

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Síntese de cápsulas contendo molho de soja light pelo método reverso de encapsulamento para aplicações na gastronomia molecular.

Yuri Buratto de Farias

Porto Alegre

2016

Yuri Buratto de Farias

Síntese de cápsulas contendo molho de soja light pelo método reverso de encapsulamento para aplicações na gastronomia molecular.

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito parcial
para obtenção do título de Engenheiro
de Alimentos.

Orientador: Dr. Caciano Pelayo Zapata
Noreña.

Porto Alegre

2016

Trabalho de Conclusão de Curso

Síntese de cápsulas contendo molho de soja light pelo método reverso de encapsulamento para aplicações na gastronomia molecular.

Yuri Buratto de Farias

Aprovado em: ____/____/____

Dr. Caciano Pelayo Zapata Noreña

Msc. Fernanda Araujo Pimentel Peres

Dra. Roberta Cruz Silveira Thys

Dedico este trabalho a minha primeira Professora, que me mostrou como amar infinitamente aos seus próximos, a minha avó Suzana Buratto.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho representa muito mais que a conclusão de um curso de ensino superior em minha vida, este trabalho representa todo esforço e dedicação dos meus avós, pais e familiares para dar-me a melhor educação possível. Esta conquista não é apenas minha, mas de todos os meus familiares.

Agradeço profundamente aos meus avós por parte de mãe por terem sido presentes em todos os momentos da minha, estes quando estavam em vida. Cumpro aqui, com a promessa feita ao meu avô Ary Buratto, de nunca desistir. Faço jus as memórias da minha avó Suzana Buratto, que nunca desistiu de mim. Agradeço aos meus avós por parte de pai pelo exemplo de vida plena e humilde que todo cidadão deveria seguir.

Agradeço aos meus pais Nelson Ribeiro de Farias e Ariane Buratto de Farias por tudo que já fizeram por mim. Vocês, mais do que ninguém, sabem o que eu perdi e conquistei durante esta caminhada, nas perdas e conquistas vocês sempre estavam presentes e me apoiando. Agradeço principalmente pelo exemplo de pessoas trabalhadoras, honestas e perseverantes que são, não há orgulho maior nesta vida do que ser filho de vocês. Esta vitória que conquisto, além de outras, é mais um fruto de tudo o que vocês ensinaram para mim e para minha irmã, é mais um fruto de todo suor que vocês tiveram para dar as melhores condições possíveis aos seus filhos, amo vocês.

Agradeço a minha irmã, por sempre mostrar-me o melhor exemplo a seguir. Com certeza, você é a definição de filha e irmã perfeita, apesar das brigas não consigo me ver longe da tua presença.

Agradeço aos meus familiares e amigos pela compreensão de tantos aniversários, comemorações, festas e outros eventos que não pude comparecer ao longo desta caminhada. Mesmos não presentes constantemente, mas sempre preocupados com a minha pessoa. Em especial a minha melhor amiga, parceira e companheira Débora dos Reis Krás Borges, que sempre está torcendo por mim, seja presente ou em pensamento, você com certeza faz parte desta conquista e da minha vida.

Agradeço aos meus primeiros colegas de Universidade pelo companheirismo, principalmente ao Alexandre Fagundes, amizade que a FURG me deu para o resto da vida. Agradeço fortemente a minha primeira orientadora Irene Freitas, exemplo de profissionalismo e dedicação, o qual me espelho profissionalmente.

Agradeço aos colegas de UFRGS pelo cooperativismo e companheirismo durante a graduação, mas em especial a colega e grande amiga Danielle do Carmo, o qual sempre me ajudou nas horas difíceis do curso, seja compartilhando sofrimentos e alegrias ou emprestando seus inúmeros cadernos.

Agradeço ao ICTA-UFRGS por toda estrutura impecável que tive durante a graduação, é uma honra fazer parte desta Instituição. Agradeço a todos Professores pela dedicação e comprometimento durante a graduação. Agradeço fortemente às gurias do SEMAP-ICTA, as quais ajudaram-me constantemente nas análises realizadas neste trabalho, com toda atenção e paciência deste mundo. Agradeço ao pessoal do laboratório 116 do ICTA pela ajuda durante o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço ao Orientador Caciano Norenã pela ótima orientação e paciência para o desenvolvimento deste trabalho, assim como conselhos e experiências dadas ao longo da graduação.

Presto também meu agradecimento e homenagem ao Professor Tutor de graduação e grande amigo Alessandro Rios, muito do que conquistei profissionalmente, foi devido aos seus conselhos.

RESUMO

Cápsulas de molho de soja light foram sintetizadas através do processo de encapsulamento pelo método reverso, seguido de modificações. Utilizou-se alginato de sódio 1,0 % (p/p) e lactato de cálcio 1,0 % (p/p) como encapsulantes e goma xantana como controlador difusivo do molho de soja nas concentrações de 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 e 0,6 % (p/p). Ao invés de utilizar eletrospray para a produção de cápsulas, foi proposta uma modificação ao método de encapsulamento, formando cápsulas resistentes às condições encontradas em uma cozinha de gastronomia molecular, utilizando para esse fim moldes de acrílico para congelamento das soluções de molho de soja, previamente ao processo de encapsulação, conferindo-as a forma esférica. Desta forma, avaliou-se a influência das concentrações da goma xantana no processo de encapsulação de molho de soja, sendo realizada a caracterização das soluções contendo goma xantana quanto ao pH, viscosidade, propriedades reológicas e propriedades viscoelásticas. Também se realizou a caracterização das cápsulas formadas quanto ao seu diâmetro e massa, assim como análises de colorimetria, termogravimetria, microscopia eletrônica de varredura, tensão de ruptura das cápsulas e perda de massa. A concentração de goma xantana apresentou forte influência na formação de cápsulas e nas propriedades reológicas, podendo ser possível a obtenção de cápsulas com concentrações de 0,4 a 0,6% (p/p).

Palavras-chave: Alginato de sódio; goma xantana; lactato de cálcio. Gastronomia molecular; encapsulação; termogravimetria; reometria; TA.XTplus.

ABSTRACT

Light soy sauce capsules were synthesized through the encapsulation process by the reverse method, followed by modifications. Were employed sodium alginate 1.0% (w / w) and 1.0% (w / w) calcium lactate were employed as encapsulants and xanthan gum were used as the diffusive controller of soy sauce at concentrations of 0.1, 0.2 , 0.3, 0.4, 0.5 and 0.6% (w / w). Instead of using eletrospray for the production of capsules, a modification to the encapsulation method was proposed, forming capsules resistant to the conditions found in a molecular gastronomic cuisine, using for this purpose acrylic molds for freezing the solutions of soy sauce previously to the encapsulation process, giving them the spherical shape. Thus, the influence of xanthan gum concentrations on the soybean encapsulation process was evaluated and the xanthan gum solutions were evaluated for pH, viscosity, rheological properties and viscoelastic properties. It was also carried out the characterization of the capsules formed for their diameter and mass, as well as colorimetry, thermogravimetry, scanning electron microscopy, capsule rupture tension and mass loss. The concentration of xanthan gum showed a strong influence on the formation of capsules and rheological properties, and it may be possible to obtain capsules in concentrations of 0.4 to 0.6% (w / w).

Keywords: sodium alginate; xanthan gum; calcium lactate; molecular gastronomy; reverse encapsulation; thermogravimetry; rheometry; TA.XTplus.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Cadeia polimérica do alginato.....	18
Figura 2 - Ligações cruzadas formadas entre os blocos GG do alginato com íon de cálcio.	23
Figura 3 - Processo de formação da rede tridimensional - géis de alginato de cálcio.....	24
Figura 4 - Partículas formadas por processos de encapsulamento utilizando alginato.....	28
Figura 5- Método de encapsulamento externo.....	32
Figura 6- Método de encapsulamento interno.....	33
Figura 7 - Método de encapsulamento reverso.....	34
Figura 8- Estrutura da cadeia polimérica da goma xantana.....	36
Figura 9 – Diagrama de tensões aplicadas em um corpo.	40
Figura 10 - Deformações por tipo de tensão aplicada.....	41
Figura 11 – Comportamento de fluídos e lei das potências.	43
Figura 12 – Comportamento da viscosidade de fluídos dependentes do tempo em função do tempo de deformação.....	45
Figura 13 - Processo produtivo do molho de soja - shoyu do tipo koikuchi.....	50
Figura 14 - Suporte utilizado para medição de cor de superfícies porosas.....	63
Figura 15- Cápsulas de shoyu-light com goma xantana obtida por encapsulamento reverso utilizando alginato de sódio e lactato de cálcio.	67
Figura 16 - Curvas de comportamento de fluxo das soluções de shoyu light com 1% (p/p) lactato de cálcio em diferentes concentrações de goma xantana.....	69
Figura 17 - Influencia da concentração de goma xantana na viscosidade de soluções de shoyu light com 1 % (p/p) de lactato de cálcio.	73
Figura 18 - Influencia da concentração de goma xantana na viscosidade de soluções de shoyu light com 1 % (p/p) de lactato de cálcio- Ampliação da Figura 17.....	73
Figura 19 - Curva de comportamento de fluxo da solução de alginato de sódio 1% (p/p).....	76

Figura 20- - Módulos de Elasticidade (G') e de Perda (G'') e Viscosidade Complexa (η^*) da solução de alginato de sódio 1% (p/p).....	77
Figura 21 - Módulo de Elasticidade das soluções de shoyu light com 1 % (p/p) de lactato de cálcio adicionado de goma xantana.	79
Figura 22 - Módulo de Perda das soluções de shoyu light com 1 % (p/p) de lactato de cálcio adicionado de goma xantana.	79
Figura 23 - Análise Termogravimétrica das cápsulas.	84
Figura 24 - Microestrutura das cápsulas de alginato de cálcio contendo shoyu (a) da estrutura inteira (18x); (b) da borda (85x); (c) da superfície (100x)	85
Figura 25 - Avaliação da tensão de ruptura das cápsulas.....	87
Figura 26- Avaliação da perda de massa (%) das cápsulas.	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais aplicações da goma xantana na indústria.....	37
Tabela 2 – Descrição reológica dos fluídos.	45
Tabela 3 - Composição de molhos de soja - shoyu.....	53
Tabela 4 - Aminoácidos encontrados no molho de soja - shoyu	54
Tabela 5 - Propriedades funcionais ligadas ao molho de soja – shoyu.....	55
Tabela 6 - Denominações das soluções.....	58
Tabela 7 – Valores de pH e ocorrência de formação de cápsulas nas dispersões utilizadas no processo de encapsulamento pelo método reverso.....	66
Tabela 8 - Caracterização do comportamento das dispersões de shoyu light com 1 % (p/p) de lactato de cálcio adicionado de goma xantana pelos modelos matemáticos de Newton e Ostwald de Waele	71
Tabela 9- Efeito da concentração de goma xantana na viscosidade e na formação das cápsulas.....	74
Tabela 10 - Caracterização das cápsulas quanto ao diâmetro, massa e aw	80
Tabela 11 - Parâmetros colorimétricos das cápsulas de alginato de cálcio contendo goma xantana em diferentes concentrações	81

Sumário

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	17
2.1. OBJETIVO GERAL	17
2.2. OBJETIVO ESPECÍFICOS	17
3. REVISÃO LITERÁRIA	18
3.1. Alginato de Sódio	18
3.1.1. Propriedades Físicas e Químicas	18
3.1.2. Obtenção do alginato de sódio.....	20
3.1.3. Géis.....	22
3.1.4. Encapsulação.....	27
3.2. Goma Xantana.....	35
3.2.1. Propriedades físicas e químicas	35
3.3. PROPRIEDADES REOLÓGICAS.....	39
3.4. MOLHO DE SOJA – SHOYU	47
4. MATERIAIS E MÉTODOS	57
4.1. MATERIAIS	57
4.2. PREPARAÇÃO DAS DISPERSÕES.....	57
4.3. CARACTERIZAÇÃO DAS DISPERSÕES.....	58
4.3.1. pH.....	58
4.3.2. Reômetria	59
4.4. ENCAPSULAMENTO DE MOLHO DE SOJA – SHOYU	60
4.5. CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS	61
4.5.1. Diâmetro.....	61
4.5.2. Massa.....	62
4.5.3. Aw	62
4.5.4. Cor	62
4.5.5. Análise Termogravimétrica	63

4.5.6.	Microscopia Eletrônica de Varredura	64
4.6.	AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE FÍSICA DAS CÁPSULAS	64
4.6.1.	Tensão de Ruptura e Perda de Massa	64
4.7.	ANÁLISE ESTATÍSTICA – ANOVA.....	65
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
5.1.	CARACTERIZAÇÃO DAS DISPERSÕES.....	66
5.1.1.	Influência do pH do shoyu light na formação de cápsulas pelo método reverso de encapsulamento	66
5.1.2.	Influência da concentração de goma xantana nas curvas de fluxo das dispersões e na ocorrência da formação de cápsulas pelo método reverso de encapsulamento	68
5.1.3.	Propriedades viscoelásticas das dispersões utilizadas no processo de encapsulamento pelo método reverso.....	76
5.2.	CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS	80
5.2.1.	Diâmetro, massa, aw e cor	80
5.2.2.	Análise Termogravimétrica	82
5.2.3.	Microscopia Eletrônica de Varredura	84
5.3.	AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE FISICA DAS CÁPSULAS	86
5.3.1.	Tensão de Ruptura e Perda de Massa	86
6.	CONCLUSÕES.....	90
7.	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS.....	92
8.	ANEXOS	100

1. INTRODUÇÃO

A gastronomia molecular é a ciência que explora os fenômenos ocasionados por reações químicas e interações físicas que ocorrem durante as transformações culinárias (BURKE, 2016), na qual se utilizam o conhecimento científico da área da ciência dos alimentos com as habilidades e técnicas dos chefs culinários para o desenvolvimento de novos produtos e ingredientes, agregando valor e sabores aos pratos (FROST, 2010). O primeiro trabalho desenvolvido com este enfoque foi em 1988 por Herre This, e desde então vem sendo desenvolvida em restaurantes, empresas do ramo alimentício, institutos de pesquisa, Universidades e cozinhas industriais pelo mundo inteiro (BURKE, 2016). Ferran Adria, chef do renomado e distinto restaurante espanhol *eBulli* de Barcelona, foi um dos pioneiros a utilizar o conhecimento da ciência e tecnologia de alimentos no desenvolvimento de pratos com aromas e texturas exclusivos e inovadores no âmbito culinário (BRENNER, 2016).

Uma das técnicas desenvolvidas por Adria foi o processo de esferificação, o qual aprisiona sabores e aromas em esferas compostas por uma matriz externa gelificada (ROGERS, 2012). Entretanto, o termo esferificação é limitado apenas para a área da culinária, visto que no campo da tecnologia de alimentos o termo mais adequado é o de encapsulação (CHIANG, 2016). Um dos ingredientes em foco na gastronomia molecular neste processo é o alginato de sódio, um polissacarídeo com propriedades capazes de produzir esferas aprisionando sabores e aromas. Essas esferas são denominadas na área culinária de “falso caviar”, devido à similaridade quanto a forma e tamanho com o caviar (BURKE, 2016).

Os alginatos são polímeros lineares contendo monômeros de ácidos (1,4)- β -D-manurônico e ácidos (1,4)- α -L-glucurônico (ELÇIN, 1995; FENNEMA, 2010; RAMASANY, 2015), encontrados no material celular das paredes de algas marinhas marrons (ELÇIN, 1995; LI, 2016; FUNAMI, 2009) complexados com minerais de cálcio, potássio e sódio (VILLAR, 2009).

Os alginatos são utilizados como espessantes de soluções aquosas e moduladores de textura em alimentos e demais produtos, e também apresentam a peculiaridade de formar géis com ótimas propriedades mecânicas na presença de íons divalentes, sendo mais utilizado íons bivalentes de cálcio (ELÇIN, 1995; NAVARRO, 2008). Quando o alginato de sódio é solubilizado em uma solução aquosa contendo

íons de cálcio ocorre a interação entre íons e alginato formando ligações cruzadas. A medida que estas ligações vão acontecendo, ocorre a transição de alginato solúvel para alginato insolúvel (FUNAMI, 2009), ou seja, transição da fase líquida para sólido e formação de géis (LI, 2016). O Essa formação de géis estruturados ocorre em três etapas sucessivas: monocomplexação, dimerização e associação lateral ou multimerização (FARRÉS, 2013).

Os alginatos de sódio na presença de íons de cálcio formam géis altamente viscosos, estáveis e estruturados, acarretando sua aplicação em diversas áreas com diversos interesses, um deles que vem ganhando certo foco é sua capacidade de encapsular, como no processo de encapsulação de células vivas, proteínas, amino ácidos, remédios, enzimas, ingredientes alimentícios, compostos voláteis, e outros. Diferentes métodos vêm sendo desenvolvidos para produzir partículas de tamanho e morfologias diferentes, de acordo o interesse de aplicação. A forma que o íon de cálcio é disponibilizado durante a encapsulação proporciona diferentes resultados quanto à forma, diâmetro e finalidade do encapsulado. O processo de encapsulação pode ser realizado por três métodos, conforme seja a disponibilização dos íons de cálcio às cadeias poliméricas de alginato de cálcio, o encapsulamento externo, interno e reverso (CHAN, 2016a).

A técnica de encapsulamento externo e interno apresenta algumas desvantagens na aplicação gastronômica. A solução de alginato de sódio quando misturada em matrizes alimentícias com pH baixo ou com presença elevada de íons de cálcio, pode sofrer a gelificação antecipadamente, comprometendo o processo de encapsulação (CHIANG, 2016). Uma alternativa é o método reverso. A técnica reversa é mais versátil e independe da natureza da solução. Entretanto, este processo precisa obrigatoriamente de controladores de dispersão, pois, caso contrário, as gotículas sofrem deformações e dispersam-se ao longo da solução de alginato de sódio. Para isto, utilizam-se outros polímeros naturais (ELÇIN, 1995; RAMASANY, 2015; CHIANG, 2016), como a goma xantana.

A goma xantana é um polissacarídeo heteroglicano extracelular produzido pelas bactérias *Xanthomonas campestris*. A goma xantana apresenta uma estrutura de repetidos pentassacarídeos unidos por ligações glicosídicas, com uma composição aproximada de 30 % de D-glicose, 27,3 % D-manose, 14,9% ácido-D-glucurônico,

7,1% de pirutavo e 6,5% de acetato (OCHOA, 2000). A aplicação de goma xantana vem sendo empregada em uma ampla variedade de alimentos por estabilizar emulsões, produzir soluções viscosas estáveis em uma grande faixa de temperatura, compatibilidade com matrizes alimentícias, soluções com viscosidade estável em grande faixa de pH (RAZAVI, 2012). Também é utilizada como controlador difusivo ou espessante no processo de encapsulação devido ao aumento das propriedades mecânicas, estabilidade dos encapsulados e modulador da forma esférica (CHANG, 1993; PONGJANYAKUL, 2007; GONZALEZ, 2016a; GONZALEZ, 2016b; SHARMA, 2016).

O molho de soja, comercialmente denominado como shoyu, é de origem oriental. Sua obtenção é através de um processo complexo de duas fermentações: a primeira por bolores (denominada *koji*) e a segunda por bactérias e leveduras (denominada moromi). O molho de soja é um líquido marrom escuro obtido da fermentação de soja com trigo ou outro cereal amiláceo de sabor salgado, com um característico e agradável aroma de extrato de carne, usado como flavorizante ou saborizante em muitos alimentos orientais (AQUARONE, 2001). Além disso, reforça o sabor e a coloração de carnes, frutos do mar e vegetais (AQUARONE, 2001; GUIDI, 2010). As propriedades que o shoyu pode ter, além de condimentar preparos alimentares, são múltiplas. Estudos indicam propriedades antioxidantes (KATAOKA, 1997; AOSHIMA, 2009), anticarcinogênica (BENJAMIN, 1991), estímulos na secreção do suco gástrico (KOJIMA, 1954), ação antimicrobiana em patógenos (AKIBA, 1957; SHIMIZU, 1962) redução da pressão arterial (KINOSHITA, 1993) e algumas propriedades antialérgicas ainda em estudo (KOBAYASHI, 2005).

O presente trabalho avaliou a influência da concentração de goma xantana no processo de encapsulamento de molho de soja-shoyu light pelo método reverso, utilizando alginato de sódio e lactato de cálcio.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Objetivou-se neste trabalho o desenvolvimento de cápsulas de shoyu light com aplicação na gastronomia molecular. A escolha do shoyu foi devido a sua ampla utilidade em diferentes comidas, como vegetais, carnes e frutos do mar, assim como também a escolha do tipo light, já que existe uma grande tendência do consumidor na procura de alimentos com maior saudabilidade (FIESP, 2010).

Desta forma o objetivo geral foi desenvolver cápsulas contendo molho de soja light via encapsulamento por método reverso, propondo algumas modificações, utilizando alginato de sódio e lactato de cálcio como encapsulante, e goma xantana como controlador de dispersão, para fins de utilização na gastronomia molecular.

2.2. OBJETIVO ESPECÍFICOS

O trabalho tem como objetivo específico:

- Verificar se o método de encapsulamento reverso, seguido de modificações, utilizando alginato de sódio e lactato de cálcio, é possível para shoyu light;
- Verificar a influência da adição de goma xantana na formação de cápsulas de shoyu-light;
- Verificar a influência da adição de goma xantana nas propriedades físicas das cápsulas obtidas;
- Elaborar um procedimento que conduza a uma formulação para a elaboração de cápsulas para fins gastronômicos.

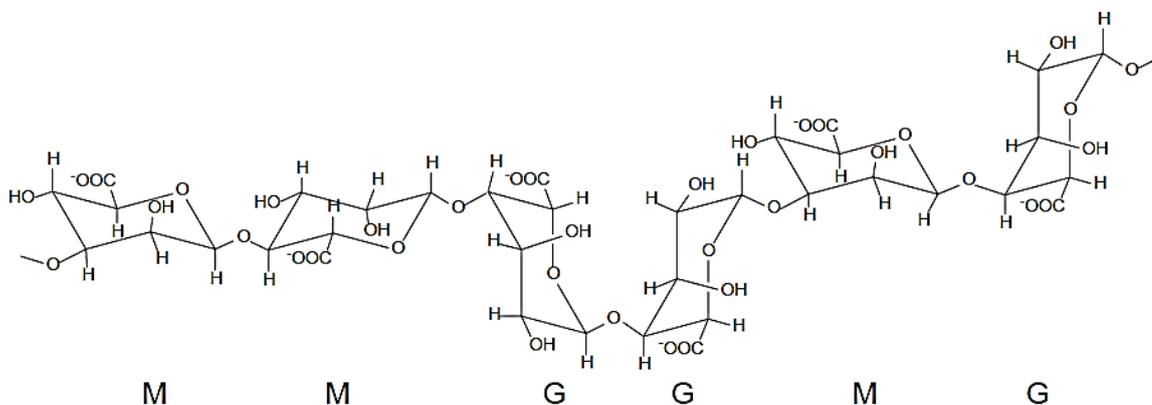
3. REVISÃO LITERÁRIA

3.1. Alginato de Sódio

3.1.1. Propriedades Físicas e Químicas

Os alginatos são polímeros lineares contendo monômeros de ácidos (1,4)- β -D-manurônico e ácidos (1,4)- α -L-glucurônico (ELÇIN, 1995; FENNEMA, 2010; RAMASANY, 2015). Esses monômeros podem ser encontrados em segmentos poliméricos contendo apenas ácidos D-manurônicos ou só ácidos L-glucurônicos, denominados blocos homogêneos MM e GG, respectivamente (LI, 2016). Também é possível encontrar segmentos heterogêneos, o qual ocorre um monômero alternado de cada, formando blocos GM (Figura 1). Normalmente, estes blocos homogêneos são separados por blocos heterogêneos ao longo da cadeia (SALLAM, 2003; RINAUDO, 2014).

Figura 1 - Cadeia polimérica do alginato.



Fonte: SALLAM (2003).

Os blocos MM são ligados entre si por ligações glicosídicas (1→4) do tipo equatorial→equatorial, apresentando uma conformação achatada semelhante a uma fita (FENNEMA, 2010). Os blocos GG apresentaram uma conformação pregueada, devido as ligações glicosídicas (1→4) do tipo equatorial→axial, que forma cavidades ao longo da cadeia polimérica (SALLAM, 2003). Devido a

diferentes conformações, cada bloco apresenta propriedades diferentes, por exemplo, os blocos GG representam a fração do alginato insolúvel em água, enquanto os blocos MM representam a fração solúvel (SALLAM, 2003). Os blocos GG apresentam uma estrutura mais rígida quando comparado aos blocos MM, que possuem um impedimento estérico maior em torna das ligações glicosídicas (FUNAMI, 2009).

O alginato é classificado, quanto sua estrutura polissacarídica, como um heteroglicano, pois apresenta dois tipos de monômeros em sua cadeia linear (FENNEMA, 2010). Os alginatos comercializados são classificados quanto a relação da presença de blocos GG e MM, já que esta relação é relacionada a principal função do alginato, que é de formar géis. Dependendo da variedade das algas e seus processos de obtenção, diferentes porções destes monômeros podem ser encontradas no alginato, influenciando diretamente as propriedades de interesse do mesmo (SALLAM, 2003). Segundo Sallam et al. (2003) existe variação da frequência de blocos em alginatos obtidos por diferentes espécies de algas através da espectroscopia de H-NMR, entretanto genericamente, todas apresentaram maiores quantidade de blocos GG, MM e MG, sucessivamente.

O alginato de sódio é solúvel em água fria e quente (VILLAR, 2009; FUNAMI, 2009), considerado seguro pela GRAS/FDA (RAMASANY, 2015) e um hidrocoloide que promove o aumento da viscosidade de soluções aquosas a medida que aumenta sua concentração (YANG, 2009). Sua dispersão no sistema aquoso, vai promovendo a hidratação de suas cadeias longas e lineares, ocasionando seu inchaço (ganho de volume) e aumento da viscosidade (LI, 2016).

A dispersão aquosa de alginato de sódio é influenciada pelo pH da solução. O pH interfere na cadeia polimérica do alginato tanto em pH ácido ou alcalino. Isto devido aos grupos carboxílicos presentes ao longo da cadeia do polímero, o qual confere diferentes cargas e propriedades em diferentes valores de pH (YANG, 2009). O pH ácido entre 3,0 e 4,5, causa a protonação destas cadeias diminuindo sua solubilidade, em pH menor a 3,0 ocorre a precipitação do ácido algínico e a ionização dos grupos dos ácidos carboxílicos estará reprimida em

razão dos valores pKa de seus constituintes, diminuindo sua interação com a água (FENNEMA, 2010). Em meios alcalinos ocorre a despolimerização da cadeia polimérica (SEGATO, 2007). Em valores de pH entre 5,0 e 10,0, as soluções são estáveis, assim como em temperaturas na faixa de 0 a 100°C (YANG, 2009).

