrumentação Agropecuária, USP, 2003.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Decreto nº50040, de 24 de janeiro de 1961**. Dispõe sobre as Normas Técnicas Especiais Reguladoras do Emprego de Aditivos Químicos a Alimentos. Brasília, 1961.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Resolução CNNPA nº 14, de 28 de junho de 1978**. A Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos, em conformidade com o disposto no Capítulo V, artigo 28, do Decreto-Lei nº 986, de 21 de outubro de 1969, resolveu estabelecer o padrão de identidade e qualidade para Farinha Desengordurada de Soja, Proteína Texturizada de Soja, Proteína Concentrada de Soja, Proteína Isolada de Soja e Extrato de Soja. Brasília, 1978.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e do Abastecimento – MAPA. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instrução normativa nº4, de 31 de março de 2000**. Aprovar os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Linguiça e de Salsicha. Brasília, 2000.

CÁRCEL, J. A. et al. **Food Process Innovation Through New Technologies: Use of Ultrasound**. Journal of Food Engineering. v. 110, p. 200-207. 2012.

CARP, D. J.; BARTHOLOMAI, G. B.; PILOSOFF, A. M. R. **A Kinetic Model to Describe Liquid Drainage from Soy Protein Foams Over an Extensive Protein Concentration Range**. Lebensm. Wiss. Technol., v. 30, p. 253-258, 1997.

CHANDRAPALA, J. et al. **Effects of Ultrasound on The Thermal and Structural Characteristics of Proteins in Reconstituted Whey Protein Concentrate**. Ultrasonics - Sonochemistry, v. 18, p. 951-957, 2011.

CHEN, G. et al. **In Vitro Study on Antioxidant Activities of Peanut Protein Hydrolysate**. Journal of The Science of Food and Agriculture, v. 87, p. 357-362, 2007.

CHEN, H. et al. **Antioxidant Activity of Designed Peptides Based on the Antioxidative Peptide Isolated from Digests of a Soybean Protein**. J. Agric. Food Chem., v. 44, p. 2619-2623, 1996.

CHEN, H; MURAMOTO, K.; YAMAUCHI, F. **Structural Analysis of Antioxidative Peptides from Soybean β -conglycinin**. J. Agric. Food Chem., v. 43, p. 574-578, 1995.

CHEN, L. et al. **Effects of Ultrasound Pretreatment on the Enzymatic Hydrolysis of Soy Protein Isolates and on the Emulsifying Properties of Hydrolysates.** Journal of Agricultural and Food Chemistry. v. 59, p. 2600-2609. 2011b.

CHEN, L. et al. **Modifications of Soy Protein Isolates Using Combined Extrusion Pre-Treatment and Controlled Enzymatic Hydrolysis for Improved Emulsifying Properties.** Food Hydrocolloids. v. 25, p. 887-897. 2011a.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Perspectivas Para Agropecuária.** CONAB, v. 5, p. 1-111, Ago, Brasília, 2017.

CRISTAS, A. S. A. **Capacidade de Retenção de Água e de Gordura de Diferentes Concentrados Proteicos Usados em Produtos Cárneos Emulsificados.** 2012, 53 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar) Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa. 2012.

DAMODARAN, S. **Protein Stabilization of Emulsions and Foams.** Journal of Food Science, v. 70, n. 3, 2005.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema.** 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900 p.

ELIAS, R. J.; KELLERBY, S. S.; DECKER, E. A. **Antioxidant Activity of Proteins and Peptides.** Food Science and Nutrition, v. 48, n. 5, p. 430-441, 2008.

EMBRAPA. Gado de Leite. **Indicadores Agrícolas.** Ano 8, n. 64, dez, Juiz de Fora, 2017a.

EMBRAPA. Secretaria de Comunicação. **EMBRAPA EM NÚMEROS.** Brasília, 2017b.

FACCHINI, L. **Avaliação das Características Físicas e Aceitação Sensorial de Salsicha Processada com Fécula de Mandioca (*Manihot esculenta*, *Crantz*) Esterificada.** 2016. 47 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2016.

