

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Sobremesas à base de soja: estudo de diferentes variáveis de processo,
busca de correlações entre propriedades e análise de interações entre
componentes da formulação

Jordana Corralo Spada

Porto Alegre

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Sobremesas à base de soja: estudo de diferentes variáveis de processo,
busca de correlações entre propriedades e análise de interações entre
componentes da formulação

Jordana Corralo Spada

Tese de doutorado apresentada como requisito para obtenção
do título de doutora em Engenharia.

Área de concentração: Fenômenos de Transporte e Operações
Unitárias

Orientadores:

Prof. Dr. Nilo Sérgio Medeiros Cardozo

Prof^a. Dr^a. Isabel Cristina Tessaro

Co-orientadora:

Prof^a. Dr^a. Ligia Damasceno Ferreira Marczak

Porto Alegre

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Tese de Doutorado *Sobremesas à base de soja: estudo de diferentes variáveis de processo, busca de correlações entre propriedades e análise de interações entre componentes da formulação* elaborada por Jordana Corralo Spada, como requisito parcial para a obtenção do título de doutora em Engenharia.

Comissão Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Rosiane Lopes da Cunha
Universidade Estadual de Campinas – Unicamp

Prof^a. Dr^a. Myriam de Las Mercedes Salas Mellado
Fundação Universidade Federal do Rio Grande - FURG

Prof^a. Dr^a. Roberta Cruz Silveira Thys
Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos - UFRGS

Agradecimentos

Aos meus orientadores, Nilo, Isabel e Ligia por confiarem em mim e por todo apoio, dedicação, incentivo e principalmente amizade durante a orientação deste trabalho. Esses quatro anos foram muito importantes para minha formação, muito obrigada!

À professora Simone H. Flôres, pela valiosa contribuição durante a primeira etapa do trabalho, e também pela sua amizade e incentivo.

Às professoras presentes na banca: Rosiane Lopes da Cunha, Roberta Thys, Myriam Salas Mellado e Vânia Telis. Vossas numerosas sugestões melhoraram, não só o trabalho em si, mas também a escrita desta tese.

Aos companheiros do LATEPA, LASEM e grupo FENOP por serem muito mais que colegas de trabalho. Obrigada pela amizade tão querida, pelas conversas, sugestões, ideias, e pelo apoio e incentivo. Com vocês tudo foi mais fácil e muito mais agradável.

Ao CNPQ pela concessão da bolsa de doutorado e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da UFRGS pela estrutura disponibilizada para realização deste trabalho.

Aos funcionários do DEQUI pelo auxílio e colaboração.

Ao James por estar sempre presente, suportando o meu nervosismo, as crises existenciais, e o mau humor...rsrs. Obrigada por seu amor, carinho, paciência, companheirismo e atenção.

E aos meus pais... não tenho palavras para expressar o quanto amo vocês. Obrigada pelo amor incondicional, por sonharem os meus sonhos e por me incentivarem em todos os momentos.

E a Deus, acima de tudo, por estar sempre ao meu lado, iluminando o meu caminho e me dando força para continuar.

Resumo

Apesar do grande número de pessoas afetadas pela deficiência da enzima lactase, produtos destituídos de lactose, como as sobremesas à base de soja, ainda correspondem a um mercado pouco explorado pelas indústrias de alimentos e que requer inovações. Além disso, a quantidade de informações encontradas na literatura a respeito desse tipo de alimento é escassa. O desenvolvimento de sobremesas com derivados da soja é uma alternativa, não só para os consumidores que buscam produtos sem lactose, mas também para quem busca alimentos sem colesterol e com proteínas vegetais de alto valor biológico. Neste contexto, o presente trabalho teve como metas iniciais o desenvolvimento de sobremesas à base de soja enriquecidas com polpa de fruta, a caracterização desses produtos, e a correlação das suas propriedades (instrumentais x instrumentais e instrumentais x sensoriais) com o propósito de diminuir custos durante o desenvolvimento desse tipo de alimento. Para tanto, estudou-se, primeiramente, o efeito da adição de ingredientes importantes como a polpa de goiaba, o extrato de soja e o amido em diferentes concentrações nas formulações através de um planejamento fatorial 2^3 . Essas formulações foram caracterizadas em relação ao pH, conteúdo de sólidos solúveis (CSS), capacidade de retenção de água (CRA), índice de sedimentação, microestrutura, reologia e cor. As características sensoriais das sobremesas também foram avaliadas por meio de Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) com equipe treinada e através de testes de aceitação com mais de 50 provadores não-treinados. De acordo com a análise estatística ($p < 0.05$), as variáveis estudadas e suas interações, na faixa observada, influenciaram os parâmetros analisados. As sobremesas apresentaram teor de sólidos solúveis entre 17 e 23, pH entre 4,8 e 5,4 e valores de CRA medidos a 25 °C entre 68 % e 99 %; vale ressaltar que nenhuma das amostras apresentou sinerese após 120 horas de armazenamento a 25 °C. A partir de medições reológicas, verificou-se que os produtos apresentaram comportamento pseudoplástico sem resposta tixotrópica com características viscoelásticas de gel fraco ($G' / G'' < 3$). As características microscópicas das sobremesas pareceram ser fortemente afetadas pelos componentes em estudo. Além disso, foi identificada uma correlação entre a CRA das amostras e parâmetros reológicos. Os atributos treinados na ADQ foram: cor rosa, consistência, sabor de soja, sabor goiaba e cremosidade. A cor das amostras verificadas por ADQ mostrou forte correlação com os parâmetros de cor L^* (luminosidade) e h_{ab} (ângulo de hue). Além disso, algumas propriedades reológicas mostraram boa correlação com as propriedades sensoriais denominadas consistência (resistência ao fluir da colher) e cremosidade (percepção de consistência macia na boca). Ambos os módulos (elástico e viscoso) e o parâmetro $n,$ que caracteriza a dependência do módulo viscoso com a frequência, podem ser índices úteis de textura sensorial para as sobremesas em estudo. Após essa etapa, foram feitos estudos específicos com o intuito de avaliar o efeito de novas variáveis de processo nas características da amostra. Nesse contexto, foi escolhida uma formulação para avaliar o efeito da substituição da carragena pela mucilagem da chia, considerada um espessante alimentar inovador. Novamente, as formulações foram caracterizadas quanto às propriedades reológicas, CSS, pH, cor e perfil sensorial. Os resultados mostraram que as amostras não diferiram quanto aos valores de pH, CSS e coordenada cromática a^* . Quanto aos outros parâmetros de cor e reológicos, foram detectadas diferenças significativas entre as amostras, o que mostra a influência do tipo de espessante nestas características. Os resultados da ADQ evidenciaram que as amostras não apresentaram diferenças estatísticas quanto aos atributos, cor rosa, sabor de goiaba, sabor de soja e cremosidade, porém diferiram quanto à consistência. Logo, a adição da mucilagem de chia pode ser

feita sem causar grandes modificações ao produto. Além disso, foi avaliado o efeito do uso do ultrassom, que é considerado uma tecnologia emergente, em uma das sobremesas desenvolvidas. As amostras foram tratadas com uma sonda de ultrassom durante 1, 3 e 5 minutos e, periodicamente, propriedades reológicas, pH, CSS, cor, tamanho de partícula e CRA foram monitorados durante 60 dias. As amostras sonicadas apresentaram menor tamanho médio de partícula, índice de consistência mais baixo, maior índice de fluxo e diferenças microestruturais consideráveis. No entanto, a capacidade de retenção de água e o índice de dispersão de tamanho de partícula não diferiram entre as amostras não tratada e tratadas durante 1 e 3 minutos; e nenhum dos tratamentos causou diferenças de cor visíveis entre as amostras. Após 60 dias de estocagem sob refrigeração, todas as propriedades avaliadas diferiram significativamente, com exceção do pH. A parte final do trabalho refere-se ao estudo de interações entre importantes componentes da formulação, como os polissacarídeos, carragena e carboximetilcelulose, e as proteínas presentes no extrato de soja. Para tanto, investigou-se a influência do pH (2-7) e da proporção de extrato de soja-polissacarídeo (5:1, 10:1, 20:1 e 40:1) em soluções aquosas com e sem povidona (10 %) como co-soluto. As interações entre os componentes foram estudadas através das análises de potencial zeta, medidas espectrofotométricas da interação entre azul de metileno e polissacarídeo, perfil de solubilidade da proteína, calorimetria diferencial de varredura, espectroscopia de infravermelho, difração de Raio-X, microscopia eletrônica de varredura e microscopia confocal de varredura a laser. Apesar das misturas estudadas apresentarem dependência com o pH e com a razão proteína-polissacarídeo, elas não apresentaram o mesmo comportamento. A presença de ambos os polissacarídeos modificou o perfil de solubilidade da proteína de soja, visto que diminuindo a razão extrato de soja-polissacarídeo, a formação de coacervados foi deslocada para uma região de pH mais baixo. As amostras também apresentaram diferenças consideráveis em relação aos seus termogramas, espectros de infravermelho e microscopias. A formação de complexos também foi detectada em regiões de pH em que ambos os biopolímeros estavam carregados negativamente. A influência da povidona foi detectada nas medidas espectrofotométricas com azul de metileno e nas imagens da microscopia confocal. Por fim, pode-se dizer que todas as variáveis de processo estudadas, como a concentração de ingredientes, a mucilagem da chia e o ultrassom, foram determinantes nas propriedades das amostras; e que os resultados obtidos provêm informações de uso prático para a indústria de alimentos, no que diz respeito ao desenvolvimento de formulações e controle e monitoramento de processos. Além disso, antes de elaborar novas formulações, é necessário verificar as interações entre os biopolímeros envolvidos, visto que dependendo da natureza dos componentes e das propriedades do meio, diferentes propriedades, como solubilidade, estabilidade e textura podem ser modificados.

Palavras-chave: reologia; soja; sobremesas; análise sensorial; correlações; interações.

Abstract

Despite of the large number of people affected by lactase deficiency, lactose free products, such as soy-based desserts, still represent an unexplored market for the food industry, ie, a niche that requires innovations. Furthermore, the literature regarding the amount of information about this type of food is scarce. The development of desserts with soy is an alternative, not only for consumers who seek products without lactose, but also for those seeking foods without cholesterol and with vegetable proteins of high biological value. In this context, the goals of this research were to develop soy-based desserts enriched with fruit pulp, to characterize these products and to correlate properties (instrumental by instrumental and instrumental by sensory) in order to cut costs during the development of this type of product. Therefore, firstly, it was studied the effect of the addition of important ingredients like guava pulp, soy extract in different concentrations and starch in the formulations using a 2^3 factorial design. These formulations were evaluated as to pH, soluble solids content, water holding capacity (*WHC*), creaming test, microscopy, color and rheology. The sensory characteristics of the desserts were evaluated by Quantitative Descriptive Analysis (QDA) with trained panel and through acceptance testing with over 50 tasters. The statistical analysis showed that the studied variables and its interactions, in the observed range, influenced the analysed parameters. The desserts presented soluble solids from 17 to 23, pH between 4,8 and 5,4 and *WHC* values measured at 25 ° C between 68 % and 99 %, however, none of the samples showed syneresis after 120 hours of storage at 25 °C. From rheological measurements, it was verified that the products presented pseudoplastic behavior without thixotropic response and characteristics of weak gel ($G'/G'' < 3$). The microstructure of the produced desserts was found to be strongly affected by the components under study. Besides, an intimate correlation between *WHC* and rheology was identified. The raised attributes in QDA were pink color, consistency, soy flavor, guava flavor and creaminess. Color of the samples by QDA had high correlation with the color parameters regarding to luminosity (L^*) and hue (h^*). Furthermore, many rheological properties were well correlated with sensory properties referred to consistency (resistance to flow off the spoon) and creaminess (perception of soft consistency in the mouth). Both modules (storage and loss) and n'' parameter which characterizes the frequency dependence of the loss modulus can be useful indices of sensory texture to desserts of this study. After this step, different studies have been made in order to evaluate the effect of new process variables on the sample characteristics. In this context, a formulation was chosen to evaluate the effect of the substitution of carrageen by chia mucilage that is considered a novel food thickener. Again, the formulations were characterized for their rheological properties, °Brix, pH, color and sensory profile by QDA. The results regarding to pH, ° Brix and color coordinate a^* did not differ. Unlike these parameters, the other chromaticity coordinates and the rheological properties presented significant statistical differences between the samples. The QDA results showed that the samples did not differ as to the attributes, color, pink guava flavor, creaminess and flavor of soy, but differed in consistency. Thus, the addition of mucilage

chia can be made without causing major changes to the product. Moreover, it was evaluated the effect of the use of ultrasound, which is considered an emerging technology, in one of the developed desserts. The samples were treated with an ultrasound probe for 1, 3 and 5 minutes and were monitored during storage under refrigeration (60 days). The treated samples showed lower mean particle size, lower consistency index, higher flow index and clear difference in their microstructure. However, water holding capacity and particle size dispersion index values did not differ among untreated and treated soy based desserts for 1 and 3 minutes and none of the treatments caused visible color differences among the samples. Periodically, rheological properties, pH, soluble solids content, color, particle size and water holding capacity were determined. After 60 days, all evaluated properties differ significantly, except the pH. The final work refers to the study of interactions between important components of the formulation, such as carrageenan, carboxymethylcellulose and soy proteins present in the soy extract. To this end, the influence of pH (2-7) and soy extract-polysaccharide ratio (5:1, 10:1, 20:1 and 40:1) were investigated in aqueous solutions with 10 % of polydextrose and without polydextrose by examining, methylene blue-polysaccharide interactions, pH-solubility profile of protein, ζ -potential, differential scanning calorimetry, Fourier transform infrared spectroscopy, wide angle X-ray diffraction, scanning electron microscopy and confocal laser scanning microscopy (CLSM). Although both systems showed dependency on the pH and ratio, they did not present the same behavior. The presence of both polysaccharides modified the pH-solubility profile of soy protein and the pH range of complex formation shifted to a lower pH region decreasing the soy extract-polysaccharide ratio. The samples also presented detectable differences regarding to DSC, FTIR and microscopy analysis. The complex formation was also detected even in a pH region where both biopolymers were net-negatively charged. The influence of polydextrose was mainly detected by blue-polysaccharide interactions measures and CLSM-images. Finally, it can be concluded that all the process variables such as the concentration of ingredients, chia mucilage, and ultrasound have altered the properties of the samples and the results can be used as tools to develop new formulations and to monitor processes. In addition, before developing new formulations, it is necessary to verify the interactions between biopolymers, since depending on the nature of the components and properties of the medium, different properties, such as solubility, stability and texture can be modified.

Keywords: rheology; soy; desserts; sensory analysis; correlations; interaction.

Sumário

Capítulo 1 - Introdução	1
Capítulo 2 - Objetivos	5
2.1 Objetivo geral	5
2.2 Objetivos específicos	6
2.2.1 Primeira parte.....	6
2.2.2 Segunda parte	6
Capítulo 3 - Fundamentos Teóricos e Revisão Bibliográfica	9
3.1 A soja	9
3.1.1 Histórico.....	9
3.1.2 Produção e mercado da soja no Brasil.....	10
3.1.3 Propriedades nutricionais e funcionais	11
3.1.4 Derivados da soja	13
3.1.5 Características e propriedades funcionais da proteína da soja	15
3.2 Produtos à base de soja	20
3.2.1 Sobremesas à base de soja.....	22
3.3 Aditivos alimentares	23
3.3.1 Carragena	24
3.3.2 Carboximetilcelulose.....	24
3.3.3 Polidextrose.....	25
3.3.4 Amidos modificados: amido cross-linking ou de ligações cruzadas	25
3.4 A goiaba	27
3.5 Mucilagem da chia	28
3.6 Reologia	29
3.6.1 Regime estacionário.....	31
3.6.2 Regime Oscilatório.....	34
3.7 Estudos reológicos em sobremesas e similares	39
3.8 Análise sensorial	41
3.8.1 Análise Descritiva Quantitativa (ADQ).....	42
3.8.2 Teste de Aceitação.....	43
3.9 Correlação entre parâmetros sensoriais e reológicos	44
3.10 Utilização do ultrassom durante o processamento das sobremesas	47
3.10.1 Princípios e efeitos do ultrassom.....	47

3.10.2 <i>Influência do ultrassom sobre as propriedades de proteínas e polissacarídeos.</i>	49
3.11 <i>Sistemas alimentares biopoliméricos</i>	51
3.12 <i>Referências Bibliográficas</i>	55
Capítulo 4 - Materiais e Métodos	69
4.1 <i>Matéria-prima e reagentes</i>	69
4.2 <i>Processo de obtenção da mucilagem de chia</i>	70
4.3 <i>Determinação das propriedades físico-químicas da polpa</i>	70
4.4 <i>Primeira parte</i>	71
4.4.1 <i>Preparo das amostras</i>	71
4.4.2 <i>Testes reológicos preliminares</i>	73
a) <i>Determinação da geometria a ser usada</i>	74
b) <i>Determinação da distância entre as placas (gap)</i>	74
c) <i>Definição do procedimento de medida</i>	74
4.4.3 <i>Comportamento reológico – Regime oscilatório</i>	74
a) <i>Varredura de deformação</i>	75
b) <i>Varredura de frequência</i>	75
c) <i>Varredura de tempo</i>	75
4.4.4 <i>Comportamento reológico – Regime estacionário</i>	75
4.4.5 <i>Determinação das propriedades físico-químicas</i>	76
4.4.6 <i>Determinação da estabilidade física</i>	76
a) <i>Capacidade de retenção de água (CRA)</i>	76
b) <i>Índice de sedimentação (IS)</i>	77
4.4.7 <i>Microscopia ótica</i>	77
4.4.8 <i>Análise de cor</i>	77
4.4.9 <i>Avaliação sensorial</i>	78
a) <i>Perfil sensorial</i>	78
b) <i>Teste de aceitação</i>	80
4.4.10 <i>Análises microbiológicas</i>	81
4.5 <i>Segunda parte</i>	81
4.5.1 <i>Preparo das amostras</i>	81
4.5.2 <i>Perfil de solubilidade da proteína</i>	82
4.5.3 <i>Potencial zeta</i>	82
4.5.4 <i>Interações do polissacarídeo com o azul de metileno</i>	82

4.5.5 <i>Calorimetria diferencial de varredura (DSC)</i>	83
4.5.6 <i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i>	83
4.5.7 <i>Microscopia confocal de varredura a laser (CSLM)</i>	84
4.5.8 <i>Viscosidade intrínseca</i>	84
4.5.9 <i>Espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier (FTIR)</i>	85
4.5.10 <i>Difração de raio-X</i>	85
4.6 <i>Análise estatística</i>	85
4.7 <i>Referências Bibliográficas</i>	85
Introdução aos Capítulos 5, 6, 7, 8 e 9	87
Capítulo 5 – Artigo 1	89
5.1 <i>Introduction</i>	90
5.2 <i>Materials and Methods</i>	92
5.2.1. <i>Materials</i>	92
5.2.2. <i>Sample preparation</i>	93
5.2.3. <i>Physicochemical analysis</i>	93
5.2.4. <i>Physical stability</i>	94
5.2.5. <i>Optical microscopy</i>	95
5.2.6. <i>Rheological characterization</i>	95
5.2.7. <i>Statistical analyses</i>	97
5.3 <i>Results and Discussion</i>	97
5.3.1. <i>Physicochemical analysis of the prepared desserts</i>	97
5.3.2. <i>Rheological characterization</i>	102
5.4 <i>Conclusion</i>	110
5.5 <i>References</i>	110
Capítulo 6 – Artigo 2	113
6.1. <i>Introduction</i>	113
6.2. <i>Materials and Methods</i>	115
6.3. <i>Results</i>	119
6.4. <i>Conclusion</i>	126
6.5. <i>References</i>	126
Capítulo 7 – Artigo 3	129
7.1. <i>Introdução</i>	130
7.2. <i>Materiais e Métodos</i>	131

7.2.1. Processo de obtenção da mucilagem	131
7.2.2. Preparo das sobremesas	131
7.2.3. Análises físico-químicas.....	132
7.2.4. Análise de cor.....	132
7.2.5. Análise reológica	133
7.2.6. Determinação do perfil sensorial	133
7.2.7. Análise Estatística.....	135
7.3. Resultados.....	136
7.3.1. Análises físico-químicas.....	136
7.3.2. Análise de cor.....	136
7.3.3. Análise reológica	137
7.3.4. Perfil sensorial.....	138
7.4. Conclusão	140
7.5. Referências	140
Capítulo 8 – Artigo 4	142
8.1. Introduction	142
8.2. Materials and Methods.....	144
8.2.1. Sample preparation.....	144
8.2.2. Ultrasound treatment	145
8.2.3. Soluble solids content and pH.....	145
8.2.4. Water holding capacity (WHC).....	145
8.2.5. Particle size distribution	146
8.2.6. Color measurement	146
8.2.7. Rheological behavior	147
8.2.8. Microscopy observations	147
8.2.9. Microbiological analyses.....	148
8.3. Results and discussion.....	148
8.3.1. Effect of sonication on the fresh samples.....	148
8.3.2. Effect of sonication on the stability of the samples under storage.....	152
8.4. Conclusion	154
8.5. References.....	155
Capítulo 9 – Artigo 5	158
9.1. Introduction	158

9.2. Material and methods	160
9.2.1 Materials.....	160
9.2.2 Sample preparation	161
9.2.3 ζ -potential.....	161
9.2.4 pH-solubility profile of protein.....	161
9.2.5 Methylene blue–carrageenan interaction measures.....	162
9.2.6 Intrinsic viscosity.....	163
9.2.7 Differential scanning calorimetry (DSC).....	164
9.2.8 Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR).....	164
9.2.9 Scanning electron microscopy (SEM)	165
9.2.10 Confocal Laser Scanning Microscope (CLSM).....	165
9.2.11 Wide angle X-ray diffraction	165
9.3. Statistical Analysis	165
9.4. Results and discussion	166
9.4.1. ζ -potential.....	166
9.4.2 pH-solubility profile of protein.....	167
9.4.3 Methylene blue–carrageenan interaction experiments	170
9.4.4 Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR).....	171
9.4.5 Intrinsic viscosity.....	175
9.4.6 Microstructure and morphology.....	176
9.4.7 Thermal behavior	180
9.4.8 Wide angle X-ray diffraction	182
9.5. Conclusion	183
9.6. References	184
Considerações finais	188
Sugestões para trabalhos futuros	191
Anexo A – Resultados reológicos preliminares	193
Anexo B – Formulário utilizado no recrutamento e pré-seleção dos provadores.	196
Anexo C – Ficha de aplicação do teste de sabores	200
Anexo D – Ficha de aplicação do teste triangular	201
Anexo E – Ficha de aplicação do Método de Rede	202
Anexo F – Termos descritivos	203
Anexo G – Análise estatística dos dados encontrados no treinamento da ADQ...	204

Anexo H – Ficha de avaliação das amostras	205
Anexo I – Parecer do comitê de ética	206
Anexo J – Ficha de aplicação dos testes afetivos.....	208
Anexo K – Protocolo de análise para contagem de <i>Bacillus cereus</i>	209
Anexo L – Protocolo de análise para contagem de <i>Clostridium sulfito redutores</i>	210
Anexo M – Protocolo de análise para o número mais provável de coliformes fecais (termotolerantes) – 45°C	211
Anexo N – Protocolo de análise para pesquisa de <i>Salmonella sp</i>	213
Anexo O – Protocolo de análise para contagem de <i>Staphylococcus aureus</i>.....	214
Anexo P – Protocolo de análise para contagem de bolores e leveduras	215
Anexo Q – Laudo de análise microbiológica após 15 dias de armazenamento.....	216
Anexo R – Laudo de análise microbiológica após 30 dias de armazenamento	217
Anexo S – Laudo de análise microbiológica após 45 dias de armazenamento.....	218
Anexo T – Laudo de análise microbiológica após 60 dias de armazenamento	219

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1. Produtos à base de soja comercializados atualmente.	20
Tabela 3.2. Produtos à base de soja apresentados na literatura.	21
Tabela 3.3. Sobremesas à base de soja apresentadas na literatura.	22
Tabela 3.4. Valores de parâmetros de modelos reológicos aplicados a sobremesas e similares.....	40
Tabela 3.5. Correlações entre parâmetros sensoriais e reológicos encontradas na literatura para diferentes alimentos.....	45
Tabela 3.6. Estudos sobre sistemas biopoliméricos.	53
Tabela 4.1. Ingredientes (g/100 g) utilizados na formulação das sobremesas à base de soja.....	71
Tabela 4.2. Matriz do planejamento composto central (2^3) usado para desenvolver as sobremesas com diferentes concentrações de polpa de goiaba, extrato de soja e amido modificado.....	72
Tabela 5.1. Physical and physicochemical properties of the soy-based desserts.	94
Tabela 5.2. Results for parameters estimation for Ostwald-de-Waele, Herschel-Bulkley and Casson models.	105
Tabela 5.3. Rheological parameters of soy based desserts.....	109
Tabela 6.1. Ingredients (g/100 g) employed in the formulations of the soy-based desserts.	116
Tabela 6.2. Descriptive terms used in the Descriptive Quantitative Analysis.	118
Tabela 6.3. Significant effects on the sensory attributes (QDA).....	119
Tabela 6.4. Sensory attributes of the soy-based desserts in QDA test.	120
Tabela 6.5. Mean scores of the samples concerning to sensory attributes ranked in the affective tests.	121
Tabela 6.6. Significant effects on the instrumental color parameters.	122
Tabela 6.7. Pearson's correlation matrix between sensory and instrumental color.	124
Tabela 6.8. Pearson correlation coefficient (r) between sensory and rheological parameters.....	125
Tabela 7.1. Parâmetros de cor das amostras.....	136

Tabela 7.2. Definição dos termos descritivos e referências utilizadas como extremos de escala de intensidade na Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) das sobremesas à base de soja para os atributos de aparência, aroma, sabor e textura.	138
Tabela 7.3. Média dos atributos selecionados pela equipe treinada para as sobremesas com soja.	139
Tabela 8.1. Physicochemical properties, water holding capacity and particle size of the samples.	148
Tabela 8.2. Rheological properties of the samples.	151
Tabela 8.3. Color parameters of the samples.	152
Tabela 8.4. Properties of the samples at first day and after 60 days of storage.	153
Tabela 8.5. Properties of the untreated sample during the storage.	154
Tabela 9.1. Results of methylene-blue measurements of the soy extract-carrageenan samples with and without polydextrose.	171
Tabela 9.2. FTIR absorption values of the normalized bands corresponding to amide I (1628 cm^{-1}) in relation to the CH band (2930 cm^{-1}) for different samples.	175
Tabela 9.3. Intrinsic viscosity (dL/g) values of the polysaccharides, carrageenan and CMC, at pH 7 and 5.	176

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1. Ranking da produção mundial de soja na safra 2013.....	11
Figura 3.2. Composição aproximada (em base seca) da soja e derivados.....	12
Figura 3.3. Fluxograma do processo de obtenção dos derivados da soja.....	15
Figura 3.4. Perfil de solubilidade das proteínas de soja em diferentes valores de pH. ..	18
Figura 3.5. Representação das ligações cruzadas no grânulo de amido e na estrutura gelificada.	27
Figura 3.6. Classificação reológica de fluidos e tipos de desvio do comportamento newtoniano.	30
Figura 3.7. Curva de escoamento (a) e viscosidade (b) para fluidos newtonianos e não-newtonianos.....	32
Figura 3.8. Dispersões em repouso e escoando através de um tubo.....	33
Figura 3.9. Curvas de escoamento para fluidos dependentes do tempo.....	34
Figura 3.10. Tensão de cisalhamento harmônico versus deformação para um material viscoelástico em teste dinâmico.	35
Figura 3.11. Resposta típica de uma varredura de deformação ou tensão mostrando a região viscoelástica linear (RVL) definida pelo valor crítico do parâmetro de varredura	36
Figura 3.12. Dependência da frequência de emulsão: (A) com alta força estrutural, (B) com baixa formação de rede estrutural.....	38
Figura 3.13. Ilustração esquemática do efeito do ultrassom sobre a integridade	50
Figura 3.14. Ilustração esquemática do intumescimento e gelatinização de grânulos de amido, e a depolimerização/solubilização provocada pelo ultrassom.....	51
Figura 4.1. Fluxograma simplificado do processamento das sobremesas à base de soja.	73
Figura 5.1. Pareto's graph of standardized estimated effects of the water soluble soy extract content, starch content and guava pulp content in the prospective experiment on soluble solids content (a), pH (b) and $WHC_{25^{\circ}C}$ (c). The point at which the effect estimates were statistically significant (at $p = 0.05$) is indicated by the vertical solid line.	100
Figura 5.2. Photomicrographs (x 40) of some of the samples studied: (a) soluble soy extract dispersed in water; (b) particles after the incorporation of the dry ingredients; c)	

Sample 1 (-1,-1, -1), d) Sample 5 (-1,-1,1), e) Sample 2 (1,-1,-1), f) Sample 6 (1,-1,1), g) Sample 4 (1,1,-1), h) Sample 8 (1,1,1), i) Sample 13 (0,0, -1.68) and j) Sample 14(0,0,1.68).	102
Figura 5.3. Experimental data and predictions of Ostwald-de-Waelle, Herschel Bulkley and Casson models for the commercial soy-based dessert (a), and central point of the experimental design (b).	104
Figura 5.4. Apparent viscosity (Pa.s) <i>versus</i> shear rate (s ⁻¹) for different runs.	104
Figura 5.5. Pareto's graph of standardized estimated effects of the water soluble soy extract content, starch content and guava pulp content in the prospective experiment on apparent viscosity (a) and <i>Q</i> value (b). The point at which the effect estimates were statistically significant (at p = 0.05) is indicated by the vertical solid line.	106
Figura 5.6. Contour surface for apparent viscosity (η_{10}) of the soy based desserts. Effect of the guava pulp (%) and water soluble soy extract (%) (a), and effect of the modified starch (%) and guava pulp (%) (b).	107
Figura 5.7. Frequency sweeps (0.5-500 rads ⁻¹) of the samples 1, 5, 9, 10 and 15.....	108
Figura 6.1. Projection of the sensory and instrumental color on to the first two principal components (a) and PCA bi-plot of the sensory attributes together with rheological parameters (b).	125
Figura 8.1. Particle size distribution curve of the untreated and sonicated desserts. ...	149
Figura 8.2. Photomicrographs (40 X) of the untreated sample (a) and of the US-treated samples for 1 min (b), 3 min (c) and 5 min (d).	150
Figura 9.1. a) Spectrum of methylene-blue (MB), carrageenan-MB and CMC-MB. b) Curve of carrageenan concentration <i>versus</i> the ratio between 664 nm and 557 nm. ...	163
Figura 9.2. ζ -potential of the soy extract together with carrageenan (a) and CMC (b) in different ratios.....	167
Figura 9.3. Solubility profiles as a function of pH of the soy extract mixtures with carrageenan (a) and CMC (b) in different ratios.	168
Figura 9.4. FTIR absorbance spectra of the lyophilized samples containing soy extract– carrageenan (a), soy extract–CMC (b) and polydextrose (c).....	173
Figura 9.5. SEM Photomicrographs at 200 x and 10,000 x of the soy extract (a,b), carrageenan (c,d), CMC (e,f) and of the soy extract-carrageenan samples: 20:1 at pH 2 (g, h), 20:1 at pH 5 (i,j), 20:1 at pH 7 (k,l), 5:1 at pH 2 (m,n) and 20:1 at pH 5 with polydextrose (o,p).	177

Figura 9.6. Photomicrographs at 200 x and 10,000 x of the soy extract- CMC samples: 10:1 at pH 3 (a, b), 10:1 at pH 5 (c,d), 10:1 at pH 7 (e,f), 5:1 at pH 3 (g,h), 5:1 at pH 5 (i,j) and 20:1 at pH 5 with polydextrose (k,l).	178
Figura 9.7. Confocal laser scanning photomicrographs of the soy extract (SE) and the mixtures containing soy extract-carrageenan and soy extract-CMC as a function of ratio and pH (protein content= 5 mg/mL). Green color represented the protein phase in the CLSM-images.....	180
Figura 9.8. DSC thermograms of the lyophilized mixtures containing soy extract-carrageenan (a) and soy extract-CMC (b) at different pH and ratios and in the presence of polydextrose.	182
Figura 9.9. X-ray diffractograms of the lyophilized mixtures containing soy extract-carrageenan 20:1 at pH 7 (a), pH 5 (b) and pH 2 (c).....	183

Lista de siglas, abreviaturas e símbolos

a^* coordenada cromática verde-vermelho

b^* coordenada cromática azul-amarelo

C^* chroma (saturação da cor)

CMC carboximetilcelulose

CRA capacidade de retenção de água

CSS *conteúdo de sólidos solúveis*

h_{ab} ângulo de hue (tonalidade da cor)

f frequência em Hz

G' módulo elástico

G'' módulo viscoso

IS índice de sedimentação

L^* parâmetro de cor - luminosidade

η_{ap} viscosidade aparente (Pa s)

η_{10} viscosidade aparente na taxa de cisalhamento de 10s^{-1}

η_c é a viscosidade plástica de Casson (Pa.s)

n' e n'' parâmetros que relacionam a influência da frequência nos módulos viscoelásticos

γ deformação (m s^{-1})

$\dot{\gamma}$ taxa de cisalhamento (s^{-1})

τ tensão de cisalhamento (Pa)

τ_0 tensão mínima de escoamento (Pa)

τ_{0c} é a tensão mínima de escoamento de Casson (Pa)

K índice de consistência (Pa s)

n índice de fluxo

R^2 coeficiente de determinação

Q fator de qualidade

T_m temperatura de fusão da amostra ($^{\circ}\text{C}$)

ω frequência (rad/s)

Capítulo 1 - Introdução

O desenvolvimento de novos produtos é um desafio constante, tanto para o setor industrial quanto para o de pesquisa científica, pois envolve a escolha das matérias-primas e das Operações Unitárias mais adequadas, assim como o entendimento da influência dessas variantes no produto final. A escolha das variáveis de processo, geralmente, ocorre quando se atinge as características desejadas no produto final. Para tanto, torna-se primordial a determinação das principais propriedades do alimento, como parâmetros físico-químicos, reológicos e sensoriais.

Entre os alimentos desenvolvidos pela indústria, os destituídos de lactose são a nova tendência devido ao grande número de consumidores afetados pela deficiência de produção da enzima lactase. Um dos melhores substitutos do leite, assim como produtos de origem animal é a soja, visto que essa, assim como seus derivados, apresenta boas características nutricionais e têm recebido atenção dos pesquisadores, principalmente devido à quantidade e qualidade de suas proteínas. No Brasil, a produção de soja é pouco onerosa e, portanto, o uso de seus coprodutos no desenvolvimento de novos produtos à base de soja pode ser uma maneira barata de aumentar o número de alimentos oferecidos aos intolerantes à lactose, vegetarianos, alérgicos a proteínas de origem animal e também aos consumidores que buscam uma alimentação mais saudável.

A venda mundial de produtos com soja aumentou de \$1 bilhão para \$5,2 bilhões no período entre 1996 e 2011; esse aumento pode ser atribuído à introdução de novas categorias de alimentos à base de soja e também aos novos consumidores que estão selecionando a soja devido às alegações de benefícios à saúde e por razões filosóficas.

Atualmente, o produto com soja mais vendido corresponde à bebida de soja com suco de fruta; o potencial desse tipo de produto pode estar vinculado às características sensoriais desejáveis das frutas com as propriedades funcionais e nutricionais da soja.

Diante dessas considerações, estudou-se a incorporação de polpa de fruta em outros alimentos com soja, tais como sobremesas, visto que existem poucas opções disponíveis no mercado, assim como uma literatura escassa a respeito da formulação e caracterização desses produtos.

Os resultados da tese estão apresentados na forma de artigos científicos, que foram elaborados de acordo com a evolução do trabalho e com a necessidade de estudos aprofundados em determinados tópicos, com o intuito de atingir o objetivo deste trabalho da forma mais adequada.

No primeiro artigo, apresenta-se a preparação e a caracterização físico-química e reológica de diferentes formulações contendo extrato de soja hidrossolúvel, polpa de goiaba e amido modificado. Cabe ressaltar que foi escolhida a polpa de goiaba devido às suas características nutricionais e seu perfil aromático capaz de mascarar o sabor da soja, que geralmente é rejeitado pelos consumidores; o extrato hidrossolúvel foi escolhido devido ao seu alto teor de proteína (~44 %), baixo custo, quantidades consideráveis de fibras, isoflavonas, vitaminas e minerais essenciais e por ser de fácil manipulação. Quanto ao amido, a melhor opção encontrada foi o modificado através de ligações cruzadas, visto que a presença de ligações intra e intermoleculares conferem ao grânulo elevada estabilidade e resistência, e o amido, por sua vez, promove alta cremosidade e corpo às formulações, assim como baixa tendência ao deessoramento.

O segundo artigo abrangeu a análise sensorial, visto que esta etapa é muito importante no desenvolvimento de novos produtos. Porém, os custos envolvidos para estabelecer e manter um painel sensorial levam à substituição dos dados sensoriais por instrumentais. Assim, correlações entre medidas instrumentais e sensoriais foram verificadas a fim de prever a resposta dos consumidores e avaliar a qualidade dos produtos elaborados. Posteriormente, no terceiro artigo elaborado, o painel sensorial treinado foi utilizado para verificar a influência da substituição da carragena pela mucilagem de chia como espessante alimentar.

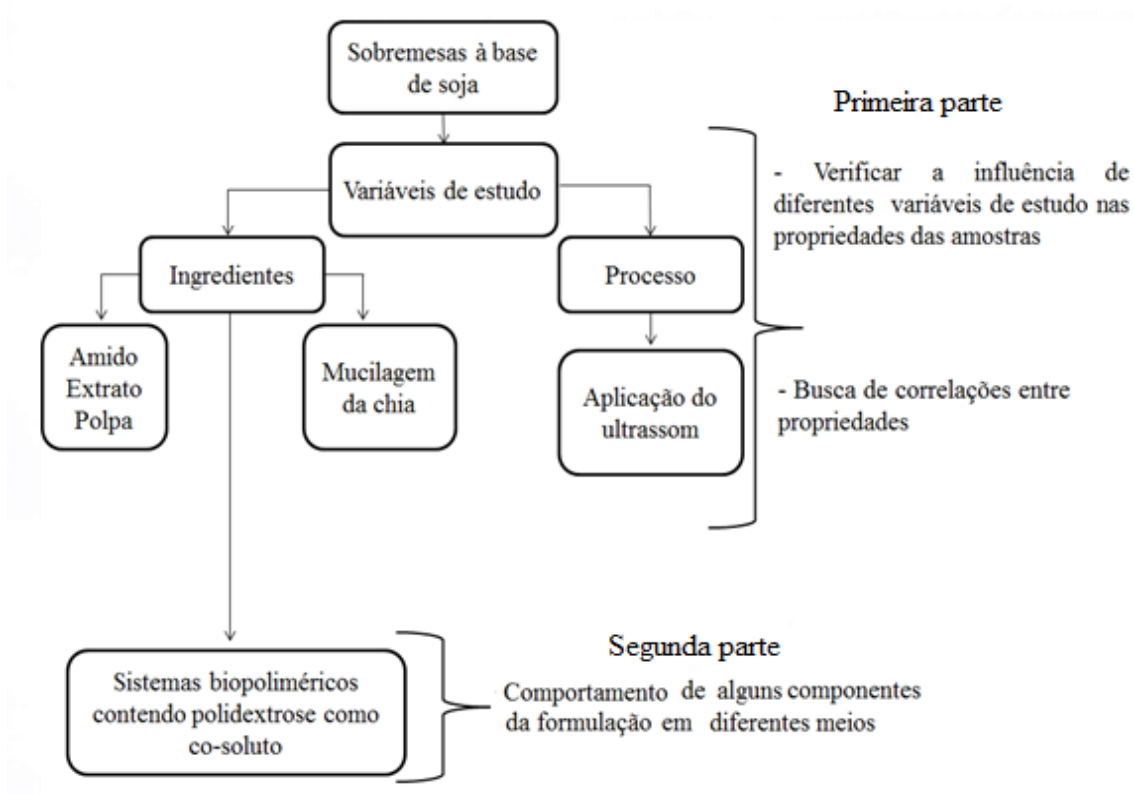
Além de desenvolver e caracterizar formulações com diferentes matérias-primas, foi estudada a influência do ultrassom como etapa de mistura/homogeneização, e os resultados obtidos estão apresentados no quarto artigo deste trabalho.

Após estudar o efeito de diferentes variáveis nas propriedades das sobremesas, outra meta do trabalho foi verificar a interação entre alguns dos biopolímeros alimentares utilizados nas formulações. Como a maioria dos alimentos, as sobremesas são sistemas multicomponentes complexos que contêm uma mistura de proteínas e polissacarídeos, cuja composição pode afetar sua estrutura, estabilidade e propriedades de textura. Além disso, essas propriedades podem ser afetadas por interações entre os componentes do sistema os quais são carregadores de cargas elétricas. Dentre os componentes utilizados, foram escolhidos para estudo, o extrato de soja, visto que ele é a única fonte proteica da formulação e pode apresentar carga elétrica positiva, nula ou negativa, dependendo do pH, e as gomas carragena e carboximetilcelulose, que são polissacarídeos carregados negativamente. Adicionalmente, verificou-se a influência da povidona nas características das misturas biopoliméricas supracitadas, visto que não existem trabalhos sobre esse tema na literatura. Além do mais, alguns trabalhos já relataram o efeito positivo ou negativo da adição de povidona sobre as propriedades de géis biopoliméricos.

Capítulo 2 - Objetivos

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral do presente trabalho foi desenvolver diferentes sobremesas à base de soja e estudar as propriedades dessas formulações, assim como as interações entre os componentes utilizados. Para tanto, o trabalho foi dividido em duas partes, conforme a fluxograma abaixo.



2.2 Objetivos específicos

2.2.1 Primeira parte

Para atingir os objetivos da primeira parte do trabalho, ou seja, verificar a influência de variáveis de estudo (composição e ultrassom) nas propriedades das amostras, foram enumerados os objetivos específicos conforme a seguir:

- I. Escolha e desenvolvimento das formulações;
- II. Estudo do efeito das variáveis independentes no produto final através da avaliação das seguintes propriedades:
 - colorimétricas (parâmetros de cor: L^* , a^* , b^* , h_{ab} e C^*);
 - reológicas (parâmetros de fluxo e viscoelásticos);
 - microestruturais;
 - físicas referentes à estabilidade (capacidade de retenção de água e índice de sedimentação);
 - físico-químicas (conteúdo de sólidos solúveis e pH);
 - sensoriais (atributos quantificados pela Análise Descritiva Quantitativa e testes de aceitação).
- III. Abordagem das possíveis correlações entre diferentes propriedades instrumentais e entre propriedades instrumentais e atributos sensoriais através de análises estatísticas.

2.2.2 Segunda parte

Para aprofundar o conhecimento a respeito do comportamento de sistemas biopoliméricos contendo extrato de soja e polissacarídeos, como a carragena e a carboximetilcelulose, foram estabelecidos os objetivos específicos a seguir:

- I. Estimar a solubilidade da proteína presente no extrato de soja em diferentes pHs e nas misturas contendo as gomas;
- II. Quantificar o potencial zeta dos sistemas puros e misturados;
- III. Utilizar as medidas espectrofotométricas com azul de metileno para verificar a influência da polidextrose no meio;

- IV. Averiguar os termogramas dos sistemas puros e misturados através da calorimetria diferencial de varredura;
- V. Verificar a morfologia das amostras liofilizadas através da microscopia eletrônica de varredura e das amostras em solução aquosa em microscópio confocal a laser;
- VI. Conferir a natureza das interações e extensão do estado amorfo através da espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e ângulo de difração de raios-X, respectivamente.

Capítulo 3 - Fundamentos Teóricos e Revisão Bibliográfica

Neste capítulo é apresentada uma revisão sobre assuntos essenciais para o entendimento desse trabalho; especificamente são abordados os seguintes tópicos: a soja e seus derivados, propriedades da proteína da soja, componentes alimentares utilizados nas formulações, fundamentos sobre reologia, análise sensorial, tratamento com ultrassom e interações entre polissacarídeos e proteínas.

3.1 A soja

3.1.1 Histórico

A soja (*Glicine max* L.) é uma leguminosa de ciclo anual (90 a 160 dias) originária do oeste da Ásia; na China, a espécie é cultivada há milhares de anos. Os grãos cultivados, hoje, são muito diferentes dos seus ancestrais, que eram plantas rasteiras que se desenvolviam na costa leste da Ásia, principalmente ao longo do rio Yangtse, na China (Cheftel, Cuq e Lorient, 1993). Sua evolução começou com o aparecimento de plantas oriundas de cruzamentos naturais entre duas espécies de soja selvagem que foram domesticadas e melhoradas por cientistas da antiga China (Embrapa, 2011).

As primeiras citações do grão aparecem no período entre 2883 e 2838 a.C, quando a soja era considerada um grão sagrado, ao lado do arroz, do trigo, da cevada e do milheto. Um dos primeiros registros do grão está no livro "Pen Ts'ao Kong Mu", que descrevia as plantas da China ao Imperador Sheng-Nung. Para alguns autores, as

referências à soja são ainda mais antigas, remetendo ao "Livro de Odes", publicado em chinês arcaico (Embrapa, 2011).

Até aproximadamente o ano de 1894, término da guerra entre a China e o Japão, a produção de soja ficou restrita à China. Apesar de ser conhecida e consumida pela civilização oriental por milhares de anos, foi introduzida na Europa somente no final do século XV, como curiosidade, nos jardins botânicos da Inglaterra, França e Alemanha (Embrapa, 2011). Somente, na segunda década do século XX, os teores de óleo e proteína do grão começam a despertar o interesse das indústrias mundiais. No entanto, as tentativas de introdução comercial do cultivo do grão na Rússia, Inglaterra e Alemanha fracassaram, provavelmente, devido às condições climáticas desfavoráveis (Embrapa, 2011).

Na década de 20 do século XX, agricultores americanos iniciaram o cultivo da soja em larga escala, que era usada principalmente como um insumo para ração animal. No Brasil, o grão foi introduzido no Estado do Rio Grande do Sul (RS) por volta da ano de 1960 e, até meados de 1970, cerca de 80% da produção nacional de soja concentrava-se na Região Sul. Posteriormente, seu cultivo avançou por todo Cerrado e chegou até a Região Norte do país (Schnepf, Dohlman e Bolling, 2001).

Em 1964, o mercado começou a mostrar indícios de necessidade de dispor de uma proteína mais concentrada do que a farinha de soja, especialmente para projetos de empresas que, naquela época, cogitavam lançar produtos baseados em carboidratos enriquecidos com proteínas; em 1969 inaugurou-se a primeira fábrica do Hemisfério Sul, em Esteio (RS), de isolado proteico, com uma capacidade de 1000 toneladas anuais de produto (Kohlmann e Udvary, 1976).

3.1.2 Produção e mercado da soja no Brasil

A soja, nos últimos anos, tornou-se um dos principais produtos de exportação do país. A Figura 3.1 mostra a porcentagem que alguns países representam da produção mundial de soja em 2013. Os números dessa safra colocaram o Brasil praticamente ao lado dos Estados Unidos no ranking de produção mundial do grão. A produção brasileira chegou aos 81,5 milhões de toneladas em uma área plantada de 27,7 milhões de hectares, números muito próximos aos encontrados nos EUA, onde a produção foi de

82,6 milhões de toneladas em uma área plantada de 30,8 milhões de hectares (Sinagro, 2014).

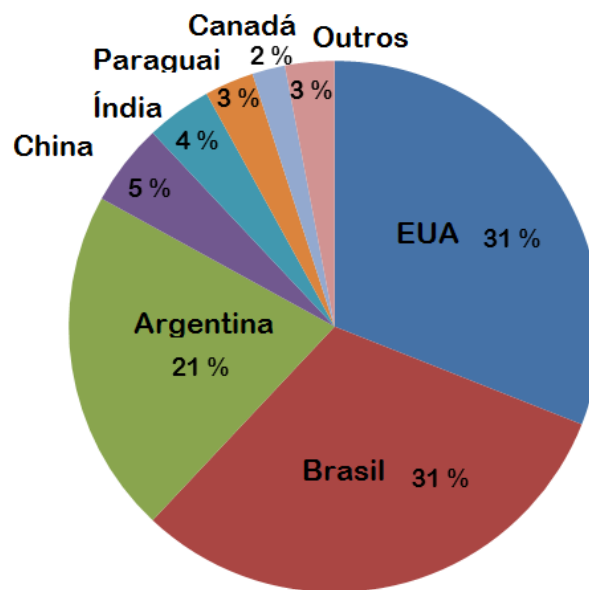


Figura 3.1. Ranking da produção mundial de soja na safra 2013.

Fonte: Illinois Soybean Association-Ilsoy (2014)

Atualmente, os principais estados brasileiros produtores de soja correspondem ao Mato Grosso (23,5 milhões de ton), Paraná (15,8 milhões de toneladas) e Rio Grande do Sul (12,1 milhões de ton) (Sinagro, 2014).

3.1.3 *Propriedades nutricionais e funcionais*

O valor da soja está vinculado as suas propriedades como alimento proteico e fonte de óleo de boa qualidade. A soja é rica em aminoácidos essenciais e apresenta alto teor de proteínas de fácil digestão após o processamento, o que a torna um bom substituto para carne e para o leite. A soja é bem conhecida pela variação de cor, tamanho, forma do grão e outras propriedades físicas bem como sua composição química. As diferenças físicas e químicas são consideravelmente modificadas pela hereditariedade da variedade e pelas condições climáticas, onde são cultivadas (Sgarbieri, 1996).

O maior constituinte mineral presente na soja é o potássio; já o fósforo, cálcio, magnésio, enxofre, cloro e sódio encontram-se em média proporção e, boro, manganês,

ferro, cobre, bário e zinco estão em menores quantidades (Ologhobo e Fetuga, 1984; Mandarino, Carrão-Panizzi e Oliveira, 1992; Vieira, Cabral e Paula, 1999). Quanto ao teor de cinzas, as cultivares apresentaram uma variação de 4,93 a 5,66 % (Moraes *et al.*, 2006). Nos grãos de soja também se encontram carotenos, vitaminas do complexo B (tiamina (B1), riboflavina (B2) e niacina (B3)), ácido nicotínico e ácido ascórbico (Embrapa, 2011).

Vieira, Cabral e Paula (1999) avaliaram seis cultivares de soja e encontraram as seguintes porcentagens referentes à composição centesimal em base seca: óleo, 22,24% a 23,80%, proteína, 38,55% a 41,95%, fibra, 5,24% a 6,38%, cinzas, 5,24% a 5,57% e carboidratos, 29,81% a 33,33%, sendo o conteúdo médio desses nutrientes igual a 23,04%, 39,52%, 5,75%, 5,41% e 32,01%, respectivamente. Os resultados obtidos por estes autores foram semelhantes aos encontrados por Snyder e Know (1987) conforme Figura 2. Além de avaliarem a composição centesimal do grão de soja, Snyder e Know (1987) determinaram a quantidade de proteínas, carboidratos, minerais e óleo presentes na farinha integral, na farinha desengordurada e na proteína isolada de soja (Figura 3.2).

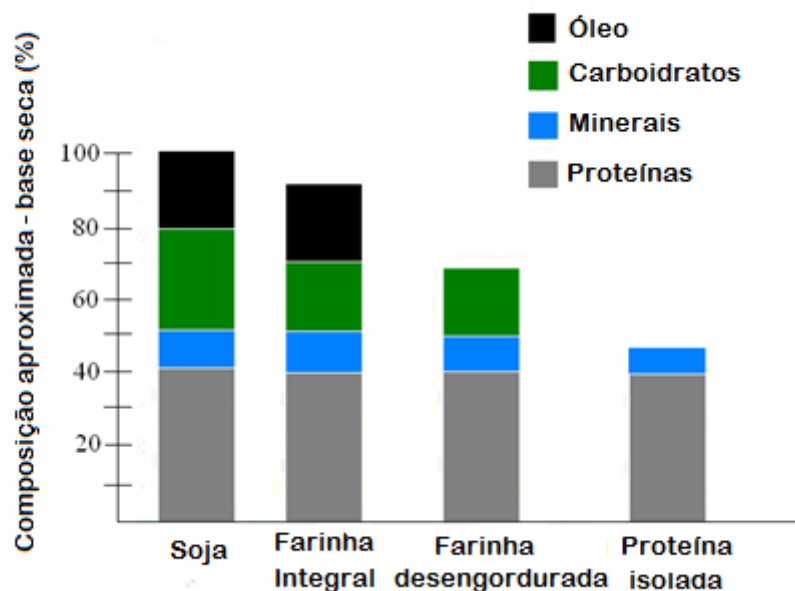


Figura 3.2. Composição aproximada (em base seca) da soja e derivados.

Fonte: Snyder e Know (1987)

A soja, além do seu reconhecido valor nutricional, também apresenta inúmeros compostos que a identificam como um alimento funcional. Cabe ressaltar que, segundo a legislação, alimento funcional é definido como: “todo aquele alimento ou ingrediente

que, além das funções nutricionais básicas, quando consumido como parte da dieta usual, produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica” (Brasil, 1999).

Essas propriedades funcionais estão relacionadas à presença de fitoquímicos, destacando-se os inibidores de proteases, fitatos, fitoesteróides, saponinas, ácidos fenólicos, lecitina, ácidos graxos insaturados (ômega 3) e isoflavonóides. Outros compostos como aminoácidos, fibras, vitaminas, minerais e carboidratos também têm sido relatados com efeitos benéficos à saúde. A ação sinérgica desses compostos na prevenção de doenças como osteoporose, diabetes, doenças coronarianas, controle dos sintomas da pós-menopausa, redução de colesterol e inibição de diversos tipos de câncer, tem sido relatada (Tham, Gardner e Haskell, 1998; Waggle e Potter, 2000; Friedman e Brandon, 2001).

O FDA (*Food and Drug Administration*), órgão que regulamenta a produção de alimentos e medicamentos nos Estados Unidos, recomenda a ingestão diária de 25 gramas de proteína de soja para controle dos níveis de colesterol e triglicérides (Embrapa, 2011).

3.1.4 Derivados da soja

Os derivados da soja utilizados nas formulações de sistemas alimentares, geralmente encontram-se sob as seguintes formas: farinha integral, farinha desengordurada, farinha texturizada, extratos solúvel e insolúvel, proteína concentrada de soja, proteína isolada de soja, óleo e lecitina de soja.

A farinha de soja integral é uma fração fina, obtida a partir de grãos de soja descascados, tratados termicamente, moídos e peneirados (100 mesh). A composição química desse produto é idêntica à da soja que lhe deu origem. Na forma bruta, natural, é muito apreciada em panificação porque nesta forma ela apresenta a enzima lipoxigenase ativa que ajuda a branquear o pão. A farinha integral também pode ser utilizada para fazer leite de soja, eliminando as etapas de demolhagem e moagem (Sgarbieri, 1996). A farinha de soja desengordurada é feita a partir da moagem fina de flocos de soja desengordurados. Os flocos desengordurados são obtidos pela moagem dos grãos de soja em moinhos de rolo com posterior retirada do óleo através de extração com solventes. Como a gordura foi retirada, a farinha de soja desengordurada apresenta

maior conteúdo proteico, porém alguns nutrientes como vitamina E e a lecitina são removidos com o óleo (Sgarbieri, 1996).

Conforme o mesmo autor, a farinha de soja desengordurada que sofre os processos de hidratação, cocção sob altas pressões e extrusão dá origem à farinha de soja texturizada ou proteína de soja texturizada. Esse tipo de produto é mais comumente utilizado como substituto parcial ou total para a carne, devido a sua aparência e consistência parecida com a da carne.

O extrato de soja, também conhecido como leite de soja, é o líquido extraído dos grãos de soja. O processo de obtenção do extrato ocorre após as etapas preliminares de seleção e lavagem dos grãos, maceração em água, retirada da casca, desintegração e aquecimento, que são as etapas para a obtenção da farinha e separação do resíduo (Liu, 1999).

Os flocos de soja desengordurados também dão origem à proteína concentrada de soja; para tanto, os flocos são imersos em álcool ou água para remoção de açúcares solúveis. O resultado é uma forma mais concentrada de farinha de soja (65 a 70 % de proteína) com sabor e características funcionais melhoradas. A proteína concentrada de soja pode ser apresentada na forma texturizada para utilização em substitutos cárneos ou atomizada para uso em formulações de alimentos infantis entre outros (Sgarbieri, 1996).

A proteína isolada de soja é obtida por processo similar aquele usado para a obtenção de proteína concentrada, porém novas etapas são inseridas no processamento para retirada dos açúcares insolúveis e das fibras. Esses produtos apresentam entre 85 e 90 % de proteína pura (Sgarbieri, 1996; Damodaran, Parkin e Fennema, 2008). O fluxograma de processo para obtenção dos diferentes derivados da soja está exposto na Figura 3.3.

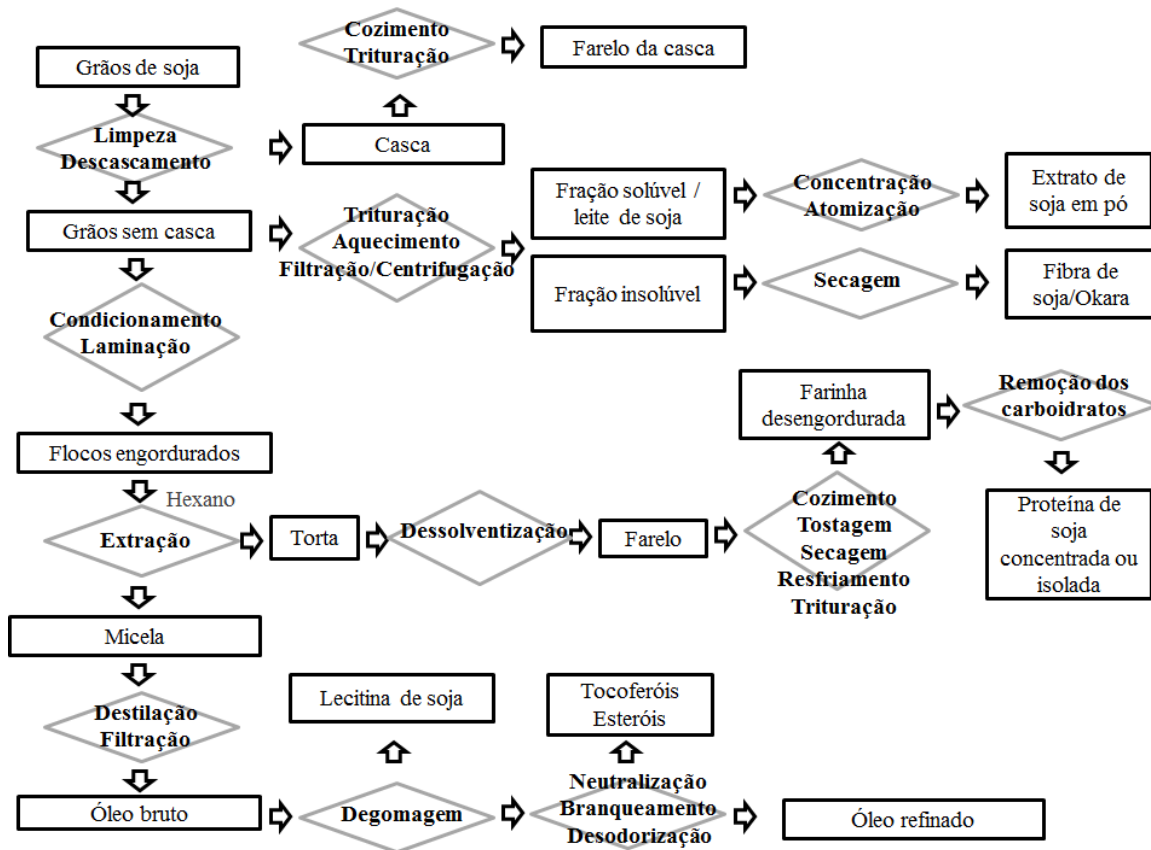


Figura 3.3. Fluxograma do processo de obtenção dos derivados da soja.

Fonte: Autor

3.1.5 Características e propriedades funcionais da proteína da soja

Como o extrato hidrossolúvel de soja (derivado da soja utilizado na preparação das amostras deste trabalho) apresenta 44 % de proteína em sua composição, cabe ressaltar algumas características e propriedades funcionais importantes proporcionadas pela proteína.

A maior parte das proteínas da soja é classificada como globulinas. Elas são insolúveis em água no seu ponto isoelétrico (pH 4,5), mas solúveis em água ou soluções salinas diluídas, em valores de pH acima ou abaixo de seu ponto isoelétrico (Sgarbieri, 1996; Liu, 1999). As globulinas da soja possuem estruturas quaternárias complexas que sofrem facilmente reações de associação-dissociação, dependendo das condições do meio (pH, força iônica e solvente) (Renkema, Gruppen e Vliet, 2002).

As proteínas de soja possuem muitas propriedades funcionais interessantes, como alta solubilidade, absorção de água e gordura, estabilização de emulsões e ação

gelificante (Chove, Grandison e Lewis, 2007). Essas propriedades estão relacionadas com as suas propriedades físicas, químicas e estruturais ou conformacionais. Isso inclui tamanho, forma, composição, sequência de aminoácidos – carga e sua distribuição – relação hidrofiliicidade/hidrofobicidade, conteúdo e distribuição da estrutura secundária (α -hélice, β -“sheet”, etc), organização da estrutura terciária e quaternária de segmentos polipeptídicos, ligações cruzadas entre cadeias polipeptídicas (ex. pontes dissulfeto), rigidez ou flexibilidade da proteína em resposta às mudanças externas, ponto isoelétrico, suas interações com outros compostos do alimento (água, íons, carboidratos, lipídeos, proteínas e “flavors”) e também às condições de pH, força iônica e temperatura (Lakemond *et al.*, 2000).

Das propriedades supracitadas, apenas a solubilidade e a capacidade de retenção de água serão comentadas, devido a sua importância no presente trabalho.

3.1.5.1 Solubilidade

A solubilidade da proteína de soja é, provavelmente, a sua propriedade mais importante em alimentos, não só porque os ingredientes de soja devem formar dispersões estáveis quando incorporadas em bebidas e outros sistemas alimentícios, mas também porque outras funcionalidades, tais como emulsionantes, gelificantes e de formação de espuma, estão intimamente associados com a solubilidade (Wang e Johnson, 2001). A solubilidade é a quantidade de um soluto que pode ser dissolvido no solvente. Matematicamente, o grau de solubilidade de uma proteína é a quantidade de proteína presente na fase líquida em relação à quantidade total de proteína nas fases líquida e sólida. A solubilidade da proteína também pode ser definida como uma determinada quantidade da proteína retida no sobrenadante após a dispersão ser centrifugada durante um determinado período de tempo (Pelegri e Gasparetto, 2005). Para Añon, Sorgentini e Wagner (2001), solubilidade de uma proteína corresponde ao equilíbrio termodinâmico entre a interação proteína-proteína e proteína-solvente, que está relacionada ao balanço de hidrofiliicidade/hidrofobicidade de sua superfície.

Muitas vezes, as proteínas no seu estado nativo não são solúveis, e devem ser desnaturadas para ajudar na sua solubilização. A solubilidade dos produtos de soja é altamente dependente do estado físico-químico das moléculas de proteína, que são favoravelmente ou desfavoravelmente afetados pelo aquecimento, secagem, e outros

tratamentos durante a sua fabricação e armazenagem. Esta propriedade é, portanto, uma das características mais usadas de produtos de proteína. As características de solubilidade dos produtos de proteína de soja pode ser influenciada por uma vasta gama de condições ambientais, incluindo o pH, a força iônica e temperatura (Lee, Ryu e Rhee, 2003).

a) Efeito do pH sobre a solubilidade de proteínas de soja

O pH da solução influencia a natureza e a distribuição de carga líquida da proteína. Geralmente, as proteínas são mais solúveis em valores baixos de pH (ácido) ou altos (alcalino) devido ao excesso de cargas do mesmo sinal, produzindo forças de repulsão entre as moléculas e, por conseguinte, contribuindo para a sua solubilidade (Pelegri e Gasparetto, 2005). A carga líquida da proteína em seu ponto isoelétrico é zero, sendo que as forças de repulsão se tornam mínimas, o que favorece as interações hidrofóbicas e agregação das moléculas, minimizando a capacidade de hidratação desse polímero, ou seja, neste ponto a proteína apresenta a menor solubilidade (Malhotra e Coupland, 2004; Pelegri e Gasparetto, 2005). Conforme a Figura 3.4, que apresenta o perfil de solubilidade das proteínas de soja em diferentes valores de pH, quando o pH se afasta do seu ponto isoelétrico, a solubilidade da proteína tende a aumentar, já que as interações proteína-água são favorecidas.

Forças moleculares, tais como interações hidrofóbicas e eletrostáticas podem ser manipuladas pelo pH para produzir proteínas com diferentes conformações estruturais e, conseqüentemente, propriedades funcionais, tais como a solubilidade (Aluko e Yada, 1995). Em condições alcalinas, algumas ligações de hidrogênio na molécula de proteína são quebradas, fazendo com que ela assuma uma configuração um pouco mais aberta do que a original; assim muitos grupos de peptídeos e cadeias laterais ficam expostos ao solvente (Aluko e Yada, 1995).

