

ALESSANDRA VILLANO ALMEIDA

**PROPRIEDADES INTERFACIAIS DE ALBUMINA DE TREMOÇO BRANCO E
ESTABILIDADE CINÉTICA DE EMULSÕES O/A**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Luis Antonio Minim

Co-orientadoras: Valéria Paula Rodrigues Minim; Márcia Cristina Teixeira Ribeiro Vidigal

**VIÇOSA – MINAS GERAIS
2024**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

A447p
2024
Almeida, Alessandra Villano, 1996-
Propriedades interfaciais de albumina de tremço branco e
estabilidade cinética de emulsões o/a / Alessandra Villano
Almeida. – Viçosa, MG, 2024.
1 dissertação eletrônica (67 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Luis Antônio Minim.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Tecnologia de Alimentos, 2024.

Referências bibliográficas: f. 58-67.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.208>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. *Lupinus albus*. 2. Proteína vegetal. 3. Reologia. 4. .
5. Emulsões. Cinética químicaI. Minim, Luis Antônio, 1960-
II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Tecnologia
de Alimentos. Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos. III. Título.

CDD 22. ed. 664.8056


ALESSANDRA VILLANO ALMEIDA

**PROPRIEDADES INTERFACIAIS DE ALBUMINA DE TREMOÇO BRANCO E
ESTABILIDADE CINÉTICA DE EMULSÕES O/A**


Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

_____ : 26 de fevereiro de 2024.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 **ALESSANDRA VILLANO ALMEIDA**
Data: 12/07/2024 17:55:47-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Alessandra Villano Almeida
Autora

Documento assinado digitalmente
 **LUIS ANTONIO MINIM**
Data: 16/07/2024 09:30:05-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Luis Antonio Minim
Orientador

Aos meus pais, Adelaine e Nelson.
E a minha irmã Larissa, que tanto amo.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a DEUS pela vida que Ele me concedeu, por sempre me mostrar o caminho certo e por me tornar capaz de realizar esse sonho.

Gratidão pelos meus pais, Adelaine e Nelson, pela presença e amor incondicional na minha vida sempre, a todo o esforço investido na minha educação e por todo o apoio e incentivo que serviram de alicerce para as minhas realizações.

A minha irmã Larissa, por estar sempre do meu lado, ser minha melhor amiga e por me fazer ter confiança nas minhas decisões.

A Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Tecnologia de Alimentos pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

A CAPES pelo fornecimento da bolsa de estudo e ao CNPq pelo financiamento da pesquisa.

Ao professor e orientador, Luis Antonio Minim, por todos os conselhos, ensinamentos e por ter me escolhido como orientanda.

As professoras Valéria Paula Rodrigues Minim e Márcia Cristina Teixeira Ribeiro Vidigal, pelo direcionamento, orientação e ensinamentos do início ao fim do meu percurso no mestrado.

A todos os professores do DTA-UFV por tanto contribuírem com meu conhecimento.

Aos meus professores da UFSJ, por todo conhecimento que me permitiu aprovação para o mestrado. Tenho grande admiração e carinho por todos eles.

A todos os grandes amigos do LADESP em que eu tive a honra de conhecer. Amigos em que eu pude compartilhar conhecimentos, conselhos, risadas, enfim, parceiros que a UFV me proporcionou e que vou levar todas as lembranças no meu coração.

A todos os meus parceiros do CARREIRAS UFV, grandes amigos que o projeto de extensão me deu, e que, mesmo de longe, estavam sempre me apoiando e torcendo por mim.

Aos técnicos e funcionários da UFV, pela ajuda, sempre que foi necessário.

A todos os meus familiares pelas orações, incentivo e por sempre se preocuparem comigo.

Enfim, muito obrigado a todos que contribuíram de alguma maneira para a realização desse trabalho.

RESUMO

ALMEIDA, Alessandra, M. Sc. Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2024. **Propriedades interfaciais de albumina de tremoço branco e estabilidade cinética de emulsões O/A.** Orientador: Luis Antonio Minim. Co-orientadoras: Valéria Paula Rodrigues Minim; Márcia Cristina Teixeira Ribeiro Vidigal.

A procura por novas fontes de emulsificantes de origem vegetal está vinculada à promoção da inovação, ao viabilizar diversificação de matérias-primas, alinhar preferências do consumidor e associar alternativas sustentáveis na produção de emulsões alimentares cineticamente estáveis. O tremoço branco apresenta boas propriedades gelificante, de hidratação e interfaciais e, portanto, potencial tecnológico para ser utilizado nas indústrias alimentícias. Logo, o objetivo deste estudo foi investigar as propriedades emulsificantes por métodos estático e dinâmico, além de desenvolver e avaliar a estabilidade cinética de emulsões O/A, contendo albumina de tremoço branco, com vistas à sua aplicação em sistemas alimentícios. Para tanto, fez-se a extração e caracterização das albuminas (SDS-PAGE, potencial Zeta (ζ), tamanho de partícula, índice de polidispersividade (PDI), solubilidade e propriedades interfaciais e dilatacionais). Além disso, avaliou-se a estabilidade cinética de emulsões O/A, com variação na proporção das fases contínua e dispersa, durante 21 dias de armazenamento. Os sistemas emulsionados foram caracterizados quanto a reologia, potencial Zeta, diâmetro médio das gotas, PDI, microestrutura e índice de cremosidade. Os resultados indicaram perfil de solubilidade característico de leguminosas, com valores mais baixos na faixa de pH próximo ao ponto isoelétrico (pH 4,3) e mais altos à medida que afastava desse valor. O potencial ζ variou de +30 mV a -30 mV, com maior estabilidade da dispersão em pH longe do ponto isoelétrico. A condição de saturação da interface foi atingida em 0,8% (p/v), com maior coeficiente de transferência de massa ($0,41 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}\text{s}^{-0,5}$). Além disso, as taxas de adsorção e rearranjo foram baixas, o que indica maior dificuldade de desnaturação das proteínas na superfície e na formação do filme interfacial, que por sua vez, exibiu comportamento elástico superior ao módulo viscoso, com camadas interfaciais que se comportam como um gel crítico 2D composto por componentes anfífilos adsorvidos, o que pode contribuir com uma maior estabilidade cinética do sistema emulsionado. Com relação as emulsões, os resultados mostram que para os tratamentos com menor proporção de óleo apresentaram comportamento newtoniano, enquanto que as com maior teor, apresentaram comportamento pseudoplástico (predominância do caráter

elástico). A emulsão com 20% de óleo e 80% de fase contínua apresentou boa estabilidade e menor formação de creme. Esta estabilidade cinética foi favorecida pela soma de vários fatores, sendo eles: baixa tensão interfacial, filme interfacial elástico, potencial zeta e pequenas gotas. Os baixos valores de tensão interfacial, adsorção e rearranjo e a rápida difusão das albuminas de tremço em direção à interface sugerem sua potencial aplicação como emulsificante. Além disso, com base na associação dos resultados da análise das propriedades interfaciais das soluções e das características físicas e químicas das emulsões O/A, este estudo foi relevante para a compreensão de sistemas formados por albuminas de tremço para a produção e controle da estabilidade cinética de emulsões. E para evidenciar possibilidades de aplicação de uma fração proteica que muitas vezes é negligenciada ou descartada.

Palavras-chave: *Lupinus albus*. Proteína vegetal. Reologia interfacial. Estabilidade cinética de emulsão.

ABSTRACT

ALMEIDA, Alessandra, M. Sc. Universidade Federal de Viçosa, February, 2024. **Interfacial properties of white lupine albumin and kinetic stability of O/W emulsions.** Adviser: Luis Antonio Minim. Co-advisers: Valéria Paula Rodrigues Minim; Márcia Cristina Teixeira Ribeiro Vidigal.

The search for new sources of plant-based emulsifiers is linked to the promotion of innovation, enabling the diversification of raw materials, aligning consumer preferences, and associating sustainable alternatives in the production of kinetically stable food emulsions. White lupin presents good gelling, hydration, and interfacial properties, and therefore, technological potential to be used in the food industries. Thus, the objective of this study was to investigate the emulsifying properties by static and dynamic methods, as well as to develop and evaluate the kinetic stability of O/W emulsions containing white lupin albumin, aiming at its application in food systems. For this purpose, extraction and characterization of the albumins were carried out (SDS-PAGE, Zeta potential (ζ), particle size, polydispersity index (PDI), solubility, and interfacial and dilational properties). In addition, the kinetic stability of O/W emulsions was evaluated, with variation in the proportion of continuous and dispersed phases, during 21 days of storage. The emulsified systems were characterized for rheology, Zeta potential, mean droplet diameter, PDI, microstructure, and creaminess index. The results indicated a solubility profile characteristic of legumes, with lower values in the pH range near the isoelectric point (pH 4,3) and higher as it moved away from this value. The ζ potential ranged from +30 mV to -30 mV, with greater dispersion stability at pH away from the isoelectric point. The interface saturation condition was reached at 0,8% (w/v), with higher mass transfer coefficient ($0,41 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}\text{s}^{-0,5}$). In addition, the adsorption and rearrangement rates were low, indicating greater difficulty in protein denaturation on the surface and in the formation of the interfacial film, which in turn exhibited elastic behavior superior to the viscous modulus, with interfacial layers behaving like a 2D critical gel composed of adsorbed amphiphilic components, which may contribute to greater kinetic stability of the emulsified system. Regarding the emulsions, the results show that treatments with lower oil proportion exhibited newtonian behavior, while those with higher content showed pseudoplastic behavior (predominance of elastic character). The emulsion with 20% oil and 80% continuous phase showed good stability and lower creaming. This kinetic stability was favored by

the sum of several factors, including low interfacial tension, elastic interfacial film, Zeta potential, and small droplets. The low values of interfacial tension, adsorption, and rearrangement, and the rapid diffusion of lupin albumins toward the interface suggest their potential application as emulsifiers. Additionally, based on the association of the results of the analysis of the interfacial properties of the solutions and the physical and chemical characteristics of the O/W emulsions, this study was relevant for the understanding of systems formed by lupin albumins for the production and control of the kinetic stability of emulsions. In addition, to highlight possibilities of application of a protein fraction that is often neglected or discarded.

Keywords: *Lupinus albus*. Vegetable protein. Interfacial rheology. Kinect stability of emulsion.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1. TENDÊNCIAS FUTURAS NA ALIMENTAÇÃO	14
2.1.1. Saúde e sustentabilidade	14
2.1.2. Modificações alimentares	14
2.2. TREMOÇO.....	15
2.2.1. Aspectos gerais	15
2.2.2. Composição nutricional	17
2.2.3. Proteínas	19
2.2.4. Propriedades técnico-funcionais das proteínas	19
<u>2.2.4.1. Propriedade de hidratação</u>	19
<u>2.2.4.2. Propriedades gelificantes</u>	21
<u>2.2.4.3. Propriedades interfaciais</u>	21
<u>2.3. EMULSÕES ALIMENTARES</u>	24
<u>2.3.1. Processos de desestabilização de emulsões alimentares</u>	26
<u>2.3.1.1. Separação gravitacional</u>	26
<u>2.3.1.2. Flocculação</u>	27
<u>2.3.1.3. Coalescência</u>	27
<u>2.3.1.4. Amadurecimento de Ostwald</u>	28
3. METODOLOGIA	30
3.1. PREPARO DOS MATERIAIS DO ESTUDO.....	30
<u>3.2.1. Obtenção e preparo da farinha</u>	30
<u>3.2.2. Extração das albuminas</u>	30
3.3. CARACTERIZAÇÃO DAS ALBUMINAS.....	31
<u>3.3.1. Eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecil-sulfato de sódio (SDS – PAGE)</u> 31	
<u>3.3.2. Potencial Zeta, tamanho de partícula e solubilidade</u>	31
<u>3.3.3. Determinação de propriedades interfaciais</u>	32
3.4. ANÁLISE INSTRUMENTAL DOS SISTEMAS EMULSIONADOS.....	34
<u>3.4.1. Preparo das emulsões</u>	34
3.4.2. Propriedades reológicas	35
3.4.3. Potencial Zeta, diâmetro médio das partículas e índice de polidispersidade 35	
3.4.4. Microestrutura	36
3.4.5. Estabilidade macroscópica	36

3.5.	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	36
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
4.1.	ANÁLISE DO TEOR DE PROTEÍNAS DA FARINHA	37
4.2.	EXTRAÇÃO DE ALBUMINAS	37
4.3.	CARACTERIZAÇÃO DAS ALBUMINAS.....	37
<u>4.3.1.</u>	Eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecil-sulfato de sódio (SDS - PAGE) 37	
<u>4.3.2.</u>	Perfil de solubilidade, Potencial Zeta e tamanho de partícula	38
<u>4.3.3.</u>	Propriedades interfaciais.....	41
<u>4.3.3.1.</u>	<i>Purificação do óleo de girassol.....</i>	<i>41</i>
<u>4.3.3.2.</u>	<i>Medidas interfaciais estáticas.....</i>	<i>41</i>
<u>4.3.3.3.</u>	<i>Viscoelasticidade interfacial</i>	<i>46</i>
4.4.	ANÁLISE INSTRUMENTAL DOS SISTEMAS EMULSIONADOS.....	48
<u>4.4.1.</u>	Propriedades reológicas	48
<u>4.4.2.</u>	Potencial Zeta, diâmetro médio das gotículas de óleo e índice de polidispersividade.....	50
<u>4.4.3.</u>	Estabilidade macroscópica	52
<u>4.4.4.</u>	Estabilidade microscópica	54
5.	CONCLUSÃO	56
6.	FINANCIAMENTO	57
7.	REFERÊNCIAS	58

1. INTRODUÇÃO

A busca por fontes alternativas às proteínas animais tem se intensificado nos últimos anos, devido ao aumento populacional, sustentabilidade, saúde e mudanças climáticas. Segundo a Organização das Nações Unidas - ONU (2022), a população mundial atual é de 7,9 bilhões e até o ano de 2050 atingirá cerca de 9,5 bilhões de pessoas. Com isso, a alimentação mundial torna-se um grande desafio porque, além deste crescimento, os sistemas de produção atual de alimentos são os principais contribuintes para a emissão de gases de efeito estufa, desmatamento e consumo de água (SEMBA et al., 2021; VALLATH et al., 2022).

Os seres humanos precisam consumir proteínas de alta qualidade, ou seja, devem ingerir aminoácidos em quantidades significativas, sendo as principais fontes as carnes, os ovos, os produtos lácteos e as leguminosas. O emprego de fontes alternativas e sustentáveis de proteínas vem sendo cada vez mais estudado. As leguminosas fazem parte da alimentação de diversos povos e são consideradas um alimento básico mundial. Fornecem proteínas de elevada digestibilidade, carboidratos complexos, fibras dietéticas, minerais e vitaminas. Além disso, são livres de glúten, possuem propriedades antioxidantes e anticarcinogênicas e, também desempenham propriedades funcionais/tecnológicas de grande aplicabilidade na indústria de alimentos, o que as classificam como uma fonte sustentável de proteínas (BESSADA et al., 2019; ONWEZEN et al., 2021; SEMBA et al., 2021).

O tremoço é uma leguminosa que apresenta um elevado teor de proteínas, minerais, fibras dietéticas, não conter glúten, possui baixos níveis de fatores antinutricionais e não manifesta modificações genéticas, tal como a soja (ARNOLDI et al., 2015). Além disso, o consumo de tremoço está relacionado à inúmeros benefícios à saúde, incluindo redução de colesterol, glicose sanguínea e índice glicêmico (VAN DE NOORT, 2017). Apesar de suas qualidades e embora seus grãos serem utilizadas como alimento desde os tempos antigos, não se tornou uma grande cultura mundial (ARNOLDI et al., 2015; MANE et al., 2018).

O tremoço *Lupinus albus* ou tremoço branco é a espécie que possui o nível mais alto de proteínas (33 – 47%), atingindo valores equivalentes aos da soja, além de ser empregada na alimentação humana (DURANTI et al., 2008; BESSADA et al., 2019; SHRESTHA et al., 2021). As proteínas de reserva predominantes são as

globulinas (65 – 67 %) e as albuminas (35 – 37%) (SEMBA et al., 2021). O isolado proteico de tremoço branco demonstrou em alguns estudos ter boas propriedades tecnológicas (JAYASENA et al., 2010; BADER et al., 2011a; BADER et al., 2011b; SCHLEGEL et al., 2019; VOLGELSANG-O'DWYER et al., 2020). Wong et al. (2013) demonstraram que as proteínas do tremoço possuem elevada capacidade espumante, sendo comparável à clara de ovo (capacidade de formação de espuma de $394,4 \pm 20,7\%$ para o tremoço e $410 \pm 10\%$ para a clara de ovo). As frações de proteínas de tremoço podem ser aplicadas em uma gama de produtos alimentícios, como maioneses, molhos para saladas, marshmallows, biscoitos, massas, produtos cárneos e lácteos, uma vez que, além de possuírem boas propriedades tecnológicas, possuem um sabor pouco pronunciado (DURANTI et al., 2008).

Nas últimas décadas, muitos estudos relacionados à extração e aplicação de proteínas vegetais na indústria de alimentos vêm sendo desenvolvidos (MUNIALO et al., 2022; MATHEWS et al., 2023; TARAHI et al., 2024; ZHANG et al., 2024). Entretanto, estudos a respeito das propriedades interfaciais e emulsificante das proteínas do tremoço, especificamente as albuminas, são ainda mais escassos. Nesse sentido, o presente estudo tem como objetivo investigar as propriedades emulsificantes por métodos estático e dinâmico, além de desenvolver e avaliar a estabilidade cinética de emulsões O/A, contendo albumina de tremoço branco, com vistas à sua aplicação em sistemas alimentícios.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. TENDÊNCIAS FUTURAS NA ALIMENTAÇÃO

2.1.1. Saúde e sustentabilidade

Nos últimos anos, o principal desafio que a humanidade tem enfrentado é o dever de alimentar a população que cresce consideravelmente, associada a utilização de recursos que se encontram cada vez mais escassos. O consumo de proteína animal não é sustentável, uma vez que a produção de carne impacta diretamente no meio ambiente, já que é um dos principais setores responsáveis pela emissão de gases de efeito estufa, desmatamento e uso de água (SEMBA et al., 2021; VALLATH et al., 2022).

Nos últimos anos, a nutrição humana está cada vez mais desempenhando um papel maior que o de suprir as demandas alimentares, exercendo também a função de servir como um método para prevenir ou reduzir o desenvolvimento de diversas enfermidades, principalmente as decorrentes da ingestão de nutrientes insuficientes, excessivos ou desequilibrados. De acordo com Torres-Tiji et al. (2020), de cada nove pessoas no mundo, uma está desnutrida, sobretudo com relação a proteína e teor energético (PIMENTEL et al., 2021).