FARHOOSH, R.; HOSEINI-YAZDI, S. **Evolution of Oxidative Values During Kinetic Studies on Olive Oil Oxidation in The Rancimat Test.** J Am Oil Chem Soc, v. 91, p. 281-293, 2014.

FENG, H.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.; WEISS, J. **Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing.** Oxford: Springer, 2010.

FOEGEDING, E. A.; LUCK, P. J.; DAVIS, J. P. **Factors Determining the Physical Properties of Protein Foams.** Food Hydrocolloids, v. 20, p. 284-292, 2006.

FONTANARI, G. G. et al. **Isolado Protéico de Semente de Goiaba (*Psidium guajava*) : Caracterização de Propriedades Funcionais**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 27, n. 1, p. 73-79, 2007.

GHARBY, S. et al. **Chemical Characterization and Kinetic Parameter Determination Under Rancimat Test Conditions of Four Monovarietal Virgin Olive Oils Grow in Morocco**. OCL – Oilseeds & Fats Crops and Lipids, v. 23, n. 4, A401, 2016.

GÓES-FAVONI, S. P. et al. **Isoflavonas em Produtos Comerciais de Soja**. Ciênc. Tecnol. Aliment. v.24, n 4, p. 582-586, out-dez, 2004.

HIGUERA-BARRAZA, O. A. et al. **Effects of High-Energy Ultrasound on The Functional Properties of Proteins**. Ultrasonics - Sonochemistry, v. 31, p. 558-562, 2016.

HU, H. et al. **Effects of Ultrasound on Structural and Physical Properties of Soy Protein Isolate (SPI) Dispersions**. Food Hydrocolloids, v. 30, p. 647-655, 2013 a.

HU, H. et al. **Acid-induced Gelation Behavior of Soybean Protein Isolate with High Intensity Ultrasonic Pre-Treatments**. Ultrasonics Sonochemistry, v. 20, p. 187-195, 2013 b.

HORUZ, E. ; JAAFAR, H. J. ; MASKAN, M. **Ultrasonication as Pretreatment for Drying of Tomato Slices in a Hot Air-microwave Hybrid Oven**. Dryin Technology, v. 35, p. 849-859, 2017.

JAMBRAK, A. R. et al. **Effect of Ultrasound Treatment on Solubility and Foaming Properties of Whey Protein Suspensions**. Journal of Food Engineering. v.86, p. 281-287. 2008.

JAMBRAK, A. R. et al. **Physical Properties of Ultrasound Treat Soy Proteins**. Journal of Food Engineering, v. 93, p. 386-393, 2009.

JARDIM, W. F. **Medição e Interpretação de Valores do Potencial Redox (E_H) em Matrizes Ambientais**. Quim. Nova, v. 37, n. 7, p. 1233-1235. 2014.

JAYASOORIYA, S. D. et al. **Effect of High Power Ultrasound Waves on Properties of Meat: A Review**. International Journal of Food Properties. v. 7, n. 2, p. 301-319. 2004.

JAYASOORIYA, S. D. et al. **Effect of High Power Ultrasound and Ageing on the Physical Properties of Bovine Semitendinosus and Longissimus Muscles**. Meat Science. v. 75, p. 628-639. 2007.

JIANG, J.; CHEN, J.; XIONG, Y. L. **Structural and Emulsifying Properties of Soy Protein Isolate Subjected to Acid and Alkaline pH-Shifting Processes**. J. Agric. Food Chem., v. 57, p. 7576-7583, 2009.

JIANG, J.; XIONG, Y. L.; CHEN, J. **pH Shifting Alters Solubility Characteristics and Thermal Stability of Soy Protein Isolate and its Globulin Fractions in Different pH, Salt Concentration, and Temperature Conditions.** J. Agric. Food Chem. v. 58, p. 8035-8042. 2010.

JOSÉ, J. F. B. De SÃO. **Sanitização por Ultrassom e Agentes Químicos no Processamento Mínimo de Hortaliças.** 2009, 102 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

KARKI, B. et al. **Functional Properties of Soy Protein Isolates Produced from Ultrasonicated Defatted Soy Flakes.** J. Am. Oil Chem. Soc., v. 86, p. 1021-1028, 2009.