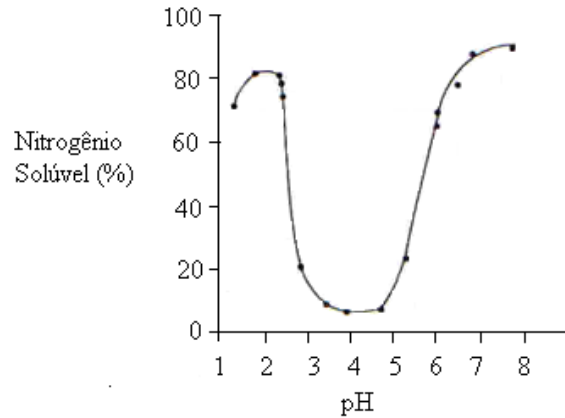


Figura 3.4. Perfil de solubilidade das proteínas de soja em diferentes valores de pH.
Fonte: Farfán (1990)

b) Efeito do tratamento térmico sobre a solubilidade

Os tratamentos térmicos são capazes de reduzir a atividade de inibidores de protease, eliminar a lipoxigenase e compostos voláteis que induzem a sabores indesejáveis, e melhorar propriedades funcionais como a solubilidade. Em temperaturas mais elevadas algumas reações podem acontecer, tal como quebra de ligações S-S com liberação de H_2S , liberação de NH_3 de grupos amida, dissociação de subunidades e / ou desagregação destas subunidades em compostos com pesos moleculares menores, que podem ser responsáveis pela melhora da solubilidade da proteína (Shimada e Cheftel, 1988). O aquecimento da proteína de soja provavelmente provoca a dissociação da estrutura quaternária, liberando peptídeos menores, facilitando a sua solubilização (Rangavajhyala, Ghorpade e Hanna, 1997).

c) Efeito da concentração de proteína sobre a solubilidade da proteína de soja

Muitas vezes, é difícil aumentar a concentração de proteína até um nível elevado sem causar precipitação ou agregação (Golovanov et al., 2004). A concentração de proteína tem um efeito significativo sobre a solubilidade; à medida que aumenta a concentração, a solubilidade diminui, provavelmente, pelo aumento das interações proteína-proteína (Sorgentini, Wagner e Anon, 1995; Wagner, Sorgentini e Anon, 2000; Pace et al., 2004). Quando a proteína de soja está em elevadas concentrações, ela estará, provavelmente, agregada, enquanto que em concentrações mais baixas, vários tipos de complexos solúveis podem se formar (Roesch e Corredig, 2003).

3.1.5.2 Capacidade de retenção de água

A capacidade de retenção de água (*CRA*) é uma indicação quantitativa da quantidade de água retida no interior de uma mistura sob condições definidas (Huang e Kinsella, 1986). Kneifel *et al.*(1991) a definiram como a capacidade de uma estrutura alimentar de impedir que a água seja liberada a partir de sua estrutura tridimensional. Os testes referentes à *CRA* são considerados uma ferramenta para avaliar a aceitação do alimento, que está associada com a sua aparência, textura, e também com medidas químicas e reológicas (Zheng *et al.*, 2008).

A separação da água, que também é chamado “*wheying-off*”, é um defeito comum durante o armazenamento de sobremesas, observado pelo aparecimento de água na superfície superior do produto. Os fabricantes tentam evitá-la através do aumento do teor total de sólidos ou pela adição de estabilizantes. Assim, é importante que cremes, emulsões, sobremesas e iogurtes possuam elevada *CRA* devido ao impacto negativo que a liberação de água pode trazer sobre a aceitação do consumidor (Remeuf *et al.*, 2003).

Em geral, a água mantida numa estrutura pode ser dividida em dois tipos: 1) a parte ligada à molécula que já não está disponível como um solvente e 2), a parte aprisionada na matriz de proteína ou de uma correspondente co-matriz (polissacarídeo, gordura, etc.). O primeiro tipo pode ser considerado como água absorvida e o segundo como água retida.

A absorção de água, que está mais fortemente ligada às moléculas de proteína, é altamente influenciada pelos parâmetros físico-químicos que afetam diretamente as proteínas e pelas propriedades de superfície das moléculas de proteínas que interagem com a solução dissolvente. Isto significa que a capacidade de retenção de água depende não só do tamanho de poros e capilares, mas também das cargas das moléculas de proteína (interações hidrofóbicas, ligações de hidrogênio, ligações S-S, ácidos, bases), bem como forças de Van der Waals (Kneifel *et al.*, 1991). Além disso, a *CRA* é influenciada por vários parâmetros tais como pH, temperatura, tamanho da proteína, forma de lipídios e hidratos de carbono associados com a proteína, equilíbrio hidrófilo-hidrofobo de aminoácidos e a presença ou ausência de tensoativos (Han e Khan, 1990). A adição de polissacarídeos pode aumentar a capacidade de retenção de água através da gelificação que fortalece a rede de gel, com poros menores e forças capilares maiores

(Maltais et al., 2005; Yamamoto e Cunha, 2007), e também pela sua capacidade de se ligar à água com os grupos hidroxila (Uresti et al., 2003).

3.2 Produtos à base de soja

Hoje, são comercializados diferentes alimentos contendo soja como, bebidas, barras nutricionais, suplementos alimentares, cereais, biscoitos, molhos, chocolates, snacks, sobremesas, sorvetes e muitos outros (Tabela 3.1).

Tabela 3.1. Produtos à base de soja comercializados atualmente.

Aplicações	
Suplementos alimentares	Misturas em pó para fins nutricionais
	Misturas em pó para dietas de emagrecimento
	Misturas em pó para atletas / esportistas
Bebidas prontas para consumo	Bebidas nutricionais / substitutivos de refeições
	Achocolatados
	Bebidas acidificadas
Barras nutricionais / energéticas	
Alimentos infantis	Sopas e sobremesas infantis
	Formulações especiais sem lactose
Produtos não-lácteos	Alternativos lácteos, sem lactose
	Imitações queijos cremosos / requeijão
	Capuccino
	Coffe whiteners
	Bebidas fermentadas tipo iogurte
	Sobremesas
	Chantilly
	Sorvetes
Panificação	Biscoitos com alto teor proteico
Análogos de carne	Hambúrguer
Outros	Misturas em pó para preparo de sopas
	Tofu

Com o intuito de mudar a opinião negativa dos consumidores a respeito dos produtos com soja, diversos trabalhos foram relatados empregando diferentes derivados

da soja como, a proteína texturizada de soja (Peuckert *et al.*, 2010), a proteína isolada de soja (Chauhan, Lal e Joshi, 1998; Mendes *et al.*, 2002; Santana *et al.*, 2006; Bazzani *et al.*, 2007; Fasolin, 2009), o extrato desengordurado de soja (Umbelino *et al.*, 2001; Rodrigues, 2003; Valim *et al.*, 2003; Tomikawa, 2009; Miguel *et al.*, 2010), a farinha de soja (Wang, Clerici e Sgarbieri, 1993; Nascimento, Wang e Ascheri, 2009; Nascimento, Wang e Nascimento, 2009; Rodrigues e Oliveira, 2010), o farelo de soja (Uliana e Rosa, 2009) ou até resíduos como a ‘okara’ (fluxograma da Figura 3) (Cavalheiro *et al.*, 2001; Larosa *et al.*, 2006). A Tabela 3.2 apresenta os trabalhos encontrados na literatura que retratam diversos produtos elaborados com diferentes derivados da soja.

Tabela 3.2. Produtos à base de soja apresentados na literatura.

Produto	Derivado da soja usado	Referência
Mingau de preparo rápido	Farinha de soja tratada por micro-ondas	Wang, Clerici e Sgarbieri (1993)
Bebida com polpa de manga	Isolado proteico de soja	Chauhan, Lal e Joshi (1998)
Biscoitos sabor chocolate	Farinha de okara	Cavalheiro <i>et al.</i> (2001)
Doce com ameixa	Extrato hidrossolúvel de soja	Mendes <i>et al.</i> (2002)
Bebida com suco de laranja	Extrato hidrossolúvel de soja	Valim <i>et al.</i> (2003)
Bebida com polpa de pêsego	Extrato de soja	Rodrigues (2003)
Cremes para recheios de sonhos	Óleo e proteína de soja	Engelen <i>et al.</i> (2003)
Biscoitos	Farinha de okara	Larosa <i>et al.</i> (2006)
Iogurte sabor pêsego	Proteína isolada de soja	Santana <i>et al.</i> (2006)
Iogurte sabor amora	Leite de soja	Bazzani <i>et al.</i> (2007)
Bebidas com polpas de maracujá, abacaxi e morango	Extrato hidrossolúvel de soja	Caus <i>et al.</i> (2008)
Donuts	Farinha de soja	Nascimento, Wang e Ascheri (2009)
Bebidas com polpa de graviola	Proteína isolada de soja	Fasolin (2009)
Queijo	Farelo de soja e extrato hidrossolúvel de soja	Uliana e Rosa (2009)
Requeijão	Farinha de soja extrusada	Nascimento, Wang e Nascimento (2009)
Iogurte sabor morango	Extrato desengordurado	Miguel <i>et al.</i> (2010)
Minipizzas	Farinha de soja	Rodrigues e Oliveira (2010)
Trufa de chocolate	Creme de soja	Maurício e Trentinalha (2010)
Barra de cereal	Proteína texturizada	Peuckert <i>et al.</i> (2010).

3.2.1 Sobremesas à base de soja

Quando se trata de sobremesas à base de soja, esse nicho ainda corresponde a um setor que requer inovações, devido à pouca quantidade de produtos no mercado e literatura escassa. A Tabela 3.3 apresenta os produtos desenvolvidos por diferentes autores.

Tabela 3.3. Sobremesas à base de soja apresentadas na literatura.

Produto	Autores
Sobremesa não-fermentada congelada à base de soja contendo probióticos.	Heenan et al. (2004)
Sobremesa congelada de mirtilo com creme e proteína isolada de soja.	Teh, Dougherty e Camire (2005)
Sobremesa congelada de proteína de soja e leite de coco sabor baunilha, sabor cheesecake de morango e sabor	Soler (2005)
Sobremesa congelada com mirtilo e tofu	Camire, Dougherty e Teh (2006)
Sobremesas congeladas de mirtilo com proteína isolada de soja, leite de soja e tofu	Teh, Dougherty e Camire (2007)
Sobremesas cremosas de chocolate e baunilha, contendo 2% de proteína de soja	Chaves, Matté e Mendonça (2007).
Sobremesa de soja tipo petit suisse, enriquecida com cálcio, a partir do tofu	Tomikawa (2009)
Sobremesa aerada com soja e suco de goiaba	Granato et al. (2010)
Flan de soja sabor baunilha	Alamprese e Mariotti (2011)
Sobremesa aerada com soja e suco de maracujá	Granato, Masson e Ribeiro (2012)

Como se pode notar, a adição de frutas em sobremesas tem sido muito usada pelos autores na elaboração das sobremesas. Esse fato está ligado tanto aos aspectos sensoriais (melhorar a aparência e sabor) como nutricionais da formulação, visto que as frutas são capazes de mascarar o sabor da soja, assim como aumentar o conteúdo de vitaminas, fibras e compostos antioxidantes. Com relação aos aspectos nutricionais das sobremesas de soja, além da adição de frutas, alguns autores enriqueceram suas formulações com fibras prebióticas (Granato et al., 2010; Granato, Masson e Ribeiro, 2012) e micro-organismos probióticos (Heenan et al., 2004).

Muitas das sobremesas desenvolvidas obtiveram boa aceitação sensorial, apresentando potencial para comercialização (Soler, 2005; Camire, Dougherty e Teh, 2006; Tomikawa, 2009; Granato et al., 2010; Granato, Masson e Ribeiro, 2012).

3.3 Aditivos alimentares

Na indústria de alimentos, diferentes aditivos são utilizados com a função de espessar, estabilizar, conferir viscosidade, e dar a textura desejada ao alimento produzido. Além disso, muitos são utilizados como substitutos de gordura. A seguir estão apresentadas, de forma resumida, as definições de espessante, estabilizante e substituto de gordura.

- Espessante é a substância que aumenta a viscosidade de um alimento, propriedade essa que consiste na resistência em fluir de um líquido. Os espessantes mais utilizados, em diferentes formulações alimentares, correspondem às gomas, aos amidos e a gelatina (Brasil, 1997).

- Estabilizante é a substância que torna possível a manutenção de uma dispersão uniforme de duas ou mais substâncias imiscíveis em um alimento (Brasil, 1997). Como mencionado anteriormente (item 3.1.5.1a), as proteínas podem sofrer precipitação quando estão em produtos que apresentam pH entre 4 e 5. Nesses sistemas, a agregação das partículas pode ser inibida com o uso de estabilizantes. Esses compostos evitam a sedimentação das partículas através de forças eletrostáticas, hidrofóbicas e hidrofílicas, ou seja, eles são capazes de se ligar às proteínas, impedindo sua agregação ao mesmo tempo em que fazem ligações com a água levando ao aumento da viscosidade. Os estabilizantes mais utilizados na indústria alimentícia incluem a carragena, os alginatos, a caseína, a goma guar, a goma Jataí, a goma xantana, e a carboximetilcelulose sódica (CMC) (Fennema, 2002).

- Substituto de gordura: quanto aos substitutos de gordura, não existe, até o presente momento, na legislação brasileira, uma terminologia adequada para esses compostos. Conforme o FDA, substituto de gordura (*“fat substitute”*) é reconhecido como: composto sintético desenvolvido para repor a gordura na base peso por peso, tendo, usualmente, uma estrutura química similar à da gordura, mas resistente à hidrólise pelas enzimas digestivas (Roller e Jones, 1996).

Entre os diversos aditivos alimentares usados para atender às funções supracitadas, foram utilizados, no presente trabalho, os seguintes: goma carragena,

carboximetilcelulose, povidexose e amido modificado. A seguir será feita uma breve descrição desses aditivos.

3.3.1 Carragena

A carragena é um polissacarídeo aniônico sulfatado, amplamente utilizado na indústria alimentícia como espessante, gelificante e estabilizante, particularmente em produtos lácteos (Musampa, Alves e Maia, 2007); é extraída de certas espécies de algas vermelhas e, quimicamente, constituída de poligalactanos, polímeros sulfatados de moléculas alternadas de D-galactose e 3-6 anidro-D-galactose (3,6-AG) unidas por ligações $\alpha(1-3)$ e $\beta(1-4)$ glicosídicas.

A carragena possui diversas funções de acordo com a sua aplicação: gelificação, espessamento, estabilização de emulsões, estabilização de proteínas, suspensão de partículas, controle de fluidez e retenção de água.

Segundo a Resolução CNS/MS N.º 04, de 24 de Novembro de 1988 (Brasil, 1988), em sobremesas e pós para sobremesa de gelatinas, flans, pudins e similares, a carragena quando adicionada como espessante alimentar, não deve ultrapassar a concentração de 0,5 g / 100 g de produto.

3.3.2 Carboximetilcelulose

Outro espessante/estabilizante muito utilizado nas indústrias é a celulose, obtida da parede celular das plantas. A celulose é um composto orgânico encontrado em todas as plantas, é completamente insolúvel em água e indigerível pelo corpo humano. A substituição química de algumas hidroxilas da celulose por metilas leva à formação da metilcelulose, e a substituição por grupos carboxílicos leva à formação da carboximetilcelulose (CMC), polissacarídeo aniônico de fácil dissolução e com grande capacidade espessante e estabilizante. A principal característica desse composto é o fato de pequenas concentrações conferirem alta viscosidade ao produto (Phillips e Williams, 2000).

Segundo a Resolução CNS/MS N.º 04, de 24 de novembro de 1988 (Brasil, 1988), em sobremesas e pós para sobremesa de gelatinas, flans, pudins e similares, a

CMC, quando adicionada como espessante alimentar não deve ultrapassar a concentração de 0,5 g / 100 g de produto.

3.3.3 Polidextrose

A polidextrose, fibra altamente solúvel, propicia formação de corpo para produtos com menor teor de gordura ou sem adição de açúcar; além de promover o apelo prebiótico, trata-se de um carboidrato de baixo índice glicêmico. A polidextrose é um polímero de condensação da dextrose produzido em altas temperaturas por ácido cítrico (catalisador) e sorbitol (agente plastificante) na respectiva proporção de 89:10:1 (Cândido e Campos, 1995); pode substituir o açúcar, a gordura ou o amido e em quantidades de aproximadamente 90 g por dia, porém pode causar efeitos laxativos em humanos. A polidextrose pode ser usada como um agente de volume, transportador de sabor, redutor do ponto de congelamento, texturizante em várias categorias de alimentos, incluindo chicletes, molhos para salada, sobremesas, doces rígidos e macios, xaropes, entre outros, sendo solúvel e de fácil aplicação, além de umectante (Akoh, 1998; Mitchell, 2002).

Esse agente de corpo pode ser consumido por diabéticos e seu valor calórico, reportado pela Legislação Brasileira é de apenas 1 kcal/g, o que representa 75 % de redução calórica se comparado à sacarose. Os limites de uso indicados para bebidas lácteas são de 4 a 10 % quando utilizados como substituto do açúcar e de 2 a 5 % como substituto do gordura (Mitchell, 2002).

3.3.4 Amidos modificados: amido cross-linking ou de ligações cruzadas

Por ser um polissacarídeo de baixo custo, o amido é o agente espessante e gelificante mais usado na indústria de alimentos, agindo na textura de diferentes produtos, como sopas, molhos e alimentos processados; possui larga faixa de propriedades reológicas e de textura, resultado de diferentes origens botânicas, de modificações químicas e de vários outros parâmetros, como presença de outros componentes - lipídios, açúcares, proteínas e hidrocoloides - e condições de tratamento térmico (Thebaudin, Lefebvre e Doublier, 1998).

Em produtos como sobremesas, necessita-se de amidos capazes de conferir uma viscosidade estável às formulações. Nesse sentido, optou-se por trabalhar com o amido *cross-linking*. Esse amido também é conhecido como amido de ligações cruzadas, reticulado, *cross linked* ou *crossbonded*. O tratamento de ligação cruzada é alcançado quando se adiciona ligações inter e intra-moleculares em localizações randômicas no grânulo do amido, através da utilização de um agente polifuncional, entre os quais se citam: ácido orto-fosfórico, ortofosfato de sódio ou potássio, tripolifosfato de sódio, epiclоридина, vinil sulfona dipóxido, oxiclорето de fósforo e dialdeído. Nesse processo, formam-se tanto ligações éter, quanto ligações éster inter-moleculares entre os grupamentos hidroxila da molécula do amido (Bertolini, 2009).

O amido reticulado pode ser preparado através da mistura de uma solução aquosa de amido e solução alcalina (pH 12,2), na proporção mássica de 1:1,5 com posterior agitação e aquecimento à 30°C, em reator. A essa solução, adiciona-se a epiclоридина dissolvida na mesma solução alcalina (0,075 % p/p) pela parte inferior do reator. Após duas horas, a reação é interrompida através da redução do pH com ácido clорídrico (0,5 M); essa solução é centrifugada a 2000 rpm por 15 minutos, sendo a fase líquida eliminada. O amido resultante é lavado em água destilada (o dobro em relação ao seu volume) por duas vezes, decantado e seco por 24 horas a 45 °C (Gall, Fabre e Raimondi, 1977).

Conforme a Figura 3.5, que apresenta o grânulo de amido reticulado, as ligações cruzadas reforçam as ligações normais (de hidrogênio) dos grânulos de amido, assim o grânulo absorve mais água sem se romper, apresentando picos de elevada viscosidade, sem quedas posteriores. As ligações cruzadas nos amidos podem ser consideradas como pontos de solda no grânulo em posições aleatórias, reforçando ligações de hidrogênio e inibindo o intumescimento do grânulo (Cereda, 1996).

Portanto, as reações de ligação cruzada têm por finalidade o controle da textura, além de conferir tolerância ao aquecimento, acidez e agitação mecânica. Como resultado, é possível exercer melhor controle e maior flexibilidade no trabalho com formulações, processos e ainda prolongar a vida útil do produto (Bertolini, 2009). Esse tratamento fortalece o amido, de modo que suas pastas cozidas são mais viscosas e mais encorpadas, com menor tendência à degradação quando submetidas a maiores períodos de cozimento, maior acidez ou severa agitação (Alexander, 1996).



Figura 3.5. Representação das ligações cruzadas no grânulo de amido e na estrutura gelificada.

Fonte: Franco *et al.* (2001)

Segundo a Portaria n° 540, de 27 de outubro de 1997 (Brasil, 1997), amidos modificados quimicamente não são considerados como aditivos alimentares, devendo ser mencionados na lista de ingredientes como amidos modificados. Quando utilizados pela indústria alimentar, deverão obedecer às especificações estabelecidas pelo Food Chemical Codex.

3.4 A goiaba

A goiaba vermelha (*Psidium guajava*), uma espécie pertencente à família Myrtaceae, é originária da região tropical das Américas e foi disseminada para as diferentes regiões do mundo (Lemos, 1995); destaca-se por suas extraordinárias propriedades sensoriais, pelo alto valor nutritivo, alto rendimento por hectare e elevado rendimento em polpa, apresentando, portanto, características adequadas à aplicação industrial (Carvalho, 1994).

Dados do Agriannual (2010) indicaram que em 2010, no Brasil, 14.998 hectares eram cultivados com goiabeiras que produziram mais de 300.000 toneladas de frutos. No Estado de São Paulo, maior produtor nacional, foram cultivados 4.236 hectares, responsáveis pela produção de aproximadamente 100.000 toneladas de frutos, valores que representam 28,24 % da área total de cultivo e 32,55% da produção nacional. Sabe-se que o ranking mundial é liderado pelo Brasil, Paquistão, México. Também são apontados como grandes produtores Egito, Venezuela, Jamaica, Quênia, África do Sul,

Austrália e Porto Rico. A produção no Brasil é concentrada nos meses de fevereiro e março, mas a comercialização da fruta ocorre o ano todo.

Esse fruto é composto por proteínas (1,1 g/100 g), carboidratos totais (13 g/100 g), fibras alimentares (6,2 g/100 g), minerais (0,5 g/100 g) e possui quantidades inexpressivas de lipídeos totais (0,4 g/100 g) (Taco, 2012). Além disso, estudos químicos de diversas variedades de goiaba vermelha têm mostrado seu potencial como alimento funcional por conter compostos químicos com comprovadas bioatividades, como vitaminas B5, B2, B1 e A, além de ser considerada uma das melhores fontes de vitamina C, apresentando um conteúdo que varia de 55 a 1044 mg por 100g de polpa fresca (Carvalho, 1994).

A goiaba vermelha possui, também, atividade antioxidante devido à presença de diversos carotenóides e compostos fenólicos. Os carotenóides que estão em maiores proporções são: β -criptoxantina, β -caroteno, rubixantina, γ -caroteno e o licopeno (Rodriguez-Amaya, Amaya-Farfan e Kimura, 2007). Compostos fenólicos como a mircetina e apigenina (Miean e Mohamed, 2001), ácido elágico e antocianinas (Misra e Seshadri, 1968) também estão presentes em elevados teores nas goiabas.

A alta perecibilidade, juntamente com a falta de disponibilidade de armazenamento durante os meses de pico de processamento industrial/safra, contribuem para perdas pós-colheita, tornando-se necessário o desenvolvimento de mais produtos para um melhor aproveitamento tecnológico. O processamento da goiaba em derivados, como polpas íntegras e trituradas, merece atenção, devido à utilização das mesmas como matéria-prima de indústrias secundárias ou para consumo direto. A polpa de fruta é o produto obtido da parte comestível dos frutos, após trituração e/ou despulpamento é preservada por processos físicos como pasteurização e congelamento (Brunini, Oliveira e Varanda, 2003).

3.5 Mucilagem da chia

A chia (*Salvia hispanica L.*) é uma planta herbácea pertencente à família Labiatae, nativa da região sul do México e norte da Guatemala. Durante muito tempo, ela manteve-se como ingrediente essencial da dieta alimentar nessas sociedades, mas acabou sendo esquecida no momento da chegada dos espanhóis. Na última década do

século XX, a chia foi revivida por um grupo de cientistas e agricultores, visto que a sua semente apresenta um alto teor de ácidos graxos essenciais, fibras e proteínas (Ayerza e Coates, 2005). Além disso, devido ao conteúdo de compostos fenólicos, a semente da chia é considerada uma fonte de antioxidantes naturais (Reyes-Caudillo, Tecante e Valdivia-López, 2008).

Atualmente, a chia é cultivada principalmente no México, Bolívia, Equador e Guatemala (Martínez *et al.*, 2012) e a sua utilização pode se dar pelo consumo da semente inteira, ou pelo emprego da sua farinha, mucilagem ou óleo. Recentemente, a semente da chia ganhou outros fins, sendo utilizada na formulação de suplementos nutricionais, biscoitos, pães, iogurtes, barras e cereais matinais (Muñoz *et al.*, 2013).

Quando as sementes são mergulhadas em água, um gel transparente mucilaginoso é exsudado e permanece firmemente ligado à semente. Esse gel ou mucilagem é um polissacarídeo ramificado composto essencialmente de xilose, glicose e ácido glicurônico. As propriedades mucilaginosas da goma possuem qualidades que podem dar-lhe aplicação na indústria de alimentos. De acordo com Muñoz *et al.* (2012), essa mucilagem da chia é um novo ingrediente, e apesar de seu grande potencial de aplicabilidade em alimentos, tem sido pouco estudada.

3.6 Reologia

A reologia é a ciência que estuda a relação tensão-deformação em fluidos e sólidos. Neste sentido, os comportamentos mais simples seriam representados pelo sólido de Hooke (comportamento elástico ideal) e pelo fluido newtoniano (material viscoso ideal). No entanto, os materiais podem, em geral, exibir tanto comportamento elástico quanto viscoso, apesar de um dos tipos de comportamento ser frequentemente dominante.

Fluidos complexos, como é caso de alguns alimentos, podem apresentar características variadas com relação à conformação molecular, morfologia e tipos de ligação. Devido a estes fatores, a maioria dos fluidos apresenta um comportamento reológico mais complexo, dependente do tempo e/ou viscoelástico.

Os fluidos são geralmente divididos em fluidos Newtonianos e não-Newtonianos. Os fluidos newtonianos são aqueles que apresentam relação linear entre

tensão (τ_{yx}) e taxa de deformação ($\dot{\gamma}_{yx}$), sendo a viscosidade a constante de proporcionalidade entre essas duas variáveis. Os fluidos não-Newtonianos são aqueles que apresentam relação não linear entre tensão e deformação, sendo que suas características gerais podem ser representadas em termos do tipo de desvio que apresentam com relação ao comportamento Newtoniano, conforme representado esquematicamente na Figura 3.6. É importante ressaltar que um fluido não-Newtoniano pode apresentar simultaneamente mais de um dos tipos de desvio mencionados na Figura 3.6.

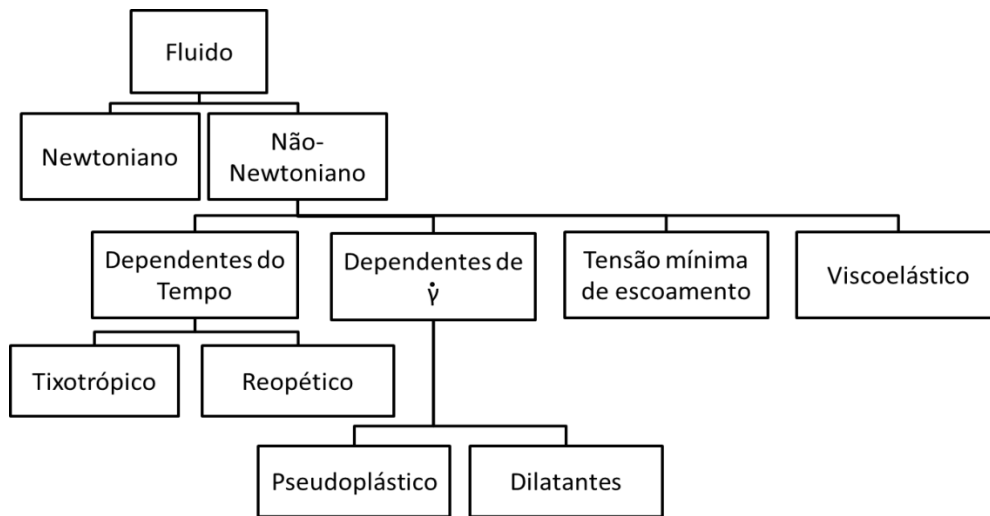


Figura 3.6. Classificação reológica de fluidos e tipos de desvio do comportamento newtoniano.

Fonte: Adaptado de Steffe (1996) com modificações

A reologia é importante em diferentes áreas da ciência e tecnologia dos alimentos. Muitas das propriedades texturais que os humanos percebem quando consomem alimentos tem relação com a reologia, como por exemplo, cremosidade, suculência, maciez, suavidade e dureza. A estabilidade e a aparência dos alimentos também podem ser relacionadas às características reológicas (McClements, 2003). Além disso, a reologia desempenha um importante papel no desenvolvimento, fabricação e processamento de produtos alimentícios e no projeto de instalações industriais (Sharma, Mulvaney e Rizvi, 2000). Com relação a este último ponto, o comportamento reológico de um dado sistema é sempre um dos fatores mais relevantes na definição da forma mais adequada de bombeamento ou agitação e das características do produto final com relação à sua estabilidade no estado de repouso ou durante a armazenagem (Petri, 2000).

As propriedades reológicas podem ser caracterizadas em diversos tipos de sistemas. No caso de ensaios em reômetros oscilatórios, dois modos de medida podem ser utilizados: não oscilatórios e oscilatórios. Nos ensaios não oscilatórios, as propriedades reológicas do fluido são medidas em termos da relação entre tensão e taxa de cisalhamento. Nos oscilatórios, estas propriedades são avaliadas em função da relação da tensão em diferentes frequências de oscilação e magnitudes de deformação. As informações que podem ser obtidas nesses dois modos de medida são discutidas a seguir.

3.6.1 Regime estacionário

Um fluido define-se como uma substância que se deforma continuamente quando se submete a um esforço constante, sem importar quão pequeno seja esse esforço. De todas as propriedades dos fluidos, a viscosidade requer uma maior atenção no estudo do escoamento de um fluido (Streeter, 1996). A viscosidade é a propriedade do fluido que quantifica a resistência ao escoamento devido às forças cisalhantes dentro do fluido e pode ser afetada por variáveis como taxa de deformação, concentração, temperatura, pressão e tempo de cisalhamento. O postulado de Newton introduziu o conceito de viscosidade segundo a equação 1:

$$\tau_{yx} = \mu \dot{\gamma}_{yx} \quad (1)$$

onde, τ_{yx} é tensão de cisalhamento (Pa) gerada por uma força aplicada na direção x sobre uma superfície com normal na direção y , $\dot{\gamma}_{yx}$ é a taxa de cisalhamento (s^{-1}) e μ é a viscosidade Newtoniana (Pa.s).

As curvas típicas de tensão e de viscosidade versus taxa de deformação encontradas em fluidos independentes do tempo são apresentadas na Figura 3.7. Quando se trata de fluidos não-Newtonianos dependentes da taxa de deformação, os tipos mais comuns são os fluidos pseudoplásticos com ou sem tensão mínima de escoamento, τ_0 , os quais podem ser descritos pelas equações de Ostwald-de-Waele (Eq.2), Herschel-Bulkley (Eq.3) e Casson (Eq. 4).

$$\tau = K \dot{\gamma}^n \quad (2)$$

$$\tau = K\dot{\gamma}^n + \tau_0 \quad (3)$$

$$\tau^{0.5} = \tau_{0c}^{0.5} + (\eta_c \dot{\gamma})^{0.5} \quad (4)$$

onde, τ , tensão de cisalhamento (N.m⁻² ou Pa); $\dot{\gamma}$, taxa de cisalhamento (s⁻¹); K , índice de consistência (Pa.s), n , índice de comportamento de fluxo (adimensional), τ_0 é a tensão mínima de escoamento, τ_{0c} é a tensão mínima de escoamento de Casson (Pa) e η_c é a viscosidade plástica de Casson (Pa.s).

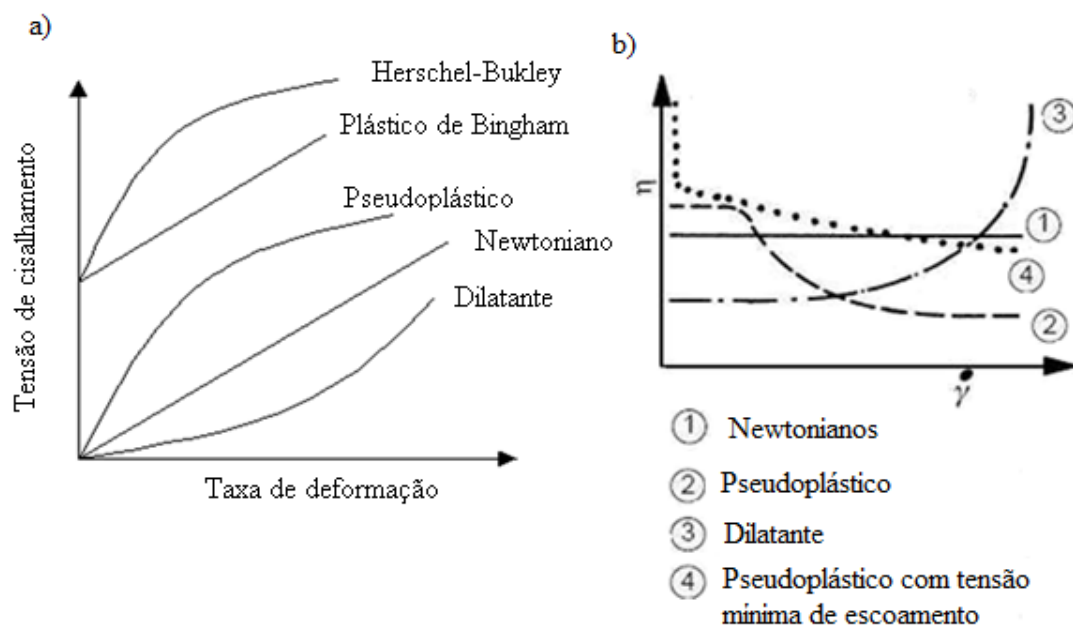


Figura 3.7. Curva de escoamento (a) e viscosidade (b) para fluidos newtonianos e não-newtonianos

Fonte: Adaptado de Scharramm (2000).

Os fluidos pseudoplásticos que obedecem à equação de Ostwald-de-Waele ou lei da potência são fluidos que começam a escoar sob a ação de tensões de cisalhamento infinitesimais (Vidal, 2000). A diminuição da viscosidade com a taxa de cisalhamento que ocorre nesses fluidos pode ser explicada pelos efeitos da deformação em termos de orientação estrutural ou desagregação de estruturas (Figura 3.8). No primeiro caso, quando em repouso o fluido apresenta um estado desordenado, e quando submetido a uma tensão de cisalhamento, suas moléculas e/ou domínios tendem a se orientar na direção da força aplicada. Quanto maior a tensão aplicada, maior será a ordenação,

consequentemente, a viscosidade aparente será menor (Holdsworth, 1971). Alguns exemplos de fluidos pseudoplásticos são: produtos de frutas e vegetais (Krokida, Maroulis e Saravacos, 2001), sucos de frutas concentrados, purê de maçã, pasta de amido e proteínas (Rha, 1978) e suco de uva concentrado (Kaya e Belibagli, 2002). Em geral, os purês de frutas e vegetais são fluidos pseudoplásticos e a consistência desses produtos é um importante parâmetro de qualidade industrial (Ibarz e Barbosa-Cánovas, 1996).

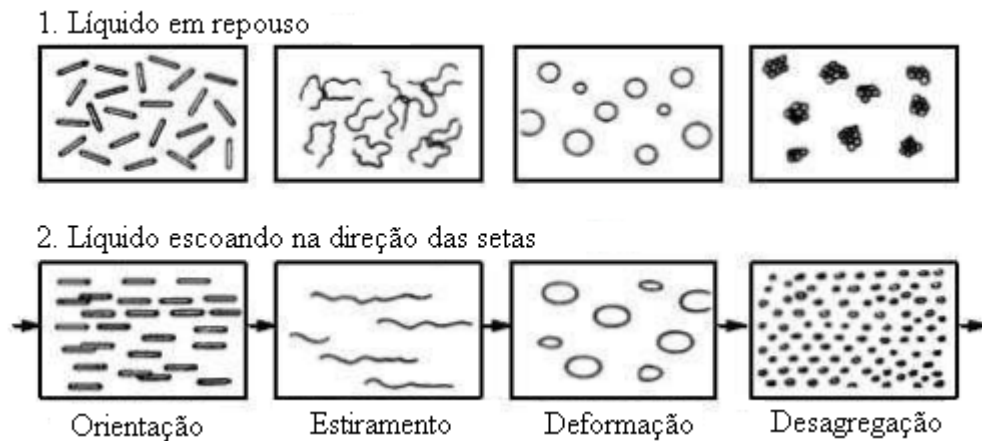


Figura 3.8. Dispersões em repouso e escoando através de um tubo.
 Fonte: Scharamm (2000).

Fluidos pseudoplásticos que obedecem ao modelo de Herschel-Bulkley são caracterizadas pela presença de um termo de tensão mínima de escoamento (τ_0) somado à contribuição da lei de potência. Alimentos como pasta de peixe e pasta de uva podem ser descritos adequadamente pelo modelo de Herschel-Bulkley, assim como massa à base de farinha de arroz (Mukprasirt, Herald e Flores, 2000).

Alguns fluidos, quando submetidos a uma taxa de cisalhamento constante, apresentam diminuição (fluidos tixotrópicos) ou aumento (fluidos reopéticos) da viscosidade com o tempo. A diminuição da viscosidade com o tempo em fluidos tixotrópicos está associada geralmente com a ação das forças de cisalhamento sobre o nível de agregação de microestruturas presentes no fluido. Assim, por exemplo, muitos fluidos que apresentam este tipo de comportamento reológico contêm pequenas partículas (cristais ou biopolímeros) que, quando o fluido está em repouso, são mantidas juntas por forças fracas; então, sob a ação de cisalhamento, estas partículas se separam, provocando uma menor resistência ao escoamento e a viscosidade decresce com o

tempo até um valor constante ser alcançado. Exemplos de alimentos que apresentam este tipo de comportamento são gelatinas, cremes, manteigas, molhos para saladas, entre outros (Sharma, Mulvaney e Rizvi, 2000). Por outro lado, o comportamento reopético, relacionado com os dilatantes, pode ter diferentes origens. A mais importante está relacionada com o aumento na frequência das colisões entre as moléculas ou partículas dos fluidos que pode ser causado pelo cisalhamento, o que pode gerar um aumento de tamanho de agregados e, conseqüentemente, um aumento na viscosidade aparente (McClements, 2003). Esse tipo de comportamento não é comum em alimentos, mas pode ocorrer em soluções de amido altamente concentradas (Sharma, Mulvaney e Rizvi, 2000). A Figura 3.9 apresenta as curvas de escoamento para os fluidos dependentes do tempo.

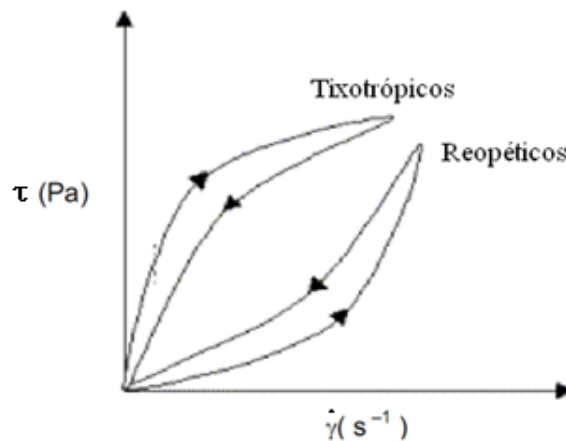


Figura 3.9. Curvas de escoamento para fluidos dependentes do tempo.
Fonte: Adaptado de Steffe (1996).

3.6.2 Regime Oscilatório

As análises oscilatórias são utilizadas para o estudo da viscoelasticidade de sistemas complexos através da determinação da energia elástica armazenada e da energia perdida pelo fluxo viscoso (Lippacher, Müller e Mäder, 2004; Dolz, Hernandez e Delegido, 2008).

Nos testes oscilatórios, as amostras são submetidas a uma tensão que varia harmonicamente com o tempo de forma senoidal, produzindo uma deformação (γ)

correspondente. Na Figura 3.10 está apresentado um gráfico de tensão de cisalhamento harmônico versus deformação para um material viscoelástico em teste dinâmico.

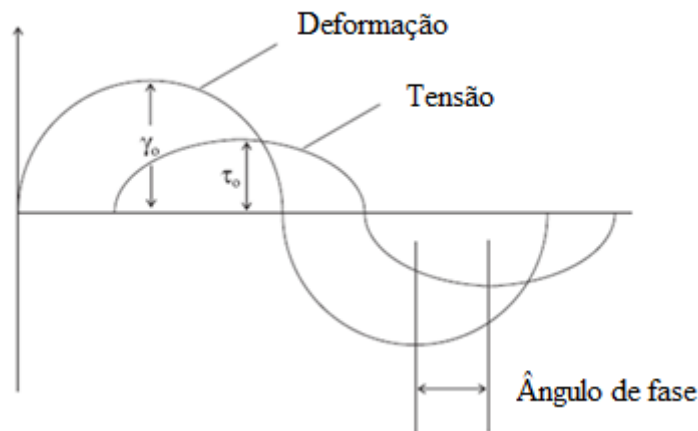


Figura 3.10. Tensão de cisalhamento harmônico versus deformação para um material viscoelástico em teste dinâmico.

Fonte: Sahin e Sumnu (2006)

Para um sólido Hookeano, a tensão aplicada a uma superfície resulta em uma deformação instantânea, ou seja, a energia é totalmente armazenada. A deformação nesse caso é proporcional à tensão, ou seja, tensão e deformação estão em fase (Scharram, 2000). Para um fluido Newtoniano, a tensão não é proporcional à deformação e sim proporcional à taxa de cisalhamento. Quando um sistema viscoso ideal é deformado sob uma força externa, a energia é totalmente perdida. Então, se for medido o ângulo de fase entre tensão e deformação, obtém-se uma medida da intensidade relativa das respostas viscosa e elástica apresentada pelo material. Estas informações podem ser quantificadas, através do módulo de armazenagem ou elástico (G') e do módulo de perda ou viscoso (G'') (Scharram, 2000).

O termo G' é obtido a partir da componente da tensão que está em fase com a deformação, enquanto o termo G'' é obtido a partir da componente da tensão que está 90° fora de fase com a deformação. Assim, G' está associado à energia elástica armazenada, e G'' à dissipação viscosa da energia.

Os principais testes feitos em regime oscilatório correspondem às varreduras de deformação ou tensão, frequência, tempo e temperatura.

Uma varredura de deformação ou tensão, conduzida pela variação da amplitude do sinal de entrada a uma frequência constante, é utilizada para determinar o limite da viscoelasticidade linear pela identificação do valor crítico do parâmetro de varredura. Na região viscoelástica linear, não é observada dependência das propriedades medidas (G' , G'' , etc.) em relação à deformação ou à tensão. O comportamento típico das curvas dos módulos de armazenamento e de perda em função da magnitude dos parâmetros de varredura é representado esquematicamente na Figura 3.11 (Lapasin e Prici, 1995).

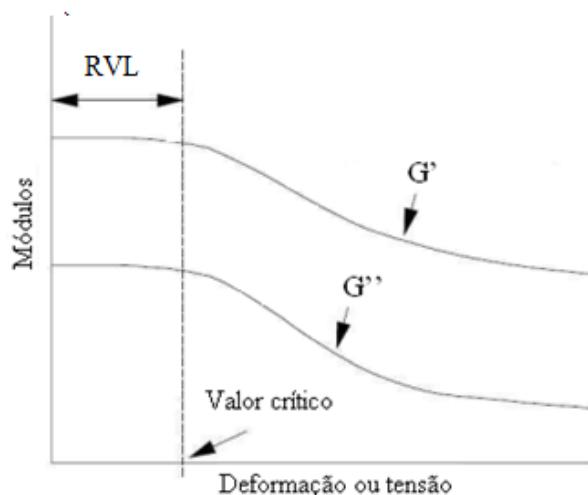


Figura 3.11. Resposta típica de uma varredura de deformação ou tensão mostrando a região viscoelástica linear (RVL) definida pelo valor crítico do parâmetro de varredura
 Fonte: Steffe (1996)

Os testes dinâmicos na região de viscoelasticidade linear são os mais comuns para estudar o comportamento viscoelástico de fluidos alimentícios. Isto acontece porque seus resultados são muito sensíveis à composição química e à estrutura física do alimento e, na região de viscoelasticidade linear, dependem somente destes fatores estruturais. Desta forma, este tipo de teste é muito útil em uma grande variedade de aplicações, como: avaliação da força de géis, monitoramento da gelatinização de amido, avaliação de coágulo em produtos lácteos, desenvolvimento de textura em produtos de panificação e produtos cárneos, testes de vida-de-prateleira e correlação de propriedades reológicas com atributos sensoriais (Steffe, 1996).

Informações sobre as interações partícula-partícula e a rede estrutural formada podem ser obtidas através da varredura de frequência. Nesse teste, a frequência é aumentada enquanto que a amplitude do sinal de entrada (deformação ou tensão) é

mantida constante. Varreduras de frequência são muito úteis na comparação de diferentes produtos alimentícios ou na comparação do efeito de vários ingredientes e processos de tratamento na viscoelasticidade (Steffe, 1996).

A maioria das emulsões possui uma rede estrutural interna resultante de forças intermoleculares interativas. Quando uma emulsão estável é tensionada, em uma faixa de frequência, o módulo de armazenamento G' é maior que o módulo de perda G'' ; em amostras estáveis a curva para ambos os módulos são aproximadamente paralelas ao eixo das abscissas em toda faixa de frequência medida, conforme Figura 3.12A. Em emulsões instáveis (Figura 3.12B), em baixas frequências o módulo elástico G' é igual ao módulo viscoso G'' ou $G' < G''$ devido à fraca estrutura interna. Com o aumento da frequência ambos os módulos G' e G'' aumentam, onde o aumento de G' é claramente mais rápido, visto que em altas frequências as unidades estruturais não podem mais movimentar-se e o material se comporta como um sólido viscoelástico com $G' > G''$ (Brummer, 2006).

Além de caracterizar o comportamento viscoelástico de um produto, os resultados de uma varredura de frequência podem também ser utilizados como indicadores da sensação que um alimento causará na boca durante a mastigação. A frequência corresponde a uma energia introduzida na substância durante a mastigação, por exemplo. Assim, a relação entre G' e G'' pode ser relacionada com a sensação na boca; substâncias com grandes valores G'/G'' causam uma sensação elástica, enquanto valores pequenos causam uma sensação mais cremosa (Petri, 2000).

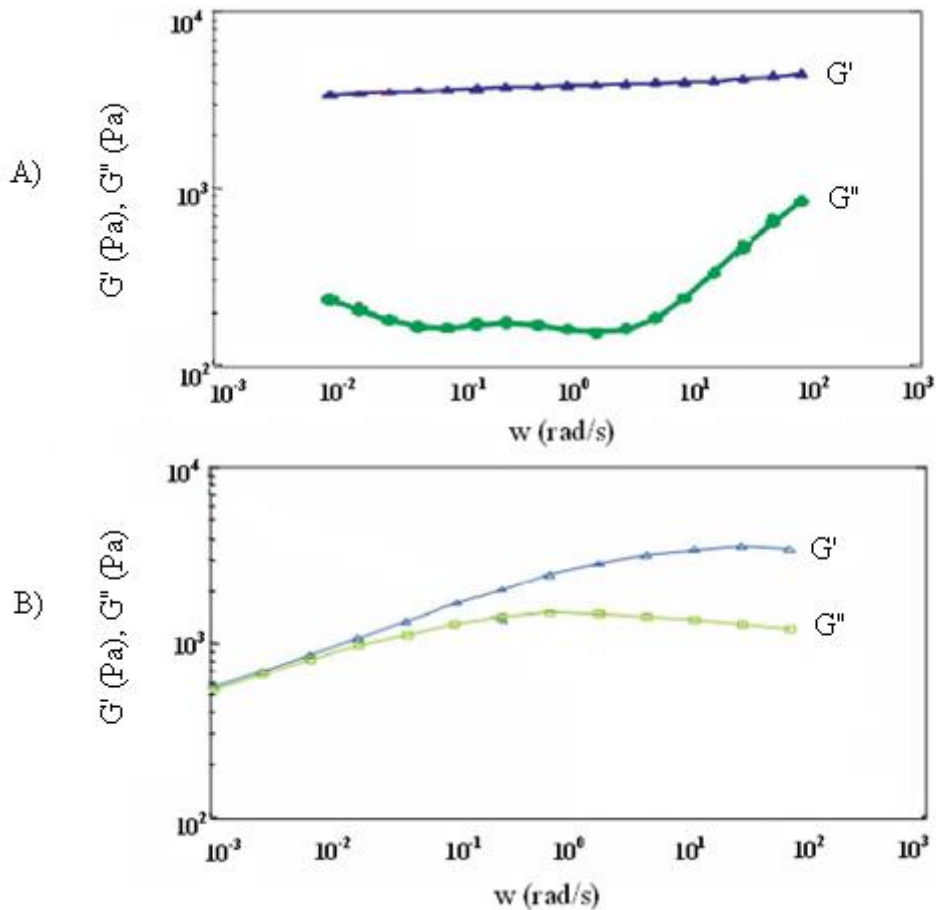


Figura 3.12. Dependência da frequência de emulsão: (A) com alta força estrutural, (B) com baixa formação de rede estrutural.

Fonte: Brummer (2006)

Por outro lado testes de varredura de tensão podem ser utilizados para determinar a estabilidade das estruturas de uma substância sob diferentes cargas não constantes. Esse teste corresponde, por exemplo, à situação de transporte de produtos. Se o módulo elástico do produto for maior do que o módulo de perda até grandes valores da tensão, pode-se contar com uma boa estabilidade.

Além das varreduras de tensão e frequência, pode-se fazer uma varredura de tempo isotérmica, onde a frequência e a amplitude são constantes em relação ao tempo. Esse teste pode indicar mudanças estruturais dependentes do tempo, tais como firmeza de coalhos para queijos ou iogurtes. A varredura de tempo também pode ser conduzida em associação com uma mudança controlada na temperatura. Esse tipo de teste é muito útil no estudo de problemas que envolvem mudança do comportamento reológico induzida pela temperatura (Steffe, 1996).

Em muitos casos, é possível ajustar os dados encontrados nas varreduras de frequência em modelos que seguem a Lei da Potência, conforme as equações a seguir:

$$G' = G'_0 \cdot \omega^{n'} \quad (5)$$

$$G'' = G''_0 \cdot \omega^{n''} \quad (6)$$

onde, G'_0 e G''_0 são os módulos elástico e viscoso a 1 rad s^{-1} , respectivamente, e os expoentes n' e n'' representam o grau da influência da frequência sobre cada módulo. G'_0 e G''_0 estão relacionados com a força das interações intermoleculares e n' e n'' à extensão e à estabilidade da rede (Campo-Deaño, Tovar e Borderías, 2010).

Diferenças estruturais também são quantificáveis pelo fator de qualidade (Q) (Eq.7), frequentemente usado em sistemas mecânicos oscilatórios. Ele é uma quantidade adimensional e representa o grau de amortecimento de um oscilador (Campo-Deaño, Tovar e Borderías, 2010).

$$Q = 2\pi \left(\frac{G'_0}{G''_0} \right) \cdot f^{(n'-n'')} \quad (7)$$

Onde f é a frequência em Hz.

3.7 Estudos reológicos em sobremesas e similares

Não foram encontrados na literatura trabalhos relatando a reologia de sobremesas à base de soja, portanto fez-se uma abordagem da reologia de produtos de natureza similar, tais como sobremesas lácteas, flans e sistemas alimentares do tipo amido-leite (Abu-Jdayil, Mohameed e Eassa, 2004; De Wijk, Prinz e Janssen, 2006; González-Tomás e Costell, 2006; Tárrega e Costell, 2006a; b; 2007; González-Tomás et al., 2008; Tárrega, Torres e Costell, 2011).

Na Tabela 3.4 estão apresentados alguns valores de parâmetros de modelos reológicos, como o índice de consistência, índice de fluxo e tensão de escoamento inicial. Observa-se claramente que todos fluidos dessa natureza apresentaram comportamento pseudoplástico, visto que os valores de índice de fluxo foram sempre inferiores a 1. Além disso, alguns autores também relataram o comportamento viscoelástico das amostras através das varreduras de frequência em regime dinâmico. Esses autores verificaram que as amostras apresentaram comportamento de gel fraco, ou

seja, mostraram alta dependência com a frequência (Abu-Jdayil, Mohameed e Eassa, 2004; Tárrega e Costell. 2006a; 2007; González-Tomás *et al.*2008; Tárrega, Torres e Costell. 2011).

Tabela 3.4. Valores de parâmetros de modelos reológicos aplicados a sobremesas e similares.

Produto	Modelo reológico	Valores dos parâmetros reológicos	Referência
Sobremesas lácteas enriquecidas com inulina	Lei da potência (5°C)	$K = 0,4 - 12,9$ $n = 0,30 - 0,60$	Tárrega e Costell. (2006b)
Sistema alimentício (leite-açúcar-amido)	Herschel-Bulkley (25°C)	$\tau_0 = 33 - 95$ $K = 2,7 - 60,2$ $n = 0,18 - 0,40$	Abu-Jdayil, Mohameed e Eassa (2004)
Sobremesas com baixo teor de gordura	Lei da potência (10°C)	$K = 2,19 - 19,12$ $n = 0,46 - 0,52$	González-Tomás <i>et al.</i> (2008)
Sobremesas de baunilha à base de amido	Lei da potência (20°C)	-----	De Wijk, Prinza e Janssen (2006)
Sobremesa láctea com inulina	Lei da potência (10°C)	$K = 12,7 - 44$ $n = 0,34 - 0,44$	Arcia, Costell e Tárrega (2010)
Sobremesas comerciais semi-sólidas de baunilha	Herschel-Bulkley (4°C)	$\tau_0 = 17,2 - 55,9$ $K = 2,1 - 5,1$ $n = 0,45 - 0,59$	Tárrega e Costell (2007)

* K (Pa.s); τ_0 (Pa); n (adimensional).

Além dos produtos citados na Tabela 4, cabe salientar que existem muitos estudos que fazem a caracterização reológica de suspensões e misturas de espessantes, proteínas e polissacarídeos a fim de encontrar a relação ideal e mais econômica desses produtos. Teles e Flôres (2007) estudaram a influência da concentração de leite em pó desnatado, gelatina, goma xantana e goma guar nas características reológicas de iogurte natural desnatado e observaram que as formulações apresentaram comportamento de fluido pseudoplástico. Rossi *et al.* (1990) utilizaram a metodologia da superfície de resposta para estudar o emprego da goma guar e goma xantana associadas à gelatina, no

sentido de definir um sistema estabilizante adequado, capaz de fornecer maior consistência e viscosidade ao iogurte de soja preparado a partir do extrato aquoso de soja. Nunes et al. (2003) avaliaram a estrutura dos géis formados em sobremesas contendo proteínas isoladas de diferentes fontes (ervilha, tremoço e soja) associadas com polissacarídeos (gomas xantana, carragena, gelana e amido de milho nativo). Através da caracterização reológica, os autores sugeriram que os géis com proteínas vegetais e carragena ou gelana seriam bons sistemas para desenvolver sobremesas, nas quais proteínas animais são totalmente substituídas.

Alvarez et al. (2011) enriqueceram purês de batata com proteína isolada de soja e estudaram a reologia desses produtos. Quando a concentração de proteína isolada de soja foi aumentada, os parâmetros reológicos mudaram, ocorrendo inclusive separação de fases. Suspensões de colágeno, maltodextrina e lactose foram estudadas por Nicoletti e Telis (2009) através de análises reológicas envolvendo ciclos de aquecimento/resfriamento para melhorar a dispersão dos componentes e estabilidade da formulação quanto às mudanças de temperatura. O comportamento reológico de purê de mirtilo contendo goma xantana e frutose como ingredientes foram caracterizados por Kechinski et al.(2011). Neste estudo os autores verificaram que as gomas mostraram diferentes efeitos sobre a viscosidade e tixotropia das amostras estudadas.

3.8 Análise sensorial

A Análise Sensorial é uma ciência usada para mostrar, quantificar, analisar e interpretar as reações produzidas pelas características dos alimentos e materiais, como são percebidas pelos órgãos da visão, olfato, gustação, tato e audição (Ift, 1981). Com esta definição do IFT, observa-se que o instrumento de medida utilizado pela Análise Sensorial é o homem. Segundo Meilgaard, Civille e Carr (1991) nenhum instrumento ou combinação de instrumentos pode substituir os sentidos humanos, nem dar a sensação de prazer, palatabilidade ou aceitabilidade de um alimento ou bebida, à medida que os sentidos humanos registram uma expressão integral da total complexidade de um alimento.

A indústria alimentícia moderna utiliza a Análise Sensorial como ferramenta considerando a avaliação das características sensoriais dos produtos como componente essencial no desenvolvimento, manutenção, controle de qualidade e avaliação do

potencial de mercado de um determinado alimento. Os testes sensoriais são importantes por serem uma medida multidimensional integrada que possuem importantes vantagens, como serem capazes de identificar a presença ou ausência de diferenças perceptíveis, definirem características sensoriais importantes de um produto, e serem capazes de detectar particularidades dificilmente detectadas por outros procedimentos analíticos e ainda avaliarem se um produto é aceito ou não pelo consumidor. Piggott (1995) acrescentou que os testes sensoriais são usados para entender as reações do consumidor a um produto. O sucesso da aplicação dos testes sensoriais em problemas reais da indústria de alimentos e pesquisas depende da adequada correlação entre a utilização do método e a informação desejada ao final da sua aplicação, isto é, o objetivo a ser alcançado.

Os métodos aplicados em análise sensorial podem ser divididos em: discriminativos, descritivos e afetivos. Dentre os métodos descritivos, destaca-se, a Análise Descritiva Quantitativa, e dentre os afetivos está o Teste de Aceitação.

3.8.1 Análise Descritiva Quantitativa (ADQ)

A Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) é considerada uma das principais e mais sofisticadas metodologias para a Análise Sensorial. Essa técnica é capaz de promover a descrição qualitativa e quantitativa do produto avaliado, com precisão em termos matemáticos, baseado na percepção de um grupo de pessoas capacitadas. O foco desta técnica é o aspecto psicológico da percepção e da aplicação desta percepção em escalas, promovendo a caracterização sensorial do produto (Dutcosky, 1996).

Os resultados obtidos incluem a descrição sensorial completa dos produtos e proporcionam uma base para determinar os atributos sensoriais que são importantes para sua aceitabilidade; assim a ADQ torna-se útil para o desenvolvimento de novos produtos, para o diagnóstico de problemas, garantia e melhoria da qualidade e também para verificar possíveis mudanças no perfil sensorial de um produto devido à mudanças em um ingrediente ou processo .

As principais etapas relacionadas à ADQ são: pré-seleção de provadores, desenvolvimento da terminologia descritiva, treinamento, seleção de provadores, avaliação sensorial e interpretação dos resultados.

O sucesso da implementação da ADQ está ligado principalmente ao desempenho dos provadores e o alcance deste desempenho é obtido através de adequada seleção e treinamento. Na Análise Sensorial, os provadores devem ser vistos como instrumentos de medida de atributos sensoriais e, por esta razão, a avaliação do desempenho do provador é etapa fundamental. Issanchou, Lesschaeve e Koster (1995) relataram que para a utilização da ADQ é necessária a utilização de provadores com habilidades descritivas e discriminativas. Os provadores com a habilidade descritiva devem identificar os diferentes estímulos (atributos). Para a habilidade discriminativa os provadores devem perceber diferenças mínimas de intensidade entre estímulos e, ainda, ter a capacidade de quantificar, sendo aptos a utilizar a escala em toda a sua amplitude, com pequena dispersão entre as repetições e em consenso com a equipe.

Utilizando uma escala não estruturada para avaliar a intensidade de cada atributo, a ADQ permite a completa descrição e quantificação das características sensoriais com precisão em termos matemáticos, possibilitando a correlação com medidas instrumentais.

De Wijk et al. (2003), Vidigal (2009) e Richter et al. (2010) caracterizaram sobremesas tipo flan através da ADQ utilizando trinta e cinco, oito e nove termos descritivos, respectivamente, relacionados à aparência, aroma, sabor e textura das amostras.

3.8.2 *Teste de Aceitação*

O Teste de Aceitação é um valioso e necessário componente de toda a Análise Sensorial, o qual utiliza o consumidor como instrumento de medida e, a partir da correta aplicação é possível transformar dados subjetivos em objetivos, obtendo informações importantes sobre o grau com que as pessoas gostam ou não de um determinado produto (Stone e Sidel, 1993). Para a realização de testes de aceitação é de fundamental importância que mais de 50 consumidores sejam consultados, os quais tenham o hábito de consumir o produto, para que os dados possam ser representativos da população avaliada.

A escala hedônica de nove pontos é a mais utilizada para testes de aceitação, devido à confiabilidade dos resultados e à fácil compreensão da ficha pelos

consumidores (Stone e Sidel, 1993); os dados obtidos nestes testes são submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e teste de médias, onde se verifica se houve diferença significativa entre as médias, em um determinado nível de confiança.

Os Testes de Aceitação e Intenção de Compra em associação com a ADQ podem explicar as diferenças responsáveis pela maior ou menor aceitação dos produtos estudados. Entendendo quais atributos direcionam a aceitação de alimentos e bebidas, é possível auxiliar a indústria de alimentos a se adequar às necessidades de mercado (Stone e Sidel, 1993).

3.9 Correlação entre parâmetros sensoriais e reológicos

Conforme visto nos itens anteriores, a avaliação de parâmetros sensoriais de produtos alimentícios é realizada por meio de análises longas e onerosas que requerem painéis de pessoas treinadas ou não. Para reduzir tempo e custos, buscam-se análises objetivas que possam prever e em última instância, substituir a avaliação sensorial. Os métodos instrumentais podem ser úteis para substituir os testes sensoriais, porém para que isso seja possível é preciso correlacioná-los de maneira correta (Penna, Oliveira e Baruffaldi, 1997). Através da Tabela 3.5 nota-se que a quantidade de informações encontradas na literatura sobre as correlações entre parâmetros instrumentais e sensações, em produtos alimentícios, ainda é muito limitada, ou seja, há poucos trabalhos na área; é geralmente aceito que os métodos instrumentais (como a reologia) poderiam ser utilíssimos para ampliar o conhecimento dos motivos pelos quais diferentes produtos apresentam diferentes características sensoriais, e outros não.

Tabela 3.5. Correlações entre parâmetros sensoriais e reológicos encontradas na literatura para diferentes alimentos.

Amostra	Parâmetros sensoriais	Parâmetros instrumentais	Relação utilizada	Referência
Molho de salada	<ul style="list-style-type: none"> • Consistência • Sensação de gordura na boca 	<ul style="list-style-type: none"> • Tensão mínima de escoamento • Compliance • Viscosidade aparente 	Análise de componentes principais	Wendin e Hall (2001)
Bebida fermentada turca	<ul style="list-style-type: none"> • Aparência • Mouthful (escala de 1 a 5) 	<ul style="list-style-type: none"> • Índice de consistência (K) 	Modelo: Lei da potência	Genç, Zorba e Ova (2002)
Geleia de manga	<ul style="list-style-type: none"> • Acidez • Doçura • Cor 	<ul style="list-style-type: none"> • K e $n \rightarrow$ Herschel-Bulkley 	Análise de componentes principais	Basu e Shrivhare (2010)
Requeijão light	<ul style="list-style-type: none"> • Espalhabilidade • Consistência • Viscosidade • Adesividade 	<ul style="list-style-type: none"> • Texturais: firmeza, elasticidade, coesividade, gomosidade, mastigabilidade • Reológicos: τ_0, η_{sp}, $\tan\delta$ 	Correlação de Pearson	Da Silva (2010)
Sobremesa lácteas com inulina	<ul style="list-style-type: none"> • Viscosidade 	<ul style="list-style-type: none"> • G' a 1 Hz • Viscosidade aparente • Índice de consistência 		Arcia, Costell e Tárrega (2010)
Sobremesa à base de amido	<ul style="list-style-type: none"> • Mouthful 	<ul style="list-style-type: none"> • G' e G'' em diferentes tensões 	Análise de componentes principais	De Wijk, Prinz e Janssen (2006)
Sobremesas lácteas semi-sólidas de baunilha	<ul style="list-style-type: none"> • Cor • Consistência 	<ul style="list-style-type: none"> • Parâmetros de cor • Parâmetros do Modelo de Herschel Bulkley • Viscosidade complexa • G' e G'' a 1 Hz 	Correlação de Spearman	Tárrega e Costell (2007)
Sobremesas lácteas gelificadas	<ul style="list-style-type: none"> • Aparência • Aroma • Textura • Sabor 	<ul style="list-style-type: none"> • Texturais: firmeza, ponto de fratura e adesividade • Reológico: G^*, tensão crítica e deformação crítica 	Análise de componentes principais	Arltoft, Madsen e Ipsen (2008)
Sobremesa láctea diet	<ul style="list-style-type: none"> • Cor • Firmeza • Resistência ao corte • Consistência • Gomosidade 	<ul style="list-style-type: none"> • Texturais: firmeza, elasticidade, coesividade, gomosidade e mastigabilidade • Reológicos: tixotrópicos, k, n, viscosidade aparente a 10 rad s^{-1} 	Correlação de Pearson	Vidigal (2009)
Diversos produtos	<ul style="list-style-type: none"> • Dificuldade de engolir 	<ul style="list-style-type: none"> • Viscosidade aparente 		Chen e Lolivret (2011)

A seguir, será apresentada uma breve descrição de trabalhos que apresentaram a relação entre parâmetros instrumentais e sensoriais em sobremesas.