O alginato possui várias vantagens quando comparado com outros biopolímeros comuns, como ser biocompatível no organismo de mamíferos e não causar reações e inflamações durante a ingestão (MOONEY, 2012). Também é biodegradável e não tóxico (YANG, 2009; PARK, 2016). Na indústria de alimentos genericamente é utilizado como estabilizante e espessante por formar soluções viscosas, géis ácidos ou géis estruturados na presença de íons divalentes, e também utilizado como estabilizante de emulsões e espumas (VILLAR, 2009; SEGATO, 2007; LI, 2016). Devido a essas propriedades, o alginato é empregado em produtos alimentícios, tais como: sobremesas geladas, produtos lácteos, produtos de panificação, molhos e temperos, bebidas e em sorvetes como crioestabilizadores para controlar a formação de cristais de gelo (SEGATO, 2007).

Além de sua propriedade de controlar o fluxo de água e de textura pelo aumento da viscosidade em soluções aquosas, o que torna o alginato amplamente estudado é sua capacidade de formar géis rígidos e estáveis na presença de íons divalentes. Diversos fatores influenciam nas propriedades mecânicas destes géis, denominados na literatura de hidrogéis (FENNEMA, 2010). O mecanismo de formação de géis estruturados pela adição de íons divalentes será mais detalhado a seguir.

3.1.2. Obtenção do alginato de sódio

O alginato é encontrado no material celular das paredes de algas marinhas marrons (ELÇIN, 1995; LI, 2016; FUNAMI, 2009) complexados com minerais de cálcio, potássio e sódio (VILLAR, 2009). Os alginatos mais comercializados são os obtidos por algas marinhas marrons da classe *Phaeophyceae* (RAYMENT, 2009; RINAUDO, 2014) sendo as espécies *Laminaria hypeborea*,

Macrocystis pyrifera e *Ascophyllum nodosum* as mais utilizadas e principalmente manufaturadas no Estados Unidos da América, Japão, China, França e Noruega (VILLAR, 2009). O alginato nas algas tem a função de dar força e flexibilidades aos tecidos vegetais (RAYMENT, 2009).

Apesar da principal fonte ser de algas marinhas marrons, o alginato também podem ser produzidos por bactérias *Pseudomonas* e *Azotobactérias*, os quais utilizam fontes de carbono para sua síntese (MOONEY, 2012). Os alginatos obtidos pela *Pseudomonas* apresentam baixa concentração de monômeros de ácido α -L-gulurônico, enquanto que os alginatos obtidos por *Azotobactérias* possuem uma quantidade considerável (MOONEY, 2012).

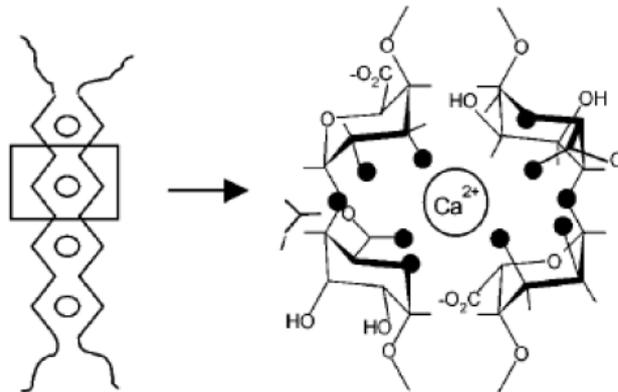
Geralmente os processos de extração e purificação são baseados na conversão da forma insolúvel, encontrada na forma de sais, para a forma solúvel por sucessivas etapas de dissolução e precipitação para obtenção de sais de alginato com a maior pureza possível (VILLAR, 2009). Uma forma de extração foi descrita por Villar et al. (2009) e Sallam et al. (2003), na qual as algas foram trituradas em soluções alcalinas de carbonato de sódio ou hidróxidos de sódio para liberação do alginato insolúvel da parede celular das algas para a solução aquosa, que irá formar alginato de sódio (MOONEY, 2012; SEGATO, 2007). Essa solução espessa, denominada biomassa, é diluída em água em grandes proporções para ocorrer a filtração e eliminação do filtrado insolúvel, que basicamente consiste de celulose das paredes das algas (SALLAM, 2003). O extrato obtido é adicionado de ácido clorídrico até um pH de 4,0 para obter a forma ácida do alginato, o ácido algínico que neste pH forma precipitado devido à baixa solubilidade, o qual é neutralizado pela adição de carbonato de sódio, a um pH próximo de 11,0, para conversão de ácido algínico para alginato de sódio (SALLAM, 2003). O sal obtido é filtrado e passa por um processo de purificação, no qual é solubilizado em água seguida da adição de etanol, o que irá diminuir a solubilidade da solução, formando novamente precipitado de alginato de sódio, porém agora mais puros (SALLAM, 2003). O precipitado é coletado e seco (SALLAM, 2003). O processo de hidrólise, neutralização, extração e purificação ocorre várias vezes para melhor rendimento do processo, podendo ser repetido várias vezes dependendo do interesse comercial (SALLAM, 2003).

3.1.3. Géis

Além de atuar como espessantes de soluções aquosas e modulador de textura em alimentos, o alginato apresenta a peculiaridade de formar géis com ótimas propriedades mecânicas na presença de íons divalentes, mais especificamente cátions bivalentes (ELÇIN, 1995; NAVARRO, 2008). Quando o alginato de sódio é solubilizado em uma solução aquosa contendo íons divalentes ocorre a formação de ligações cruzadas entre íons e cadeias poliméricas (LI, 2016). A medida que as ligações cruzadas vão ocorrendo, há transição de alginato solúvel para alginato insolúvel (FUNAMI, 2009), ou seja, transição da fase líquida para sólido, formando gel (LI, 2016).

Sabe-se que estes íons interagem preferencialmente pelos os blocos GG (MOONEY, 2012; RINAUDO, 2014), pois sua conformação axial forma cavidades propícias para a ligação e permitem alto grau de coordenação devido a maior rotação em torno da ligação glicosídica (ao contrário dos blocos MM) (MOONEY, 2012). Estudos mostram que cátions bivalentes de Pb, Cu, Cd, Ba, Sr, Ca e Zn são altamente propensos a formar tais ligações (LI, 2016). Na área alimentícia, biotecnológica e farmacêutica utilizam-se os íons de cálcio, por serem seguros à saúde humana, para formar as ligações cruzadas entre duas cadeias poliméricas de alginato, estruturas conhecidas como caixa de ovos, representada na Figura 2. Os íons de cálcio atuam como quelante nos blocos GG, podendo formar até nove ligações coordenadas com os oxigênios presente nas cadeias, diminuindo a solubilidade do alginato (PONGJANYAKUL, 2007).

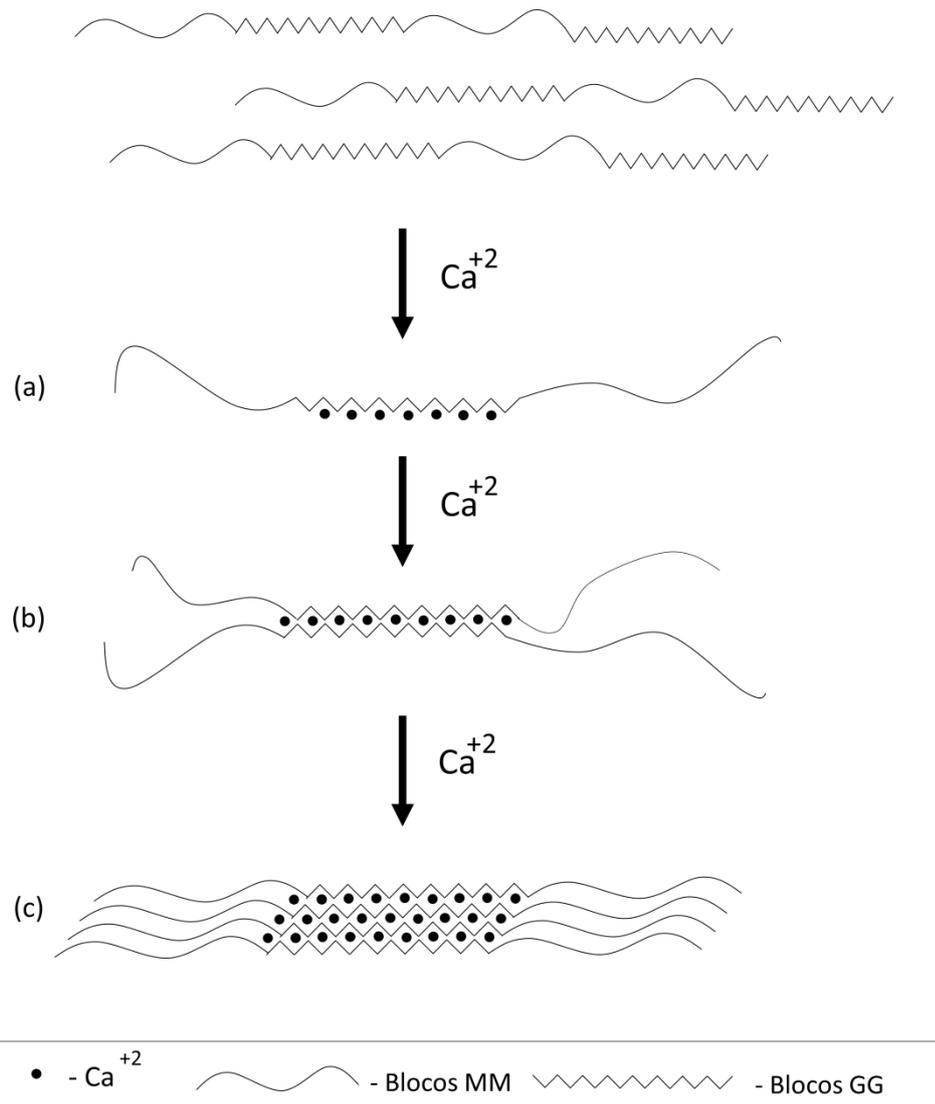
Figura 2 - Ligações cruzadas formadas entre os blocos GG do alginato com íon de cálcio.



Fonte: NAVARRO (2008).

O processo de formação de géis estruturados ocorre em três etapas sucessivas: monocomplexação, dimerização e associação lateral ou multimerização (FARRÉS, 2013). A Figura 3 ilustra o processo de formação dos géis utilizando íons de cálcio. A primeira etapa ocorre logo após a adição de íons de cálcio em dispersões aquosas com alginato, na qual os íons ligam-se preferencialmente a uma cadeia polimérica de blocos GG, os monocomplexos. Após a formação dos monocomplexos, ocorre a diminuição da repulsão eletrostática entre as cadeias de diferentes polímeros, causando suas aproximações (FARRÉS, 2013). A aproximação entre as cadeias, proporciona a formação de dímeros pelas ligações cruzadas do tipo “caixa de ovo” entre duas cadeias distintas, com os íons de cálcio entre os interstícios das cadeias, formando redes tridimensionais compactas e rígidas (FARRÉS, 2013; LI, 2016). A medida que vai aumentando a concentração de íons de cálcio, a repulsão eletrostática tende a diminuir e formar mais dímeros, multímeros, até a associação lateral com demais dímeros (FUNAMI, 2009).

Figura 3 - Processo de formação da rede tridimensional - géis de alginato de cálcio.



Fonte: Autoral. (a) etapa de monocomplexação (b) formação de dímeros (c) associação lateral.

Funami et al. (2009) ao estudarem as etapas de gelificação e formação dos géis de alginato, observaram tais etapas descritas acima. Em seu estudo, avaliaram a relação entre a concentração de íons cálcio e blocos GG para o início de cada etapa. A etapa de nucleação ou monocomplexação iniciou-se com razões menores de 0,25 (Ca/GG), considerando uma etapa percussora da etapa seguinte. Em valores maiores de 0,25 e menores que 0,55, os autores observaram a formação das ligações cruzadas entre duas cadeias, os dímeros, aumentando a coordenação molecular das estruturas. Em valores maiores de

0,55 ocorre a formação de multímeros via associação lateral entre demais dímeros. Isto proporciona uma estrutura mais flexível devido ao alongamento (FUNAMI, 2009).

Entendendo a influência dos blocos GG na formação de géis estruturados pela adição de íons de cálcio, fica evidente que quanto maior a quantidade de blocos GG na composição de um alginato, mais propenso vai ser a formação de géis rígidos e estáveis. Os géis formados com quantidades consideráveis dos blocos GG são geralmente duros e quebradiços, com pouca flexibilidade, enquanto géis formados com blocos MM são macios e elásticos (FUNAMI, 2009; FARRÉS, 2014; LI, 2016).

A rede tridimensional formada, desta forma, apresenta características viscoelásticas dependentes da composição do alginato utilizado. Por se tratar de um gel, apresenta características de um sólido e de um líquido (FENNEMA, 2010). As características sólidas estão associadas aos blocos GG, pois a medida que interagem com íons de cálcio, tornam-se alginato de cálcio, sal insolúvel em água, formando estruturas rígidas de caráter sólido elástico (FARRÉS, 2014). Os blocos MM, são mais flexíveis e macios, não formam estrutura rígidas, mas são capazes de reter água devido aos seus grupos carboxílicos (FENNEMA, 2010). Como o processo de gelificação ocorre em meio aquoso e como entre as cadeias poliméricas há água ligada, à medida que aumenta a concentração de cálcio, há expulsão dessa água presente entre os dímeros, perdendo o gel sua flexibilidade (FARRÉS, 2014).

Esta propriedade característica de formar géis na presença de íons de cálcio, torna o alginato um polissacarídeo de interesse comercial na indústria de alimentos, pela sua compatibilidade em matrizes alimentícias (SEGATO, 2007; RINAUDO, 2014). Sendo utilizado na formação de hidrogéis estruturados, perolas, cápsulas e fibras fisicamente estáveis. Com essa propriedade, outras aplicações são exploradas por cientistas, como no desenvolvimento de embalagens biodegradáveis, denominados biofilmes, com propriedades mecânicas e de barreira extremamente vantajosas (RINAUDO, 2014).

Como será discutido a seguir, a propriedade do alginato em formar membranas de alginato de cálcio insolúvel em água e com propriedades mecânicas interessantes, faz com que o alginato seja vinculado em diversos estudos referentes a processos de encapsulação de compostos bioativos, remédios, proteínas, enzimas, aminoácidos, bactérias e leveduras, aromas, ingredientes e outros (PONGJANYAKUL, 2007; RAYMENT, 2009; BHUJBAL, 2014; LI, 2016; CHAN, 2016a).

Os géis formados pela indução de íons de cálcio podem sofrer modificações por diversos fatores quanto sua conformação, propriedades mecânicas e comportamento de fluxos. Diversos estudos vêm sendo realizados para melhor entender os fatores que podem comprometer a integridade destes géis. Os principais fatores são as concentrações de alginato de sódio, relação de blocos GG e MM, massa molecular, pH, temperatura, presença de sais, tipo e concentração de íons de cálcio (LI, 2016).

Fica evidente sua influência quanto a estabilidade física do gel. Géis compostos por segmento de blocos GG apresentam estrutura mais compactas, não sofrendo inchaços durante a hidratação, e assim ao aumentar a concentração de alginato de sódio, as propriedades viscoelásticas aumentam significativamente, mas principalmente o módulo elástico (FARRÉS, 2013). Os géis de alginato genericamente apresentam comportamento pseudoplástico, altas viscosidades em baixas taxas de cisalhamento (FARRÉS, 2013). Géis com massa molecular maiores, apresentam géis mais viscosos e com módulos elásticos maiores (FUNAMI, 2009).

Quanto a influência da concentração de cálcio, Li et al. (2016) observaram que soluções aquosas de alginato de sódio possuem comportamento de fluxo pseudoplástico, com o módulo de perda maior que o módulo elástico, apresentando um caráter viscoelástico mais próximo de um líquido. A medida que se adicionou íons de cálcio aumentou a rigidez do gel, e o módulo elástico torna-se maior de que o módulo de perda. Mesmo resultado foi evidenciado por Farrés et al. (2014). A concentração de cálcio também influencia na porosidade dos géis, como mostraram Cho et al. (2014) ao avaliarem a influência dos íons de cálcio nos géis de alginato, que quanto maior as concentrações de íons de

cálcio, maior eram as porosidades dos mesmos, apresentando estruturas mais compactas, porém quebradiças. Cho et al. (2014) e Li et al. (2016) observaram que a medida que aumenta a concentração de íons de cálcio, a associação lateral é favorecida, formando fibrilas (fibras visíveis microscopicamente).

A degradação mínima do alginato é em volta da neutralidade do pH e aumenta nos dois casos extremos. Em pH abaixo de 5,0 ocorre a hidrólise catalisada pela protonação das cadeias poliméricas. Em pH altos, ocorre a clivagem da cadeia (CHO, 2014; LI, 2016). A redução do pH na faixa de 3 -3,5 resulta em soluções com maior viscosidade devido a protonação dos grupos carboxílicos da cadeia principal e formação de estruturas hidrofóbicas. Alginatos com alto peso molecular formam géis com propriedades mecânicas melhores e viscosidade maiores.

A adição de sais, principalmente cloreto de sódio, influencia quanto a estrutura dos blocos GG e MM (SEGATO, 2007). Segato et al. (2007) mostraram que o aumento da concentração de sais, aumenta a força iônica que resulta na diminuição da viscosidade das soluções pela contração das cadeias poliméricas.

3.1.4. Encapsulação

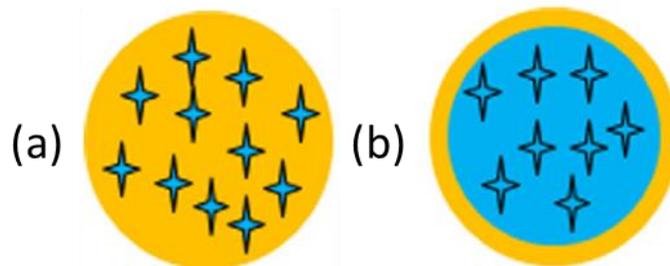
O alginato na presença de íons de cálcio forma géis altamente viscosos, estáveis e estruturados, o que proporciona sua aplicação em diversas áreas, como a encapsulação de compostos. A grande vantagem do uso de alginato na formação de cápsulas é devido sua estabilidade térmica e capacidade de formação de géis rápidos mesmo em concentrações salinas altas (SEGATO, 2007). Sendo utilizado na encapsulação de células vivas, proteínas, amino ácidos, remédios, enzimas, ingredientes alimentícios, compostos voláteis, e outros (CHAN, 2016a).

Diferentes métodos vêm sendo desenvolvidos para produzir partículas de tamanho e morfologias diferentes, de acordo a necessidade de aplicação. Basicamente a síntese de partículas de hidrogel consiste em duas etapas:

dispersão do alginato de sódio; gelificação promovida pela presença de íons de cálcio (CHAN, 2016a).

Primeiramente, é de grande importância definir alguns conceitos descritos por Chan et al. (2016a) envolvidos no processo de encapsulação utilizando alginato. O termo partícula refere-se a encapsulados de qualquer tamanho e forma (CHAN, 2016a). Os processos de encapsulação podem formar genericamente pérolas ou cápsulas (CHAN, 2016a). A diferença está em que as pérolas tem diâmetros maiores do que 1000 μm , conteúdo do núcleo completamente gelificado (CHAN, 2016a). Ainda podem haver micropérolas com diâmetros entre 1 a 1000 μm , porém necessitam de condições específicas de processos (CHAN, 2016a). As pérolas apresentam uma matriz contínua de hidrogel, homogênea (Figura 4a). As cápsulas são definidas como morfologia esférica com membrana distinta do seu núcleo (Figura 4b), ou seja, uma esfera de núcleo líquido contida por uma membrana polimérica (CHAN, 2016a).

Figura 4 - Partículas formadas por processos de encapsulamento utilizando alginato.



Fonte: Adaptado de Chan et al. (2016a). (a) pérolas (b) cápsulas.

O mecanismo para formação de partículas de hidrogéis de alginato de cálcio ocorre em duas etapas: dispersão das soluções e gelificação pela presença de íons bivalentes (CHAN, 2016a). Os mecanismos de dispersão podem ser categorizados em líquido-ar, líquido-líquido e auto-formação.

O mecanismo líquido-ar consiste genericamente na dispersão de solução de alginato de sódio ou solução contendo íons de cálcio por uma propulsão de ar, podendo ser realizados por gotejamento (*dipping*), aspersão (*jetting*) ou atomização (CHAN, 2016a). O gotejamento consiste em soluções de alginato

de sódio que são extrusados em soluções contendo íons de cálcio por seringas com baixa pressão e vazão, proporcionando o acúmulo de líquido na ponta da seringa para formação da gota até a mesma vencer a tensão superficial gravitacional, ocasionando sua queda (CHAN, 2016a). Este mesmo método pode ser feito extrusando soluções de íons de cálcio em soluções de alginato de sódio, o qual a diferença vai ser na estrutura das cápsulas formadas devido ao processo de gelificação contrário (método reverso), esse processo vai ser discutido mais à frente (CHAN, 2016a). A aspensão é similar ao gotejamento pois também se utiliza seringas, porém com vazões de ar maiores. Devido ao maior fluxo, não ocorre o acúmulo de líquido na ponta da seringa formando um fluxo laminar incapaz de formar cápsulas e que necessita de um mecanismo para a formação das gotas, como: vibrações e agitação da solução receptora das gotas, fluxos de ar coaxiais ou arames rotacionais (CHAN, 2016a). Na atomização aplica-se vazões de ar elevadas contra um fluxo de solução a ser encapsulada. Este método não é muito utilizado no processo de encapsulação utilizando alginato, pois necessita de equipamentos de alto custo (CHAN, 2016a).

O mecanismo líquido-líquido genericamente na dispersão de solução de alginato em uma fase contínua de líquido imiscível (óleos) formando uma emulsão água/óleo. Utilizado para formar partículas menores que pelo método líquido-ar, em uma faixa de 1-1000 μm , porém neste método há a necessidade de surfactantes para diminuir a tensão superficial entre as fases imiscíveis e assim auxiliar na dispersão das mesmas. Este mecanismo de dispersão pode ser ainda sub-categorizado em canalizado e não canalizado. O tipo canalizado utiliza uma solução de alginato de sódio que é canalizada em um sistema de tubos com micro furos o qual forma uma gotícula com diâmetro controlado entre 40 a 2000 μm . O não-canalizado consiste em uma mistura caótica de líquidos imiscíveis através de uma agitação mecânica de alta pressão acima de 1000 rpm, o qual produz partículas de diâmetro variados entre 20 a 1000 μm (CHAN, 2016a).

O mecanismo auto-formação utiliza princípios físico-químicos para a redução da tensão superficial, propiciando a formação de encapsulados. A formação de partículas de alginato de cálcio genericamente necessita de forças

externas para quebrar as massas de alginato em pedaços para a formação destas. Para partículas de diâmetros ainda menores, uma energia ainda maior é necessária, aonde um sistema de dispersão é capaz de obter (CHAN, 2016a). Mas quando se trata de diâmetros muito pequenos, em uma escala nanométrica, a energia necessária é tão grande que necessita reduzir esta energia através do uso de tensoativos os quais reduzem a energia pela redução da tensão superficial entre as fases. Proporcionando no final, com altas pressões, a formação de emulsões que irão resultar na formação de nanopartículas (CHAN, 2016a).

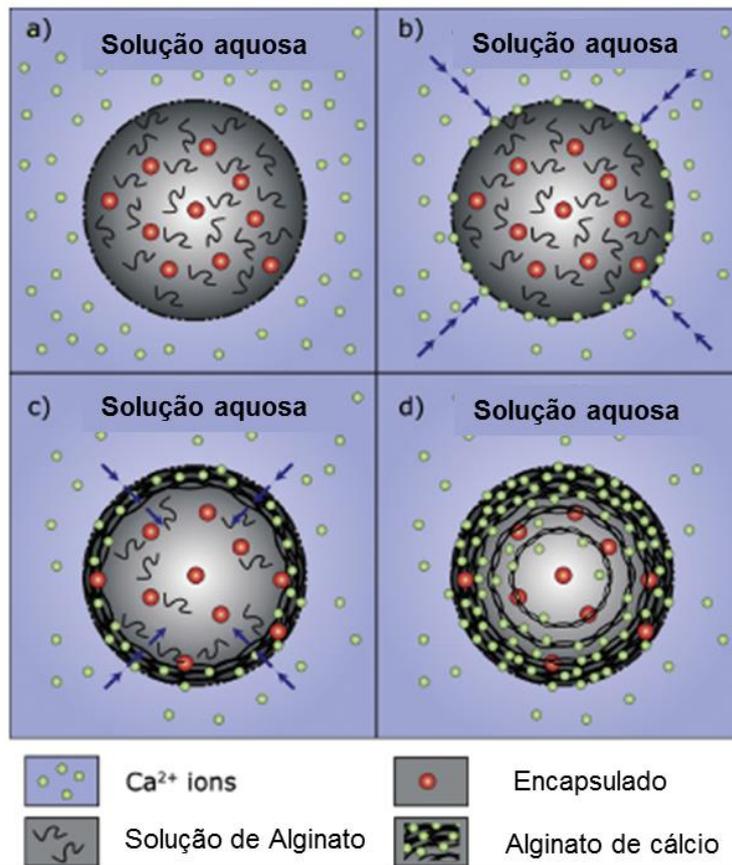
A formação de partículas pelo processo de encapsulação é obtida pelas ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas de alginato de sódio com os cátions divalentes (CHAN, 2016a). Os cátions divalentes ligam-se aos blocos homogêneos de ácido gulurônico formando estruturas tridimensionais similares a caixas de ovos (CHAN, 2016a). O grau de afinidade destas cadeias poliméricas homogêneas com os cátions divalentes é sequencialmente maior para Pb, Cu, Cd, Ba, Sr, Ca e Zn (CHAN, 2016a). Entretanto o mais utilizado é o cálcio por não ser tóxico, sendo o cloreto de cálcio a fonte de cálcio mais utilizada, pois apresenta alta solubilidade, promovendo reações de gelificação quase que instantâneas (CHAN, 2016a). Outras fontes como carbonato de cálcio que é insolúvel em água neutra, são utilizadas para processos de gelificação controlada, ou seja, a medida que o pH vai baixando, inicia-se a dissolução do íon de cálcio na solução promovendo o processo de gelificação (CHAN, 2016a).

A forma que íon de cálcio é disponibilizado durante a etapa de gelificação proporciona diferentes resultados quanto à forma, diâmetro e finalidade do encapsulado, resultando em diferentes métodos de encapsulação. O processo de encapsulação pode ser realizado de três métodos conforme é a disponibilização dos íons de cálcio nas cadeias poliméricas de alginato de cálcio (CHAN, 2016a). Sendo o encapsulamento por método externo, interno e reverso (FUNAMI, 2009).

