

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

Efeitos do ultrassom nas propriedades tecnológicas da água de cozimento do grão-de-bico (*aquafaba*)

-Dissertação de Mestrado-

Mariana Cassel Meurer

Porto Alegre

2019

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

Efeitos do ultrassom nas propriedades tecnológicas da água de cozimento do grão-de-bico (*aquafaba*)

Mariana Cassel Meurer

Dissertação de Mestrado apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Ligia Damasceno Ferreira Marczak
Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Daiana de Souza

Porto Alegre

2019

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

A comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação intitulada *Efeitos do ultrassom nas propriedades tecnológicas da água de cozimento do grão-de-bico (aquafaba)*, elaborada por Mariana Cassel Meurer, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia.

Comissão Examinadora:

Prof.^a. Dr.^a Florencia Cladera Olivera

Prof.^a. Dr.^a Jordana Corralo Spada

Pesquisador Dr. Carlos Pagno

Agradecimentos

À Deus pela graça da vida e pelas oportunidades dadas.

Às orientadoras Lígia Damasceno Ferreira Marczak e Daiana de Souza pelas ideias, tempo e compreensão ao longo deste trabalho.

Aos colegas do LATEPA pelas orientações, ajuda e atenção.

Às colaboradoras do itt Nutrifor pela ajuda na execução de análises, disposição e colaboração com este trabalho.

Aos colaboradores dos Laboratórios de Engenharia Química, Engenharia de Alimentos e de Metrologia da Unisinos pela dedicação, apoio e suporte na elaboração desta pesquisa.

À minha família pelo incentivo ao estudo, apoio e paciência.

Resumo

Nos últimos anos, tem sido cada vez maior a demanda para o uso de ingredientes alternativos ao ovo, tanto por pessoas alérgicas ao alimento, mas principalmente por pessoas que têm procurado dietas veganas. A descoberta da água proveniente do cozimento de grão-de-bico, a *aquafaba*, tem se destacado de forma significativa para esta finalidade em função da presença de proteínas, as quais promovem propriedades funcionais tecnológicas ao produto. As proteínas são afetadas por tratamentos como o ultrassom que, por causar a cavitação, gera pressão, calor e turbulência, induzindo alterações químicas e físicas em um alimento. O objetivo deste estudo foi avaliar as propriedades funcionais espumante e emulsificante da água de cozimento do grão-de-bico (*aquafaba*) e verificar os efeitos causados pelo uso do ultrassom nessas propriedades. A *aquafaba* foi tratada por ultrassom em intensidades de 34 W.cm^{-2} e 67 W.cm^{-2} , que correspondem a 50 % e 100 % da capacidade do equipamento, durante 10, 20 e 30 minutos. Todas as amostras foram analisadas quanto à capacidade de formação, estabilidade, cor e textura das espumas e quanto ao índice de atividade emulsificante, além de ter sido feita a aplicação de *aquafaba in natura* e tratada com ultrassom em receita de merengue francês. Observou-se que, em todas as análises de espuma e emulsão realizadas, as amostras de *aquafaba* tratadas com ultrassom apresentaram melhores resultados em relação à amostra *in natura*. A capacidade de formação de espuma aumentou de 259 % para 548 % após a aplicação de ultrassom quando utilizada a maior potência de ultrassom durante 30 minutos; a estabilidade da espuma avaliada após 10 minutos, por sua vez, aumentou de 46 % para 93 % após o tratamento. Valores de textura e cor das espumas e do índice de atividade emulsificante apresentaram melhora significativa após a aplicação do ultrassom. Para todas as análises de capacidade espumante e emulsificante, os resultados de *aquafaba* tratada por ultrassom foram mais próximos aos obtidos para clara e gema de ovo, respectivamente. O comportamento de textura e de cor do merengue francês feito com *aquafaba* tratada também apresentou melhora significativa em relação ao elaborado com amostra *in natura*. Os resultados mostraram que a aplicação de ultrassom na *aquafaba* tem efeito favorável em suas propriedades espumante e emulsificante - dentro das faixas estudadas - sendo que o aumento da potência do ultrassom apresentou influência favorável nestas propriedades. Além disto, observou-se que o tempo de duração do tratamento não afetou significativamente a maioria dos parâmetros analisados.

Palavras-chave: grão-de-bico, *aquafaba*, propriedades funcionais, ultrassom.

Abstract

The demand for egg replacers has been increasing lately, as many people are concerned about allergies and mainly due to the high interest for vegan diets. Cooking water from chickpeas, known as *aquafaba*, has been a highlight on that matter due to its high proteins content, which provides some good technological functional properties. Proteins may be affected by treatments as ultrasound, which creates cavitation and generates pressure, heat and turbulence. Therefore, chemical and physical changes on food are induced. The aim of this study was to evaluate foaming and emulsifying properties of chickpea cooking water (*aquafaba*) and to measure the effects caused by ultrasound in these properties. *Aquafaba* was sonicated at 34 W.cm⁻² and 67 W.cm⁻² intensity, which are 50 % and 100 % of the equipment power capacity, during 10, 20 and 30 minutes. Foam expansion, stability, color and texture of foams and emulsifying activity index were investigated. Also, untreated and sonicated *aquafaba* were tested in French meringue recipe. For all foaming and emulsifying analysis performed in this study, ultrasound treated samples had better results when compared to untreated *aquafaba*. Foam capacity increased from 259 % to 548 % after sonication under the highest intensity for 30 minutes, and foam stability assessed after 10 minutes increased from 46 % to 93 %. Texture and color of foams and emulsifying activity index showed statistically significant improvement after ultrasound application. For all evaluated parameters of foaming and emulsifying capacity, results of sonicated *aquafaba* were closer to results obtained for egg white and egg yolk, respectively. Texture and color of French meringue made with treated *aquafaba* also improved significantly comparing to that elaborated with untreated sample. Results showed that the application of ultrasound in *aquafaba* has positive effects on its foaming and emulsifying properties within the studied ranges. As the ultrasound power increased, favorable influence on these properties was observed while the time of the treatment did not significantly affect most of the analyzed parameters.

Key-words: chickpea, *aquafaba*, functional properties, ultrasound.

Sumário

Capítulo 1 – Introdução	1
Capítulo 2 – Revisão Bibliográfica e Fundamentação Teórica	4
2.1 Grão-de-bico	4
2.1.1 Composição química.....	6
2.1.1.1 <i>Proteínas</i>	6
2.1.1.2 <i>Carboidratos</i>	8
2.1.1.3 <i>Lipídeos</i>	8
2.1.1.4 <i>Minerais</i>	9
2.1.1.5 <i>Fatores antinutricionais</i>	9
2.1.2 Propriedades nutricionais	10
2.2 Público vegano e demanda por substitutos do ovo na alimentação.....	11
2.3 Água do cozimento do grão-de-bico (<i>aquafaba</i>)	12
2.4 Propriedades funcionais tecnológicas das proteínas	14
2.4.1 Solubilidade.....	16
2.4.2 Viscosidade	17
2.4.3 Capacidade emulsificante.....	18
2.4.4 Capacidade espumante	21
2.4.4.1 <i>Fatores externos que afetam a espuma</i>	24
2.4.4.2 <i>Propriedades moleculares que afetam a espuma</i>	26
2.5 Ultrassom	27
2.5.1 História, princípios e conceitos	27
2.5.2 Aplicação de ultrassom no processamento de alimentos	30
2.5.2.1 <i>Cozimento</i>	30
2.5.2.2 <i>Cristalização</i>	31
2.5.2.3 <i>Emulsificação</i>	31
2.5.2.4 <i>Extração</i>	31
2.5.2.5 <i>Preservação de alimentos</i>	32
2.5.3 Efeitos do ultrassom nas proteínas alimentícias.....	33

Capítulo 3 – Materiais e Métodos	36
3.1 Cozimento do grão-de-bico e preparo da <i>aquafaba</i>	36
3.1.1 Tratamento da <i>aquafaba</i> com ultrassom	37
3.2 Análises das composições centesimais.....	39
3.2.1 Umidade	39
3.2.2 Teor de cinzas	40
3.2.3 Teor de lipídeos.....	40
3.2.4 Teor de proteínas.....	41
3.2.5 Fibras dietéticas totais	41
3.2.6 Teor de sódio.....	42
3.3 Análises nas amostras de <i>aquafaba</i>	43
3.3.1 Determinação do teor de proteína solúvel.....	43
3.3.2 Determinação da viscosidade	44
3.3.3 Determinação da massa específica	44
3.3.4 Avaliação das espumas.....	44
3.3.4.1 Capacidade de formação de espuma.....	45
3.3.4.2 Estabilidade das espumas	45
3.3.4.3 Textura das espumas	46
3.3.4.4 Cor das espumas	47
3.3.4.5 Visualização microscópica das bolhas.....	47
3.3.4.6 Elaboração e caracterização de merengues	47
3.3.5 Determinação do índice de atividade emulsificante.....	48
3.3.6 Análise estatística.....	48
Capítulo 4 – Resultados e Discussão	49
4.1 Composições centesimais.....	49
4.2 Teor de proteína solúvel.....	51
4.3 Viscosidade	53
4.4 Massa específica.....	54
4.5 Avaliação das espumas.....	54

4.5.1 Capacidade de formação de espuma	54
4.5.2 Estabilidade das espumas	57
4.5.3 Textura das espumas	60
4.5.4 Cor das espumas.....	64
4.5.5 Visualização microscópica das bolhas	65
4.6 Caracterização dos merengues	67
4.7 Índice de atividade emulsificante.....	69
Capítulo 5 – Considerações Finais	73
Sugestões para Trabalhos Futuros	75
Referências Bibliográficas.....	76
APÊNDICE A – Gráficos obtidos em texturômetro das espumas de <i>aquafaba in natura</i> e tratada com ultrassom, e da clara de ovo em pH natural (9,8) e em pH 4.....	88
APÊNDICE B – Gráficos obtidos em texturômetro dos merengues elaborados com clara de ovo, <i>aquafaba in natura</i> e <i>aquafaba</i> tratada com ultrassom em 100 % de intensidade por 30 minutos (<i>US100-30</i>).	93

Lista de Figuras

Figura 1 – Fotografias de grãos-de-bico das espécies <i>desi</i> (A) e <i>kabuli</i> (B). Fonte: Gaur (2010)...	5
Figura 2 – <i>Fabanaise</i> : maionese vegana feita com <i>aquafaba</i> . Fonte: Prepared Foods (2016).	13
Figura 3 – Etapas de formação da emulsão. Fonte: Damodaran, Parkin e Fennema (2010)....	19
Figura 4 – Esquematização da estabilização eletrostática em emulsões. Fonte: Hall (1996) ..	20
Figura 5 – Interação espacial entre as proteínas adsorvidas. Fonte: Hall (1996)	20
Figura 6 – Estrutura típica de uma espuma. Fonte: Hall (1996).....	22
Figura 7 – Migração da proteína à interface. Fonte: Damodaran, Parkin e Fennema (2010) ..	23
Figura 8 – Configurações das cadeias polipeptídicas das proteínas. Fonte: Damodaran, Parkin e Fennema (2010)	23
Figura 9 – Sistema de ultrassom de alta frequência. Fonte: Sun (2014)	28
Figura 10 – Formação e colapso das bolhas. Fonte: Ahmed, et al. (2009).....	29
Figura 11 – Espuma formada com <i>aquafaba</i> em uma colher, mostrando sua consistência (a) e no batedor, mostrando pico rígido formado (b).....	37
Figura 12 – Fluxograma do processo de preparação e tratamento das amostras de <i>aquafaba</i> .	38
Figura 13 – Fotografia de sistema de ultrassom para tratamento de <i>aquafaba</i>	39
Figura 14 – Sistema para análise de estabilidade da espuma	46
Figura 15 – Capacidade de formação de espuma, em percentual, das amostras de <i>aquafaba in natura</i> e tratadas com ultrassom, e da clara do ovo em pH natural e em pH 4. Resultados são médias de nove vias \pm desvio padrão.....	55
Figura 16 – Estabilidade da espuma, em percentual, das amostras de <i>aquafaba in natura</i> e tratadas com ultrassom, e da clara do ovo em pH natural e em pH 4, para os tempos de 10, 15 e 20 minutos. Resultados são médias de nove vias \pm desvio padrão	58
Figura 17 – Vista superior das espumas das amostras de <i>aquafaba in natura</i> e tratadas com ultrassom, e da clara do ovo em pH natural e em pH 4 logo após o batimento	62
Figura 18 – Comportamento das espumas das amostras de <i>aquafaba in natura</i> e tratadas com ultrassom, e da clara do ovo em pH natural e em pH 4, após retiradas de recipiente com uma colher	63
Figura 19 – Imagem de equipamento de medição tridimensional óptico das espumas das amostras de <i>aquafaba in natura</i> e tratadas com ultrassom, e da clara do ovo em pH natural e em pH 4, em aproximação de 76x	66
Figura 20 – Merengues elaborados com amostras de clara de ovo (a) de <i>aquafaba</i> tratada com ultrassom em 100% de intensidade por 30 minutos (b) e de <i>aquafaba in natura</i> (c).....	69

Figura 21 – Emulsões de amostras de *aquafaba in natura* e tratadas com ultrassom após 4 dias, onde se observa separação das fases apenas na emulsão de *aquafaba in natura* 70

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Composição de aminoácidos do grão-de-bico. Fonte: Boye, Zare e Pletch (2010).	7
Tabela 2 – Parâmetros de intensidade, em percentual da capacidade do equipamento, e tempo, em minutos, utilizados no tratamento da <i>aquafaba</i> por ultrassom.....	37
Tabela 3 – Composições centesimais das farinhas do grão-de-bico cru e cozido, e da <i>aquafaba</i>	49
Tabela 4 – Solubilidade proteica, em $\mu\text{g.mL}^{-1}$, das amostras de <i>aquafaba in natura</i> e tratadas com ultrassom. Resultados são médias de seis vias \pm desvio padrão.....	52
Tabela 5 – Viscosidade das amostras a 5 °C e a 25 °C, em centistokes (cSt), de <i>aquafaba in natura</i> e tratadas com ultrassom. Resultados são médias de seis vias \pm desvio padrão.....	53
Tabela 6 – Massa específica, em g.mL^{-1} , das amostras de <i>aquafaba in natura</i> e tratadas com ultrassom. Resultados são médias de seis vias \pm desvio padrão.....	54
Tabela 7 – Dureza (N), consistência (N.s) e adesividade (N.s) das amostras de espumas de <i>aquafaba in natura</i> e tratadas com ultrassom, e da clara do ovo em pH natural e em pH 4. Análises foram realizadas em texturômetro, e resultados são médias de três vias \pm desvio padrão.....	61
Tabela 8 – Valores de cor das amostras de espumas de <i>aquafaba in natura</i> e tratadas com ultrassom, expressos em L^* , a^* e b^* . Análises foram realizadas em colorímetro <i>Hunter Lab</i> , e resultados são médias de três vias \pm desvio padrão.....	64
Tabela 9 – Valores de cor, expressos em L^* , a^* e b^* , de dureza (N), consistência (N.s) e adesividade (N.s) dos merengues elaborados com clara de ovo, <i>aquafaba in natura</i> e <i>aquafaba</i> tratada com ultrassom em 100% de intensidade por 30 minutos (<i>US100-30</i>). Resultados são médias de três vias \pm desvio padrão.....	68
Tabela 10 – Índice de atividade emulsificante, em percentual, das amostras de <i>aquafaba in natura</i> e tratadas com ultrassom, e da gema do ovo em pH natural e em pH 4, para os tempos de 1 hora, 12 horas, 24 horas e 4 dias. Resultados são médias de seis vias \pm desvio padrão...	69

Lista de Símbolos

a^*	intensidade da cor vermelha
b^*	intensidade da cor amarela
B_C	peso dos brancos de cinzas (mg)
B_P	peso dos brancos de proteínas (mg)
B_R	peso dos brancos dos resíduos (mg)
\bar{C}	média dos pesos de cinzas (mg)
C_{Na}	concentração de sódio (mg.L ⁻¹)
C_p	calor específico (J.kg ⁻¹ .K ⁻¹)
D	fator de diluição
f	fator de conversão para teor de proteínas
FE	capacidade de formação de espuma (%)
FLS	estabilidade da espuma (%)
IE	índice de atividade emulsificante (%)
L^*	luminosidade
m	massa da amostra (kg)
m_a	massa inicial da amostra (g)
\bar{m}_a	média dos pesos iniciais (mg)
m_c	massa de cinzas (g)
m_{lip}	massa de lipídeos extraídos (g)
m_o	massa do picnômetro vazio (g)
m_p	massa do picnômetro com amostra (g)
m_s	massa da amostra seca (g)
m_u	massa da amostra úmida (g)
\bar{P}	média dos pesos de proteínas (mg)
Q	energia absorvida (J)
\bar{R}	média dos pesos dos resíduos (mg)
t	tempo de escoamento (s)
v	volume nominal do picnômetro (mL)
V	volume da solução estoque (mL)
V_{fo}	volume de espuma formado (mL)
V_i	volume de emulsão logo após sua formação, em $t = 0$ (mL)

V_i	volume inicial de amostra (mL)
V_0	volume de líquido após a formação da espuma, em $t = 0$ (mL)
V_t	volume de líquido formado após tempo t (mL)
V_t	volume de emulsão após tempo t (mL)

Símbolos Gregos

Δa	variação da intensidade da cor vermelha
Δb	variação da intensidade da cor amarela
ΔE	variação da diferença total da cor
ΔT	variação da temperatura (K)
ΔV	diferença entre o volume de ácido sulfúrico e hidróxido de sódio (mL)
μ	viscosidade (cSt)
ρ	massa específica (g.mL^{-1})
φ	fração de volume da fase dispersa

Lista de Abreviações

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

ANOVA - Análise de Variância

AOAC - *Association of Official Analytical Chemists* (Associação Oficial de Químicos Analíticos)

BCA - *Bicinchoninic acid assay* (Ensaio de ácido bicinconínico)

BSA - *Bovine serum albumin* (Albumina de soro bovino)

CNNPA - Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

FAO - *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (Organização de Alimentos e Agricultura dos Estados Unidos)

USDA - *United States Department of Agriculture* (Departamento de Agricultura dos Estados Unidos)

Capítulo 1 – Introdução

Nos últimos anos, tem sido cada vez maior a demanda de ingredientes alternativos ao ovo, especialmente pelos riscos da gripe aviária, alergias, cuidados com a saúde, mas principalmente, pelo aumento do número de pessoas veganas. PÚBLICO VEGANO Neste sentido, muitas pesquisas têm sido desenvolvidas com o intuito de disponibilizar proteínas vegetais. A *aquafaba*, do latim *aqua* (água) e *faba* (*Fabaceae*, família das leguminosas), é a água proveniente do cozimento de leguminosas, como feijão, soja, grão-de-bico e ervilha; ela pode ser obtida do escorrimento de legumes enlatados, assim como de seu cozimento, e tem ganhando destaque nesse cenário. A água de cozimento que tem mostrado mais proximidade às características funcionais do ovo é a proveniente do cozimento do grão-de-bico (*Cicer arietinum L.*), leguminosa anual, da classe dos herbáceos; esse grão é uma importante fonte de proteínas, além de apresentar altos teores de carboidratos, principalmente na forma de amido e fibras, assim como minerais e importantes vitaminas.

O grão-de-bico é a terceira leguminosa mais produzida no mundo, após o feijão e a ervilha, sendo cultivada em aproximadamente 80 países. Sua produção tem crescido significativamente nos últimos anos, sendo a Índia responsável por aproximadamente 70 % da produção mundial. No Brasil, apesar da produção do grão ainda não ser muito elevada, de acordo com a EMBRAPA (2017), no início de 2017, foram iniciadas pesquisas e instalações de experimentos em alguns estados do país com intuito de potencializar a produção brasileira de grão-de-bico para consumo local e para exportação.

Do cozimento do grão-de-bico em água é obtida uma água de cozimento (*aquafaba*) que, em função de suas propriedades, vem sendo reconhecida no mercado como um produto com capacidade espumante e emulsificante. Em vista disso, tem sido utilizada recentemente em receitas de merengues, maioneses, queijos, bolos, entre outros. Essas receitas têm sido muito exploradas pelo público vegano, sendo que nos Estados Unidos já é produzida, em escala industrial, uma maionese vegana que utiliza na sua formulação *aquafaba* proveniente de grão-de-bico. Entretanto, quando comparada com as propriedades espumantes e emulsificantes do ovo, a *aquafaba* apresenta desempenho tecnológico inferior, demandando maiores tempos de batimento para obter uma espuma estável. Além disso, apresenta espuma com textura inferior à produzida com de clara de ovo e menor estabilidade da emulsão em relação a obtida com gema de ovo.

Recentemente, alguns trabalhos que comparam as propriedades da *aquafaba* com as propriedades do ovo têm mostrado que é significativa a variação nos resultados para estes dois alimentos. Em pesquisa onde a capacidade espumante de *aquafaba* de diversas marcas de grão-de-bico enlatado e de clara de ovo foi avaliada, se observou que este indicador variou entre 182 % e 476 % para *aquafaba*, e ultrapassou 500 % para a clara. Já em trabalho em que a obtenção de *aquafaba* foi feita pelo cozimento de grão-de-bico, o percentual de capacidade espumante da amostra foi de 58 %, sendo que para a clara de ovo foi de 400 %. Para melhorar esse desempenho, a alternativa recai tradicionalmente no uso de aditivos alimentares artificiais; entretanto, tal alternativa vem de encontro com a busca do consumidor contemporâneo por alimentos minimamente processados e isentos de aditivos.

A demanda por tecnologias de processamento inovadoras capazes de produzir alimentos seguros e com propriedades tecnológicas eficientes tem gerado, nos últimos anos, pesquisas de interesse industrial que buscam otimizar processos, diminuir custos e melhorar as características do alimento em questão. Uma tecnologia emergente que vem sendo estudada é o ultrassom, que apresenta diversas finalidades na indústria de alimentos, promovendo preservação, segurança e qualidade para diversos produtos.

O ultrassom é uma onda sonora que apresenta frequências maiores que 20 kHz, acima do limite superior do ouvido humano. Seu principal efeito mecânico ocorre quando há energia suficiente para causar a cavitação, processo definido como a formação, pulsação e/ou colapso de cavidades de gás ou vapor em um líquido sujeito à influência de um campo ultrassônico. A cavitação pode gerar intensidades capazes de induzir alterações químicas e físicas em um alimento devido à geração de pressão, calor e turbulência, alterando suas características. Uma das inúmeras consequências desses fenômenos é o impacto causado na estrutura das proteínas, as quais podem sofrer desnaturação parcial, o que acaba por alterar fatores como hidrofobicidade e solubilidade. Estudos têm mostrado que essas mudanças na estrutura das proteínas podem afetar as propriedades funcionais de um alimento, como capacidade de formação e estabilização de espumas e emulsões. Além disso, um equipamento ultrassônico de alta frequência é de tamanho pequeno, de fácil mobilidade e custa em torno de 20 mil reais, sendo uma tecnologia viável para ser utilizada em restaurantes e cozinhas industriais.

Neste contexto, estudos sobre a potencialização das propriedades tecnológicas da *aquafaba* utilizando-se tecnologias emergentes como o ultrassom, até onde sabemos, são raros na literatura, mas apresentam alto potencial de aplicação industrial.

Considerando o exposto, o objetivo geral deste trabalho foi avaliar os efeitos causados pela utilização do ultrassom nas propriedades funcionais espumante e emulsificante da água de cozimento do grão-de-bico (*aquafaba*), com intuito de torna-la mais eficiente na substituição do ovo em alimentos.

Baseado no objetivo geral, esta pesquisa teve como objetivos específicos:

- produzir *aquafaba* de grão de bico e determinar a composição centesimal do produto;
- verificar os efeitos da onda ultrassônica sobre o teor de proteína solúvel, viscosidade e massa específica da *aquafaba*;
- avaliar os efeitos de diferentes intensidades e tempos de aplicação de onda ultrassônica nas propriedades espumantes da *aquafaba*, através das análises de formação de espuma, estabilidade, textura, cor e visualização microscópica das bolhas;
- avaliar os efeitos de diferentes intensidades e tempos de aplicação de onda ultrassônica nas propriedades emulsificantes da *aquafaba*, através da análise do índice de atividade emulsificante;
- verificar o comportamento da *aquafaba* não tratada e tratada por ultrassom em receita de merengue francês, através de análises de cor e textura.

O presente trabalho está estruturado da forma que se descreve a seguir. No Capítulo 2 é apresentada uma revisão sobre a grão-de-bico, suas características, produção mundial e composição; também são discutidas as características da *aquafaba*, destacando-se seus conceitos básicos e suas propriedades funcionais tecnológicas; segue-se então com noções sobre processamento e segurança dos alimentos. Por fim, fez-se uma revisão sobre o ultrassom, tratando seus princípios, histórico, aplicação e efeitos, ressaltando-se aqueles causados nas proteínas.

O Capítulo 3 trata dos materiais e métodos utilizados neste estudo, como a obtenção da *aquafaba* e os parâmetros utilizados no tratamento por ultrassom. Também são descritas as análises realizadas, sendo que seus resultados e discussão são apresentados no Capítulo 4. Por fim, o Capítulo 5 apresenta as considerações finais do trabalho, sendo seguido de sugestões para trabalhos futuros.

Capítulo 2 – Revisão Bibliográfica e Fundamentação Teórica

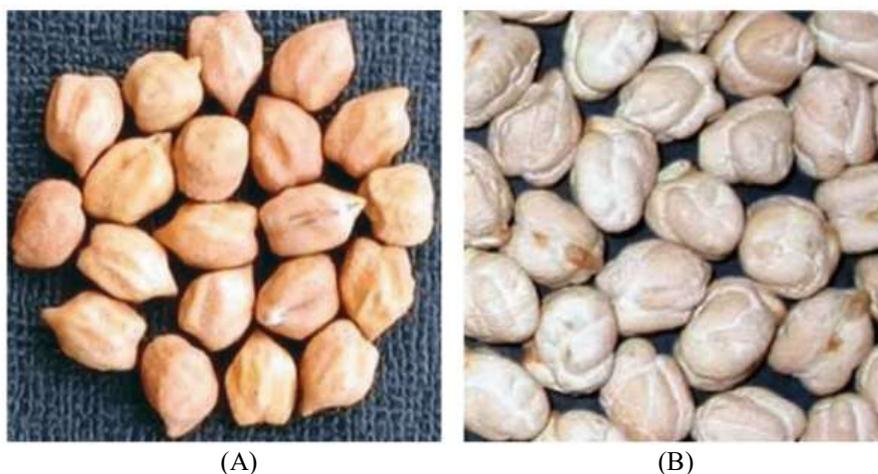
São apresentados neste capítulo a revisão bibliográfica e os fundamentos teóricos referentes à presente dissertação, sendo primeiramente apresentadas informações sobre o grão-de-bico, destacando-se sua composição química. Após, destacam-se conceitos básicos da *aquafaba* e suas propriedades funcionais tecnológicas, seguido de noções sobre processamento e segurança dos alimentos. Por fim, abordam-se tópicos sobre o ultrassom, suas aplicações e efeitos.

2.1 Grão-de-bico

O grão-de-bico (*Cicer arietinum L.*) é uma leguminosa anual, da classe dos herbáceos. A planta possui de 25 a 50 cm de altura e é coberta de pelos granulados, e suas folhas têm cerca de 5 cm de comprimento, com tonalidade variando de verde amarelado a verde azulado escuro. Suas vagens possuem formato oval a romboidal, e as raízes são colonizadas por uma bactéria fixadora de nitrogênio chamada *Mesorhizobium cicero*, específica do gênero *Cicer*. Os nódulos formados por esta bactéria variam em tamanho, sendo em média de 3 cm de diâmetro.

A forma, cor e tamanho da semente, separam o grão-de-bico em três espécies: *desi*, *kabuli* e *pea*. (GAUR, 2010; SHARMA, 1984); as da espécie *desi*, que correspondem a mais de 70 % da produção mundial, possuem grão angular e grosso, com coloração principalmente amarronzada. As de espécie *kabuli*, nome referente à Kabul, capital do Afeganistão, são mais arredondadas e finas, geralmente maiores quando comparadas às da espécie *desi*, com coloração mais puxada para tons de bege e creme. Estima-se que 15 % da produção mundial seja desta espécie. A da espécie *pea*, por sua vez, são redondas como ervilhas e, apesar de serem populares na parte central da Índia, tem pequena importância comercial. A Figura 1 mostra os grãos das espécies *desi* e *kabuli*. (GAUR, 2010; WRIGLEY et al., 2016).

Figura 1 – Fotografias de grãos-de-bico das espécies *desi* (A) e *kabuli* (B).



Fonte: GAUR (2010)

A produção de grão-de-bico necessita de um clima seco e frio, além de solos leves e arejados, levando principalmente em consideração a temperatura, umidade e a disponibilidade de luz. A temperatura deve variar entre 15 °C e 35 °C, uma vez que, devido à sensibilidade da planta, fora desta faixa de temperaturas pode ocorrer redução da área de plantio, atraso no crescimento e queda de folhas. (GAUR, 2010; MANARA; RIBEIRO, 1992. SHARMA, 1984).

Durante os anos de 1990, a produção mundial do grão-de-bico foi, em média, de 8 milhões de toneladas, sendo que nos anos 2000 houve um aumento de meio milhão. Nos três anos seguintes, de 2011 a 2013, houve mais um aumento, tendo sido atingido a maior área de cultivo de grão-de-bico até então. (WRIGLEY et al., 2016).

Além de ser a leguminosa mais produzida no sul da Ásia, é a terceira mais produzida mundialmente, após o feijão e a ervilha, sendo cultivado em aproximadamente 80 países. Sua produção tem crescido significativamente nos últimos anos, sendo a Índia responsável por aproximadamente 70 % da sua produção mundial. De acordo com a FAO (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*), a produção na Índia em 2016 foi de aproximadamente 7,8 milhões de toneladas. Também há significativa produção em Myanmar, Turquia, Etiópia, Rússia e Paquistão, cujas produções em 2016 foram, respectivamente, cerca de 560, 455, 444, 320 e 286 mil toneladas. Além disso, devido aos avanços da tecnologia e oportunidades de mercado, há produção de grão-de-bico em países como a Austrália, Estados Unidos e Canadá, com produções em 2016, também segundo a FAO, de, respectivamente, cerca de 875, 247 e 75 mil toneladas. (FAO, 2016; GAUR, 2010; MANARA; RIBEIRO, 1992; WRIGLEY et al., 2016).

No Brasil a produção de grão-de-bico ainda é muito pequena em relação à produção mundial, embora suas regiões de cerrados se mostrem favoráveis ao crescimento da leguminosa

pelo seu clima, médias altitudes e períodos secos. Portanto, se faz necessária a importação do produto, principalmente do México e da Argentina, a fim de suprir a demanda brasileira anual de 8 mil toneladas.

Porém, no início de 2017, devido a uma parceria entre o Brasil e uma empresa indiana, foram iniciadas pesquisas e instalações de experimentos nos estados do Rio Grande do Sul, Goiás, Minas Gerais, Distrito Federal, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, com intuito de potencializar a produção brasileira de grão-de-bico para consumo local e para exportação. (EMBRAPA, 2017).

2.1.1 Composição química

O grão-de-bico é considerado uma importante fonte de proteínas em algumas regiões, como no sul da Ásia, onde se localiza o maior produtor mundial do grão e há alto número de pessoas vegetarianas. Além de teor proteico, o grão-de-bico apresenta altos teores de carboidratos, principalmente na forma de amido e fibras, além de minerais e importantes vitaminas e precursores, como β -caroteno. (GAUR, 2010; JUKANTI, 2012).

Porém, assim como outras leguminosas, o grão-de-bico possui componentes antinutricionais como os inibidores de tripsina, que podem prejudicar a digestão das proteínas e acarretar doenças pancreáticas. Estudos de sua inibição, especialmente pelo uso de tratamento térmico, têm sido feitos nos últimos anos. (VAGADIA; VANGA; RAGHAVAN, 2017).

Uma descrição mais detalhada da composição do grão-de-bico, explorando-se o conteúdo proteico, carboidratos, fibras, aminoácidos, minerais e os fatores antinutricionais será feita a seguir.

2.1.1.1 Proteínas

O grão-de-bico é considerado uma importante fonte de proteína, principalmente na Ásia e na África, onde a subnutrição é um fator crítico a ser combatido; dos *pulses*, termo utilizado para sementes secas e comestíveis, o grão-de-bico é o que apresenta maior biodisponibilidade de proteínas. (JUKANTI, 2012).