De Wijk, Prinz e Janssen (2006) avaliaram a relação entre parâmetros reológicos e sensoriais em sobremesas de baunilha à base de amido através de uma análise de componentes principais (ACP). Os resultados reológicos indicaram uma correlação positiva entre a cremosidade das amostras e o G' a 1 Hz, já a consistência obteve boa correlação com a viscosidade aparente medida após 60 segundos em taxa de cisalhamento constante de 10s^{-1} .

Para sobremesas semi-sólidas de baunilha, a tensão mínima de escoamento foi o parâmetro de fluxo que mostrou a maior correlação com a sua consistência oral. Ambos os módulos (viscoso e elástico) a 1 Hz e a viscosidade complexa a 7,95 Hz (50 rad s^{-1}) também mostraram boa correlação (0,89 a 0,96) com essa propriedade sensorial. Além disso, os resultados mostraram uma correlação positiva entre a cor sensorial e a coordenada cromática a^* e correlações negativas com os parâmetros L^* e h_{ab} (Tárrega e Costell, 2007).

Arltoft, Madsen e Ipsen (2008) utilizaram a Análise de Componentes Principais para correlacionar parâmetros microestruturais, sensoriais e reológicos de larga (firmeza, ponto de fratura e adesividade) e pequena deformação (módulo complexo, ângulo de fase, tensão mínima de escoamento e deformação crítica) de amostras de sobremesas lácteas. Os autores encontraram coeficientes de correlação acima de 0,85 entre os parâmetros estudados.

Ao estudar sobremesas light tipo *flan* adicionadas de concentrado proteico de soro, Vidigal (2009) verificou que as análises reológicas realizadas a 25°C , quando comparadas às realizadas a 10°C , forneceram parâmetros que melhor se correlacionaram com a consistência oral do produto. Com isso, o autor concluiu que a temperatura exerce grande importância na correlação entre medidas sensoriais e instrumentais. Os parâmetros correspondentes à tensão mínima de escoamento, índice de consistência, viscosidade aparente a 10 s^{-1} e tixotropia apresentaram coeficientes de correlação entre 0,8 e 0,91, e assim foram considerados índices úteis para a predição da consistência oral.

Arcia, Costell e Tárrega (2010) obtiveram boa correlação com a consistência e os parâmetros reológicos K , η_{10} , e G' a 1 Hz medidos a 10°C em sobremesas lácteas enriquecidas com inulina.

3.10 Utilização do ultrassom durante o processamento das sobremesas

O ultrassom está ganhando importância como uma tecnologia alternativa no processamento de alimentos, sendo usada para diferentes fins. Bermúdez-Aguirre, Mobbs e Barbosa-Cánovas (2011) elucidaram todas as aplicações alimentares do ultrassom e concluíram que ele pode ser utilizado na conservação de alimentos, modificação de moléculas, degaseificação, formação de espuma, mistura, homogeneização, emulsificação, inativação de micro-organismos e enzimas, cristalização, secagem, extração, filtração, amaciamento da carne, oxidação, esterilização, etc. No que tange à modificação da textura de produtos alimentares, importantes exemplos incluem a homogeneização de leite (Bermudez-Aguirre *et al.*, 2009a; Bermudez-Aguirre *et al.*, 2009b; Czank, Simmer e Hartmann, 2010), a mistura de massa de bolo (Tan, Chin e Yusof, 2011) e a redução de densidade de produtos como sorvete, mousse e merengues (Lim e Barigou, 2005). Em purê de tomate, o ultrassom permitiu uma melhor penetração de umidade na rede fibrosa, aumentando a viscosidade (Bates, Bagnall e Bridges, 2006). Essa aplicação foi utilizada em escala industrial e é o único meio de alterar a funcionalidade do produto, sem necessidade de reformulação.

3.10.1 Princípios e efeitos do ultrassom

O ultrassom é um processo que utiliza a energia de ondas sonoras que são transmitidas em frequências superiores à capacidade auditiva humana (cerca de 20 kHz). As ondas sonoras são geradas com transdutores piezoelétricos ou magnetostrictivos que criam vibrações de alta energia. Essas vibrações são amplificadas e transferidas para um sonotrodo ou sonda, a qual está em contato direto com o fluido. A vibração promovida pela fonte sonora é repassada às moléculas do meio e cada uma dessas transmite o movimento às moléculas vizinhas antes de voltar a sua posição inicial. Esse movimento oscilatório das moléculas gera regiões alternadas de compressão (alta pressão) e rarefação (baixa pressão) e o tamanho dessas variações de pressão, referida como a amplitude da onda de pressão ou pressão acústica, é diretamente proporcional à

quantidade de energia aplicada ao sistema. A intensidade do som é atenuada à medida que a onda sonora atravessa o meio, visto que com a vibração das moléculas, ocorre degradação da intensidade acústica. Essa atenuação aparece como calor no meio reacional. O calor ocorre em sítios de compressão, enquanto que o resfriamento nos sítios de rarefação. A absorção da radiação no meio é um fenômeno complexo que envolve viscosidade, condutividade térmica e processos de relaxação.

Quando as partículas de material de uma suspensão líquida são submetidas à sonicação, pode resultar certo número de efeitos físicos e mecânicos (Povey e Mason, 1998). Os efeitos cavitacionais, que são a base da sonoquímica, são a principal razão para o uso extremamente eficaz do ultrassom (Mason, Paniwnyk e Lorimer, 1996; Povey e Mason, 1998). A cavitação ocorre, quando, sob o efeito das ondas sonoras, houver uma redução de pressão suficiente para que a distância entre as moléculas ultrapasse a distância molecular crítica que mantém o meio intacto; formam-se, assim, espaços vazios no meio, que são chamados de bolhas de cavitação. Quando a pressão aumenta pelo efeito da aproximação das moléculas do líquido, a bolha entra em colapso ou implode. Em outras palavras, a cavitação é a criação e implosão de microbolhas de gás no centro de um líquido. O crescimento dinâmico das bolhas e o colapso são dependentes do meio. Logo, dois elementos são importantes no processo: a presença de gás dissolvido que enche as bolhas e a presença de partículas em suspensão, que diminuem a força de coesão molecular.

A cavitação envolve três estágios: a nucleação (formação de bolhas de ar próximas às superfícies irregulares de partículas sólidas presentes), o crescimento das bolhas e a violenta implosão. Pode-se dizer que a cavitação ocorre a pressões acústicas consideravelmente baixas devido à presença de pontos fracos no meio, onde a resistência à ruptura está reduzida. Estudos sugerem que a cavitação é iniciada em sítios de nucleação onde as pressões tensionais são reduzidas. Geralmente, as bolhas de cavitação, produzidas com intensidades maiores que 10 W.cm^{-2} , expandem seu raios até duas vezes o seu tamanho inicial antes do colapso, e frequentemente se desintegram em pequenas bolhas. Essas atuam como núcleos para produzir outras bolhas ou, se forem de raios muito pequenos, podem se dissolver na massa da solução como consequência das altas pressões devido à tensão superficial. Cabe ressaltar que é muito mais fácil gerar uma onda acústica de alta amplitude (alta pressão) a frequências mais baixas. Em

frequências mais altas (>1 MHz), as pressões acústicas são menores e esta amplitude é mais facilmente dissipada dentro do fluido.

No que diz respeito, especificamente, a sobremesas à base de soja, até o momento, não há nenhum estudo na literatura avaliando o efeito do uso de ultrassom sobre a textura e estabilidade desse tipo de produto. No entanto, alguns dos componentes individuais presentes nas sobremesas - proteína de soja, amidos e outros polissacarídeos - já foram tratados com ultrassom e o seu efeito sobre diferentes propriedades foi analisado. O item a seguir traz informações sobre as modificações induzidas pelo uso do ultrassom em alguns componentes.

3.10.2 Influência do ultrassom sobre as propriedades de proteínas e polissacarídeos

Jambrak *et al.* (2009) estudaram a influência do tratamento de ultrassom sobre as propriedades físicas da proteína isolada e concentrada de soja, e reportaram que o tratamento com sonda a 20 kHz durante 15 min ou 30 min, aumentou a solubilidade e a capacidade emulsificante. Da mesma forma, Jambrak *et al.* (2008) observaram que a solubilidade da proteína do soro de leite isolada ou hidrolisada, sonicadas com sonda a 20 e 40 kHz e banho a 500 kHz, aumentou significativamente. No entanto, o mesmo estudo mostrou que não houve aumento significativo de solubilidade para o concentrado de proteína de soro de leite, o que foi atribuído a um efeito protetor da lactose presente nesse produto. Morel *et al.* (2000) estudaram o efeito do ultrassom sobre a proteína do trigo e também observaram aumento na solubilidade da proteína. Os autores sugeriram que a melhora na solubilidade ocorreu devido a mudanças na conformação e estrutura proteica, onde partes hidrofílicas que anteriormente estavam ocultas dentro da proteína globular foram expostos à fase aquosa (Morel *et al.*, 2000). Além disso, o tratamento de ultrassom reduziu o peso molecular da proteína, possibilitando que uma área maior da proteína seja coberta por moléculas de água; somando-se a isso, devido às possíveis quebras de ligações covalentes, os fragmentos de peptídeos resultantes podem apresentar uma solubilidade mais elevada em comparação à proteína original.

Para melhor entendimento dos efeitos do ultrassom sobre a integridade química das proteínas, segue a Figura 3.13 que apresenta uma ilustração esquemática sobre isso. Nota-se que, em baixas intensidades ultrassônicas, podem ocorrer mudanças na estrutura secundária e terciária, levando a um parcial desdobramento e formação de

agregados, devido ao rompimento de ligações não-covalentes. Com um tratamento mais intenso, até mesmo as ligações peptídicas podem ser quebradas e os aminoácidos liberados, ou seja, a estrutura primária da proteína pode ser afetada.

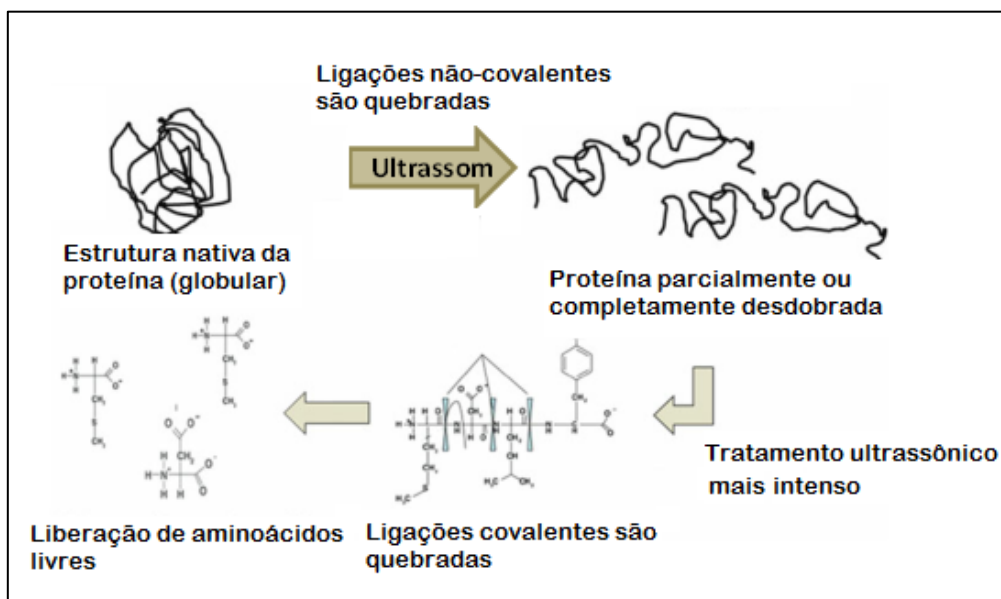


Figura 3.13. Ilustração esquemática do efeito do ultrassom sobre a integridade química de proteínas.

Fonte: Bermúdez-Aguirre, Mobbs e Barbosa-Cánovas (2011)

Além das proteínas, o ultrassom pode alterar as propriedades funcionais dos polissacarídeos, como a solubilidade, a viscosidade e a gelificação. A solubilidade dos polissacarídeos é alterada pelo ultrassom devido a maior dispersão das moléculas pela deterioração de estruturas cristalinas ou beneficiando a hidrólise na presença de ácidos ou enzimas. O tratamento de ultrassom foi aplicado em soluções de amido de milho, batata, mandioca e batata-doce (Huang, Li e Fu, 2007; Luo *et al.*, 2008; Jambrak *et al.*, 2010; Montalbo-Lomboy *et al.*, 2010; Sujka e Jamroz, 2013), amidos gelatinizados (Iida *et al.*, 2008), e soluções de outros polissacarídeos (Lii *et al.*, 1999; Iida *et al.*, 2008; Azizi e Farahnaky, 2013) e exopolissacarídeos de elevado peso molecular (Wang *et al.*, 2010). Os autores relataram redução na viscosidade, na massa molar e no tamanho de partícula das amostras tratadas e atribuíram esses resultados à despolimerização que corresponde à clivagem parcial de ligações glicosídicas e enfraquecimento da rede de polímero. Valores mais elevados de solubilidade também foram verificados devido ao rompimento de estruturas cristalinas e à formação de moléculas de cadeias mais curtas, como açúcares redutores (Singh *et al.*, 2003).

A Figura 3.14 apresenta uma ilustração esquemática do efeito do ultrassom sobre grânulos de amido gelatinizados, ocorrendo a depolimerização/solubilização de compostos devido à quebra de estruturas cristalinas e lixiviação da amilose (Iida et al., 2008).

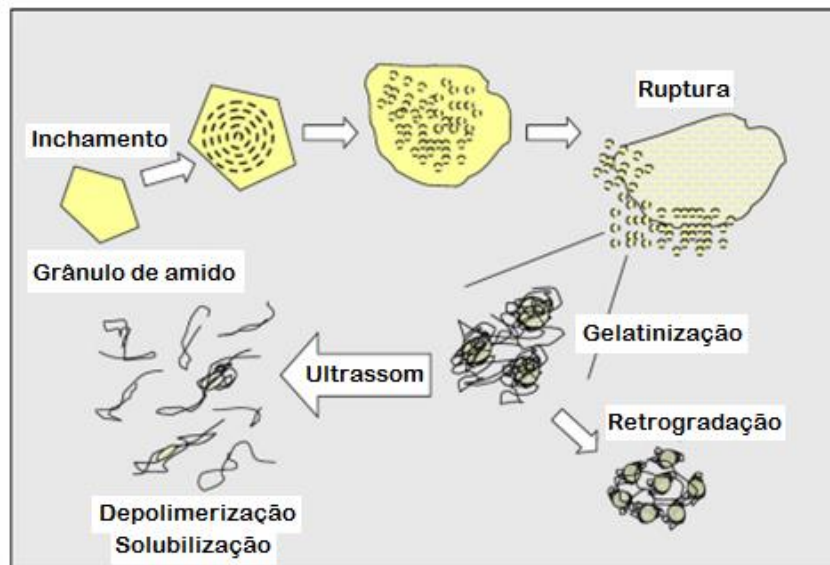


Figura 3.14. Ilustração esquemática do intumescimento e gelatinização de grânulos de amido, e a depolimerização/solubilização provocada pelo ultrassom

Fonte: Iida et al. (2008).

Considerando as informações acima, o ultrassom tem potencial para ser utilizado durante o processamento de sobremesas, uma vez que ele foi capaz de provocar mudanças consideráveis na estrutura e funcionalidade de soluções contendo amidos, polissacarídeos e proteínas, componentes que são a base das formulações deste estudo.

3.11 Sistemas alimentares biopoliméricos

Em sistemas alimentares contendo mais de um biopolímero, podem ocorrer interações entre componentes como proteínas e polissacarídeos capazes de alterar suas propriedades e características funcionais; dependendo do processo, essas interações podem ser desejadas ou não. Em uma solução com dois biopolímeros pode-se distinguir três possíveis situações de equilíbrio que são controladas pelo balanço entre os efeitos entálpicos e a entropia do sistema (Syrbe, Bauser e Klostermeyer, 1998), são elas:

1. Incompatibilidade: ocorre a segregação dos biopolímeros. São formadas duas fases aquosas, imiscíveis, e cada espécie de biopolímero fica em uma das duas fases.

2. Coacervação: uma forte atração entre moléculas de dois tipos de biopolímeros geram formações complexas. São formadas duas fases aquosas distintas, sendo que uma das fases contém os dois polímeros e a outra fica sem polímeros.

3. Miscibilidade: ocorre quando a interação entre dois biopolímeros diferentes é similar à interação entre hidrocolóides de uma mesma espécie, ou seja, há uma miscibilidade instantânea (Syrbe, Bauser e Klostermeyer, 1998).

Na presença de polissacarídeos, algumas propriedades das proteínas como a temperatura de desnaturação, solubilidade ou a capacidade de formação de géis é alterada. Em solução, as proteínas podem atrair ou repelir os polissacarídeos, dependendo da sua origem, pH, força iônica, temperatura, concentração ou cisalhamento a que são submetidas (Delben e Stefanchich, 1997). Tolstoguzov (2003) reportou que complexo entre proteínas e polissacarídeos podem ser solúveis ou insolúveis, dependendo do pH e da razão mássica entre os polímeros (Tolstoguzov, 2003).

Estudos sobre interações de polissacarídeos carregados com proteína do leite (Drohan *et al.*, 1997; Mleko, Li-Chan e Pikus, 1997; Depypere *et al.*, 2003; Zhang e Foegeding, 2003; Braga e Cunha, 2004; Moschakis, Murray e Dickinson, 2005; Benichou *et al.*, 2007; Ercelebi e Ibanoglu, 2007; Leng e Turgeon, 2007; Bedie, Turgeon e Makhlouf, 2008; Narchi, Vial e Djelveh, 2009), proteína da soja (Abd Karim *et al.*, 1999; Carp, Bartholomai e Pilosof, 1999; Baeza *et al.*, 2002; Chang, Lin e Chen, 2003; Molina Ortiz, Puppo e Wagner, 2004; Braga *et al.*, 2006; Yuan *et al.*, 2014), gelatina e quitosana (Michon *et al.*, 2000; Yuan *et al.*, 2014) em soluções aquosas, emulsões e géis tem sido o objetivo de diversos trabalhos. A maioria desses trabalhos está relacionada à capacidade gelificante dos sistemas, devido à presença de sais ou mudanças de pH.

Investigações sobre a adição de co-solutos, como o açúcar, em condições gelificantes também têm sido relatadas, visto que eles são capazes de alterar a estrutura tridimensional de géis levando a formação de produtos com elasticidade de “borracha” (Sworn e Kasapis, 1998; Kasapis *et al.*, 2003; Kasapis *et al.*, 2004; Kasapis e Sablani, 2005). Extendendo estas observações, alguns autores decidiram trabalhar com géis

contendo povidexose (Almrhag *et al.*, 2012a; Almrhag *et al.*, 2012b) e, tal como os açúcares, a povidexose modificou a estrutura de rede dos géis.

A Tabela 3.6 apresenta alguns trabalhos relevantes sobre interações entre biopolímeros alimentares, assim como os componentes estudados, as análises realizadas e os principais objetivos dos autores.

Tabela 3.6. Estudos sobre sistemas biopoliméricos.

Componentes	Análises feitas	Objetivos	Referência
<ul style="list-style-type: none"> • Caseínas • PIS • Xantana • Alginato • Carragena • Gelana • Jataí 	<ul style="list-style-type: none"> • Reologia • DSC • Capacidade de retenção de água • Viscosidade intrínseca • Solubilidade da proteína • Microscopia confocal • Difração de luz 	Estudar as interações entre proteínas e polissacarídeos em sistemas contendo, ou não, co-soluto, em solução aquosa (pH 7,0) ou géis acidificados.	Braga (2006)
<ul style="list-style-type: none"> • Xantana • PIS 	<ul style="list-style-type: none"> • DSC • Viscosidade intrínseca • Reologia • Propriedades mecânicas • Microscopia confocal • Capacidade de retenção de água • Solubilidade da proteína 	Estudar a influência da xantana e / ou KCl sobre as propriedades de géis de proteína isolada de soja (SPI) a pH 3,0.	Braga et al.(2006)
<ul style="list-style-type: none"> • Proteína isolada do leite • Guar • Xantana • Pectina 	<ul style="list-style-type: none"> • Overrun • Reologia • Tamanho de bolha 	Compreender os efeitos das interações entre proteínas e polissacarídeos sobre as propriedades físico-químicas de modelos de alimentos altamente viscosos.	Narchi, Vial e Djelveh (2009)
<ul style="list-style-type: none"> • Carragena • Amido de milho • Proteínas do leite 	<ul style="list-style-type: none"> • Reologia 	Experimentos de design de mistura foram utilizados para estudar as interações entre k-carragena, amido de milho nativo e proteínas do leite na formação de uma estrutura de gel misto.	Depypere et al. (2003)

Continuação da Tabela 3.6.

Componentes	Análises feitas	Objetivos	Referência
<ul style="list-style-type: none"> • Carragena • PIS 	<ul style="list-style-type: none"> • Solubilidade da proteína • Hidrofobicidade • DSC • Propriedades de gelificação • Reologia 	Estudar a modificação das propriedades estruturais e funcionais da proteína isolada de soja, induzida pela incorporação de carragena.	Molina Ortiz, Puppó e Wagner (2004)
<ul style="list-style-type: none"> • Xantana • Carragena • Locusta • Proteínas da soja 	<ul style="list-style-type: none"> • Reologia 	Determinar as propriedades de gelificação de misturas de proteína de soja-goma.	Hua, Cui e Wang (2003)
<ul style="list-style-type: none"> • Proteína do soro do leite • Pectina • Carragena 	<ul style="list-style-type: none"> • Reologia 	Comparar misturas de pectina-proteína do soro e k-carragena-proteína do soro usando medidas reológicas.	Leng e Turgeon (2007)
<ul style="list-style-type: none"> • Gelatina • Proteínas do soro e do leite • Leite em pó desnatado 	<ul style="list-style-type: none"> • Reologia • Textura • MEV 	Estudar os efeitos da concentração de gelatina, pH e a adição de proteínas de leite nas propriedades físicas e micro-estruturais dos géis de gelatina.	Pang et al.(2014)
<ul style="list-style-type: none"> • Agarose • Pectina • Povidextrose 	<ul style="list-style-type: none"> • Reologia • DSC • MEV • FTIR • Difração de raios-X 	Estudar as mudanças na morfologia da rede de agarose e pectina de alta metoxilação, quando misturadas com a povidextrose (co-soluto), em concentrações elevadas.	Almrhag et al. (2012b)
<ul style="list-style-type: none"> • Gelatina • Povidextrose 	<ul style="list-style-type: none"> • Reologia • DSC • MEV • FTIR • Difração de Raio-X 	Compreender o comportamento de fase da gelatina quando misturado com a povidextrose, principalmente em altas concentrações de sólidos (60 %).	Almrhag et al. (2012a)
<ul style="list-style-type: none"> • Proteína da soja (11S e 7S) • Quitosana 	<ul style="list-style-type: none"> • Microscopia confocal • DSC • Potencial zeta • Turbidez 	Explorar a complexação entre as frações de proteína de soja (glicinina e β -conglucina) e quitosana e investigar a influência do pH, relação de mistura, tratamento térmico e força iônica.	Yuan et al (2014)

3.12 Referências Bibliográficas

- Abd Karim, A., Sulebele, G. A., Azhar, M. E. e Ping, C. Y. Effect of carrageenan on yield and properties of tofu. *Food Chemistry*, v.66, p.159-165. 1999.
- Abu-Jdayil, B., Mohameed, H. A. e Eassa, A. Rheology of wheat starch-milk-sugar systems: Effect of starch concentration, sugar type and concentration, and milk fat content. *Journal of Food Engineering*, v.64, n.2, p.207-212. 2004.
- Anuário da agricultura brasileira: <http://www.agrianual.com.br/> 2010.
- Akoh, C. C. Fat replacers. *Food technology*, v.52, n.3, p.47-53. 1998.
- Alamprese, C. e Mariotti, M. Effects of different milk substitutes on pasting, rheological and textural properties of puddings. *LWT - Food Science and Technology*, v.44, n.10, p.2019-2025. 2011.
- Alexander, R. J. New starches for food applications. *Cereal Foods World*, v.41, n.10, p.796-799. 1996.
- Almrhag, O., George, P., Bannikova, A., Katopo, L., Chaudhary, D. e Kasapis, S. Phase behaviour of gelatin/polydextrose mixtures at high levels of solids. *Food Chemistry*, v.134, n.4, p.1938-1946. 2012a.
- Almrhag, O., George, P., Bannikova, A., Katopo, L. e Kasapis, S. Networks of polysaccharides with hydrophilic and hydrophobic characteristics in the presence of co-solute. *International Journal of Biological Macromolecules*, v.51, n.1, p.138-145. 2012b.
- Aluko, R. E. e Yada, R. Y. Structure-function relationships of cowpea (*vigna unguiculata*) globulin isolate: Influence of ph and nacl on physicochemical and functional properties. *Food Chemistry*, v.53, p. 259-265. . 1995.
- Alvarez, M. D., Fernández, C., Olivares, M. D. e Canet, W. A rheological characterisation of mashed potatoes enriched with soy protein isolate. *Food Chemistry*, doi:10.1016/j.foodchem.2011.05.111. 2011.
- Añon, M. C., Sorgentini, D. A. e Wagner, J. R. Relationships between different hydration properties of commercial and laboratory soybean isolates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.49, p.4852-4858. 2001.
- Arcia, P. L., Costell, E. e Tárrega, A. Thickness suitability of prebiotic dairy desserts: Relationship with rheological properties. *Food Research International*, v.43, n.10, p.2409-2416. 2010.
- Arltoft, D., Madsen, F. e Ipsen, R. Relating the microstructure of pectin and carrageenan in dairy desserts to rheological and sensory characteristics. *Food Hydrocolloids*, v.22, n.4, p.660-673. 2008.
- Ayerza, R. e Coates, W. *Chia: Rediscovering a forgotten crop of the aztecs*. Arizona: The University of Arizona Press. 2005
- Azizi, R. e Farahnaky, A. Ultrasound assisted cold gelation of kappa carrageenan dispersions. *Carbohydrate Polymers*

v.95, p. 522–529. 2013.

Baeza, R. I., Carp, D. J., Pérez, O. E. e Pilosof, A. M. R. K-carragenan–protein interactions: Effect of proteins on polysaccharide gelling and textural properties *LWT*, v.35, p.741–747. 2002.

Basu, S. e Shivhare, U. S. Rheological, textural, micro-structural and sensory properties of mango jam. *Journal of Food Engineering*, v.100, n.2, p.357-365. 2010.

Bates, D. M., Bagnall, W. A. e Bridges, M. W. Method of treatment of vegetable matter with ultrasonic energy. Us patent application 20060110503. 2006.

Bazzani, C. S. R., Villela, S. H. M., Antunes, A. M., Santos, V. C. P. e Bensusaski, B. M. Desenvolvimento e caracterização de um “iogurte de soja” enriquecido com cálcio, sabor amora. *Higiene Alimentar*, v.21, n.155, p.84-91. 2007.

Bedie, G. K., Turgeon, S. L. e Makhlof, J. Formation of native whey protein isolate–low methoxyl pectin complexes as a matrix for hydro-soluble food ingredient entrapment in acidic foods. *Food Hydrocolloids*, v.22, p.836–844. 2008.

Benichou, A., Aserin, A., Lutz, R. e Garti, N. Formation and characterization of amphiphilic conjugates of whey protein isolate (wpi)/xanthan to improve surface activity. *Food Hydrocolloids*, v.21, n.3, p.379-391. 2007.

Bermudez-Aguirre, D., Corradini, M. G., Mawson, R. e Barbosa-Canovas, G. V. Modeling the inactivation of listeria innocua in raw whole milk treated under thermo-sonication. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, v.10, p.172–178. 2009a.

Bermudez-Aguirre, D., Mawson, R., Versteeg, K. e Barbosa-Canovas, G. V. Composition properties, physicochemical characteristics and shelf life of whole milk after thermal and thermo-sonication treatments. *Journal of Food Quality*, v.32, p.283–302 2009b.

Bermúdez-Aguirre, D., Mobbs, T. e Barbosa-Cánovas, G. V. *Ultrasound applications in food processing*. In: (Ed.). *Ultrasound technologies for food and bioprocessing*: Springer Science Business Media, 2011.

Bertolini, A. C. *Starches: Characterization, properties, and applications*. Boca Raton: Taylor & Francis. 2009. 276 p.

Braga, A. L. M. *Formação, estrutura e propriedades reológicas de sistemas biopoliméricos*. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006. 277 p.

Braga, A. L. M., Azevedo, A., Julia Marques, M., Menossi, M. e Cunha, R. L. Interactions between soy protein isolate and xanthan in heat-induced gels: The effect of salt addition. *Food Hydrocolloids*, v.20, n.8, p.1178-1189. 2006.

Braga, A. L. M. e Cunha, R. L. The effects of xanthan conformation and sucrose concentration on the rheological properties of acidified sodium caseinate–xanthan gels. *Food Hydrocolloids*, v.18, p.977-986. 2004.

Ministério da saúde. Agência nacional de vigilância sanitária. Resolução cns/ms n.º 04, de 24 de novembro de 1988.: Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/04_cns.pdf. 1988.

Brasil. Ministério da saúde. Agência nacional de vigilância sanitária. Portaria n.º 540, de 27 de outubro de 1997. Disponível em: [Http://e-legis.Bvs.Br/leisref/public/showact.Php?Id=88](http://e-legis.Bvs.Br/leisref/public/showact.Php?Id=88). 2004. 1997.

Ministério da saúde. Agência nacional de vigilância sanitária. Resolução n. 18, de 30 de abril de 1999: Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br> 1999.

Brummer, R. *Rheology essentials of cosmetic and food emulsions*. Berlin: Springer. 2006

Brunini, M. A., Oliveira, A. L. D. e Varanda, D. B. Quality evaluation of 'paluma' guava pulp stored at -20°C. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.25, p.394-396. 2003.

Camire, M. E., Dougherty, M. P. e Teh, Y. H. Frozen wild blueberry-tofu-soymilk desserts. *Journal of Food Science*, v.71, n.2, Mar, p.S119-S123. 2006.

Campo-Deaño, L., Tovar, C. A. e Borderías, J. Effect of several cryoprotectants on the physicochemical and rheological properties of suwari gels from frozen squid surimi made by two methods. *Journal of Food Engineering*, v.97, n.4, p.457-464. 2010.

Cândido, L. M. B. e Campos, A. M. *Alimentos para fins especiais: Dietéticos*. São Paulo: Livraria Varela. 1995. 423 p.

Carp, D. J., Bartholomai, G. B. e Pilosof, A. M. R. Electrophoretic studies for determining soy proteins-xanthan gum interactions in foams. *Colloid and Surface B*, v.12, p.309-316. 1999.

Carvalho, V. D. Qualidade e conservação pós-colheita de goiabas. *Informe Agropecuário*, v.17, n.179, p.48-54. 1994.

Caus, S., Czaikoski, K., Gomes, G. V. D. L., Córdova, K. R. V., Bezerra, J. R. M. V. e Rigo, M. Beverage production from soybean hydro soluble extract and fruit pulp. *Revista Ciências Exatas e Naturais*, v.10 n.1. 2008.

Cavalheiro, S. F. L., Tininis, C. R. C. S., Tavano, O. L., Custódio, M. F., Rossi, E. A. e Cardello, H. M. A. B. Biscoito sabor chocolate com resíduo de soja, "Okara": Teste afetivo com crianças em idade pré-escolar. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, v.12, n.1, p.151-162. 2001.

Cereda, M. P. Amidos modificados *Boletim Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.30, n.1, p.31-36. 1996.

Chang, K. L. B., Lin, Y. S. e Chen, R. H. The effect of chitosan on the gel properties of tofu (soybean curd). *Journal of Food Engineering*, v.57, p.315-319. 2003.

Chauhan, S. K., Lal, B. B. e Joshi, V. K. Development of a protein-rich mango beverage. *Journal of Food Science and Technology*, v.35, n.6, p.521-523. 1998.

Chaves, M. A., Matté, G. M. e Mendonça, S. N. T. G. *Avaliação microbiológica e sensorial de sobremesa cremosa à base de extrato aquoso de soja adicionado de lactobacillus acidophilus*. IX Encontro Regional Sul de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Curitiba: Anais do IX ERSCTA, 2007. 293-297 p.

Cheftel, J. C., Cuq, J. L. e Lorient, D. *Aminoácidos, peptídeos y proteínas*. In: *Fennema, o.R. (ed.), química de los alimentos*. Zaragoza: Editorial Acribia. 1993

Chen, J. e Lolivret, L. The determining role of bolus rheology in triggering a swallowing. *Food Hydrocolloids*, v.25, n.3, p.325-332. 2011.

Chove, B. E., Grandison, A. e Lewis, M. J. Some functional properties of fractionated soy protein isolates obtained by microfiltration. *Food Hydrocolloids*, v.21, p.1379-1388. 2007.

Czank, C., Simmer, K. e Hartmann, P. E. Simultaneous pasteurization and homogenization of human milk by combining heat and ultrasound: Effect on milk quality. . *The Journal of Dairy Research*, v.77, p.183–189. 2010.

Da Silva, R. C. S. N. *Caracterização sensorial e reológica de requeijão light adicionado de concentrado proteico de soro* Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010. 147 p.

Damodaran, S., Parkin, K. L. e Fennema, O. R. *Fennema's food chemistry*. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis, v.4. 2008

De Wijk, R. A., Prinz, J. F. e Janssen, A. M. Explaining perceived oral texture of starch-based custard desserts from standard and novel instrumental tests. *Food Hydrocolloids*, v.20, n.1, p.24-34. 2006.

Delben, F. e Stefancich, S. Interaction of food proteins with polysaccharides i: Properties upon mixing *Journal of Food Engineering*, v.31, p.325-346. 1997.

Depypere, F. D. R., Verbeke, D., Thas, O. e Dewettinck, K. Mixture design approach on the dynamic rheological and uniaxial compression behaviour of milk desserts. *Food Hydrocolloids*, v.17, n.3, p.311-320. 2003.

Dolz, M., Hernandez, M. J. e Delegido, J. Creep and recovery experimental investigation of low oil content food emulsions. *Food Hydrocolloids*, v.22, n.3, p.421-427. 2008.

Drohan, D. D., Tziboula, A., McNulty, D. e Horne, D. S. Milk protein–carrageenan interactions. *Food Hydrocolloids*, v.11, p.101–107. 1997.

Dutcosky, S. D. *Análise sensorial de alimentos*. Curitiba: Champagnat. 1996. 123 p.

Embrapa soja: <http://www.cnpso.embrapa.br> 2011.

Engelen, L., De Wijk, R. A., Prinz, J. F., Van Der Bilt, A. e Bosman, F. The relation between saliva flow after different stimulations and the perception of flavor and texture attributes in custard desserts. *Physiology & Behavior*, v.78, n.1, p.165-169. 2003.

Ercelebi, E. A. e Ibanoglu, E. Influence of hydrocolloids on phase separation and emulsion properties of whey protein isolate. *Journal of Food Engineering*, v.80, p.454–459. 2007.

Farfán, J. A. *Química de proteínas*. São Paulo: Unicamp. 1990

Fasolin, L. H. *Extração e estudo do polissacarídeo solúvel de soja e sua avaliação na estabilidade e reologia de suco de graviola adicionado de isolado protéico de soja*. (Dissertação de mestrado). Faculdade de Engenharia de Alimentos Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

- Franco, C. M. L., Daiuto, E. R., Demiate, I. M., Carvalho, L. J. C. B., Leonel, M. C., M. P., Vilpoux, O. F. e Sarmiento, S. B. S. *Propriedades gerais do amido*. São Paulo: Fundação Cargill, v.1. 2001. 221 p. (Culturas de tuberosas amiláceas latino-americanas)
- Friedman, M. e Brandon, D. L. Nutritional and health benefits of soy proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.49, n.3, p.1069-1086. 2001.
- Gall, A. F., Fabre, H. C. e Raimondi, H. L. Almidón de mandioca reticulado. *La alimentacion latinoamericana*, v.106, n.10, p.28-36. 1977.
- Genç, M., Zorba, M. e Ova, G. Determination of rheological properties of boza by using physical and sensory analysis. *Journal of Food Engineering*, v.52, n.1, p.95-98. 2002.
- Golovanov, A. P., Hautbergue, G. M., Wilson, S. A. e Lian, L. Y. A simple method for improving protein solubility and long-term stability. *Journal of the American Oil Chemists Society* v.126, p.8933-8939. 2004.
- González-Tomás, L., Bayarri, S., Taylor, A. J. e Costell, E. Rheology, flavour release and perception of low-fat dairy desserts. *International Dairy Journal*, v.18, n.8, p.858-866. 2008.
- González-Tomás, L. e Costell, E. Relation between consumers perceptions of color and texture of dairy desserts and instrumental measurements using a generalized procrustes analysis. *Journal of Dairy Science*, v.89, n.12, p.4511-4519. 2006.
- Granato, D., Masson, M. L. e Ribeiro, J. C. B. Sensory acceptability and physical stability evaluation of a prebiotic soy-based dessert developed with passion fruit juice. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.32, p.119-126. 2012.
- Granato, D., Ribeiro, J. C. B., Castro, I. A. e Masson, M. L. Sensory evaluation and physicochemical optimisation of soy-based desserts using response surface methodology. *Food Chemistry*, v.121, n.3, p.899-906. 2010.
- Han, J. e Khan, K. Functional properties of pin-milled and air-classified dry edible bean fractions *Cereal Chemistry*, v.67, p.390-394. 1990.
- Heenan, C. N., Adams, M. C., Hosken, R. W. e Fleet, G. H. Survival and sensory acceptability of probiotic microorganisms in a nonfermented frozen vegetarian dessert. *LWT - Food Science and Technology*, v.37, n.4, p.461-466. 2004.
- Holdsworth, S. D. Applicability of rheological models to the interpretation of flow and processing behaviour of fluid food products. *Journal of Texture Studies*, v.2, p.393-418. 1971.
- Hua, Y., Cui, S. W. e Wang, Q. Gelling property of soy protein-gum mixtures. *Food Hydrocolloids*, v.17, n.6, p.889-894. 2003.
- Huang, Q., Li, L. e Fu, X. Ultrasound effects on the structure and chemical reactivity of cornstarch granules. *Starch/Stärke* v.59, p.371-378. 2007.
- Huang, Y. T. e Kinsella, J. E. Functional properties of phosphorylated yeast protein: Solubility, water-holding capacity, and viscosity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.34, p.670-674. 1986.
- Ibarz, A. e Barbosa-Cánovas, G. V. *Operaciones unitarias en la ingeniería de alimentos*. Pensilvânia: Technomic. 1996

Ift. Sensory evaluation division. Guidelines for the preparation and review of paper reporting sensory evaluation date. *Food Technology*, v.35, n.4, p.16-17. 1981.

Iida, Y., Tuziuti, T., Yasui, K., Towata, A. e Kozuka, T. Control of viscosity in starch and polysaccharide solutions with ultrasound after gelatinization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, v.9, n.2, p.140-146. 2008.

Ilsoy. Illinois soybean association. http://www.Ilsoy.Org/sites/default/files/presentation_files/1813.Pdf. Acesso em maio de 2014. 2014.

Issanchous, S., Lesschaeve, I. e Koster, E. P. Screening individual ability to perform descriptive analysis of food products: Basic statements and application to a camembert cheese descriptive panel. *Journal of Sensory Studies*, v.10, p.349-368. 1995.

Jambrak, A. R., Herceg, Z., Šubarić, D., Babić, J., Brnčić, M., Brnčić, S. R., Bosiljkov, T., Čvek, D., Tripalo, B. e Gelo, J. Ultrasound effect on physical properties of corn starch. *Carbohydrate Polymers*, v.79, n.1, p.91-100. 2010.

Jambrak, A. R., Lelas, V., Mason, T. J., Kresic, G. e Badanjak, M. Physical properties of ultrasound treated soy proteins. *Journal of Food Engineering*, v.93, n.4, p.386-393. 2009.

Jambrak, A. R. E., Mason, T. J., Lelas, V., Herceg, Z. e Herceg, I. L. Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspensions. *Journal of Food Engineering*, v.86, n.2, p.281-287. 2008.

Kasapis, S., Al-Marhoobi, I. M., Deszczynski, M., Mitchell, J. R. e Abeysekera, R. Gelatin vs polysaccharide in mixture with sugar. *Biomacromolecules*, v.4, p.1142-1149. 2003.

Kasapis, S., Mitchell, J., Abeysekera, R. e Macnaughtan, W. Rubber-to-glass transitions in high sugar/biopolymer mixtures. *Trends in Food Science & Technology*, v.15, p.298-304. 2004.

Kasapis, S. e Sablani, S. S. A fundamental approach for the estimation of the mechanical glass transition temperature in gelatin. *International Journal of Biological Macromolecules*, v.36, p.71-78. 2005.

Kaya, A. e Belibagli, K. B. Rheology of solid gazâ±antep pekmez. *Journal of Food Engineering*, v.54, n.3, p.221-226. 2002.

Kechinski, C. P., Schumacher, A. B., Marczak, L. D. F., Tessaro, I. C. e Cardozo, N. S. M. Rheological behavior of blueberry (*vaccinium ashei*) purees containing xanthan gum and fructose as ingredients. *Food Hydrocolloids*, v.25, n.3, p.299-306. 2011.

Kneifel, W., Paquin, P., Abert, T. e Richard, J. P. Water-holding capacity of proteins with special regards to milk proteins and methodological aspect - a review. *Journal of Dairy Science*, v.74, p.2027-2041. 1991.

Kohlmann, R. F. e Udvary, R. Papel econômico da soja na produção de alimentos industrializados no brasil (isolados e concentrados). *Boletim Informativo ABIA/SAPRO*, v.26, n.26, p.3-18. 1976.

- Krokida, M. K., Maroulis, Z. B. e Saravacos, G. D. Rheological properties of fluid fruit and vegetable products: Compilation of literature data. . *International Journal of Food Properties*, v.4, p.179–200. 2001.
- Lakemond, C. M. M., Jongh, H. H. J., Hessing, M., Gruppen, H. e Voragen, A. G. J. Soy glycinin: Influence of pH and ionic strength on solubility and molecular structure at ambient temperatures. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, v.48, n.6, p.1985-1990. 2000.
- Lapasin, R. e Prici, S. *Rheology of industrial polysaccharides: Theory and applications*. London: Blackie Academic and Professional, Chapman & Hall, v.1. 1995. 620 p.
- Larosa, G., Rossi, E. A., Barbosa, J. C. e Carvalho, M. R. B. Aspectos sensoriais, nutricionais e tecnológicos de biscoito doce contendo farinha de 'okara'. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, v.17, n.2, p.151-157. 2006.
- Lee, K. H., Ryu, H. S. e Rhee, K. C. Protein solubility characteristics of commercial soy protein products. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v.80, n.85-90. 2003.
- Lemos, G. C. S. E. A. Goiaba: Amadurecimento, colheita, classificação, embalagem, transporte e armazenamento. *Cadernos de horticultura da ufrgs*. v.3, n.4, p.1-8. 1995.
- Leng, X. J. e Turgeon, S. L. Study of the shear effects on the mixture of whey protein/polysaccharides²: Application of flow models in the study of the shear effects on wpi/polysaccharide system. *Food Hydrocolloids*, v.21, n.7, p.1014-1021. 2007.
- Lii, C.-Y., Chen, C.-H., Yeh, A.-I. e Laic, V. M.-F. Preliminary study on the degradation kinetics of agarose and carrageenans by ultrasound. . *Food Hydrocolloids* v.13, p.477–481. 1999.
- Lim, K. S. e Barigou, M. Pneumatic foam generation in the presence of a high-intensity ultrasound field. *Ultrasonics Sonochemistry*, v.12, p.385–390. 2005.
- Lippacher, A., Müller, R. H. e Mäder, K. Liquid and semisolid sln^{lm} dispersions for topical application: Rheological characterization. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v.58, n.3, p.561-567. 2004.
- Liu, K. *Soybeans: Chemistry, technology and utilization*. . New York: Chapman e Hall. 1999. 532 p.
- Luo, Z., Fu, X., He, X., Luo, X., Gao, Q. e Yu, S. Effect of ultrasonic treatment on the physicochemical properties of maize starches differing in amylose content. *Starch/Stärke*, v.60, p.646-653. 2008.
- Malhotra, A. e Coupland, J. N. The effect of surfactants on the solubility, zeta potential, and viscosity of soy protein isolates. *Food Hydrocolloids* v.18, p.101-108. 2004.
- Maltais, A., Remondetto, G. E., Gonzalez, R. e Subirade, M. Formation of soy protein isolate cold-set gels: Protein and salt effects. *Journal of Food Science*, v.70, n.67-73. 2005.
- Mandarino, J. M. G., Carrão-Panizzi, M. C. e Oliveira, M. C. N. Chemical composition of soybean seed from different production areas of Brazil. *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, v.35, n.4, p.647-653. 1992.

- Martínez, M. L., Marín, M. A., S., F. C. M., Revol, J., Penci, M. C. e Ribotta, P. D. Chia (salvia hispanica l.) oil extraction: Study of processing parameters *Food Science and Technology*, v.47, p.78-82. 2012.
- Mason, T. J., Paniwnyk, L. e Lorimer, J. P. The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics Sonochemistry*, v.3, p.253-260. 1996.
- Maurício, A. A. e Trentinalha, A. S. Elaboração e análise sensorial de trufa isenta de lactose. *Maringá*, v.32, n.1, p.85-91. 2010.
- Mcclements, J. Food biopolymers and colloids research laboratory. University of massachusetts amherst. Disponível em: <<http://www-unix.Oit.Umass.Edu/~mcclemen/581rheology.Html>. > acesso em: 20/01/2012. 2003.
- Meilgaard, M., Civille, G. V. e Carr, B. T. *Sensory evaluation techniques*. New York: Boca Raton, v.2. 1991. 354 p.
- Mendes, A. C., Quirelli, K. A., Reis, R. O., Lima, I. G. S. e Santos, C. R. B. Formulação de um doce à base de extrato hidrossolúvel de soja: Avaliação de preferência e características físico-químicas. *Higiene Alimentar*, v.19, n.96, p.23-28. 2002.
- Michon, C., Vigouroux, F., Boulenguer, P., Cuvelier, G. e Launay, B. Gelatin/iota-carrageenan interactions in non-gelling conditions. *Food Hydrocolloids*, v.14, n.3, p.203-208. 2000.
- Miean, K. H. e Mohamed, S. Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* v.49, p.3106–3112. 2001.
- Miguel, R. P., Marmitt, T., Schlabitz, C., Hauschild, F. A. D. e Souza, C. F. V. Desenvolvimento e caracterização de “iogurte” de soja sabor morango produzido com extrato de soja desengordurado enriquecido com cálcio. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, v.21, n.1, p.57-63. 2010.
- Misra, K. e Seshadri, T. R. Chemical components of the fruits of psidium guajava. *Phytochemistry*, v.7, p.641-645. 1968.
- Mitchell, H. O uso de carboidratos especiais. *Food Ingredients*, n.21, p.42-44. 2002.
- Mleko, S., Li-Chan, E. C. Y. e Pikus, S. Interaction of k-carrageenan with whey proteins in gels formed at different ph. *Food Research International*, v.30, p.427–433. 1997.
- Molina Ortiz, S. E., Puppo, M. C. e Wagner, J. R. Relationship between structural changes and functional properties of soy protein isolates-carrageenan systems. *Food Hydrocolloids*, v.18, n.6, p.1045-1053. 2004.
- Montalbo-Lombay, M., Khanal, S. K., Van Leeuwen, J., Raj Raman, D., Dunn Jr, L. e Grewell, D. Ultrasonic pretreatment of corn slurry for saccharification: A comparison of batch and continuous systems. *Ultrasonics Sonochemistry*, v.17, n.5, p.939-946. 2010.
- Moraes, R. M. A. D., José, I. C., Ramos, F. G., Barros, E. G. D. e Moreira, M. A. Caracterização bioquímica de linhagens de soja com alto teor de proteína. *Pesquisa agropecuária brasileira* v.41, n.5, p.725-729. 2006.

- Morel, M.-H., Dehlon, P., Autran, J. C., Leygue, J. P. e Bar-L'helgouac'h, C. Effects of temperature, sonication time, and power settings on size distribution and extractability of total wheat flour proteins as determined by size-exclusion high-performance liquid chromatography. *Cereal Chemistry* v.77, p.685–691. 2000.
- Moschakis, T., Murray, B. S. e Dickinson, E. Microstructural evolution of viscoelastic emulsions stabilised by sodium caseinate and xanthan gum. *Journal of Colloid and Interface Science*, v.284, p.714-728. 2005.
- Mukprasirt, A., Herald, T. J. e Flores, R. A. Rheological characterization of rice flour-based batters. *Journal of Food Science*, v.65, p.1194–1199. 2000.
- Muñoz, L. A., Aguilera, J. M., Rodriguez-Turienzo, L. e Cobos, A. D., O. . Characterization and microstructure of films made from mucilage of salvia hispanica and whey protein concentrate. *Journal of Food Engineering*, v.111, p.511-518. 2012.
- Muñoz, L. A., Cobos, A., Diaz, O. e Aguilera, J. M. Chia seed (salvia hispanica): An ancient grain and a new functional food. *Food Reviews International* v.29, n.4, p.394-408. 2013.
- Musampa, R. M., Alves, M. M. e Maia, J. M. Phase separation, rheology and microstructure of pea protein-κ-carrageenan mixtures. *Food Hydrocolloids*, v.21, n.1, p.92-99. 2007.
- Narchi, I., Vial, C. e Djelveh, G. Effect of protein-polysaccharide mixtures on the continuous manufacturing of foamed food products. *Food Hydrocolloids*, v.23, n.1, p.188-201. 2009.
- Nascimento, M. R. F., Wang, S. H. e Ascheri, J. L. R. Características sensoriais de donuts preparados com farinhas de trigo e soja (80:20) extrusadas em diferentes parâmetros de extrusão. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, v.20, n.2, p.247-256. 2009.
- Nascimento, M. R. F., Wang, S. H. e Nascimento, K. O. Uso de farinha de trigo e soja (80:20) extrusada na elaboração de requeijão cremoso contendo trigo-soja com baixo teor de gordura. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, v.20, n.1, p.25-33. 2009.
- Nicoletti, J. F. e Telis, V. R. N. Reologia de suspensões de colágeno na presença de maltodextrina e lactose. *Brazilian Journal of Food Technology*, v.12. 2009.
- Nunes, M. C., Batista, P., Raymundo, B., Alves, M. M. e Sousa, I. Vegetable proteins and milk puddings. *Colloids and Surfaces B:Biointerfaces*, v.31, p.21-29. 2003.
- Ologhobo, A. D. e Fetuga, B. L. Biochemical assessment of some new varieties of soybeans. *Food Chemistry*, v.13, n.2, p.103-115. 1984.
- Pace, C. N., Treviño, S., Prabhakaran, E. e Scholtz, J. M. Protein structure, stability and solubility in water and other solvents. *Philosophical Transactions: Biological Sciences*, v.359, p.1225-1235. 2004.
- Pang, Z., Deeth, H., Sopade, P., Sharma, R. e Bansal, N. Rheology, texture and microstructure of gelatin gels with and without milk proteins. *Food Hydrocolloids*, v.35, n.0, p.484-493. 2014.
- Pelegrine, D. H. G. e Gasparetto, C. A. Whey proteins solubility as function of temperature and pH. *LWT-Food Science and Technology*, v.38, n.1, p.77-80. 2005.

Penna, A. L. B., Oliveira, M. e Baruffaldi, R. Análise de consistência de iogurte: Correlação entre medida sensorial e instrumental. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.17, n.2, p.98-101. 1997.

Petri, H.-M. Reologia ajuda a determinar as propriedades dos alimentos. *Engenharia de Alimentos*, n.30, p.32-39. 2000.

Peuckert, Y. P., Viera, V. B., Hecktheuer, L. H. R., Marques, C. T. e Rosa, C. V. Caracterização e aceitabilidade de barras de cereais adicionadas de proteína texturizada de soja e camu-camu (myrciaria dúbia). *Alimentos e Nutrição Araraquara*, v.21, n.1, p.149-154. 2010.

Phillips, G. O. e Williams, P. A. *Handbook of hydrocolloids*. Boca Raton. 2000. 450 p.

Piggott, J. R. Design questions in sensory and consumer science. *Food Quality and Preference*, v.6, n.4, p.217-220. 1995.

Povey, M. e Mason, T. *Ultrasound in food processing*. London: Blackie Academic and Professional. 1998

Rangavajhyala, N., Ghorpade, V. e Hanna, M. Solubility and molecular properties of heat-cured soy protein film. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.45, p.4204-4208. 1997.

Remeuf, F., Mohammed, S., Sodini, I. e Tissier, J. P. Preliminary observations on the effects of milk fortification and heating on microstructure and physical properties of stirred yogurt. *International Dairy Journal* v.13, p.773-782. 2003.

Renkema, J. M. S., Gruppen, H. e Vliet, T. V. Influence of pH and ionic strength on heat-induced formation and rheological properties of soy protein gels in relation to denaturation and their protein compositions. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, v.50, p.6064-6071. 2002.

Reyes-Caudillo, E., Tecante, A. e Valdivia-López, M. A. Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in mexican chia (*salvia hispanica* l.) seeds. *Food Chemistry*, v.107, p.656-663. 2008.

Rha, C. Rheology of fluid food. *Food technology*, v.32, p.77-82. 1978.

Richter, V. B., De Almeida, T. C. A., Prudencio, S. H. e De Toledo Benassi, M. Proposing a ranking descriptive sensory method. *Food Quality and Preference*, v.21, n.6, p.611-620. 2010.

Rodrigues, C. M. e Oliveira, V. R. Utilização de farinha de trigo sarraceno em associação com farinha de arroz e soja na elaboração de minipizzas. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, v.21, n.1, p.21-24. 2010.

Rodrigues, R. S. *Caracterização de extratos de soja obtidos de grãos, farinha integral e isolado protéico visando à formulação e avaliação biológica (em coelhos) de bebida funcional à base de extrato de soja e polpa de pêssegos*. (Tese de doutorado). Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, 2003.

Rodriguez-Amaya, D. B. A., Amaya-Farfan, J. e Kimura, M. Carotenoid composition of brazilian fruits and vegetables. *Acta Horticulturae*, v.744, p.409-416. 2007.

Roesch, R. e Corredig, M. Texture and microstructure of emulsions prepared with soy protein concentrate by high-pressure homogenization *LWT-Food Science and Technology*, v.36, p.113-124. 2003.

- Roller, S. e Jones, S. A. *Handbook of fat replacers*. Boca Raton: CRC press. 1996. 336 p.
- Rossi, E. A., Faria, J. B., Borsato, D. e Baldochi, F. L. Otimização de um sistema estabilizante para o “iogurte” de soja. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, v.2, n.83-92. 1990.
- Sahin, S. e Sumnu, S. G. *Rheological properties of foods*. In: (Ed.): Springer New York, 2006. p.39-105.
- Santana, L. R. R., Santos, L. C. S., Natalicio, M. A., Mondragon-Bernal, O. L., Elias, E. M., Silva, C. B., Zepka, L. Q., Martins, I. S. L., Vernaza, M. G., Castillo-Pizarro, C. e Bolini, H. M. A. Perfil sensorial de iogurte light, sabor pêssego. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.26, n.3, p.619-625. 2006.
- Scharamman, G. *A practical approach to rheology and rheometry*. Karlsruhe. 2000
- Schnepf, R. D., Dohlman, E. e Bolling, C. Agriculture in brazil and argentina: Developments and prospects for major field crops. Department of agriculture (usda), agriculture and trade report. Disponível em: <http://www.Ers.Usda.Gov/publications/wrs013/> 2001.
- Sgarbieri, V. C. *Proteínas em alimentos proteicos*. São Paulo: Livraria Varela LTDA. 1996. 523 p.
- Sharma, S. K., Mulvaney, S. J. e Rizvi, S. S. H. *Food processing engineering: Theory and laboratory experiments*. . United States of America Wiley-Interscience. 2000. 348 p.
- Shimada, K. e Cheftel. Determination of sulfhydryl groups and disulfide bond in heat- induced gels of soy protein isolate *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.36, p.147-153. 1988.
- Sinagro. Soja em números (safra 2012/2013). Disponível em: <http://www.Gruposinagro.Com.Br>. Acesso em maio de 2014. 2014.
- Singh, N., Singh, J., Kaur, L., Singh Sodhi, N. e Singh Gill, B. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chemistry*, v.81, n.2, p.219-231. 2003.
- Snyder, R. D. e Know, T. W. *Soybean utilization*. New York: Van Nostrand Reinhold Company. 1987
- Soler, L. *Development of non-dairy frozen emulsion containing soy protein and coconut milk* Department of Food Science, Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College, Louisiana, 2005. 84 p.
- Sorgentini, D. A., Wagner, J. R. e Anon, M. C. Effects of thermal treatment of soy protein isolate on the characteristics and structure-function relationship of soluble and insoluble fractions *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.43, n.9, p.2471-2479. 1995.
- Steffe, J. F. *Rheological Methods in Food Process Engineering*. East Lansing, Michigan State, USA: Freeman Press. 1996. 418 p.
- Stone, H. e Sidel, J. *Sensory evaluation practices*. New York: Academic Press. 1993. 338 p.

Streeter, V. L. *Mecânica de fluidos*. México: McGraw Hill. 1996. 594 p.

Sujka, M. e Jamroz, J. Ultrasound-treated starch: Sem and tem imaging, and functional behaviour. *Food Hydrocolloids*, v.31, n.2, p.413-419. 2013.

Sworn, G. e Kasapis, S. Effect of conformation and molecular weight of co-solute on the mechanical properties of gellan gum gels. *Food Hydrocolloids*, v.12, n.3, p.283-290. 1998.

Syrbe, A., Bauser, W. J. e Klostermeyer, H. Polymer science concepts in dairy systems – an overview of milk protein and food hydrocolloid interaction. *International Dairy Journal*, v.8, p.179-193. 1998.

Tabela brasileira de composição de alimentos. 2 ed. Study and research center of food university of campinas. Campinas. Disponível em: www.unicamp.br/nepa/taco/. Acesso em 23 de janeiro de 2013 2012.

Tan, M. C., Chin, N. L. e Yusof, Y. A. Power ultrasound aided batter mixing for sponge cake batter. *Journal of Food Engineering*, v.104, p.430-437. 2011.

Tárrega, A. e Costell, E. Effect of composition on the rheological behaviour and sensory properties of semisolid dairy dessert. *Food Hydrocolloids*, v.20, n.6, p.914-922. 2006a.

Tárrega, A. e Costell, E. Effect of inulin addition on rheological and sensory properties of fat-free starch-based dairy desserts. *International Dairy Journal*, v.16, n.9, p.1104-1112. 2006b.

Tárrega, A. e Costell, E. Colour and consistency of semi-solid dairy desserts: Instrumental and sensory measurements. *Journal of Food Engineering*, v.78, n.2, p.655-661. 2007.

Tárrega, A., Torres, J. D. e Costell, E. Influence of the chain-length distribution of inulin on the rheology and microstructure of prebiotic dairy desserts. *Journal of Food Engineering*, v.104, n.3, p.356-363. 2011.

Teh, T., Dougherty, M. P. e Camire, M. E. How do consumer attitudes influence acceptance of a novel wild blueberry-soy product? *Journal of Food Science*, v.72, n.7, Sep, p.S516-S521. 2007.

Teh, Y. H., Dougherty, M. P. e Camire, M. E. Frozen blueberry-soy dessert quality. *Journal of Food Science*, v.70, n.2, Mar, p.S119-S122. 2005.

Teles, C. D. e Flôres, S. H. I. Influência da adição de espessantes e leite em pó nas características reológicas do iogurte desnatado. *Boletim CEPPA*, v.25, n.2, p.247-256. 2007.

Tham, D. M., Gardner, C. D. e Haskell, W. L. Potential health benefits of dietary phytoestrogens: A review of the clinical, epidemiological, and mechanistic evidence. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, v.83, p.2223-2235. 1998.

Thebaudin, J. Y., Lefebvre, A. C. e Doublier, J. L. Rheology of starch pastes from starches of different origins: Applications to starch-based sauces. *LWT - Food Science and Technology*, v.31, n.4, p.354-360. 1998.

Tolstoguzov, V. Some thermodynamic considerations in food formulation. *Food Hydrocolloids*, v.17, p.1-23. 2003.

Tomikawa, M. M. *_Desenvolvimento de uma sobremesa a base de soja tipo petit suisse enriquecido com cálcio e alto teor proteico.* (Dissertação de mestrado). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas Campinas, 2009.

Uliana, G. C. e Rosa, G. C. Avaliação físico-química e sensorial de queijos coloniais com adição de extrato hidrossolúvel de soja e farelo de soja. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, v.20, n.3, p.485-489. 2009.

Umbelino, D. C., Rossi, E. A., Cardello, H. M. A. B. e Lepera, S. Aspectos tecnológicos e sensoriais do "Iogurte" De soja enriquecido com cálcio. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.21, n.3, p.276-280. 2001.

Uresti, R. M., López-Arias, N., González-Cabriales, J. J., Ramírez, J. A. e Vázquez, M. Use of amidated low methoxyl pectin to produce fish restructured products. *Food Hydrocolloids*, v.17, p.171-176. 2003.

Valim, M. F., Rossi, E. A., Silva, V. e Borsato, V. Sensory acceptance of a functional beverage based on orange juice and soy milk. *Brazilian Journal of Food Technology*, v.6, n.2, p.153-156. 2003.

Vidal, J. R. M. B. *_Comportamento reológico da polpa de manga (mangífera indica lkeitt).* Unicamp, Campinas, 2000. 159 p.

Vidigal, M. C. T. R. *_Caracterização reológica e sensorial de sobremesa láctea diet contendo concentrado protéico de soro.* Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

Vieira, C. R., Cabral, L. C. e Paula, A. C. O. D. Composição centesimal e conteúdo de aminoácidos, ácidos graxos e minerais de seis cultivares de soja destinadas à alimentação humana. *Pesquisa agropecuária brasileira.*, v.34, n.7, p.1227-1283. 1999.

Waggle, D. H. e Potter, S. M. Soy protein and health. *Food Australia*, v.52, n.1,2, p.31-36. 2000.

Wagner, J. R., Sorgentini, D. A. e Anon, M. C. Relation between solubility and surface hydrophobicity as an indicator of modifications during preparation processes of commercial and laboratory-prepared soy protein isolates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.48, p.3159-3165. 2000.

Wang, C. e Johnson, L. A. Functional properties of hydrothermally cooked soy protein products. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v.78, p.189-195. 2001.

Wang, S. H., Clerici, M. T. P. S. e Sgarbieri, V. C. Características sensoriais e nutricionais de mingau de preparo rápido a base de farinhas de arroz e soja desengordurada e leite em pó. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, v.5, p.77-86. 1993.

Wang, Z.-M., Cheung, Y.-C., Leung, P.-H. e Wua, J.-Y. Ultrasonic treatment for improved solution properties of a high-molecular weight xopolysaccharide produced by a medicinal fungus. *Bioresource Technology*, v.101, p.5517-5522. 2010.

Wendin, K. e Hall, G. Influences of fat, thickener and emulsifier contents on salad dressing: Static and dynamic sensory and rheological analyses. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, v.34, n.4, p.222-233. 2001.

Wijk, R. A. D., Prinz, J. F. e Janssen, A. M. Explaining perceived oral texture of starch-based custard desserts from standard and novel instrumental tests. *Food Hydrocolloids*, v.20, p.24-34. 2006.

Yamamoto, F. e Cunha, R. L. Acid gelation of gellan: Effect of final ph and heat treatment conditions. *Carbohydrate Polymers*, v.68, p.517-527. 2007.

Yuan, Y., Wan, Z.-L., Yang, X.-Q. e Yin, S.-W. Associative interactions between chitosan and soy protein fractions: Effects of ph, mixing ratio, heat treatment and ionic strength. *Food Research International*, v.55, n.0, p.207-214. 2014.

Zhang, G. e Foegeding, E. A. Heat-induced phase behavior of β -lactoglobulin/polysaccharide mixtures. *Food Hydrocolloids*, v.17, p.785-792. 2003.

Zheng, H.-G., Yang, X.-Q., Tang, C.-H., Li, L. e Ahmad, I. Preparation of soluble soybean protein aggregates (sspa) from insoluble soybean protein concentrates (spc) and its functional properties. *Food Research International*, v.41, p. 154-164. 2008.

