

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

**Influência dos parâmetros de processo do aquecimento ôhmico nas
propriedades interfaciais de proteínas do soro do leite**

Israel Felipe dos Santos
Magister Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

ISRAEL FELIPE DOS SANTOS

Influência dos parâmetros de processo do aquecimento ôhmico nas propriedades interfaciais de proteínas do soro do leite

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: Pedro H. Campelo Felix

Coorientadores: Evandro Martins
Paulo Cesar Stringheta

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

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

T

S237i Santos, Israel Felipe dos, 1997-
2025 Influência dos parâmetros de processo do aquecimento
ôhmico nas propriedades interfaciais de proteínas do soro do
leite / Israel Felipe dos Santos. – Viçosa, MG, 2025.
1 dissertação eletrônica (82 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Pedro Henrique Campelo Félix.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Tecnologia de Alimentos, 2025.
Referências bibliográficas: f. 69-82.
DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2025.343>
Modo de acesso: World Wide Web.

1. Alimentos - Processamento. 2. Aquecimento. 3. Leite -
Proteínas. 4. Nanotecnologia. I. Félix, Pedro Henrique Campelo,
1986-. 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. 664.02

Bibliotecário(a) responsável: Bruna Silva CRB-6/2552

ISRAEL FELIPE DOS SANTOS

Influência dos parâmetros de processo do aquecimento ôhmico nas propriedades interfaciais de proteínas do soro do leite

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*.

APROVADA: 27 de fevereiro de 2025.

Assentimento:

Israel Felipe dos Santos
Autor

Pedro Henrique Campelo Felix
Orientador

Essa dissertação foi assinada digitalmente pelo autor em 21/05/2025 às 19:18:56 e pelo orientador em 21/05/2025 às 19:29:07. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **L2DR.UB49.YQI2** e clique no botão 'Validar documento'.

Dedico este trabalho ao Pai, Filho e ao Espírito Santo por terem estado comigo em todos os momentos, por terem me dado forças e discernimento para concluir esta etapa de minha vida; ao meu pai por ter me apoio e incentivo até a chegada deste momento; ao meu orientador Pedro Henrique Campelo e coorientadores Evandro Martins e Paulo Stringheta por terem confiado este trabalho a mim; e dedico este trabalho a mim, pela dedicação e determinação ao logo desta etapa.

AGRADECIMENTOS

Ao Pai, ao Filho e ao Espírito Santo;

Ao meu pai Israel Ferreira dos Santos;

Ao meu orientador Pedro Henrique Campelo;

Aos meus coorientadores Evandro Martins e Paulo Stringheta;

E a toda equipe do Laboratório de Corantes Naturais e Bioativos (LaCBio) e Laboratório de Higiene e Microbiologia de Alimentos (LHMA);

Ao Departamento de Tecnologia de Alimentos;

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos;

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

“Estais em mim, e eu em vós; como a vara de si mesma não pode dar frutos, se não estiver na videira, assim tam-bém vós, se não estiverdes em mim”.
(João 15:4)

RESUMO

SANTOS, Israel Felipe dos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2025. **Influência dos parâmetros de processo do aquecimento ôhmico nas propriedades interfaciais de proteínas do soro do leite.** Orientador: Pedro Henrique Campelo Felix. Coorientadores: Evandro Martins e Paulo Cesar Stringheta.

O aquecimento ôhmico (AO) tem sido amplamente estudado como uma tecnologia emergente capaz de modificar proteínas alimentares e influenciar suas interações com compostos bioativos. Neste estudo, avaliou-se o impacto do AO nas propriedades estruturais e funcionais do concentrado proteico do soro do leite (WPC) em diferentes intensidades de campo elétrico. A eletroforese SDS-PAGE revelou modificações estruturais nas proteínas do CPSL, indicando a ocorrência de uma leve agregação e possíveis mudanças conformacionais induzidas pelo tratamento. Além disso, análises espectroscópicas de fluorescência demonstraram que o AO promove alterações na fluorescência intrínseca das proteínas, sugerindo exposição de resíduos aromáticos e alterações na polaridade do microambiente. A interação do WPC modificado com β -caroteno foi investigada, evidenciando um aumento na afinidade de ligação conforme a intensidade do campo elétrico aplicado, os parâmetros de ligação indicaram que a modificação estrutural das proteínas favoreceu a interação proteína-ligante, resultando em um maior coeficiente de ligação. Da mesma forma, o estudo da interação entre o WPC modificado e o ácido cafeico mostrou que o tratamento ôhmico influenciou a disponibilidade dos sítios de ligação, reduzindo a constante de afinidade em comparação com a proteína não tratada. Esses achados indicam que o AO pode modular seletivamente as interações proteína-ligante, o que pode ser explorado para aplicações em sistemas alimentares funcionais e liberação controlada de compostos bioativos. O estudo também sugere que a magnitude das alterações estruturais depende da intensidade do campo elétrico, sendo os efeitos mais pronunciados em campos mais elevados. Perspectivas futuras incluem a investigação do impacto do AO em outras matrizes proteicas, bem como a avaliação de suas implicações na digestibilidade e biodisponibilidade de compostos bioativos. Além disso, a compreensão detalhada dos mecanismos moleculares envolvidos na modificação estrutural das proteínas pode contribuir para o desenvolvimento de novos processos industriais voltados para a melhoria da funcionalidade de ingredientes proteicos em alimentos e nutracêuticos.

Palavras-chave: tecnologias emergentes, ; nano-agregados, ; tecno-funcionalidade de proteínas.

ABSTRACT

SANTOS, Israel Felipe dos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2025. **Potential of emerging technologies in the modification of techno-functional properties of whey proteins: ohmic heating and characterization of modified proteins.** Adviser: Pedro Henrique Campelo Felix. Co-advisers: Evandro Martins and Paulo Cesar Stringheta.

Ohmic heating (OH) has been widely studied as an emerging technology capable of modifying food proteins and influencing their interactions with bioactive compounds. This study evaluated the impact of OH on the structural and functional properties of whey protein concentrate (WPC) under different electric field intensities. SDS-PAGE electrophoresis revealed structural modifications in WPC proteins, indicating slight aggregation and possible conformational changes induced by the treatment. Additionally, fluorescence spectroscopy analyses demonstrated that OH promotes alterations in the intrinsic fluorescence of proteins, suggesting the exposure of aromatic residues and changes in the polarity of the microenvironment. The interaction of modified WPC with β -carotene was investigated, showing an increase in binding affinity as the applied electric field intensity increased. The binding parameters indicated that the structural modification of proteins favored protein-ligand interactions, resulting in a higher binding coefficient. Similarly, the study of the interaction between modified WPC and caffeic acid revealed that ohmic treatment influenced the availability of binding sites, reducing the affinity constant compared to untreated protein. These findings indicate that OH can selectively modulate protein-ligand interactions, which can be explored for applications in functional food systems and controlled release of bioactive compounds. The study also suggests that the magnitude of structural changes depends on the electric field intensity, with more pronounced effects observed at higher fields. Future perspectives include investigating the impact of OH on other protein matrices, as well as evaluating its implications for the digestibility and bioavailability of bioactive compounds. Furthermore, a detailed understanding of the molecular mechanisms involved in protein structural modification may contribute to the development of new industrial processes aimed at enhancing the functionality of protein ingredients in food and nutraceutical applications.

Keywords: emerging technologies,; nano-aggregates,; protein techno-functionality.

1.INTRODUÇÃO	11
2.REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1.Proteína do soro do leite	12
2.2.Propriedades elétrica dos alimentos	13
2.3.Aquecimento ôhmico	15
2.3.1.Aquecimento ôhmico aplicado a alimentos.	19
2.3.2.Aquecimento ôhmico aplicado a proteínas alimentares.	20
2.3.3. Efeito na estrutura secundária das proteínas..	23
2.4.Propriedades tecno-funcionais	26
2.4.1.Capacidade de retenção de água e solubilidade.....	27
2.4.2.Capacidade de Retenção de Óleo e Emulsificação	28
2.4.3.Viscosidade	29
2.4.4.Textura	31
2.4.5. Capacidade de interação com ligantes.....	33
2.5. Aquecimento ôhmico aplicado a proteínas do soro do leite.	35
3.MATERIAL E MÉTODOS.....	36
3.1.Aquisição do Concentrado Proteico do Soro do Leite e preparo das soluções proteicas.....	36
3.2.Aquecimento Ôhmico (AO).....	37
3.3.Consumo energético e parâmetros de processo	38
3.4.Eletroforese SDS-PAGE.....	39
3.5.Sulfidrilas Livres	39
3.6.Hidrofobicidade Superficial	40
3.7.Potencial Zeta	40
3.8.Tamanho de partícula	41
3.9.Solubilidade.....	41
3.10.Fluorescência intrínseca.....	42

3.11. Formação dos complexos CPSL-modificado/Beta caroteno e CPSL-modificado/Ácido cafeico.....	42
3.12. Análise estatística	43
4. Resultados e discussão	44
4.1. Parâmetros térmicos e elétricos	44
4.2. Eletroforese SDS-PAGE.....	46
4.3. Sulfidrilas livres	48
4.4. Hidrofobicidade Superficial.....	50
4.5. Potencial zeta.....	52
4.6. Tamanho de partícula	54
4.7. Solubilidade.....	56
4.8. Fluorescência intrínseca relativa do CPSL-modificado	58
4.9. Fluorescência intrínseca relativa	61
4.10. Interação CPSL-modificado/Beta caroteno e Interação CPSL-modificado/ácido cafeico.....	64
5. CONCLUSÃO.....	67
6. REFERÊNCIAS.....	69

1. INTRODUÇÃO

As proteínas são blocos de construção essenciais para o corpo humano, participando do crescimento e reparo dos tecidos, além de desempenharem um papel central em funções metabólicas como mensageiros químicos como os hormônios, transporte de oxigênio (Liu *et al.*, 2023). Além disso, uma dieta rica em proteínas pode auxiliar no controle do apetite, promover a perda de peso, manter a massa muscular magra e regular os níveis de glicose no sangue, tornando-se uma aliada para o desenvolvimento muscular e o manejo de condições como diabetes e obesidade (Friedman, 1996).

As proteínas, embora importantes na estruturação e funcionalidade dos alimentos, podem apresentar propriedades tecnológicas não idealmente adequadas para aplicações na indústria alimentícia. Em muitos casos, as proteínas podem ser sensíveis a fatores como temperatura, pH e pressão, o que pode limitar sua utilidade em formulações de alimentos (Glazer, 1970; Nikbakht Nasrabadi *et al.*, 2021). Além disso, propriedades como textura, solubilidade, capacidade de interação com ligantes e sabor das proteínas podem não atender aos padrões desejados para produtos alimentícios finais. Portanto, a necessidade de modificar as propriedades tecnológicas das proteínas por meio de tratamento térmico, ou modificação química, torna-se necessário para otimizar a funcionalidade das proteínas na produção de alimentos e atender às expectativas dos consumidores (Sun-Waterhouse; Zhao; Waterhouse, 2014).

Nesse cenário, a tecnologia de aquecimento ôhmico surge como uma abordagem promissora para a modificação de proteínas de origem animal e vegetal (Ramaswamy *et al.*, 2014). O aquecimento ôhmico utiliza a aplicação direta de energia eletromagnética para aquecer moléculas de proteínas, possibilitando a modulação das condições de processamento (Indiarto e Rezaharsanto, 2020; Ramaswamy *et al.*, 2014). Além disso, essa técnica tem sido considerada vantajosa por sua eficiência energética, reduzindo o tempo de processamento e, conseqüentemente, minimizando seu impacto ambiental (Knirsch *et al.*, 2010). Essa abordagem é especialmente relevante em um contexto de produção sustentável de alimentos.

Este estudo abordará as aplicações do aquecimento ôhmico na modificação de proteínas de origem animal e seu potencial para transformar a indústria alimentícia. O foco estará na interseção entre a sustentabilidade do processo e a melhoria das propriedades de proteínas alimentares (Cha, 2011; Joeres *et al.*, 2022, 2023; Li *et al.*, 2018; Pereira *et al.*, 2018), tornando-as mais adequadas para uma ampla gama de aplicações alimentares, desde alternativas para indústria de carne até produtos de panificação e bebidas.

Contudo este trabalho teve como hipótese principal investigar se a tecnologia de aquecimento ôhmico pode ser utilizada estrategicamente para modificar a estrutura e propriedades tecno-funcionais das proteínas do soro do leite visando a obtenção de estabilidade térmica, avaliar efeito na hidrofobicidade superficial no desdobramento das proteínas, capacidade formar agregados com outros ligantes como beta caroteno e ácido cafeico e eficiência do processo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Proteína do soro do leite

O soro do leite é um subproduto oriundo da fabricação de queijo e iogurtes concentrados. Este líquido possui uma composição nutricional rica, possuindo aproximadamente 55% dos nutrientes do leite, sendo uma excelente fonte de proteína de alta qualidade (Merkel *et al.*, 2021; Mendoza *et al.*, 2021). A proteína do soro de leite é conhecida por sua rápida absorção pelo organismo, tornando-a popular entre atletas e praticantes de atividades físicas para auxiliar na recuperação muscular (Ribeiro *et al.*, 2023). De acordo com Minj e Anand (2020), as proteínas presentes no soro do leite pertencem à categoria das proteínas globulares, caracterizadas por conter quantidades significativas de estruturas em forma de alfa hélice, onde aminoácidos hidrofílicos e hidrofóbicos estão distribuídos de maneira equilibrada.