KENTISH, S.; FENG, H. **Applications of Power Ultrasound in Food Processing.** The Annual Review of Food Science and Technology. v.5, p. 263-284. 2014.

KINSELLA, J. E.; MELACHOURIS, N. **Functional Properties of Proteins in Foods: A Survey.** C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition. v.7, n.3, p. 219-280. 1976.

KNEIFEL, W. et al. **Water-Holding Capacity of Proteins with Special Regard to Milk Proteins and Methodological Aspects – A Review.** J. Dairy Sci., v. 74, p. 2027-2041. 1991.

KONINGSVELD, G. A. V. et al. **Formation and Stability of Foam Made with Various Potato Protein Preparations.** J. Agric. Food Chem., v. 50, p. 7651-7659. 2002.

LACERDA, L. D. **Avaliação das Propriedades Físico-Químicas de Proteína Isolada de Soja, Amido e Glúten e Suas Misturas.** 2008. 91 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

LEE, Y. et al. **Effects of Soy Protein Hydrolysates Prepared by Varying Subcritical Media on The Physicochemical Properties of Pork Patties.** Korean J. Food Sci. An., v. 36, n. 1, p. 8-13, 2016.

LEGAY, M. et al. **Enhancement of Heat Transfer by Ultrasound: Review and Recent Advances.** International Journal of Chemical Engineering, 2011.

LIN, M. J.; HUMBERT, E.; SOSULSKI, F. W. **Certain Functional Properties of Sunflower Meal Products.** J. Food Sci., v. 39, p. 368-370. 1974.

LUI, M. C. Y. et al. **Isoflavonas em Isolados e Concentrados Proteicos de Soja.** Ciênc. Tecnol. Aliment., v. 23, p. 206-212, dez, Campinas, 2003.

MALIK, M. A.; SHARMA, H. K.; SAINI, C. S. **High Intensity Ultrasound Treatment of Protein Isolate Extracted from Dephenolized Sunflower Meal:**

Effect on Physicochemical and Functional Properties. Ultrasonics - Sonochemistry, v. 39, p. 511-519, 2017.

MANTOVANI, D. et al. **Método de Validação e Separação de Isoflavonas Presentes em Melaço de Soja.** e-xacta, v. 11, n. 1, p. 97-107, 2018.

MARCINKOWSKI, E. de A. **Estudo da Cinética de Secagem, Curvas de Sorção e Predição de Propriedades Termodinâmicas da Proteína Texturizada de Soja.** 2006. 128 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

MARTIN, A. H. et al. **Network Forming Properties of Various Proteins Absorbed at The Air/Water Interface in Relation to Foam Stability.** Journal of Colloid and Interface Science, v. 254, p. 175-183, 2002.

MCCLEMENTS, D. J. **Protein-Stabilized Emulsions.** Current Opinion in Colloid & Interface Science, v. 9, p. 305-313. 2004.

MIRANDA, L. C. **Obtenção e Caracterização de Hidrolisados Enzimáticos de Proteínas do Farelo de Soja.** 2012. 127 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2012.

MORAES, R. M. A. **Caracterização Bioquímica de Linhagens de Soja com Alto Teor de Proteína.** Pesq. Agropec. Bras., v.41, n. 5, p. 725-729, Maio, 2006.

MORAIS, A. A. C.; SILVA, A. L. da. **Soja: Suas Aplicações.** Belo Horizonte, Editora Medsi, 1996.

MORALES, R. et al. **Modification of Foaming Properties of Soy Protein Isolate by High Ultrasound Intensity: Particle Size Effect.** Ultrasonics - Sonochemistry. 2015.

MOLINA, E.; PAPADOPOULOU, A.; LEDWARD, D. A. **Emulsifying Properties of High Pressure Treated Soy Protein Isolate and 7S and 11S Globulins.** Food Hydrocolloids, v. 15, p. 263-269, 2001.

MOURE, A.; DOMÍNGUEZ, H.; PARAJÓ, J. C. **Antioxidant Properties of Ultrafiltration-Recovered Soyprotein Fractions from Industrial Effluents and Their Hydrolyates.** Process Biochemistry, v. 41, p. 447-456, 2006.