Capítulo 4 - Material e Métodos

Neste capítulo é apresentada a metodologia empregada para realizar o preparo das amostras, assim como as matérias-primas, reagentes, equipamentos e métodos de análise utilizados. Os experimentos foram realizados nos seguintes laboratórios do Departamento de Engenharia Química da UFRGS: Laboratório de Tecnologia e Processamento de Alimentos (LATEPA), Laboratório de Tecnologia em Engenharia Química (LATEQ), Laboratório de Tecnologia e Processamento de Polímeros (LATEP) e Laboratório de Separação por Membranas (LASEM). O Laboratório de Análise de Alimentos e o Laboratório de Análise Sensorial do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFRGS também foram utilizados para a realização das análises colorimétricas e sensoriais.

4.1 Matéria-prima e reagentes

No presente trabalho, optou-se por trabalhar com o extrato hidrossolúvel de soja, visto que ele tem pouco sabor e elevada quantidade de proteína e minerais; é altamente digestível e fácil de incorporar no alimento em questão, e também apresenta menor custo que as proteínas. O extrato de soja utilizado durante todo o trabalho foi fornecido gratuitamente pela Olvebra S/A (Eldorado do Sul, Brasil) e apresentou 44 % de proteína. A carboximetilcelulose foi doada pela empresa Hexus Food (Portão, Brasil) e a carragena foi ofertada pela Cargill Alimentos (Minnesota, Estados Unidos). A polidextrose foi cedida pela Danisco Brasil Ltda (Copenhague, Dinamarca) e o amido modificado foi fornecido pela Corn Products Brasil Ingredientes Industriais (Mogi-

Guaçu, Brasil). A polpa de fruta foi adquirida da empresa Mais Fruta (Antônio Prado, RS, Brasil) e o suco em pó da Kraft Foods (Curitiba, Brasil). Os reagentes químicos foram adquiridos das empresas Nuclear (Diadema, Brasil), Vetec (Duque de Caxias, Brasil) e Dinâmica Química Contemporânea (Diadema, Brasil).

4.2 Processo de obtenção da mucilagem de chia

As sementes de chia (*Salvia hispanica* L.) (Cacalia Comercial LTDA, Estância Velha, RS, Brasil) foram adquiridas em mercado local. As mesmas foram mergulhadas em água destilada em uma proporção de semente:água de 1:30, e deixadas sob agitação em agitador magnético (Fisatom, 752-A, SP, Brasil) por duas horas em temperatura ambiente. A mucilagem formada foi então separada da semente através de filtração com auxílio de uma bomba de vácuo e de uma peneira simples, e posteriormente centrifugada durante 15 min a 3000 g. O sobrenadante (mucilagem) foi então congelado em ultrafreezer (LIOBRAS, UFR30, SP, Brasil) a -70°C, e após liofilizado (LIOTOP, L101, SP, Brasil).

4.3 Determinação das propriedades físico-químicas da polpa

As propriedades físico-químicas das polpas analisadas foram: teor de sólidos solúveis, pH e umidade.

O teor de sólidos solúveis e o pH foram determinados usando um refratômetro analógico portátil (Carl Zeiss, modelo 32-G, Estados Unidos) e um pHmetro (Tecnal, modelo TEC-3MP, Brasil), respectivamente. O primeiro foi feito de acordo com o método da AOAC 932.12 (AOAC, 2000a) e o segundo de acordo com a AOAC, método 981.12 (AOAC, 2000c). As análises de umidade foram realizadas conforme a metodologia 934.06 da AOAC (AOAC, 2000b). Esse método consiste em secar, primeiramente, 10 g de areia em cápsula de alumínio contendo um bastão em estufa a 105 °C durante 2 h. Após a secagem, o sistema areia/cápsula/bastão de vidro foi resfriado por 30 min em dessecador e novamente pesado. Posteriormente cerca de 5 g de amostra foram adicionadas ao sistema, misturadas à areia com o bastão de vidro, secas em estufa a vácuo a 80°C por 8 h, resfriadas em dessecador até temperatura ambiente por 30 min e finalmente pesadas. O percentual de umidade é calculado pela

diferença de massa da amostra antes e após a secagem. Cabe ressaltar, que o uso da areia é indispensável para a análise de umidade, pois ela evita a formação de uma crosta superficial provocada pela caramelização dos açúcares presentes na polpa. As análises foram realizadas em triplicata.

4.4 Primeira parte

A metodologia apresentada a seguir refere-se à primeira parte do trabalho.

4.4.1 Preparo das amostras

Os ingredientes utilizados nas formulações das sobremesas estão expostos na Tabela 4.1. Cabe ressaltar que estas faixas de valores foram estipuladas com base nos resultados obtidos em testes preliminares.

Para estudar o efeito das concentrações do extrato de soja hidrossolúvel (x_1), amido modificado (x_2) e polpa de goiaba (x_3) sobre as propriedades físico-químicas, físicas, reológicas e sensoriais das sobremesas, foi empregado um planejamento composto central rotacional 2^3 com quatro replicatas no ponto central. A matriz com os valores codificados e originais das variáveis independentes está mostrada na Tabela 4.2. Os experimentos foram executados de maneira randômica.

Tabela 4.1. Ingredientes (g/100 g) utilizados na formulação das sobremesas à base de soja.

Ingredientes	Quantidade (g/100g)
Sacarose	9
Polpa de goiaba ^a	7 - 19
Extrato de soja hidrossolúvel ^b	2,5 - 7,5
Amido Modificado ^c	2,6- 4,0
Polidextrose	2
Suco de goiaba em pó	1,5
Carragena	0,3
CMC	0,4
Água	qs 100 g

qs = quantum sufficit for 100 g.

^a Concentração de polpa de goiaba de 7 a 19%.

^b Concentração de extrato de soja de 2,5 a 7,5%.

^c Concentração de amido modificado de 2,6 a 4 %.

Tabela 4.2. Matriz do planejamento composto central (2^3) usado para desenvolver as sobremesas com diferentes concentrações de polpa de goiaba, extrato de soja e amido modificado.

Experimento	Variáveis Independentes					
	Níveis Codificados			Níveis Reais		
	x_1	x_2	x_3	Extrato de soja (g/100g)	Amido (g/100g)	Polpa (g/100g)
1	-1	-1	-1	3,5	2,9	9,5
2	1	-1	-1	6,5	2,9	9,5
3	-1	1	-1	3,5	3,7	9,5
4	1	1	-1	6,5	3,7	9,5
5	-1	-1	1	3,5	2,9	16,5
6	1	-1	1	6,5	2,9	16,5
7	-1	1	1	3,5	3,7	16,5
8	1	1	1	6,5	3,7	16,5
9	-1,68	0	0	2,5	3,3	13,0
10	1,68	0	0	7,5	3,3	13,0
11	0	-1,68	0	5,0	2,6	13,0
12	0	1,68	0	5,0	4,0	13,0
13	0	0	-1,68	5,0	3,3	7,1
14	0	0	1,68	5,0	3,3	18,9
15	0	0	0	5,0	3,3	13,0
16	0	0	0	5,0	3,3	13,0
17	0	0	0	5,0	3,3	13,0
18	0	0	0	5,0	3,3	13,0

O preparo das sobremesas à base de soja foi executado da seguinte maneira: (i) hidratação do extrato de soja em água sob agitação mecânica (100 rpm) com impelidor tipo hélice naval (Fisaton, 713 D, Brasil) a 40°C em chapa de aquecimento durante 30 min; (ii) adição dos ingredientes secos sob agitação (1000 rpm) durante 15 min; (iii) adição do amido gelatinizado e da polpa sob agitação (1000 rpm) durante 15 min e (iv) envase das amostras em potes de vidros, previamente esterilizados em autoclave (120°C, 20 min); (v) pasteurização a 75°C durante 30 s; (vi) resfriamento dos potes em banho de gelo. Para preparar 100 g de amostra, o amido adicionado na etapa (iii) foi gelatinizado na presença de 35 g de água em banho-maria a 90°C durante 5 minutos. Por fim, os produtos foram armazenados sob refrigeração a $7 \pm 1^\circ\text{C}$.

Nas amostras elaboradas com chia, a mucilagem foi pré-hidratada durante 30 min e colocada após a solubilização do extrato de soja em água. As etapas seguintes são exatamente iguais às mencionadas anteriormente.

Quanto ao tratamento com ultrassom, as amostras foram sonicadas antes da etapa de pasteurização em alíquotas de 100 g em béquer de 250 mL, usando uma sonda de 20 kHz e 750 W (12 mm diâmetro, Sonics Vibracell, VC750, Newtown, USA) durante 1, 3 e 5 min. A intensidade ultrassônica correspondeu a 316 W.cm^{-2} (amplitude de 40 %).

A Figura 4.1 apresenta um fluxograma simplificado do preparo das diferentes amostras.

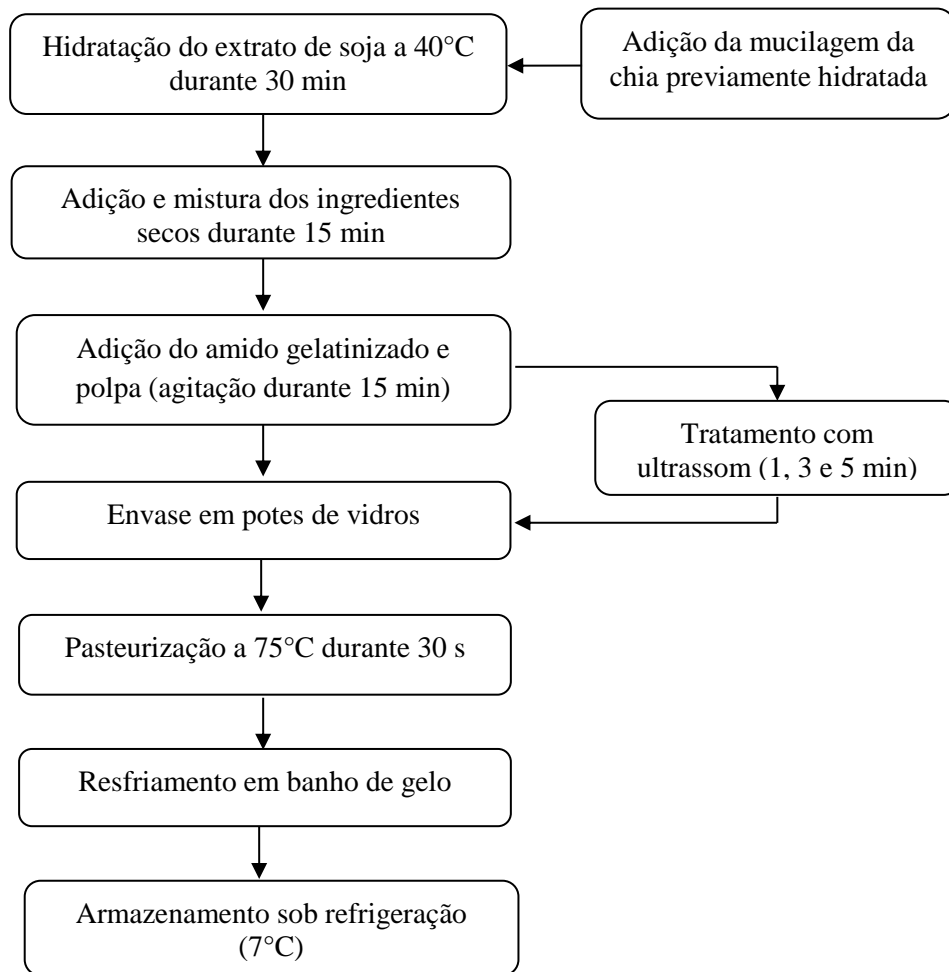


Figura 4.1. Fluxograma simplificado do processamento das sobremesas à base de soja.

4.4.2 Testes reológicos preliminares

Todas as análises reológicas foram realizadas em reômetro rotacional (Ares, TA Instruments, New Castle, USA) no modo de deformação controlada (CD) e taxa de cisalhamento controlada (CR), com ar circulante para controle de temperatura. Todos os

testes foram conduzidos a 25°C, pois esse valor corresponde à temperatura na boca quando alimentos refrigerados são consumidos (Engelen et al., 2003a).

a) *Determinação da geometria a ser usada*

Para determinar a geometria a ser usada durante os experimentos, inicialmente, foram feitos ensaios em regime oscilatório (varreduras de deformação) com diferentes geometrias (cilindros concêntricos, placa-placa e cone-placa) para encontrar a região de viscoelasticidade linear das amostras. Para tanto, sobremesas comerciais foram analisadas na temperatura de 25°C.

b) *Determinação da distância entre as placas (gap)*

Após a escolha da geometria de placas paralelas, ensaios reológicos em estado estacionário foram realizados para a determinação do *gap* adequado. Para tanto, utilizou-se a geometria de pratos paralelos (diâmetro de 50 mm) e superfície lisa com distância entre as placas de 1,0; 1,5 e 2,0 mm. Os ensaios foram feitos em triplicata, usando uma nova amostra para cada repetição. A temperatura de medida foi de 25°C.

c) *Definição do procedimento de medida*

Nos testes preliminares observou-se que a amostra sofria um processo de ressecamento, devido ao deslocamento de ar no interior do reômetro, responsável pelo controle de temperatura. Em virtude disso, a amostra não se manteve estável, mostrando alterações em sua estrutura ao longo dos testes com controle de temperatura. Para evitar ou minimizar esse problema, uma fina camada de óleo de máquina foi colocada em torno da amostra, para reduzir a evaporação de água durante a realização dos ensaios.

Os resultados referentes aos testes reológicos preliminares estão expostos no Anexo A.

4.4.3 *Comportamento reológico – Regime oscilatório*

Após os testes preliminares, as análises reológicas foram realizadas com sensor de geometria placa-placa (diâmetro de 50 mm) e abertura (*gap*) de 1,5 mm.

a) Varredura de deformação

Previamente às análises dos espectros mecânicos (módulos G' e G'' em função da frequência) foi realizada uma varredura de deformação (0 a 15%) na frequência de 1 rad s^{-1} com o objetivo de determinar a região de viscoelasticidade linear das amostras. Nessa região, a estrutura da amostra é preservada, ou seja, os módulos de armazenamento ou elástico (G') e de perda ou viscoso (G'') são independentes da frequência (Han et al., 2002).

b) Varredura de frequência

Os ensaios de varredura de frequência foram realizados na faixa de 0,1 a 500 Hz, dentro da região de viscoelasticidade linear. Todos os ensaios foram realizados em triplicata. Como ambos os módulos apresentaram dependência com a frequência, foi utilizado um modelo que segue a lei da potência para caracterizar esse comportamento, conforme as Equações 5 ($G' = G'_0 \cdot \omega^{n'}$) e 6 ($G'' = G''_0 \cdot \omega^{n''}$), apresentadas no Capítulo 3. Além disso, o fator de qualidade Q , foi calculado de acordo com a Equação 7

$$(Q = 2\pi \left(\frac{G'_0}{G''_0} \right) f^{(n'-n'')}).$$

c) Varredura de tempo

Além das varreduras de deformação e frequência, foi avaliada a estabilidade das amostras em função do tempo. Para tanto, foram feitas varreduras de tempo em um intervalo de 30 minutos na frequência de 10 rad.s^{-1} dentro da região de viscoelasticidade linear de cada amostra.

4.4.4 Comportamento reológico – Regime estacionário

Para o comportamento reológico estacionário, foram determinadas as curvas de fluxo das amostras na temperatura de 25°C . Para cada corrida experimental a curva ascendente teve uma duração de 6 minutos, com a taxa de cisalhamento variando de 0 a 300 s^{-1} e 6 minutos para a curva descendente, com a taxa de cisalhamento variando de

300 a 0 s^{-1} . Para cada taxa de deformação foi obtido valor correspondente de tensão de cisalhamento (τ).

Os dados experimentais foram ajustados aos modelos reológicos de Ostwald-de-Waele (Lei da Potência), Herschel-Bulkley e Casson utilizando o software *Statistica* versão 10.0 (Statsoft Inc., Tulsa, Estados Unidos). O melhor modelo foi utilizado para calcular a viscosidade aparente a 10 s^{-1} , visto que 10 s^{-1} está dentro da faixa de valores correspondente à taxa de cisalhamento durante a mastigação e deglutição (Steffe, 1996).

4.4.5 Determinação das propriedades físico-químicas das sobremesas

O teor de sólidos solúveis e o pH foram determinados usando refratômetro analógico portátil (Carl Zeiss, modelo 32-G, Estados Unidos) e pHmetro (Tecnal, modelo TEC-3MP, Brasil), respectivamente. O primeiro foi feito de acordo com o método da AOAC 932.12 (AOAC, 2000a) e o segundo de acordo com a AOAC, método 981.12 (AOAC, 2000c).

4.4.6 Determinação da estabilidade física

Neste estudo, a estabilidade das amostras foi analisada utilizando duas metodologias diferentes: capacidade de retenção de água (*CRA*) e índice de sedimentação (*IS*).

a) Capacidade de retenção de água (CRA)

A *CRA* das amostras foi verificada através da metodologia proposta por Harte et al. (2003) com algumas modificações. Após 72 h de armazenamento refrigerado (7°C), 20 g de amostra (A_0) foram colocadas em tubos cilíndricos e centrifugadas por 45 min a 3300 g na temperatura de 5°C . Uma versão modificada deste método também foi utilizada para verificar a estabilidade das amostras sob condições mais drásticas: após 120 h de armazenamento a 25°C , uma amostra de 20 g de produto (A_0), foram colocadas em tubos cilíndricos e centrifugadas por 45 min a 3300 g na temperatura de 25°C . Todos os testes foram feitos em triplicata. O soro expelido (*SE*) foi removido e pesado, sendo a *CRA* calculada pela equação 8:

$$CRA = 100 \cdot \left(\frac{A_0 - SE}{A_0} \right) \quad (8)$$

onde, A_0 é a quantidade inicial de amostra e SE é a quantidade de soro expelido.

b) Índice de sedimentação (IS)

O índice de sedimentação foi avaliado conforme a metodologia proposta por White et al. (2008) com algumas modificações. Para tanto, 20 g de amostra foram colocadas em tubos cilíndricos graduados durante 72 h a 7 °C. Transcorrido o tempo de estocagem, o volume total da amostra (V_A) e o volume de sedimento (V_S) foram medidos com o auxílio de uma régua e o índice de sedimentação (IS) a 7° C foi calculado de acordo com a equação 9. Também foram conduzidos testes a 25°C.

$$IS = 100 \cdot \frac{V_S}{V_A} \quad (9)$$

4.4.7 Microscopia ótica

Análise de microscopia foi utilizada para diferenciar as amostras quanto às suas características microscópicas. As amostras foram diluídas em água na proporção 1:10 (amostra:água) e colocadas em lâminas de vidro com o auxílio de uma pipeta (10 µl). Essas lâminas foram secas em bico de Bunsen e, posteriormente coradas com uma solução de safranina (corante de coloração vermelha) durante 1 min. As imagens foram feitas na magnitude de 40 X em microscópio ótico (Opton, TNB-04D, Brasil).

4.4.8 Análise de cor

As leituras colorimétricas foram feitas em um colorímetro (Konica Minolta Sensing Inc., CR 400, Japão). A partir do espectro de refletância da amostra, obteve-se os parâmetros colorimétricos L^* , a^* e b^* da escala CIELAB determinados pela Comissão International de l'Eclairage (CIE). A coordenada L^* é uma medida de quanto mais clara ou mais escura é a amostra, com valores variando de 0 (totalmente preta) a 100 (totalmente branca). A coordenada de cromaticidade a^* pode assumir valores de -80 (verde) a +100 (vermelho) e a coordenada de cromaticidade b^* pode variar de -50 (azul) a +70 (amarelo).

Uma cor em qualquer um dos planos a^* e b^* também pode ser descrita em termos de cromaticidade ou Chroma (C^*) que é a distância de sua coordenada (a,b) em relação a origem cromática (0,0) e do seu ângulo de tonalidade ou hue, h_{ab} , o qual é medido em graus numa escala de 0° - 360° . O hue e o valor de Chroma (C^*) podem ser determinados a partir das Equações 10 e 11, respectivamente:

$$h_{ab} = \tan^{-1} \frac{b^*}{a^*} \quad (10)$$

$$C^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2} \quad (11)$$

4.4.9 Avaliação sensorial

a) Perfil sensorial

O perfil sensorial das amostras foi realizado por meio da Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) descrita por Stone e Sidel (2004) com julgadores treinados. Para tanto, as etapas apresentadas a seguir foram executadas.

- *Pré-seleção dos provadores:* vinte membros do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFRGS, sem experiência prévia em análise descritiva foram pré-selecionados com base na disponibilidade, interesse e a inexistência de alergia a algum componente da formulação, para tanto os interessados em participar do painel sensorial preencheram um formulário informando dados pessoais (por exemplo, algum problema de saúde que os impossibilitasse de participar dos testes) e dias e horários disponíveis para se apresentarem a realização das análises (Anexo B). Também responderam a perguntas que verificavam a facilidade de expressar sensações relacionadas a determinados alimentos. Além disso, no questionário foram apresentadas diversas figuras geométricas parcialmente pintadas, para que os possíveis provadores marcassem em uma escala hedônica de 9,0 cm a fração do desenho que se apresentava pintada. Este teste teve como finalidade verificar o senso de espaço dos julgadores em uma escala linear. A análise dos questionários permitiu selecionar 20 pessoas, 4 homens e 16 mulheres, com idades entre 18 e 68 anos.
- *Testes classificatórios:* foram utilizados dois tipos de testes conforme descrito a seguir.

i) Teste de diferenciação de sabores: foi realizado para verificar se os provadores eram capazes de distinguir os sabores básicos (doce, salgado, amargo e ácido). Foram preparadas quatro soluções: doce, contendo 2% de sacarose; salgada, com 0,25% de cloreto de sódio; amarga, contendo 0,07% de cafeína e ácida, com 0,07% de ácido cítrico. Foram oferecidos aos provadores seis copos, contendo aproximadamente 25 mL de amostra, identificados por três dígitos aleatórios. Cada provador recebeu as quatro soluções, com dois sabores repetidos, e uma amostra contendo apenas água para evitar que as amostras fossem classificadas por eliminação. A ficha utilizada nesta análise sensorial está apresentada no Anexo C. Os copos foram servidos de forma aleatória em uma bandeja, juntamente com um copo de água, a ficha de avaliação e uma caneta. Os provadores deveriam classificar corretamente cada amostra como doce, salgada, amarga ou ácida e, em caso de erro, a análise poderia ser repetida mais uma vez. Este teste foi eliminatório, ou seja, o provador que não identificasse corretamente todos os sabores seria eliminado.

ii) Testes triangulares: além do teste de sabor, para pré-selecionar os provadores foi realizada uma série de quatro repetições do teste triangular com duas sobremesas similares, porém com formulações diferentes. Em cada sessão foram apresentadas três amostras, codificadas com números de três dígitos, sendo duas iguais e uma diferente. Ao candidato foi solicitado que identificasse a amostra diferente conforme a ficha apresentada no Anexo D.

De vinte provadores recrutados voluntariamente, foram pré-selecionados quinze provadores, pela habilidade em discriminar a intensidade dos quatro sabores (amargo, doce, salgado e ácido) assim como os que conseguiram no mínimo três respostas corretas nos testes triangulares.

- *Desenvolvimento da terminologia descritiva:* utilizou-se o Método de Rede de Kelly (Moskowitz, 1983) (Anexo E) para gerar os termos descritores que definem as similaridades e diferenças entre as amostras. Os provadores receberam dois pares de amostras, descrevendo as sensações observadas ao prová-las com relação à aparência, aroma, sabor e textura. Os julgadores discutiram os termos propostos, avaliando a frequência com que apareciam e eliminaram os termos sinônimos ou pouco citados de forma consensual. Com os termos descritores gerados no método de rede, foram definidos os padrões extremos de cada atributo a ser analisado. Assim, foi elaborada a

ficha de avaliação, utilizando escalas não estruturadas de 9 cm, ancorada à esquerda com termos referentes ao mínimo e à direita pelo termo referente ao máximo para cada atributo (Anexo F).

- *Seleção e treinamento da equipe final:* após a definição dos termos e elaboração da ficha de avaliação, selecionou-se a equipe definitiva para o ADQ. Os candidatos foram selecionados com base no poder de discriminação entre amostras, repetibilidade e concordância entre os julgadores, que foram verificadas através de análise de variância de dois fatores (amostra e repetição) para cada provador em relação a cada atributo. Os atributos que não foram bem discriminados pela equipe de provadores, devido à falta de consenso, foram eliminados (Anexos G).
- *Avaliação das amostras:* os provadores, mediante termo de consentimento livre e esclarecido, foram convocados a participar da avaliação das amostras através da Ficha de Análise Sensorial das sobremesas. Na aplicação dos testes sensoriais, as amostras foram servidas resfriadas (7°C) em copos plásticos codificados com números de três dígitos, de maneira aleatória, acompanhados de colheres e água mineral para limpeza do palato entre as amostras. A ficha utilizada para coleta dos dados está apresentada no Anexo H.

Os testes foram realizados em cabines individuais com luz branca e temperatura de 25°C, entre 10-12 h e 14 -16 h, no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Todos os provadores receberam e assinaram o Termo de Consentimento Esclarecido aprovado pelo Comitê de Ética da UFRGS (Parecer Número 108.982 – Anexo I).

b) Teste de aceitação

Para avaliação da aceitação das amostras, os atributos de cor, aparência, consistência, aroma, sabor, cremosidade e aceitação global foram avaliados por provadores não-treinados (painéis com mais de 50 provadores) através de uma escala hedônica de nove pontos estruturados variando de 1 = ‘Desgostei muitíssimo’ a 9 = ‘Gostei muitíssimo’ (ABNT, 1993). As amostras resfriadas (7°C) foram servidas, em ordem aleatória, em copos plásticos com colheres. Água mineral foi disponibilizada para limpeza do palato entre as amostras. Os testes foram efetuados em cabines

individuais, com luz branca e temperatura de 25°C, entre 10 – 12 h e 14 – 17 h. O Anexo J contém a ficha utilizada no teste de aceitação.

4.4.10 Análises microbiológicas

As análises foram feitas de acordo as exigências da Resolução RDC n°12 de 02 de janeiro de 2001, da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, que aprova o regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Segundo essa legislação, não há padrões microbiológicos específicos para sobremesas à base de extrato hidrossolúvel de soja pasteurizadas e resfriadas. Entretanto, segundo a ANVISA na Resolução RDC n°12 de 02 de janeiro de 2001 (Brasil, 2001) para sobremesas lácteas é obrigatório a análise de *Staphylococcus aureus*, coliformes a 45°C, *Bacillus cereus* e *Salmonella* sp. e para produtos com soja os micro-organismos a serem pesquisados são *Salmonella* sp, coliformes a 45°C e *Bacillus cereus*. Assim, será utilizada como padrão a legislação para sobremesas com base láctea por ser mais exigente do que a proposta para alimentos com soja. Cabe ressaltar que também foram feitas análises microbiológicas para bolores e leveduras. As análises microbiológicas foram realizadas pela empresa *Química Pura* (Porto Alegre, RS) de acordo com os protocolos vigentes (Speck, 1984; Instituto Adolfo Lutz, 1992); os protocolos de análise para cada micro-organismo, assim como os laudos fornecidos pela empresa, estão apresentados nos Anexos K-P e Q-T, respectivamente.

4.5 Segunda parte

4.5.1 Preparo das amostras

Soluções de extrato de soja (5 %) e polissacarídeos – carragena e carboximetilcelulose - (0,1 %) foram preparadas em água milli-Q e deixadas sob refrigeração durante 48 h até completa dissolução dos componentes. As misturas foram feitas a partir das soluções estocadas em diferentes proporções de extrato de soja e polissacarídeo (40:1, 20:1, 10:1 e 5:1)

4.5.2 Perfil de solubilidade da proteína

A solubilidade da proteína, em função do pH (2-7), foi determinada na amostra controle (solução com extrato de soja) e nas misturas. Dispersões em água (1% m/v) foram agitadas durante 1 hora a temperatura ambiente e o pH foi ajustado utilizando soluções diluídas de HCl e NaOH. Após, as dispersões foram centrifugadas a 10.000 g durante 10 min a 10°C; o conteúdo de proteína foi medido pelo método de Lowry (Lowry *et al.*, 1951). A solubilidade foi expressa como uma porcentagem (g de proteína solúvel/ 0,44 g de proteína da amostra). Todos os experimentos foram feitos em triplicata.

4.5.3 Potencial zeta

As formulações foram caracterizadas quanto ao potencial zeta em equipamento de microeletroforese (Brookhaven Instruments Corporation®, Zeta Plus, NY, USA).

As misturas com diferentes proporções de extrato de soja - goma (0,01 % de sólidos) foram preparadas em solução aquosa de KNO₃ 10⁻³ mol.L⁻¹ e o pH ajustado através da adição de HNO₃ e KOH. As medidas de mobilidade eletroforética são convertidas em valores de potencial eletrocinético zeta (expresso em mV) e todas as medidas foram feitas em duplicata.

4.5.4 Interações do polissacarídeo com o azul de metileno

A metodologia baseia-se na absorbância máxima do azul de metileno ocorrer a 664 nm, correspondente as moléculas livres do corante, porém quando um polissacarídeo é adicionado um ombro surge em outro comprimento de onda e a absorbância a 664 nm diminui, devido à interação desses componentes, o que se acentua com o aumento da concentração do polissacarídeo (Benichou *et al.*, 2007). Essa medida foi conduzida somente para as amostras com carragena, visto que as amostras com CMC apresentaram o mesmo espectro do azul de metileno.

Soluções aquosas de carragena e azul de metileno com concentrações de 0,1 % e 0,001 % m/v, respectivamente, foram preparadas e, em seguida, 1 mL do azul de metileno foi misturado com 1 mL da solução de polissacarídeo com diferentes concentrações (> 0,01 %). A mudança na taxa de absorbância a 664 nm e 557 nm, com

o aumento da concentração de polissacarídeo na mistura carragena-azul de metileno nas soluções, foi observada a fim de determinar a interação entre esses componentes.

Em uma segunda análise, 1 mL da mistura contendo carragena 0,002% (m/v) e diferentes concentrações de extrato de soja (5:1, 10:1, 20:1, 40:1), em diferentes valores de pH (2, 5 e 7), foram misturados com o corante. Em seguida, a razão entre as absorvâncias (664 nm / 557 nm) foi avaliada em função da concentração de extrato a fim de verificar interações do polissacarídeo com a proteína; se ocorrerem interações, será menor a quantidade de carragena livre para reagir com o azul de metileno. As amostras foram preparadas e analisadas em triplicata e os gráficos construídos considerando a razão (664 nm / 557 nm).

4.5.5 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A análise de DSC, assim como as análises de espectroscopia de infravermelho (FTIR) e microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram feitas nas amostras liofilizadas (LS 6000, Terroni Equipamentos®, São Carlos, Brasil). As misturas analisadas contendo carragena foram 5:1 em pH 2 e 20:1 em pH 2, 5 e 7; e com CMC foram 5:1 em pH 3 e 5 e 20:1 em pH 3, 5 e 7.

Para fazer os termogramas das amostras, as amostras liofilizadas foram pesadas (~5.0 mg) e hermeticamente seladas em cápsulas de alumínio. Antes das análises, as amostras foram equilibradas à temperatura ambiente por 2 horas e uma cápsula vazia foi usada como referência. As corridas foram feitas a 10°C/min de 20-250°C, usando equipamento DSC (DSC 6000, Perkin Elmer). Nitrogênio e argônio foram usados como gases de arraste durante as medidas; a temperatura do pico endotérmico foi definida como T_m e todos os experimentos foram conduzidos em triplicata.

4.5.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Imagens de MEV foram usadas para prover evidências de mudanças na morfologia do extrato de soja em função da presença da carragena e do CMC, assim como da polidextrose que foi utilizada como co-soluto. Para tanto, os pós liofilizados foram fixados em *stubs* de 1 cm de diâmetro usando uma fita dupla face de carbono e recobertos com ouro sob alto vácuo. Posteriormente, as amostras foram examinadas nas magnitudes de 200 X e 10.000 X em microscópio eletrônico de varredura (Carl Zeiss,

EVO 50, Germany), utilizando uma aceleração potencial de 5 kV durante as micrografias.

4.5.7 *Microscopia confocal de varredura a laser (CSLM)*

As imagens da microscopia confocal foram feitas à temperatura ambiente em microscópio de varredura a laser confocal (Olympus, FluoView FV100, Japão). Antes das imagens, as amostras (teor de proteína de 5 mg/mL) foram misturadas com uma solução de rodamina B (8 µL de uma solução 0,2 % por mL de amostra). Logo após, uma gota dessa mistura corada (20 µL) foi colocada sobre uma lamínula e examinada na magnitude de 10 X. A luz incidente foi emitida por um feixe de laser a 473 nm.

4.5.8 *Viscosidade intrínseca*

As viscosidades das soluções de carragena e CMC foram medidas utilizando um viscosímetro capilar Cannon-Fenske de tamanho 100 (Schott Instruments, Germany). O viscosímetro foi imerso em banho termostático (CT 52, Schott Instruments, Germany) mantido a 40°C (temperatura de preparo das sobremesas). Corridas com água foram realizadas com frequência para calibrar o instrumento. A viscosidade relativa de uma determinada solução η_{rel} (definida como a razão entre a viscosidade da solução e a viscosidade da água) foi determinada através da medida dos tempos de fluxo relativo no capilar. Os valores de viscosidade foram baseados em, pelo menos, 8 leituras do tempo de fluxo tomadas para as soluções contendo carragena e CMC, em pH 5 e 7. Todas as medições foram efetuadas na faixa de concentração de 0,01 % a 0,05 % (m/v).

A equação de *Kraemer* (Eq.13), que expressa a viscosidade inerente de um polímero como uma função da concentração, foi utilizada para ajustar os dados.

$$\eta_{rel} / C = [\eta] - k_k [\eta]^2 C \quad (13)$$

Onde $[\eta]$ é a viscosidade intrínseca, C é a concentração do polissacarídeo, η_{rel}/C é a viscosidade inerente, k_H é o parâmetro de *Kraemer*.

4.5.9 Espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier (FTIR)

A espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) foi feita em espectrofotômetro equipado com cristal ATR de ZnSe (Bruker Alpha, Eco-ATR, Estados Unidos). As amostras liofilizadas foram examinadas para identificar a natureza das interações moleculares entre os constituintes. O espectro foi obtido no modo de absorvância na faixa de comprimento de onda de 600-4000 cm^{-1} com uma resolução de 4 cm^{-1} .

4.5.10 Difração de Raio-X

A presença de fases cristalinas nas misturas foi verificada através de difração de Raio- X, utilizando um difratômetro de Raio-X (Phillps, X'pert MPD, Estados Unidos). A radiação utilizada foi Cu (0,1542 nm) usando um gerador de tensão de 40 kV e uma corrente de 40 mA. A região de varredura do ângulo de difração foi de 5° a 120° (2 θ), utilizando janelas de abertura com 15 mm, passo de 0,05° e tempo de cada passo de 2 s.

4.6 Análise estatística

Para verificar se as amostras testadas diferiram quanto aos parâmetros analisados, os resultados foram analisados estatisticamente usando a Análise de Variância (ANOVA) e o teste de diferenças entre médias (teste de Tukey com $p < 0.05$).

A significância estatística das variáveis (efeitos principais e interações) foi verificada através do gráfico de Pareto utilizando o software Statistica 10.0 para Windows (Statistica 10.0, Statsoft @, Tulsa, OK, USA). Esse software também foi utilizado para verificar as correlações entre as propriedades através da Matriz de correlação de Pearson e pela Análise de Componentes Principais ACP), e para ajustar os dados reológicos experimentais aos modelos empíricos.

4.7 Referências Bibliográficas

ABNT. (1993). ABNT- *Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 12806: análise sensorial dos alimentos e bebidas. Rio de Janeiro. Abnt: pp.8.*

AOAC.(2000a). *Official Method 932.12*. Gaithesburg, United States.

AOAC.(2000b). Official Methods 934.06. Gaithesburg, Estados Unidos

AOAC.(2000c). Official method 981.12. Gaithesburg, Estados Unidos

Benichou, A., Aserin, A., Lutz, R. & Garti, N. (2007). Formation and characterization of amphiphilic conjugates of whey protein isolate (WPI)/xanthan to improve surface activity. *Food Hydrocolloids*, 21, 379-391.

Brasil.(2001). Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 12, de 02 de janeiro de 2001: <http://portal.anvisa.gov.br>.

Engelen, L., De Wijk, R. A., Prinz, J. F., Janssen, A. M., Weenen, H. & Bosman, F. (2003). The effect of oral and product temperature on the perception of flavor and texture attributes of semi-solids. *Appetite*, 41, 273-281.

FDA. (1992). Food and drug administration - Bacteriological analytical manual. Arlington: AOAC International.

Han, X.-Z., Campanella, O. H., Guan, H., Keeling, P. L. & Hamaker, B. R. (2002). Influence of maize starch granule-associated protein on the rheological properties of starch pastes. Part II. Dynamic measurements of viscoelastic properties of starch pastes. *Carbohydrate Polymers*, 49, 323-330.

Harte, F., Luedecke, L., Swanson, B. & Barbosa-Cánovas, G. V. (2003). Low-Fat Set Yogurt Made from Milk Subjected to Combinations of High Hydrostatic Pressure and Thermal Processing. *Journal of Dairy Science*, 86, 1074-1082.

Instituto Adolfo Lutz. (2005). *Métodos físico-químicos para análise de alimentos. (Serie A. Normas e manuais técnicos, ed.4)*, Brasília: Ed. MS

Lowry, O. H., Rosenbroug, H. J., Lewis, A. & Randall, K. J. (1951). Measurements with the folin-phenol reagents. *Journal of Biological Chemistry*, 193.

Moskowitz, H. R.(1983). Product testing and sensory evaluation of foods. Westport: Food e Nutrition Press. 605 p.

Speck, M. L.(1984). AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Washington: American Public Health Association

Stone, H. & Sidel, J. L.(2004). Descriptive analysis. In: STONE, H.; SIDEL, J. L. Sensory evaluation Practices. London: Academic Press. 311 p.

White, D. A., Fisk, I. D., Mitchell, J. R., Wolf, B., Hill, S. E. & Gray, D. A. (2008). Sunflower-seed oil body emulsions: Rheology and stability assessment of a natural emulsion. *Food Hydrocolloids*, 22, 1224-1232.

Introdução aos Capítulos 5, 6, 7, 8 e 9

Os Capítulos 5, 6, 7, 8 e 9 estão apresentados na forma de artigos científicos. Em cada artigo serão abordados os seguintes tópicos: introdução, materiais e métodos, resultados e discussões e conclusão.

No Capítulo 5 é apresentado o 1º Artigo elaborado, RHEOLOGICAL MODELLING, MICROSTRUCTURE AND PHYSICAL STABILITY OF CUSTARD-LIKE SOY-BASED DESSERTS ENRICHED WITH GUAVA PULP. Esse trabalho trata da elaboração e da caracterização das sobremesas à base de soja quanto às suas propriedades reológicas, físico-químicas e físicas e foi publicado recentemente na revista *CyA- Journal of Food*.

O segundo Artigo, CORRELATION BETWEEN INSTRUMENTAL AND SENSORY MEASUREMENTS IN SOY-BASED DESSERTS, é apresentado no Capítulo 6 e representa uma continuação dos estudos do primeiro artigo. Nesta etapa foram feitas as análises sensoriais e colorimétricas, assim como as correlações entre propriedades instrumentais e sensoriais.

O terceiro Artigo, CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E SENSORIAL DE SOBREMESAS À BASE DE SOJA ELABORADAS COM MUCILAGEM DE CHIA (*SALVIA HISPANICA L.*) é abordado no Capítulo 7. Esse artigo apresenta os resultados encontrados quando a carragena é substituída pela mucilagem da chia como espessante alimentar e foi publicado em fevereiro de 2014 na revista nacional *Ciência Rural*.

No quarto Artigo (Capítulo 8), intitulado EFFECT OF ULTRASOUND TREATMENT ON PARTICLE SIZE, RHEOLOGY, MICROSTRUCTURE, COLOR AND WATER HOLDING CAPACITY OF SOY-BASED DESSERTS, são apresentados os resultados encontrados quando o ultrassom é utilizado durante o preparo das amostras.

O Artigo 5, INTERACTIONS BETWEEN PROTEINS FROM THE SOY EXTRACT AND POLYSACCHARIDES IN SOLUTIONS CONTAINING POLYDEXTROSE AS CO-SOLUTE, apresenta os resultados encontrados na segunda parte do trabalho, referentes à investigação das interações entre as proteínas presentes no extrato de soja e os polissacarídeos, carragena e carboximetilcelulose, na presença de polidextrose como co-soluto.

Capítulo 5 – Artigo 1

CyA – Journal of Food Rural, 2014

<http://dx.doi.org/10.1080/19476337.2014.987698>



Rheological modeling, microstructure and physical stability of custard-like soy-based desserts enriched with guava pulp

Jordana C. Spada^{1*}, Ligia D. F. Marczak¹, Isabel C. Tessaro¹, Simone H. Flores², Nilo S. M. Cardozo¹

1 Chemical Engineering Department, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Rua Engenheiro Luiz Englert s/n, Porto Alegre/RS 90040-040, Brazil

2 Institute of Food Science and Technology, UFRGS, Av. Bento Gonçalves, 9500, Porto Alegre/RS 91501-970, Brazil

*jcorralospada@yahoo.com.br

Abstract

Search for food products containing functional ingredients such as soy derivatives and pulp fruits has stimulated the development of new formulations of desserts. The aim of this study was to evaluate the influence of the addition of water-soluble soy extract, modified starch and guava pulp on the rheological parameters, microstructure, water holding capacity (*WHC*), creaming index, pH and soluble solids content of creamy soy-based desserts. Rheologically, the samples were characterized as no time-dependent, shear-thinning weak gel like systems. The physicochemical and rheological parameters evaluated varied in a wide range as a function of the soy, starch and guava pulp contents, with the soy extract content being the variable that most affected these properties. A link between the microscopy analysis and *WHC* took place and a strong correlation between *WHC* and the rheological parameter *Q* was observed.

Keywords: soyfoods, dessert, rheology, stability.

5.1 Introduction

Ready to eat desserts with nutritional ingredients were one of the principal foods cited by Brasil Food Trends 2020 (Fiesp & Ital, 2010), due to an increasing preference of consumers for this product category. Most of the desserts offered in the market today are milk-based, being unsuitable for many consumers due to their lactose and cholesterol contents. Hence, the fact that adult lactase deficiency affects a high percentage of the population in many countries and concerns about cholesterol control and protein allergies have stimulated the development of desserts from new ingredient sources.

Soy-based products are suitable dairy product substitutes for lactose-intolerant or vegetarian individuals, which has helped to the growth in soyfood sales in the last two decades. However, regarding specifically the production of desserts, soy based products still corresponds to an innovative sector, with few products in the market. Additionally, the literature on this subject is still scarce, since most of the recent studies related to the development of dessert formulations is focused on dairy desserts with prebiotic compounds, fat replacers or low fat content (Abu-Jdayil, Mohameed & Eassa, 2004; González-Tomás et al., 2008; Arcia, Costell & Tárrega, 2010). In this context, the development of formulations aiming improvements in flavor and taste, nutritional properties and texture of this type of product represents an important field of study.

In general, texture can be improved by using fats and fat substitutes, such as gums and starches. Starch is a low cost polysaccharide, which can present a wide range of rheological properties depending on its source, chemical and physical modifications and heat treatment conditions (Thebaudin, Lefebvre & Doublier, 1998). Due to these features, starch has become one of the most used thickener and gelling agent in the food industry, being in the formulation of different products such as soups, sauces, desserts and processed foods. In products such as desserts, in which stable viscosity is required, cross-linked starch has particular potential. Starch cross-linking reactions are employed to strengthen the structure of swollen granules upon gelatinization, reducing the viscosity breakdown (by mechanical shear, acid conditions, or high temperature) and producing more creamy pastes, with less tendency to degradation (Alexander, 1996; Bertolini, 2009).

Regarding taste, appearance and flavor improvement of soy-containing desserts, the addition of fruits has been an approach used by several authors. Teh, Dougherty and Camire (2005) and Soler (2005) elaborated frozen soy desserts with blueberry and peach, respectively, while guava (Granato et al., 2010) and passion fruit (Granato, Masson & Ribeiro, 2012) juice were used as taste and flavor modifiers in soy based mousses. Other products have also been used to mask the soy taste and improve nutritional characteristics, such as vanilla flavor and coconut milk (Soler, 2005) and probiotic microorganisms (Heenan et al., 2004). In this sense, Guava (*Psidium guajava* L.) pulp appears as an interesting alternative due to its aromatic compound profile, palatable taste, high acceptability and considerable nutritional importance, since it is rich in vitamins C, niacin, riboflavin, vitamin A, soluble fibers, mineral salts, bioactive flavonoids and carotenoids. Moreover, guava does not show problems in relation to texture, shape or pulp browning during processing (Brasil, Maia & De Figueiredo, 1995).

Although soy protein isolate is the soy derivate most commonly used in commercial soy-based desserts, the use of water-soluble soy extract powder in this type of product constitutes an interesting option due to its high protein concentration (~44%) (Brasil, 1978), low cost, easy addition to the formulation, considerable amount of dietary fibre, isoflavones, and essential minerals. The tendency of the water-soluble soy extract to cause astringent flavour and chalky mouthfeel in some food products is likely the major reason to its lower extent of application. In this sense, the positive sensory results reported by Granato et al. (2010) using water-soluble soy extract and guava pulp in mousse-like creamy desserts (air bubbles are incorporated to give it a light and airy texture) are quite relevant, justifying efforts to extend the use of the components for other soy-based systems.

Under this point of view and considering the commercial importance of custard-like creamy desserts, the use of water-soluble soy extract and guava pulp in this type of desserts constitutes a worthwhile field of study. Besides, it must be firstly remarked that the specification of a custard-like creamy dessert formulation from a mousse-like one is not straightforward because of the intrinsic differences between these two types of products in terms of typical components, processing, and rheological properties. Secondly, there are not still studies in the literature on custard-like creamy soy-based

desserts containing fruit pulp and water-soluble soy extract or registers of commercial products based on these components. Additionally, all the works mentioned before related to frozen and mousse-like desserts did not provide data on rheological properties or their dependency on the composition of the desserts.

Based on the above considerations, the purposes of the present study were: i) to develop custard-like creamy soy-based desserts ii) to understand the influence of the water-soluble soy extract, modified starch and guava pulp addition on the physicochemical properties, physical stability, microstructure and rheological parameters of the final product, and iii) to establish the correlation between rheological properties and physical stability in this type of product.

5.2 Materials and Methods

5.2.1. *Materials*

The ingredients used in the formulations included water-soluble soy extract (Olivebra Industrial S/A, Eldorado do Sul, Brazil), sucrose (União, Limeira, Brazil), carboxymethylcellulose (CMC) (Hexus Food, Portão, Brazil), powdered guava juice (Kraft Foods, Curitiba, Brazil), carrageenan (Cargill Alimentos, Minnesota, United States), polydextrose (Danisco Brasil Ltda, Cotia, Brazil), cross linked corn starch (Snow flake[®] 6308, Corn Products Brasil Ingredientes Industriais, Mogi-Guaçu, Brazil), and guava pulp (Mais Fruta, Antônio Prado, Brazil). The commercial guava pulp used in this work presented pH, soluble solids content and moisture value of 3.94 ± 0.04 , 7.00 ± 1.00 and 93.78 ± 0.07 , respectively. The physicochemical composition of the soy extract was 10 % of moisture, 18.5 % of carbohydrates, 44 % of protein, 26 % of fat and 1.5 % of fiber.

Two commercial chocolate creamy desserts (soy-based and milk-based) were purchased from a local market. The commercial soy-based dessert (CSD) contains soy protein isolate, carrageenan and modified starch in its formulation; the commercial dairy dessert (CDD) contains milk, milk powder, carrageenan, modified starch and carboxymethylcellulose. The samples were stored under refrigeration prior to testing and all measurements were performed within the declared shelf-life period of each sample.

5.2.2. *Sample preparation*

Soy-based dessert formulations were prepared as follows: i) hydration of water-soluble soy extract in water at 40 °C for 15 minutes at 100 rpm using a propeller stirrer; ii) addition of dry ingredients to the soy solution at 1000 rpm for 15 min; iii) addition of the gelatinized starch and of the guava pulp under agitation (1000 rpm) for 10 min; iv) pasteurization at 75°C for 30 s; v) filling into sterilized glass containers; and vi) storage at $7 \pm 1^\circ\text{C}$ for 24 h prior to their evaluation. The starch used in step (iii) was previously gelatinized in a water-bath at 100°C for 5 min to provide total gelatinization.

The quantity of ingredients for 100 g of dessert: 9 g sucrose; 2 g polydextrose, 1.5 g powdered guava juice; 0.4 g carboxymethylcellulose; 0.3 g carrageen; guava pulp, water-soluble soy extract and modified starch according the experimental design described in the next section; and mineral water *quantum sufficit* to complete 100 g.

A 2^3 rotational central composite design with four replicates at the central point (totaling 18 assays) was employed. The independent variables were: water-soluble soy extract (x_1), modified starch (x_2) and guava pulp (x_3) contents. The coded and decoded values of these variables for each assay are presented in Table 5.1. The variation ranges were based on the results obtained in preliminary experiments. All experiments were carried out at random.

5.2.3. *Physicochemical analysis*

The pH values of the guava pulp and of the prepared desserts were measured using a pH meter (Tecnal, TEC-3MP model, Piracicaba, Brazil), according to the AOAC 932.12 (AOAC, 2000a). The soluble solids content was measured with a refractometer at 25°C (Carl Zeiss Gmbh, 32-Gmodel, Vienna, Austria), following the AOAC 981.12 (AOAC, 2000c). Total dry matter and moisture content of the guava pulp were determined by the gravimetric method, according to AOAC 930.04 (AOAC, 2000b). All analytical determinations were carried out in triplicate.

Table 5.1. Physical and physicochemical properties of the soy-based desserts.

Run	Independent variables						Physical and physicochemical properties		
	Coded levels			Original levels			$WHC_{25^{\circ}C}$	$^{\circ}Brix$	pH
	x_1	x_2	x_3	WSSE (%)	MS (%)	GP (%)			
1	-1	-1	-1	3.5	2.9	9.5	68.19 ± 2.56^{de}	19.25 ± 0.35^{bc}	5.01 ± 0.02^{cd}
2	1	-1	-1	6.5	2.9	9.5	74.25 ± 1.80^{cd}	19.50 ± 0.71^{bc}	5.29 ± 0.09^a
3	-1	1	-1	3.5	3.7	9.5	71.10 ± 0.56^{cd}	19.25 ± 0.35^{bc}	4.92 ± 0.08^{cd}
4	1	1	-1	6.5	3.7	9.5	84.01 ± 5.39^b	21.50 ± 0.71^{ab}	5.34 ± 0.01^a
5	-1	-1	1	3.5	2.9	16.5	69.69 ± 2.72^{de}	19.75 ± 0.35^b	4.84 ± 0.05^d
6	1	-1	1	6.5	2.9	16.5	83.91 ± 4.74^b	19.25 ± 0.35^b	5.10 ± 0.09^{bc}
7	-1	1	1	3.5	3.7	16.5	99.23 ± 0.29^a	19.50 ± 0.71^b	4.96 ± 0.04^{cd}
8	1	1	1	6.5	3.7	16.5	99.73 ± 0.11^a	20.75 ± 0.35^b	5.18 ± 0.04^a
9	-1.68	0	0	2.5	3.3	13.0	64.47 ± 1.11^e	17.25 ± 0.35^c	4.79 ± 0.03^d
10	1.68	0	0	7.5	3.3	13.0	98.72 ± 0.35^a	23.50 ± 0.71^a	5.31 ± 0.04^a
11	0	-1.68	0	5.0	2.6	13.0	62.06 ± 2.67^e	19.75 ± 0.35^b	5.11 ± 0.08^{bc}
12	0	1.68	0	5.0	4.0	13.0	99.23 ± 0.39^a	20.50 ± 0.71^b	5.13 ± 0.03^{bc}
13	0	0	-1.68	5.0	3.3	7.0	68.25 ± 0.39^d	20.50 ± 0.71^b	5.20 ± 0.05^a
14	0	0	1.68	5.0	3.3	19.0	78.16 ± 3.45^b	20.50 ± 0.71^b	5.06 ± 0.04^c
15	0	0	0	5.0	3.3	13.0	77.89 ± 1.43^{bc}	20.25 ± 0.35^b	5.19 ± 0.01^a
16	0	0	0	5.0	3.3	13.0	78.74 ± 2.57^{bc}	19.25 ± 0.35^{bc}	5.15 ± 0.02^{ab}
17	0	0	0	5.0	3.3	13.0	76.44 ± 0.47^{bcd}	20.50 ± 0.71^b	5.14 ± 0.04^{bc}
18	0	0	0	5.0	3.3	13.0	74.97 ± 0.86^{cd}	20.25 ± 0.35^b	5.14 ± 0.02^{bc}

*WSSE – water soluble soy extract; MS – modified starch; GP – guava pulp.

* Means within column followed by different superscripts, are significantly different at $p < 0.05$ using Tukey test.

5.2.4. Physical stability

Water holding capacity (WHC)

The water holding capacity (WHC) of the soy-based desserts was initially determined as in Harte et al.(2003): after 72 h of storage at 7°C, a sample of about 20 g of dessert (DE) was put in a cylindrical glass measurement cell and centrifuged for 45 minutes at 3300 g at an average temperature of 5 °C. In order to verify the stability of the sample under more drastic conditions, a modified version of this method was also used, with the following changes: storage time of 120 h and storage and centrifugation temperature of 25°C. All tests were carried out in triplicate. The serum expelled (SE) was removed and weighed. The WHC, expressed in %, was defined as:

$$WHC = 100 \times (DE - SE) / DE \quad (1)$$

For sake of clarity, the terms $WHC_{7^{\circ}C}$ and $WHC_{25^{\circ}C}$ were used to designate the values of WHC obtained by the original methodology of Harte et al. (2003) and by its modified version, respectively.

Creaming stability

The stability under refrigeration was evaluated using the creaming index (CI), calculated as:

$$CI = 100 (HS/HD) \quad (2)$$

where, HD and HS are, respectively, the total height of the dessert and the height of the clear serum layer that may have formed after storage. For this, a modified version of the methodology proposed by White et al. (2008) was employed: freshly prepared desserts (20 g) were transferred into cylindrical tubes (internal diameter 15 mm, height 120 mm), capped, and stored at $5 \pm 1^{\circ}C$ for 72 hours before the measurements, performed in triplicate.

Since tests were also conducted changing the storage temperature to $25^{\circ}C$, the designations $CI_{7^{\circ}C}$ and $CI_{25^{\circ}C}$ were used to indicate the test condition at which the value of CI reported was obtained.

5.2.5. Optical microscopy

Microscopy analysis was made in order to differentiate the samples in terms of particle distribution. Magnifications (40 \times) of the formulations were obtained by using an optical microscope (Opton, TNB-04D, Brazil) at room temperature. The samples were diluted in water (1:10), deposited on glass microscope slid and carefully dried with flame at a distance of 20 cm. The product was then colored with a diluted safranin solution for 1 min and immediately observed. The images were captured at least in triplicate for each sample.

5.2.6. Rheological characterization

Rheological measurements were carried out in a rotational rheometer (Ares, TA Instruments, New Castle, USA), using plate-plate geometry (with 50 mm of diameter) with gap of 1.5 mm. All measurements were run at $25 \pm 1^{\circ}C$, which corresponds to the

resulting mean intra-oral temperature of refrigerated foods (Engelen et al., 2003). Two replicates were run, using a fresh sample for each run.

Steady rheological tests

Flow curves were obtained by shearing the samples at increasing shear rates from 0.1 to 200 s⁻¹ with increment of 6.66 s⁻¹ and, then, down in reverse sequence. Experimental data from the upward curve were fitted to Ostwald-de-Waele (Eq.(3)), Herschel-Bulkley (Eq.(4)), and Casson (Eq.(5)) rheological models:

$$\tau = K\dot{\gamma}^n \quad (3)$$

$$\tau = \tau_0 + K\dot{\gamma}^n \quad (4)$$

$$\tau^{0.5} = \tau_{0C}^{0.5} + (\eta_C \dot{\gamma})^{0.5} \quad (5)$$

where: τ is the shear stress (Pa); $\dot{\gamma}$ is the shear rate (s⁻¹); K is the consistency index (Pa s); n is the flow index; τ_0 is the initial shear stress (Pa); τ_{0C} is the Casson yield stress (Pa); η_C is the Casson plastic viscosity (Pa s) and η_{10} is the apparent viscosity value at 10 s⁻¹. Taking into consideration that 10 s⁻¹ is a typical value of shear rate for chewing and swallowing of foods (Steffe, 1996), the apparent viscosity at 10 s⁻¹ was also calculated, using the best fitting model, and used as parameter of comparison among samples.

Parameter estimation for the rheological model was accomplished by the least-square method, using the software Statistica 10.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA). The average percentage error of the model was calculated as:

$$\varepsilon = \frac{100}{N} \sum_{i=1}^N \left| \frac{y_{\text{exp}} - y_{\text{pre}}}{y_{\text{exp}}} \right| \quad (6)$$

where, N is the number of experimental data, and y_{exp} and y_{pred} are the experimental and model predicted values, respectively.

Dynamic rheological tests

All measurements were performed in the linear viscoelastic region (LVR), determined for each sample by performing strain sweep tests at 1 rad·s⁻¹. Frequency

sweeps were performed over the ω range of 0.1–500 rad·s⁻¹. A power law model (Eqs. (7) and (8)) was used to characterize the frequency dependence of both moduli:

$$G' = G'_0 \cdot \omega^{n'} \quad (7)$$

$$G'' = G''_0 \cdot \omega^{n''} \quad (8)$$

where G'_0 and G''_0 are elastic (storage) and viscous (loss) shear moduli at 1 rad s⁻¹, respectively, and exponents n' and n'' denote the influence degree of ω on each modulus. Furthermore, the structural differences between the samples were quantified in terms of the quality factor Q (Eq. (10)), a dimensionless parameter which represents the degree of damping of an oscillator (Campo-Deaño, Tovar & Borderías, 2010), given by:

$$Q = 2\pi \left(\frac{G'_0}{G''_0} \right) f^{(n'-n'')} \quad (9)$$

where f is the frequency at 10 Hz.

Additionally, time sweeps (15 min) at 1rad·s⁻¹ were performed to evaluate the stability of the samples.

5.2.7. Statistical analyses

For the statistical analysis of the physicochemical and stability data, analysis of variance (ANOVA) and Tukey test were performed, using the software *Statistica* for Windows, version 12 (StatSoft, US). A p -value below 0.05 was considered significant.

5.3 Results and Discussion

5.3.1. Physicochemical analysis of the prepared desserts

Table 1 shows the physical and physicochemical analysis results for the prepared dessert formulations. Data within the same column with different superscript letters (a–d) differ significantly according to the Tukey test. Additionally, Figure 1 shows the Pareto charts for the evaluated physicochemical parameters.

The soluble solids content of the formulations varied significantly (Table 1), ranging from 17.25 to 23.5. However, only the linear effect of water-soluble soy extract

content was significant (Figure 5.1A). The range studied for this component (2.5 % - 7.5 %) was sufficient to verify the effect of the protein and carbohydrates soluble present in its composition. On the other hand, the small range studied regarding to content of starch (2.6 – 4%) was not enough to show the effect of this component. With respect to pulp content, although the wide range studied (7 % -19 %), because it is mainly composed by water (93 %), its addition did not promote considerable changes in the soluble solids content.

The pH values of the soy-based desserts ranged from 4.8 to 5.4, similarly to those reported by Granato et al. (2010) (4.38-4.98) for soy based desserts containing guava juice, but without starch. These low pH values can be attributed to the acid nature of the guava pulp ($\text{pH} = 3.94 \pm 0.04$), related to its content of organic acids such as citric, malic, and ascorbic acids. Statistical analysis of the results showed that two linear effects (water-soluble soy extract (%) and guava pulp (%)), one quadratic variable (water-soluble soy extract) and one interaction ($x_2.x_3 \rightarrow$ starch/guava pulp interaction) had a significant effect ($p < 0.05$) on the pH (Figure 5.1B). The negative effect of the guava pulp content (x_3) reflects the contribution of the pulp acidity on the formulation final pH, discussed above. The non-linear effect of the soy extract on pH could be attributed to saturation of this component, in such a way that after a certain concentration of protein, the pH of the medium is little altered. This hypothesis is based on the findings of Golovanov et al (Golovanov et al., 2004) who, studying alternative ways of increasing protein solubility through a single set of additives, showed that is often difficult to increase protein concentration up to a high level without causing precipitation or aggregation. The positive effect of the starch/guava pulp interaction ($x_2.x_3$) is related to the fact that at higher starch contents, the pH of the system becomes practically independent of the guava pulp content. The gelatinization process can be related with this result, since its extension (time or quantity of starch) promotes an increase in the pH values of the starch solution.

Regarding the water holding capacity, all samples presented a value of $\text{WHC}_{7^\circ\text{C}} = 100\%$ under refrigeration, retaining all the free water (non-chemically bound) in the food matrix. Nevertheless, the samples did not form a serum layer (HS) ($\text{CI}_{7^\circ\text{C}} = 0\%$). These data indicate that soy-based desserts prepared with guava pulp are stable under refrigeration, an important and desired characteristic to food industry. This

result is in agreement with those reported by Granato et al. (2010) and Palazolo, Sorgentini and Wagner (2005) for soy/(guava juice) and soy/(passion fruit juice) formulations, respectively. Among the different formulations prepared by these authors, limitations in terms of water holding capacity only occurred when combining low soy extract content and high fruit juice concentration (1% of soy protein and 27% of guava juice for Granato et al. (2010) and 2% of soy protein and 35% of passion fruit juice for Palazolo, Sorgentini and Wagner (2005).

The creaming index test was also not definitive in identifying differences of stability among the prepared formulations. None of the samples presented syneresis for storage at 7°C, with null values of $CI_{7^{\circ}\text{C}}$ being found for all samples. The values of $CI_{25^{\circ}\text{C}}$ were also not quantifiable, although some degree of flocculation and phase separation was visually observed in some samples.

Conversely, the water holding capacity for storage at 25 °C behaved differently, varying significantly among samples (Table 5.1). The decrease of *WHC* observed when the storage temperature changed from 7 °C to 25 °C is possibly related the following aspects: (i) at low temperatures the development of network three-dimensional structures among the proteins is favored (Palazolo, Sorgentini & Wagner, 2005), which could eventually prevent coalescence or phase break, leading to higher *WHC* at low temperatures; and (ii) at 25°C the sample destabilizes more easily due to microbiological growth.

According to the Pareto chart of Figure 5.1C, all linear terms (x_1 , x_2 , and x_3) together with two quadratic ($x_1^2 \rightarrow$ soy extract and $x_2^2 \rightarrow$ modified starch) and one interaction ($x_2.x_3 \rightarrow$ starch/guava pulp interaction) had a significant effect ($p < 0.05$) on $WHC_{25^{\circ}\text{C}}$. As all linear effects are positive, the three components studied are capable of improving the $WHC_{25^{\circ}\text{C}}$ of the desserts. The positive effects of starch and soy extract $WHC_{25^{\circ}\text{C}}$ can be attribute directly to their individual capacity of water absorption. On the other hand, the positive effect of the pulp content can be understood as a consequence of the fact that the higher the pulp content the lower the amount of water added in the initial step of the desserts production, increasing the concentration of solids and leading to a greater amount of water entrapped into the system. However, the presence of quadratic and interaction effects indicates a complex dependence of the water holding capacity on the composition in the formulations studied. The significance

of the quadratic effects of modified starch and soy extract reflects the fact that these components are expected to act as stabilizers only at concentrations high enough to promote considerable interactions with water molecules or steric hindrance.

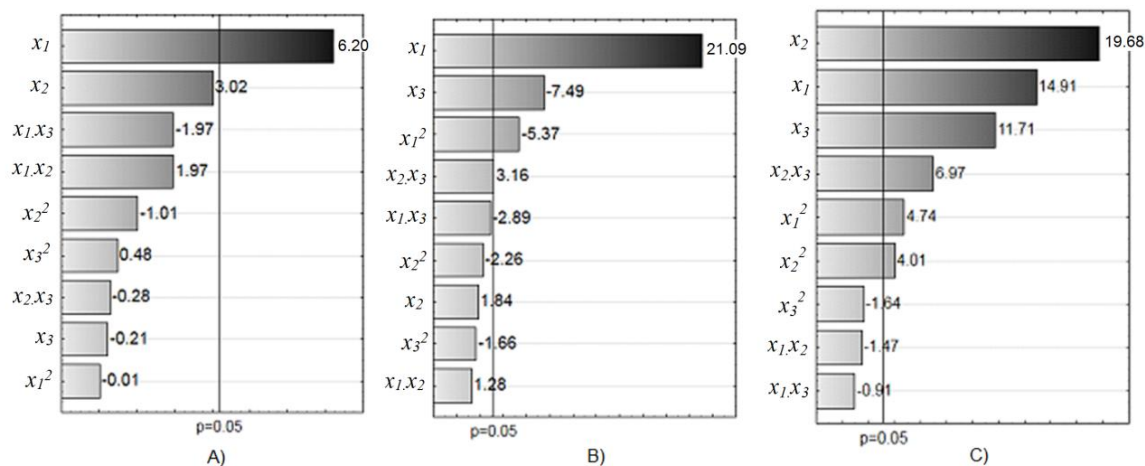


Figura 5.1. Pareto's graph of standardized estimated effects of the water soluble soy extract content, starch content and guava pulp content in the prospective experiment on soluble solids content (a), pH (b) and $WHC_{25^\circ C}$ (c). The point at which the effect estimates were statistically significant (at $p = 0.05$) is indicated by the vertical solid line.

