

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS
DE PROTEÍNA ISOLADA DE SOJA, AMIDO E GLÚTEN
E SUAS MISTURAS**

Dissertação de Mestrado

Liziane Dantas Lacerda

Porto Alegre, março 2008.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

LIZIANE DANTAS LACERDA

**AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS
DE PROTEÍNA ISOLADA DE SOJA, AMIDO E GLÚTEN
E SUAS MISTURAS**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a
obtenção do grau de Mestre em Química

Prof. Dr. Nádyá Pesce da Silveira
Orientadora

Porto Alegre, março 2008.

A presente dissertação foi realizada inteiramente pelo autor, exceto as colaborações as quais serão devidamente citadas nos agradecimentos, no período entre agosto de 2006 e janeiro de 2008, no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob orientação da Professora Doutora Nádyá Pesce da Silveira. A dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Química pela seguinte banca examinadora:

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Moacir Cardoso Elias

Prof. Dr. Marly Antonia Maldaner Jacobi

Prof. Dr. Liane Lucy de Lucca Freitas

Prof. Dr. Nádyá Pesce da Silveira
Orientador

Liziane Dantas Lacerda

Para Marco Antônio

IV

AGRADECIMENTOS

Ao meu marido por toda a força, compreensão, amor e companheirismo,

À Nádyá pela orientação e principalmente pela amizade,

Aos meus pais e irmão pelo apoio,

Ao Eng. René Rech por sempre acreditar em mim,

À Janice pela ajuda no laboratório,

Ao Stas pelos ensinamentos de estatística,

Ao Mateus Cardoso, Mike e Tam pelas magníficas contribuições,

A todos os colegas e amigos da Solae que auxiliaram na realização do trabalho.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
	2.1 <i>PROTEÍNA ISOLADA DE SOJA.....</i>	3
	2.2 <i>GLÚTEN.....</i>	5
	2.3 <i>AMIDO.....</i>	7
	2.4 <i>PLANEJAMENTO DE MISTURAS.....</i>	9
3	PARTE EXPERIMENTAL.....	12
	3.1 <i>AMOSTRAS.....</i>	12
	3.2 <i>CARACTERIZAÇÃO DAS MACROMOLÉCULAS</i>	12
	3.2.1 <i>Proteína Isolada de Soja e Glúten</i>	12
	3.2.2 <i>Amidos.....</i>	15
	3.3 <i>PLANEJAMENTO DAS MISTURAS.....</i>	20
	3.3.1 <i>Fase Preliminar.....</i>	20
	3.3.2 <i>Fase Final.....</i>	22
	3.4 <i>PREPARAÇÃO DAS MISTURAS.....</i>	23
	3.5 <i>PREPARAÇÃO DOS GÉIS.....</i>	23
	3.6 <i>AValiação DOS GÉIS.....</i>	24
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
	4.1 <i>PROTEÍNAS.....</i>	27
	4.2 <i>AMIDOS.....</i>	32
	4.3 <i>MISTURAS.....</i>	46
	4.3.1 <i>Fase Preliminar.....</i>	46
	4.3.2 <i>Fase Final.....</i>	51
5	DISCUSSÕES GERAIS.....	70
6	CONCLUSÕES.....	73
7	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	74
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Modelo estrutural da fração 11S da soja.....	4
Figura 2: Modelo estrutural da rede protéica do glúten.....	6
Figura 3: Imagem evidenciando a rede protéica viscoelástica típica do glúten, formada pela presença de glutenina e gliadina.....	6
Figura 4: Estrutura da amilopectina presente no amido.....	8
Figura 5: Configuração espacial da região Simplex.....	9
Figura 6: Esquema de funcionamento do microscópio eletrônico de varredura.....	12
Figura 7: Esquema de funcionamento da espectroscopia de difração a laser.....	14
Figura 8: Esquema de polarização da luz.....	16
Figura 9: Imagens obtidas através do ajuste das posições do analisador e polarizador.....	17
Figura 10: Esquema de funcionamento do viscosímetro Haake VT 550.....	19
Figura 11: Representação através de Sistema Ternário dos experimentos realizados no Primeiro Estudo.....	20
Figura 12: Representação através de Sistema Ternário dos experimentos realizados no Segundo Estudo.....	21
Figura 13: Planejamento experimental do tipo Simplex centróide realizado no Segundo Estudo.....	21
Figura 14: Representação através de Sistema Ternário dos experimentos realizados na Fase Final.....	22
Figura 15: Planejamento experimental do tipo Vértices extremos realizado na Fase Final.....	23
Figura 16: Sensor utilizado na determinação da fluidez.....	24
Figura 17: Sensor utilizado na determinação da dureza.....	25
Figura 18: Sensor utilizado na determinação da força de ruptura e deformabilidade.....	25

Figura 19: Sensor utilizado na determinação da força de penetração.....	26
Figura 20: Microscopia eletrônica de varredura de proteína isolada de soja (a) e glúten (b).....	27
Figura 21: Distribuição de tamanho de partícula de proteína isolada de soja (a) e glúten (b).....	28
Figura 22: Termogramas de proteína isolada de soja e glúten.....	29
Figura 23: Viscograma contendo o comportamento de proteína isolada de soja e glúten.....	31
Figura 24: Viscograma contendo o comportamento de glúten.....	32
Figura 25: Microscopia eletrônica de varredura dos amidos de trigo (a), mandioca (b) e milho (c).....	33
Figura 26: Distribuição de tamanho de partícula dos amidos de trigo (a), mandioca (b) e milho (c).....	34
Figura 27: Microscopia óptica do amido de trigo a diferentes temperaturas. As micrografias com fundo escuro foram obtidas sob luz polarizada.....	36
Figura 28: Microscopia óptica do amido de trigo a 55°C (em cima) e sob luz polarizada (embaixo). O círculo destaca um único grânulo (em cima) e sua birrefringência na forma de cruz de malta (embaixo).....	37
Figura 29: Microscopia óptica do amido de mandioca a diferentes temperaturas. As micrografias com fundo escuro foram obtidas sob luz polarizada.....	38
Figura 30: Microscopia óptica do amido de mandioca a 55°C (em cima) e sob luz polarizada (embaixo). O círculo destaca um único grânulo em que ocorre a ruptura.....	39
Figura 31: Microscopia óptica do amido de milho a diferentes temperaturas. As micrografias com fundo escuro foram obtidas sob luz polarizada.....	40
Figura 32: Microscopia óptica do amido de milho a 65°C (em cima) e sob luz polarizada (embaixo). As micrografias evidenciam a estabilidade dos grânulos.....	41
Figura 33: Termogramas dos amidos de trigo, mandioca e milho.....	43
Figura 34: Perfil de intumescimento dos amidos de trigo, mandioca e milho.....	44
Figura 35: Viscograma contendo o comportamento dos diferentes amidos.....	45
Figura 36: Representação gráfica da interação entre as propriedades reológicas utilizando-se a análise de regressão (Primeiro Estudo).....	49

Figura 37: Representação gráfica da interação entre as propriedades reológicas utilizando-se a análise de regressão (Fase Final).....	53
Figura 38: Gráfico de fluidez em função do tipo de mistura.....	55
Figura 39: Gráfico de deformabilidade em função do tipo de mistura.....	56
Figura 40: Gráfico de força de penetração em função do tipo de mistura.....	56
Figura 41: Gráfico de força de ruptura em função do tipo de mistura.....	57
Figura 42: Gráfico de dureza em função do tipo de mistura.....	57
Figura 43: Planejamento experimental do tipo Simplex centróide realizado na Fase Final.....	64
Figura 44: Curvas de nível da fluidez, modelo quadrático para o amido de trigo e modelo cúbico especial para a mandioca e o milho.....	67
Figura 45: Curvas de nível da dureza, modelo cúbico especial para as três espécies de amido.....	68

LISTA DE TABELAS

Tabela I: Características das frações protéicas hidrossolúveis da soja.....	3
Tabela II: Características das proteínas do trigo.....	5
Tabela III: Proporção de amilose e amilopectina em amido de trigo, mandioca e milho.....	7
Tabela IV: Modelos de ajuste utilizados no planejamento de misturas.....	11
Tabela V: Parâmetros granulométricos de proteína isolada de soja e glúten.....	28
Tabela VI: Parâmetros granulométricos dos amidos de trigo, mandioca e milho.....	35
Tabela VII: Propriedades reológicas obtidas para as misturas do Primeiro Estudo..	46
Tabela VIII: Interação entre as propriedades reológicas através de indicadores estatísticos (Primeiro Estudo).....	47
Tabela IX: Correlação da variação dos parâmetros reológicos com os componentes (Primeiro Estudo).....	49
Tabela X: Propriedades reológicas obtidas para as misturas do Segundo Estudo...	50
Tabela XI: Propriedades reológicas obtidas para as misturas da Fase Final.....	51
Tabela XII: Interação entre as propriedades reológicas através de indicadores estatísticos (Fase Final).....	51
Tabela XIII: Correlação da variação dos parâmetros reológicos com os componentes (Fase Final).....	54
Tabela XIV: Contribuição de cada componente de acordo com a mistura utilizada.....	59
Tabela XV: Valores de R-Sq (adj) para os modelos de regressão.....	60
Tabela XVI: Valores preditos pelo modelo quadrático e valores experimentais.....	63

GLOSSÁRIO

S – unidade Sverdberg

Da – dalton

BMM – baixa massa molecular

AMM – alta massa molecular

b.s. – base seca

GP – grau de polimerização

PIS – proteína isolada de soja

DSC – calorimetria diferencial de varredura

T_g – temperatura de transição vítrea

T_m – temperatura de fusão

T_{onset} - temperatura inicial

T_{peak} - temperatura do pico

T_{endset} - temperatura final

C. C. P. - coeficiente de correlação de Pearson

R^2 ou R-Sq - coeficiente de determinação

R^2_A ou R-Sq(adj) - coeficiente de determinação ajustado

ANOVA - análise de variância

RESUMO

Durante o processamento industrial de produtos alimentícios, tendem a ocorrer modificações físicas e/ou químicas nos diferentes componentes, que interferem diretamente em seus atributos típicos. Portanto, torna-se necessária a avaliação do comportamento físico-químico de cada componente, bem como de suas misturas. Dois tipos de proteína, proteína isolada de soja e glúten, tiveram suas propriedades morfológicas, térmicas e reológicas avaliadas neste trabalho. Estas propriedades também foram investigadas para os amidos de trigo, mandioca e milho, incluindo-se a determinação de amido danificado e o acompanhamento do processo de gelatinização através da microscopia óptica utilizando luz polarizada. Para investigar o efeito individual dos componentes, foram aplicados vários planejamentos experimentais de misturas do tipo simplex contendo diferentes concentrações de proteína isolada de soja/glúten/amido. A influência da fonte botânica do amido também foi verificada. Parâmetros reológicos como força de ruptura, dureza, deformabilidade, fluidez e força de penetração foram determinados para géis obtidos a partir das misturas preparadas, permitindo assim um estudo comparativo. Através da quimiometria, modelos de ajuste lineares, quadráticos e cúbicos foram aplicados para obter equações polinomiais que pudessem expressar adequadamente as superfícies de resposta observadas para cada parâmetro reológico avaliado. A significância estatística desses modelos foi avaliada através da análise de variância e de um novo ensaio experimental, sendo possível indicar o melhor modelo de ajuste para cada propriedade reológica estudada.

ABSTRACT

Physical and/or chemical modifications that happen in the ingredients during industrial process of food products interfere directly in their typical attributes. Therefore, the physical-chemistry behavior evaluation of each ingredient and their blends make necessary. Two kinds of proteins, isolate soy protein and gluten, have been their morphological, thermal and rheological properties evaluated in this work. These properties have been investigated to wheat, corn and tapioca starches, damaged starch determination and gelatinization process following using light microscopy with polarized light were included. In order to investigate the effects of the individual components, applied several mixture simplex design for modeling experiments of blends with different isolate soy protein/gluten/starch ratios. The influence of botanical source of starch was also investigated. Rheological parameters like rupture strength, hardness, deformability, firmness and penetration strength of the gels obtained through the prepared blends were determined make possible a comparative study. Using chemometry, linear, quadratic and special cubic models were studied to get polynomial equations that express the observed surface response to each evaluated rheological parameter. The statistical significance of these models was obtained using analysis of variance and new experimental blend, being possible indicate the better model to each studied rheological parameter.

1 INTRODUÇÃO

Proteína e amido são os principais componentes de cereais, legumes e tubérculos. Produtos alimentícios como pães, massas, salgadinhos, cereais matinais e outros processados industrialmente possuem textura característica e atributos sensoriais relacionados à presença de diferentes proporções de proteína, glúten e amido em suas formulações¹. Além disso, as propriedades visco-elásticas necessárias à preparação e ao processamento de diferentes tipos de alimentos industrializados dependem da presença de uma proporção adequada destes três componentes². Um exemplo disto são os produtos extrusados^{3,4}.

Dentre as proteínas utilizadas na indústria de alimentos, a proteína isolada de soja é a que está em larga expansão atualmente. O tratamento térmico conduz à dissociação, denaturação e agregação das subunidades protéicas, 7S e 11S, que em concentração adequada resultam no fenômeno da gelatinização⁵. Este comportamento associado com o alto valor nutricional apresentado pelas proteínas isoladas de soja tem atraído pesquisas intensas relacionadas a aplicações na indústria alimentícia. Entretanto, fortes interações intra e intermoleculares resultam em alta viscosidade que faz seu processamento, tal como extrusão e injeção, muito difícil na ausência de outros aditivos, tais como óleos vegetais⁶.

O glúten é uma fração isolada do trigo rica em proteínas⁷. As gliadinas são responsáveis pelas propriedades de ductibilidade e coesividade do glúten, enquanto as gluteninas formam polímeros de alta massa molecular e contribuem para a elasticidade⁸. As proteínas do glúten são insolúveis em água e durante o processamento, formam estruturas fortes, coesas e viscoelásticas que retêm a estrutura inicial resultando em um produto final aerado⁹.

O amido, que pode ser de diferentes origens e procedências para a utilização industrial, consiste de grânulos micrométricos constituídos das macromoléculas amilose e amilopectina, em uma proporção que depende da origem do grânulo¹⁰. A gelatinização do amido é de grande importância nas etapas de cozimento, secagem e extrusão de produtos que o contém¹¹. Durante o processo de gelatinização ocorre a ruptura de ligações de hidrogênio, ocasionando a perda da cristalinidade, a qual tem sido quantitativamente relacionada com eventos térmicos e estruturais¹².

A maioria dos estudos realizados em amostras contendo proteína isolada de soja, glúten e/ou amido costuma avaliar as misturas através de seus produtos finais, utilizando metodologia de controle de qualidade industrial, tais como índice de expansão, densidade, grau de hidratação^{1,11}, atividade de água¹³, coloração, textura^{14,15} e avaliação sensorial¹⁶.

Estudos fundamentais avaliando o comportamento físico-químico de cada biopolímero e sua correlação com as propriedades físico-químicas de suas misturas são necessários, porém difíceis de realizar comparativamente, pois cada sistema apresenta suas características específicas, em função da origem dos diferentes componentes.

O principal objetivo deste trabalho é, portanto, a caracterização físico-química de cada um dos componentes, proteína isolada de soja, glúten e amido (trigo, mandioca e milho), bem como a avaliação de propriedades reológicas de diferentes composições de misturas dos mesmos. Para tal, serão aplicadas técnicas experimentais tais como microscopia óptica utilizando campo claro e luz polarizada, microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia de difração a laser, calorimetria diferencial de varredura, viscosimetria e textura, planejamento de misturas utilizando a região simplex e modelos de ajuste linear, quadrático e cúbico.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PROTEÍNA ISOLADA DE SOJA

A soja constitui uma excelente fonte de proteína para a alimentação humana e animal. Além de apresentar cerca de 40% de proteína em seus grãos, estas são de elevado valor nutritivo¹⁷.

A proteína isolada de soja é um produto extraído da farinha desengordurada de soja e que contém mais de 90% de proteína. As proteínas de soja constituem uma mistura de macromoléculas de tamanhos, densidades de carga e estruturas diferentes¹⁸.

As globulinas são as principais proteínas da soja sendo insolúveis em meio aquoso em seu ponto isoelétrico. O ponto isoelétrico representa o pH no qual uma molécula carregada em solução possui carga elétrica resultante nula e, portanto, não é deslocada em um campo elétrico¹⁹.

Quando submetidas à ultracentrifugação as proteínas podem ser separadas em quatro frações de acordo com a sua velocidade de sedimentação, 2S, 7S, 11S e 15S (onde S é a unidade Sverberg)²⁰, Tabela I.

Tabela I: Características das frações protéicas hidrossolúveis da soja.

Fração	2S	7S	11S	15S
Proporção (p/p), %	15	35	40	10
Massas Molares (KDa)	7,8 - 21,5	12 - 175	320 - 350	600

As proteínas de soja constituem-se principalmente de globulinas 11S e 7S, representando estas duas frações 75% do total.

A fração 11S, ou glicinina, é constituída por 12 subunidades, sendo 6 de caráter ácido e 6 de caráter básico, ligadas por ligação dissulfeto. Já a fração 7S, ou β -conglucina, é uma glicoproteína trimérica formada por três subunidades: α , α' e β ²¹.

O modelo estrutural da fração 11S pode ser visualizado na Figura 1.

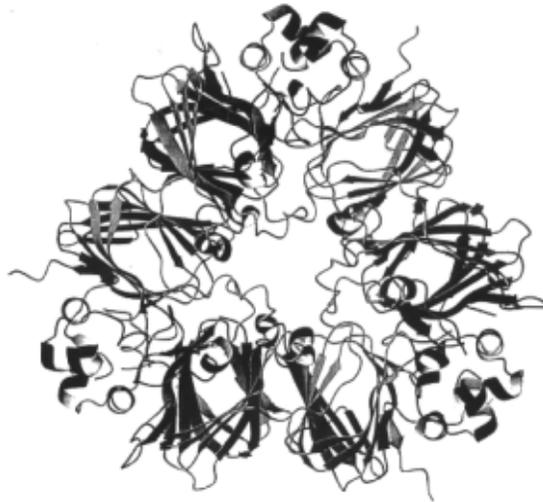


Figura 1: Modelo estrutural da fração 11S da soja²².

A glicinina e a β -conglucina contém 39% e 41% resíduos de aminoácidos hidrofóbicos, respectivamente. Como o conteúdo de aminoácidos hidrofóbicos é superior a 30%, torna-se fisicamente impossível formar uma estrutura quaternária capaz de esconder todos os resíduos apolares. Sendo assim, zonas hidrofóbicas ficam expostas e a interação entre as zonas forma dímeros e trímeros²³.

Durante o aquecimento das proteínas há uma interação das globulinas 7S e 11S. A formação de agregados das subunidades α e α' ocorre devido a ligações iônicas e ligações dissulfeto. Agregados de alta massa molecular são formados por trímeros ou dímeros das subunidades α e α' , enquanto que agregados de massa molecular intermediário são formados pelas subunidades α e α' e pelos polipeptídeos da glicinina²⁴.

O mecanismo de formação do gel protéico é o mesmo para a glicinina e a β -conglucina: agregação das partículas de proteína, sendo que o tamanho dos agregados depende do tamanho e da forma das moléculas de proteína, da temperatura de aquecimento, do pH e do rearranjo molecular antes da formação do gel²⁵. A glicinina forma géis mais firmes e elásticos que a β -conglucina, devido às diferenças na estrutura da rede protéica formada, bem como pelas numerosas ligações dissulfeto existentes na molécula da glicinina²⁶.

A fração 7S apresenta um gel menos rígido em temperaturas acima de 75°C. Isso pode ser explicado pelo fato das altas temperaturas gerarem mais sítios reativos na superfície da molécula de proteína, principalmente sítios hidrofóbicos, formando gel desordenado²⁷.

2.2 GLÚTEN

O trigo apresenta 13% de proteína em sua composição. O glúten é um produto obtido da lavagem da farinha de trigo e que contém mais de 80% de proteína. As proteínas do trigo são normalmente divididas em proteínas de reserva (gliadina e glutenina), globulinas e albuminas²⁸, Tabela II.

Tabela II: Características das proteínas do trigo.

Proteínas	Gliadina	Glutenina	Globulinas	Albuminas
Proporção (p/p), %	68	32	13	7
Solubilidade	álcool 70%	ácidos e bases diluídas	solução salina	água
Massas Molares (KDa)	15 - 60	60 - 10000	<25	<25

Utilizando a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida podem ser identificadas a gliadina e a glutenina de acordo com a sua mobilidade no gel²⁹.

As gliadinas, que pertencem à classe das prolaminas, apresentam baixo teor de aminoácidos carregados, formam somente ligações intramoleculares dissulfeto e podem ser classificadas em ordem crescente de massa molecular como α , β , γ e ω -gliadinas³⁰. As gluteninas, que pertencem à classe das glutelinas, entretanto, são agregados de proteínas ligadas por ligações intermoleculares dissulfeto devido à presença de cisteína nas subunidades. As mesmas podem ser classificadas como BMM (baixa massa molecular) e AMM (alto massa molecular)-gluteninas³¹.

O modelo estrutural da rede protéica do glúten pode ser visualizado na Figura 2.

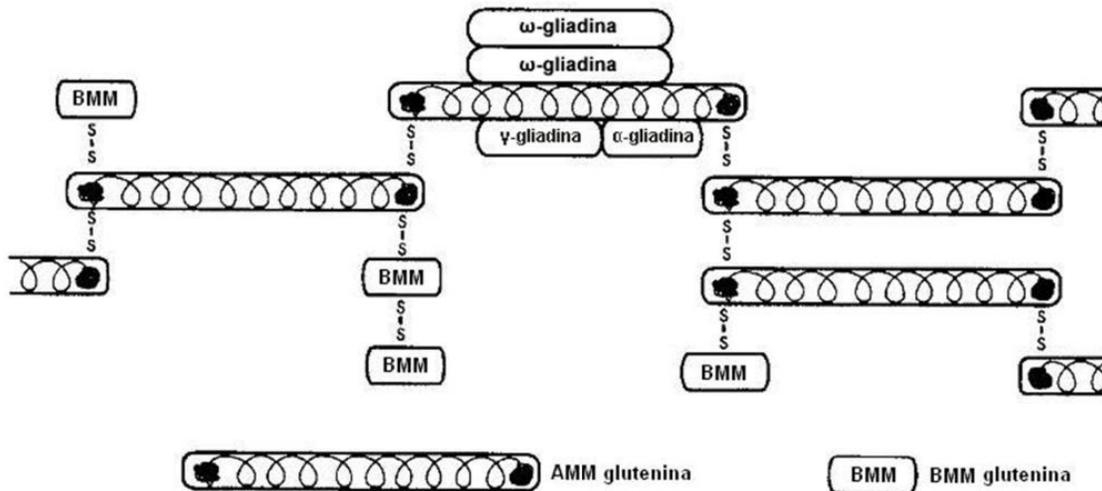


Figura 2: Modelo estrutural da rede proteica do glúten³⁰.

A capacidade do trigo em formar uma rede proteica viscoelástica, o chamado glúten³², somente é observada quando a gliadina, responsável pela extensibilidade, e a glutenina, responsável pela elasticidade, estão presentes em proporções adequadas^{33, 34}, Figura 3.

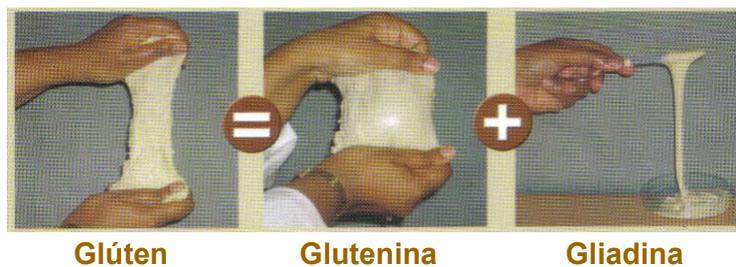


Figura 3: Imagem evidenciando a rede proteica viscoelástica típica do glúten, formada pela presença de glutenina e gliadina²⁹.

A elasticidade do glúten hidratado é devida principalmente à glutenina pela resistência à ruptura, que por sua vez se deve à sua estrutura e massa molecular³⁵. O glúten deverá conter um conteúdo apropriado de grupos ligados ao nitrogênio amídico para garantir a sua hidratação e formação de ligações hidrogênio, além do conteúdo e posicionamento adequado de radicais sulfidrilas que se convertem em pontes dissulfeto, garantindo a correta conformação e tamanho molecular^{36, 37}.

2.3 AMIDO

O amido é a principal substância de reserva presente nas plantas, sendo encontrado sob a forma de grânulos insolúveis. Depois dos açúcares mais simples (sacarose, glicose, frutose, maltose), é o principal carboidrato que os vegetais superiores sintetizam a partir da fotossíntese. Entre as matérias-primas utilizadas para sua extração destacam-se as raízes e os tubérculos, como a mandioca e a batata, e os cereais, como o milho, o trigo e o arroz¹⁰.

Este polissacarídeo é composto basicamente por dois tipos de macromoléculas: amilose e amilopectina. A proporção entre amilose e amilopectina está diretamente relacionada ao seu desenvolvimento na célula viva, sendo afetada pelas condições climáticas e o tipo de solo durante o crescimento da planta e a fonte botânica³⁸. A Tabela III apresenta valores médios de amilose e amilopectina para três espécies de amido citadas na literatura.

Tabela III: Proporção de amilose e amilopectina em amido de trigo, mandioca e milho¹⁰.

	Trigo	Mandioca	Milho
Amilose b.s., %	26	17	28
Amilopectina b.s., %	74	83	72
Amilose GP	800	3000	800

b.s. - base seca

GP - Grau de Polimerização

Os grânulos de amido são semicristalinos com níveis variados de cristalinidade. Esta é exclusivamente associada com o componente amilopectina, o qual é radialmente orientado no grânulo, enquanto as regiões amorfas são principalmente representadas pela amilose^{39,40}.

Amilose é uma molécula essencialmente linear formada por unidades de D-glicose ligadas em $\alpha(1\rightarrow4)$, já a amilopectina é uma molécula com uma das mais altas massas moleculares encontradas em macromoléculas biológicas e possui ligações glicosídicas $\alpha(1\rightarrow4)$ e $\alpha(1\rightarrow6)$ ³⁸, Figura 4.

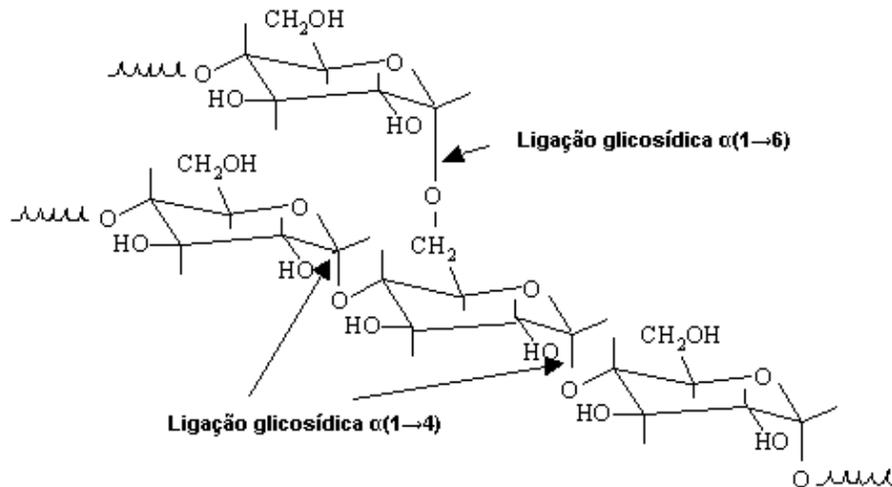


Figura 4: Estrutura da amilopectina presente no amido⁴¹.