NASCIMENTO, E. S. Do. **Obtenção de Hidrolizado Proteico de Sementes de Quiabo *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench e Sua Capacidade Antioxidante.** 2015, 82 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2015.

NAZARI, B. et al. **Effect of Ultrasound Treatments on Functional Properties and Structure of Millet Protein Concentrate.** Ultrasonics - Sonochemistry, v. 41, p. 382-388, 2018.

NISHINARI, K. et al. **Soy Proteins: A Review on Composition, Aggregations and Emulsification.** Food Hydrocolloids. v.39, p.301-318, 2014.

NOGUEIRA-DE-ALMEIDA, C. A. et al. **Azeite de Oliva e Suas Preparações Quentes: Revisão da Literatura.** International Journal of Nutrology, v. 8, n. 2, p. 13-20, mai/ago, 2015.

OETTERER, M.; REGINATO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO M. H. F. **Fundamentos da Ciência e Tecnologia de Alimentos.** 1. ed. Barueri: Manole, 2006. 664 p.

OLIVEIRA, C. F. de. et al. **Soy Protein Hydrolysis With Microbial Protease to Improve Antioxidant and Functional Properties.** J. Food Sci. Technol, 2014.

O'SULLIVAN, J. et al. **The Effect of Ultrasound Treatment on the Structural, Physical and Emulsifying Properties of Animal and Vegetable Proteins.** Food Hydrocolloids, v. 53, p. 141-154, 2016.

O'SULLIVAN, J.; PARK, M.; BEEVER, J. **The Effects of Ultrasound Upon the Physicochemical and Emulsifying Properties of Wheat and Soy Proteins Isolates.** Journal of Cereal Science, v. 69, p. 77-84, 2016.

PADILLA, F. C.; ALVAREZ, M. T.; ALFARO, M. J. **Functional Properties of Barinas Nut Flour (*Cardendron orinocense* Karst., Euphorbiaceae) Compared to Those of Soybean.** Food Chemistry, v. 57, n. 2, p. 191-196, 1996.

PATIST, A.; BATES, D. **Ultrasonic Innovations in the Food Industry: From the Laboratory to Commercial Production.** Innovative Food Science and Emerging Technologies, v. 9, p. 147-154, 2008.

PAULETTO, F. B.; FOGAÇA, A. de O. **Avaliação da Composição Centesimal de Tofu o Okara.** Disc. Scientia, v. 13, n. 1, p. 85-95, 2012.

PEÑA-RAMOS, E. A.; XIONG, Y. L. **Antioxidant Activity of Soy Protein Hydrolysates in a Liposomal System.** Journal of Food Science, v. 67, n. 8, 2002.

PEÑA-RAMOS, E. A.; XIONG, Y. L. **Whey and Soy Protein Hydrolysates Inhibit Lipid Oxidation in Cooked Pork Patties.** Meat Science, v. 64, p. 259-263, 2003.

PICÓ, Y. **Análise Química dos Alimentos: Técnicas.** [S.I.], Editora Elsevier, 2015.

PINGRET, D.; FABIANO-TIXIER, A.-S.; CHEMAT, F. **Degradation During Application of Ultrasound in Food Processing: A Review.** Food Control. v.31, p. 593-606. 2013.

PIRES, C. V. et al. **Qualidade Nutricional e Escore Químico de Aminoácidos de Diferentes Fontes Proteicas.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 26, n. 1, p. 179-187, 2006.

POVEY, J. W.; MASON, T. J. **Ultrasound in Food Processing**. Oxford: Springer, 1998.

PUPPO, M. C. et al. **Effect of High-Pressure Treatment on Emulsifying Properties of Soybean Proteins**. *Food Hydrocolloids*, v. 19, p. 289-296. 2005.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. **Antioxidantes Utilizados em Óleos, Gorduras e Alimentos Gordurosos**. *Quim. Nova*, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

RESENDIZ-VAZQUEZ, J. A. et al. **Effect of High-intensity Ultrasound on the Technofunctional Properties and Structure of Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) Seed Protein Isolate**. *Ultrasonic Sonochemistry*, v. 37, p. 436-444, 2017.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos**. 2. ed. Campinas: Cárita, 2009. 358 p.