O encapsulamento por método externo é amplamente utilizado para formação de hidrogéis. Este método, utiliza íons de cálcio ativos altamente

hidrossolúveis, prontos para reagir com os blocos GG (MOONEY, 2012; FARRÉS, 2014). Neste processo os íons de cálcio entram em contato com as gotículas de alginato de sódio externamente, através da extrusão da solução de alginato de sódio em uma solução com íons solúveis de cálcio. As gotículas de alginato ao entrar em contato com a solução de íons de cálcio, sofrem o processo de gelificação rapidamente e periférica e este processo continua através da difusão de íons de cálcio da camada mais externa da gotícula até o interior da gota, formando pérolas sólidas compostas não homogeneamente por alginato de cálcio (MOONEY, 2012; SAGIS, 2014; CHAN, 2016a). A difusão dos íons de cálcio ocorre através dos espaços intersticiais das cadeias poliméricas, processo que irá terminar somente após a total consumo de alginato de sódio presente na gotícula (CHAN, 2016a). O processo de gelificação durante o encapsulamento é ilustrado pela Figura 5. A grande desvantagem deste método é a formação de géis aglomerados, pois a velocidade de difusão dos íons de cálcio em uma solução aquosa é maior do que em soluções que já sofreram o processo de gelificação. Dessa forma, o processo de gelificação diminui à medida que vai se formando os géis, devido à resistência mássica imposta pelo processo de gelificação (MOONEY, 2012; SAGIS, 2014).

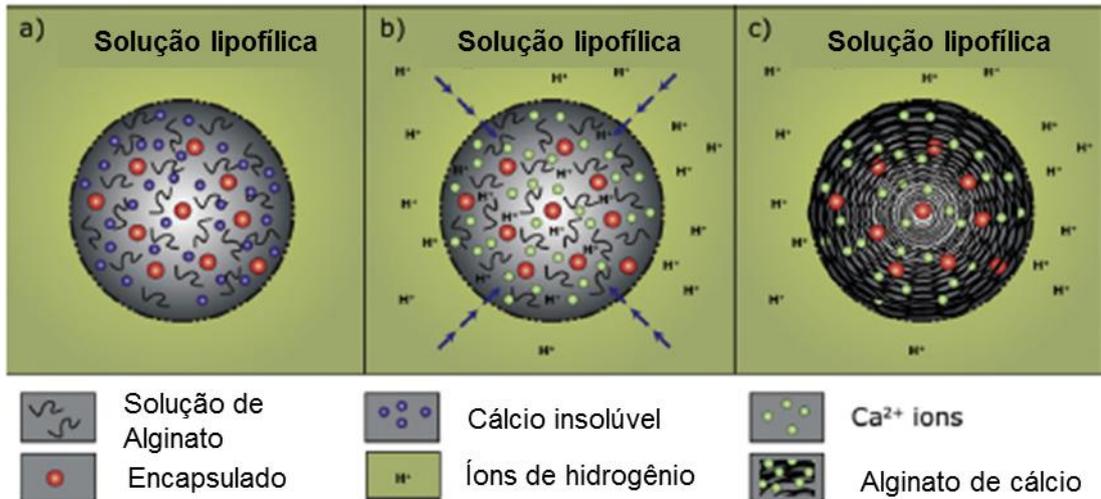
Figura 5- Método de encapsulamento externo.



Fonte: Adaptado de Chan et al. (2016a).

O método interno utiliza fontes de cálcio menos solúvel ou insolúveis, como carbonato de cálcio e sulfato de cálcio (MOONEY, 2012). Esta fonte de cálcio de baixa solubilidade é misturada com a solução de alginato de sódio em condições neutras de forma que não ocorra o processo de gelificação antecipadamente (CHAN, 2016a). Esta solução então é extrusada em uma solução lipofílica (óleo) ácida. A medida que o pH vai diminuindo a solubilidade dos íons de cálcio começa a aumentar, promovendo sua dissociação internamente nas gotículas de alginato de sódio, o qual promove sua gelificação (CHAN, 2016a). Este processo é o mais adequado pois o processo de gelificação pode ser controlado de forma mais lenta, proporcionando uma formação da membrana mais uniforme (CHAN, 2016a). O processo de gelificação durante o encapsulamento é ilustrado pela Figura 6.

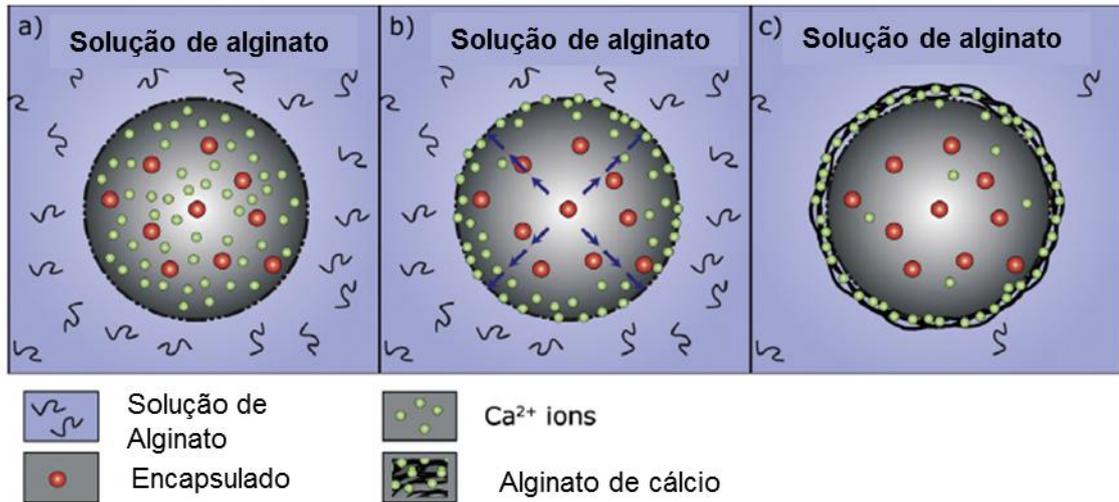
Figura 6- Método de encapsulamento interno.



Fonte: Adaptado de Chan et al. (2016a).

O encapsulamento por método reverso é similar ao processo externo, apenas inverte a ordem de extrusão das soluções, que resulta em partículas com propriedades diferentes. Neste processo, uma solução contendo íons de cálcio solúvel é extrusada em uma solução de alginato de sódio. O processo de gelificação também ocorre por meio difusivo, porém seu sentido é inverso, ou seja, ocorre de dentro para fora e limita-se apenas na região periférica da gotícula, resultando uma membrana externa fina e um núcleo líquido. A grande diferença entre o método externo e reverso é sua estrutura, o método externo forma partículas com núcleo sólido denominadas pérolas, enquanto o processo reverso apresenta uma partícula com núcleo líquido denominadas cápsulas. Este método obtém partículas maiores, entre 0,4 a 7,8 mm e depende de moldes e diâmetros das seringas. As desvantagens deste método são: não apresentar uma uniformidade quanto sua forma esférica; sujeita a deformações, pois devido ao núcleo líquido apresenta uma estrutura menos rígida (CHAN, 2016a). Neste mecanismo se utiliza espessantes naturais para manter a uniformidade quanto à forma, tais como: metilcelulose, carboximetilcelulose, amido, goma guar e goma xantana (ELÇIN, 1995; RAMASANY, 2015; CHIANG, 2016). O processo de gelificação durante o encapsulamento é ilustrado pela Figura 7.

Figura 7 - Método de encapsulamento reverso.



Fonte: Adaptado de Chan et al. (2016a).

Através do método externo de encapsulamento, diversos fatores operacionais influenciam nas propriedades dos encapsulados, além de fatores relacionados às soluções de alginato de sódio e de cálcio. Há variáveis envolvidas nos dispositivos de extrusão para formação de pérolas (PARK, 2016). Poncelet et al. (2016) observaram que a altura de gotejamento, a tensão superficial entre as soluções de íons de cálcio e a gotícula de alginato extrusada, e o diâmetro da seringa influenciavam significativamente na forma, diâmetro e resistência física das pérolas.

Outro fator envolvido no método externo é o tempo de exposição das gotículas de alginato de sódio nas soluções de cálcio, Rayment et al. (2009) verificaram que a medida que aumenta o tempo de exposição, ocorre um aumento significativo da resistência física das cápsulas e a diminuição do diâmetro das pérolas. Tais resultados foram relacionados com o processo de gelificação das pérolas, à medida que o tempo de exposição das pérolas aumentava, o processo de gelificação continuava até total conversão de alginato de sódio para alginato de cálcio, e com o maior número de ligações formadas, ocorria a contração das cadeias poliméricas, o qual ocasionou a redução dos diâmetros das pérolas (RAYMENT, 2009).

Métodos mais sofisticado, vem utilizando outros componentes capazes de aumentar a resistência física das pérolas de alginato de cálcio por processo de revestimento utilizando quitosana (NAVARRO, 2008). Outros estudos utilizam o método externo para formar um revestimento externo a mais nas cápsulas obtidas por métodos reversos (ELÇIN, 1995; ROGERS, 2012; GONZALEZ, 2016b; CHIANG, 2016).

A técnica de encapsulamento externo apresenta algumas desvantagens na aplicação gastronômica. O alginato de sódio quando misturado em matrizes ou soluções alimentícias com alto conteúdo de íons de cálcio pode sofrer a gelificação antes de ocorrer o processo de encapsulação, comprometendo o processo (CHIANG, 2016). Uma alternativa é o método reverso, pois é mais versátil e independe da natureza da solução, pH ácido e alta concentração de cálcio (CHIANG, 2016). Na gastronomia molecular se utiliza mais lactato de cálcio e carbonato de cálcio pois os cloretos de cálcio agregam sabor salgado e amargos nos alimentos (ROGERS, 2012).

3.2. Goma Xantana

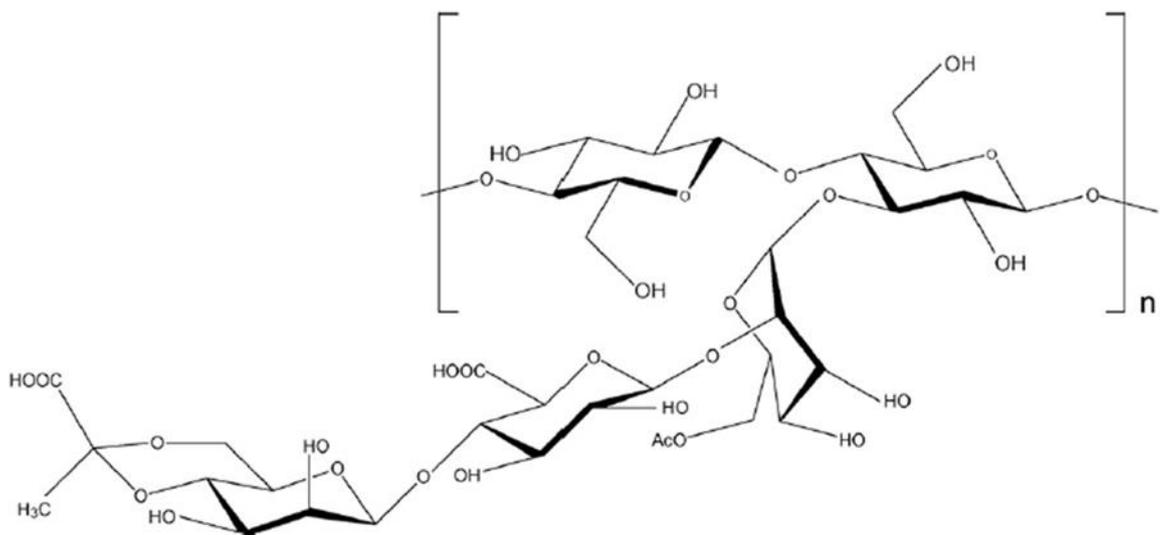
3.2.1. Propriedades físicas e químicas

A *Xanthomonas campestris* é uma bactéria muito encontrada nas folhas das plantas da família da couve, que secretam um polissacarídeo denominado xantana que é produzido em grandes fermentadores em condições aeróbicas (PETRI, 2011; FENNEMA, 2010; RAMIREZ, 2014). A goma xantana é um heteroglicano considerado não tóxico e com uma estrutura de repetidos pentassacarídeos unidos por ligações glicosídicas, com uma composição aproximada de 30 % de D-glicose, 27,3 % D-manose, 14,9% ácido-D-glucurônico, 7,1% de pirutavo e 6,5% de acetato (OCHOA, 2000).

Quanto sua estrutura molecular, a xantana apresenta duas unidades β -D-glicose compondo a cadeia principal e uma cadeia lateral trissacarídica β -D-manopiranosil-(1 \rightarrow 4)- β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 2)-6-O-acetil- β -D-manopiranosil (FENNEMA, 2010; NAWAB, 2016), conforme ilustra Figura 8. Essa cadeia

lateral, composta por duas unidades de D-manopiranosil e uma de ácido D-glucurônico, interage fortemente com a cadeia principal, tornando a molécula ao todo estável e bastante rígida (FENNEMA, 2010; PETRI, 2011; RAMIREZ, 2014; DONG, 2015). A molécula xantana pode apresentar conformações helicoidais, fita simples, dupla ou até tripa (OCHOA, 2000).

Figura 8- Estrutura da cadeia polimérica da goma xantana.



Fonte: Harding et al. (2011).

A goma xantana, classificada como um hidrocoloide, é muito utilizada como goma alimentícia devido à alta solubilidade tanto em água quente como em água fria, e por produzir dispersões aquosas com alta viscosidade e rígidas, mesmo em baixas concentrações (OCHOA, 2000; FENNEMA, 2010; RAMIREZ, 2014). Estas soluções não sofrem mudanças significativas na viscosidade na faixa de temperatura de 0 a 100 °C (OCHOA, 2000; FENNEMA, 2010; RAMIREZ, 2014). Tais propriedades são devidas à cadeia lateral presente na estrutura do polímero e a interação dos grupos carboxílicos presentes do polímero com a água (RAMIREZ, 2014). Estes géis apresentam alta consistência, alta viscosidade em baixas taxas de cisalhamento e comportamento de fluxo pseudoplástico (MILAS, 1986; RAMIREZ, 2014). A medida que se aumenta a taxa de cisalhamento a viscosidade do gel diminui significativamente (OCHOA, 2000).

A aplicação de goma xantana vem sendo empregada em uma ampla variedade de alimentos por estabilizar emulsões, produzir soluções viscosas estáveis em uma grande faixa de temperatura, ter compatibilidade com matrizes alimentícias e apresentar soluções com viscosidade estável em grande faixa de pH (RAZAVI, 2012). Como mostra a Tabela 1.

Tabela 1 - Principais aplicações da goma xantana na indústria.

Aplicação	Concentração (% p/p)	Função
Molho de Saladas	0,1-0,5	Emulsificante, estabilizante e dispersante
Xaropes e molhos	0,05-0,2	Espessante, e mantém viscosidade em altas temperaturas
Bebidas	0,05-0,2	Estabilizante de textura e espumas
Produtos lácteos	0,05-0,2	Modulador de viscosidade – estabilizante
Comidas congeladas	0,05-0,2	Aumenta a estabilidade da textura no frio, crioestabilizador
Industria Farmacêuticas (cremes de pele)	0,1-1,0	Emulsificante
Cosméticos (shampoos)	0,2-1,0	Espessantes
Panificados	0,1-0,4	Estabilizante

Fonte: Adaptada de Ochoa et al. (2000).

Os géis de goma xantana apresentam comportamento pseudoplástico em baixas concentrações (OCHOA, 2000). Toneli et al. (2005) e Ravazi et al. (2012) verificaram que tais soluções apresentam comportamento tixotrópico, sua viscosidade diminui ao longo do tempo, porém este efeito depende da concentração, em baixas concentrações a tixotropia é mais evidente, enquanto em altas concentrações o comportamento tixotrópico é mínimo.

Estudos mostraram que genericamente a temperatura influencia na viscosidade destas soluções (OCHOA, 2000). O aumento da temperatura resulta na redução da viscosidade, porém o efeito é reversível em uma faixa de temperatura entre 0 a 100 °C, ou seja, seu comportamento volta ao normal a medida que a temperatura diminui (OCHOA, 2000; NICOLAI, 2010).

Entretanto, o efeito da temperatura durante a dissolução das gomas apresenta uma peculiaridade quanto a conformação resultante das cadeias poliméricas da xantana. A goma xantana quando dissolvida a 60 °C, apresenta viscosidade maior do que as soluções dissolvidas a 20 e 40 °C, a razão disto está na conformação obtida das cadeias nestas temperaturas de dissolução (OCHOA, 2000). Em altas temperaturas, acima de 60 °C, a goma xantana apresenta uma conformação desordenada de suas cadeias devido a liberação de sua cadeia lateral, enquanto a baixas temperaturas, abaixo de 60 °C, apresentam uma conformação helicoidal ordenada (OCHOA, 2000). Tal efeito foi observado primeiro por Milas et al. (1986) devido a mudança do ângulo de rotação óptica das soluções.

A adição de sal também mostrou influência na conformação das cadeias da goma xantana. A adição de sais inorgânicos diminui a repulsão eletrostática das cargas entre a cadeia principal e lateral, contraindo as cadeias, formando estruturas mais compactas, diminuindo a viscosidade das soluções (DONG, 2015). Dong et al. (2015) ao avaliarem a influência da adição de cloreto de sódio, cloreto de potássio e cloreto de cálcio na viscosidade dos géis, verificou que a medida que aumenta a concentração destes sais a viscosidade da solução reduzia significativamente. Os efeitos eram mais significativos para cloreto de sódio, cloreto de potássio e cloreto de cálcio, sucessivamente nesta ordem. Porém, o efeito do aumento da força iônica entre as cadeias não era significativo em altas concentrações de goma xantana (OCHOA, 2000).

Resumidamente, em altas temperaturas e baixas concentrações salinas os géis apresentam uma estrutura flexível e desordenada. Em baixas temperaturas e altas concentrações salinas apresentam uma estrutura mais rígida e ordenada com uma conformação helicoidal (PETRI, 2011; (RAMIREZ, 2014).

Como já mencionado, a utilização de polissacarídeos espessantes no processo de encapsulação vem sendo estudado extensivamente devido ao aumento das propriedades mecânicas, estabilidade dos encapsulados e modulador da forma esférica (GONZALEZ, 2016b). Sharma et al. (2016)

estudaram o uso de diferentes polissacarídeos naturais, incluindo a goma xantana, no controle sistemático de difusão do núcleo durante o encapsulamento. González et al. (2016b) utilizaram goma xantana, goma guar e quitsona como moduladores de forma, com o intuito de manter as formas esféricas durante o processo de encapsulamento por método reverso, método sensível à deformação das partículas. Chang et al. (1993) comprovaram que o uso de goma xantana aumentou a estabilidade da forma esférica de cápsulas e pérolas de alginato de cálcio. Pongjanyakul et al. (2007) verificaram que o uso de goma xantana durante o processo de encapsulamento aumenta a retenção do encapsulado, evitando perda do núcleo líquido.

3.3. PROPRIEDADES REOLÓGICAS

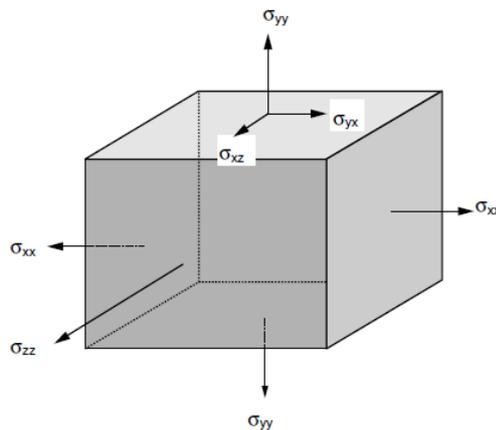
Os materiais comportam-se diferentemente de acordo seu estado físico e composição. Os sólidos podem comportar-se como plásticos, que sofrem deformações permanentes ou elásticos que após a remoção da tensão voltam ao seu estado inicial. Os líquidos e gases são denominados de fluídos e podem fluir sem se desintegrar quando aplicado uma pressão em seu corpo, em contraste, semissólidos deformam-se quando uma pressão é aplicada sobre eles (FELLOWS, 2006).

O comportamento mecânico dos materiais é caracterizado pela resposta que estes apresentam quando submetidos à tensão ou deformação (IBARZ, 2003). As respostas dos polímeros, por exemplo, às solicitações mecânicas são acentuadamente dependentes de fatores estruturais e de variáveis externas (temperatura por exemplo). Os polímeros em solução se caracterizam por apresentar um comportamento intermediário entre o sólido elástico e o líquido viscoso, dependendo da temperatura e da escala de tempo do experimento (FENNEMA, 2010). Esta característica intermediária é denominada viscoelasticidade (WASILKOSKI, 2006). A reologia é a ciência que estuda o fluxo e deformações de sólidos e fluidos (líquidos e gases) sobre a influência de forças. Para estudar reologia, deve se ter equipamentos reométricos que avaliam o seu

comportamento de fluxo (IBARZ, 2003) e, antes de tudo, entender os fatores envolvidos em uma deformação.

Quando uma força é aplicada em um corpo, um efeito é observado em resposta da ação aplicada, que depende propriamente da forma e do material em questão, a resposta é a deformação. A Figura 9, que ilustra um diagrama de tensões aplicadas em um determinado corpo. As tensões (σ), forças aplicadas sobre uma área superficial, podem ser classificadas como normais ($i=j$) ou tangenciais ($i \neq j$).

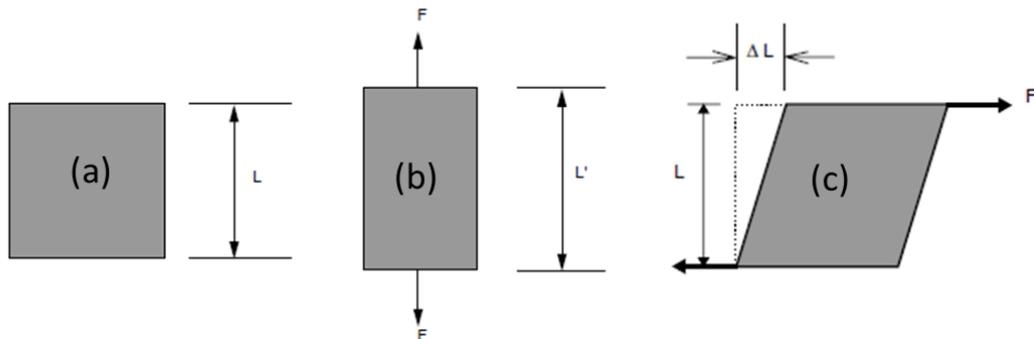
Figura 9 – Diagrama de tensões aplicadas em um corpo.



Fonte: Adaptado de Ibarz (2003).

As forças normais promovem deformações longitudinais, enquanto, tensões tangenciais promovem deformações angulares (IBARZ, 2003). Esta última, também conhecida de tensão de cisalhamento atua paralelamente ao plano de escoamento de uma área específica (MCCABE, 2005). A Figura 10 ilustra a deformação ocasionada por cada tipo de tensão, sendo “L” o comprimento original do quadrado, “F” a força aplicada em uma determinada área do objeto, “L’ ” o comprimento final após a deformação longitudinal, “ ΔL ” a deformação angular promovida pela força de cisalhamento.

Figura 10 - Deformações por tipo de tensão aplicada



Fonte: Adaptado de Ibarz (2003), (a) objeto sem força aplicada, (b) objeto sob efeito da deformação longitudinal e (c) objeto sob efeito da tensão de cisalhamento.

A classificação entre sólidos e líquidos é bem clara no sentido mecânico: sólidos seguem a lei de Hooke (equação 1a) e líquidos a lei de Newton (equação 1b) (IBARZ, 2003) (WASILKOSKI, 2006).

$$\tau = G' \cdot \varepsilon \quad (a) \quad \tau = \eta \cdot \gamma \quad (b) \quad (1)$$

(a) Lei de Hooke para sólidos elásticos, aonde G' é o módulo de rigidez do sólido, τ a tensão de cisalhamento e ε a taxa de deformação em resposta; (b) Lei de Newton para fluídos, aonde η é o coeficiente de atrito ao escoamento (viscosidade) e γ a taxa de cisalhamento.

A relação da taxa de cisalhamento e tensão de cisalhamento num fluído é denominada viscosidade. Para avaliação, curvas são plotadas relacionando ambos parâmetros sob temperatura e pressão constante. Quando um fluído apresenta um comportamento linear partindo da origem são denominados newtonianos e a equação 1b se aplica para explicar seu comportamento. Quaisquer desvios desta linearidade são denominados genericamente de não-newtonianos (MCCABE, 2005; IBARZ, 2003; FELLOWS, 2006).

Em líquidos newtonianos, quando uma força é aplicada, inicia-se o escoamento (IBARZ, 2003). A velocidade da camada externa (Δv) é maior pois sofre menos efeito da resistência do escoamento, pela equação 2 é possível ver que a medida que o fluído se distancia da superfície (Δy) de escoamento, maior é sua velocidade de escoamento. A velocidade aumenta com a distância da superfície (Δy) de

escoamento (MCCABE, 2005), podendo ser interpretada como momento de fluxo. Já que a velocidade vai aumentando à medida que vai se distanciando da parede e a velocidade na parede tende a zero (comportamento análogo ao momento de uma força).

$$\frac{dv}{dy} = \lim_{\Delta y \rightarrow 0} \left(\frac{\Delta v}{\Delta y} \right) \quad (2)$$

Para líquidos simples a viscosidade pode ser considerada como uma propriedade constante do material, aonde a viscosidade resulta da razão entre a tensão de cisalhamento e a taxa de cisalhamento (FELLOWS, 2006). Este comportamento é encontrado na maioria das bebidas como chás, cafés, cervejas, vinhos e leite (IBARZ, 2003). Em materiais mais complexos, como polímeros, a viscosidade não é constante com o aumento da taxa de cisalhamento, sendo chamados de não-newtonianos, conforme ilustra a Figura 11. A relação descrita pela equação 3, apenas é válida em regiões de comportamento linear da viscosidade e fluxo laminar (WASILKOSKI, 2006). Onde " τ " é a tensão de cisalhamento, " η " a viscosidade e " γ " a taxa de cisalhamento.

$$\tau = \eta \cdot \frac{\partial v}{\partial y} \quad \gamma = \frac{\partial v}{\partial y} \quad (3)$$

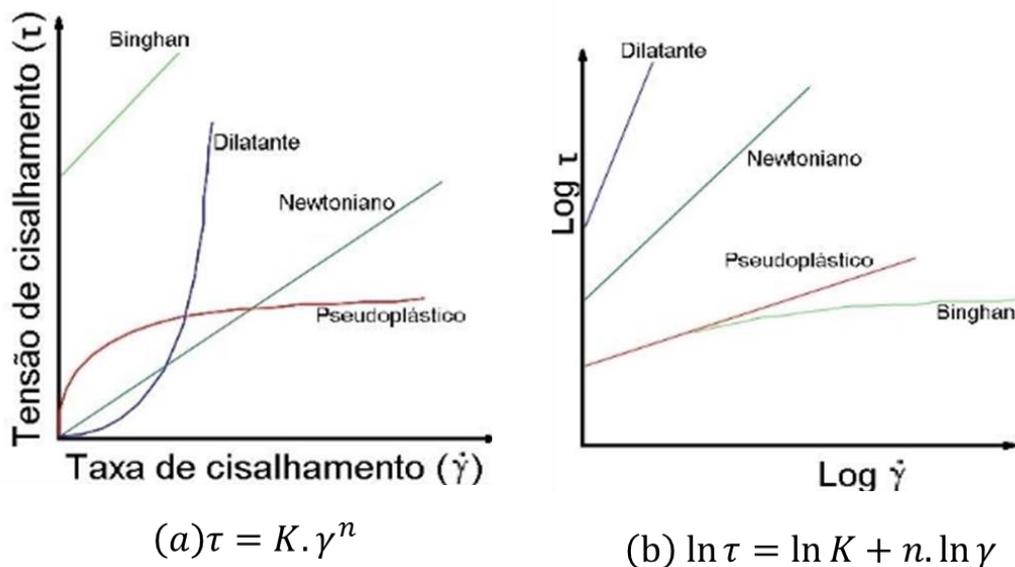
Pela lei da potência, descrita por Ostwald de Waele para avaliar fluídos não newtonianos, esse desvio pode ser caracterizado conforme o comportamento do fluído. Conforme a Figura 11a, " K " é o índice de consistência e " n " o índice de comportamento ou de escoamento. Quando " n " for igual a um, o fluído é caracterizado como newtoniano, " n " maior que um é dilatante (viscosidade aumenta com o aumento da tensão de cisalhamento) e " n " menor que um é pseudoplástico (viscosidade diminui com o aumento da tensão de cisalhamento). Fluídos pseudoplásticos tem a estrutura deformada quando ocorre o aumento da tensão. O aumento de tensão para dilatantes ocasiona maior interação entre os componentes do fluídos promovendo o aumento de sua viscosidade (SANTANA, 2010). Quanto

maior o parâmetro “K”, maior é a viscosidade da solução e conseqüentemente menor o valor de “n”, que tem um escoamento desfavorecido.