Com esta nova visão em relação à nutrição humana, está ocorrendo um crescimento nas pesquisas e no desenvolvimento de novos produtos, permitindo a inovação na área de alimentos e a criação de novos nichos de mercado. Estudos recentes demonstraram um aumento na preferência em consumir proteínas vegetais ao invés das proteínas animais, devido aos benefícios à saúde, a ampliação do número de pessoas com alguma restrição alimentar, seja por preferência ou por necessidade e da conscientização a respeito da agricultura sustentável. Contudo, é importante frisar que para a promoção de todos os aminoácidos essenciais, deve-se consumir as proteínas vegetais de maneira combinada, a fim de suprir alguma carência que apresentarem (PARODI et al., 2018; Onwezen et al. (2021), PIMENTEL et al., 2021).

2.1.2. Modificações alimentares

O interesse das pessoas em evitar o consumo de proteína animal com o objetivo de garantir uma alimentação mais saudável vem crescendo em ritmo acelerado nos últimos anos. Essa mudança nos hábitos alimentares muitas vezes é

impulsionada por questões como: alergias ou intolerâncias, dietas, estilos de vida, sustentabilidade ou por preocupações políticas e sociais (PLOLL et al., 2020; PIMENTEL et al., 2021).

No Brasil, um estudo realizado pelo Ibope (2018) apontou que 30 milhões de brasileiros (14%) são adeptos a alimentação vegetariana e que deste valor, 7 milhões são veganos (3,2%). Além disso, segundo Tangyu et al. (2019), o mercado de alternativas ao leite corresponderá até o ano de 2023, a 26 bilhões de dólares (PIMENTEL et al., 2021).

Estima-se que 75% da população mundial apresenta intolerância à lactose, uma doença ocasionada pela incapacidade do organismo em hidrolisar esse açúcar presente no leite devido à deficiência da enzima, que acomete as pessoas de maneira distinta, conforme a idade e a etnia (SILVA et al., 2020). Outra doença que está aumentando consideravelmente nos últimos anos é a alergia alimentar às proteínas do leite, que diferentemente da anterior, envolve mecanismos imunológicos contra as proteínas, como caseínas, alfa-lactoalbuminas e beta-lactoglobulinas, na qual o alérgico deve se isentar de toda e qualquer proteína do leite (OLIVEIRA et al., 2018; ZYCHAR et al., 2017).

Estudos vem demonstrando que o consumo de alimentos de origem animal está sendo associado a manifestação de diversas doenças cardiovasculares e ao aumento do colesterol, enquanto que os produtos de origem vegetal contêm fibras alimentares, antioxidantes, vitaminas e minerais, enquadrando este tipo de produto na classe de alimentos funcionais e nutracêuticos (WILLETT et al., 2019; AYDAR et al., 2020; SEMBA et al., 2021).

2.2. TREMOÇO

2.2.1. Aspectos gerais

O tremoço (*Lupinus spp.*) pertence à família das leguminosas, sendo cultivado desde os tempos antigos. O gênero *Lupinus* apresenta cerca de 400 espécies catalogadas, provenientes das regiões mediterrânea e andina, sendo as principais variedades cultivadas a *Lupinus albus*, *Lupinus angustifolius*, *Lupinus luteus* e *Lupinus mutabilis*. Apesar dessa grande variedade, a *Lupinus albus*, também conhecida como tremoço branco, é a linhagem utilizada para a alimentação humana, já que foi desenvolvida com o propósito de apresentar um baixo teor de alcaloides

(substância tóxica que pode trazer riscos à saúde) (CREMONEZ et al., 2013; TRUGO et al., 2016; MANE et al., 2018).

As suas flores se apresentam em diversas cores (branco, amarelo, roxo e azul), exalam um aroma parecido com o de mel e são estruturadas em forma de cacho (inflorescência), conforme apresentado na Figura 1. Os frutos são do tipo vagem, planas e com um aspecto piloso na parte externa, variando de 4 a 10 cm de comprimento. Suas sementes podem variar em tamanho, forma e cor, sendo que as do *Lupinus albus* são brancas e achatadas em seu interior, de acordo com o apresentado na Figura 2 (TRUGO et al., 2016).

É uma planta que se adapta a solos arenosos, ácidos e pobres, as altas altitudes e a climas temperados. O tremoço é amplamente empregado para a alimentação animal e na rotação de cultura para melhorar o solo, uma vez que é capaz de fixar nitrogênio, devido a interação simbiótica com a rizobia. Suas raízes reduzem a erosão, permitindo uma maior infiltração de água. No Brasil, sua utilização é voltada para adubação verde e seu cultivo é mais empregado na região sul do país (OLIVEIRA, 2013; PELGROM et al., 2014; TRUGO et al., 2016).



Figura 1 - Inflorescência do tremoço branco (*Lupinus albus*), tremoço amarelo (*Lupinus luteus*) e tremoço azul (*Lupinus angustifolius*). Fonte: AGRÁRIA (2022).



Figura 2 - Vagem e semente do tremçoço branco (*Lupinus albus*). Fonte: WUTKE et al. (2014).

A produção de tremçoço é principalmente empregada na Austrália (*Lupinus angustifolius*), Rússia (*Lupinus luteus*) e Polônia (*Lupinus luteus*), mas, também pode ser encontrado no Chile, Estados Unidos e no Mediterrâneo. Ao comparar a produção global com a soja, que é a leguminosa com maior cultivo mundial, apresenta um baixo valor (cerca de 1,01 milhões de toneladas), entretanto, apresenta um menor custo de produção (FAO, 2019; LO et al., 2021; SHRESTHA et al., 2021).

Cada vez mais tem despertado o interesse global em incorporar progressivamente o tremçoço na alimentação das pessoas, já que apresenta um alto valor nutricional, não há o cultivo de linhagens com modificação genética, contribui com a sustentabilidade e o custo de produção é baixo. Além disso, diversos estudos têm identificado seu potencial bioativo para melhorar a função intestinal e reduzir o colesterol, a glicemia e o índice glicêmico (VAN DE NOORT, 2017; SANDOVAL-MUÑÍZ et al., 2018; GUZMÁN et al., 2021; HEINZL et al., 2022).

2.2.2. Composição nutricional

O baixo custo e o alto valor nutricional da leguminosa são os fatores que fortalecem a sua permanência na alimentação das populações de baixa renda em países subdesenvolvidos, como os presentes na África Subsaariana, sendo em muitos deles a única fonte diária de proteína (THARANATHAN & MAHADEVAMMA, 2003).

A composição centesimal das principais espécies de tremçoço (azul e branco) em comparação com a soja encontra-se descrita na Tabela 1. Por meio desses dados pode-se perceber que, dentre as espécies, o branco é a que possui um perfil mais elevado de proteínas, sendo o mais próximo à soja.

Componentes (% extrato seco)	Tremoço azul (<i>Lupinus angustifolius</i>)	Tremoço branco (<i>Lupinus albus</i>)	Soja (<i>Glycine max</i>)
Proteína	34,0	38,0	39,0
Amido	0,0	0,0	0,0
Gordura	5,9	9,5	20,0
Cinzas	3,8	3,9	5,9
Fibra bruta	16,0	13,0	5,9

Tabela 1 – Composição centesimal das principais espécies de tremoço (azul e branco) em comparação a soja. Fonte: OLIVEIRA (2013). Adaptada (2022).

O perfil aminoacídico das proteínas do tremoço (*Lupinus spp.*) (Tabela 2) ao se comparar com a soja (*Glycine max*), no geral, exibem concentrações de aminoácidos essenciais (lisina, leucina, isoleucina, asparagina/ácido aspártico, glutamina/ácido glutâmico, metionina, cisteína, triptofano, valina e tirosina) bem próximos. Essa composição reforça o potencial que o tremoço apresenta como sendo uma boa alternativa nutritiva à soja. Entretanto, ambos apresentam quantidades limitantes dos aminoácidos sulfurados (metionina e cisteína) e de triptofano (SEMBA et al., 2021; VALLATH et al., 2022).

Aminoácidos	Tremoço (<i>Lupinus spp.</i>)	Soja (<i>Glycine max</i>)
Triptofano*	0,60	1,68
Treonina	2,90	3,88
Isoleucina*	4,62	4,59
Leucina*	5,83	8,14
Lisina*	4,70	7,18
Metionina*	0,67	1,55
Cisteína*	1,72	1,44
Fenilalanina	3,47	5,01
Tirosina*	3,11	3,32
Valina*	3,76	5,53
Arginina	8,51	7,33
Histidina	2,60	2,55
Alanina	3,51	4,33
Ácido Aspártico*	8,20	11,4
Ácido Glutâmico*	19,19	16,78
Glicina	3,83	3,89
Prolina	4,55	3,24
Serina	4,31	4,62

Tabela 2 – Perfil de aminoácidos (g/100 g de proteína) do tremoço (*Lupinus spp.*) em comparação com a soja (*Glycine max*). Fonte: Tremoço (PALANDER et al., 2006; PRUSINSKI, 2017); soja (LONGVAH et al., 2017). *Aminoácidos essenciais.

2.2.3. Proteínas

A classificação das proteínas é realizada através de sua solubilidade (frações Osborne) na qual se dividem em albuminas (solúveis em água e em soluções salinas de baixa molaridade), globulinas (insolúveis em água e solúveis em solução salina), prolaminas (solúveis em etanol) e glutelinas (solúveis em soluções ácidas e alcalinas diluídas) e, por sua função biológica (metabólicas - executam atividades enzimática ou estrutural nos cotilédones ou de reserva - fornecem nitrogênio e esqueleto carbônico durante o desenvolvimento da planta) (DAY, 2013).

As albuminas são proteínas globulares onde a maioria se enquadra como enzimas metabólicas, responsáveis pelo armazenamento do tecido cotiledonar. Já as globulinas são as proteínas de armazenamento solúveis em soluções salinas, onde podem ser divididas em quatro frações principais, denominadas α -, β -, γ - e δ -conglutinas, de acordo com sua mobilidade eletroforética (DURANTI et al., 2008; VOGELSANG-O'DWYER et al., 2020).

2.2.4. Propriedades técnico-funcionais das proteínas

As propriedades técnico-funcionais das proteínas são divididas em três aspectos moleculares: propriedade de hidratação (capacidade de retenção de água e solubilidade); propriedade gelificante e propriedades interfaciais (emulsão e formação de espumas) (DAMODARAN et al., 2010).

2.2.4.1. Propriedade de hidratação

As características relacionadas com a textura e a reologia do alimento são provenientes da interação entre a água e outros constituintes do produto, principalmente as proteínas. A capacidade de retenção de água (CRA) reflete a habilidade das proteínas em interagir físico-quimicamente com a água, sendo capaz de retê-las em face da ação de forças mecânicas. Sua capacidade depende da composição dos aminoácidos, pH, força iônica, temperatura, tipo/concentração de sal e conformação proteica (DAMODARAN et al., 2010).

Alguns estudos investigaram a capacidade de retenção de água (CRA) de proteínas isoladas de tremoço (EL-ADAWY et al., 2001; RODRÍGUEZ-AMBRIZ et al., 2005; BERGHOUT et al., 2014) e, em um trabalho realizado por Alu'datt et al. (2017), comparando-o com o grão de bico e a fava, revelou que o tremoço apresentou um CRA mais baixo (33%), enquanto que o grão de bico atingiu um valor de 42% e a fava

44%, evidenciando que a composição química de cada leguminosa influencia na interação com a água. D'Agostina et al. (2006), verificaram que as proteínas separadas por ultrafiltração apresentaram valores mais altos de CRA (1 - 1,8 mL/g) do que as obtidas por precipitação ácida (0 - 0,8 mL/g) (LO et al., 2021).

A solubilidade é a mais importante dentre as propriedades funcionais, uma vez que a eficiência das propriedades interfacial e reológica dependem do quanto a proteína é capaz de se solubilizar em água. Um exemplo dessa relação está no fato de que extratos proteicos que apresentam uma maior solubilidade, atuam como bons agentes espumantes e emulsificantes (FANTINI et al., 2009). Ela está ligada à manifestação termodinâmica do equilíbrio entre as interações proteína-proteína (hidrofóbica – provoca diminuição na solubilidade) e proteína-água (iônica – leva a um aumento ou diminuição na solubilidade), sendo influenciada pelo pH, força iônica, temperatura e a presença de solventes (DAMODARAN et al., 2010; LO et al., 2021; VOLGELSANG-O'DWYER et al., 2020).

Resultados de solubilidade em função do pH de extratos proteicos de tremoço azul (*Lupinus angustifolius*) e tremoço branco (*Lupinus albus*) exibiram comportamento característico em “U”, apresentando uma solubilidade mínima de 8 - 10%, na faixa de pH 4,5 – 5 (FIGURA 3), correspondendo ao valor do potencial Zeta de 0 mV nesta faixa de pH para ambas as espécies de tremoço (VOLGELSANG-O'DWYER et al., 2020).

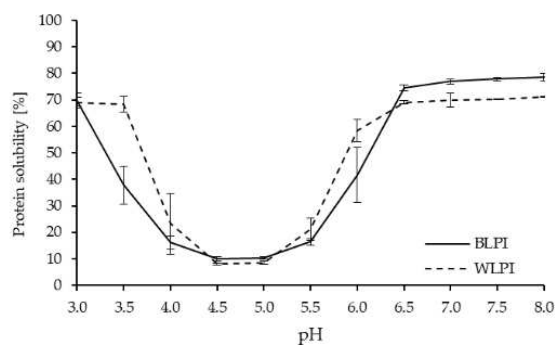


Figura 3 – Solubilidade da proteína em função do pH para tremoço azul (*Lupinus angustifolius*) - BLPI e tremoço branco (*Lupinus albus*) - WLPI. Fonte: VOLGELSANG-O'DWYER et al. (2020).

Bader et al. (2011a) avaliaram a solubilidade da proteína do tremoço através da precipitação isoelétrica, na qual foram encontrados valores de 90,5 - 97,6% em pH 7. Em um outro artigo de Bader et al. (2011b), em que utilizou-se a extração da

proteína através da precipitação ácida seguida por filtração por membrana em fluxo cruzado, demonstraram que inicialmente a solubilidade foi de 67% e com o uso da filtração (150 MPa) a solubilidade aumentou para 78%, demonstrando que o método de extração também influencia na solubilidade da proteína. Berghout et al. (2014) investigaram a solubilidade do tremoço empregando-se diferentes temperaturas e mantendo o mesmo valor de pH e, como resultados o extrato proteico a 4 °C obteve uma solubilidade de 90%, enquanto que a 90 °C foi de 76%, o que pode ter sido ocasionado pela desnaturação térmica das proteínas.

2.2.4.2. *Propriedades gelificantes*

A gelificação é um processo reológico de grande importância para a indústria de alimentos, uma vez que, dependendo do produto, necessitam da aplicação de ingredientes gelificantes (proteínas) para se atingir a textura e consistência almejadas. O gel é um conjunto de polímeros que interagem entre si, a fim de se formar uma rede capaz de aprisionar água (DAMODARAN et al., 2010; LO et al., 2021).

Berghout et al. (2015) ao investigarem as características do gel de proteínas de tremoço e de soja, verificaram que o módulo de armazenamento (G') com alta concentração de proteína de tremoço (30%, p/v) foi semelhante ao da soja com menor concentração (24%, p/v), indicando que o tremoço produz géis mais fracos e menos elásticos. Bader et al. (2011) investigaram o impacto da homogeneização de alta pressão nas propriedades gelificantes de isolados proteicos de variedades de tremoço e revelaram que para a espécie *Lupinus angustifolius* a 15% (p/p) não houve formação de gel, enquanto que para a espécie *Lupinus albus* ocorreu o oposto, indicando que diferentes variedades podem apresentar propriedades de gelificação distintas. Além disso, constataram que associar a alta pressão com variação na temperatura, poderia aprimorar as propriedades de gelificação, uma vez que de 0-150 mPa à 35 °C, o gel aumentou sua força de 0,15 para 0,55 N/cm⁻² e à 60 °C, a força passou de 0,13 para 0,6 N/cm⁻².

2.2.4.3. *Propriedades interfaciais*

As proteínas são moléculas anfifílicas, ou seja, sua cadeia polipeptídica apresenta regiões hidrofóbicas e hidrofílicas. Essa característica permite que elas interajam simultaneamente com diferentes tipos de moléculas em dispersões, fazendo com que haja um contato entre as fases e a adsorção interfacial, o que as classifica como substâncias tensoativas ou surfactantes. Entretanto, existem diferenças no

desempenho de sua habilidade interfacial dependendo de suas características e conformação. Esta propriedade das proteínas permite que sejam aplicadas na indústria de alimentos, na produção de espumas e emulsões, uma vez que ambos são sistemas coloidais termodinamicamente instáveis (DAMODARAN et al., 2010).

A formação de espumas é uma importante propriedade interfacial na qual implica na capacidade em se formar bolhas de ar, que influenciam na textura final do produto. Elas são dispersões de um fluido hidrofóbico em um líquido hidrofílico, podendo ser líquidas (presentes nas bebidas) ou sólidas (como no caso dos pães e dos bolos), sendo necessária a aplicação de energia para dispersar o ar no fluido e assim, formar as bolhas (LO et al., 2021).

Alu'datt et al. (2017) avaliaram a estabilidade espumante de algumas leguminosas e o tremoço apresentou valores semelhantes ao grão de bico (50% de estabilidade para ambas as leguminosas). Volgelsang-o'dwyer et al. (2020) compararam a formação de espumas de extratos proteicos de tremoço azul (*Lupinus angustifolius*) e tremoço branco (*Lupinus albus*) e, ambos exibiram padrões bem semelhantes (capacidade de formação de espumas >70%) com 3 e 3,3% de proteína, aumentando a capacidade à medida que a concentração também aumentava. Com relação a estabilidade das espumas, o comportamento de ambos ao longo do experimento permaneceu semelhante, sendo que após 1 hora apresentavam valores próximos a 90% em concentrações acima de 1%. Esses resultados indicam que o tremoço apresenta uma boa capacidade de formação de espumas, podendo ser aplicado para produção de diferentes produtos pela indústria de alimentos.

As emulsões são dispersões compostas por dois líquidos imiscíveis, na qual um deles está disperso no outro, na forma de gotículas esféricas (0,1 a 100 μm). Sua classificação é realizada de acordo com a distribuição das fases, ou seja, quando gotas de óleo estão dispersas em uma fase aquosa é denominado emulsão O/A e o contrário é designado como emulsão A/O (MCCLEMENTS, 2005). Para que uma emulsão possa ser formada é necessário a utilização de emulsificantes, como por exemplo proteínas, a fim de manter as fases dispersas (DAMODARAN et al., 2010).

Bader et al. (2011b) avaliaram as propriedades de emulsificação de extratos proteicos das variedades de tremoço (*L. angustifolius* e *L. albus*) e o impacto da homogeneização em alta pressão na capacidade emulsificante e, verificaram que os

extratos de *L. angustifolius*, a 35 °C, apresentaram valores mais altos (780 mL de óleo/g de proteína isolada) em comparação ao *L. albus* (530 mL de óleo/g de proteína isolada) e que, após a homogeneização a 150 MPa as proteínas de *L. albus* aumentaram significativamente a propensão à emulsificação (770 mL de óleo/g de proteína isolada), obtendo um valor semelhante ao encontrado para *L. angustifolius*. Ao aumentar a temperatura para 60 °C, empregando-se as mesmas condições, foi observado que não houve mudanças significativas nas propriedades emulsificantes de *L. angustifolius*. No entanto, para *L. albus*, a capacidade emulsificante aumentou com a pressão de 150 MPa (830 mL de óleo/g de proteína isolada), evidenciando que o aumento da temperatura também implica em um efeito sobre a capacidade de emulsificação nas proteínas dessa espécie.