Os principais componentes das proteínas encontradas no soro de leite compreendem α -lactalbumina (α -LA), β -lactoglobulina (β -LG), albumina sérica bovina (BSA), imunoglobulinas (IG), lactoferrina bovina (BLF), lactoperoxidase bovina (LP) e quantidades reduzidas de glicomacropéptido (GMP) (Minj e Anand,

2020). No entanto, a composição da proteína do soro pode variar, dependendo do tipo de soro (doce ou ácido), do tipo de leite (bovino, ovino ou caprino), da dieta animal, do estágio de lactação e do processo de fabricação dos queijos (Minj e Anand, 2020; Pintado, *et al.*, 2001).

As proteínas do soro de leite possuem características tecnológicas relevantes para a indústria de alimentos, incluindo uma boa solubilidade, capacidade de formação de espuma, capacidade emulsionante, propriedades gelificantes e capacidade de retenção de água. A utilização dessas proteínas como substitutos de gordura em produtos lácteos e não lácteos está gradualmente crescendo devido às suas propriedades nutricionais e funcionais benéficas para a indústria (Lizarraga *et al.*, 2006). Segundo Yadav (2015), as proteínas encontradas no soro do leite representam fontes altamente promissoras de peptídeos bioativos (BAPs) com notáveis propriedades antioxidantes, atividade anti-hipertensiva, antidiabética, anticâncer e imunomoduladora.

Atualmente, os derivados proteicos provenientes do soro de leite são amplamente disponíveis no mercado, sendo utilizados como ingredientes e produtos alimentares funcionais. As características favoráveis do perfil completo de aminoácidos e da estrutura proteica das proteínas do soro de leite as tornam atrativas para a incorporação em formulações alimentícias, contribuindo para melhorar o valor nutricional e as propriedades funcionais (Jost *et al.*, 1999). Além disso, essas proteínas são empregadas na composição de fórmulas em pó infantis (Jost *et al.*, 1999), suplementos proteicos para nutrição esportiva (Devries e Phillips, 2015) e na produção de embalagens ativas de alimentos, visando prolongar a vida útil dos produtos (Daniloski *et al.*, 2021; Catarino *et al.*, 2017).

2.2. Propriedades elétrica dos alimentos

A condutividade elétrica dos alimentos é uma característica física que reflete a capacidade de um alimento conduzir eletricidade sob a influência de um campo elétrico. Essa propriedade é sensível à composição química e à estrutura física dos alimentos e desempenha um papel fundamental em várias aplicações

relacionadas ao processamento de alimentos e garantia de qualidade (Icier, 2012; Varghese *et al.*, 2014).

Quando portadores de carga móveis estão presentes e uma voltagem elétrica U é aplicada, ocorre um fluxo de corrente elétrica através de um material. A intensidade I dessa corrente é determinada pela resistência R do material em questão. O inverso de R é chamado de condutância elétrica G . A relação linear entre corrente e voltagem é conhecida como a lei de Ohm, A Lei de Ohm estabelece que a corrente elétrica que passa por um condutor é proporcional à tensão aplicada e inversamente proporcional à resistência do material (Assiry, Sastry e Samaranyake, 2003). Vários fatores influenciam a condutividade elétrica, incluindo a concentração de portadores de carga, a quantidade de carga que possuem (número de carga) e, especialmente, sua mobilidade. A mobilidade dos portadores de carga é calculada como a razão de sua velocidade de deriva sob a influência de um campo elétrico para a intensidade desse campo, representada por E (Figura e Teixeira, 2023).

A taxa de aquecimento ôhmico é controlada pela condutividade elétrica ou resistência geral dos alimentos. Para alcançar a temperatura desejada no produto, é essencial manter um equilíbrio apropriado entre corrente e voltagem. Em materiais altamente condutores, como metais, há um grande fluxo de corrente, mesmo que o gradiente de voltagem seja limitado. Por outro lado, em isolantes ou materiais altamente resistivos, como madeira, o fluxo de corrente é mínimo, mesmo com gradientes de voltagem elevados. Vale observar que, em ambas as situações, a geração de calor pode ser insuficiente. Portanto, existem limites nos valores de condutividade elétrica para garantir uma geração de calor adequada. Qualquer desvio nos valores de condutividade elétrica dentro dessa faixa para materiais alimentícios pode representar um desafio no processo de aquecimento (Ramaswamy *et al.*, 2014).

A condutividade elétrica, representada por σ , é um fator importante que influencia a eficiência do aquecimento ôhmico (OH), indicando a capacidade de um material conduzir eletricidade em relação à área, gradiente de potencial e

tempo, medida em Siemens por metro ($S.m^{-1}$) no Sistema Internacional de Unidades. Além disso, a condutividade elétrica (σ) é o inverso da resistividade do material (ρ), como pode ser observado na Equação 1:

$$\sigma = \frac{I.L}{A.V} = \frac{1}{\rho} \quad \text{Equação 1}$$

Onde I é a corrente alternada (A), L é a distância entre os eletrodos (m), A é a área de seção transversal perpendicular ao fluxo de corrente elétrica (m^2) e V é a voltagem aplicada.

As proteínas apresentam propriedades elétricas interessantes, sendo a condutividade elétrica a mais importante para o aquecimento ôhmico. Em aplicações como o aquecimento ôhmico na indústria alimentícia, a condutividade elétrica desempenha um papel fundamental. Quando se trata de processamento elétrico de alimentos, como para aquecimento, esterilização ou permeabilização de membranas celulares, geralmente envolve a aplicação de corrente alternada. No caso de materiais sólidos caracterizados por uma estrutura fibrosa, a condutividade elétrica pode apresentar valores variados ao longo de diferentes direções espaciais. Esse fenômeno é denominado anisotropia da condutividade elétrica (Figura e Teixeira, 2023).

2.3. Aquecimento ôhmico

Também conhecido como aquecimento Joule, é o resultado da passagem de uma corrente elétrica através do material a ser tratado, gerando calor interno. Isso envolve a conversão de energia elétrica em energia térmica. Em contraste com outros métodos, essa abordagem requer a inserção de eletrodos em contato direto com o alimento (uma característica ausente em técnicas como micro-ondas e aquecimento por indução), bem como o controle da frequência aplicada e o tipo de onda utilizada, que geralmente é senoidal (Jaeger *et al.*, 2016).

O princípio do método envolve a condução de corrente alternada através de um produto alimentício, com o objetivo principal de gerar calor dentro do produto. O aquecimento ôhmico difere de outros métodos de aquecimento elétrico devido à inclusão de eletrodos que entram em contato direto com o alimento e à

variação na frequência e tipo de onda que podem ser aplicados, além da vantagem de aquecer o material mais rapidamente com distribuição de calor uniforme (Proctor, 2018).

No aquecimento ôhmico, também conhecido como aquecimento Joule, o movimento de moléculas carregadas desempenha um papel fundamental na geração de calor nos alimentos. Quando uma corrente elétrica passa por um material condutor, o deslocamento de cargas dentro do material resulta na agitação de moléculas e átomos presentes no sistema. Durante esse processo de agitação, partículas carregadas colidem e interagem, levando a um aumento na temperatura. Em condutores metálicos, as cargas móveis são elétrons. No entanto, nos alimentos, as partículas que migram em direção ao eletrodo de polaridade oposta são íons ou moléculas carregadas, como proteínas. Como a corrente elétrica que passa pelos alimentos é alternada, íons e moléculas continuam a se mover constantemente (Guo *et al.*, 2017).

O calor é gerado como resultado direto da resistência do material à passagem da corrente elétrica. Os mecanismos primários do aquecimento ôhmico são o efeito Joule. O aquecimento ôhmico é uma manifestação do efeito Joule, que é uma maneira de transformar energia elétrica em energia térmica. Quando uma corrente elétrica flui através de um material com resistência elétrica, elétrons colidem com átomos e íons do material, dissipando energia na forma de calor. Essa colisão entre elétrons e partículas do material resulta em agitação térmica, aquecendo o material (Icier e Ilicali, 2005; Proctor, 2018). A resistência elétrica é uma propriedade inerente do material que determina a dificuldade que a corrente elétrica encontra ao passar por ele. Materiais com alta resistência elétrica, como fios finos e elementos de aquecimento, produzem mais calor quando a corrente elétrica passa por eles, enquanto materiais com baixa resistência, como metais condutores, produzem menos calor (Figura e Teixeira, 2023). A taxa local de geração de calor é governada pela interação entre a intensidade do campo elétrico local e a condutividade elétrica local (De Alwis e Fryer, 1992).

Em alimentos, o aquecimento ôhmico é altamente eficiente em termos de energia, convertendo eletricidade diretamente em calor dentro do alimento. Além

disso, permite um controle preciso da temperatura, sendo importante para a segurança alimentar e a qualidade do produto. O aquecimento ôhmico também resulta em menor perda de nutrientes em comparação com métodos térmicos mais agressivos, devido ao menor tempo de processo e aquecimento uniforme tornando-o uma escolha atraente para preservar o valor nutricional dos alimentos (Makroo; Rastogi; Srivastava, 2020). Além disso, sua eficácia na redução de microrganismos pode diminuir a necessidade de aditivos químicos ou conservantes (Varghese *et al.*, 2014). A Tabela 1 mostra as principais vantagens e desvantagens do aquecimento ôhmico no processamento de alimentos (Alkanan *et al.*, 2021; Ramaswamy *et al.*, 2014; Varghese *et al.*, 2014).

Tabela 1 – Vantagens e desvantagens da utilização do aquecimento ôhmico no processamento de alimentos.

Vantagens	Desvantagens
<p>Aquecimento Rápido e Uniforme: O aquecimento ôhmico pode aquecer alimentos de forma rápida e uniforme, evitando pontos quentes e frios. Isso ajuda a manter a qualidade do produto final.</p>	<p>Altos Custos Iniciais: A instalação de equipamentos de aquecimento ôhmico pode ser cara, o que pode ser uma barreira para pequenas empresas de processamento de alimentos.</p>
<p>Eficiência Energética: Comparado a alguns métodos convencionais de aquecimento, o aquecimento ôhmico pode ser mais eficiente em termos de energia, pois converte</p>	<p>Possíveis Problemas de Qualidade: Dependendo da composição do alimento e das condições de processamento, o aquecimento ôhmico pode afetar indesejavelmente a textura, cor e sabor dos alimentos. Outra</p>

<p>eletricidade diretamente em calor no alimento</p>	<p>preocupação é a migração de íons metálicos dos eletrodos para o alimento.</p>
<p>Controle Preciso de Temperatura: O controle preciso de temperatura durante o aquecimento ôhmico é possível, sendo importante para garantir a segurança alimentar e a qualidade do produto final.</p>	<p>Requer Alimentos Condutivos: O aquecimento ôhmico funciona melhor com alimentos que são bons condutores elétricos. Alimentos com baixa condutividade elétrica (como aqueles ricos em gorduras) podem ser menos eficazes nesse processo.</p>
<p>Redução da Perda de Nutrientes: Em alguns casos, o aquecimento ôhmico pode resultar em menos perda de nutrientes em comparação com métodos de processamento térmico mais agressivos, como fervura prolongada.</p>	<p>Necessidade de Monitoramento Técnico: Devido à precisão necessária no controle de temperatura, os processos de aquecimento ôhmico demandam monitoramento técnico constante, o que pode aumentar os custos operacionais.</p>
<p>Redução da Necessidade de Aditivos: Como o processo é rápido e eficaz na redução de microrganismos, pode haver uma redução na necessidade de aditivos químicos ou conservantes.</p>	<p>Potencial para Queimaduras Elétricas: Há risco de choque elétrico ao usar equipamentos de aquecimento Ôhmico, exigindo a implementação de medidas de segurança apropriadas</p>

No entanto, a instalação de equipamentos de aquecimento ôhmico pode ser custosa, o que pode ser uma barreira para pequenas empresas de processamento de alimentos. Além disso, o processo pode afetar a textura, cor e sabor dos alimentos, dependendo da composição e das condições de processamento, o que pode ser indesejável (Guo *et al.*, 2017; Jaeger *et al.*, 2016). A precisão necessária no controle de temperatura exige monitoramento técnico constante, o que aumenta os custos operacionais. Há também um risco de choque elétrico no uso de equipamentos de aquecimento ôhmico, exigindo a implementação de medidas de segurança adequadas (Varghese *et al.*, 2014)

2.3.1. Aquecimento ôhmico aplicado a alimentos

Diferentemente de outras técnicas de aquecimento, o aquecimento ôhmico necessita da inserção de eletrodos que fazem contato direto com os alimentos, uma característica que o distingue de métodos como o aquecimento por micro-ondas e o aquecimento indutivo. Além disso, é essencial controlar a frequência (f) e o tipo de onda (λ) aplicados, geralmente sendo uma onda senoidal por ser mais eficiente em termos de transmissão e distribuição de energia elétrica. Portanto, a utilização de uma forma de onda senoidal no aquecimento é uma escolha prática e eficiente. Além disso possui a capacidade de aquecer o material de maneira mais rápida e eficaz, resultando numa distribuição homogênea de calor (Alkanan *et al.*, 2021; Guo *et al.*, 2017; Jaeger *et al.*, 2016).