A concentração de proteínas pode variar aproximadamente entre 22 e 24 %, sendo que a diferença dos teores para as espécies *desi* e *kabuli* é insignificante. De acordo com Silva, Neves e Lourenço (2001) estão presentes as globulinas, albuminas, gluteínas e prolaminas, cujas porcentagens são respectivamente 41,79, 16,18, 9,99 e 0,48 % da quantidade de proteínas do grão-de-bico. (EL-ADAWY, 2002; THUSHAN SANJEEWA, 2010).

A digestibilidade das proteínas apresenta alta variação, de 34 % a 76 %, sendo que a mesma pode ser aumentada através da fermentação. Os grãos do tipo *kabuli* geralmente têm mais alto teor de digestibilidade em relação aos do tipo *desi*. (JUKANTI, 2012; RACHWAT; NEBESNY; BRUDRYN, 2015).

Em relação às proteínas, deve se levar em consideração os aminoácidos essenciais que as compõem, uma vez que afetam fortemente a qualidade. De acordo com o estudo de Boye, Zare e Pletch (2010), que avaliaram diferentes *pulses*, a quantidade de cada aminoácido presente no grão-de-bico, em $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ de grão-de-bico úmido, pode ser observada na Tabela 1. Estes resultados apresentam variações em diferentes pesquisas, o que ocorre devido à geografia, clima e estação de crescimento dos grãos, assim como diferenças nos métodos analíticos utilizados.

Tabela 1 – Composição de aminoácidos do grão-de-bico.

Aminoácido	Concentração ($\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ de grão-de-bico úmido)
Isoleucina	0,36
Leucina	0,48
Lisina	0,91
Metionina	0,12
Fenilalanina	0,42
Treonina	0,06
Valina	0,38
Arginina	0,48
Histidina	0,24
Alanina	0,26
Ácido aspártico	0,58
Ácido glutâmico	1,67
Glicina	0,26
Prolina	0,24
Serina	0,12
Tirosina	0,19

Fonte: BOYE, ZARE e PLETCH (2010)

O grão-de-bico pode suprir a quantidade de aminoácidos essenciais necessária a um ser humano adulto, devido à alta quantidade e variação dos mesmos em sua composição, com exceção da metionina e da cistina. Estes aminoácidos apresentam concentrações mais limitadas no grão, sendo que a cistina nem mesmo está relacionada na Tabela 1. Além disso, comparado com outras leguminosas, suas proteínas apresentam maior valor nutritivo, sendo uma ótima opção de alimento como fonte proteica. (SINGH, 1985).

2.1.1.2 Carboidratos

A quantidade percentual de carboidratos no grão-de-bico é a mais representativa, variando de 52 % a 71 %, sendo que Jukanti (2012) relatou teor de carboidratos totais de 60,7 %. Este valor encontrado pelo autor foi apenas mais baixo que o obtido, no mesmo estudo, para feijão-mungo (62,6 %), porém mais alto que na ervilha tipo guandu (23,8 %), no feijão (7 %), na ervilha comum (14,5 %) e no feijão-fava (58,3 %).

A maior parte dos carboidratos no grão-de-bico se encontra na forma de amido, correspondendo a cerca de 84 % deles, ou seja, uma média de 45 % do total de componentes do grão. Além do amido, porções de carboidratos na forma de fibras (compostas de oligo e polissacarídeos, ligninas e outras substâncias) são muito significantes, sendo que a cada 100 g de grão há aproximadamente de 18 a 20 g de fibras dietéticas. Esta quantidade é mais alta quando comparada à do feijão e da ervilha. (EL-ADAWY, 2002; JUKANTI, 2012; THUSHAN SANJEEWA, 2012).

Os grãos-de-bico também apresentam teores de açúcares, que variam de 4,8 a 8,5 % da sua composição, sendo que o grão do tipo *kabuli* normalmente apresenta teores um pouco maiores em relação ao tipo *desi*. Os principais açúcares encontrados são a glicose e a sacarose. (JUKANTI, 2012; SINGH, 1985).

Apesar do alto teor de carboidratos, sua biodisponibilidade no grão-de-bico é um fator consideravelmente negativo, sendo que aproximadamente 25 % deles são indisponíveis, valor maior em relação a diversos outros *pulses*. Além disso, ele apresenta a menor digestibilidade de carboidratos em testes *in vitro*, devido ao alto teor de amilose. (SINGH, 1985).

2.1.1.3 Lipídeos

A concentração percentual de lipídeos no grão-de-bico pode variar de 2,7 a 6,48 %, tendo sido encontrada uma média de 4 % por Sanjeeva (2010), 6,48 % por Alajaji e El-Adawy (2006) e 6,71 % por Costa et al. (2006). Estes valores são mais elevados em relação a outros *pulses* como a lentilha (1,06 %), o feijão vermelho (1,06 %) e o feijão-mungo (1,15 %), além de cereais como trigo (1,7 %) e arroz (cerca de 0,6 %); é, porém, relativamente mais baixo em relação à soja, que possui aproximadamente 20 % de lipídeos. (JUKANTI, 2012; VAGADIA; VANGA; RAGHAVAN, 2017).

Os triglicerídeos são os lipídeos neutros predominantes no grão-de-bico, sendo que dos ácidos graxos, cerca de 67 % são insaturados e 10 % são saturados, segundo Chavan et al.

(1987). São encontrados principalmente o ácido linoleico, o ácido oleico e o ácido palmítico. O alto teor do ácido linoleico, o qual é insaturado e apresenta maior concentração entre os ácidos, é de extrema importância na dieta humana, pois ajuda a reduzir a pressão sanguínea e a regular contrações musculares. Além disso, ácidos graxos insaturados reduzem o colesterol no fígado e auxiliam no desenvolvimento de funções no cérebro e na retina. (RACHWAT; NEBESNY; BRUDRYN, 2015).

2.1.1.4 Minerais

Além de ser uma importante fonte de energia e proteínas, o grão-de-bico também é fonte de vitaminas e minerais. Os principais elementos encontrados são sódio, potássio, cálcio, magnésio e fósforo, sendo o potássio encontrado em maior quantidade. El-Adawy (2002) encontrou 870 mg de potássio em 100 g de grão em base seca. O grão-de-bico também é conhecido pelo significativo teor de ferro, uma vez que sua disponibilidade é maior em relação a outros grãos. (JUKANTI, 2012; SINGH, 1985).

2.1.1.5 Fatores antinutricionais

Apesar de todos os fatores nutricionais positivos do grão-de-bico, também estão presentes fatores antinutricionais que podem diminuir a biodisponibilidade de nutrientes, uma vez que são moléculas que interferem na digestão. Elas são formadas nos grãos de leguminosas como um mecanismo de proteção durante condições desfavoráveis no cultivo, como em relação ao clima e parasitas. (JUKANTI, 2012; RACHWAT; NEBESNY; BRUDRYN, 2015; SILVA; SILVA, 2000).

Os fatores antinutricionais podem ser divididos em dois grupos: os proteicos e os não proteicos. Os proteicos incluem os inibidores de tripsina e quimiotripsina, que alteram as funções pancreáticas. O inibidor de tripsina é o componente antinutricional encontrado em maior quantidade no grão-de-bico, sendo encontrada uma concentração na faixa de 6,7 a 14,6 TIU (unidade de inibidor de tripsina) por mg de proteína, segundo Rachwat, Nebesny e Brudryn (2015). Alajaji e El-Adawy (2006) encontraram 11,9 TIU.mg⁻¹ de proteína. Este inibidor atua bloqueando a ação da enzima tripsina e, assim, ocorre o aumento da concentração plasmática de colecistoquinina. Estimula-se então a liberação de mais enzima, resultando, em casos extremos, em hipertrofia pancreática. Além destes inibidores, também são fatores antinutricionais proteicos as lectinas e os peptídeos antifúngicos. (JUKANTI, 2012; RACHWAT; NEBESNY; BRUDRYN, 2015; SILVA; SILVA, 2000).

Os fatores não proteicos, por sua vez, incluem oligossacarídeos, como rafinose, estaquiose e verbascose, responsáveis, principalmente, por fatores de flatulência causados por sua decomposição por bactérias no intestino grosso. Também estão presentes neste grupo compostos fenólicos, como taninos, que inativam enzimas digestivas, e saponinas, que dão um sabor amargo ao grão. Alajaji e El-Adawy (2006) encontraram valores de 4,85 e 0,91 mg.g⁻¹ de grão seco de taninos e saponinas, respectivamente. (CHAVAN, 1987; EL-ADAWY, 2002).

Além destes já citados, são fatores antinutricionais não proteicos os ácidos fítics, os quais se ligam a cátions divalentes, como ferro, zinco, magnésio e cálcio e formam complexos que os deixam indisponíveis para absorção no organismo. Zia-Ul-Haq et al. (2007) obtiveram concentração de ácidos fítics de 1,71 mg.g⁻¹ de grão do tipo *desi* no Paquistão, enquanto Alajaji e El-Adawy (2006) encontraram 1,21 mg.g⁻¹ de grão seco deste ácido em seus estudos. (JUKANTI, 2012).

Muitos estudos para a inativação destes inibidores têm sido realizados, sendo que foi verificado que os mesmos podem ser reduzidos, por vezes até eliminados, ao se deixar os grãos de molho ou, com muito mais eficiência, utilizando-se tratamento térmico. El-Adawy (2002) atingiu redução de inibidores de tripsina em mais de 80 % por aquecimento e em 34 % por germinação. (RACHWAT; NEBESNY; BRUDRYN, 2015).

2.1.2 Propriedades nutricionais

Apesar de ser consumido há muito tempo, apenas nas duas últimas décadas tem surgido estudos sobre os impactos dos *pulses* à saúde humana. No caso do grão-de-bico, tem-se visto que sua ingestão proporciona benefícios fisiológicos, como a redução do risco de doenças crônicas e cardiovasculares, aumento da sensação de satisfação, entre outros. (JUKANTI, 2012; VEGA; PINÃ; OOMAH, 2010; WANG et al., 2010).

Junto com o feijão, ervilha e lentilha, o grão-de-bico possui alta quantidade de folato, vitamina que reduz o nível de homocisteína, cujo alto nível no sangue, segundo Pinto et al. (2009), está associado ao aumento do risco de doenças cardiovasculares. Há também a presença de compostos fitoquímicos, que reduzem o colesterol por inibirem sua absorção, e de isoflavonas, que apresentam efeitos antioxidantes. (LETERME, 2002; RACHWAT; NEBESNY; BRUDRYN, 2015).

Sabe-se ainda que o consumo de grão-de-bico por um adulto saudável produz o ácido graxo de cadeia curta butirato, sendo este o mais produzido (cerca de 18 % do total de ácidos graxos voláteis). O butirato é conhecido por sua capacidade de suprimir a proliferação das

células e induzir a apoptose (forma de morte celular programada), o que pode reduzir os riscos de câncer colorretal. (JUKANTI, 2012).

Deve-se lembrar que o grão-de-bico, além de outras leguminosas, é altamente recomendado para o público vegetariano, uma vez que é um dos alimentos com mais alta quantidade de proteínas, auxiliando na substituição das proteínas da carne. O grão também é ótima fonte de energia para pessoas que sofrem de diabetes, dada sua alta concentração de amido; seu índice glicêmico chega à metade, ou até menos, em relação aos índices do arroz, pão e batata cozida. (LETERME, 2002).

Foi constatado e mencionado pela *Heart Information Network* que o consumo do grão-de-bico causa a sensação de saciedade, auxiliando na diminuição do consumo de alimentos não saudáveis. Este fato foi comprovado por Murty, Pittaway e Ball (2010) em um estudo feito com grão-de-bico consumido por homens e mulheres na Tasmânia. Assim, o grão-de-bico pode ser também um auxiliar no controle da obesidade, doença que tem aumentado a cada ano em todo o mundo. (LETERME, 2002; VEGA; PINÃ; OOMAH, 2010).

2.2 Público vegano e demanda por substitutos do ovo na alimentação

É cada vez maior a demanda por produtos que substituam alimentos provenientes de animais, como carne, ovo, leite e queijo, principalmente em razão do crescimento da população vegana. O veganismo é um estilo de vida que procura eliminar, dentro do possível e praticável, todas as formas de exploração e crueldade contra animais para alimentação, vestimenta e outros fins. Os ingredientes mais comuns de uma dieta vegana incluem cereais, legumes, soja, frutas e vegetais, tofu, algas marinhas, entre outros alimentos. (BEDIN et al, 2018).

O número de pessoas que seguem uma dieta vegana nos Estados Unidos aumentou de cerca de 300 a 500 mil pessoas em 1997, para aproximadamente 2,5 a 6 milhões em 2012. Embora o número de pessoas veganas ainda não tenha se consolidado, pesquisas indicam que este número vem crescendo, principalmente em países mais prósperos. (KEY; APPLEBY; ROSELL, 2006; RADNIZ; BEEZHOLD; DiMATTEO, 2015).

Em pesquisa recente feita em Israel, foi constatado que 5 % dos israelitas consomem uma dieta vegana (RADNIZ; BEEZHOLD; DiMATTEO, 2015), enquanto no Reino Unido, 2 % da população se diz vegana. (Department for Environment, Food and Rural Affairs, 2007). Já na Itália, em 2016, foi constatado que 1 % da população se declarava vegana, valor que triplicou em 2017, envolvendo cerca de 1,8 milhões de pessoas. (BEDIN et al, 2018) Estima-

se que no Brasil, aproximadamente 5 milhões de pessoas pratiquem o veganismo, sendo que o mercado para este público cresce em cerca de 40 % ao ano. (CARREIRO, 2017).

As principais razões pelas quais cada vez mais pessoas vêm aderindo à dieta vegana são cuidados com a saúde, e princípios éticos, considerando os direitos dos animais. Também são citados motivos relativos à cuidados com o meio-ambiente, crenças religiosas, e influência de outras pessoas. (BEDIN et al, 2018; RADNIZ; BEEZHOLD; DiMATTEO, 2015).

Diante disso, a pressão sobre indústrias alimentícias a fim de encontrar alimentos funcionais alternativos na substituição do ovo vem crescendo. Sua composição proteica, porém, faz com que o ovo apresente propriedades como solubilidade e capacidade espumante, gelificante e emulsificante, as quais são muito importantes na formulação de diversas receitas. Assim, pesquisas devem ser realizadas com intuito de se desenvolver produtos não derivados de animais que possam substituir o ovo sem que as propriedades do alimento sejam muito afetadas. (MALCOLMSON; HUGHES.; McRAE, 2016).

2.3 Água do cozimento do grão-de-bico (*aquafaba*)

Diante da demanda de alimentos alternativos ao ovo como mencionado no item anterior, novas receitas e descobertas de produtos de origem vegetal vêm sendo feitas. Uma destas descobertas foi a *aquafaba*, água proveniente do cozimento de leguminosas, como feijão, soja, grão-de-bico e ervilha, a qual pode ser obtida do escorrimento de leguminosas enlatadas ou produzida durante seu cozimento em água. (DEVER, 2016; MALCOLMSON; HUGHES; McRAE, 2016; MUSTAFA et al., 2018).

Ao ser feito o cozimento de leguminosas, diferentes componentes dos grãos são transferidos por lixiviação para a água. Assim, a *aquafaba*, uma mistura de proteínas, fibras e outros solutos, apresenta característica emulsificante, espumante, espessante e gelificante, promovendo ótima textura a diversos alimentos. (DEVER, 2016; MALCOLMSON; HUGHES.; McRAE, 2016; The Official Aquafaba Website, 2016).

A *aquafaba* foi descoberta em 2015 pelo vegano Goose Wohlt que, em busca de substitutos do ovo na culinária, após inúmeros testes com diversos ingredientes, utilizou a água do grão-de-bico em lata que, ao ser batido, virou um merengue. O americano, de Indiana, nomeou o ingrediente de “*aquafaba*”, uma combinação das palavras “água” e “grão” em Latim (DEVER, 2016).

Em função de suas propriedades, como capacidade espumante e emulsificante, a *aquafaba* tem sido muito utilizada em receitas de merengues, maioneses, queijos, bolos, entre

outros. Estas receitas têm sido muito exploradas pelo público vegano, sendo que nos Estados Unidos já está sendo comercializada uma maionese à base de *aquafaba* proveniente de grão-de-bico. Esta maionese, a *Fabanaise*, é produzida pela *Sir Kensington's*, e está disponível nos sabores clássico, *chipotle* e óleo de abacate (Figura 2). Os ingredientes que compõe o sabor clássico são óleo de girassol, aquafaba, vinagre, sal, suco de limão, alga marinha kombu e pimenta branca. Outro aspecto importante a ser destacado é o fato de que este tipo de produto pode ser consumido por pessoas alérgicas às proteínas de ovo. (DEVER, 2016).

Figura 2 – *Fabanaise*: maionese vegana feita com *aquafaba*.



Fonte: Prepared Foods (2016)

Em estudo feito por Alajaji e El-Adawy (2006) sobre diversos modos de cozimento do grão-de-bico, constatou-se que houve difusão de carboidratos do grão para a água após o cozimento, dada à diminuição da concentração de açúcares no grão, como açúcares redutores, sacarose, rafinose, estaquiose e verbascose. Segundo Cherian et al. (2012), o cozimento do grão-de-bico reduz a concentração de proteínas e cinzas, indicando que pequena parte das proteínas pode migrar do *pulse* para sua água de cozimento. (STANTIAL et al., 2017).

Também estão presentes em leguminosas compostos fitoquímicos como as saponinas, que apesar de serem consideradas um fator antinutricional, possuem propriedades espumantes, dada suas estruturas químicas. El-Adawy (2002), ao avaliar a composição do grão-de-bico e seus fatores antinutricionais, verificou que a concentração de saponinas no grão-de-bico reduziu na metade após seu cozimento, o que pode indicar sua difusão para a água. (GÜÇLÜ-ÜSTÜNDAĞ; MAZZA, 2007; STANTIAL et al., 2017).

Na pesquisa realizada por Stantiall et al. (2017), foi analisada a água de cozimento da lentilha verde, grão-de-bico, feijão branco e ervilha amarela, e todas apresentaram capacidade espumante. Além disso, observou-se em todas as amostras capacidade gelificante, sendo o melhor resultado obtido na água do grão-de-bico. Neste estudo, a água de cozimento dos *pulses* também foi avaliada sensorialmente pela elaboração de merengues. Uma aceitação baixa foi observada pelos merengues feitos com água de cozimento do feijão e da lentilha, e uma alta aceitação foi obtida pelos merengues feitos com a água do grão-de-bico e da ervilha, semelhantemente ao merengue elaborado com uso de clara de ovo. (STANTIALL et al., 2017).

Mustafa et al. (2018) testaram a substituição da clara de ovo por *aquafaba* na produção de bolo com base de farinha de trigo. Foram comparadas duas formulações: uma com ovo e outra sem ovo, *com aquafaba*. Os autores observaram que a formulação do bolo sem ovo, com *aquafaba*, foi bem-sucedida. Também foram verificadas as características emulsificante e espumante dos produtos, tendo-se concluído que essas propriedades tecnológicas da *aquafaba* foram comparáveis às da clara do ovo.

2.4 Propriedades funcionais tecnológicas das proteínas

Apesar de haver poucos estudos relacionados à água de cozimento de *pulses*, o estudo de Stantiall et al. (2017) chamou atenção para a quantidade de proteínas presentes na água do cozimento do grão-de-bico, de $0,95 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$. A presença das proteínas pode ser comprovada também através de suas propriedades emulsificante, espumante e formadora de gel, que são observadas na textura de receitas feitas com *aquafaba*. Os autores também observaram significativa concentração de saponinas presentes ($4,5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$), conhecidas pelo sabor amargo, mas também pela capacidade espumante e emulsificante em soluções aquosas. Já Damian, Huo e Serventi (2018) encontraram teor de saponinas de $12 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ na água de cozimento do grão-de-bico. (BOYE; ZARE; PLETCH, 2010; DAMIAN; HUO; SERVENTI, 2018; Prepared Foods, 2016; SHI et al., 2004).

As proteínas são macromoléculas poliméricas constituídas de carbono, oxigênio hidrogênio e nitrogênio, podendo conter também outros compostos, como enxofre e ferro. Elas são formadas pela união de aminoácidos, formados por um carbono com um grupo amina, ligado a um ácido. A maioria das proteínas é formada por 20 aminoácidos específicos em cadeias peptídicas helicoidais, os quais diferem em tamanho, carga elétrica e forma. Ao serem ingeridas, as proteínas sofrem a digestão, principalmente no estômago e no intestino delgado. Neste processo, elas são hidrolisadas por enzimas a aminoácidos livres, processo que deve

acontecer antes que estes aminoácidos formem novas proteínas pelo organismo. (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008).

Experimentalmente, pode-se dizer que as várias funcionalidades proteicas se manifestam em três aspectos moleculares: propriedades de hidratação, propriedades que dizem respeito à superfície da proteína e propriedades reológicas. (ALTSCHUL; WILCKE, 1985). Estas propriedades causam impactos nas funções das proteínas alimentares, sendo elas de extrema importância no processamento, armazenamento, preparo e consumo dos alimentos. O Quadro 1 mostra as funções das proteínas alimentares em sistemas alimentícios. (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Quadro 1 – Funções das proteínas alimentares em sistemas alimentícios.

Função	Mecanismo	Alimento	Tipo de Proteína
Solubilidade	Hidrofilicidade	Bebidas	Proteínas do soro
Viscosidade	Ligação à água, forma e tamanho hidrodinâmicos	Sopas, molhos de carne, molhos para sala, sobremesas	Gelatina
Ligação à água	Pontes de hidrogênio, hidratação iônica	Salsichas de carne, bolo, pães	Proteínas da carne e do ovo
Gelificação	Retenção e imobilização de água, formação de redes	Carnes, géis, bolos, produtos de panificação, queijos	Proteínas da carne, leite e do ovo
Coessão-adesão	Ligações hidrofóbicas, iônicas e de hidrogênio	Carnes, salsichas, massas, produtos assados	Proteínas da carne, ovo e do soro
Elasticidade	Ligações hidrofóbicas, ligações cruzadas dissulfeto	Carnes, produtos de panificação	Proteínas da carne e de cereais
Emulsificação	Formação de película e adsorção nas interfaces	Salsichas, almôndegas, sopa, bolos, molhos	Proteínas da carne, ovo, e do leite
Formação de espuma	Adsorção interfacial e formação de película	<i>Chantillys</i> , sorvetes, bolos, sobremesas	Proteínas do ovo e do leite
Fixação de lipídeos e aromas	Ligações hidrofóbicas, retenção	Produtos de panificação com baixo teor de gordura, <i>doughnuts</i>	Proteínas do leite, ovo e de cereais

Fonte: DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA (2010)

Diante das funções apresentadas, sabe-se que as proteínas possuem grande influência nos atributos sensoriais dos alimentos, sendo que suas propriedades e funcionalidades dependem da composição dos aminoácidos que as constituem e do tipo de ligação da estrutura. As diversas funcionalidades são controladas por propriedades físico-químicas como tamanho, composição de aminoácidos, forma, flexibilidade e rigidez molecular, distribuição de cargas e

capacidade de ocorrência de interações com outros componentes. (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

A seguir, algumas das funções tecnológicas das proteínas serão apresentadas detalhadamente.

2.4.1 Solubilidade

A solubilidade das proteínas é muito importante, pois pode afetar sua funcionalidade; elas estão em sua forma menos solúvel no ponto isoelétrico, onde as cargas são neutras. Este ponto deve ser evitado, uma vez que, para que se obtenha melhor funcionalidade em alimentos que necessitam de gelificação, emulsificação e capacidade espumante, é preciso de proteínas altamente solúveis. (ALTSCHUL; WILCKE, 1985; GAVA; SILVA; FRIAS, 2008).

A solubilidade das proteínas é a forma mais prática de se medir sua desnaturação e agregação e, portanto, sua funcionalidade. Geralmente, proteínas que se encontram inicialmente na forma desnaturada, parcialmente agregadas, apresentam habilidade comprometida de participarem do processo de gelificação, emulsificação e espumação. (JAMBRAK et al., 2008; KINSELLA; MELACHOURIS, 1976).

Define-se como a solubilidade das proteínas, a manifestação do equilíbrio entre as interações proteína-solvente e proteína-proteína, diante de dadas condições de pH, força iônica e temperatura. Quando há favorecimento das interações proteína-proteína, há redução da solubilidade, e o contrário vale para o favorecimento das interações proteína-solvente. As principais forças envolvidas nestas interações são a eletrostática, pontes de hidrogênio e hidrofóbica, sendo que, em soluções aquosas, a força hidrofóbica é a de maior impacto. (ALTSCHUL; WILCKE, 1985).

Conforme Osborne (1907), as proteínas podem ser classificadas, quanto a sua solubilidade, em:

- a) albuminas: solúveis em água e em soluções fracamente ácidas e alcalinas;
- b) globulinas: solúveis em soluções de sais neutros e praticamente insolúveis em água;
- c) prolaminas: solúveis em álcool etílico entre 50 % e 80 % e insolúveis em água e etanol absoluto;
- d) glutelinas: insolúveis em solventes neutros e água, mas solúveis em soluções diluídas de ácido e base.

A solubilidade das proteínas é afetada principalmente pelo pH, força iônica e temperatura. Quanto ao pH, em valores acima ou abaixo do pH isoelétrico, há carga líquida,

respectivamente, negativa e positiva, sendo que a repulsão eletrostática e a hidratação dos resíduos carregados causam um aumento na solubilidade das proteínas. No ponto isoelétrico a solubilidade é mínima, pois a falta de repulsão eletrostática faz com que as proteínas se agreguem e precipitem em função das interações hidrofóbicas. (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; GAVA; SILVA; FRIAS, 2008).

Em relação à força iônica, a qual é relacionada à concentração e à valência de um íon, quando é baixa, ocorre a neutralização das cargas pelos íons na superfície das proteínas. Isto pode afetar a solubilidade diminuindo-a para as proteínas de alta incidência de partes não polares, ou aumentando-a para aquelas que não as contêm. A maneira como a solubilidade é afetada depende das características superficiais da proteína. (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

A temperatura também é um fator altamente relacionado à solubilidade das proteínas, a qual, na grande maioria dos casos, tende a aumentar à medida que a temperatura aumenta até cerca de 50 °C, em pH e força iônica constantes. Após essa temperatura, pode ocorrer a desnaturação da proteína, o que causa a exposição de grupos não polares, agregação e precipitação, fazendo com que a solubilidade diminua. (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; HARRISON, 1994).

2.4.2 Viscosidade

A viscosidade, ou consistência de uma solução, é uma propriedade que reflete no comportamento do fluxo de um líquido, sendo resultado da força de atração entre as moléculas; é um parâmetro muito importante, uma vez que a aceitação de diversos alimentos pelos consumidores, como sopas, bebidas e molhos, depende da consistência dos mesmos. No caso das proteínas, o comportamento apresentado é em grande maioria não-Newtoniano, sendo este de maior complexidade. A característica viscosa das proteínas é afetada principalmente pelas propriedades hidrodinâmicas (como tamanho, potencial de hidratação e forma), assim como por outras características físicas e químicas quando em solução. (ALTSCHUL; WILCKE, 1985; (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

A viscosidade das proteínas geralmente aumenta de forma exponencial à medida que se aumenta sua concentração, devido ao aumento de interação entre as proteínas hidratadas. Esta propriedade também é afetada pela capacidade de absorção de água pelas proteínas, que tendem a se expandir, pelo aquecimento, pela força iônica e pelo pH, sendo que as proteínas globulares

tentem a apresentar viscosidade reduzida perto do ponto isoelétrico. (DAMODARAN; PAFAR, 1997).

2.4.3 Capacidade emulsificante

As emulsões são dispersões de um líquido em outro, sendo que possuem algumas variáveis importantes que determinam suas propriedades. A primeira variável é o tipo da emulsão, que determina o líquido de diluição, como água em óleo (*w/o*), ou óleo em água (*o/w*). Exemplos de emulsões *o/w* são leite, molhos e sopas, sendo que emulsões verdadeiramente *w/o* dificilmente existem. Essa definição é dada de acordo com a Regra de *Bancroft*, que especifica que a fase contínua será aquela em que há maior solubilidade do surfactante. (BECHER, 1996; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; HALL, 1996).

Outra variável é a distribuição do tamanho das gotículas, as quais têm raio médio de 1 μm . Quanto menor o tamanho, mais estável é a emulsão, porém mais energia e mais quantidade de emulsificante são necessários para se produzir a emulsão. A fração de volume da fase dispersa (ϕ) também é um fator importante, uma vez que afeta a viscosidade. Uma emulsão pode ser pouco viscosa quando apresenta baixos valores de ϕ , ou muito viscosa quando ϕ é elevado, que é o exemplo da maionese, cujo valor de ϕ é 0,08. Na maioria dos casos, a fração de volume da fase dispersa varia entre 0,01 e 0,4. (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; McCLEMENTS, 2016).

A composição da camada superficial das gotículas também é outra variável que afeta a capacidade emulsificante, uma vez que determina as forças de interação coloidais presentes e, assim, a estabilidade da emulsão. A composição da fase contínua também é importante, pois as condições do solvente (geralmente a água), como a presença de surfactantes, pH e força iônica, também afetam as interações coloidais. Assim, a viscosidade e a formação da nata da emulsão também sofrem alteração. (BAI et al., 2017; HALL, 1996).

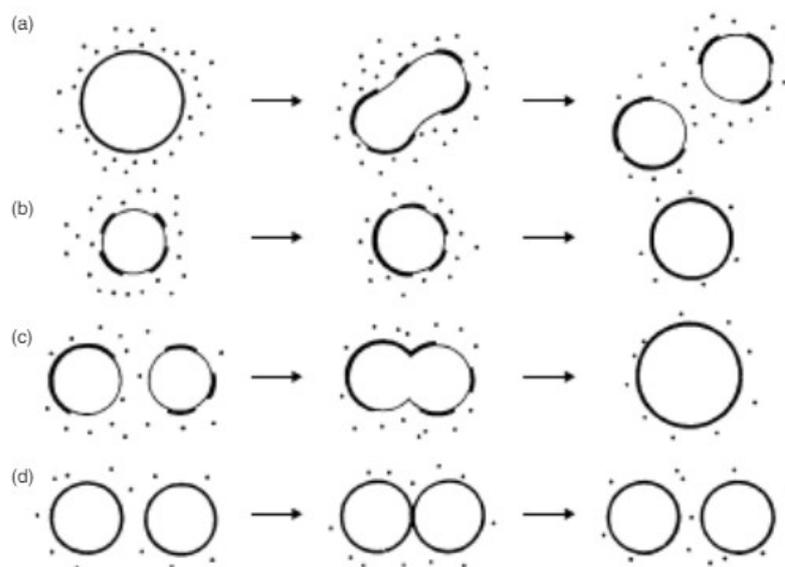
Em uma emulsão, como as gotículas são esféricas e deformáveis, podem ocorrer rupturas e a coalescência. Porém, por apresentar uma interface fluida, na maioria dos casos, as gotículas se comportam como sólidos, sendo capazes de suportar altas tensões de cisalhamento sem romperem. (BECHER, 1996; McCLEMENTS, 2016).

Para a formação de uma emulsão são necessários óleo, água, emulsificante (surfactantes como as proteínas) e energia, a qual normalmente é mecânica. A produção é fácil, porém vai sendo dificultada à medida que as gotículas diminuem de tamanho, pois se tornam mais resistentes ao rompimento e, desta forma, é necessário fornecer mais energia. Esta energia é

geralmente proveniente de um homogeneizador de alta pressão, ou também de agitadores de alta velocidade, sendo que quanto maior a velocidade e o tempo de agitação, e quanto menor o volume a ser emulsificado, menor o tamanho das gotículas atingido. (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; HALL, 2016).

A formação da emulsão é mostrada na Figura 3. Durante a formação da emulsão ocorre a ruptura das gotas (Figura 3.a) e o transporte por convecção do emulsificante para a nova interface formada (Figura 3.b). A contínua e intensa aplicação de cisalhamento provoca o frequente choque das gotas (Figuras 3.c e 3.d), as quais podem recoalescer (Figura 3.c), caso haja cobertura insuficiente do surfactante. (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; McCLEMENTS, 2016).

Figura 3 – Etapas de formação da emulsão: (a) ruptura das gotas; (b) nova interface formada; (c) recoalescência; (d) choque de gotas com cobertura suficiente de surfactante.