Jayasena et al. (2010) avaliaram a atividade emulsificante e a estabilidade da emulsão de isolados proteicos de tremoço extraídos em diferentes pH em comparação com a soja e, verificaram que o tremoço apresentou alta atividade emulsificante (com uma estabilidade de emulsão >50% em todas as condições analisadas), obtendo um perfil análogo ao da soja. Além disso, compararam os resultados com outras leguminosas, em que o perfil de atividade emulsificante do tremoço foi mais alto que os de isolados proteicos de feijão preto (42%), feijão bóer (45%) e feijão caupi (50%). Esses resultados indicam que o tremoço possui potencial para servir como um bom agente emulsificante de base vegetal em diversos produtos alimentícios, superando a soja principalmente em pH ácido.

Kebede & Teferra (2023) investigaram os efeitos da imersão de variedades de tremoço (*L. albus* e *L. angustifolius*) em água e soluções de carbonato de sódio a 2%, aliado ao emprego do tratamento térmico (torrefação), sob a capacidade de formação de espuma e emulsificação. As duas variedades apresentaram boa capacidade de emulsificação, sem exibir diferenças significativas (49,09% para *L. albus* e 49,75% para *L. angustifolius*). Com relação a capacidade de formação de espuma, *L. angustifolius* apresentou maior valor (49,28%) em comparação com *L. albus* (31,86%).

A utilização de proteínas na produção de emulsões e espumas é muito relevante, uma vez que essas moléculas anfifílicas desempenham um papel crucial de manter as fases dispersas. Entretanto, é importante destacar que há variações significativas no desempenho de suas habilidades interfaciais devido às divergências na conformação das proteínas, a flexibilidade da cadeia polipeptídica, a capacidade

de adaptação às alterações do ambiente (como pH, temperatura, força iônica, etc.) e a distribuição dos grupos hidrofílicos e hidrofóbicos na superfície proteica. Esses fatores, interdependentes entre si, influenciam diretamente na propriedade ativa de interface das proteínas. Portanto, uma análise aprofundada desses elementos é necessária para determinar se uma determinada proteína possui propriedades interfaciais adequadas para sua aplicação em sistemas alimentícios.

2.3. EMULSÕES ALIMENTARES

As emulsões são definidas como sistemas multifásicos, na qual são constituídas por pelo menos duas fases imiscíveis denominadas dispersa (compõe as gotículas) e contínua (formada pelo líquido circundante). Existem dois tipos principais de emulsões simples: óleo em água (O/A) e água em óleo (A/O). Devido ao pequeno tamanho das gotículas dispersas (~100 nm a 100 µm – escala coloidal), as emulsões são materiais dominados pela interface, com área interfacial entre óleo e água normalmente na faixa de m²/g de material disperso. Esta condição, acarreta em uma série de consequências, como por exemplo, grande área de contato entre as fases resulta em um alto valor de energia livre nos sistemas e, conseqüentemente, provoca maior instabilidade física. Controlar os processos físico-químicos, as interações intermoleculares e a estrutura de cada componente da emulsão são fundamentais e altamente desafiadoras (MCCLEMENTS, 2016; ZHOU et al., 2021).

As emulsões são sistemas termodinamicamente instáveis que tendem, com o passar do tempo, a retornar a sua condição inicial. Isto acontece devido à incompatibilidade molecular de cada fase, fazendo com que as dispersões tendem a separar as fases para minimizar a área de contato entre elas, o que resulta em uma mudança na energia livre do sistema. Durante este processo, uma série de mecanismos de instabilidade podem atuar, dentre eles tem-se a floculação, a separação gravitacional, a coalescência e o amadurecimento de Ostwald. Para retardar esse processo e manter a estrutura da emulsão a longo prazo, alguns mecanismos como espessantes, inibidores de maturação e o uso de emulsificantes são utilizados (MCCLEMENTS, 2016; ZHOU et al., 2021).

Dentre os estabilizantes de emulsões, os emulsificantes (moléculas anfifílicas que apresentam em sua estrutura porções hidrofílicas e hidrofóbicas) são frequentemente utilizados pela indústria de alimentos, uma vez que possuem a capacidade de adsorver rapidamente na interface óleo-água, podem ser de origem

natural ou sintética, como por exemplo, as proteínas, os fosfolípidos, os polissacarídeos e os polissorbatos (DICKINSON, 2003; ZHOU et al., 2021).

As proteínas são extensivamente aplicadas na estabilização de espumas e emulsões, devido a sua natureza anfifílica e capacidade em formar camadas coesas, que são relativamente fortes após o processo de adsorção, em função das interações proteína-proteína que permitem estruturar filmes mais estáveis e gotículas menos propensas a ruptura. A Figura 4 ilustra o processo de difusão e adsorção de um emulsificante na camada interfacial em uma emulsão do tipo O/A. As emulsões são constantemente submetidas a grandes tensões durante o processamento e manuseio, sendo necessário estudar o comportamento da deformação das interfaces estabilizadas por proteínas, além do regime viscoelástico linear, provocando deformações oscilatórias que permitem mensurar e prever o comportamento da emulsão (NYLANDER et al., 2019; CAI et al., 2023).

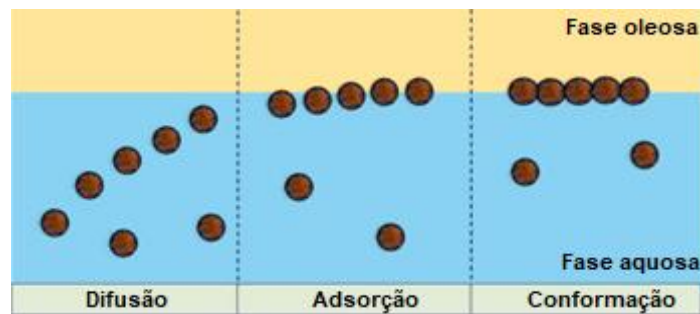


Figura 4 – Ilustração esquemática das etapas para formação da camada de partículas adsorvidas na interface O/A (adaptada). Fonte: NIMAMING et al. (2023).

Os mecanismos envolvidos na formação, estabilização e desestabilização das emulsões é bastante complexo e desafiador de ser estudado e, por conta disso, a abordagem que vem sendo empregada é esclarecer o funcionamento de suas propriedades físicas e químicas através de modelos mais simples, avaliando o comportamento de adsorção de uma emulsão única empregando-se proteínas na interface líquido/líquido e avaliando sua atividade cinética, quantidade adsorvida, conformação e reologia da interface. As proteínas vegetais são estudadas em escala multicomprimento, ou seja, avaliando-se as propriedades moleculares das proteínas (tamanho, carga, solubilidade), relacionando com uma escala de comprimento intermediário (comportamento na interface O/A) e finalmente interligando com as propriedades macroscópicas (distribuição do tamanho das gotas de óleo). Compreender todas estas características das proteínas é crucial para desenvolver

emulsões mais estáveis e de melhor qualidade (NYLANDER et al., 2019; CAI et al., 2023).

2.3.1. Processos de desestabilização de emulsões alimentares

A estabilidade cinética de uma emulsão está relacionada com a capacidade da mesma em resistir às mudanças em suas propriedades ao longo do tempo, ou seja, quanto maior a estabilidade, mais tempo demora para alterar suas características. A emulsão pode tornar-se instável em decorrência de fatores físicos ou químicos, na qual a primeira está relacionada com alterações na organização espacial e estrutural das moléculas (coalescência, floculação, separação gravitacional e amadurecimento de Ostwald) e o segundo com alterações no tipo de moléculas presentes (oxidação e hidrólise), sendo que na prática, dois ou mais destes mecanismos podem ocorrer ao mesmo tempo (MCCLEMENTS, 2016).

2.3.1.1. Separação gravitacional

A separação gravitacional é o fator de desestabilização mais comum em emulsões alimentares. Neste processo, devido a diferença de densidades decorrente das fases contínua e dispersa, a força gravitacional age e ocorre a separação ao longo do tempo. Se as gotículas apresentam uma densidade menor que o líquido circundante, tendem a migrar para cima, processo denominado *cremeação*, caso contrário, irão se mover para baixo, o que é referido como *sedimentação*. Em emulsões do tipo O/A, há a tendência de ocorrer o processo de *cremeação* enquanto que em emulsões água/óleo a *sedimentação*. A Figura 5 ilustra, de maneira esquemática, o processo de formação de *cremeação* (MCCLEMENTS, 2016).

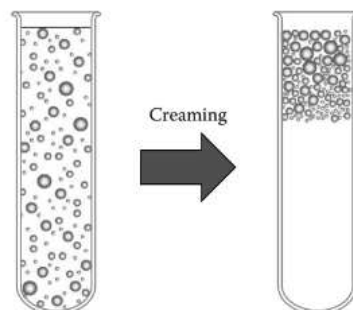


Figura 5 - Ilustração esquemática do processo de *cremeação* de uma emulsão O/A (adaptada). Fonte: MCCLEMENTS (2016).

2.3.1.2. Floculação

A floculação é o processo mais sutil em comparação aos outros e o mais complicado de controlar, na qual duas ou mais gotículas se associam, porém, mantendo suas integridades individuais. A floculação pode ocorrer quando as forças atrativas (forças de van der Waals) entre as gotículas superarem as forças repulsivas (repulsão eletrostática e estérica), através de pontes com baixa concentração de biopolímero ou por efeitos de depleção (excesso nas concentrações de emulsionante ou agente espessante). A floculação acelera a taxa de separação gravitacional, causa um aumento na viscosidade da emulsão e leva a um aumento no tamanho efetivo das partículas. A Figura 6 ilustra de forma esquemática o processo de floculação (DICKINSON, 2010; MCCLEMENTS, 2016).

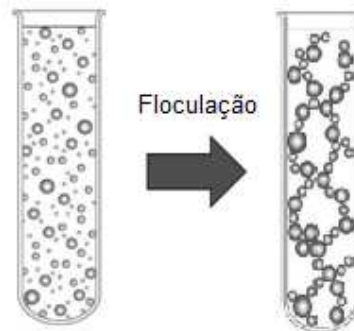


Figura 6 – Ilustração esquemática do processo de floculação de uma emulsão O/A (adaptada). Fonte: MCCLEMENTS (2016).

2.3.1.3. Coalescência

A coalescência é o processo pelo qual uma ou mais gotas se fundem e formam uma única gota maior. Para que aconteça, é necessário que as gotículas estejam próximas umas das outras e o fino filme que as separa seja rompido. A taxa de ocorrência deste processo, depende da natureza do emulsificante utilizado e está relacionado com a susceptibilidade das gotículas em se aproximarem por conta de mecanismos físicos (movimento browniano, gravidade, cisalhamento simples e turbulência), da natureza das interações entre gotículas (forças coloidais hidrodinâmicas) e da resistência ao filme que as separa. A Figura 7 ilustra de forma esquemática o processo de coalescência (MCCLEMENTS, 2016).

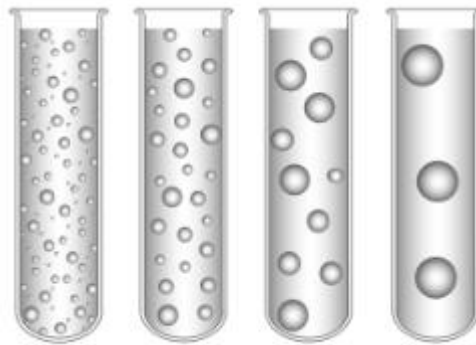


Figura 7 – Ilustração esquemática do processo de coalescência de uma emulsão O/A (adaptada). Fonte: MCCLEMENTS (2016).

2.3.1.4. Amadurecimento de Ostwald

No processo de amadurecimento de Ostwald as gotículas maiores crescem em decorrência da diminuição de tamanho das menores, devido a transferência de massa da fase dispersa de uma gota para outra através da fase contínua. Em emulsões alimentares este processo dificilmente ocorre, por conta da baixa solubilidade entre os triacilgliceróis de óleos de cadeia longa e a água, sendo normalmente ocasionado em emulsões petrolíferas ou com óleos essenciais, devido ao tamanho da cadeia do óleo ou ainda, quando a fase aquosa é um álcool. A Figura 8 ilustra de forma esquemática a forma que as gotículas se comportam durante o amadurecimento de Ostwald (MCCLEMENTS, 2016).

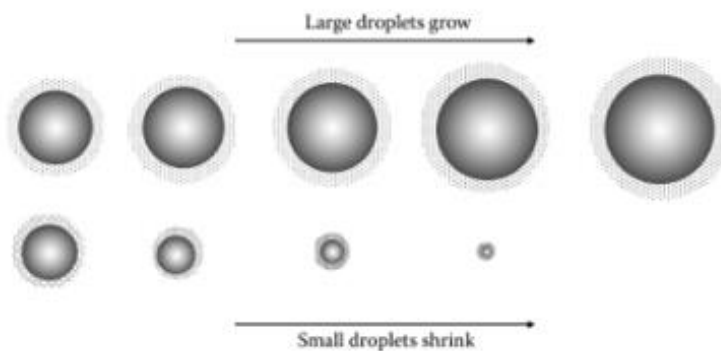


Figura 8 – Ilustração esquemática do comportamento das gotículas durante o processo de amadurecimento de Ostwald. Fonte: MCCLEMENTS (2016).

A procura por novas fontes de emulsificantes está vinculada à promoção da inovação e ao emprego de alternativas sustentáveis na produção de emulsões alimentares cineticamente estáveis. Este processo viabiliza a diversificação de matérias-primas, atendendo a restrições alimentares, alinhando-se às preferências do consumidor e promovendo a elaboração de produtos com propriedades funcionais

aprimoradas. O uso das proteínas vegetais oferece uma abordagem inovadora, proporcionando não apenas propriedades emulsificantes eficazes, mas também atendendo à crescente demanda por opções mais sustentáveis na indústria alimentícia. A compreensão da capacidade das proteínas vegetais em formar e estabilizar emulsões é fundamental para desenvolver emulsões cineticamente estáveis, otimizando a formulação de produtos alimentares, garantindo consistência desejada e qualidade sensorial.

3. METODOLOGIA

3.1. PREPARO DOS MATERIAIS DO ESTUDO

As sementes de tremoço branco (*Lupinus albus*) foram obtidas no mercado local, proveniente do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. As sementes foram selecionadas, higienizadas e deixadas de molho em água por 12 horas a 15 °C. As cascas foram removidas manualmente e os grãos dispostos em bandejas, para serem secos em estufa a 40 °C por 8 horas. Posteriormente foram acondicionados em sacos de polietileno e armazenados em temperatura ambiente até serem utilizados nos testes.

O óleo de girassol refinado foi adquirido em comércio local. Todos os reagentes utilizados nas análises foram de grau analítico. Água deionizada foi empregada em todos os experimentos.

3.2. PREPARO E EXTRAÇÃO DAS ALBUMINAS

3.2.1. Obtenção e preparo da farinha

Os grãos de tremoço foram moídos em moinho de facas (Brabender Duisburg, Alemanha) seguido pela tamização da farinha obtida (tamis de 20 mesh). Posteriormente, a farinha foi desengordurada em aparelho Soxhlet, com éter de petróleo a 37 °C por 6 horas e o solvente, removido por evaporação em estufa a 40 °C por 12 horas.

Fez-se a determinação do nitrogênio total pelo método de Kjeldhal, sendo usado ácido sulfúrico para digestão da amostra e como catalisador, uma mistura de sulfato de potássio e sulfato de cobre, na proporção de 4:1. O teor de proteínas foi obtido multiplicando a porcentagem de nitrogênio total pelo fator de conversão de 6,25, conforme descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

3.2.2. Extração das albuminas

Para a extração das albuminas do tremoço, foi empregado a metodologia de extração salina-alkalina, segundo Silva et al. (2021). Um kg da farinha desengordurada foi suspensa em 10 L de tampão fosfato de sódio (pH 8,5 – 1:10 m/v – 0,1 mol/L), na presença de NaCl 0,5 mol/L, sob agitação por 2 horas em temperatura ambiente. A suspensão foi filtrada em uma membrana de nylon de 0,80 µm e o filtrado foi dialisado com água, para remoção de sal, durante aproximadamente 6 dias a 4 °C

ou até que a condutividade da água fosse inferior a $5 \mu\text{S}/\text{cm}^2$. Após isso, a solução foi centrifugada por 10 minutos ($10.000 \times g$ a $4 \text{ }^\circ\text{C}$) para separação das globulinas. O sobrenadante composto por albuminas foi separado, liofilizado ($-40 \text{ }^\circ\text{C}$ a $0,12 \text{ mBar}$) e armazenado sob refrigeração para uso posterior.

O teor de proteína do isolado foi estimado utilizando-se o método de Biureto (GORNALL et al., 1949), enquanto que o rendimento de extração (ϵ) foi determinado utilizando-se a Eq. 1:

$$\epsilon (\%) = \frac{C_a}{C_t} \quad (1)$$

em que C_a é a concentração de proteína na fração do sobrenadante e C_t a concentração de proteínas na farinha.

3.3. CARACTERIZAÇÃO DAS ALBUMINAS

3.3.1. Eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecil-sulfato de sódio (SDS – PAGE)

A análise de caracterização de proteínas por eletroforese SDS-PAGE foi realizada segundo o método descrito por NIKOLIĆ et al. (2012), com adaptações. Utilizou 12% (p/v) para o gel de separação e 5% (m/v) para o gel de empilhamento. Amostras de proteína total de tremoço, globulina e albumina isoladas (1 mg/mL e 3 mg/mL) foram separadas empregando uma unidade de eletroforese Mini-PROTEAN tetra vertical (BIO RAD, Califórnia, Estados Unidos). A eletroforese foi realizada com uma corrente constante de 120 mA durante 4 horas. Os géis foram então corados por 2 horas aplicando Coomassie Brilliant Blue (CBB) R-250 a 0,25 g em etanol a 9% (v/v) e descorados com ácido acético a 10% (v/v) e etanol a 20% (v/v) até obter um fundo claro. Uma escada de proteína TrueColor High Range Protein (Sinapse inc, 10 – 245 KDa) foi usada como padrão de peso molecular.