The contribution of the gelatinized starch to the formation of a bulk network structure in the final product may also be attributed to interactions, between different starch particles and between starch and other polysaccharides. In the case of starch-starch interactions, it is reasonable to suppose that they start to be effective only at starch concentrations high enough to promote considerable extent of contact between starch particles, which would explain the non-linear nature of the observed effect. Regarding to the significant effect of the interaction x_2x_3 on the $WHC_{25^\circ C}$, it can be explained by the fact that at higher starch contents, the gel strength is increased, increasing the possibility of the water of the pulp to be bind to the gelatinized starch network or be entrapped therein.

Some additional insights into the correlation between composition and water holding capacity for the system under study arise from the data of optical microscopy, presented in Figure 5.2.

Figures 5.2a and 5.2b show the photomicrographs of the samples corresponding to two different steps of the dessert preparation methodology presented at the beginning of the Section 2: the hydrated soy extract (Figure 5.2a) and the sample after the

incorporation of the dry ingredients (Figure 5.2b). It can be seen that the incorporation of the dry ingredients promotes a significant change in the sample microstructure. This fact can be related to increase in the solids concentration and to the capacity of the polysaccharides (carrageenan and carboxymethylcellulose) of promoting network formation (Figure 5.2b).

Figures 5.2c-j, which present the micrographs of the product obtained for 6 different formulations, illustrate the final state of dispersion of particulate after the addition of starch and guava pulp. It can be seen that the addition of these ingredients to formulation seems to lead to weaken the network structure, since the sample microstructure becomes more similar to the initial state (hydrate soy extract). This is probably due to the water content of these components which increases the distance between the molecules, hindering the interactions between the ingredients.

The photomicrographs of Figure 5.2 also provide support for the explanation given previously for the positive effect of the pulp content on the water holding capacity of the formulations. For this, it is necessary to compare two sets of pairs of samples. The first one is composed by, samples 2 (1, -1, -1) and 6 (1, -1, 1) (Figures 5.2e and 5.2f), samples 4 (1, 1, -1) and 8 (1, 1, 1) (Figures 2g and 2h), and samples 13 (0, 0, -1.68) and 14 (0, 0, 1.68) (Figures 5.2i and 5.2j). The second one include the samples 1 (-1, -1, -1) and 2 (1, -1, -1) (Figures 5.2c and 5.2e), and samples 5 (-1, -1, 1) and 6 (1, -1, 1) (Figures 5.2d and 5.2f). In the first set of pairs the samples in a given pair differ only in the content of pulp, while in the second set they differ only in the content of soy extract. It can be observed for both sets that the main observed structural change occurring when going from the lower to the higher content of the considered component was the increase of the amount of small size particles in the sample. The similar effects of the increase of pulp and soy extract on the structure of the desserts can be taken as additional indication that the effect of the pulp content on the stability of the samples is related to the increase of the concentration of solids in the system.

It is also worth to mention that a link between the optical micrographs and their water holding capacity values seems to take place. For example, the samples (-1, -1, -1) and 5 (-1, -1, 1) (Figure 5.2c,d), which showed lower concentration of the ingredients, presented $WHC_{25^{\circ}C}$ values statistically equal, while the samples 13 (0, 0, -1.68) and 14 (0, 0, 1.68), with significantly different $WHC_{25^{\circ}C}$ values, have presented noticeable

differences regarding the degree of concentration (Figure 5.2i,j). These results confirm the hypothesis that the pulp content promotes steric hindrance of the formulation components.

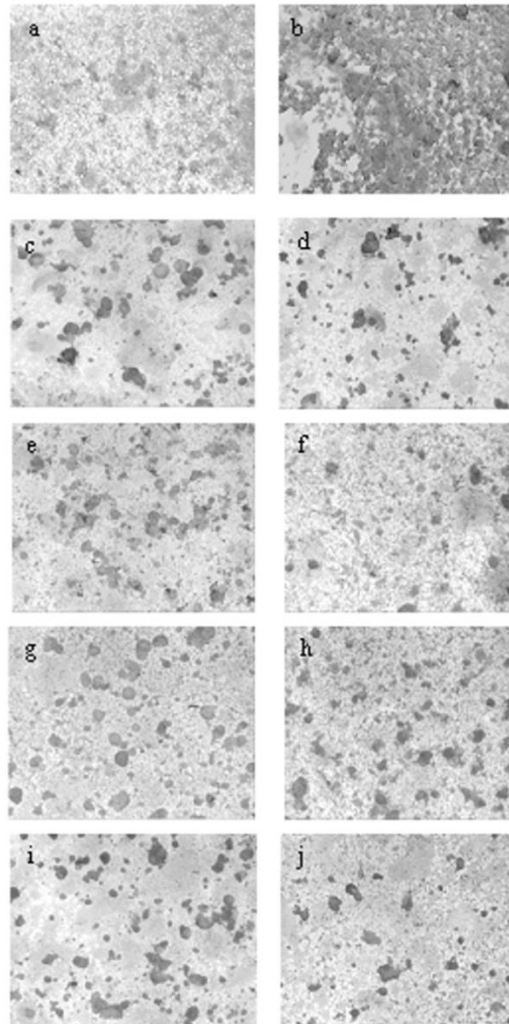


Figure 5.2. Photomicrographs (x 40) of some of the samples studied: (a) soluble soy extract dispersed in water; (b) particles after the incorporation of the dry ingredients; c) Sample 1 (-1,-1, -1), d) Sample 5 (-1,-1,1), e) Sample 2 (1,-1,-1), f) Sample 6 (1,-1,1), g) Sample 4 (1,1,-1), h) Sample 8 (1,1,1), i) Sample 13 (0,0, -1.68) and j) Sample 14(0,0,1.68).

5.3.2. *Rheological characterization*

All formulations presented similar rheological pattern in terms of behavior in the up and down flow curves and dependence of the viscosity with the shear rate, showing a no-time dependent pseudoplastic response. The effect of the composition on the steady and dynamic response of the prepared desserts is discussed in the following sections.

Effect of composition on pseudoplastic behavior of the prepared soy based desserts

The results of the parameters estimation for Ostwald-de-Waele, Herschel Bulkley and Casson models shows that the first led to a better fit of the experimental data (Figure 5.3), as indicated by the highest coefficient of determination values (R^2) and the lowest average percentage error values ($\epsilon\%$) (Table 5.2). The Ostwald-de-Waele model also presented a good fit for commercial desserts (Table 3) and the adequacy of this model for this kind of product is in accordance with previous results obtained in starch–milk model systems (Abu-Jdayil, Mohameed & Eassa, 2004; Tárrega & Costell, 2006a; b; Wijk, Prinz & Janssen, 2006; González-Tomás et al., 2008; Tárrega, Torres & Costell, 2011) and commercial dairy desserts (González-Tomás & Costell, 2006; Tárrega & Costell, 2007).

As can be seen in Figure 5.4 (shear rate *versus* viscosity), a strong pseudoplastic behavior was observed in the studied samples; this fact was confirmed by the low flow behavior index values that ranging from 0.288 to 0.413.

The Pareto charts (Figure 5.5A) showed that the linear effects of soy extract content, starch content and guava pulp content and the interaction between soy extract and starch increased significantly the η_{10} values, whereas the interactions between soy extract and guava pulp ($x_1.x_3$) and starch and guava pulp ($x_2.x_3$) decreased the η_{10} values.

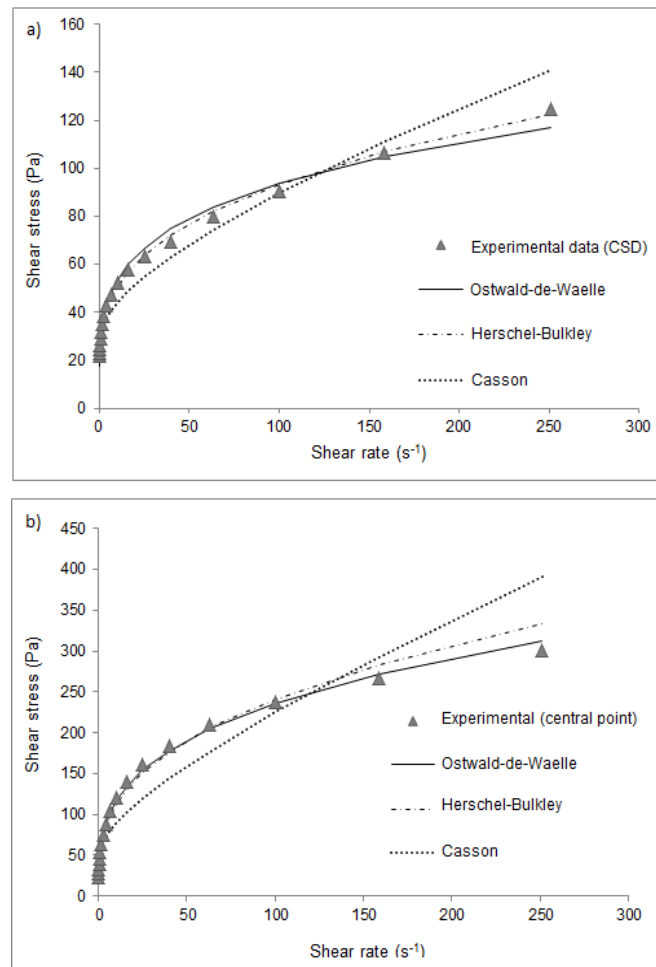


Figure 5.3. Experimental data and predictions of Ostwald-de-Waele, Herschel Bulkley and Casson models for the commercial soy-based dessert (a), and central point of the experimental design (b).

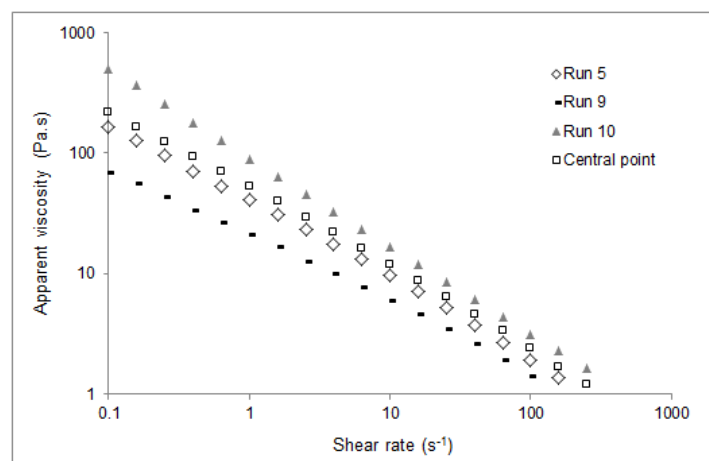


Figure 5.4. Apparent viscosity (Pa.s) versus shear rate (s⁻¹) for different runs.

Table 5.2. Results for parameters estimation for Ostwald-de-Waele, Herschel-Bulkley and Casson models.

Run	Flow rheological parameters												
	Ostwald-de-Waele				Herschel-Bulkley model					Casson model			
	K (Pa.s)	n	ε (%)	R^2	τ_0 (Pa)	K (Pa.s)	n	ε (%)	R^2	τ_{0C} (Pa)	η_C (Pa.s)	ε (%)	R^2
1	32.32 ± 0.21	0.354 ± 0.002	8.79	0.991	2.93 ± 0.14	27.58 ± 0.07	0.366 ± 0.003	27.37	0.973	21.76 ± 0.25	0.625 ± 0.019	22.65	0.858
2	46.73 ± 0.14	0.335 ± 0.003	2.68	0.998	6.80 ± 1.68	41.87 ± 1.22	0.333 ± 0.007	7.23	0.993	40.09 ± 0.08	0.598 ± 0.010	13.2	0.889
3	51.62 ± 2.18	0.304 ± 0.001	5.74	0.994	7.62 ± 1.98	42.92 ± 0.32	0.327 ± 0.005	12.67	0.987	40.71 ± 1.81	0.595 ± 0.020	15.68	0.857
4	88.77 ± 2.65	0.298 ± 0.002	3.75	0.996	44.14 ± 2.22	50.12 ± 0.85	0.367 ± 0.004	14.67	0.975	77.63 ± 2.16	0.805 ± 0.039	15.22	0.863
5	42.82 ± 0.56	0.345 ± 0.004	5.30	0.996	8.17 ± 0.76	37.18 ± 1.63	0.342 ± 0.008	13.89	0.986	36.01 ± 0.42	0.574 ± 0.015	16.23	0.859
6	62.13 ± 0.31	0.272 ± 0.001	0.95	0.999	22.56 ± 0.03	40.49 ± 0.38	0.332 ± 0.003	6.98	0.995	54.58 ± 0.35	0.491 ± 0.007	11.48	0.901
7	63.20 ± 0.46	0.290 ± 0.001	4.78	0.995	15.16 ± 1.59	47.54 ± 0.79	0.336 ± 0.004	10.69	0.989	51.64 ± 0.97	0.640 ± 0.001	13.97	0.865
8	77.87 ± 1.30	0.285 ± 0.000	1.05	0.999	39.15 ± 1.91	40.48 ± 0.42	0.394 ± 0.005	8.42	0.989	63.36 ± 1.41	0.898 ± 0.012	9.95	0.908
9	22.44 ± 0.34	0.413 ± 0.001	5.63	0.996	0.96 ± 0.42	24.16 ± 0.28	0.371 ± 0.005	15.61	0.992	18.16 ± 0.83	0.513 ± 0.004	18.68	0.883
10	90.72 ± 2.37	0.272 ± 0.004	1.78	0.999	44.02 ± 2.37	49.36 ± 0.06	0.361 ± 0.001	6.82	0.992	80.51 ± 2.21	0.711 ± 0.008	9.39	0.908
11	38.44 ± 0.77	0.322 ± 0.002	4.26	0.998	3.98 ± 0.64	34.02 ± 0.21	0.341 ± 0.001	6.35	0.997	31.03 ± 0.79	0.508 ± 0.002	13.77	0.892
12	82.17 ± 3.58	0.268 ± 0.004	4.83	0.997	38.28 ± 0.83	45.12 ± 4.17	0.360 ± 0.017	12.83	0.979	69.69 ± 3.24	0.658 ± 0.004	14.51	0.863
13	47.45 ± 0.51	0.296 ± 0.002	5.22	0.994	9.72 ± 0.43	37.09 ± 0.18	0.336 ± 0.003	11.74	0.989	38.13 ± 0.53	0.511 ± 0.012	15.01	0.860
14	76.15 ± 3.51	0.287 ± 0.004	1.98	0.999	38.75 ± 4.11	41.38 ± 0.46	0.373 ± 0.007	11.20	0.983	67.22 ± 3.07	0.639 ± 0.014	11.46	0.878
15	57.86 ± 0.74	0.305 ± 0.003	4.18	0.996	16.21 ± 0.55	40.94 ± 0.52	0.370 ± 0.019	11.42	0.988	46.61 ± 0.97	0.666 ± 0.015	14.57	0.872
16	55.67 ± 0.64	0.297 ± 0.007	6.26	0.993	9.87 ± 1.48	43.88 ± 2.33	0.333 ± 0.001	11.19	0.987	43.67 ± 0.70	0.619 ± 0.041	14.54	0.866
17	53.66 ± 0.94	0.299 ± 0.007	4.81	0.995	10.51 ± 0.37	42.41 ± 0.30	0.333 ± 0.010	12.27	0.988	42.94 ± 0.34	0.596 ± 0.059	17.94	0.862
18	53.78 ± 0.11	0.301 ± 0.003	5.39	0.995	10.92 ± 2.66	41.92 ± 2.67	0.339 ± 0.007	9.32	0.989	42.98 ± 0.21	0.613 ± 0.014	14.26	0.872
CSD	30.51 ± 0.76	0.243 ± 0.004	5.73	0.986	15.69 ± 2.31	15.73 ± 2.92	0.347 ± 0.022	2.64	0.996	28.29 ± 0.48	0.171 ± 0.013	15.82	0.937
CDD	28.74 ± 0.59	0.278 ± 0.003	6.74	0.994	5.36 ± 0.61	23.82 ± 0.20	0.305 ± 0.001	5.66	0.994	25.69 ± 0.62	0.619 ± 0.002	16.08	0.916

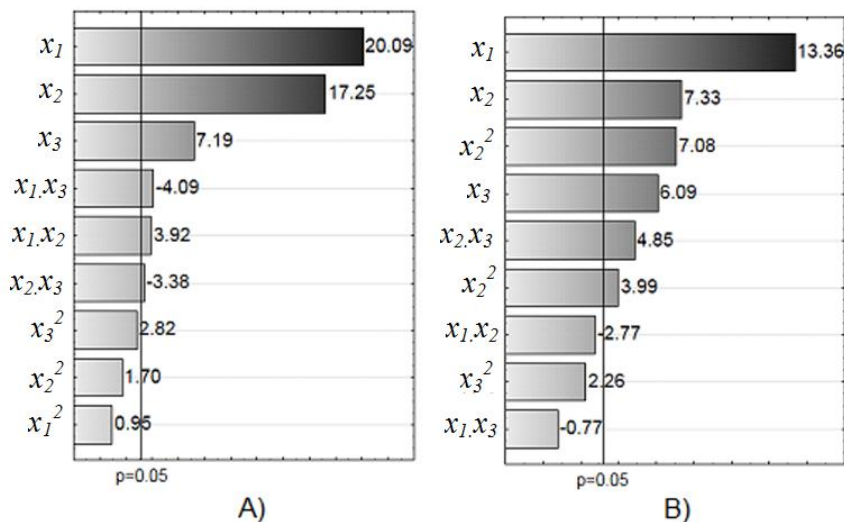


Figure 5.5. Pareto's graph of standardized estimated effects of the water soluble soy extract content, starch content and guava pulp content in the prospective experiment on apparent viscosity (a) and Q value (b). The point at which the effect estimates were statistically significant (at $p = 0.05$) is indicated by the vertical solid line.

The contour surface (Figure 5.6A) shows the interaction effect x_1x_3 on apparent viscosity (η_{10}) of soy-based desserts. The interaction effect x_1x_3 can be explained on the basis that protein-polysaccharides interactions and polysaccharides-water binds could be indirectly influenced by the pulp content, because the higher the pulp content the lower the amount of water added in the initial step of the desserts production. In this way, these interactions are facilitated due to steric hindrance among the molecules, increasing the viscosity to the food. Figure 5.6B shows the interaction effect x_2x_3 on apparent viscosity (η_{10}) of soy-based desserts. The interaction effect x_2x_3 on the apparent viscosity η_{10} can be explained by the fact that the water of the pulp can bind to the starch network or be entrapped therein. At higher starch contents, the viscosity of the system is less dependent of the guava pulp content, since the viscosity of the gelatinized starch solution is much higher than the viscosity presented by the pulp.

Comparing the results, the η_{10} value of the sample 9 which presents the lower content of water soluble soy extract (2.5 %) was the closest to the η_{10} values of the commercial Brazilian samples (52.11 Pa.s -55.07 Pa.s). However, the found values for apparent viscosity values at $10s^{-1}$ remained within the range values (from 24.7 Pa.s to 355.9 Pa.s) reported by Tárrega, Durán and Costell (2005) that also measured the rheology at $25^\circ C$ of the seven commercial dairy desserts of vanilla. Taking into account,

sensory analysis are necessary to verify which samples are more accepted by the consumers.

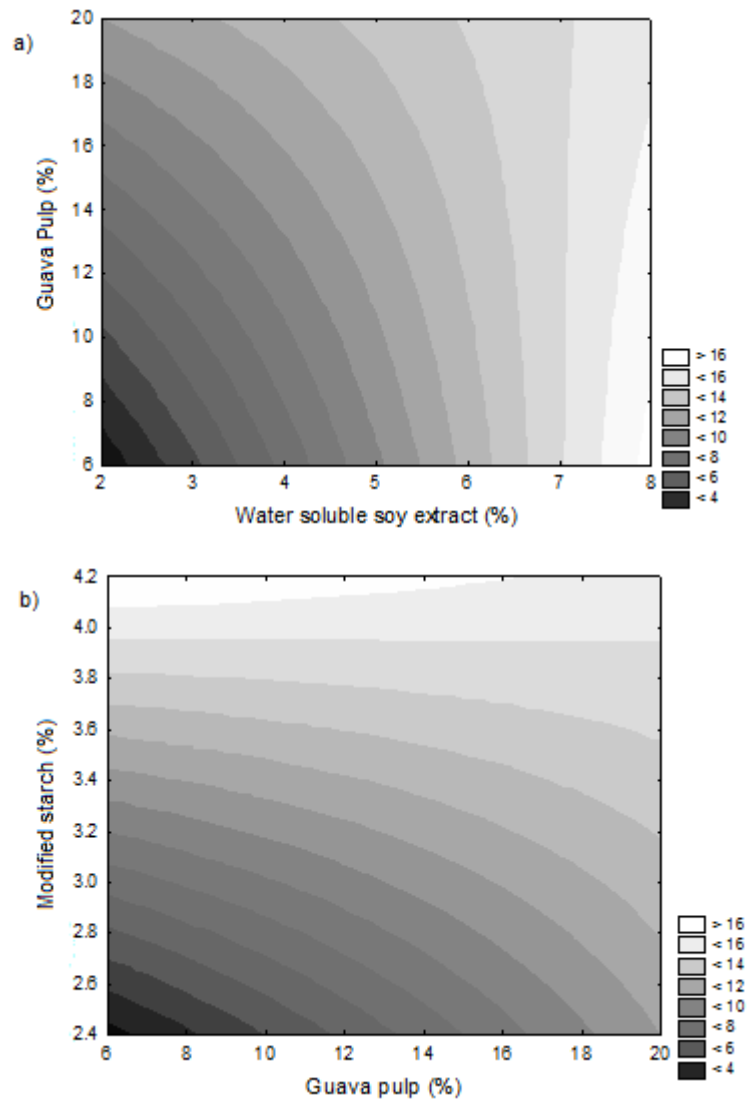


Figura 5.6. Contour surface for apparent viscosity (η_{10}) of the soy based desserts. Effect of the guava pulp (%) and water soluble soy extract (%) (a), and effect of the modified starch (%) and guava pulp (%) (b).

Effect of composition on dynamic rheological parameters of the prepared soy based desserts

Time stability of the samples was tested before performing the frequency sweep tests. Both moduli, G' and G'' (data not shown), have not changed significantly during the tests, indicating that the samples did not present structural changes during the considered time interval (30 min).

Typical curves of storage (G') and loss (G'') modulus of the prepared soy based dessert as a function of frequency are shown in Figure 5.7. The parameters and coefficients of determination of the equations 8 and 9 are reported in Table 3. It is evident that both moduli were fitted adequately ($R^2 > 0.987$). Storage modulus values were higher than loss modulus values over the entire frequency range, indicating a typical gel-like system (Brummer, 2006). The larger value of storage modulus is indicative of strong particle–particle interactions (Hirashima, Takahashi & Nishinari, 2004; Brummer, 2006). According to Lapasin and Pricl (1995), gels can be classified either as strong or weak on the basis of their G'/G'' ratio. The G'/G'' ratio of a true or strong gel, whose intermolecular junctions have a high binding energy, is higher than 3. In the case of desserts, this condition is achieved for samples 8 and 10, only in low frequency range (from 0.5 to 2 rads^{-1}). The average values for G'/G'' ranged between 1.42 and 2.91. Therefore, all samples were characterized as weak gels.

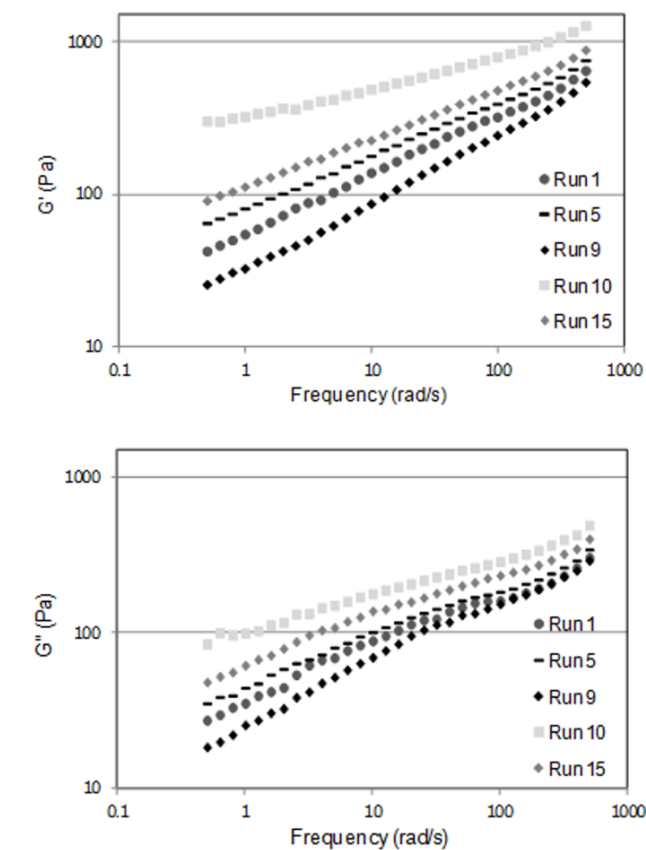


Figura 5.7. Frequency sweeps ($0.5\text{-}500 \text{ rads}^{-1}$) of the samples 1, 5, 9, 10 and 15.

Table 5.3. Rheological parameters of soy based desserts.

Run	Storage modulus				Loss modulus			
	G'_o (Pa)	n'	R^2	ε (%)	G''_o (Pa)	n''	R^2	ε (%)
1	57.18	0.381	0.996	2.32	41.28	0.309	0.988	6.76
2	162.83	0.284	0.993	3.64	73.26	0.264	0.990	4.29
3	110.62	0.317	0.996	1.55	65.84	0.255	0.987	4.67
4	233.84	0.277	0.997	1.46	113.48	0.238	0.988	3.87
5	77.66	0.356	0.996	2.89	48.59	0.304	0.992	4.79
6	144.83	0.264	0.988	2.82	63.52	0.267	0.995	2.97
7	256.95	0.240	0.995	1.15	99.32	0.212	0.992	3.72
8	252.05	0.240	0.991	3.60	87.22	0.241	0.992	3.38
9	29.66	0.458	0.997	3.37	26.36	0.386	0.991	6.01
10	288.60	0.226	0.989	3.91	97.82	0.239	0.994	2.57
11	69.98	0.352	0.994	4.56	40.04	0.326	0.995	3.77
12	248.62	0.246	0.993	2.46	94.01	0.232	0.980	5.98
13	99.14	0.315	0.994	2.12	55.89	0.270	0.992	4.00
14	156.57	0.286	0.993	3.57	77.97	0.258	0.997	2.21
15	108.43	0.330	0.996	1.88	66.64	0.283	0.990	4.52
16	105.61	0.333	0.998	2.18	57.05	0.298	0.993	4.06
17	114.70	0.316	0.995	1.37	69.41	0.263	0.991	3.94
18	110.12	0.320	0.995	3.11	67.30	0.278	0.993	4.28

The parameter Q is a rheological value that indicate particle–particle interactions and/or the network type structure in a form (Hirashima, Takahashi & Nishinari, 2004; Brummer, 2006). The average Q values for the produced samples ranged between 8.35 and 18.11; the sample 9 showed the lower Q value and the commercial samples showed Q value of 13.59 – 14.05. Therefore, when compared with the commercial samples, the produced samples presented similar Q values; this result corroborate with the high values of water holding capacity presented previously.

The Pareto chart for the parameter Q (Figure 5.5B) indicates that the gel strength increased with increasing concentration of soy protein, modified starch and guava pulp content. The interaction between starch and guava pulp and the quadratic coefficients of soy extract and modified starch also increased the value of Q . These dependencies are similar to those found for WHC , suggesting a possible correlation between the parameter Q and the water holding capacity. To test this hypothesis the Pearson correlation coefficient (r) between $WHC_{25^\circ C}$ and Q data was evaluated. The resulting value was $r = 0.903$, confirming the existence of a strong correlation and indicating that the parameter Q can be used as an indirect measure of the water holding capacity. This observation is of practical importance, since the measurement of the WHC , a parameter

widely used to indicate the stability of a sample, requires long time of analysis. It is also worth mentioning that the Pearson correlation coefficients (r) values between $WHC_{25^{\circ}C}$ and the other measured rheological parameters (η_{10} , K and n) were significantly lower (0.775, 0.798 and -0.716, respectively).

5.4 Conclusion

This work showed that is possible to produce creamy soy-based desserts enriched with pulp fruit since several samples showed high values of water holding capacity and rheological properties similar to those presented by commercial samples. The physicochemical, microstructural and rheological properties of the soy based desserts containing guava pulp vary in a wide range as a function of the soy, starch and guava pulp contents. However, the soy extract content was the variable that most affected the referred properties. A link between the microscopy analysis and water holding capacity, suggested that the stability of the produced desserts may be influenced by their degree of concentration. Besides, a strong correlation between the water holding capacity and the rheological parameter Q was observed. Taking into account the stability (water holding capacity) and the rheology, the sample 6 seems to be a promising dessert, since it, besides presenting a high water holding capacity value, also presented rheological parameters similar to those presented to commercial desserts.

5.5 References

- Abu-Jdayil, B., Mohameed, H. A. & Eassa, A. (2004). Rheology of wheat starch-milk-sugar systems: effect of starch concentration, sugar type and concentration, and milk fat content. *Journal of Food Engineering*, 64, 207-212.
- Alexander, R. J. (1996). New starches for food applications. *Cereal Foods World*, 41, 796-799.
- AOAC.(2000a). *Official Method 932.12*. Gaithesburg, United States.
- AOAC.(2000b). *Official Method 930.04*. Gaithesburg, United States.
- AOAC.(2000c). *Official Method 981.12*. Gaithesburg, United States.
- Arcia, P. L., Costell, E. & Tárrega, A. (2010). Thickness suitability of prebiotic dairy desserts: Relationship with rheological properties. *Food Research International*, 43, 2409-2416.
- Bertolini, A. C.(2009). *Starches: Characterization, Properties, and Applications*. Boca Raton: Taylor & Francis. 276 p.

Brasil (1978). Ministério da saúde. Agência nacional de vigilância sanitária. Resolução CNNPA nº 14, de 28 de junho de 1978. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/anvisa/legis/resol/14_78.htm.

Brasil, I. M., Maia, G. A. & De Figueiredo, R. W. (1995). Physical-chemical changes during extraction and clarification of guava juice. *Food Chemistry*, 54, 383-386.

Brummer, R. (2006). *Rheology essentials of cosmetic and food emulsions*. Berlin: Springer

Campo-Deaño, L., Tovar, C. A. & Borderías, J. (2010). Effect of several cryoprotectants on the physicochemical and rheological properties of suwari gels from frozen squid surimi made by two methods. *Journal of Food Engineering*, 97, 457-464.

Engelen, L., De Wijk, R. A., Prinz, J. F., Janssen, A. M., Weenen, H. & Bosman, F. (2003). The effect of oral and product temperature on the perception of flavor and texture attributes of semi-solids. *Appetite*, 41, 273-281.

Fiesp & Ital (2010). Brasil Food Trends 2020. <<http://pt.scribd.com/doc/88315261/Tendencia-Ital-Publication>>. Accessed 26.03.14. .

Golovanov, A. P., Hautbergue, G. M., Wilson, S. A. & Lian, L. Y. (2004). A simple method for improving protein solubility and long-term stability. *Journal of the American Oil Chemists Society* 126, 8933-8939.

González-Tomás, L., Bayarri, S., Taylor, A. J. & Costell, E. (2008). Rheology, flavour release and perception of low-fat dairy desserts. *International Dairy Journal*, 18, 858-866.

González-Tomás, L. & Costell, E. (2006). Relation Between Consumers Perceptions of Color and Texture of Dairy Desserts and Instrumental Measurements Using a Generalized Procrustes Analysis. *Journal of Dairy Science*, 89, 4511-4519.

Granato, D., Masson, M. L. & Ribeiro, J. C. B. (2012). Sensory acceptability and physical stability evaluation of a prebiotic soy-based dessert developed with passion fruit juice. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 32, 119-126.

Granato, D., Ribeiro, J. C. B., Castro, I. A. & Masson, M. L. (2010). Sensory evaluation and physicochemical optimisation of soy-based desserts using response surface methodology. *Food Chemistry*, 121, 899-906.

Harte, F., Luedecke, L., Swanson, B. & Barbosa-Cánovas, G. V. (2003). Low-Fat Set Yogurt Made from Milk Subjected to Combinations of High Hydrostatic Pressure and Thermal Processing. *Journal of Dairy Science*, 86, 1074-1082.

Hirashima, M., Takahashi, R. & Nishinari, K. (2004). Effects of Citric Acid on the Viscoelasticity of Corn starch Pastes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 2929-2933.

Lapasin, R. & Pricl, S. (1995). *Rheology of industrial polysaccharides: theory and applications*. London: Blackie Academic and Professional, Chapman & Hall, v.1. 620 p.

Palazolo, G. G., Sorgentini, D. A. & Wagner, J. R. (2005). Coalescence and flocculation in o/w emulsions of native and denatured whey soy proteins in comparison with soy protein isolates. *Food Hydrocolloids*, 19, 595-604.

Soler, L. (2005). *Development of non-dairy frozen emulsion containing soy protein and coconut milk* Department of Food Science, Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College, Louisiana. pp. 84.

Steffe, J. F. (1996). *Rheological Methods in Food Process Engineering*. East Lansing, Michigan State, USA: Freeman Press. 418 p.

Tárrega, A. & Costell, E. (2006a). Effect of composition on the rheological behaviour and sensory properties of semisolid dairy dessert. *Food Hydrocolloids*, 20, 914-922.

Tárrega, A. & Costell, E. (2006b). Effect of inulin addition on rheological and sensory properties of fat-free starch-based dairy desserts. *International Dairy Journal*, 16, 1104-1112.

Tárrega, A. & Costell, E. (2007). Colour and consistency of semi-solid dairy desserts: Instrumental and sensory measurements. *Journal of Food Engineering*, 78, 655-661.

Tárrega, A., Torres, J. D. & Costell, E. (2011). Influence of the chain-length distribution of inulin on the rheology and microstructure of prebiotic dairy desserts. *Journal of Food Engineering*, 104, 356-363.

Teh, Y. H., Dougherty, M. P. & Camire, M. E. (2005). Frozen blueberry-soy dessert quality. *Journal of Food Science*, 70, S119-S122.

Thebaudin, J. Y., Lefebvre, A. C. & Doublier, J. L. (1998). Rheology of Starch Pastes from Starches of Different Origins: Applications to Starch-based Sauces. *LWT - Food Science and Technology*, 31, 354-360.

White, D. A., Fisk, I. D., Mitchell, J. R., Wolf, B., Hill, S. E. & Gray, D. A. (2008). Sunflower-seed oil body emulsions: Rheology and stability assessment of a natural emulsion. *Food Hydrocolloids*, 22, 1224-1232.

Wijk, R. A. D., Prinz, J. F. & Janssen, A. M. (2006). Explaining perceived oral texture of starch-based custard desserts from standard and novel instrumental tests. *Food Hydrocolloids*, 20, 24-34.

Capítulo 6 – Artigo 2

Correlation between instrumental and sensory measurements in custard-like soy-based desserts enriched with guava pulp

Abstract

The aim of this work was to assess to what extent rheological properties can explain the sensory texture in soy based desserts containing different amounts of water soluble soy extract, modified starch and guava pulp, as well as to correlate the sensory and instrumental color. Seventeen creamy soy based desserts were studied. Sensory ranking tests were performed by Quantitative Descriptive Analysis (QDA) and affective sensory tests. Correlations between sensory and instrumental data were determined using Pearson's correlation coefficient and Principal Component Analysis. Results showed a moderate positive correlation between sensory color and a^* , and significant negative correlations with L^* and h_{ab} . Loss modulus at 1 and 10 rad s^{-1} and the parameters n'' were the rheological parameters better correlated with the sensory attributes related to consistency and creaminess. Moreover the results found in the affective tests can be explained by those verified in QDA.

Keywords: QDA, rheology, color, soyfoods.

6.1. Introduction

Sensory evaluation can be seen as a link between research and development, with focus on technical aspects of food, consumer and marketing research, and consumers' behavior and psychology (Dijksterhuis, 1997). It measures the reaction to stimuli resulting from the use or consumption of a product through analytical and/or affective tests. Traditionally, analytical tests (discriminative and descriptive) are

performed with trained panels whereas affective tests are run with consumers (Stone and Sidel, 1993).

Proper evaluation of sensory characteristics takes time and is therefore costly. To save time and money, instrumental methods can be useful for replace the sensory tests. It is generally accepted that instrumental methods (such as rheology) could be useful to broaden the knowledge of the reasons for which different products have different sensory characteristics (Wortel et al., 2005). Surprisingly, the amount of information found in the literature on the correlation between instrumental parameters and sensations is still limited, for foods in general and also for the particular case of desserts.

Some authors investigated the relationship between instrumental and sensory attributes of desserts and other food systems containing starch and gums (Wendin e Hall, 2001; De Wijk *et al.*, 2003; Depypere *et al.*, 2003; Lethuaut *et al.*, 2003; De Wijk, Prinz e Janssen, 2006; Tárrega e Costell, 2007; Arltoft, Madsen e Ipsen, 2008). De Wijk et al. (2003) used a Quantitative Descriptive Analysis to investigate the sensory properties of twelve commercial Dutch vanilla custard desserts, including dairy and non-dairy samples. Lethuaut et al. (2003) studied the effects of sucrose concentration and carrageenan type on the mechanical and texture assessment of vanilla dairy desserts as well as the impact of the texture variation on sweetness perception. Wijk, Prinz and Janssen (2006) evaluated the rheological (elastic modulus, loss modulus, $\tan\delta$) and sensory parameters of vanilla starch-based desserts through a principal component analysis (PCA). Tárrega and Costell (2007) studied the color and consistency of seven commercial samples of vanilla dairy desserts and used a non-trained panel to correlate properties. Arltoft, Madsen and Ipsen (2008) also used PCA to assess the correlation between microstructural, sensory and rheological properties of semi-solid milk desserts, considering both large (firmness, fracture point and adhesiveness) and small deformation parameters (complex modulus, phase angle, critical stress and critical strain). All these authors found significant correlation between sensory and instrumental parameters.

However, to the knowledge of the authors, there is no prior work addressing the possible relationships between values of physical properties and sensory characteristics in soy based desserts. In this context, the goal of the present work was to study the

correlation between instrumental and sensory measurements in creamy soy based desserts.

The influence of the composition on the rheology of soy based desserts containing water soluble soy extract, modified starch and guava pulp has been investigated by the analysis of seventeen formulations containing different concentrations of the three ingredients afore mentioned (Spada et al., 2014). In this paper, the formulations were submitted to sensory evaluation of texture and the correlation between rheological and sensory parameters was studied. The color of the samples was also evaluated through instrumental and sensory tests and the obtained data were investigated for correlation among them.

6.2. Materials and Methods

6.2.1. Materials, sample preparation and rheological data

The commercial samples used to train sensory panel were used as supplied by the manufacturer. Four commercial samples were used in this step: dulce de leche (Vonpar Alimentos, Viamão, Brazil), creamy condensed milk (Nestlé, Germany), semi-skimmed milk (Elegê, Brazil) and red dye (Mix Indústria de Produtos Alimentícios, São Bernardo do Campo, Brazil).

The samples used to evaluate the influence of the composition on the sensory and color characteristics were prepared using the same materials and preparation procedures as described in the preceding paper (Spada et al., 2014). Table 6.1 summarizes the ingredients and their concentrations or range of concentrations (g/100 g) used in the 17 formulations prepared. For sake of conciseness, the coded and decoded values of the three factors (water soluble soy extract, modified starch and guava pulp contents) corresponding to each of these formulations are presented later, in Table 3, together with the results for the sensory attributes.

The rheological data used as basis of analysis in the study of the correlation with the texture sensory parameters are those presented and discussed in the preceding paper.

Table 6.1. Ingredients (g/100 g) employed in the formulations of the soy-based desserts.

Ingredients	Amount (g/100g)
Sucrose	9
Guava pulp	7 - 19
Water soluble soy extract	2.5 - 7.5
Modified starch	2.6 - 4.0
Polydextrose	2
Powdered guava juice	1.5
Carragen	0.3
CMC	0.4
Water	qs 100 g

qs = quantum sufficient for 100 g.

6.2.2. Color measurement

Color was measured in a colorimeter (Konica Minolta Sensing Inc., CR 400, Japan). Samples were contained in optical glass cells 2 cm high and 6 cm diameter. The color reader was initially calibrated using a calibration dish CR A43. Three measurements were performed on each sample. Results were expressed using the CIELAB system with reference to illuminant D65 and a visual angle of 10°. In the CIELAB color space, 2 color coordinates, a^* and b^* , and a psychometric index of lightness, L^* , are defined. a^* is positive for reddish colors and negative for the greenish ones. The coordinate b^* is positive for yellowish colors and negative for the bluish ones. L^* is an estimation of the luminosity and allows to regard any given color as equivalent to a member of the gray scale, between black ($L^* = 0$) and white ($L^* = 100$). From a^* and b^* , the psychological parameters chroma C^* and hue (h) are defined as:

$$C^* = \left[(a^*)^2 + (b^*)^2 \right]^{1/2} \quad (1)$$

$$h_{ab} = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (2)$$

C^* allows determining for each hue its degree of difference in comparison to a gray color with the same lightness. Chroma is considered as the quantitative attribute of colorfulness. The angular parameter hue (h_{ab}) is regarded as the qualitative attribute of color and, according to it, colors can be defined as reddish, greenish, and so on. More specifically, it is the attribute that allows distinguishing a color from a gray color with the same lightness.

6.2.3. *Sensory evaluation*

The sensory properties of the desserts were investigated with the use of a sensory panel trained according to the principles of Quantitative Descriptive Analysis (Stone e Sidel, 1985). Twenty members of the Institute of Food Science and Technology at UFRGS, with no prior experience in descriptive analysis were pre-selected based on availability, interest and lack of allergy to any component of the formulation. To pre-select the panelists a series of four replications of the triangular test was conducted with two different formulations. In each session three samples coded with three-digit numbers were presented, two identical and one different, and each candidate was asked to identify the different sample. Fifteen panelists had ability to discriminate the intensity of the four flavors (bitter, sweet, salty and sour) as well as gave at least three correct answers in the triangular test and were pre-selected.

The pre-selected candidates were trained (attributes of Table 6.2) and selected based on their ability to discriminate between samples, repeatability and agreement among the judges checked by analysis of variance of two factors (sample and repetition) for each panelist and for each attribute. The trained and calibrated sensory panel, with ten assessors, performed the sensory descriptive analysis of 17 soy based desserts on a 9 cm unstructured line scale. In the sensory testing, the samples (30 ml) were presented simultaneously, served in plastic cups coded with three digits random numbers. Mineral water was served to clean the mouth between tastings. At each session, the panelists evaluated 3–4 samples. The average values of the sensory scores were used in the analysis.

Affective sensory tests were also conducted to describe the degree of liking with relation to each individual attribute (color, appearance, consistency, odor, flavor, and creaminess) and the overall acceptability. In this case, the sensory panel consisted of habitual consumers of desserts who were asked to classify the samples by assigning a liking score on a 9-point hedonic scale, where 1 = ‘dislike extremely’; 2= dislike very much; 3 = ‘dislike moderately’; 4 = ‘dislike slightly’; 5 = neither like nor dislike; 6= ‘like slightly’; 7 = ‘like moderately’; 8 = ‘like very much’ and 9 = ‘like extremely’. The dessert samples were presented randomly for each panelist. The samples were evaluated in two sessions, with 51 panelists in the first session and 52 in the second one. Approval rate (%) of each sample was calculated as follows:

$$\text{Approval rate (\%)} = \frac{\overline{M}}{9} 100 \% \quad (3)$$

where \overline{M} is the mean score that the sample received in the affective sensory tests and 9 represents the hedonic scale size.

The tests were conducted in individual booths at Sensory Analysis Laboratory of Department of Food Science and Technology. All panelists received and signed an informed consent approved by the Ethics Committee of UFRGS (protocol number 91.497).

Table 6.2. Descriptive terms used in the Descriptive Quantitative Analysis.

Sensory property	Definition	References (scale)
Pink color	Intensity of pink color	(0) Weak: milk with dye (100:1) (9) Intense: sample F1
Consistency	Resistance to flow out of the spoon	(0) Fluid: milk with dye (100:1) (9) Firm: creamy condensed milk (Moça®, Nestlé)
Guava	Intensity of guava flavor	(0) Absent: sample F2 (9) Intense: Guava pulp with sucrose and guava powder juice (100:5:1.5)
Soy	Intensity of soy flavor	(0) Absent: sample F2 (9) Intense: sample F3
Creaminess	Perception of soft consistency in the mouth	(0) Weak: milk with dye (100:1) (9) Strong: dulce de leche (Mu-mu®, Vonpar Alimentos)

F1: central point sample with 20 g of powder guava juice (g/100 g).

F2: sample with 86.2 % of semi-skimmed milk, 5.2 % of corn starch and 8.6 % of sucrose

F3: sample with 87.8 % of mineral water, 8.7 % of soy extract and 3.5 % of soy protein.

6.2.4. Statistical analyses

For the statistical analysis of the instrumental color and sensory data, analysis of variance (ANOVA) and Tukey test were performed, using the software Statistica for Windows, version 12 (StatSoft, US). A p-value bellow 0.05 was considered significant.

Possible correlations between instrumental and sensory color parameters, as well as between rheological and texture sensory parameters were verified using both quantitative (Pearson's correlation matrix) and qualitative (Principal component analysis) methods. All analyses were performed using the Statistic software (StatSoft Inc., version 10.0, New Castle, USA).

6.3. Results

6.3.1. Sensory analysis

Table 6.4 shows the mean sensory scores for the samples evaluated in QDA. Results showed significant differences ($p \leq 0.05$) in all attributes of samples.

Sample 9 was ranked as with more pink color and no significant differences were found between samples 4, 6, 10 and 13 which were ranked as less pink color. Regarding texture ranking, sample 9 was perceived as the sample with the lowest consistency and creaminess and no significant differences were found between samples 4, 6, 8, 10 and 11 which were perceived as more consistent and creamier. For flavor, the sample 10 presented more soy flavor and less guava flavor, since it contains more water soluble soy extract in its formulation.

Table 6.3 presents the significant effects on the sensory attributes. Soy flavor was affected by all linear effects. As expected the water soluble soy extract content increased the soy flavor value, while guava pulp and modified starch decreased this value. Guava flavor and pink color were positively affected by guava pulp content and negatively by soy content. As the starch and soy extract are considered promoters of texture in foods, the effects of these variables on the creaminess and consistency attributes were significant.

Table 6.3. Significant effects on the sensory attributes (QDA).

Sensory attributes (QDA)	Soy flavor	Guava flavor	Pink color	Consistency	Creaminess
Significant effects ($p < 0.05$)	$x_1 (+)$	$x_1 (-)$	$x_1 (-)$	$x_1 (+)$	$x_1 (+)$
	$x_2 (-)$	$x_3 (+)$	$x_3 (+)$	$x_2 (+)$	$x_2 (+)$
	$x_3 (-)$				

Table 6.4. Sensory attributes of the soy-based desserts in QDA test.

Assays	Coded levels			Original levels				Sensory attributes *			
	x_1	x_2	x_3	Soy extract (%)	Starch (%)	Guava pulp (%)	Pink color	Consistency	Soy flavor	Guava flavor	Creaminess
1	-1	-1	-1	3.5	2.9	9.5	2.99 ^{bc}	4.28 ^{bc}	0.46 ^c	5.68 ^{bc}	5.90 ^{bc}
2	1	-1	-1	6.5	2.9	9.5	1.65 ^{cd}	4.96 ^b	0.53 ^c	3.81 ^{cd}	5.46 ^c
3	-1	1	-1	3.5	3.7	9.5	2.55 ^{cd}	6.21 ^{ab}	0.53 ^c	5.51 ^{bc}	6.49 ^b
4	1	1	-1	6.5	3.7	9.5	0.63 ^e	7.54 ^a	0.85 ^c	4.81 ^{bc}	7.65 ^a
5	-1	-1	1	3.5	2.9	16.5	2.59 ^{cd}	5.28 ^b	0.40 ^c	7.33 ^a	5.34 ^c
6	1	-1	1	6.5	2.9	16.5	1.05 ^e	6.98 ^a	0.94 ^c	5.51 ^{bc}	6.33 ^b
7	-1	1	1	3.5	3.7	16.5	4.10 ^{bc}	5.53 ^b	0.58 ^c	6.16 ^{ab}	7.08 ^a
8	1	1	1	6.5	3.7	16.5	2.63 ^{cd}	6.39 ^{ab}	1.36 ^{bc}	6.05 ^{ab}	6.90 ^a
9	-1.68	0	0	2.5	3.3	13.0	5.49 ^a	3.24 ^c	0.62 ^c	6.54 ^{ab}	3.97 ^d
10	1.68	0	0	7.5	3.3	13.0	1.36 ^{de}	6.51 ^{ab}	3.58 ^a	3.05 ^d	7.24 ^a
11	0	-1.68	0	5.0	2.6	13.0	1.98 ^d	7.09 ^a	0.76 ^c	6.98 ^a	7.34 ^a
12	0	1.68	0	5.0	4.0	13.0	2.15 ^{cd}	5.33 ^b	0.69 ^c	6.58 ^{ab}	5.84 ^{bc}
13	0	0	-1.68	5.0	3.3	7.0	1.45 ^{de}	4.98 ^b	0.50 ^c	1.99 ^d	5.49 ^c
14	0	0	1.68	5.0	3.3	19.0	4.20 ^b	5.06 ^b	0.45 ^c	6.84 ^{ab}	5.34 ^c
15	0	0	0	5.0	3.3	13.0	2.74 ^c	6.05 ^b	1.51 ^b	6.28 ^{ab}	6.44 ^{bc}
16	0	0	0	5.0	3.3	13.0	2.13 ^{cd}	5.71 ^b	1.80 ^b	5.88 ^{bc}	6.81 ^{ab}
17	0	0	0	5.0	3.3	13.0	2.86 ^c	5.11 ^b	2.06 ^{ab}	5.34 ^{bc}	5.83 ^{bc}

* Data expressed by mean (n = 10). Means within column followed by different superscripts, are significantly different at p < 0.05 using Tukey test.

The results found in the affective sensory tests (Table 6.5) are in agreement with the results found in QDA, since that the samples with pink color and more intense guava flavor showed higher mean scores for color, appearance, flavor and acceptance. Only samples 1, 7, 8, 9, 10 and 13 were chosen affective sensory tests because they constitute the smaller subset of the studied samples which are representative of all differences and similarities among samples found in the QDA. Regarding the creaminess and consistency, the mean scores were significantly smaller for samples 9 and 10 in the affective tests. In QDA, dessert 9 was ranked as less consistent and creamy, unlike the sample 10 that presented higher scores. Although the sample 10 is statistically equal to samples 7 and 8, considering consistency and creaminess in QDA, it was considered as gummy by some tasters, what may have been the cause of its lower approval rate (72%) in affective tests. Samples 7 and 8 that presented the higher approval rates (higher than 80%) for consistency and creaminess, received high scores in QDA. However, some consumers preferred samples less consistent.

Table 6.5. Mean scores of the samples concerning to sensory attributes ranked in the affective tests.

Assay	Mean scores						
	Appearance	Color	Consistency	Odor	Flavor	Creaminess	Acceptance
1	6.25 ± 1.57 ^{abc}	5.83 ± 1.69 ^{ab}	6.56 ± 1.58 ^{ab}	6.02 ± 1.38 ^{bc}	6.77 ± 1.49 ^a	6.60 ± 1.59 ^{ab}	6.48 ± 1.34 ^{ab}
7	7.06 ± 1.42 ^a	6.56 ± 1.54 ^a	7.40 ± 1.45 ^a	6.65 ± 1.40 ^{ab}	6.88 ± 1.78 ^a	7.37 ± 1.75 ^a	6.98 ± 1.59 ^a
8	6.15 ± 1.53 ^{bc}	5.46 ± 1.69 ^b	7.21 ± 1.32 ^a	6.51 ± 1.45 ^{ab}	6.40 ± 1.79 ^{ab}	7.25 ± 1.52 ^a	6.44 ± 1.47 ^{ab}
9	6.58 ± 1.59 ^{ab}	6.66 ± 1.60 ^a	6.22 ± 1.71 ^b	7.10 ± 1.74 ^a	6.86 ± 1.58 ^a	5.54 ± 1.82 ^b	6.92 ± 1.47 ^a
10	5.08 ± 1.75 ^d	4.46 ± 1.83 ^c	6.18 ± 1.91 ^b	5.74 ± 1.76 ^c	5.48 ± 2.01 ^b	5.48 ± 1.94 ^b	5.54 ± 1.75 ^c
13	5.44 ± 1.61 ^{cd}	4.92 ± 1.72 ^{bc}	6.70 ± 1.49 ^{ab}	5.88 ± 1.49 ^{bc}	5.80 ± 1.78 ^b	6.90 ± 1.57 ^{ab}	5.68 ± 1.80 ^{bc}

*Means within column followed by different superscripts, are significantly different at $p < 0.05$ using Tukey test.

6.3.2. Instrumental color

Table 6.6 presents the effects that were significant ($p < 0.05$) on the instrumental color parameters.

Table 6.6. Significant effects on the instrumental color parameters.

Instrumental color parameters	L^* (brightness)	a^* (redness)	b^* (yellowness)	C^* (color saturation)	h^* (hue)
Significant effects ($p < 0.05$)	x_1 (+)	x_1 (-)	x_1 (+)	x_1 (+)	x_1 (+)
	x_3 (-)	x_3 (+)	x_3 (+)	x_3 (+)	x_3 (-)
	x_2 by x_3 (-)	x_1^2 (+) x_2 by x_3 (+)			

Higher concentrations of guava pulp (x_3) reduced lightness in the desserts, while soy protein (x_1) had the tendency to increase the L^* coordinate of the assays. Moreover, one interaction ($x_2.x_3 \rightarrow$ starch/guava pulp interaction) was significant.

The assay number 13 (0,0,-1.68) with less guava pulp presented the lowest red coordinate value ($a^* = 3.33$). As expected, the higher the guava pulp content (x_3) in the desserts, the more reddish they became, as observed by an increase of the a^* coordinate, while soy protein (x_1) had the tendency to decrease the a^* coordinate of the assays. However, the significance of the linear effects (x_1 and x_3) together with one quadratic ($x_1^2 \rightarrow$ soy extract) and one interaction ($x_2.x_3 \rightarrow$ starch/guava pulp interaction) shows that the dependence of the a^* parameter on the composition in the formulations is quite complex.

A lower hue angle represents a lower yellow character in the assays and greater redness intensity. Table 6 shows that guava pulp decreased the hue angle value, i.e., increased the redness of assays, while the soy extract increase this characteristic.

Table 6 shows that soy extract (x_1) and guava pulp (x_3) increased the b^* coordinate values (yellowness) and chroma of assays. The higher the chroma value, the higher the color intensity of hue perceived by human vision.

Color variations among samples can be explained by the color difference of the formulation components (total color difference between soy extract and guava pulp is 61.28), since that the soy extract presents yellow tonality (high h_{ab} value) and high lightness ($L^*=106.31$; $a^*=-1.59$; $b^*=21.03$; $h_{ab} =94.32$), unlike the guava pulp that presents red coloration and low lightness ($L^*=49.6$; $a^*=21.62$; $b^*=19.85$; $h_{ab} =42.57$).

As expected, different proportions of guava pulp caused significant differences on all color attributes. Negative linear effects for lightness and h_{ab} were obtained, while

positive linear effects were obtained for a^* , b^* and C^* . The guava is a fruit rich in beta-carotene and lycopene, carotenoids compounds that have functional chromophores groups that give it yellow, red, and orange colors. The chromophore is an extensive system of conjugated double bonds and, depending on the food matrix, can be seen as different color intensities and hues (Rodríguez-Amaya, Amaya-Farfan e Kimura, 2007).

6.3.3. *Analysis of the correlation between instrumental and sensory data*

As reported above, significant differences among samples were detected both in terms of instrumental parameters for color and in terms of sensory attributes for color and texture. Similarly, the results reported in the preceding paper (Spada et al., 2014), indicated significant change in the values of the rheological parameters evaluated (G' , G'' , n' , n'' , K , η_{10} and Q) as a function of the composition of these samples. So, possible correlations between these data were explored by using correlation matrices (Pearson correlation coefficient).

Table 6.7 shows the results of the Pearson's correlation matrix between the sensory color and instrumental color parameters. No significant correlations were found between sensory color data and b^* or C^* parameters ($r = -0.46$ and -0.19 , respectively). Results showed a moderate positive correlation between sensory pink color and parameter a^* ($r = 0.65$), and high negative correlations with parameters L^* and h^* ($r = -0.88$ and -0.86 , respectively). The parameter h^* was identified as a good indicator of sensory color because it characterizes the quality of color from red to yellow (higher hue angle represents a greater yellow character in the assays and a lesser redness intensity) and these colors are predominant in the samples. Respect the relationship between sensory pink color and L^* , as mentioned above, the pulp addition promotes a decrease in L^* values, since it is capable of causing browning of the samples, and these differences were perceived by panel. Tárrega and Costell (2007) studied the correlation between sensory color and color parameters of vanilla custard desserts and found similar results, finding a significant positive correlation between sensory color and a^* , significant negative correlations with L^* and h^* and no significant correlations between sensory color data and b^* or C^* .

Table 6.7. Pearson's correlation matrix between sensory and instrumental color.

Parameters	Sensory color	L^*	a^*	b^*	C^*	h_{ab}
Sensory color	1.000	-0.885	0.650	-0.467	-0.193	-0.864
L^*	-0.885	1.000	-0.600	0.574	0.305	0.890
a^*	0.650	-0.600	1.000	0.157	0.474	-0.740
b^*	-0.467	0.574	0.157	1.000	0.944	0.544
C^*	-0.193	0.305	0.474	0.944	1.000	0.238
h_{ab}	-0.864	0.890	-0.740	0.544	0.238	1.000

*Marked correlations are significant at $p < 0.05$

Table 6.8 shows the results of the Pearson's correlation coefficients (r) between sensory and rheological parameters. Consistency and creaminess showed a good correlation with both the flow (k , n and η_{10}) and viscoelastic rheological parameters (G' , G'' , n' and n''). The viscoelastic parameter G'' at 1 and 10 rad s^{-1} presented the highest correlation coefficients with the sensory attributes; this way, it was the chosen parameter to compare the samples. Sample 9 which was significantly different of others, due to its lower consistency and creaminess, presented G_{10}'' value of 70 Pa. In contrast, samples 4, 7, 8, 10 and 12 that were considered more consistent and creamier by the trained panel, presented G_{10}'' values in the range of 157 – 204 Pa. With regard to the other samples of experimental design, the values of G_{10}'' ranged between 88 and 144 Pa. Despite these samples presented large range of rheological values, they presented similar ranking sensory, i.e, the trained panel presented more difficult to differentiate them. This indicates that some differences in the composition of the samples did not implicate in how much consistency and creaminess was perceived by individuals. Therefore, from a practical viewpoint, some selected rheological parameters can be used as instrumental index to identify texture changes detectable by consumers in this type of products.

Table 6.8. Pearson correlation coefficient (r) between sensory and rheological parameters.

Rheological parameters	Values of r for each sensory attribute	
	Consistency	Creaminess
G'_1	0.768	0.721
G''_1	0.876	0.815
G'_{10}	0.828	0.778
G''_{10}	0.879	0.814
n'	-0.803	-0.770
n''	-0.847	-0.817
K	0.802	0.753
n	-0.750	-0.748
η_{10}	0.797	0.737
Q	0.679	0.654

Relationships between instrumental tests and sensory attributes are summarized graphically in Figure 6.1. Figure 6.1a shows the PCA of the variables regarding to sensory and instrumental color; the consideration of both components accounted for 95.24 % of the total variability of the data. Figure 6.1b presents the PCA bi-plot of the sensory attributes (consistency and creaminess) together with rheological parameters. It was verified that these results corroborates with those verified in Pearson's correlation matrix.

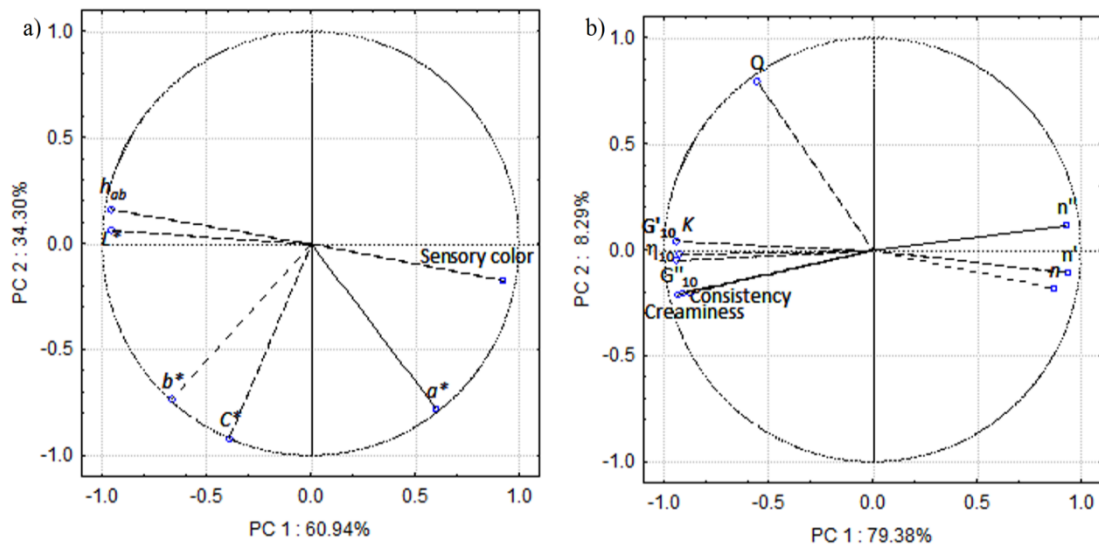


Figure 6.1. Projection of the sensory and instrumental color on to the first two principal components (a) and PCA bi-plot of the sensory attributes together with rheological parameters (b).

Arcia, Costell and Tárrega (Arcia, Costell e Tárrega, 2010) also found good correlation between sensory attributes (thickness) and rheological parameters (consistency index, apparent viscosity values at 10 s^{-1} and G' value at 1 Hz) in dairy desserts, however the authors did not present correlation coefficients values. Sensory mouthful attributes were well correlated with dynamic measurements in starch based desserts by Wijk, Prinz and Janssen (2006) using PCA analysis. Tárrega and Costell (2007) found correlation coefficients higher than the values related in this work. In this study, oral thickness of the dairy desserts showed a good correlation with yield stress values ($r = 0.96$) and with apparent viscosity values at 10 s^{-1} ($r = 0.89$).

6.4. Conclusion

The objective of this work was achieved, since that the variations perceived by the consumers in color and texture of creamy soy based desserts showed important relationships with instrumental measurements. The color of the samples verified by QDA can be well correlated with the color parameters measured with a colorimeter. The lightness (L^*) and tonality (h_{ab}) presented higher Pearson's correlation coefficient with the pink color perceived. Moreover, many rheological properties were highly correlated with the sensory properties regarding to resistance to flow out of the spoon (consistency) and perception of soft consistency in the mouth (creaminess). In addition, the data verified in the affective tests were explained by the results verified in the QDA. Therefore, the results obtained in this work provide information of practical use in the industrial food product process monitoring and development.

6.5. References

- Arcia, P. L., Costell, E. & Tárrega, A. (2010). Thickness suitability of prebiotic dairy desserts: Relationship with rheological properties. *Food Research International*, 43, 2409-2416.
- Arltoft, D., Madsen, F. & Ipsen, R. (2008). Relating the microstructure of pectin and carrageenan in dairy desserts to rheological and sensory characteristics. *Food Hydrocolloids*, 22, 660-673.
- De Wijk, R. A., Prinz, J. F. & Janssen, A. M. (2006). Explaining perceived oral texture of starch-based custard desserts from standard and novel instrumental tests. *Food Hydrocolloids*, 20, 24-34.