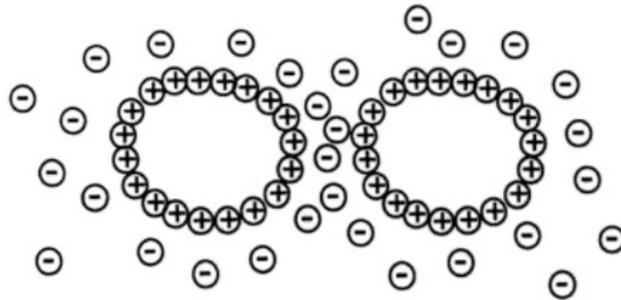
Fonte: DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA (2010)

Uma emulsão é intrinsecamente instável uma vez que à medida que o tempo passa, as gotículas da fase dispersa se atraem, ocorrendo a separação das fases. Assim, para que a recoalescência seja evitada, adiciona-se um surfactante, que além de proporcionar a formação da emulsão, deve proporcionar estabilidade a ela. Espera-se também que o surfactante evite a agregação sob diversas condições, como altas temperaturas e solventes de baixa qualidade. (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; HALL, 1996).

Nestes processos da formação e estabilização das emulsões, algumas forças estão envolvidas, como a de *Van der Waals*, a qual é uma força de atração que ocorre quando gotículas se aproximam. Se não há uma força de repulsão para fazer um balanceamento, ocorre a fusão e

coalescência das gotículas. Essa força de repulsão é chamada eletrostática, que aumenta com a ionização, contato por fricção e adsorção. No caso das proteínas, que são emulsificantes iônicos, é preciso que a fase dispersa contenha contra-íons, os quais envolvem a gotícula carregada e formam uma película dupla mais resistente. A Figura 4 mostra uma esquematização da estabilização eletrostática. Em alimentos, geralmente altas forças iônicas estão envolvidas, uma vez que elevada concentração de sal é utilizada para fins de sabor, controle de pH e controle microbiano. (BAI et al., 2017; BECHER, 1996; HALL, 1996).

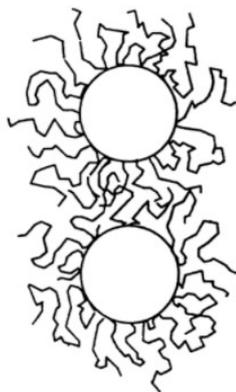
Figura 4 - Esquematização da estabilização eletrostática em emulsões.



Fonte: HALL (1996)

Estão envolvidas também forças estéricas, as quais dependem da conformação da proteína adsorvida na interface óleo-água, que possui região hidrofóbica e hidrofílica. Assim, ao se aproximarem, a interação espacial entre as proteínas adsorvidas ocorre como representado na Figura 5. (HALL, 1996).

Figura 5 - Interação espacial entre as proteínas adsorvidas.



Fonte: HALL (1996)

Essas forças irão desfavorecer a aproximação das gotículas, fenômeno descrito por Napper (1983), como “restrição de volume”. Essas forças de repulsão dependem primariamente do tamanho do segmento proteico na fase contínua, os quais devem ser maiores do que a distância onde começam a ocorrer as forças de *Van der Waals*. (BECHER, 1996; HALL, 1996).

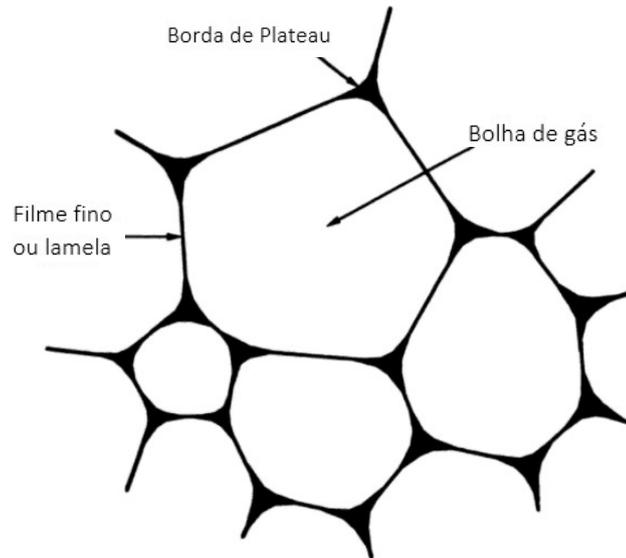
Podem ocorrer ainda as forças de depleção, principalmente quando há altas concentrações de polímeros, como amido. Polímeros na solução podem restringir o movimento das partículas, gerando forças de repulsão. Se essas forças são superadas e o polímero é removido de entre as gotículas, há aumento da energia livre no sistema, fazendo com que haja essencialmente apenas solvente entre elas. Ao se aproximarem, o solvente tende a se misturar ao polímero novamente, gerando nestes casos, forças de atração. (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Uma das formas de se medir o potencial emulsificante das proteínas é pela estabilidade da emulsão, a qual é medida pela capacidade das partículas de permanecerem dispersas sem coalescerem ou flocularem. Quando esta capacidade é baixa, haverá separação da gordura ou da fase aquosa. Proteínas emulsificantes possuem a habilidade de reduzir essa tendência e favorecem a formação de emulsões, sendo que a estabilidade das mesmas pode ser afetada pela temperatura, pelo pH, pelas propriedades do óleo envolvido, entre outros fatores. (BAI et al., 2017; HALL, 1997; ZAYAS, 1997).

2.4.4 Capacidade espumante

Espumas são definidas como a dispersão de gás em líquidos ou sólidos, sendo estruturas de diversos alimentos. Elas possuem ampla gama de aplicações, sendo a maior delas em indústrias alimentícias, como na produção de merengues, mousses, cervejas e diversos alimentos batidos. Estes alimentos apresentam propriedades de textura e sensação sensorial bucal singulares, causadas pela presença das bolhas dispersas, sendo as proteínas, os principais auxiliares na formação e estabilização do gás disperso na maioria dos casos. A estrutura típica de uma espuma pode ser vista na Figura 6. As bolhas de gás são envolvidas em redes das chamadas bordas de *Plateau*, sendo que a estrutura é formada quando três filmes finos, os quais constituem as paredes das bolhas, se encontram. (FOEGEDING; DAVIS, 2011; HALL, 1996).

Figura 6 - Estrutura típica de uma espuma.

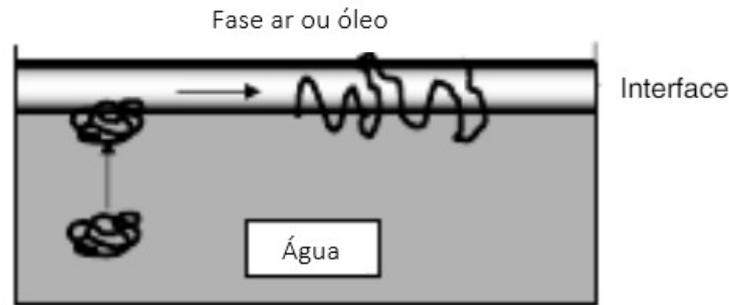


Fonte: HALL (1996)

O estudo das proteínas e suas propriedades espumantes iniciou-se por volta de 1938, por Neurath e Bull. As proteínas apresentam capacidade espumante devido a sua característica anfifílica, ou seja, possuem zona hidrofóbica (apolar, que não tem interação com a água), e hidrofílica (polar, que tem afinidade com a água). Dessa forma, as proteínas têm capacidade de migrar espontaneamente à interface ar-água, formando uma película protetora na interface. Essa película, diferente de surfactantes de baixa massa molar como fosfolipídeos, é altamente viscoelástica e pode suportar choques mecânicos durante a manipulação e a estocagem. (HALL, 1996; SUNDE; PHAM; KWAN, 2017).

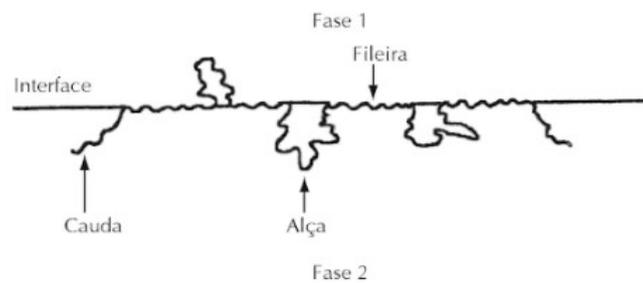
As espumas estabilizadas por proteínas são criadas quando uma solução proteica é agitada, uma vez que a proteína tem capacidade de formar esta fina e resistente película na interface gás-líquido, incorporando grande número de bolhas. Na formação da espuma, as proteínas rapidamente absorvem interfaces recém-formadas de ar-água, durante a qual há redução da tensão interfacial e alteração da viscosidade do produto. As etapas da formação da espuma são: formação da nata, floculação, coalescência e desproporção. (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; FOEGEDING; DAVIS, 2011).

A fim de que as propriedades surfactantes das proteínas sejam desejáveis, é importante que as mesmas possuam capacidade de adsorção à interface, capacidade de se desdobrarem e de se reorientarem em uma interface. Uma vez na interface, devem apresentar capacidade de interação com outras moléculas próximas, de modo a formar uma película coesiva e viscoelástica forte que pode suportar movimentos mecânicos e térmicos. A Figura 7 mostra a migração da proteína à interface. (HALL, 1996; MAEDA et al., 1991).

Figura 7 - Migração da proteína à interface.

Fonte: DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA (2010)

A adsorção da proteína à interface ar-água é afetada pela proporção de segmentos hidrofílicos e hidrofóbicos em sua superfície. Em casos de proteína extremamente hidrofílica e sem segmentos hidrofóbicos, é pouco provável sua adsorção, pois sua superfície terá menor energia livre em relação à interface. Ao se aumentar a quantidade de segmentos hidrofóbicos, a espontaneidade da adsorção torna-se mais viável. Na interface, são três as configurações das cadeias polipeptídicas das proteínas: fileira, alça e cauda, como mostra a Figura 8. (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; HALL, 1996).

Figura 8 - Configurações das cadeias polipeptídicas das proteínas.

Fonte: DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA (2010)

Para realizar a medição da capacidade de formar espuma, que se refere à quantidade de área interfacial criada pela proteína, diversas metodologias são utilizadas. De forma geral, a amostra é agitada por determinado tempo e o volume de espuma é medido em proveta. De maneira equivalente, pode-se calcular o tempo que se leva para a espuma atingir determinado volume. (HALL, 1996).

Uma vez que a capacidade de formação de espuma é determinada, deve-se verificar outro fator de importante relevância - a estabilidade da espuma - que está relacionado com a redução da área interfacial da espuma em função do tempo. Normalmente, a estabilidade é

medida deixando-se a espuma recém batida parada por determinado tempo e mede-se o volume de espuma que foi reduzido. Também se pode determinar a estabilidade da espuma verificando-se o tempo em que a espuma é reduzida à metade de seu volume. (HALL, 1996; WENZEL, 2010).

Devem-se estipular os parâmetros do método, como o tempo de espera para avaliação da redução de espuma, volume de amostra inicial e temperatura, de acordo com o material a ser estudado. Os mesmos parâmetros devem ser utilizados para fins de comparação da estabilidade da espuma de diferentes amostras. (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

2.4.4.1 Fatores externos que afetam a espuma

Os fatores externos que afetam a espuma são, conforme DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; NAKAI; MODLER, 1996:

- pH: no pH isoelétrico, geralmente a capacidade de formação de espuma é melhor, uma vez que há falta de interações repulsivas e, conseqüentemente, interações favoráveis entre proteínas, formando uma película interfacial mais viscosa e resistente. Isso ocorre na maioria dos casos, a não ser em casos de insolubilização da proteína no ponto isoelétrico;

- sais: a influência do sal nas propriedades espumantes depende da solubilidade das proteínas e do tipo de sal. Na maioria dos casos, como para a albumina do ovo e proteínas de soja, há melhora nas propriedades espumantes com aumento da concentração de NaCl, devido à neutralização das cargas pelo cátions e ânions. Porém, para casos como a proteína do soro do leite, o efeito é o contrário, ou seja, tanto a estabilidade como a formação de espuma (espumabilidade) pioram com aumento de NaCl;

- açúcares: de maneira geral, a adição de açúcares como a sacarose, aumenta a estabilidade e prejudica a espumabilidade. A melhora na estabilidade se deve ao fato de que, com o açúcar, há aumento da viscosidade na fase principal, o que gera redução da drenagem do fluido da lamela. Já a diminuição na espumabilidade se deve ao aumento da estabilidade das proteínas em soluções de açúcar, o que dificulta seu desdobramento na interface e, como consequência, há redução na capacidade da proteína de diminuir a tensão interfacial, de produzir grande volume de espuma e de criar áreas interfaciais durante o batimento. Dessa forma, sugere-se que, ao se produzir alimentos como merengues ou suflês, primeiro se faça o batimento da solução proteica e posteriormente se adicione o açúcar, a fim de garantir boa formação de espuma;

- lipídeos: em casos em que a concentração de lipídeos for maior que 0,5 %, há alta redução nas propriedades espumantes das proteínas; os lipídeos são mais ativos que as proteínas na superfície, adsorvem-se com mais rapidez à interface e inibem a adsorção das proteínas. Forma-se, então, uma película lipídica ao redor da bolha, a qual tem propriedades coesivas e viscoelásticas muito precárias, não suportando a expansão das bolhas e colapsando rapidamente;

- concentração proteica: quanto maior a concentração de proteínas, maior a firmeza da espuma, a qual é resultado do pequeno tamanho das bolhas e da alta viscosidade em soluções mais concentradas. Ocorre também aumento na estabilidade da espuma, pois o aumento da viscosidade facilita a formação de uma película proteica coesiva de múltiplas camadas na interface ar-água. Ainda, o aumento da concentração proteica aumenta a espumabilidade, porém esta propriedade atinge seu valor máximo em certa concentração, geralmente entre 2 a 8 % de proteína;

- desnaturação: o processo de desnaturação das proteínas também pode afetar a capacidade espumante. Yu e Damodaran (1991), ao se aquecerem WPI (isolado de proteína do soro do leite) a 70 °C por 1 minuto, verificaram que houve melhora na capacidade espumante, e ao se aquecerem a 90 °C por 5 minutos, a capacidade de formar espuma piorou. Este segundo caso se deve à extensa polimerização das proteínas, as quais, quando polimerizadas, não são capazes de adsorver à interface ar-água.

Outro fator que pode afetar a formação da espuma é o método utilizado para a sua geração. Os principais métodos mecânicos de formação de espuma são, conforme COKE et al., 1990; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; HALL, 1996:

- a aspersão, onde o gás é forçado ao líquido por um diafragma, criando bolhas, e assim, espuma. Este processo ocorre em fermentadores, sendo mais utilizado para fins de estudos;

- o batimento, o qual envolve movimentos rápidos de pás ou batedores no líquido, fazendo com que o ar atmosférico entre e forme a espuma; é o método mais popular, sendo muito utilizado em indústrias para a fabricação de merengues, mousses e sorvetes. Em casos de batimento com batedeira, agitador ou outro equipamento, há formação de bolhas pequenas, uma vez que o cisalhamento promove a desnaturação parcial das proteínas antes da adsorção. Geralmente é o método que produz espumas mais estáveis e rígidas. Por outro lado, o excesso de cisalhamento pode causar a desnaturação extensa, a agregação e a precipitação das proteínas, o que reduz a espumabilidade;

- a agitação, método simples, de pesquisa, usado em sistemas fechados e não apresenta muita relevância industrial. Normalmente um cilindro graduado selado é agitado mecanicamente ou manualmente. A taxa de formação de espuma é menor quando comparado ao batimento ou aspersão. Em geral, não é um método eficiente, porém é importante em estudos e aplicações específicas;

- o derramamento, método de grande interesse comercial, como em indústrias de cervejas. A formação de espuma não é controlada como na aspersão ou batimento, porém é um método utilizado em pesquisas na tentativa de simular o uso dos consumidores.

2.4.4.2 Propriedades moleculares que afetam a espuma

As propriedades espumantes são afetadas pela flexibilidade molecular, densidade, hidrofobicidade e distribuição da carga. Uma vez que a interface ar-água das espumas apresenta elevada energia livre, é necessário que a proteína seja adsorvida com rapidez, a fim de reduzir a tensão superficial. Isso ocorre quando há alta flexibilidade proteica, ou seja, quando o desdobramento e rearranjo da proteína na interface é ágil. Também é necessário que aconteça a exposição de seus grupos hidrofóbicos na interface. A β -caseína, proteína do grupo *random coil* (estado de desordem estrutural), age dessa forma e apresenta boa capacidade de formação de espuma (espumabilidade). A lisozima, do grupo de proteínas globulares (densamente dobradas), adsorve-se muito devagar, portanto, apresenta baixa espumabilidade. (BANIEL et al., 1992; HALL, 1996).

Proteínas com boas propriedades de espumabilidade não apresentam necessariamente boa estabilidade, uma vez que são afetadas por propriedades diferentes, as quais são com frequência antagônicas. A espumabilidade é afetada pela taxa de adsorção, flexibilidade e hidrofobicidade proteica, sendo que a estabilidade é dependente das propriedades reológicas da película da proteína, as quais sofrem alterações pela hidratação, espessura, concentração proteica e favoráveis interações intermoleculares. A base para a formação de uma película proteica viscoelástica para alta estabilidade são as interações proteína-proteína. (COKE et al., 1990; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; HALL, 1996).

Para uma boa espumabilidade e estabilidade, é necessário que se tenha equilíbrio adequado entre a flexibilidade e a rigidez, desdobramento na interface feito com facilidade e envolvimento em alto número de interações coesivas na interface. Um bom exemplo deste equilíbrio é a clara do ovo, a qual apresenta ótimas propriedades espumantes, tanto em formação como em estabilidade da espuma. Isso se dá pelas interações de suas proteínas presentes:

ovoalbumina, conalbumina e lisozima. (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; HALL, 1996).

2.5 Ultrassom

2.5.1 História, princípios e conceitos

O ultrassom, tecnologia emergente no que se trata de alimentos, é uma onda sonora que apresenta frequências maiores que 20 kHz, acima do limite superior do ouvido humano; é uma forma de energia mecânica do som, podendo ser transmitida através de diferentes meios condutores, bem como podendo ser utilizada em diversas áreas e finalidades. Essas ondas sonoras ultrassônicas se propagam principalmente como ondas de cisalhamento e longitudinais. (PICÓ, 2015).

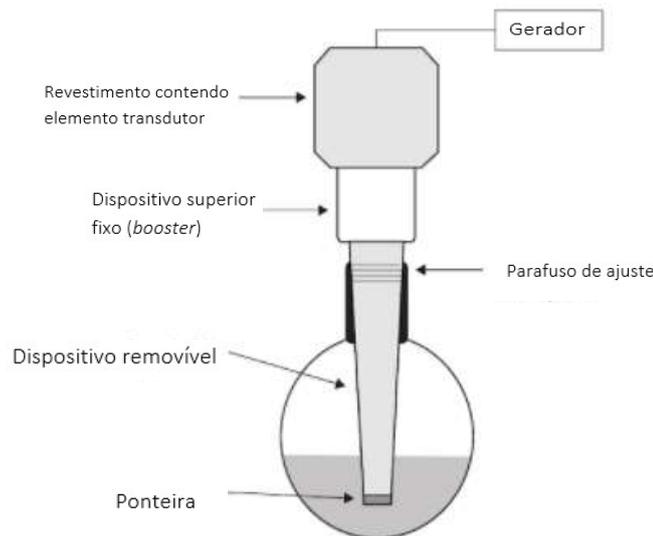
Há duas principais categorias em que as ondas ultrassônicas se dividem, em termos de frequência. A primeira é a de baixa intensidade, a qual apresenta alta frequência de onda (maiores que 100 kHz), e intensidade abaixo de 1 W.cm^{-2} ; envolve testes não destrutivos, controle de processos e diagnósticos medicinais, caso dos testes de ultrassom de imagem. A segunda categoria é a de ultrassom de alta energia, com baixa a média frequência de onda, entre 20 a 500 kHz e intensidades superiores a 1 W.m^{-2} ; é usada em aplicações industriais, pois apresenta efeitos químicos, físicos e mecânicos que alteram as propriedades dos materiais. (AWAD et al., 2012; PICÓ, 2015; VILLAMIEL et al., 2017).

Estudos relacionados ao ultrassom se iniciaram em meados do século XIX, porém, sua história se iniciou efetivamente em 1915, quando o físico francês Paul Langevin, durante a Primeira Guerra Mundial, conduziu programas para detecção de submarinos usando ondas ultrassônicas. Já na década de 1920, os pesquisadores Wood e Loomis (1927) conduziram um estudo com ondas ultrassônicas de alta intensidade para formação de emulsões e floculação de partículas. Nos anos 30, mais de 150 estudos relacionados aos efeitos causados pelo ultrassom foram publicados, mas foi só entre 1940 e 1970, com o avanço da tecnologia, que equipamentos foram desenvolvidos e se tornaram mais acessíveis para o uso deste sistema. (SUN, 2014; VILLAMIEL et al., 2017; WOOD, LUMIS, 1927).

A partir de 1970, a tecnologia de ondas ultrassônicas tem sido cada vez mais estudada e vem crescendo rapidamente, sendo considerada uma tecnologia emergente desenvolvida para minimizar processos e melhorar a qualidade dos produtos. (VILLAMIEL et al., 2017).

A geração de ondas ultrassônicas é feita por transdutores, na maioria das vezes piezoelétricos, e é convertida a vibrações mecânicas. Materiais piezoelétricos, como titanato de bário, se expandem e se contraem em campos elétricos alternados gerando ondas, geralmente pelo princípio transformador eletroestrutivo. Esse método se baseia na deformação elástica de materiais ferroelétricos diante de um campo elétrico de alta frequência, e é causada pela atração das moléculas polarizadas no meio. Essa polarização faz com que a corrente alternada seja transmitida por eletrodos ao material ferroelétrico. Após serem convertidas em oscilações mecânicas, as ondas sonoras são transmitidas a um amplificador, seguido de um sonotrodo radiante de som e, finalmente, ao produto. A Figura 9 mostra um sistema de ultrassom de alta frequência. (AHMED et al., 2009; KNORR et al., 2004; WOOD, LOOMIS, 1927).

Figura 9 – Esquema de um sistema de ultrassom de alta frequência.

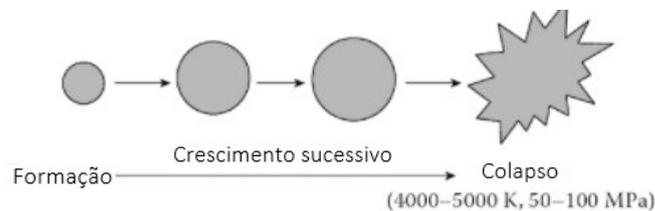


Fonte: SUN (2014)

O principal efeito mecânico do ultrassom ocorre quando há energia suficiente para causar a cavitação, processo definido como a formação, pulsação e/ou colapso de cavidades de gás ou vapor em um líquido sujeito à influência de um campo ultrassônico. As cavitações podem ser classificadas em acústicas, hidrodinâmicas, ópticas e de partículas, sendo que apenas as duas primeiras podem gerar intensidades capazes de induzir alterações químicas e físicas em um alimento. Nas cavitações acústicas, uma vez que as ondas se propagam como uma série de compressões e rarefações induzidas nas moléculas do meio em que passam, quando há alta energia, o ciclo de rarefação pode exceder as forças de atração das moléculas do líquido, e bolhas de cavitação são formadas. (AWAD et al., 2012; KNORR et al., 2004; SUN, 2014; VILLAMIEL et al., 2017)

Durante o processo de cavitação causado por ondas ultrassônicas, as bolhas formadas que estão distribuídas pelo líquido aumentam no decorrer de alguns ciclos até que atinjam um tamanho de equilíbrio de acordo com a frequência aplicada. Como o campo acústico que afeta cada uma das bolhas em particular na cavitação não é uniforme, ocorre a instabilidade das bolhas e seu colapso, como ilustra a Figura 10. O colapso das bolhas gera energia, que possibilita efeitos químicos e mecânicos no meio. Em um sistema ultrassônico com frequência de 20 kHz, tal como o equipamento utilizado na presente pesquisa, cada bolha que sofre colapso age como um *hotspot* localizado, gerando temperaturas de cerca de 4000 K e pressões que ultrapassam 1000 atm. (SUN, 2014; VILLAMIEL et al., 2017).

Figura 10 – Formação e colapso das bolhas.



Fonte: AHMED et al. (2009)

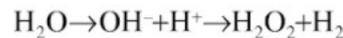
Existem diferentes tipos de cavitação, como a inercial, a estável e a transiente. A inercial envolve variações em larga escala no tamanho da bolha diante de poucos ciclos acústicos, sendo que a mesma se expande a um raio de, no mínimo, duas vezes seu valor inicial. Assim, o crescimento rápido causa um colapso das bolhas com vários graus de intensidade. Quando esta oscilação da bolha persiste por centenas de ciclos, ocorre a chamada cavitação estável, produzida em intensidades baixas, geralmente entre 1 a 3 W.cm⁻². Em situações em que a amplitude acústica é maior, as bolhas crescem rapidamente e colapsam em poucos ciclos, desintegrando-se em uma massa de bolhas menores. Essas bolhas, por sua vez, são frequentemente menores e colapsam entre si até completa destruição da bolha original. Esta é a chamada cavitação transiente e é observada na maioria das vezes em baixas frequências (20 a 100 kHz). (AHMED et al., 2009; FENG; BARBOSA-CÁNOVAS; WIESS, 2011; MASON, LORIMER, 2002).

Independentemente do tipo de cavitação, a energia gerada no processo de ultrassom é convertida em calor, fazendo com que a amostra aumente de temperatura durante o processo, e um sistema de resfriamento geralmente se faz necessário. Na maioria dos casos, este aumento é de poucos graus Celsius, seguindo a Equação 1,

$$Q = m \times C_p \times \Delta T \quad (1)$$

onde Q é a energia absorvida; m é a massa da amostra; C_p é o calor específico da amostra; e ΔT é a variação da temperatura. (FENG; BARBOSA-CÁNOVAS; WIESS, 2011).

Também se tem como consequência da cavitação a formação de radicais livres. Os radicais primários que se formam dentro de uma bolha em altas temperaturas, em presença de vapor d'água, são a hidroxila e átomos de hidrogênio, podendo ser formado o peróxido de hidrogênio, segundo a reação:



Estas espécies transientes podem reagir subsequentemente formando outros produtos moleculares que afetam as propriedades reológicas do produto. (AHMED et al., 2009; AWAD et al., 2012; FENG; BARBOSA-CÁNOVAS; WIESS, 2011; VILLAMIEL et al., 2017).

Alguns estudos relacionados ao ultrassom e ao grão-de-bico podem ser encontrados na literatura. Yildirim, Öner e Bayram (2011) avaliaram os efeitos do tempo de molho e aquecimento junto à aplicação de ultrassom a 25 kHz na textura de grãos-de-bico. Já Lou et al. (2010) verificaram a taxa de extração do óleo deste grão com e sem uso de ondas ultrassônicas a 40 kHz. Até onde sabemos, porém, ainda não se encontram na literatura pesquisas relacionadas ao uso de ultrassom em *aquafaba*.

2.5.2 Aplicação de ultrassom no processamento de alimentos

O ultrassom apresenta diversas aplicações na indústria de alimentos, promovendo preservação, segurança e qualidade para diversos produtos. Algumas destas aplicações são descritas a seguir.

2.5.2.1 Cozimento

Em cozimentos convencionais, diante de elevadas temperaturas, é recorrente a dificuldade de se obter um aquecimento homogêneo do produto, sendo que a superfície do alimento pode ser aquecida demasiadamente, enquanto seu interior pode não ter sido suficientemente cozido. O ultrassom tem a habilidade de melhorar as características de transferência de calor de um produto, o que pode promover mais qualidade para determinados alimentos. (CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011; FENG; BARBOSA-CÁNOVAS; WIESS, 2011).

Pohlman et al. (1997) compararam o uso de ultrassom para o cozimento de carne de gado com cozimento convencional. O primeiro apresentou tempo de cozimento reduzido e melhor eficiência energética, além de melhorar as propriedades sensoriais da carne.

2.5.2.2 *Cristalização*

O uso do ultrassom pode ser uma ferramenta muito efetiva a fim de favorecer a cristalização dos alimentos, processo muito importante em chocolates, margarinas, sorvetes e *chantillys*. A sonicação melhora as taxas de nucleação e de crescimento dos cristais em meios saturados ou sub-resfriados. Esta tecnologia tem sido muito aplicada em indústrias alimentícias, pois, além de melhorar a cristalização, ajuda a prevenir a incrustação de cristais em elementos resfriados, o que acaba favorecendo a transferência de calor no processo de resfriamento para a preservação do alimento. (AWAD et al., 2012; CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011; FENG; BARBOSA-CÁNOVAS; WIESS, 2011; SORIA; VILLAMIEL, 2010).

2.5.2.3 *Emulsificação*

O uso do ultrassom é muito eficiente para a formação de dispersões líquido-líquido e sólido-líquido estáveis, uma vez que ocorre a cavitação. Comparado a outros métodos de agitação mecânica, o uso do ultrassom requer menos quantidade de surfactantes, ou até elimina a necessidade de adicioná-lo, e produz gotículas menores e mais estáveis. (FENG; BARBOSA-CÁNOVAS; WIESS, 2011; VILLAMIEL et al., 2017; JUANG; LIN, 2004).

Na indústria alimentícia, a emulsificação ultrassônica apresenta forte interesse para o processamento de produtos, apresentando custo reduzido e simples operação. Pode ser utilizada em alimentos como ketchup e maionese, testado por Povey e Mason (1998) e na homogeneização do leite, estudado por Wu, Hulbert e Mount (2000). Além disso, Pongsawatmanit, Harnsilawat, e McClements, (2006) verificaram que emulsões óleo em água preparadas com uso de ultrassom apresentaram baixo grau de floculação, o que favoreceu a estabilidade à sedimentação. (AWAD et al., 2012; CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011).

2.5.2.4 *Extração*

Como consequência da cavitação, que gera intensa força de cisalhamento e microbolhas, ondas ultrassônicas favorecem a erosão superficial, a fragmentação e a transferência de massa. Dessa forma, essa tecnologia é muito utilizada para a extração em alimentos, como ervas, óleo e proteínas. As vantagens de seu uso em extrações são principalmente o mínimo efeito no

material extraído, a exclusão do uso de solventes orgânicos em muitos casos, a redução do tempo de extração e baixas temperaturas de processamento, o que é de muito interesse em compostos termossensíveis. (AWAD et al., 2012; CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011).

Diversos compostos alimentícios, como aromas, antioxidantes e outros compostos minerais têm sido extraídos eficientemente de diferentes matrizes, apresentando purezas mais elevadas quando comparado a outros tipos de extração. A extração de componentes aromáticos com uso de ultrassom apresentou melhor rendimento e menores tempos de extração em chá, em estudo feito por Xia, Shi e Wan (2006), e em vinho, verificado por Cabredo-Pinillos et al. (2006). (CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011; FENG; BARBOSA-CÁNOVAS; WIESS, 2011).

Em estudos conduzidos por Kimbaris et al. (2006) e Alissandrakis et al. (2003), foi verificado que a extração de óleos essenciais das matrizes vegetais alho e flores cítricas, respectivamente, mostrou não só melhor rendimento, mas também menor degradação térmica em relação a métodos tradicionais. Herrera e Luque de Castro (2005) mostraram que a mesma quantidade de compostos fenólicos extraída de morangos utilizando ultrassom por 2 minutos, levou 20 horas pelo método convencional e 3 horas utilizando-se o método de extração de fluido supercrítico. Ainda, em estudo desenvolvido por Chen et al. (2007), que pesquisaram a extração de antocianinas em framboesa, verificou-se que a mesma quantidade de antocianina extraída em ultrassom por 3,3 minutos, demorou 53 minutos por método de extração convencional. (CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011).

2.5.2.5 Preservação de alimentos

Os principais responsáveis pela deterioração alimentar são os micro-organismos e as enzimas, os quais são comumente eliminados e inativados pelo uso de processos térmicos convencionais. Esses processos, porém, requerem elevados gastos de energia, sendo que o tempo e a temperatura utilizados são proporcionais à perda de nutrientes, ao desenvolvimento de sabores indesejados e à deterioração de propriedades funcionais. (AHMED et al., 2009; CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011).

Diante disso, o uso de ultrassom na preservação de alimentos tem sido muito estudado recentemente, uma vez que ondas ultrassônicas de alta intensidade podem romper células e desnaturar enzimas. Em combinação com calor, essa tecnologia pode acelerar a taxa de esterilização dos alimentos, sendo que suas vantagens diante da esterilização por aquecimento incluem a redução da perda de sabor, melhor homogeneização e significativa economia de

energia. (CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011; FENG; BARBOSA-CÁNOVAS; WIESS, 2011; JAMBRAK et al, 2008).