3.3.2. Potencial Zeta, tamanho de partícula e solubilidade

As medidas de potencial Zeta e tamanho de partícula foram obtidas em função do pH, sendo as medições realizadas utilizando-se o analisador de partículas Zetasizer Nano Series (instrumentos Malvern, Worcestershire, Reino Unido), por meio das técnicas de microeletroforese Doppler a laser e de espalhamento de luz dinâmico (DLS), respectivamente. A albumina foi dispersa em água ultrapura (1 mg/mL) e o pH

da solução foi ajustado na faixa de 2,0 – 10,0, utilizando HCl ou NaOH (0,1 mol/L). As amostras foram diluídas em água deionizada (1:10⁻²) e as medidas foram feitas utilizando-se células DTS 1070C (Malvern Instruments Ltd., UK) sob 25 °C. Expressou-se o resultado como média de triplicatas. Para o cálculo do potencial Zeta, utilizou-se a equação de Henry (Eq. 2):

$$U_E = \frac{2 \varepsilon \zeta f(\kappa\alpha)}{3 \eta} \quad (2)$$

onde, ε é a permissividade, $f(\kappa\alpha)$ é uma função relacionada à razão entre o raio da partícula (α) e o comprimento de Debye (κ) e η é a viscosidade de dispersão. Para este estudo, a aproximação de Smoluchowski $f(\kappa\alpha)$ foi igual a 1,5.

A solubilidade das albuminas foi determinada na faixa de pH de 2-9. A albumina foi dispersa em água ultrapura (1 mg/mL) e o pH ajustado utilizando HCl ou NaOH (0,1 mol/L). As amostras foram agitadas por 1 hora e depois centrifugadas por 15 min a 10.000 x g. A determinação da concentração de proteína solúvel no sobrenadante foi realizada utilizando o método de Biureto (GORNALL et al., 1949), sendo a solubilidade expressa em percentagem de proteína total.

3.3.3. Determinação de propriedades interfaciais

Para as análises de determinação das propriedades interfaciais o óleo de girassol empregado foi previamente purificado.

3.3.3.1. Purificação do óleo de girassol

O óleo de girassol utilizado para a fase oleosa foi previamente purificado, de acordo com a metodologia descrita por Fernandes et al. (2021) com modificações. O objetivo da purificação era retirar os ácidos graxos livres, uma vez que tais compostos interferem na medição das propriedades interfaciais e dilatacionais.

Uma massa de 300 g de óleo foi misturada com 30 g de carvão ativado granulado e a mistura foi mantida a 30 °C sob agitação constante de 120 rpm, por 12 horas, utilizando-se um shaker com aquecimento aclopado. O carvão ativado foi então separado do óleo purificado por filtração a vácuo em membrana de PVDF (0,45 µm).

Para verificar a pureza do óleo, fez-se análise de ácidos graxos livres de acordo com os métodos oficiais de análise de óleos e gorduras da *American Oil Chemists'*

Society (AOCS, 2001) Ca 5a-40. Além da avaliação da tensão interfacial entre a água deionizada e o óleo de girassol, na qual deveria permanecer acima de 25 mN/m por 1 hora (após atingir o equilíbrio dinâmico), pois segundo Fingas (2017), valores de tensão interfacial entre 32 e 25 mN/m são típicos de sistemas puros de óleo e água.

3.3.3.2. *Propriedades interfaciais dinâmicas*

Avaliou-se as propriedades interfaciais dinâmicas entre a solução aquosa de albuminas nas concentrações de 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,6; 0,8 e 1 %, p/v e óleo de girassol purificado, sendo determinados por tensiometria de análise de perfil de gota (PAT-1 M, tensiômetro SINTERFACE vers. 8.01, Alemanha), a 25 °C e pH 6,8, conforme descrito por Simiqueli et al. (2019), com modificações. Uma gota de solução aquosa (40 mm²) foi automaticamente formada na ponta do capilar inserido no óleo purificado. A imagem da gota foi capturada e digitalizada por uma câmera CCD e a tensão interfacial determinada ajustando-se a equação de Laplace, por meio de um software específico do equipamento. Um modelo de equação exponencial (Eq. 3) foi ajustado aos dados de tensão obtidos ao longo do tempo para determinar a tensão de equilíbrio dinâmico.

$$y_t = y_{eq} + A \cdot \text{Exp}(-B \sqrt{t}) \quad (3)$$

Em que A e B são parâmetros do modelo, y_t é a tensão interfacial (mN/m) ao longo do tempo de análise (t) e y_{eq} é a tensão interfacial no equilíbrio.

O valor da pressão interfacial (π) ao longo do tempo foi calculado como a diferença entre a tensão interfacial da água pura na ausência de macromoléculas, γ_0 (igual a $29,5 \pm 0,8$ para interfaces O/A) e o valor medido para as soluções testadas, γ (FINGAS, 2017).

Todos os experimentos foram determinados com duas repetições e os resultados apresentados como média e desvio padrão.

3.3.3.3. *Propriedades interfaciais dilatacionais*

Após a condição de equilíbrio dinâmico ser estabelecida, foi aplicado variações harmônicas no volume da gota em 3%, a fim de se manter dentro da região de viscoelasticidade linear, na forma de oscilações senoidais. As variações no valor da tensão foram registradas em função da frequência da oscilação (0,01 a 0,2 Hz) à 25 °C. A gota foi submetida à compressão e expansão infinitesimal de forma senoidal,

para se obter os módulos de dilatação superficial, E' (módulo de armazenamento) e E'' (módulo de perda), além dos módulos complexo (E^*) e ângulo de fase (ϕ), por meio de cálculos utilizando transformada de Fourier, conforme as equações 4 e 5, respectivamente:

$$E^* = E' + iE'' \quad (4)$$

$$\phi = \arctan\left(\frac{E''}{E'}\right) \quad (5)$$

onde E' é o módulo de armazenamento ou elasticidade dilatacional, E'' o módulo de perda e iE'' é o módulo imaginário ou módulo de viscosidade dilatacional interfacial relacionado à energia dissipada no processo de relaxação (CAO et al., 2017). Segundo Simiqueli et al. (2019), quando o ângulo de fase for menor que 45° , a interface possui um caráter predominantemente elástico e caso seja maior que 45° será viscosa.

3.4. ANÁLISE INSTRUMENTAL DOS SISTEMAS EMULSIONADOS

Todos os ensaios foram realizados com duas repetições, imediatamente após o preparo das emulsões e a cada 7 dias, até tempo total de 21 dias.

3.4.1. Preparo das emulsões

Para o preparo das emulsões óleo em água (O/A) a albumina foi dispersa em água ultrapura, sob agitação durante 1 hora em temperatura ambiente, na concentração de 0,8% (m/v), uma vez que por meio de análises anteriores, este valor corresponde a condição de saturação. Realizou-se o ajuste do pH para 7, utilizando HCl ou NaOH (0,1 mol/L). Em seguida, foram preparadas emulsões em cinco frações de óleo de girassol purificado (5, 10, 20, 50 e 70%, v/v), conforme indicado na Tabela 3. Para evitar o crescimento microbiano, azida de sódio 5 mM foi adicionada a todas as amostras.

Pré-emulsões foram preparadas utilizando-se um homogeneizador de alta velocidade (IKA T18 digital ULTRA TURRAX, Staufen, Alemanha) a 15.000 rpm por 3 min em temperatura ambiente. Posteriormente, as pré-emulsões foram submetidas a 6 ciclos de homogeneização em um homogeneizador de alta pressão (Emulsiflex-C5, 39 Avestin, Ottawa, Canadá) operando a 15.000 psi. O pH da emulsão foi medido e ajustado para pH 7 utilizando HCl ou NaOH (0,1 mol/L), quando necessário.

Emulsão	Albuminas (%, m/v)	Óleo de girassol purificado (%, v/v)	Água destilada (%, v/v)
A	0,8	5,0	95,0
B	0,8	10,0	90,0
C	0,8	20,0	80,0
D	0,8	50,0	50,0
E	0,8	70,0	30,0

Tabela 3 - Formulação das emulsões (O/A) estabilizadas com albuminas de tremoço, com diferentes concentrações de óleo de girassol purificado e fase aquosa.

3.4.2. Propriedades reológicas

As propriedades reológicas foram determinadas em um reômetro oscilatório (HAAKE MARS, Thermo Electron Corp., Alemanha), equipado com um banho termostático (Phoenix 2C30P, Thermo Electron Corp., Alemanha), a 25 °C. Foi utilizado um sensor de cilindros coaxiais (Z20) com taxa de deformação de 0,1 a 180 s⁻¹.

A caracterização da viscoelasticidade foi determinada por meio de teste oscilatório dinâmico. As medições foram realizadas com o sensor de geometria cone - placa (ângulo do cone = 1°, diâmetro = 60 mm, folga = 0,051 mm) (C60/1). Primeiramente, a região de viscoelasticidade linear foi determinada submetendo a amostra ao teste de cisalhamento (0,001 a 10 Pa, 0,8 Hz). Em seguida, as amostras foram submetidas ao teste de varredura de frequência (0,1 a 10,0 Hz, com valor de tensão dentro da faixa da região de viscosidade linear (0,01 Pa), para obtenção dos parâmetros módulos elástico (G') e viscoso (G''). Além disso, foi calculado o valor da tangente a fim de se comparar (G') e (G'').

3.4.3. Potencial Zeta, diâmetro médio das partículas e índice de polidispersidade

O potencial Zeta foi obtido com base na medição da mobilidade eletroforética das gotículas de óleo, que se movem sob a ação de um campo elétrico. O diâmetro médio e o índice de polidispersidade foram determinados pela técnica de espalhamento dinâmico de luz. Todas as medições utilizaram o equipamento Zetasizer Nano-ZS (Malvern Instruments Inc., Southborough, MA). As amostras foram diluídas em água deionizada (1:10⁻³) e medidas a 25 °C em pH 7, sendo realizadas 2 leituras sequenciais.

3.4.4. Microestrutura

A microestrutura das emulsões foi analisada em microscópio de luz (OLYMPUS CX-40), com aumento de 100 x. Alíquotas da emulsão sem preparo prévio foram colocadas em lâminas e cuidadosamente cobertas com lamínulas de vidro.

3.4.5. Estabilidade macroscópica

A extensão da separação de fases das emulsões foi quantificada por meio do índice de formação de creme (IC). Assim 4 mL de cada emulsão foram depositados em tubos de vidro tampados, para evitar a evaporação da umidade. As amostras foram monitoradas durante 21 dias, sendo o primeiro dia analisado imediatamente após o processo de emulsificação. Os valores de IC (%) foram calculados segundo a equação 6:

$$IC (\%) = \frac{H_s}{H_e} \times 100 \quad (6)$$

em que H_s é a altura da camada de soro e H_e a altura total da emulsão.

3.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram apresentados como média e desvio padrão. Empregou-se ANOVA (análise de variância de uma via) e teste de Duncan para detectar diferenças significativas ($p \leq 0,05$) quando aplicável. Os testes foram executados no SPSS 29.0.1.0 (SPSS Inc., EUA).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. ANÁLISE DO TEOR DE PROTEÍNAS DA FARINHA

O teor de proteína bruta da farinha foi de $42,54\% \pm 0,12$. Este valor está próximo ao encontrado por Neves et al. (2001), que obtiveram 45,94% de proteínas. Contudo, Sujak et al. (2006) e Martínez-Villaluenga et al. (2006) encontraram valores mais baixos, cerca de 36 e 34%, respectivamente. A variação no teor proteico ocorre em razão das condições ambientais de cultivo e de variações genéticas das sementes, sendo capaz de atingir valores de 33 a 47% (SHRESTHA et al., 2021; LEMUS-CONEJO et al., 2023).

4.2. EXTRAÇÃO DE ALBUMINAS

O teor de proteína do isolado, estimado pelo método de Biureto (GORNALL et al., 1949), foi de 94,09%. O rendimento de extração das proteínas foi de 65,62%, valor mais elevado ao encontrado por Molina (2010), na qual obteve 53%, utilizando-se a mesma relação de massa de farinha:solvente (1:10) na extração.

4.3. CARACTERIZAÇÃO DAS ALBUMINAS

4.3.1. Eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecil-sulfato de sódio (SDS - PAGE)

A análise de eletroforese SDS-PAGE foi realizada para investigar os pesos moleculares dos componentes das albuminas do tremço branco, comparando-o com as proteínas totais e as globulinas. Pela Figura 9 é possível observar que todas as frações apresentaram bandas com peso molecular na faixa de 60 a 45 KDa, que segundo a literatura correspondem as frações de α e β conglutinas (PIORNOS et al., 2015). Além disso, apresentaram bandas entre 35 e 25 KDa, correspondentes a conglutina γ (32 kDa) e uma suposta albumina (28 kDa) (PIORNOS et al., 2015). Além disso, bandas com peso molecular de 20 KDa, correspondentes a δ conglutina, forma observadas somente nas proteínas totais e na albumina (MUÑOZ-LLANDES et al., 2022).

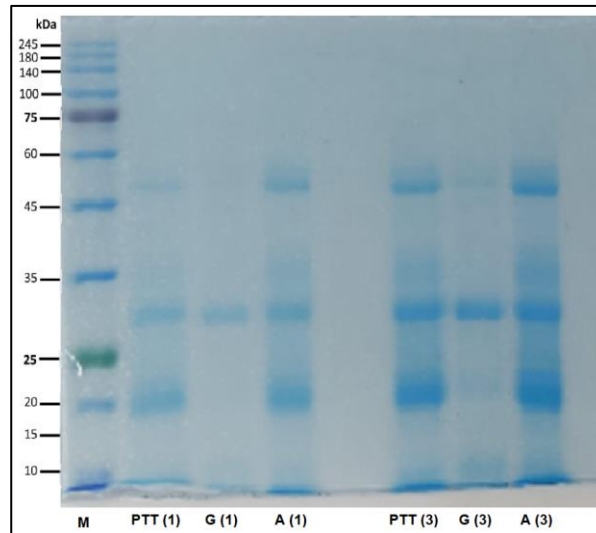


Figura 9 – SDS-PAGE (12%) para proteína total, globulinas e albuminas de tremçoço branco coradas com CBB R-250. Pista 1: Marcador de massa molecular (M); pista 2: proteína total 1 mg/mL (PTT (1)); pista 3: globulinas 1 mg/mL (G (1)); pista 4: albuminas 1 mg/mL (A (1)); pista 5: proteína total 3 mg/mL (PTT (3)); pista 6: globulinas 3 mg/mL (G (3)); pista 7: albuminas 3 mg/mL (A (3)).

4.3.2. Perfil de solubilidade, Potencial Zeta e tamanho de partícula

Estudar o perfil de solubilidade proteica é muito importante uma vez que influencia diretamente em suas propriedades funcionais, como por exemplo, na formação de emulsões, espumas e gelatinização, visto que para as proteínas exibirem uma boa funcionalidade, é necessário que estas sejam solúveis. O fator que mais afeta a solubilidade das proteínas são as alterações no pH (GROSSMANN et al., 2023).

A maioria das proteínas provenientes de leguminosas apresenta um perfil de solubilidade em formato de “U”, ou seja, valores mais baixos na faixa de pH 4 a 6 (região onde encontra-se o ponto isoelétrico) e solubilidade mais alta em pH mais ácido e alcalino. Este fenômeno está relacionado principalmente as mudanças nas cargas elétricas residuais das proteínas influenciadas pelo pH e pelo alto teor de ácido aspártico e glutâmico presentes nas proteínas de leguminosas, que possuem valores de pKa em torno de 3,7 e 4,1, respectivamente (YÁÑEZ-RUIZ et al., 2009; GROSSMANN et al., 2023).

A Figura 10 mostra os resultados da influência do pH na solubilidade das albuminas de tremçoço. A solubilidade da proteína foi menor em valores de pH entre pH 4,3 e pH 5,5 (~7%), o que pode ser atribuído ao seu ponto isoelétrico (pI). No

entanto, com o subsequente aumento ou diminuição do pH ($\text{pH} < 4,3$ ou $\text{pH} > 5,5$), os valores de solubilidade proteica aumentaram progressivamente. O maior valor da solubilidade proteica para as albuminas foi observado em pH 2 (96%).

A solubilidade das proteínas está relacionada com a capacidade de suas unidades fundamentais, os aminoácidos, em se comportarem como ácidos ou bases, dependendo do meio no qual se encontram, conferindo a proteína característica anfótera. Em outras palavras, a carga líquida da molécula é afetada pelo pH. Logo, em um meio ácido, a proteína carrega cargas positivas no grupo amino ($-\text{NH}_3^+$) e, em meio alcalino, carrega cargas negativas no grupo carboxílico ($-\text{COO}^-$). No ponto isoelétrico, a carga líquida da proteína é zero e as forças repulsivas entre as proteínas do meio diminuem, promovendo assim agregação e até mesmo precipitação.

O padrão de solubilidade das albuminas do tremçoço, em função do pH, foi semelhante ao observado por SILVA et al., 2023 e em isolados proteicos de outras variedades de tremçoço, como do *Lupinus luteus* (PIORNOS et al., 2015) e do *Lupinus angustifolius* (EL-ADAWY et al., 2001; CHEW et al., 2003). Além disso, este perfil também foi semelhante à de outras leguminosas, como ervilha (CUI et al., 2021; CHANG et al., 2022) e soja (MALHOTRA et al., 2004; MA et al., 2022).

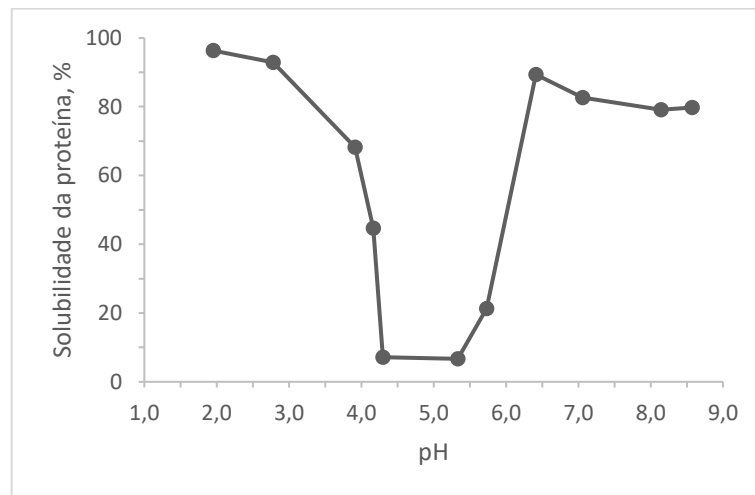


Figura 10 - Influência do pH (faixa de 2 – 9) na solubilidade da albumina de tremçoço branco (*Lupinus albus*).

A Figura 11 mostra a influência do pH no potencial ζ da proteína. Pode-se observar que em pH 4,3 o valor do potencial zeta foi igual a zero, o que é atribuído a condição do ponto isoelétrico (pI) das proteínas (DUKHIN & PARLIA, 2014). Este resultado está de acordo com o perfil de solubilidade obtido neste estudo, onde

menores valores de potencial ζ foram encontrados em valores de pH entre 4,3 e 5,5 uma vez que neste pH o valor da solubilidade da proteína foi o menor encontrado. Além disso, o resultado obtido é coerente com o tamanho de partícula (Tabela 4) em pH 4 (Z-Ave de 442,3 nm), na qual indica o maior diâmetro médio, uma vez que próximo ao pl ocorre maior agregação das proteínas. Por outro lado, em valores de pH menores e maiores que seu pl, os valores de potencial ζ aumentaram até valores próximos de + 30 ou -30 mV, respectivamente. Segundo Bouyer et al. (2012), quando todas as partículas apresentam um grande potencial ζ positivo ou negativo (maior ou menor que + 30 mV e - 30 mV, respectivamente), elas se repelem e a dispersão tende a ser estável. Pelo contrário, quando as partículas apresentam valores de potencial ζ em módulo baixos, não haverá força suficiente para evitar que as partículas se agreguem.