Priyadarshini *et al.*, (2023), conduziu um estudo com o objetivo de aplicar o branqueamento convencional e ôhmico em cubos de manga e comparar suas propriedades físicas, estruturais e funcionais. De acordo com os resultados obtidos, puderam observar que o branqueamento por aquecimento ôhmico apresentou menor tempo de aquecimento sendo 40 a 110 segundos para atingir 90 °C e o branqueamento convencional 130 segundos. O branqueamento convencional causou uma redução maior de compostos bioativos do que o realizado por aquecimento ôhmico, especialmente a 20 V/cm, devido aos efeitos térmicos não uniformes no tratamento convencional. As análises de microscopia eletrônica de varredura revelaram que o método convencional afetou

significativamente a morfologia das amostras de cubo de manga em comparação com o aquecimento ôhmico. Além disso, o aquecimento ôhmico demonstrou a mais alta atividade de eliminação de radicais livre estáveis DPPH entre todas as amostras branqueadas. Portanto, mostrando que o aquecimento ôhmico obteve melhores resultados no processamento de cubos de mangas

O estudo realizado por Wongsanngasri; Sastry, (2015), investigou o impacto da intensidade do campo elétrico, da concentração de NaCl, da temperatura inicial do NaCl e do número de tomates no processo de descascamento e na qualidade dos tomates. Resultados promissores foram observados para o pré-tratamento ôhmico em baixas concentrações de NaCl (0,01–0,03 g/100 ml) para a casca de tomate. A intensidade do campo, a concentração de NaCl, a temperatura inicial e a quantidade de frutos tiveram influência significativa no tempo de quebra da casca. As melhores condições para o descascamento ôhmico foram 0,01 g/100 ml de NaCl com intensidades de campo de 8.060 e 9.680 V/m, e 0,03 g/100 mL de NaCl com intensidades de campo de 6.450 e 8.060 V/m. O processo por aquecimento ôhmico oferece uma alternativa sustentável, usando apenas uma concentração mínima de NaCl, produzindo tomates pelados de qualidade comparável ao descascamento com soda cáustica.

De acordo com Poojary *et al.*, (2016), a redução da atividade da pectinametilesterase-PME se torna necessária para a estabilidade da turvação de sucos de frutas turvos. Doan *et al.*, (2021) observou que em suco de pomelo houve uma maior inativação de pectinametilesterase-PME no tratamento com aquecimento ôhmico (30 V/cm a 60, 70, 80 e 90 °C) quando comparado com o aquecimento convencional (60, 70, 80 e 90 °C).

2.3.2. Aquecimento ôhmico aplicado a proteínas alimentares

Durante o aquecimento ôhmico, vários fenômenos podem ocorrer, como a agregação de proteínas, a formação de novas ligações moleculares, rearranjo de pontes dissulfeto, clivagem de ligações peptídicas e modificação química de aminoácidos dentro da estrutura da proteína (Ashaolu, 2020). Essas modificações

podem ter um impacto significativo nas propriedades funcionais e estruturais das proteínas, afetando aspectos como textura, estabilidade e outras características de produtos alimentícios processados termicamente (Pereira *et al.*, 2021).

Wang *et al.*, (2022), avaliaram os efeitos do aquecimento ôhmico e convencional em alterações estruturais, térmicas e físicas em filmes comestíveis de isolado de proteína de soja. A frequência elétrica para o tratamento foi de 50 Hz, e as intensidades de campo elétrico usadas para o tratamento ôhmico foram 3, 6, 9 e 12 V·cm⁻¹, comparadas ao aquecimento convencional. Os filmes aquecidos ohmicamente apresentaram redução no teor de alfa hélice, aumento no teor de espiral aleatória, tamanho médio de partícula menor, menor intensidade de fluorescência e maior hidrofobicidade superficial.

O estudo realizado por Subaşı *et al.*, (2021), teve como objetivo avaliar as mudanças estruturais, térmicas e físicas no isolado de proteína de girassol em comparação com o caseinato de sódio quando submetidos à aplicação de campo elétrico moderado (MEF) não térmico. As estruturas secundárias e terciárias da proteína de girassol mudaram principalmente quando submetidas a 150 V cm⁻¹ por 20 s V20, adquirindo uma estrutura mais volumosa e flexível, e aumentando a hidrofobicidade superficial.

Pereira *et al.* (2021) investigou o efeito do aquecimento ôhmico na estrutura e propriedades imunorreativas da proteína alergênica inibidora de tripsina de soja (STI), também conhecida como Gly m TI. Aplicações de aquecimento ôhmico em frequências que variam de 50 a 500 Hz levaram a alterações conformacionais nas frações de proteína de soja, como evidenciado pela redução da fluorescência de aminoácidos aromáticos. Esse efeito pode estar diretamente associado à formação de complexos com metais presentes na solução proteica durante o aquecimento ôhmico. No entanto, há uma falta de informações detalhadas sobre como variáveis elétricas, campo elétrico e frequência, afetam as frações de proteína de soja nesse contexto específico.

No estudo realizado por De Figueiredo Furtado *et al.*, (2018), o impacto do aquecimento ôhmico e convencional na estrutura secundária e na subsequente agregação térmica da lactoferrina foi avaliado. Tanto o aquecimento ôhmico

quanto o convencional influenciaram o desdobramento térmico e a agregação de moléculas de lactoferrina. O aquecimento ôhmico provavelmente afetou a flexibilidade molecular ou a estabilidade dos grupos hidrofóbicos da lactoferrina resultando em menor formação agregados em comparação com o aquecimento convencional. A diferença nos padrões de agregação foi confirmada por um aumento menor no tamanho de partícula, turbidez, fluorescência intrínseca e extrínseca, e um sinal dicróico distinto, impactando as propriedades estruturais e mecânicas das emulsões preparadas.

Rodrigues *et al.*, (2019) avaliaram o efeito de campos elétricos moderados (MEF) durante o aquecimento ôhmico de frações purificadas de β -lactoglobulina sob diferentes condições de pH e temperatura. Os resultados indicaram que os efeitos MEF são limitados a conformações desdobradas da proteína. Isso sugere que, nas condições específicas testadas, incluindo intensidade do campo elétrico, frequência e período de exposição, as perturbações impostas não são significativas o suficiente para impedir o processo de dobramento da proteína. Assim, os efeitos do MEF parecem agir de maneira sinérgica com os efeitos térmicos. Além disso, sua influência específica e alcance variaram de acordo com o pH, o que pode estar relacionado à flexibilidade da β -lactoglobulina em resposta às condições ambientais. Essas descobertas apoiam teorias apresentadas em outros estudos, que já haviam demonstrado que o MEF impacta a agregação e gelificação de proteínas do soro (Haraguchi, F. K.; Abreu, W. C. de; Paula, H. de., 2006).

Rodrigues *et al.*, (2015) avaliou a formação de agregados solúveis de proteína do soro do leite isolada em condições de pH próximo ao neutro, tanto na presença quanto na ausência de MEF. Os resultados indicaram que a aplicação de campos elétricos moderados impacta nos processos de desdobramento e agregação da proteína do soro do leite em temperaturas relativamente altas. Após o aquecimento a 85°C por 30 segundos, os tratamentos com campos elétricos moderados resultaram em soluções de isolado de proteína do soro do leite com uma maior quantidade de β -lactoglobulina (8%) e α -lactoalbumina (10%) em sua forma nativa, em comparação com um método de aquecimento tradicional. Os agregados proteicos em soluções tratadas com um campo elétrico moderado aumentaram até 78 nm, enquanto o aquecimento convencional levou a um

aumento de 86 nm no tamanho desses agregados. A agregação de proteínas do soro do

leite sob a influência do campo elétrico moderado não foi intensa o suficiente para criar uma rede de gel elástica. Isso se deve às reduções nos valores dos módulos de armazenamento e de perda após o tratamento com o campo elétrico moderado.

2.3.3. Efeito na estrutura secundária das proteínas

A estrutura secundária das proteínas é definida pelo arranjo repetitivo de cadeias polipeptídicas em elementos estruturais que incluem alfa hélices, folhas beta e outras configurações menos comuns (Johnson, 1988). A importância da estrutura secundária das proteínas é evidente em sua contribuição fundamental para compreender sua organização tridimensional e função, impactando significativamente sua funcionalidade. Por exemplo, a conformação da estrutura secundária de uma proteína pode influenciar diretamente a formação de sítios ativos, interações com outras proteínas e sua estabilidade em diferentes condições (Jiang *et al.*, 2017).

O aquecimento ôhmico tem sido explorado como uma técnica para modificar a estrutura secundária de proteínas alimentares. Um dos efeitos notáveis do aquecimento ôhmico é a desnaturação dessas proteínas, resultando na perda de sua estrutura secundária nativa (Miranda *et al.*, 2023). Esse fenômeno ocorre devido ao aumento da temperatura, que quebra as interações não covalentes responsáveis por manter a estrutura secundária, como ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas (Bischof e He, 2006). É importante destacar que a desnaturação térmica de proteínas alimentares pode ser acompanhada por mudanças em sua estrutura secundária, que inclui hélices alfa, folhas beta e outras conformações (Indiarto e Rezaharsanto, 2020). Além disso, o aquecimento ôhmico pode promover a reestruturação parcial de proteínas alimentares quando resfriadas sob condições específicas de processo. Isso pode ser benéfico para criar texturas desejadas em produtos de origem vegetal, como hambúrgueres e salsichas *plant-based*. No entanto, o comportamento das

proteínas vegetais em resposta ao aquecimento ôhmico pode variar dependendo de sua fonte.

Em um estudo conduzido por Miranda *et al.* (2023), os impactos de vários processos térmicos, incluindo o aquecimento convencional e o aquecimento ôhmico, na estrutura de proteínas de lentilhas e suas interações com a pectina foram investigados. Os resultados revelaram que os processos térmicos têm o potencial de remodelar a estrutura das proteínas de lentilhas, sendo a extensão dessas modificações intrinsecamente ligada à temperatura de tratamento, à intensidade do campo elétrico aplicado e ao pH utilizado na extração da fração proteica. É importante observar que as proteínas extraídas de lentilhas a pH 9 demonstraram notável estabilidade a variações de temperatura durante o aquecimento ôhmico, sugerindo potenciais aplicações industriais envolvendo variações térmicas. Além disso, a aplicação de um campo elétrico de baixa intensidade (5 V/cm) resultou em aumento da superfície hidrofóbica e acessibilidade aos grupos sulfidril das proteínas. Essas mudanças estruturais específicas, incluindo sua possível influência no teor de alfa hélice e folha beta, foram evidências significativas do impacto do aquecimento ôhmico. Esse estudo ofereceu uma contribuição relevante para compreender as implicações do aquecimento ôhmico em proteínas vegetais e suas interações, abrindo perspectivas para otimizar processos industriais e desenvolver alimentos à base de lentilhas com características estruturais específicas.

Joeres *et al.* (2023) conduziram uma análise detalhada para avaliar o impacto do aquecimento ôhmico em comparação com o aquecimento convencional nas propriedades de géis de proteína isolada de batata enriquecidos com patatina. Essa proteína é de grande interesse na indústria alimentícia devido à sua notável funcionalidade proteica. Os resultados destacaram que o aquecimento ôhmico, como método de aquecimento, demonstrou uma habilidade superior em preservar a integridade da patatina nativa quando comparado ao aquecimento convencional. Essa observação foi corroborada por análises de SDS-PAGE e cromatografia de permeação em gel, que confirmaram uma maior preservação da patatina nativa após o tratamento ôhmico. Além disso, o uso de ensaios de espectroscopia infravermelha por transformada de Fourier revelou modificações significativas nas estruturas de folhas beta presentes nos géis

submetidos ao aquecimento ôhmico. Essas mudanças estruturais resultaram em géis com menor rigidez. Assim, é evidente que modificações na estrutura secundária da proteína influenciam as propriedades e funcionalidades dos géis produzidos por meio do aquecimento ôhmico. Essas descobertas enfatizam a importância dessas alterações estruturais como um fator determinante no desenvolvimento de alimentos e produtos com características específicas.

Em determinadas condições, o aquecimento ôhmico pode induzir a agregação de proteínas, fazendo com que múltiplas moléculas de proteína se unam devido a interações entre suas cadeias laterais (Petruccelli e Anon, 1995). Esse processo pode resultar na formação de partículas maiores e afetar as propriedades reológicas da proteína, o que é relevante na produção de alimentos.