Com relação à inativação de enzimas para aumentar a estabilidade, a qualidade e o tempo de prateleira dos produtos, Vercet et al. (2002) verificaram que o uso da sonificação combinado a baixa pressão e calor aumentou a taxa de inativação de enzimas pécticas do tomate. Além disso, Wongsorn et al. (2010) provaram que o uso do ultrassom como pré-tratamento acelerou a hidrólise enzimática da palha de arroz.

Há na literatura muitos exemplos de inativação de bactérias e leveduras pelo uso do ultrassom, sendo a *Saccaromyces cerevisiae* e a *Escherichia coli* os micro-organismos mais estudados. O primeiro deles tem se mostrado mais resistente ao processo, o que pode ser atribuído a seu maior tamanho. A inativação de *Pseudomonas fluorescens*, *Listeria monocytogenes* e *E. coli* no leite, com uso de ultrassom, foi provada por Cameron, McMaster e Britz (2009). Também foi verificado por Ordonez et al. (1987) que a termossonificação reduz em 43 % o tempo de redução decimal (*D-value*) do *Staphylococcus aureus* em leite UHT.

2.5.3 Efeitos do ultrassom nas proteínas alimentícias

O impacto do ultrassom na estrutura das proteínas é consequência, principalmente, das forças geradas na cavitação, na qual é gerada pressão, calor e turbulência. A combinação desses fenômenos pode causar a desnaturação parcial das proteínas, o que afeta suas propriedades. No momento da cavitação há tensão suficiente para quebrar ligações como dissulfeto-tiol e interações hidrofóbicas, reduzindo o tamanho médio das partículas de proteínas. (FENG; BARBOSA-CÁNOVAS; WIESS, 2011; VILLAMIEL et al., 2017). Villamiel e de Jong (2000) provaram esse fato ao quantificarem a proteína desnaturada durante a pasteurização do leite por ultrassom. O tratamento foi capaz de desnaturar a α -lactalbumina e a β -lactoglobulina.

Uma das propriedades das proteínas que pode ser afetada pelo uso de ondas sonoras é a solubilidade. O uso do ultrassom causa interação com a macromolécula da proteína, afetando sua estrutura, o que pode aumentar ou reduzir a solubilidade. Ao testarem os efeitos do ultrassom de alta intensidade em isolado e concentrado de proteína de soro do leite, Kresic et al. (2008) verificaram um aumento na solubilidade das proteínas em água em relação às amostras de controle. Os mesmos sugerem que esta diferença foi decorrente da mudança na conformação e estrutura da proteína, o que possibilitou que partes hidrofílicas de aminoácidos, antes escondidas na molécula globular, fossem expostas à fase aquosa. Também se constatou que o tratamento ultrassônico reduziu o peso molecular das proteínas, concluindo-se que sua

área molecular coberta por moléculas de água era maior. Jambrak et al. (2008), para amostras de concentrado de proteína do soro do leite, não observaram diferença significativa na solubilidade antes e depois da aplicação de ultrassom. Os autores verificaram, porém, que a solubilidade do isolado de proteína do soro do leite sofreu aumento diante da aplicação de ultrassom durante 15 minutos e 20 kHz; enquanto a amostra controle apresentou solubilidade de 66,8 %, a amostra processada atingiu 85 %. O contrário, porém, também pode ocorrer, uma vez que em presença de precipitantes como sais, o uso do ultrassom pode reduzir a solubilidade das proteínas, as quais podem formar agregados proteicos. (FENG; BARBOSA-CÁNOVAS; WIESS, 2011; MOREL et al., 2000).

A atividade proteica interfacial, que é uma propriedade determinante das características emulsificantes das proteínas, também sofre consequências pelo uso do ultrassom. A principal força de adsorção interfacial é a anfifilidade das moléculas, ou seja, a presença de aminoácidos hidrofílicos e hidrofóbicos, a qual é afetada pela ação de ondas ultrassônicas. Em diversos estudos, foi observado que o tratamento com ultrassom em soluções proteicas melhorou sua atividade de superfície na interface ar-solução diante de diversas condições. (FENG; BARBOSA-CÁNOVAS; WIESS, 2011; GÜZEY et al., 2006).

Em estudo feito por Malik, Sharma e Saini (2017), em isolado de proteína de girassol, foi verificado que após aplicação de ultrassom a 20 kHz, houve redução do massa molar das moléculas e aumento da solubilidade proteica e da hidrofobicidade, indicando desnaturação parcial das moléculas de proteína e exposição de grupos hidrofóbicos. Também se observou melhora nas propriedades espumante e emulsificante, o que, segundo os autores, foi consequência das alterações estruturais citadas nas proteínas.

A formação e estabilização de espumas e emulsões também podem ser beneficiadas, sendo que Villamiel e de Jong (2000) observaram que o tamanho das partículas de gordura do leite foi reduzido pelo uso do ultrassom, melhorando ainda mais a capacidade emulsificante. Ainda, segundo Krause, Dudek e Schwenke (2000), no que diz respeito à capacidade emulsificante, diante de certas circunstâncias, a resistência das proteínas à desnaturação pode ser tão importante quanto sua hidrofobicidade superficial. A sonificação, por poder aumentar a solubilidade das proteínas, apresenta influência positiva na produção e estabilização de emulsões, uma vez que mais proteínas estarão disponíveis para estabilizar as gotículas presentes. No caso de espumas, o aumento da atividade superficial e da flexibilidade produz proteínas mais capazes de estabilizar espumas. (FENG; BARBOSA-CÁNOVAS; WIESS, 2011; VILLAMIEL et al., 2017).

Lim e Marigo (2005) observaram em uma amostra de concentrado de proteína que a estabilidade da espuma e a uniformidade das bolhas aumentaram e o diâmetro das bolhas diminuiu ao serem submetidas à sonificação. Esta pesquisa sugere que a aplicação de ultrassom de alta intensidade pode ser utilizada para melhorar o desempenho e a qualidade de espumas.

Apresentados a fundamentação teórica e as referências bibliográficas que foram utilizadas para fundamentar a presente pesquisa, passa-se agora a discussão dos Materiais e Métodos utilizados.

Capítulo 3 – Materiais e Métodos

Neste capítulo são apresentados os materiais utilizados para elaboração dos experimentos, bem como as metodologias das análises realizadas. Os experimentos foram conduzidos no Itt Nutrifor (Instituto Tecnológico em Alimentos para a Saúde) e no laboratório de Engenharia de Alimentos, localizados na Unisinos, em São Leopoldo, Rio Grande do Sul. A preparação da matéria-prima com uso do ultrassom foi realizada no Laboratório de Tecnologia e Processamento de Alimentos (LATEPA), localizado no Departamento de Engenharia Química da UFRGS, em Porto Alegre, Rio Grande do Sul.

3.1 Cozimento do grão-de-bico e preparo da *aquafaba*

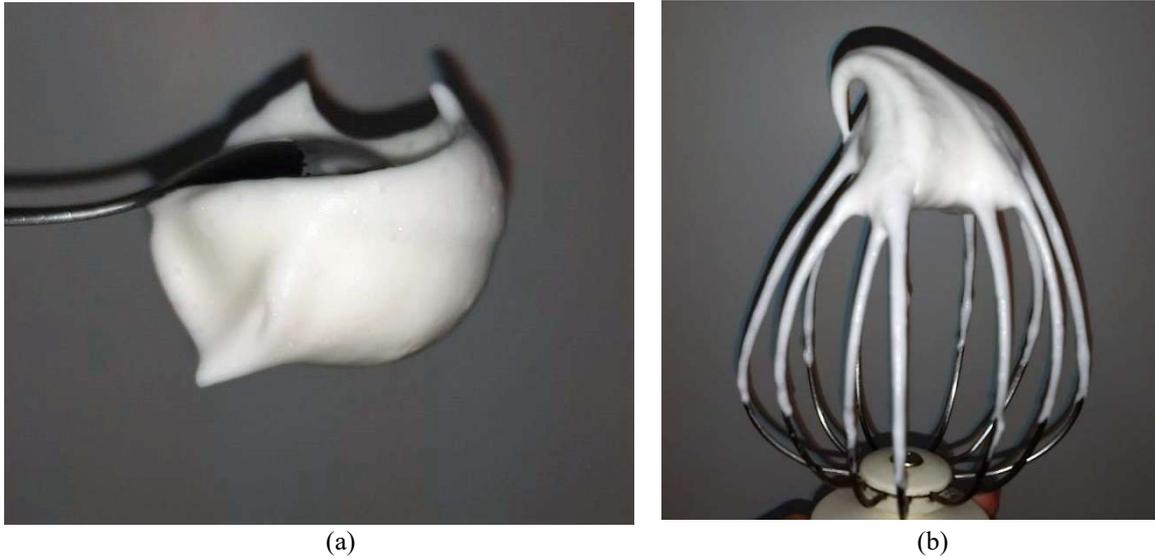
Grão-de-bico do tipo *kabuli*, de um mesmo lote, foi comprado em pacotes de 500 g da marca Fritz e Frida, em Ivoti, Rio Grande do Sul, Brasil. Inicialmente, o grão-de-bico foi deixado de molho em água corrente por 16 horas, processo utilizado antes do cozimento do grão-de-bico por Alajaji e El-Adawy (2006) e por Stantiall et al. (2017). Após este tempo, a água foi descartada e os grãos foram lavados por 3 vezes com água corrente.

Após diversos testes preliminares, chegou-se ao seguinte procedimento de preparo da *aquafaba*: o grão-de-bico hidratado foi colocado em panela de pressão da marca Tramontina, modelo Sola. Acrescentou-se água na proporção mássica 3:1 (água: grão hidratado), como adaptado de Dever (2016). Foram colocadas 500 g de grão hidratado e 1500 g de água por batelada. O cozimento teve duração de 20 minutos, contados a partir do momento em que a panela adquiriu pressão.

O conteúdo da panela foi transferido para um recipiente de vidro coberto e deixado em geladeira a 5 °C por 24 horas. O grão-de-bico cozido foi então separado com auxílio de uma peneira, e a *aquafaba* foi congelada à -18 °C. Um dia antes da realização das análises, as amostras foram colocadas em geladeira a fim de serem descongeladas.

Este procedimento permitiu a obtenção de uma *aquafaba* ligeiramente viscosa e amarelada que, após ser batida por 10 minutos em batedeira, formou uma espuma consistente, firme e volumosa, como mostrado na Figura 11.

Figura 11 – Espuma formada com *aquafaba* em uma colher, mostrando sua consistência (a), e no batedor, mostrando pico rígido formado (b).



Fonte: Próprio autor

3.1.1 Tratamento da *aquafaba* com ultrassom

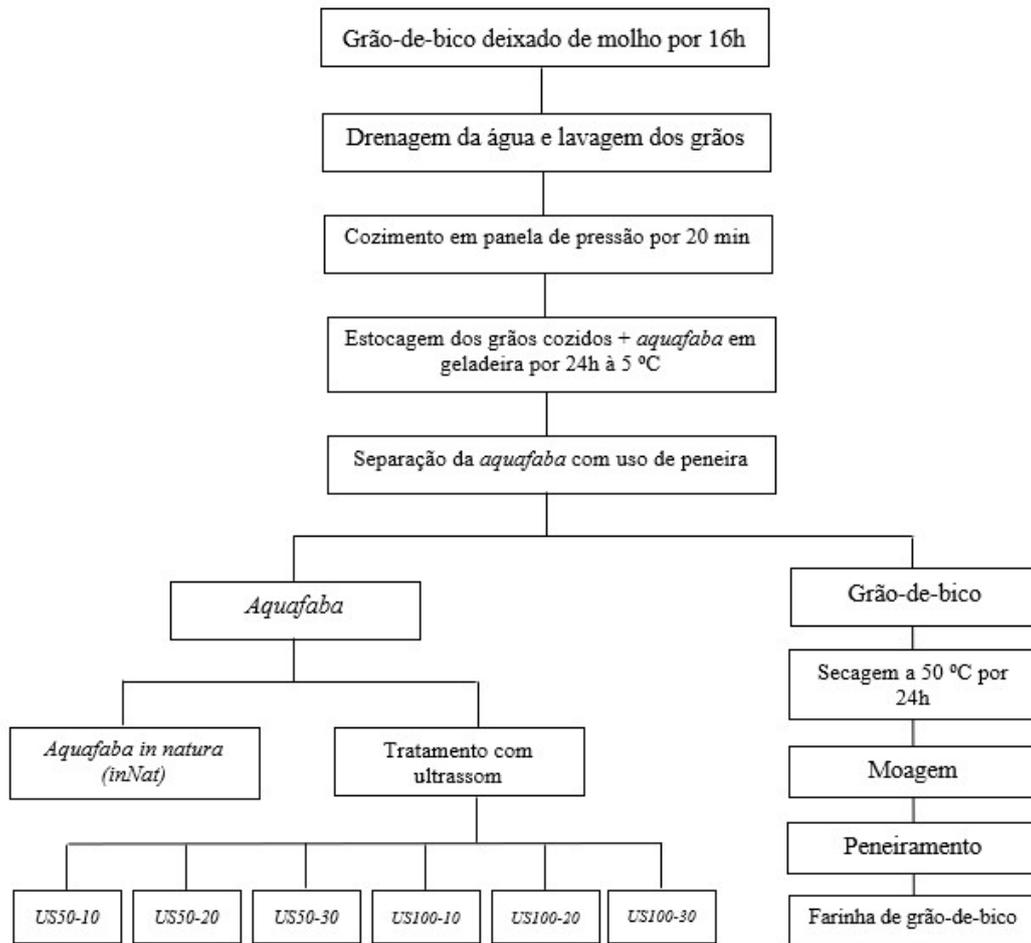
A *aquafaba* foi tratada em ultrassom da marca Sonics & Materials, modelo VCX 750, o qual atua na frequência de 20 kHz. As intensidades utilizadas foram de 50 % e de 100 % da capacidade do equipamento, que correspondem a uma média de 34 W.cm⁻² e 67 W.cm⁻², respectivamente. Para cada intensidade, 500 mL de amostra foi tratada em ultrassom nos tempos de 10, 20 e 30 minutos, em uma célula de vidro encamisada. A Tabela 2 apresenta os parâmetros utilizados e suas siglas, e a Figura 12 mostra um fluxograma do processo de preparação e tratamento das amostras.

Tabela 2 – Parâmetros de intensidade, em percentual da capacidade do equipamento, e tempo, em minutos, utilizados no tratamento da *aquafaba* por ultrassom.

Intensidade do equipamento (%)	Tempo de tratamento (min)	Sigla
-	-	<i>inNat</i>
50	10	<i>US50-10</i>
50	20	<i>US50-20</i>
50	30	<i>US50-30</i>
100	10	<i>US100-10</i>
100	20	<i>US100-20</i>
100	30	<i>US100-30</i>

Fonte: Próprio autor (2018)

Figura 12 – Fluxograma do processo de preparação e tratamento das amostras de *aquafaba*.



Fonte: Próprio autor (2018)

Para a aplicação do ultrassom, as amostras foram colocadas em uma célula de vidro encamisada à temperatura de 5 °C, e um sistema de *by-pass* de banhos termostáticos foi utilizado, a fim de se garantir que a temperatura das amostras durante o procedimento não ultrapassasse 20 °C. Para os tratamentos com intensidade da onda ultrassônica de 50 %, a temperatura dos banhos foi de 20 °C e de 10 °C. Para as amostras tratadas em 100 % de intensidade, as temperaturas foram de 20 °C e de 5 °C. Um termômetro foi acoplado à sonda ultrassônica com o objetivo de verificar a temperatura das amostras no decorrer do tratamento. A Figura 13 mostra o equipamento de ultrassom, assim como o sistema de mangueiras de *by-pass* dos banhos termostáticos.

Figura 13 – Fotografia de sistema de ultrassom para tratamento da *aquafaba*.



Fonte: Próprio autor (2018)

3.2 Análises das composições centesimais

As análises centesimais são aquelas que determinam a composição básica de um alimento: umidade, cinzas totais (minerais), lipídeos, fibras dietéticas totais e proteínas. O teor de carboidratos foi calculado por diferença. Também foi determinado o teor de sódio nas amostras. Foi realizada análise centesimal do grão-de-bico cru, da farinha de grão-de-bico cozido e da *aquafaba*. Todas as análises foram feitas em triplicata e os reagentes utilizados eram de grau analítico.

Para o preparo da farinha de grão-de-bico cru, o material foi moído em moinho da marca Ika Verke, modelo M20, por 30 segundos. Em seguida, peneirou-se o material em peneira *mesh* 42 (abertura de 355 μm), para padronização do produto, e a farinha foi armazenada em congelador. O grão-de-bico cozido, por sua vez, após deixado em contato com a *aquafaba* por 24 horas na geladeira, foi seco em estufa da marca Pardal, modelo PE 60, a 50°C por 24 horas, e então moído, peneirado e estocado de maneira idêntica ao grão-de-bico cru.

3.2.1 Umidade

A análise do teor de umidade foi feita pelo método de perda por dessecação, com secagem direta em estufa. A mesma foi conduzida segundo a metodologia 012/IV do Instituto Adolfo Lutz (Instituto Adolfo Lutz, 2008). Aproximadamente 10 g de amostra foram pesadas em balança analítica, colocadas em cápsulas de porcelana, e deixadas por 3 horas, a 105 °C em

estufa da marca De Leo. Após este tempo, as amostras foram resfriadas em dessecador e pesadas, até peso constante. A umidade foi determinada pela Equação 2,

$$Umidade (\%) = \frac{(m_u - m_s)}{m_u} \times 100 \quad (2)$$

onde m_u é a massa da amostra úmida; e m_s é a massa da amostra seca, ambas em g.

3.2.2 Teor de cinzas

A determinação de cinzas foi realizada por incineração, de acordo com o método 018/IV do Instituto Adolfo Lutz e 900.02 da AOAC - *Association of Official Analytical Chemists*. (Instituto Adolfo Lutz, 2008; AOAC, 1997). Cerca de 10 g de amostra foram pesadas em cápsula de porcelana e colocadas em mufla da marca Grefortec, à 550 °C por 4 horas. No caso da amostra líquida de *aquafaba*, antes de se colocar a amostra na mufla, foi feita evaporação e carbonização prévia em bico de Bunsen. Depois deste tempo, as amostras foram resfriadas em dessecador e pesadas até peso constante. Nos casos em que a amostra não estava branca ou levemente acinzentada, resfriou-se a amostra, adicionou-se 0,5 mL de água, secou-se, e novamente se fez a incineração. O teor de cinzas foi calculado segundo a Equação 3,

$$Teor\ de\ cinzas\ (\%) = \frac{m_c}{m_a} \times 100 \quad (3)$$

onde m_c é a massa de cinzas; e m_a é a massa da amostra pesada inicialmente, ambas em g.

3.2.3 Teor de lipídeos

A determinação do teor de lipídeos foi feita por extração direta em Soxhlet, conforme a metodologia 032/IV do Instituto Adolfo Lutz (Instituto Adolfo Lutz, 2008). Aproximadamente 5 g de amostra foram pesadas em cartucho de papel de filtro e algodão e o mesmo foi colocado em extrator tipo Soxhlet acoplado a um balão de vidro envolvido por manta elétrica. No caso da *aquafaba*, fez-se uma filtração a vácuo de 50 mL da amostra líquida em filtro quantitativo, o qual foi seco em estufa a 105 °C por uma hora e colocado no extrator. A extração em refluxo foi feita com éter etílico por 8 horas. Após o resfriamento do sistema, o balão contendo éter e lipídeos extraídos foi aquecido, para a evaporação do solvente, a 105 °C em estufa da marca De Leo, por 30 minutos, e resfriado até peso constante. O balão foi pesado e a quantidade de lipídeos foi determinada utilizando-se a Equação 4,

$$Teor\ de\ lipídeos\ (\%) = \frac{m_{lip}}{m_a} \times 100 \quad (4)$$

onde m_{lip} é a massa de lipídeos extraídos; e m_a é a massa da amostra pesada inicialmente, ambas em g.

3.2.4 Teor de proteínas

A concentração de proteínas foi conduzida pelo método de Kjeldhal clássico, segundo a metodologia 036/IV do Instituto Adolfo Lutz (Instituto Adolfo Lutz, 2008). Foi pesado em papel de filtro cerca de 1 g de amostra, e o conjunto foi introduzido em balão de Kjeldahl. No caso da *aquafaba*, 1 g do líquido foi pesado diretamente no balão. Adicionou-se 25 mL de ácido sulfúrico e cerca de 6 g de uma mistura catalítica de dióxido de titânio anidro, sulfato de cobre anidro e sulfato de potássio anidro. O balão foi aquecido em chapa elétrica até coloração azul-esverdeada e, então, por mais uma hora. Adicionou-se fenolftaleína e zinco em pó, e ligou-se o balão ao conjunto de destilação, mergulhando-se a extremidade em Erlenmeyer contendo 25 mL de ácido sulfúrico 0,05 M e indicador vermelho de metila. Adicionou-se hidróxido de sódio 30 % em excesso ao frasco com amostra, e o sistema foi aquecido até obtenção de cerca de 250 mL do destilado. Por fim, titulou-se o excesso de ácido sulfúrico 0,05 M com hidróxido de sódio 0,1 M, usando indicador vermelho de metila. O teor de proteínas foi calculado conforme a Equação 5,

$$\text{Teor de proteínas (\%)} = \frac{\Delta V \times 0,14 \times f}{m_a} \quad (5)$$

onde ΔV é a diferença entre o volume de ácido sulfúrico 0,05 M e de hidróxido de sódio 0,1 M gastos na titulação, em mL; f é o fator de conversão, sendo utilizado o valor empírico de 6,25; e m_a é a massa da amostra pesada inicialmente, em g.

3.2.5 Fibras dietéticas totais

A determinação de fibras foi conduzida segundo a metodologia enzimática-gravimétrica, método 985.29 da AOAC (AOAC, 1997). Foi pesado 1 g das amostras em copos de Becker, aos quais adicionou-se padrão de fosfato pH 6,0. Foi, então, acrescentado 0,1 mL de α -Amilase, A3306, e os copos foram aquecidos por 30 minutos em banho-maria a 95 °C. Após resfriados, o pH foi ajustado a 7,5 com NaOH. Pipetou-se 0,1 mL de solução de Protease (50 mg.mL⁻¹), P3910, e novamente as amostras foram aquecidas por 30 minutos em banho-maria a 60 °C. O pH foi ajustado a um valor entre 4,0 e 4,6 com HCl, e em seguida, adicionou-

se 0,1 mL de Amiloglucosidase, A9913, para cada copo. Aqueceu-se em também por 30 minutos banho-maria a 60 °C, resfriou-se e adicionou-se 225 mL de etanol 95 %. As soluções foram deixadas à temperatura ambiente durante a noite, a fim de que ocorresse completa precipitação.

No dia seguinte, cadinhos *Velp*, previamente colocados em mufla a 525 °C e em estufa a 130 °C com celite, foram colocados no Equipamento de Filtração-CSF 6. Os precipitados foram adicionados quantitativamente aos respectivos cadinhos, a fim de se fazer a filtração. Foram feitas lavagens com etanol 78 %, etanol 95 % e com acetona. Os cadinhos foram secos durante a noite em estufa à 105 °C, resfriados e pesados.

Os procedimentos citados foram feitos em quatro vias da mesma amostra, sendo que para duas delas e para um branco, o teor de proteína dos resíduos foi analisado pelo método de Kjeldhal clássico, idêntico ao item 3.3.4. Das outras duas amostras e de outro branco, determinou-se o teor de cinzas em mufla, a 525 °C.

O percentual de fibra dietética total foi calculado através da Equação 6,

$$\text{Fibra dietética total (\%)} = \frac{\bar{R} \times \bar{P} \times \bar{C} - (B_R - B_P - B_C)}{\bar{m}_a} \times 100 \quad (6)$$

onde \bar{R} é a média dos pesos dos resíduos; \bar{P} é a média dos pesos de proteínas; \bar{C} é a média dos pesos de cinzas; B_R , B_P e B_C são, respectivamente, o peso dos brancos dos resíduos, de proteínas e de cinzas; e \bar{m}_a é a média dos pesos iniciais das amostras. Todas as medidas de massa estão em mg.

3.2.6 Teor de sódio

A análise de sódio foi realizada a partir da amostra calcinada para a determinação do teor de cinzas. A metodologia utilizada foi baseada no método 969.23 da AOAC (AOAC, 1997). Após resfriadas, as amostras foram diluídas em ácido nítrico sob aquecimento, em chapa elétrica. Foi feita uma filtração e o filtrado foi diluído em balão de 100 mL. Fez-se, então, a leitura em fotômetro de chama da marca Digimed, modelo DM-61, e a concentração de sódio na solução, em mg.L^{-1} , foi determinada através da calibração interna do equipamento, ajustada com uso de solução padrão de Na a 20 mg.L^{-1} . Para o cálculo do teor de sódio, em mg.100g^{-1} , utilizou-se a Equação 7,

$$\text{Teor de sódio (mg.100g}^{-1}\text{)} = \frac{C_{Na} \times D \times V}{m \times 10} \quad (7)$$

onde C_{Na} é a concentração de sódio lida no fotômetro, em mg.L^{-1} ; D é o fator de diluição, neste caso 0,1; V é 1000 mL, volume da solução estoque; m_a é a massa de amostra pesada inicialmente, em g.

3.3 Análises nas amostras de *aquafaba*

As amostras de *aquafaba*, tanto *in natura* quanto tratadas por ultrassom, foram avaliadas quanto ao teor de proteína solúvel, viscosidade, massa específica, formação e estabilidade da espuma, textura e cor das espumas, visualização microscópica das bolhas das espumas e índice de emulsão. Além disso, foram elaboradas receitas de merengue francês com clara de ovo fresca, *aquafaba in natura* e *aquafaba* tratada com a elevada intensidade de onda ultrassônica (100%) e maior duração (30 minutos) utilizados nesta pesquisa, sendo que os merengues foram caracterizados quando à textura e cor.

A fim de garantir a conservação das amostras, todas estas análises foram conduzidas à temperatura de 5 °C e o pH de todas as amostras foi reduzido a 4, com uso de ácido cítrico. Testes foram realizados comparando-se resultados das capacidades espumante e emulsificante das amostras de *aquafaba* em seu pH natural (média de 6,5) e em pH 4. Melhores resultados foram obtidos em pH reduzido. Levou-se também em consideração o fato de que diversas receitas feitas com *aquafaba* utilizam como ingredientes limão e/ou bitartarato de potássio (cremor tártaro), baixando-se, assim, o pH do meio.

3.3.1 Determinação do teor de proteína solúvel

A quantidade de proteína solúvel foi determinada em seis vias, através de método espectrofotométrico baseado em Smith et al. (1985). Após ser feita uma diluição de 1:4 (*aquafaba*: água), 25 μL de cada amostra foi pipetada para os poços da microplaca, aos quais adicionou-se 200 μL de solução reagente BCA *Working Reagent* da marca Thermo Scientific. Agitou-se e incubou-se as amostras em espectrofotômetro, marca SpectraMax, modelo M5, por 30 minutos à 37 °C. Por fim, fez-se a leitura da absorbância em 562 nm. O teor de proteína solúvel foi calculado através de uma curva preparada com nove concentrações conhecidas de BSA (*Albumin Bovine Serum*), da marca Sigma Aldrich.

3.3.2 Determinação da viscosidade

A viscosidade das amostras de *aquafaba* foi determinada em seis vias, através de viscosímetro Copo Ford orifício nº 3. Foi verificado o tempo necessário para o escoamento da amostra pelo orifício do equipamento, sendo que a viscosidade, em Centistokes (cSt), foi determinada pela Equação 8, da norma ABNT NBR 5849:2015. Uma vez que a norma determina que a análise seja conduzida com a amostra à 25 °C, este teste foi realizado também a esta temperatura.

$$\mu \text{ (cSt)} = 2,314t - 15,200 \quad (8)$$

onde t é o tempo de escoamento, em segundos.

3.3.3 Determinação da massa específica

Para a determinação da massa específica das amostras, cujo resultado foi a média de seis vias, foi utilizado um picnômetro de 50 mL, o qual foi preenchido com amostra de *aquafaba* e pesado em balança analítica. O cálculo da massa específica foi realizado de acordo com a Equação 9,

$$\rho \text{ (g.mL}^{-1}\text{)} = \frac{m_p - m_o}{v} \quad (9)$$

onde m_p é a massa do picnômetro com a amostra, em g; m_o é a massa do picnômetro vazio, em g; e v é o volume nominal do picnômetro, em mL.

3.3.4 Avaliação das espumas

A avaliação das espumas formadas a partir das amostras de *aquafaba* foi realizada através dos testes de formação da espuma e de sua estabilidade. Ambas as análises foram executadas em triplicata a cada batelada de cozimento e tratamento das amostras. Uma vez que foram feitos três cozimentos, totalizaram-se nove resultados de formação de espuma e da estabilidade da espuma para cada amostra preparada. Também foi avaliada a textura das espumas formadas a partir dos valores de dureza, consistência e adesividade, e a cor das espumas, sendo estes testes realizados em triplicata.

Para fins de comparação, foram também avaliadas as espumas da clara de ovo fresca a 5 °C em seu pH natural, cuja média foi medida em 9,8, e em pH 4, reduzido com ácido cítrico.

A clara de ovo foi analisada uma vez que é referência em formação e estabilidade da espuma. Ovos tipo branco da marca Pedroni foram comprados em mercado local para esse fim.

Para se avaliar a aplicação da *aquafaba* em uma receita, foi elaborado merengue francês com as amostras de *aquafaba in natura (InNat)*, *aquafaba* tratada com intensidade de 100 % da capacidade do equipamento durante 30 minutos (*US100-30*) e com clara de ovo fresca. Os merengues foram testados quanto à dureza, consistência e adesividade, em texturômetro, e quanto à cor, em colorímetro, sendo que as amostras foram mantidas a 5 °C; todas as análises foram feitas em triplicata.

3.3.4.1 Capacidade de formação de espuma

A capacidade de formação de espuma, ou espumabilidade, foi analisada adaptando-se o método usado por Shim et al. (2018), os quais obtiveram a capacidade espumante da *aquafaba* de diversas marcas de grão-de-bico em lata, no Canadá. Este método é também baseado em Hall (1996). O volume de 30 mL de *aquafaba* foi medido em proveta e transferido para um copo de Becker de 250 mL. A amostra foi agitada em batedeira doméstica da marca Britânia, modelo Pérola Maxx PR, em velocidade 3, durante 2 minutos. Imediatamente após sua formação, o volume da espuma foi medido no próprio Becker. A capacidade de formação de espuma (*foam expansion*, FE) foi calculada segundo Hall (1996) e Howel e Taylor (1991), de acordo com a Equação 10,

$$FE (\%) = \frac{Vf_o}{Vl_i} \times 100 \quad (10)$$

onde Vf_o é o volume de espuma formado; e Vl_i é o volume inicial de amostra, ambos em mL.

3.3.4.2 Estabilidade das espumas

A estabilidade das espumas formadas foi analisada utilizando-se o método adaptado de Wenzel (2010) e Hall (1996). 30 mL de *aquafaba* foram agitados em copo de Becker de 250 mL conforme item 3.3.4.1. Logo após sua formação, toda a espuma foi transferida para um funil de vidro, sobre o qual foi colocado gaze, a fim de reter a espuma. O funil estava colocado sobre uma proveta de 50 mL. A Figura 14 mostra o sistema para análise.

Figura 14 – Sistema para análise de estabilidade da espuma.



Fonte: Próprio autor (2018)

Após decorridos 10, 15 e 20 minutos, anotou-se o volume gotejado e a estabilidade da espuma (*foam liquid stability*, FLS) para cada um dos tempos foi calculada de acordo com a Equação 11 (HALL, 1996; HOWEL; TAYLOR, 1991),

$$FLS (\%) = \frac{V_{l_i} - V_{l_t}}{V_{l_i} - V_o} \times 100 \quad (11)$$

onde V_o é o volume de líquido logo após a formação da espuma ($t = 0$); V_{l_t} é o volume de líquido formado após 10, 15 ou 20 minutos; e V_{l_i} é o volume inicial de amostra, todos os volumes em mL.

3.3.4.3 Textura das espumas

A dureza, consistência e adesividade das espumas das amostras de *aquafaba in natura* e de *aquafaba* tratada com ultrassom nos diferentes parâmetros utilizados foram avaliadas utilizando-se texturômetro da marca *Stable Micro Systems*, modelo *TA.TX Plus*. Foi aplicado teste de compressão com força de disparo de 5 g. O *probe* utilizado foi cilíndrico, de diâmetro de 35 mm (P-35). A velocidade de teste foi de 1 mm.s^{-1} , e 15 mm foi a distância de penetração na amostra. Os dados foram calculados pelo software *Texture Exponent version 6,1,4,0*. A dureza, definida como a força aplicada pelo dente molar para comprimir o alimento, é determinada pelo valor máximo de força; a consistência, relacionada a suavidade do produto avaliado, é verificada pela área positiva do gráfico; e a adesividade, que mede a habilidade do

alimento de aderir aos dentes quando mastigado, é medido pela área negativa do gráfico (GUPTA, 2017; NGUYEN; DUONG; VU, 2015; PAULA; CONTI-SILVA, 2014).