As cadeias das unidades de D-glicose com as ligações α -glicosídicas, tendem a assumir um arranjo helicoidal. Este arranjo resulta em uma forma compacta para a molécula amilose, apesar de sua massa molecular ser bastante elevada (150 a 600KDa). Medidas físicas indicam que a amilopectina possui massa molecular de 1 a 6000KDa; assim, a amilopectina consiste em centenas de cadeias interligadas de 20 a 25 unidades de glicose cada⁴².

Quando amidos são submetidos a aquecimento (temperaturas tipicamente maiores que 50°C) na presença de água, os grânulos absorvem água e intumescem, produzindo uma suspensão coloidal⁴³. Começa a ocorrer a ruptura das duplas-hélices da amilopectina (dissociação das ligações hidrogênio), enquanto a amilose é liberada dos grânulos intumescidos, resultando na perda da birrefringência. Assim, uma rede tridimensional é formada^{44, 45}. Este evento, chamado de gelatinização, é acompanhado por um drástico aumento na viscosidade do sistema à medida que a estrutura dos grânulos é destruída⁴⁶.

2.4 PLANEJAMENTO DE MISTURAS

Proteínas e amidos desempenham papel importante na estrutura, textura e estabilidade dos alimentos. Como eles são raramente encontrados isoladamente nos produtos, o conhecimento do comportamento de suas misturas é de grande interesse industrial⁴⁷.

A utilização das técnicas estatísticas no planejamento experimental promove a redução do número de ensaios, sem prejuízo da qualidade de informação. Por outro lado, promove-se o estudo simultâneo de diversas variáveis, a determinação da confiabilidade dos resultados, a representação do processo estudado através de expressões matemáticas e a elaboração de conclusões a partir de resultados quantitativos e qualitativos⁴⁸.

Uma mistura é uma classe especial de experimento do tipo superfície de resposta no qual o produto sob investigação é composto de vários componentes. As propriedades de uma mistura são determinadas pelas proporções de seus componentes. Além disto, as proporções dos diversos componentes de uma mistura não são independentes. A soma de todas as proporções deve resultar sempre no valor de 100%⁴⁹.

Em um experimento do tipo mistura, as proporções de cada elemento estão restritas por uma fronteira. Combinando-se estas fronteiras cria-se o que se denomina região simplex. A configuração espacial desta região é apresentada na Figura 5.

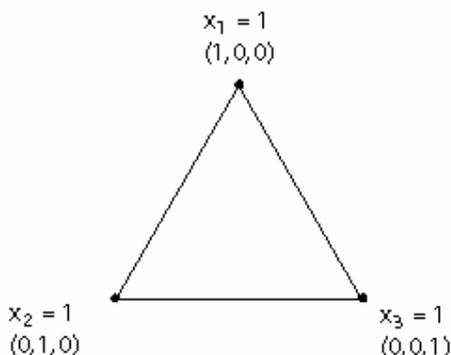


Figura 5: Configuração espacial da região Simplex.

O sistema de coordenadas do triângulo permite a visualização das interações entre os três componentes envolvidos na mistura. Os vértices do triângulo, x_1 , x_2 e x_3 , representam a mistura pura com proporção de um componente sendo 1 e os outros sendo 0⁵⁰.

Os principais tipos de projetos utilizando simplex são:

Simplex lattice. Os pontos são distribuídos uniformemente por toda a região compreendida pelo simplex. Para pesquisar o comportamento da mistura no interior da região simplex, o projeto precisa ser incrementado com pontos interiores;

Simplex centróide. Diferentemente do Simplex lattice, inclui observações para as misturas nas quais os componentes sempre aparecem em proporções iguais;

Simplex com pontos axiais. Contém pontos das misturas dentro da região simplex e são recomendados quando se deseja explorar a superfície de resposta através das misturas. O projeto denominado incrementado é aquele que recebe, adicionalmente, pontos axiais interiores e centróides.

Vértices extremos. É utilizado quando existem restrições às proporções dos componentes da mistura. Os componentes C_n são expressos por $L_i \leq C_n \leq L_s$, onde L_i é o limite inferior e deve estar presente quando o componente for indispensável à mistura; L_s é o limite superior e deve estar presente sempre que a mistura não puder conter mais do que a proporção indicada para o componente.

A equação geral para as misturas com restrições pode ser dada por:

$$C_1 + C_2 + C_3 + \dots = 1 \quad (2.1)$$

Este tipo de projeto restrito produz variáveis altamente correlacionadas, por isso é necessário fazer-se um estudo de multicolinearidade através dos coeficientes individuais da regressão^{51, 52}.

Em adição às restrições individuais dos componentes, podem ser estabelecidas restrições para o conjunto de componentes. Estas restrições denominadas lineares podem ser introduzidas no problema de mistura em razão da consideração de outras peculiaridades da prática experimental. Cada modelo tem uma determinada aplicação. A escolha do modelo mais adequado dependerá do tipo de ajuste para o modelo de regressão que o experimentador desejar, ou o que possuir o maior coeficiente de determinação ajustado^{53, 54}.

Os modelos de ajuste mais comuns utilizados estão resumidos na tabela IV.

Tabela IV: Modelos de ajuste utilizados no planejamento de misturas.

Modelo	Termos	Tipo de Mistura
Linear	Lineares	Aditivo
Quadrático	Lineares e quadráticos	Aditivo, não-linear binário sinérgico ou antagônico
Cúbico Especial	Lineares, quadráticos e cúbicos	Aditivo, não-linear ternário sinérgico ou antagônico

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 AMOSTRAS

As amostras utilizadas neste trabalho foram a proteína isolada de soja produzida no Brasil pela empresa Solae, o glúten e o amido de trigo produzidos na Argentina pela empresa Molinos Juan Semino S.A, o amido de mandioca e o amido de milho produzidos no Brasil pela empresa Cassava S.A.

3.2 CARACTERIZAÇÃO DAS MACROMOLÉCULAS

3.2.1 Proteína Isolada de Soja e Glúten

Microscopia Eletrônica de Varredura: Uma suspensão aquosa contendo as proteínas foi gotejada em grades de cobre e deixada em repouso para secagem. O material foi posteriormente revestido com ouro e paládio. Utilizou-se o microscópio JEOL JSM 6320F. Estas análises foram realizadas na empresa Solae, Saint Louis, Estados Unidos da América.

No microscópio eletrônico de varredura o feixe de radiação é um feixe de elétrons que é focado em um ponto da amostra. O feixe percorre sistematicamente toda a amostra por um processo de varredura e a interação do feixe de elétrons com a amostra gera um conjunto de sinais (elétrons secundários) que são medidos por detectores apropriados, Figura 6.

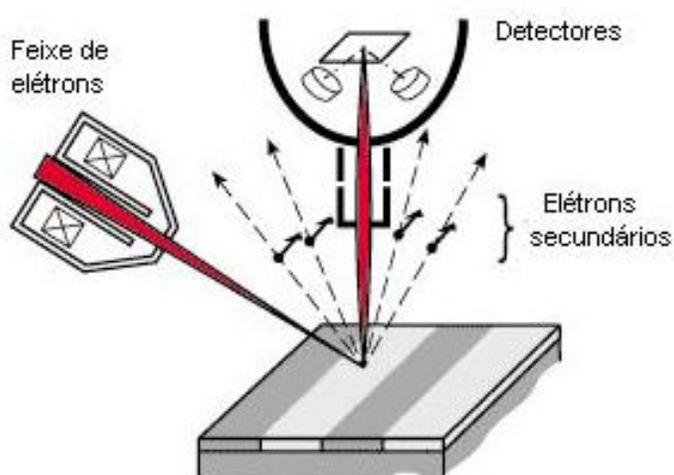


Figura 6: Esquema de funcionamento do microscópio eletrônico de varredura⁵⁵.

Estes sinais são convertidos pelo detector em correntes elétricas de maior ou menor intensidade que modulam a intensidade do feixe de elétrons. A imagem forma-se ponto por ponto em tubos de raios catódicos.

A etapa de preparação da amostra tem por objetivo preservar a superfície. Como as amostras são observadas no vácuo do microscópio, elas devem ser fixadas e depois desidratadas cuidadosamente.

Os elétrons secundários são os elétrons ejetados dos átomos da amostra pelas colisões não elásticas com os elétrons do feixe. Estes elétrons são ejetados direcionalmente em função da topografia da amostra. A intensidade da emissão depende da natureza química da amostra. Os metais, que possuem elétrons mais fracamente ligados emitem melhor que as substâncias orgânicas. Por este motivo, a superfície das amostras é recoberta com finas camadas de metal, como o ouro, paládio ou carbono⁵⁶.

Granulometria: A distribuição de tamanho de partícula foi determinada diretamente através da espectroscopia de difração a laser, utilizando-se os equipamentos Mastersizer 2000 e Scirocco - Malvern. Estas análises foram realizadas na empresa Solae, Esteio, Brasil.

Este método baseia-se no fato de que o ângulo de difração é inversamente proporcional ao tamanho de partícula.

No funcionamento deste equipamento, um laser de He-Ne produz um feixe de luz monocromática com comprimento de onda $\lambda=0,63\mu\text{m}$, o qual ilumina a célula de medida onde se encontram as partículas. A luz incidente é difratada pelas partículas, gerando-se um padrão de difração estável, independente do movimento das partículas. Em seguida, este padrão de difração é captado por uma lente focalizadora e um detector fotoelétrico constituído por detectores de silicone foto-sensitivos, Figura 7. Produz-se, deste modo, um sinal proporcional à intensidade da luz incidente, o qual, após ser amplificado por um tubo fotomultiplicador, é transmitido a um computador que registra o padrão de difração e realiza as integrações necessárias⁵⁷.

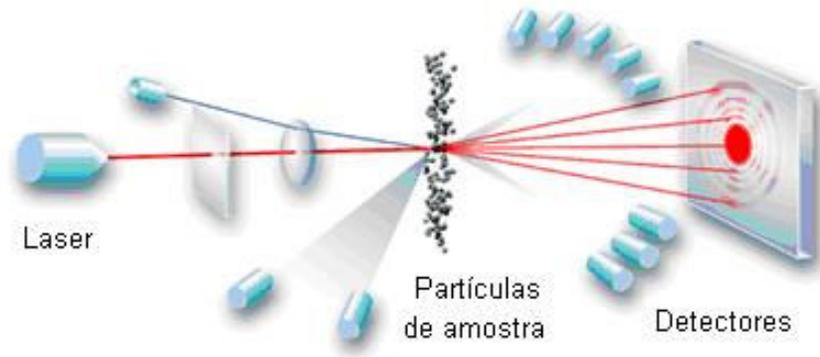


Figura 7: Esquema de funcionamento da espectroscopia de difração a laser⁵⁸.

O volume da esfera equivalente é utilizado para medir o tamanho de uma partícula. O diâmetro desta esfera equivalente é considerado o tamanho da partícula. A unidade óptica captura o padrão real de espalhamento de um conjunto de partículas e então calcula o tamanho das partículas que geraram aquele padrão. Sabendo-se o tamanho de uma partícula e outros detalhes sobre sua estrutura, pode-se precisamente prever a forma que ela irá espalhar a luz. Cada tamanho de partícula terá o seu padrão de espalhamento característico.

O intervalo de determinação é de 0,02 μm a 2000 μm e os parâmetros granulométricos são determinados automaticamente para cada medição:

- Uniformidade, o desvio absoluto em relação a mediana;
- D[3,2] ou diâmetro médio de Sauter, superfície média das partículas;
- D[4,3] ou diâmetro médio de Broucker, volume médio das partículas;
- d(0.1), o diâmetro máximo (em μm) apresentado por 10% da distribuição granulométrica da amostra;
- d(0.5), o diâmetro máximo (em μm) apresentado por 50% da distribuição granulométrica da amostra;
- d(0.9), o diâmetro máximo (em μm) apresentado por 90% da distribuição granulométrica da amostra⁵⁹.

Calorimetria Diferencial de Varredura: A análise térmica das amostras de proteína foi feita em um equipamento DSC822 - Mettler Toledo. Aproximadamente 11,5mg de proteína foram transferidos diretamente para uma panelinha de alumínio, a qual foi selada hermeticamente e deixada em repouso por 2 horas a 20°C. A amostra foi aquecida de 20°C a 200°C com taxa de aquecimento de 10°C/min. Estas análises foram realizadas na empresa Polimate, São Paulo, Brasil.

De modo simplificado, a análise de calorimetria diferencial de varredura mede a diferença de energia entre a substância a ser analisada e um material de referência (material inerte) quando ambos estão sujeitos a um programa controlado de temperatura. A magnitude do sinal medido está diretamente relacionada com a capacidade calorífica dos compostos em análise. Uma curva de DSC fornece a variação de entalpia em função do tempo ou temperatura e possibilita identificar⁶⁰:

T_{onset} - temperatura inicial

T_{peak} - temperatura do pico

T_{endset} - temperatura final

Viscosimetria: Uma suspensão de proteína a 12% foi aquecida de 50°C a 95°C, com taxa de aquecimento de 5,6°C/min e mantida por 4 minutos a 95°C. Após, a mesma foi resfriada a 50°C com taxa de resfriamento de 7,5°C/min⁸. A viscosidade do sistema foi medida utilizando-se o analisador de viscosidade do tipo RVA4 – Newport Scientific. Estas análises foram realizadas na empresa Solae, Saint Louis, Estados Unidos da América.

O equipamento determina viscosidades de 50 a 50000cP com faixa de cisalhamento de 20 a 2000rpm permitindo caracterização das propriedades das amostras em qualquer condição⁶¹.

3.2.2 Amidos

Microscopia Eletrônica de Varredura: Uma suspensão aquosa contendo os grânulos de amido foi gotejada em grades de cobre e deixada em repouso para secagem. O material foi posteriormente revestido com ouro e paládio. Utilizou-se o microscópio JSM-6100 operando a 8kV. Estas análises foram realizadas no Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales, Grenoble, França.

Granulometria: A distribuição de tamanho de partícula foi determinada diretamente através da espectroscopia de difração a laser, utilizando-se os equipamentos Mastersizer 2000 e Scirocco - Malvern. Estas análises foram realizadas na empresa Solae, Esteio, Brasil.

Microscopia Óptica: Lamínulas contendo dispersão aquosa dos amidos foram aquecidas de 55°C a 95°C, utilizando-se o controle de temperatura FP900 Thermo System–Mettler Toledo. A objetiva escolhida proporcionou um aumento de 40X do objeto observado. O microscópio óptico BX4-Olympus foi utilizado para a visualização do processo de gelatinização. Estas análises foram realizadas na Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

No microscópio óptico é utilizada luz visível como radiação eletromagnética, o chamado campo claro. Esta luz, emitida pela fonte luminosa e concentrada pelas lentes condensadoras, atravessa a amostra e penetra na objetiva. A objetiva forma uma imagem real, ampliada do objeto e as oculares formam uma imagem virtual, também ampliada, da imagem real produzida pela objetiva.

No microscópio de polarização a luz é polarizada abaixo da platina do microscópio pelos polarizadores e passa através da amostra chegando ao analisador, localizado acima da objetiva, Figura 8.

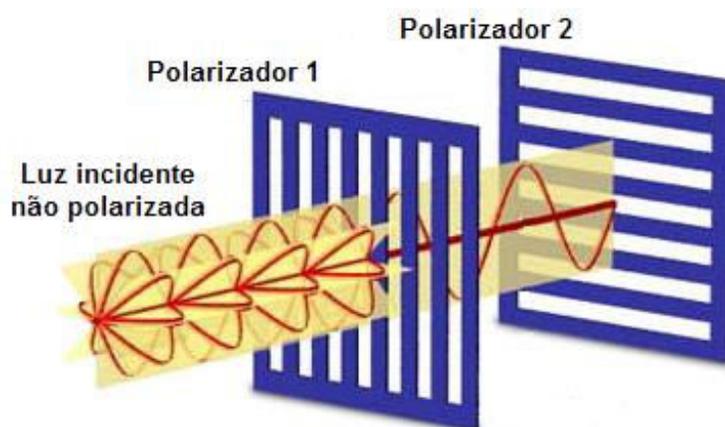


Figura 8: Esquema de polarização da luz⁶².

Quando as posições do analisador e polarizador são ajustadas, de modo que os feixes luminosos tenham um trajeto paralelo, uma imagem normal pode ser vista através da ocular.

Se o analisador é então rodado de modo que o seu eixo fique em ângulo reto com o polarizador, nenhuma luz alcança a ocular e nada pode ser visto. Colocando-se um objeto amorfo (não refringente) na platina do microscópio com os prismas na mesma posição em ângulo reto, nada será visto porque os raios de luz não foram divididos pelo objeto. Porém, se for colocado um objeto cristalino ou birrefringente na platina uma imagem luminosa aparecerá em fundo escuro, Figura 9.

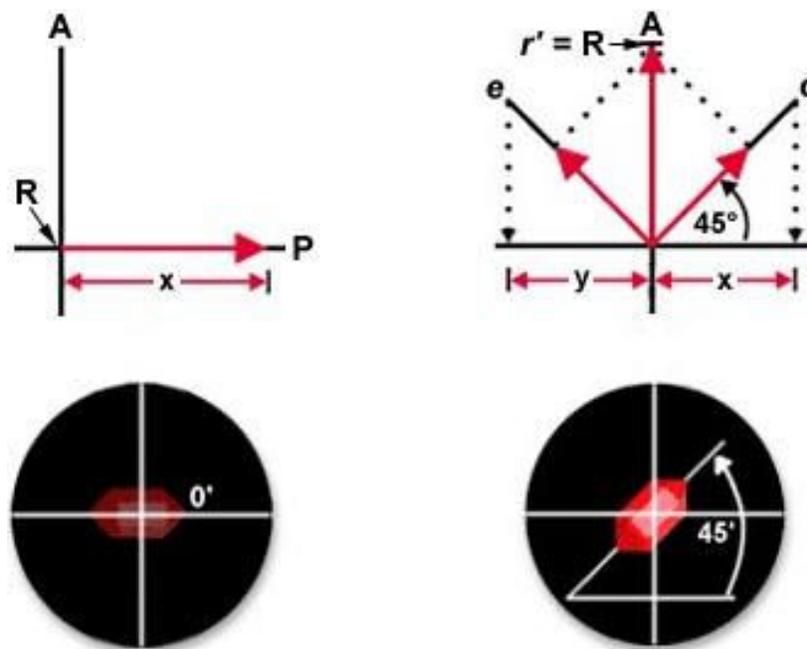


Figura 9: Imagens obtidas através do ajuste das posições do analisador e polarizador⁶³.

Se o material for isotrópico, a luz polarizada propaga-se através dele com a mesma velocidade, independente da direção do plano de incidência. Por outro lado, num material anisotrópico a velocidade de propagação da luz polarizada varia. Este material também é chamado de birrefringente, porque apresenta dois índices de refração diferentes, correspondentes a diferentes velocidades de transmissão⁶⁴.

Amido Danificado: O amido danificado foi determinado utilizando-se método amperimétrico em equipamento SDmatic–Chopin. Estas análises foram realizadas na Bunge Alimentos, Gaspar, Brasil.

Basicamente, tem-se uma solução de iodo onde os íons I_3^- geram uma corrente elétrica (medida em μA) que é diretamente associada a sua concentração na solução. O amido é adicionado a esta solução e permanece em contato, sob agitação e aquecimento a $35^\circ C$, durante certo período de tempo. O amido danificado presente absorve iodo. No final da análise a corrente elétrica é medida. Quanto menor a corrente elétrica resultante maior a quantidade de amido danificado presente na amostra de amido analisada^{65, 66}.

Calorimetria Diferencial de Varredura: A análise térmica das amostras de amido foi feita em um equipamento DSC822 - Mettler Toledo. Aproximadamente 6,5mg de uma suspensão a 20% de amido foram transferidos para uma panelinha de alumínio, a qual foi selada hermeticamente e deixada em repouso por 2 horas a $20^\circ C$. A amostra foi aquecida de $20^\circ C$ a $200^\circ C$ com taxa de aquecimento de $10^\circ C/min$. Estas análises foram realizadas na empresa Polimate, São Paulo, Brasil.

Grau de Intumescimento: 15mL de uma suspensão a 2% de amido foi incubada por 30 minutos em um banho de aquecimento programado para temperaturas de $55^\circ C$ a $95^\circ C$. A amostra foi resfriada e centrifugada a 3000rpm por 20 minutos⁶⁷. Estas análises foram realizadas na empresa Solae, Esteio, Brasil.

O grau de intumescimento é expresso como a massa do centrifugado contendo os grânulos de amido intumescido dividida pela massa da amostra de amido inicial⁶⁸.

$$\frac{\text{Massa do centrifugado} - \text{Massa do tubo de centrifuga}}{\text{Massa da amostra}} \quad (3.1)$$

Viscosimetria: Uma suspensão de amido a 5% foi aquecida de $40^\circ C$ a $95^\circ C$ com taxa de aquecimento de $3^\circ C/min$ e mantida por 30 minutos a $95^\circ C$. Após, a mesma foi resfriada a $55^\circ C$ com taxa de resfriamento de $2,4^\circ C/min$ ⁶⁹. A viscosidade do sistema foi medida utilizando-se o viscosímetro Haake VT 550. Estas análises foram realizadas na empresa Solae, Esteio, Brasil.

A substância a ser medida é colocada dentro de um sensor, preenchendo os espaços vagos. Uma velocidade é selecionada e fixada para o rotor, Figura 10. A amostra exerce uma resistência ao movimento rotacional devido a sua viscosidade e é indicada pelo valor do torque⁷⁰.

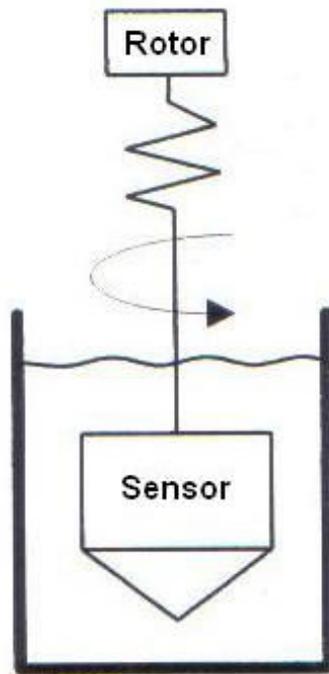


Figura 10: Esquema de funcionamento do viscosímetro Haake VT 550⁷⁰.

3.3 PLANEJAMENTO DAS MISTURAS

3.3.1 Fase Preliminar

No Primeiro Estudo foram utilizadas proporções pré-estabelecidas de proteína isolada de soja (50% a 80%), glúten (0% a 30%) e amido (10% a 30%) para compor as oito misturas selecionadas, Figura 11.

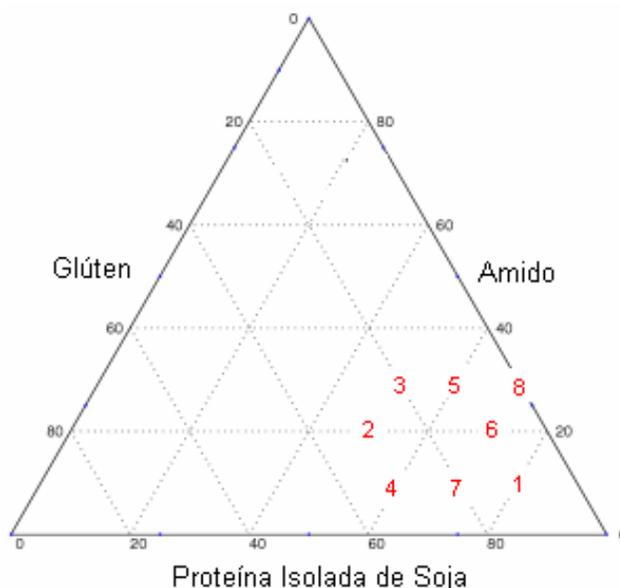


Figura 11: Representação através de Sistema Ternário dos experimentos realizados no Primeiro Estudo.

Nesta etapa foi estudada a influência das três espécies de amidos, o que resultou em vinte e quatro (24) pontos.

No Segundo Estudo foram introduzidas novas misturas e uma referência de importância industrial que simularia a composição básica da farinha de trigo, contendo 69% de amido de trigo e 11% de glúten, Figura 12. O planejamento do tipo Simplex centróide através do Minitab[®] resultou em quatro pontos, sendo três localizados nos vértices e um no centro do triângulo. Este modelo foi utilizado para posterior definição dos limites das proporções dos componentes, Figura 13.

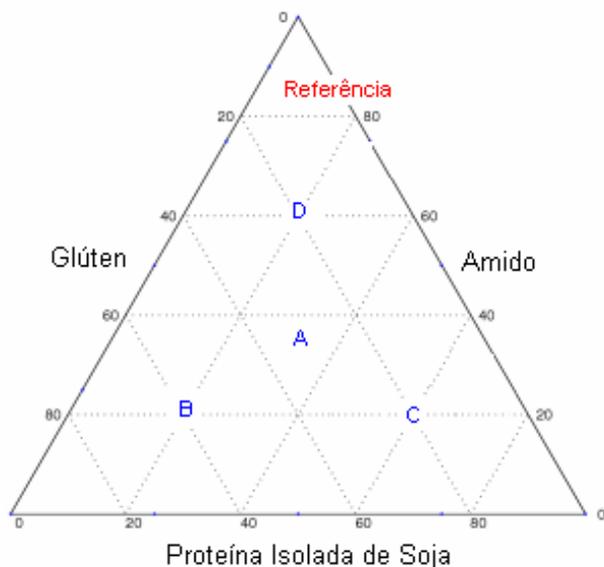


Figura 12: Representação através de Sistema Ternário dos experimentos realizados no Segundo Estudo.

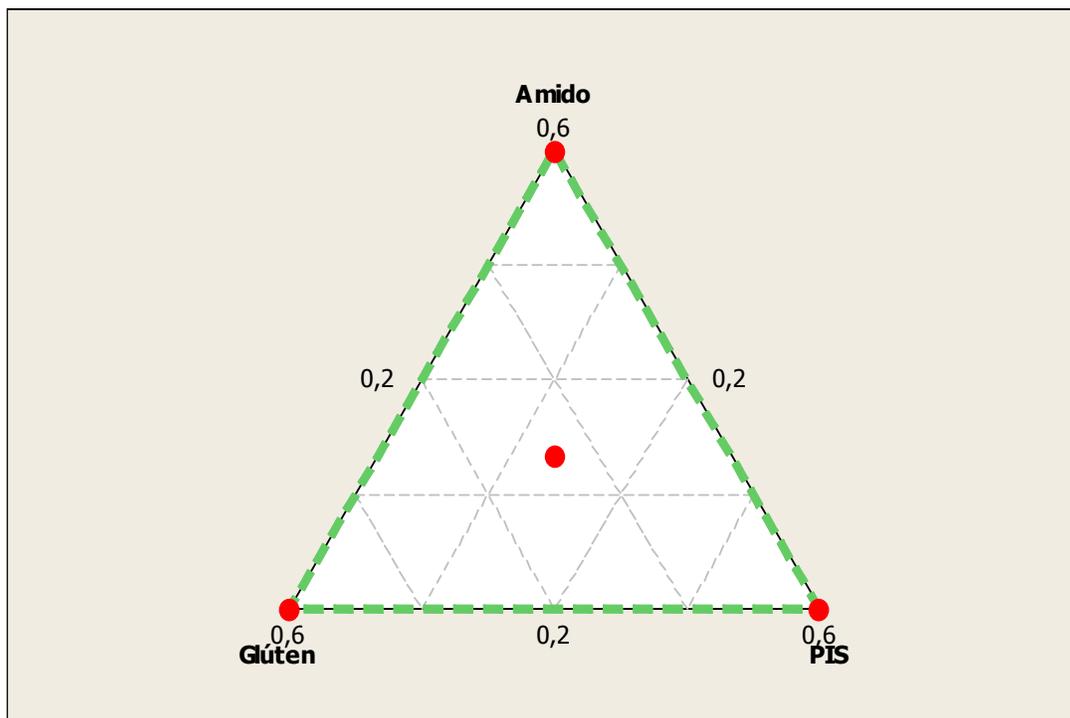


Figura 13: Planejamento experimental do tipo Simplex centróide realizado no Segundo Estudo.