A variação do potencial Zeta (ζ) em função do pH da solução foi semelhante ao observado em isolados proteicos da variedade de tremçoço *Lupinus luteus* (PIORNOS et al., 2015, BURGOS-DÍAZ et al., 2019) e em outras leguminosas, como a soja (MALHOTRA et al., 2004), ervilha (CUI et al., 2021), amendoim (DIEDERICKS et al., 2020) e lentilha (JARPA-PARRA et al., 2014).

pH	Z-Ave (nm)	PDI
2,0	191,1	0,54
3,1	162,5	0,36
4,0	442,3	0,37
6,8	154,4	0,41
7,7	162,6	0,40
8,9	174,7	0,40

Tabela 4 - Tamanho médio de partícula (Z-Ave) e índice de polidispersidade (PDI) da albumina de tremçoço em determinadas faixas de pH.

O índice de polidispersividade (PDI) é uma medida que descreve a distribuição de tamanho de partículas em uma suspensão, emulsão ou solução, para caracterizar a homogeneidade ou heterogeneidade das partículas. É uma medida adimensional e com variação de zero a um (PAULO et al., 2023). As soluções em pH próximo ao ponto isoelétrico da proteína (3,1 e 4,0) apresentaram baixo PDI (<0,39), sugerindo sistemas monodispersos, enquanto que a medida que afastava dessa faixa de pH, o PDI foi aumentando, indicando sistemas polidispersos.

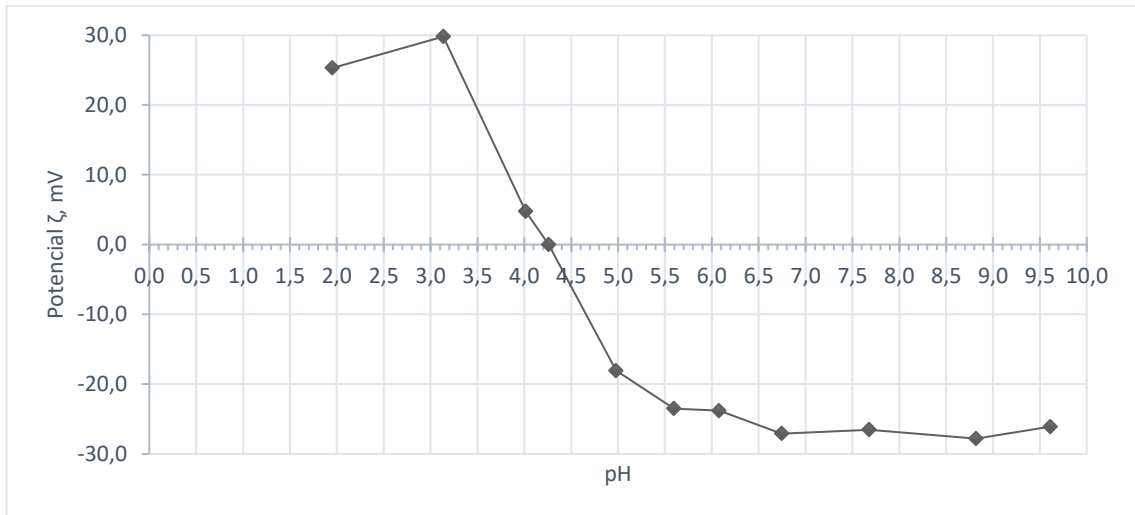


Figura 11 - Influência do pH (na faixa de 2 – 10) sobre o potencial ζ de albumina de tremço branco (*Lupinus albus*).

4.3.3. Propriedades interfaciais

4.3.3.1. Purificação do óleo de girassol

O óleo de girassol após o processo de purificação com carvão ativado, apresentou um teor de ácidos graxos livres de 0,29 KOH/g, valor abaixo do permitido pela legislação, que segundo a Instrução Normativa – IN nº 87, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), de 15 de março de 2021, é de 0,6 mg KOH/g para óleos refinados (BRASIL, 2005). Além disso, mensurou a redução da tensão interfacial entre óleo/água até que se assumisse o equilíbrio dinâmico (~3600 segundos), na qual a tensão interfacial permaneceu entre 33,6 e 27,29 mN/m, indicando que o sistema óleo-água era puro (FINGAS, 2017).

4.3.3.2. Medidas interfaciais estáticas

As medidas de tensão interfacial entre a solução aquosa do isolado proteico de tremço e o óleo de girassol purificado foram realizadas por tensiometria de análise de perfil de gota, até que a condição de equilíbrio dinâmico fosse estabelecida (~10.800 segundos), ou seja, quando a tensão interfacial não alterava mais do que 0,5 mN/m durante 30 minutos (MILETI et al., 2022; MILETI et al., 2023).

De acordo com a Figura 12, que indica a diminuição da tensão interfacial ao longo do tempo, à medida em que adicionou-se mais albuminas, maior foi a redução da tensão interfacial. Entretanto, na concentração de 1% a diminuição da tensão foi

menos acentuada. Este efeito ocorreu em decorrência da saturação da interface ter sido atingida mais lentamente e conseqüentemente, provocou um aumento da interação proteína-proteína e posteriormente, em uma adsorção competitiva na interface (PAN et al., 2021).

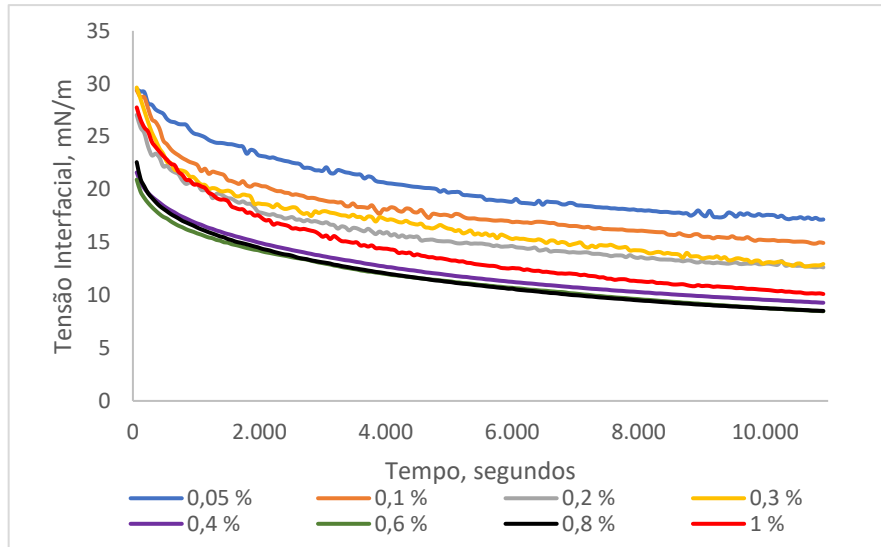


Figura 12 - Redução da tensão interfacial para interfaces óleo-água estabilizadas com albuminas de tremço branco em diferentes concentrações (0,05%; 0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,4%; 0,6%; 0,8% e 1%, p/v) ao longo do tempo de adsorção.

A isoterma de adsorção retratada na Figura 13 indica a tensão de equilíbrio com o aumento da concentração da proteína. Em baixas concentrações, não há moléculas suficientes em toda a área interfacial para formar um filme, contudo, em altas concentrações, o filme é formado e a interface se satura, porém, é importante frisar que o equilíbrio é dinâmico. A partir desse ponto, denominado condição de saturação da interface, a tensão mínima é atingida, independente do aumento da concentração da proteína. Para as albuminas, a condição de saturação é atingida na concentração de 0,8%, p/v, uma vez que nesta condição pode-se observar uma maior diminuição da tensão interfacial.

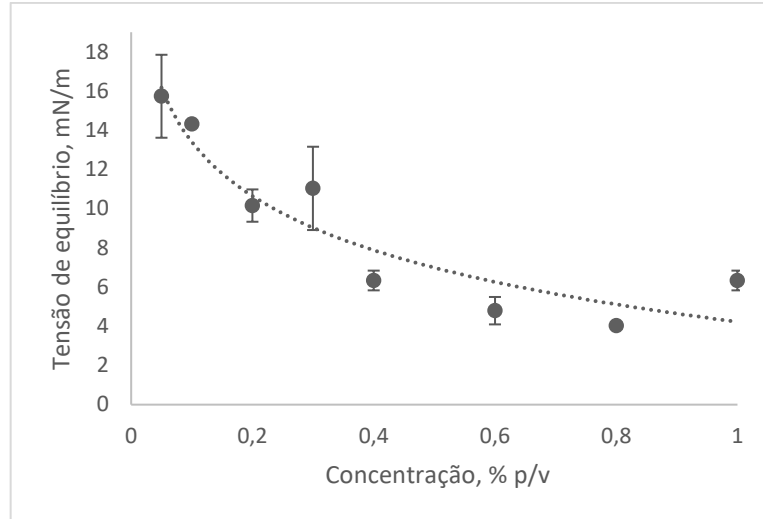


Figura 13 - Isoterma de adsorção de Gibbs para definir a condição de saturação da interface.

As mudanças na tensão interfacial ao longo do tempo podem estar relacionadas aos fenômenos de adsorção das moléculas na interface, como a difusão das proteínas do bulk para a interface, a adsorção molecular e rearranjo (agregação) dentro da camada interfacial. A análise da pressão interfacial (π) em função do tempo fornece informações sobre o papel dessas diferentes etapas durante a adsorção (BALDINO et al., 2018; MILETI et al., 2023).

De acordo com a literatura, durante a primeira etapa de adsorção, em baixa pressão interfacial ($\pi < 10$ mN/m) a taxa de transferência de massa é limitada pela difusão. Nesse ponto, a forma modificada da equação de Ward e Tordai (Eq. 7) pode ser empregada para determinar o coeficiente de difusão (WARD & TORDAI, 1946; CAMINO et al., 2009):

$$\pi = 2C_0K_B T \left(\frac{D_{diff} \cdot t}{3,14} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (7)$$

Onde π é a pressão interfacial em qualquer instante t (mN/m), C_0 é a concentração de proteínas na fase contínua (Kg/m^3), K_B é a constante de Boltzmann ($1,380649 \times 10^{-23} \text{ m}^2 \text{ kg s}^{-2} \text{ K}^{-1}$), T é a temperatura absoluta (Kelvin), D_{diff} é o coeficiente de difusão (m^2/s) e t é o tempo (s). Por meio da inclinação da reta do gráfico da pressão interfacial (π) em função de $t^{1/2}$ se obtêm o coeficiente de transferência de massa ($K_{Diff} = 0,637C_0k_BTD^{0.5}$), que será linear se a difusão na interface controlar o processo de adsorção (SETA et al., 2012).

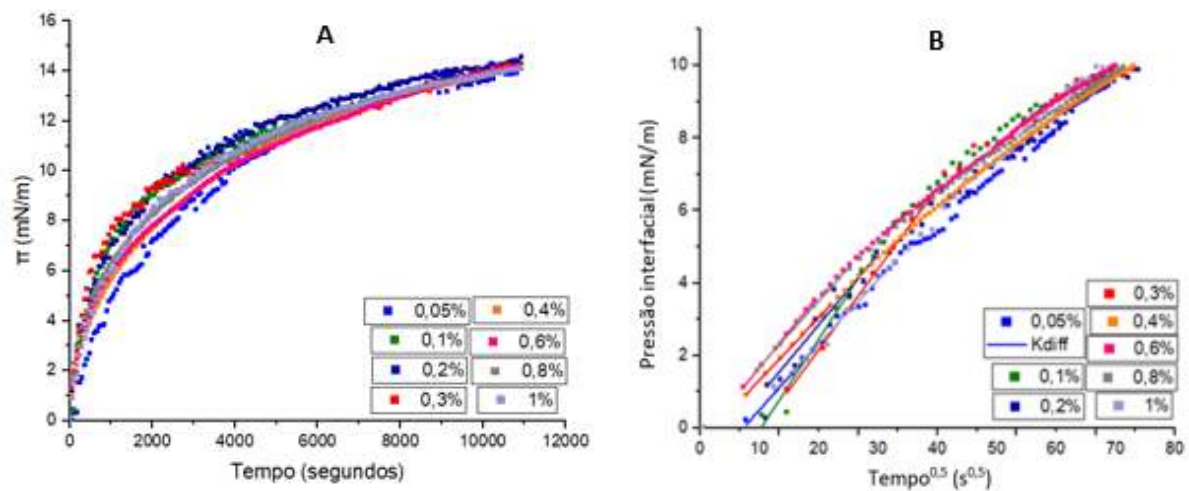


Figura 14 - (A) Pressão interfacial ao longo do tempo em diferentes concentrações e (B) Pressão interfacial ao longo de $t^{0,5}$ para cálculo do coeficiente de transferência de massa (K_{diff}).

De acordo com a Tabela 5, é possível observar que os coeficientes de transferência de massa (K_{diff}) para as concentrações 0,4; 0,6 e 0,8 %, p/v apresentaram os maiores valores, indicando que o processo de difusão das albuminas para a interface foi mais rápido. Este crescimento está associado ao aumento da concentração, mesmo quando o coeficiente de difusão não possa ser calculado, devido a uma difusão muito rápida na interface, que ocorre quando $\Delta\pi$ é maior que 10 mN/m (CAMINO et al., 2009; SETA et al., 2012). Entretanto, a taxa de difusão para 1%, p/v, apesar de apresentar maior concentração de proteínas, não foi a que apresentou o maior valor. Acredita-se que nesta concentração, houve um aumento na interação proteína-proteína e, conseqüentemente, provocou uma aglomeração das proteínas, como resultado, houve uma diminuição na interação com o meio circundante e em um coeficiente de transferência de massa menor (INCROPERA et al., 2008).

C (% p/v)	K_{diff} ($mN \cdot m^{-1} \cdot s^{-0,5}$) ($t = 480$ s)
0,05	$0,19 \pm 0,016^a$
0,1	$0,20 \pm 0,028^a$
0,2	$0,27 \pm 0,025^b$
0,3	$0,24 \pm 0,007^{ab}$
0,4	$0,37 \pm 0,001^c$
0,6	$0,38 \pm 0,003^c$
0,8	$0,42 \pm 0,005^c$
1	$0,28 \pm 0,001^b$

Tabela 5 – Coeficiente de transferência de massa (K_{diff}) para diferentes concentrações analisadas na interface O/A.*Valores médios \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes dentro da mesma coluna indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$) usando o teste de Duncan.

Após a primeira etapa de adsorção, a equação de primeira ordem de Graham e Phillips (Eq. 8) pode ser utilizada para avaliar os processos de adsorção interfacial e de rearranjo molecular (Graham & Phillips, 1979):

$$\ln \left(\frac{\pi_f - \pi_t}{\pi_f - \pi_0} \right) = -K_0 t \quad (8)$$

onde π_f , π_t e π_0 (mN/m) são a pressão interfacial no tempo final, no tempo t e no tempo inicial, respectivamente. K_0 (s^{-1}) e t (s) representam a constante da taxa de primeira ordem e o tempo (ZHOU et al., 2021). O gráfico gerado pela equação 10 apresenta duas inclinações, sendo a primeira inclinação relacionada à constante de adsorção interfacial (K_a) da proteína e a segunda para a constante de rearranjo interfacial (K_r) da proteína (ZHOU et al., 2021).

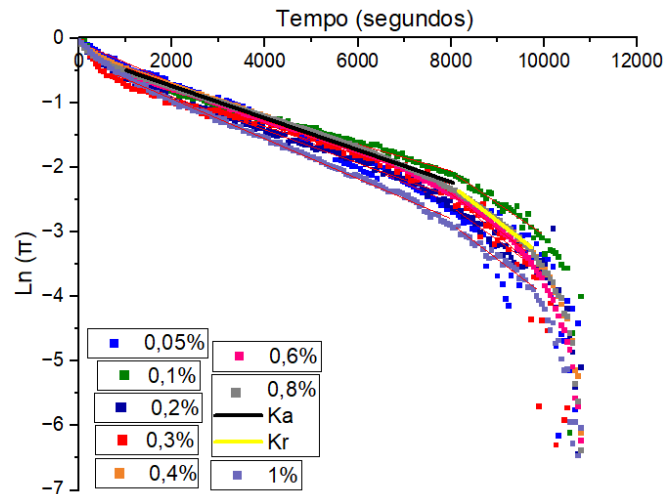


Figura 15 - Gráfico de $\ln(\pi)$ versus tempo (segundos) em diferentes concentrações, para cálculo das taxas de adsorção (K_a) e rearranjo (K_r).

Com relação à taxa de adsorção, não houve diferença com o aumento da concentração ($2,62 \times 10^{-4} \pm 0,3 s^{-1}$), o que indica que a carga superficial e a estrutura terciária das proteínas não foram afetadas (BERGFREUND et al., 2021). Além disso, o valor apresentado foi baixo, o que é característico de interfaces estabilizadas por proteínas, uma vez que as mesmas carregam uma carga superficial elevada e precisam superar uma barreira energética relativamente alta para adsorverem, o que

ocasiona esta diminuição na taxa de adsorção e, conseqüentemente, em uma maior dificuldade de desnaturação das proteínas na superfície e na formação do filme interfacial (DOMBROWSKI et al., 2018).

As proteínas globulares, como por exemplo as albuminas, possuem uma estrutura semelhante a uma esfera, na qual os grupos de aminoácidos hidrofílicos encontram-se em seu exterior e os resíduos hidrofóbicos em seu interior. Após o processo de adsorção, estas proteínas se reorganizam estruturalmente na interface, expondo a parte hidrofóbica para a subfase apolar. Dependendo da sua estrutura (quantidade de ligações dissulfeto e distribuição das cadeias polares e apolares de sua superfície) exibem uma estabilidade termodinâmica e um tempo específico para que tais rearranjos ocorram. Para a amostra analisada, os valores da taxa de rearranjo não tiveram diferenças significativas com o aumento da concentração ($5,77 \times 10^{-4} \pm 0,05 \text{ s}^{-1}$) (BERTON-CARABIN et al., 2018; BERGFREUND et al., 2021).

Um tensoativo de qualidade é caracterizado pela sua capacidade de se difundir rapidamente em direção à interface, demonstrando flexibilidade e habilidade para desenovelar sua estrutura na interface. Essa propriedade é fundamental para uma interação favorável com as moléculas adjacentes, especialmente com outras cadeias polipeptídicas, culminando na formação de um filme interfacial viscoelástico e coeso. No caso da albumina, observou-se uma difusão rápida em direção à interface, acompanhada por baixos valores de adsorção e rearranjo.