Para fluídos não-newtonianos segue a mesma relação, entretanto a viscosidade depende da taxa de cisalhamento aplicada sob o fluído, desta forma sua mensuração é mais complexa pois seu comportamento varia de acordo com a taxa (IBARZ, 2003). A relação genérica é ilustrada abaixo. Onde “ η_a ” é a viscosidade aparente mensurada ou calculada para condições específicas aplicadas ao fluído, aplicando tensões de cisalhamento e taxas diferentes, valores diferentes de viscosidade serão encontrados, gerando curvas similares ao da Figura 11.

$$\eta_a = f(\gamma) = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} \quad (4)$$

Figura 11 – Comportamento de fluídos e lei das potências.



Fonte: Adaptado de Santana (2010).

Fluídos não-newtonianos apresentam esta relação não-linear, como emulsões, suspensões e soluções muito concentradas. Em baixas concentrações de polissacarídeos as soluções apresentam comportamento newtoniano, mas à medida que vai aumentando a concentração ocorre a transição para não-newtoniano (FELLOWS, 2006; IBARZ, 2003).

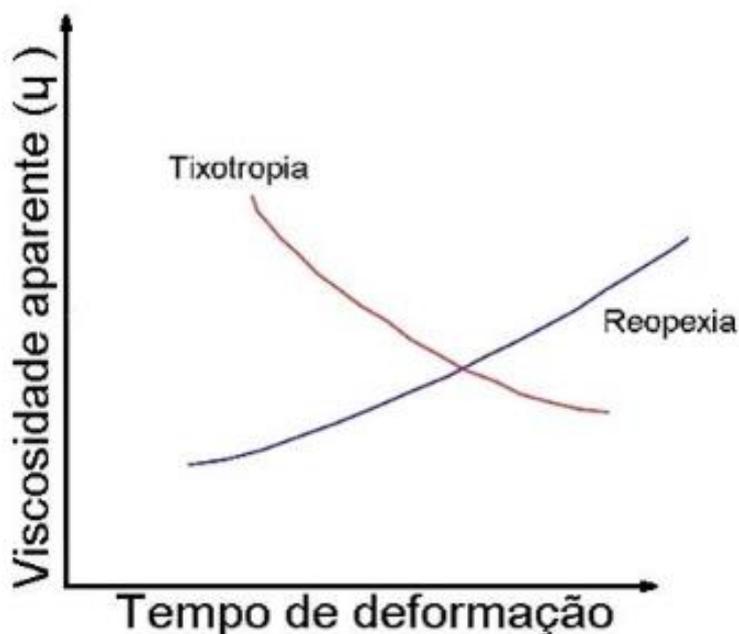
Pseudoplástico são fluídos com compostos de alto peso molecular e de cadeia longa e de alta interação entre as partículas (IBARZ, 2003) que resultam na redução da viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento (FELLOWS, 2006). Óleos apresentam comportamento, na maioria dos casos, newtoniano, mas quando sofrem altas taxas de cisalhamento seu comportamento muda para pseudoplástico (IBARZ, 2003).

Dilatantes são suspensões concentradas (IBARZ, 2003) que apresentam um aumento de viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento (FELLOWS, 2006).

Plásticos de Bingham não fluem até alcançar uma tensão de cisalhamento crítica de escoamento, o qual após atingir esse valor inicia-se o fluxo (IBARZ, 2003; FELLOWS, 2006).

Todos os modelos citados acima, são independentes do tempo, apenas dependem da tensão de cisalhamento aplicada e taxa de deformação. Além destes, há os fluídos dependentes do tempo, o tempo de aplicação de uma taxa de cisalhamento pode aumentar ou diminuir sua viscosidade (IBARZ, 2003; FELLOWS, 2006). Se aumentar a viscosidade é caracterizado como Reopéticos, caso diminuir é caracterizado como tixotrópico (IBARZ, 2003; FELLOWS, 2006). Dependentes do tempo não só dependem da relação tensão e taxa de cisalhamento, mas também do tempo que são expostos a tais deformações, como mostra a Figura 12. A Tabela 2 traz a designação apropriada para cada tipo de fluído em relação ao efeito causado pelo aumento da taxa de cisalhamento e seus respectivos exemplos.

Figura 12 – Comportamento da viscosidade de fluídos dependentes do tempo em função do tempo de deformação



Fonte: Santana (2010).

Tabela 2 – Descrição reológica dos fluídos.

Designação	Efeito do aumento da taxa de cisalhamento	Dependência do tempo?	Exemplos
Pseudoplástico	Afinamento, redução da viscosidade	Não	Soluções poliméricas, suspensões de amido, maionese, tintas.
Tixotrópicos	Afinamento, redução da viscosidade	Sim	Alguns polímeros em solução, algumas tintas.
Newtonianos	Nada	Não	Gases e a maioria de líquidos simples.
Dilatantes	Espessantes, aumento da viscosidade	Não	Soluções de açúcar e farinha de milho, amidos em água.
Reopéticos	Espessantes, aumento da viscosidade	Sim	Soluções de Gipsita.

Fonte: Adaptado de McCabe (2005).

Os fluídos não-newtonianos que apresentam características de um sólido elástico e de um fluído newtoniano simultaneamente, podem ser descritos pelo modelo de Kelvin ou Voight, equação 5, que define o comportamento viscoelástico linear de fluídos. Esta equação serve para a caracterização das propriedades viscoelástica e são válidas apenas quando realizadas em regime linear (WASILKOSKI, 2006).

$$G^* = G' \cdot \varepsilon + \eta \cdot \gamma \quad (5)$$

Onde G^* é módulo complexo dinâmico que caracteriza o comportamento de um fluído em duas componentes: módulo de elasticidade e módulo de perda. O G' é a energia conservada durante uma deformação que será utilizada na recuperação da ação aplicada, sendo esta a contribuição das características sólidas do fluído. O G'' é o modulo de dissipação e mede a energia dissipada no escoamento para vencer o atrito interno, sendo esta a contribuição viscosa do fluído (TOMÉ, 2012; IBARZ, 2003) representada pelo último fator da equação 5, da esquerda para direita.

A mensuração de viscosidade de fluídos newtonianos pode ser feita com viscosímetros rotacional, viscosímetro de tubo e de bola, viscosímetro capilar e outros (IBARZ, 2003). Quando se trata de fluídos não-newtonianos a mensuração da viscosidade pode ser feita pelos mesmos instrumentos citados acima, entretanto o valor obtido é a viscosidade aparente para uma determinada temperatura e condições de deformação específica do próprio equipamento e da probe utilizada, não trazendo informações a respeito do comportamento do fluído (WASILKOSKI, 2006). Para fluídos não-newtonianos a avaliação da viscosidade é complexa (FELLOWS, 2006) devido a variabilidade com a tensão e taxa de cisalhamento aplicada, então, recomenda-se reômetros rotacionais, nas quais pode-se obter valores de G' e G'' , tensões limites de escoamento, estabilidade do fluído e outros parâmetros e informações mais conclusivas a respeito das propriedades do fluído durante determinadas condições de deformação. Esses reômetros tem a capacidade de atuar nos modos estacionário e oscilatório, controlando a tensão ou deformação aplicada (WASILKOSKI, 2006).

A análise dinâmica mecânica (DMA - Dynamic Mechanic Analysis em inglês) é o método mais sofisticado e preciso para avaliação do comportamento viscoelástico de materiais e utiliza o teste SAOS (small amplitude oscillatory system) que avalia a resposta de um corpo submetido a uma ação oscilatória, sendo aplicada uma tensão ou deformação (ou taxa de cisalhamento) de baixas amplitudes para não danificar a estrutura da amostra (TOMÉ, 2012). Um material perfeitamente elástico ou “Hookiano” tem uma deformação resposta proporcional a tensão aplicada, tendo um ângulo de atraso “ δ ” (defasagem) igual a zero. Materiais viscosos ideais, newtonianos, apresentam uma tensão de ruptura proporcional à deformação de resposta, apresentando uma defasagem de 90 ° (WASILKOSKI, 2006). Materiais viscoelástico comportam-se com valores de defasagem entre 0 e 90 ° (WASILKOSKI, 2006). Leis de proporcionalidade linear (Hooke e Newton) relaciona tensão e deformação, que na maioria dos materiais a obedecem em uma pequena faixa de tensão, porém, acima desta faixa seguem um comportamento não linear, não sendo possível aplicar tal relação.

3.4. MOLHO DE SOJA – SHOYU

O molho de soja, comercialmente denominado como shoyu, é de origem oriental e é classificado na legislação Brasileira e Japonesa como condimento, molho e tempero para uso em alimentos, quanto sua utilização. Sua obtenção é através de um processo complexo de duas fermentações: a primeira por bolores (denominada *koji*) e a segunda por bactérias e leveduras (denominada *moromi*). Desta forma, o produto é classificado, quanto ao seu processo de obtenção, como um fermentado de soja e outros grãos amiláceos (AQUARONE, 2001).

O shoyu mais comercializado e produzido, o koikuchi, é um líquido marrom escuro obtido de fermentação de soja com trigo ou outro cereal amiláceo de sabor salgado, com um característico e agradável aroma de extrato de carne, usado como flavorizante ou saborizante em muitos alimentos orientais (AQUARONE, 2001). Além disso, reforça o sabor e a coloração de carnes, frutos do mar e vegetais (AQUARONE, 2001; GUIDI, 2010). Apesar de ser utilizado trigo, alguns fabricantes optam por substituir o uso por milho e derivados (xaropes) para melhor satisfazer o gosto brasileiro (GUIDI, 2010). A utilização do shoyu como tempero

está associado ao seu sabor umami devido a ácidos aminicos, principalmente os ácidos aspártico e glutâmico, produzidos no processo de hidrólise de proteínas durante a fermentação de trigo e soja (KAMAL, 2016). O gosto de ácido-L-glutâmico livre, em baixa concentração de sal é puramente descrito como o sabor umami, que em interação pode intensificar sabores (LIOE, 2010) substituindo o uso de sal em algumas preparações (FENNEMA, 2010).

A origem o molho de soja é oriental, mais exatamente na China. O período não é certo, alguns descrevem entre 10 mil a 15 mil anos atrás durante a transição entre a prática da caça e o início da conservação de alimentos por secagem, salga e fermentação (AQUARONE, 2001). Outros citam livros de ritos e comemorações da Dinastia Chau (China) a 1.000 a.C. que traziam mais de 120 tipos de molhos, incluindo o de soja e seus equivalentes (MARKLEY, 1951). O período é incerto, mas sabe-se que tal conhecimento transferiu-se para o Japão através do Budismo (TACHL, 2016) como meio de preservação de alimentos através da fermentação por meados de 600 d.C. (AQUARONE, 2001) e assim espalhou-se pela Ásia e demais continentes.

A variedade de shoyu é grande já que sua produção e qualidade final depende do tipo e proporções de matéria prima utilizadas, assim como os microrganismos utilizados e condições aplicadas durante fermentação (MUROOKA, 2008). Atualmente o Japão é o líder em número de produtores, consumo e tecnologia. O Japan Agricultural Standard (JAS) define 5 tipos de molho de soja a respeito da sua composição: koikuchi, usukuchi, tamari, saishikomi, shiro (TACHL, 2016; (LIOE, 2010).

O tipo Koikuchi (84% da produção japonesa) apresenta uma cor escura marrom avermelhada e sabor forte, feito em partes iguais de soja e trigo na primeira fermentação por bolores, seguidos por uma segunda fermentação láctica e alcoólica e o produto final é pasteurizado a 80 °C. O método é considerado o de melhor qualidade e com um gosto agradável (AQUARONE, 2001). Apresenta aproximadamente 10 % de aminoácidos livres e compostos nitrogenados (AQUARONE, 2001; KATAOKA, 2005; TACHL, 2010; LIOE, 2010). Myage et al (2013) avaliou a preferência de diversos tipos de shoyu, aonde o koikuchi apresentou preferencias pelo atributo cor.

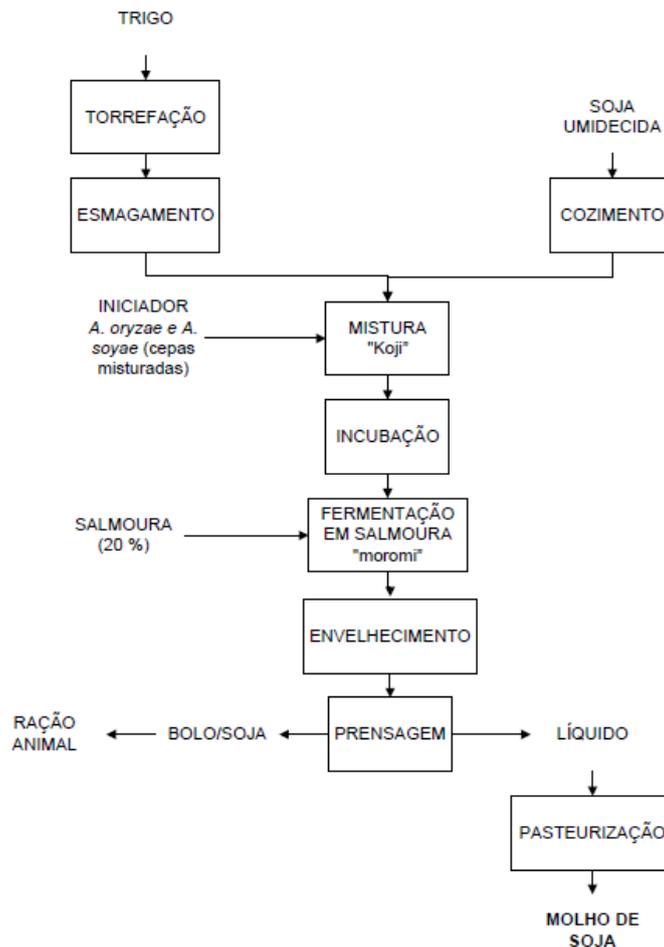
O tipo Usukuchi (13% da produção japonesa) apresenta uma mistura contendo uma quantidade igual de soja e trigo, apresenta uma cor mais clara pois durante o processo fermentativo é induzido para tal resultado (KOBAYASHI, 2005). O tipo Tamari (1,5% da produção japonesa), é produzido principalmente de soja com uma quantidade pequena de trigo (menos de 10%), apresenta alto teor de nitrogênio e sabor forte em resposta a altas quantidades de soja (KATAOKA, 2005; KOBAYASHI, 2005; LIOE, 2010). O tipo Sashikomi (1,0% da produção japonesa), aparentemente um extrato enzimático de trigo e soja não pasteurizado (AQUARONE, 2001) em proporções iguais de grãos (LIOE, 2010). O tipo Shiro (0,7% da produção japonesa), possui uma coloração muito clara e é feito de trigo com uma pequena quantidade de soja, apresentando uma coloração mais clara e amarelada e é processado em condições menores de fermentação (KATAOKA, 2005; KOBAYASHI, 2005; LIOE, 2010).

O molho de soja – shoyu pode ser produzido por dois métodos. O antigo método chinês é o método de digestão proteolítica enzimática proporcionado pela fermentação e o outro por hidrólise química dos grãos de soja (MARKLEY, 1951).

A produção por método de hidrólise ácida não será descrita mais detalhadamente pois o shoyu utilizado é obtido por fermentação. Desta forma, este método tem como intuito obter um produto com as mesmas características organolépticas do método fermentativo, porém com tempos de processo reduzidos. A primeira etapa (*koji*) poderia ser substituída por uma hidrólise ácida, e então neutralizada com hidróxido de sódio. O molho de soja ácido hidrolisado possui aroma e flavor menos atrativos devido a falta de substâncias aromáticas da fermentação (GUIDI, 2010).

O processo do tipo koikuchi, o qual é o mais produzido e consumido no mundo, consiste na etapa de preparo das matérias primas, uma primeira fermentação (*koji*), uma segunda fermentação (*moromi*) e purificação (etapa de prensagem e pasteurização) como ilustrado na Figura 13 (AQUARONE, 2001).

Figura 13 - Processo produtivo do molho de soja - shoyu do tipo koikuchi.



Fonte: (GUIDI, 2010).

O método koikuichi utiliza proporções iguais de grãos de soja e trigo (ou farinha de trigo) que necessitam de um tratamento prévio para propiciar melhores condições de incubação durante a fermentação por bolores (GUIDI, 2010). Desta forma, os grãos de soja são imersos em água da noite para o dia, escorridos e cozinhados a vapor por horas ou por água quente. Há duas razões para isto: aumentar a umidade dos grãos para um valor adequado para o crescimento de bolores e aumentar disponibilidade de proteínas (desnaturação destas) para hidrólise proteolítica enzimática (aumentar a digestibilidade enzimática) (GUIDI, 2010). O tratamento térmico recomendando é o HTST (altas temperaturas em curto tempos) para não degradar compostos de interesse (AQUARONE, 2001; GUIDI, 2010).

O trigo também é utilizado como substrato para fermentação de bolores e na fermentação ácido láctica, já que apenas 20% é digerido na etapa do *koji* (GUIDI, 2010). Este grão é tostado e levemente esmagado para melhor ação fúngica durante a fermentação. A torrefação, apenas para o trigo, serve para adicionar sabor e coloração ao molho de soja resultante. Também destrói microrganismos das superfícies e facilita a hidrólise enzimática. O trigo ou farinha de trigo também são umedecidos antes de receberem a inoculação dos bolores para incubação (AQUARONE, 2001; GUIDI, 2010).

As misturas de grãos preparados anteriormente são incubadas durante 48 a 72 horas, em temperatura ambiente, com culturas de bolores *Aspergillus oryzae* e *Aspergillus soyae* na concentração de 0,1 a 0,2% (cepas utilizadas para digestão enzimática) resultando na primeira fermentação do molho de soja, denominado *koji* (MARKLEY, 1951; AQUARONE, 2001; JAY, 2005; GUIDI, 2010).

A segunda fermentação, denominada *moromi*, consiste na adição de uma solução salina de aproximadamente 17-19% de NaCl sobre o produto da primeira fermentação do *koji* em um novo recipiente em partes iguais (1:1) (AQUARONE, 2001). Quanto menor a concentração de sal, maior a utilização de nitrogênio, porém em concentrações menores que 16% ocorre a putrefação (crescimento de microrganismos deteriorantes indesejáveis) (GUIDI, 2010). Com a adição de sal, torna-se o *moromi* um meio inadequado para crescimento de muitas bactérias, das quais apenas lactobactérias e leveduras podem se multiplicar (JAY, 2005). Essa fermentação ocorre em três etapas: a primeira ocorre pela ação de bactéria láctica *Pediococcus halophilus* que reduz o pH do *moromi* de 6,0-7,0 para 5,0; após a redução do pH, *Zygosaccharomyces rouxii* (ou *Saccharomyces rouxii*) iniciam seu crescimento ao longo que vai diminuindo o pH da solução, iniciando a fermentação alcoólica; após a queda significativa do pH e produção alcoólica *Toralopsis* e *Candida spp* crescem no ultimo estagio para produzir compostos fenólicos de aromas característicos (LIOE, 2010). O *moromi* é misturado ocasionalmente para promover a aeração e impedir o crescimento de microrganismos anaeróbios e remover CO₂ da solução (GUIDI, 2010). A fermentação ocorre em temperatura baixa (15 a 28 °C) e traz melhores resultados organolépticos (AQUARONE, 2001) pois a velocidade de inativação enzimática é lenta e as enzimas permanecem ativas por mais tempo (GUIDI, 2010). Durante 3 meses de fermentação ocorre a

fermentação láctica e alcoólica pelas leveduras e o restante de tempo promove o envelhecimento, escurecimento e aquisição de sabores característicos do produto (AQUARONE, 2001). Durante a etapa de envelhecimento e escurecimento ocorre a formação do composto 4-hidroxil-2-etil-5-metil-3-furano (HEMF), substância de principal sabor no shoyu, sabor doce e de caramelo (LIOE, 2010).

Após a realização de ambas fermentações, ocorre a etapa de purificação, que consiste na prensagem, pasteurização do mosto fermentado. A pasteurização ocorre entre 70 e 80 °C com a finalidade de cessar reações remanescentes de enzimas, microbiológicas e químicas (AQUARONE, 2001).

A Tabela 3 traz a composição centesimal do molho de soja, a primeira coluna à esquerda traz valores reportados por Aquarone et al. (2001) em base seca para shoyu do tipo koikuchi. Enquanto a coluna da direita, traz valores médios encontrados em 100 g de alimento comestível de shoyu encontrado no Brasil, o estudo conhecido como TACO foi realizado pela Unicamp em 2011. A composição do molho de soja no Brasil é diferente do tipo koikuchi, em grande maioria é composto por água, sal, milho, soja, corante caramelo, conservantes: sorbato de potássio, saborizantes: alcaçuz e extrato de levedura e entre outros. No Brasil ainda é possível encontrar shoyu light, com redução de sódio, que também são adicionados de glutamato monossódico como realçador de sabor.

Tabela 3 - Composição de molhos de soja - shoyu.

Componente	Quantidade em 100 g de matéria seca (AQUARONE, 2001)	Quantidade em 100 g de alimentos comestível TACO - (NEPA, 2011)
Umidade	57- 70 g	70,6 g
Proteína	13-18 g	3,3 g
Gordura	28-38g	0,3 g
Fibra	0-1,5 g	NI
Cinza	50-53 g	14,1
NaCl	25-30 mg	NI
Ca	200 mg	15 mg
P	200 mg	NI
Fe	14 mg	NI
K	650 mg	NI
Tiamina	0,15 – 0,5 mg	NI
Riboflavina	0,6 mg	NI
Niacina	0,7-3 mg	NI
Vitamina B12	0,2- 1,0 µg	NI

Fonte: Aquarone et al. (2001) e NEPA (2011). NI – Não informado.

A Tabela 4 traz resultados obtidos por Luh (1995), na qual um total de 18 aminoácidos foram encontrados no shoyu. Os ácidos glutâmico e aspártico são os aminoácidos presentes em maiores quantidades em molhos de soja fermentados. Arginina, lisina, fenilalanina, serina, treonina, leucina, isoleucina, valina, alanina e prolina estão presentes em quantidades significantes no molho.

Tabela 4 - Aminoácidos encontrados no molho de soja - shoyu

Aminoácidos	Composição (g/100g)
Arginina	2,60
Histidina *	2,50
Lisina *	6,50
Tirosina	1,00
Fenilalanina *	4,20
Cistina	0,90
Metionina *	1,40
Serina	5,30
Treonina *	4,20
Leucina *	7,30
Isoleucina *	4,80
Valina *	5,50
Ácido Glutâmico	22,50
Ácido Aspártico	10,50
Glicina	3,90
Alanina	4,40
Prolina	6,50
Ornitina	5,70

Fonte: LUH (1995). *Aminoácidos essenciais.

As propriedades do shoyu pode ter, além de condimentar preparos alimentares, são múltiplas. Revisões de tais propriedades foram feitas por Murooka et al. (2008) e Kataoka (2005), indicando as propriedades antioxidantes, anticarcinogênica, estímulos na secreção do suco gástrico, ação antimicrobiana em patógenos, redução da pressão arterial e algumas propriedades antialérgicas ainda em estudo, conforme descrito pela Tabela 5.

Tabela 5 - Propriedades funcionais ligadas ao molho de soja – shoyu.

Propriedades	Descrição do resultado	Fonte
Auxilia na digestão.	O consumo estimulou a secreção de suco gástrico no estômago quando comparado em ratos.	(KOJIMA, 1954)
Atividade antioxidante	Verificação da atividade antioxidante do composto 4-hidroxi-2-etil-5-metil-3-furano- HEMF encontrado no shoyu.	(KATAOKA, 1997) e (AOSHIMA, 2009)
Compostos bioativos	Encontrados compostos bioativos como xilitol e L-arabinol e outros polialcoois.	(ONISH, 1968)
Atividade anticarcinogênica	Estudo <i>in vitro</i> evidenciou a inibição do benzopireno, composto que induz a neoplasia estomacal.	(BENJAMIN, 1991)
Redução da pressão arterial	Estudo em ratos mostrou que o consumo de shoyu inibe a enzima angiotensina que provoca a vasoconstrição e o aumento da pressão arterial e retenção de sódio.	(KINOSHITA, 1993)
Atividade antimicrobiana	O shoyu adicionado de conservantes causou a morte de <i>Shigella flexieri</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Salmonella paratyphi</i> ,	(AKIBA, 1957)

	<i>Vibrio cólera</i> em 6 horas. Sem conservantes, causou a morte em 48 horas.	
Atividade antimicrobiana	O shoyu adicionados de conservantes causou a morte de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Salmonella spp</i> , <i>E. coli O-26</i> , <i>Shigella flexneri</i> , em 24 horas.	(SHIMIZU, 1962)
Atividade antialérgico	Avaliou que as proteínas da soja e do trigo no shoyu apresentam baixa alergenicidade (hipoalérgicos) devido a digestão proteolítica das enzimas durante a fermentação e que o shoyu apresenta propriedades antialérgicas com mecanismos ainda desconhecidos.	(KOBAYASHI, 2005)

Fonte: Autoral.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. MATERIAIS

A goma xantana utilizada foi de grau alimentício da marca Satiaxane®. O alginato de sódio (P.A) utilizado, com pureza de 90 % (g/g), foi da marca Dinâmica® da Química Contemporânea Ltda. O lactato de cálcio (P.A) penta hidratado, com 99,5% (g/g) de pureza, foi da marca Êxodo Científica. Também se utilizou Cloreto de sódio (P.A) para controle da umidade atmosférica, com pureza de 99% (g/g) da marca Nuclear. Toda água utilizada durante este experimento foi destilada para evitar contaminações de cálcio e outros íons divalentes que pudessem reagir com alginato de sódio. O molho de soja- shoyu utilizado era light de marca comercial, pronto para consumo e comprado no comércio de Porto Alegre (Brasil) contendo como ingredientes: água, sal açúcar, xarope de glicose, soja, milho, corante caramelo, realçador glutamato monossódico, conservantes e edulcorantes e ácido cítrico.