3.3.2 Fase Final

Com os dados obtidos na fase preliminar impuseram-se limites superiores e inferiores às proporções dos componentes das misturas, conforme segue:

$$0,3 \leq C_{\text{PIS}} \leq 0,7$$

$$0,3 \leq C_{\text{glúten}} \leq 0,7$$

$$0,0 \leq C_{\text{amido}} \leq 0,4$$

Os limites estabelecidos para cada componente definem no interior do triângulo das concentrações um triângulo equilátero, Figura 14. Nesta etapa foi estudada a influência dos amidos das três espécies vegetais, o que resultou em doze (12) pontos.

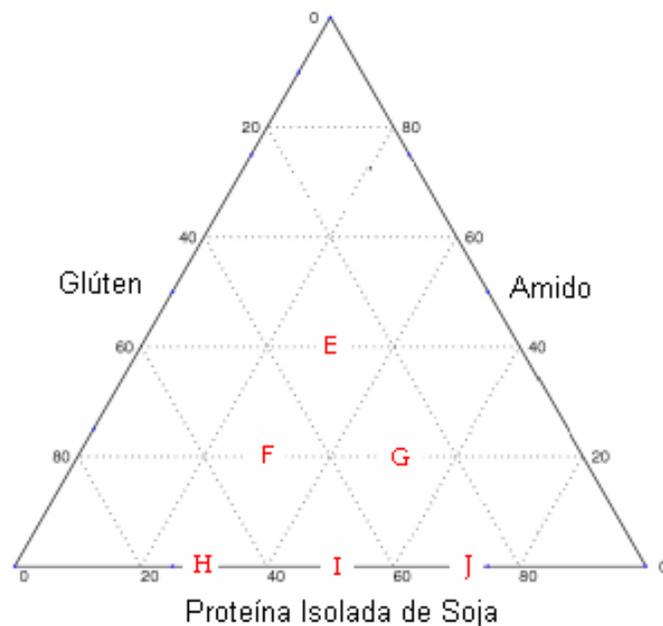


Figura 14: Representação através de Sistema Ternário dos experimentos realizados na Fase Final.

A restrição às proporções dos componentes exigiu a utilização do planejamento experimental do tipo Vértices extremos para definir as misturas, Figura 15. Através do Minitab® foram definidos seis (6) pontos, sendo três localizados nos vértices e três no ponto central de cada aresta do triângulo.

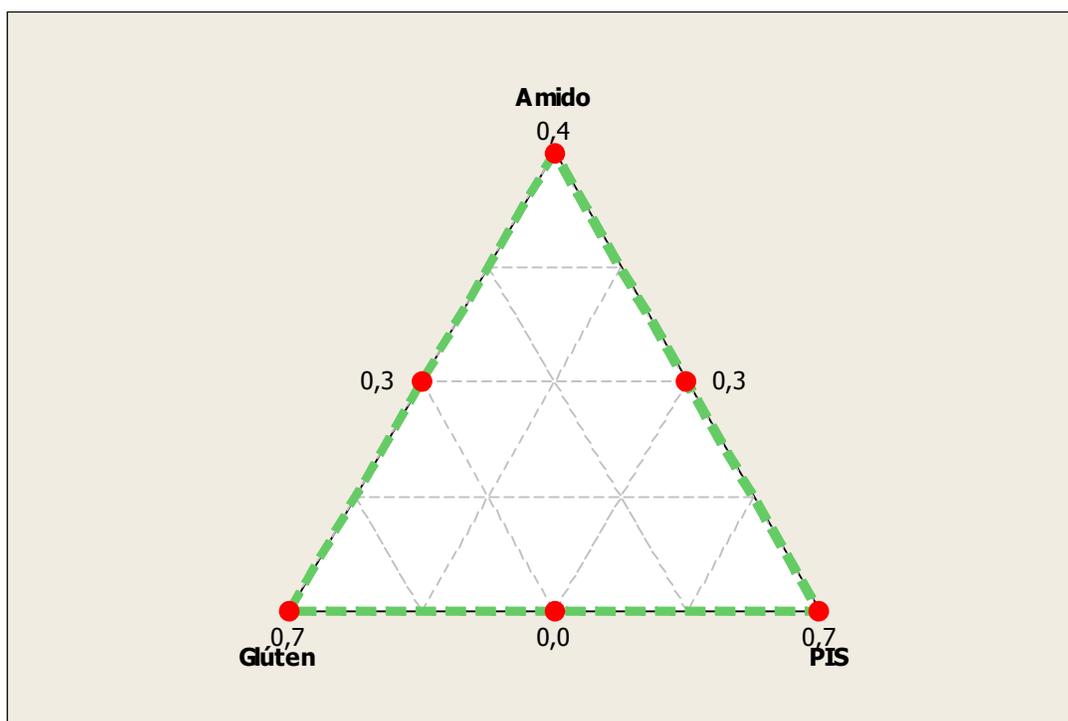


Figura 15: Planejamento experimental do tipo Vértices extremos realizado na Fase Final.

3.4 PREPARAÇÃO DAS MISTURAS

Quantidades adequadas dos componentes foram colocadas em uma embalagem de polietileno e homogeneizadas manualmente.

3.5 PREPARAÇÃO DOS GÉIS

Após testes preliminares, a proporção usada foi de uma parte de mistura (500g) e quatro partes de água a 20°C (2000g). A amostra foi preparada em misturador Cutter Stephan, capacidade de 20 litros, equipado com sistema de resfriamento (10°C) e vácuo.

As etapas foram: misturar por 1 minuto na velocidade mínima, misturar por 5 minutos na velocidade máxima, encher 7 latas de alumínio com o gel preparado, colocar as tampas de alumínio, selar o sistema utilizando uma recravadeira, colocar as latas em um banho de aquecimento (100°C), aquecer por 30 minutos, remover todas as latas e resfriar por 30 minutos sob água corrente e estocar de 12 a 24 horas a 20°C.

3.6 AVALIAÇÃO DOS GÉIS

As latas preparadas, conforme descrição na seção 3.5, foram abertas, descartando-se aproximadamente 0,5cm de espessura da camada superior para eliminação da película formada e centralizadas abaixo do sensor. As propriedades reológicas foram determinadas utilizando-se o texturômetro TA-XT2 (Stable Microsystems)⁷¹ e os parâmetros registrados foram:

Fluidez, força registrada em gramas quando a amostra flui através de um orifício padrão localizado na base do recipiente que a contém. Para este parâmetro reológico, utilizou-se cilindro de acrílico com orifício de 10mm de diâmetro na base e pistão para compressão, coletor de acrílico, velocidade de 1,0mm/seg e distância de 20mm, conforme Figura 16.

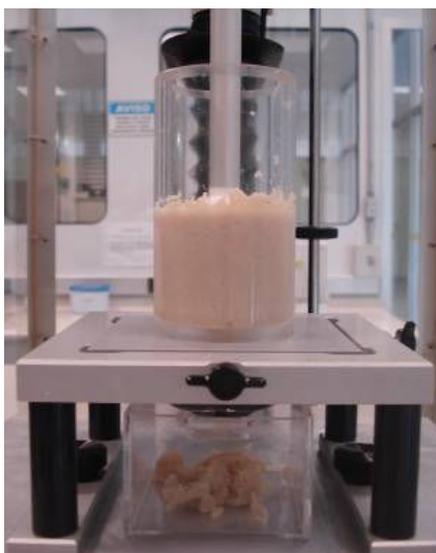


Figura 16: Sensor utilizado na determinação da fluidez.

Dureza, força registrada em gramas a uma distância padrão percorrida. Para tal, utilizou-se sensor raiado de aço inox de 30mm de diâmetro, velocidade de 0,8mm/seg, distância de 41mm e força gatilho de 8g, conforme Figura 17.



Figura 17: Sensor utilizado na determinação da dureza.

Força de ruptura, força registrada em gramas no momento da ruptura da superfície e deformabilidade, distância desde a superfície do gel até a posição em que ocorre a ruptura (cm). Para estes dois parâmetros reológicos foram utilizados sensor esférico de aço inox de 7mm de diâmetro, velocidade de 0,3mm/seg, distância de 14,3mm e força gatilho de 1g, conforme Figura 18.



Figura 18: Sensor utilizado na determinação da força de ruptura e deformabilidade.

Força de penetração, máxima força registrada em gramas durante a penetração do sensor na amostra. Para tal, utilizou-se sensor cilíndrico de aço inox de 35mm de diâmetro, velocidade de 2,12mm/seg e força gatilho de 5g, conforme Figura 19.



Figura 19: Sensor utilizado na determinação da força de penetração.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 PROTEÍNAS

O estudo utilizando a microscopia eletrônica de varredura, Figura 20, revelou que as proteínas estudadas, proteína isolada de soja e glúten, apresentam morfologias diferentes. Enquanto, a proteína isolada de soja apresenta aspecto característico de proteínas globulares⁷², o glúten possui uma morfologia aleatória, não específica. Entretanto, o glúten parece apresentar maior dispersão de tamanho de partícula do que a proteína isolada de soja.

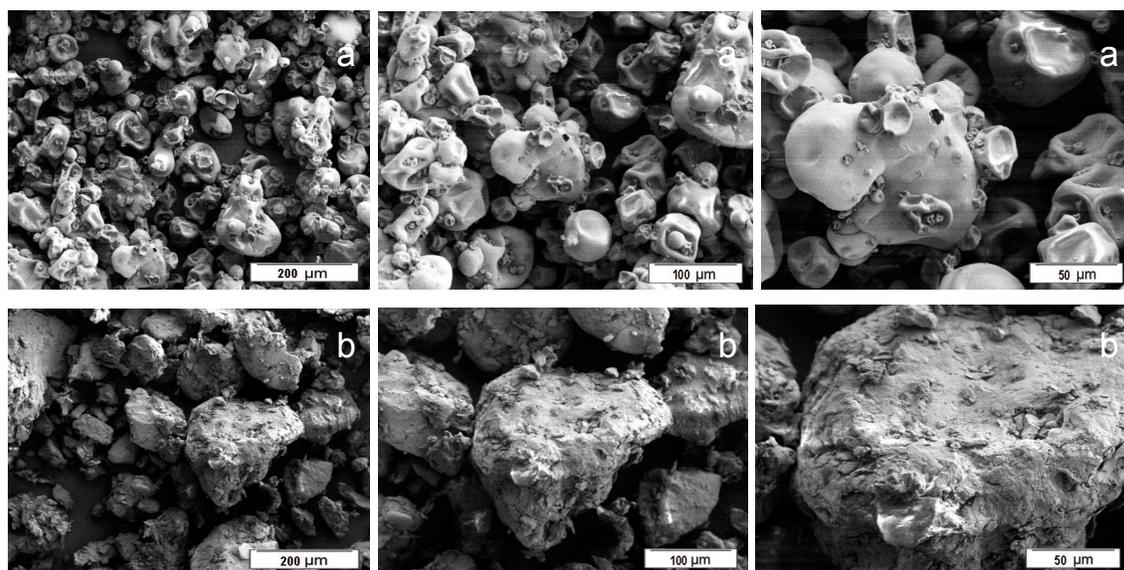


Figura 20: Microscopia eletrônica de varredura de proteína isolada de soja (a) e glúten (b).

Os resultados da análise de distribuição de tamanho de partícula obtidos por espectroscopia de difração a laser são apresentados na Figura 21. Os parâmetros $d(0.1)$, $d(0.5)$ e $d(0.9)$ foram determinados e destacados na figura. A proteína isolada de soja registrou um $d(0.9)$ de $120\mu\text{m}$, enquanto para o glúten o $d(0.9)$ foi de $156\mu\text{m}$, um parâmetro importante na indústria alimentícia⁷³.

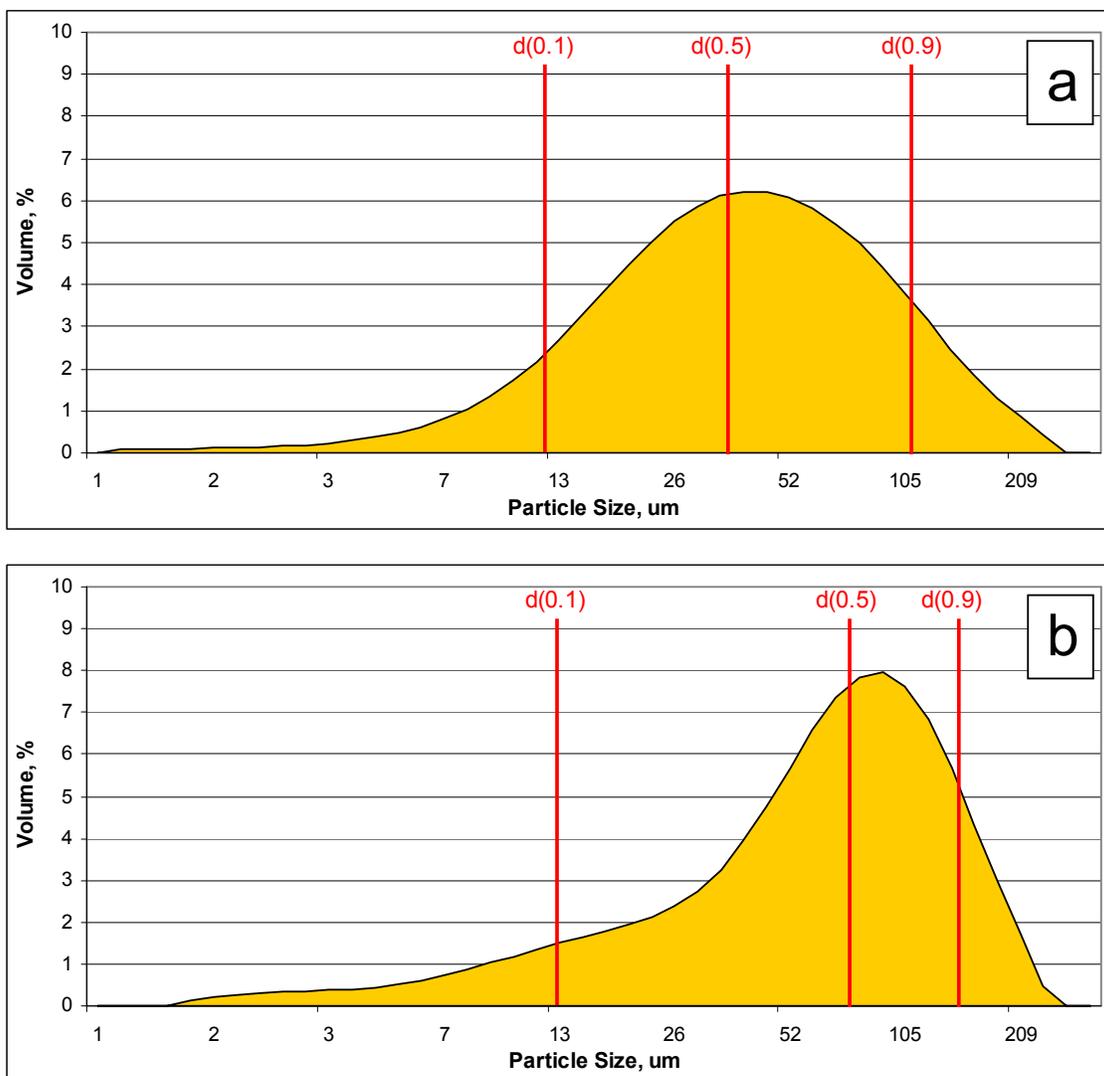


Figura 21: Distribuição de tamanho de partícula de proteína isolada de soja (a) e glúten (b).

A polidispersão é caracterizada pelo coeficiente de variação da distribuição do tamanho de partícula e, portanto, está diretamente relacionada com os valores de uniformidade. O glúten apresentou uma polidispersão menor quando comparado à proteína isolada de soja, Tabela V.

Tabela V: Parâmetros granulométricos de proteína isolada de soja e glúten.

	d(0.1), μm	d(0.5), μm	d(0.9), μm	Uniformidade	D[3,2], μm ²	D[4,3], μm ³
Proteína isolada de soja	13	42	120	0,78	25	56
Glúten	14	73	156	0,59	30	80

A superfície média, $D[3,2]$, e o volume médio, $D[4,3]$, das partículas também foram determinados. Para o glúten obtiveram-se os maiores resultados, $D[3,2]$ de $30\mu\text{m}^2$ e $D[4,3]$ de $80\mu\text{m}^3$, quando comparados aos apresentados pela proteína isolada de soja $D[3,2]$ de $24\mu\text{m}^2$ e $D[4,3]$ de $56\mu\text{m}^3$. Portanto, o glúten contém partículas maiores, com distribuição mais homogênea de tamanho, quando comparado à proteína isolada de soja.

O comportamento térmico das proteínas foi estudado utilizando-se o DSC, onde um fenômeno endotérmico é atribuído à denaturação das mesmas⁷⁴. A denaturação é definida como alterações nas estruturas secundárias, terciárias e quaternárias das proteínas sem o rompimento das cadeias de ligações peptídicas²⁰. Esse processo irreversível produziu somente um pico endotérmico, no mesmo intervalo de temperatura, para os dois tipos de proteína neste trabalho, Figura 22. Desta forma, não foi possível identificar as frações gliadina/glutenina do glúten e 7S/11S da proteína isolada de soja^{19,75}. A energia de entalpia menor obtida para a proteína isolada de soja confirma sua melhor capacidade de gelatinização quando comparada ao glúten⁵⁷.

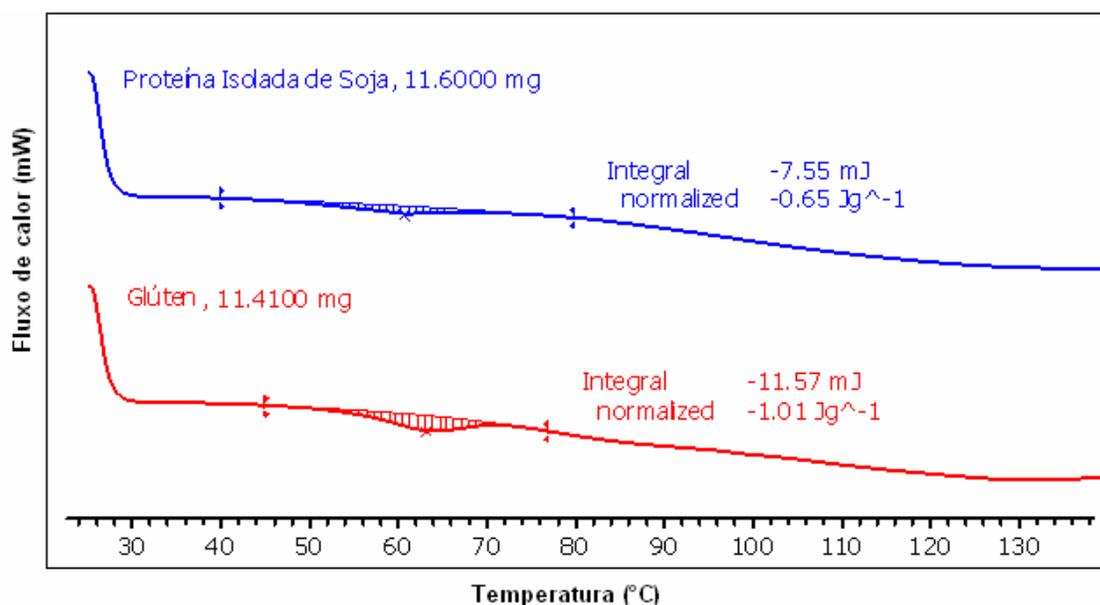


Figura 22: Termogramas de proteína isolada de soja e glúten.

Gelatinização de proteínas refere-se à transformação de uma proteína do estado sol (solução) para o estado gel, que pode ser facilitada pelo aquecimento e/ou outros agentes. De uma maneira geral, primeiramente ocorre a denaturação da proteína e a exposição de um número crítico de grupos funcionais, tais como ligações de hidrogênio e grupos hidrofóbicos. Em um segundo estágio, ocorre a formação da rede protéica.

As interações envolvidas na rede protéica são ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas e eletrostáticas. A contribuição relativa destas forças varia de acordo com o tipo de proteína, condições de aquecimento e grau de denaturação. A estabilidade da rede protéica formada frente a processos térmicos e mecânicos depende do número e dos tipos de interações por cadeia monomérica.

Para as proteínas globulares, caso da proteína isolada de soja, as ligações formadas durante a gelatinização podem ser atribuídas a ligações dissulfeto, outras ligações covalentes, pontes salinas e/ou ligações hidrofóbicas. Segundo Fenema, proteínas globulares com massa molecular menor que 23KDa não podem formar um gel induzido por aquecimento se não existir no mínimo um grupo sulfidril livre ou uma ligação dissulfeto por unidade²⁰.

Já a viscosidade das proteínas está associada a interações complexas entre outras variáveis, incluindo tamanho, forma, interações proteína-solvente, volume hidrodinâmico e flexibilidade molecular no estado hidratado. Quando dispersas em água as proteínas absorvem água e intumescem^{76, 77}.

Com as curvas de viscosidade apresentadas na Figura 23 foi possível observar-se o comportamento de cada proteína na presença de água e sob aquecimento, sendo que a proteína isolada de soja apresentou uma alta viscosidade inicial quando comparada com o glúten. O decréscimo da viscosidade está diretamente associado à denaturação das proteínas.

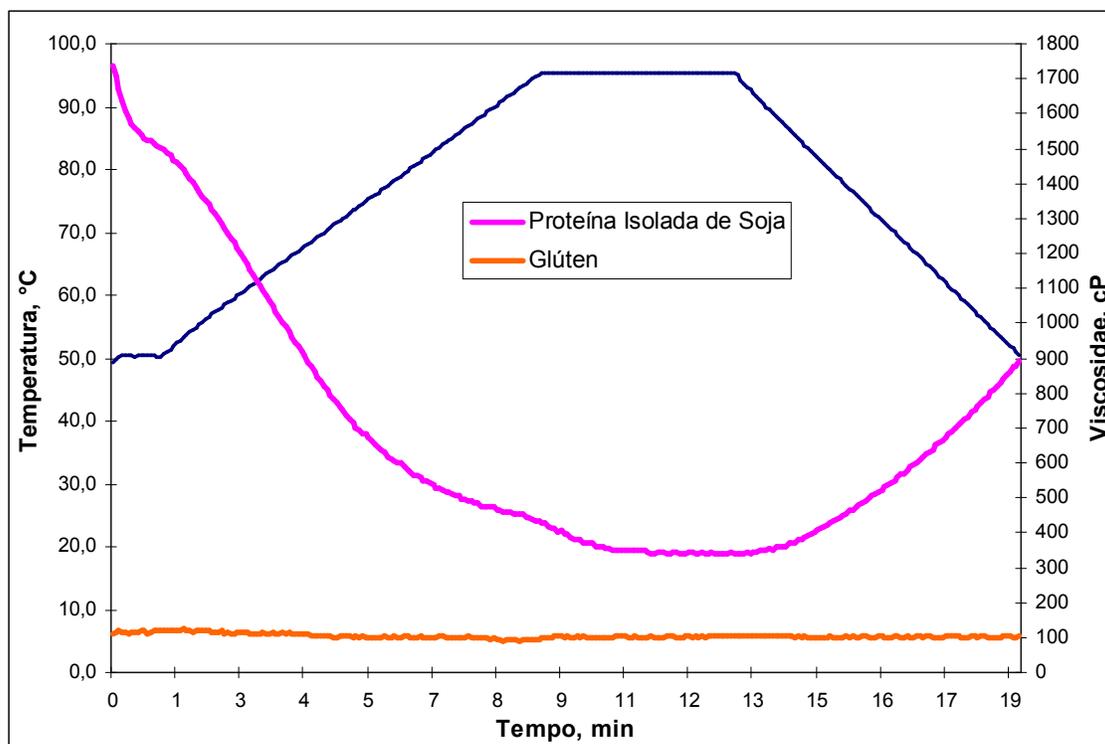


Figura 23: Viscograma contendo o comportamento de proteína isolada de soja e glúten.

A baixa viscosidade apresentada pelo glúten poderia ser explicada pela diferença no conteúdo dos resíduos de prolina e hidroxiprolina quando comparada com a proteína isolada de soja⁷⁸. Estes resíduos não contribuem para o arranjo da cadeia em folhas β -pregueadas e α -hélice, que resultaria em estruturas secundárias⁷⁹. Outro fator de influência poderia ser a elevada massa molecular apresentada pela fração glutenina.

A Figura 24 proporciona uma melhor visualização do comportamento do glúten, sendo possível observar a etapa de denaturação, principalmente da glutenina⁷⁴. Talvez esta medida da amostra de glúten tenha sido comprometida pela limitada sensibilidade do equipamento utilizado.

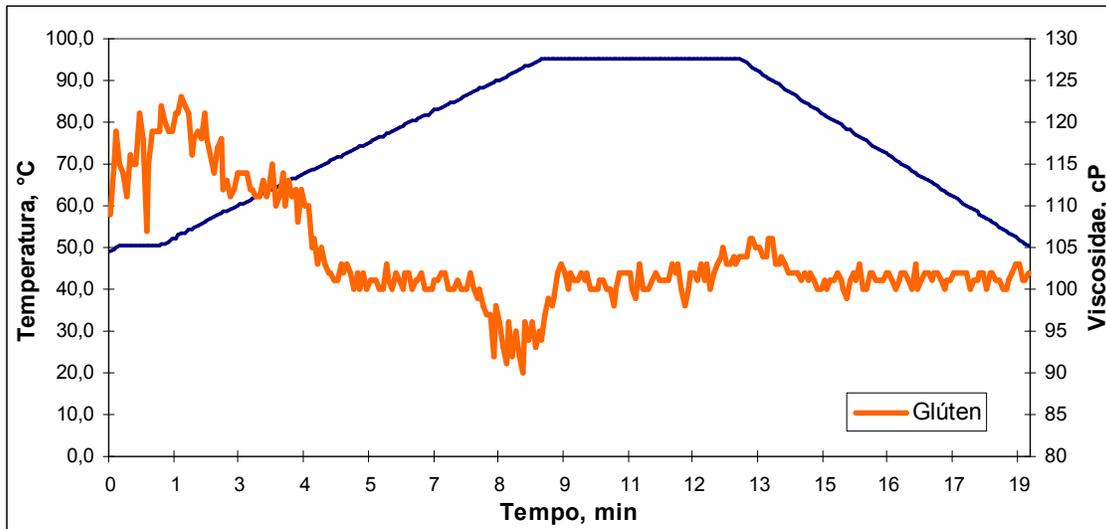


Figura 24: Viscograma contendo o comportamento de glúten.

4.2 AMIDOS

O estudo utilizando a microscopia eletrônica de varredura, Figura 25, revelou, como esperado, que as características morfológicas do amido variam de acordo com a sua origem botânica³⁸. Quanto à forma dos grânulos, o amido de trigo é esférico e lenticular, o amido de mandioca é esférico com grânulos deformados (irregulares) e o amido de milho é poliédrico^{10, 80}. O amido de trigo apresentou o maior tamanho de grânulo quando comparado com a mandioca e o milho.