- De Wijk, R. A., Van Gemert, L. J., Terpstra, M. E. J. & Wilkinson, C. L. (2003). Texture of semi-solids; sensory and instrumental measurements on vanilla custard desserts. *Food Quality and Preference*, *14*, 305-317.
- Depypere, F. D. R., Verbeken, D., Thas, O. & Dewettinck, K. (2003). Mixture design approach on the dynamic rheological and uniaxial compression behaviour of milk desserts. *Food Hydrocolloids*, *17*, 311-320.
- Dijksterhuis, G. (1997). Multivariate data analysis in sensory and consumer science. *Food and Nutrition Press*.
- Lethuaut, L., Brossard, C., Rousseau, F., Bousseau, B. & Genot, C. (2003). Sweetness - texture interactions in model dairy desserts: effect of sucrose concentration and the carrageenan type. *International Dairy Journal*, *13*, 631-641.
- Rodriguez-Amaya, D. B. A., Amaya-Farfán, J. & Kimura, M. (2007). Carotenoid composition of Brazilian fruits and vegetables. *Acta Horticulturae*, *744*, 409–416.
- Spada, J. C., Marczak, L. D. F., Tessaro, I. C., Flôres, S. H. & Cardozo, N. S. M. (2014). Rheological modelling, microstructure and physical stability of custard-like soy-based desserts enriched with guava pulp. *CyTA - Journal of Food*, <http://dx.doi.org/10.1080/19476337.2014.987698>.
- Stone, H. & Sidel, J. L. (1985). *Descriptive analysis*. In: STONE, H.; SIDEL, J. L. *Sensory evaluation Practices*. London: Academic Press. 311 p.
- Tárrega, A. & Costell, E. (2007). Colour and consistency of semi-solid dairy desserts: Instrumental and sensory measurements. *Journal of Food Engineering*, *78*, 655-661.
- Wendin, K. & Hall, G. (2001). Influences of Fat, Thickener and Emulsifier Contents on Salad Dressing: Static and Dynamic Sensory and Rheological Analyses. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, *34*, 222-233.
- Wijk, R. A. D., Prinz, J. F. & Janssen, A. M. (2006). Explaining perceived oral texture of starch-based custard desserts from standard and novel instrumental tests. *Food Hydrocolloids*, *20*, 24-34.
- Wortel, V. A. L., Verboom, C., Wiechiers, J. W., Taelman, M. & Leonard, S. (2005). Liking sensory and rheological characteristics. *Cosmetics & Toiletries*, *120*, 57-66.

Capítulo 7 – Artigo 3

Ciência Rural, Santa Maria, v.44, n.2, p.374-379, fev, 2014

ISSN 0103-8478

Caracterização física, química e sensorial de sobremesas à base de soja elaboradas com mucilagem de chia (*Salvia hispanica* L.)

Jordana Corralo Spada, Melina Dick, Carlos Henrique Pagno, Aline Campos Vieira, Anahí Bernstein, Chaline Caren Coghetto, Ligia D. F. Marczak, Isabel C. Tessaro, Nilo Sérgio Medeiros Cardozo e Simone Hickmann Flôres.

Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) - Av. Bento Gonçalves, 9500 - Prédio 43.212. Campus do Vale. CEP: 91540-000 – Bairro Agronomia - Porto Alegre - RS – BRASIL.

Resumo

No desenvolvimento de produtos é de suma importância o conhecimento da influência das modificações da formulação nas propriedades sensoriais, físicas e químicas do produto. O objetivo deste trabalho foi caracterizar sobremesas à base de soja com e sem adição de mucilagem de chia, utilizada como espessante alimentar. As formulações foram caracterizadas quanto as suas propriedades reológicas, °Brix, pH e cor. O perfil sensorial foi determinado por Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) utilizando-se uma equipe de 10 julgadores treinados. Os resultados mostraram que as amostras não diferiram quanto aos valores de pH, °Brix e coordenada cromática a^* . Quanto aos outros parâmetros de cor e reológicos foram detectadas diferenças significativas entre as amostras, o que mostra a influência do tipo de espessante nestas características. Os resultados da ADQ mostraram que as amostras não apresentaram diferenças estatísticas quanto aos atributos, cor rosa, sabor de goiaba, sabor de soja e cremosidade, porém diferiram quanto à consistência. Com isso, conclui-se que a adição da mucilagem de chia pode ser feita sem causar grandes modificações ao produto.

Palavras-chave: análise descritiva quantitativa, sobremesa, chia, soja.

7.1. Introdução

Estima-se que 28 % da população brasileira e aproximadamente 75 % da população mundial tenham seu nível de lactase reduzido, o que pode levar a intolerância à lactose e dificuldade de digerir produtos lácteos (Alm, 2002). Assim, o desenvolvimento de alimentos destituídos de lactose tornou-se um nicho importante para as indústrias de alimentos.

Um dos mais importantes substitutos do leite, assim como produtos de origem animal é a soja, visto que esta, assim como seus derivados, apresentam boas características nutricionais. Essa leguminosa é considerada um alimento funcional devido ao seu alto teor de proteína, composição de gordura (rica em ácidos graxos insaturados), presença de isoflavonas e apropriado perfil de minerais essenciais (Friedman e Brandon, 2001).

Nos últimos anos, a semente de chia (*Salvia hispanica* L.), nativa da região do México, tornou-se cada vez mais importante para a saúde e nutrição humana devido ao seu alto teor de ácidos graxos essenciais, fibra alimentar e proteínas (Peiretti e Gai, 2009). Quando mergulhada em água, a semente forma um gel transparente mucilaginoso, composto essencialmente de fibras solúveis. As propriedades mucilaginosas da goma formada possuem qualidades que permitem sua aplicação em diversos produtos na indústria de alimentos (Lin, Daniel e Whistler, 1994), podendo assim melhorar características organolépticas como a textura, e o valor nutricional dos produtos elaborados.

De acordo com Muñoz *et al.* (2012), a mucilagem da chia é um novo ingrediente, com potencial aplicabilidade em alimentos, mas tem sido pouco estudada. É composta essencialmente de xilose, glicose e ácido glicurônico, formando um polissacarídeo ramificado (Lin, Daniel e Whistler, 1994). Representa cerca de 5 % a 6 % da semente de chia e pode ser usada como fibra solúvel e dietética (Reyes-Caudillo, Tecante e Valdivia-López, 2008). Além disso, Capitani *et al.* (2012) afirmaram que as frações fibrosas da chia evidenciam uma grande capacidade de reter e absorver água, como um agente emulsionante e estabilizante de emulsões e o consumo dessa fibra dietética pode ser uma importante alternativa para melhorar a saúde humana.

Diante disso, o presente trabalho objetivou desenvolver sobremesas à base de soja utilizando a mucilagem da chia na formulação em substituição ao agente espessante comumente utilizado (goma carragena), avaliando a influência desse constituinte sobre as características reológicas, físicas, químicas, cromáticas e sensoriais do produto.

7.2. Material e Métodos

7.2.1. Processo de obtenção da mucilagem

As sementes de chia (*Salvia hispanica* L.) (Cacalia Comercial LTDA, Estância Velha, RS, Brasil) foram adquiridas em mercado local. As mesmas foram mergulhadas em água destilada em uma proporção de semente:água de 1:30, e deixadas sob agitação em agitador magnético (Fisatom, 752-A, SP, Brasil) por duas horas em temperatura ambiente. A mucilagem formada foi então separada da semente através de filtração com auxílio de uma bomba de vácuo e de uma peneira simples, e posteriormente centrifugada durante 15 minutos a 3000 g. O sobrenadante (mucilagem) foi então congelado em ultrafreezer (LIOBRAS, UFR30, SP, Brasil) a -70°C , e após liofilizado (LIOTOP, L101, SP, Brasil).

7.2.2. Preparo das sobremesas

O extrato de soja utilizado no trabalho foi doado pela Olvebra Industrial S/A (Eldorado do Sul, RS, Brasil). As gomas carboximetilcelulose e carragena foram doadas pelas empresas Hexus Food (Portão, RS, Brasil) e Cargill Alimentos (Minnesota, Estados Unidos), respectivamente. A povidona foi cedida pela Danisco Brasil Ltda (Copenhague, Dinamarca). A polpa de goiaba foi adquirida da empresa Mais fruta (Antônio Prado, RS, Brasil). O amido modificado foi fornecido pela Corn Products (Brasil). A quantidade dos ingredientes (g/100g) usados na formulação da sobremesa padrão foi: sacarose (9), polpa de goiaba (13), extrato hidrossolúvel de soja (5), amido modificado (3,3), povidona (2), suco de goiaba em pó (1,5), carragena (0,3), CMC (0,4) e água (*quantum sufficit* para 100 g). Na formulação da amostra com chia substituiu-se a carragena pela mucilagem dessa semente (0,05 g). A formulação padrão representa o ponto central de um planejamento fatorial 2^3 feito previamente, onde as

variáveis independentes foram: % de extrato de soja, % de polpa de goiaba e % de amido modificado.

Para o preparo da amostra padrão, primeiramente, o extrato de soja foi hidratado em água a 40°C sob agitação mecânica com impelidor tipo hélice naval (Fisaton, modelo, Brasil) para sua solubilização. Logo após, os ingredientes secos foram adicionados, com exceção do amido, sob agitação durante 15 min a 40°C. O amido gelatinizado e a polpa também foram adicionados e misturados durante 15 min. Após a mistura dos ingredientes, a amostra foi resfriada à temperatura ambiente. Os produtos foram armazenados em potes de vidros, previamente esterilizados em autoclave (Primatec, CS, Itu, Brasil) (120°C, 20 minutos), e então colocados em refrigeração a $7 \pm 1^\circ\text{C}$. Nas amostras elaboradas com chia, a mucilagem foi pré-hidratada durante 30 min e colocada após a solubilização do extrato de soja em água. As etapas seguintes são exatamente iguais às mencionadas anteriormente.

7.2.3. Análises físico-químicas

O teor de sólidos solúveis e o pH foram determinados usando refratômetro analógico portátil (Carl Zeiss, modelo 32-G, Estados Unidos) e pHmetro (Tecnal, modelo TEC-3MP, Brasil), respectivamente. O primeiro foi feito de acordo com o método da AOAC 932.12 (AOAC, 2000a) e o segundo de acordo com a AOAC, método 981.12 (AOAC, 2000b).

7.2.4. Análise de cor

As leituras colorimétricas foram feitas em um colorímetro (Konica Minolta Sensing Inc., CR 400, Japão). A partir do espectro de refletância da amostra, obteve-se os parâmetros colorimétricos L^* , a^* e b^* da escala CIELAB, conforme estabelecido pela Comissão International de l'Eclairage (CIE) (Aguilera, 1997). No espaço de cores $L^*a^*b^*$, o L^* indica a luminosidade, e o a^* e o b^* representam as coordenadas cromáticas. Os valores de L^* variam de 0 (totalmente preta) a 100 (totalmente branca). A coordenada de cromaticidade a^* varia de -80 (verde) a +100 (vermelho) e a coordenada de cromaticidade b^* varia de -50 (azul) a +70 (amarelo). A partir dos valores a^* e b^* , pode-se calcular a distância da coordenada (a,b) em relação a sua

origem (0,0), o que é conhecido por cromaticidade ou Chroma (C^*) e o ângulo de tonalidade h_{ab} , que é medido em uma escala de 0 a 360°, determinando a localização correta da amostra em questão no espaço de cor (Minolta, 1998).

As diferenças de cor foram determinadas pelo parâmetro E^* , que foi calculado pela distância Euclidiana entre dois pontos em um espaço tridimensional definidos pelos parâmetros L^* , a^* e b^* . Matematicamente, o parâmetro colorimétrico E^* pode ser descrito pela Equação 1:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (1)$$

7.2.5. *Análise reológica*

As análises reológicas foram realizadas em reômetro rotacional (Ares, TA Instruments, New Castle, USA) acoplado a um sensor de geometria placa-placa, e abertura (gap) de 1,5 mm. O controle da temperatura foi realizado através de ar circulante. As curvas de escoamento das amostras foram feitas a 25°C e a taxa de cisalhamento variou de 0 a 200 s⁻¹. Os ensaios foram realizados em duplicata e os dados experimentais foram ajustados de acordo com o modelo reológico de Ostwald-de-Waele (Lei da Potência, Equação 2), utilizando o software Statistica versão 10.0 (Statsoft Inc., Tulsa, Estados Unidos).

$$\tau = K\dot{\gamma}^n \quad (2)$$

onde: τ , tensão de cisalhamento (N.m⁻² ou Pa); $\dot{\gamma}$, taxa de cisalhamento (s⁻¹); K , índice de consistência (Pa.s) e n , índice de fluxo (adimensional).

7.2.6. *Determinação do perfil sensorial*

O perfil sensorial das amostras foi realizado por meio da Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) descrita por Stone e Sidel (2004) com provadores treinados. Para tanto, as seguintes etapas foram executadas:

Pré-seleção dos provadores: vinte membros do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFRGS, sem experiência prévia em análise descritiva foram pré-selecionados com base na disponibilidade, interesse e a inexistência de alergia a algum componente da formulação, para tanto os interessados em participar do painel sensorial

preencheram um formulário informando dados pessoais (por exemplo, algum problema de saúde que os impossibilitasse de participar dos testes) e dias e horários disponíveis para se apresentarem a realização das análises. Também responderam a perguntas que verificavam a facilidade de expressar sensações relacionadas a determinados alimentos. Além disso, no questionário foram apresentadas diversas figuras geométricas parcialmente pintadas, para que os possíveis provadores marcassem em uma escala hedônica de 9,0 cm a fração do desenho que se apresentava pintada. Esse teste teve como finalidade verificar o senso de espaço dos julgadores em uma escala linear. A análise dos questionários permitiu selecionar 20 pessoas, 4 homens e 16 mulheres, com idades entre 18 e 68 anos.

Testes classificatórios

a) Teste de diferenciação de sabores: Foi realizado para verificar se os provadores eram capazes de distinguir os sabores básicos (doce, salgado, amargo e ácido). Foram preparadas quatro soluções: doce, contendo 2% de sacarose; salgada, com 0,25% de cloreto de sódio; amarga, contendo 0,07% de cafeína e ácida, com 0,07% de ácido cítrico. Ofereceu-se aos provadores seis copos, contendo aproximadamente 25 mL de amostra, identificados por três dígitos aleatórios. Cada provador recebeu as quatro soluções, com dois sabores repetidos, e uma amostra contendo apenas água para evitar que as amostras fossem classificadas por eliminação. Os copos foram servidos de forma aleatória em uma bandeja, juntamente com um copo de água, a ficha de avaliação e uma caneta. Os provadores deveriam classificar corretamente cada amostra como doce, salgada, amarga ou ácida e, em caso de erro, a análise poderia ser repetida mais uma vez. Este teste é eliminatório, ou seja, o provador que não identificasse corretamente todos os sabores seria eliminado.

b) Testes triangulares: Além do teste de sabor, para pré-selecionar os provadores foi realizada uma série de quatro repetições do teste triangular com duas sobremesas similares, porém com formulações diferentes. Em cada sessão foram apresentadas três amostras, codificadas com números de três dígitos, sendo duas iguais e uma diferente.

De vinte provadores recrutados voluntariamente, foram pré-selecionados quinze provadores, pela habilidade em discriminar a intensidade dos quatro sabores (amargo, doce, salgado e ácido) assim como os que conseguiram no mínimo três respostas corretas nos testes triangulares.

Desenvolvimento da terminologia descritiva: Utilizou-se o Método de Rede de Kelly (Moskowitz, 1983) para gerar os termos descritores que definem as similaridades e diferenças entre as amostras. Os provadores receberam dois pares de amostras, descrevendo as sensações observadas ao prová-las com relação à aparência, aroma, sabor e textura. Os julgadores discutiram os termos propostos, avaliando a frequência com que apareciam e eliminaram os termos sinônimos ou pouco citados de forma consensual. Com os termos descritores gerados no método de rede, foram definidos os padrões extremos de cada atributo a ser analisado. Assim, foi elaborada a ficha de avaliação, utilizando escalas não estruturadas de 9 cm, ancorada à esquerda com termos referentes ao mínimo e à direita pelo termo referente ao máximo para cada atributo (Tabela 1).

Seleção e treinamento da equipe final: após a definição dos termos e elaboração da ficha de avaliação, selecionou-se a equipe definitiva para o ADQ. Os candidatos foram selecionados com base no poder de discriminação entre amostras, repetibilidade e concordância entre os julgadores verificadas através de análise de variância de dois fatores (amostra e repetição) para cada provador em relação a cada atributo.

Avaliação das amostras: os provadores, mediante termo de consentimento livre e esclarecido, foram convocados a participar da avaliação das amostras através da Ficha de Análise Sensorial das sobremesas. Na aplicação dos testes sensoriais, as amostras foram servidas resfriadas (7°C) em copos plásticos codificados com números de três dígitos, de maneira aleatória, acompanhados de colheres e água mineral para limpeza do palato entre as amostras.

Os testes foram realizados em cabines individuais no Laboratório de Análise Sensorial do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Todos os provadores receberam e assinaram o Termo de consentimento esclarecido aprovado pelo Comitê de ética da UFRGS (protocolo Número 108.982).

7.2.7. Análise Estatística

Os resultados da ADQ foram avaliados pela Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software Statistica 10.0 (Statistica 10.0, Statsoft®, Tulsa, OK, USA) ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

7.3. Resultados

7.3.1. Análises físico-químicas

As amostras não diferiram significativamente quanto aos valores de pH e °Brix. A amostra padrão apresentou pH igual a $5,17 \pm 0,05$ e °Brix de $20,3 \pm 0,4$; a amostra com chia apresentou pH e conteúdo de sólidos solúveis de $5,1 \pm 0,1$ e $20,5 \pm 0,7$, respectivamente.

7.3.2. Análise de cor

Através da colorimetria foi possível avaliar as alterações qualitativas na cor promovidas pela incorporação da chia na sobremesa. A Tabela 7.1 apresenta as coordenadas cromáticas de cada amostra, assim como a saturação da cor (C^*), tonalidade (h_{ab}) e diferença de cor total (ΔE^*).

Tabela 7.1. Parâmetros de cor das amostras.

Parâmetros de cor	Padrão	Com chia
L^*	$55,6 \pm 0,7^b$	$59,1 \pm 0,1^a$
a^*	$4,9 \pm 0,2^a$	$4,6 \pm 0,2^a$
b^*	$9,3 \pm 0,1^a$	$7,1 \pm 0,2^b$
C^*	$10,6 \pm 0,2^a$	$8,5 \pm 0,3^b$
h_{ab}	$61,6 \pm 0,9^a$	$57,2 \pm 0,6^b$
ΔE^*		4,12

*Média de três repetições \pm desvio padrão. Letras distintas na linha diferem significativamente ($p < 0,05$).

Em relação à luminosidade, que varia do branco ($L^*= 100$) ao preto ($L^*= 0$), foi observado que a formulação com chia apresentou um valor significativamente superior, ou seja, mostrou maior luminosidade. O parâmetro cromático b^* que varia de -50 (azul) a +70 (amarelo) também diferiu significativamente entre as amostras; esses valores podem estar ligados à coloração mais amarelada conferida pela carragena que foi inserida de maneira diferente da mucilagem (a qual foi previamente diluída conferindo maior luminosidade à amostra).

Para a análise do ângulo de tonalidade, o $h_{ab}= 0^\circ$ é fixado no eixo horizontal a+ (vermelho) e, girando no sentido anti-horário, tem-se, $h_{ab}= 90^\circ$ (amarelo), $h_{ab}= 180^\circ$

(verde) e $h_{ab}=270^\circ$ (azul) (Alves et al., 2008). Sabendo que o h_{ab} entre 0° e 90° caracteriza a qualidade da cor de vermelho a amarelo (Alves et al., 2008) pode-se afirmar que amostra com chia apresentou uma coloração mais avermelhada.

7.3.3. Análise reológica

Através das curvas de fluxo (dados não mostrados), foi identificado que as amostras apresentaram comportamento não newtoniano, ou seja, com relação não linear entre tensão e taxa de deformação. Para avaliar os diferentes perfis apresentados pelas amostras na curva de fluxo, o modelo de Ostwald-de-Waele foi utilizado, estimando-se para cada amostra os valores dos parâmetros K e n . Os valores dos parâmetros estimados para as amostras sem e com a adição de chia são apresentados nas Eqs. 3 e 4, respectivamente. Em ambos os casos o comportamento foi pseudoplástico ($0 < n < 1$), porém a adição de chia diminuiu significativamente a pseudoplasticidade da sobremesa. O coeficiente de consistência (K), que também diferiu de forma significativa entre as amostras, foi superior nas amostras com carragena. Com esses parâmetros, é possível calcular a viscosidade dos produtos, visto que ela é um importante parâmetro de controle de qualidade durante um processo industrial. Desta forma, pode-se afirmar que a amostra padrão, devido à sua maior pseudoplasticidade, está mais sujeita a mudanças em sua viscosidade durante sua produção.

$$\tau_{\text{padrão}} = (54,7 \pm 1,3) \dot{\gamma}^{(0,29 \pm 0,03)} \quad (3)$$

$$\tau_{\text{chia}} = (9,3 \pm 0,3) \dot{\gamma}^{(0,47 \pm 0,02)} \quad (4)$$

Os coeficientes de correlação (R^2) foram 0.993 e 0.986 para a amostra padrão e com chia, respectivamente, mostrando um bom ajuste dos dados. Os dados reológicos das curvas de fluxo de sobremesas analisadas por Tárrega e Costell (2006), Arcia, Costell e Tárrega (2010), González-Tomás *et al.* (2008) e Tárrega e Costell (2007) também foram adequados ao modelo de Ostwald-de-Waele. O valor de K para a sobremesa com chia se aproximou do reportado por Tárrega e Costell (2006) que estudaram sobremesas lácteas enriquecidas com inulina. Os valores encontrados por esses autores variaram de 0,4 a 12,9 Pa.s. Já os resultados de n , variaram de 0,3 a 0,6, valores similares aos encontrados neste trabalho. Arcia, Costell e Tárrega (2010) também estudaram sobremesas lácteas prebióticas e reportaram valores de K entre 12,7

e 44 e de n entre 0,34 e 0,44, resultados, também, próximos aos observados no presente trabalho. Sobremesas com baixo teor de gordura, à base de amido de tapioca e k-carragena, estudadas por González-Tomás *et al.* (2008), apresentaram valores de K entre 2,19 e 19,12 Pa.s e de n entre 0,46 e 0,52, valores esse mais similares aos reportados para a sobremesa com chia do que a amostra com carragena, fato que pode estar relacionado à baixa concentração de goma (0,01%) utilizada por esses autores.

7.3.4. Perfil sensorial

Pelo Método de Rede de Kelly, descrito anteriormente, obtiveram-se as definições dos atributos descritivos para as amostras de sobremesa, conforme Tabela 7.2.

Tabela 7.2. Definição dos termos descritivos e referências utilizadas como extremos de escala de intensidade na Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) das sobremesas à base de soja para os atributos de aparência, aroma, sabor e textura.

Termo descritor (atributo)	Definição	Referência
Aparência		
a. Cor rosa	Intensidade da cor rosa	Fraca: leite com corante (proporção: 100:1) Intensa: sobremesa (F1)
b. Consistência	Resistência ao escorrer da colher.	Fluida: leite com corante (proporção: 100:1) Firme: branquinho (Moça)
Sabor		
a. Goiaba	Intensidade do sabor característico de goiaba.	Ausente: mingau (F2) Intenso: Polpa com açúcar e suco em pó (proporção: 100:5:1,5)
b. Soja	Intensidade do sabor de soja.	Ausente: mingau (F2) Intenso: F3
Textura		
a. Cremosidade	Percepção de consistência macia na boca	Fraco: leite com corante (proporção: 100:1) Forte: doce de leite

* F1: formulação padrão sem polpa de fruta e com 20 g de suco de goiaba em pó (g/100 g). F2: 86,2 ml de leite semidesnatado; 5,2 g de amido de milho comercial; 8,6 g de açúcar (g/100 g). F3: 87,8 g de água; 8,7 g de extrato de soja; 3,5 g de proteína isolada de soja (g/100 g).

A Tabela 7.3 apresenta as médias de cada atributo avaliado para cada amostra. As amostras não diferiram significativamente entre si ao nível de 5% em relação aos

atributos cor rosa, sabor de soja, sabor de goiaba e cremosidade. Observou-se que a adição de mucilagem de chia diminuiu apenas a consistência aparente, demonstrando que esta substituição é válida, tendo em vista os benefícios proporcionados por ela.

Torrezan *et al.* (2004) ao verificarem o perfil sensorial de bebidas comerciais com soja sabor laranja, obtiveram escores de 2,10 a 4,50 em uma escala de 9 pontos para o atributo sabor soja, valores superiores aos reportados neste trabalho. Já Santana *et al.* (2006) determinaram o perfil sensorial de iogurte light comercial sabor pêssego e verificaram que a proteína de soja contida na versão do produto “adicionado de proteína de soja” não interferiu na aceitação do consumidor.

Tabela 7.3. Média dos atributos selecionados pela equipe treinada para as sobremesas com soja.

Atributo	Média da equipe sensorial	
	Formulação padrão	Formulação com chia
Cor rosa	2,77 ± 1,20 ^a	2,08 ± 1,49 ^a
Consistência	5,83 ± 1,27 ^a	3,30 ± 1,86 ^b
Sabor soja	1,15 ± 1,95 ^a	0,91 ± 1,17 ^a
Sabor goiaba	4,84 ± 2,54 ^a	5,21 ± 2,16 ^a
Cremosidade	6,81 ± 0,55 ^a	6,07 ± 0,96 ^a

*Letras distintas na linha diferem significativamente ($p < 0,05$).

Diferente do presente trabalho, que utilizou polpa de fruta para mascarar o sabor de soja, Torres-Penaranda e Reitmeier (2001) utilizaram diferentes linhagens do grão (livres de lipooxigenase) com esse mesmo propósito e fizeram análise descritiva quantitativa de leite de soja. Tal como esperado, os autores verificaram que a intensidade do sabor de soja foi menor nos leites de soja a partir de grãos livres de lipooxigenase do que para o leite com grão sem modificação.

Tárrega e Costell (2007) avaliaram o perfil sensorial de sobremesas lácteas comerciais sabor baunilha e também detectaram diferenças significativas na cremosidade das amostras, fato relacionado à formulação dos produtos, que diferiu quanto aos componentes (amido, carragena, goma guar, goma xantana etc.) e quantidade dos mesmos.

7.4. Conclusão

Este estudo mostrou que a substituição da carragena em sobremesas à base de soja pela mucilagem de chia não proporcionou grandes modificações nas características tais como pH, °Brix, coordenada cromática a^* e nos atributos sensoriais cor rosa, sabor de goiaba, sabor de soja e cremosidade. A referida substituição teve efeito significativo sobre o comportamento reológico do produto, tornando-o menos viscoso, porém também menos pseudoplástico. Estas mudanças reológicas foram percebidas apenas na consistência visual da amostra.

7.5. Referências

- Alm, L. *Lactose intolerance*. In h. Roginsky, j. W. Fuquay, & p. F. Fox (eds.). *Encyclopedia of dairy sciences*. London: Academic Press. 2002. 1533-1553 p.
- Alves, C. C. O., Resende, J. V., Cruvinel, R. S. R. e Prado, M. E. T. Estabilidade da microestrutura e do teor de carotenóides de pós obtidos da polpa de pequi (caryocar brasiliensi camb.) liofilizada. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.28, n.4. 2008.
- Aoac. *Official Method 932.12*. Gaithesburg, Estados Unidos 2000a.
- Aoac. *Official Method 981.12*. Gaithesburg, Estados Unidos 2000b.
- Arcia, P. L., Costell, E. e Tárrega, A. Thickness suitability of prebiotic dairy desserts: Relationship with rheological properties. *Food Research International*, v.43, n.10, p.2409-2416. 2010.
- Capitani, M. I., Spotorno, V., M., N. S. e Tomás, M. C. Physicochemical and functional characterization of by-products from chia (salvia hispanica l.) seeds from argentina. *Food Science and Technology*, v.45, p. 94-102. 2012.
- Friedman, M. e Brandon, D. L. Review: Nutritional and health benefits of soy proteins *Journal of Agricultural and Food Chemistry* v.49, p.1069–1086. 2001.
- González-Tomás, L., Bayarri, S., Taylor, A. J. e Costell, E. Rheology, flavour release and perception of low-fat dairy desserts. *International Dairy Journal*, v.18, n.8, p.858-866. 2008.
- Granato, D., Masson, M. L. e Ribeiro, J. S. C. B. Sensory acceptability and physical stability evaluation of a prebiotic soy-based dessert developed with passion fruit juice. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.32, p.119-126. 2012.
- Granato, D., Ribeiro, J. C. B., Castro, I. A. e Masson, M. L. Sensory evaluation and physicochemical optimisation of soy-based desserts using response surface methodology. *Food Chemistry*, v.121, n.3, p.899-906. 2010.

- Lin, K. Y., Daniel, J. R. e Whistler, R. L. Structure of chia polysaccharide exudate. *Carbohydrate Polymers*, v.23, p.13-18. 1994.
- Moskowitz, H. R. *Product testing and sensory evaluation of foods*. Westport: Food e Nutrition Press. 1983. 605 p.
- Muñoz, L. A., Aguilera, J. M., Rodriguez-Turienzo, L. e Cobos, A. D., O. . Characterization and microstructure of films made from mucilage of salvia hispanica and whey protein concentrate. *Journal of Food Engineering*, v.111, p.511-518. 2012.
- Peiretti, P. G. e Gai, F. Fatty acid and nutritive quality of chia (*salvia hispanica* L.) seeds and plant during growth. *Animal Feed Science Technology*, v.148, p.267-275. 2009.
- Reyes-Caudillo, E., Tecante, A. e Valdivia-López, M. A. Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in mexican chia (*salvia hispanica* L.) seeds. *Food Chemistry*, v.107, p.656-663. 2008.
- Santana, L. R. R., Santos, L. C. S., Natalicio, M. A., Mondragon-Bernal, O. L., Elias, E. M., Silva, C. B., Zepka, L. Q., Martins, I. S. L., Vernaza, M. G., Castillo-Pizarro, C. e Bolini, H. M. A. Perfil sensorial de iogurte light, sabor pêssego. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.26, n.3, p.619-625. 2006.
- Soler, L. *Development of non-dairy frozen emulsion containing soy protein and coconut milk* Department of Food Science, Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College, Louisiana, 2005. 84 p.
- Souza, T. L. A. e Miranda, C. F. *Desenvolvimento da mousse de milho verde diet com ingredientes funcionais*. CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. Belo Horizonte, 2008. p.
- Soyfoods: Sales and trends . <http://www.soyfoods.org/products/sales-and-trends>. 2010.
- Stone, H. e Sidel, J. L. *Descriptive analysis. Sensory evaluation practices*. London: Academic Press. 2004. 311 p.
- Tárrega, A. e Costell, E. Effect of inulin addition on rheological and sensory properties of fat-free starch-based dairy desserts. *International Dairy Journal*, v.16, n.9, p.1104-1112. 2006.
- Tárrega, A. e Costell, E. Colour and consistency of semi-solid dairy desserts: Instrumental and sensory measurements. *Journal of Food Engineering*, v.78, n.2, p.655-661. 2007.
- Teh, Y. H., Dougherty, M. P. e Camire, M. E. Frozen blueberry-soy dessert quality. *Journal of Food Science*, v.70, n.2, Mar, p.S119-S122. 2005.
- Torres-Penaranda, A. V. e Reitmeier, C. A. Sensory descriptive analysis of soymilk. *Journal of Food Science*, v.66, n.2, p.352-356. 2001.
- Torrezan, R. E. A. Avaliação do perfil sensorial de alimento com soja sabor laranja. *Boletim CEPPA*, v.22, n.2. 2004.

Capítulo 8 – Artigo 4

Effect of ultrasound treatment on particle size, rheology, microstructure, color and water holding capacity of custard-like soy-based desserts

Abstract

Power ultrasound has vast potential in the food industry, however there are no works on its effects on desserts. Thus, the objectives of this study were to investigate the effect of ultrasound as a mixture or homogenization step or as a tool to modify the texture of the soy-based desserts without reformulate the product. Different properties of soy-based desserts were evaluated and the behavior of the samples during storage under refrigeration (60 days) was monitored. The samples were treated with an ultrasound probe for 1, 3 and 5 minutes. The treated samples showed lower mean particle size, lower consistency index, higher flow index and clear difference in their microstructure. However, water holding capacity and particle size dispersion index values did not differ among untreated and treated soy based desserts for 1 and 3 minutes and none of the treatments caused visible color differences among the samples. Periodically, rheological properties, pH, soluble solids content, color, particle size and water holding capacity were determined. After 60 days, all evaluated properties differ significantly, except the pH.

Keywords: Ultrasound; Soyfoods; Rheology; Desserts.

8.1. Introduction

High-power ultrasound is gaining importance as an alternative food processing technology, being used for different purposes. Examples include homogenization of milk (Bermudez-Aguirre et al., 2009a; Bermudez-Aguirre et al., 2009b; Czank, Simmer

& Hartmann, 2010), mixture step of cereal-based viscous fluids such as batter cake for texture improvement (Tan, Chin & Yusof, 2011), reduction of the density of products such as ice cream, mousse and confectionary (Lim & Barigou, 2005), and increase of the final product viscosity of tomato puree (Bates, Bagnall & Bridges, 2006).

Regarding specifically soy-based desserts, to the best of our knowledge, there is no study in the literature evaluating the effect of the use of ultrasound on the texture and stability of this type of product. However, some individual components of soy-based desserts (soy, starches and other polysaccharides) have already been treated with ultrasound and its effect on different properties examined.

Jambrak et al. (2009) have studied the influence of ultrasound treatment on physical properties of soy protein isolates and concentrates, reporting that in both cases the treatment with 20 kHz probe (for 15 or 30 min) increased solubility, emulsion activity index and specific surface area of the samples, with the two latter effects being advantageous in terms of food texture. Similar increase in solubility with ultrasound treatment (probe at 20 and 40 kHz and bath at 500 kHz) was also found for whey protein isolate and hydrolysate by Jambrak et al. (2008). However, the same study showed that no significant increase of solubility was observed for whey protein concentrate under the same treatment conditions, which was attributed to a protective effect of the lactose present in the whey concentrate. Morel et al. (2000), studying sonicated wheat protein, attributed the increase in protein solubility to protein conformational changes and decrease in molecular weight caused by the breakage of peptide bonds. On the other hand, Jambrak et al. (2014) analyzed the whey protein fractions by sodium dodecyl sulphate–polyacrylamide gel electrophoresis and conclude that ultrasound-induced changes are associated with partial cleavage of intermolecular hydrophobic interactions, rather than peptide or disulphide bonds.

Ultrasonic treatment has also been applied to corn, potato, tapioca, and sweet potato starches (Huang, Li & Fu, 2007; Luo et al., 2008; Jambrak et al., 2010; Montalbo-Lomboy et al., 2010; Sujka & Jamroz, 2013), gelatinized starches (Iida et al., 2008), solutions of other polysaccharides (Lii et al., 1999; Iida et al., 2008; Azizi & Farahnaky, 2013) and high molecular weight exopolysaccharides (Wang et al., 2010). The authors have reported decrease in viscosity, molecular weight and particle size values of the treated samples and have attributed these results to depolymerization

processes resulting in partial cleavage of glycosidic linkages in amylopectin and amylose units (Iida et al., 2008). In addition, higher values of solubility have been verified due to cavitation forces that promote the disruption of crystalline structures and formation of shorter chain molecules like reducing sugars (Singh et al., 2003).

Taking into account the information above, the ultrasound has potential to be used as a mixture or homogenization step or to modify the texture of the soy-based desserts without reformulate the product. To the best of author's knowledge, only a few documents are available on rheology of milk creamy desserts treated with high pressure (Rapaille, Vanhemelrijck & Mottar, 1988; Rapaille & Vanhemelrijck, 1992; Sohrabvandi et al., 2013). Furthermore, it is also important to mention that although there is broad range of ready-to-eat milk based desserts available, there is a greater pressure for the direct consumption of vegetable proteins in food products due to recent animal diseases, cholesterol intake worries and strong demand for healthy food. In this study, the effects of the ultrasonic process on soy-based desserts has been evaluated by measuring the changes in pH, soluble solids content, rheological properties, color, water holding capacity and microstructure of the samples.

8.2. Materials and Methods

The ingredients used in the formulations included water-soluble soy extract (Olivebra Industrial S/A, Eldorado do Sul, Brazil), sucrose (União, Limeira, Brazil), carboxymethylcellulose (CMC) (Hexus Food, Portão, Brazil), powdered guava juice (Kraft Foods, Curitiba, Brazil), carrageenan (Cargill Alimentos, Minnesota, United States), polydextrose (Danisco Brasil Ltda, Cotia, Brazil), cross linking starch (Corn Products Brasil Ingredientes Industriais, Mogi-Guaçu, Brazil), and guava pulp (Mais Fruta, Antônio Prado, Brazil).

8.2.1. Sample preparation

Soy-based dessert were prepared as follows: i) hydration of water soluble soy extract in water at 40 °C for 15 minutes at 100 rpm; ii) addition of dry ingredients to the soy solution at 1000 rpm for 15 min; iii) addition of the gelatinized starch and of the guava pulp under agitation (1000 rpm) for 10 min; iv) ultrasound treatment; v) filling into sterilized glass containers; vi) pasteurization at 75°C for 30 s; and vii) storage at 7 ± 1°C. The starch used in step (iii) was previously gelatinized in a water-bath at 100°C for 5 min to provide total gelatinization.

The ingredients and quantities (g/100 g) used in the formulation were: sucrose (9), guava pulp (16.5), water soluble soy extract (6.5), modified starch (3.7), povidone (2), powdered guava juice (1.5), carboxymethylcellulose (0.4), carrageenan (0.3), and mineral water (*quantum sufficit* for 100 g). This formulations corresponds to one of the formulations produced in the preceding paper (Spada et al., 2014), and it was chosen due to its high viscosity.

8.2.2. *Ultrasound treatment*

Desserts were sonicated, before pasteurization, in 100 g aliquots in 250 mL glass vessel, using a 20 kHz, 750 W ultrasonic horn (12 mm diameter, Sonics Vibracell, model VC750, Newtown, USA), for 1 min (US-1), 3 min (US-3) and 5 min (US -5). The ultrasonic intensity was 316 W cm⁻² (amplitude of 40 %). All samples were periodically evaluated (1, 10, 25, 35, 45 and 60 days) with relation to: pH, soluble solids content, water holding capacity, particle size distribution, color, and rheological behavior.

8.2.3. *Soluble solids content and pH*

Soluble solids content was measured with a refractometer (Carl Zeiss Gmbh, 32-Gmodel, Vienna, Austria), following the AOAC 981.12 (AOAC, 2000c). Measurements of pH were carried out according to the AOAC 932.12 (AOAC, 2000a) using a pH meter (Tecnal, TEC-3MP model, Piracicaba, Brazil).

8.2.4. *Water holding capacity (WHC)*

The water holding capacity (*WHC*) of the soy-based desserts was initially determined as in Harte et al.(2003): during the storage at 7°C, a sample of about 20 g of dessert (*DE*) was put in a cylindrical glass measurement cell and centrifuged for 45 minutes at 3300 g at an average temperature of 7 °C. In order to verify the stability of the sample under more drastic conditions, a modified version of this method was also used, with the following changes: after 120 h of storage at 25°C, a sample of about 20 g of dessert (*DE*) was centrifuged for 45 minutes at 3300 g at an average temperature of 25 °C. All tests were carried out in triplicate. The serum expelled (*SE*) was removed and weighed. The *WHC*, expressed in %, was defined as:

$$WHC = 100 \times (DE - SE) / DE \quad (1)$$

The values of *WHC* obtained by the original methodology of Harte et al.(2003) and by its modified version were used to designate as $WHC_{7^{\circ}C}$ and $WHC_{25^{\circ}C}$, respectively.

8.2.5. Particle size distribution

The non-soluble material in the samples was characterized with relation to particle size distribution using laser diffraction (Cilas 1180 Liquid; Cilas Corporate, France) using water as dispersing agent. The samples were previously dispersed in distilled water in a ratio of 1:10 w/v. The volume mean diameter ($D_{4,3}$) and the dispersion index (*span*) were calculated by Eqs.(2) and (3), respectively:

$$D_{4,3} = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3} \quad (2)$$

$$span = \frac{d(0.9) - d(0.1)}{d(0.5)} \quad (3)$$

where, n_i is the number of particles with diameter d_i . $d(0.1)$, $d(0.5)$ and $d(0.9)$ are the average sizes corresponding to the cumulative distribution at 10 %, 50 % and 90 %, respectively.

8.2.6. Color measurement

Color was measured in a colorimeter (Konica Minolta Sensing Inc., CR 400, Japan) using optical glass cells 2 cm high and 6 cm diameter. The color reader was calibrated using a calibration dish CR A43. Three measurements were performed on each sample. Results were expressed using the CIELAB system (2 color coordinates, a^* and b^* , and a psychometric index of lightness, L^*) with reference to illuminant D65 and a visual angle of 10°. From a^* and b^* , the psychophysical parameters chroma (C^*) and hue angle (h_{ab}) are defined, respectively, as:

$$C^* = \left[(a^*)^2 + (b^*)^2 \right]^{1/2} \quad (4)$$

$$h_{ab} = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (5)$$

Moreover, color differences (ΔE^*) were calculated as the Euclidean distance between two points in the 3-D space defined by L^* , a^* and b^* :

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (6)$$

8.2.7. Rheological behavior

A rotational rheometer (Ares, TA Instruments, New Castle, USA) was used to conduct rheological measurements (steady and dynamic tests) using a plate–plate geometry (50 mm) with a gap of 1.5 mm.

Flow curves were obtained by recording shear stress values when shearing the samples at increasing shear rates from 0.1 to 300 s⁻¹ and, then, down in reverse sequence. The hysteresis area was measured as the area between the up and down curves. For sake of comparison, the values of hysteresis area were normalized by the area of the increasing shear rate stage of the respective flow curve.

Data from the downward curve of the shear cycle measured at 25 °C were fitted to Ostwald-de-Waele model (Eq. (7)):

$$\tau = K\dot{\gamma}^n \quad (7)$$

where: τ is the shear stress, $\dot{\gamma}$ is the shear rate, and K (consistency index) and n (flow index) are the parameters of the Ostwald-de-Waele model. These parameters were estimated by the least-square method, using the software Statistica 10.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA).

Dynamic frequency sweeps at 25 °C and in the range of 0.5–500 rad·s⁻¹ were also carried out. These test were performed in the linear viscoelastic region (LVR), determined for each sample by performing strain sweep tests at 10 rad·s⁻¹.

8.2.8. Microscopy observations

Optical microscopy analysis was made in order to differentiate the samples in terms of particle distribution in the fresh samples. Magnifications (40 X) of the formulations were obtained by using an optical microscope (Opton, TNB-04D, Brazil) at room temperature. The samples were diluted in water (1:10), deposited on glass microscope slid and carefully dried with flame at a distance of 20 cm. The product was then colored with a diluted safranin solution for 1 min and immediately observed. The images were captured at least in triplicate for each sample.

8.2.9. Microbiological analyses

The samples were examined for total and thermotolerant coliforms, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella* sp., total mould, and yeast counts in agreement with the procedures described by American Public Health Association - APHA and Adolfo Lutz Institute (SPECK, 1984; Instituto Adolfo Lutz, 2005); and recommended by the Brazilian's Legislation (BRASIL, 2001) based on dairy desserts and soy-based foods. All results were expressed in CFU.g⁻¹ or MPN.g⁻¹ and *Salmonella* sp. was expressed as 'absent' in 25 g.

8.3. Results and discussion

8.3.1. Effect of sonication on the fresh samples

The size distribution curves obtained by laser diffraction for all samples are presented in Figure 8.1, while the respective optical microscopy images (taken at low magnification - 40 X) are in Figure 8.2. The values of volumetric diameter ($D_{4,3}$) and *span* calculated from the distribution curves are shown in Table 8.1 together with the values of pH, the soluble solids content (SSC), and water holding capacity measured at 25 °C ($WHC_{25^{\circ}C}$).

Table 8.1. Physicochemical properties, water holding capacity and particle size of the samples.

Samples	pH	SSC	$WHC_{25^{\circ}C}$ (%)	$D_{4,3}$ (μm)	<i>span</i>
Untreated	5.06 ± 0.04 ^a	19.0 ± 0.1 ^d	98.9 ± 0.4 ^a	33.7 ± 0.8 ^a	1.28 ± 0.18 ^b
US-1	5.04 ± 0.04 ^a	20.0 ± 0.2 ^c	98.2 ± 1.2 ^a	31.5 ± 0.3 ^b	1.28 ± 0.03 ^b
US-3	5.03 ± 0.02 ^a	21.0 ± 0.2 ^b	99.1 ± 0.7 ^a	30.9 ± 0.4 ^b	1.41 ± 0.05 ^b
US-5	5.09 ± 0.02 ^a	22.0 ± 0.1 ^a	69.9 ± 1.8 ^b	28.6 ± 0.1 ^c	1.64 ± 0.07 ^a

* Means within column followed by different superscripts, are significantly different at $p < 0.05$ using Tukey test.

It can be noted in Figures 1 and 2 that the ultrasonic treatment affects the size distribution of the non-soluble material in the formulation. This effect can be quantified in terms of the values of volumetric diameter and *span* presented in Table 1. Mean particle size ($D_{4,3}$) varied significantly, according to the Tukey test ($p < 0.05$), between untreated and treated samples and with the time of treatment. Mean particle size decreased continuously from the untreated sample ($D_{4,3} = 33.7 \mu\text{m}$) to the samples treated for 5 min ($D_{4,3} = 28.6 \mu\text{m}$). These results are in accordance with that reported by

Jambrak et al. (2009) for soy protein isolate and soy protein concentrate which also has carbohydrates and fat in its composition, and by Jambrak et al. (2010), who analyzed the weight mean diameter of starches.

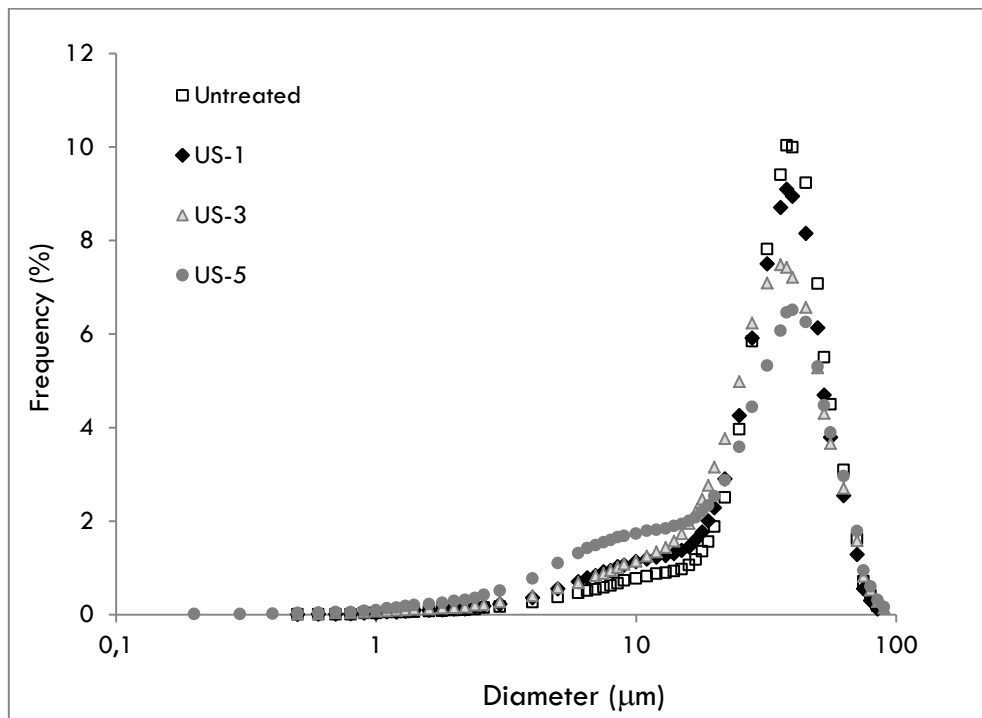


Figure 8.1. Particle size distribution curve of the untreated and sonicated desserts.

On the other hand, the effect of the ultrasonic treatment on the width of the particle size distribution only became significant for the highest time of treatment tested (sample US-5, $span = 1.64$). This result can also be observed in distribution curves of Figure 8.1, in which the height of the shoulder around 10 μm is higher than that observed in the other three samples. These results indicate that the ultrasound treatment led to the increase of the amount small particles in the sample but not to increase of homogeneity in the particle size distribution, as corroborated by the micrographs of Figure 2. Compared to results reported by other authors using high pressure homogenizers for different products, such as ice-cream (Innocente et al., 2009), yoghurts (Ciron et al., 2010) and pineapple pulp (Silva et al., 2010), the present results indicate that, for the kind of product under study, ultrasonication is less effective than high pressure in terms of homogenization of particle size. A possible cause for this behavior is the high viscosity of the dessert formulations studied, because the ultrasound absorption in a given medium increases when its viscosity increases, reducing the ultrasound waves propagation (Huang & Terentjev, 2012).

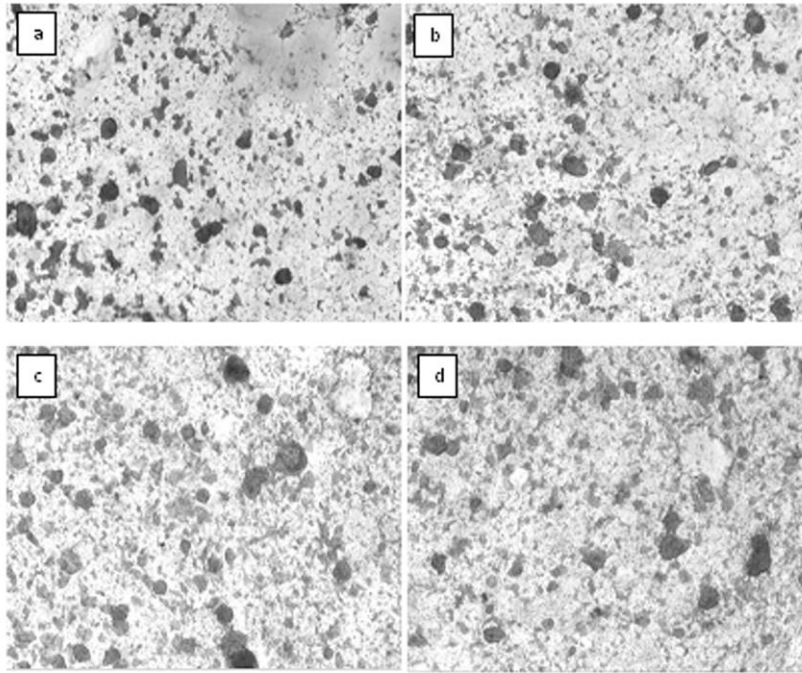


Figure 8.2. Photomicrographs (40 X) of the untreated sample (a) and of the US-treated samples for 1 min (b), 3 min (c) and 5 min (d).

The ultrasound did not cause changes in the pH values of the samples. However, the soluble solids content (*SSC*) of the samples varied significantly (Table 8.1), ranging from 19 to 22 ° Brix. The higher soluble solids content of the US-treated samples may be taken as an indicative that particle size reduction discussed previously was accompanied by the release or leaching of soluble compounds due to structural changes or breaking of some components as proteins, starch and polysaccharides.

Regarding physical stability, all samples presented $WHC_{7^{\circ}C} = 100\%$, retaining all free water (non-chemically bound) in the food matrix. However, the *WHC* measured at 25 °C behaved differently (Table 8.1). The samples treated for 1 and 3 min presented $WHC_{25^{\circ}C}$ values statistically equal to untreated sample, unlike the sample treated for 5 min which presented a lower value. When the samples are compared with samples of the preceding paper (Spada et al., 2014), it is possible to note that desserts with similar consistency index, did not show similar $WHC_{25^{\circ}C}$ values. In the preceding paper, the samples that presented consistency index about 65 Pa s, showed *WHC* of approximately 83 %; when the consistency index was reduced to about 49 Pa s, the *WHC* was also reduced to 75 %. However, the sample treated for 5 min showed similar *WHC* when compared to sample that presented analogous consistency index (~25 Pa s).

Rheogically, all desserts exhibited non-Newtonian behavior with insignificant hysteresis area, since the percentage values were very low. Experimental data obtained from the downward rheogram fitted well to the Ostwald-de-Waelle model ($0.993 < R^2 < 0.999$). As can be seen in Table 8.2, the viscosity of the samples decreased with the increase of the time of treatment (as indicated in Table 8.2 by the monotonous decrease of the consistency index). The increase of the flow index (n) with the time of treatment (Table 8.2) is a direct consequence of the decrease of viscosity and particle size (discussed before) promoted by the ultrasound, since these two effects are expected to make the flow behavior of a complex system closer to that of a Newtonian fluid.

Table 8.2. Rheological properties of the samples.

Samples	Rheological properties			
	K	n	Hysteresis area (%)	$G'/G''_{(50)}$
Untreated	78.7 ± 3.1^a	0.277 ± 0.000^d	1.1 ± 0.9^a	2.97 ± 0.11^a
US-1	65.5 ± 1.1^b	0.293 ± 0.000^c	1.3 ± 0.2^a	2.58 ± 0.08^b
US-3	49.1 ± 2.5^c	0.332 ± 0.003^b	0.7 ± 0.3^a	2.27 ± 0.01^c
US-5	23.3 ± 0.4^d	0.405 ± 0.003^a	1.1 ± 0.6^a	1.72 ± 0.03^d

* Means within column followed by different superscripts, are significantly different at $p < 0.05$ using Tukey test.

Additionally, all samples showed a clear gel-like behavior, with G' higher than G'' over the entire frequency range (Brummer, 2006). For all cases the ratio was always lower than 3, in such a way that they can be classified as weak gels, according the criterion of Lapasin and Pricl (1995). Furthermore, the gel strength decreased with the time of treatment, consistently with the effect of this parameter on the viscosity of the system. The G'/G'' ratio decreased by increasing the time of ultrasound (Table 2). The lower values of G'/G'' and consistency index of the ultrasonicated samples indicates that the ultrasound treatment leads to a more open molecular network with lower density strands and gel junction zones in the microstructure.

Finally, Table 8.3 shows the results of the color measurements. Considering all the color parameters shown in this table, the total color difference between samples ranged from 0.31 to 2.03. In industrial perspective, ΔE^* values between 1.1 and 2.8 units in the CIELAB scale are presented as a strict quality standard, values between 2.8 and 5.6 units are considered as a "normal" pattern and a "low-end" quality when ΔE^*

values are greater than 5.6 units (Melgosa et al., 2001). Then, the ultrasound did not cause significant differences on color attributes of the dessert formulation.

Table 8.3. Color parameters of the samples.

Samples	Color				
	L^*	a^*	b^*	C	h_{ab}
Untreated	54.36 ± 0.04	4.87 ± 0.01	10.96 ± 0.02	12.00 ± 0.02	66.04 ± 0.09
US-1	55.37 ± 0.01	4.98 ± 0.02	12.72 ± 0.01	13.66 ± 0.01	68.62 ± 0.10
US-3	55.52 ± 0.02	4.83 ± 0.01	11.95 ± 0.02	12.89 ± 0.02	67.98 ± 0.02
US-5	55.62 ± 0.02	5.12 ± 0.02	11.93 ± 0.01	12.98 ± 0.02	66.77 ± 0.07
ΔE^*					
UN/US-1	UN/US-3	UN/US-5	US-1/US-3	US-1/US-5	US-3/US-5
2.03	1.52	1.60	0.80	0.85	0.31

ΔE^* – total color difference between two samples.

8.3.2. Effect of sonication on the stability of the samples under storage

After 60 days of cold storage, the untreated sample showed equal pH and SSC values (Table 8.4). The shape of the particle distribution did not change (data not shown), but there was a slight shift in the distribution towards the smaller particle sizes on storage, resulting in a small decrease in the volume mean diameter ($D_{4,3}$) from 33.69 μm to 26.71 μm . The water holding capacity value differed significantly ($p < 0.05$), however it remained high ($> 90\%$). Moreover, the sample showed no noticeable whey separation on storage and can therefore be considered as having good stability. However, the rheological properties changed during the storage, with decrease of consistency index and G'/G'' ratio, and increase of flow index values and percentage of hysteresis area.

Table 8.4. Properties of the samples at first day and after 60 days of storage.

Properties	Untreated		US-1		US-3		US-5	
	1	60	1	60	1	60	1	60
<i>pH</i>	5.06 ^a	5.01 ^a	5.04 ^a	4.97 ^a	5.03 ^a	4.97 ^a	5.09 ^a	5.05 ^a
<i>SSC</i>	19 ^a	19 ^a	20 ^a	20 ^a	21 ^a	19 ^b	22 ^a	20 ^b
<i>WHC</i> _{7°C}	100 ^a	91.52 ^b	100.00 ^a	98.86 ^b	100 ^a	99.41 ^b	100 ^a	90.07 ^b
ΔE^*	---	3.44	-----	3.06	---	2.98	---	3.46
<i>D</i> _{4,3}	33.7 ^a	26.7 ^b	31.5 ^a	26.3 ^b	30.9 ^a	26.6 ^b	28.6 ^a	26.5 ^b
<i>span</i>	1.28 ^a	1.23 ^a	1.28 ^b	1.49 ^a	1.41 ^a	1.55 ^a	1.64 ^a	1.76 ^a
<i>K</i> _{25°C}	78.7 ^a	18.5 ^b	65.5 ^a	17.1 ^b	49.1 ^a	11.4 ^b	23.3 ^a	5.8 ^b
<i>n</i>	0.277 ^b	0.423 ^a	0.293 ^b	0.445 ^a	0.332 ^b	0.466 ^a	0.405 ^b	0.535 ^a
<i>G'/G''</i>	2.96 ^a	2.48 ^b	2.58 ^a	2.21 ^b	2.27 ^a	1.85 ^b	1.72 ^a	1.76 ^a
Hysteresis area (%)	1.10 ^b	15.04 ^a	1.30 ^b	13.40 ^a	0.70 ^b	14.10 ^a	1.10 ^b	14.70 ^a

*For each sample, means within lines followed by different superscripts, are significantly different at $p < 0.05$ using Tukey test.

Initially, the color parameter values of the untreated, samples were, $L^* = 55.32$, $a^* = 7.57$, $b^* = 9.05$ and $h_{ab} = 50.18$; and after 60 days were $L^* = 54.36$, $a^* = 4.87$, $b^* = 10.96$ and $h_{ab} = 66.04$. It is noted that there was a considerable reduction in the color parameter a^* leading to a change in the tonality of the sample that becomes less red (higher value of hue angle). However, the color of the all samples, after 60 days of storage, can be considered equal to initial value (first day of storage), since the ΔE^* values were lower than 5.6.

The treated samples presented practically the same behavior of the untreated sample, except the treated samples for 3 and 5 min that showed a slight reduction in the *SSC* values.

The properties that were periodically analyzed are exposed in Table 8.5 for the untreated sample. As can be seen, the *WHC*, consistency index and G'/G'' values were gradually reduced, unlike the hysteresis area (%) and flow index that were gradually increased. The other properties, *pH*, *SSC*, ΔE^* and *span* did not show significant differences over time.

Table 8.5. Properties of the untreated sample during the storage.

Properties	Time (days)					
	1	10	25	35	45	60
<i>pH</i>	5.06 ^a	5.11 ^a	5.15 ^a	5.11 ^a	5.06 ^a	5.01 ^a
<i>SSC</i>	19 ^a	19 ^a	19 ^a	18 ^a	18.5 ^a	19 ^a
<i>WHC</i> _{7°C}	100 ^a	100 ^a	97.8 ^b	97.69 ^b	97.06 ^b	91.52 ^c
ΔE^*	---	3.51 ^a	3.68 ^a	3.14 ^a	3.53 ^a	3.44 ^a
<i>D</i> _{4,3}	33.7 ^a	30.8 ^{ab}	27.6 ^b	27.1 ^b	26.8 ^b	26.7 ^b
<i>span</i>	1.28 ^a	1.28 ^a	1.25 ^a	1.24 ^a	1.24 ^a	1.23 ^a
<i>K</i> _{25°C}	78.7 ^a	62.8 ^b	38.8 ^c	28.2 ^d	22.4 ^e	18.5 ^f
<i>n</i>	0.277 ^f	0.304 ^e	0.358 ^d	0.387 ^c	0.418 ^b	0.423 ^a
<i>G'/G''</i>	2.96 ^a	2.78 ^b	2.69 ^c	2.59 ^d	2.59 ^d	2.48 ^e
Hysteresis area (%)	1.10 ^e	5.64 ^d	8.30 ^c	11.92 ^b	12.90 ^b	15.04 ^a

* Means within line followed by different superscripts, are significantly different at $p < 0.05$ using Tukey's test.

8.3.3. Microbiological stability

The dessert sample presented low counts of total and thermotolerant coliforms ($< 3 \text{ MPN.g}^{-1}$), *Staphylococcus aureus* ($< 10^2 \text{ UFC.g}^{-1}$), *Bacillus cereus* ($< 10^2 \text{ CFU.g}^{-1}$), molds and yeasts ($< 10^2 \text{ CFU.g}^{-1}$), and it did not present *Salmonella* sp. in 25 g during the 60 days of evaluation, being in accordance with the Brazilian microbiological standard of foods (BRASIL, 2001). Therefore, it can be concluded that the samples were microbiologically safe during the experiments.

8.4. Conclusion

It can be concluded that the ultrasound influenced the properties of the soy-based desserts. The ultrasound promoted significant differences in soluble solids content, pseudoplasticity, viscoelasticity, particle size and *WHC* among the samples. Moreover, considerable alterations were observed in the microstructure of the US-treated samples when compared with the untreated sample. However, the ultrasound had no effect on pH, color and percentage of hysteresis area. After 60 days under refrigerated storage, all evaluated properties differ significantly, except the pH. Soluble solids content of the US -treated samples for 3 and 5 minutes were lower. Properties as mean particle size, consistency index and the relation *G'/G''* decreased during the

storage, unlike the flow index values and percentage of hysteresis area values that increased with time. Although more studies on ultrasound are required, it can be concluded that the ultrasound has the advantage of changing the texture of the dessert, reducing its viscosity, without the need to reformulate the product and without causing negative impacts on essential properties as water holding capacity.

Acknowledgements

The authors would like to thank CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) for financial support.

8.5. References

- AOAC.(2000a). *Official Method 932.12*. Gaithesburg, United States.
- AOAC.(2000c). *Official Method 981.12*. Gaithesburg, United States.
- Azizi, R. & Farahnaky, A. (2013). Ultrasound assisted cold gelation of kappa carrageenan dispersions. *Carbohydrate Polymers* 95, 522–529.
- Bates, D. M., Bagnall, W. A. & Bridges, M. W. (2006). Method of treatment of vegetable matter with ultrasonic energy. US patent application 20060110503.
- Bermudez-Aguirre, D., Corradini, M. G., Mawson, R. & Barbosa-Canovas, G. V. (2009a). Modeling the inactivation of *Listeria innocua* in raw whole milk treated under thermo-sonication. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10, 172–178.
- Bermudez-Aguirre, D., Mawson, R., Versteeg, K. & Barbosa-Canovas, G. V. (2009b). Composition properties, physicochemical characteristics and shelf life of whole milk after thermal and thermo-sonication treatments. *Journal of Food Quality*, 32, 283–302
- Brummer, R.(2006). *Rheology essentials of cosmetic and food emulsions*. Berlin: Springer
- Ciron, C. I. E., Gee, V. L., Kelly, A. L. & Auty, M. A. E. (2010). Comparison of the effects of high-pressure microfluidization and conventional homogenization of milk on particle size, water retention and texture of non-fat and low-fat yoghurts. *International Dairy Journal*, 20, 314-320.
- Czank, C., Simmer, K. & Hartmann, P. E. (2010). Simultaneous pasteurization and homogenization of human milk by combining heat and ultrasound: Effect on milk quality. *The Journal of Dairy Research*, 77, 183–189.
- Francis, J. F. & Clydesdale, F. M.(1975). *Food Colorimetry, Theory and Application*. New York: Van Nostrand Reinhold/AVI

Harte, F., Luedecke, L., Swanson, B. & Barbosa-Cánovas, G. V. (2003). Low-Fat Set Yogurt Made from Milk Subjected to Combinations of High Hydrostatic Pressure and Thermal Processing. *Journal of Dairy Science*, 86, 1074-1082.

Huang, Q., Li, L. & Fu, X. (2007). Ultrasound effects on the structure and chemical reactivity of cornstarch granules. *Starch/Stärke* 59, 371–378.

Huang, Y. Y. & Terentjev, E. M. (2012). Dispersion of Carbon Nanotubes: Mixing, Sonication, Stabilization, and Composite Properties *Polymers*, 4, 275-295.

Iida, Y., Tuziuti, T., Yasui, K., Towata, A. & Kozuka, T. (2008). Control of viscosity in starch and polysaccharide solutions with ultrasound after gelatinization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9, 140-146.

Innocente, N., Biasutti, M., Venir, E., Spaziani, M. & Marchesini, G. (2009). Effect of high-pressure homogenization on droplet size distribution and rheological properties of ice cream mixes. *Journal of dairy science*, 92, 1864-1875.

Instituto Adolfo Lutz. (2005). *Métodos físico-químicos para análise de alimentos. (Serie A. Normas e manuais técnicos, ed.4)*, Brasília: Ed. MS

Ipsen, R., Otte, J., Dominguez, E. & Qvist, K. B. (2000). Gelation of whey protein induced by proteolysis or highpressure treatment. *Australian Journal of Dairy Technology*, 55, 49-52.