Outra modificação importante nas ligações químicas de proteínas tratadas com aquecimento ôhmico é o dobramento das cadeias peptídicas. Isso ocorre porque a energia proveniente de ondas eletromagnéticas pode quebrar as ligações covalentes entre os aminoácidos, resultando na formação de produtos de degradação e na perda da atividade biológica das proteínas (Adey, 1993; Han *et al.*, 2018). Além disso, o calor gerado pelo aquecimento ôhmico pode causar modificações nos grupos funcionais das moléculas de proteína, como os grupos sulfidríla (-SH) presentes na cisteína. Essas modificações químicas podem impactar na solubilidade, reatividade e funcionalidade da proteína (Glazer, 1970; Van Der Plancken *et al.*, 2005).

O estudo realizado por Li *et al.* (2018) investigou os efeitos do aquecimento ôhmico no leite de soja, com foco nas alterações nas ligações químicas das proteínas. Foram feitas comparações detalhadas entre o aquecimento ôhmico e o aquecimento tradicional por resistência usando diferentes níveis de voltagem (17, 23, 30 e 37 V/cm). Os resultados mostraram mudanças significativas nas propriedades das proteínas do leite de soja submetidas ao aquecimento ôhmico, incluindo um aumento de 14% no número de grupos amino livres, indicando modificações nas ligações químicas. Além disso, houve uma diminuição no conteúdo total de grupos sulfidríla e na hidrofobicidade da superfície. Essas descobertas destacam o impacto do aquecimento ôhmico nas propriedades

químicas das proteínas, sugerindo que as ligações intramoleculares passam por mudanças substanciais durante o processo.

Pereira *et al.* (2021) ampliaram a compreensão do aquecimento ôhmico ao explorar seu impacto em diferentes frequências elétricas (50 Hz a 20 kHz) e intensidades moderadas de campo elétrico (até 20 V/cm) no isolado proteico de soja (IPS). Observou-se que o aquecimento ôhmico a 50 Hz e 95 °C causou mudanças significativas na fluorescência intrínseca do IPS, bem como a liberação de quantidades detectáveis de Fe/Ni. Esse fenômeno resultou em uma redução de 36% na imunorreatividade da Gly m TI, indicando um impacto nas ligações químicas e na interação entre proteínas e metais traços. Assim, essa pesquisa fornece insights sobre como os parâmetros do aquecimento ôhmico, como frequência elétrica e reações eletroquímicas, podem influenciar a estrutura e imunorreatividade das frações de IPS, enfatizando a complexidade das mudanças físico-químicas causadas pelo aquecimento ôhmico. É importante destacar que o efeito do aquecimento ôhmico em proteínas alimentares pode variar consideravelmente dependendo das condições de processamento, incluindo temperatura, tempo de exposição e concentração de proteína. Portanto, otimizar esses parâmetros é essencial para atender às necessidades específicas do produto final.

2.4. Propriedades tecno-funcionais

As propriedades tecno-funcionais das proteínas alimentares estão relacionadas a várias aplicações industriais, incluindo a formulação de alimentos de origem vegetal. Entre as principais propriedades funcionais das proteínas, destacam-se a capacidade de absorção de água, solubilidade, absorção de óleo, formação de emulsões, viscosidade e textura (Nikbakht Nasrabadi *et al.*, 2021; Venkateswara Rao *et al.*, 2023).

O pH, a temperatura e diferentes métodos de processamento afetam as propriedades tecno-funcionais das proteínas alimentares (Venkateswara Rao *et al.*, 2023) o podendo comprometer sua capacidade de absorção de água e estabilidade em emulsões. Da mesma forma, a temperatura pode levar a

alterações na solubilidade das proteínas, afetando sua aplicabilidade em formulações de alimentos (Nunes e Tavares, 2019).

Nesse contexto, aprimorar as características tecno-funcionais das proteínas alimentares emerge como um campo de pesquisa. Dentre as tecnologias emergentes utilizadas para modificação de proteínas, como ultrassom, plasma frio, o aquecimento ôhmico se apresenta como uma técnica promissora para realizar modificações físicas na estrutura das proteínas, impactando positivamente em suas propriedades funcionais. O aquecimento ôhmico tem mostrado grande potencial em melhorar a solubilidade, capacidade de absorção de água e viscosidade de proteínas alimentares (Cha, 2011; Joeres *et al.*, 2022, 2023), tornando-as mais adequadas para diversas aplicações na indústria alimentícia.

2.4.1. Capacidade de retenção de água e solubilidade

A capacidade de absorção de água refere-se à habilidade das proteínas interagirem com a água, absorvê-la e criar uma matriz aquosa. Essa propriedade tem uma influência direta na textura, estabilidade, viscosidade e funcionalidade das proteínas alimentares durante o processamento de alimentos.

No contexto do aquecimento ôhmico, quando as proteínas passam por esse processo, ocorrem transformações notáveis em sua estrutura e funcionalidade, impactando significativamente a capacidade de absorção de água (Jaeger *et al.*, 2016). Durante o aquecimento ôhmico, campos elétricos de alta frequência geram calor internamente nas proteínas. Esse calor leva à desnaturação das proteínas, expondo grupos hidrofílicos que eram previamente inacessíveis. Como resultado, as proteínas alimentares ficam mais predispostas a interagir com a água e a adsorvê-la de maneira mais eficiente (Jaeger *et al.*, 2016). Além disso, o aquecimento ôhmico também pode favorecer a quebra de ligações não covalentes em proteínas, tornando-as mais suscetíveis à interação com a água.

Por outro lado, a solubilidade refere-se à capacidade de peptídeos ou proteínas se dissolverem em uma solução saturada, equilibrando-se com outras substâncias sólidas como sais em condições específicas de temperatura e pH. Este parâmetro desempenha um papel crítico na indústria alimentícia, pois afeta propriedades funcionais essenciais como emulsificação e formação de espuma. O aquecimento ôhmico destaca-se como uma técnica promissora para modificar a solubilidade de proteínas alimentares, uma vez que promove modificações estruturais nessas moléculas, tornando-as mais suscetíveis para interagir efetivamente com a água e outros componentes alimentares. Como resultado, a solubilidade melhora, possibilitando a formulação de produtos mais estáveis (Jaeger *et al.*, 2016).

A melhoria da solubilidade proteica está associada a modificações conformacionais que ocorrem durante o processamento térmico, como a desnaturação parcial e a exposição de grupos hidrofílicos originalmente localizados no interior da estrutura tridimensional da proteína. Durante o aquecimento ôhmico, o calor gerado induz a ruptura de interações não covalentes, como pontes de hidrogênio, interações hidrofóbicas e forças de Van der Waals, promovendo mudanças da cadeia polipeptídica. Esse efeito facilita a exposição de resíduos polares, principalmente grupos amina e carboxila, aumentando sua afinidade com a água e, conseqüentemente, sua solubilidade. Além disso, a liberação de domínios anteriormente estruturados pode permitir maior mobilidade e interação da proteína com o meio, o que contribui para propriedades tecnológicas aprimoradas, como emulsificação (Bischof e He, 2006; Indiartho e Rezaharsanto, 2020; Miranda *et al.*, 2023).

2.4.2. Capacidade de Retenção de Óleo e Emulsificação

O aquecimento ôhmico pode impactar as propriedades emulsionantes de proteínas alimentares, embora o efeito dependa de vários fatores, incluindo o tipo de proteína, condições de aquecimento e o sistema emulsionado em questão. Aqui estão algumas maneiras pelas quais o aquecimento ôhmico pode afetar as propriedades emulsionantes de proteínas alimentares (Kasapis *et al.*, 2009): i)

mudanças na carga líquida da proteína; ii) alteração do ponto isoelétrico; iii) desnaturação da proteína; iv) solubilidade da proteína; v) modificações nas interações proteína-água; e vi) alterações nas propriedades interfaciais.

O aquecimento ôhmico pode influenciar a carga líquida das proteínas, já que a carga está relacionada ao pH do meio. Quando essas mudanças estão próximas ao pH do ponto isoelétrico, as proteínas têm menor solubilidade em água, o que pode afetar a interação eletrostática entre as proteínas e as moléculas de óleo. A repulsão eletrostática e a interferência estérica desempenham um papel importante na manutenção da estabilidade das gotículas de óleo (Kasapis *et al.*, 2009). Quando as proteínas passam pelo aquecimento ôhmico, essas ligações químicas podem ser quebradas ou novas ligações podem se formar, alterando sua conformação e interação com as gotículas de óleo (Li *et al.*, 2018).

O aquecimento ôhmico geralmente envolve a aplicação direta de calor aos alimentos que pode resultar na desnaturação das proteínas e, conseqüentemente, afetar e sua capacidade emulsionante (Moreira *et al.*, 2019).

O aquecimento ôhmico altera as propriedades de superfície das proteínas, afetando sua capacidade de absorver óleo. A formação de novos grupos funcionais na superfície da proteína ou mudanças em sua hidrofobicidade pode influenciar positiva ou negativamente a absorção de óleo (De Figueiredo Furtado *et al.*, 2018).

2.4.3. Viscosidade

No contexto das tecnologias emergentes, o aquecimento ôhmico surge como uma abordagem promissora, especialmente adequada para aplicações em fluidos altamente viscosos ou sistemas contendo partículas sólidas. Uma característica distintiva dessa técnica é sua eficácia em aquecer tanto as fases líquida quanto sólida de um produto de maneira equilibrada, minimizando assim as perdas na qualidade dos alimentos (Rocha *et al.*, 2022; Rosa *et al.*, 2023). Ferreira (2019) investigou o efeito do aquecimento ôhmico em bebidas lácteas de framboesa, aplicando diferentes combinações de voltagem e frequência. Os

resultados indicaram que tratamentos com frequências de 10 Hz e 1000 Hz a 25 V promoveram um aumento na viscosidade das bebidas, atribuído à maior agregação de partículas e formação de estruturas proteicas mais complexas. Esse aumento na viscosidade está relacionado à desnaturação parcial das proteínas do soro do leite, que expõem regiões hidrofóbicas, facilitando interações intermoleculares e formação de redes tridimensionais. Por outro lado, tratamentos com voltagens mais altas (45, 60 e 80 V a 60 Hz) resultaram em menor viscosidade, possivelmente devido à degradação de estruturas proteicas sensíveis ao calor intenso.

No estudo conduzido por Cappato (2018), bebidas lácteas saborizadas com acerola foram submetidas a diferentes combinações de voltagem e frequência por AO, visando avaliar alterações físico-químicas e reológicas. Os resultados indicaram que tratamentos com voltagens mais baixas (≤ 45 V) e frequências reduzidas (≤ 100 Hz) promoveram um aumento significativo na viscosidade das bebidas. Esse comportamento foi atribuído à formação de agregados proteicos induzidos por desnaturação térmica leve e subsequente exposição de regiões hidrofóbicas das proteínas do soro, favorecendo interações intermoleculares e retenção de água, resultando em uma matriz mais densa. Por outro lado, tratamentos com voltagens e frequências mais elevadas levaram a uma diminuição na viscosidade, possivelmente devido à degradação proteica ou à ruptura de estruturas agregadas pela intensidade térmica.

Em um estudo que utilizou o aquecimento ôhmico para processar soro de leite doce, tanto as amostras processadas pelo ôhmico quanto as convencionais exibiram comportamento pseudoplástico (Costa *et al.*, 2018). Parâmetros reológicos, determinados com alta precisão ($0,990 < R^2 < 0,997$), não mostraram diferenças significativas no índice de consistência entre as amostras que apresentaram valores próximos a de 6,8 mPa·s. No entanto, uma das amostras mostrou um aumento de aproximadamente 50% no índice de consistência em comparação com o grupo de controle, com um valor de 9,49 mPa·s, em vez de 6,00 mPa·s. Embora não tenha havido diferenças significativas, uma das amostras mostrou comportamento pseudoplástico ligeiramente mais pronunciado, indicando maior viscosidade e desnaturação mais intensa de proteínas. Essa

viscosidade aumentada foi atribuída a interações dipolares entre a água e os componentes do soro.

De acordo com as conclusões destacadas por Rocha *et al.*, 2023, a aplicação do aquecimento ôhmico com intensidades elétricas amplificadas permite o desenvolvimento de uma bebida láctea com sabores mais congruentes com os atributos do leite fresco, ao mesmo tempo em que atenua a intensidade do sabor amargo. Por outro lado, quando campos elétricos de baixa intensidade são usados durante o procedimento, os produtos resultantes tendem a exibir nuances de sabor mais pronunciadas, aumento da viscosidade e uma maior proeminência de grumos. Deve-se notar que tanto efeitos térmicos quanto não térmicos podem ter contribuído para a desnaturação de proteínas mais pronunciada no soro e a formação de agregados proteicos (Sereechantarek *et al.*, 2021).

2.4.4. Textura

Nos últimos anos, houve um aumento significativo no desenvolvimento de produtos alimentares à base de proteínas, impulsionado pelas demandas em evolução de uma nova geração de consumidores. As proteínas vegetais desempenham um papel crucial nesse contexto, pois têm o potencial de cumprir diversas funções, como texturização e gelificação, que dependem em grande parte de sua estrutura proteica (Joshi *et al.*, 2017; Miranda *et al.*, 2022). É importante observar que o tratamento térmico de alimentos ricos em proteínas é uma etapa fundamental no processamento de alimentos, influenciando significativamente as propriedades texturais do produto final (Joeres *et al.*, 2022, 2023).