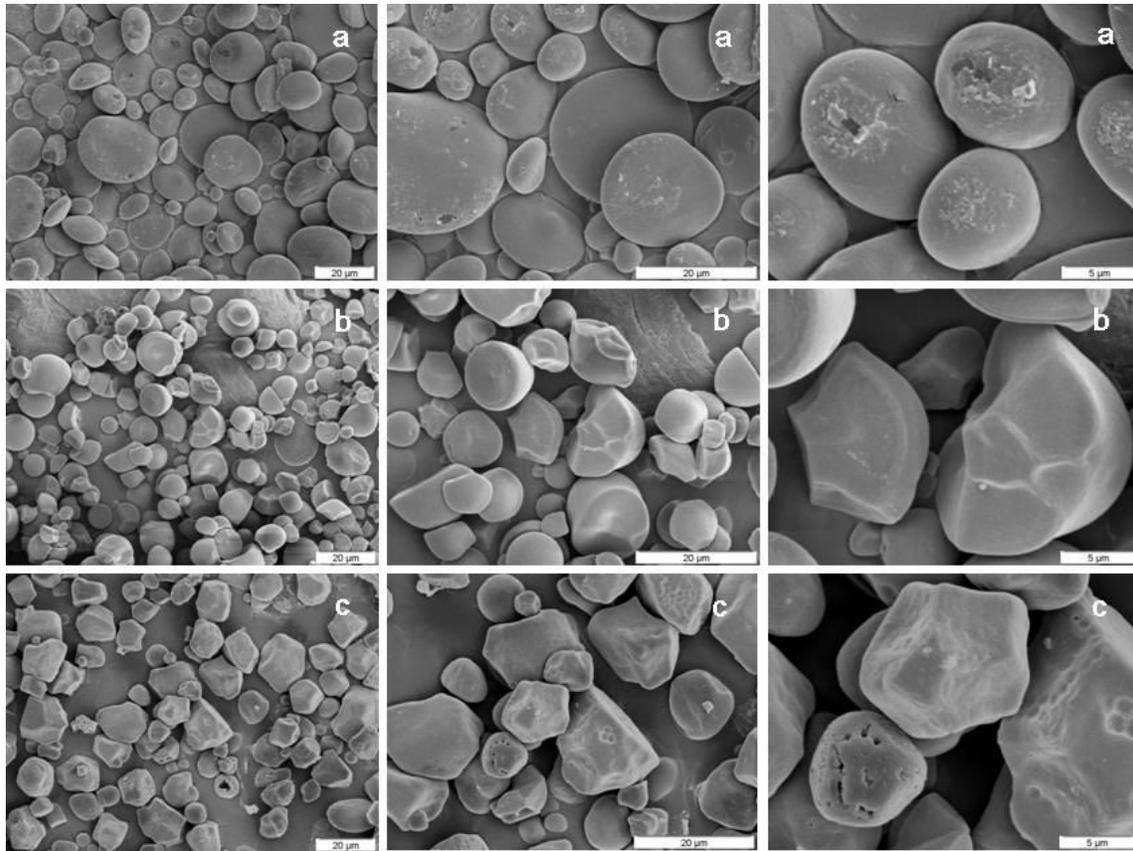


Figura 25: Microscopia eletrônica de varredura dos amidos de trigo (a), mandioca (b) e milho (c).

Os resultados da análise de distribuição de tamanho de partícula obtidos por espectroscopia de difração a laser são apresentados na Figura 26. A variação no tamanho dos grânulos é maior para o amido de trigo, 8 a 60 μm , do que para a mandioca e milho, 6 a 30 μm . Quanto aos parâmetros $d(0.1)$, $d(0.5)$ e $d(0.9)$, o amido de trigo registrou um $d(0.9)$ de 40 μm , enquanto para a mandioca o $d(0.9)$ foi de 19 μm e para o milho o $d(0.9)$ foi de 20 μm .

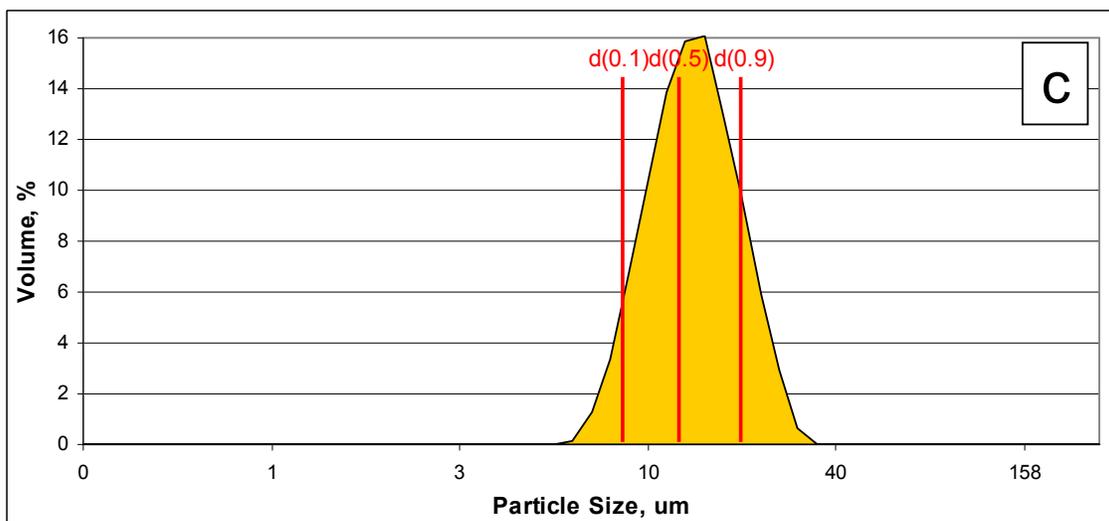
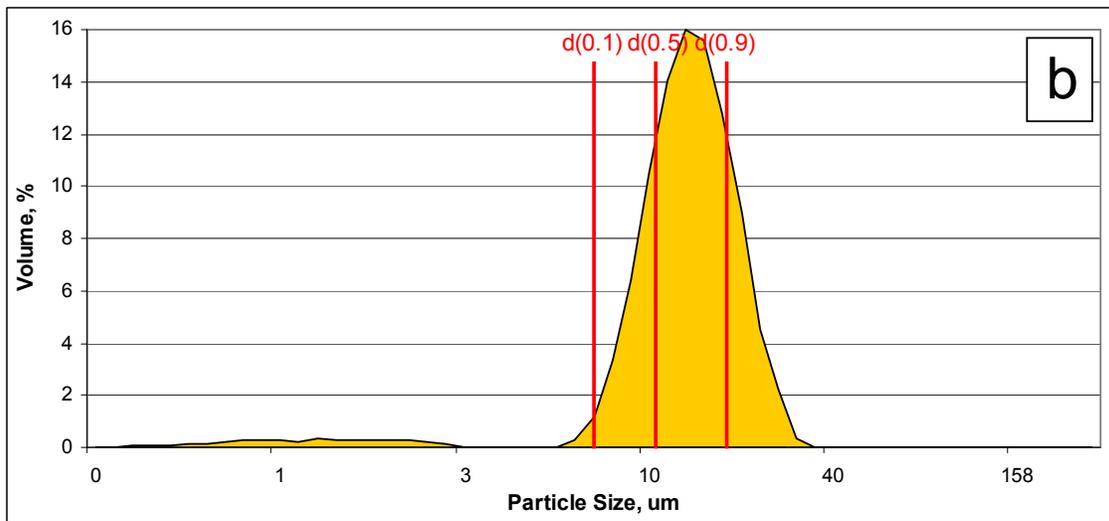
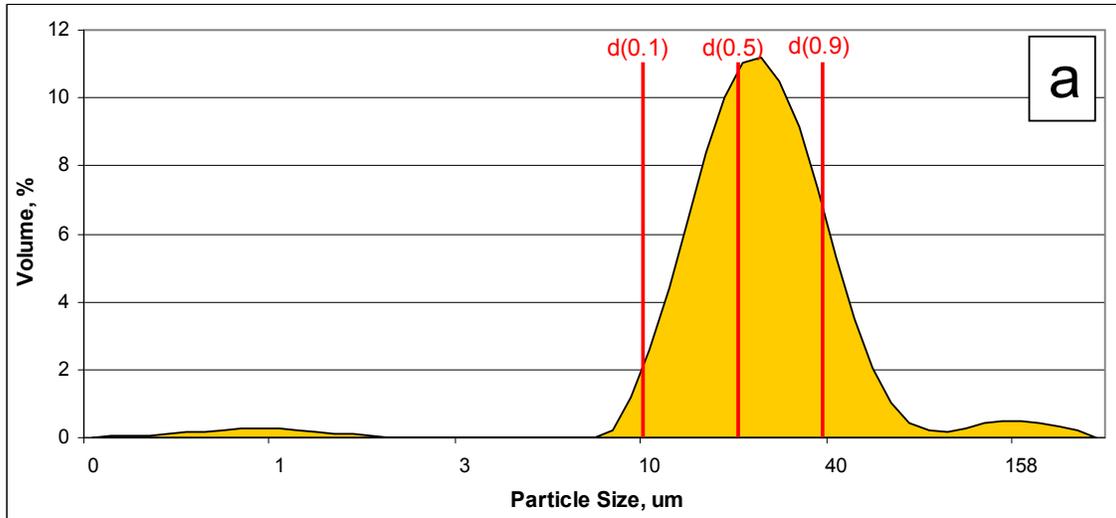


Figura 26: Distribuição de tamanho de partícula dos amidos de trigo (a), mandioca (b) e milho (c).

O amido de milho apresentou uma polidispersão menor quando comparado aos outros amidos, com uniformidade de 0,27, Tabela VI.

Tabela VI: Parâmetros granulométricos dos amidos de trigo, mandioca e milho.

	d(0.1), μm	d(0.5), μm	d(0.9), μm	Uniformidade	D[3,2], μm^2	D[4,3], μm^3
Amido de trigo	11	21	40	0,55	9	26
Amido de mandioca	8	12	19	0,29	7	13
Amido de milho	8	13	20	0,27	12	13

Os valores de superfície média, D[3,2], e volume médio, D[4,3], das partículas foram de $9\mu\text{m}^2$ e $26\mu\text{m}^3$ para o amido de trigo, $7\mu\text{m}^2$ e $13\mu\text{m}^3$ para o amido de mandioca e $12\mu\text{m}^2$ e $13\mu\text{m}^3$ para o amido de milho. Neste caso, a maior área superficial é apresentada pelo amido de milho, provavelmente devido ao formato do grânulo, enquanto o maior volume médio é atribuído ao amido de trigo.

Em presença de água e sob aquecimento os grânulos de amido sofrem o processo de gelatinização. Os vários estágios deste processo (perda inicial da birrefringência, intumescimento e ruptura dos grânulos, temperaturas de gelatinização)⁴⁰ para os amidos neste trabalho podem ser observados nas Figuras 27, 28, 29, 30, 31 e 32.

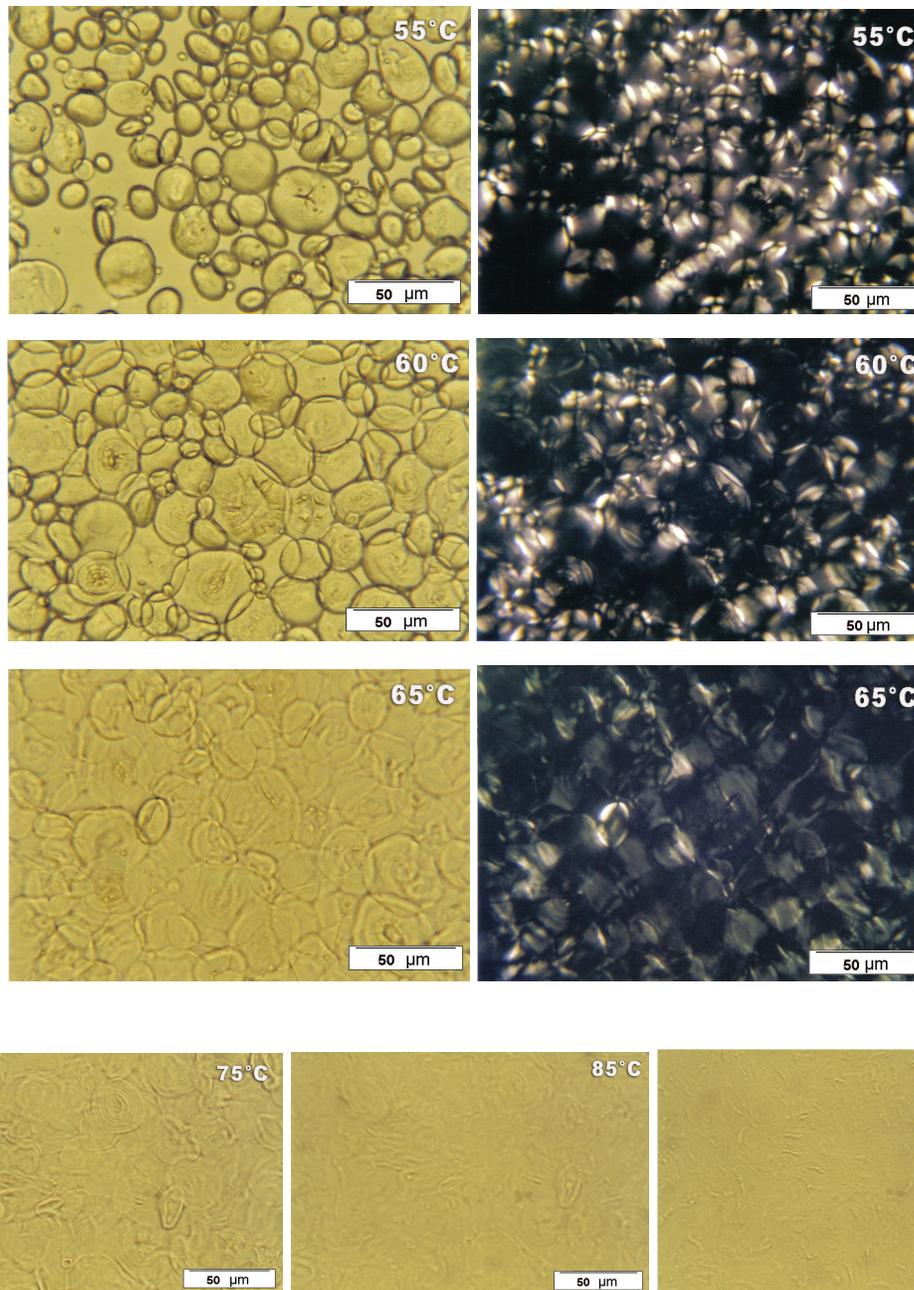


Figura 27: Microscopia óptica do amido de trigo a diferentes temperaturas. As micrografias com fundo escuro foram obtidas sob luz polarizada.

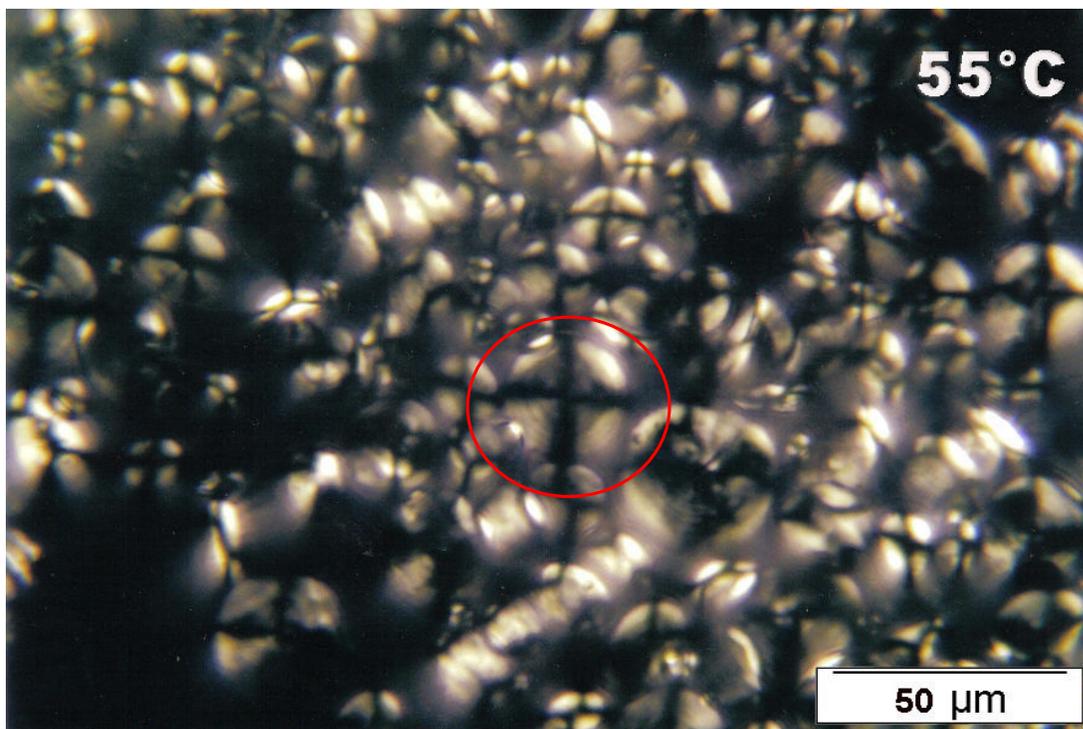
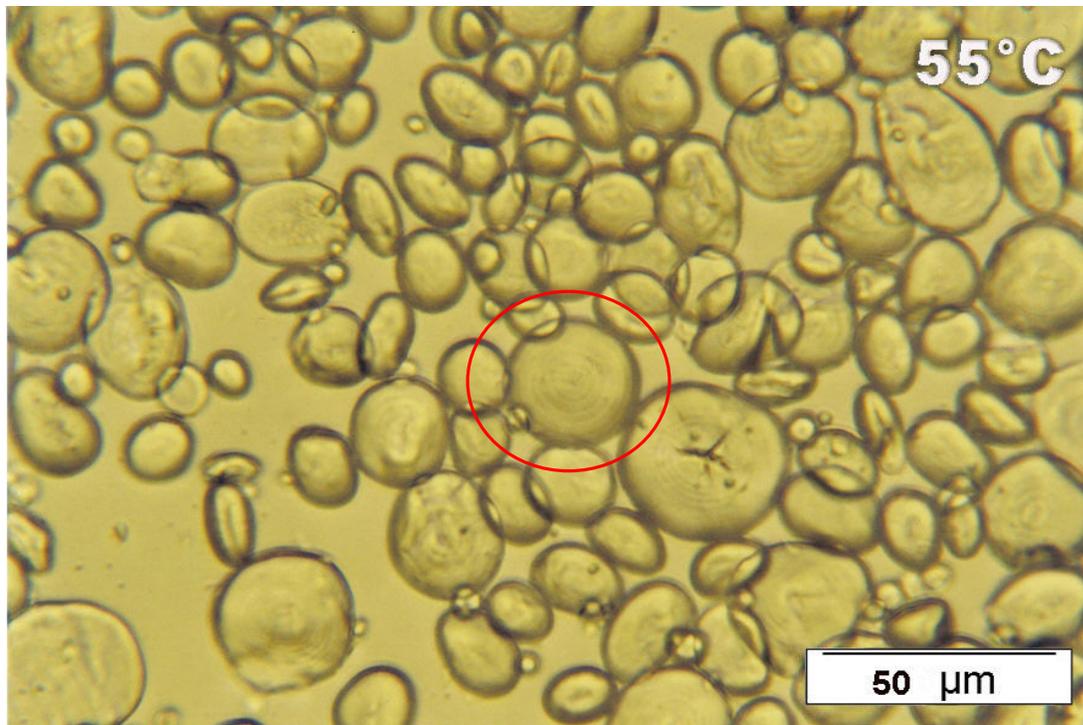


Figura 28: Microscopia óptica do amido de trigo a 55°C (em cima) e sob luz polarizada (embaixo). O círculo destaca um único grânulo (em cima) e sua birrefringência na forma de cruz de malta (embaixo).

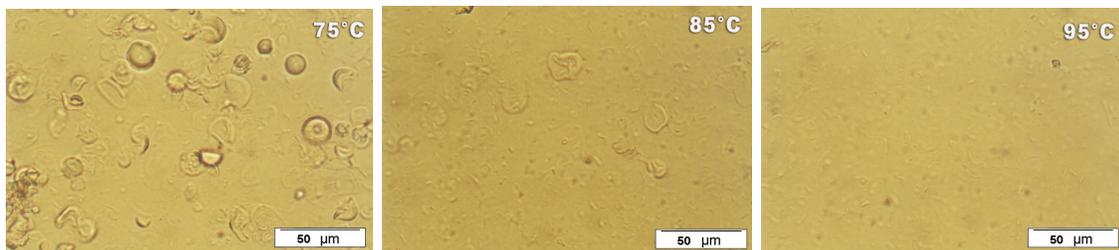
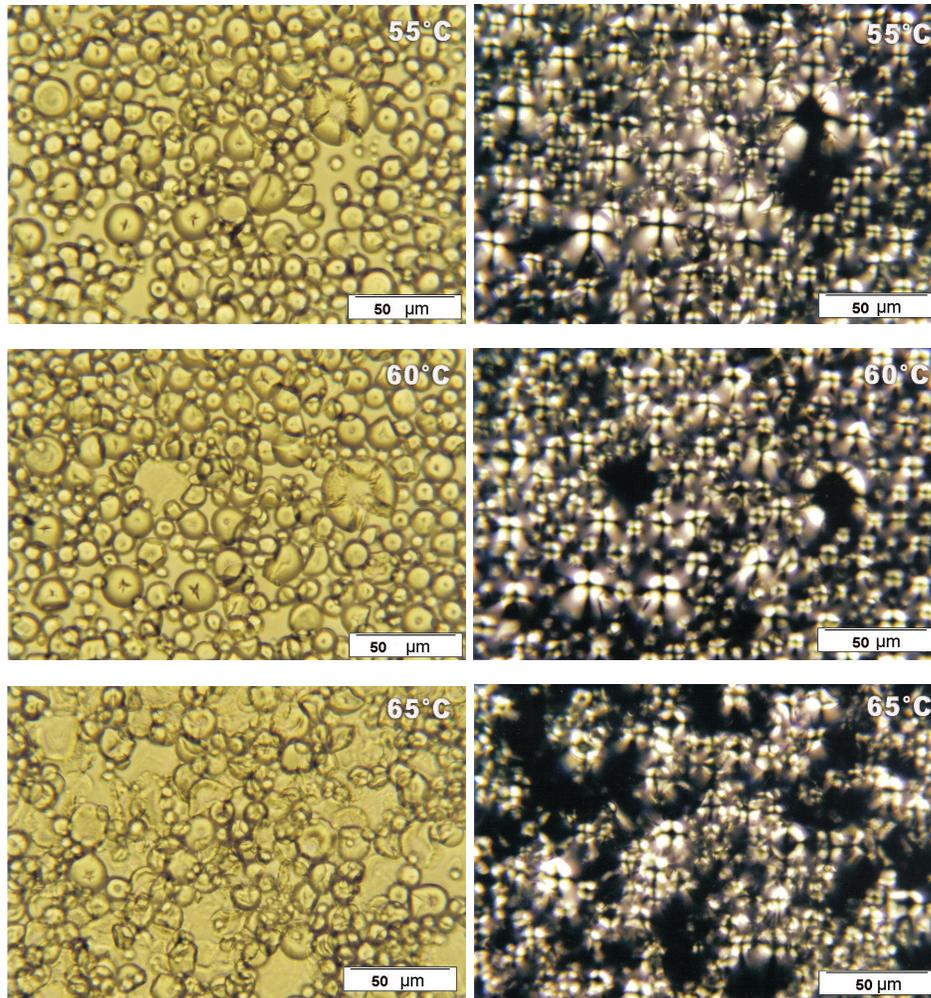


Figura 29: Microscopia óptica do amido de mandioca a diferentes temperaturas. As micrografias com fundo escuro foram obtidas sob luz polarizada.

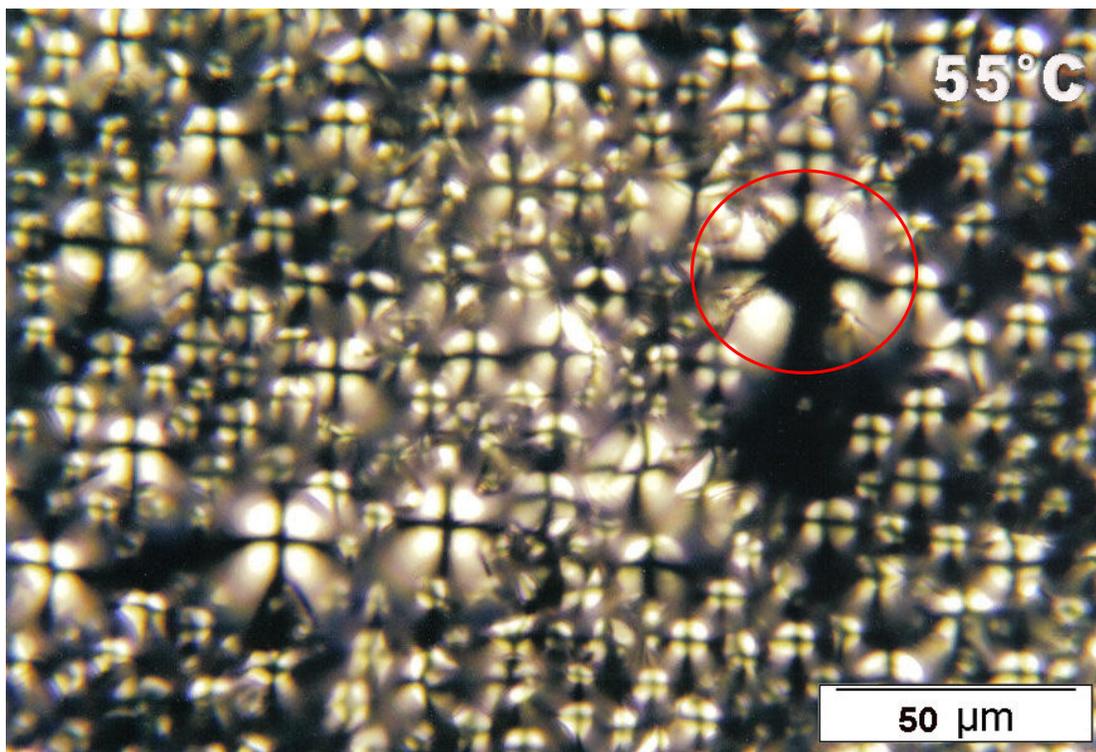
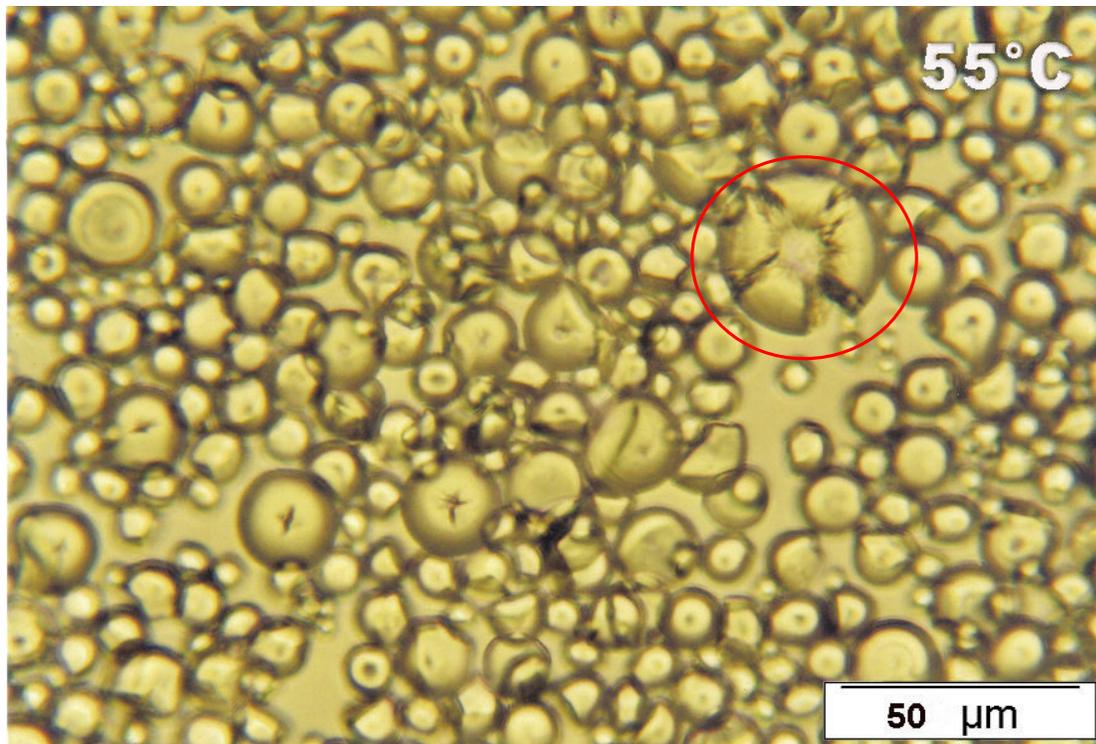


Figura 30: Microscopia óptica do amido de mandioca a 55°C (em cima) e sob luz polarizada (embaixo). O círculo destaca um único grânulo em que ocorre a ruptura.