RODRÍGUEZ-AMBRIZ, S. L. et al. **Composition and Functional Properties of *Lupinus campestris* Protein Isolates**. *Plant Foods for Human Nutrition*, v. 60, p. 99-107, 2005.

RODRÍGUEZ, O. et al. **Application of Power Ultrasound on the Convective Drying of Fruits and Vegetables: Effects on Quality**. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 98, p. 1660-1673, 2018.

SALINAS, C. M.; LÓPEZ-SOBALER, A. M. **Beneficios de la Soja en la Salud Feminina**. *Nutr Hosp*, v. 34, n. 4, p. 36-40, 2017.

SAMOTO, M. et al. **Abundant Proteins Associated with Lecithin in Soy Protein Isolate**. *Food Chemistry*, v. 102, p. 317-322, 2007.

SANTANA, G. S.; OLIVEIRA FILHO, J. G.; EGEA, M. B. **Características tecnológicas de farinhas vegetais comerciais**. *Revista de Agricultura Neotropical, Cassilândia-MS*, v. 4, n. 2, p. 88-95, abr./jun. 2017.

SARMADI, B. H.; ISMAIL, A. **Antioxidative Peptides from Food Proteins: A Review**. *Peptides*, v. 31, p. 1949-1956, 2010.

SEIBEL, N. F.; BELÉIA, A. D. P. **Características Químicas e Funcionalidade Tecnológica de Ingredientes de Soja [*Glycine Max* (L.) Merrill]: Carboidratos e Proteínas**. *Braz. J. Food Technol.*, v. 12, n. 2, p. 113-122, abr/jun, 2009.

SIKORSKI, Z. E. **Chemical and Functional Properties of Food Components**. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, 2007.

SILVA, M. H. L. **Desenvolvimento e Caracterização de um Isolado Protéico de Soja Modificado com Perfil de Solubilidade de Caseína do Leite Humano**. 2007, 128 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) Universidade Federal De Viçosa, Viçosa. 2007.

SILVA, M. S. **Composição Química e Valor Proteico do Resíduo de Soja em Relação ao Grão de Soja**. Ciênc. Tecnol. Aliment., v. 3, n. 26, p. 571-576, jul/set, 2006.

SILVA, R. T. B. **Ultradiluições *Magnésia phosphorica* 12C e *Ferrum metallicum* 12C em SDS e nos Sistemas Hidropônicos de Soja e Feijão**. 2008, 86 p., Tese (Doutorado em Fitotecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2008.

SIRISON, J. et al. **Solubility of Soy Lipophilic Proteins: Comparison with Other Soy Protein Fractions**. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, p. 1-13, 2017.

SOLADOYE, O. P. et al. **Protein Oxidation in Processed Meat: Mechanisms and Potential Implications on Human Health**. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, v. 14, 2015.

SORIA, A. C.; VILLAMIEL, M. **Effect of Ultrasound on the Technological Properties and Bioactivity of Food: A Review**. Trends in Food Science & Technology, v. 21, p. 323-331, 2010.

TAHA, A. et al. **Effect of Different Oils and Ultrasound Emulsification Conditions on the Physicochemical Properties of Emulsions Stabilized by Soy Protein Isolate**. Ultrasonics - Sonochemistry, v. 49, p. 283-293, 2018.

TAKAHARA, E. M.; TANNO, F. S. **Aceitabilidade de Hambúrguer a Base de Proteína Texturizada de Soja em um Centro Municipal de Educação Infantil do Município de Ibiporã-PR**. 2013. 49 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Tecnológica do Paraná, Londrina, PR, 2013.

TAO, Y.; SUN, D. **Enhancement of Food Process by Ultrasound: A Review**. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v. 55, n. 4, p. 570-594, 2015.

TIWARI, B. K. **Ultrasound: A Clean, Green Extraction Technology**. Trends in Analytical Chemistry, v. 71, p. 100-109, 2015.