4.3.3.3. *Viscoelasticidade interfacial*

A análise dos dados dinâmicos que descrevem a viscoelasticidade do filme são de extrema importância, uma vez que contribuem para entender os fenômenos de desestabilização, como por exemplo a floculação e a coalescência, pois estes processos parecem ser dificultados, ao aumentar a viscoelasticidade superficial (BALDINO et al., 2018). Além dos parâmetros dinâmicos (E' e E''), o valor da elasticidade interfacial pode ser empregado para prever a estabilidade da interface contra o amadurecimento de Ostwald, através do cálculo do Índice de Gibbs (G_i) (Eq. 9), na qual define que as interfaces são mais estáveis quando G_i for maior que 0,5 (BECHER, 1982).

$$G_i = \frac{E'}{E_q} \quad (9)$$

onde E' é o módulo dilatacional elástico e E_q é a tensão interfacial de equilíbrio.

A Figura 16 mostra os módulos elástico e viscoso, ângulo de fase, módulo dilatacional e o índice de Gibbs em função da frequência. O filme interfacial apresentou um comportamento elástico substancialmente superior ao módulo viscoso, resultando em um ângulo de fase menor que 45° , o que é característico na formação de filme por proteínas (SILVA et al., 2023). Além disso, pela Figura 16 D é possível perceber que a amostra obteve valores de Índice de Gibbs maiores que 0,5, indicando que a interface era estável cineticamente. O gráfico do módulo complexo (Figura 16 C) representado na escala log, indica que E^* (módulo dilatacional) possui um comportamento quase linear com a frequência, sugerindo que as camadas interfaciais se comportam como um gel crítico 2D composto por componentes anfifílicos adsorvidos, cuja distribuição de massa obedece a Lei de Potência (Eq. 10) e com isso, devido à presença desses materiais na interface, contribui por dificultar/retardar a coalescência das gotículas, uma vez que há uma proteção estérica mais eficiente, o que pode contribuir com a maior estabilidade cinética do sistema emulsionado (DICHARRY et al., 2006; BALDINO et al., 2018).

$$E^* = Kw^n \quad (10)$$

onde n é uma medida indireta do grau de estruturação do gel e K é o valor de E^* extrapolado a 1 Hz, na qual representa a medida da resistência interfacial (SETA et al., 2012; BALDINO et al., 2018).

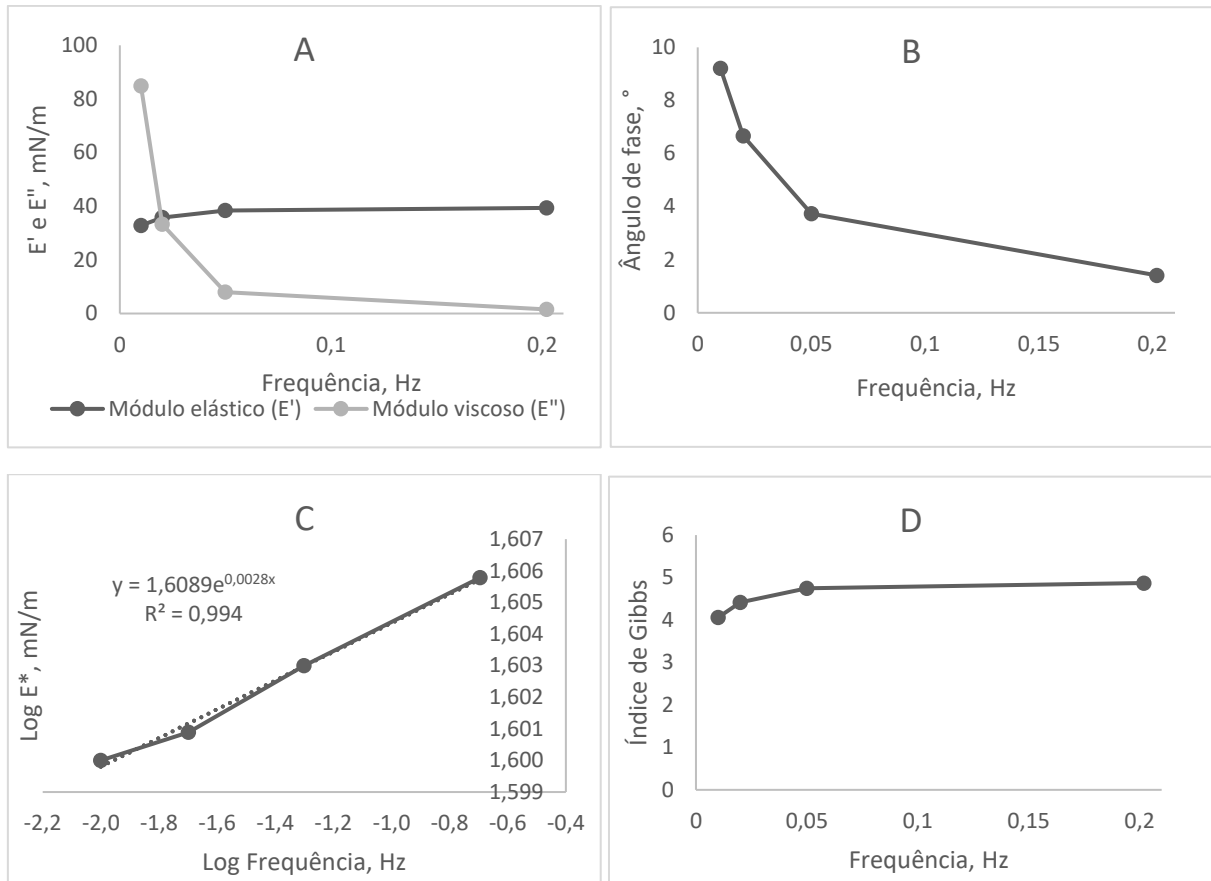


Figura 16 – Módulos elástico e viscoso, ângulo de fase, módulo dilatacional e índice de Gibbs em função da frequência para interfaces óleo/água estabilizadas com albuminas de trevoço.

4.4. ANÁLISE INSTRUMENTAL DOS SISTEMAS EMULSIONADOS

4.4.1. Propriedades reológicas

O modelo Newtoniano (Eq. 11) foi o que melhor se ajustou aos dados experimentais para as emulsões A, B e C. O modelo de Ostwald de Waele (Eq. 12) foi o que melhor se ajustou aos dados experimentais para as emulsões D e E.

$$\tau = \mu \cdot \dot{\gamma} \quad (11)$$

$$\tau = K \cdot (\dot{\gamma})^n \quad (12)$$

onde τ é a tensão de cisalhamento (Pa), K o índice de consistência ($Pa \cdot s^n$), $\dot{\gamma}$ é a taxa de deformação (s^{-1}), n o índice de comportamento ao escoamento (adimensional) e μ a viscosidade ($Pa \cdot s$).

Os resultados da análise do comportamento do fluxo (Tabela 6 e Figura 17) mostraram que as emulsões A, B e C apresentam comportamento Newtoniano. As emulsões D e E apresentaram comportamento pseudoplástico.

Modelo de Newton			
Tratamentos	μ (Pa.s)	r^2	
A	$0,0020 \pm 0,0000$	0,989	
B	$0,0021 \pm 0,0000$	0,990	
C	$0,0022 \pm 0,0002$	0,992	
Modelo de Ostwald de Waele			
Tratamentos	n	K (Pa.s ⁿ)	r^2
D	$0,652 \pm 0,02$	$0,203 \pm 0,04$	0,997
E	$0,675 \pm 0,07$	$0,210 \pm 0,08$	0,999

Tabela 6 - Valores médios para os parâmetros segundo modelo de Newton para as emulsões A, B e C e segundo o modelo de Ostwald de Waele para as emulsões D e E. *Valores médios \pm desvio padrão em duplicata.

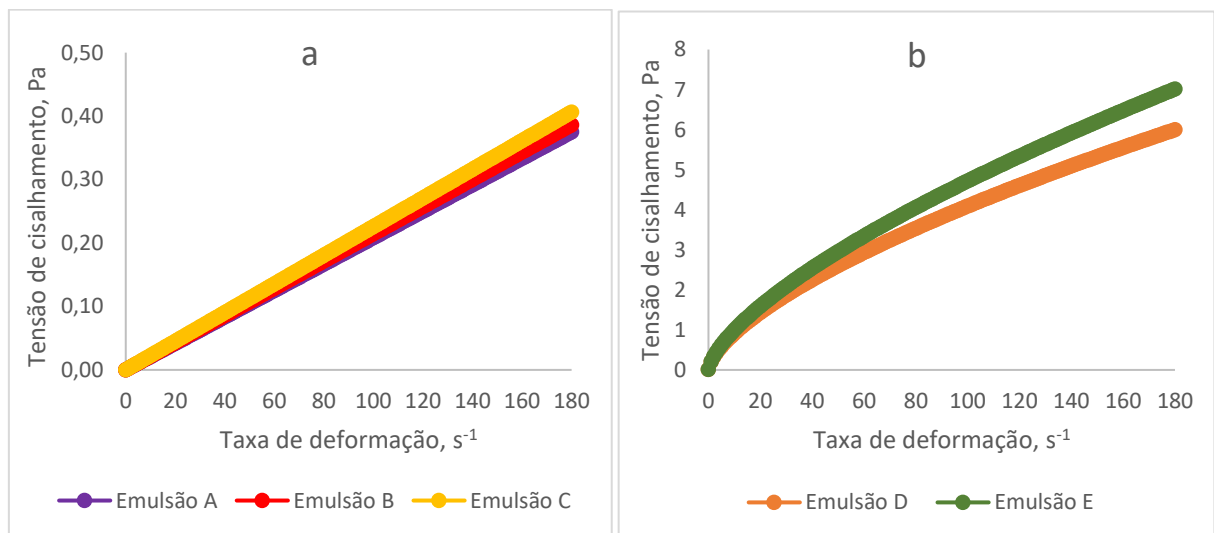


Figura 17 - Reogramas com valores médios de tensão de cisalhamento (Pa) e taxa de deformação (s⁻¹) para as emulsões O/A com diferentes proporções de fase oleosa e aquosa a 25 °C.

As características viscoelásticas das emulsões também foram determinadas. Os sistemas apresentaram comportamento predominantemente elástico, propriedade encontrada em emulsões, uma vez que a relação entre os módulos elástico (G') e viscoso (G'') eram baixas ($\tan \delta < 1$) (Figura 18) (KULKARNI & SHAW; 2016). A predominância do caráter elástico colabora para diminuir o movimento browniano e a

intensidade das colisões das gotas de óleo, o que auxilia na estabilidade cinética do sistema (CAI et al., 2018).

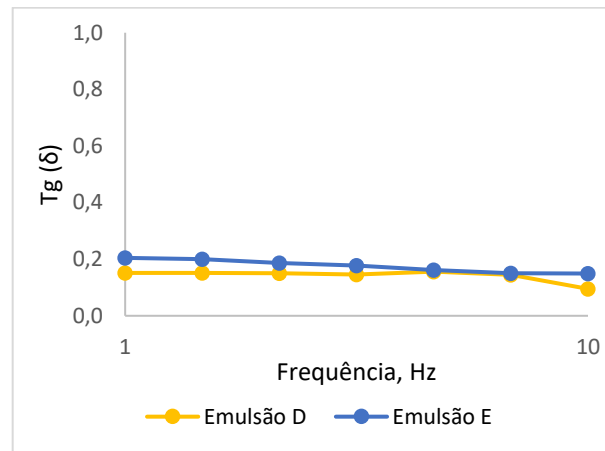


Figura 18 – Ângulo de perda ($\text{tg } \delta$) em função da frequência (Hz) para as emulsões D (50% de óleo e 50% de fase contínua) e E (70% de óleo e 30% de fase contínua).

4.4.2. Potencial Zeta, diâmetro médio das gotículas de óleo e índice de polidispersividade

A Tabela 7 apresenta os valores obtidos de potencial ζ de emulsões (O/A) formadas com solução aquosa contendo albumina de tremçoço e óleo de girassol, após preparação ($t = 0$) e durante todo o armazenamento (21 dias). Todos os tratamentos apresentaram potenciais ζ negativos, em virtude do pH das emulsões ($\text{pH} = 7$). Nas condições em que o potencial zeta foi maior que -30 mV, a repulsão eletrostática entre as gotículas de óleo poderia melhorar a estabilidade cinética (MCCLEMENTS, 2016).

Após 21 dias de armazenamento das emulsões, foi observado uma diminuição no valor absoluto do potencial ζ em todos os tratamentos, ao se comparar com o tempo 0, porém, esta variação foi pequena para influenciar na desestabilização dos sistemas emulsionados, indicando que a repulsão eletrostática entre as partículas dispersas não foi o fator determinante para a desestabilização das emulsões. Porém, outros fatores como tamanho médio, polidispersividade das emulsões, repulsão estérica e outras condições ambientais também podem afetar a estabilidade cinética do sistema (MCCLEMENTS, 2016).

Tratamentos	t = 0 dia	t = 7 dias	t = 14 dias	t = 21 dias
	Potencial ζ (mV)			
A	$-34,6 \pm 0,1^{abA}$	$-30,8 \pm 0,7^{abB}$	$-29,7 \pm 0,9^{aBC}$	$-28,3 \pm 0,1^{bcC}$
B	$-35,1 \pm 0,2^{aA}$	$-30,6 \pm 0,5^{abB}$	$-29,6 \pm 0,5^{aB}$	$-29,1 \pm 0,2^{abB}$
C	$-33,8 \pm 0,5^{abA}$	$-32,7 \pm 0,4^{aAB}$	$-30,3 \pm 1,2^{aBC}$	$-29,5 \pm 0,2^{Ac}$
D	$-32,9 \pm 0,8^{bcA}$	$-31,9 \pm 0,5^{aA}$	$-29,1 \pm 0,8^{aB}$	$-28,1 \pm 0,4^{cdB}$
E	$-31,2 \pm 0,8^{cA}$	$-29,7 \pm 0,7^{bAB}$	$-28,9 \pm 0,2^{aBC}$	$-27,3 \pm 0,3^{dC}$

Tabela 7 - Potencial ζ das emulsões O/A imediatamente após o preparo e durante 21 dias de armazenamento. *Valores médios \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes dentro da mesma coluna (mesmo dia) e letras maiúsculas dentro da mesma linha (mesmo tratamento) indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$) pelo teste de Duncan.

Todos os tratamentos apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$) no diâmetro das gotas de óleo em relação ao tempo 0, tendo um aumento progressivo ao longo do tempo (Tabela 8). Os tratamentos B e C, tiveram os menores valores de diâmetro médio ao longo do tempo, bem como baixo índice de polidispersividade ($PDI < 0,25$), demonstrando uma maior estabilidade e indicando que a adição das proteínas na concentração de 0,8%, p/v, permitiu que as mesmas recobrissem toda a superfície das gotas e, conseqüentemente, estabeleceram uma repulsão estérica entre as gotículas da fase dispersa (MCCLEMENTS, 2016).

Para os tratamentos D e E foram observados maiores diâmetros médios das gotas e maiores valores do índice de polidispersividade comparado aos demais tratamentos, sugerindo menor estabilidade cinética em comparação aos demais tratamentos. Isto indica que, as emulsões são sistemas dinâmicos em que vários fatores podem influenciar em uma maior ou menor estabilidade do sistema. Os fatores que provavelmente contribuíram para este resultado são a baixa concentração de proteínas, com relação a quantidade de óleo adicionado e a grande proximidade entre as gotas. Para a emulsão E, além desses fatores, a maior dificuldade da ruptura do óleo durante o processo de emulsificação também contribuiu para este resultado.

Tratamentos	t = 0 dia	t = 7 dias	t = 14 dias	t = 21 dias
	d (nm)			
A	206,2 ± 0,9 ^{aA}	272,6 ± 0,4 ^{aB}	300,4 ± 0,8 ^{aC}	314,3 ± 0,1 ^{aD}
B	144,6 ± 0,6 ^{bA}	167,5 ± 0,5 ^{bB}	181,5 ± 0,6 ^{bC}	262,7 ± 0,8 ^{bD}
C	102,4 ± 0,7 ^{cA}	105,8 ± 0,4 ^{cB}	146,2 ± 0,4 ^{cC}	212,0 ± 0,8 ^{cD}
D	287,8 ± 0,1 ^{dA}	347,4 ± 0,7 ^{dB}	424,9 ± 0,6 ^{dC}	463,8 ± 0,8 ^{dD}
E	261,5 ± 0,5 ^{eA}	455,0 ± 0,6 ^{eB}	482,6 ± 0,8 ^{eC}	495,0 ± 0,4 ^{eD}

Tratamentos	PDI			
	A	0,2 ± 0,02 ^{bA}	0,2 ± 0,01 ^{abA}	0,2 ± 0,04 ^{abA}
B	0,1 ± 0,01 ^{aA}	0,1 ± 0,02 ^{aA}	0,2 ± 0,02 ^{aA}	0,2 ± 0,03 ^{aA}
C	0,1 ± 0,01 ^{aA}	0,1 ± 0,02 ^{aA}	0,2 ± 0,02 ^{aAB}	0,2 ± 0,00 ^{aB}
D	0,2 ± 0,01 ^{bA}	0,3 ± 0,05 ^{bA}	0,3 ± 0,04 ^{bcA}	0,4 ± 0,03 ^{abA}
E	0,4 ± 0,05 ^{cA}	0,4 ± 0,01 ^{cA}	0,4 ± 0,04 ^{cA}	0,4 ± 0,02 ^{bA}

Tabela 8 - Diâmetro médio das gotas de óleo (d) e índice de polidispersividade (PDI) das emulsões O/A imediatamente após o preparo e durante 21 dias de armazenamento. *Valores médios ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes dentro da mesma coluna (mesmo dia) e letras maiúsculas dentro da mesma linha (mesmo tratamento) indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$) pelo teste de Duncan.

4.4.3. Estabilidade macroscópica

A estabilidade macroscópica das emulsões utilizando albumina de tremçoço foram avaliadas pelo índice de cremeação (IC), na qual é dado pela razão relativa entre a altura do soro e a altura total da emulsão. A formação do creme se deve as diferenças de densidade existentes entre as fases dispersa e contínua, que eventualmente acarreta uma separação de fases, caracterizada por uma parte transparente no fundo do tubo da amostra, definida como clarificação (RODARTE et al., 2018).

A Figura 19 mostra a evolução do índice de cremeação para todas as emulsões analisadas após o armazenamento por 21 dias, enquanto que a Figura 20 indica a observação visual das emulsões no tempo 0 (imediatamente após o preparo), em 14 e 21 dias. Os resultados demonstram que as amostras com teor de óleo mais altas (D – 50%, p/v e E – 70%, p/v) aumentaram o IC muito rapidamente dentro de um curto período de tempo. Este efeito pode ter sido ocasionado pela concentração de albuminas adicionada não ser suficientemente adequada para ocupar toda a interface das gotículas de óleo formadas, devido a elevada porcentagem de óleo, o que

provocou uma grande proximidade entre as gotas, contribuindo para que o fenômeno de coalescência ocorresse (MCCLEMENTS, 2016).