Para melhor observação e comparação da textura, firmeza e aparência das espumas, foi feita uma análise visual da espuma. Para isso, observou-se em registros fotográficos o comportamento das amostras logo após seu batimento, bem como ao serem retirados do recipiente por uma colher.

3.3.4.4 Cor das espumas

As amostras de espumas de *aquafaba in natura* e de *aquafaba* tratada com ultrassom, bem como da clara de ovo em pH natural e em pH 4, foram avaliadas quanto a sua cor. As medições foram feitas em colorímetro *Hunter Lab* da marca *ColorQuest XE* e os valores foram expressos de acordo com o sistema CIELAB. Sendo assim, foram determinados os valores de L^* (luminosidade), a^* (intensidade da cor vermelha) e b^* (intensidade da cor amarela). Todas as amostras foram avaliadas em triplicata, à temperatura de 5 °C, logo após seu batimento.

3.3.4.5 Visualização microscópica das bolhas

Para se visualizar e avaliar qualitativamente as bolhas formadas, logo após o batimento, as amostras de espumas de *aquafaba* e de clara de ovo em pH natural e em pH 4 foram colocadas em um suporte de vidro e observadas através de um equipamento de medição tridimensional óptico da marca *Starrett*, modelo Galileo AV300+, em aproximação de 76x. O *software ImageJ* foi utilizado para a medição de distâncias nas imagens.

3.3.4.6 Elaboração e caracterização de merengues

Para se avaliar o comportamento da *aquafaba* em receita de merengue francês, as amostras de *aquafaba in natura* e tratada com ultrassom em 100 % de intensidade por 30 minutos (*US100-30*) foram testadas, sendo comparadas à clara de ovo. Para a elaboração do merengue, bateu-se 50 g de *aquafaba* ou clara de ovo à 5 °C em batedeira planetária da marca Arno, até a formação de espuma. Adicionou-se então, 40 g de açúcar refinado, sendo que a mistura continuou sendo agitada até obter consistência. Os merengues foram avaliados em texturômetro *Stable Micro Systems* modelo *TA.TX Plus* quanto à dureza, consistência e adesividade, sendo o procedimento idêntico ao realizado nas espumas, citado no item 3.3.4.3.

Também foi avaliada a cor das espumas em colorímetro *Hunter Lab* da marca *ColorQuest XE*, expressa em parâmetros de L^* , a^* e b^* .

3.3.5 Determinação do índice de atividade emulsificante

O índice de atividade emulsificante (IE) foi determinado com base nas metodologias de Cooper e Goldenberg (1987), os quais analisaram as propriedades de um bioemulsificante da espécie *Bacillus*, e de Mustafa et al. (2018) que avaliaram clara de ovo e *aquafaba*. Em um copo de Becker de 150 mL, foram adicionados 60 mL de óleo de soja da marca Coamo e 40 mL de *aquafaba* (proporção 3:2 de óleo: *aquafaba*). A mistura foi agitada em agitador ultra-turrax da marca Ika, modelo T18 *basic*, por um minuto, em velocidade 3. Após a agitação, a mistura foi transferida para uma proveta de 100 mL. O volume de emulsão inicial foi medido, e a amostra permaneceu em repouso à temperatura ambiente. Mediu-se o volume de emulsão após os tempos de 1 hora, 12 horas, 24 horas e 4 dias, sendo o resultado, uma média de seis vias.

O índice de atividade emulsificante (IE), para o tempo t , foi calculado segundo a Equação 12,

$$IE (\%) = \frac{V_t}{V_i} \times 100 \quad (12)$$

onde V_i é o volume de emulsão logo após sua formação; e V_t é o volume de emulsão após transcorrido tempo t , ambos em mL.

Para fins de comparação, foi também avaliado o índice de atividade emulsificante da gema do ovo a 5 °C em seu pH natural (pH médio medido em 6,4), e em pH 4, reduzido com ácido cítrico. A gema de ovo foi avaliada uma vez que é muito utilizada na formação de emulsões, especialmente na fabricação de maioneses. Ovos tipo branco da marca Pedroni foram comprados em mercado local para esse fim.

3.3.6 Análise estatística

Os resultados das análises foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e ao Teste de *Tukey* ao nível de 5 % de probabilidade, sendo usado o delineamento inteiramente casualizado. Para a análise estatística, utilizou-se o programa *Assistat 7.7 pt*.

Capítulo 4 – Resultados e Discussão

Neste capítulo são mostrados os resultados obtidos para as análises centesimais e para as análises realizadas na *aquafaba in natura* e tratada com ultrassom, sendo elas o teor de proteínas solúveis, viscosidade, massa específica, capacidade de formação e estabilidade das espumas, textura e cor das espumas, avaliação microscópica das bolhas das espumas, caracterização dos merengues elaborados e índice de atividade emulsificante.

4.1 Composições centesimais

As composições centesimais do grão-de-bico cru e cozido e da *aquafaba* podem ser observadas na Tabela 3, onde também se encontra a composição química do grão-de-bico cru segundo a USDA - *United States Department of Agriculture* (2018).

Tabela 3 – Composições centesimais das farinhas do grão-de-bico cru e cozido, e da *aquafaba*.

Característica	Farinha de grão-de-bico cru (USDA)	Farinha de grão-de-bico cru	Farinha de grão-de-bico cozido	<i>Aquafaba</i>
Umidade (%)	10,28	7,91 ± 0,01 ^{b*}	5,44 ± 0,01 ^c	97,06 ± 0,01 ^a
Proteína (%)	22,39	17,75 ± 0,10 ^a	18,71 ± 0,14 ^a	0,52 ± 0,01 ^b
Proteína (base seca) (%)	24,96 ^{**}	19,28 ± 0,11 ^a	19,78 ± 0,16 ^a	17,79 ± 0,23 ^b
Lipídeos (%)	6,69	7,68 ± 0,67 ^a	10,22 ± 2,24 ^a	0,07 ± 0,97 ^b
Lipídeos (base seca) (%)	7,49 ^{**}	8,34 ± 0,73 ^a	10,81 ± 2,37 ^a	2,49 ± 0,97 ^b
Carboidrato por diferença (%)	57,82	49,94 ± 0,72 ^a	44,11 ± 2,40 ^a	2,05 ± 0,02 ^b
Carboidrato por diferença (base seca) (%)	64,46 ^{**}	54,24 ± 0,78 ^b	46,66 ± 2,51 ^b	69,88 ± 0,65 ^a
Fibra dietética total (%)	10,8	13,99 ^b	19,63 ^a	nd ^{c***}
Fibra dietética total (base seca) (%)	12,04 ^{**}	15,20 ^b	20,76 ^a	nd ^{c***}
Resíduo mineral (%)	1,45	2,71 ± 0,08 ^a	1,88 ± 0,01 ^b	0,29 ± 0,01 ^c
Resíduo mineral (base seca) (%)	1,62 ^{**}	2,94 ± 0,09 ^b	1,99 ± 0,01 ^c	9,83 ± 0,21 ^a
Sódio (mg.100g ⁻¹)	64	118,67 ± 22,68 ^a	73,00 ± 7,10 ^b	2,49 ± 0,12 ^c
Sódio (base seca) (mg.100g ⁻¹)	71,35 ^{**}	128,87 ± 24,63 ^a	69,02 ± 6,69 ^b	84,57 ± 4,07 ^{ab}

*Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas entre as médias ao nível de 5 % de significância.

**Valores calculados.

***Não detectado.

Ao se avaliar os resultados da análise centesimal de farinha de grão-de-bico cru, verificou-se que todos os valores encontrados se apresentaram próximos aos disponibilizados pela USDA, com exceção dos carboidratos e do teor de sódio, que se apresentaram inferior e superior ao encontrado na base de dados, respectivamente; é provável que este fato esteja relacionado às diferentes condições de cultivo, estado de maturação do grão e armazenamento, fatores que afetam a composição dos alimentos.

Quanto ao teor de umidade da *aquafaba*, foi observado valor de 97,06 %, pouco mais alto em relação ao encontrado por Bird et al. (2017), de 94,9 %, e por Stantiall et al. (2017), de 94,87 %. Essa variação se deve à proporção entre grão-de-bico e água utilizada e ao tempo de cozimento, o que proporcionou a obtenção de uma *aquafaba* ligeiramente menos concentrada que as dos autores citados.

Os teores de proteínas do grão antes e depois do cozimento não diferiram significativamente entre si ($p > 0,05$), sendo que o mesmo foi verificado por El-Adawy (2002), cujos valores foram 23,64 g.100g⁻¹ e 23,21 g.100g⁻¹ em base seca, respectivamente. Para a *aquafaba*, o resultado do teor de proteínas, de 17,79 % em base seca, foi muito próximo ao encontrado por outros autores, sendo que Bird et al. (2017) obtiveram valor de 19,6 %. Em amostras de *aquafaba* obtidas de diferentes marcas de grão-de-bico enlatadas, Shim et al. (2018) encontraram teores de proteínas entre 22,65 % a 26,83 %.

Quanto ao teor de lipídeos na *aquafaba*, uma baixa fração, de 2,49 % em base seca, foi detectada, sendo que Bird et al. (2017) e Stantiall et al. (2017) não detectaram quantidades significativas deste componente. Esta diferença pode ser justificada pelos diferentes métodos e tempos de cozimento aplicados. A difusão de sólidos solúveis no cozimento pode justificar o aumento no teor de lipídeos após o cozimento, sendo que seu baixo teor na *aquafaba* é, provavelmente, devido à sua insolubilidade em água. Wang et al. (2010) também obtiveram aumento no teor de lipídeos após o cozimento de diversos grãos, como grão-de-bico, feijão vermelho e feijão branco.

O teor de carboidratos do grão-de-bico, determinado por diferença, se mostrou mais baixo em relação ao encontrado na literatura. Esta variação de resultados pode estar relacionada ao tipo de grão-de-bico avaliado e às diferentes condições de cultivo e armazenamento, fatores que, como já citado, alteram a composição do grão. Os resultados em base seca entre as amostras de grão-de-bico cru e cozido não diferiram significativamente entre si ($p > 0,05$), o que, assim como para as proteínas, também foi observado por El-Adawy (2002). Em relação à

aquafaba, o valor obtido, de 69,88 % foi próximo ao valor calculado por Bird et al. (2017), de 70,6 %, sendo este, o componente de maior presença em todas as amostras analisadas.

Já o teor de fibra dietética total apresentou aumento com diferença significativa ($p < 0,05$) após o cozimento do grão, passando de 13,99 % no grão cru, para 19,63 % no grão cozido. O mesmo foi visto por Wang et al. (2010), cujo teor de fibra em base seca aumentou de 15,38 % para 20,75 % após o cozimento, valores muito próximos aos encontrados no presente trabalho. Este resultado pode ser consequência da perda de sólidos solúveis durante o processo de cozimento. Na *aquafaba* não foi detectada a presença de fibras, sendo que o mesmo foi constatado na análise realizada pelo grupo do *The Official Aquafaba Website* (2016). Os resultados de fibras dietéticas totais, tanto do grão-de-bico, cujo valor aumentou após o cozimento, quanto da *aquafaba*, sugerem que não houve difusão de fibras do grão para a água de cozimento.

O teor de resíduo mineral, também conhecido como teor de cinzas, assim como o teor de sódio, apresentaram considerável redução após o cozimento, sendo que os valores de cada análise para o grão cru e cozido se mostraram com diferença significativa ($p < 0,05$). Esta redução deve ser atribuída à difusão para a água de cozimento, sendo que a presença dos mesmos na *aquafaba*, confirma este fato. Alajaji e El-Adawy (2006) e Wang et al. (2010), apesar de terem obtido mais alto teor de cinzas, também encontraram redução significativa desta característica ao cozinarem grão-de-bico, sendo que para o último, o valor passou de 3,24 % a 2,48 %. Em relação à *aquafaba*, o teor de cinzas em base seca, de 9,83 %, se apresentou relativamente próximo ao valor encontrado por Bird et al. (2017), de 11,76 %.

4.2 Teor de proteína solúvel

Os resultados do teor de proteína solúvel das amostras de *aquafaba in natura* e tratadas com ultrassom encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4 – Proteína solúvel, em $\mu\text{g.mL}^{-1}$, das amostras de *aquafaba in natura* e tratadas com ultrassom. Resultados são médias de seis vias \pm desvio padrão.

Amostra	Proteína solúvel ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
<i>InNat</i> *	834 \pm 37 ^a
<i>US50-10</i>	864 \pm 126 ^a
<i>US50-20</i>	896 \pm 78 ^a
<i>US50-30</i>	952 \pm 155 ^a
<i>US100-10</i>	875 \pm 132 ^a
<i>US100-20</i>	899 \pm 82 ^a
<i>US100-30</i>	915 \pm 102 ^a

*Amostra *in natura* (***InNat***); ultrassom com 50 % de intensidade por 10 minutos (***US50-10***); ultrassom com 50 % de intensidade por 20 minutos (***US50-20***); ultrassom com 50 % de intensidade por 30 minutos (***US50-30***); ultrassom com 100 % de intensidade por 10 minutos (***US100-10***); ultrassom com 100 % de intensidade por 20 minutos (***US100-20***); ultrassom com 100 % de intensidade por 30 minutos (***US100-30***).

Aplicando-se análise estatística nos resultados de proteína solúvel das amostras de *aquafaba in natura* e tratadas com ultrassom, constatou-se que não houve diferença significativa entre as médias dos resultados ($p > 0,05$). Jambrak et al. (2008), para amostras de concentrado de proteína do soro do leite, também não observaram diferença significativa na solubilidade antes e depois da aplicação de ultrassom. Eles verificaram, porém, que a solubilidade de isolado de proteína do soro do leite sofreu aumento significativo diante da aplicação de ultrassom durante 15 minutos e 20 kHz, constatando também, aumento na capacidade espumante. Kresic et al. (2008), ao testarem os efeitos do ultrassom de alta intensidade em isolado e concentrado de proteína de soro do leite, verificaram um aumento na solubilidade das proteínas em água em relação às amostras de controle.

Aumento na solubilidade, bem como melhora das propriedades emulsificantes e espumantes em isolado de proteína de girassol, foi encontrado por Malik, Sharma e Saini (2017) após aplicação de ultrassom a 20 kHz. Eles observaram que a solubilidade proteica aumentou diante do aumento do tempo de tratamento, até 20 minutos. Porém, observaram que este indicador apresentou decréscimo ao tratarem a amostra por 30 minutos. Segundo os autores, o aumento da solubilidade proteica após o tratamento ultrassônico pode ter ocorrido devido à mudança conformacional das proteínas, e à formação de agregados solúveis a partir de agregados insolúveis. Além disso, o ultrassom pode reduzir o tamanho das partículas de proteína em uma amostra, aumentando interações água-proteína, e assim, resultando em um aumento da solubilidade.

4.3 Viscosidade

Os resultados das análises de viscosidade conduzidos a 5 °C e a 25 °C podem ser observados na Tabela 5.

Tabela 5 – Viscosidade das amostras a 5 °C e a 25 °C, em centistokes (cSt), de *aquafaba in natura* e tratadas com ultrassom. Resultados são médias de seis vias ± desvio padrão.

Amostra	Viscosidade (cSt) à 5 °C	Viscosidade (cSt) à 25 °C
<i>InNat</i> **	50,61 ± 0,63 ^{b*}	48,78 ± 0,35 ^b
<i>US50-10</i>	51,90 ± 0,75 ^a	49,59 ± 0,69 ^{ab}
<i>US50-20</i>	51,79 ± 0,74 ^a	49,01 ± 0,58 ^{ab}
<i>US50-30</i>	51,63 ± 0,69 ^{ab}	49,59 ± 0,23 ^{ab}
<i>US100-10</i>	51,55 ± 0,74 ^{ab}	49,94 ± 0,35 ^a
<i>US100-20</i>	51,23 ± 0,61 ^{ab}	49,01 ± 0,58 ^{ab}
<i>US100-30</i>	51,47 ± 0,56 ^{ab}	49,82 ± 0,23 ^{ab}

*Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as médias ao nível de 5 % de significância.

**Amostra *in natura* (*InNat*); ultrassom com 50 % de intensidade por 10 minutos (*US50-10*); ultrassom com 50 % de intensidade por 20 minutos (*US50-20*); ultrassom com 50% de intensidade por 30 minutos (*US50-30*); ultrassom com 100 % de intensidade por 10 minutos (*US100-10*); ultrassom com 100 % de intensidade por 20 minutos (*US100-20*); ultrassom com 100 % de intensidade por 30 minutos (*US100-30*).

Diante dos resultados obtidos, pode-se observar que, no caso da análise realizada à 5 °C, viu-se aumento da viscosidade nas amostras tratadas com intensidade de 50 % durante 10 e 20 minutos, as quais apresentaram aumento significativo ($p < 0,05$) em relação à amostra *in natura*. Segundo Soria e Villamiel (2010), esse fato pode ser atribuído a mudanças na capacidade de ligação da água quando partes hidrofílicas de aminoácidos são abertos à solução aquosa. Porém, o fato de a maioria das amostras não apresentar diferença significativa antes e depois da aplicação de ultrassom pode ter sido em razão da alta diluição das proteínas presentes.

Jambrak et al. (2008) verificaram aumento significativo na viscosidade aparente em isolado proteico de soja após a aplicação de ultrassom com frequência de 20 kHz por 15 e 30 minutos. Aumento dessa propriedade também foi observado por Jambrak et al. (2011), ao tratar proteína do soro do leite com ondas de frequência de 30 kHz por 5 e 10 minutos.

Já Arzeni, Pérez e Pilosof (2012), ao aplicarem ondas ultrassônicas em clara de ovo, observaram um leve decréscimo no valor da viscosidade, o que comprova o que dizem Soria e Villamiel (2010), que constataram que a viscosidade de um alimento, após submetido à aplicação de ultrassom, pode aumentar ou diminuir, sendo que a mudança pode ser temporária ou permanente. Estas alterações vão depender da intensidade das ondas aplicadas e do material estudado.

4.4 Massa específica

Os resultados de massa específica para as amostras de *aquafaba in natura* e tratadas com ultrassom, obtidas por picnômetro, podem ser observados na Tabela 6.

Tabela 6 – Massa específica, em g.mL⁻¹, das amostras de *aquafaba in natura* e tratadas com ultrassom. Resultados são médias de seis vias ± desvio padrão.

Amostra	Massa específica (g.mL ⁻¹)
<i>InNat</i> ²	1,031 ± 0,004 ^{a1}
<i>US50-10</i>	1,031 ± 0,001 ^a
<i>US50-20</i>	1,030 ± 0,001 ^a
<i>US50-30</i>	1,031 ± 0,002 ^a
<i>US100-10</i>	1,029 ± 0,002 ^a
<i>US100-20</i>	1,031 ± 0,002 ^a
<i>US100-30</i>	1,031 ± 0,001 ^a

¹Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as médias ao nível de 5 % de significância.

²Amostra *in natura* (***InNat***); ultrassom com 50 % de intensidade por 10 minutos (***US50-10***); ultrassom com 50 % de intensidade por 20 minutos (***US50-20***); ultrassom com 50 % de intensidade por 30 minutos (***US50-30***); ultrassom com 100 % de intensidade por 10 minutos (***US100-10***); ultrassom com 100 % de intensidade por 20 minutos (***US100-20***); ultrassom com 100 % de intensidade por 30 minutos (***US100-30***).

Ao se aplicar a análise estatística nos resultados de massa específica das amostras de *aquafaba in natura* e tratadas com ultrassom, constatou-se que os mesmos não apresentaram diferença significativa entre si. Conforme esperado, a massa específica média das amostras foi muito próxima à da água, uma vez que a umidade da *aquafaba* apresentou percentual de 97,06 %.

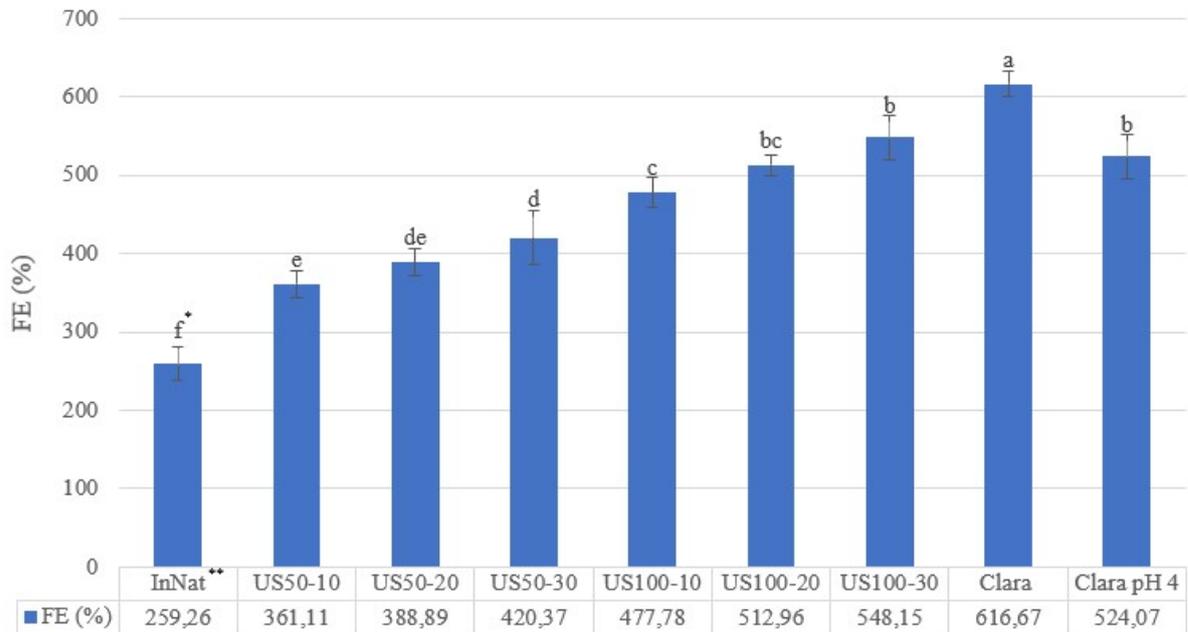
Shim et al. (2018), que avaliaram *aquafaba* em diversas marcas de grão-de-bico em lata, encontraram massa específica entre 1,01 g.mL⁻¹ e 1,18 g.mL⁻¹, dentro de cuja faixa todos os resultados determinados no presente trabalho se encontram. Os resultados também estão de acordo com o valor encontrado por Stantiall et al. (2017), que obtiveram massa específica da água de cozimento de grão-de-bico igual a 1,02 g.mL⁻¹.

4.5 Avaliação das espumas

4.5.1 Capacidade de formação de espuma

Os resultados da capacidade de formação de espuma, tanto para as amostras de *aquafaba*, quanto para a clara de ovo em pH natural, cujo pH médio foi medido em 9,8, e em pH 4, podem ser observados na Figura 15.

Figura 15 – Capacidade de formação de espuma, em percentual, das amostras de *aquafaba in natura* e tratadas com ultrassom, e da clara do ovo em pH natural e em pH 4. Resultados são médias de nove vias \pm desvio padrão.



*Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as médias ao nível de 5 % de significância.

**Amostra *in natura* (*InNat*); ultrassom com 50 % de intensidade por 10 minutos (*US50-10*); ultrassom com 50 % de intensidade por 20 minutos (*US50-20*); ultrassom com 50 % de intensidade por 30 minutos (*US50-30*); ultrassom com 100 % de intensidade por 10 minutos (*US100-10*); ultrassom com 100 % de intensidade por 20 minutos (*US100-20*); ultrassom com 100 % de intensidade por 30 minutos (*US100-30*).

Os resultados obtidos comprovam que a aplicação de ondas ultrassônicas na *aquafaba*, em diferentes tempos e intensidades, favorecem sua capacidade de formação de espuma. A amostra *in natura* (*InNat*) apresentou o mais baixo valor, de 259 %, resultado com diferença significativa em relação a todos os outros ($p < 0,05$). Ao se aplicar ultrassom com 50 % de intensidade de onda ultrassônica por 10 minutos (*US50-10*), a capacidade de formação de espuma aumentou em cerca de 40 %, passando para 361 %.

Quando a intensidade utilizada foi de 100 % da capacidade do equipamento, a amostra tratada por 10 minutos (*US100-10*) apresentou capacidade de formação de espuma 84 % mais alta em relação à *aquafaba in natura* (*InNat*), e de 32 % mais alta em relação à amostra tratada com intensidade de 50 % pelo mesmo tempo, apresentando aumento significativo ($p < 0,05$) até mesmo em relação à amostra tratada em 50 % de intensidade por 30 minutos (*US50-30*). Ao se aumentar o tempo de aplicação de ondas ultrassônicas para 20 e 30 minutos em 100 % de intensidade, foram obtidos valores de capacidade de formação de espuma sem diferença significativa ($p > 0,05$) em relação à clara de ovo em pH 4. A amostra *US100-30* apresentou

aumento no valor da capacidade de formação de espuma de mais de 110 % em relação à amostra *in natura* (*InNat*).

Resultados similares foram encontrados por Morales et al. (2015), que estudaram o comportamento da espuma de isolado de proteína de soja diante da aplicação de ultrassom a 20 kHz e amplitude 20 %, durante 20 minutos. Eles observaram que, após o tratamento, houve aumento da capacidade de formação de espuma de 153,3 % para 202 %. Eles também avaliaram este indicador em diferentes tempos de aplicação de ondas ultrassônicas, em uma faixa de 5 a 20 minutos. Assim como foi constatado sobre a *aquafaba* no presente trabalho, os autores observaram que, quanto maior o tempo de tratamento com ultrassom, melhor a capacidade de formação de espuma do isolado de proteína de soja. Ainda neste estudo, os autores verificaram que o uso do ultrassom reduziu o tamanho das partículas de agregados de proteína, e constataram que esta redução apresentou correlação positiva com o aumento da capacidade de formação de espuma, concluindo que este fator é dominante em relação à propriedade em questão. Segundo eles, quanto menor o tamanho da partícula proteica, mais rapidamente ela pode adsorver na interface do líquido.

Martínez-Velasco et al. (2018) testaram a habilidade da proteína de feijão fava de formar espuma e verificaram que o uso do ultrassom de alta intensidade por 17,29 minutos foi capaz de aumentar este indicador de 145,8 %, valor obtido antes do tratamento, para 258,3 %. Os autores também observaram que, após uso do ultrassom, houve ampla redução do tamanho médio das partículas proteicas, assim como da tensão superficial das dispersões, fatores que podem justificar a notável melhora na espumabilidade da amostra.

Da mesma forma, Jambrak et al. (2008), que estudaram o uso do ultrassom em frequência de 20 kHz por 15 minutos em isolado de proteína do soro do leite, obtiveram aumento na capacidade de formação de espuma, sendo que o resultado passou de 132 % para 235 % após o processamento da amostra. Similarmente, em estudo em que se verificou o comportamento de isolado de proteína de ervilha diante de tratamento ultrassônico com 20 kHz de frequência por 30 minutos, Xiong et al. (2018) observaram aumento significativo de capacidade de formação de espuma. Além disso, constataram que, à medida que se aumentou a intensidade do equipamento, melhores resultados foram obtidos, sendo que ao utilizarem 90 % de intensidade, encontraram o maior valor de capacidade de formação de espuma, de 200 %. A amostra não tratada apresentou resultado de 145 %.

Para Jambrak et al. (2008) e Knorr et al. (2004), o aumento da capacidade de formação de espuma após o uso do ultrassom pode ser explicado por seu efeito de homogeneização, o

qual geralmente dispersa as partículas de gordura e de proteína de forma mais equalizada na clara do ovo, por exemplo, causando melhora da propriedade em questão. Durante o tratamento ultrassônico, as proteínas provavelmente passam a apresentar estrutura parcialmente desdobrada, favorecendo ainda mais o poder espumante do alimento após seu batimento.

Arzeni et al. (2012) ao testarem a hidrofobicidade de amostras de clara de ovo, concentrado de proteína do soro do leite e isolado de proteína de soja, antes e depois do uso de ultrassom a 20 kHz por 20 minutos, observaram que todas as amostras aumentaram significativamente este indicador, o qual tem mostrado relação com a espumabilidade de alimentos. Townsend e Nakai (1983) em estudo feito com proteínas alimentícias, verificaram correlação positiva entre hidrofobicidade e capacidade de formação de espuma.

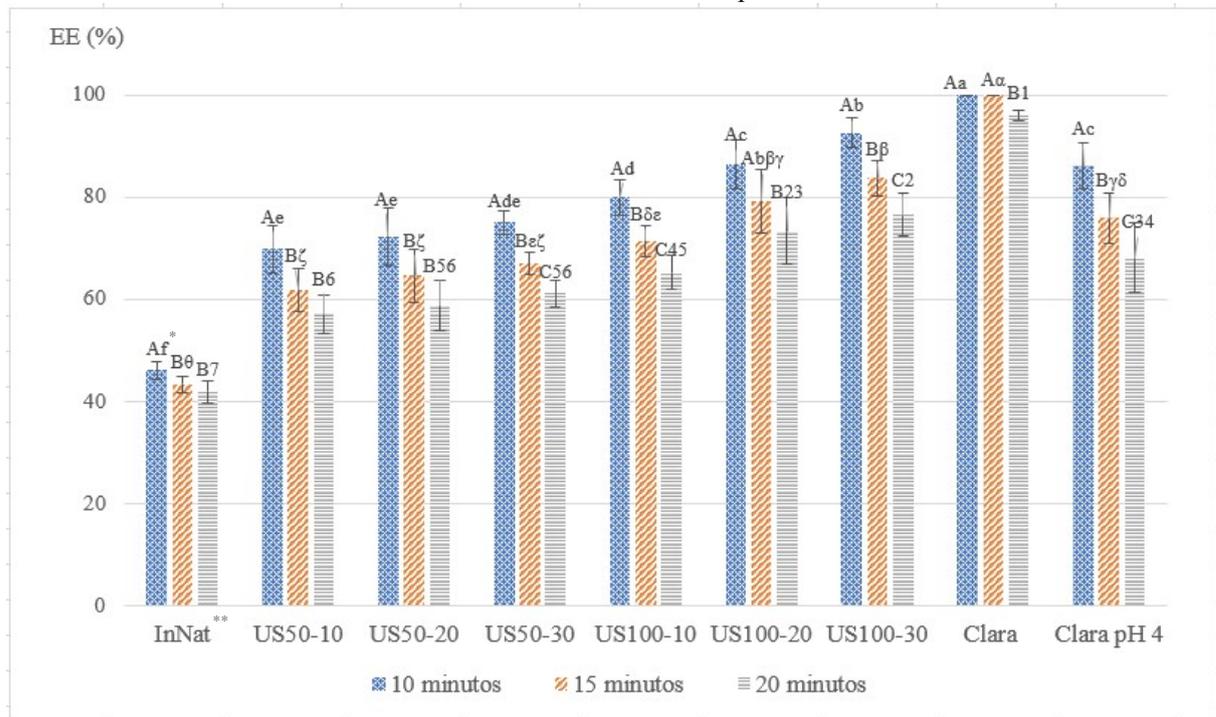
De acordo com Kato et al. (1983), já se tem diversos estudos comprovando que a hidrofobicidade superficial das proteínas apresenta boas correlações com propriedades funcionais, sendo razoável, portanto, assumir que esse fator possui importante função diante de índices como capacidade de formação de espuma e de emulsão. Isso se dá uma vez que proteínas anfífilas de alta hidrofobicidade na superfície são fortemente adsorvidas na interface ar-água ou óleo-água, causando redução na tensão interfacial ou superficial, o que rapidamente favorece a espuma ou a emulsão. Deve-se considerar, porém, outros fatores estruturais importantes a fim de elucidar relações entre propriedades superficiais e estruturais das proteínas, como a facilidade de ocorrer interações proteína-proteína e a desnaturação superficial.

Neste contexto e frente aos resultados observados, tem-se como hipótese que o aumento na capacidade espumante da *aquafaba* após o tratamento ultrassônico pode ter se dado em função do aumento da hidrofobicidade das moléculas proteicas presentes, bem como de possível melhoria na homogeneização e dispersão das partículas de proteína.