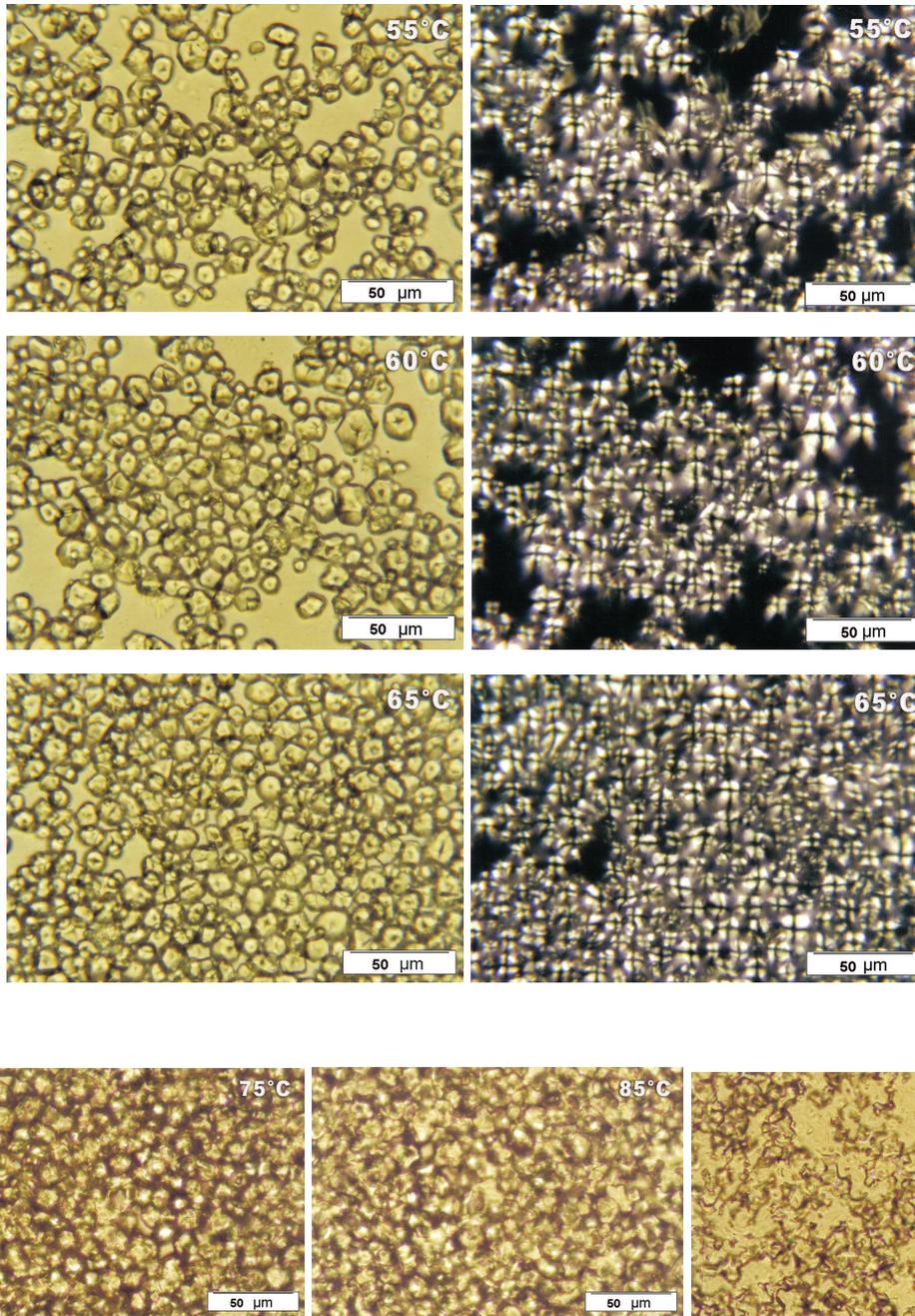


Figura 31: Microscopia óptica do amido de milho a diferentes temperaturas. As micrografias com fundo escuro foram obtidas sob luz polarizada.

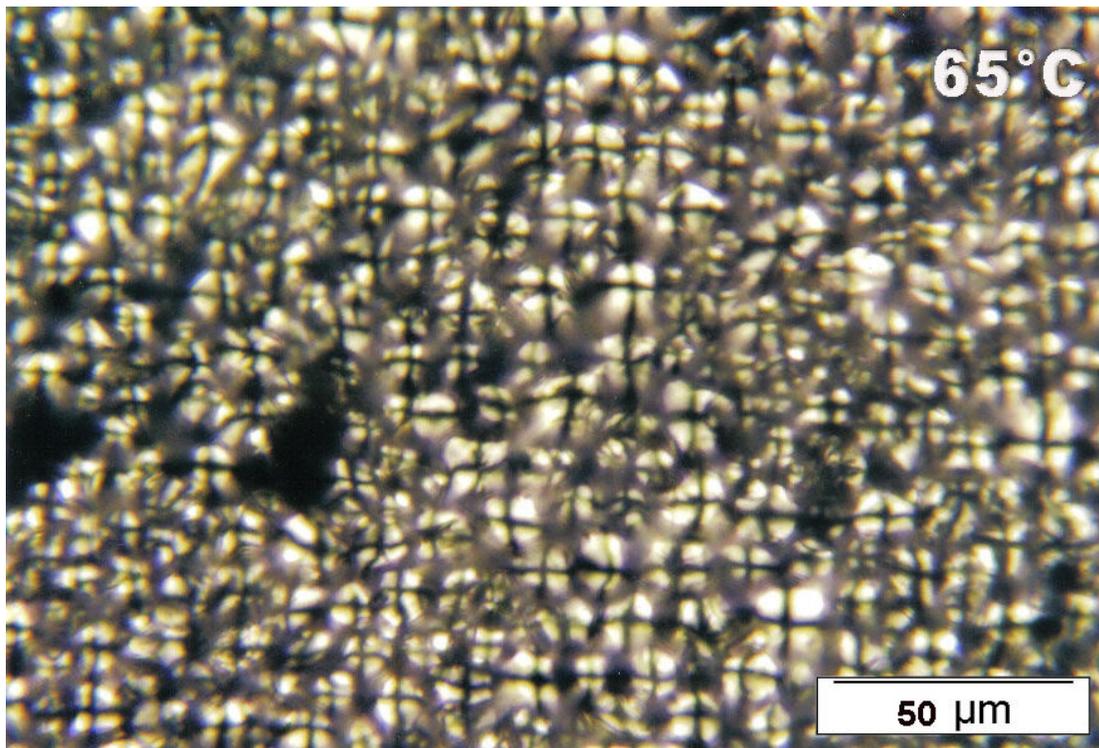
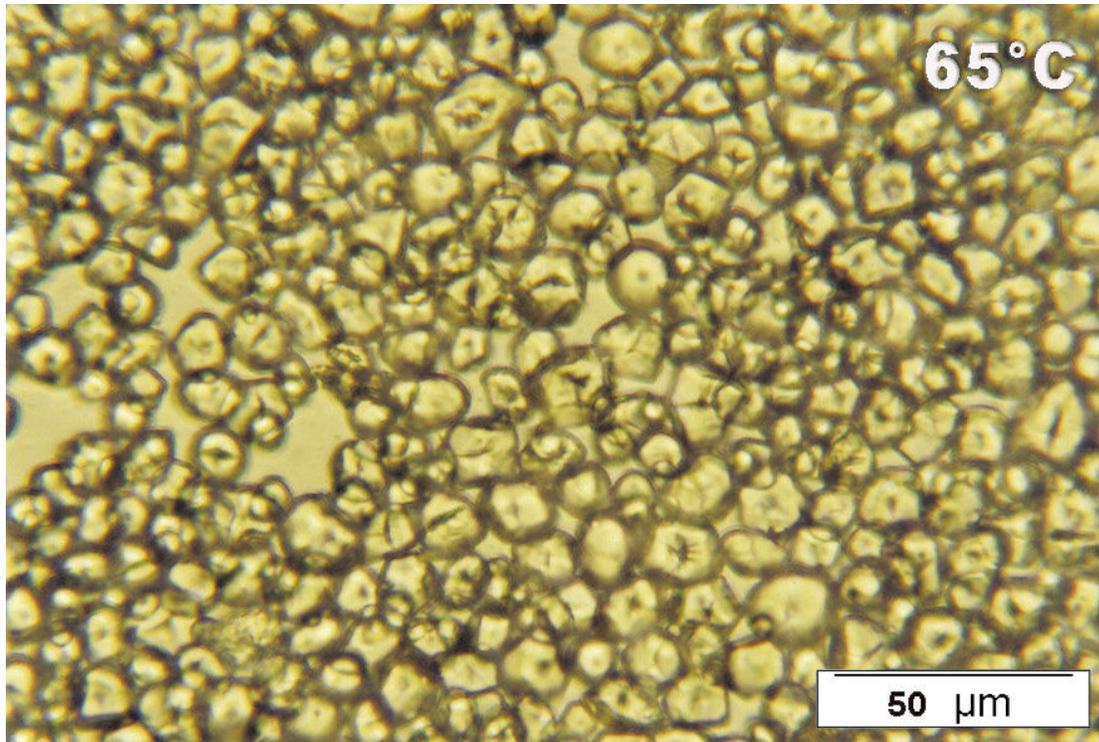


Figura 32: Microscopia óptica do amido de milho a 65°C (em cima) e sob luz polarizada (embaixo). As micrografias evidenciam a estabilidade dos grânulos.

Como já comentado na revisão bibliográfica, a cristalinidade do grânulo de amido é exclusivamente associada com o componente amilopectina, enquanto as regiões amorfas são representadas pela amilose²⁰. Quando observados em microscópio óptico os grânulos de amido nativo são birrefringentes e exibem uma cruz de malta, indicando a presença de regiões cristalinas no amido³⁸, Figura 28.

A absorção de água pelas regiões amorfas durante o aquecimento fez com que os grânulos desestabilizassem sua estrutura cristalina, resultando na perda da birrefringência¹⁰. As imagens mostram a completa ruptura granular e a gelatinização ocorrendo a 65-75°C para o trigo, 75-85°C para a mandioca e 85°C para o milho, Figuras 27, 29 e 31 respectivamente. Os grânulos maiores de amido de trigo e mandioca intumescem primeiro e começam a romper a 55-60°C. A Figura 30 destaca o exato momento em que ocorre a ruptura de um grânulo de amido de mandioca.

Além disso, durante o beneficiamento do amido, uma pequena mas significativa fração dos grânulos é fisicamente danificada⁸¹. Estes fragmentos não são birrefringentes e aumentam a absorção de água durante o aquecimento⁶⁶. A estabilidade dos grânulos de amido de milho, Figura 32, foi confirmada pelos resultados obtidos na análise de amido danificado: 0,2% para o milho, 9,4% para a mandioca e 9,8% para o trigo.

A caracterização por DSC, Figura 33, revelou o fenômeno endotérmico da gelatinização do amido. Quando grânulos de amido são aquecidos na presença de água (no mínimo 60%) e uma temperatura específica (T_g , temperatura de transição vítrea) é atingida, determinadas regiões do grânulo sofrem a transição de fase do estado vítreo para um estado amorfo menos viscoso. Entretanto, o pico de energia associado com esta transição não é frequentemente observado no DSC devido às regiões cristalinas presentes. Assim, o que normalmente é visualizado corresponde a uma temperatura de fusão, T_m , característica das porções cristalinas do material. Uma T_m costuma ser observada após a T_g ²⁰. Portanto, o fenômeno endotérmico observado na Figura 33 corresponde a uma T_m .

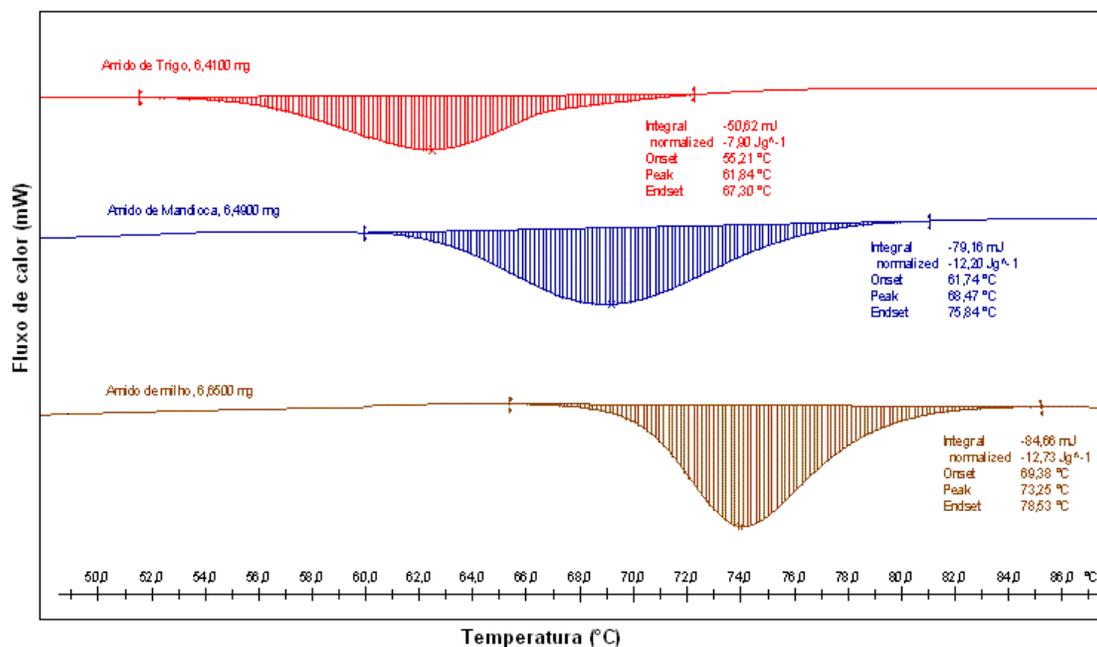


Figura 33: Termogramas dos amidos de trigo, mandioca e milho.

Comparado com os outros amidos, o amido de milho tem os maiores valores de T_{onset} (temperatura inicial), T_{peak} (temperatura do pico) e T_{endset} (temperatura final), indicando um alto nível de cristalinidade. A entalpia de gelatinização de 12,73J/g pode ser relacionada com o baixo teor de amilose presente⁶⁷.

Para obter maior informação sobre a estrutura dos grânulos foram feitos ensaios de intumescimento. O intumescimento do amido é uma propriedade da amilopectina, pois a amilose age como diluente e inibidor nesta condição⁶⁸.

O grau de intumescimento do amido de milho foi menor do que para os outros amidos até atingir a temperatura de 70°C. Após esta temperatura o amido de trigo apresentou os menores valores de intumescimento, Figura 34, indicando uma estrutura dos grânulos mais estável⁸².

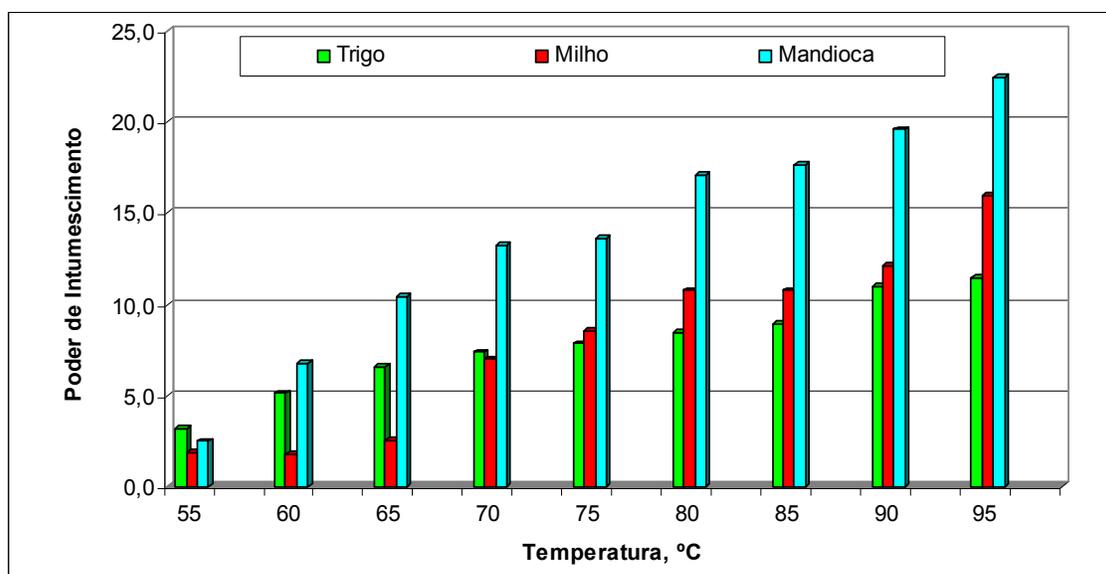


Figura 34: Perfil de intumescimento dos amidos de trigo, mandioca e milho.

Amidos que são capazes de intumescer em altos níveis são também menos resistentes a ruptura do grânulo durante o aquecimento e conseqüentemente exibem um significativo decréscimo na viscosidade após atingir o pico máximo de viscosidade⁶⁹.

Com as curvas de viscosidade apresentadas na Figura 35 foi possível observar o comportamento reológico de cada amido na presença de água e sob aquecimento. O amido de mandioca gelatinizou em temperaturas muito inferiores, ao contrário do amido de milho, o qual gelatinizou em temperaturas superiores devido ao seu alto grau de cristalinidade.

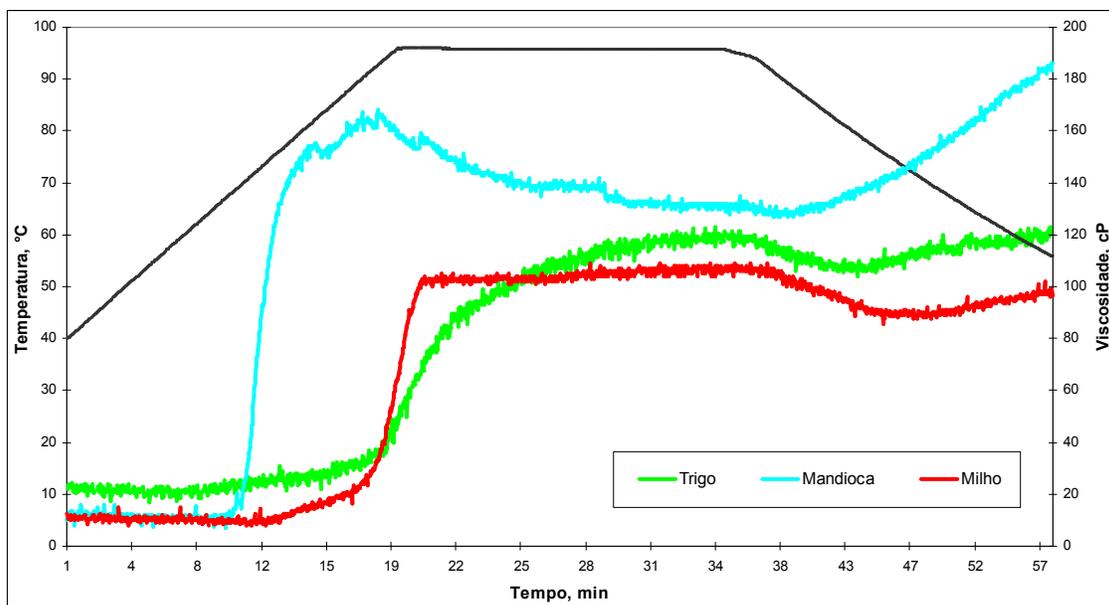


Figura 35: Viscograma contendo o comportamento dos diferentes amidos.

Os resultados são confirmados pelo fato de que geralmente amidos de tubérculos gelatinizam mais rapidamente, e em temperaturas mais baixas, do que amidos de cereais²⁰.

A viscosidade máxima foi atingida quando os grânulos encontravam-se em seu maior estágio de intumescimento. Entretanto, a continuidade do cisalhamento e o resfriamento do sistema causam ruptura e fragmentação dos grânulos, que são acompanhadas pela queda da viscosidade^{83, 84}.

Durante o resfriamento do sistema, o amido torna-se progressivamente menos solúvel. Em solução diluída, algumas moléculas de amido voltam a se associar parcialmente para formar um precipitado ou novamente um gel. Nesta etapa, ocorre um segundo acréscimo na viscosidade que é associado com o fenômeno da retrogradação^{20, 85}.

Deve-se observar, no entanto, que para o amido de mandioca o fenômeno de retrogradação ocorre antes do resfriamento do sistema.

4.3 MISTURAS

4.3.1 Fase Preliminar

Os resultados reológicos obtidos (média) para as misturas utilizadas no Primeiro Estudo estão apresentados na Tabela VII.

Tabela VII: Propriedades reológicas obtidas para as misturas do Primeiro Estudo.

		Proteína Isolada de Soja (%)	Glúten (%)	Amido (%)	Fluidez (g)	Força de Penetração (g)	Força de Ruptura (g)	Deformabilidade (cm)	Dureza (g)
T R I G O	TR 1	80	10	10	9800	9574	181	9,3	871
	TR 2	50	30	20	6800	4298	89	7,3	549
	TR 3	50	20	30	8550	4849	92	7,2	592
	TR 4	60	30	10	9300	7648	150	8,6	780
	TR 5	60	10	30	10150	6192	123	7,8	705
	TR 6	70	10	20	13200	8206	152	8,9	777
	TR 7	70	20	10	9350	7556	148	8,9	722
	TR 8	70	0	30	6200	7915	144	8,5	797
M A N D I O C A	MA 1	80	10	10	12500	8317	172	9,1	815
	MA 2	50	30	20	4400	3417	67	6,8	476
	MA 3	50	20	30	5800	3928	78	7,2	472
	MA 4	60	30	10	6250	4694	92	7,3	511
	MA 5	60	10	30	7250	5344	102	7,8	556
	MA 6	70	10	20	10600	7005	120	7,7	657
	MA 7	70	20	10	6600	6761	116	8,0	624
	MA 8	70	0	30	8800	7346	125	8,1	652
M I L H O	MI 1	80	10	10	11700	8333	152	8,6	832
	MI 2	50	30	20	4000	3895	79	6,5	523
	MI 3	50	20	30	6700	4499	84	6,2	625
	MI 4	60	30	10	5800	4972	97	8,1	601
	MI 5	60	10	30	4750	5644	112	7,3	734
	MI 6	70	10	20	11600	7669	148	8,4	824
	MI 7	70	20	10	5700	6554	132	8,6	725
	MI 8	70	0	30	7900	7857	149	8,0	729

Primeiramente foi investigada a interação entre as propriedades reológicas, através de estudos de correlação linear. A análise de correlação linear fornece um número que resume o grau de relação entre duas variáveis, denominado coeficiente de correlação de Pearson. Este coeficiente varia entre -1 e 1, sendo que um valor igual a 1 mostra uma relação linear positiva perfeita entre as duas variáveis. Isto significa que quando uma variável aumenta, a outra aumenta linearmente e que, quando uma variável diminui, a outra diminui linearmente. De modo idêntico, um coeficiente de correlação de Pearson igual a -1 indica uma relação linear negativa perfeita entre as duas variáveis. Entretanto, se o valor for igual a 0, as duas variáveis são não-correlacionadas linearmente, embora possam ter outro tipo de relação⁸⁶.

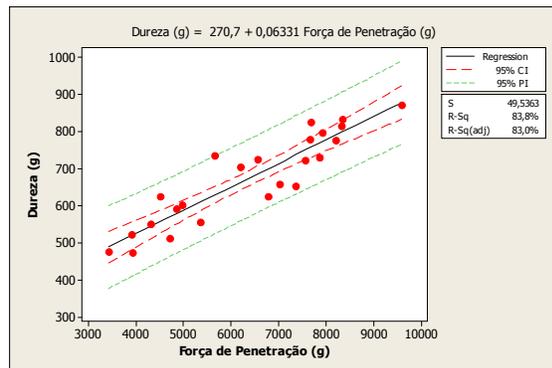
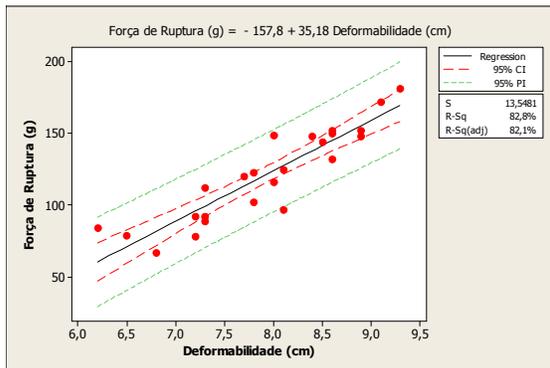
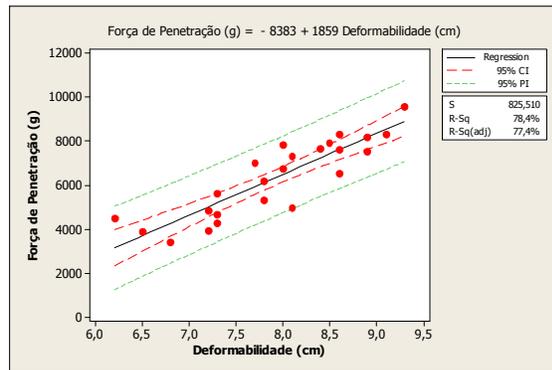
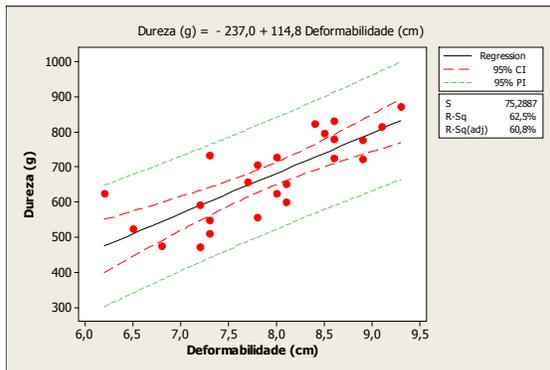
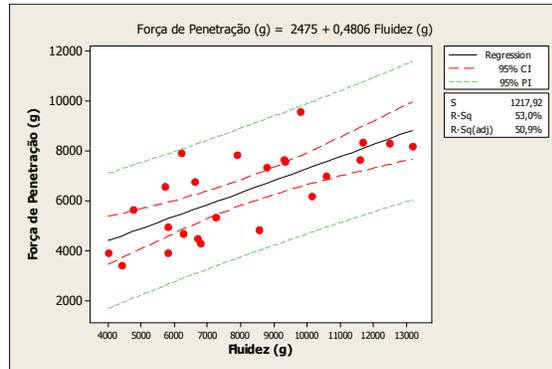
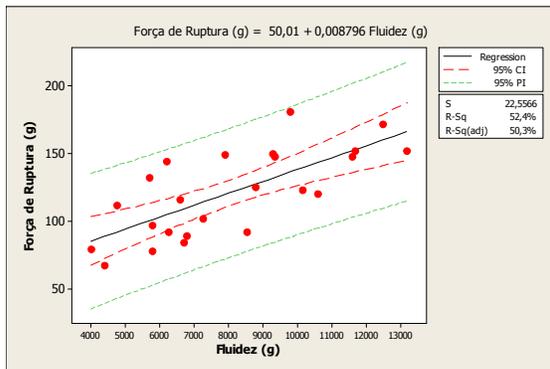
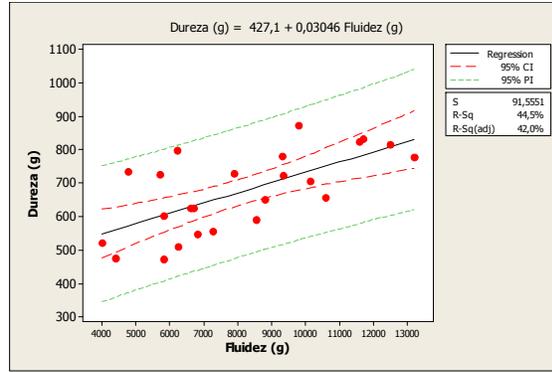
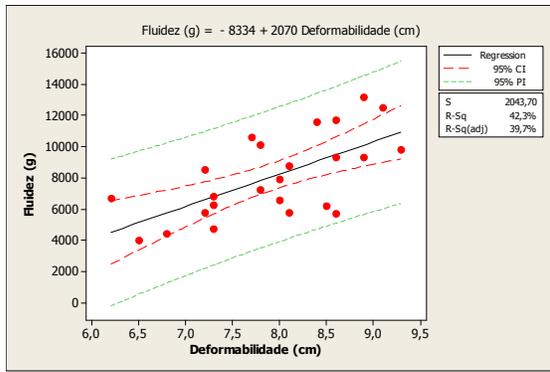
O C.C.P., coeficiente de correlação de Pearson, de 0,978 indicou uma forte associação linear entre força de ruptura e força de penetração. Por outro lado, deformabilidade e fluidez apresentaram coeficiente de correlação de Pearson de 0,651, Tabela VIII.