4.2. PREPARAÇÃO DAS DISPERSÕES

Foi preparada uma solução base contendo 1 % (p/p) de lactato de cálcio de em shoyu light. A solução foi agitada até completa dissolução do sal por um agitador magnético (IKA – LABDISC) durante 5 minutos a 20 °C.

Seguidamente, a essa solução (SL) foi adicionada goma xantana, preparando dispersões nas concentrações de 0,1 %, 0,2 %, 0,3 %, 0,4 %, 0,5 % e 0,6 % (p/p), sendo estas agitadas a 6500 rpm (IKA - ULTRA-TURRAX T25 Digital ®) durante 5 minutos.

Foi preparado uma solução de alginato de sódio 1 % (p/p) em água destilada, utilizando um agitador mecânico (IKA - RW 20 Digital®) com um agitador propulsor de 4 hélice de modelo R1342 da marca IKA, durante 30 minutos a 20 °C, com uma velocidade de 1.000 rpm. Método similar ao utilizado por Chan et al. (2016b).

As denominações das dispersões antes descritas, se mostram na Tabela 6.

Tabela 6 - Denominações das soluções

Dispersão	Denominação
Shoyu light com 1 % (p/p) de lactato de cálcio	SL
Shoyu light com 1 % (p/p) de lactato de cálcio adicionada de goma xantana	SLX
Água destilada com 1 % (p/p) de alginato de sódio	AS

Todas as dispersões foram deixadas em repouso durante 2 horas sob refrigeração a 5 °C para eliminação de microbolhas formadas durante a agitação, conforme descrito por Rayment et al. (2009) e Park et al. (2016). A presença de microbolhas durante o processo de encapsulação pode resultar em estruturas porosas e frágeis fisicamente.

Foram preparadas soluções saturadas de cloreto de sódio para o controle de umidade relativa da atmosfera (75 %) durante a avaliação da estabilidade física e perda de massa das cápsulas. Para isso a 50 mL de água destilada foi adicionada de 25 g de NaCl em recipientes fechados de vidro, evitando o contato com ambiente externo.

4.3. CARACTERIZAÇÃO DAS DISPERSÕES

4.3.1. pH

O pH foi medido segundo método AOAC de número 981.12 (1997), com ajuda de um pHmetro digital de bancada (Quimis - Q400M1). Para tanto a sonda do equipamento foi calibrada com soluções-tampão de pH 4,01 e 6,86, e posteriormente imersa diretamente em um béquer contendo amostra. As medições de cada amostra foram realizadas em triplicata (três soluções diferentes).

4.3.2. Reômetria

As dispersões AS e SLX, nas suas respectivas concentrações, foram analisadas quanto ao seu comportamento de fluxo, módulo de elasticidade e módulo de perda por um reômetro (Thermo Scientific - Haake Mars III). Todas as análises foram realizadas utilizando uma probe *cone-and-plate* de 35 mm de diâmetro e ângulo de 2 °, com temperatura controlada a 25 °C. Os dados foram processados através do software HAAKE Rheo Win Data manager. Todas as análises foram realizadas em triplicata, em três dispersões diferentes, obtendo-se curvas médias.

O comportamento de fluxo foi analisado na faixa de tensão de cisalhamento controlada de 0,1 Pa a 100 Pa, variando a taxa de cisalhamento para todas as soluções, obtendo-se gráficos de tensão de cisalhamento em função da taxa de cisalhamento. As análises foram realizadas em triplicata, em condições similares às utilizadas por Yang et al. (2009) ao avaliarem o comportamento de soluções com 1 % (p/p) de alginato de sódio.

As curvas de comportamento de fluxo obtidas foram ajustadas aos modelos matemáticos de Ostwald-de-Weale (lei da potência), equação 6a, e do modelo de Newton, equação 6b. Os ajustes foram realizados através do software Statistica 7® para estimativa dos parâmetros dos modelos.

$$(a) \tau = K \times \gamma^n \quad (b) \tau = \mu \times \gamma \quad (6)$$

Onde " τ " é tensão de cisalhamento, " K " o índice de consistência, " n " o índice de escoamento, " μ " a viscosidade, " γ " a taxa de cisalhamento.

Os valores dos módulos de elasticidade (G') e de perda (G'') das soluções foram obtidos através de métodos dinâmico oscilatórios de baixa amplitude de cisalhamento. Este tipo de método é fortemente indicado para avaliação de propriedades viscoelástica de fluidos, pois não danifica a estrutura dos géis durante a análise.

Primeiramente foi determinado a região viscoelástica linear das soluções pelo método de varredura de tensões, região nas quais as propriedades

viscoelásticas são independentes da tensão, com frequência constante de 1 Hz a 25 °C. Seguidamente, após a determinação da região viscoelástica linear, foram determinadas as propriedades viscoelásticas (G' e G'') das dispersões pelo método de varredura de frequências na região viscoelástica linear de tensão de 0,1 Pa a 25 °C, entre a faixa de 0,1 a 1,0 Hz.

A metodologia para avaliação destas propriedades viscoelásticas foram as mesmas utilizadas por Ramirez et al. (2014) e Dong et al. (2015) na avaliação de géis de goma xantana. Yang et al. (2009) e Farrés et al. (2013) utilizaram a mesma metodologia para a avaliação de soluções e géis de alginato de sódio.

4.4. ENCAPSULAMENTO DE MOLHO DE SOJA – SHOYU

O método reverso de encapsulamento utilizado foi descrito por Blandino et al. (1999), seguido de modificações. Esse método utiliza dispositivos de dispersão (seringas, bombas peristálticas e eletrospray) para extrusão de um líquido de interesse contendo íons de cálcio em uma solução de alginato de sódio, formando uma membrana insolúvel de alginato de cálcio em torno da dispersão de interesse devido a tensão superficial entre os líquidos durante o processo de gelificação, proporcionando a formação das cápsulas de forma esférica. A modificação proposta foi substituir a utilização destes dispositivos por uma etapa de pré-formação das cápsulas pelo congelamento da dispersão de interesse em moldes de acrílico, eliminando variáveis a serem controladas como: altura de gotejamento, vazão de extrusão, diâmetro de extrusão e outros.

As soluções SLX nas diferentes concentrações, foram colocadas em moldes de acrílico, com orifícios de diâmetro de 5 mm e altura de 5 mm (ANEXO 1), e posteriormente congeladas a -60 °C em um ultra freezer (LIOTOP -UFR30®) durante 30 minutos. Após congeladas, as amostras foram retiradas dos moldes e imersas imediatamente (antes de descongelarem) na solução de alginato de sódio a 20 °C sob agitação mecânica constante de 300 rpm durante 15 minutos, para provocar a gelificação superficial, o qual vai ocorrendo à medida que vão descongelando as amostras na dispersão do alginato de sódio, sendo assim formadas as cápsulas. Após 15 minutos, as

cápsulas foram retiradas da dispersão de alginato de sódio com ajuda de uma peneira, e lavados com água destilada para retirar o excesso de alginato de sódio e parar com a reação de gelificação. Com papel toalha retirou-se o excesso de água superficial das cápsulas.

As concentrações de alginato de sódio e lactato de cálcio foram as mesmas utilizadas por Chang et al. (1993). A imersão dos moldes em uma solução de alginato de sódio sob agitação de 300 rpm foi descrita por Blandino et al. (1999) como essencial para uniformidade do processo de gelificação em volta das cápsulas, além de reduzir a resistência de transferência mássica durante o processo de gelificação. O tempo de imersão de 15 minutos dos moldes congelados em solução de alginato de sódio, para ocorrer a gelificação e formação da membrana de alginato de cálcio, foi descrito também por Blandino et al. (1999) como adequado e suficiente para atingir sua totalidade. A lavagem com água destilada e remoção do excesso de água foi descrita por Chang et al. (1993), Blandino et al. (1999) e González et al. (2016).

4.5. CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS

4.5.1. Diâmetro

O diâmetro médio das cápsulas foi medido utilizando um micrometro digital de alta precisão (Digimess). O micrômetro tem precisão de 0,001 mm, variando de 0 a 25 mm. A medida do diâmetro de cápsulas em escalas milimétricas também foi avaliada utilizando micrometros por Elçin et al. (1995) e Rayment et al. (2009), com uma amostragem de dez cápsulas para melhor representação populacional.

As cápsulas foram colocadas em uma superfície plana, na qual foram mensurados 3 diâmetros aleatórios de uma mesma cápsula. Para melhor representação populacional, mediu-se 20 diferentes cápsulas para cada formulação.

4.5.2. Massa

A avaliação da massa média das cápsulas para cada formulação foi realizada em uma balança laboratorial de alta precisão. Cada formulação foi mensurada 20 vezes para melhor representação populacional.

4.5.3. Aw

A avaliação da atividade da água das cápsulas foi medida instrumentalmente, pelo equipamento Aqualab da DECAGON. O método certificado pela AOAC foi realizado em triplicada para cada formulação.

4.5.4. Cor

Foi empregado o método do *CIE LAB*, o qual avalia a cor quanto ao seu nível de saturação e luminosidade. A saturação indica quanto próximo está a cor do objeto, em coordenadas cromáticas, de cores primárias: Vermelho (+60 a^*), azul (-60 b^*), amarelo (+60 b^*) e verde (-60 a^*). A luminosidade indica quanto próximo está a cor do objeto do preto ($L^* = 0$) ou branco ($L^* = 100$), em um eixo ortogonal ao plano cromático (LIMA, 2007).

A mensuração de uma única cápsula não foi possível instrumentalmente (KONICA – CR-400), desta forma, utilizou-se um suporte –do próprio equipamento – onde se coloca as amostras em um orifício até a superfície (Figura 14). Tal suporte é acoplado no equipamento e assim realizada a leitura de cada amostra em três diferentes rotações, caracterizando a triplicata. Também se avaliou a diferença total da cor, pela equação 7, entre as cápsulas e o shoyu light.

Figura 14 - Suporte utilizado para medição de cor de superfícies porosas.



$$\Delta E = \sqrt{\Delta a^{*2} + \Delta b^{*2} + \Delta L^{*2}} \quad (7)$$

4.5.5. Análise Termogravimétrica

A análise termogravimétrica (TGA) serve para a avaliação da estabilidade térmica de um polímero e assim determinar as faixas de temperatura de início e fim dos processos degradativos da cadeia polimérica (TEIXEIRA, 2011). A análise foi realizada em um termogravimêtro (Perkin Elmer - Pyris 1 TGA®) com uma vazão de nitrogênio gasoso de 20 mL/min, com uma taxa de calor constante de 40°C/min, na faixa de temperatura de 30 até 650°C. As análises foram realizadas em triplicata. As curvas médias foram processadas pelo software Pyris Manager ®.

As cápsulas formadas foram previamente secas durante 24 horas a 40 °C em um secador de fluxo de ar constante para eliminação da água livre até atingirem peso constante. Este preparo serve para remover compostos voláteis e assim obter uma curva mais acentuada nos processos degradativos de maior interesse ao estudo, ficando mais evidente os inícios e finais de cada etapa.

4.5.6. Microscopia Eletrônica de Varredura

As microestruturas das cápsulas foram analisadas através da microscopia eletrônica de varredura – MEV (JEOL - JSM-6060®) com uma voltagem de 15 kV. As cápsulas formadas foram previamente congeladas a -60 °C pelo ultra freezer (LIOTOP - UFR30®) durante 1 hora e liofilizadas (LIOTOP - L101®) a vácuo para remoção de solventes para posterior análise no MEV.

Após liofilizadas as cápsulas passaram por um processo de metalização a vácuo da superfície por pulverização de ouro e carbono (BAL-TEC - SCD 050) para auxiliar na leitura das imagens.

4.6. AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE FÍSICA DAS CÁPSULAS

4.6.1. Tensão de Ruptura e Perda de Massa

Avaliou-se a tensão necessária para a ruptura e perda de massa das cápsulas logo após seu preparo, após duas horas a 25 °C e após 2 dias a 5 °C. A determinação da tensão de ruptura foi realizada em texturômetro (Stable Micro Systems - TA-XT PLUS) com um probe cilíndrica de 20 mm de diâmetro (P/20P), velocidade de teste de 0,5 mm/s, força de compressão de 0,049 N até 80 % de deformação das amostras. Foi realizada uma amostragem de 10 cápsulas, com avaliação visual prévia quanto a presença de fissuras na superfície. Os valores foram obtidos em quilos força (kgf).

A determinação da perda de massa através do monitoramento e pesagem individual de cada cápsula em sua respectiva concentração de goma xantana, foi feita antes do tratamento (PO) e após o tratamento (PF), conforme a equação 8. A análise foi realizada em uma amostragem de 10 cápsulas.

$$\textit{Perda de Massa (\%)} = \frac{(PO - PF) \times 100}{PO} \quad (8)$$

Os experimentos também foram realizados com umidade relativa do ar controlada a 75 %, onde as cápsulas eram mantidas em frascos fechados com soluções salinas (25 g de cloreto de sódio e 50 mL de água destilada) durante

o tempo do experimento. A umidade foi monitorada constantemente com a utilização de um higrômetro.

4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA – ANOVA

A análise estatística dos dados foi feita através da aplicação da análise de variância ANOVA one-way e o teste Tukey a fim de detectar diferenças significativas entre as médias. Foi utilizado o pacote de ferramentas de análise de dados o software Statistica 8®. Todas as análises de variância tiveram nível de significância de 5%.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. CARACTERIZAÇÃO DAS DISPERSÕES

5.1.1. Influência do pH do shoyu light na formação de cápsulas pelo método reverso de encapsulamento

O processo de formação das cápsulas depende de fatores tais como concentração de alginato de sódio, concentração de íons de cálcio, temperatura e pH. Em pH ácidos, o alginato de sódio assume cargas iônicas que resultam na formação de géis fracos ou até mesmo não formando géis estruturados na presença de íons de cálcio devido a sua insolubilização, seguida de precipitação (SEGATO, 2007; FUNAMI, 2009; CHO, 2014). Como a concentração de cálcio e alginato de sódio se manteve a mesma, os pH das soluções envolvidas no processo de encapsulação foram medidos com o intuito de verificar se a acidez do shoyu iria influenciar de alguma maneira na formação de cápsulas. A Tabela 7 traz os valores médios do pH e se a determinada solução formou cápsulas ou não. Valores obtidos pela triplicata das amostras.

Tabela 7 – Valores de pH e ocorrência de formação de cápsulas nas dispersões utilizadas no processo de encapsulamento pelo método reverso

Solução	pH	Formação de cápsulas
SL	4,49 ± 0,06 ^{acd}	Não
SLX 0,1 %	4,42 ± 0,05 ^{abc}	Não
SLX 0,2 %	4,40 ± 0,06 ^{ab}	Não
SLX 0,3 %	4,41 ± 0,05 ^{ab}	Não
SLX 0,4 %	4,48 ± 0,08 ^{acd}	Sim
SLX 0,5 %	4,54 ± 0,04 ^d	Sim
SLX 0,6 %	4,54 ± 0,01 ^{cd}	Sim
Shoyu light	4,32 ± 0,01 ^b	-
AS	7,07 ± 0,02 ^e	-

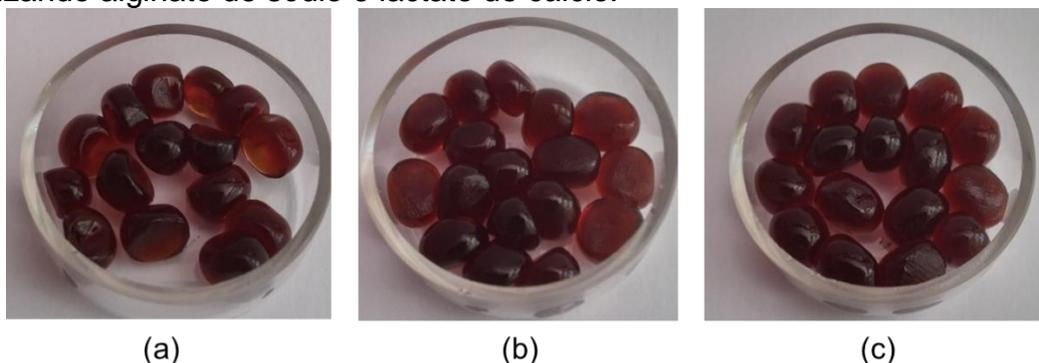
SL: Shoyu light com 1 % (p/p) de lactato de cálcio; SLX: dispersões de SL adicionadas de goma xantana; e AS: dispersão de alginato de sódio 1 % (p/p).

O valor de pH encontrado para o shoyu light foi de 4,32, similar aos valores reportados por Miyage et al. (2013) ao avaliarem shoyu do tipo koikuchi, valores na faixa entre 4,0 e 5,0.

A adição de lactato de cálcio aumentou o pH do shoyu de forma significativa ($p < 0,05$) para 4,49 (solução SL), entretanto a adição de goma xantana nas concentrações de 0,1 %, 0,2 %, 0,3 % e 0,4 % (p/p) resultou no decréscimo do valor do pH. Contudo, os valores não mostraram diferença significativa entre si ($p > 0,05$). As soluções SLX com concentração de 0,5 e 0,6 % (p/p) de goma xantana apresentaram valores de pH de 4,54, valores maiores ($p < 0,05$) aos das soluções SLX 0,1 %, 0,2 % e 0,3 % (p/p), enquanto que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) com as soluções SLX 0,4 % (p/p) e SL.

Durante a formação de cápsulas ao imergir as soluções congeladas no molde de acrílico na solução AS, observou-se que a formação de cápsulas era apenas possível com concentrações de goma xantana a partir de 0,4 % (p/p), conforme mostra a Figura 15, mantendo sua forma esférica estável durante o processo de gelificação.

Figura 15- Cápsulas de shoyu-light com goma xantana obtida por encapsulamento reverso utilizando alginato de sódio e lactato de cálcio.



Cápsulas com (a) 0,4 % (p/p); (b) 0,5 % (p/p); e (c) 0,6 % (p/p) de goma xantana.

As soluções SL, SLX 0,1 %, 0,2 % e 0,3 % não formaram cápsulas durante o processo de encapsulamento, pois a medida que as soluções congeladas iam descongelando, as soluções dispersavam-se ao longo da solução de AS, não mantendo a forma esférica durante o processo de gelificação do encapsulamento.

Cho et al. (2014) reportaram que em pH menores que 5,0 ocorre a protonação das cadeias poliméricas do alginato, ocorrendo a diminuição da solubilidade das suas cadeias poliméricas, podendo resultar em sua precipitação. A insolubilização do alginato em pH baixos, resulta em sua indisponibilização para a formação de ligações com os íons de cálcio, comprometendo o processo de gelificação. Entretanto, os resultados mostraram que o pH do shoyu light não interferiu no processo de gelificação, e sim a concentração de goma xantana (Tabela 7).

Fica evidente que o pH na faixa entre 4,40 a 4,54 não mostrou ser determinante na formação de cápsulas pelo processo de encapsulamento reverso. O método reverso foi descrito por Chiang et al. (2016) como adequado para encapsulamento de soluções ácidas, ao contrário do processo de encapsulamento externo. Chiang et al. (2016) utilizando o método reverso conseguiram formar cápsulas de núcleo líquido de extrato de folhas de bardana em pH ácidos utilizando alginato de sódio 1 % (p/p) e cloreto de cálcio 1 % (p/p).

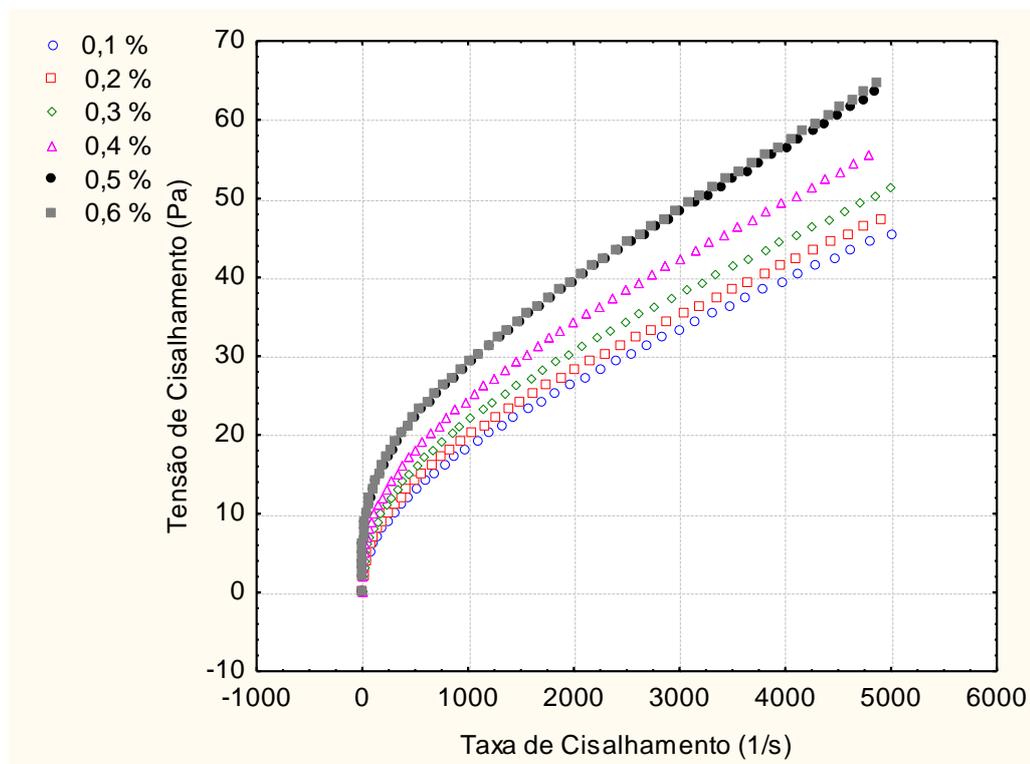
Dessa forma, o processo de encapsulamento de shoyu light pelo método reverso, utilizando alginato de sódio e lactato de cálcio é possível apenas a partir de uma concentração de goma xantana de 0,4 % (p/p), e quanto maior era a concentração desta, menor era a dispersão da solução de shoyu ao longo da solução de alginato de sódio.

5.1.2. Influência da concentração de goma xantana nas curvas de fluxo das dispersões e na ocorrência da formação de cápsulas pelo método reverso de encapsulamento

Durante o processo de encapsulamento foi observado que o comportamento de fluxo da solução SL sofreu alterações à medida que se adicionava goma xantana à dispersão.

Na Figura 16 é possível observar as curvas de comportamento de fluxo obtidas para as dispersões com diversas concentrações de goma xantana. Primeiramente, observa-se que, sob tensões de cisalhamento constante, as taxas de cisalhamento diminuem com o aumento da concentração da goma xantana.

Figura 16 - Curvas de comportamento de fluxo das soluções de shoyu light com 1% (p/p) lactato de cálcio em diferentes concentrações de goma xantana



Para uma melhor caracterização das soluções em relação ao seu comportamento perante uma tensão e taxa de cisalhamento aplicada, foram utilizados os modelos matemáticos de Newton (para fluídos newtonianos) e Ostwald de Waele – lei das potências - (para fluídos não-newtonianos), cujos parâmetros se encontram na Tabela 8.

Através do coeficiente de determinação do ajuste, verificou-se que o modelo de Ostwald de Waele é mais recomendado para ajustar os dados

experimentais, pois descreve melhor o comportamento de fluxo (R^2 maiores e próximos de 1). Outros estudos também mostraram que o modelo matemático de Ostwald de Waele também foi o que melhor descreveu as curvas de fluxo de soluções aquosas adicionadas de goma xantana em diversas concentrações (OCHOA, 2000; TONELI, 2005; PONGJANYAKUL, 2007; RAZAVI, 2012; LI, 2016). Isso indica que as soluções se comportam como fluídos não-newtonianos. Analisando o parâmetro de índice de escoamento (n), menores que 1,0, indicam que se comportam como fluídos pseudoplásticos. Também se verifica que com o aumento da concentração, os valores de “ n ” diminuem, acentuando um comportamento pseudoplástico. Por outro lado, os valores do índice de consistência “ K ”, que está relacionado com a viscosidade das soluções, aumenta com a concentração de goma xantana.

Quanto ao comportamento pseudoplástico, resultados similares foram encontrados por Toneli et al. (2005) ao verificarem um comportamento pseudoplástico e tixotrópicos nos géis de goma xantana. Pongjanyakul et al. (2007) ao avaliarem o comportamento de fluxo de géis de goma xantana nas concentrações de 0,3 % e 0,5 % (p/p) reportaram comportamento pseudoplástico em ambas concentrações e que a medida que a concentração aumentava, menores foram os valores do índice de escoamento, resultado similar ao deste trabalho. Li et al. (2009) encontraram resultados similares ao verificar géis de goma xantana com concentrações de 0,25 % e 0,5 % (p/p), nos quais o aumento da concentração resultou na diminuição do índice de escoamento. Yoo et al. (2006) também evidenciaram tais resultados para as concentrações de 0,2 %, 0,4 % e 0,6 % (p/p) de goma xantana. Em concentrações mais altas, em torno de 1 % (p/p) de goma xantana, o comportamento pseudoplástico também foi evidenciado por Razavi et al. (2012), encontrando valores menores que 1,0 para o índice de escoamento.