4.5.2 Estabilidade das espumas

A Figura 16 mostra os resultados percentuais obtidos para a estabilidade da espuma (EE) das amostras de *aquafaba in natura* e tratadas com ultrassom, bem como da clara de ovo em pH natural, e em pH 4, ajustado com ácido cítrico. A estabilidade foi verificada nos tempos de 10, 15 e 20 minutos.

Figura 16 – Estabilidade da espuma, em percentual, das amostras de *aquafaba in natura* e tratadas com ultrassom, e da clara do ovo em pH natural e em pH 4, para os tempos de 10, 15 e 20 minutos. Resultados são médias de nove vias \pm desvio padrão.



*Letras maiúsculas diferentes para uma mesma amostra indicam diferenças significativas entre as médias ao nível de 5 % de significância. Letras minúsculas, gregas e números diferentes para um mesmo tempo (mesma cor) indicam diferenças significativas entre as médias ao nível de 5 % de significância.

Amostra *in natura* (InNat**); ultrassom com 50 % de intensidade por 10 minutos (**US50-10**); ultrassom com 50 % de intensidade por 20 minutos (**US50-20**); ultrassom com 50 % de intensidade por 30 minutos (**US50-30**); ultrassom com 100 % de intensidade por 10 minutos (**US100-10**); ultrassom com 100 % de intensidade por 20 minutos (**US100-20**); ultrassom com 100 % de intensidade por 30 minutos (**US100-30**).

A partir dos resultados encontrados, observou-se que, assim como o comportamento da capacidade de formação de espuma da *aquafaba*, a estabilidade das espumas também foi beneficiada pelo uso do ultrassom. Em todos os tempos analisados (10, 15 e 20 minutos), se obteve melhora significativa da EE ao se comparar a amostra *in natura* (*InNat*) e as amostras com aplicação de ultrassom. Ao se comparar a estabilidade da espuma da *aquafaba in natura* e a estabilidade da espuma da *aquafaba* tratada com menor intensidade e tempo de ultrassom (*US50-10*), o aumento deste parâmetro observado após 10 minutos, foi de 51 %.

Na medida em que se aumentou o tempo de aplicação de ondas ultrassônicas em intensidade de 50 % no tratamento da *aquafaba*, verificou-se que, para todos os tempos em que a estabilidade foi avaliada (10, 15 e 20 minutos), não houve diferença significativa ($p > 0,05$). Já quando comparadas as amostras processadas por ultrassom em intensidade de 100 %, no teste de estabilidade da espuma após 10 minutos, o aumento deste parâmetro foi, em média, de 7,5 %, sendo que as três amostras tratadas nesta intensidade (*US100-10*, *US100-20* e *US100-30*) apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre si. Para os testes de estabilidade

após 15 e 20 minutos, as amostras *US100-20* e *US100-30* não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) entre si. Isto indica que na maioria dos casos, mesmo aumentando-se o tempo de tratamento da *aquafaba* com ultrassom, em uma mesma intensidade, a estabilidade das espumas formadas não apresenta aumento de maneira significativa estatisticamente.

Ao se observar a variação da estabilidade da espuma de uma mesma amostra no decorrer do tempo, observou-se que, na maioria dos casos, há diferença significativa entre as estabilidades, principalmente comparando este índice após 10 e 15 minutos. Percebe-se com isso que há uma tendência à redução na taxa de gotejamento de líquido da espuma ao longo do tempo.

Quanto à clara de ovo em pH 4, foi observado que os resultados percentuais dos testes de EE após 15 e 20 minutos não apresentaram diferença significativa em relação aos resultados de estabilidade das amostras de *aquafaba* tratadas em 100 % de intensidade durante 10 e 20 minutos (*US100-10* e *US100-20*). Também se observou que a amostra *US100-30*, para todos os tempos de estabilidade da espuma analisados (10, 15 e 20 minutos), apresentou resultados de EE superiores aos da clara de ovo em pH 4, constatando-se diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as amostras. Estes resultados indicam a efetividade do tratamento ultrassônico utilizado para esta finalidade.

A clara de ovo em seu pH natural, como já esperado, apresentou os melhores resultados de estabilidade após todos os tempos analisados, o que também foi constatado por Nakamura e Sato (1964), que ao testarem o comportamento da espuma de clara de ovo em diversos valores de pH, verificaram que o melhor resultado foi obtido em pH 8,6, que foi o pH natural da clara analisada por eles. Em todos os tempos testados no presente trabalho, a EE da clara em pH natural apresentou valores com diferença significativa ($p < 0,05$) em relação a todas as outras amostras, sendo que após os tempos de 10 e 15 minutos, não houve gotejamento de líquido.

Martínez-Velasco et al. (2018) também observaram melhora na EE da proteína de feijão fava após uso de ultrassom, o que foi atribuído principalmente ao tamanho médio das bolhas de ar formadas, uma vez que uma estrutura de menores bolhas empacotadas é mais resistente à deformação. No trabalho conduzido por estes autores, a amostra tratada com ultrassom revelou tamanho médio das bolhas de ar relativamente baixo ($d_{1,0} = 190,0 \mu m$), além de apresentar morfologia esférica, distribuição de tamanho unimodal, e lamelas finas bem definidas. Após 30 minutos, nenhum destes atributos foi significativamente alterado. Já a amostra não tratada mostrou maior tamanho médio das bolhas ($d_{1,0} = 363,5 \mu m$), morfologia distorcida, distribuição de tamanho multimodal, e lamelas mais finas e não tão bem definidas. Após 30 minutos, o

engrossamento da espuma se fez evidente, sendo que o tamanho das bolhas de ar alcançou valores ainda maiores ($d_{1,0}=482,5 \mu m$). Assim, segundo os autores, a maior e mais rápida adsorção da amostra tratada com ultrassom resulta em maior capacidade espumante, em filmes adsorvidos mais fortes e espessos, e em lamelas com maior resistência contra o colapso das bolhas.

Semelhantemente, Xiong et al. (2018), ao avaliarem o comportamento da espuma de isolado de proteína de ervilha diante de tratamento ultrassônico em 90 % de intensidade, 20 kHz e 30 minutos, observaram que a EE determinada após 10 minutos aumentou de 58 % para 73,3 %, valor próximo ao da *aquafaba* tratada neste estudo por ultrassom com intensidade de 50 % por 20 minutos (*US50-20*). Eles constataram, porém, que não houve diferença significativa da EE após 20 minutos entre as amostras tratada e não tratada. Segundo eles, estes resultados devem ser atribuídos à desnaturação parcial da proteína durante o tratamento ultrassônico, uma vez que o ultrassom induziu o desdobramento parcial da estrutura proteica. Assim, sua adsorção na interface recém-formada de ar-água é rápida, formando-se filmes viscoelásticos e aumentando a estabilidade em 10 minutos. À medida que o tempo passa, a bolha aumenta de tamanho e a maioria das moléculas de isolado de proteína de ervilha são desorvidas da interface. Como consequência, de acordo com Li et al. (2017), as moléculas proteicas interagem prontamente com outras moléculas desorvidas, formando agregados. Segundo os autores, sabendo-se que em amostras tratadas com ultrassom mais regiões hidrofóbicas se encontram expostas, a possibilidade de se formarem agregados proteicos nessas amostras é maior. A agregação das proteínas induzida pela espuma, que é capaz de reduzir severamente a atividade proteica, pode justificar a similar estabilidade da espuma entre a amostra tratada por ultrassom e a não tratada, pelo tempo mais longo de 20 minutos.

A explicação dada pelos autores citados pode justificar a menor diferença observada entre as amostras de *aquafaba* nos testes de estabilidade em 15 e 20 minutos.

4.5.3 Textura das espumas

Os resultados de dureza, consistência e adesividade das espumas podem ser vistos na Tabela 7. Os gráficos obtidos em texturômetro para a determinação dos índices em questão, encontram-se no Apêndice A.

Tabela 7 – Dureza (N), consistência (N.s) e adesividade (N.s) das amostras de espumas de *aquafaba in natura* e tratadas com ultrassom, e da clara do ovo em pH natural e em pH 4. Resultados são médias de três vias \pm desvio padrão.

Amostra	Dureza (N)	Consistência (N.s)	Adesividade (N.s)
<i>InNat</i> **	0,22 \pm 0,01 ^{d*}	1,95 \pm 0,09 ^d	0,10 \pm 0,07 ^d
<i>US50-10</i>	0,26 \pm 0,01 ^c	2,67 \pm 0,01 ^c	0,30 \pm 0,04 ^c
<i>US50-20</i>	0,32 \pm 0,01 ^b	3,48 \pm 0,05 ^b	0,39 \pm 0,01 ^{abc}
<i>US50-30</i>	0,28 \pm 0,01 ^{bc}	3,07 \pm 0,15 ^{bc}	0,35 \pm 0,03 ^{bc}
<i>US100-10</i>	0,44 \pm 0,01 ^a	4,88 \pm 0,11 ^a	0,47 \pm 0,02 ^a
<i>US100-20</i>	0,43 \pm 0,01 ^a	4,65 \pm 0,17 ^a	0,47 \pm 0,03 ^{ab}
<i>US100-30</i>	0,44 \pm 0,01 ^a	4,89 \pm 0,15 ^a	0,49 \pm 0,01 ^a
Clara	2,14 \pm 0,10	21,33 \pm 2,50	0,61 \pm 0,11
Clara pH 4	1,14 \pm 0,02	11,24 \pm 0,38	0,54 \pm 0,08

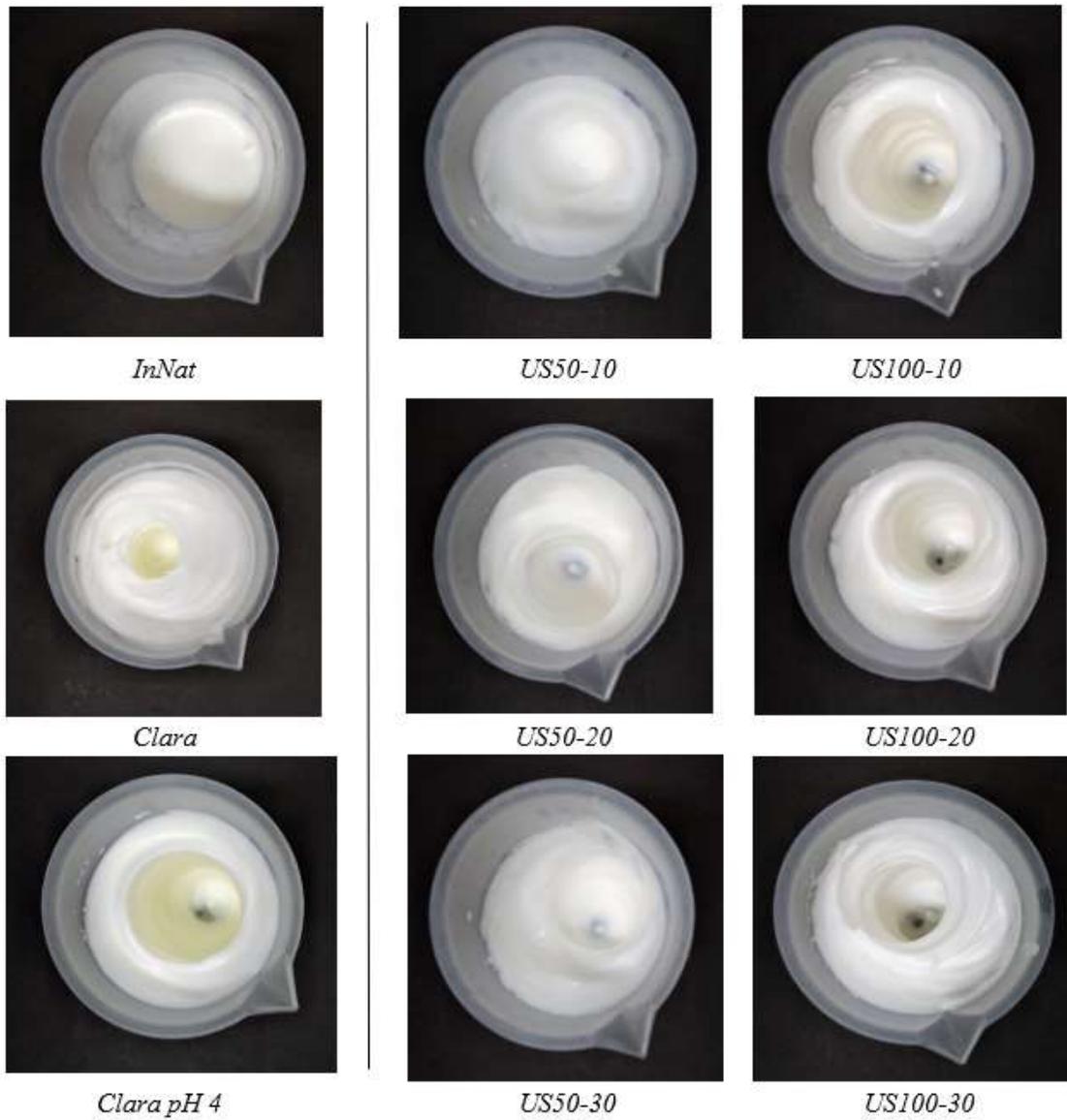
*Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as médias ao nível de 5 % de significância.

**Amostra *in natura* (*InNat*); ultrassom com 50 % de intensidade por 10 minutos (*US50-10*); ultrassom com 50 % de intensidade por 20 minutos (*US50-20*); ultrassom com 50 % de intensidade por 30 minutos (*US50-30*); ultrassom com 100 % de intensidade por 10 minutos (*US100-10*); ultrassom com 100 % de intensidade por 20 minutos (*US100-20*); ultrassom com 100 % de intensidade por 30 minutos (*US100-30*).

Os resultados de textura instrumental evidenciam o efeito favorável do ultrassom em amostras de *aquafaba*, o que já havia sido observado nos testes de capacidade de formação e estabilidade das espumas. Aplicando-se análise estatística apenas entre as amostras de *aquafaba*, foi possível observar que a tanto a dureza como a consistência das espumas de *aquafaba* tratadas por ultrassom apresentaram aumento significativo ($p < 0,05$) em relação aos resultados da espuma de *aquafaba in natura*, sendo que as amostras tratadas com 100 % de intensidade, para todos os tempos avaliados, não apresentaram aumento significativo ($p < 0,05$) entre si.

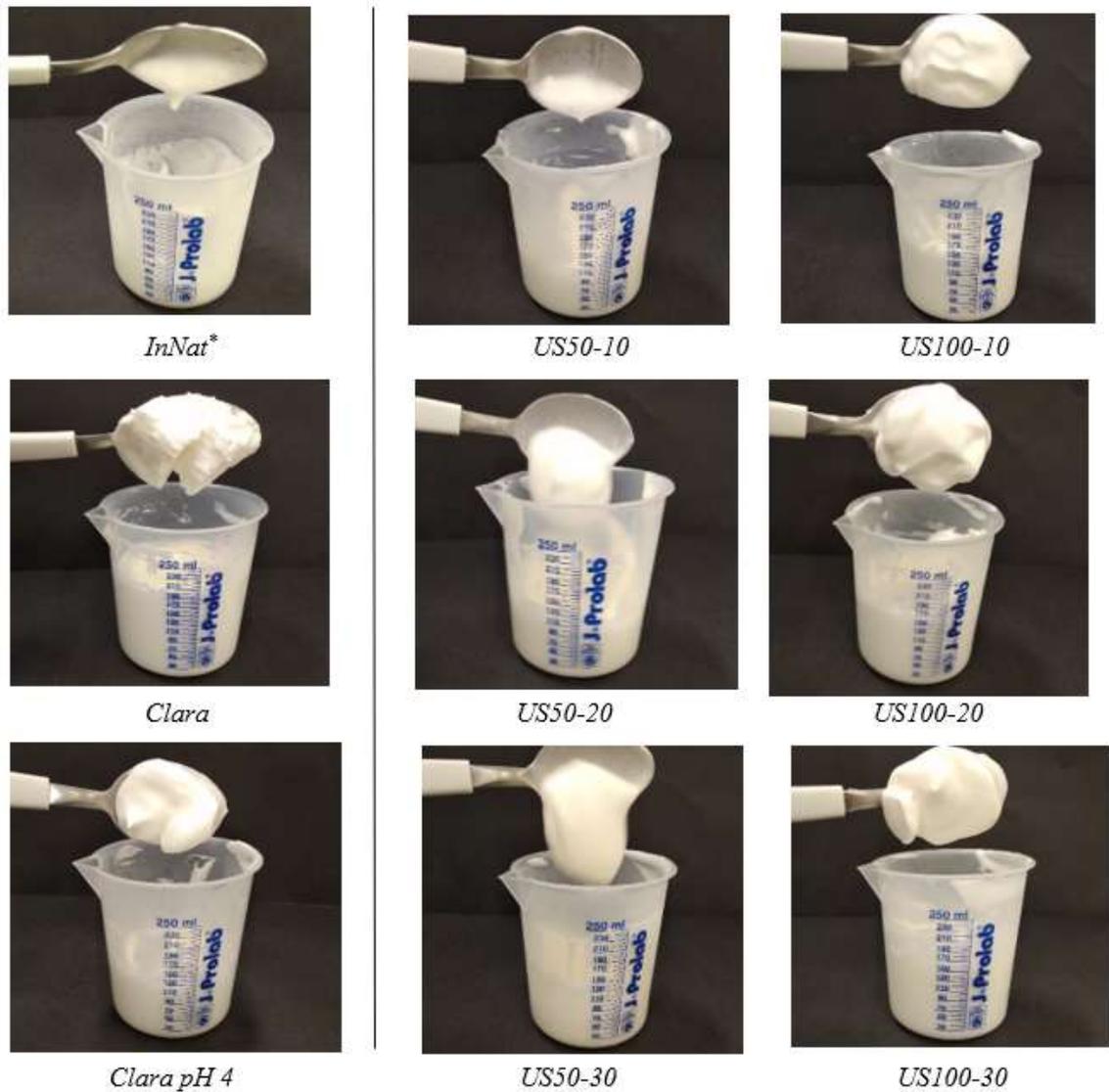
Quanto à adesividade, também se observou que todas as espumas de amostras tratadas com ultrassom mostraram aumento significativo ($p < 0,05$) em relação à amostra *in natura*, sendo que as amostras tratadas em mesma intensidade, não apresentaram variação nos resultados. Ou seja, não houve melhora significativa na textura das espumas ao se aumentar o tempo do tratamento ultrassônico. Para visualização da textura das espumas das amostras de *aquafaba in natura* e tratadas com ultrassom, bem como da clara do ovo em pH natural e em pH 4, logo após o batimento, foram feitos registros fotográficos das espumas formadas, sendo apresentados nas Figuras 17 e 18.

Figura 17 – Vista superior das espumas das amostras de *aquafaba in natura* e tratadas com ultrassom, e da clara do ovo em pH natural e em pH 4 logo após o batimento.



*Amostra *in natura* (*InNat*); ultrassom com 50 % de intensidade por 10 minutos (*US50-10*); ultrassom com 50 % de intensidade por 20 minutos (*US50-20*); ultrassom com 50 % de intensidade por 30 minutos (*US50-30*); ultrassom com 100 % de intensidade por 10 minutos (*US100-10*); ultrassom com 100 % de intensidade por 20 minutos (*US100-20*); ultrassom com 100 % de intensidade por 30 minutos (*US100-30*).

Figura 18 – Comportamento das espumas das amostras de *aquafaba in natura* e tratadas com ultrassom, e da clara do ovo em pH natural e em pH 4, após retiradas de recipiente com uma colher.



*Amostra *in natura* (*InNat*); ultrassom com 50 % de intensidade por 10 minutos (*US50-10*); ultrassom com 50 % de intensidade por 20 minutos (*US50-20*); ultrassom com 50 % de intensidade por 30 minutos (*US50-30*); ultrassom com 100 % de intensidade por 10 minutos (*US100-10*); ultrassom com 100 % de intensidade por 20 minutos (*US100-20*); ultrassom com 100 % de intensidade por 30 minutos (*US100-30*).

A partir das imagens das espumas de *aquafaba*, pode-se verificar que, à medida que a intensidade do ultrassom aumentou, bem como seu tempo de aplicação, mais firmes, rígidas e volumosas as espumas se mostraram. Na Figura 17, observa-se que as espumas de *aquafaba* tratadas, bem como espumas de clara de ovo, se mantiveram em formato espiral após o uso da batedeira, sendo que em algumas imagens o fundo preto da bancada pode ser visto no centro dos recipientes. Diante dos resultados de formação, estabilidade e textura das espumas, este comportamento já era esperado, evidenciando o que já se constatou.

A partir da Figura 18, que mostra as espumas recolhidas com uma colher, pode-se observar que tanto a amostra de *aquafaba in natura* quanto as amostras tratadas com ultrassom em 50 % de intensidade, não resistiram à força gravitacional, não permanecendo na colher. Já as amostras tratadas com 100 % de intensidade, assim como ambas as amostras de clara de ovo, se mantiveram na colher, provando resistência, solidez e firmeza.

4.5.4 Cor das espumas

A Tabela 8 mostra os resultados obtidos nas análises de cor das espumas, realizadas em colorímetro *Hunter Lab* e expressas em L^* , a^* e b^* .

Tabela 8 – Valores de cor das amostras de espumas de *aquafaba in natura* e tratadas com ultrassom, expressos em L^* , a^* e b^* . Análises foram realizadas em colorímetro *Hunter Lab*, e resultados são médias de três vias \pm desvio padrão.

Amostra	L^*	a^*	b^*
<i>InNat</i> **	81,86 \pm 0,04 ^{f*}	-0,59 \pm 0,01 ^d	5,41 \pm 0,04 ^c
<i>US50-10</i>	86,74 \pm 0,01 ^e	-0,43 \pm 0,01 ^b	6,33 \pm 0,01 ^a
<i>US50-20</i>	87,67 \pm 0,04 ^d	-0,44 \pm 0,01 ^{bc}	5,57 \pm 0,02 ^c
<i>US50-30</i>	86,95 \pm 0,01 ^e	-0,47 \pm 0,01 ^c	6,48 \pm 0,01 ^a
<i>US100-10</i>	88,65 \pm 0,02 ^b	-0,45 \pm 0,01 ^{bc}	4,97 \pm 0,02 ^d
<i>US100-20</i>	88,37 \pm 0,03 ^{bc}	-0,44 \pm 0,01 ^{bc}	4,99 \pm 0,01 ^d
<i>US100-30</i>	87,85 \pm 0,02 ^d	-0,46 \pm 0,01 ^{bc}	5,45 \pm 0,01 ^c
Clara	87,99 \pm 0,02 ^{cd}	0,01 \pm 0,01 ^a	4,67 \pm 0,01 ^e
Clara pH 4	89,72 \pm 0,37 ^a	-1,67 \pm 0,02 ^e	5,90 \pm 0,14 ^b

*Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as médias ao nível de 5 % de significância.

**Amostra *in natura* (*InNat*); ultrassom com 50 % de intensidade por 10 minutos (*US50-10*); ultrassom com 50 % de intensidade por 20 minutos (*US50-20*); ultrassom com 50 % de intensidade por 30 minutos (*US50-30*); ultrassom com 100 % de intensidade por 10 minutos (*US100-10*); ultrassom com 100 % de intensidade por 20 minutos (*US100-20*); ultrassom com 100 % de intensidade por 30 minutos (*US100-30*).

Diante dos resultados obtidos, pode-se observar que a aplicação de ultrassom também favoreceu a cor das espumas de *aquafaba* formadas, sendo que a luminosidade (L^*) das espumas de amostras que sofreram tratamento ultrassônico, aumentou significativamente ($p < 0,05$), aproximando-se dos valores obtidos para as espumas de clara de ovo. As amostras tratadas em 100 % de intensidade por 20 e 30 minutos (*US100-20* e *US100-30*) não apresentaram diferença significativa na luminosidade ($p > 0,05$) em relação à clara de ovo em pH natural.

Quanto aos valores de a^* , que representam a intensidade de cor vermelha, observou-se que houve variação dos resultados de maneira significativa ($p < 0,05$) após a aplicação de

ultrassom, sendo que as amostras tratadas apresentaram resultados mais próximos ao valor obtido para clara de ovo em seu pH natural. Em relação aos valores de b^* , não se observou que houve melhora após o tratamento ultrassônico. A amostra não tratada não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) em relação a *aquafaba* tratada por maior intensidade e tempo.

Pôde ser observado diferença visível na cor das espumas comparando-se as amostras antes e depois do tratamento de ultrassom, o que se deve, provavelmente, a variação na luminosidade das amostras. Entre as espumas de *aquafaba* tratada, não se observou variação a olho nu.

4.5.5 Visualização microscópica das bolhas

A Figura 19 mostra as imagens microscópicas das espumas das amostras de *aquafaba in natura* e tratadas com ultrassom, bem como da clara do ovo em seu pH natural e em pH 4. As análises foram conduzidas logo após o batimento das espumas, em aproximação de 76x.

Figura 19 – Imagem de equipamento de medição tridimensional óptico das espumas das amostras de *aquafaba in natura* e tratadas com ultrassom e da clara do ovo em pH natural e em pH 4, em aproximação de 76x.



*Amostra *in natura* (**InNat**); ultrassom com 50 % de intensidade por 10 minutos (**US50-10**); ultrassom com 50 % de intensidade por 20 minutos (**US50-20**); ultrassom com 50 % de intensidade por 30 minutos (**US50-30**); ultrassom com 100 % de intensidade por 10 minutos (**US100-10**); ultrassom com 100 % de intensidade por 20 minutos (**US100-20**); ultrassom com 100 % de intensidade por 30 minutos (**US100-30**).

A partir das imagens microscópicas obtidas, pode-se observar que a espuma formada pela amostra de *aquafaba in natura* apresentou bolhas de maiores diâmetros em relação a todas as amostras tratadas com ultrassom e às amostras de clara de ovo, com bolhas chegando a até 637 μm de diâmetro. Observa-se também que, em relação às outras amostras, as bolhas da amostra não tratada não apresentaram distribuição uniforme. Ao se aplicar ultrassom com 50 % de intensidade, percebe-se que a distribuição das bolhas se tornou mais uniforme, tornando-se mais regular à medida que se aumentou o tempo de aplicação do ultrassom.

Já nas imagens que mostram as espumas formadas por amostras tratadas com ultrassom em 100 % de intensidade apresentaram tamanho de bolha ainda menor. Além disso, mostraram maior uniformidade na sua distribuição, apresentando aspecto visual similar às espumas da

clara de ovo em pH natural e em pH 4. O menor tamanho de bolhas e a amostra mais uniformemente distribuída foi a da clara de ovo em pH natural, a qual é referência em formação de espuma.

A mesma observação no aspecto das bolhas foi feita por Tan et al. (2016), que analisaram as espumas de proteína do soro do leite. Eles verificaram que a amostra não tratada apresentou bolhas de maior tamanho e distribuição não uniforme, sendo que as amostras tratadas com ultrassom proporcionaram espumas com bolhas menores e mais homogêneas. À medida que a intensidade e o tempo de aplicação de ultrassom aumentaram, foram observadas bolhas mais finas e mais uniformemente distribuídas. Segundo os autores, a cavitação gerada pelas ondas ultrassônicas pode induzir a formação de bolhas de menores tamanhos em suspensões proteicas, fazendo com que as bolhas se rompam em mais bolhas de tamanhos menores. Isso se dá uma vez que as proteínas sofrem desnaturação parcial, fazendo com que a espuma seja mais estável. De acordo com Bennion et al. (1997), enquanto bolhas finas e de tamanho uniforme promovem uma mistura estável e produzem um produto de boa textura, variações no tamanho das bolhas e a presença de bolhas grandes resultará em uma mistura instável e promoverá textura grosseira e desigual ao produto.

Martínez-Velasco et al. (2018), que observaram as bolhas de espumas formadas por amostras de proteína de feijão fava, também verificaram que o uso do ultrassom de alta intensidade reduziu o diâmetro médio das bolhas, passando de 363,5 μm na amostra não tratada para 190 μm na amostra tratada.

4.6 Caracterização dos merengues

Os resultados de dureza, consistência e adesividade, bem como os valores de cor, expressos em L^* , a^* e b^* , para os merengues elaborados com clara de ovo e com *aquafaba in natura* e tratada com ultrassom em 100 % de intensidade de onda ultrassônica por 30 minutos (*US100-30*), estão apresentados na Tabela 9. Os gráficos obtidos em texturômetro para a determinação dos índices relacionados à textura das amostras, encontram-se no Apêndice B.

Tabela 9 – Valores de cor, expressos em L^* , a^* e b^* , de dureza (N), consistência (N.s) e adesividade (N.s) dos merengues elaborados com clara de ovo, *aquafaba in natura* e *aquafaba* tratada com ultrassom em 100% de intensidade por 30 minutos (*US100-30*). Resultados são médias de três vias \pm desvio padrão.

Amostra	L^*	a^*	b^*	Dureza (N)	Consistência (N.s)	Adesividade (N.s)
<i>InNat</i> **	57,25 \pm 0,15 ^{c*}	-0,87 \pm 0,01 ^c	2,42 \pm 0,06 ^c	0,33 \pm 0,02 ^b	2,95 \pm 0,10 ^b	0,01 \pm 0,01 ^c
<i>US100-30</i>	84,27 \pm 0,04 ^b	-0,42 \pm 0,01 ^a	4,76 \pm 0,10 ^b	0,27 \pm 0,01 ^b	3,06 \pm 0,17 ^b	0,48 \pm 0,03 ^b
Clara	87,27 \pm 0,02 ^a	-0,56 \pm 0,01 ^b	5,44 \pm 0,01 ^a	1,09 \pm 0,06 ^a	11,43 \pm 0,49 ^a	0,83 \pm 0,11 ^a

*Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as médias ao nível de 5 % de significância.

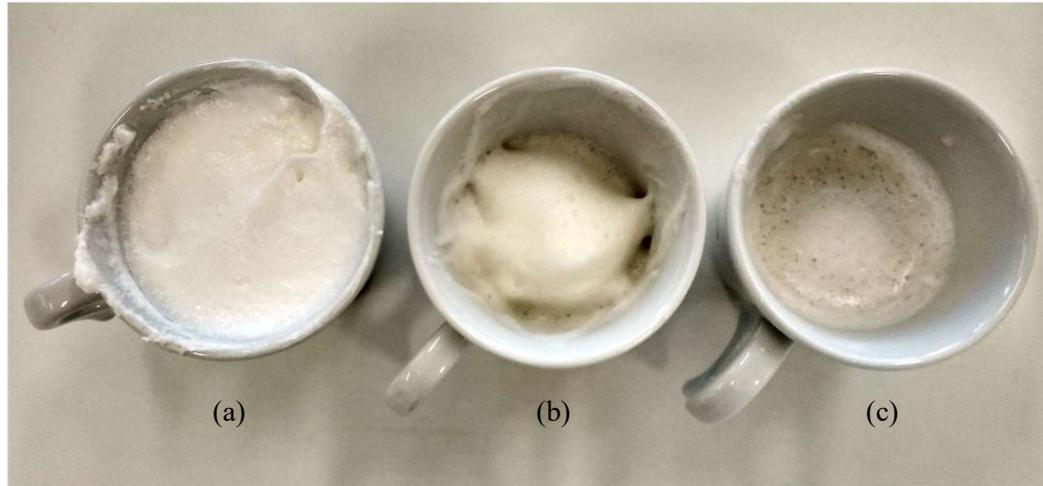
**Amostra *in natura* (*InNat*); ultrassom com 100 % de intensidade por 30 minutos (*US100-30*).

Através da análise dos resultados obtidos pode-se constatar que a aplicação de ultrassom na *aquafaba* favoreceu as propriedades de cor e textura na elaboração de merengue francês. A luminosidade (L^*) apresentada pelo merengue de *aquafaba* tratada (*US100-30*) aumentou em aproximadamente 47 % em relação ao de amostra *in natura*, sendo que, apesar de apresentar diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao valor obtido para o merengue de clara de ovo, aproximou-se muito deste valor de referência. Além disso, o efeito favorável relacionado à cor também foi constatado a partir dos valores a^* e b^* . Estes valores apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) comparando-se os merengues feitos com amostra tratada e não tratada, sendo que os resultados para o merengue feito com *aquafaba* tratada, apresentou resultados mais próximos aos do merengue feito com clara de ovo.

Em relação à textura dos merengues de *aquafaba*, os parâmetros de dureza e consistência não aumentaram significativamente ($p > 0,05$) após o tratamento com ultrassom. Porém, a adesividade do merengue feito com a amostra de *aquafaba* tratada apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) em relação à adesividade do merengue produzido com *aquafaba in natura*. A textura do merengue feito com clara de ovo apresentou os melhores resultados, os quais foram melhores significativamente ($p < 0,05$) em relação aos merengues de *aquafaba*.