Tabela VIII: Interação entre as propriedades reológicas através de indicadores estatísticos (Primeiro Estudo).

Correlação	R-Sq(adj), %	C.C.P.
Fluidez x Deformabilidade	39,7	0,651
Fluidez x Dureza	42,0	0,667
Fluidez x Força de ruptura	50,3	0,724
Fluidez x Força de penetração	50,9	0,728
Deformabilidade x Dureza	60,8	0,790
Deformabilidade x Força de penetração	77,4	0,885
Deformabilidade x Força de ruptura	82,1	0,910
Dureza x Força de penetração	83,0	0,915
Dureza x Força de ruptura	87,1	0,936
Força de ruptura x Força de penetração	95,4	0,978

Uma estatística mais significativa é o R^2 ou R-Sq, denominado coeficiente de determinação, o qual fornece a porcentagem de variação em uma variável que é explicada estatisticamente pela variação da outra variável. O coeficiente de determinação ajustado, R^2_A ou R-Sq(adj), ajusta o R^2 ou R-Sq para o número de termos no modelo comparado ao número de observações⁸⁷.

Através dos valores de R-Sq(adj) apresentados na Figura 36 é possível afirmar que 95,4% da variação encontrada para a força de ruptura está associada à variação da força de penetração e apenas 39,7% da variação encontrada para a deformabilidade está associada à variação da fluidez. Também é mostrada na Figura 36 a equação matemática que descreve a relação entre as variáveis, sendo possível utilizá-la para estimar ou prever valores de uma variável quando se conhecem ou se supõem conhecidos valores da outra variável⁸⁶.



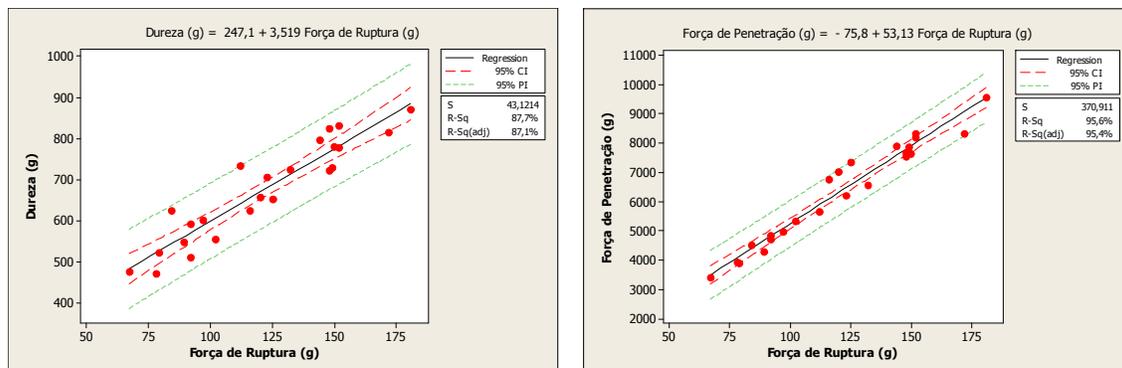


Figura 36: Representação gráfica da interação entre as propriedades reológicas utilizando-se a análise de regressão (Primeiro Estudo).

Para reduzir o desvio padrão encontrado entre as medidas de fluidez e aumentar a correlação deste parâmetro com os outros parâmetros, buscou-se a melhoria de alguns procedimentos durante a avaliação desta propriedade. Isto foi testado no Segundo Estudo da fase preliminar.

O efeito individual de cada componente, proteína isolada de soja, glúten e amido, nas propriedades reológicas das misturas foi investigado através da análise de variância (ANOVA)⁸⁸. Nesta etapa foram utilizados os valores médios das três espécies de amido estudadas, ou seja, não foi verificado o efeito para cada espécie de amido.

A Tabela IX mostra a variação dos parâmetros que pode ser explicada através da variação dos componentes, R-Sq(adj).

Tabela IX: Correlação da variação dos parâmetros reológicos com os componentes (Primeiro Estudo).

	Proteína Isolada de Soja, %	Glúten, %	Amido, %
Força de Ruptura	77,0	29,7	9,5
Dureza	59,9	32,6	1,4
Deformabilidade	71,5	10,2	23,6
Fluidez	33,1	35,0	0,0
Força de Penetração	82,6	37,0	5,4

A proteína isolada de soja foi o componente que apresentou a maior influência sob as propriedades reológicas. Apenas a fluidez revelou um comportamento diferente, sofrendo influência praticamente similar da proteína isolada de soja e do glúten.

Na tentativa de uma melhor visualização do efeito dos outros componentes nas propriedades reológicas, foram preparadas misturas com maiores proporções de amido e glúten para a composição das misturas que seriam utilizadas na próxima etapa (Segundo Estudo). Deve ser salientado que foi utilizado somente o amido de trigo para este Segundo Estudo.

Os resultados reológicos obtidos (média) para as misturas, modelo Simplex centróide, utilizadas no Segundo Estudo da fase preliminar estão apresentados na Tabela X.

Tabela X: Propriedades reológicas obtidas para as misturas do Segundo Estudo.

		Proteína Isolada de Soja (%)	Glúten (%)	Amido (%)	Fluidez (g)	Força de Penetração (g)	Força de Ruptura (g)	Deformabilidade (cm)	Dureza (g)
T	Referência	0	13,8	86,2	—	—	—	—	—
R	A	33,33	33,33	33,33	2938	2787	52	5,7	415
I	B	20	60	20	1242	1595	24	5,4	202
G	C	60	20	20	5157	4869	108	7,8	646
O	D	20	20	60	—	—	—	—	—

A referência e a mistura D não formaram um gel homogêneo após o aquecimento. Estes dois pontos apresentaram separação de fases, o que inviabilizou a utilização de proporções de amido superiores a 60% nas misturas da Fase Final.

4.3.2 Fase Final

Os resultados reológicos obtidos (média) para as misturas, modelo Vértices extremos, utilizadas na Fase Final estão apresentados na Tabela XI.

Tabela XI: Propriedades reológicas obtidas para as misturas da Fase Final.

		Proteína Isolada de Soja (%)	Glúten (%)	Amido (%)	Fluidez (g)	Força de Penetração (g)	Força de Ruptura (g)	Deformabilidade (cm)	Dureza (g)
TRIGO	E1	30	30	40	2868	2898	53	5,3	448
	F1	30	50	20	1936	1821	30	5,3	258
	G1	50	30	20	3923	2990	65	7,0	449
MANDIOCA	E2	30	30	40	5095	2582	36	6,6	341
	F2	30	50	20	2391	1513	29	5,3	227
	G2	50	30	20	4580	3111	58	6,7	394
MILHO	E3	30	30	40	3802	3011	54	5,2	462
	F3	30	50	20	1468	1501	33	4,9	301
	G3	50	30	20	4052	3411	72	6,6	493
	H	30	70	0	900	1184	16	6,8	119
	I	50	50	0	3012	2211	45	7,8	289
	J	70	30	0	7137	5019	96	8,9	572

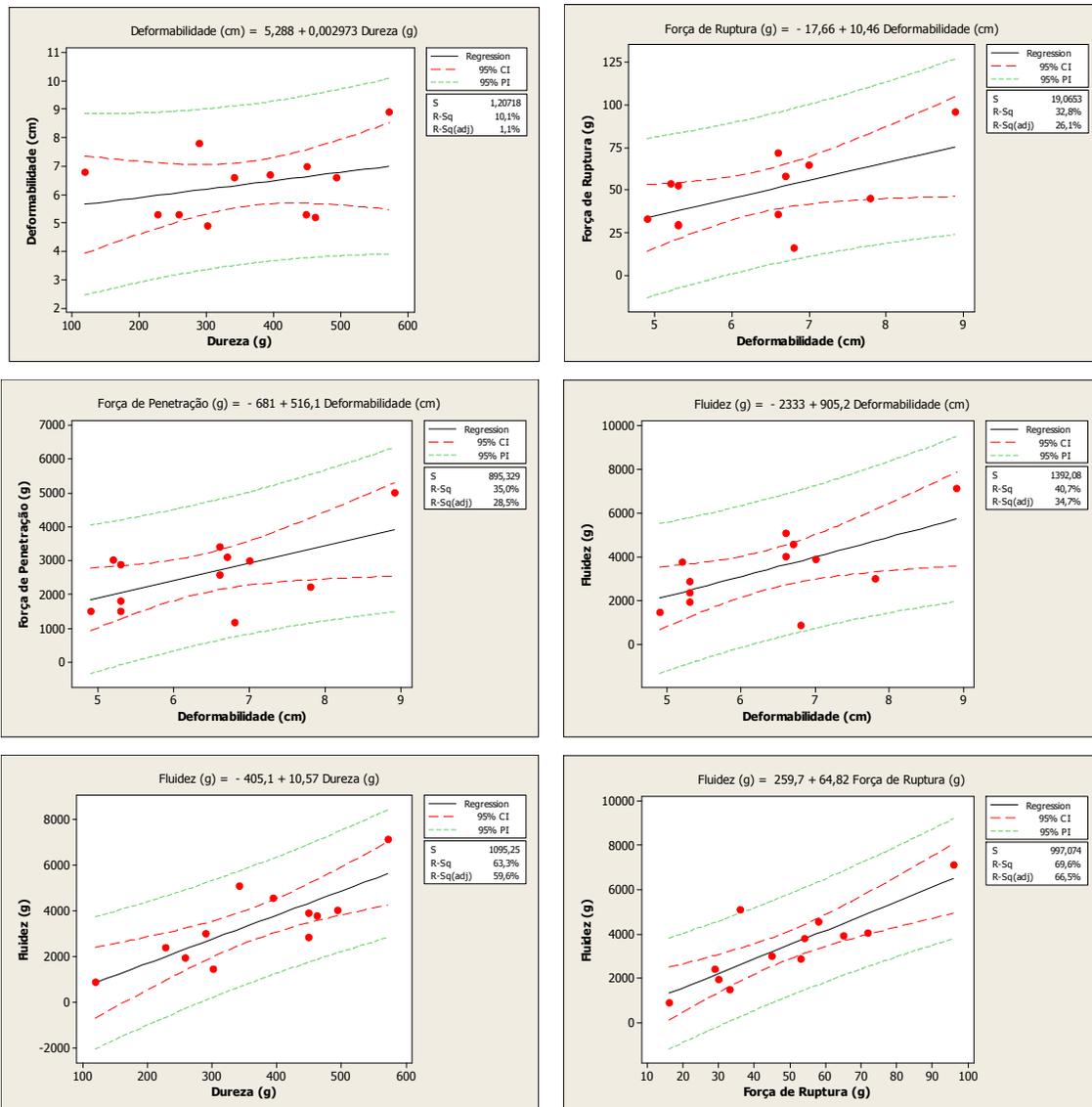
Novamente foi investigada a interação entre as propriedades reológicas através de estudos de correlação linear. Como observado no Primeiro Estudo, todas as interações que envolviam as propriedades reológicas de deformabilidade e fluidez apresentaram fraco coeficiente de correlação de Pearson, Tabela XII.

Tabela XII: Interação entre as propriedades reológicas através de indicadores estatísticos (Fase Final).

Correlação	R-Sq(adj), %	C.C.P.
Deformabilidade x Dureza	1,1	0,317
Deformabilidade x Força de ruptura	26,1	0,572
Deformabilidade x Força de penetração	28,5	0,592
Fluidez x Deformabilidade	34,7	0,638
Fluidez x Dureza	59,6	0,795
Fluidez x Força de ruptura	66,5	0,834
Fluidez x Força de penetração	82,5	0,917
Dureza x Força de penetração	84,4	0,927
Dureza x Força de ruptura	86,7	0,938
Força de Ruptura x Força de Penetração	92,3	0,965

As maiores interações continuaram sendo entre Dureza x Força de penetração, Dureza x Força de ruptura e Força de ruptura x Força de penetração, com valores de coeficiente de determinação ajustado de 84,4%, 86,6% e 92,4% respectivamente.

A Figura 37 apresenta os coeficientes de determinação ajustados e as equações matemáticas que descrevem a relação entre as variáveis.



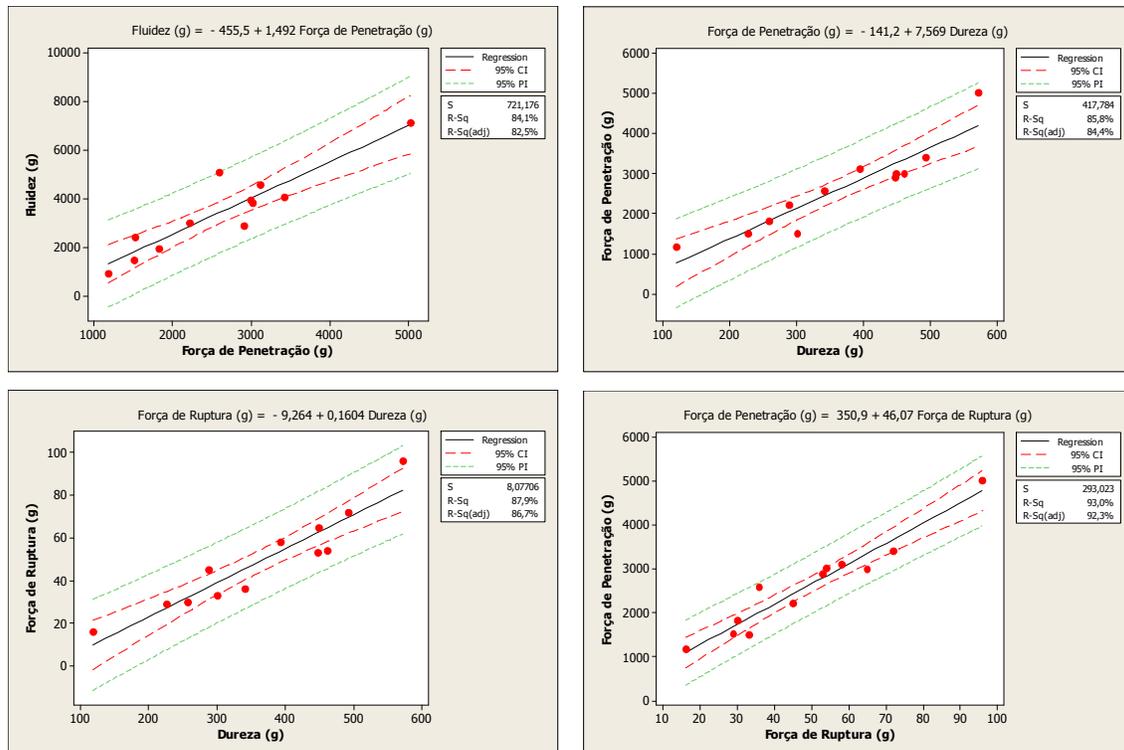


Figura 37: Representação gráfica da interação entre as propriedades reológicas utilizando-se a análise de regressão (Fase Final).

O efeito individual de cada componente nas propriedades reológicas das misturas foi investigado através da análise de variância (ANOVA). Desta vez foi verificado o efeito para cada espécie de amido.

A Tabela XIII mostra a variação dos parâmetros que pode ser explicada pela variação dos componentes.

Tabela XIII: Correlação da variação dos parâmetros reológicos com os componentes (Fase Final).

	Proteína Isolada de Soja, %	Glúten, %	Amido de Trigo, %
Força de Ruptura	61,9	53,4	0,0
Dureza	16,3	86,8	0,0
Deformabilidade	69,5	0,0	38,7
Fluidez	83,0	24,2	0,0
Força de Penetração	65,9	44,2	0,0

	Proteína Isolada de Soja, %	Glúten, %	Amido de Mandioca, %
Força de Ruptura	87,7	16,5	0,0
Dureza	57,9	56,4	0,0
Deformabilidade	56,7	0,0	28,5
Fluidez	29,9	73,7	0,0
Força de Penetração	74,0	37,8	0,0

	Proteína Isolada de Soja, %	Glúten, %	Amido de Milho, %
Força de Ruptura	55,1	60,4	0,0
Dureza	4,2	92,2	0,0
Deformabilidade	59,5	0,0	47,4
Fluidez	64,4	45,4	0,0
Força de Penetração	56,0	57,9	0,0

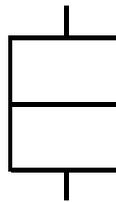
De uma maneira geral, o aumento da concentração de proteína isolada de soja na mistura afeta diretamente os resultados das propriedades reológicas, já a adição de glúten afeta inversamente as mesmas propriedades. Maiores proporções de amido não afetam significativamente os resultados das propriedades reológicas.

A deformabilidade apresentou comportamento diferente, sendo que o aumento da concentração de glúten não influenciou significativamente estes resultados, porém o aumento da concentração de amido afetou inversamente os resultados. O amido de milho foi o que mais contribuiu para este efeito.

Apesar da concentração de amido não afetar diretamente a maioria das propriedades estudadas, a espécie de amido altera fortemente a influência dos outros componentes. A presença de amido de milho nas misturas faz com que a influência do glúten seja maior do que a da proteína isolada de soja na força de ruptura e na força de penetração: 60,4% e 57,8%, respectivamente. Já a presença do amido de milho e trigo diminui a influência da proteína isolada de soja na dureza: 4,2% e 16,3%, respectivamente. A fluidez tem a influência do glúten drasticamente potencializada pela presença do amido de mandioca nas misturas: 73,7%.

As diferentes proporções dos três componentes e espécies de amido foram também avaliadas utilizando-se o boxplot, ou gráfico de caixa, uma ferramenta exploratória de dados, Figuras 38, 39, 40, 41 e 42.

Nestes gráficos, está evidenciada a localização e dispersão do conjunto de dados. A localização é representada pela mediana (linha que corta a caixa) e a dispersão pode ser visualizada pelo valor mínimo, 1º quartil, 3º quartil e valor máximo⁸⁸.



- Misturas contendo amido de trigo
- Misturas contendo amido de mandioca
- Misturas contendo amido de milho
- Mistura com 30% de PIS e 70% de glúten
- Mistura com 50% de PIS e 50% de glúten
- Mistura com 70% de PIS e 30% de glúten

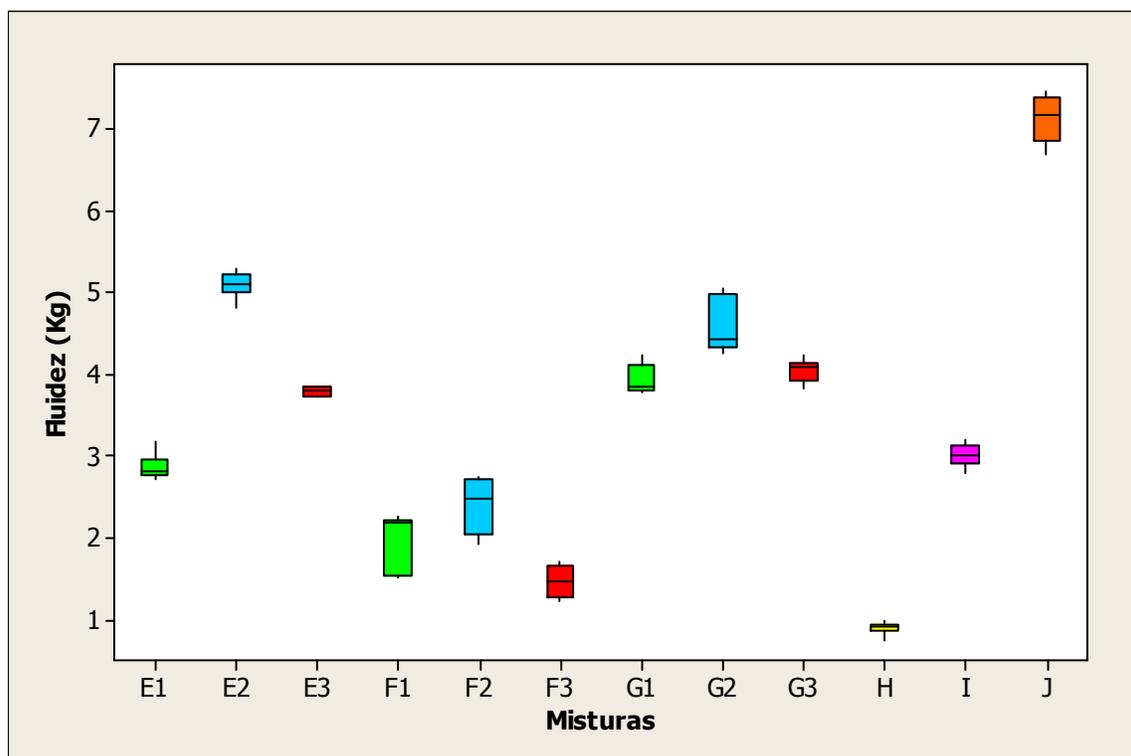


Figura 38: Gráfico de fluidez em função do tipo de mistura.

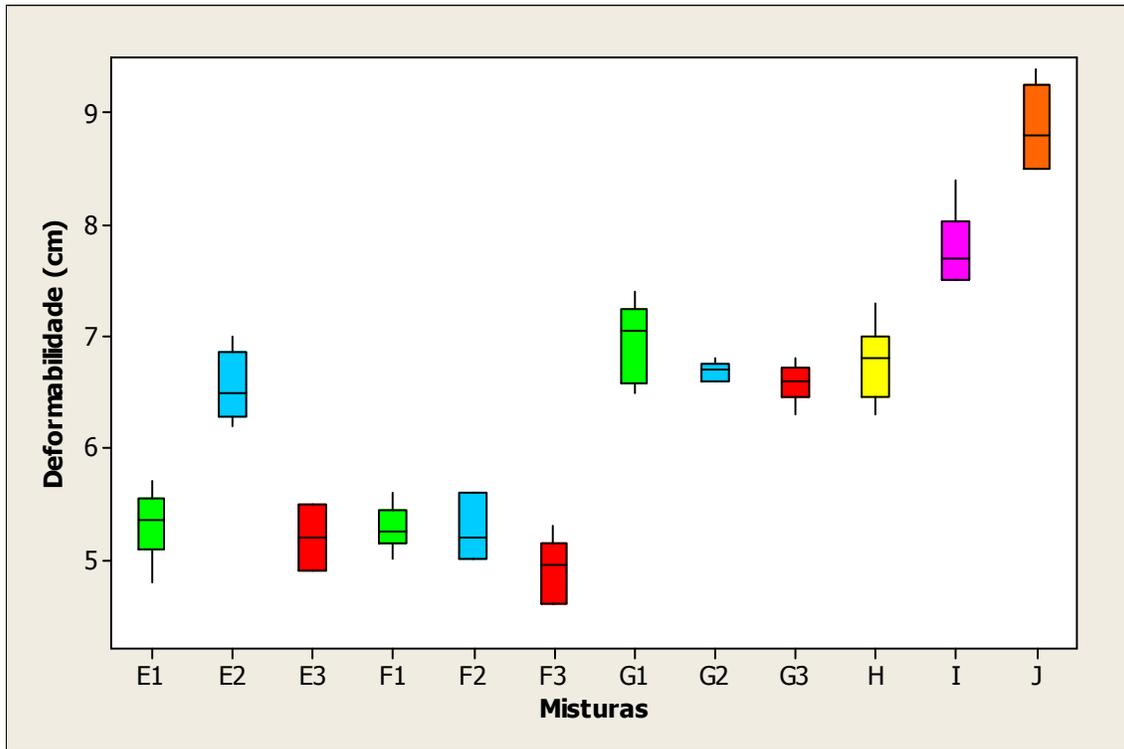


Figura 39: Gráfico de deformabilidade em função do tipo de mistura.

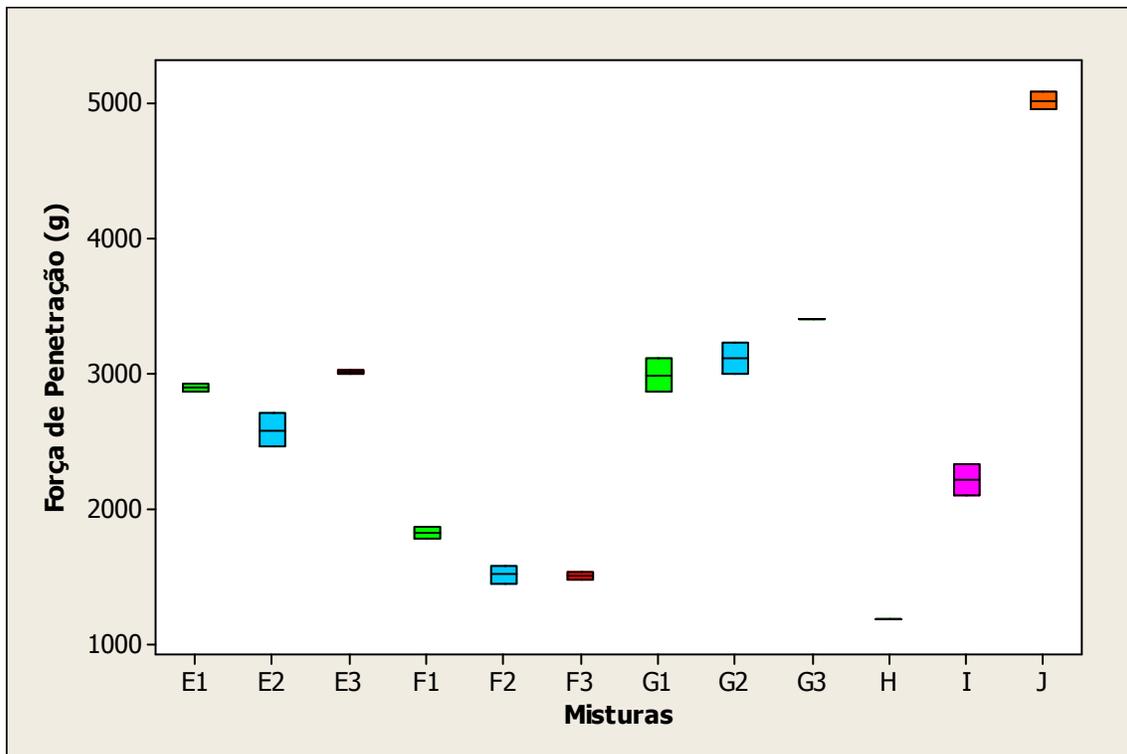


Figura 40: Gráfico de força de penetração em função do tipo de mistura.