Tabela 8 - Caracterização do comportamento das dispersões de shoyu light com 1 % (p/p) de lactato de cálcio adicionado de goma xantana pelos modelos matemáticos de Newton e Ostwald de Waele

Modelo Matemático	Solução	Parâmetros	R ²
Newton	AS 1 %	$\mu = 0,065147$	R ² =0,84728022
	SLX 0,1 %	$\mu = 0,010686$	R ² =0,91308834
	SLX 0,2 %	$\mu = 0,011335$	R ² =0,90308796
	SLX 0,3 %	$\mu = 0,012147$	R ² =0,8887368
	SLX 0,4 %	$\mu = 0,01382$	R ² =0,87636181
	SLX 0,5 %	$\mu = 0,015631$	R ² =0,85394944
	SLX 0,6 %	$\mu = 0,015742$	R ² = 0,85778519
Ostwald de Waele	AS 1 %	n= 0,509184 K =2,15647	R ² =0,99773162
	SLX 0,1 %	n=0,542707 K = 0,438648	R ² =0,99932239
	SLX 0,2 %	n= 0,52179 K = 0,548055	R ² =0,99899056
	SLX 0,3 %	n= 0,496864 K = 0,72465	R ² =0,99860832
	SLX 0,4 %	n= 0,477241 K = 0,941466	R ² =0,99794541
	SLX 0,5 %	n= 0,436644 K = 1,48951	R ² =0,99609656
	SLX 0,6 %	n= 0,437289 K = 1,49751	R ² =0,99554652

SL: Shoyu light com 1 % (p/p) de lactato de cálcio; SLX: dispersões de SL adicionadas de goma xantana; e AS: dispersão de alginato de sódio 1 % (p/p).

Os resultados do índice de escoamento e índice de consistência transparece o que havia sido observado durante o processo de encapsulamento. A medida que aumentava a concentração de goma xantana, menor era a dispersão da solução de shoyu ao longo da solução de alginato de sódio, e isto está relacionado com o decréscimo de “n” e o aumento de “K”, preservando melhor a forma esférica durante o processo de gelificação. Tais

parâmetros estão diretamente relacionados com a viscosidade resultante, e por isto se fez necessário avaliá-la, conforme mostra a Figura 17.

A Figura 17 mostra a viscosidade aparente das dispersões em função da taxa de deformação, podendo-se observa que para concentrações maiores do que de 0,4 % (p/p), as viscosidades são significativamente maiores. O comportamento pseudoplástico fica mais evidente ao se verificar que em baixas taxas de cisalhamento, as soluções apresentam alta viscosidade, e à medida que se aumenta a taxa de cisalhamento, a viscosidade diminui até alcançar valores constantes de na faixa de 2000 a 4000 1/s, como mostra a Figura 18.

Toneli et al. (2005) ao avaliarem o comportamento de fluxo de géis de goma xantana encontraram curvas similares as deste trabalho, caracterizando três regiões distintas nas curvas: alta viscosidade em baixas taxas de cisalhamento; redução da viscosidade a medida que aumenta a taxa de cisalhamento; e um platô para a viscosidade após valores altos de taxa de cisalhamento. As mesmas três regiões também foram reportadas por Dong et al. (2015), os quais também verificaram que o aumento da concentração de goma xantana aumentava a viscosidade das dispersões. Petri et al. (2011) também reportaram resultados similares.

Figura 17 - Influencia da concentração de goma xantana na viscosidade de soluções de shoyu light com 1 % (p/p) de lactato de cálcio.

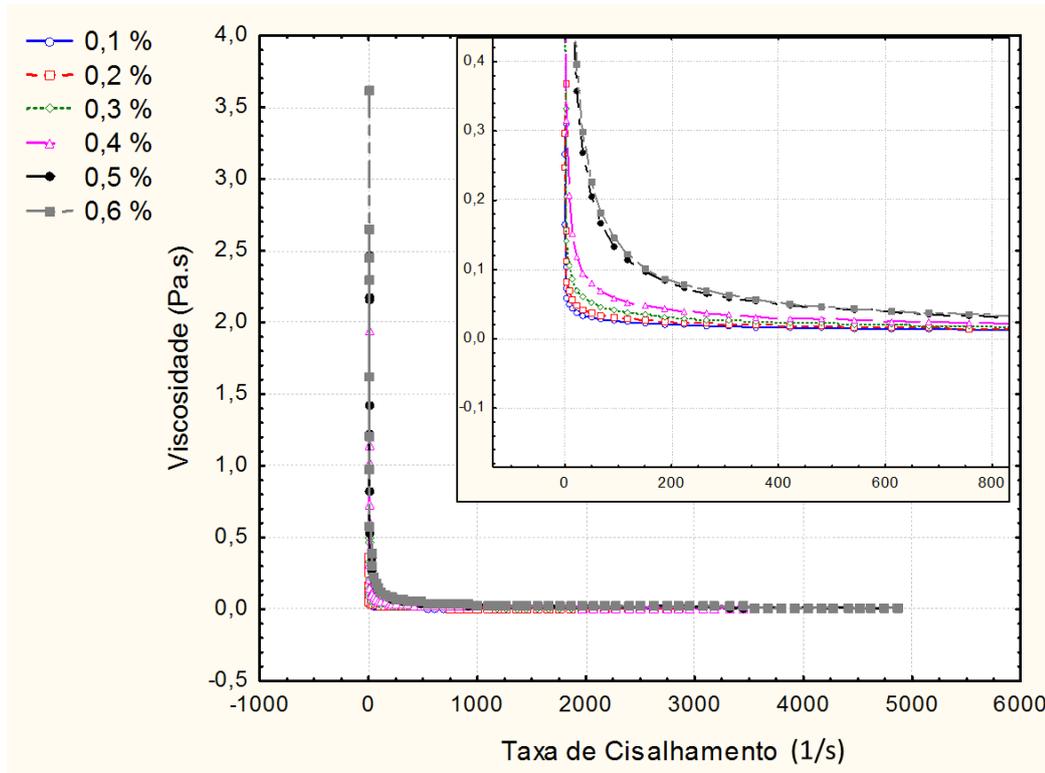
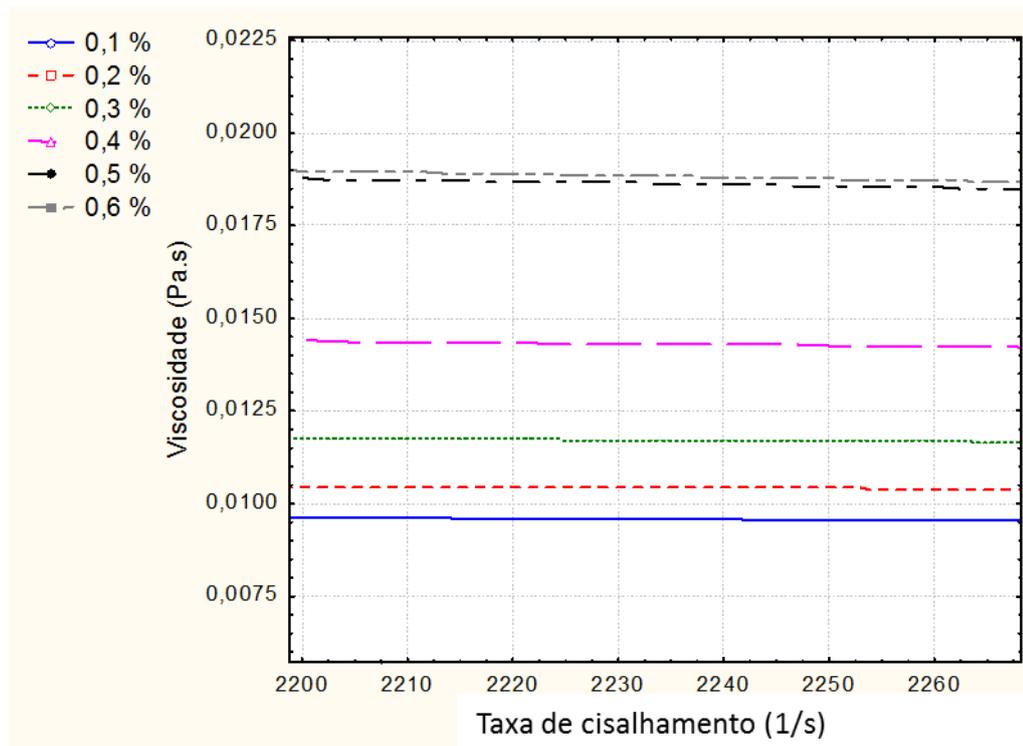


Figura 18 - Influencia da concentração de goma xantana na viscosidade de soluções de shoyu light com 1 % (p/p) de lactato de cálcio- Ampliação da Figura 17.



Através da Figura 18 foi possível obter os valores constantes de viscosidade das soluções SLX nas respectivas concentrações, conforme mostra a Tabela 9. Nessa tabela se mostra a relação da viscosidade com a ocorrência de formação de cápsulas.

As soluções SLX 0,1 % e 0,2 % com viscosidades de 11,2 mPa.s e 12,1 mPa.s, respectivamente, não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$). Assim como 0,2 % e 0,3 %, também não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$). A solução de 0,4 %, apresentou viscosidade significativamente maior ($p < 0,05$) em relação as concentrações menores, entretanto foi menor ($p < 0,05$) do que as concentrações de 0,5 % e 0,6%. As viscosidades para as concentrações de 0,5 % e 0,6% não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) entre si. Petri et al. (2011) obtiveram resultados similares, à medida que se aumentava a concentração de goma xantana, maior era a viscosidade aparente dos géis.

Tabela 9- Efeito da concentração de goma xantana na viscosidade e na formação das cápsulas.

Solução	Viscosidade (mPa.s)*	Formação de cápsulas
SL	-	Não
SLX 0,1 %	11,2 ± 1,60 ^a	Não
SLX 0,2 %	12,1 ± 1,90 ^{ab}	Não
SLX 0,3 %	13,0 ± 2,10 ^b	Não
SLX 0,4 %	14,3 ± 2,30 ^c	Sim
SLX 0,5 %	16,5 ± 2,60 ^d	Sim
SLX 0,6 %	16,6 ± 2,70 ^d	Sim

*Valores obtidos na região de viscosidade constante, entre a faixa de 2000 a 4000 1/s de taxa de cisalhamento.

A formação de cápsulas sofre grande influência pela adição de goma xantana, o qual ocorre a partir de 0,4 % (p/p). Observou-se que em concentrações menores do que 0,4 % (p/p) não ocorre a formação de cápsulas pois as viscosidades resultantes das soluções não foram suficientes para impedir sua dispersão na solução de alginato de sódio, relacionados com o índice de escoamento e de consistência. A partir de valores de 14,3 mPa.s as dispersões apresentaram comportamento de fluxo compatíveis e favoráveis com o processo de encapsulamento proposto.

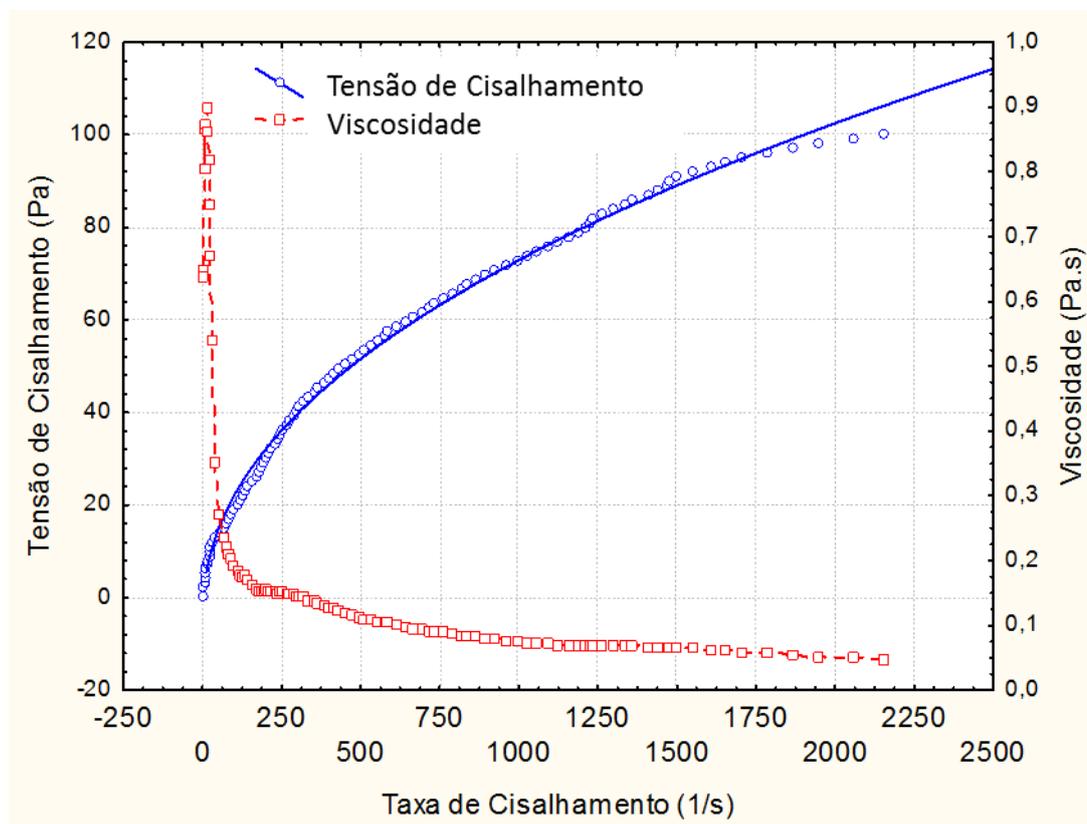
A utilidade de goma xantana como controladora difusiva do núcleo líquido durante o processo de gelificação pelo método de encapsulamento reverso já havia sido estudada por outros autores, ficando evidente sua influência no desenvolvimento das cápsulas (CHANG, 1993; PONGJANYAKUL, 2007; SHARMA, 2016). A forma de dispersão utilizada na maioria desses estudos foi o de gotejamento da solução contendo íons de cálcio em uma solução de alginato, os quais implicam na utilização de equipamentos e instrumentos caros para o controle de diversas variáveis envolvidas, como: altura de gotejamento, pressão e vazão de gotejamento, variação da viscosidade durante a extrusão e outros (BLANDINO, 1999; GONZALEZ, 2016a; GONZALEZ, 2016b).

O presente trabalho desenvolveu um método reverso alternativo mais barato e prático do que as utilizadas atualmente. O método é similar a metodologia descrita por Blandino et al. (1999) e Gonzalez et al. (2016a), porém com modificações quanto a forma de dispersão da solução contendo íons de cálcio. A formação de uma pré-forma proporcionada pelo o congelamento das soluções em moldes, antes do processo de encapsulamento, elimina a necessidade de um sistema complexo utilizado nos métodos tradicionais, reduzindo custo e variáveis a serem controlada como pressão e vazão de gotejamento, altura de gotejamento e outros.

Para a solução contendo de alginato de sódio 1% (p/p), conforme mostra a Figura 19, e o ajuste matemático, Tabela 8, o seu comportamento também foi não-newtoniano pseudoplástico (índice de escoamento menor que 1,0). Romero et al. (2014) encontraram o mesmo comportamento para concentrações de 1,0 % (p/p), Bhattacharya et al. (2008) para concentrações

de 0,5 % (p/p) e Yang et al. (2009) para concentrações de 0,1 % (p/p). Em todos os estudos, os índices de escoamento foram menores que 1,0.

Figura 19 - Curva de comportamento de fluxo da solução de alginato de sódio 1% (p/p).



5.1.3. Propriedades viscoelásticas das dispersões utilizadas no processo de encapsulamento pelo método reverso.

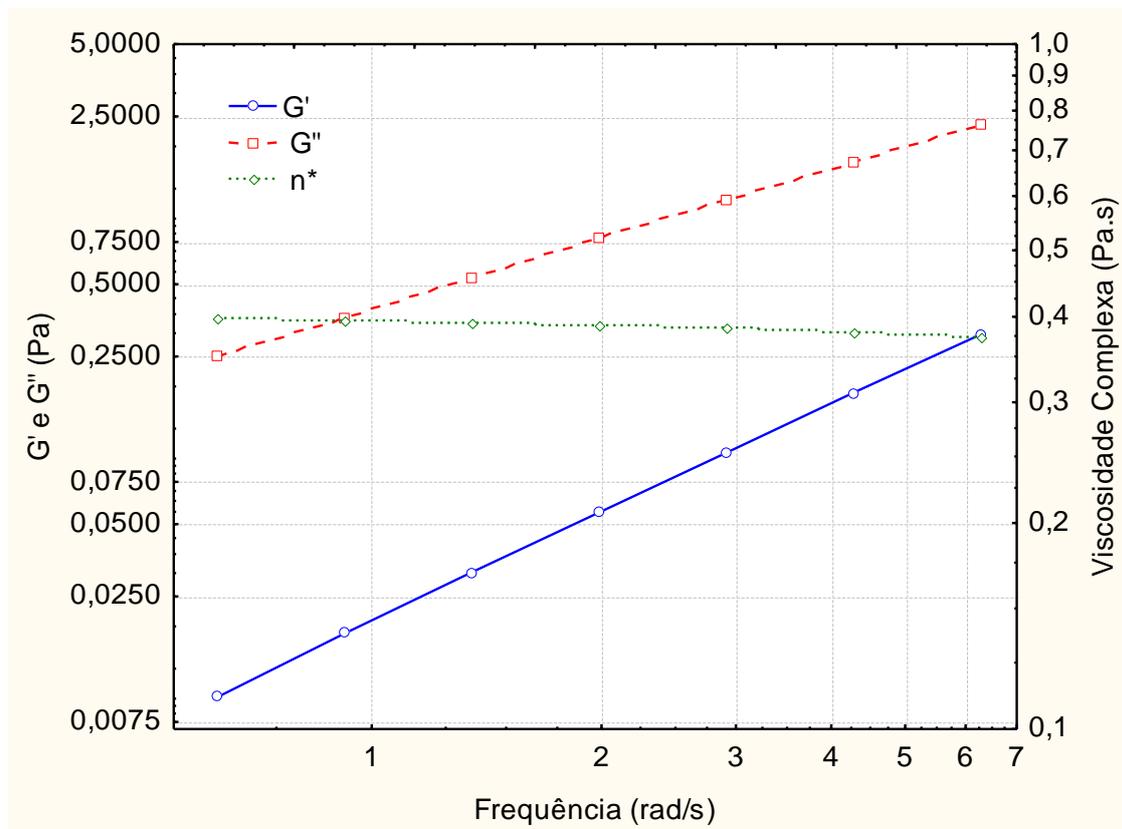
Os resultados obtidos acima foram determinantes no estudo da razão da ocorrência de encapsulação. Contudo, limitam-se apenas as propriedades de viscosidade. Para uma avaliação mais detalhada quanto as propriedades mecânicas e estabilidade física dos géis é de grande importância a avaliação do módulo de elasticidade (G') e o módulo de perda (G''), que também iras refletir nas propriedades físicas finais das cápsulas.

Primeiramente, foi realizada uma varredura de tensões (Stress Sweep – do inglês), a uma frequência constante de 1 Hz, para determinação da região viscoelástica linear das soluções. Todas as soluções apresentaram

comportamento viscoelástico linear no valor de tensão de cisalhamento de 0,1 Pa. Observou-se também, que a medida que aumentava a concentração de goma xantana, a faixa desta região viscoelástica linear aumentava, mostrando serem soluções mais estáveis. Posteriormente, realizou-se a análise de varredura de frequência das soluções a uma tensão de cisalhamento constante de 0,1 Pa, na qual foi possível de obter os valores de G' e G'' .

Através da Figura 20, verificou-se que a solução de alginato de sódio 1% (p/p) apresenta valores de G'' maiores do que G' , isto implica que essa solução apresenta propriedades mais próximas de um líquido do que de um sólido elástico, caracterizados de acordo com Steffe (1992) como soluções diluídas. Li et al. (2016) obtiveram os mesmos resultados ao avaliar soluções de alginato de sódio em baixas concentrações de íons.

Figura 20- - Módulos de Elasticidade (G') e de Perda (G'') e Viscosidade Complexa (η^*) da solução de alginato de sódio 1% (p/p).



Os resultados para as soluções de shoyu light com 1 % (p/p) de lactato de cálcio adicionado goma xantana foram plotados, conforme mostra as Figura 21

e Figura 22. Primeiramente, observou-se que diferentemente da solução de alginato de sódio, as dispersões adicionadas de goma xantana apresentam valores de G' maiores do que G'' , isso indica que essas soluções apresentam características mais próximas de um sólido elástico do que um líquido newtoniano, classificadas por Steffe (1992) como o comportamento de um gel.

A medida que aumenta a concentração de goma xantana, as propriedades elásticas das dispersões aumentaram, favorecendo a resistência à deformação das soluções, ou seja, soluções mais estáveis à deformação. Observou-se diferenças significativas entre as soluções de 0,1 %, 0,2 %, 0,3 % e 0,4 % para os valores de G' e G'' , enquanto as concentrações de 0,5 % e 0,6 % apresentaram propriedades mecânicas similares. Não se observou mudança de comportamento nessas condições. Yoo et al. (2006) encontraram resultados similares ao verificar que a medida que aumenta a concentração de goma xantana, ocorre um aumento nas propriedades viscoelásticas dos géis, em uma faixa de 0,2 % a 0,6 % (p/p). Li et al. (2009) e Eren et al. (2015) também encontraram resultados similares.

Dong et al. (2015) também verificaram que a medida que a concentração de goma xantana aumentava, maiores eram os valores de G' e de G'' . Também evidenciaram que em concentrações menores que 0,15 % (p/p), os géis apresentam um comportamento mais próximo de um líquido, ou seja, valores de G'' maiores do que G' , enquanto que para concentrações maiores do que 0,15 % (p/p), os géis apresentavam valores de G' maiores do que G'' , caráter mais próximo de um sólido elástico.

Figura 21 - Módulo de Elasticidade das soluções de shoyu light com 1 % (p/p) de lactato de cálcio adicionado de goma xantana.

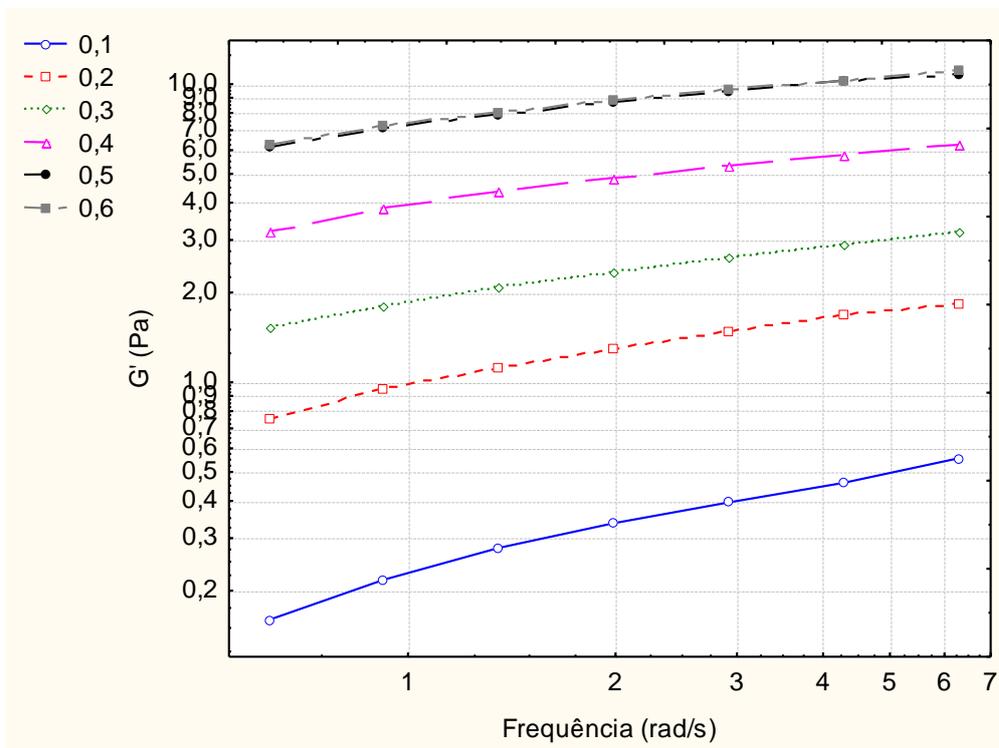
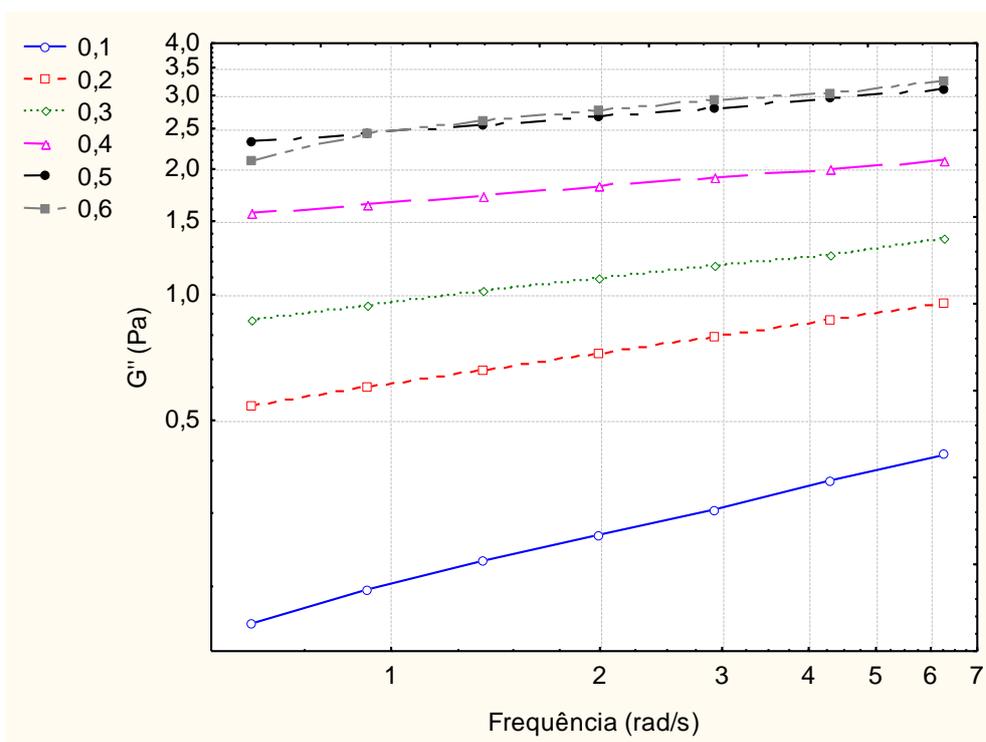


Figura 22 - Módulo de Perda das soluções de shoyu light com 1 % (p/p) de lactato de cálcio adicionado de goma xantana.



5.2. CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS

5.2.1. Diâmetro, massa, aw e cor

Devido à influência significativa da concentração de goma xantana na formação de cápsulas de shoyu light, foram avaliadas apenas as cápsulas que eram formadas com as soluções de 0,4%, 0,5 % e 0,6 % (p/p) de goma xantana na solução de shoyu light com 1 % de lactato de cálcio. Os resultados obtidos estão na Tabela 10.