Géis de proteína tratados com aquecimento ôhmico exibem propriedades de gel únicas, mostrando uma textura notavelmente distinta em comparação com géis de proteína tratados convencionalmente. Essas propriedades distintas têm grande potencial para o desenvolvimento de abordagens inovadoras, especialmente no que diz respeito à criação de novos produtos alimentares e à exploração de aplicações promissoras.

Interações hidrofóbicas e forças eletrostáticas são requisitos para o desenvolvimento de uma rede proteica tridimensional e, conseqüentemente, para a formação de gel (McMahon *et al.*, 2009). Quando combinados, campos elétricos moderados e tratamento térmico (como no aquecimento ôhmico) levam a perturbações e rearranjos de resíduos hidrofóbicos e redistribuições de carga, afetando o estabelecimento de uma rede tridimensional (Moreira *et al.*, 2019).

Joeres *et al.* (2023), investigaram o impacto de campos elétricos moderados nas características de géis de isolado de proteína de batata usando tanto aquecimento ôhmico quanto aquecimento convencional, identificaram variações significativas nos atributos texturais, especialmente funcionalidade de gelificação e rigidez do gel. As propriedades distintivas dos géis de isolado de proteína de batata produzidos através do aquecimento ôhmico são vantajosas no desenvolvimento de novos produtos alimentares, especialmente quando se busca obter géis com menor rigidez. Géis resultantes do aquecimento ôhmico foram mais suaves e flexíveis do que aqueles tratados convencionalmente, apoiando as conclusões dos autores. Além disso, os resultados sugerem que o aquecimento ôhmico pode ser eficaz na preservação de proteínas durante o tratamento térmico, minimizando a desnaturação, tornando-o adequado para a indústria de alimentos. Como mencionado anteriormente, a formação de uma rede menos densa, provavelmente devido a perturbações durante a agregação de proteínas e gelificação resultantes do aquecimento ôhmico, leva a estruturas de gel mais flexíveis devido à redução de interações hidrofóbicas na matriz proteica, resultando em impactos observáveis nas propriedades texturais do gel (Joeres *et al.*, 2023; Moreira *et al.*, 2019).

O estudo conduzido por Joeres *et al.* (2022) descreve os géis produzidos através do aquecimento ôhmico como exibindo características de gel fluido ou tendo uma textura de estado de pró-gel. Isso ocorre porque o aquecimento ôhmico não é capaz de induzir uma rede elástica genuína. Os autores enfatizam que essas descobertas podem ser de grande relevância no desenvolvimento de produtos alimentares inovadores, especialmente em relação à textura e à incorporação de componentes nutracêuticos solubilizados, cujo acesso pode ser otimizado.

Além disso, observa-se que géis tratados com aquecimento ôhmico fornecem uma maior quantidade de proteína nativa, que permanece solúvel na água retida dentro da matriz de gel. É importante destacar que géis fluidos exibem domínios de rede menores, cercados por uma fase não gelada, resultando em propriedades de gel espalhado ou despejado (Cassanelli *et al.*, 2018).

Outros esforços de pesquisa são dedicados a explorar processos de aquecimento ôhmico com foco em leite de soja e outras matérias-primas, visando induzir coagulação para a produção de tofu. Esses estudos revelaram um efeito benéfico nas propriedades texturais do produto (Shimoyamada *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2007).

Com base nas mudanças texturais associadas a proteínas animais, o estudo apresentado em Llave *et al.* (2018) realizou uma análise abrangente para investigar o tratamento de músculos de vieiras usando aquecimento ôhmico a uma frequência de 20 kHz, juntamente com dois métodos distintos de *sous-vide*. O objetivo principal do estudo foi avaliar os efeitos desses tratamentos na desnaturação térmica de proteínas e nas mudanças nos atributos de qualidade dos músculos de vieiras. Os resultados obtidos indicaram que tanto o aquecimento ôhmico quanto o método *sous-vide* resultaram em uma redução notável na textura muscular quando submetidos a uma temperatura de 65 °C. Essa diminuição na textura pode ser atribuída à menor desnaturação da proteína actina em comparação com o método *sous-vide* tradicional. Além disso, observou-se que as diferenças na textura eram mais evidentes na superfície dos músculos, sugerindo a presença de uma distribuição não uniforme de temperatura no processo *sous-vide*. O aquecimento ôhmico reduziu efetivamente o tempo de exposição a altas temperaturas, o que, por sua vez, minimizou a desnaturação da proteína actina, resultando em maior retenção de água nos músculos processados.

2.4.5. Capacidade de interação com ligantes

As proteínas alimentares desempenham um papel crucial na funcionalidade dos alimentos, não apenas por suas propriedades estruturais e

nutricionais, mas também por sua capacidade de interagir com diversos compostos bioativos, como polifenóis, vitaminas e compostos voláteis (Ma, Gou e Jing, 2023). Essas interações ocorrem principalmente por forças não covalentes, como interações hidrofóbicas, ligações de hidrogênio e eletrostáticas, influenciando significativamente a estabilidade, biodisponibilidade, solubilidade e propriedades antioxidantes dos compostos envolvidos. Ma, Gou e Jing (2023) destacam que proteínas alimentares, como as de origem animal e vegetal, apresentam alta afinidade com antocianinas, impactando características como cor, sabor e resistência à degradação oxidativa, o que reforça o potencial dessas interações para aplicação em alimentos funcionais.

Além disso, Zhang *et al.* (2023) apontam que a ligação entre proteínas e polifenóis pode provocar alterações conformacionais nas proteínas, afetando sua digestibilidade, solubilidade e até o potencial alergênico, além de modificar a bioatividade dos próprios polifenóis. De forma complementar, Xiu *et al.*, (2025) explicam que essas interações proteína-ligante são altamente influenciadas por fatores como pH, temperatura e presença de enzimas, interferindo diretamente nas propriedades tecnofuncionais e sensoriais dos produtos alimentícios.

Um estudo de Allahdad *et al.*, (2019) (investigou a ligação do β -caroteno com proteínas do soro do leite, como β -lactoglobulina, α -lactoalbumina e albumina sérica bovina. Utilizando técnicas espectroscópicas e de *docking* molecular, os autores observaram que o β -caroteno se liga a essas proteínas principalmente por interações hidrofóbicas, com afinidades variando conforme o pH, temperatura e força iônica do meio. A β -lactoglobulina apresentou a maior constante de ligação, sugerindo sua eficácia como transportadora de β -caroteno em matrizes alimentares. Precupas *et al.*, (2017) investigaram a interação entre o ácido cafeico (AC) e a albumina sérica bovina (BSA) utilizando técnicas como calorimetria de titulação isotérmica, espectroscopia de dicroísmo circular e *docking* molecular. Os resultados indicaram que o AC se liga a dois sítios específicos na BSA, promovendo alterações conformacionais e aumentando a estabilidade térmica da proteína. Além disso, observou-se uma diminuição no conteúdo de α -hélice da BSA em altas concentrações de AC, sugerindo um leve desenrolamento da proteína.

2.5. Aquecimento ôhmico aplicado a proteínas do soro do leite

A formação de gel a partir das proteínas do soro de leite e as características finais do gel estão intimamente relacionadas às propriedades da solução utilizada para criar o gel, como a concentração de proteína, o pH e a força iônica, bem como às variáveis físicas envolvidas no método escolhido para a preparação do gel. O aquecimento ôhmico é uma tecnologia emergente na indústria de processamento de alimentos e sua aplicação na indução de gelificação das proteínas do soro de leite tem mostrado a capacidade de influenciar as propriedades físico-químicas dos géis proteicos além de contribuir para outras propriedades tecnofuncionais como solubilidade, capacidade de se ligar a outros compostos ativos (Rodrigues *et al.*, 2020).

Em um estudo realizado por Icier (2009), sobre mudanças nas características reológicas de soluções reconstituídas de proteína do soro de leite durante o processo de aquecimento ôhmico, variáveis como concentração das soluções (variando de 8 a 24% p/v), temperaturas de tratamento (variando de 20 a 30, 40, 50, 60, 70 e 80 °C) e gradientes de tensão (20, 30 e 40 V/cm), foram testados. Os resultados destacaram que soluções menos concentradas, submetidas ao aquecimento ôhmico, exibiram valores de energia de ativação mais baixos em relação ao tratamento convencional. Isso sugere que os coeficientes de consistência das amostras foram menos afetados pelas variações de temperatura durante o aquecimento ôhmico quando comparados ao processo convencional. Adicionalmente, especulou-se que a presença do campo elétrico possa ter retardado os processos de gelificação e degradação devido ao aquecimento rápido e uniforme, levando a uma redução na consistência das soluções. Outra possibilidade levantada foi que reações eletroquímicas na superfície dos eletrodos podem ter contribuído para a diminuição da consistência das amostras (Icier, 2009).

Rodrigues e colaboradores (2020) realizaram um estudo com o objetivo de avaliar os impactos de um campo elétrico moderado no processo de gelificação e nas propriedades funcionais dos isolados proteicos do soro do leite,

considerando aspectos moleculares e macroscópicos. Nesse estudo, investigou-se o processo de aquecimento ôhmico e suas variáveis intrínsecas de campo elétrico moderado, ou seja, a intensidade e a frequência do campo elétrico, a fim de compreender seu impacto na agregação e gelificação de proteínas durante a formação de géis a frio de isolados proteicos de soro de leite.

A presença da frequência do campo elétrico durante o aquecimento ôhmico, especialmente quando se combinavam forças de frequência do campo elétrico mais elevadas com frequências mais baixas, contribuiu para a formação de agregados de menor tamanho, com menor teor de grupos tiol reativos e viscosidade reduzida. Os géis resultantes desses agregados apresentaram propriedade distintas, influenciadas pelas variáveis da frequência do campo elétrico. Esses tratamentos levaram à formação de géis com estruturas mais finas, menor reticulação de dissulfeto, mas com um maior número de interações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio. Os efeitos da frequência do campo elétrico durante os tratamentos resultaram em géis com menor resistência, maior elasticidade, maior capacidade de retenção de água e maior capacidade de intumescimento. Esses achados abrem novas perspectivas para a aplicação do aquecimento ôhmico como uma ferramenta que permite ajustar as redes de gel proteico de forma precisa, visando aprimorar a funcionalidade para diversas aplicações, como texturização e encapsulamento, entre outras (Rodrigues *et al.*, 2020).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Aquisição do Concentrado Proteico do Soro do Leite e preparo das soluções proteicas

O Concentrado Proteico do Soro do Leite (CPSL) com 80% de proteína foi obtido da empresa Growth Supplements Produtos Alimentícios LTDA. Para a preparação das soluções de concentrado proteico do soro do leite, seguiu a metodologia de Pereira *et al.* (2016), com modificações. Inicialmente, foram elaboradas soluções de concentrado proteico do soro do leite (CPSL) a 2, 4, 6 e 8% (m/v) pela dispersão do pó de CPSL em água destilada. Essa solução foi

mantida sob agitação contínua usando um agitador magnético durante 12 horas garantindo a completa reidratação.

3.2. Aquecimento Ôhmico (AO)

Os experimentos foram conduzidos utilizando um aquecedor ôhmico, o sistema foi constituído por um gerador de tensão (Variac®) proporcionando controle preciso da temperatura, com capacidade volumétrica de 125 mL e dimensões de (5 cm x 5 cm x 5cm). Esse equipamento foi conectado a dois eletrodos com cargas opostas para garantir a eficiência do processo. Durante os experimentos, a temperatura foi continuamente monitorada por meio de um termômetro digital integrado ao equipamento. O sistema ôhmico foi definido em duas configurações. A tensão foi medida utilizando regulador de tensão (0-250 V) em frequência fixa (60 Hz) (Sociedade Técnica Paulista LTDA, Varivolt, Brasil). A temperatura foi monitorada dentro de dois termopares tipo T (Novus, modelo pt-100, Brasil). O processamento de AO foi realizado utilizando diversos níveis de campo elétrico (0, 20, 30, 40 e 50 V/cm^{-1}). A amostra foi agitada utilizando um agitador magnético para homogeneizar a solução de concentrado de soro de leite. Pré-testes foram aplicados para avaliar o comportamento das concentrações proteínas do soro de leite em relação a taxa de aquecimento para as diferentes variáveis de processo, afim de selecionar a melhor concentrações em relação a taxa de aquecimento (Cappato *et al.*, 2018; Mercali *et al.*, 2014).