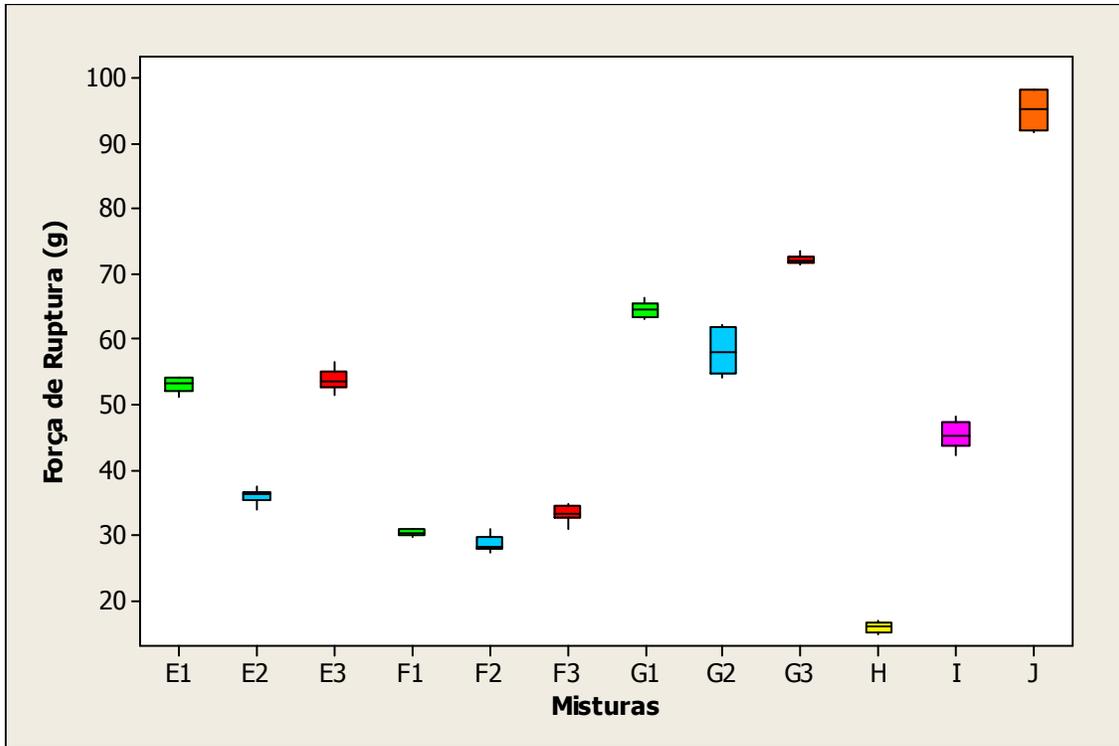


Figura 41: Gráfico de força de ruptura em função do tipo de mistura.

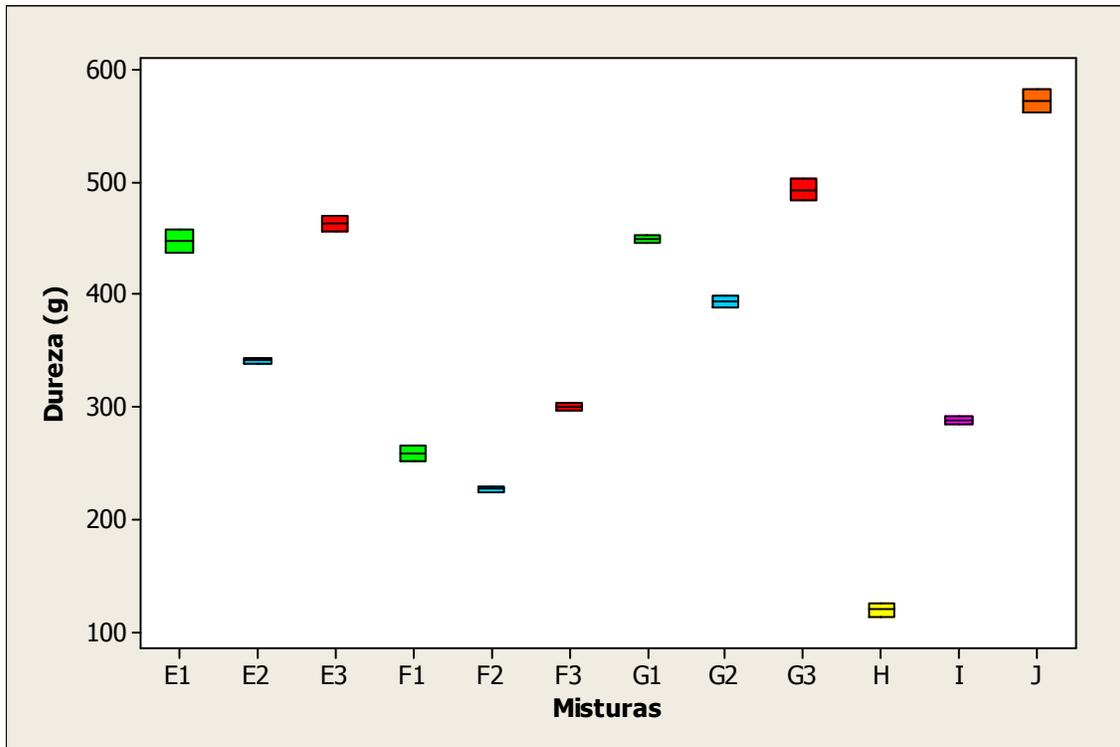


Figura 42: Gráfico de dureza em função do tipo de mistura.

Os gráficos de força de penetração, força de ruptura e dureza apresentaram comportamento similar.

Houve uma maior distribuição dos valores para cada mistura nas avaliações de deformabilidade e fluidez, evidenciado através da dispersão do conjunto de dados apresentado no gráfico de caixa. O maior valor de desvio padrão observado entre as repetições para cada propriedade analisada foi de 357 para fluidez, 0,4 para deformabilidade, 123,7 para força de penetração, 3,6 para força de ruptura e 10,6 para dureza.

Quando avaliada somente a relação proteína isolada de soja e glúten, misturas H, I e J, percebe-se nitidamente a influência da proteína isolada de soja nas propriedades reológicas. O acréscimo de proteína isolada de soja na mistura aumenta consideravelmente o valor obtido. Quanto as diferentes espécies de amidos, pode-se afirmar que os amidos de trigo e de milho apresentaram comportamento similar. O amido de mandioca quando comparado as outras duas espécies, apresentou propriedades reológicas inferiores.

Na busca do modelo que melhor se ajusta ao problema estudado, foi necessária a realização dos cálculos dos coeficientes, determinação do erro padrão de cada coeficiente e a análise de variância (ANOVA). Primeiramente foram aplicados os modelos linear e quadrático. O modelo linear ou modelo aditivo é representado pela equação:

$$y = b_1C_1 + b_2C_2 + b_3C_3 \quad (4.1)$$

A ampliação mais simples do modelo linear é o modelo quadrático, representado pela equação:

$$y = b_1C_1 + b_2C_2 + b_3C_3 + b_{12}C_1C_2 + b_{13}C_1C_3 + b_{23}C_2C_3 \quad (4.2)$$

O modelo quadrático contém, além dos termos do modelo aditivo, termos cruzados que descrevem as interações entre dois componentes. Geralmente o modelo quadrático consegue reproduzir satisfatoriamente os valores da resposta nos vértices e nas arestas do triângulo de concentrações, que representam respectivamente os componentes puros e suas misturas binárias⁴⁸.

O modelo quadrático de uma mistura pode ser expresso por:

$$E(y) = \sum_{i=1}^q \beta_i x_i + \sum_{i=1}^q \sum_{i < j}^q \beta_{ij} x_i x_j \quad (4.3)$$

Para aplicar o cálculo matricial, precisa-se compor uma matriz principal (X) que tenha colunas necessárias para se proceder à estimativa dos termos $\beta_{ij} x_i x_j$. Para tanto, basta que as colunas respectivas sejam multiplicadas termo a termo⁵¹.

Considerando-se, C_1 = proteína isolada de soja, C_2 = glúten e C_3 = amido e as proporções sugeridas pelo modelo Vértices extremos pode-se observar a contribuição de cada componente na Tabela XIV.

Tabela XIV: Contribuição de cada componente de acordo com a mistura utilizada.

C_1	C_2	C_3	$C_1 * C_2$	$C_1 * C_3$	$C_2 * C_3$
0,3	0,3	0,4	0,09	0,12	0,12
0,3	0,5	0,2	0,15	0,06	0,10
0,5	0,3	0,2	0,15	0,10	0,06
0,3	0,7	0,0	0,21	0,00	0,00
0,5	0,5	0,0	0,25	0,00	0,00
0,7	0,3	0,0	0,21	0,00	0,00

Através do Minitab®, foram obtidos os valores de coeficiente de determinação ajustado para os modelos lineares e quadráticos aplicados em cada propriedade, Tabela XV. Este parâmetro é frequentemente utilizado para julgar a adequação de um modelo de regressão, ou seja, especifica a proporção de variabilidade nos valores de resposta que é expressa pelo modelo⁸⁷.

O valor máximo de R-Sq(adj) é 100%, e o mesmo somente ocorrerá se não houver resíduo nenhum e portanto toda a variação em torno da média for explicada pelo modelo de regressão. Quanto mais próximo de 100% estiver o valor de R-Sq(adj), melhor terá sido o ajuste do modelo para as respostas observadas⁴⁸.

Tabela XV: Valores de R-Sq (adj) para os modelos de regressão.

	Modelo	Propriedades reológicas, R-Sq(adj), %				
		Fluidez	Força de Penetração	Força de Ruptura	Deformabilidade	Dureza
Trigo	Linear	91,4	85,8	95,5	88,3	96,1
	Quadrático	97,6	99,3	99,0	89,1	99,6
Mandioca	Linear	88,3	89,8	95,3	63,8	95,5
	Quadrático	97,3	99,0	98,5	87,8	99,7
Milho	Linear	89,5	90,3	97,0	85,5	97,4
	Quadrático	98,6	99,6	99,0	91,5	99,6

Para o experimento envolvendo misturas aqui apresentado, o modelo quadrático pode ser considerado o melhor, pois apresentou os maiores valores de coeficiente de determinação ajustado.

Aplicando-se o modelo quadrático foram obtidas as equações de (4.4) a (4.8) para o amido de trigo, (4.9) a (4.13) para o amido de mandioca e (4.14) a (4.18) para o amido de milho.

Os números entre parênteses nas equações são estimativas dos erros padrão dos coeficientes⁵². Estes valores são obtidos através do desvio padrão dos resíduos⁸⁷.

Amido de Trigo:

$$\text{Fluidez} = 17099C_1 + 1506C_2 + 6588C_3 - 25163C_1C_2 - 27000C_1C_3 + 1300C_2C_3 \quad (4.4)$$

(±1586)
(±1586)
(±3354)
(±6853)
(±6853)
(±6853)

$$\text{F. Penetração} = 12570C_1 + 2983C_2 + 9507C_3 - 22262C_1C_2 - 24213C_1C_3 - 5513C_2C_3 \quad (4.5)$$

(±542)
(±542)
(±1146)
(±2342)
(±2342)
(±2342)

$$\text{F. Ruptura} = 211C_1 + 12C_2 + 130C_3 - 265C_1C_2 - 248C_1C_3 - 103C_2C_3 \quad (4.6)$$

(±13)
(±13)
(±28)
(±57)
(±57)
(±57)

$$\text{Deformabilidade} = 11C_1 + 5C_2 + 8C_3 - 1C_1C_2 - 3C_1C_3 - 19C_2C_3 \quad (4.7)$$

(±2)
(±2)
(±5)
(±10)
(±10)
(±10)

$$\text{Dureza} = 1211C_1 + 78C_2 + 1117C_3 - 1425C_1C_2 - 1519C_1C_3 - 631C_2C_3 \quad (4.8)$$

(±52)
(±52)
(±110)
(±225)
(±225)
(±225)

Amido de Mandioca:

$$\text{Fluidez} = 17099C_1 + 1506C_2 + 20514C_3 - 25163C_1C_2 - 38400C_1C_3 - 15163C_2C_3 \quad (4.9)$$

(±1763) (±1763) (±3728) (±7616) (±7616) (±7616)

$$\text{F. Penetração} = 12570C_1 + 2983C_2 + 7739C_3 - 22262C_1C_2 - 17225C_1C_3 - 9250C_2C_3 \quad (4.10)$$

(±658) (±658) (±1392) (±2844) (±2844) (±2844)

$$\text{F. Ruptura} = 211C_1 + 12C_2 + 19C_3 - 265C_1C_2 - 190C_1C_3 + 68C_2C_3 \quad (4.11)$$

(±17) (±17) (±35) (±72) (±72) (±72)

$$\text{Deformabilidade} = 11C_1 + 5C_2 + 23C_3 - 1C_1C_2 - 26C_1C_3 - 35C_2C_3 \quad (4.12)$$

(±2) (±2) (±4) (±9) (±9) (±9)

$$\text{Dureza} = 1211C_1 + 78C_2 + 705C_3 - 1425C_1C_2 - 1575C_1C_3 - 88C_2C_3 \quad (4.13)$$

(±39) (±39) (±83) (±169) (±169) (±169)

Amido de Milho:

$$\text{Fluidez} = 17099C_1 + 1506C_2 + 18466C_3 - 25163C_1C_2 - 35438C_1C_3 - 22075C_2C_3 \quad (4.14)$$

(±1249) (±1249) (±2640) (±5395) (±5395) (±5395)

$$\text{F. Penetração} = 12570C_1 + 2983C_2 + 9874C_3 - 22263C_1C_2 - 15106C_1C_3 - 14906C_2C_3 \quad (4.15)$$

(±403) (±403) (±851) (±1740) (±1740) (±1740)

$$\text{F. Ruptura} = 211C_1 + 12C_2 + 58C_3 - 265C_1C_2 - 65C_1C_3 - 40C_2C_3 \quad (4.16)$$

(±14) (±14) (±29) (±59) (±59) (±59)

$$\text{Deformabilidade} = 11C_1 + 5C_2 + 13C_3 - 1C_1C_2 - 11C_1C_3 - 28C_2C_3 \quad (4.17)$$

(±2) (±2) (±4) (±9) (±9) (±9)

$$\text{Dureza} = 1211C_1 + 78C_2 + 614C_3 - 1425C_1C_2 - 600C_1C_3 + 250C_2C_3 \quad (4.18)$$

(±51) (±51) (±108) (±220) (±220) (±220)

Alguns coeficientes das equações apresentaram seus valores inferiores aos seus respectivos erros padrão (em vermelho nas equações). Pode-se adotar, portanto, as equações simplificadas de (4.19) a (4.23) para o amido de trigo, (4.24) a (4.28) para o amido de mandioca e (4.29) a (4.33) para o amido de milho.

Amido de Trigo:

$$\text{Fluidez} = 17099C_1 + 6588C_3 - 25163C_1C_2 - 27000C_1C_3 \quad (4.19)$$

(±1586) (±3354) (±6853) (±6853)

$$\text{F. Penetração} = 12570C_1 + 2983C_2 + 9507C_3 - 22262C_1C_2 - 24213C_1C_3 - 5513C_2C_3 \quad (4.20)$$

(±542) (±542) (±1146) (±2342) (±2342) (±2342)

$$\text{F. Ruptura} = 211C_1 + 130C_3 - 265C_1C_2 - 248C_1C_3 - 103C_2C_3 \quad (4.21)$$

(±13) (±13) (±57) (±57) (±57)

$$\text{Deformabilidade} = 11C_1 + 5C_2 + 8C_3 - 19C_2C_3 \quad (4.22)$$

(±2) (±2) (±5) (±10)

$$\text{Dureza} = 1211C_1 + 78C_2 + 1117C_3 - 1425C_1C_2 - 1519C_1C_3 - 631C_2C_3 \quad (4.23)$$

(±52) (±52) (±110) (±225) (±225) (±225)

Amido de Mandioca:

$$\text{Fluidez} = 17099C_1 + 20514C_3 - 25163C_1C_2 - 38400C_1C_3 - 15163C_2C_3 \quad (4.24)$$

(±1763) (±3728) (±7616) (±7616) (±7616)

$$\text{F. Penetração} = 12570C_1 + 2983C_2 + 7739C_3 - 22262C_1C_2 - 17225C_1C_3 - 9250C_2C_3 \quad (4.25)$$

(±658) (±658) (±1392) (±2844) (±2844) (±2844)

$$\text{F. Ruptura} = 211C_1 - 265C_1C_2 - 190C_1C_3 \quad (4.26)$$

(±17) (±72) (±72)

$$\text{Deformabilidade} = 11C_1 + 5C_2 + 23C_3 - 26C_1C_3 - 35C_2C_3 \quad (4.27)$$

(±2) (±2) (±4) (±9) (±9)

$$\text{Dureza} = 1211C_1 + 78C_2 + 705C_3 - 1425C_1C_2 - 1575C_1C_3 \quad (4.28)$$

(±39) (±39) (±83) (±169) (±169)

Amido de Milho:

$$\text{Fluidez} = 17099C_1 + 1506C_2 + 18466C_3 - 25163C_1C_2 - 35438C_1C_3 - 22075C_2C_3 \quad (4.29)$$

(±1249) (±1249) (±2640) (±5395) (±5395) (±5395)

$$\text{F. Penetração} = 12570C_1 + 2983C_2 + 9874C_3 - 22263C_1C_2 - 15106C_1C_3 - 14906C_2C_3 \quad (4.30)$$

(±403) (±403) (±851) (±1740) (±1740) (±1740)

$$F. \text{ Ruptura} = 211C_1 + 58C_3 - 265C_1C_2 - 65C_1C_3 \quad (4.31)$$

$(\pm 14) \quad (\pm 29) \quad (\pm 59) \quad (\pm 59)$

$$\text{Deformabilidade} = 11C_1 + 5C_2 + 13C_3 - 11C_1C_3 - 28C_2C_3 \quad (4.32)$$

$(\pm 2) \quad (\pm 2) \quad (\pm 4) \quad (\pm 9) \quad (\pm 9)$

$$\text{Dureza} = 1211C_1 + 78C_2 + 614C_3 - 1425C_1C_2 - 600C_1C_3 + 250C_2C_3 \quad (4.33)$$

$(\pm 51) \quad (\pm 51) \quad (\pm 108) \quad (\pm 220) \quad (\pm 220) \quad (\pm 220)$

Uma maneira mais segura de verificar se as equações expressas pelo modelo quadrático podem ser utilizadas é determinar novas respostas para misturas que não foram usadas na modelagem e comparar os resultados observados com os valores previstos⁴⁸. Assim, foi realizado um novo ensaio chamado mistura-teste com 43,33% proteína isolada de soja, 43,33% glúten e 13,33% amido.

Na Tabela XVI são apresentados os valores preditos pelas equações do modelo quadrático e os valores experimentais obtidos.

Tabela XVI: Valores preditos pelo modelo quadrático e valores experimentais.

		Fluidez (g)	Força de Penetração (g)	Força de Ruptura (g)	Deformabilidade (cm)	Dureza (g)
TRIGO	Resultado Predito	2047	2146	39,2	6,9	316
	Resultado Experimental	2569	2498	45,0	6,4	351
MANDIOCA	Resultado Predito	2372	2098	31,2	6,5	294
	Resultado Experimental	3612	2475	45,7	6,2	322
MILHO	Resultado Predito	2533	2177	45,8	6,5	351
	Resultado Experimental	2814	2459	45,7	6,0	326

Somente os valores encontrados experimentalmente, considerando o desvio padrão, para as propriedades de fluidez e força de ruptura utilizando amido de milho e deformabilidade utilizando amido de mandioca, confirmaram os valores preditos pelas equações obtidas através do modelo quadrático.

Como a mistura teste é exatamente uma mistura dos três componentes que se posiciona no centro da região do simplex, foi possível construir um planejamento experimental mais complexo do que o anterior, o Simplex centróide, Figura 43.

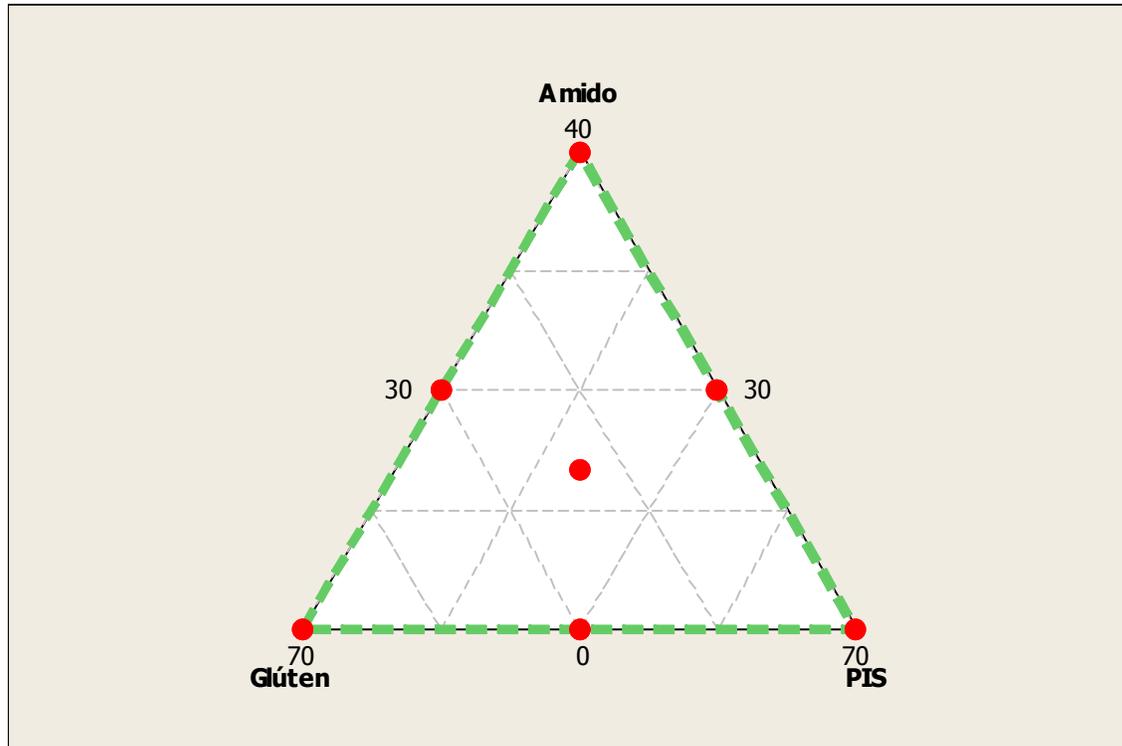


Figura 43: Planejamento experimental do tipo Simplex centróide realizado na Fase Final.

A introdução deste termo torna possível chegar-se à expressão do modelo cúbico especial, que possui apenas um termo a mais do que o modelo quadrático e é representado pela equação:

$$y = b_1C_1 + b_2C_2 + b_3C_3 + b_{12}C_1C_2 + b_{13}C_1C_3 + b_{23}C_2C_3 + b_{123}C_1C_2C_3 \quad (4.34)$$

Os efeitos não aditivos envolvendo a presença simultânea dos três componentes podem ser importantes para descrever melhor a resposta das misturas⁴⁸.

A seguir são apresentadas as equações contendo os coeficientes dos termos estatisticamente significativos do modelo cúbico especial.

Fluidez:

$$\text{Amido de trigo} = 17099C_1 + 1506C_2 - 25163C_1C_2 \quad (4.35)$$

$(\pm 1482) \quad (\pm 1482) \quad (\pm 6402)$

$$\text{Amido de mandioca} = 17099C_1 + 44594C_3 - 25163C_1C_2 - 118669C_1C_3 - 95431C_2C_3 \quad (4.36)$$

$(\pm 1673) \quad (\pm 13189) \quad (\pm 7229) \quad (\pm 41273) \quad (\pm 41273)$

$$+ 267562C_1C_2C_3$$

(± 127158)

$$\text{Amido de milho} = 17099C_1 + 1506C_2 + 31279C_3 - 25163C_1C_2 - 78145C_1C_3 \quad (4.37)$$

$(\pm 1245) \quad (\pm 1245) \quad (\pm 9817) \quad (\pm 5381) \quad (\pm 30720)$

$$- 64783C_2C_3 + 142359C_1C_2C_3$$

$(\pm 30720) \quad (\pm 94645)$

Força de Penetração:

$$\text{Amido de trigo} = 12570C_1 + 2983C_2 + 24260C_3 - 22262C_1C_2 - 73389C_1C_3 \quad (4.38)$$

$(\pm 531) \quad (\pm 531) \quad (\pm 4187) \quad (\pm 2295) \quad (\pm 13103)$

$$- 54689C_2C_3 + 163922C_1C_2C_3$$

$(\pm 13103) \quad (\pm 40369)$

$$\text{Amido de mandioca} = 12570C_1 + 2983C_2 + 23437C_3 - 22262C_1C_2 - 69552C_1C_3 \quad (4.39)$$

$(\pm 621) \quad (\pm 621) \quad (\pm 4896) \quad (\pm 2683) \quad (\pm 15322)$

$$- 61577C_2C_3 + 174422C_1C_2C_3$$

$(\pm 15322) \quad (\pm 47206)$

$$\text{Amido de milho} = 12570C_1 + 2983C_2 + 21936C_3 - 22262C_1C_2 - 55311C_1C_3 \quad (4.40)$$

$(\pm 372) \quad (\pm 372) \quad (\pm 2938) \quad (\pm 1610) \quad (\pm 9195)$

$$- 55111C_2C_3 + 134016C_1C_2C_3$$

$(\pm 9195) \quad (\pm 28330)$

Força de Ruptura:

$$\text{Amido de trigo} = 211C_1 + 168C_3 - 265C_1C_2 - 374C_1C_3 \quad (4.41)$$

$(\pm 13) \quad (\pm 109) \quad (\pm 60) \quad (\pm 343)$

$$\text{Amido de mandioca} = 211C_1 + 145C_2 - 265C_1C_2 - 610C_1C_3 + 1401C_1C_2C_3 \quad (4.42)$$

$(\pm 15) \quad (\pm 124) \quad (\pm 68) \quad (\pm 390) \quad (\pm 1203)$

$$\text{Amido de milho} = 211C_1 - 265C_1C_2 + 330C_2C_3 - 1233C_1C_2C_3 \quad (4.43)$$

$(\pm 12) \quad (\pm 55) \quad (\pm 317) \quad (\pm 978)$

Deformabilidade:

$$\text{Amido de trigo} = 11C_1 + 5C_2 \quad (4.44)$$

(±2) (±2)

$$\text{Amido de mandioca} = 11C_1 + 5C_2 + 18C_3 \quad (4.45)$$

(±2) (±2) (±16)

$$\text{Amido de milho} = 11C_1 + 5C_2 \quad (4.46)$$

(±2) (±2)

Dureza:

$$\text{Amido de trigo} = 1211C_1 + 79C_2 + 2448C_3 - 1425C_1C_2 - 5955C_1C_3 - 5068C_2C_3 \quad (4.47)$$

(±59) (±59) (±468) (±256) (±1466) (±1466)

$$+ 14789C_1C_2C_3$$

(±4517)

$$\text{Amido de mandioca} = 1211C_1 + 79C_2 + 1953C_3 - 1425C_1C_2 - 5737C_1C_3 - 4250C_2C_3 \quad (4.48)$$

(±37) (±37) (±298) (±163) (±933) (±933)

$$+ 13875C_1C_2C_3$$

(±2876)

$$\text{Amido de milho} = 1211C_1 + 78C_2 - 422C_3 - 1425C_1C_2 + 2852C_1C_3 + 3702C_2C_3 \quad (4.49)$$

(±51) (±51) (±403) (±221) (±1263) (±1263)

$$- 11508C_1C_2C_3$$

(±3892)

Para o parâmetro fluidez, utilizando amido de trigo, o modelo indica que a presença da proteína isolada de soja e do glúten na mistura resultam em respostas mais intensas. O amido de trigo não aparece na equação e, portanto, não contribui para aumentar o sinal, embora possa ser importante para determinar outros parâmetros. A proteína isolada de soja tem uma interação antagônica com o glúten. Isto quer dizer que a presença simultânea dos dois componentes na mistura produz sinais mais fracos do que se poderia esperar com um modelo aditivo. Já para a fluidez utilizando o amido de milho, as contribuições de todos os termos (linear, quadrático e cúbico) são significativas e devem ser consideradas. O amido de mandioca não sofre contribuição do componente puro glúten.