Tabela 10 - Caracterização das cápsulas quanto ao diâmetro, massa e aw

Cápsula	Diâmetro (mm)	Massa (g)	aw
0,4 %	7,4277 ± 0,02627 ^a	0,146 ± 0,006 ^a	0,98 ± 0,01 ^a
0,5 %	7,2544 ± 0,2270 ^{ab}	0,151 ± 0,006 ^{ab}	0,98 ± 0,01 ^a
0,6 %	7,0898 ± 0,2664 ^b	0,156 ± 0,011 ^b	0,98 ± 0,01 ^a

O diâmetro das cápsulas mostrou ser menor a medida que aumenta a concentração de goma xantana, entretanto não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) as cápsulas com 0,4 % e 0,5 % de goma xantana. Assim como 0,5 % e 0,6 % também não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) entre si. Elçin et al. (1995), reportaram que o aumento da concentração de goma xantana resultava em pérolas de alginato de cálcio com diâmetros menores.

A influência da goma xantana no diâmetro das cápsulas está fortemente relacionado com os valores de viscosidade encontrado anteriormente, e principalmente com o índice de escoamento das soluções, que diminui à medida que aumentava a concentração de goma xantana. Quanto menor o valor do índice de escoamento, mais a solução de shoyu é contida unida e menos se dispersa na solução de alginato de sódio durante o encapsulamento, resultando em um processo de gelificação em esferas menores, além do caráter de gel dessas dispersões.

A concentração de goma xantana também afetou na massa nas cápsulas, pois a medida que aumentava a concentração de goma xantana, maior foi a

massa das cápsulas, sendo que houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as concentrações de 0,4 e de 0,6 %. A razão disto é que quanto maior a concentração, a dispersão do shoyu é menor, devido ao menor índice de escoamento e as propriedades de gel, oferecendo uma maior resistência ao escoamento do shoyu e o tempo suficiente para a formação da membrana de alginato de cálcio pelo encapsulamento, retendo mais solução no seu interior e conseqüentemente mais massa.

Quanto à atividade de água das cápsulas, as cápsulas não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre si, e o valor de 0,98 indica que se trata de um produto suscetível a reações de deterioração.

Quanto à cor (Tabela 11), verificou-se que para a luminosidade (L^*) as amostras apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) e a medida que aumentou a concentração de goma xantana, a luminosidade aumentou. Os valores de a^* , indicam que as cápsulas foram ligeiramente avermelhadas e entre elas não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$). Os valores de b^* indicam que as cápsulas foram ligeiramente amareladas e sendo significativamente maior à medida que a concentração de goma xantana aumentou ($p < 0,05$). Dessa forma, podemos indicar que as cápsulas se encontram no segundo quadrante do círculo cromático de cores.

Tabela 11 - Parâmetros colorimétricos das cápsulas de alginato de cálcio contendo goma xantana em diferentes concentrações

Cápsula	L^*	a^*	b^*	ΔE^*
0,4 %	$14,87 \pm 0,26^a$	$1,63 \pm 0,05^a$	$2,78 \pm 0,05^a$	$4,52 \pm 0,18^a$
0,5 %	$15,39 \pm 0,24^b$	$1,85 \pm 0,06^a$	$2,98 \pm 0,05^b$	$4,32 \pm 0,21^a$
0,6 %	$16,56 \pm 0,22^c$	$1,75 \pm 0,01^a$	$3,38 \pm 0,04^c$	$3,87 \pm 0,09^b$
Shoyu	$18,40 \pm 0,01^d$	$0,17 \pm 0,15^b$	$0,37 \pm 0,04^d$	--

Comparando os valores das cápsulas com os valores do shoyu light (Tabela 11), observou-se que o processo de encapsulamento alterou as características colorimétricas de forma significativa ($p < 0,05$). As cápsulas apresentaram valores de luminosidade menores, enquanto que maiores para

a^* e b^* . Um possível erro pode ter sido cometido na medida das cápsulas, pois não se teve em consideração o efeito da porosidade entre as esferas e a estrutura da parede externa das cápsulas os quais podem alterar a luz que incide sobre a superfície das cápsulas, modificando a cor resultante. Contudo, necessita-se de mais estudos para verificar o protocolo de medida neste tipo de configuração.

Quanto ao parâmetro de cor ΔE^* , que indica a diferença total de cor de cada amostra com o shoyu light puro, indica que as cápsulas não foram tão diferentes ao do shoyu light, sendo que a que teve maior concentração de goma xantana foi a que apresentou a menor diferença, isto pode estar relacionado com a retenção maior de shoyu light durante o encapsulamento na concentração de 0,6 % de goma xantana, ocorrendo menos perda de shoyu para a solução de alginato durante o encapsulamento, preservando mais as características colorimétricas do shoyu, o qual é de grande interesse comercial, pois a descaracterização das cápsulas em relação as características do shoyu pode resultar na rejeição do produto pelo consumidor.

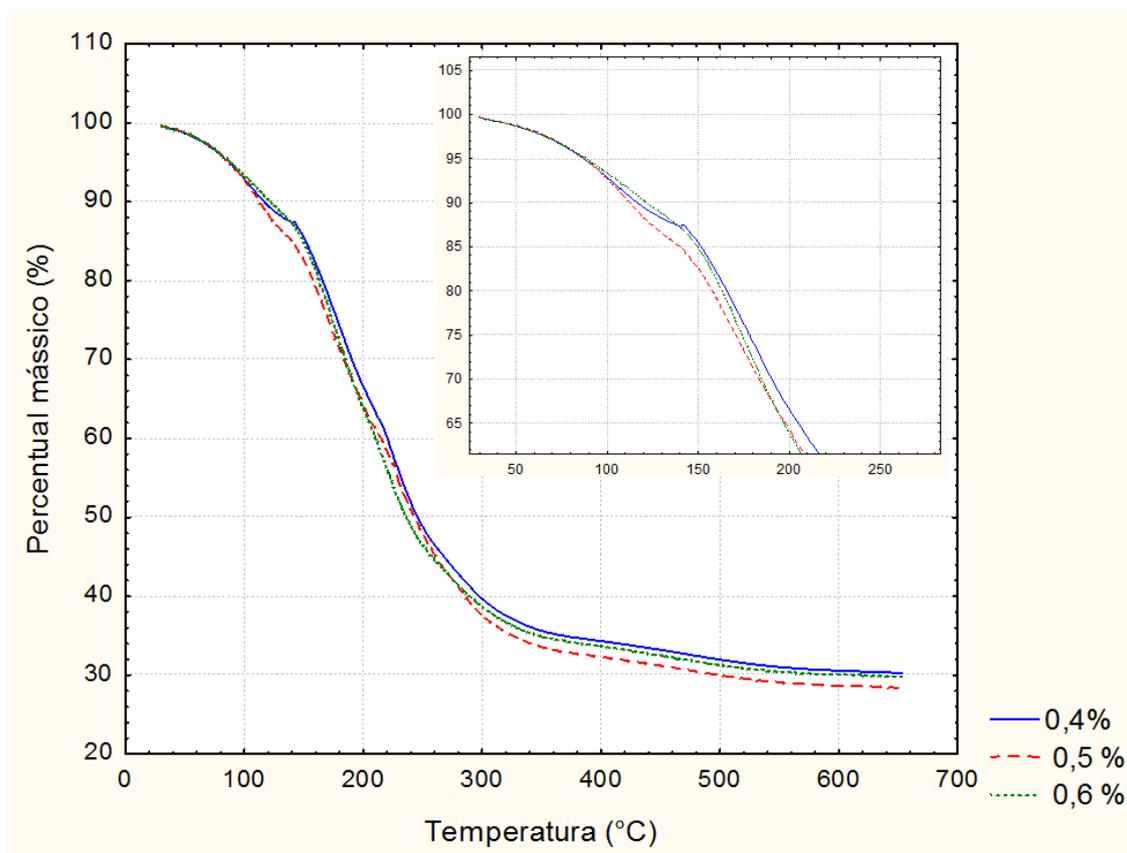
5.2.2. Análise Termogravimétrica

Através da análise termogravimétrica das cápsulas, observou-se que as mesmas não apresentaram diferenças significativas quanto a influência da concentração da goma xantana na sua decomposição térmica. As três amostras apresentaram duas etapas degradativas em comum: uma pequena perda de massa relacionada a liberação de água ligada das matrizes poliméricas das cápsulas na faixa entre 80 a 150 °C; uma perda de massa considerável e acentuada entre 150 a 300 °C, que está relacionada com a decomposição das matrizes poliméricas das cápsulas. A secagem prévia a 40 °C por 48 horas, resultou na remoção de água livre das cápsulas, na qual proporcionou a obtenção de curvas com etapas de degradação mais perceptíveis, Figura 23. As pequenas variações entre as amostras podem estar relacionadas com a variação da superfície entre amostras e conseqüentemente na penetração de calor sofrida por cada uma.

Teixeira et al. (2011) ao avaliarem a estabilidade térmica de géis de goma xantana, observaram três processos degradativos. A primeira etapa na faixa de temperatura entre 100-150 °C, relacionada a água livre e ligada. A segunda etapa, com maior taxa de degradação, na faixa de temperatura entre 150-210 °C, relacionada à despolimerização das cadeias laterais da goma xantana. O último processo degradativo, próximo de 290 °C, foi relacionado com a degradação da cadeia principal da goma xantana. Enquanto Soldi et al. (2005) observaram o mesmo estágio degradativo a 150 °C, também relacionado a perda de água e compostos voláteis, e um outro estágio significativo na faixa de 275 a 360 °C. Este último estágio acentuado também foi observado por Cardoso et al. (2016). Quanto ao alginato, Said et al. (1992) encontraram altas taxas de degradação na faixa de temperatura de 190 a 470 °C, enquanto que Basly et al. (2010), observaram três estágios degradativos: o primeiro entre 100 a 200 °C, relacionado a água livre e ligada; um segundo estágio entre 200 e 300 °C, relacionado a uma série de reações não identificadas; e o último estágio degradativo entre 300 e 520°C, relacionado com a despolimerização completa do polímero.

Nos dois estágios de degradação térmica encontrados, observou-se que estas etapas ocorreram precocemente, antes das temperaturas descritas pela literatura. Entretanto isso pode estar relacionado com o efeito de interação entre os polímeros de goma xantana e de alginato de cálcio, como também pode estar relacionado com um processo de degradação acelerado ocasionado pela presença do shoyu, o qual apresenta um pH abaixo de 5,0, suficiente para proporcionar a despolimerização das cadeias poliméricas dos polímeros utilizados (CHO, 2014). Entretanto, mais estudos precisam ser realizados.

Figura 23 - Análise Termogravimétrica das cápsulas.



5.2.3. Microscopia Eletrônica de Varredura

Por causa da metodologia, as cápsulas tiveram que ser previamente desidratadas, tendo seu núcleo líquido evaporado, resultando numa estrutura esférica frágil. Após o processo de metalização com ouro e carbono, observou-se a ruptura de algumas partes da parede, como pode-se verificar na Figura 24.

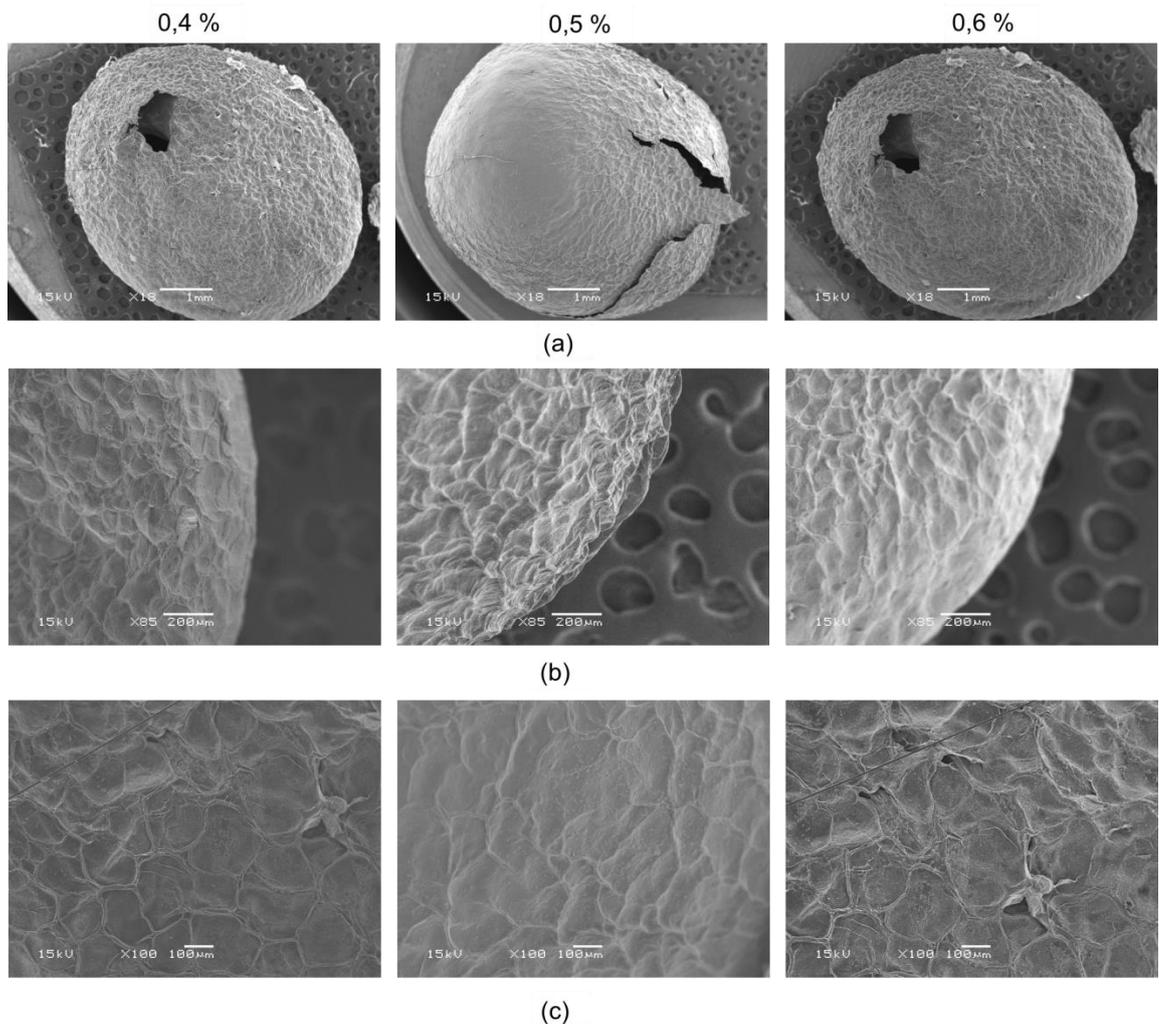
As cápsulas de shoyu apresentaram estrutura externa similares quanto a variação da concentração da goma xantana. Na região onde o conteúdo líquido do núcleo evaporou, não apresentou nenhuma estrutura rígida formada em seu interior, pois este método não forma estruturas rígidas entorno do núcleo (CHAN, 2016a).

Todas as superfícies foram escamadas (Figura 24a e 24b). Uma maior aproximação no centro da superfície das cápsulas, Figura 24c, proporcionou visualizar melhor a similaridade da superfície escamadas entre as cápsulas e

a presença de fibrilas em todas as amostras. Desta forma, conclui-se que a adição de goma xantana em concentração entre 0,4 % (p/p) a 0,6 % (p/p) não influenciou significativamente na microestrutura das cápsulas formadas.

As fibrilas encontradas neste trabalho, vem sendo observadas em diversos trabalhos os quais analisaram a superfície através da microscopia eletrônica de varredura (ROMERO, 2014; LI, 2016; CHIANG, 2016). Estas fibrilas estão vinculadas ao multímeros formados na etapa final de gelificação do alginato de cálcio, fato descrito e evidenciado por Li et al. (2016), o qual aumentou a concentração de íons de cálcio no processo de gelificação que resultou no aumento do diâmetro destas fibrilas.

Figura 24 - Microestrutura das cápsulas de alginato de cálcio contendo shoyu (a) da estrutura inteira (18x); (b) da borda (85x); (c) da superfície (100x)



5.3. AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE FÍSICA DAS CÁPSULAS

5.3.1. Tensão de Ruptura e Perda de Massa

Para poder simular o comportamento das cápsulas em um serviço de alimentação, as mesmas foram expostas a duas situações: armazenamento sob refrigeração (5 °C) e temperatura ambiente (25 °C). A legislação Brasileira (Brasil, 2004) indica que alimentos preparados em serviços de alimentação armazenados sob refrigeração não devem ultrapassar a temperatura de 5 °C até a sua total utilização, os quais devem ser consumidos em até 5 dias, quando mantidos abaixo de 4 °C, e em tempos menores quando mantido entre 4 e 5 °C. Dessa forma, as cápsulas formadas foram analisadas fisicamente em relação a força necessária para causar a ruptura das mesmas em três diferentes situações: logo após formadas; após duas horas a 25 °C; e após dois dias a 5 °C. Os resultados obtidos estão na Figura 25.

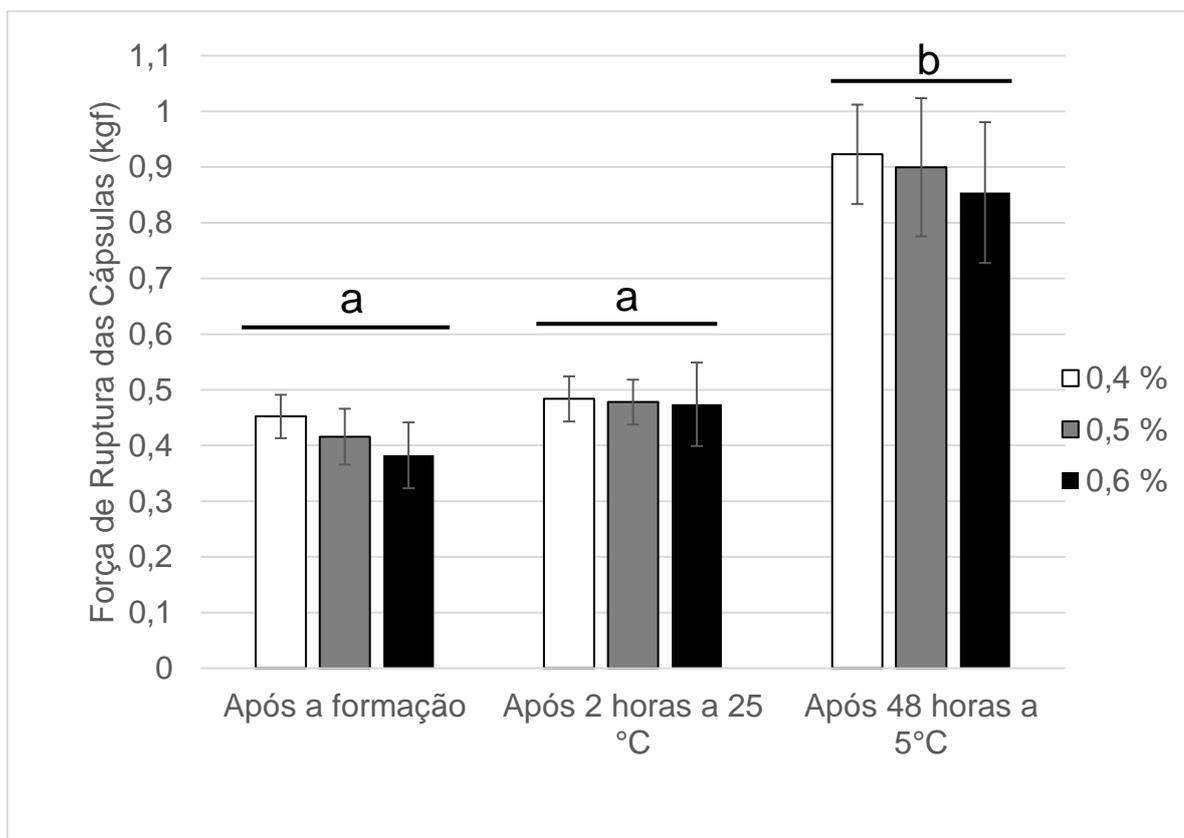
As cápsulas analisadas logo após seu preparo, mostraram ter uma resistência física maior nas dispersões de menor concentração de goma xantana. A força necessária para causar a ruptura das cápsulas 0,4, 0,5 e 0,6 % foram 0,452, 0,416, e 0,382 kgf, respectivamente, entretanto não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) entre si.

Após duas horas a 25 °C, os valores de tensão de ruptura para as cápsulas 0,4 %, 0,5 % e 0,6 % foram de 0,484, 0,478 e 0,474 kgf, respectivamente. As mesmas não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) entre si. Quando foram estocadas as cápsulas por 48 horas a 5 °C, se observa comportamento similares que nos casos anteriores, entretanto a força de ruptura necessário foi bem maior do que nos casos anteriores. Os valores para 0,4 %, 0,5 % e 0,6 % foram 0,926, 0,900 e 0,854 kgf, respectivamente, não apresentando diferença significativa ($p > 0,05$) entre si.

A possível influência do aumento da concentração de goma xantana nas propriedades mecânicas das cápsulas pode ser associada a interação entre a cadeias poliméricas de goma xantana e alginato de sódio, como foi observado por Pongjanyakul et al. (2007) ao verificarem a formação de complexos entre os grupos carboxílicos entre ambos polissacarídeos. Essa interação pode ter

resultado na indisponibilidade das moléculas de alginato de sódio durante o processo de formação de ligações cruzadas com os íons cálcio, comprometendo a formação da membrana externa de alginato de cálcio. Porém mais estudos devem ser realizados para verificar a influência dessa interação no processo de formação da membrana externa.

Figura 25 - Avaliação da tensão de ruptura das cápsulas.



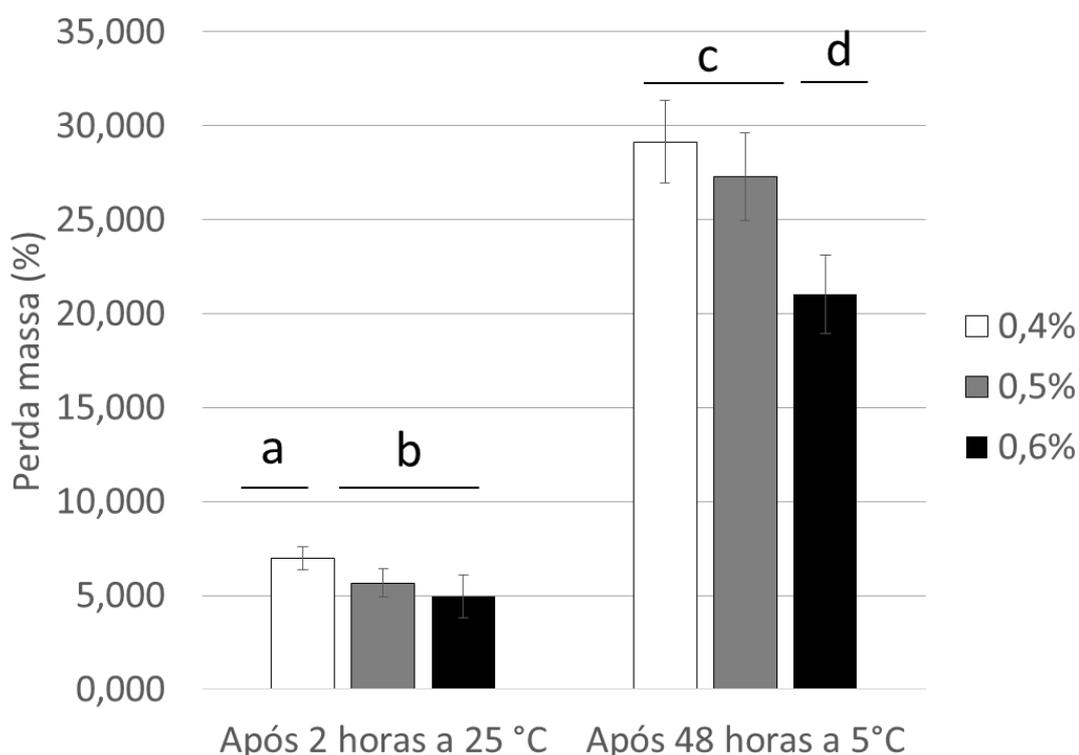
Na Figura 26 se observa a perda de massa nas amostras após duas horas a 25 °C e 48 horas a 5 °C, sendo que essa perda é devida à evaporação de água e compostos voláteis das amostras. Essas perdas foram significativamente maiores com o tempo de exposição nas cápsulas com goma xantana à 0,4 % (p/p) por ligar menos quantidade de água livre.

Após duas horas a 25 °C, a medida que aumenta a concentração de goma xantana, menor foi a perda de massa. As perdas para as cápsulas de 0,4 %, 0,5 % e 0,6 % foram 6,99 %, 5,67 % e 4,94 %, respectivamente. As concentrações de 0,5 % e 0,6 % não apresentaram diferença significativa

($p > 0,05$) entre si, enquanto a cápsula com 0,4 % apresentou a perda de massa maior ($p < 0,05$) em relação as demais. Assim, a influência da concentração de goma xantana com a perda de massa está relacionada com a maior interação entre o polissacarídeo e a solução de shoyu. Interações que são favorecidas pelo aumento da concentração e assim, aumentam a retenção e diminuem a liberação de água livre.

Comportamento similar foi observado após 48 horas a 5 °C, entretanto, as perdas de massa foram maiores. As perdas para as cápsulas de 0,4 %, 0,5 % e 0,6 % foram 29,13 %, 27,29 % e 21,04 %, respectivamente. As concentrações de 0,4 % e 0,5 % não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$), enquanto a cápsula com 0,6 % apresentou a perda de massa menor ($p < 0,05$) em relação as demais.

Figura 26- Avaliação da perda de massa (%) das cápsulas.



Observou-se um aumento na tensão de ruptura das cápsulas nas condições logo após a formação e após duas horas a 25 °C, porém não significativos estatisticamente ($p > 0,05$). Foi observado que após a formação

para após 48 horas a 5 °C, o aumento nas propriedades físicas foi significativo ($p < 0,05$). O aumento da tensão de ruptura pode estar relacionando a perda de massa com as propriedades mecânicas das soluções. À medida que aumenta a concentração de goma xantana, maior é as propriedades sólido elásticas das soluções e assim mais resistentes a deformações. A medida que aumenta a perda de massa entre as condições, maior é a perda de água das cápsulas, o qual resulta na concentração do líquido interior das cápsulas, ou seja, aumenta a concentração de goma xantana e conseqüentemente proporciona o aumento das propriedades mecânicas das cápsulas.

Alguns estudos observaram influencias significativas no uso de goma xantana no processo de encapsulamento. Elçin et al. (1995) verificaram que o uso de goma xantana resultou na menor liberação de líquido das cápsulas, assim como também maior adsorção de água quando estas foram desidratadas. Tal fato foi relacionado com os grupos carboxílicos presente na cadeia polimérica da goma xantana que possuem afinidade pela água. Mesmo resultado encontrado por Pongjanyakul et al. (2007), a adição de goma xantana diminui a perda de água e aumentou a barreira de cápsulas com membrana de alginato de cálcio.