A separação de fases presente na amostra A após 16 dias, foi em decorrência da quantidade de proteína adicionada ser suficiente para recobrir toda a interface e apresentar um excesso no bulk, o que provocou a ocorrência do fenômeno de floculação por depleção, uma vez que a água presente entre as gotículas se deslocou para tentar hidratar o excedente de proteínas, gerando uma aproximação forçada das gotículas que, ao longo do tempo, provocou a cremação (MCCLEMENTS, 2016). A emulsão C apresentou o maior desempenho uma vez que ao final dos 21 dias exibiu o menor índice de cremação.

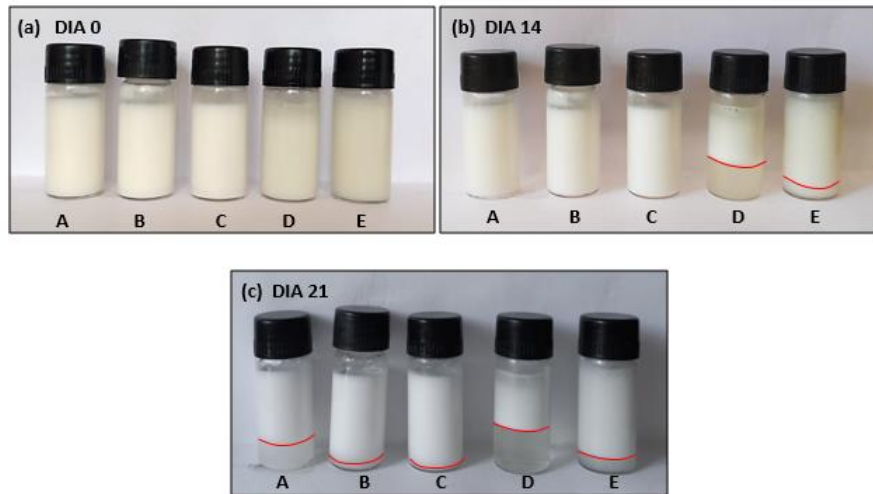


Figura 19 – Observação visual das emulsões (O/A) estabilizadas com albuminas de tremçoço (0,8 %, m/v) e diferentes concentrações de óleo (A – 5%, p/v; B – 10%, p/v; C – 20%, p/v; D – 50%, p/v e E – 70%, p/v) imediatamente após o preparo (a), em 14 dias (b) e em 21 dias.

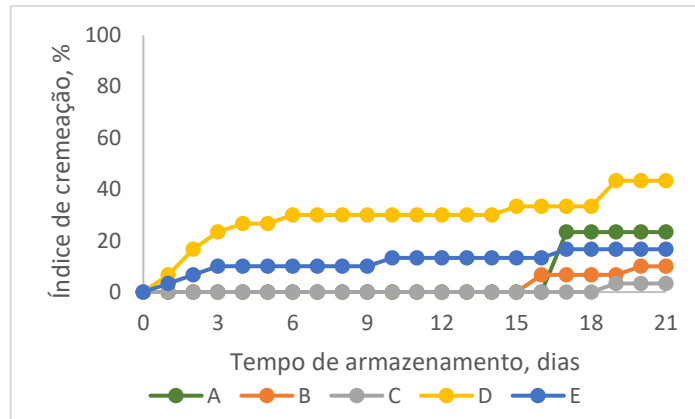


Figura 20 – Evolução do índice de cremeação IC (%) das emulsões O/A estabilizadas com albuminas de tremçoço (0,8 %, m/v) e diferentes concentrações de óleo (A – 5%, p/v; B – 10%, p/v; C – 20%, p/v; D – 50%, p/v e E – 70%, p/v) mediante armazenamento por até 21 dias.

4.4.4. Estabilidade microscópica

As imagens de microscopia óptica mostraram que os tamanhos das gotículas das emulsões variaram consideravelmente entre as frações de óleo. Na Figura 21, pode-se observar que as emulsões com maiores teores de óleo (D e E), logo na primeira semana já apresentavam tamanho de gotas maiores que as outras emulsões (A, B e C). Este comportamento ocorreu, pois, a concentração de albumina adicionada não foi suficiente para recobrir totalmente a interface das gotículas de óleo recém-criadas e, portanto, fenômenos de coalescência e aumento da oleosidade podem acontecer (LIU & TANG, 2016). Este fenômeno também foi observado por Burgoz-Díaz et al. (2019), na qual avaliaram a estabilidade de emulsões empregando-se isolado proteico de tremçoço *Alu Prot -CGNA*[®] nas concentrações de (0,5 a 6,0 %, p/v) e três diferentes frações de óleo (5, 10 e 20%, v/v). A estabilização das gotículas contra a coalescência requer uma cobertura total da interface óleo/água (CHEVALIER & BOLZINGER, 2013).

Além disso, pode-se observar que ao longo do tempo, as gotículas foram aumentando o seu diâmetro, sendo as amostras D – 50%, p/v e E – 70%, p/v, as que apresentaram este comportamento de maneira mais significativa. Pressupõe que este ocorrido se deve ao fato que ambas as amostras apresentaram uma maior polidispersividade, o que pode ter gerado um aumento na pressão interna das gotículas e favorecido a desestabilização por amadurecimento de Ostwald (MCCLEMENTS, 2016).

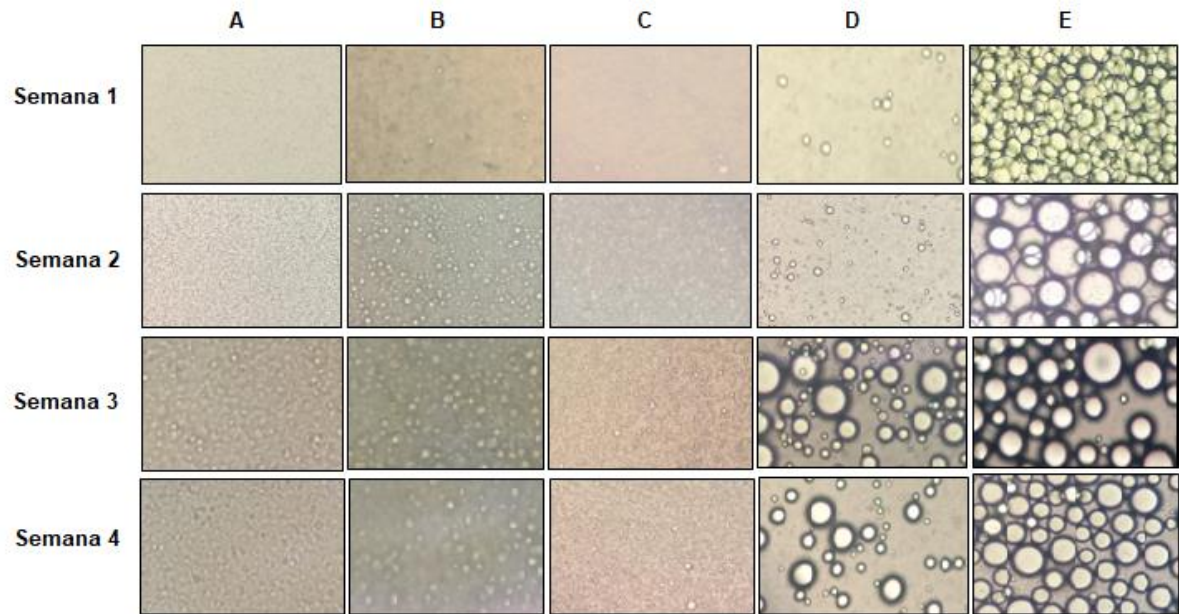


Figura 21 – Micrografias ópticas das emulsões (O/A) estabilizadas com albuminas de tremçoço (0,8 %, m/v) e diferentes concentrações de óleo (A – 5%, p/v; B – 10%, p/v; C – 20%, p/v; D – 50%, p/v e E – 70%, p/v) ao longo de 4 semanas de análise.

5. CONCLUSÃO

Os baixos valores de tensão interfacial, adsorção e rearranjo e a rápida difusão das albuminas de tremçoço em direção à interface sugerem sua potencial aplicação como emulsificante. Além disso, com base na associação dos resultados da análise das propriedades interfaciais das soluções e das características físicas e químicas das emulsões O/A, este estudo foi relevante para a compreensão de sistemas formados por albuminas de tremçoço para a produção e controle da estabilidade cinética de emulsões. E também contribuiu para evidenciar possibilidades de aplicação para uma fração proteica que muitas vezes é negligenciada ou descartada.

A emulsão com 20% de óleo e 80% de fase contínua apresentou boa estabilidade e menor formação de creme. Esta estabilidade cinética foi favorecida pela soma de vários fatores, sendo eles: baixa tensão interfacial, filme interfacial elástico, potencial zeta e pequenas gotas.

6. FINANCIAMENTO

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

7. REFERÊNCIAS

- AGRARIA. 2022. Lupino – *Lupinus spp.* Disponível em: <http://www.agraria.org/coltivazionierbacee/lupino.htm>. Acesso em ago de 2022.
- ALU'DATT, M. et al. (2017). Preparation of mayonnaise from extracted plant protein isolates of chickpea, broad bean and lupin flour: Chemical, physiochemical, nutritional and therapeutic properties. **Journal of Food Science & Technology**, v. 54, n. 6, 1395-1405. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2551-6>
- AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY - AOCS. (2001). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society (5^a ed.). Washington, DC.
- ARNOLDI, A. et al. (2015). The health benefits of sweet lupin seed flours and isolated proteins. **Journal of Functional Foods**, Milão, v. 18, p. 550-563. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.08.012>
- ASTOLFI, M. L. et al. (2020). Comparative elemental analysis of dairy milk and plant-based milk alternatives. **Food Control**, Roma, v. 116, p. 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107327>
- AYDAR, E. F.; TUTUNCU, S.; OZCELIK, B. (2020). Plant-based milk substitutes: Bioactive compounds, conventional and novel processes, bioavailability studies, and health effects. **Journal of Functional Foods**, Istanbul, v. 70, p. 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103975>
- BADER, S. et al. (2011a). Influence of different organic solvents on the functional and sensory properties of lupin (*Lupinus angustifolius* L.) proteins. **Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie- Food Science and Technology**, v. 44, n. 6, 1396-1404. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.01.007>
- BADER, S; BEZ, J.; EISNER, P. (2011b). Can protein functionalities be enhanced by high-pressure homogenization? – a study on functional properties of lupin proteins. **Procedia Food Science**. v. 1, p. 1359-1366. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.201>
- BALDINO, N.; MILETI, O.; LUPI, F. R.; GABRIELE, D. (2018). Rheological surface properties of comercial citrus pectins at different pH and concentration. **LWT**, v. 93, p.124-130. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.03.037>
- BECHER, P. (1982). Anionic surfactants: Physical chemistry of surfactant action (surfactant science series, volume 11). E. H. Lucassen-Reynders, editor. Marcel Dekker, Inc., New York and Basel, 1981. xi+412 pp. \$55.00. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 3, p. 211-212. <https://doi.org/10.1080/01932698208943635>
- BERGFREUND, J.; BERTSCH, P.; FISCHER, P. (2021). Adsorption of proteins to fluid interfaces: Role of the hydrophobic subfase. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 584, p. 411-417. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.09.118>
- BERGHOUT, J.; BOOM, R.; VAN DER GOOT, A. (2015). Understanding the differences in gelling properties between lupin protein isolate and soy protein isolate. **Food Hydrocolloids**. v. 43, p. 465-472. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.07.003>

BERTON-CARABIN, C. C.; SAGIS, L.; SCHROËN, K. (2018). Formation, Structure, and Functionality of Interfacial Layers in Food Emulsions. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 9, p. 551-587. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030117-012405>

BESSADA, S. M. F.; BARREIRA, J. C. M. M.; OLIVEIRA, B. P. P. (2019). Pulses and food security: Dietary protein, digestibility, bioactive and functional properties. **Trends in Food Science & Technology**, Porto, v. 93, p. 53-68. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.08.022>

BOUYER, E., MEKHOULFI, G., ROSILIO, V., GROSSIORD, J. L., AGNELY, F. (2012). Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field? **International Journal of Pharmaceutics**, v. 436, p. 359-378. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.06.052>

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. (2021, março 21). Instrução Normativa - IN nº 51, de 11 de março de 2021). Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Obtido em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/5887540/IN_87_2021_.pdf

BURGOS-DÍAZ, C. et al. (2019). Food-grade Pickering stabilizers obtained from a protein-rich lupin cultivar (AluProt-CGNA®): Chemical characterization and emulsifying properties. **Food Hydrocolloids**, v. 87, p. 847-857. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.09.018>

CAI, Y. et al. (2018). Effect of xanthan gum on walnut protein/xanthan gum mixtures, interfacial adsorption, and emulsion properties. **Food Hydrocolloids**, v. 79, p. 391-398. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.01.006>

CAI, Z.; WEI, Y.; SHI, A.; ZHONG, J.; RAO, P.; WANG, Q.; ZHANG, H. (2023). Correlation between interfacial layer properties and physical stability of food emulsions: current trends, challenges, strategies, and further perspectives. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 313, p. 1-35. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2023.102863>

CAMINO, N. A.; PÉREZ, O. E.; SANCHEZ, C. C.; PATINO, J. M. R.; PILOSOFF, A. M. R. 2009. Hydroxypropylmethylcellulose surface activity at equilibrium and adsorption dynamics at the air-water and oil-water interfaces. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 2359-2368. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.06.013>

CAO, C.; ZHOU, Z.; ZHENG, L.; HUANG, Q.; DU, F. (2017). Dilatational rheology of different globular protein with imidazolium-based ionic liquid surfactant adsorption layer at the decane/water interface. **Journal of Molecular Liquids**, v. 223, p. 344-351. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2017.02.121>

CHANG, L., LAN, Y., BANDILLO, N., OHM, J., CHEN, B., RAO, J. (2022). Plant proteins from green pea and chickpea: extraction, fractionation, structural characterization and functional properties. **Food Hydrocolloids**, v. 123, p. 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107165>

CHAPLEAU, N.; DE LAMBALLERIE-ANTON, M. Improvement of emulsifying properties of lupin proteins by high pressure induced aggregation. **Food Hydrocolloids**, v.17, p. 273-280. 2003.

- CHEVALIER, Y; BOLZINGER, M. (2013). Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 439, p. 23-34. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.02.054>
- CHEW, P. G., CASEY, A. J., JOHNSON, S. K. (2003). Protein quality and physico - functionality of Australian sweet lupin (*Lupinus angustifolius* cv. Gungurru) protein concentrates prepared by isoelectric precipitation or ultrafiltration. **Food Chemistry**, v. 83, n. 4, p. 575-583. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00156-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00156-0)
- CREMONEZ, P. A. et al. Tremoço: Manejo e Aplicações. **Revista Acta Iguazu**, Cascavel, v. 2, suplemento, p. 98-108, jan. 2013.
- CUI, L., KIMMEL, J., ZHOU, L., CHEN, B., RAO, J. (2021). Improving the functionality of pea protein isolate through co-spray drying with emulsifying salt or disaccharide. **Food Hydrocolloids**, v. 113, p. 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106534>
- D'AGOSTINA, A. et al. (2006). Optimization of a pilot-scale process for producing lupin protein isolates with valuable technological properties and minimum thermal damage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 1, p. 92-98. <http://dx.doi.org/10.1021/jf0518094>
- DAMODARAN, S. In: DAMODARAN, S. PARKIN, L. K.; FENNEMA, O. R. Química de Alimentos de Fennema. 4ªed. Porto Alegre: Artmed, 2010, cap. 5, p. 163-179.
- DAY, L. (2013). Proteins from land plants – potential resources for human nutrition and food security. **Trends in Food Science & Technology**, v. 32, n. 1, p. 25-42. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.05.005>
- DICHARRY, C.; ARLA, D.; SINQUIN, A.; GRACIAA, A.; BOURIAT, P. (2006). Stability of water/crude oil emulsions based on interfacial dilatation rheology. **Journal of Colloids and Interface Science**, v. 297, p. 785-791. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2005.10.069>
- DICKINSON, E. (2010). Flocculation of protein-stabilized oil-in-water emulsions. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 81, p.130-140. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.06.033>
- DIEDERICKS, C. F., SHEK, C., JIDEANI, V. A., VENEMA, P., VAN DER LINDEN, E. (2020). Physicochemical properties and gelling behaviour of Bambara groundnut protein isolates and protein-enriched fractions. **Food Research International**, v. 138, part. B, p. 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109773>
- DOMBROWSKI, J.; GSCHWENDTNER, M.; SAALFELD, D.; KULOZIK, U. (2018). Salt-dependent interaction behaviour of β -Lactoglobulin molecules in relation to their surface and foaming properties. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 558, p. 455-462. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2018.09.015>
- DOPIERALA, K.; JAVADI, A.; KRÄGEL, J.; SCHANO, K. H.; KALOGIANNI, E. P.; LESER, M. E.; MILLER, R. (2011). Dynamic interfacial tensions of dietary oils. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engennering Aspects**, v. 382, p. 261-265. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2010.11.027>
- DUKHIN, A. S., PARLIA, S. (2014). Measuring ζ -potential of protein nano-particles using electroacoustics. **Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces**, v. 121, p. 257-263. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.02.048>

DURANTI, M. et al. (2008). The major proteins of lupin seed: Characterisation and molecular properties for use as functional and nutraceutical ingredients. **Trends in Food Science & Technology**, Milão, v.19, 12, p. 624-633. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.07.002>

EL-ADAWY, T. A., RAHMA, E. H., EL-BEDAWEY, A. A., GAFAR, A. F. (2001). Nutritional potential and functional properties of sweet and bitter lupin seed protein isolates. **Food Chemistry**, v. 74, n. 4, p. 455-462. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00163-7](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00163-7)

FANTINI, N. et al. (2009). Reducing effect of a *Phaseolus vulgaris* dry extract on food intake, body weight, and glycemia in rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 19, p. 9316–9323. <http://dx.doi.org/10.1021/jf900711z>.

FAO. 2019. Food and agriculture organization of the united nations. Disponível em: <https://www.fao.org/faolex/results/details/en/c/LEX-FAOC196697/>. Acesso em ago de 2022.

FERNADES, R. N. et al. (2021). Kinetic stability of the oil-in-water emulsions and dynamic interfacial properties of mixtures of sucrose esters and polysaccharides. **Food Chemistry**, v. 357, p. 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129693>

FILHO, A. P. **Uma abordagem bibliográfica sobre bebidas vegetais: seu potencial econômico, consumo, características de composição e processo produtivo. 2020.** Dissertação (Bacharelado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2020.

FINGAS, M. (2017). Oil Spill Science and Technology. **Gulf Professional Publishing**, Chapter 3. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

GORNALL, A. G., BARDAWILL, C. J., DAVID, M. M. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. **J. Biol. Chem.**, v. 177, p. 751-766, 1949.