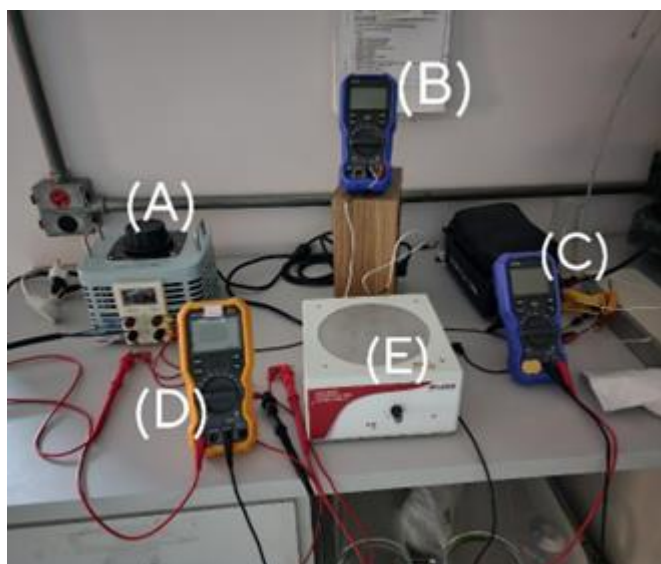


Figura 1- Aquecimento ôhmico, (A) gerador de tensão, (B) controlador de temperatura, (C) voltímetro, (D) amperímetro, (E) agitador. Fonte: Autor (2023)

3.3. Consumo energético e parâmetros de processo

As amostras preparadas com concentrações 2, 4, 6 e 8% (m/v) foram submetida ao aquecimento ôhmico até atingir a temperatura de 80 °C, sob aplicação de diferentes tensões elétricas (100V, 150V, 200V e 250 V). Essas tensões, em combinação com a distância entre os eletrodos ($L = 0,05\text{m}$), resultaram em campos elétricos aplicados de aproximadamente 20, 30, 40 e 50 V/cm^{-1} . O cálculo do gasto energético em quilojoules (kJ) e a determinação da condutividade elétrica foram realizados conforme as Equações (2) e (3), respectivamente (Gavahian *et al.*, 2018).

$$\alpha = \frac{IL}{AV} \quad \text{Equação 2}$$

$$E = VIt \quad \text{Equação 3}$$

No qual σ refere-se à condutividade elétrica ($\text{S} \cdot \text{m}^{-1}$), I representa a corrente elétrica (A); L é a distância entre os eletrodos (m); V é a tensão (V); A representa a área superficial dos eletrodos (m^2); E é o consumo de energia (J); t é o intervalo de tempo.

Os parâmetros de geração de calor e calor volumétrico foram calculados utilizando as Equações (4) e (5) (Sabanci e Icier, 2017; Kuriya *et al.*, 2020):

$$H_Q = \sigma \cdot |\Delta V|^2 \quad \text{Equação 4}$$

$$V_{HQ} = \sigma \cdot |\Delta V|^2 \quad \text{Equação 5}$$

Sendo H_q a produção de calor (W), (V) é o gradiente de tensão aplicado ($V \cdot m$); Va é o volume da amostra (m^3), VHQ é representa a produção volumétrica de calor (W/m^3). Por fim, a intensidade do campo elétrico foi calculada conforme a Equação (6) (Pires *et al.*, 2020, Balthazar *et al.*, 2022):

$$E = \frac{v}{d} \quad \text{Equação 6}$$

no qual d é a distância em *cm* entre os eletrodos.

3.4. Eletroforese SDS-PAGE

A amostra de CPSL foi inicialmente suspensa em água destilada (1 g em 20 mL). A amostra foi centrifugada por 15 minutos a 14.000 g, e o sobrenadante foi analisado por SDS-PAGE. Os sobrenadantes resultantes foram adicionados de tampão amostral SDS (62,5 mM Tris-HCl, pH 6,8, 2% SDS, 25% glicerol, 0,01% azul de bromofenol) em uma proporção de volume 1:1. A solução foi aquecida por 10 minutos a 95 °C antes de ser carregada em um gel de poli(acrilamida) 4-15% (30 µg de proteína por poço). Um marcador de peso molecular (Class Five Prestained Multicolor Protein Ladder) também foi carregado no primeiro poço do gel. A eletroforese foi conduzida em tampão de corrida SDS-PAGE (10X base de Tris 250 mM, 1,92 M glicina, 1% SDS, pH 8,3) a 80 mA por 2 horas. Após a eletroforese, o gel foi corado durante a noite com uma solução de coloração (40% metanol, 20% ácido acético e 0,1% Coomassie R250) e, em seguida, descolorido por 4 horas usando uma solução de 7% ácido acético e 40% metanol (Tabtabaei *et al.* 2019).

3.5. Sulfidrilas Livres

A concentração dos grupos sulfidrilas livres foi determinada seguindo a metodologia proposta por (Chelh, Gatellier e Santé-Lhoutellier, 2006). Inicialmente uma solução de CPSL contendo (1 mg · mL⁻¹) em solução tampão fosfato pH 8 foi preparada, logo após foi adicionado ao um tubo eppendorf e logo em seguida adicionado 12 µL do reagente de Ellman, agitado e armazenado em local escuro por 20 minutos, depois foi adicionado 200 µL em poços de microplacas e a amostra branco foi feita substituindo a solução de proteína por solução tampão fosfato e a adição do reagente de Ellman. A leitura foi feita no leitor de microplacas modelo (Multiskan SkyHigh, Thermo Fisher Scientific) no comprimento de onda de 412 nm e para o cálculo da concentração de sulfidrilas livres utilizou-se a equação 7.

$$SL \left(\frac{\text{mol de sulfidri-la}}{\text{g de proteí-na}} \right) = 100 \cdot \frac{ABS \text{ amostra} - ABS \text{ branco}}{13.600} \quad \text{Equação 7}$$

3.6. Hidrofobicidade Superficial

A determinação da hidrofobicidade superficial para o concentrado proteico do soro do leite CPSL foi realizada utilizando o método de azul de bromofenol/UV-Vis (CHELH *et al.*, 2006). Em resumo, adicionou-se a solução de azul de bromofenol à solução de proteína. Em seguida, os tubos foram agitados em vórtex e centrifugados a 10.000 g por 10 minutos. Após esse processo 200 µL foram adicionados em poços de microplacas. A absorbância foi medida a 595 nm utilizando um leitor de microplacas (Thermo Scientific Multiskan SkyHigh, EUA). A hidrofobicidade superficial é calculada seguindo a com base na ligação do azul de bromofenol à proteína de acordo com a Equação 8

$$BPB \text{ bound } (\mu\text{g}) = 200\mu\text{g} \cdot \frac{ABS \text{ branco} - ABS \text{ amostra}}{ABS \text{ branco}} \quad \text{Equação 8}$$

3.7. Potencial Zeta

O potencial zeta das amostras do CPSL, incluindo controle e tratamentos por aquecimento ôhmico, foi determinada utilizando o equipamento Litesizer 500 (Anton Paar, Áustria), com base na análise do movimento eletroforético das partículas em suspensão. O ensaio foi realizado segundo protocolo adaptado de Karaca, Low e Nickerson (2011), com modificações. Para as análises, foi utilizado 1 mL de solução de proteína a 8%, o pH da solução foi ajustado para $7,0 \pm 0,1$ com solução de HCl ou NaOH 0,1 mol/L, conforme necessário. Para a leitura, 1 mL da amostra foi transferido para uma célula de zeta. As medições foram conduzidas a $25 \pm 0,5$ °C, com tempo de equilíbrio térmico de 2 minutos. Cada amostra foi analisada em triplicata, e os valores de potencial zeta foram expressos como a média dos três ensaios. O cálculo do potencial zeta foi realizado automaticamente pelo software do equipamento.

3.8. Tamanho de partícula

As amostras de CPSL, controle e aquelas submetidas ao tratamento por aquecimento ôhmico, foram analisadas quanto à distribuição de tamanho de partículas utilizando a técnica de Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS) e índice de polidispersidade (PDI). As medições foram realizadas em um Zetasizer Z90 (Malvern Instruments, Reino Unido), com base no algoritmo CONTIN, que fornece a distribuição de intensidade do tamanho hidrodinâmico das partículas presentes em suspensão. Para a análise, 1 mL de cada amostra foi cuidadosamente transferido para cubetas apropriadas para DLS, previamente limpas com água destilada. A temperatura da célula de medição foi mantida constante em $25,0 \pm 0,5$ °C, com um tempo de estabilização térmica de 2 minutos antes de cada leitura. Cada medição foi realizada em triplicata, considerando-se a média dos resultados para a interpretação. A escolha do método CONTIN foi feita por sua capacidade de descrever com maior fidelidade amostras polidispersas seguindo o proposto por Avelar *et al.*, (2024) com algumas adaptações.

3.9. Solubilidade

A solubilidade percentual dos concentrados proteicos do soro do leite (CPSL) foi determinada em relação aos diferentes campos elétricos aplicados (20, 30, 40, 50 V/cm^{-1}). Em resumo, 3 g de proteína foram dissolvidas em 60 mL de água destilada. O pH foi ajustado para 7 com soluções de HCl ou NaOH (1 M). Três alíquotas de 2 mL foram retiradas e adicionadas a tubos de ependorf. Os tubos foram agitados por 20 min à temperatura ambiente 25 °C e centrifugados a 4 °C a 5.000 rpm em uma centrífuga (Eppendorf Centrifuge 5804 R, Alemanha) por 10 minutos. 2 µL do sobrenadante de cada tubo foram pipetados em microplacas, a leitura foi feita em um leitor de microplacas (Multiskan SkyHigh, Thermo Fisher Scientific) e a quantificação de proteína foi realizada usando o ensaio de Bradford (Bradford, Fanger, 1987). A solubilidade da proteína foi calculada de acordo com a Equação 9.

$$Solubilidade (g \cdot 100 g^{-1} \text{água}) = 100 \cdot \frac{[proteína]_{final}}{[proteína]_{inicial}} \quad \text{Equação 9}$$

3.10. Fluorescência intrínseca

Experimentos de fluorescência intrínseca para CPSL e CPSL-modificadas foram realizados em um espectrofluorímetro (Fluoromax-plusC Horiba, EUA), a 270 nm (excitação Trp e Tyr) e registrando espectros de emissão entre 300 e 600 nm (Visentini *et al.*, 2017). Inicialmente foi feita uma diluição da amostra de solução de proteína a 8% controle, adicionando uma alíquota de 500 µL de amostra em 500 µL de água destilada, pois uma solução muito concentrada causa erro na análise. Após acertar a diluição em 1:2, foi feita a leitura com as amostras tratadas por aquecimento ôhmico.

3.11. Formação dos complexos CPSL-modificado/Beta caroteno e CPSL-modificado/Ácido cafeico

A formação dos complexos CPSL e CPSL-modificados com beta caroteno (BC) e ácido cafeico (CA) foram monitoradas por espectroscopia de fluorescência intrínseca. A escolha de BC e AC está relacionada com hidrofobicidade e hidrofiliidade respectivamente, desta forma podendo se ligar às proteínas. Para isso, CPSL e CPSL-modificados foram dispersos em tampão fosfato (pH 7, 50 mM) a uma concentração final de proteína de 4.3 mM. soluções estoque BC e CA foram preparadas a uma concentração de 1 mM em etanol e água, respectivamente. 1 mL de dispersão de proteína (CPSL ou CPSL-modificado) foram titulados com volumes crescentes de solução estoque de BC ou AC obtendo soluções com concentrações 0 – 290 µM. Os espectros de absorção para os complexos CPSL-BC, CPSL-CA, CPSL-modificado-BC e CPSL-modificado-AC foram coletados de 300 a 600 nm usando um espectrofluorímetro HORIBA Fluoromax-plusC (EUA). Os valores de fluorescência intrínseca (FI) no máximo comprimento de onda de emissão também foram expressos em termos de intensidade de fluorescência relativa (RFI), sendo $RFI = FI/FI_0$, onde FI é a intensidade de fluorescência intrínseca dos complexos proteína-BC ou CA e FI_0 corresponde à intensidade de fluorescência intrínseca da proteína pura (CPSL ou CPSL-modified) em solução (Sponton *et al.*, 2017). Os dados de fluorescência foram usados para calcular os parâmetros de ligação: estequiometria ou número de moléculas ligadas (n) e constante de associação (K_a). Para isso, o modelo de

Scatchard modificado foi aplicado (Equação. 10 e 11) (Le Maux *et al.*, 2013; Visentini *et al.*, 2017):

$$P_{total} (1 - f_i) = \frac{[BC \text{ ou } CA]}{n} \left(\frac{1}{f_i} - 1 \right) - \frac{1}{nK_a} \quad \text{Equação}$$

10

$$f_i = \frac{F_{I_i} - F_{I_0}}{F_{I_{max}} - F_{I_0}} \quad \text{Equação 11}$$

No qual P_{total} é a concentração total de proteína (CPSL ou CPSL-modified); BC ou CA são as concentrações de beta caroteno e ácido cafeico, respectivamente; n é o número de moléculas de BC ou CA ligadas a saturação da proteína, K_a é a constante de associação, f_i é a fração de um sítio da proteína ocupada

pelo BC ou CA e F_{I_0} , $F_{I_{max}}$ e F_{I_i} são a intensidade de fluorescência inicial, na saturação e na razão ligante/proteína, respectivamente. As medições de fluorescência e absorção foram realizadas em temperatura ambiente (20 °C) em triplicata.