VIEIRA, T. M. de S. **Estrutura, Funcionalidade e Aplicações de Proteínas de Soja**. XII Congresso Latinoamericano de Óleos e Gorduras. Piracicaba, 2007.

VILLAMIEL, M. et al. **Ultrasound in Food Processing: Recent Advances**. 1 ed. United Kingdom: John Wiley & Sons, 2017. 544 p.

VILLAMIEL, M.; JONG, P. **Inactivation of *Pseudomonas fluorescens* and *Streptococcus thermophilus* in Trypticase Soy Broth and Total Bacteria in Milk by Continuous-flow Ultrasonic Treatment and Conventional Heating**. Journal of Food Engineering, v. 45, p. 171-179, 2000.

WAGNER, J. R.; SORGENTINI, D. A.; AÑON, M. C. **Thermal and Electrophoretic Behavior, Hydrophobicity, and Some Functional Properties of Acid-Treated Soy Isolates.** J. Agric. Chem. v. 44, p. 1881-1889, 1996.

WAGNER, J. R.; SORGENTINI, D. A.; AÑON, M. C. **Relation Between Solubility and Surface Hydrophobicity as an Indicator of Modifications During Preparation Processes of Commercial and Laboratory-Prepared Soy Protein Isolates.** J. Agric. Food Chem. v. 48, n 8, p. 3159-3165, 2000.

WANG, C. et al. **Changes of Isoflavones During Processing of Soy Protein Isolates.** Journal of the American Oil Chemists' Society, v. 75, n. 3, p. 337-341, 1998.

WANG, S. H. et al. **Efeitos dos Parâmetros de Branqueamento dos Grãos de Soja em Algumas Propriedades Tecnológicas de Suas Farinhas.** Alim. Nutr., v. 21, n. 2, p. 283-289, abr-jun, Araraquara, 2010.

WILDE, P. J. **Interfaces: Their Role in Foam and Emulsion Behaviour.** Current Opinion in Colloid & Interface Science, v. 5, p. 176-181, 2000.

XIE, Z. et al. **Antioxidant Activity of Peptides Isolated from Alfafa Leaf Protein Hydrolysate.** Food Chemistry, v. 111, p. 370-376, 2008.

XIONG, T. et al. **Effect of High Intensity Ultrasound on Structure and Foaming Properties of Pea Protein Isolate.** Food Research International, v. 109, p. 260-267, 2018.

YANJUN, S. et al. **Effect of Power Ultrasound Pre-Treatment on The Physical and Functional Properties of Reconstituted Milk Protein Concentrate.** Journal of Food Engineering, v. 124, p. 11-18, 2014.

YASUMATSU, K. et al. **Whipping and Emulsifying Properties of Soybean Products.** Agricultural and Biological Chemistry, v. 36, n. 5, p. 719-727, 1972.

YU, M.; DAMODARAN, S. **Kinetics of Destabilization of Soy Protein Foams.** J. Agric. Food Chem. v. 39, p. 1563-1567, 1991.

ZAKIR, M. M.; FREITAS, T. R. **Benefícios à Saúde Humana do Consumo de Isoflavonas Presentes em Produtos Derivados de Soja.** J. Bioen. Food Sci, v.2, n.3, p. 107-116, 2015.

ZHANG, H. et al. **The Effect of Ultrasound on The Functional Properties of Wheat Gluten.** Molecules, v. 16, p. 4231-4240, 2011.

ZENEON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. **Métodos Físico-Químicos Para Análise de Alimentos.** 4. ed, São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

ZHAO, J.; XIONG, Y. L. **Interfacial Peptide Partitioning and Undiminished Antioxidative and Emulsifying Activity of Oxidatively Stressed Soy Protein Hydrolysate in an O/W Emulsion.** LWT – Food Science and Technology, v. 61, p. 322-329, 2015.

ZHU, Z. et al. **Effects of Sonication on the Physicochemical and Functional Properties of Walnut Protein Isolate.** Food Research International, v. 106, p. 853-861, 2018.

ZOU, T. et al. **The Structure-Activity Relationship of the Antioxidant Peptides from Natural Proteins.** Molecules, v. 21, n. 1, 2016.