A Figura 20 mostra os merengues elaborados com clara de ovo, *aquafaba* tratada com ultrassom em 100 % de intensidade por 30 minutos (*US100-30*) e *aquafaba in natura*.

Figura 20 – Merengues elaborados com amostras de clara de ovo (a) de *aquafaba* tratada com ultrassom em 100% de intensidade por 30 minutos (b) e de *aquafaba in natura* (c).



4.7 Índice de atividade emulsificante

Os valores do índice de atividade emulsificante (IE) obtidos para as amostras de *aquafaba in natura* e tratadas com ultrassom, bem como para a gema de ovo em pH natural (pH médio de 6,4) e em pH 4, reduzido com ácido cítrico, encontram-se na Tabela 10. O IE foi analisado após os tempos de 1 hora, 12 horas, 24 horas e 4 dias.

Tabela 10 – Índice de atividade emulsificante, em percentual, das amostras de *aquafaba in natura* e tratadas com ultrassom, e da gema do ovo em pH natural e em pH 4, para os tempos de 1 hora, 12 horas, 24 horas e 4 dias. Resultados são médias de seis vias \pm desvio padrão.

Amostra	IE (%) após 1 hora	IE (%) após 12 horas	IE (%) após 24 horas	IE (%) após 4 dias
<i>InNat</i> **	100,0 \pm 0,0 ^{Aa*}	96,5 \pm 0,8 ^{Bb}	91,8 \pm 1,2 ^{Cb}	88,0 \pm 2,1 ^{Db}
<i>US50-10</i>	100,0 \pm 0,0 ^{Aa}	98,3 \pm 2,1 ^{Aab}	97,5 \pm 2,5 ^{Aa}	96,2 \pm 3,9 ^{Aa}
<i>US50-20</i>	100,0 \pm 0,0 ^{Aa}	98,5 \pm 2,1 ^{Aab}	97,4 \pm 3,7 ^{Aa}	97,4 \pm 3,7 ^{Aa}
<i>US50-30</i>	100,0 \pm 0,0 ^{Aa}	98,5 \pm 2,1 ^{Aab}	97,9 \pm 3,0 ^{Aa}	97,3 \pm 3,8 ^{Aa}
<i>US100-10</i>	100,0 \pm 0,0 ^{Aa}	99,3 \pm 1,5 ^{Aab}	98,4 \pm 2,5 ^{Aa}	97,5 \pm 3,6 ^{Aa}
<i>US100-20</i>	100,0 \pm 0,0 ^{Aa}	99,3 \pm 1,5 ^{Aab}	98,5 \pm 2,1 ^{Aa}	97,8 \pm 2,8 ^{Aa}
<i>US100-30</i>	100,0 \pm 0,0 ^{Aa}	99,3 \pm 1,5 ^{Aab}	98,8 \pm 2,2 ^{Aa}	98,1 \pm 2,8 ^{Aa}
Gema	100,0 \pm 0,0 ^{Aa}	100,0 \pm 0,0 ^{Aa}	100,0 \pm 0,0 ^{Aa}	100,0 \pm 0,0 ^{Aa}
Gema pH 4	100,0 \pm 0,0 ^{Aa}	100,0 \pm 0,0 ^{Aa}	100,0 \pm 0,0 ^{Aa}	100,0 \pm 0,0 ^{Aa}

*Letras maiúsculas diferentes para uma mesma amostra (mesma linha) indicam diferenças significativas entre as médias ao nível de 5 % de significância. Letras minúsculas diferentes para um mesmo tempo (mesma coluna) indicam diferenças significativas entre as médias ao nível de 5 % de significância.

**Amostra *in natura* (*InNat*); ultrassom com 50 % de intensidade por 10 minutos (*US50-10*); ultrassom com 50 % de intensidade por 20 minutos (*US50-20*); ultrassom com 50 % de intensidade por 30 minutos (*US50-30*); ultrassom com 100 % de intensidade por 10 minutos (*US100-10*); ultrassom com 100 % de intensidade por 20 minutos (*US100-20*); ultrassom com 100 % de intensidade por 30 minutos (*US100-30*).

Assim como a capacidade espumante, a capacidade emulsificante da *aquafaba* também foi favorecida pelo uso do ultrassom. Diante dos resultados do índice de atividade emulsificante (IE), apesar de não ter ocorrido separação de fases de nenhuma das amostras após 1 hora, foi observado que, após 12 horas, todas as amostras apresentaram mínima separação da fase aquosa na parte inferior das provetas, não havendo diferença significativa entre elas ($p > 0,05$). Após 24 horas, foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) deste parâmetro entre a amostra *in natura*, que apresentou percentual de IE de 91,75%, e todas as outras amostras tratadas por ultrassom. O mesmo foi constatado ao se avaliar este índice após 4 dias em temperatura ambiente, sendo que o resultado para a *aquafaba in natura* caiu para 88 %. A Figura 21 mostra as emulsões das amostras de *aquafaba* após 4 dias.

Figura 21 – Emulsões de amostras de *aquafaba in natura* e tratadas com ultrassom após 4 dias em temperatura ambiente, onde se observa separação das fases apenas na emulsão de *aquafaba in natura*.



¹Amostra *in natura* (**InNat**); ultrassom com 50 % de intensidade por 10 minutos (**US50-10**); ultrassom com 50 % de intensidade por 20 minutos (**US50-20**); ultrassom com 50 % de intensidade por 30 minutos (**US50-30**); ultrassom com 100 % de intensidade por 10 minutos (**US100-10**); ultrassom com 100 % de intensidade por 20 minutos (**US100-20**); ultrassom com 100 % de intensidade por 30 minutos (**US100-30**).

Pode ser visto através dos resultados que, para todas as amostras tratadas por ultrassom, após 1 hora, 12 horas, 24 horas e 4 dias, não foi observada diferença significativa em relação à gema em seu pH natural (pH médio de 6,4) e à gema em pH 4, as quais não apresentaram separação de fases em nenhum dos tempos avaliados. Estes resultados destacam a ótima

capacidade emulsificante da *aquafaba*, e a eficácia do uso do ultrassom para melhorar o indicador em questão.

Ao se analisar o IE para uma mesma amostra ao longo do tempo, observa-se que apenas a emulsão formada com *aquafaba in natura* apresentou diferença significativa entre todos os resultados percentuais após 1 hora, 12 horas, 24 horas e 4 dias.

Os resultados encontrados no presente trabalho para *aquafaba in natura* foram superiores aos encontrados por Mustafa et al. (2018), os quais avaliaram a capacidade emulsificante de *aquafaba* provenientes de diferentes marcas de grão-de-bico enlatado. Os mesmos, após 30 minutos, obtiveram IE variando entre 60 % e 80 %.

Malik, Sharma e Saini (2017), ao estudarem isolado de proteína de girassol, verificaram que após aplicação de ultrassom a 20 kHz houve aumento do índice de atividade emulsificante. Assim como observado para características como solubilidade, hidrofobicidade, e, conseqüentemente, para capacidade espumante, os autores observaram que a capacidade emulsificante da amostra aumentou diante do aumento do tempo de tratamento ultrassônico, até 20 minutos. Para os autores, o uso de ultrassom modificou a estrutura do isolado de proteína de girassol por desnaturação e polidispersão, o que aumentou a flexibilidade e a hidrofobicidade. Assim, foi possível que as moléculas de proteínas desnaturadas fossem adsorvidas na interface óleo-água.

Ao estudarem a capacidade emulsificante de agregado de proteína de soja, Hu et al. (2017) constataram que, após a aplicação de ultrassom a 20 kHz por 5, 20 e 40 minutos, houve aumento no IE, sendo que, à medida que se aumentou o tempo de tratamento, melhor era o resultado. Segundo os autores, estes valores podem ser consequência da desnaturação parcial das estruturas terciárias e quaternárias das proteínas, o que pode promover melhor potencial de adsorção na interface das gotículas e, assim, aumentar a capacidade emulsificante.

Assim como para a capacidade espumante, segundo Townsend e Nakai (1983), tem-se observado positivas correlações entre estabilidade emulsificante e hidrofobicidade, bem como entre estabilidade emulsificante e solubilidade proteica. Uma vez que, no presente trabalho, observou-se que o uso ultrassom não apresentou aumento na solubilidade proteica das amostras de *aquafaba*, é provável que a melhora encontrada no índice de atividade emulsificante seja principalmente resultado de provável aumento da hidrofobicidade superficial, bem como da diminuição do tamanho das partículas.

Diante dos resultados, tanto do comportamento das emulsões como do comportamento das espumas, observou-se que existem diferenças na dependência dessas propriedades em

relação ao uso do ultrassom, sendo que a melhora da capacidade espumante se mostrou mais intensa em relação à melhora da capacidade emulsificante das proteínas da *aquafaba*. Uma vez que o ultrassom afeta, além de outros fatores, a hidrofobicidade das proteínas, esse fato pode ser justificado pelo estudo de Kato et al. (1983). Eles constataram uma diferença na dependência das propriedades espumante e emulsificante em relação à hidrofobicidade superficial da proteína, sugerindo que o desdobramento proteico é mais extenso na interface ar-água do que na interface óleo-água.

Capítulo 5 – Considerações Finais

Este trabalho, que estudou a água de cozimento do grão-de-bico, também conhecida como *aquafaba*, teve como objetivo avaliar os efeitos causados pela utilização do ultrassom nas propriedades funcionais espumante e emulsificante deste produto. Os resultados mostraram que a utilização desta tecnologia favorece as respectivas propriedades, beneficiando o uso da *aquafaba* para fins alimentícios.

Quanto à composição centesimal da *aquafaba*, foi constatado que a mesma apresentou 97,06 % de umidade e, em base seca, 17,79 % de proteína, 2,49 % de lipídeos, 69,88 % de carboidratos e 9,83 % de resíduo mineral. Não foi detectado teor de fibras.

A capacidade de formação de espuma da *aquafaba* aumentou de 256 % para 548 % após o tratamento por ultrassom em 100 % de intensidade de onda ultrassônica durante 30 minutos, e a estabilidade da espuma avaliada após 10 minutos, aumentou de 46 % para 93 % após o tratamento. Estes resultados obtidos para as espumas de *aquafaba* após o tratamento com ultrassom apresentaram valores superiores ou sem diferença significativa em relação aos resultados da espuma da clara de ovo em pH 4. A cor e a textura das espumas de *aquafaba* também foram beneficiadas pelo uso do ultrassom, as quais se aproximaram dos valores obtidos para as espumas de clara de ovo. Os valores de adesividade da espuma, para todos os parâmetros de intensidade do ultrassom e tempo de tratamento avaliados, aumentaram significativamente em relação ao valor para a espuma de *aquafaba in natura*, sendo que para a dureza, apenas os resultados das amostras de *aquafaba* tratadas em 100 % de intensidade aumentaram significativamente.

Os resultados de cor e textura das amostras de merengue francês elaborados com *aquafaba* mostraram que a aplicação de ultrassom na mesma gera efeitos favoráveis ao utilizá-la para este fim. Os parâmetros de cor (luminosidade, intensidade de cor amarela e intensidade de cor vermelha) e de textura (adesividade) do merengue elaborado com *aquafaba* tratada apresentaram resultados mais próximos ao merengue elaborado com clara de ovo.

O índice de atividade emulsificante das amostras de *aquafaba* também aumentou significativamente após o tratamento ultrassônico, para todos os valores de intensidade e tempo avaliados. Para a avaliação após 4 dias, este parâmetro aumentou de 88% para 98,1% após o uso de ultrassom em intensidade de 100 % durante 30 minutos.

Quanto ao teor de proteína solúvel, viscosidade e massa específica das amostras de *aquafaba*, não se observou relação dos resultados com os efeitos causados nas capacidades espumante e emulsificante diante da aplicação de ondas ultrassônicas.

Os resultados mostraram que a variação da intensidade utilizada no ultrassom apresentou grande influência nas propriedades espumante e emulsificante da *aquafaba*, sendo que o aumento da intensidade de 50 % para 100 % apresentou efeitos favoráveis. Já a variação do tempo de tratamento não afetou significativamente a maioria dos parâmetros analisados, gerando pouco efeito nas propriedades em questão. Diante dos resultados obtidos e considerando-se que o aumento de tempo e intensidade de tratamento ultrassônico gera maior gasto energético, sugere-se que, dentro dos parâmetros avaliados neste trabalho, a amostra de *aquafaba* tratada em 100 % de intensidade durante 10 minutos, seja utilizada na elaboração de alimentos com fins comerciais.

Com base nos resultados obtidos, este estudo apresenta forte potencial para o mercado atual, uma vez que o uso do ultrassom é um equipamento de fácil acesso, e se mostrou eficiente na melhora de propriedades funcionais da *aquafaba* que afetam diretamente na textura, qualidade, sabor e elaboração de alimentos que a utilizam. Assim, pode ser evitada a aplicação de aditivos artificiais para este fim e, frente ao emergente interesse por produtos veganos, promover a disseminação deste tipo de alimento.

Sugestões para Trabalhos Futuros

Com intuito de se complementar o estudo presente, sugere-se os seguintes trabalhos futuros:

- realizar otimização de tempo e de materiais para a obtenção de *aquafaba*, visando seu uso em restaurantes veganos;
- avaliar e comparar as espumas de *aquafaba in natura* e tratadas com ultrassom em diferentes pHs;
- avaliar os efeitos do ultrassom na *aquafaba* quanto à massa molar, hidrofobicidade superficial, tamanho de partícula;
- realizar estudo sobre otimização dos parâmetros de intensidade de onda ultrassônica e tempo de aplicação de ultrassom em *aquafaba*, buscando melhor custo-benefício;
- testar a substituição do ovo por *aquafaba in natura* e tratada com ultrassom em diferentes receitas, e avaliar quanto à textura, sabor e aceitabilidade;
- avaliar a utilização de pós-tratamento de pasteurização e estudar efeitos na conservação do produto;
- estudar possíveis processos a serem utilizados para facilitar comercialização do produto;
- estudar processos para desidratação e comercialização otimizada da *aquafaba*.

Referências Bibliográficas

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 5849: Tintas – Determinação de viscosidade pelo copo Ford. Rio de Janeiro: ABNT, 2015.
- AHMED, J. et al. **Novel food processing: effects on rheological and functional properties**. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2009. p. 65-82.
- ALAJAJI, S. A.; EL-ADAWY, T. A. Nutritional composition of chickpea (*Cicer arietinum* L.) as affected by microwave cooking and other traditional cooking methods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 8, p. 806–812, 2006.
- ALISSANDRAKIS E. et al. Ultrasound-assisted extraction of volatile compounds from citrus flowers and citrus honey. **Food Chemistry**. v. 82, p. 575–582, 2003.
- ALTSCHUL, A. M.; WILCKE, H. L. **New protein foods: seed storage proteins**. Londres: Academic Press, 1985. p. 107-179.
- AOAC. **Official methods of analysis of AOAC international**. 16th ed. Maryland: Assoc. Off. Analyt. Chemists, 2 v. 1997.
- ARZENI, C.; PÉREZ, O. E.; PILOSOFF, A. M. R. Functionality of egg white proteins as affected by high intensity ultrasound. **Food Hydrocolloids**. v. 29, p. 308-316, 2012.
- ARZENI, C. et al. Comparative study of high intensity ultrasound effects on food proteins functionality. **Journal of Food Engineering**. v. 108, p. 463–472, 2012.
- AWAD et al. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. **Food Research International**. v. 48, p. 410–427, 2012.
- BAI, L. et al. Comparison of emulsifying properties of food-grade polysaccharides in oil-in-water emulsions: gum arabic, beet pectin, and corn fiber gum. **Food Hydrocolloids**. v. 66, p. 144-153, 2017.
- BANIEL, A. et al. Functional properties of glycosylated derivatives of the 11S storage protein from pea (*Pisum sativum* L.). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. v. 40, n. 2, p. 200-205, 1992.

BECHER, P. **Encyclopedia of Emulsion Technology**. Vol. 4. New York: Marcel Dekker, 1996, p. 1-62.

BEDIN, E. et al. Vegan foods: Mimic meat products in the Italian market. **International Journal of Gastronomy and Food Science**. v. 13, p. 1-9, 2018.

BENNION, E. B.; BENT, A. J.; BAMFORD, G.S.T. **The technology of cake making**. 6th ed. Reino Unido: Blackie Academic & Professional, 1997.

BIRD, L. G. et al. Products of chickpea processing as texture improvers in gluten-free bread. **Food Science and Technology International**. v. 0, n. 0, p. 1–9, 2017.

BLACK, G. W. Guidelines for food processing safety. **Georgia Department of Agriculture**. Atlanta, Georgia, 2015. 3p.

BOYE, J.; ZARE, F.; PLETCH, A. Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. **Food Research International**. v. 43, p. 414-431, 2010.

CABREDO-PINILLOS, S. et al. Ultrasound-assisted extraction of volatile compounds from wine samples: optimisation of the method. **Talanta**. v. 69, p. 1123–1129, 2006.

CAMERON, M.; McMASTER, L.D.; BRITZ, T.J. Impact of ultrasound on dairy spoilage microbes and milk components. **Dairy Science & Technology**. v. 89, p. 83–98, 2009.

CARREIRO, J. Mercado vegano cresce 40% ao ano no Brasil. 2017. Disponível em: <<https://emails.estadao.com.br/blogs/comida-de-verdade/mercado-vegano-cresce-40-ao-ano-no-brasil/>>. Acesso em: 05 fev. 2019.

CHAVAN, J. K. et al. Biochemistry and technology of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 25, n. 2, p. 107–158, 1987.

CHEMAT, F.; ZILL-E-HUMA; KHAN, M. K. Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**. v. 18, p. 813–835, 2011.

CHEN, F. et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography–mass spectrometry. **Ultrasonics Sonochemistry**. v. 14, p. 767–778, 2007.

CHERIAN, B. M. et al. Use of Saponins as an Effective Surface Modifier in Cellulose Nanocomposites. **Molecular Crystals and Liquid Crystals**. v. 556, n. 1, p. 233-245, 2012.

COKE, M. et al. The influence of surface composition and molecular diffusion on the stability of foams formed from protein/surfactant mixture. **Journal of Colloid and Interfacial Science**. v. 138, n. 2, p. 489-503, 1990.

COOPER, D. G.; GOLDENBERG, B. G. Surface-active agents from two *Bacillus* species. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 53, n. 2, p. 224-229, 1987.

Cornell University. 2018. **Acid and acidified food**. Disponível em: <<https://cfvc.foodscience.cals.cornell.edu/acid-and-acidified-foods/>>. Acesso em: 19 jun. 2018.

COSTA, G. E A. et al. Chemical composition, dietary fiber and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. **Food Chemistry**, v. 94, n. 3, p. 327–330, 2006.

DAMIAN, J. J.; HUO, S.; SERVENTI, L. Phytochemical content and emulsifying ability of pulses cooking water. **European Food Research and Technology**. p. 1-9, 2018.

DAMODARAN, S.; PAFAR, A. **Food proteins and their applications**. New York: Marcel Dekker, 1997. p. 11-21.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. LL.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos**. 4ª ed. São Paulo: Artmed, 2010. p. 211-272.

DEVER, Z. **Aquafaba**: sweet and savory vegan recipes made egg-free using the magic of bean water. Woodstock, Virginia: Vegan Heritage Press, 2016.

Department for Environment, Food and Rural Affairs. Report, questionnaire and data tables following Survey of Public Attitudes and Behaviours toward the Environment (JN-45105255). 2007. Disponível em: <<https://webarchive.nationalarchives.gov.uk>>. Acesso em: 05 fev. 2019.

EL-ADAWY, T. A. Nutritional composition and antinutritional factors of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) undergoing different cooking methods and germination. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 57, n. 1, p. 83–97, 2002.

EMBRAPA. **Pesquisa brasileira desenvolve grão-de-bico mirando mercado asiático.**

2017. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/26381597/pesquisa-brasileira-desenvolve-grao-de-bico-mirando-mercado-asiatico>>. Acesso em: 22 jan. 2018.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nation. **FAOSTAT.** 2016.

Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: 22 jan. 2018.

FDA. Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies – ohmic and inductive heating: 9p. 2000.

FELLOWS, P. J. **Food processing technology: principles and practice.** 4th ed. Cambridge: Elsevier, 2017. p. 90-104.

FENG, H; BARBOSA-CÁNOVAS, G, V.; WIESS, J. **Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing.** New York: Springer, 2011. p. 1-106.

FOEGEDING, E. A.; DAVIS, J. P. Food protein functionality: a comprehensive approach. **Food Hydrocolloids.** v. 25, p. 1853-1864, 2011.

GAUR, P. M. et al. Chickpea Seed Production Manual. **International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics.** Andhra Pradesh, India, 2010. 28p.

GAVA, A. J; SILVA, C. A. B; FRIAS, J. R. G. **Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações.** São Paulo: Nobel, 2008.

GÜÇLÜ-ÜSTÜNDAĞ, Ö; MAZZA G. Saponins: properties, applications and processing. **Critical Reviews in Food Science.** v. 47, n. 3, p. 231–258, 2007.

GÜZEY et al. Interfacial properties and structural conformation of thermosonicated bovine serum albumin. **Food Hydrocolloids.** v. 20, n. 5, p. 669-677, 2006.

GUPTA, M. K. **Practical guide to vegetable oil processing.** 2nd ed. Lynnwood: AOCS Press, 2017, p. 281.

HALL, G. M. **Methods of Testing Protein Functionality.** Londres: Blackie Academic & Professional. 1st ed, 1996. p. 166-180.

HARRISON, R. G. **Purification process engineering.** Ney York: Marcel Deker, 1994, p. 147.

-
- HERRERA, M. C.; LUQUE DE CASTRO, M. D. Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from strawberries prior to liquid chromatographic separation and photodiode array ultraviolet detection. **Journal of Chromatography A**. v. 1100, p. 1–7, 2005.
- HOWEL, N. K.; TAYLOR, C. Effect of amidation on the foaming and physicochemical properties of bovine serum albumin. **International Journal of Food Science and Technology**. v. 26, p. 385-395, 1991.
- HU, H. et al. Effect of high intensity ultrasound on physicochemical and functional properties of aggregated soybean b-conglycinin and glycinin. **Food Hydrocolloids**. v. 45, p. 102-110, 2015.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4^a. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.
- JAMBRAK, A. R. et al. Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspensions. **Journal of Food Engineering**. v. 86, p. 281-287, 2008.
- JAMBRAK, A. R. et al. Rheological, functional and thermo-physical properties of ultrasound treated whey proteins with addition of sucrose or milk powder. **Mljekarstvo**, v. 61, n. 1, p. 79-91, p. 2011.
- JUANG, R. S.; LIN, K. H. Ultrasound-assisted production of W/O emulsions in liquid surfactant membrane processes. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. v. 238, p. 43–49, 2004.
- JUKANTI, A. K. et al. Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review. **British Journal of Nutrition**. v. 108, p. S11-S26, 2012.
- KATO, A. et al. Changes in the emulsifying and foaming properties of proteins during heat denaturation. **Agricultural and Biological Chemistry**. v. 47, n.1, p. 33-37, 1983.
- KEY, T. J.; APPLEBY, P. N.; ROSELL, M. S. Health effects of vegetarian and vegan diets. **The Proceedings of the Nutrition Society**. v. 65, n. 1, p. 35–41, 2006.
- KIMBARIS, A.C. et al. Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*), **Ultrasonics Sonochemistry**. v. 13, p. 54–60, 2006.

KINSELLA, J.E.; MELACHOURIS, N. Functional properties of proteins in foods. A survey. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. v. 7, n. 3, p. 219-280, 1976.

KNORR, D. et al. Applications and potential of ultrasonics in food processing. **Trends in Food Science & Technology**. v. 15, p. 261–266, 2004.

KRAUSE, J. P.; DUDEK, S; SCHWENKE, K.D. Changes in interfacial behavior, emulsifying and foaming properties of faba bean legumin after modification with dimethylsuberimidate. **Die Nahrung**. v. 44, n. 6, p. 403-406, 2000.

KRESIC et al. Influence of novel food processing technologies on the rheological and thermophysical properties of whey proteins. **Journal of Food Engineering**. v. 87, n. 1, p. 64-73, 2008.

LETTERME, P. Recommendations by health organizations for pulse consumption. **British Journal of Nutrition**. v. 88, n.3, p. S239-S242, 2002.

LI, R. et al. Increase of bubble size playing a critical role in foam-induced protein aggregation: aggregation of BSA in foam fractionation. **Chemical Engineering Science**. v. 174, p. 387–395, 2017.

LIM, K. S.; MARIGOU, M. Pneumatic foam generation in the presence of a high intensity ultrasound field. **Ultrasonics Sonochemistry**. v. 12, n. 5, p. 385-393, 2005.

LOU et al. Improved extraction of oil from chickpea under ultrasound in a dynamic system. **Journal of Food Engineering**. v. 98, p. 13–18, 2010.

MAEDA, K. et al. Foam stability and physicochemical proprieties of beer. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**. v. 49, n. 1, p. 14-18, 1991.

MALCOLMSON, L; HUGHES, M.; McRAE, M. Pulse Flours: Functional Egg Replacers. **The World of Food Ingredients**. p. 71-71, 2016.

MALIK, M. A.; SHARMA, H. K.; SAINI, C. S. High intensity ultrasound treatment of protein isolate extracted from dephenolized sunflower meal: effect on physicochemical and functional properties. **Ultrasonics Sonochemistry**. v. 39, p. 511–519, 2017.

MANARA, W.; RIBEIRO, N. D. Grão-De-Bico: Revisão Bibliográfica. **Ciência Rural**. Santa Maria, v. 22(3), p. 359-365, 1992.

MARTÍNEZ-VELASCO, A. et al. High intensity ultrasound treatment of faba bean (*Vicia faba L.*) protein: effect on surface properties, foaming ability and structural changes.

Ultrasonics Sonochemistry. v. 44, p. 97–105, 2018.

MASON, T. J.; LORIMER, J. P. **Applied sonochemistry: uses of power ultrasound in chemistry and processing.** Coventry: Wiley-VCH, 2002. p. 5-22.

McCLEMENTS, D. J. **Food emulsions: principles, practices, and techniques.** 3rd ed. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2016. p. 1-24.

MORALES, R. et al. Modification of foaming properties of soy protein isolate by high ultrasound intensity: particle size effect. **Ultrasonics Sonochemistry.** v. 26, p. 48–55, 2015.

MOREL et al. Effects of temperature, sonication time and power settings on size distribution and extractability of total wheat flour proteins as determined by size-exclusion high-performance liquid chromatography. **Cereal Chemistry.** v. 77, p. 685-691, 2000.

MURTY, C. M.; PITTAWAY, J. K., BALL, M. J. Chickpea supplementation in an Australian diet affects food choice, satiety and bowel health. **Appetite.** v. 54, p. 282–288, 2010.

MUSTAFA, R. et al. Aquafaba, wastewater from chickpea canning, functions as an egg replacer in sponge cake. **International Journal of Food Science and Technology.** p. 1-9, 2018.

NAKAI, S.; MODLER, H. W. **Food properties: proteins and characterization.** New York: Wiley-VCH, 1996, p. 168-222.

NAKAMURA R.; SATO Y. Studies on the foaming property of the chicken egg white. **Agricultural and Biological Chemistry.** v. 28, p. 530–534, 1964.

NAPPER, D. J. **Polymeric stabilization of colloid dispersions.** Londres: Academic Press, 1983.

NEURATH, H.; BULL, H.B. The surface activity of proteins. **Chemical Reviews.** v. 23, p. 391-435, 1938.

NGUYEN, V.; DUONG, C. T. M.; VU, V. Effect of thermal treatment on physical properties and stability of whipping and whipped cream. **Journal of Food Engineering.** v. 163, p. 32–36, 2015.

-
- ORDONEZ, J.A. et al. Effect of combined ultrasonic and heat treatment (thermoultrasonication) on the survival of a strain of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Dairy Science**. v. 54, p. 61-67, 1987.
- OSBORNE, T. B. **The proteins of wheat kernel**. Washington: Carnegie Institute Publication, v. 84, 1907.
- PAULA, A. M.; CONTI-SILVA, A.C. Texture profile and correlation between sensory and instrumental analyses on extruded snacks. **Journal of Food Engineering**. v. 121, p. 9–14, 2014.
- PICÓ, Y. **Análise Química de Alimentos**. 1^a ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.
- PINTO, W. J. Homocisteína e risco cardiovascular. **Revista de Ciências Médicas**. v. 18 (5/6), pg. 259-268, 2009.
- POHLMAN, F.W. et al. Effects of ultrasound and convection cooking to different end point temperatures on cooking characteristics, shear force and sensory properties, composition and microscopic morphology of beef longissimus and pectoralis muscles. **Journal of Animal Science**. v. 75, p. 386–401, 1997.
- PONGSAWATMANIT, R.; HARNSILAWAT, T.; McCLEMENTS, D. J. Influence of alginate, pH and ultrasound treatment on palm oil-in-water emulsions stabilized by beta-lactoglobulin. **Colloids and Surfaces A—Physicochemical and Engineering Aspects**. v. 287, p. 59–67, 2006.
- POVEY, M. J. W; MASON T. J. **Ultrasound in Food Processing**. 1st ed. Londres: Blackie Academic & Professional, 1998. p. 188.
- RACHWAT, D; NEBESNY, E.; BRUDRYN, G. Chickpeas – composition, nutritional value, health benefits, application to bread and snacks: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. v. 55, issue 8, p. 1137-1145, 2015.
- RADNIZ, C., BEEZHOLD, B., DiMATTEO, J. Investigation of lifestyle choices of individuals following a vegan diet for health and ethical reasons. **Appetite**. v. 90, p. 31-36, 2015.
- SALGADO, J. **Alimentos Funcionais**. 1 ed. São Paulo: Oficina de Textos, 2017.

-
- SHARMA, R. D. Algumas informações sobre a cultura do Grão-de-bico (*Cicer arictinum* L). **EMBRAPA – CPAC**. Planaltina, 1984. 20p.
- SHI, J. et al. Saponins from edible legumes: chemistry, processing, and health benefits. **Journal of Medicinal Food**. v. 7, n. 1, p. 67-78, 2004.
- SHIM, Y. Y. et al. Composition and Properties of Aquafaba: Water Recovered from Commercially Canned Chickpeas. **Journal of Visualized Experiments**. v. 132, p. 1-14, 2018.
- SILVA, M. A.; NEVES, V. A.; LOURENÇO, E. J. Protein fractions and major globulin from chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Alimentos e Nutrição**. v. 12, p. 131–149, 2001.
- SILVA, M. R; SILVA, M. A. A. P. Fatores antinutricionais: inibidores de próteses e lectinas. **Revista de Nutrição**. v. 13, n.1, p. 3-9, 2000.
- SINGH, U. Nutritional quality of chickpea (*Cicer arietinum* L.): current status and future research needs. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 35, n. 431, p. 339–351, 1985.
- SMITH, P. K. et al. Measurement of protein using bicinchoninic acid. **Analytical Chemistry**. v. 150, n. 1, p. 76-85, 1985.
- SORIA, A. C.; VILLAMIEL, M. Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. **Trends in Food Science & Technology**. v. 21, p. 323-331, 2010.
- STANTIAL, S. E. et al. Application of pulses cooking water as functional ingredients: the foaming and gelling abilities. **European Food Research and Technology**, p. 1–8, 2017.
- SUN, D. W. **Emerging Technologies for Food Processing**. 2nd ed. Dublin: Elsevier, 2014. p. 495-511.
- SUNDE, M.; PHAM, C. L. L.; KWAN, A. H. Molecular characteristics and biological functions of surface-active and surfactant proteins. **Annual Review of Biochemistry**. v. 86, p. 585–608, 2017.
- TAN, M. C. Effect of high power ultrasonic treatment on whey protein foaming quality. **International Journal of Food Science and Technology**. v. 51, p. 617–624, 2016.