3.12. Análise estatística

A análise dos dados foi realizada utilizando o software JASP. As médias foram comparadas usando ANOVA e o teste de Tukey com um nível de significância de $p < 0,05$. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão de triplicatas.

4. Resultados e discussão

4.1. Parâmetros térmicos e elétricos

As taxas de aquecimento das proteínas, a condutividade elétrica e o tempo e temperatura de processo em diferentes concentrações e campos elétricos são apresentados na Figura 1.

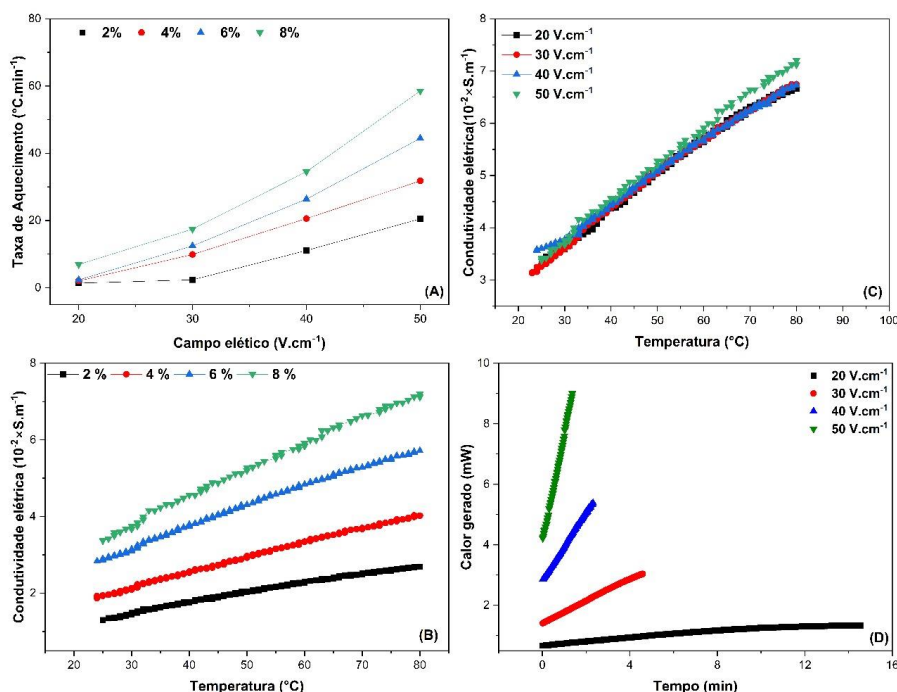


Figura 1. Taxa de aquecimento das proteínas do soro de leite em função do campo elétrico e diferentes concentrações de proteínas (2, 4, 6 e 8%) (A). Condutividade elétrica em função da temperatura e diferentes concentrações de proteínas (2, 4, 6 e 8%) (B). Condutividade elétrica em função da temperatura em diferentes campos elétricos (20, 30, 40 e 50 V/cm^{-1}) (C). Geração de calor em função do tempo em diferentes campos elétricos (20, 30, 40 e 50 V/cm^{-1}) (D).

A Figura 1 descreve a influência do campo elétrico, da temperatura, do tempo e da concentração de CPSL no processo de aquecimento ôhmico. Observa-se que a taxa de aquecimento aumenta proporcionalmente ao campo elétrico aplicado (20–50 V/cm^{-1}), sendo mais acentuada em soluções com maior concentração de proteínas (6% e 8%), devido à maior condutividade elétrica

dessas soluções, que facilita a conversão da energia elétrica em calor Figura 1A. A condutividade elétrica cresce linearmente com o aumento da temperatura em todas as concentrações, sendo maior em soluções mais concentradas, pois estas contêm mais partículas carregadas, aumentando a capacidade de conduzir corrente elétrica Figura 1B. A condutividade elétrica em soluções de CPSL é influenciada pela presença de íons minerais como sódio, potássio, cálcio e magnésio, além de fosfatos e citratos. Esses íons, naturalmente presentes no soro do leite, aumentam a capacidade da solução de conduzir eletricidade. Além disso, as próprias proteínas do soro, como β -lactoglobulina e α -lactoalbumina, podem contribuir para a condução elétrica devido às suas cargas superficiais (Axelrod, Beyrer, Mathys, 2022).

A Figura 1C reforça que a condutividade elétrica também aumenta linearmente com a temperatura, mas não apresenta diferenças significativas em função do campo elétrico aplicado, indicando que a temperatura e a composição da solução são os fatores determinantes para a condutividade e a Figura 1D demonstra que o calor gerado é diretamente proporcional à intensidade do campo elétrico e ao tempo de aplicação, com campos mais intensos (50 V/cm^{-1}) resultando em um aumento mais rápido e expressivo na geração de calor, enquanto campos mais baixos (20 V/cm^{-1}) geram calor de forma mais lenta. Esses resultados evidenciam que a eficiência do aquecimento ôhmico é governada por uma interação entre a concentração proteica, a condutividade elétrica e os parâmetros do campo elétrico, sendo particularmente eficaz em soluções mais concentradas submetidas a campos elevados, o que pode ser explorado para aplicações industriais que demandam aquecimento controlado e eficiente.

Esta variação no aquecimento pode estar relacionada com o aumento da concentração de proteína. Isso ocorre pois no aquecimento ôhmico há o movimento de moléculas carregadas devido ao campo elétrico gerado entre os eletrodos, desempenhando um papel fundamental na geração de calor. Durante esse processo de agitação, partículas carregadas colidem e interagem, levando a um aumento na temperatura (Icier e Ilicali, 2005; Proctor, 2018). Nos alimentos, as partículas que migram em direção ao eletrodo de polaridade oposta são íons

ou moléculas carregadas, como proteínas (Guo *et al.*, 2017). A concentração de proteínas e substâncias iônicas influenciam na taxa de aquecimento durante o aquecimento ôhmico devido ao aumento da condutividade elétrica. Ao aumentar a concentração de proteínas, a condutividade elétrica do sistema também se eleva, o que resulta em uma maior geração de calor e, conseqüentemente, uma taxa de aquecimento mais rápida (Fryer *et al.*, 1993; Khalaf e Sastry, 1996).

De acordo com os resultados obtidos o estudo prosseguiu com a maior concentração de CPSL (8%) devido a sua influência na taxa de aquecimento e na condutividade elétrica. O que está de acordo com Icier (2009) que investigou as propriedades reológicas e elétricas de soluções reconstituídas de soro de leite submetidas ao aquecimento ôhmico. O estudo revelou que a condutividade elétrica das soluções aumentou linearmente com a temperatura, sendo mais pronunciada em concentrações mais elevadas de sólidos (8–24% p/v).

4.2. Eletroforese SDS-PAGE

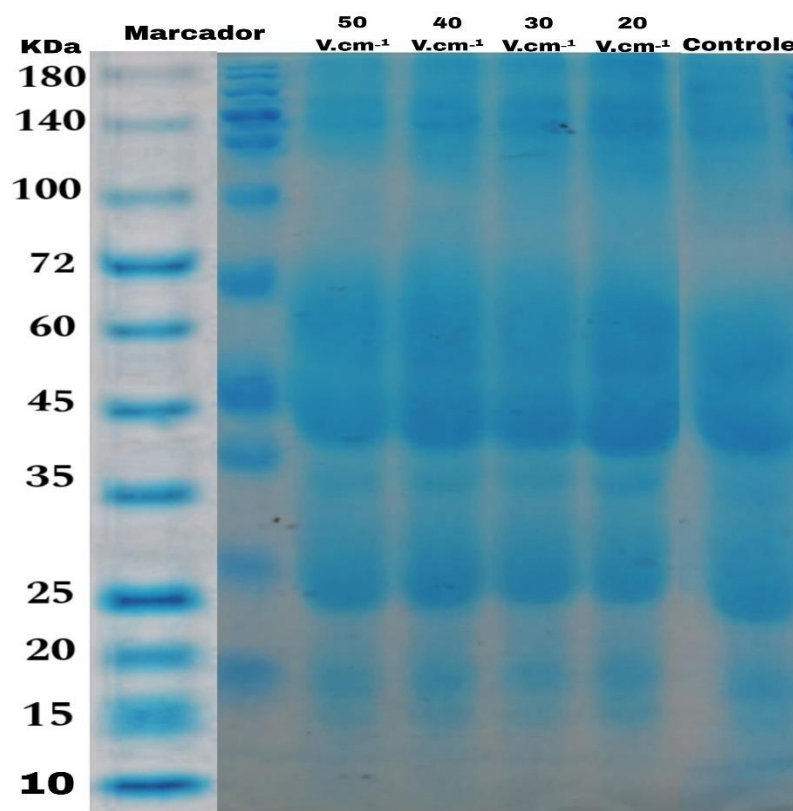


Figura 2. Gel de eletroforese SDS-PAGE de uma solução de 8% (CPSL) após tratamento com aquecimento ôhmico em diferentes intensidades de campo

elétrico. O efeito do tratamento é observado na distribuição e intensidade das bandas em comparação ao controle.

SDS-PAGE foi empregado para obter o perfil de peso molecular do CPSL tratados com aquecimento ôhmico conforme apresentado na Figura 2. O marcador de peso molecular (primeira coluna) serve como referência para estimar o tamanho das proteínas presentes nas amostras. Pode ser observado na Figura 2 que todas as amostras possuem bandas predominantes em torno de 14-18 kDa e 20-25 kDa, que correspondem principalmente às principais proteínas do CPSL, como β -lactoglobulina (18 kDa) e α -lactoalbumina (14 kDa) (Jambrak, *et al.*, 2014).

As bandas permanecem visíveis em todas as amostras tratadas, indicando que o aquecimento ôhmico não promoveu a degradação total das proteínas, mas sim modificações estruturais e possível formação de agregados parciais e solúveis. A diminuição da nitidez e da intensidade das bandas observada nas amostras tratadas com campos elétricos mais intensos (40 e 50 V/cm^{-1}) sugere desnaturação e rearranjos moleculares, que podem alterar a mobilidade eletroforética das proteínas. No entanto, não foram observadas bandas de alto peso molecular que indicariam a formação de agregados insolúveis, nem houve desaparecimento completo das bandas, o que reforça a ideia de que os agregados formados permaneceram solúveis e capazes de migrar no gel.

Esse comportamento é compatível com o tipo de energia fornecida pelo aquecimento ôhmico, que promove aquecimento rápido e localizado, podendo induzir desnaturação parcial, exposição de regiões hidrofóbicas e formação de interações intermoleculares moderadas, como ligações dissulfeto. Altay *et al.* (2025) também observaram esse padrão em proteínas de queijo cheddar submetidas ao mesmo tipo de tratamento. De forma semelhante, Rodrigues *et al.* (2015) relataram que o aquecimento ôhmico com campos moderados favorece a manutenção da solubilidade de proteínas de soro, mesmo com a ocorrência de mudanças conformacionais, diferentemente do que se observa no aquecimento convencional, que frequentemente leva à agregação irreversível.

Esse fenômeno pode explicar a menor nitidez e intensidade das bandas à medida que o campo elétrico aumenta, uma vez que proteínas parcialmente desnaturadas tendem a expor regiões hidrofóbicas e grupos reativos, favorecendo interações intermoleculares moderadas, como pontes dissulfeto. Tais interações podem levar à formação de agregados solúveis ou reorganizações conformacionais que modificam a mobilidade eletroforética das proteínas sem impedir sua migração no gel. Além disso, alterações no potencial zeta e na estrutura terciária podem intensificar essas interações hidrofóbicas, contribuindo para o perfil observado nas amostras tratadas. Assim, o aquecimento ôhmico atua como modulador da estrutura das proteínas do CPSL, com impacto potencial sobre propriedades funcionais, como solubilidade, estabilidade coloidal e capacidade de interação com outros compostos (Pereira *et al.*, 2010; Rodrigues *et al.*, 2019).