GRAHAM, D. E.; PHILLIPS, M. C. Proteínas em interfaces líquidas: II. Isotermas de adsorção. **Journal of coloidal and interface science**, v. 70, n. 3, p. 415-426, 1979.

GROSSMANN, L., MCCLEMENTS, D. J. (2023). Current insights into protein solubility: A review of its importance for alternative proteins. **Food Hydrocolloids**, v. 137, p. 1-21. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108416>.

GUZMÁN, T. J. et al. (2021). Effect of the acute and chronic administration of *Lupinus albus* β -conglutin on glycaemia, circulating cholesterol, and genes potentially involved. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 133, p. 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110969>

HEINZL, G. C. et al. (2022). *Lupinus albus* γ -Conglutin: New Findings about Its Action at the Intestinal Barrier and a Critical Analysis of the State of the Art on Its Postprandial Glycaemic Regulating Activity. **Nutrients**, v. 14, n. 17, p. 1-12. <https://doi.org/10.3390/nu14173666>

IBOPE. 2018. Pesquisa de opinião pública sobre vegetarianismo. Disponível em: http://www.svb.org.br/images/Documentos/JOB_0416_VEGETARIANISMO.pdf. Acesso em ago de 2022.

INCROPERA, F. P.; DEWITT, D. P.; BERGMAN, T. L.; LAVINE, A. S. Fundamentos de transferência de Calor e de Massa. 6ª edição. Rio de Janeiro: LTC, 2008.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo). Procedimentos e determinações gerais. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 1. Ed. Digital. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008a.p. 83-158.

JARPA-PARRA, M. et al. (2014). Optimization of lentil protein extraction and the influence of process pH on proteins structure and functionality. **LWT- Food Science and Technology**, v. 57, n. 2, p. 461-469. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.02.035>

JAYASENA, V.; CHIH, H. J.; NASSAR-ABBAS, S. M. Functional properties of sweet lupin protein isolated and tested at various pH levels. **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, Perth, v. 6, n. 2, p. 130-137. 2020.

KADU, P. J.; Kushare, S.S.; Thacker, D.D.; Gattani, S.G. (2011). Enhancement of oral bioavailability of atorvastatin calcium by self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS). **Pharmaceutical Development and Technology**, v.16, p. 65-74. <https://doi.org/10.3109/10837450903499333>

KULKARNI, V. S.; SHAW, C. (2016). Rheological Studies. **Essential Chemistry for Formulators of Semisolid and Liquid Dosages**, p. 145–182. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-801024-2.00009-1>

LEMUS-CONEJO, A., RIVERO-PINO, F., MONTSERRAT-DE LA PAZ, S., MILLAN-LINARES, M. C. (2023). Nutritional composition and biological activity of narrow-leaved lupins (*Lupinus angustifolius* L.) hydrolysates and seeds. **Food Chemistry**, v. 420, p. 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136104>

LIANG, Y. C.; WONG, S. S.; PHAM, S. Q.; TAN, J. J. (2016). Effects of globular protein type and concentration on the physical properties and flow behaviors of oil-in-water emulsions stabilized by micellar casein-globular protein mixtures. **Food Hydrocolloids**, v. 54, part A, p. 89-98. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.09.024>

LIU, F.; TANG, C.H. (2016). Soy glycinin as food-grade Pickering stabilizers: Part. III. Fabrication of gel-like emulsions and their potential as sustained-release delivery systems for β -carotene. **Food Hydrocolloids**, v. 56, p. 434-444. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.01.002>

LO, B.; KASAPIS, S. FARAHNAKY, A. (2021). Lupin protein: Isolation and Techno-functional properties, a review. **Food Hydrocolloids**, Melbourne, v. 112, p. 1-21. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106318>

LONGVAH, T.; ANANTHAN, K. R.; BHASKARACHARY, K.V. Indian food composition tables. Índia: National Institute of Nutrition - Indian Council of Medical Research Hyderabad, 2017, p. 1-505.

MA, K. K. et al. (2022). Functional performance of plant proteins. **Foods**, v. 11, n. 4., p. 1-23. <https://doi.org/10.3390/foods11040594>

MACRITCHIE, F. (1978). Proteins at interfaces. **Advances in protein chemistry**, 32, 283-326. [https://doi.org/10.1016/S0065-3233\(08\)60577-X](https://doi.org/10.1016/S0065-3233(08)60577-X)

MAGNI, C. et al. Conglutin γ , a lupin seed protein, binds insulin in vitro and reduces plasma glucose levels of hyperglycemic rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 15, p. 646-650. 2004.

MALHOTRA, A., COUPLAND, J. N. (2004). The effect of surfactants on the solubility, zeta potential, and viscosity of soy protein isolates. **Food Hydrocolloids**, v. 18, p. 101-108. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(03\)00047-X](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(03)00047-X)

- MANE, S. P. et al. (2018). Lupin seed γ -conglutin: Extraction and purification methods - A review. **Trends in Food Science & Technology**, Perth, v. 73, p. 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.12.008>
- MARTÍNEZ-VILLALUENGA, C., FRÍAS, J., VIDAL-VALVERDE, C. (2006). Functional lupin seeds (*Lupinus albus* L. and *Lupinus luteus* L.) after extraction of α -galactosides. **Food Chemistry**, v. 98, n. 2, p. 291-299. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.074>
- MATHEWS, A. et al. (2023). Extraction and modification of protein from sesame oil cake by the application of emerging Technologies. **Food Chemistry Advances**, v. 2., p. 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100326>
- MCCLEMENTS, D. J. Food emulsions – Principles, practices, and techniques. **CRC Press** (3^a ed.), 2016.
- MCCLEMENTS, D. J. Food Emulsions: Principles, Practices and Techniques. 2^a ed. Boca Raton: CRC Press, 2005.
- MILETI, O.; BALDINO, N.; CARMONA, J. A.; LUPI, F. R.; MUÑOZ, J.; GABRIELE, D. (2022). Shear and dilatation rheological properties of vegetable proteins at the air/water interface. **Food Hydrocolloids**, v. 126, p. 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107472>
- MILETI, O.; BALDINO, N.; LUPI, F. R.; GABRIELE, D. (2023). Interfacial behaviour of vegetable protein isolates at sunflower oil/water interface. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 221, p. 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2022.113035>
- MOLINA, J. P. Fracionamento da proteína e estudo termoanalítico das leguminosas: Grão de Bico (*Cicer arietinum*), variedade Cícero e Tremoço Branco (*Lupinus albus* L.). Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, 2010.
- MUNIALO, C. D.; STEWART, D.; CAMPBELL, L.; EUSTON, S. (2022). Extraction, characterisation and functional applications of sustainable alternative protein sources for future foods: A review. **Future Foods**, v. 6, p. 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100152>
- MUÑOZ-LLANDES, C. B. et al. (2022). Effect of germination time on protein subunits of *Lupinus angustifolius* L. and its influence on functional properties and protein digestibility. **Food Science and Technology**, v. 42, p. 1-10. <https://doi.org/10.1590/fst.90821>
- NAÇÕES UNIDAS. 2022. Perspectivas da população mundial. Disponível em: <https://population.un.org/wpp/>. Acesso em jul de 2022.
- NEVES, V. A; LOURENÇO, E. J.; SILVA, M. A. Extração, isolamento e fracionamento da proteína de tremoço (*Lupinus albus*) var. Multolupa. Alim. Nutr., v. 12, p. 115-130, 2001.
- NEZLEK, J. B.; FORESTELL, C. A. (2022). Meat substitutes: current status, potential benefits, and remaining challenges. **Current Opinion in Food Science**, v. 47, p. 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2022.100890>

- NIKOLIĆ, Z.; ĐORĐEVIĆ, V.; TORBICA, A.; MIKIC, A. (2012). Legumes seed storage proteins characterization by SDS-PAGE and Lab-on-a-Chip electrophoresis. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 28, p. 75-80. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2012.08.005>
- NIMAMING, N.; SADEGHPOUR, A.; MURRAY, B. S.; SARKAR, A. (2023). Hybrid particles for stabilization of food-grade Pickering emulsions: Fabrication principles and interfacial properties. **Trends in Food Science & Technology**, v. 138, p. 671-684. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.06.034>
- NYLANDER, T.; ARNEBRANT, T.; CÁRDENAS, M.; BOS, M.; WILDE, P. Protein/Emulsifier Interactions. In: HASENHUETTL, G. L.; HARTEL, R. W. **Food Emulsifiers and Their Applications**. Springer, 2019. p. 101-192.
- OLIVEIRA, A. R. V. et al. Alergia alimentar: prevalência através de estudos epidemiológicos. **Revista de ciências da saúde Nova Esperança**, v. 16, n. 1, p. 7-15. 2018.
- OLIVEIRA, C. T. **Caracterização bioquímica, determinação do perfil lipídico e obtenção de extrusados de grãos e farinhas de tremoço branco (*Lupinus albus*)**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos da Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.
- ONWEZEN, M. C. et al. (2021). A systematic review on consumer acceptance of alternative proteins: Pulses, algae, insects, plant-based meat alternatives, and cultured meat. **Appetite**, v. 159, p. 1-57. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2020.105058>
- PALANDER, S. et al. (2006). Protein and amino acid digestibility and metabolizable energy value of pea (*Pisum sativum*), faba bean (*Vicia faba*) and lupin (*Lupinus angustifolius*) seeds for turkeys of different age. **Animal Feed Science and Technology**, v. 127, p. 89-100. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.07.003>
- PAN, Y.; XU, Y. Y.; ZHU, L.; LIU, X.; ZHAO, G.; WANG, S. N.; YANG, L.; MA, T.; LIU, E. (2021). Stability and rheological properties of water-in-oil (W/O) emulsions prepared with a soyasaponin-PGPR system. **Future Foods**, v. 4, p. 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100096>
- PARODI, A. et al. (2018). The potential of future foods for sustainable and healthy diets. **Nature Sustainability**, v. 1, p. 782-789. <https://doi.org/10.1038/s41893-018-0189-7>
- PAULO, L. A. O. et al. (2023). Baru oil (*Dipteryx alata* vog.) applied in the formation of O/W nanoemulsions: A study of physical-chemical, rheological and interfacial properties. **Food Research International**, v. 170, p. 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112961>
- PEREIRA, F. M. S.; FREITAS, J. C. F.; DUARTE, L. G. Alimentação por conveniência: impacto no ganho de peso em adultos. Dissertação (Bacharelado em Nutrição) – Centro Universitário UNA, Divinópolis, 2021.
- PIMENTEL, T. C. et al. (2021). Vegan probiotic products: A modern tendency or the newest challenge in functional foods. **Food Research International**, v. 140, p. 1-25. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.110033>

- PIORNOS, J. A. et al. (2015). Functional and physicochemical properties of a protein isolate from *AluProt*-CGNA: A novel protein-rich lupin variety (*Lupinus luteus*). **Food Research International**, v. 76, part. 3, p. 719-724. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.013>
- PLOLL, U.; PETRITZ, H.; STERN, T. (2020). A social innovation perspective on dietary transitions: Diffusion of vegetarianism and veganism in Austria. **Environmental Innovation and Societal Transitions**, v. 36, p. 164-176. <https://doi.org/10.1016/j.eist.2020.07.001>
- PRUSINSKI, J. (2017). White lupin (*Lupinus albus* L.) - nutritional and health values in human nutrition - a review. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 35, n. 2, p. 95-105. <https://doi.org/10.17221/114/2016-CJFS>
- RODRÍGUEZ-AMBRIZ, S. et al. (2005). Composition and functional properties of *lupinus campestris* protein isolates. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 60, n. 3, p. 99-107. <https://doi.org/10.1007/s11130-005-6835-z>
- SALDAÑA, E. et al. (2021). Use of sensory science for the development of healthier processed meat products: a critical opinion. **Current Opinion in Food Science**, v. 40, p. 13-19. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.04.012>
- SANDOVAL-MUÑÍZ, R. J. et al. (2018). Lupin gamma conglutin protein: effect on Slc2a2, Gck and Pdx-1 gene expression and GLUT2 levels in diabetic rats. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 28, p. 716-723. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.08.002>
- SCHLEGEL, K. et al. (2019). Effect of enzyme-assisted hydrolysis on protein pattern, technofunctional, and sensory properties of lupin protein isolates using enzyme combinations. **Food Sciences and Nutrition**, p. 1-11. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1286>
- SEMBA, R. D. et al. (2021). Legumes as a sustainable source of protein in human diets, **Global Food Security**, v. 28, p. 1-19. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2021.100520>
- SETA, L.; BALDINO, N.; GABRIELE, D.; LUPI, F. R.; CINDIO, B. (2012). The effect of surfactante type on the rheology of ovalbumin layers at the air/water and oil/water interfaces. **Food Hydrocolloids**, v. 29, p. 247-257. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.03.012>
- SETHI, S.; TYAGI, S. K.; ANURAG, R. K. (2016). Plant-based milk alternatives an emerging segment of functional beverages: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 9, p. 3408-3423. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2328-3>
- SHRESTHA, S. et al. (2021). Lupin proteins: Structure, isolation and applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 116, p. 928-939. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.08.035>
- SILVA, M. S. et al. (2020). Alimentos transgênicos e segurança alimentar e nutricional no Brasil / Transgenic foods and food and nutritional security in Brazil. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, v. 3, n. 5, p. 11901-11923. <https://doi.org/10.34119/bjhrv3n5-046>
- SILVA, R. M. et al. (2021). Extraction, purification by cation exchange supermacroporous cryogel and physico-chemical characterization of γ -conglutin

- from lupin seeds (*Lupinus albus* L.). **Journal of Separation Science**, August, p. 1–10. <https://doi.org/10.1002/jssc.202100675>
- SILVA, R. M.; VIDIGAL, M. C. T. R.; MINIM, V. P. R.; MINIM, L. A. (2023). Evaluation of pH, NaCl and CaCl₂ salts on Solubility, Zeta Potential and air-water interfacial properties of the protein isolate from lupin seeds. **Food Structure**, v. 38, p. 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2023.100350>
- SIMIQUELI, A. A. et al. (2019). Ovalbumin and guar gum foam and its surface properties as influenced by sucrose and sorbitol. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 135, p. 226–232. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.140>
- SUJAK, A., KOTLARZ, A., STROBEL, W. (2006). Compositional and nutritional evaluation of several lupin seeds. **Food Chemistry**, v. 98, n. 4, p. 711-719. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.06.036>
- TANGYU, M., MULLER, J., BOLTEN, C. J. (2019). Fermentation of plant-based milk alternatives for improved flavour and nutritional value. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, p. 9263–9275. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10175-9>
- TARAH, M.; ABDOLALIZADEH, L.; HEDAYATI, S. (2024). Mung bean protein isolate: Extraction, structure, physicochemical properties, modifications, and food applications. **Food Chemistry**, v. 444, p. 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.138626>
- THARANATHAN, R.N.; MAHADEVAMMA, S. (2003) Grain Legumes—A Boon to Human Nutrition. **Trends in Food Science and Technology**, v. 14, p. 507-518. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2003.07.002>
- THØGERSEN, R.; BERTRAM, H. C. (2021). Reformulation of processed meat to attenuate potential harmful effects in the gastrointestinal tract – A review of current knowledge and evidence of health prospects. **Trends in Food Science & Technology**, v. 108, p. 111-118. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.12.015>
- TORRES-TIJI, Y.; FIELDS, F. J.; MAYFIELD, S. P. (2020). Microalgae as a future food source. **Biotechnology Advances**, v. 41, p. 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107536>
- TRUGO, L. C.; VON BAER, E.; VON BAER, D. (2016). Lupin breeding. **Reference Module in Food Science**, v. 3, p. 1-8. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.00211-0>
- TURCHI, M.; KARCZ, A. P.; ANDERSSON, M. P. (2022). First-principles prediction of critical micellar concentrations for ionic and nonionic surfactants. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 606, part 1, p. 618-627. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2021.08.044>
- VALLATH, A.; SHANMUGAM, A.; RAWSON, A. (2022). Prospects of future pulse milk variants from other healthier pulses - As an alternative to soy milk. **Trends in Food Science & Technology**, v. 124, p. 51-62. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.03.028>
- VAN DE NOORT, M. (2017). Chapter 10 – Lupin: An important protein and nutrient source. **Sustainable Protein Sources**, Rotterdam, p. 165-183. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802778-3.00010-X>

- VOGELSANG-O'DWYER, M. et al. (2020). Techno-functional, nutritional and environmental performance of protein isolates from blue lupin and White lupin. **Foods**, v. 9, n. 230, p. 1-24. <https://doi.org/10.3390/foods9020230>
- WANG, J. M.; XIA, N.; YANG, X. Q.; YIN, S. W.; QI, J. R.; HE, X. T.; YUAN, D. B.; WANG, L. J. (2012). Adsorption and dilatational rheology of heat-treated soy protein at the oil-water interface: relationship to structural properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 12, p. 3302-3310. <https://doi.org/10.1021/jf205128v>
- WARD, A. F. H., TORDAI, L. (2004). Time-Dependence of Boundary tensions of solutions I. The Role of diffusion in time-effects. **The journal of chemical physics**, v. 14, p. 453-461. <https://doi.org/10.1063/1.1724167>
- WARD, A. F. H.; TORDAI, L. Time dependance of boundary tensions of solutions I. **Journal of Chemical Physics**, v. 14, p. 353-361, 1946.
- WILLET, W. et al. (2019). Food in the Anthropocene: the EAT-Lancet Commission on healthy diets from sustainable food systems, **Lancet**, v. 393, p. 447-492. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31788-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31788-4)
- WONG, A.; PITTS, K.; JAYASENA, V.; JOHNSON, S. (2013). Isolation and foaming functionality of acid-soluble protein from lupin (*Lupinus angustifolius*) kernels, **Food Chemistry**, v. 93, p. 3755-3762. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6249>
- WUTKE, E. B. *et al.* **Tremoço Branco ou Amargo (*Lupinus albus* L.)**. 7. ed. Campinas: Instituto Agrônômico – IAC, 2014.
- YÁÑEZ-RUIZ, D. R. et al. (2009). A comparison of different legume seeds as protein supplement to optimise the use of low quality forages by ruminants. **Archives of Animal Nutrition**, v. 63, n. 1, p. 39-55. <https://doi.org/10.1080/17450390802611479>
- Zetasizer Nano User Manual (2013). MAN0485, Issue 1.1, april, 2013.
- ZHANG, R. et al. (2024). Protein from rapeseed for food applications: Extraction, sensory quality, functional and nutritional properties. **Food Chemistry**, v. 439, p. 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.138109>
- ZHOU, B., TOBIN, J. T., DRUSCH, S., HOGAN, S. A. (2021). Dynamic adsorption and interfacial rheology of whey protein isolate at oil-water interfaces: Effects of protein concentration, pH and heat treatment. **Food Hydrocolloids**, 116, p. 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106640>
- ZYCHAR, B. C.; OLIVEIRA, B. A. **Fatores desencadeantes da intolerância à lactose: metabolismo enzimático, diagnóstico e tratamento**. Atas de Ciências da Saúde, São Paulo - SP, v. 5, n. 1, p. 35-46, 2017.