Jambrak, A. R., Herceg, Z., Šubarić, D., Babić, J., Brnčić, M., Brnčić, S. R., Bosiljkov, T., Čvek, D., Tripalo, B. & Gelo, J. (2010). Ultrasound effect on physical properties of corn starch. *Carbohydrate Polymers*, 79, 91-100.

Jambrak, A. R., Mason, T. J., Lelas, V., Paniwnyk, L. & Herceg, Z. (2014). Effect of ultrasound treatment on particle size and molecular weight of whey proteins. *Journal of Food Engineering*, 121, 15-23.

Jambrak, A. R. E., Mason, T. J., Lelas, V., Herceg, Z. & Herceg, I. L. (2008). Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspensions. *Journal of Food Engineering*, 86, 281-287.

Lapasin, R. & Pricl, S. (1995). *Rheology of industrial polysaccharides: theory and applications*. London: Blackie Academic and Professional, Chapman & Hall, v.1. 620 p.

Lii, C.-Y., Chen, C.-H., Yeh, A.-I. & Laic, V. M.-F. (1999). Preliminary study on the degradation kinetics of agarose and carrageenans by ultrasound. *Food Hydrocolloids* 13, 477–481.

Lim, K. S. & Barigou, M. (2005). Pneumatic foam generation in the presence of a high-intensity ultrasound field. *Ultrasonics Sonochemistry*, 12, 385–390.

Luo, Z., Fu, X., He, X., Luo, X., Gao, Q. & Yu, S. (2008). Effect of ultrasonic treatment on the physicochemical properties of maize starches differing in amylose content. *Starch/Stärke*, 60, 646-653.

Melgosa M, Perez M, Yebra A, Huertas A & Hita E. (2001) Algunas reflexiones y recientes recomendaciones internacionales sobre evaluación de diferencias de color. *Óptica pura y Aplicada* 34, 1-10.

- Montalbo-Lomboy, M., Khanal, S. K., Van Leeuwen, J., Raj Raman, D., Dunn Jr, L. & Grewell, D. (2010). Ultrasonic pretreatment of corn slurry for saccharification: A comparison of batch and continuous systems. *Ultrasonics Sonochemistry*, *17*, 939-946.
- Morel, M.-H., Dehlon, P., Autran, J. C., Leygue, J. P. & Bar-L'helgouac'h, C. (2000). Effects of temperature, sonication time, and power settings on size distribution and extractability of total wheat flour proteins as determined by size-exclusion high-performance liquid chromatography. *Cereal Chemistry* *77*, 685–691.
- Rapaille, A. & Vanhemelrijck, J. (1992). *Milk based desserts*. In: (Ed.). *The technology of dairy products*, Glasgow: Blackie and Son Ltd, pp.221-246
- Rapaille, A., Vanhemelrijck, J. & Mottar, J. (1988). The use of starches and gums in UHT milk desserts. . *Dairy Industries International*,, *59*, 21-25.
- Silva, V. M., Sato, A. C. K., Barbosa, G., Dacanal, G., Ciro-Velásquez, H. J. & Cunha, R. L. (2010). The effect of homogenisation on the stability of pineapple pulp. *International Journal of Food Science & Technology*, *45*, 2127-2133.
- Singh, N., Singh, J., Kaur, L., Singh Sodhi, N. & Singh Gill, B. (2003). Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chemistry*, *81*, 219-231.
- Sohrabvandi, S., Nematollahi, A., Mortazavian, A. M. & Vafaei, R. (2013). Effects of homogenization pressure and sequence on textural and microstructural properties of milk-based creamy dessert. *Journal of Paramedical Sciences*, *4*.
- Spada JC, Marczak LDF, Tessaro IC, Flôres SH and Cardozo NSM. (2014). Rheological modelling, microstructure and physical stability of custard-like soy-based desserts enriched with guava pulp. *CyTA - Journal of Food* <http://dx.doi.org/10.1080/19476337.2014.987698>
- Speck ML. (1984) - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, Washington: American Public Health Association.
- Sujka, M. & Jamroz, J. (2013). Ultrasound-treated starch: SEM and TEM imaging, and functional behaviour. *Food Hydrocolloids*, *31*, 413-419.
- Tan, M. C., Chin, N. L. & Yusof, Y. A. (2011). Power ultrasound aided batter mixing for sponge cake batter. *Journal of Food Engineering*, *104*, 430–437.
- Wang, Z.-M., Cheung, Y.-C., Leung, P.-H. & Wua, J.-Y. (2010). Ultrasonic treatment for improved solution properties of a high-molecular weight xopolysaccharide produced by a medicinal fungus. *Bioresource Technology*, *101*, 5517–5522.

Capítulo 9 – Artigo 5

Interactions between soy protein from water-soluble soy extract and polysaccharides in solutions containing polydextrose as co-solute

Abstract

This study focuses on investigation the interactions between polysaccharides (carrageenan and carboxymethylcellulose - CMC) and soy proteins from the water-soluble soy extract. The influence of pH (2-7) and protein-polysaccharide ratio (5:1 - 40:1) were investigated in aqueous solutions with 10 % of polydextrose and without polydextrose by examining pH-solubility profile of protein, ζ -potential, methylene blue-polysaccharide interactions, differential scanning calorimetry (DSC), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), wide angle X-ray diffraction, scanning electron microscopy and confocal laser scanning microscopy. Although of both soy extract-polysaccharide mixtures showed dependency on the pH and ratio, they did not present the same behavior. The presence of both polysaccharides modified the pH-solubility profile of soy protein and the pH range which the coacervate is formed shifted to a lower pH region decreasing the soy extract-polysaccharide ratio. The samples also presented detectable differences regarding to ζ -potential, DSC, FTIR and microscopy analyses. The complex formation was also detected even in a pH region where both biopolymers were net-negatively charged. The changes promoted by the presence of polydextrose were mainly detected by blue-polysaccharide interactions measures and confocal microscopy.

9.1. Introduction

Polysaccharides and proteins are classes of important food components that could affect the structure, stability and texture of food products due to their functional properties such as gelling, thickening and surface stabilizing effects (Tolstoguzov, 1991). Charge-carrying polysaccharides such as carrageenan and

carboxymethylcellulose (CMC) can interact with proteins forming soluble - or no soluble - complex capable to modify the aforementioned properties (Vikelouda & Kiosseoglou, 2004; Stone et al., 2013). For anionic polysaccharides like these, it is expected that the interaction of the carboxyl or the sulfate ions with the positively charged surface protein groups takes place at pH values between the pKa of the polysaccharide and the isoelectric point of the protein (Tolstoguzov, 1997). When charged proteins and polysaccharides, (also known as polyelectrolytes) are mixed, three different scenarios are possible: (i) segregative phase separation, when the ingredients repel each other and two phases appear, one rich in polysaccharide and poor in protein and other rich in protein and poor in polysaccharide; (ii) co-solubility, when the ingredients mix well and the solution is stable and (iii) associative phase separation or complex coacervation, where protein and polysaccharide attract each other and form two phase, a concentrated protein/polysaccharide phase and a dilute phase. By changing ingredients and/or solvent properties, a system may shift from one scenario to another (De Kruif, Weinbreck & De Vries, 2004).

Proteins can attract or repel polysaccharides depending on their origin and the medium pH, ionic strength, temperature, concentration, shear that are submitted and also the presence of other components/ligands (Delben & Stefancich, 1997). The polysaccharide-protein complexes could show different properties from each individual biopolymer and, due to this fact, they can be used in food applications with different purposes such as stabilizing air-water or oil-water interfaces or modifying the texture (viscosifying and gelling properties).

Since the soy protein presents a well-balanced amino-acid composition, it is considered a high-quality protein, showing great potential in the substitution of meat and dairy proteins in comparison to others protein vegetable sources (Friedman & Brandon, 2001). Soy derivatives as water-soluble soy extract are widely employed in food industry due to its high protein concentration (~44%) (Brasil, 1978), low cost and easy addition to the formulation.

Interaction of charge-carrying polysaccharides with milk proteins (Benichou et al., 2007; Ercelebi & Ibanoglu, 2007; Bedie, Turgeon & Makhlouf, 2008), with soy proteins (Molina Ortiz, Puppo & Wagner, 2004; Braga et al., 2006; Yuan et al., 2014) with gelatin and chitosan (Michon et al., 2000; Yuan et al., 2014) in solution, emulsion

systems or gelling conditions have been the subject of several recently published research papers. The investigations on the addition of co-solute like sugar in gelling conditions have also been reported since they are capable to modify the morphology of three dimensional structures leading to the formation of gels with rubbery viscoelasticity (Sworn & Kasapis, 1998; Kasapis et al., 2003; Kasapis et al., 2004; Nickerson & Paulson, 2005). Extending these observations, some authors have conducted researches using gels containing polydextrose (Almrhag et al., 2012a, Almrhag et al., 2012b) and, just like the sugars, the polydextrose also modified the network structure of the gels. Current food formulations can contain co-solutes like polydextrose used as a bulking agent both in low sugar foods (from 4 to 10 %) or low fat foods (from 2 to 5 %) (Almrhag et al., 2012) (Mitchell, 2002). Polydextrose is a randomly linked polymer of glucose with an average degree of polymerization of 10 or 12 residues. The alpha and beta random bonds in the polymer create a structural compactness and complexity that prevents mammalian digestive enzymes from readily hydrolyzing the molecule. It has virtually no sweetness and an energy value of only 1 kcal/g; its physiological benefits of dietary fiber, low glycemic index, and prebiotic effects make it a useful ingredient in novel food and nutraceutical applications (Mitchell, 1996). In spite of the wide application of polydextrose in food industry, to the best of our knowledge, there is no information about the influence of the addition of this co-solute in solutions which present protein-polysaccharide interactions.

In the present work, the influence of pH and protein-polysaccharide ratio on the interactions between them was investigated in aqueous solutions with polydextrose (10 %) and without polydextrose by examining methylene blue-polysaccharide interactions, ζ -potential, viscosity, pH-solubility profile of protein, differential scanning calorimetry, Fourier transform infrared spectroscopy, and scanning electron microscopy.

9.2. Material and methods

9.2.1. Materials

The water-soluble soy extract (denoted by SE) was provided by Olvebra Industrial S/A (Eldorado do Sul, Brazil). In accordance with the company information,

the physicochemical composition of the soy extract was 10 % of moisture, 18.5 % of carbohydrates, 44 % of protein, 26 % of fat and 1.5 % of fiber. The total content of protein was confirmed by Kjeldahl analysis. Carrageenan with *iota e lambda* forms was provided by Cargill Alimentos (Minnesota, United States) and carboxymethylcellulose was donated by Hexus Food (Portão, Brazil). Litesse® (Danisco Brasil Ltda, Cotia, Brazil) was the raw material used as source of polydextrose. The powder was of 90 % purity with 4 % moisture and with an average degree of polymerization of 12 glucose residues.

9.2.2. *Sample preparation*

Water-soluble soy extract (5 %) and polysaccharides (0.1 %) solutions were prepared in distilled purified water under magnetic stirring at room temperature and kept under refrigeration for 48 h until complete dissolution of the components. Different soy extract-polysaccharide ratios (5:1, 10:1, 20:1 and 40:1) were prepared from mixtures of stock solutions.

9.2.3. *ζ-potential*

The ζ-potentials of the samples were determined using microelectrophoresis equipment (Brookhaven Instruments Corporation®, Zeta Plus, NY, USA). Aqueous solutions samples (0.01% of solids) with different soy extract-polysaccharide ratios and pH were prepared and filled into a disposable ζ-potential folded capillary cell (DTS1060). The mixtures were prepared in aqueous solution of KNO_3 10^{-3} mol.L⁻¹ and the pH was adjusted by the addition of KOH and HNO₃. The instrument determined the electrophoretic mobility. The Henry equation was then applied for calculating the ζ-potential (expressed in mV). All measurements were conducted in duplicate.

9.2.4. *pH-solubility profile of protein*

Protein solubility as a function of pH (2–7) was determined on water-soluble soy extract (SE) and on soy extract-polysaccharides samples. Water dispersions were stirred for 1 h at room temperature ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) and pH was adjusted to the desired value with diluted solutions of HCl or NaOH. Dispersions were centrifuged at 10,000g for 10 min at 10°C , and protein content was measured by Lowry method (Lowry et al., 1951). Solubility was expressed as a percentage (g of soluble protein/0.44 g of soy extract in sample). All solubility determinations were performed in triplicate.

9.2.5. *Methylene blue–carrageenan interaction measures*

An alternative method to investigate possible interactions between polysaccharide and protein molecules is through the methylene blue–polysaccharide interaction experiments. However, this type of measure was conducted only for samples with carrageenan since the samples with CMC presented the same spectrum of blue–methylene (Figure 9.1a).

Aqueous solutions of carrageenan and methylene blue (MB) with a concentration of 0.1% w/v and 0.001% w/v, respectively, were prepared and then were properly mixed to obtain a series of mixed polysaccharide–dye solutions containing 1 mL of 0.001% w/v MB and 1 mL of carrageenan varying in concentration between 0 and 0.01% w/v (Figure 9.1b). The change in the ratio between the absorbance obtained at 664 and 557 nm with the increase in polysaccharide concentration in the mixed dye–carrageenan solutions was then followed in order to determine whether MB–carrageenan interaction took place or not. In a second experiment, 1 mL of the mixtures containing 0.002% w/v of carrageenan and different contents of soy extract (5:1, 10:1, 20:1 and 40:1) at different pHs (2, 5 and 7) were mixed with the dye and the evolution of the ratio of the absorbance value at 664 and 557 nm was followed as a function of soy extract concentration as in an attempt to search for possible interaction between the polysaccharide and the protein molecules (Benichou et al., 2007).

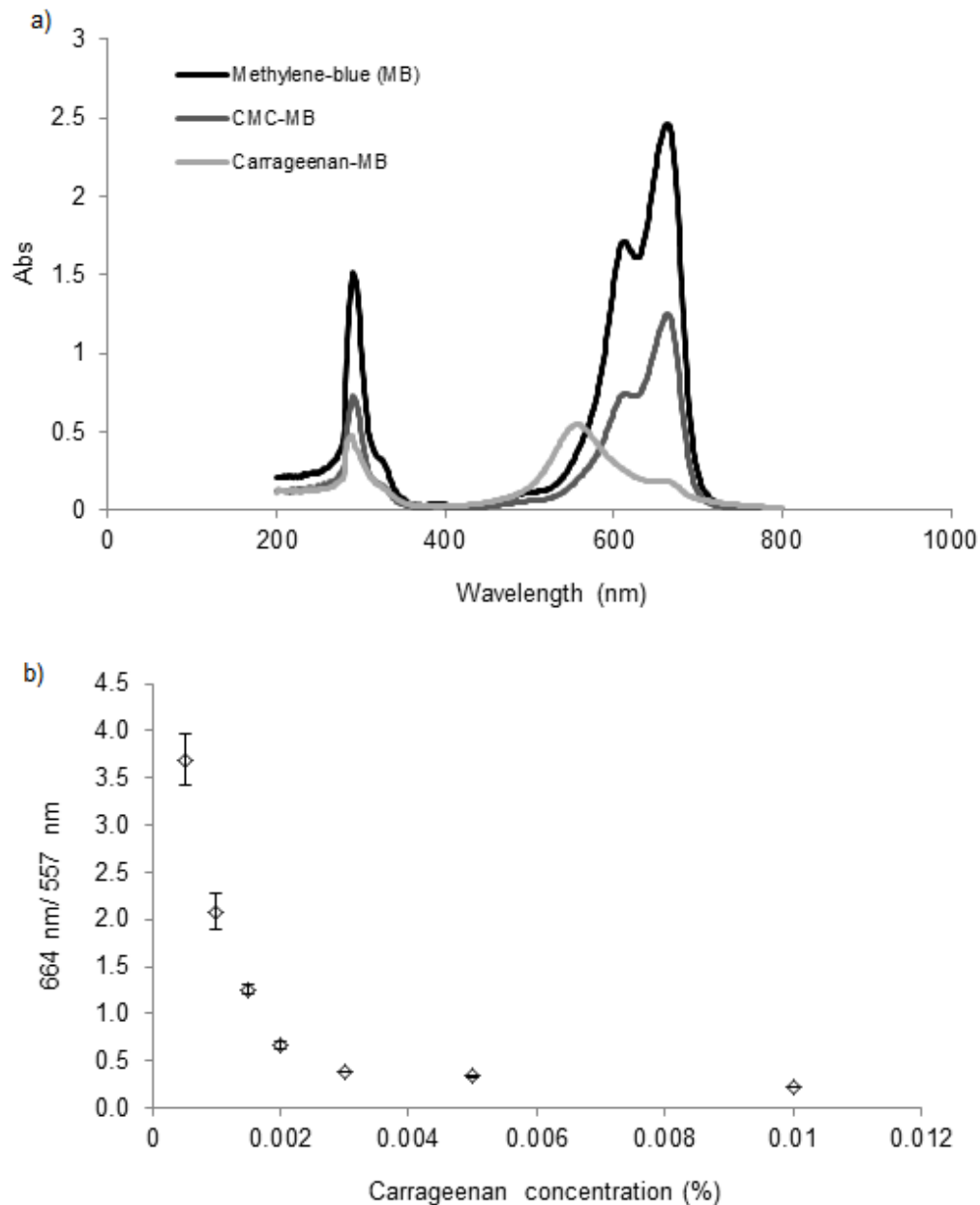


Figure 9.1. a) Spectrum of methylene-blue (MB), carrageenan-MB and CMC-MB. b) Curve of carrageenan concentration *versus* the ratio between 664 nm and 557 nm.

9.2.6. Intrinsic viscosity

The viscosities of the polysaccharide solutions were measured using a size 100 Cannon-Fenske capillary viscometer (Schott Instruments, Germany). The viscometer was immersed in a water bath (CT 52, Schott Instruments, Germany) maintained at 40°C (this temperature was chosen due to problems with extract solubilization at lower temperatures). Distilled water runs were performed regularly to calibrate the instrument. The relative viscosity of a given solution η_{rel} (defined as the ratio between the solution

and solvent viscosities) was determined by measuring the relative efflux times in the capillary. Viscosity values were based on at least 8 efflux time readings taken for various concentrations of polysaccharide solution at pH 7 and pH 5. All measurements were made in the range of concentration from 0.05 % to 0.01 % (w/v) at 40°C.

The Kraemer equation (Eq. (1)), which expresses the inherent viscosity of a polymer as a function of concentration, was found to be suitable for the solutions in the dilute region.

$$\eta_{rel} / C = [\eta] - k_k [\eta]^2 C \quad (1)$$

where $[\eta]$ is the intrinsic viscosity, C is the polysaccharide concentration, η_{rel}/C is the inherent viscosity and k_k is the Kraemer parameter.

9.2.7. Differential scanning calorimetry (DSC)

To perform the analyses of DSC, FTIR, MEV and wide angle X-ray diffraction, the stock solutions of soy extract and polysaccharides, as well as their mixtures, were freeze-dried (LS 6000, Terroni Equipamentos®, São Carlos, Brazil). The mixtures analyzed were samples with carrageenan with ratios of 5:1 and 20:1 at pH 2, and 20:1 at pH 5 and pH 7 and with CMC with ratios 5:1 at pH 3 and 5, and 20:1 at pH 3, 5 and 7. These conditions were chosen based on previous results of pH-solubility profiles.

The samples (~5.0 mg) were accurately weighed into aluminum pans, and before analysis, the aluminum pans were hermetically sealed and equilibrated at room temperature for 2 h. A sealed empty pan was used as reference and runs were performed at 10 °C/min in a range of 20–250 °C using DSC equipment (DSC 6000, Perkin Elmer). Nitrogen and Argon were applied throughout the measurement. T_m was defined as the peak regarding to melting temperature. All experiments were conducted in triplicate.

9.2.8. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)

FTIR spectroscopy was performed on spectrometer equipped with a ZnSe single reflection ATR crystal (Bruker Alpha, Eco-ATR, USA). The freeze dried mixtures were examined to identify the nature of molecular interactions between the constituents. Spectra were obtained in absorbance mode for the wavelength range of 600–4000 cm^{-1} with a resolution of 4 cm^{-1} and measurements were averaged on 16 scans. All spectra

were smoothed using the Savitzky–Golay function and the areas of the peaks are calculated using the Matlab software (v. 5.3, Mathworks Inc., Natick, USA).

9.2.9. *Scanning electron microscopy (SEM)*

The freeze dried samples were mounted on circular aluminum stubs with double-sided sticky tape, gold plated under a high-vacuum mode, then examined using a scanning electron microscope (Carl Zeiss, EVO 50, Germany) at an acceleration voltage of 5 kV and magnifications of 200 x and 10,000 x.

9.2.10. *Confocal Laser Scanning Microscope (CLSM)*

The CLSM-images of the mixtures were recorded at room temperature using a laser scanning confocal microscope (Olympus America Inc., Melville, NY), equipped with an inverted microscope (Olympus FV 1000), and a 60× oil-immersion objective. Before imaging, the mixtures (protein content of 5 mg/mL) were mixed with Rhodamine B solution (8 µL of 0.2 wt. % solution per mL sample). After that, 20 µL of the stained mixture was placed on a slide. The incident light was emitted by a laser beam at 473 nm. Multiple fields of view were examined for each sample and a representative image selected. The stains selected showed the protein as green against a black background.

9.2.11. *Wide angle X-ray diffraction*

These measurements were carried out using an X-ray Diffractometer (Phillips, X'pert MPD, USA) attached with Cu radiation (0.1542 nm). The instrument operates at an accelerating voltage and current of 40 kV and 40 mA, respectively. Freeze dried mixtures were placed on a tray holder, which was then continuously scanned to obtain the diffractograms within a 2θ range between 5° and 120° .

9.3. Statistical Analysis

Data were subjected to one-way analysis of variance (ANOVA) by means using the Statistica software (Statistica, version 10.0, Tulsa,). Post hoc multiple comparisons were determined by Tukey's test with the level of confidence of 95 %.

9.4. Results and discussion

9.4.1. ζ -potential

Figure 9.2 shows the ζ -potential of the soy extract together with soy extract-carrageenan (Figure 9.2a) and soy extract-CMC mixtures (Figure 9.2b) as a function of pH. The points are joined by lines just for the sake of a better visualization. As can be seen, the ζ -potential of protein from soy extract attained to zero (isoelectric point) between pH 4-5, i.e., in this range the electrostatic repulsive force is reduced. Similar data were reported by Yuan et al. (2014) who studied the fractions of soy protein 7S and 11S and verified the isoelectric point at pH 4.3 and 5.1, respectively and by Lam et al. (2007) who found the isoelectric point of their commercial soy protein isolate at pH 4.4. Over the pH range used in the present work, polysaccharides have a negative charge that decreases with decreasing pH. In the range of pH 2 to pH 4, carrageenan and CMC have a negative charge and soy extract has a positive charge; at pH > 5 both the soy protein and polysaccharides are negatively charged. So, it is expected the strongest electrostatic complexes to form when the charges on the two polymers are opposite to one another.

The addition of carrageenan or CMC significantly reduced the ζ -potential ($p \leq 0.05$) of protein for, practically, all pH values and ratios. Mixtures showed significantly different ζ -potential–pH curves, since the curves of mixtures are settled between the two individual polymers. As can be seen, the zero value of ζ -potential of the soy extract-polysaccharide mixtures shifted to lower pH values. The ratios 10:1 and 20:1 presented isoelectric point between pH 3-4, and the ratio 5:1 did not present isoelectric point. It was verified that the presence of polydextrose did not cause significant changes in the ζ -potential values of the both mixtures (data not shown).

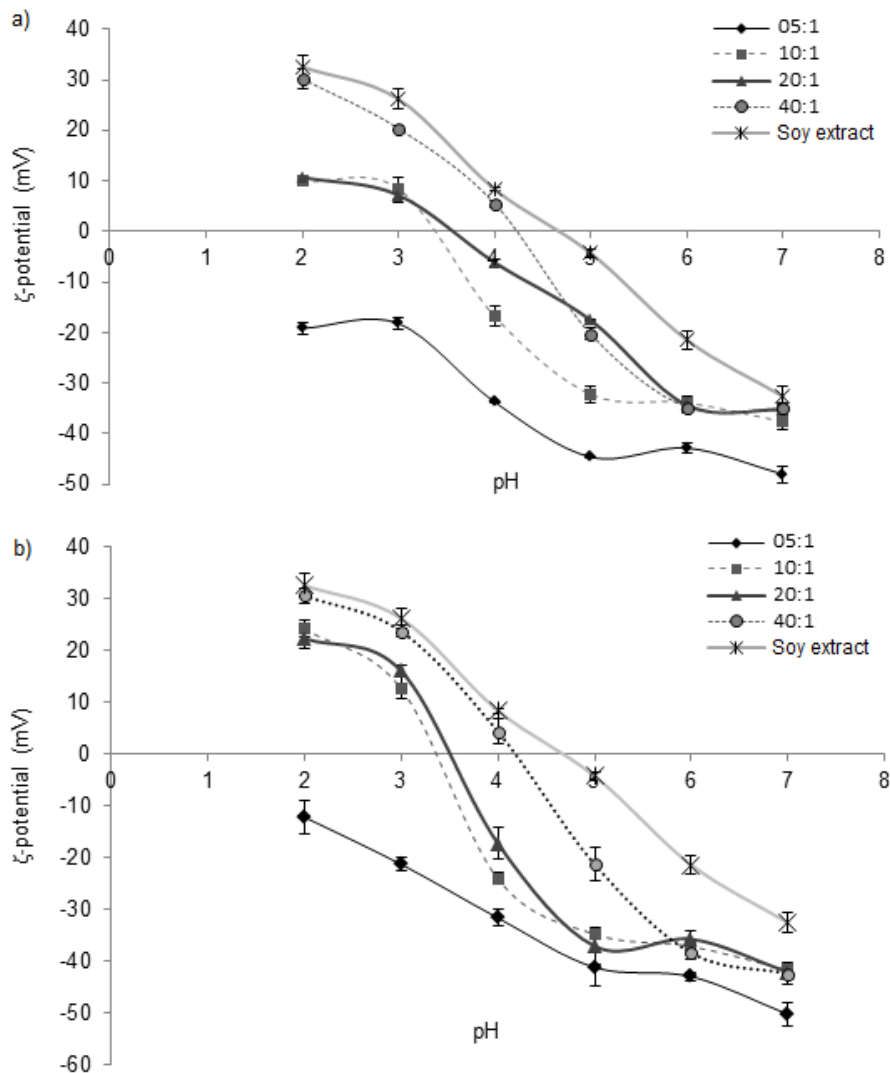


Figure 9.2. ζ -potential of the soy extract together with carrageenan (a) and CMC (b) in different ratios.

9.4.2. *pH-solubility profile of protein*

Figure 9.3 shows protein solubility profiles as a function of pH of the water-soluble soy extract together with soy extract-carrageenan (Figure 9.3a) and soy extract-CMC mixtures (Figure 9.3b). Again, the experimental points are joined for a better visualization. The soy extract sample and the mixture 40:1 for both polysaccharides showed a typical U-shaped pH-solubility profile, with a minimum of solubility at about pH 4.5 and 4.0, respectively. The solubility profile was similar, but with some different percentage values, to those reported by Malhotra and Coupland (2004) and Ortiz et al. (2004), who studied isolate soy protein. It is important to point out that the solubility of

proteins is related to presence of the four main fractioned proteins, classified according to the sedimentation velocity, and denoted by 2S, 7S, 11S, and 15S. Depending on the process that the soy has undergone to reach the extract or the isolate protein, the solubility profile will be different; this explains the differences in the solubility curves commented above.

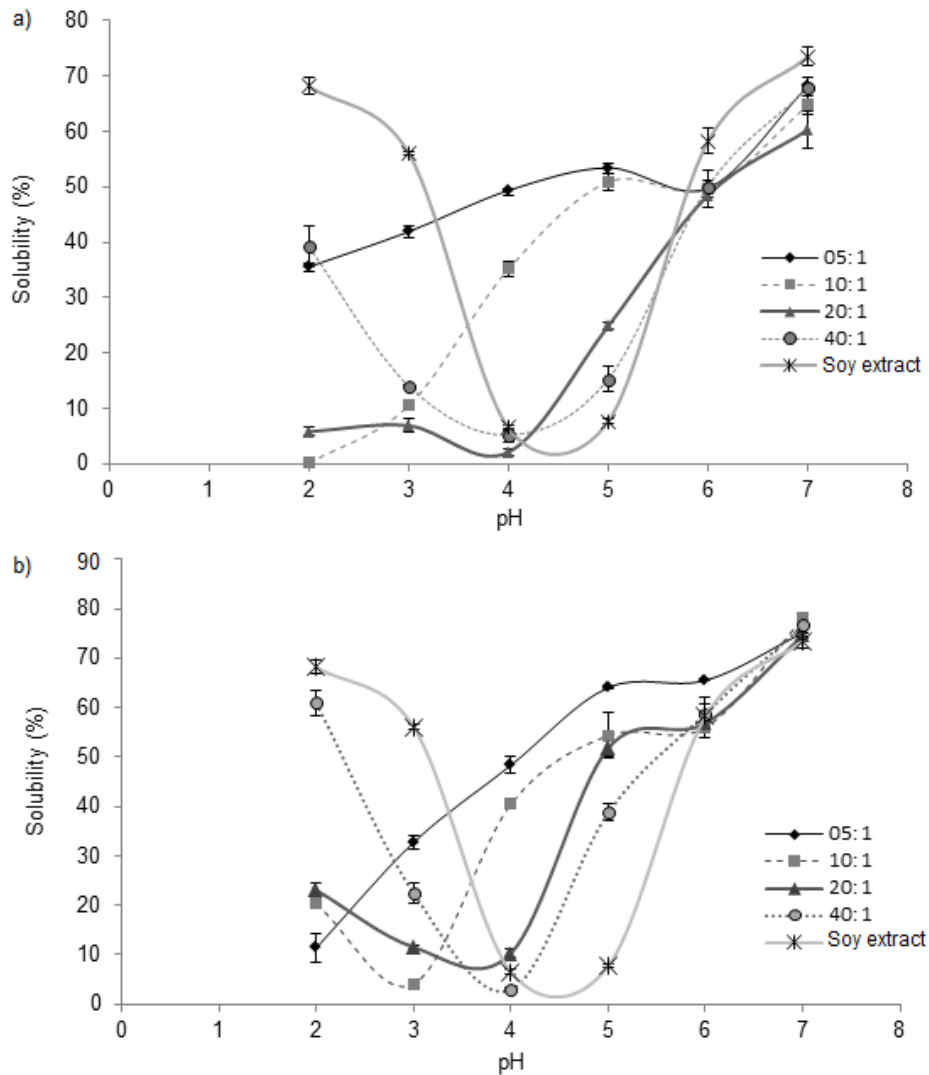


Figure 9.3. Solubility profiles as a function of pH of the soy extract mixtures with carrageenan (a) and CMC (b) in different ratios.

When the polysaccharides were added, lower solubility values were observed at lower pH. This result can be explained by considering that in specific conditions (pH and polymer concentration) soy proteins tending to form insoluble and electrically neutral complex with polysaccharides molecules; the aggregation of insoluble complex

particles is mainly due to electrostatic and hydrophobic interactions (Tolstoguzov, 2003). If the formation of the complex would not have taken place, the polysaccharides would not be linked to the protein and the soy extract-polysaccharide curves would have the same profile than the soy extract. Taking into account the net charge of both molecules (ζ -potential results presented before), it is expected that the complex formation through electrostatic unions predominates in the acidic range, in which protein has a net positive charge while the polysaccharide has a negative one.

At an alkaline pH (6 and 7), the same behavior was observed for mixtures with carrageenan. In this pH zone, the protein has a net negative charge, therefore electrostatic interactions is not expected between the polymers. Nonetheless, although to a lesser extent, a decrease in the solubility was observed, which could be attributed to the formation of hydrophobic interactions (Molina Ortiz, Puppo & Wagner, 2004). However, the results regarding to blue-methylene measures shows that, even at pH 7, the carrageenan has been consumed (results commented soon after), suggesting the existence of electrostatic interactions in the alkaline region. The occurrence of electrostatic interactions between anionic polysaccharides and globular proteins, at pH values much above the protein isoelectric point, have also been reported for a number of other protein/gum systems; they were attributed to the heterogeneity of the charge distribution on the protein surface that may favour specific attractive interactions between the polysaccharide anionic groups and positively charged regions of the protein surface, even at a pH where both biopolymers carry a net negative charge (De Kruif, Weinbreck & De Vries, 2004). In the case of soy extract-CMC mixtures, the solubility has not reduced in the alkaline region, on the contrary of carrageenan.

In the pH range 4-5, higher values of solubility were observed with the addition of the polysaccharides. In the case of the individual soy extract, in the pH range of 4-5 the soy proteins are practically uncharged, increasing the tendency of particles to aggregate. When polysaccharides (negatively charged) are added to a system, a new repulsion force between particles results from a surplus negative charge. This mechanism is used by others hydrocolloids to prevent protein aggregation, stabilizing food systems.

It is noteworthy that sugars or polyols interfere in the Lowry methodology, so the protein solubility of the samples with polydextrose was not measured.

9.4.3. Methylene blue–carrageenan interaction experiments

In order to detect the differences among the samples (different pHs and ratios), it was set the concentration at 0.002 % of carrageenan, since higher concentrations present the same absorbance values, i.e, all dye interacted with the polysaccharide (as presented in Figure 9.1b). As can be seen a reduction in the ratio Abs664/Abs557 value was observed when carrageenan was added to a dilute methylene blue solution; the decrease has been connected with electrostatic interaction between the polysaccharide and the dye molecules that resulted in the modification of the visible spectrum of the dye (Michon et al., 2002).

Table 9.1 shows the values of the ratio Abs664/Abs557 for soy extract-carrageenan samples with and without polydextrose at pH 2, 5 and 7. The addition of soy protein to the polysaccharide–dye solution led to an increase in the value of the ratio Abs664/Abs557 which, according to Benichou et al. (2007), should be attributed to the weakening of the polysaccharide–methylene blue interaction as a result of the protein binding to the polysaccharide molecules. When compared with the sample containing only carrageenan (ratio Abs664/Abs557 of 0.57), at pH 5, the samples 20:1 and 40:1 showed significant higher Abs664/Abs557 values, and at low soy extract concentrations, 5:1 and 10:1, the Abs664/Abs557 values presented a significant small increase. At pH 7, it was also detected significant changes regarding to Abs664/Abs557 value for samples 10:1, 20:1 and 40:1 and for sample 5:1 the Abs664/Abs557 kept unaltered.

From Table 9.1 is also possible to observe that the presence of polydextrose also led to changes in the methylene blue - carrageenan interactions. The possible interaction between carrageenan and polydextrose was removed, since the ratio Abs664/Abs557 values were statistically equal in the absence or the presence of polydextrose (data not shown). Based on these results and on the information given by Miyawaki (2007) who reported that protein stability can be affected by a coexisting solute as the third component, it is suggested that the protein group has been affected by the presence of polydextrose. In accordance with Miyawaki (2007), preferentially-excluded solutes from the protein surface stabilizes proteins, while preferentially-bound solute destabilizes proteins. Proteins with more unfolded conformation (destabilized) expose more reactive sites (amino acids) to the solvent phase, so interactions with the

polysaccharide would have more probability to occur. Considering these information and the results from Table 9.1, it is believed that the polydextrose has caused an increased in the destabilization of protein.

Table 9.1. Results of methylene-blue measurements of the soy extract-carrageenan samples with and without polydextrose.

Samples		Without polydextrose	With 10 % polydextrose
pH	Ratio	MB measurements	Abs664/Abs557
2	5	2.32 ± 0.09^d	2.04 ± 0.04^d
	10	8.92 ± 0.13^a	8.56 ± 0.54^a
	20	8.81 ± 0.44^a	9.28 ± 0.83^a
	40	8.35 ± 0.43^a	7.76 ± 0.73^a
5	5	0.61 ± 0.05^g	0.76 ± 0.02^f
	10	0.68 ± 0.01^g	0.88 ± 0.03^e
	20	3.10 ± 0.17^c	4.93 ± 0.25^b
	40	5.43 ± 0.15^b	8.78 ± 0.65^a
7	5	0.58 ± 0.02^h	0.67 ± 0.02^g
	10	0.67 ± 0.08^g	0.76 ± 0.01^f
	20	0.74 ± 0.03^f	0.85 ± 0.03^e
	40	0.84 ± 0.02^e	0.88 ± 0.02^e

* Means followed by different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ using Tukey's test.

The differences between the samples with and without polydextrose were significantly different for all ratios at pH 5; and this result is consistent with the information reported by Damodaran, Parkin & Fennema (2008). These authors reported that proteins are more stable (folded state) at their isoelectric point than at any other pH; and at extreme pH values, strong intramolecular electrostatic repulsion caused by high net charge results in swelling and unfolding of the protein molecule. The more pronounced effect of the addition of the polydextrose on the soy extract-carrageenan interaction at pH 5 can be related to possible unfolding of the proteins, which are practically folded in this pH. Differently, at pH 2 the proteins are already unfolded; and at pH 7 the proteins and polysaccharides are both negatively charged preventing the extension of the interaction between them.

9.4.4. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)

a) FTIR of individual components

This section deals with molecular aspects of the constituents and the nature of their molecular interactions using FTIR. Figure 9.4 (a-c) reproduces the FTIR spectra of

individual components (carrageenan, CMC, soy extract and polydextrose) and of their mixtures, soy extract-carrageenan and soy extract-CMC.

FTIR spectrum of CMC (Figure 9.4b) showed significant broad absorption bands seen at 3200–3400 cm^{-1} , 2800–3000 cm^{-1} and 1100–1300 cm^{-1} , attributed to O-H, C-H, and C-O-C stretching vibration, respectively. The peak of the COO^- ionized group could be recognized at 1587 cm^{-1} (Zaleska, Tomasik & Lii, 2002).

As well as in the spectrum of CMC, the FTIR spectrum of carrageenan (Figure 4a) also showed a large band at around 3200–3400 cm^{-1} belonging to O-H stretching vibrations and C-H stretching vibrations at 2930 cm^{-1} . The band correspondent to carboxylic group was detected at around 1560–1780 cm^{-1} and the band at around 1220–1260 cm^{-1} was related to total sulphate content. The spectrum also displayed the characteristic absorption pattern of *iota* carrageenan with peaks at 930 cm^{-1} (3,6-anhydro-D-galactose residue), 805 cm^{-1} (3,6-anhydrogalactose-2-sulphate) and 850–840 cm^{-1} (axial sulfate ester at O-4 of the 3-linked galactose residue). Moreover, two bands appear at 830 and 820 cm^{-1} , corresponding to galactose-2-sulphate and to galactose-6-sulphate, respectively, indicating the presence of *lambda* carrageenan (Roberts & Quemene, 1999; Stephanie et al., 2010). From Figure 9.4 c, it can be seen that specific chemical linkages within the polydextrose molecule were detected: O-H stretching (3500 cm^{-1}), C-H stretching (2900 cm^{-1}), C=O stretching of aldehyde (1627 cm^{-1}) and stretching vibration of C-O-C glycosidic linkage (1180–930 cm^{-1}) (Mickova, Copikova & Synytsya, 2007).

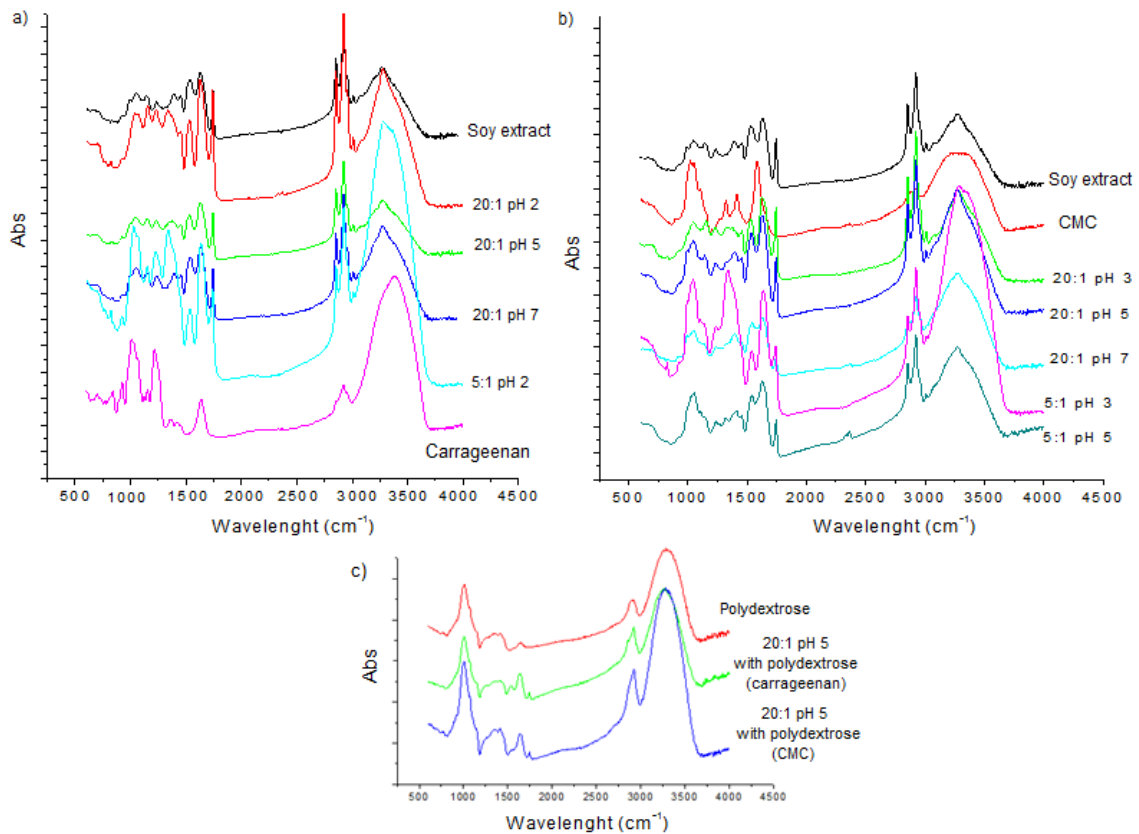


Figure 9.4. FTIR absorbance spectra of the lyophilized samples containing soy extract–carrageenan (a), soy extract–CMC (b) and polydextrose (c).

For the soy extract spectrum, in the range $3300\text{--}3400\text{ cm}^{-1}$, probably occurred an overlapping band, i.e., the stretching vibration of both the O-H groups and N-H groups. The absorption bands at $1630\text{--}1710\text{ cm}^{-1}$ and $1520\text{--}1590\text{ cm}^{-1}$ are assigned to the amide I and amide II bands of soy protein, respectively. These absorption bands have been reported for soy protein in previous studies (Schmidt, Giacomelli & Soldi, 2005; Wang et al., 2014). The amide I band is mainly attributed to C=O stretching of the peptide bond and is sensitive to the secondary structure of different conformations and the amide II is characteristic of the combined movement of the N-H vibrations and C-N stretching from the CO-NH group (Bandeekar, 1992; Mangavel et al., 2001).

The band corresponding to amide I depends on the secondary structure of the protein backbone and it is the most commonly used band for the quantitative analysis of secondary structures. Therefore, alterations of this band might clarify the changes promoted by pH and ratio.

b) FTIR of protein-polysaccharides mixtures

From Figure 9.4 it can also be observed that the frequencies of the bands assigned to the amide I and II regions remained constant in the mixtures. However, the band assigned to carboxylate in the polysaccharides at 1587 cm^{-1} for CMC was not detectable in the mixtures with soy extract, indicating interactions between the protein and the polysaccharide. The changes resulting from the interactions between protein and polysaccharides were quantitatively measured by calculating the total area of the peak related to amide I in relation to C-H band. The well-defined band at 2930 cm^{-1} due to C-H content represents a good reference for total carbohydrate content, because the number of C-H groups remains constant, irrespective of changes in the ratio of polysaccharides and protein contents (Rochas, Lahaye & Yaphe, 1986).

Table 9.2 shows the FTIR absorption values of the normalized bands corresponding to amide I (1628 cm^{-1}) in relation to the C-H band (2930 cm^{-1}) for different samples. As can be seen, the area of the normalized bands, corresponding to amide I, decreased when the pH decreased (from 7 to 2) and also when the ratio between the polymers decreased (from 20:1 to 5:1). The changes were higher for mixtures containing carrageenan. The results indicate that the pH and polysaccharide ratio caused changes in the infrared spectrum of soy protein, decreasing amide I band area, which would be an indicative of the degree of interactions occurring between proteins and polysaccharides.

Due to higher proportion of the polydextrose in relation to the other components, the FTIR of the mixtures containing the co-solute were very similar to sample with only polydextrose (Figure 9.4c). Taking into account this fact, it was not possible to quantify the normalized areas for these samples.

Table 9.2. FTIR absorption values of the normalized bands corresponding to amide I (1628 cm^{-1}) in relation to the CH band (2930 cm^{-1}) for different samples.

Samples		Normalized area values
		Amide I/CH $1624/2930\text{ cm}^{-1}$
Control	Soy extract	0.773
	20:1 pH 3	0.541
With CMC	20:1 pH 5	0.625
	20:1 pH 7	0.761
	5:1 pH 3	0.426
	5:1 pH 5	0.527
	20:1 pH 2	0.490
With carrageenan	20:1 pH 5	0.588
	20:1 pH 7	0.680
	5:1 pH 2	0.409

9.4.5. Intrinsic viscosity

From the measurement of the intrinsic viscosity of a polymer is possible to obtain information on its molecule characteristics, such as conformation, hydration and flexibility (Harding et al., 1997). Table 9.3 shows the values of intrinsic viscosity, Kraemer parameter and coefficient of determination of the solutions of polysaccharides at pH 7.0 and 5 measured at 40°C .

The intrinsic viscosity of carrageenan at pH 7 (58 dL/g) was higher than that reported by Nickerson, Paulson and Hallett (2004), 41.5 dL/g for k-carrageenan in the absence of added cations, but it is comparable to the result obtained by Harding et al. (1997), 63 dL/g for Na^+ -k-carrageenan at 25°C . The intrinsic viscosity values of CMC, 84 dL/g at pH 7 and 50 dL/g at pH 5 were similar to that reported by Arinaitwe and

Pawlik (2014) who found values between 90 and 120 dL/g at pH 7 and between 60 and 80 at pH 4.5, both measured at 25°C. These differences can be attributed to the higher temperature (40°C) used during the present work, as well as to structural differences among the samples.

The Kraemer parameter k_k gives information about the solvent quality. Negative values of k_k denote good solvents, whereas positive values would indicate aggregate formation (Gillespie, 1964). Values between -0.26 and -0.11 were observed for dispersions, indicating that the studied systems can be considered perfect solutions.

From Table 9.3, it can also be seen that the intrinsic viscosities values of carrageenan and CMC at pH 5 were lower than at pH 7. In agreement with this result, there are the results reported by Dogsa et al. (2014) who showed that the CMC structure is more expanded at higher pH; decreasing the pH, the charge of the carboxymethyl groups of the CMC decreased lowering its propensity to expand.

Table 9.3. Intrinsic viscosity (dL/g) values of the polysaccharides, carrageenan and CMC, at pH 7 and 5.

Samples	Intrinsic viscosity (dL/g)	$-(K_k)$	R^2
CMC pH 7	83.9 ± 0.9^a	0.117 ± 0.003^c	0.994
CMC pH 5	49.9 ± 1.1^c	0.145 ± 0.008^b	0.980
Carrageenan pH 7	57.9 ± 0.9^b	0.173 ± 0.005^a	0.990
Carrageenan pH 5	45.7 ± 0.7^d	0.180 ± 0.006^a	0.991

9.4.6. Microstructure and morphology

Figure 9.5 shows the microstructures by SEM of the different samples. As can be seen, the microstructure of the mixtures with carrageenan varied greatly with concentration and pH. At pH 7, a very dense structure with less lumps was formed (Figure 9.5 k-l). The surface of the mixtures prepared in acid pH was much more irregular and the lumps could be seen clearly (Figure 9.5 g-j). For mixtures with CMC,

at pH 7, a more dense structure was formed (Figure 9.6 e-f). However, it was observed the presence of voids in the mixtures prepared in acid pH. It can be seen that the microstructure at lower pH values is more similar to microstructure of the sample with only soy extract (Figure 5 a-b) and at higher pH is more similar to the polysaccharide microstructure. This fact can be explained by the differences between the intrinsic viscosity values, since the intrinsic viscosity of the polysaccharides is reduced at lower pH values. The samples with lower content of soy extract (ratio 5:1) showed microstructural differences when compared with the mixtures at 20:1 at the same pH.

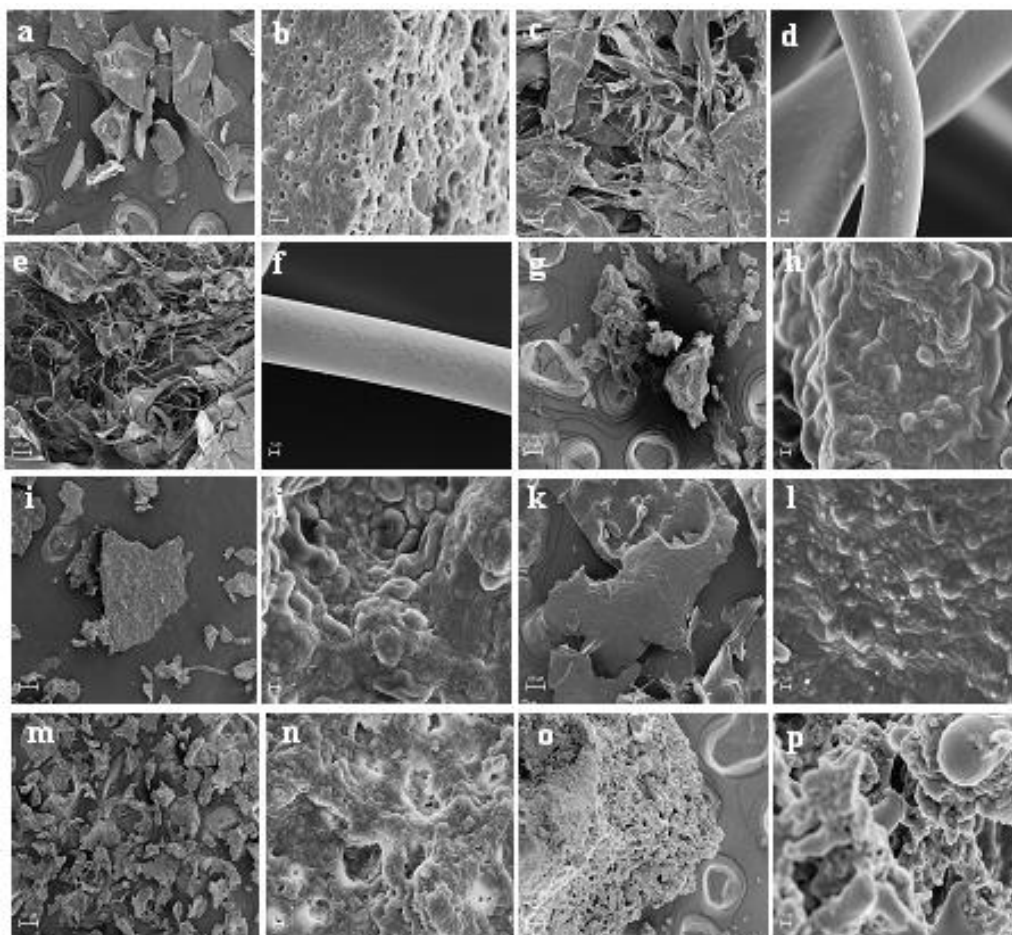


Figure 9.5. SEM Photomicrographs at 200 x and 10,000 x of the soy extract (a,b), carrageenan (c,d), CMC (e,f) and of the soy extract-carrageenan samples: 20:1 at pH 2 (g, h), 20:1 at pH 5 (i,j), 20:1 at pH 7 (k,l), 5:1 at pH 2 (m,n) and 20:1 at pH 5 with polydextrose (o,p).

The mixture with carrageenan showed similar microstructure; in contrast, the samples with CMC exhibited structures similar that found at pH 7. Once again, the

result can be explained by the intrinsic viscosity of the polysaccharides, since the CMC presents a higher value when compared with the carrageenan. Based on these results, it was observed that the analysis of the microstructures by SEM is not appropriate to detect interactions between the components. The results based on the CLSM-images are presented in the following and, on the contrary, showed good results.

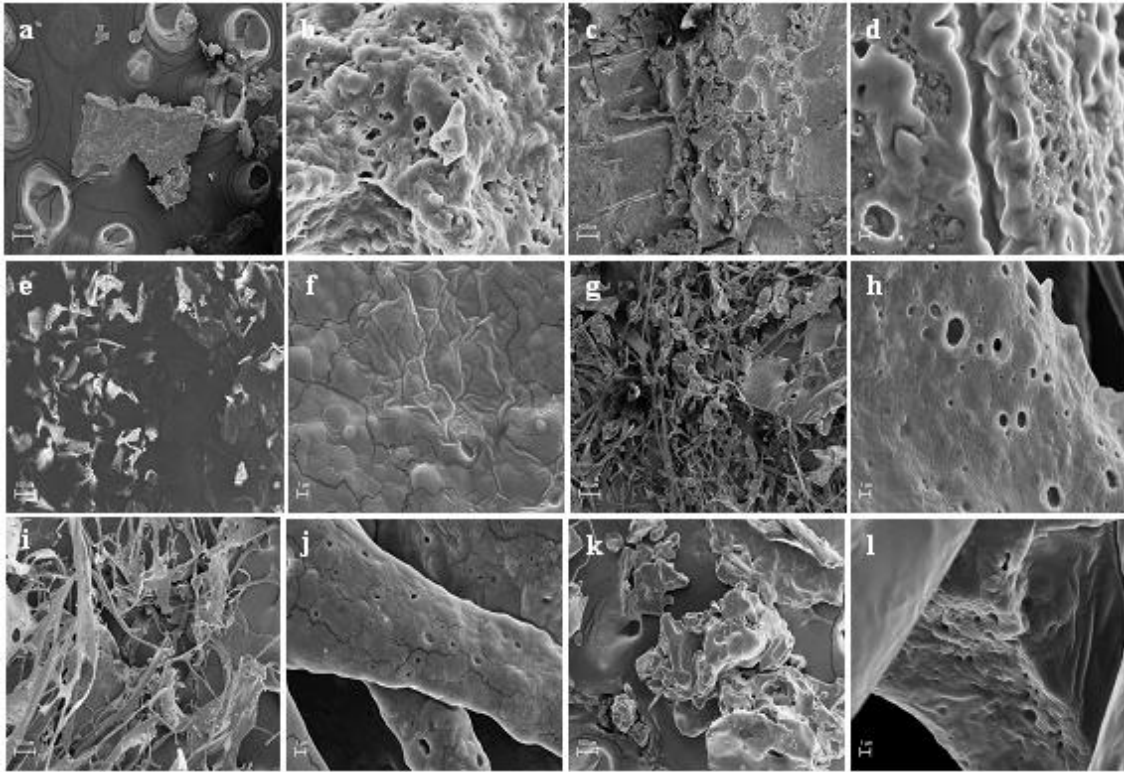


Figure 9.6. Photomicrographs at 200 x and 10,000 x of the soy extract-CMC samples: 10:1 at pH 3 (a, b), 10:1 at pH 5 (c,d), 10:1 at pH 7 (e,f), 5:1 at pH 3 (g,h), 5:1 at pH 5 (i,j) and 20:1 at pH 5 with polydextrose (k,l).

Figure 9.7 presents CLSM-images of the mixtures as a function of pH and soy extract/polysaccharide ratio. As can be seen, the soy extract (control) showed aggregates at pH close to its isoelectric point. Both mixtures (with carrageenan or CMC) showed more homogenized structure and less in size and number of aggregates than the samples with only protein at that pH. At lower pHs, the mixtures showed dense and large coacervates, resulting in the phase separation. At low pH, coacervates were formed because the strong interaction between the two oppositely charged biopolymers induced the charge neutralization of mixtures, resulting in the increase of polymer size. It also can be observed clearly from the microstructure that the primary complexes are initially formed (Figure 9.7, 20:1 pH 5); then, newly formed interpolymeric complexes

coarsen as the pH reduced, following by a nucleation and a growth mechanism (Figure 9.7, 20:1 pH 2). Furthermore, soluble complexes were formed in the mixtures at higher pH.

The results found in CLSM-images also suggested that the microstructure of the mixtures was dependent on the kind of the polysaccharide and the soy protein-polysaccharide ratio. In the presence of polysaccharides, the particles of soy extract were more distant from each other. As commented earlier, the intrinsic viscosity values of the polysaccharides are different and this fact can also have affected the observed microstructure, preventing the approach of particles and aggregates in the cover slip.

At lower pH values, the particles of the samples regarding to soy extract at pH 2 soy extract-carrageenan (40:1) at pH 2 seem more swollen. As discussed previously, at extreme pH values, strong intramolecular electrostatic repulsion caused by high net charge results in swelling and unfolding of the protein molecule. The presence of polydextrose also cause a slight swelling in the particles, which corroborates the discussion in item 9.4.3.

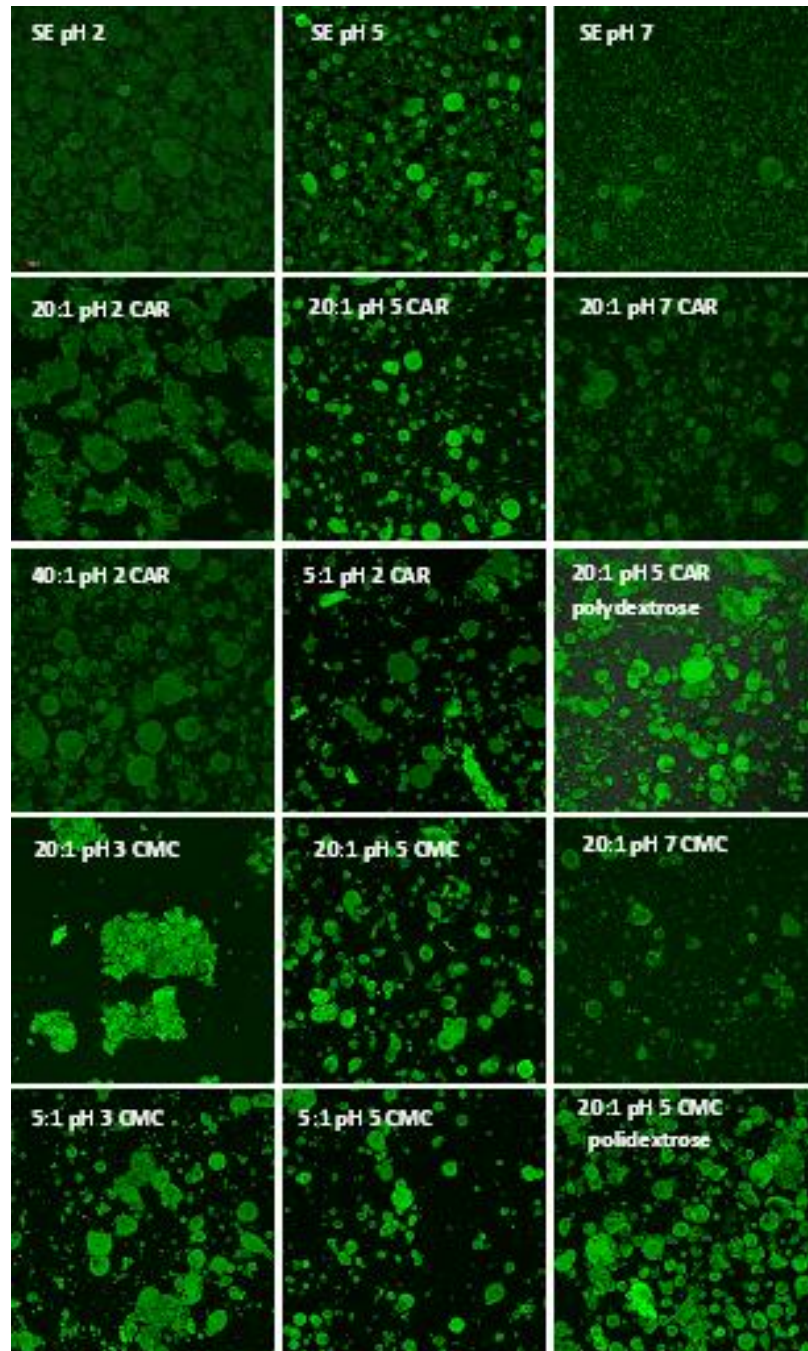


Figure 9.7. Confocal laser scanning photomicrographs of the soy extract (SE) and the mixtures containing soy extract-carrageenan and soy extract-CMC as a function of ratio and pH (protein content= 5 mg/mL). Green color represented the protein phase in the CLSM-images.

9.4.7. Thermal behavior

Figure 9.8 shows the thermograms of the lyophilized samples. The soy extract presented two exothermic peaks that can be related to the fractions of soy protein, 7S and 11S. However, the soy extract-polysaccharide mixtures presented only one

endothermic peak, except the soy extract-carrageenan 5:1 at pH 2 that also showed an exothermic peak. In the thermogram of the carrageenan powder (Figure 9.8a), it can be also observed a distinct exothermic transition with peak temperature of about 150 °C. In accordance with Brown (2001), as the temperature is slowly increased, organic polymers may recrystallize giving an exothermic peak, before melting point.

Su et al. (2010) studied blends of carboxymethylcellulose-soy protein isolate blend and found a single glass transition temperature in the range 75–100°C and melting temperature between 140°C and 160°C; these values are similar to the values of peak temperature found in this work to the soy extract-CMC mixtures.

The T_m of the lyophilized samples proceeded at different temperatures, showing that the pH and quantity of polysaccharide had an essential influence on the thermograms of the samples. In the samples that the complex formation was confirmed (soy extract-carrageenan 20:1 pH 2 and soy extract- CMC 20:1 pH 3) by the confocal microscopy, the melting peak was narrower than the other mixtures analyzed. When the complex formation did not take place, the mixtures showed broader peaks that can be related to the overlapping peaks of two components of the mixture. For example, the soy extract-CMC 20:1 at pH 7 showed a peak between 102–184°C, unlike the sample at pH 3 that showed a narrow peak between 183–195°C.

The polydextrose shows endothermic peaks about 130°C and 150°C. Similarly, Ribeiro et al.(2003) analyzing the thermograms of the polydextrose at different values of water activity (a_w), found melting endotherm ranging approximately from 130 to 150°C for the samples with low a_w (0.08 and 0.37). The thermograms of the mixtures with polydextrose were similar to the thermograms presented by the sample with only polydextrose, probably due to the large quantity of this component. Similar behavior was reported in the FTIR analysis, as commented earlier.

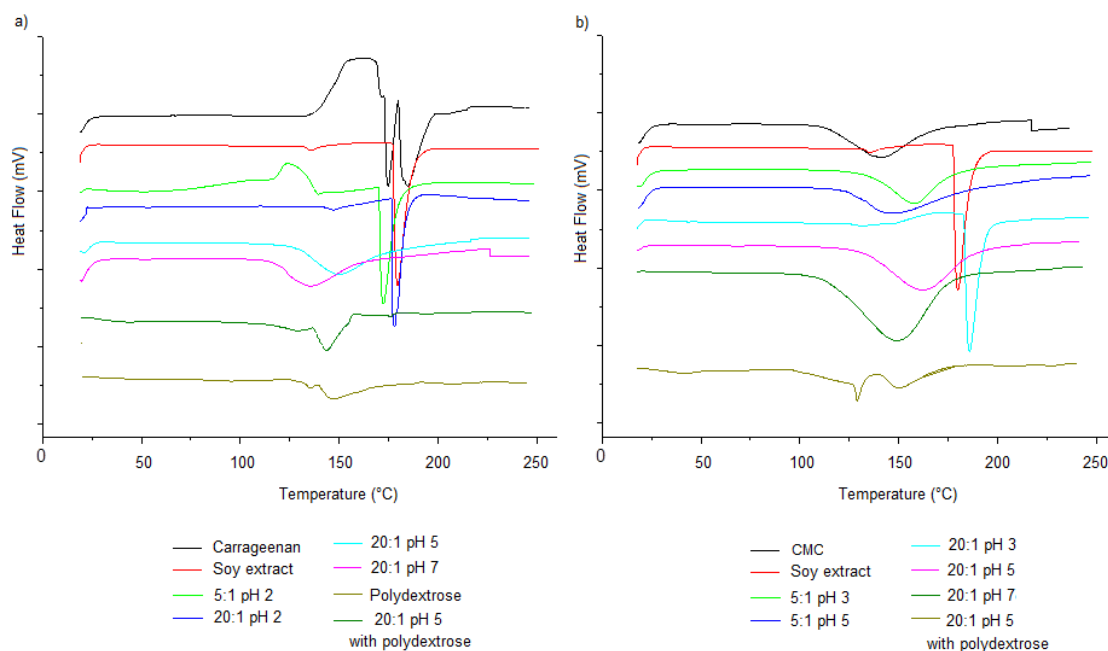


Figure 9.8. DSC thermograms of the lyophilized mixtures containing soy extract–carrageenan (a) and soy extract–CMC (b) at different pH and ratios and in the presence of polydextrose.