Para um melhor entendimento destas equações podem-se utilizar as curvas de níveis que fornecem uma visão bi-dimensional onde todos os pontos que apresentam a mesma resposta são conectados para produzir curvas de níveis de respostas constantes⁸⁸. As curvas de nível correspondentes à propriedade de fluidez são apresentadas na Figura 44.

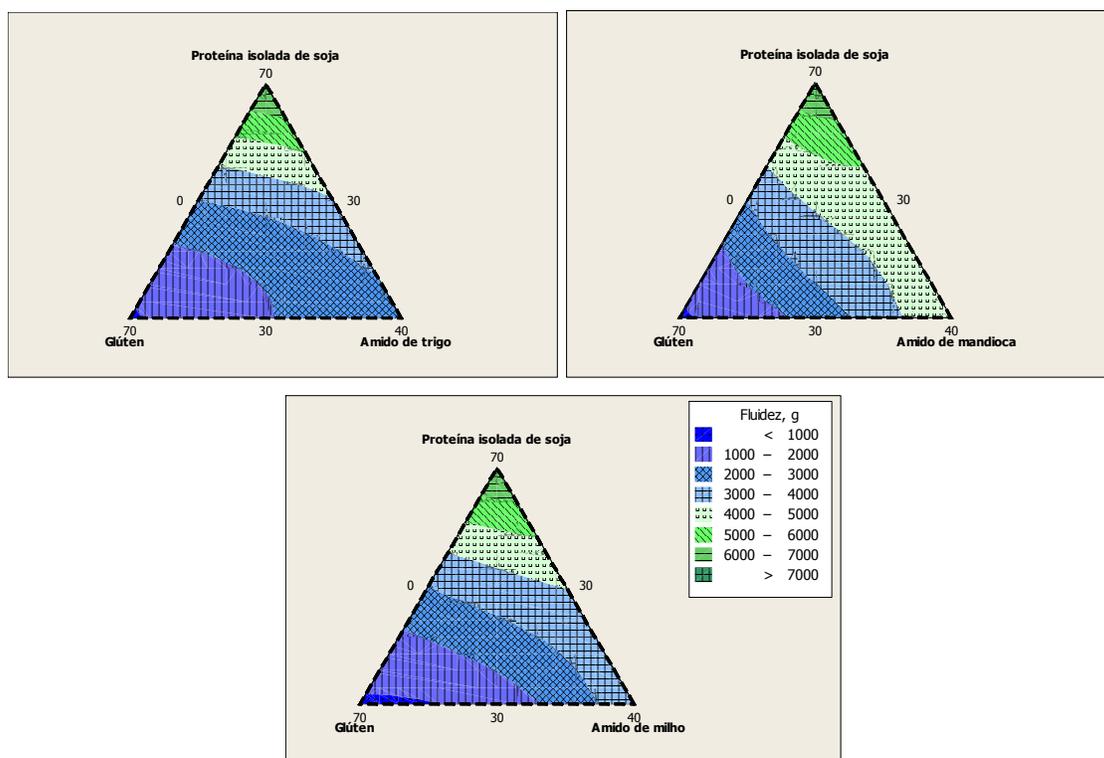


Figura 44: Curvas de nível da fluidez, modelo quadrático para o amido de trigo e modelo cúbico especial para a mandioca e o milho.

Os maiores valores de fluidez são obtidos na direção do vértice superior, o que corresponde a misturas com predomínio de proteína isolada de soja. Pode-se observar a influência da espécie de amido, ou seja, menores resultados são obtidos com a presença de amido de trigo, seguido pelo amido de milho e por último o amido de mandioca.

O modelo cúbico foi muito adequado para o parâmetro força de penetração. Nas três espécies de amido estudadas os termos lineares apresentaram efeito sinérgico, os quadráticos efeito antagônico e o cúbico sinérgico. As magnitudes dos coeficientes apresentados para os três termos puros indicam que o termo amido é o que mais influencia devido ao seu maior valor.

Os três amidos apresentaram comportamentos diferentes quanto à força de ruptura. As misturas contendo os amidos de mandioca e milho não sofrem efeito direto dos mesmos, porém através do modelo cúbico ficou evidenciada a interação com os outros componentes. Entretanto, o amido de trigo não sofre influência linear do glúten, demonstrada pelo modelo quadrático.

O modelo linear foi satisfatório para o parâmetro deformabilidade. Somente o amido de mandioca aparece nas equações. Os amidos de trigo e milho não contribuem significativamente para este parâmetro.

Igualmente ao parâmetro de penetração, o modelo cúbico foi muito adequado para o parâmetro dureza. Nas três espécies de amido estudadas os termos lineares apresentaram efeito sinérgico, os quadráticos efeito antagônico e o cúbico efeito sinérgico.

As curvas de nível correspondentes são mostradas na Figura 45.

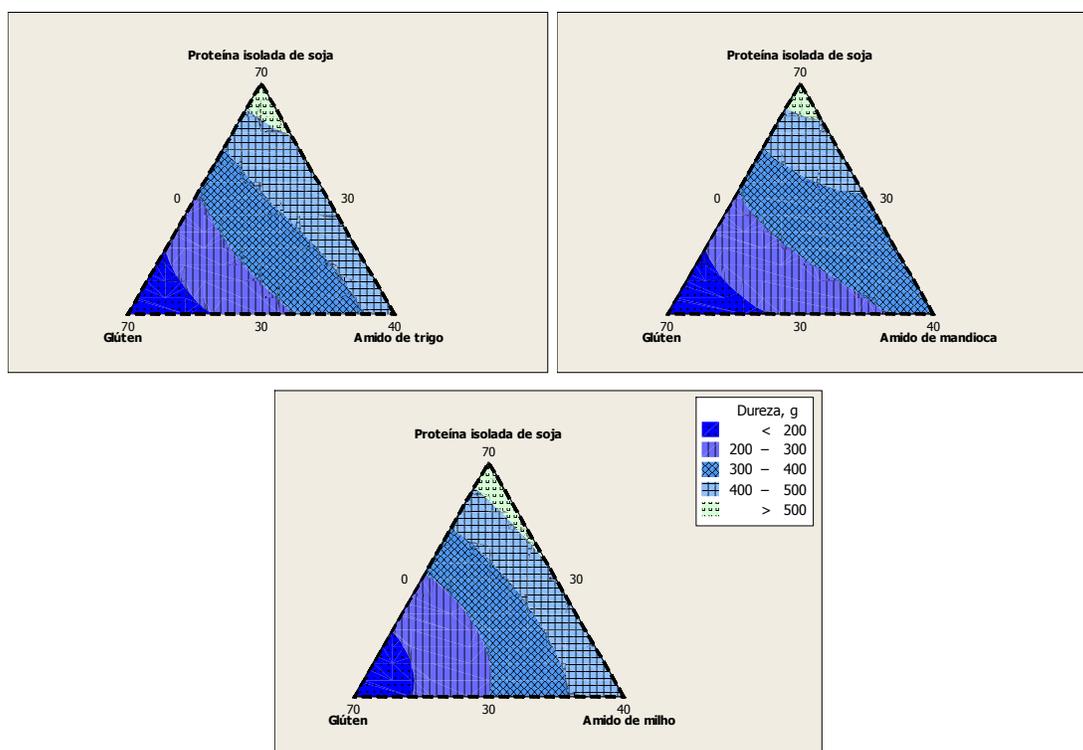


Figura 45: Curvas de nível da dureza, modelo cúbico especial para as três espécies de amido.

Os maiores valores de dureza são obtidos na direção do vértice superior, o mesmo comportamento observado no parâmetro de fluidez. A presença de amido de mandioca resulta em resultados inferiores quando comparados aos amidos de trigo e milho.

5 DISCUSSÕES GERAIS

A caracterização da proteína isolada de soja utilizando-se microscopia eletrônica de varredura evidenciou seu aspecto morfológico típico de proteína globular. A análise de distribuição de tamanho de partícula obtida por espectroscopia de difração a laser revelou maior polidispersão quando comparada aos outros componentes estudados neste trabalho. Já a caracterização do glúten revelou uma morfologia aleatória e não específica. Contudo, os maiores valores de superfície e volume médios de partículas entre todos os componentes foram obtidos para o glúten.

A denaturação e a capacidade de gelatinização da proteína isolada de soja foram confirmadas através do baixo valor de energia de entalpia apresentada no DSC e do comportamento reológico apresentado no viscosímetro do tipo RVA. Esta elevada capacidade de gelatinização da proteína isolada de soja pode estar associada a sua estrutura que propicia ligações de hidrogênio, ligações dissulfeto, outras ligações covalentes, pontes salinas e interações hidrofóbicas e eletrostáticas. Com relação ao glúten, o maior percentual de resíduos de prolina e hidroxiprolina e a elevada massa molecular apresentada pela fração glutenina podem explicar a sua inferior capacidade de gelatinização quando comparada com a proteína isolada de soja e até mesmo com as diferentes espécies de amido estudados.

A caracterização do amido demonstrou a influência da origem botânica em todas as propriedades avaliadas neste trabalho. A observação dos grânulos de amido através da microscopia eletrônica de varredura confirmou os aspectos morfológicos descritos na literatura. Quando comparado com a proteína isolada de soja e o glúten, os grânulos de amido apresentaram menor polidispersão, superfície e volume médios das partículas. Dentre os amidos, o amido de milho apresentou a menor polidispersão e a maior área superficial média, provavelmente devido ao formato do grânulo, enquanto maior volume médio foi atribuído ao amido de trigo.

O amido de milho demonstrou maior resistência ao processo de gelatinização do que o amido de trigo e mandioca, apresentando perda inicial de birrefringência, intumescimento e ruptura dos grânulos em temperaturas mais elevadas quando observados através do poder de intumescimento e da microscopia óptica utilizando luz polarizada. Este comportamento foi confirmado através do alto valor de energia de entalpia e as altas temperaturas apresentadas no DSC. Todas estas observações

indicam um alto nível de cristalinidade para o amido de milho, porém, pela literatura, os maiores teores de amilopectina, responsável pela cristalinidade, são esperados para a mandioca. No entanto, os valores quase insignificantes de amido danificado determinados no amido de milho indicaram a ausência de fragmentos de grânulos capazes de aumentar a absorção de água e diminuir a birrefringência do sistema.

A afirmação de que amidos de tubérculos gelatinizam em temperaturas mais baixas do que amidos de cereais foi comprovada através das curvas de viscosidade obtidas, onde o amido de mandioca gelatinizou em temperaturas muito inferiores quando comparado ao amido de trigo e milho.

Os resultados obtidos no DSC revelaram que o amido de trigo inicia seu processo de gelatinização em temperaturas muito similares à proteína isolada de soja e glúten.

Os estudos realizados na Fase Preliminar utilizando misturas contendo diferentes proporções dos três componentes foram decisivos para a investigação inicial da interação entre as propriedades reológicas avaliadas, do efeito individual de cada componente, mas principalmente para delimitar os limites superiores e inferiores de cada componente que foram utilizados na Fase Final deste trabalho.

Os dados obtidos na Fase Final revelaram uma forte interação entre as propriedades reológicas de força de penetração, dureza e força de ruptura.

De maneira geral, o aumento da concentração de proteína isolada de soja na mistura influenciou diretamente os resultados das propriedades reológicas. Este fato pode estar associado à sua elevada capacidade de gelatinização elucidada neste trabalho durante a caracterização deste componente. Por outro lado, o glúten influenciou inversamente as mesmas propriedades enquanto que a contribuição do amido foi nula. Apenas a deformabilidade apresentou comportamento diferente, onde o aumento da concentração de amido, em destaque o amido de milho, afetou inversamente os resultados.

Apesar da concentração de amido não ter afetado diretamente a maioria das propriedades reológicas estudadas, a presença do amido de milho nas misturas fez com que a influência do glúten fosse maior do que a da proteína isolada de soja na força de ruptura, dureza e força de penetração. A baixa quantidade de amido danificado e a alta cristalinidade indicada pelo amido de milho durante sua caracterização podem ser os responsáveis por estas observações. Já a fluidez teve

a influência do glúten drasticamente potencializada pela presença do amido de mandioca.

Com a região de estudo da Fase Final representada por um simplex do tipo Vértices extremos, foi possível através do Minitab® aplicar os modelos de ajuste linear e quadrático, onde o modelo quadrático foi considerado o mais adequado de acordo com a análise de variância. As equações polinomiais foram determinadas para cada propriedade reológica, simplificadas através da estimativa do erro padrão dos componentes e testadas com a utilização de uma nova mistura. Apenas três resultados experimentais confirmaram os valores preditos pelas equações do modelo quadrático, inviabilizando sua utilização.

A nova mistura foi então incluída na região de estudo, possibilitando a representação por um simplex do tipo Simplex centróide e aplicação do modelo de ajuste cúbico especial. As equações polinomiais foram recalculadas para cada propriedade reológica e novamente simplificadas. A utilização do modelo cúbico especial considerou o efeito não aditivo envolvido na presença dos três componentes da mistura, resultando em equações que melhor descrevem as respostas das misturas.

Observa-se um grande potencial de utilização destas equações pela indústria alimentícia pois torna possível prever as propriedades reológicas resultantes da mistura a partir da concentração dos componentes. Isto permite uma otimização substancial no esforço e recursos gastos.

6 CONCLUSÕES

A microscopia eletrônica de varredura evidenciou a morfologia típica e a dispersão do tamanho de partícula de cada macromolécula.

A análise de distribuição de tamanho de partícula por espectroscopia de difração a laser indicou a uniformidade, a superfície média e o volume médio das partículas dos componentes.

A calorimetria diferencial de varredura revelou os fenômenos endotérmicos associados à denaturação das proteínas e à gelatinização do amido.

A viscosimetria complementou os comportamentos observados através do DSC, denaturação e gelatinização. Para os amidos, ainda foi possível observar o intumescimento dos grânulos e o fenômeno de retrogradação.

A microscopia óptica sob luz polarizada exibiu a birrefringência, intumescimento, ruptura e gelatinização dos grânulos de amido.

A análise do poder de intumescimento proporcionou informação sobre a absorção de água pelos grânulos de amido.

Os dados obtidos na Fase Final revelaram uma forte interação entre as propriedades reológicas de força de penetração, dureza e força de ruptura.

O aumento da concentração de proteína isolada de soja nas misturas influenciou diretamente os resultados das propriedades reológicas. O glúten influenciou inversamente as mesmas propriedades enquanto que a contribuição do amido foi nula, com exceção da deformabilidade, onde o amido afetou inversamente os resultados e o glúten não contribuiu.

A espécie de amido altera fortemente a influência dos outros componentes.

A representação das misturas através do Simplex centróide e aplicação do modelo de ajuste cúbico especial resultou em equações que melhor descreveram as respostas das misturas.

Há um grande potencial de utilização destas equações pela indústria alimentícia pois torna possível prever as propriedades reológicas resultantes da mistura a partir da concentração dos componentes.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

Verificação das equações expressas pelo modelo cúbico especial utilizando uma nova mistura e comparação dos resultados observados com os valores previstos.

Melhor entendimento da influência indireta da fonte botânica do amido sob as propriedades reológicas das misturas.

Determinação das frações 7S/11S (proteína isolada de soja), gliadina/glutenina (glúten) e amilose/amilopectina (amido).

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gutiérrez J. A. F.; Martinez E. S. M.; Bustos F. M.; Orea A. C.; *Starch*, **2004**, 56, 190.
2. Day L.; Augustin M. A.; Batey I. L.; Wrigley C. W.; *Food Science & Technology*, **2006**, 17, 82.
3. Cereda M. P.; *Tecnologia, Usos e Potencialidades de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas*, Fundação Cargill: São Paulo, **2001**, 134.
4. Kearns J. P.; Rokey G. J.; Huber G. R.; *Extrusion of Texturized Proteins*, **2000**, Wenger Mfg Inc.: Kansas USA, 66534.
5. Ortiz S. E. M.; Puppo M. C.; Wagner J. R.; *Food Hydrocolloids*, **2004**, 18, 1045.
6. Zhang J.; Jiang L.; Zhu L.; *Biomacromolecules*, **2006**, BM050888P, A-K.
7. Borghot A. V. D.; Goesaert H.; Veraverbeke W. S.; Delcour J. A.; *Journal of Cereal Science*, **2005**, 41, 221.
8. Lagrain B.; Brijs K.; Veraverbeke W. S.; Delcour J. A.; *Journal of Cereal Science*, **2005**, 42, 327.
9. Chanvrier H.; Uthyakumaran S.; Lillford P.; *Journal of Cereal Science*, **2006**, 2006.09.006.
10. Cereda M., P; *Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas*, Fundação Cargill: São Paulo, **2001**, 31.
11. Seker M.; *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **2005**, 85, 1161.
12. Jenkins P. J.; Donald A. M.; *Carbohydrate Research*, **1998**, 308, 133.
13. Tsai S. J.; Unklesbay N.; Clarke A.; *Lebensmittel - Wissenschaft und Technologie*, **1998**, 31, 78.
14. Singh M.; Mohamed A.; *LWT - Food Science and Technology*, **2007**, 40, 353.
15. Lazaridou A.; Duta D.; Papageorgiou M.; Belc N.; Biliaderis C. G.; *Journal of Food Engineering*, **2007**, 79, 1033.
16. Mohamed A.; Duarte P. R.; Shogren R. L.; Sessa D. J.; *Food Chemistry*, **2006**, 99, 686.
17. Sgarbieri V. C.; *Proteína em Alimentos Protéicos*, Editora Varela: São Paulo, **1996**, 218.
18. Imram N.; *Soyabean Handbook*, Corporate Media Services Pte Ltd: Singapore, **2003**, 18.
19. Cherry J. P.; *Protein Functionality in Foods*, ACS Symposium Series: Washington, **1981**.
20. Fennema O. R.; *Food Chemistry*, Marcel Dekker Inc: New York, **1996**.
21. Renkema J. M. S.; Gruppen H.; Vliet T. V.; *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2002**, 50, 6064.

22. Mills E. N. C.; *Biochemical Society Transactions*, **2002**, 30, 925.
23. Damodaran S.; *Aminoácidos, peptídeos e proteínas. Química de los Alimentos*. Zaragoza: Acribia, **2000**, 383.
24. Petruccelli S.; Añon M. C.; *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **1995**, 43, 3035.
25. Kinsella J. E.; Soucie W. G.; *Food Proteins*, AOCS: New York, **1989**.
26. Cheftel J. C.; Cuq J. L.; Lorient D.; *Proteínas Alimentarias*, Zaragoza: Acribia, **1989**, 346.
27. Nagano T.; Hirotsuka M.; Mori H.; Kohyama K.; Nishinari K.; *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **1992**, 40, 941.
28. Phillips R. D.; Finley J. W.; *Protein Quality and The Effects of Processing*, Marcel Dekker Inc.: New York, **1989**, 345.
29. Wrigley C.; Békés F.; Bushuk W.; *Gliadin and Glutenin – The Unique Balance of Wheat Quality*, AACC Internacional Press: Minnesota, **2006**.
30. Shewry P. R.; Halford N. G.; Belton P. S.; Tatham A. S.; *Philosophical Transactions of The Royal Society of London*, **2002**, 357, 133.
31. Wieser H.; *Food Microbiology*, **2007**, 24, 115.
32. Rodrigues M. M. F.; Martins M. M.; Costa M. L. B.; *Food Chemistry*, **2005**, 93, 459.
33. Song Y.; Zheng Q.; *Food Science & Technology*, **2007**, 1.
34. Kieffer R.; Schurer F.; Köhler P.; Wieser H.; *Journal of Cereal Science*, **2007**, 45, 285.
35. Lagrain B.; Thewissen B. G.; Brijs K.; Delcour J. A.; *Food Chemistry*, **2008**, 107, 753.
36. Morel M. H.; Redl A.; Guibert S.; *Biomacromolecules*, **2002**, 3, 488.
37. Xu J.; Bietz J. A.; Felker F. C.; Carriere C. J.; Wirtz D.; *Cereal Chemistry*, **2001**, 78, 181.
38. Singh N.; Kaur L.; *Food Chemistry*, **2003**, 81, 219.
39. Cameron R. E.; Donald A. M.; *Polymer*, **1992**, 33, 2628.
40. Ratnayake W. S.; Jackson D. S.; *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2006**, 4, 2.
41. website: <http://www.lsbu.ac.uk/water/hysta.html>.
42. Solomons G.; Fryhle C.; *Química Orgânica*, LTC: Rio de Janeiro, **2000**, 351.
43. Cameron R. E.; Donald A. M.; *Journal of Polymer Science*, **1993**, 31, 1197.
44. Mishra S.; Rai T.; *Food Hydrocolloids*, **2006**, 20, 557.
45. Khanna S.; Tester R. F.; *Food Hydrocolloids*, **2006**, 20, 567.
46. Zaidul I. S. M.; Norulaini N. A. N.; Omar A. K. M.; Yamauchi H.; Noda T.; *Carbohydrate Polymers*, **2007**, 69, 784.
47. Pérez O. E.; Wargon V.; Pilosol A. M. R.; *Food Hydrocolloids*, **2006**, 20, 966.

48. Neto B. B.; Scarmínio I. S.; Bruns R. E.; *Como Fazer Experimentos – Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria*, Editora UNICAMP: São Paulo, **2003**.
49. Nunes D. B.; *Planejamento e análise de experimentos com misturas*; Dissertação de Mestrado, Engenharia de Produção, Universidade Federal do Rio Grande do Sul: Porto Alegre, **1988**, Orientador: José Luis Duarte Ribeiro.
50. Website:<http://www.minitab.com/support/docs/rel14/14helpfiles/DOE/MixtureDesigns>.
51. Silva D. S.; *Ajudando Dona Nina a fazer a melhor vitamina. Projeto de Experimento envolvendo mistura: exemplo didático*, Trabalho de Conclusão de Curso, Graduação em Engenharia de Produção, Universidade Federal de Itajubá: Minas Gerais, **2003**, Orientador: Pedro Paulo Balestrassi.
52. Rubo A. N.; *Obtenção de filmes poliméricos por calandragem a partir de poliisobutileno, polietileno e cera parafínica*, Dissertação de Mestrado, UNICAMP: Campinas, **1991**, Orientador: Inés Joekes.
53. Bjerke F.; Naes T., Ellekjaer M. R.; *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, **2000**, 51, 23.
54. Dingstad G. I.; Westad F.; Naes T.; *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, **2004**, 71, 33.
55. Website: <http://www.research.ibm.com>.
56. Website: <http://biblioteca.univap.br>.
57. Rawle, A.; *Basic Principles of Particles Size Analysis*, Malvern Technical Paper, **2001**.
58. Website:http://www.malvern.com/LabEng/technology/laser_diffraction/particle_sizing.htm
59. Operators Guide, *Understanding the views*, Malven Instruments, **1999**, 6.1.
60. Yamaki S. B.; Pedroso A. G.; Atvars T. D. Z.; *Química Nova*, 2002, 25, 2.
61. Website:<http://www.polimate.com.br>
62. Website:<http://www.olympusmicro.com>.
63. Website:<http://www.microscopy.com>.
64. Website:<http://www.cstr.ufcg.edu.br>.
65. Website:<http://www.chopin.fr>.
66. Dubat A.; *Article SDmatic*, Chopin SAS, **2004**, 1.
67. Sodhi N. S.; Singh N.; *Food Chemistry*, **2003**, 80, 99.
68. Yuan Y.; Zhang L.; Dai Y.; Yu j.; *Journal of Food Engineering*, **2007**, 82, 436.
69. Chuenkamol B.; Puttanlek C.; Rungsardthong V.; Uttapap D.; *Food Hydrocolloids*, **2007**, 21, 1123.
70. Instruction Manual Viscotester® VT550, *Functional Principle*, Thermo Haake, **1996**, 10.
71. Website:<http://www.stablemicrosystems.com>

72. Paunov V. N.; Cayre O. J.; Noble P. F.; Stoyanov S. D.; Velikov K. P.; Golding M.; Golding.; *Journal of Colloid and Interface Science*, **2007**, 312, 381.
73. Afoakwa E. O.; Paterson A.; Fowler M.; *European Food Research and Technology*, **2007**, 102, 1.
74. Bengoechea C.; Arrachid A.; Guerrero A.; Hill S. E.; Mitchell J. R.; *Journal of Cereal Science*, **2007**, 45, 275.
75. Caballero P.A.; Bonet A.; Rosell C. M.; Gómez M.; *Journal of Cereal Science*, **2005**, 42, 93.
76. Singh H.; Ritchie F. M.; *Journal of Cereal Science*, **2004**, 39, 297.
77. Petrofsky K. E.; Hosney R. C.; *Cereal Chemistry*, **1995**, 72, 53.
78. Lagrain B.; Brijs K.; Delcour J. A.; *Journal of Cereal Science*, **2006**, 44, 49.
79. Weegels P. L.; Groot A. M. G.; Verhoek J. A.; Hamer R. J.; *Journal of Cereal Science*, **1994**, 19, 39.
80. Fanta G. F.; Felker F. C.; Shogren R. L.; *Carbohydrate Polymers*, **2002**, 48, 161.
81. Miller R. A.; Hosney R. C.; *Cereal Foods World*, **1996**, 41, 412.
82. Cameron R. E.; Donald A. M.; *Carbohydrate Research*, **1993**, 244, 225.
83. Tako M.; Hizukuri S.; *Carbohydrate Polymers*, **2002**, 48, 397.
84. Mohamed A. A.; Duarte P. R.; *Food Chemistry*, **2003**, 81, 533.
85. Lionetto F.; Maffezzoli A.; Ottenhof M. A.; Farhat I. A.; Mitchell J. R.; *Journal of Food Engineering*, **2006**, 75, 258.
86. Lopes P. A.; *Probabilidades & Estatística*, Reichmann e Affonso Editores: Rio de Janeiro, **2000**.
87. Kiemele M. J.; Schmidt S. R.; Berdine R. J.; *Basic Statistics, Tools for Continuous Improvement*, Air Academy Press: Colorado, **2000**.
88. Campos M. S.; *Desvendando o Minitab*, Qualitymark Editora: Rio de Janeiro, **2003**.