-
- The Official Aquafaba Website.** 2016. Disponível em: <<http://aquafaba.com/>>. Acesso em: 26 jan. 2018.
- THUSHAN SANJEEWA, W. G. et al. Characterization of chickpea (*Cicer arietinum* L.) flours and application in low-fat pork bologna as a model system. **Food Research International**, v. 43, n. 2, p. 617–626, 2010.
- TOWNSEND, A., NAKAI, S. Relationships Between Hydrophobicity and Foaming Characteristics of Food Proteins. **Journal of Food Science**. v. 48, n. 2, p. 588-594, 1983.
- USDA - United States Department of Agriculture. 2018. **Food Composition Databases.** Disponível em: < <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/>>. Acesso em: 19 jun. 2018.
- USDA - United States Department of Agriculture. **Food safety information - Clostridium botulinum.** 2010. Disponível em: <https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/a70a5447-9490-4855-af0d-e617ea6b5e46/Clostridium_botulinum.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 19 jun. 2018.
- VAGADIA, B.H.; VANDIA, S.K.; RAGHAVAN V. Inactivation methods of soybean trypsin inhibitor – a review. **Trends in Food Science & Technology**. v. 64, p. 115-125, 2017.
- VEGA, R. C.; PINÃ, G. L.; OOMAH, B. D. Minor components of pulses and their potential impact on human health. **Food Research International**. v. 43, p. 461–482, 2010.
- Vegan Mayo made with Aquafaba. **Prepared Foods.** 2016. Disponível em: < <https://www.preparedfoods.com/articles/117862-vegan-mayo-made-with-aquafaba>>. Acesso em: 29 jan. 2018.
- VERCET, A. et al. The effects of manothermosonication on tomato pectic enzymes and tomato paste rheological properties. **Journal of Food Engineering**. v. 53, n. 3, p. 273–278, 2002.
- VILLAMIEL, M. et al. **Ultrasound in food processing: recent advances.** 1st ed. Valencia: John Wiley & Sons, 2017. p. 18-23.
- VILLAMIEL, M.; DE JONG, P. Influence of high-intensity ultrasound and heat treatment in continuous flow on fat, proteins, and native enzymes of milk. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 48, n.2, p. 472–478, 2000.

-
- WANG, N. et al. Effect of cooking on the composition of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and chickpeas (*Cicer arietinum* L.). **Food Research International**, v. 43, n. 2, p. 589–594, 2010.
- WENZEL, G. E. **Bioquímica experimental dos alimentos**. São Leopoldo: Editora Unisinos. 2^a ed, 2010, p. 146-151.
- WONGSORN, C. et al. Ultrasonic pretreatment enhanced the enzymatic hydrolysis of rice straw. **International Conference on Chemistry and Chemical Engineering**. p. 20-23, 2010.
- WOOD, R. W.; LOOMIS, A. L. The physical and biological effects of high-frequency sound-waves of great intensity. **Philosophical Magazine and Journal of Science**. v. 4, n. 22, p. 417-436, 1927.
- WRIGLEY, C. et al. Encyclopedia of food grains – the world of food grains. **Elsevier**, v. 2, ed. 2, p. 316-323, 2016.
- WU H.; HULBERT, G.J.; MOUNT, J.R. Effects of ultrasound on milk homogenization and fermentation with yogurt starter, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. v. 1, p. 211–218, 2000.
- XIA, T; SHI, S.; WAN, X. Impact of ultrasonic-assisted extraction on the chemical and sensory quality of tea infusion. **Journal of Food Engineering**. v. 74, p. 557–560, 2006.
- XIONG, T. et al. Effect of high intensity ultrasound on structure and foaming properties of pea protein isolate. **Food Research International**. v. 109, p. 260–267, 2018.
- YILDIRIM, A.; ÖNER, M. D.; BAYRAM, M. Effect of soaking and ultrasound treatments on texture of chickpea. **Journal of Food Science and Technology**. v. 50, n. 3, p. 455–465, 2013.
- YU, M. A.; DAMODARAN, S. Kinetics of protein foam destabilization: evaluation of a method using bovine serum albumin. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. v. 39, p. 3078-3091, 1991.
- ZAYAS, J. F. **Functionality of proteins in food**. New York: Springer. 1997. p. 134-305.
- ZHANG, T.; JIANG, B.; WANG, Z. Gelation properties of chickpea protein isolates. **Food Hydrocolloids**. v. 21, p. 280-286, 2007.

ZIA-UL-HAQ, M. et al. Nutritional and compositional study of Desi chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars grown in Punjab, Pakistan. **Food Chemistry**. v. 105, p. 1357-1363, 2007.

APÊNDICE A – Gráficos obtidos em texturômetro das espumas de *aquafaba in natura* e tratada com ultrassom, e da clara de ovo em pH natural (9,8) e em pH 4.

Figura A.1 – Gráfico obtido em texturômetro da espuma de *aquafaba in natura*.

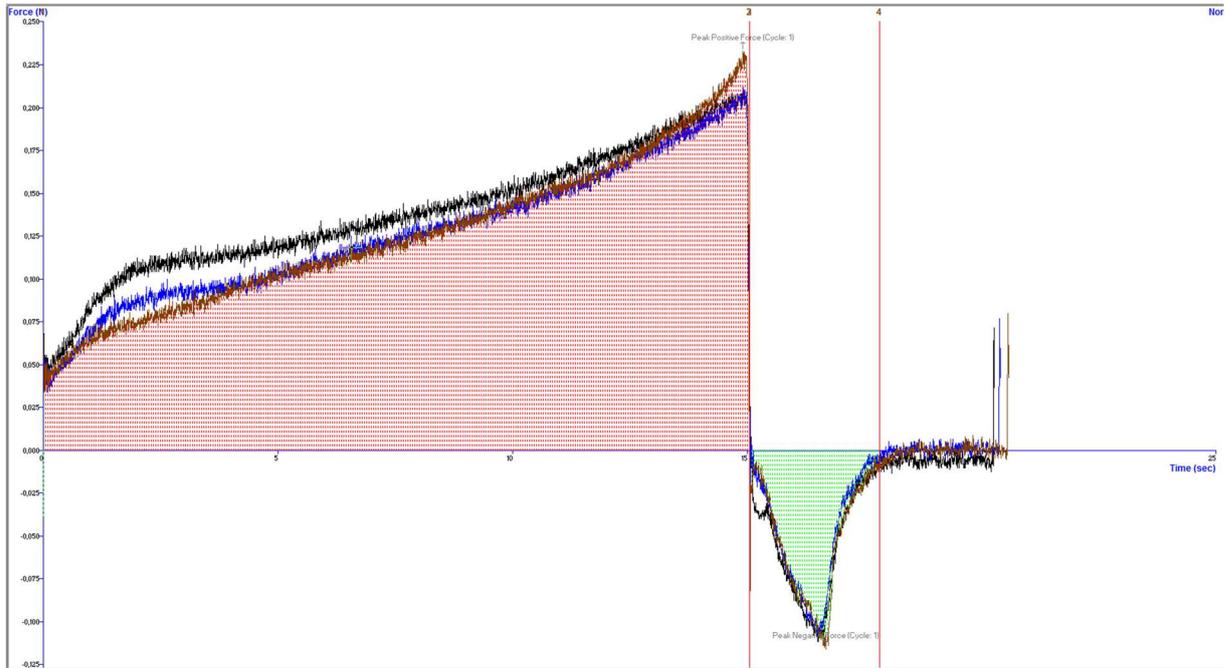


Figura A.2 – Gráfico obtido em texturômetro da espuma de *aquafaba* tratada com ultrassom em 50 % de intensidade por 10 minutos (*US50-10*).

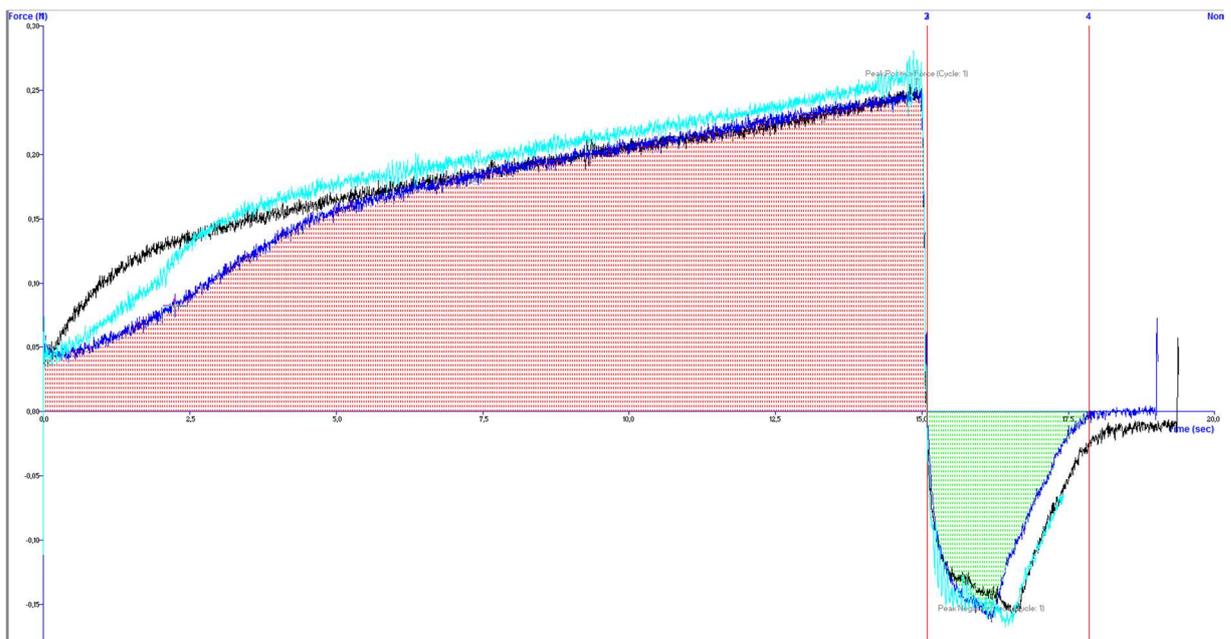


Figura A.3 – Gráfico obtido em texturômetro da espuma de *aquafaba* tratada com ultrassom em 50 % de intensidade por 20 minutos (US50-20).

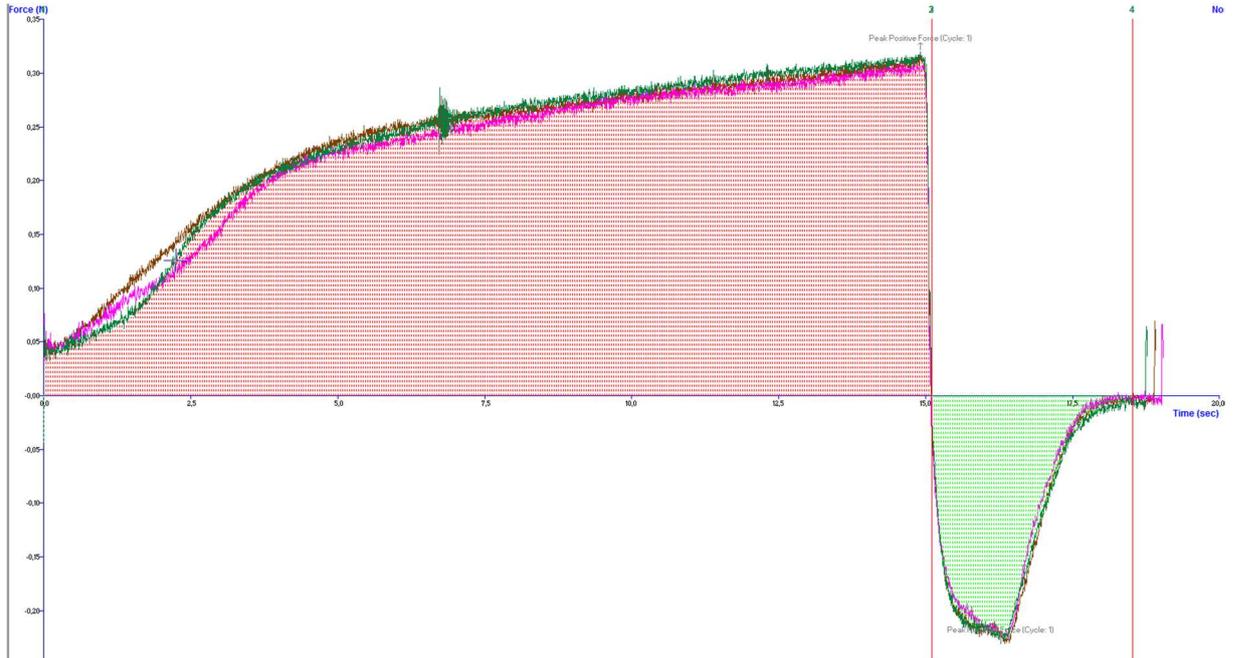


Figura A.4 – Gráfico obtido em texturômetro da espuma de *aquafaba* tratada com ultrassom em 50 % de intensidade por 30 minutos (US50-30).

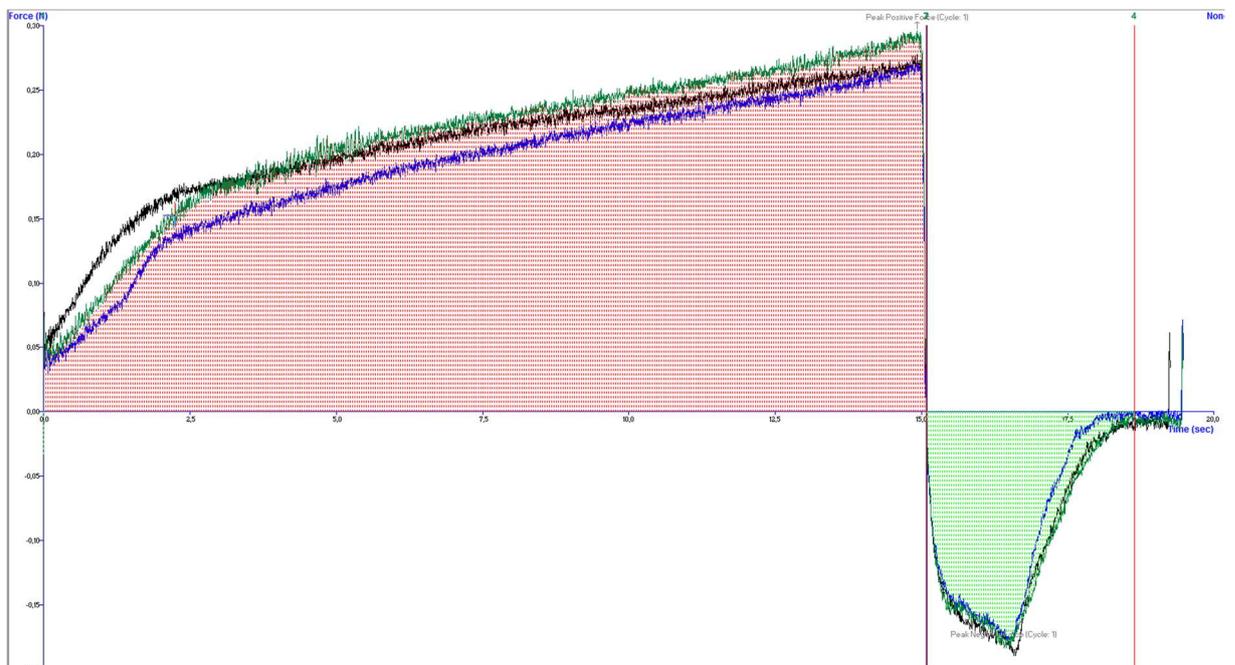


Figura A.5 – Gráfico obtido em texturômetro da espuma de *aquafaba* tratada com ultrassom em 100 % de intensidade por 10 minutos (US100-10).

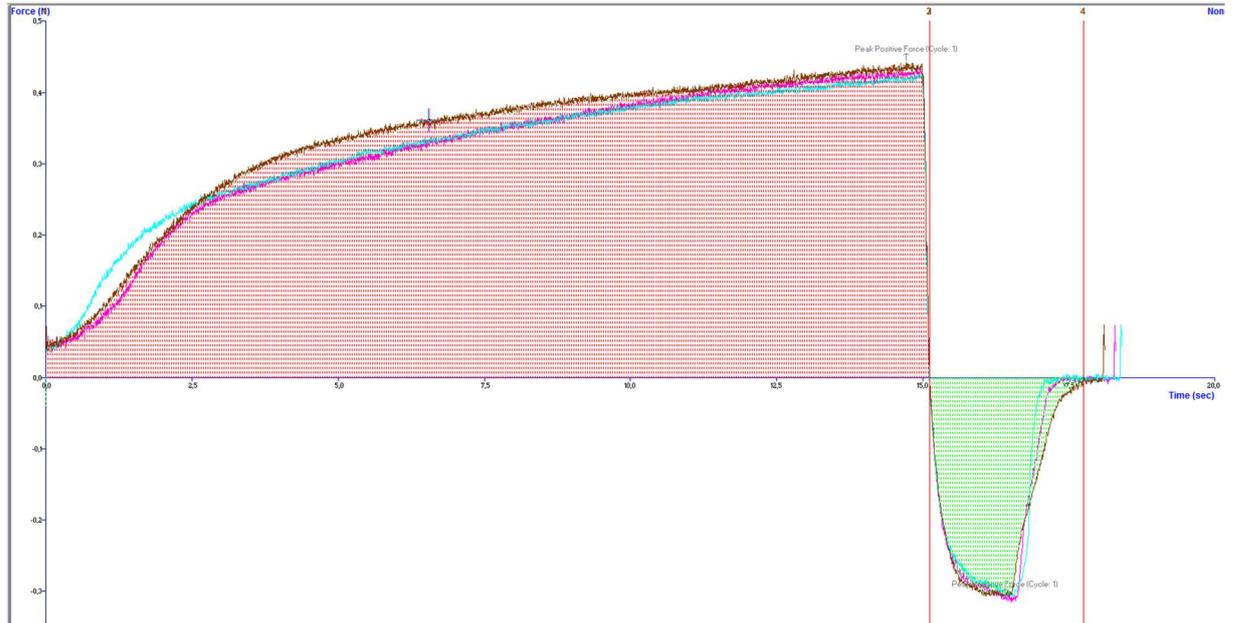


Figura A.6 – Gráfico obtido em texturômetro da espuma de *aquafaba* tratada com ultrassom em 100 % de intensidade por 20 minutos (US100-20).

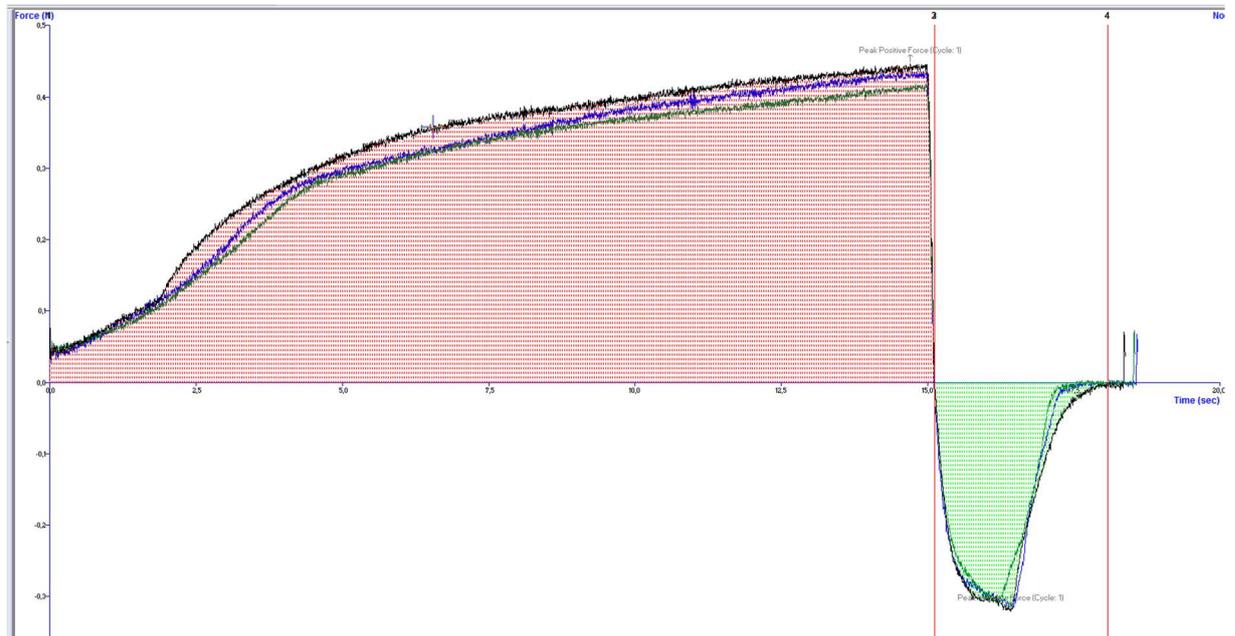


Figura A.7 – Gráfico obtido em texturômetro da espuma de *aquafaba* tratada com ultrassom em 100 % de intensidade por 30 minutos (US100-30).

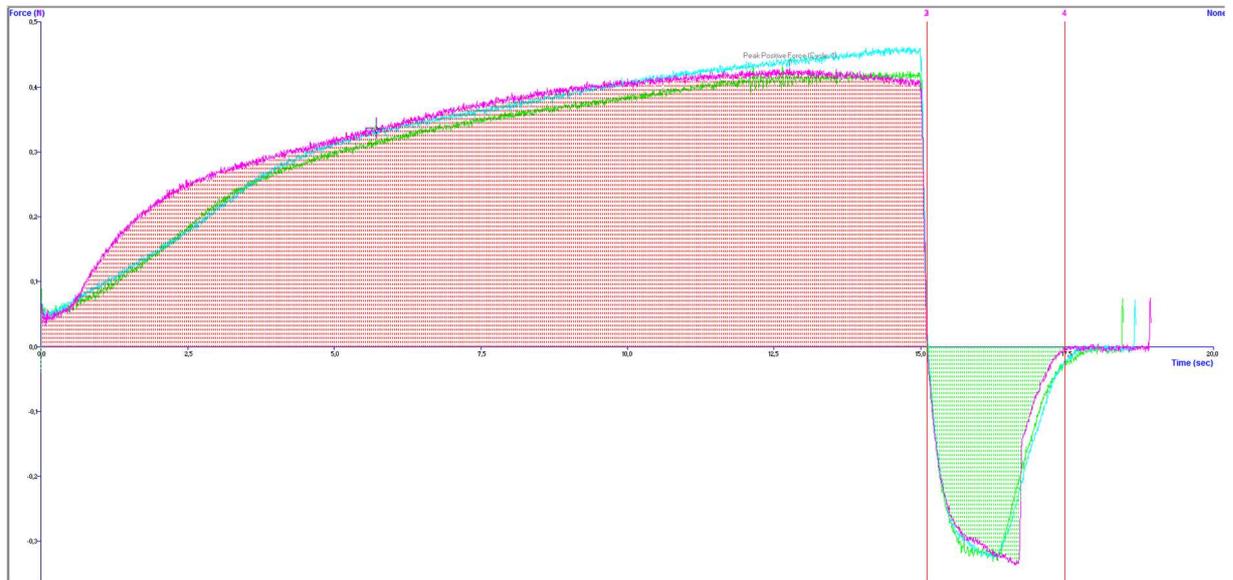


Figura A.8 – Gráfico obtido em texturômetro da espuma de clara de ovo em pH natural (9,8).

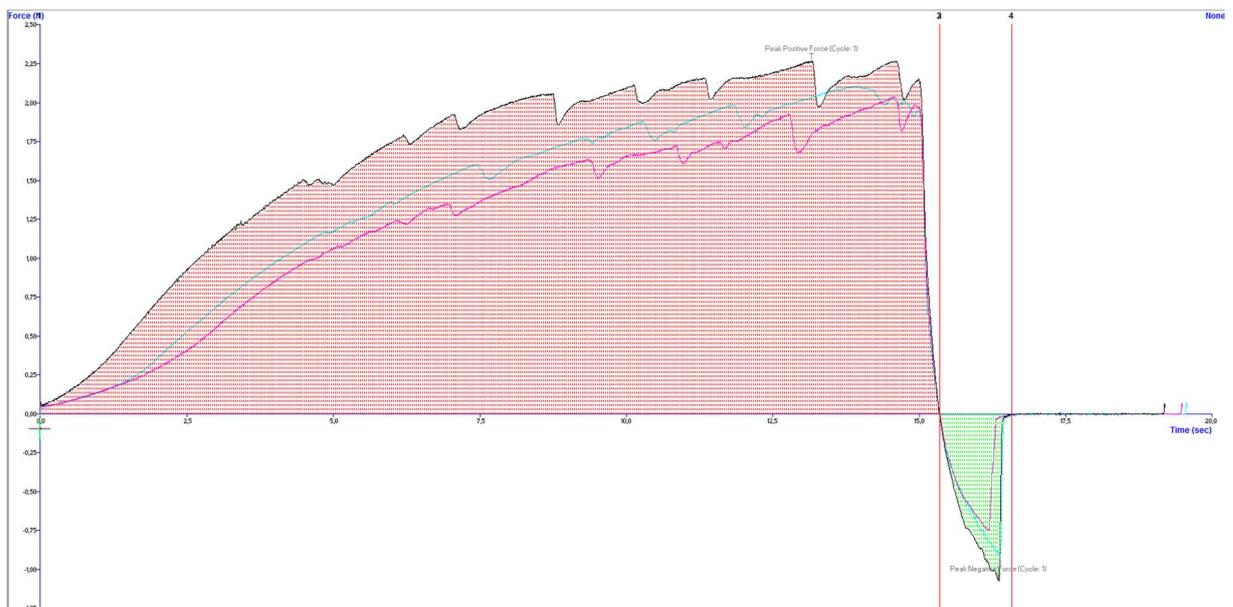
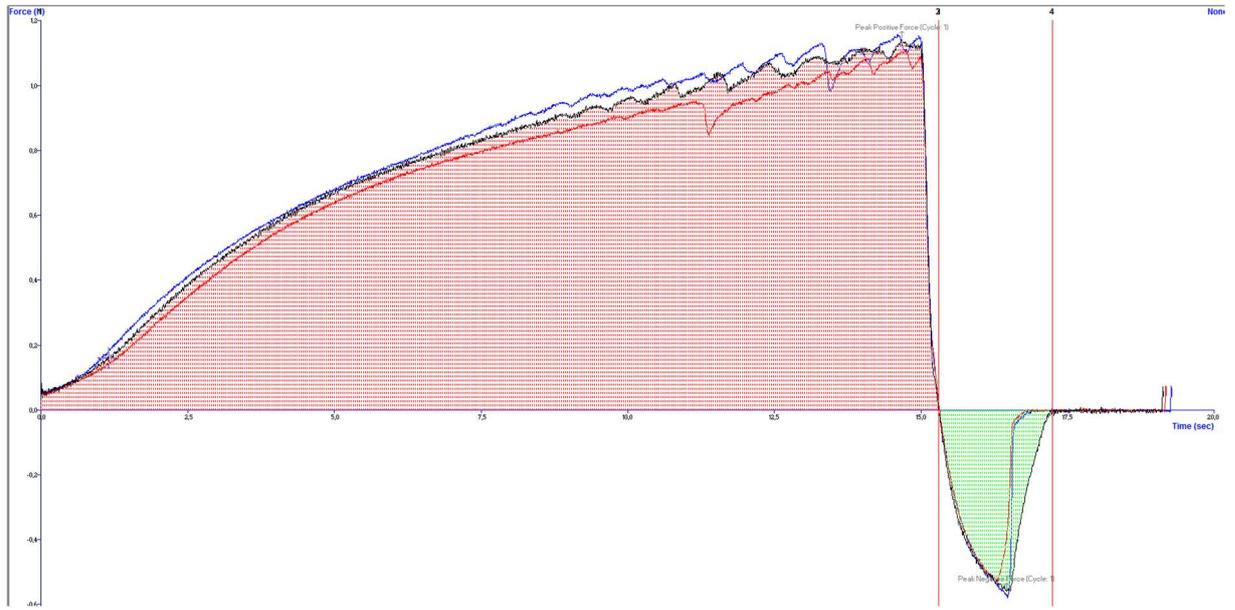


Figura A.9 – Gráfico obtido em texturômetro da espuma de clara de ovo em pH 4.



APÊNDICE B – Gráficos obtidos em texturômetro dos merengues elaborados com clara de ovo, *aquafaba in natura* e *aquafaba* tratada com ultrassom em 100 % de intensidade por 30 minutos (*US100-30*).

Figura B.1 – Gráfico obtido em texturômetro do merengue elaborado com clara de ovo.

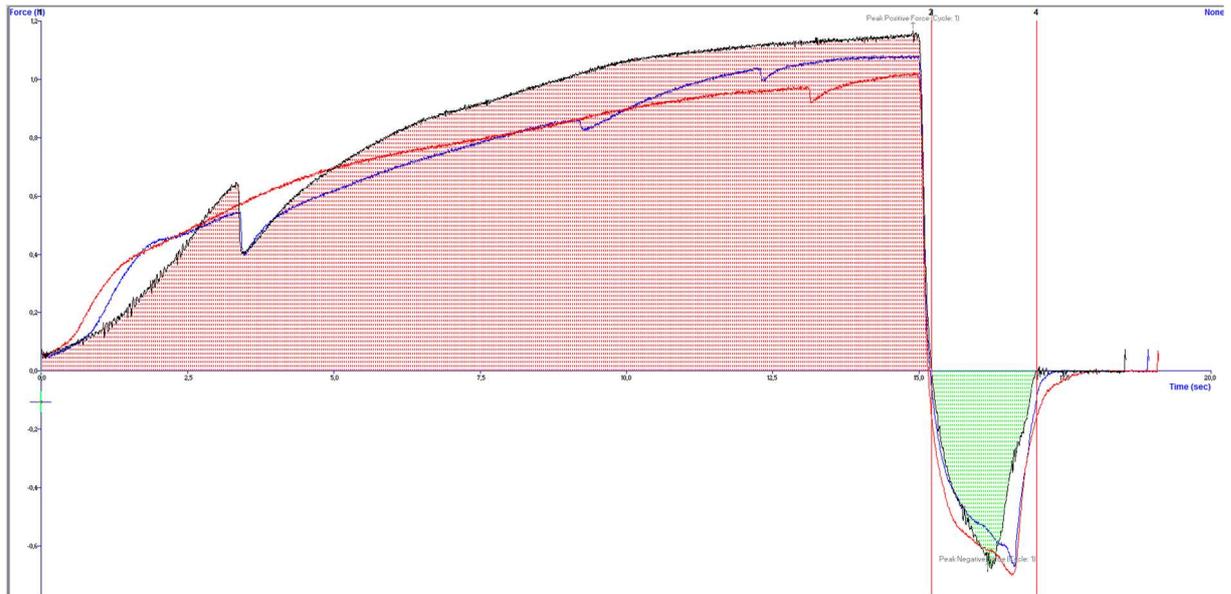


Figura B.2 – Gráfico obtido em texturômetro do merengue elaborado com *aquafaba in natura*.

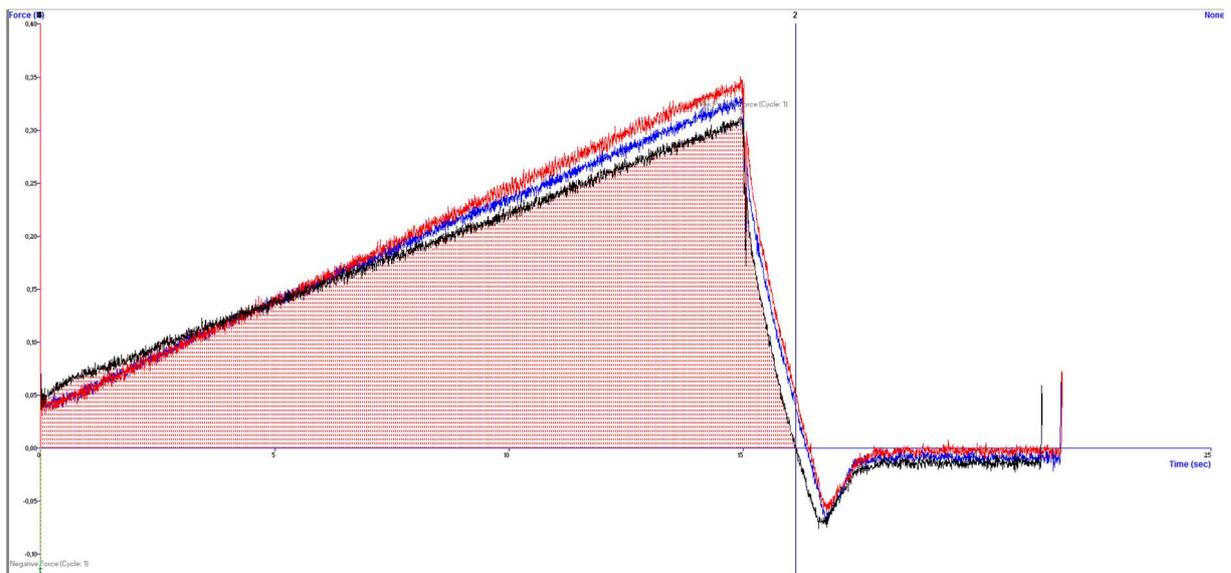


Figura B.3 – Gráfico obtido em texturômetro do merengue elaborado com *aquafaba* tratada com ultrassom em 100 % de intensidade por 30 minutos (*US100-30*).