9.4.8. Wide angle X-ray diffraction

Finally, Figure 9.9 illustrates the diffractogram from wide angle X-ray scattering for the soy extract-carrageenan mixtures that were analyzed for amorphous character and the presence of traces of crystallinity. The mixtures exhibited a broad peak at 22° characteristic of a non-crystalline network. Similar diffractograms were found by Almrhag et al. (2012) who investigated the morphology of agarose and high methoxy pectin when mixed with polydextrose as co-solute and also by Almrhag et al. (2012) who studied mixtures of gelatin and polydextrose. These authors affirm that broad peaks recorded at 22° corresponds to the signature of amorphous materials, and the characteristic dense morphology of the samples is shaped up from the processing conditions of freeze drying used in preparing the samples. Overall, the absence of sharp peaks in the diffractogram argues against the presence of considerable crystalline entities in these mixtures.

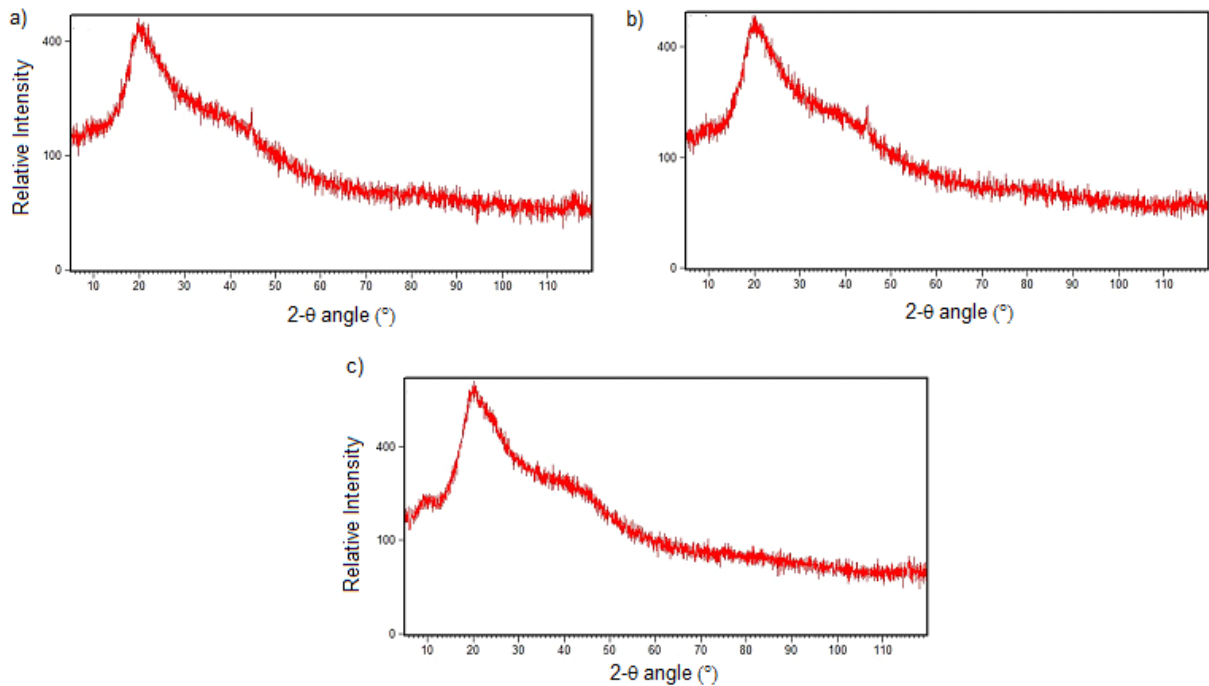


Figure 9.9. X-ray diffractograms of the lyophilized mixtures containing soy extract–carrageenan 20:1 at pH 7 (a), pH 5 (b) and pH 2 (c).

9.5. Conclusion

The present work investigated the interactions between soy protein from water-soluble soy extract and polysaccharides in solutions containing polydextrose as co-solute. The results showed that soy extract-polysaccharide mixtures at different pH (2-7) and ratios (5:1 - 40:1) mainly differ from soy protein in solubility, charge and CLSM-images. Moreover, the influence of polydextrose was mainly detected by blue-methylene interactions measurements and confocal microscopy. The protein-polysaccharide complexes formation was evidenced through the shift of solubility profiles as a function of pH and the interaction between soy extract-carrageenan was confirmed by the change in blue-methylene measures. The FTIR analysis showed that the region of amide I was changed by the presence of polysaccharide at lower pH values and considerable differences between the samples were verified in the differential scanning calorimetry. Overall, this work provides fundamental information about the interactions between the polysaccharides (carrageenan and CMC) and soy extract in aqueous solutions with different pHs and in the presence of polydextrose.

9.6. References

- Almrhag, O., George, P., Bannikova, A., Katopo, L. & Kasapis, S. (2012). Networks of polysaccharides with hydrophilic and hydrophobic characteristics in the presence of co-solute. *International Journal of Biological Macromolecules*, *51*, 138-145.
- Arinaitwe, E. & Pawlik, M. (2014). Dilute solution properties of carboxymethyl celluloses of various molecular weights and degrees of substitution. *Carbohydrate Polymers*, *99*, 423-431.
- Bandekar, J. (1992). Amide modes and protein conformation. *Biochimica et Biophysica Acta - Protein Structure and Molecular Enzymology*, *1120*, 123-143.
- Bedie, G. K., Turgeon, S. L. & Makhlof, J. (2008). Formation of native whey protein isolate–low methoxyl pectin complexes as a matrix for hydro-soluble food ingredient entrapment in acidic foods. *Food Hydrocolloids*, *22*, 836–844.
- Benichou, A., Aserin, A., Lutz, R. & Garti, N. (2007). Formation and characterization of amphiphilic conjugates of whey protein isolate (WPI)/xanthan to improve surface activity. *Food Hydrocolloids*, *21*, 379-391.
- Braga, A. L. M., Azevedo, A., Julia Marques, M., Menossi, M. & Cunha, R. L. (2006). Interactions between soy protein isolate and xanthan in heat-induced gels: The effect of salt addition. *Food Hydrocolloids*, *20*, 1178-1189.
- Brasil (1978). Ministério da saúde. Agência nacional de vigilância sanitária. Resolução CNNPA nº 14, de 28 de junho de 1978. Disponível em:http://www.anvisa.gov.br/anvisa/legis/resol/14_78.htm.
- Brown, M. E.(2001). *Introduction to thermal analysis: techniques and applications*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers
- Damodaran, S., Parkin, K. L. & Fennema, O. R.(2008). *Fennema's Food Chemistry*. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis, v.4
- De Kruif, C. G., Weinbreck, F. & De Vries, R. (2004). Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, *9*, 340-349.
- Delben, F. & Stefancich, S. I. (1997). Interaction of Food Proteins with Polysaccharides I: properties upon Mixing. *Journal of Food Engineering*, *31*, 325-346.
- Dogsa, I., Tomsic, M., Orehek, J., Benigar, E., Jamnik, A. & Stopar, D. (2014). Amorphous supramolecular structure of carboxymethyl cellulose in aqueous solution at different pH values as determined by rheology, small angle X-ray and light scattering. *Carbohydrate Polymers*, *111*, 492-504.
- Ercelebi, E. A. & Ibanoglu, E. (2007). Influence of hydrocolloids on phase separation and emulsion properties of whey protein isolate. *Journal of Food Engineering*, *80*, 454–459.
- Friedman, M. & Brandon, D. L. (2001). Nutritional and health benefits of soy proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *49*, 1069-1086.
- Gillespie, T. (1964). The use of viscosity to assess molecular entanglement in dilute solutions. *Journal of Polymer Science: Part C 3*, 31-37.

- Grimm, A., Kriigef, E. & Burchud, W. (1995). Solution properties of b-D-(1,3)(1,4) - glucan isolated from beer. *Carbohydrate Polymers*, 27, 205-214.
- Harding, S. E., Day, K., Dhami, R. & Lowe, P. M. (1997). Further observations on the size, shape and hydration of kappa-carrageenan in dilute solution. *Carbohydrate Polymers*, 32, 81-87.
- Kasapis, S., Al-Marhoobi, I. M., Deszczynski, M., Mitchell, J. R. & Abeysekera, R. (2003). Gelatin vs polysaccharide in mixture with sugar. *Biomacromolecules*, 4, 1142-1149.
- Kasapis, S., Mitchell, J., Abeysekera, R. & Macnaughtan, W. (2004). Rubber-to-glass transitions in high sugar/biopolymer mixtures. *Trends in Food Science & Technology*, 15, 298-304.
- Lam, M., Shen, R., Paulsen, P. & Corredig, M. (2007). Pectin stabilization of soy protein isolates at low pH. *Food Research International*, 40, 101-110.
- Lopes Da Silva, J. A. & Rao, M. A. (2006). *Pectins structure, functionality, and uses*. In: Stephen, A. M., Phillips, G. O. and Williams, P. A. (Ed.). *Food polysaccharides and their applications*. 2 ed, London: Taylor and Francis, pp.353-411
- Lowry, O. H., Rosenbroug, H. J., Lewis, A. & Randall, K. J. (1951). Measurements with the folin-phenol reagents. *Journal of Biological Chemistry*, 193.
- Malhotra, A. & Coupland, J. N. (2004). The effect of surfactants on the solubility, zeta potential, and viscosity of soy protein isolates. *Food Hydrocolloids* 18, 101-108.
- Mangavel, C., Barbot, J., Popineau, Y. & Guéguen, J. (2001). Evolution of wheat gliadins conformation during film formation: a Fourier transform infrared study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 867-872.
- Michon, C., Konaté, K., Cuvelier, G. & Launay, B. (2002). Gelatin/carrageenan interactions in coil and ordered conformations followed by a methylene blue spectrophotometric method. *Food Hydrocolloids*, 16, 613-618.
- Michon, C., Vigouroux, F., Boulenguer, P., Cuvelier, G. & Launay, B. (2000). Gelatin/iota-carrageenan interactions in non-gelling conditions. *Food Hydrocolloids*, 14, 203-208.
- Mickova, K., Copikova, J. & Synytsya, A. (2007). Determination of polydextrose as a fat replacer in butter. *Czech Journal of Food Science*, 25, 25-31.
- Mitchell, H. (2002). O uso de carboidratos especiais. . *Food Ingredients*42-44.
- Mitchell, H. L. (1996). *The Role of the Bulking Agent Polydextrose in Fat Replacement*. In: Roller, S. and Jones, S. A. (Ed.). *Handbook of fat replacers*, Boca Raton: CRC press, pp.336
- Miyawaki, O. (2007). Hydration state change of proteins upon unfolding in sugar solutions. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1774, 928-935.
- Mohammad Amini, A. & Razavi, S. M. A. (2012). Dilute solution properties of Balangu (*Lallemantia royleana*) seed gum: Effect of temperature, salt, and sugar. *International Journal of Biological Macromolecules*, 51, 235-243.

Molina Ortiz, S. E., Puppo, M. C. & Wagner, J. R. (2004). Relationship between structural changes and functional properties of soy protein isolates-carrageenan systems. *Food Hydrocolloids*, 18, 1045-1053.

Nickerson, M. T. & Paulson, A. T. (2005). Time-temperature studies of j-carrageenan gelation in the presence of high levels of co-solutes. *Carbohydrate Polymers* 61, 231-237.

Nickerson, M. T., Paulson, A. T. & Hallett, F. R. (2004). Dilute solution properties of i-carrageenan polysaccharides: effect of potassium and calcium ions on chain conformation. *Carbohydrate Polymers*, 58, 25-33.

Ribeiro, C., Zimeri, J. E., Yildiz, E. & Kokini, J. L. (2003). Estimation of effective diffusivities and glass transition temperature of polydextrose as a function of moisture content. *Carbohydrate Polymers*, 51, 273-280.

Richardson, P. H., Willmer, J. & Foster, T. J. (1998). Dilute solution properties of guar and locust bean gum in sucrose solutions. *Food Hydrocolloids*, 12 339-348.

Roberts, M. A. & Quemene, B. (1999). Measurement of carrageenans in food: challenges, progress, and trends in analysis. *Trends in Food Science & Technology*, 10, 169-181.

Rochas, C., Lahaye, M. & Yaphe, W. (1986). Sulfate content of carrageenan and agardetermined by infrared spectroscopy. *Botanica Marina*, 29, 335-340.

Schmidt, V., Giacomelli, C. & Soldi, V. (2005). Thermal stability of films formed by soy protein isolate-sodium dodecyl sulfate. *Polymer Degradation and Stability*, 87, 25-31.

Stephanie, B., Eric, D., Sophie, F. M., Christian, B. & Yu, G. (2010). Carrageenan from *Solieria chordalis* (Gigartinales): Structural analysis and immunological activities of the low molecular weight fractions. *Carbohydrate Polymers*, 81, 448-460.

Stone, A. K., Cheung, L., Chang, C. & Nickerson, M. T. (2013). Formation and functionality of soluble and insoluble electrostatic complexes within mixtures of canola protein isolate and (κ -, ι - and λ -type) carrageenan. *Food Research International*, 54, 195-202.

Su, J.-F., Huang, Z., Yuan, X.-Y., Wang, X.-Y. & Li, M. (2010). Structure and properties of carboxymethyl cellulose/soy protein isolate blend edible films crosslinked by Maillard reactions. *Carbohydrate Polymers*, 79, 145-153.

Sworn, G. & Kasapis, S. (1998). Effect of conformation and molecular weight of co-solute on the mechanical properties of gellan gum gels. *Food Hydrocolloids*, 12, 283-290.

Tolstoguzov, V. (2003). Some thermodynamic considerations in food formulation. *Food Hydrocolloids*, 17, 1-23.

Tolstoguzov, V. B. (1991). Functional properties of food proteins and role of protein-polysaccharide interactions *Review. Food Hydrocolloids*, 4, 429-468.

Tolstoguzov, V. B. (1997). *Protein-polysaccharide interactions*. In: Damodaran, S. and Paraf, A. (Ed.). *Food proteins and their applications*, New York: Marcel Dekker, pp.171-256

Vikelouda, M. & Kiosseoglou, V. (2004). The use of carboxymethylcellulose to recover potato proteins and control their functional properties. *Food Hydrocolloids*, 18, 21-27.

Wang, L., Xiao, M., Dai, S., Song, J., Ni, X., Fang, Y., Corke, H. & Jiang, F. (2014). Interactions between carboxymethyl konjac glucomannan and soy protein isolate in blended films. *Carbohydrate Polymers*, *101*, 136-145.

Yuan, Y., Wan, Z.-L., Yang, X.-Q. & Yin, S.-W. (2014). Associative interactions between chitosan and soy protein fractions: Effects of pH, mixing ratio, heat treatment and ionic strength. *Food Research International*, *55*, 207-214.

Zaleska, H., Tomasik, P. & Lii, C. Y. (2002). Formation of carboxymethyl cellulose-casein complexes by electrosynthesis. *Food Hydrocolloids*, *16*, 215-224.

Considerações finais

Considerando os resultados obtidos na primeira etapa do trabalho, é possível afirmar que:

- Os teores de extrato de soja, amido e polpa influenciaram todos os atributos avaliados (físico-químicos, reológicos e sensoriais), indicando que esses constituintes estudados são fatores determinantes da qualidade do produto.
- As formulações elaboradas apresentaram-se como uma boa opção no que se refere a produtos destituídos de lactose, visto que a maioria das amostras testadas apresentaram escores acima de 6 (gostei levemente) para a aceitação global do produto.
- Importantes correlações entre parâmetros instrumentais e sensoriais foram verificadas, as quais podem servir como uma importante ferramenta na produção de formulações com novos ingredientes, como a sobremesa com mucilagem de chia, e também no controle de qualidade das amostras produzidas.
- A mucilagem da chia se mostrou um promissor agente de textura em alimentos, porém estudos mais aprofundados são necessários para verificar seu real potencial e aplicabilidade, assim como sua viabilidade econômica.
- A tecnologia do ultrassom se mostrou viável para modificar a textura do produto, diminuindo sua viscosidade, sem a necessidade de reformulação e sem ocasionar impactos negativos em outras propriedades do alimento. Porém, mais estudos são

necessários para avaliar o uso do ultrassom, como a densidade energética (massa *versus* energia) do processo, a fim de compará-lo com outras tecnologias como a alta pressão.

Em relação aos resultados obtidos na segunda etapa do trabalho, podem ser feitas as seguintes considerações:

- As análises realizadas mostraram que o extrato de soja, apesar de não ser uma fonte isolada de proteína, apresentou interações com os polissacarídeos estudados, e também com a polidextrose que foi utilizada como co-soluto. Essas interações indicam as melhores condições em que as misturas podem ser utilizadas, proporcionando maior estabilidade.
- As misturas estudadas, extrato de soja-carragena e extrato de soja-CMC em diferentes pHs e proporções diferiram do extrato de soja quanto às curvas de solubilidade, medidas de potencial zeta e microscopias. As amostras também apresentaram diferenças consideráveis quanto aos espectros de infravermelho e termogramas.
- Interações atrativas também foram detectadas em uma região de pH onde ambos os biopolímeros estavam negativamente carregados.
- A influência da polidextrose foi detectada, principalmente, através das medidas espectrofotométricas referentes à interação entre o azul de metileno e a carragena e pela microscopia confocal.
- Ao contrário das análises de solubilidade, potencial zeta, interações com azul de metileno e microscopia confocal, as análises térmicas e de microscopia eletrônica de varredura mostraram-se inconsistentes no que tange à investigação de interações entre biopolímeros.

Por fim, pode-se dizer que todas as variáveis de processo estudadas, como a concentração de ingredientes, a mucilagem da chia e o ultrassom, foram determinantes nas propriedades das amostras; e que os resultados obtidos provêm informações de uso prático para a indústria de alimentos, no que diz respeito ao desenvolvimento de formulações e controle e monitoramento de processos. Além disso, antes de elaborar

novas formulações, é necessário verificar as interações entre os biopolímeros envolvidos, visto que dependendo da natureza dos componentes e das propriedades do meio, diferentes propriedades, como solubilidade, estabilidade e textura podem ser modificados.

Sugestões para trabalhos futuros

Diante dos resultados, sugere-se para trabalhos futuros:

- Concluir a análise físico-química das sobremesas através de análise centesimal e quantificação de compostos antioxidantes e vitaminas;
- Efetuar testes sensoriais ao longo da estocagem do produto;
- Aprofundar os estudos com a mucilagem da chia, visto que ela mostrou ser um promissor espessante alimentar. Para tanto, pode-se citar o estudo de diferentes metodologias de extração, a adição de diferentes concentrações de mucilagem, assim como a aplicação em produtos distintos como iogurtes e molhos;
- Utilizar a tecnologia do ultrassom em um processo com agitação contínua, a fim de melhorar a distribuição de tamanhos de partículas ou em outras etapas do processamento, por exemplo, durante a mistura dos componentes, e não apenas no final do processo. Além disso, mais estudos são necessários para avaliar o uso do ultrassom, como a densidade energética (massa *versus* energia) do processo, a fim de compará-lo com outras tecnologias como a alta pressão.
- Aperfeiçoar a análise térmica a fim de encontrar as temperaturas de transição vítrea dos componentes e das misturas;
- Fazer uma caracterização mais detalhada dos polissacarídeos estudados através de análises de massa molecular (eletroforese em gel) e composição de íons (teste de chamas);
- Testar diferentes espessantes alimentares nas formulações, visto que os pares extrato de soja-carragena e extrato de soja-CMC, em pH 5, mostraram baixa solubilidade (abaixo de 50 %).

-
- Verificar a aplicabilidade das misturas estudadas nas proporções 20:1 e 10:1 em valores de pH entre 2 e 3, na área de microencapsulação por coacervação complexa.

Anexo A – Resultados reológicos preliminares

A. Escolha da geometria

A escolha da geometria foi feita com base nos resultados encontrados nas análises reológicas em regime dinâmico. Conforme a Figura A.1, nota-se que as varreduras de deformação a 10 rad/s foram mais similares, tanto para o módulo de perda (G'') quanto para o módulo viscoso (G'), com as geometrias de pratos paralelos e cone e prato. Cabe ressaltar que a geometria de pratos paralelos com diâmetro de 25 mm não apresentou torque durante os experimentos, o que impossibilitou sua utilização.

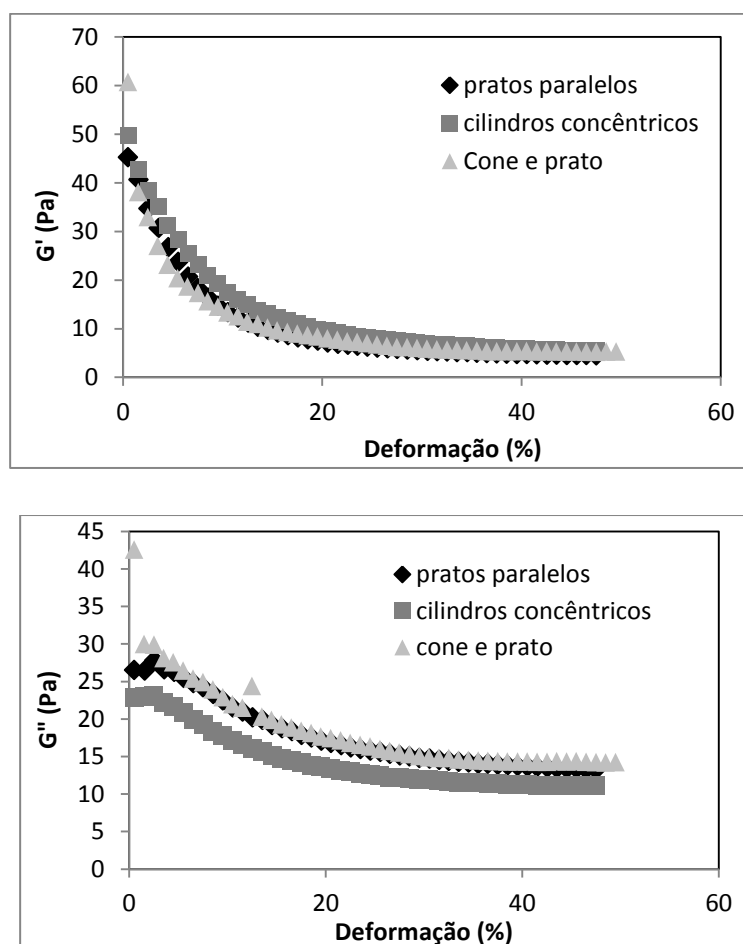


Figura A.1. Varredura de deformação a 10 rad/s, utilizando diferentes geometrias.

Quando há partículas em uma suspensão, sistemas de medidas reológicas com gaps pequenos e fixos, tais como cilindros concêntricos e cone e placa não podem ser

usados (Rao, 1977); assim optou-se por trabalhar com a geometria de pratos paralelos devido à ampla possibilidade de variação da distância entre as placas (gap), condição importante pelo grande número e tamanho de partículas da polpa.

B. Determinação do gap

Estes ensaios foram efetuados com o uso da geometria de placas paralelas de superfície lisa na temperatura de 25°C. A Figura A.2 mostra a curva de escoamento obtida para os diferentes gaps. Pode-se observar que os valores de tensão de cisalhamento obtidos foram menores (diferença maior que 10 %) em taxas de cisalhamento baixas ($> 1 \text{ s}^{-1}$) ao utilizar o gap de 1,0 mm. Os resultados obtidos com o gap de 1,5 mm ficaram muito próximos aos obtidos com o gap de 2 mm. Como alguns autores já constataram que com *gaps* maiores pode ocorrer a não retenção da amostra com o aumento da tensão de cisalhamento, optou-se por trabalhar com o gap de 1,5 mm para a realização dos ensaios reológicos em estado estacionário e dinâmico, visto que diferentes formulações serão elaboradas.

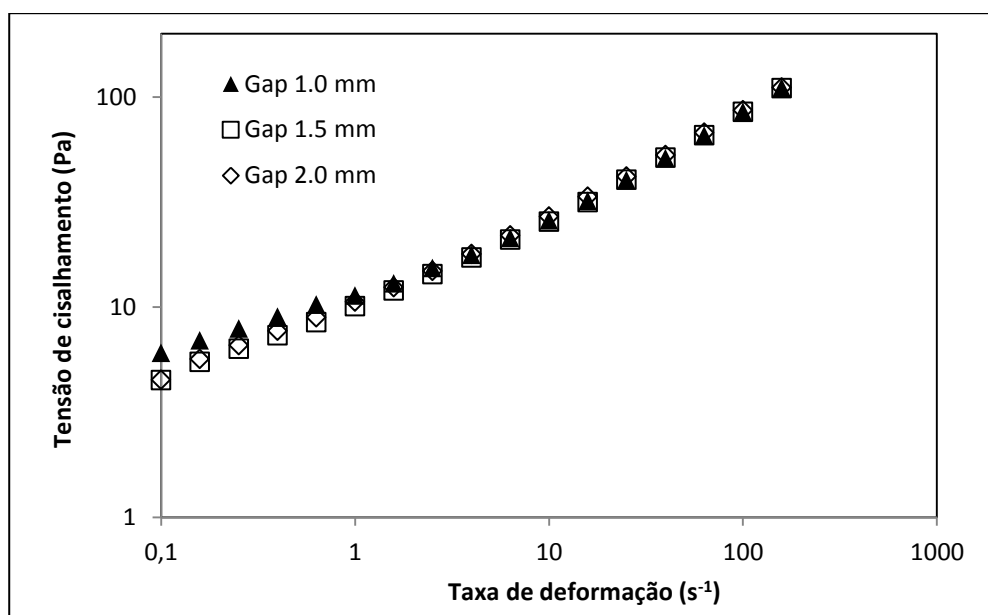


Figura A.2. Curvas de fluxo usando a geometria de pratos paralelos com diferentes gaps (1; 1,5 e 2 mm).

C. Definição do procedimento de medida

Nos testes preliminares de varredura de tempo, observou-se que a amostra comercial sofria um processo de ressecamento, devido ao deslocamento de ar no interior do reômetro, responsável pelo controle de temperatura. Em virtude disso, a amostra não

se manteve estável, mostrando alterações em sua estrutura ao longo dos testes com controle de temperatura. Para evitar ou diminuir esse problema, uma fina camada de óleo de máquina foi colocada na superfície da amostra. Os resultados de varredura de tempo com o uso do óleo foram satisfatórios, visto que os módulos G' e G'' se mantiveram constantes ao longo do tempo. Essa mudança de comportamento pode ser visualizada na Figura A.3.

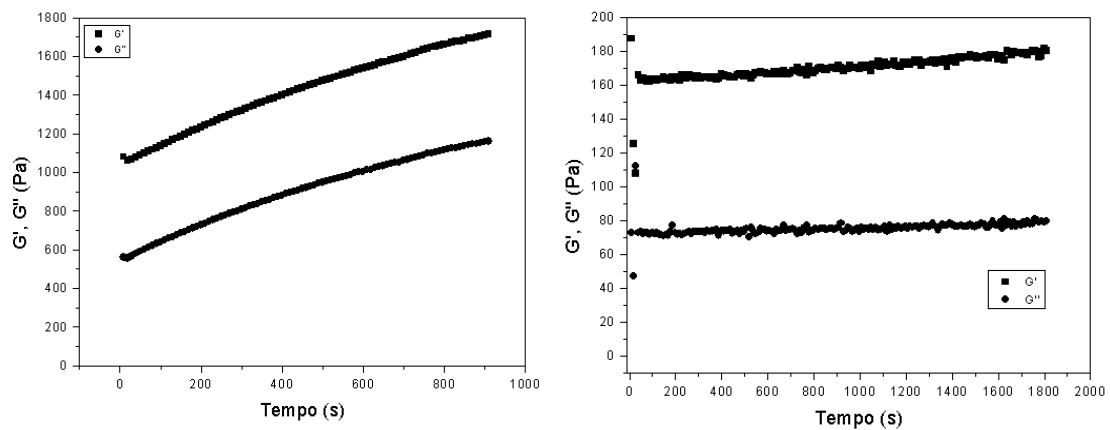


Figura A.3. Varredura de tempo das amostras comerciais: (a) sem e (b) com aplicação de óleo de máquina. Frequência de 500 rad.s^{-1} e deformação de 4%.

Anexo B – Formulário utilizado no recrutamento e pré-seleção dos provedores.

RECRUTAMENTO DE DEGUSTADORES

Você já deve ter ouvido falar de degustadores profissionais de vinhos que diferenciam vinhos de safras diferentes apenas pelo odor. O que torna esses degustadores capazes de tal façanha é principalmente o treinamento que eles recebem.

Neste momento desejamos formar uma equipe treinada de degustadores. Os futuros degustadores avaliarão a qualidade sensorial de sobremesa de soja.

Ser um degustador não exigirá de você nenhuma habilidade excepcional, não tomará muito do seu tempo e não envolverá nenhuma tarefa difícil. A equipe de degustadores se reunirá uma vez por semana (quarta-feira à tarde) por um período de 15-30 minutos durante o semestre letivo.

Se você deseja participar da equipe de degustadores, por favor, preencha este formulário e retorne-o a equipe até dia **28/09** no laboratório **211** para a professora Simone.

Se você tiver qualquer dúvida, ou necessitar informações adicionais, por favor, não hesite em contatar-nos.

Então vamos lá!

Nome: _____

Faixa etária: (___) 15-20; (___) 20-30; (___) 30-40; (___) 40-50; (___) acima de 50

Sala/Laboratório: _____

Telefone: Ramal _____ Celular: _____

E-mail: _____

1) Você está disponível nas quartas-feiras à tarde para participar das sessões?
Em que horário (das 14h às 16h), por aproximadamente 20 minutos?

2) Indique o quanto você aprecia cada um desses produtos:

	Gosto	Nem gosto/Nem desgosto	Desgosto
a) Sobremesa	_____	_____	_____
b) Produtos de soja	_____	_____	_____
c) Goiaba (fruta)	_____	_____	_____
d) Doces de goiaba	_____	_____	_____

3) Cite alimentos e ingredientes que você desgosta muito.

4) Você é capaz de citar algum alimento cremoso?

5) Você é capaz de citar algum alimento doce?

6) Você é capaz de citar um alimento ácido?

7) Você é capaz de citar um alimento amargo?

8) Você é capaz de citar um alimento com textura arenosa?

9) Indique sua frequência de consumo de sobremesas.

() Consumo muito (diariamente)

() Consumo moderadamente (três vezes por semana)

() Consumo ocasionalmente (uma vez por semana)

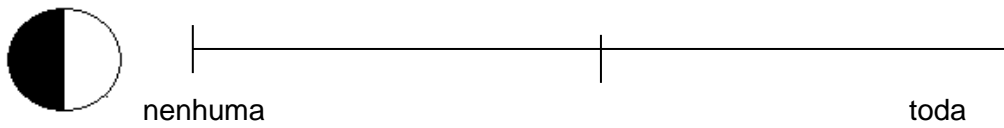
() Consumo muito pouco (uma vez por mês ou menos)

() Não consumo

Marque na linha direita de cada figura, um trecho que indique a proporção da figura que foi coberta de preto (não use régua, apenas sua capacidade visual de avaliar).

EXEMPLOS:

a)



b)

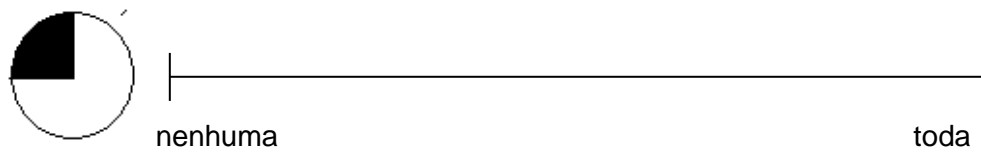


c)

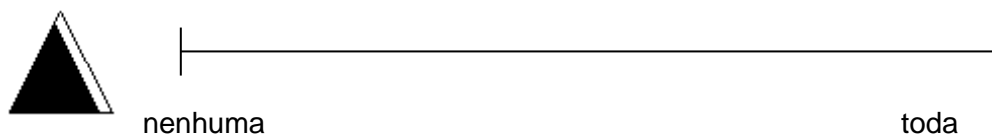


SUA VEZ,

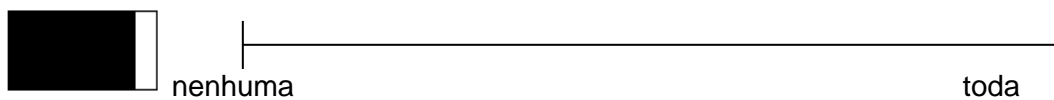
d)



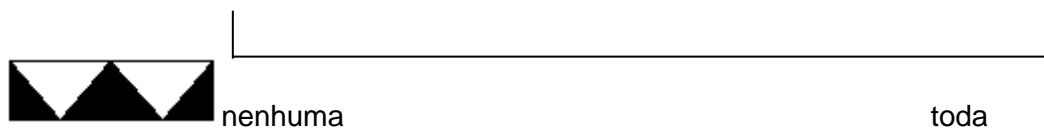
e)



f)



g)



10) Especifique os alimentos que você não pode comer ou beber por razões de saúde. Explique, por favor.

11) Você se encontra em dieta por razões de saúde? Em caso positivo, explique por favor.

12) Indique se você:

() é diabético

() é fumante

() tem problemas respiratórios crônicos (rinite, sinusite, asma, bronquite)

() tem alergia à proteína de soja

() ingere alguma medicação de uso contínuo

Se você concorda em participar do teste assine a ficha.

Assinatura

Anexo C – Ficha de aplicação do teste de sabores

Nome:.....Data:.....

Estás recebendo 6 soluções codificadas, representando os sabores básicos. Experimente cada uma cuidadosamente, lave a boca com água após cada amostra e assinale com um "X" na coluna da tabela equivalente ao sabor que identificas em cada amostra.

<i>Amostra</i>	<i>Amargo</i>	<i>Doce</i>	<i>Ácido</i>	<i>Salgado</i>	<i>Água</i>

Obs:.....

Anexo D – Ficha de aplicação do teste triangular

Teste triangular simples – Diferença

Nome:

Data:

Sexo:

Idade:

Prove da esquerda para a direita. Duas amostras são iguais e uma é diferente. Coloque um círculo ao redor da amostra diferente em cada grupo.

Código das amostras		
541	756	239

Anexo E – Ficha de aplicação do Método de Rede

Ficha de aplicação do Método de Rede

Nome:

Data:

Avalie as amostras aos pares (257 e 435) (674 e 890) (341 e 567) e **DESCREVA** as similaridades e diferenças entre elas com relação a **APARÊNCIA, AROMA, SABOR E TEXTURA**

APARÊNCIA

Similaridades:

Diferenças:

AROMA

Similaridades:

Diferenças:

SABOR

Similaridades:

Diferenças:

TEXTURA:

Similaridades:

Diferenças:

Anexo F – Termos descritivos

Definição dos termos descritivos e referências utilizadas como extremos de escala de intensidade na Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) das sobremesas à base de soja para os atributos de aparência, aroma, sabor e textura.

Termo descritor (atributo)	Definição	Referência
Aparência		
c. Cor rosa	Intensidade da cor rosa	Fraca: leite com corante (proporção: 100:1) Intensa: sobremesa (F1)
d. Brilho	Intensidade da luz refletida	Opaco: suco em pó de goiaba (Nutrinho) Brilhante: geleia de goiaba light (Ritter)
e. Consistência	Resistência ao escorrer da colher.	Fluida: leite com corante (proporção: 100:1) Firme: branquinho (Moça)
f. Heterogeneidade	Presença de partículas	Ausente: mingau (F2) Intenso: F3
Aroma		
a. Goiaba	<i>Intensidade do aroma de goiaba.</i>	Ausente: mingau (F2) Intenso: polpa de goiaba com suco em pó sabor goiaba (proporção: 10:1)
Sabor		
c. Doce	Intensidade do sabor doce.	Fraco: mingau (F2) sem açúcar Forte: mingau (F4) Ausente: mingau (F2)
d. Goiaba	Intensidade do sabor característico de goiaba.	Intenso: Polpa com açúcar e suco em pó (proporção: 100:5:1,5) Ausente: mingau F2
e. Ácido	Intensidade da acidez percebida.	Intenso: polpa com suco em pó (proporção: 20:1) Ausente: mingau (F2)
f. Soja	<i>Intensidade do sabor de soja.</i>	Ausente: mingau (F2) Intenso: F5
Textura		
b. Cremosidade	Percepção de consistência macia na boca	Fraco: leite com corante (proporção: 100:1) Forte: doce de leite
c. Heterogeneidade	Presença de partículas na boca	Ausente: leite com corante (proporção: 100:1) Intenso: F3

* F1: formulação padrão sem polpa de fruta e com 20 g de suco de goiaba em pó (g/100 g).

F2: 86, 2 ml de leite semidesnatado; 5,2 g de amido de milho comercial; 8,6 g de açúcar (g/100 g).

F3: 48,8 g de polpa; 48,8 g de água; 0,8 g de extrato de soja; 1,6 g de açúcar (g/100 g).

F4: 73,5 ml de leite semidesnatado; 4,4 g de amido de milho comercial; 22,1 g de açúcar (g/100 g).

F5: 87,8 g de água; 8,7 g de extrato de soja; 3,5 g de proteína isolada de soja (g/100 g).

Anexo G – Análise estatística dos dados encontrados no treinamento da ADQ

Níveis de probabilidade de $F_{amostra}$ dos provadores para os atributos sensoriais da sobremesa à base de soja.

Provador	Cor rosa	Consistência	Sabor de goiaba	Sabor de soja ^(a)	Creiosidade
P1	0,0106	0,2613	0,0321	0,5791	0,2048
P2	0,0036	0,4260	0,0480	0,5077	0,0997
P3	0,0214	0,1184	0,4697	0,5704	0,2487
P4*	0,1312	0,2119	0,1567	0,4226	0,7852
P5	0,0192	0,0745	0,1665	0,7887	0,1542
P6	0,0042	0,0192	0,0622	0,6621	0,2578
P7	0,0003	0,4638	0,0533	0,5000	0,2557
P8	0,0008	0,3904	0,1684	0,8743	0,0230
P9*	0,0016	0,9181	0,3556	0,9651	0,1750
P10	0,0068	0,4676	0,2048	0,8888	0,1394
P11	0,1323	0,0196	0,1027	0,5000	0,2247
P12	0,0796	0,4471	0,1674	1,0000	0,3949
P13	0,0065	0,0748	0,1257	0,5407	0,4325
P14*	0,0045	0,5972	0,0642	0,8677	0,4546
P15	0,0022	0,1423	0,3240	0,7048	0,1750

*Julgador dispensado por não discriminar as formulações ($p > 0,50$).

^(a) amostras continham a mesma quantidade de soja, logo, neste caso, o julgador dispensado foi o que discriminou as formulações ($p < 0,50$).

Níveis de probabilidade de $F_{repetição}$ dos provadores para os atributos sensoriais da sobremesa à base de soja.

Provador	Cor rosa	Consistência	Sabor de goiaba	Sabor de soja	Creiosidade
P1	0,2048	0,1970	0,1313	0,6771	0,4097
P2	0,1985	0,3385	0,3026	0,2616	0,0711
P3	0,6559	0,6480	0,9365	0,8743	0,1508
P4*	0,3967	0,8809	0,0583	0,0246	0,6596
P5	0,8375	0,2813	0,4682	0,9804	0,0870
P6	0,5317	0,0903	0,0737	0,6644	0,6257
P7	0,8375	0,6136	0,7662	0,2048	0,0676
P8	0,6379	0,8053	0,2464	0,0689	0,7952
P9	0,8562	0,6671	0,6331	0,8083	0,0859
P10	0,4965	0,3814	0,2840	0,2878	0,1146
P11*	0,5000	0,2933	0,0432	0,5410	0,2048
P12	0,5318	0,1303	0,4208	0,7500	0,2452
P13	0,5000	0,4678	0,1258	0,0548	0,1907
P14	0,8893	0,7220	0,2005	0,5998	0,9028
P15*	0,0479	0,2184	0,2836	0,0873	0,7284

*Julgador dispensado por não apresentar repetibilidade dos resultados ($p < 0,05$).

Anexo H – Ficha de avaliação das amostras

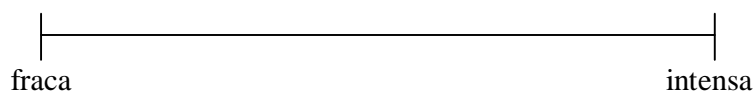
Nome:

Idade:

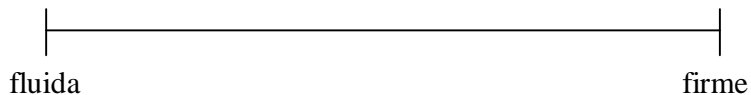
DESCRIÇÃO DOS ATRIBUTOS: SOBREMESA DE SOJA SABOR GOIABA

Aparência

Cor rosa: intensidade da cor rosa.

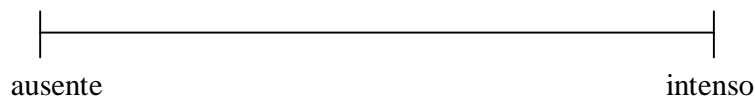


Consistência: resistência ao escorrer da colher.

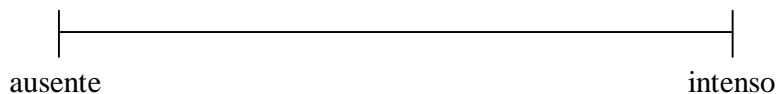


Sabor

Sabor de goiaba: intensidade do sabor característico de goiaba.

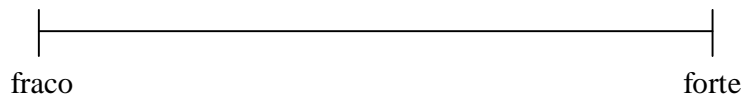


Sabor de soja: intensidade do sabor de soja.

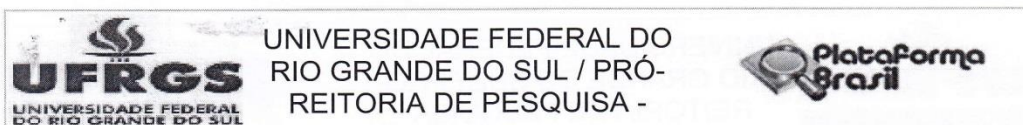


Textura

Creiosidade: percepção de consistência macia na boca.



Anexo I – Parecer do comitê de ética



PROJETO DE PESQUISA

Título: DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA, FÍSICOQUÍMICA, TÉRMICA E SENSORIAL DE SOBREMESAS À BASE DE SOJA

Área Temática:

Área 9. A critério do CEP.

Versão: 3

CAAE: 03562312.9.0000.5347

Pesquisador: Nilo Sérgio Medeiros Cardozo

Instituição: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 108.982

Data da Relatoria: 27/09/2012

Apresentação do Projeto:

Adequada, conforme antes relatada.

Objetivo da Pesquisa:

Adequado, conforme antes relatado,

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Adequados, conforme antes relatado.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Adequada, conforme antes relatada.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados, conforme antes relatado.

Recomendações:

As recomendações anteriores foram atendidas.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Os procedimentos para o recrutamento dos sujeitos da pesquisa, tanto os 30 candidatos a serem pré-selecionados para a ADQ quanto os 50 provedores para os testes de aceitabilidade sensorial, foram apresentados de modo adequado.

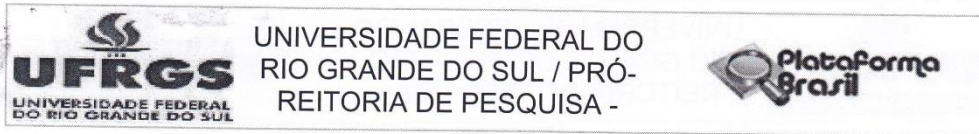
Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

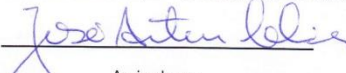
Endereço: Av. Paulo Gama, 110 - 2º andar do Prédio da Reitoria - Campus Centro
Bairro: Farroupilha **CEP:** 90.040-060
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3308-3738 **Fax:** (51)3308-4085 **E-mail:** etica@propesq.ufrgs.br



Considerações Finais a critério do CEP:

Encaminhe-se.

PORTO ALEGRE, 27 de Setembro de 2012


Assinado por:
José Artur Bogo Chies

Endereço: Av. Paulo Gama, 110 - 2º andar do Prédio da Reitoria - Campus Centro
Bairro: Farroupilha CEP: 90.040-060
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3308-3738 Fax: (51)3308-4085 E-mail: etica@propesq.ufrgs.br

Anexo J – Ficha de aplicação dos testes afetivos

Nome:

Idade:

Sexo:

Data:

Você está recebendo 3 amostras codificadas de sobremesa de goiaba. Prove da esquerda para a direita e marque o grau de aceitação segundo a escala abaixo. Não se esqueça de beber água entre as amostras.

1. Desgostei muitíssimo
2. Desgostei muito
3. Desgostei moderadamente
4. Desgostei levemente
5. Não gostei/ nem desgostei
6. Gostei levemente
7. Gostei moderadamente
8. Gostei muito
9. Gostei muitíssimo

Atributo	563	282	678
Aparência			
Cor			
Consistência			
Odor			
Sabor			
Creiosidade			
Aceitação global			

DESCRIÇÃO DE ALGUNS ATRIBUTOS

Aparência: primeira impressão ao visualizar a amostra.

Consistência: resistência ao escorrer da colher.

Creiosidade: sensações relacionadas ao preenchimento e maciez do alimento na boca.

Aceitação global: grau de gostar ou desgostar da amostra em um contexto geral.

Anexo K – Protocolo de análise para contagem de *Bacillus cereus*

Princípio: baseia-se na incubação das diluições desejadas das amostras sob teste em ágar específico.

Reagentes e soluções:

- Água peptonada 0,1 %;
- Sulfato de Polimixina B 0,1 %;
- Emulsão gema de ovo 50 %: lava-se os ovos com água e sabão, coloca-se de molho ± 10 min em álcool 70°GL; seca-se com toalha estéril, separa-se a gema e a clara colocando a gema em um copo graduado estéril; adiciona-se o mesmo volume de solução salina 0,85% estéril;
- Ágar *Bacillus cereus*: para cada 95 ml de meio base adiciona-se 5 ml de emulsão gema de ovo e 0,4 ml de solução de sulfato de polimixina B.

Procedimento:

1. Pesar aproximadamente 25 g da amostra;
2. Adicionar 225 ml de água peptonada 0,1% e homogeneizar em stomacher;
3. A partir da diluição 10^{-1} efetuar as diluições desejadas (ex.: diluição 10^{-2} , retirar 1 ml da diluição 10^{-1} e colocar em um tubo de ensaio com 9 ml de água peptonada 0,1%; diluição 10^{-3} , retirar 1ml desta última diluição colocando em outro tubo com 9 ml de água peptonada 0,1%. Fazer o mesmo procedimento para as sucessivas diluições;
4. A partir da diluição 10^{-1} , semear sobre a superfície do ágar 0,1ml de cada diluição selecionada;
5. Com auxílio de alça de Drigalski espalhar o inóculo por toda a superfície do meio;
6. Incubar as placas invertidas a 30°C por 24-48 horas.

Leitura: Contar em cada placa o número de colônias típicas (colônias rodeadas por um halo de precipitação opaco sobre um fundo róseo) existentes.

Resultado: O número de colônias contadas multiplicadas pela diluição usada corresponde ao número de *B. cereus* presente por grama da amostra em análise.

Anexo L – Protocolo de análise para contagem de Clostridium sulfito redutores

Princípio: Baseia-se na incubação das diluições desejadas das amostras sob teste em ágar específico.

Reagentes e soluções:

- Água peptonada 0,1%
- Ágar SPS

Procedimento:

1. Pesar aproximadamente 25 g da amostra;
2. Adicionar 225 ml de água peptonada 0,1% e homogeneizar em stomacher (diluição 10^{-1});
3. A partir da diluição 10^{-1} efetuar as diluições desejadas;
4. Semear em placas de Petri estéreis 1 ml de cada diluição selecionada;
5. Adicionar cerca de 15 a 20 ml de SPS fundido em cada placa;
6. Homogeneizar adequadamente o ágar com o inóculo e deixar em repouso até total solidificação. Após adicionar uma segunda camada com o mesmo meio e deixar solidificar;
7. Incubar as placas a 46°C por 48 horas em jarras de anaerobiose.

Leitura: Contar em cada placa o número de colônias médias e negras existentes.

Resultado: O número de colônias contadas multiplicadas pela diluição usada, corresponde ao número de Clostridium presente por grama da amostra em análise.

Anexo M – Protocolo de análise para o número mais provável de coliformes fecais (termotolerantes) – 45°C

Princípio: Baseia-se na incubação da amostra sob teste em caldo lauril sulfato de sódio utilizando a técnica de tubos múltiplos.

Reagentes e soluções:

- Água peptonada 0,1%
- Caldo lauril sulfato de sódio
- Caldo EC

Procedimento:

A) Prova presuntiva:

1. Pesar aproximadamente 25 g da amostra;
2. Adicionar 225 ml de água peptonada 0,1% e homogeneizar em stomacher (diluição 10^{-1});
3. A partir da diluição 10^{-1} efetuar as diluições desejadas;
4. Semear as diluições em série de 3 tubos de caldo lauril com tubos de Durhan (para cada diluição : 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3});
5. A partir da diluição 10^{-1} colocar 10ml em série de 3 tubos contendo 10ml caldo lauril , esta é a diluição 10^{-1} ;
6. A seguir colocar 1 ml da diluição 10^{-1} em outra série de 3 tubos contendo 10ml de caldo lauril, esta é a diluição 10^{-2} ;
7. A seguir colocar 1 ml da diluição 10^{-2} em outra série de 3 tubos contendo 10ml de caldo lauril, esta é a diluição 10^{-3} ;
8. Incubar os tubos a 36°C por 24 a 48 horas;
9. A suspeita de coliformes fecais é indicada pela formação de gás nos tubos de Durhan = tubos positivos;
10. Anotar o número de tubos positivos em cada série de diluição.

B) Prova confirmativa:

-
1. Repicar cada tubo positivo de caldo lauril, obtido na prova presuntiva, para tubo contendo caldo EC;
 2. Incubar os tubos a 45°C por 24 horas em banho maria com agitação ou circulação de água.

Leitura: Calcular o NMP de colônias através do número de tubos positivos, consultando tabela específica;

Resultado = NMP por g ou ml.

Anexo N – Protocolo de análise para pesquisa de *Salmonella sp*

Princípio: Baseia-se na incubação da amostra sob teste em água peptonada tamponada (APT) 1%.

Reagentes e soluções:

- Água peptonada tamponada 1%
- Ágar BPLS
- Ágar Hektoen Enteric
- Caldo selenito cistina (SC)
- Caldo Rappaport Vassiliadis (RV)

Procedimento:

A. Pré-enriquecimento:

1. Pesar aproximadamente 25 g da amostra;
2. Adicionar 225 ml de água peptonada 1% e homogeneizar em stomacher .
3. Incubar a 35°C por 24 h

B. Enriquecimento seletivo:

1. A partir da APT 1% que ficou 24 h na estufa: colocar 1 ml para um tubo de ensaio contendo 9ml de caldo SC e 0,1 ml para outro tubo contendo 9 ml de caldo RV;
2. Incubar a 36°C por 24h.

C. Isolamento - a partir de cada caldo SC e RV:

1. Repicar sobre a superfície de placa de petri com ágar BPLS estriando de forma a se obter colônias isoladas; dessa forma serão obtidas 2 placas de BPLS, uma do caldo RV e outra do caldo SC;
2. Repicar sobre a superfície de placa de petri com ágar Hektoen estriando de forma a se obter colônias isoladas; dessa forma serão obtidas 2 placas de Hektoen, uma do caldo RV e outra do caldo SC;
3. Incubar todas as placas, invertidas, a 36°C por 24h.

Leitura: Contar em cada placa o número de colônias existentes. No ágar Hektoen: colônias verde azuladas podendo apresentar centro negro. No ágar BPLS: colônias de cor rosada.

Resultado: Expressar o resultado como: presença ou ausência de *Salmonella* por 25 g ou ml.

Anexo O – Protocolo de análise para contagem de *Staphylococcus aureus*

Princípio: Baseia-se na incubação das diluições desejadas das amostras sob teste em ágar específico.

Reagentes e soluções:

- Água peptonada 0,1 %
- Telurito de potássio 1 %
- Emulsão gema de ovo 50 %
- Ágar Baird Parker

Procedimento:

1. Pesar aproximadamente 25 g da amostra;
2. Adicionar 225 ml de água peptonada 0,1% e homogeneizar em stomacher;
3. A partir da diluição 10^{-1} efetuar as diluições desejadas (retirar 1ml da diluição 10^{-1} colocar em um tubo de ensaio com 9ml de água peptonada 0,1% - diluição 10^{-2} , retirar 1ml desta diluição colocando em outro tubo com 9 ml de água peptonada 0,1% - diluição 10^{-3} , e assim sucessivamente para as próximas diluições;
4. A partir da diluição 10^{-1} semear sobre a superfície do ágar 0,1ml de cada diluição selecionada;
5. Com auxílio de alça de Drigalski espalhar o inoculo por toda a superfície do meio;
6. Incubar as placas invertidas a 36°C por 48 horas.

Leitura: Contar em cada placa o número de colônias típicas (colônias negras brilhantes com anel opaco, rodeadas por um halo claro, transparente e destacado sobre a opacidade do meio) existentes.

Resultado: O número de colônias contadas multiplicadas pela diluição usada corresponde ao número de *S. aureus* presente por grama da amostra em análise.

Anexo P – Protocolo de análise para contagem de bolores e leveduras

Princípio: Baseia-se na incubação das diluições desejadas das amostras sob teste em ágar específico.

Reagentes e soluções:

- Água peptonada 0,1%
- Ágar batata glicosado
- Ácido tartárico 10%

Procedimento:

1. Pesar aproximadamente 25 g da amostra;
2. Adicionar 225 ml de água peptonada 0,1% e homogeneizar em stomacher (diluição 10^{-1});
3. A partir da diluição 10^{-1} efetuar as diluições desejadas;
4. A partir da diluição 10^{-1} semear em placas de Petri estéreis 1ml de cada diluição selecionada;
5. Adicionar cerca de 15 a 20ml de ágar batata fundido (no momento da utilização acidificar até o pH 3,5 por meio de adição de 1ml de solução de ácido tartárico 10% para cada 100 ml de meio padrão, não aquecer após a adição do ácido) em cada placa;
6. Homogeneizar adequadamente o ágar com o inóculo;
7. Incubar as placas a 25°C por 3 a 5 dias.

Leitura: Contar em cada placa o número de colônias existentes.

Resultado: O número de colônias contadas multiplicadas pela diluição usada corresponde ao número de bolores e leveduras presentes por grama da amostra em análise.

Anexo Q – Laudo de análise microbiológica após 15 dias de armazenamento

Av. Baltazar de Oliveira Garcia, 1899 - Sarandi
Porto Alegre - RS - CEP: 91.150-001
Fone/Fax: (51) 3337-0161 - Fone: (51) 3374-2044
www.quimicapura.com.br



Laboratório de Análises Químicas e Microbiológicas

Relatório de Ensaio Nº. 24734/04-14

Cliente: Jordana Corralo Spada – UFRGS
Endereço: Rua Engenheiro Luiz Englert, S/N – Prédio 12204 **Cidade:** Porto Alegre – RS

Identificação da Amostra

Identificação: Sobremesa à Base de Soja – Início da Análise 17/04/2014
Lote / Rótulo: Não Informado
Tipo de Amostra: Alimento
Data da Fabricação: Não Informado
Coletador: Cliente
Data da Validade: Não Informado
Data da Coleta: Não Informado
Horário da Coleta: Não Informado
Data da Entrada: 11/04/2014
Horário de Entrada: 17h41min

Condições de Recebimento da Amostra

Temperatura da Amostra: Refrigerada
Peso da Amostra: 460g
Embalagem: Vidro
Lacre: ---

Resultados Analíticos

Ensaio	Unidade	Resultado
Contagem de <i>Bacillus cereus</i>	UFC/g	< 1,0x10 ² est.
Contagem de Bolores e Leveduras	UFC/g	< 1,0x10 ² est.
Contagem de Clostridium Sulfito Redutores	UFC/g	< 1,0x10 ¹ est.
Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i>	UFC/g	< 1,0x10 ² est.
Número Mais Provável de Coliformes Termotolerantes	NMP/g	< 3,0
Número Mais Provável de Coliformes Totais	NMP/g	< 3,0
Pesquisa de <i>Salmonella sp</i>	/25g	Ausente
Período de realização do(s) ensaio(s):	11 de Abril de 2014 a 22 de Abril de 2014	

Metodologia: > Instrução Normativa SDA nº 52, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, de 26 de agosto de 2003.
> Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, APHA, 4th Edition.
> Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos, Instituto Adolfo Lutz, edição IV, 2005.

NMP = Número Mais Provável.

UFC = Unidade Formadora de Colônia.

est = estimado.

Nota: A Química Pura garante a conservação adequada das amostras e que todos os ensaios foram realizados dentro do prazo analítico de cada parâmetro, conforme o PS -13 QUÍMICA PURA, quando a coleta é realizada pelos técnicos da Química Pura. Quando a coleta é de responsabilidade do cliente, caso haja algum desvio com relação a estes itens, o laboratório garante a correta conservação e a realização da análise dentro do prazo analítico, após a entrada das amostras no laboratório.


Márcio Roberto Kuhn

Responsável Técnico
CRQ-05101268

Anexo R – Laudo de análise microbiológica após 30 dias de armazenamento

Av. Baltazar de Oliveira Garcia, 1899 - Sarandi
Porto Alegre - RS - CEP: 91.150-001
Fone/Fax: (51) 3337-0161 - Fone: (51) 3374-2044
www.quimicapura.com.br



Laboratório de Análises Químicas e Microbiológicas

Relatório de Ensaio Nº. 24735/04-14

Cliente: Jordana Corralo Spada – UFRGS
Endereço: Rua Engenheiro Luiz Englert, S/N – Prédio 12204 **Cidade:** Porto Alegre – RS

Identificação da Amostra

Identificação: Sobremesa à Base de Soja – Início da Análise 05/05/2014	Lote / Rótulo: Não Informado
Tipo de Amostra: Alimento	Data da Fabricação: Não Informado
Coletador: Cliente	Data da Validade: Não Informado
Data da Coleta: Não Informado	Horário da Coleta: Não Informado
Data da Entrada: 11/04/2014	Horário de Entrada: 17h41min

Condições de Recebimento da Amostra

Temperatura da Amostra: Refrigerada	Peso da Amostra: 453g
Embalagem: Vidro	Lacre: ---

Resultados Analíticos

Ensaio	Unidade	Resultado
Contagem de <i>Bacillus cereus</i>	UFC/g	< 1,0x10 ² est.
Contagem de Bolores e Leveduras	UFC/g	< 1,0x10 ² est.
Contagem de Clostridium Sulfito Redutores	UFC/g	< 1,0x10 ¹ est.
Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i>	UFC/g	< 1,0x10 ² est.
Número Mais Provável de Coliformes Termotolerantes	NMP/g	< 3,0
Número Mais Provável de Coliformes Totais	NMP/g	< 3,0
Pesquisa de <i>Salmonella sp</i>	/25g	Ausente
Período de realização do(s) ensaio(s):	11 de Abril de 2014	12 de Maio de 2014

Metodologia: > Instrução Normativa SDA nº 62, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, de 26 de agosto de 2003.
> Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, APHA, 4th Edition.
> Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos, Instituto Adolfo Lutz, edição IV, 2005.

NMP = Número Mais Provável.

UFC = Unidade Formadora de Colônia.

est = estimado.

Nota: A Química Pura garante a conservação adequada das amostras e que todos os ensaios foram realizados dentro do prazo analítico de cada parâmetro, conforme o PS -13 QUÍMICA PURA, quando a coleta é realizada pelos técnicos da Química Pura. Quando a coleta é de responsabilidade do cliente, caso haja algum desvio com relação a estes itens, o laboratório garante a correta conservação e a realização da análise dentro do prazo analítico, após a entrada das amostras no laboratório.


Márcio Roberto Kuhn
Responsável Técnico
CRO-05101269

Anexo S – Laudo de análise microbiológica após 45 dias de armazenamento

Av. Baltazar de Oliveira Garcia, 1899 - Sarandi
Porto Alegre - RS - CEP: 91.150-001
Fone/Fax: (51) 3337-0161 - Fone: (51) 3374-2044
www.quimicapura.com.br



Relatório de Ensaio Nº. 24736/04-14

Cliente: Jordana Corralo Spada – UFRGS
Endereço: Rua Engenheiro Luiz Englert, S/N – Prédio 12204 **Cidade:** Porto Alegre – RS

Identificação da Amostra

Identificação: Sobremesa à Base de Soja – Início da Análise 20/05/2014	Lote / Rótulo: Não Informado
Tipo de Amostra: Alimento	Data da Fabricação: Não Informado
Coletador: Cliente	Data da Validade: Não Informado
Data da Coleta: Não Informado	Horário da Coleta: Não Informado
Data da Entrada: 11/04/2014	Horário de Entrada: 17h41min

Condições de Recebimento da Amostra

Temperatura da Amostra: Refrigerada	Peso da Amostra: 461g
Embalagem: Vidro	Lacre: ---

Resultados Analíticos

Ensaio	Unidade	Resultado
Contagem de <i>Bacillus cereus</i>	UFC/g	< 1,0x10 ² est.
Contagem de Bolores e Leveduras	UFC/g	< 1,0x10 ² est.
Contagem de Clostridium Sulfito Redutores	UFC/g	< 1,0x10 ¹ est.
Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i>	UFC/g	< 1,0x10 ² est.
Número Mais Provável de Coliformes Termotolerantes	NMP/g	< 3,0
Número Mais Provável de Coliformes Totais	NMP/g	< 3,0
Pesquisa de <i>Salmonella sp</i>	/25g	Ausente
Período de realização do(s) ensaio(s):	11 de Abril de 2014 a 26 de Maio de 2014	

Metodologia: > Instrução Normativa SDA nº 62, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, de 26 de agosto de 2003.
> Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, APHA, 4th Edition.
> Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos, Instituto Adolfo Lutz, edição IV, 2005.

NMP = Número Mais Provável.

UFC = Unidade Formadora de Colônia.

est = estimado.

Nota: A Quimica Pura garante a conservação adequada das amostras e que todos os ensaios foram realizados dentro do prazo analítico de cada parâmetro, conforme o PS -13 QUÍMICA PURA, quando a coleta é realizada pelos técnicos da Quimica Pura. Quando a coleta é de responsabilidade do cliente, caso haja algum desvio com relação a estes itens, o laboratório garante a correta conservação e a realização da análise dentro do prazo analítico, após a entrada das amostras no laboratório.


Márcio Roberto Kuhn
Responsável Técnico
CRQ-05101269

Anexo T – Laudo de análise microbiológica após 60 dias de armazenamento

Av. Baltazar de Oliveira Garcia, 1899 - Sarandi
Porto Alegre - RS - CEP: 91.150-001
Fone/Fax: (51) 3337-0161 - Fone: (51) 3374-2044
www.quimicapura.com.br



Laboratório de Análises Químicas e Microbiológicas

Relatório de Ensaio Nº. 24737/04-14

Cliente: Jordana Corralo Spada – UFRGS
Endereço: Rua Engenheiro Luiz Englert, S/N – Prédio 12204 **Cidade:** Porto Alegre – RS

Identificação da Amostra

Identificação: Sobremesa à Base de Soja – Início da Análise 04/06/2014	Lote / Rótulo: Não Informado
Tipo de Amostra: Alimento	Data da Fabricação: Não Informado
Coletador: Cliente	Data da Validade: Não Informado
Data da Coleta: Não Informado	Horário da Coleta: Não Informado
Data da Entrada: 11/04/2014	Horário de Entrada: 17h41min

Condições de Recebimento da Amostra

Temperatura da Amostra: Refrigerada	Peso da Amostra: 440g
Embalagem: Vidro	Lacre: ---

Resultados Analíticos

Ensaio	Unidade	Resultado
Contagem de <i>Bacillus cereus</i>	UFC/g	< 1,0x10 ² est.
Contagem de Bolores e Leveduras	UFC/g	< 1,0x10 ² est.
Contagem de Clostridium Sulfito Redutores	UFC/g	< 1,0x10 ² est.
Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i>	UFC/g	< 1,0x10 ² est.
Número Mais Provável de Coliformes Termotolerantes	NMP/g	< 3,0
Número Mais Provável de Coliformes Totais	NMP/g	< 3,0
Pesquisa de <i>Salmonella sp</i>	/25g	Ausente

Período de realização do(s) ensaio(s): 11 de Abril de 2014 a 13 de Junho de 2014

Metodologia: ➤ Instrução Normativa SDA n° 62, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, de 26 de agosto de 2003.
➤ Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, APHA, 4th Edition.
➤ Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos, Instituto Adolfo Lutz, edição IV, 2005.

NMP = Número Mais Provável.

UFC = Unidade Formadora de Colônia.

est = estimado.

Nota: A Química Pura garante a conservação adequada das amostras e que todos os ensaios foram realizados dentro do prazo analítico de cada parâmetro, conforme o PS -13 QUÍMICA PURA, quando a coleta é realizada pelos técnicos da Química Pura. Quando a coleta é de responsabilidade do cliente, caso haja algum desvio com relação a estes itens, o laboratório garante a correta conservação e a realização da análise dentro do prazo analítico, após a entrada das amostras no laboratório.


Márcio Roberto Kuhn
Responsável Técnico
CRQ-05101269