De forma geral, as cápsulas 0,4, 0,5 e 0,6 % não apresentaram diferenças significativa em uma mesma condição, quanto a resistência física a tensões. Porém, devido à maior perda de massa nas concentrações de 0,4 e 0,5 %, ocorreu a deformação, resultando na perda de esfericidade das cápsulas.

Dessa forma, quando se integra todos os dados obtidos no estudo, o emprego de 0,6% de goma xantana foi a mais recomendada para a produção de cápsulas de shoyu light.

6. CONCLUSÕES

O método de encapsulamento reverso de molho de soja – shoyu light, utilizando o processo de gelificação de alginato de sódio com lactato de cálcio, mostrou ser possível a partir da concentração de 0,4 % (p/p) de goma xantana e a ocorrência da formação de cápsulas não mostrou ser influenciada pelo valor de pH baixo das dispersões.

O emprego do congelamento, antes do processo de encapsulamento, eliminou a necessidade de um sistema complexo de controle utilizado nos métodos tradicionais, e o uso de equipamentos caros.

As soluções de shoyu light adicionadas de goma xantana apresentaram comportamento pseudoplástico e de gel (valores de G' maiores que G''). A solução de 1 % (p/p) de alginato de sódio apresentou comportamento pseudoplástico e de solução diluída (G'' maior do que G').

A concentração de goma xantana influenciou significativamente no diâmetro, massa e na cor final das cápsulas. As cápsulas não apresentaram diferença significativa quanto a a_w , porém os valores eram altos, resultando em um produto pouco estável a deterioração.

Na análise termogravimétrica, as cápsulas não apresentaram diferença significativa quanto sua degradação térmica, observando-se duas principais etapas degradativas: uma menor perda de massa devido à perda de água não ligada e ligada na faixa de temperatura entre 80 e 150 °C e uma perda de massa significativa entre 150 e 300 °C devido a processo de degradação da matriz polimérica das cápsulas.

O aumento da concentração de goma xantana na solução de shoyu light não influenciou na microestrutura das cápsulas formadas. Em todas as cápsulas observou-se uma superfície escamada, com a formação de fibrilas devido ao processo de associação lateral dos dímeros.

A avaliação da estabilidade física das cápsulas mostrou que a medida que aumentava a concentração de goma xantana menor era a perda de massa e menor a resistência a tensão de ruptura, mas não mostraram ser significativamente diferentes em uma mesma condição.

A cápsula com 0,6 % (p/p) de goma xantana foi a que melhor se apresentou pois apresentou menor perda de massa e resistência física similar às demais cápsulas, mostrando-se ser fisicamente estável para condições similares de uma cozinha de gastronomia molecular.

7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS

AKIBA C, Ujii T, YOKOYAMA S. **The sterilizing effects of soy sauce and other sauces on the pathogens in the digestive treatment.** Chomi Kagaku, Vol 4, Pag 1 – 9, 1957.

AOAC. ASSOCIATION OF OFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis.** 16th ed. Washington D.C.: AOAC, 1997. v.2.

AOSHIMA, H; OOSHIMA, S. **Anti-hydrogen peroxide activity of fish and soy sauce.** Food chemistry, Vol 112, pg 339 – 343, 2009.

AQUARONE, Eugênio; BORZANI, Walter; SCHMIDELL, Willibaldo; LIMA, Urgel A. **Biologia Industrial: Biologia na produção de alimentos.** Vol 4. São Paulo: Blucher, 2001.

BASLY, Jean- Philippe; LEZEHARI, Mouloud; BAUDU, Michel; BOURAS, Omar. **Alginate encapsulated pillared clays: removal of a neutral/anionic biocide (pentachlorophenol) and a cationic dye (safranine) from aqueous solutions.** Colloids and Surfaces A: Phusicochem. Eng. Aspect, vol 336, pg 88-94, 2010.

BENJAMIN H, STORKSON J, NAGAHARA A. **Inhibition of benzo(a)pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by dietary soy sauce.** Cancer, Vol 51, pag 2940-2942, 1991.

BHATTACHARYA, Suvendu; ROOPA, B.S. **Alginate gels: I. Characterization of textural attributes.** Journal of Food Engineering, vol 85, pg 123-131, 2008.

BHUJBAL, Swapnil V.; PAREDEZ-JUAREZ, Genaro A.; NICLOU, Simone P.; VOS, Paul. **Factors influencing the mechanical stability of alginate beads applicable for immune isolation of mammalian cells.** Journal of the mechanical behavior of biomedical materials, vol 37, pg 196-208, 2014.

BLANDINO, Ana; MACIAS, Manuel; CANTERO, Domingo. **Formation of Calcium Alginate Gel Capsules: Influence of Sodium Alginate and CaCl₂ Concentration on Gelation Kinetics.** Journal of Bioscience and Bioengineering, vol 88, pg 686-689, 1999.

BRASIL; Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Resolução de Diretoria colegiada nº 216 de 2004 - Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação.** Diário Oficial da União, 16 de setembro de 2004.

BRENNER, Michael P.; SORENSEN, Pia M. **Biophysics of Molecular Gastronomy**. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2015.03.002> >. Acessado em dezembro de 2016.

BURKE, Roisin; THIS, Herve; KELLY, Alan L. **Molecular Gastronomy**. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.03302-3>>. Acessado em dezembro de 2016.

CARDOSO, Mara Lane; BARBOSA, Décio Sabbatini; BONIFACIO, Kamila Landucci; HOSCHEID, Jaqueline; FRANCISCO, Lizziane M. B.; OUTUKI, Priscila M. **Development of arabic and xanthan gum microparticles loaded with an extract of *Eschweilera nana* Miers leaves with antioxidant capacity**. Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspect, vol 499, pg 103-112, 2016.

CHAN, Eng-Seng; PONCELET, Denis; TEY, Beng-Ti; LIM, Swee-Lu LIM, Hui-peng; Lee, Michy Fu-Xiang; VOO, Wan-Ping; Ho, Kiang-Wei; LAM, Weng-Hoong; LEONG, Jun-Yee. **Advances in fabricating spherical alginate hydrogels with controlled particle designs by ionotropic gelation as encapsulation systems**. Particuology, vol 24, pg 44-60, 2016a .

CHAN, Eng-Seng; VOO, Wang-Ping; OOI, Chien-Wei; ISLAM, Aminul; TEY, Beng-Ti. **Calcium alginate hydrogel beads with high stiffness and extended dissolution behavior**. European Polymer Journal, vol 75, pg 343-353, 2016b.

CHANG, Ho Nam; CHEONG, Soo Hwan; PARK, Joong Kon; KIM, Beom Soo. **Microencapsulation of yeast cells in the calcium alginate membrane**. Biotechnology techniques, vol 7, nº 12, pg 879-884, 1993.

CHIANG, Po-Yuan; TSAI, Fu-Hsuan; KITAMURA, Yutaka; KOKAWA, Mito; ISLAM, M.Z. **Producing liquid-core hydrogel beads by reverse spherification: Effect of secondary gelation on physical properties and release characteristics**. Food Hydrocolloids, vol 62, pg 140-148, 2016.

CHO, Dong-Woo; KIM, Sung Won; KUNDU, Joydip; KIM, Hyeon Ji; SEOL, Young-Joon; JANG, Jinah. **Effects of alginate hydrogel cross-linking density on mechanical and biological behaviors for tissue engineering**. Journal of the mechanical behavior of biomedical materials, vol 37, pg 69-77, 2014.

DONG, Mingzhe; XU, Long; GONG, Houjian; SUN, Mengjiao; Li, Yajun. **Effects of inorganic cations on the rheology of aqueous welan, xanthan, gellan solutions and their mixtures**. Carbohydrate Polymers, vol 121, pg 147-154, 2015.

ELÇIN, Y. Murat. **Encapsulation of urease enzyme in xanthan-alginate spheres**. Biomaterials, vol 16, pg 1157-1161, 1995.

EREN, Necla Mine; SANTOS, Paulo, H. S.; CAMPANELLA, Osvaldo. **Mechanically modified xanthan gum: Rheology and polydispersity aspects**. Carbohydrate Polymers, vol 134, pg 475-484, 2015.

FARRÉS, I. Fernández; NORTON, I.T. **Formation kinetics and rheology of alginate fluid gels produced by in-situ calcium release.** Food Hydrocolloids, Vol 40, pg 76-84, 2014.

FARRÉS, I. Fernández; DOUAIRE, M.; NORTON, I.T. **Rheology and tribological properties of Ca-alginate fluid gels produced by diffusion-controlled method.** Food Hydrocolloides, Vol 32, pg 115-122, 2013.

FELLOW, P.J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática.** 2ª Edição. Porto Alegre: Artmed, 2006.

FENNEMA, Owen; DAMODARAN, Srinivasan; PARKIN, Kirk. **Química de Alimentos de Fennema.** 4ª Edição. Porto Alegre: Artmed, 2010.

FIESP; ITAL. **Brasil Food Trends 2020.** Federação das Indústrias do Estado de São Paulo, Instituto de Tecnologia de Alimentos, São Paulo, 2010.

FROST, Michael Bom; MIELBY, Line Holler. **Expectations and surprise in a molecular gastronomic meal.** Food Quality and Preference, vol 21, pg 213-224, 2010.

FUNAMI, Takahiro; FANG, Yapeng; NODA, Sakie; ISHIHARA, Sayaka; NAKAUMA, Makoto; DRAGET, Kurt I.; NISHINARI, Katsuyoshi; PHILLIPS, Glyn O. **Rheological properties of sodium alginate in an aqueous system during gelation in relation to supermolecular structures and Ca²⁺ binding.** Food Hydrocolloids, vol 23, pg 1746-1755, 2009.

GONZALEZ, Laura S.; BEKHIT, Mariam; MESSAOUD, Ghazi Ben; DESOBRY, Stéphane. **Design of microcapsules containing Lactococcus lactis subsp. lactis in alginate shell and xanthan gum with nutrients core.** LWT – Food Science and Technology, vol 68, pg 446-453, 2016a.

GONZALEZ, Laura S.; MESSAOUD, Ghazi Ben; PROBST, Laurents; DESOBRY, Stéphane. **Influence of internal composition on physicochemical properties of alginate aqueous-core capsules.** Journal of Colloid and Interface Science, vol 469, pg 120-128, 2016b.

GUIDI, Letícia R. **Aminas Bioativas em molho de soja: validação de método e ocorrência.** Dissertação de Mestrado para Título de Ciência de Alimentos. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2010.

HARDING, Stephen E.; SMITH, Ian H.; LAWSON, Christopher J.; GAHLER, Roland J.; WOOD, Simon. **Studies on macromolecular interactions in ternary mixtures of konjac glucomannan, xanthan gum and sodium alginate.** Carbohydrate Polymers, vol 83, pg 329-338, 2011.

IBARZ, Albert; CÁNOVAS, Gustavo V. **Unit Operations in Food Engineering.** Boca Raton: CRC PRESS, 2003.

JAY, James M. **Microbiologia de Alimentos.** 6ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2005.

KAMAL, Ghulam Mustafa; WANG, Xiaohua; YUAN, Bin; WANG, Jie; SUN, Peng; ZHANG, Xu; LIU, Maili. **Compositional differences among Chinese soy sauce types studied by C NMR spectroscopy coupled with multivariate statistical analysis.** *Talanta*, Vol 158, pg 89-99, 2016.

KATAOKA, S., LIU, W., ALBRIGHT, J., STROKSON, J., and PARIZA, M.W. **Inhibition of benzo[a]pyrene-induced mouse forestomach neoplasia and reduction of H₂O₂ concentration in human polymorpho nuclear leucocytes by flavor components of Japanese style fermented soy sauce.** *Food Chemistry and Toxicology.*, Vol 35, 449–457, 1997.

KATAOKA, Shigehiro. **Functional effects of Japanese Syle Fermented Soy Sauce (shoyu) and its components.** *Journal of bioscience and bioengineering*, Vol 100, pg 227-234, 2005.

KINOSHITA E, YAMAKOSHI J, **Purification and identification of an angiotensin I-converting enzyme inhibitor from soy sauce.** *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, Vol 57, pg 1107-1110, 1993.

KOBAYASHI, Makio. **Immunological Functions of soy sauce: hipoallergenicity and antiallergic activity of soy sauce.** *Journal of bioscience and bioengineering*, Vol 100, pg 144-151, 2005.

KOJIMA, T. **Effect of soy sauce on gastric juice secretion.** *Rinsho Shoukakibyogaku Zasshi*, Vol 2, pag 728–732, 1954.

LI, Dong; LI, Shu-Jun; MAO, Zhi-Huai; OZKAN, Necati; WANG, Bao; WANG, Li-Jun. **Rheological properties of waxy maize starch and xanthan gum mixtures in the presence of sucrose.** *Carbohydrate Polymers*, vol 77, pg 472-481, 2009.

LI, Lin; BI, Shuguang; TANG, Bijun; LI, Huijun; LIU, Sijun. **Scaling law and microstructure of alginate hydrogel.** *Carbohydrate Polymers*, Vol 132, pg 101-109, 2016.

LIMA, Vera Lúcia Arroxelas de; MÉLO, Enayde de Almeida; GUERRA, Nonete Barbosa. **Correlação entre o Teor de Antocianinas e Caracterização Cromática de Polpas de Diferentes Genótipos de Aceroleira.** *Brazilian Journal of Food Technology*. Campinas, p. 51-55. jan. 2007.

LIOE, Hanipah Nuryani; SELAMAT, Jinap; YASUDA, Massaki. **Soy Sauce and its umami taste: a link from the past to current situation.** *Journal of Food Science*, Vol 75, pg 71 – 77, 2010.

LONG L.; KWEE D.; HALLIWELL B. **The antioxidant activities of seasonings used in Asian cooking. Powerful antioxidant activity of dark soy sauce revealed 13 using ABTS assay.** *Free Radical*, Vol 32, pg 181-186, 2000.

LUH, B.S. **Industrial production of soy sauce.** *Journal of Industrial Microbiology*, v. 14, p. 467-471, 1995.

MARKLEY, Klare S. **Soybean and soybean products**. Vol: 2. New York: Interscience, 1951.

MASUDA S, HARA-Kudo Y, KUMAGAI S. **Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 populations by soy sauce, a fermented seasoning**. Journal Food Protein, Vol 61, pg 657-661, 1998.

MCCABE, Warren L.; SMITH, Julian C.; HARRIOTT, Peter. **Unit Operations of Chemical Engineering**. 7ª Edição. New York: McGraw-hill, 2005.

MILAS, Michel; RINAUDO; Marguerite. **Properties of xanthan gum in aqueous solutions: role of the conformational transition**. Carbohydrate Research, vol 158, pg 191-204, 1986.

MOONEY, David J.; LEE, Kuen Yong. **Alginate: Properties and biomedical applications**. Progress in Polymer Science, vol 37, pg 106-126, 2012.

MUROOKA, Yoshikatsy; YAMSHITA, Mitsuo. **Traditional healthful fermented products of Japan**. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, Vol 35, pg 791-798, 2008. (MUROOKA, 2008)

MYAGE, Atsushi; NABETANI, Hiroshi; NAKAJIMA, Mitsutoshi. **Decolorization of japanese soy sauce (shoyu) using adsorption**. Journal of Food Engineering, Vol 116, pg 749- 757, 2013.

NAVARRO, Alba S.; MARTINO, Miriam N.; ANBINDER, Pablo S.; DELADINO, Lorena. **Encapsulation of natural antioxidants extracted from *Ilex paraguariensis***. Carbohydrate Polymers, vol 71, pg 126-132, 2008.

NAWAB, Anjum; ALAM, Feroz; HAQ, Muhammad Abdul; HASNAIN, Abid. **Effect of guar and xanthan gums on functional properties of mango (*Mangifera indica*) kernel starch**. International Journal of Biological Macromolecules. Disponível em < <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.ijbiomac.2016.09.011>>. Acessado em dezembro de 2016.

NEPA – Núcleo de Estudos e pesquisas em alimentação - UNICAMP. **Tabela Brasileira de composição de alimentos** – TACO. 4ª edição. NEPA-UNICAMP, Campinas, 2011.

NICOLAI, Taco; BENYAHIA, Lazhar; CHOPPE, Emilie; PUAUD, Fanny. **Rheology of xanthan solutions as a function of temperature, concentration and ionic strength**. Carbohydrate Polymers, vol 82, pg 1128-1235, 2010.

OCHOA, F. Garcia; SANTOS, V. E.; CASAS, J. A.; GOMEZ, E. **Xanthan gum: production, recovery, and properties**. Biotechnology advances, vol 18, pg 549-579, 2000.

ONISHI H, SUZUKI T. **Microbial production of xylitol from glucose**. Applied Microbiology. Vol 18, pg 1031-1035, 1968.

PARK, Hyun Jin; LI, Jingley; KIM, Su Yeon; CHEN, Xiguang. **Calcium-alginate beads loaded with gallic acid: Preparation and characterization.** LWT- Food Science and Technology, vol 68, pg 667-673, 2016.

PETRI, Denise F.S.; DÁRIO, Aline F.; HORTÊNCIO, Lucas M.A.; SIERAKOWSKI; Maria Rita; NETO, João C. Queiroz. **The effect of calcium salts on the viscosity and adsorption behavior of xanthan.** Carbohydrate Polymers, vol 84, pg 669-676, 2011.

PONCELET, Denis; DAVARCI, Fatma; TURAN, Deniz; OZCELIK, Beraat. **The influence of solution viscosities and surface tension on calcium alginate microbead formation using dripping technique.** Food hydrocolloids, vol 62, pg 119-127, 2016.

PONGJANYAKUL, Thaned; PUTTIPIPATKHACHORN, Satit. **Xanthan–alginate composite gel beads: Molecular interaction and in vitro characterization.** International Journal of Pharmaceutics, vol 331, pg 61-71, 2007.

RAMASANY, Kalavathy; FAREEZ, Ismail M.; LIM, Siong Meng; MISHRA, RAKESH K. **Chitosan coated alginate–xanthan gum bead enhanced pH and thermotolerance of Lactobacillus plantarum LAB12.** International Journal of Biological Macromolecules, vol 72, pg 1419-1428, 2015.

RAMÍREZ, P; MUNOZ, J.; CARMONA, J. A.; CALERO, N. **Large amplitude oscillatory shear of xanthan gum solutions. Effect of sodium chloride (NaCl) concentration.** Journal of Food Engineering, vol 126, pg 165-172, 2014.

RAYMENT, Phillippa; WRIGHT, Peter; HOAD, Caroline; CIAMPI, Elisabetta; HAYDOCK, David; GOWLAND, Penny; BUTLER, Michael. **Investigation of alginate beads for gastro-intestinal functionality, Part 1: In vitro characterization.** Food Hydrocolloids, vol 23, pg 816-822, 2009.

RAZAVI, Seyed M. A.; KARAZHIYAN, Hojjat; NAJI, Sara. **Effect of thermal treatments on functional properties of cress seed (Lepidium sativum) and xanthan gums: A comparative study.** Food Hydrocolloids, vol 28, pg 75-85, 2012.

RINAUDO, Marguerite. **Biomaterials based on a natural polysaccharide: alginate.** TIP- Revista especializada en Ciencia Quimico-Biológicas, vol 17, pg 92-96, 2014.

ROGERS, M.A. LEE, P. **Effect of calcium source and exposure-time on basic caviar spherification using sodium alginate.** International Journal of Gastronomy and Food Science, vol 1, pg 96-100, 2012.

ROMERO, Dionisio M.; HERNÁNDEZ, Nicolás; CARDOZO, Carmen; SILVA, Rubén D. Godoy. **Rheological characterization of a gel produced using human blood plasma and alginate mixtures.** Journal of the mechanical behavior of biomedical materials, vol 34, pg 171-180, 2014.

SAGIS, Leonard M. C.; PAQUES, Jerome P.; LINDEN, Erik van der; RIJN, Cees J. M. **Preparation methods of alginate nanoparticles.** Advances in colloid and interface Science, vol 209, pg 163-171, 2014.

SAID, A. A.; HASSAN, R. M. **Thermal decomposition of some divalent metal alginate gel compounds**. Polymer Degradation and Stability, vol 39, pg 393-397, 1992.

SALLAM, Mohammed A.E.; LARSEN, Bjorn; SALEM, Dalia, M.S.A; MISHRIKEY, Morcos M.; BELTAGY, Ali I. **Characterization of the alginates from algae harvested at the Egyptian Red Sea coast**. Carbohydrate Research, vol 338, pg 2325-2336, 2003.

SANTANA, Ruth C. **Análise Instrumental Aplicada á Polímeros**. Porto Alegre: 2010. Disponível em: <www.chasqueweb.ufrgs.br/~ruth.santana/analise_instrumental/aulas.html>. Acessado em: 19 de outubro de 2016.

SEGATO, Milena Pinotti; CAVALHEIRO, Éder Tadeu Gomes. **Estudos termoanalíticos do ácido algínico e dos alginatos de metais alcalinos, alcalinos-terrosos, amônio, mono-, di- e trietanolamônio**. Dissertação para obtenção do título de Mestre em Ciências. Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, 112 páginas, São Carlos, 2007.

SHARMA, Rakesh Kumar; SHARMA, Navneet; DESHPANDE, Rohan D.; SHARMA, Deepak. **Development of locust bean gum and xanthan gum based biodegradable microparticles of celecoxib using a central composite design and its evaluation**. Industrial Crops and Products, vol 82, pg 161-170, 2016.

SHIMIZU, T., SUZUKI, I., and DEGAWA, A. **Survival of some pathogenic and food poisoning bacteria in seasoning**. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, Vol 9, pag 10–12, 1962.

SOLDI, V.; SOARES, R. M. D.; LIMA, A. M. F.; OLIVEIRA, R. V. B.; PIREZ, A. T. N. **Thermal degradation of biodegradable edible films based on xanthan and starches from different sources**. Polymer Degradation and Stability, vol 90, pg 449-454, 2005.

STEFFE, James F. **Rheological Methods in food process engineering**. 2ª Edição. Editora Freeman, East Lansing, 1992.

TACHL, Hiroshi. **Characteristics of Japanese Soy Sauce**. Disponível em: <https://www.kikkoman.co.jp/kiifc/foodculture/pdf_25/e_003_004.pdf> . Acessado em 20 de outubro de 2016.

TEIXEIRA, Vânea Ferreira Tôrres; PEREIRA, Nádia Rosa. **Estudo Da Obtenção De Biocatalisadores Com Matrizes De Alginato De Cálcio Visando A Produção De Biodiesel**. Ano de apresentação: 2011. Dissertação para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal – Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 2011.

TOMÉ, Ana Sofia Araujo. **Avaliação das propriedades gelificantes e emulsionantes de misturas de proteínas de peixe e de proteína vegetal**. Ano de Publicação: 2012. 89 páginas. Tese de Mestrado para Engenharia Alimentar –

Processamento de Alimentos. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Alimentar. Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2012.

TONELI, Juliana Tófano C. L.; MURR, Fernanda Elizabeth X.; PARK, Kil Jin. **REVIEW: ESTUDO DA REOLOGIA DE POLISSACARÍDEOS UTILIZADOS NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS.** Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, vol 7, nº 2, pg 171-204, 2005.

VILLAR, Marcelo A.; GOMEZ, César G.; LAMBRECHT, Péreza; LOZANO, Jorge E.; RINAUDO, Marguerite. **Influence of the extraction–purification conditions on final properties of alginates obtained from brown algae (Macrocystis pyrifera).** International Journal of Biological Macromolecules, vol 44, pg 365-371, 2009.

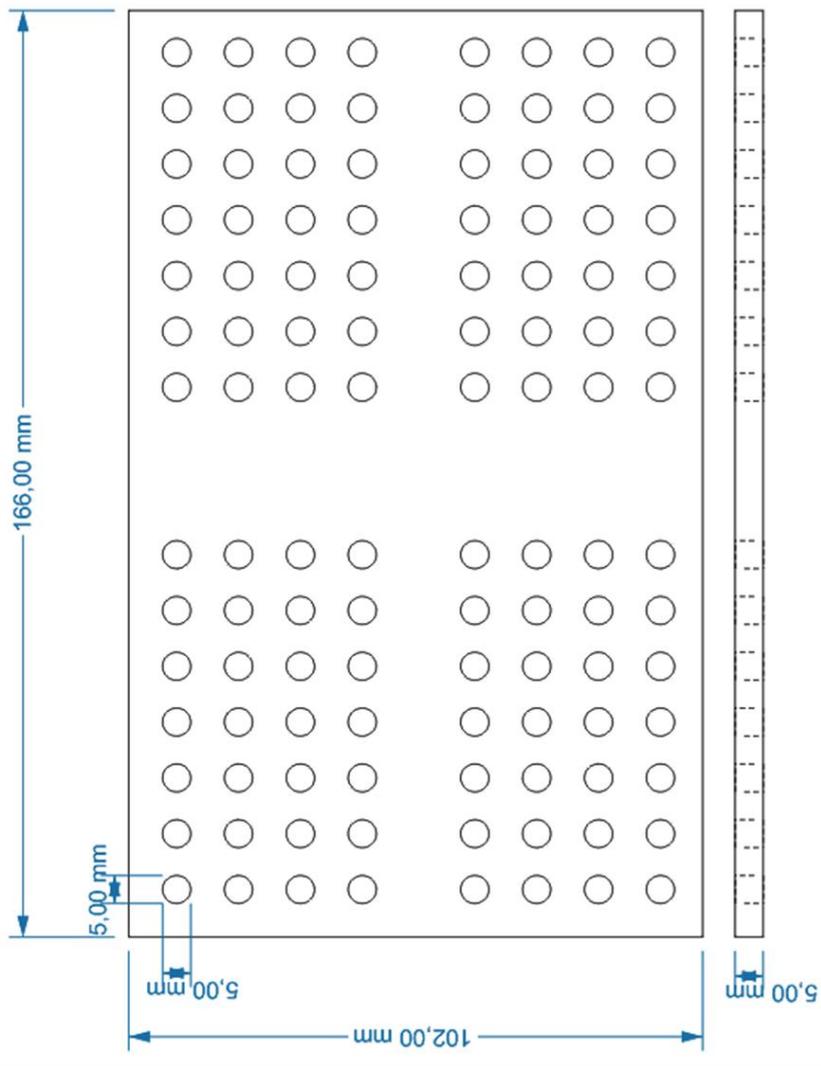
WASILKOSKI, Cleuza Maria. **Comportamento Mecânico dos Materiais Poliméricos.** Ano de publicação: 2006. 82 páginas. Tese de Doutorado para Engenharia e Ciência dos Materiais. Programa de Pós-Graduação em Engenharia-PIPE. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

YANG, Jisheng; FANG, Yun; CHEN, Shengbi. **Viscosity study of interactions between sodium alginate and CTAB in dilute solutions at different pH values.** Carbohydrate Polymers, vol 75, pg 333-337, 2009.

YOO, B.; KIM, C. **Rheological properties of rice starch–xanthan gum mixtures.** Journal of Food Engineering, vol 75, pg 120-128, 2006.

8. ANEXOS

ANEXO I



Fonte: Autoral (2016). Vista superior e Vista frontal.