4.3. Sulfidrilas livres

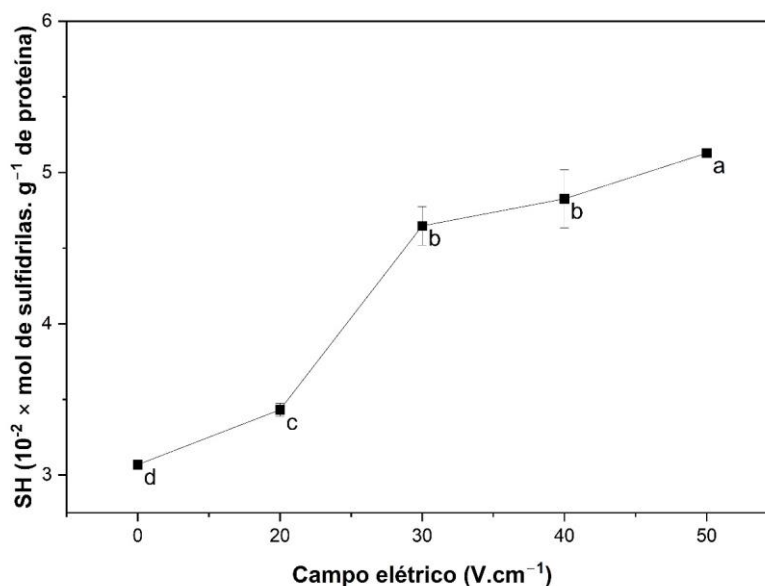


Figura 3. Quantidade de sulfidrilas livres (SH) em função do campo elétrico aplicado

Os grupos sulfidrilas desempenham um papel fundamental no dobramento e na estabilidade das proteínas, sendo também utilizados como marcadores de alterações na estrutura terciária. A conversão desses grupos sulfidrilas livres em ligações dissulfeto é um fator determinante no processo de agregação proteica, especialmente quando expostas a temperaturas superiores a 60 °C (Mounsey e

O'Kennedy, 2007). Como pode ser observado na Figura 3, que mostra a relação entre a quantidade de grupos sulfidrilas livres e a intensidade do campo elétrico durante o tratamento de aquecimento ôhmico aplicado ao CPSL, quantidade de sulfidrilas livres aumenta com o aumento do campo elétrico, alcançando um valor máximo em 50 V/cm^{-1} . Essa tendência reflete alterações significativas na estrutura das proteínas causadas pelo tratamento térmico e pelo campo elétrico. Em intensidades de campo mais altas ($30\text{--}50 \text{ V/cm}^{-1}$), a energia adicional gerada pelo aquecimento ôhmico intensifica o rompimento de ligações covalentes, como pontes dissulfeto (-S-S-), convertendo-as em grupos sulfidrilas livres. O aquecimento ôhmico provoca alterações químicas, como a ruptura de pontes dissulfeto (-S-S-), liberando grupos -SH, e a exposição de resíduos de cisteína, pois a desnaturação permite que os grupos -SH antes ocultos no núcleo hidrofóbico das proteínas se tornem acessíveis (Glazer, 1970; Van Der Plancken *et al.*, 2005). Grupos (SH) são encontrados em resíduos de cisteína nas proteínas, e muitos desses grupos estão no interior da estrutura terciária e quaternária das proteínas nativas e o aquecimento ôhmico promove desnaturação proteica resultando no desenrolamento das cadeias polipeptídicas. Esse processo expõe grupos sulfidrilas que antes estavam inacessíveis (Miranda *et al.*, (2023)

Axelrod *et al.* (2022) investigaram os efeitos da intensidade do campo elétrico e do tempo de aplicação durante o aquecimento ôhmico sobre a estrutura das proteínas do soro do leite. Os autores observaram que campos elétricos mais intensos promoveram a desnaturação parcial das proteínas, com consequente aumento da exposição de grupos sulfidrilas livres (-SH), que estavam originalmente enterrados na estrutura terciária.

A correlação entre as sulfidrilas livres (SL) e a solubilidade das proteínas do CPSL após o tratamento por aquecimento ôhmico reflete as alterações estruturais provocadas pelo campo elétrico e suas consequências na funcionalidade das proteínas (Pereira *et al.*, 2010; Rodrigues *et al.*, 2015). Em campos intermediários, a exposição moderada de grupos hidrofílicos, como as sulfidrilas livres, e o desenrolamento parcial da estrutura proteica favorecem a solubilidade, permitindo maior interação das proteínas com a água (Adey, 1993; Han *et al.*, 2018; Jaeger *et al.*, 2016).

4.4. Hidrofobicidade Superficial

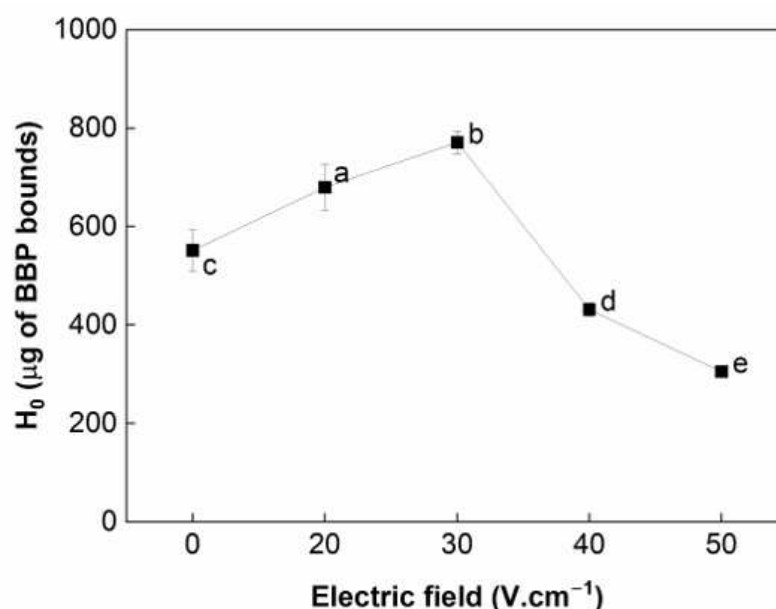


Figura 4. Efeito do campo elétrico na solubilidade do CPSL. Letras ^{a-e} diferentes indicam diferença significativa (valor de $p < 0,05$). As linhas contínuas servem apenas como guia visual.

A hidrofobicidade superficial está relacionada à quantidade relativa de grupos hidrofóbicos expostos na superfície da proteína, influenciando diretamente as interações intermoleculares. Esse parâmetro é amplamente reconhecido como um indicador essencial do grau de desnaturação proteica, sendo determinante na caracterização das propriedades estruturais e funcionais das proteínas (Han *et al.*, 2020; Sui *et al.*, 2017). A Figura apresenta a variação da hidrofobicidade superficial (H_0) de uma solução contendo 8% de proteínas do concentrado proteico do soro do leite (WPC), tratada por aquecimento ôhmico em diferentes intensidades de campo elétrico. Observa-se que, inicialmente, com campos elétricos de 0 a $30 V/cm^{-1}$, há um aumento significativo ($p < 0,05$) nos valores de H_0 , indicando maior exposição dos grupos hidrofóbicos na superfície proteica. Esse aumento é atribuído à desnaturação parcial das proteínas, que provoca o

desenrolamento das cadeias polipeptídicas e a exposição de resíduos hidrofóbicos presentes no interior da estrutura terciária (Pereira *et al.*, 2011).

Contudo, com o aumento adicional do campo elétrico para valores entre 40 e 50 V/cm^{-1} , observa-se uma redução expressiva na hidrofobicidade superficial. Essa diminuição está associada a rearranjos estruturais significativos, como a formação de novas ligações dissulfeto e compactação da estrutura secundária, promovendo a agregação proteica e reduzindo a área superficial disponível para interação com sondas hidrofóbicas, como o BBP (Pereira *et al.*, 2016). Esse comportamento é coerente com estudos que relatam a tendência das proteínas em formar agregados estabilizados por interações covalentes e hidrofóbicas sob condições intensas de tratamento térmico e elétrico (Samadi Saeedabad *et al.*, 2024).

O processamento por aquecimento ôhmico combina efeitos térmicos, elétricos e químicos, promovendo mudanças conformacionais nas proteínas. A aplicação de campos elétricos moderados durante o aquecimento altera a cinética de desnaturação e agregação, resultando em estruturas agregadas com propriedades distintas (Pereira *et al.*, 2020). Além disso, o aumento da temperatura pode favorecer reações químicas, como a oxidação de grupos sulfidrilas (-SH), levando à formação de pontes dissulfeto, o que estabiliza os agregados e reduz a exposição dos grupos hidrofóbicos na superfície proteica (Yu *et al.*, 2023)

Em suma, o comportamento da hidrofobicidade superficial das proteínas do WPC sob aquecimento ôhmico é dinâmico e depende da intensidade do campo elétrico aplicado. Em intensidades moderadas, há uma maior exposição hidrofóbica devido ao desenrolamento das proteínas, enquanto em intensidades elevadas, há formação de agregados que reduzem a área hidrofóbica exposta. Portanto, a escolha dos parâmetros de processamento deve considerar o equilíbrio entre desnaturação e agregação para otimizar as propriedades funcionais desejadas nos produtos alimentícios (Zhang *et al.*, 2018)

4.5. Potencial zeta

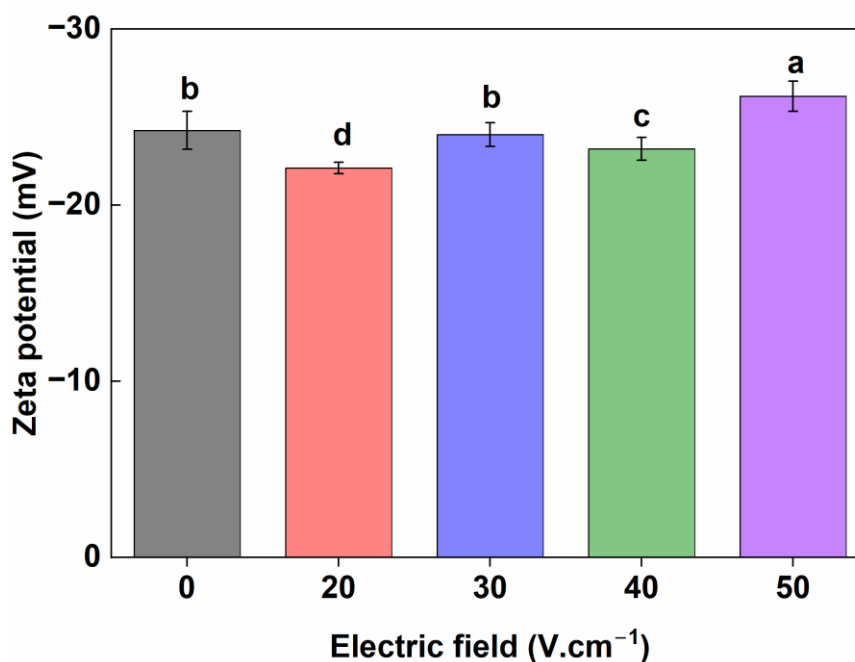


Figura 5. Relação do potencial Zeta da solução de CPSL 8% em função do campo elétrico aplicado, ^{a-d} Letras diferentes mostram diferenças significativas entre os tratamentos.

O potencial zeta reflete as propriedades elétricas da superfície das partículas em solução. Um sistema com um potencial zeta absoluto mais alto tem repulsão intermolecular mais forte, menos agregação e melhor estabilidade (R. Wang *et al.*, 2023). O potencial zeta das proteínas do CPSL apresentou variações significativas (p -value < 0.05) com o aumento do campo elétrico aplicado durante o aquecimento ôhmico (Figure 5). Zhang *et al.* (2021) e Xi *et al.* (2020) observaram que quanto maior fosse a intensidade do tratamento térmico maior era os valores de potencial zeta de proteínas do soro de leite. Para nosso estudo, vimos que não houve linearidade nos valores de potencial zeta. Ou seja, uma combinação entre temperatura e corrente elétrica pode modular os valores de potencial zeta de forma não linear.

Em nenhum dos tratamentos foi observado valores absolutos maiores que 30 mV. Sabe-se que sistemas coloidais apresentam estabilidade eletroestérica quando os valores de potencial zeta são maiores (de forma absoluta) que 30 mV (Campelo *et al.*, 2017). Inicialmente, o potencial zeta de

CPSL não tratado foi de 24.24 mV. No entanto, à medida que o campo elétrico aumenta causa comportamentos distintos, uma redução para 20 e 40 V/cm^{-1} e aumento para 30 e 50 V/cm^{-1} . A redução do potencial zeta em 20 e 40 V/cm^{-1} , relacionada a um enfraquecimento da repulsão eletrostática, podem estar associados à formação de agregados proteicos que anulam as cargas superficiais e dos resíduos de aminoácidos.

A um campo elétrico de 50 V/cm^{-1} , o potencial zeta aumentou significativamente, tornando-se mais negativo. Esse efeito pode ser explicado por alterações conformacionais nas proteínas, resultando na redistribuição de cargas na superfície das moléculas. Além disso, a exposição de grupos amino e sulfidrilas livres causados por uma modificação estrutural mais abrupta pode ter influenciado a migração de grupos polares do interior para superfície (H. Wang *et al.*, 2022). Estudos adicionais demonstram que o aquecimento ôhmico, ao promover um aquecimento uniforme e rápido, pode afetar o comportamento de agregação das proteínas, alterando diretamente o valor do potencial zeta. Leal *et al.*, (2024) observaram que, em tratamentos térmicos combinados com campos elétricos, houve uma redução no tempo necessário para a formação de agregados de β -lactoglobulina, além de mudanças na distribuição de cargas nas superfícies dessas estruturas. Essas alterações modificam a magnitude do potencial zeta, impactando a estabilidade da solução proteica. A reorganização estrutural promovida pelo tratamento também influencia a acessibilidade de grupos funcionais carregados, como carboxilas e aminas, que participam ativamente das interações eletrostáticas no sistema (Leal *et al.*, 2024; H. Wang *et al.*, 2022).

4.6. Tamanho de partícula

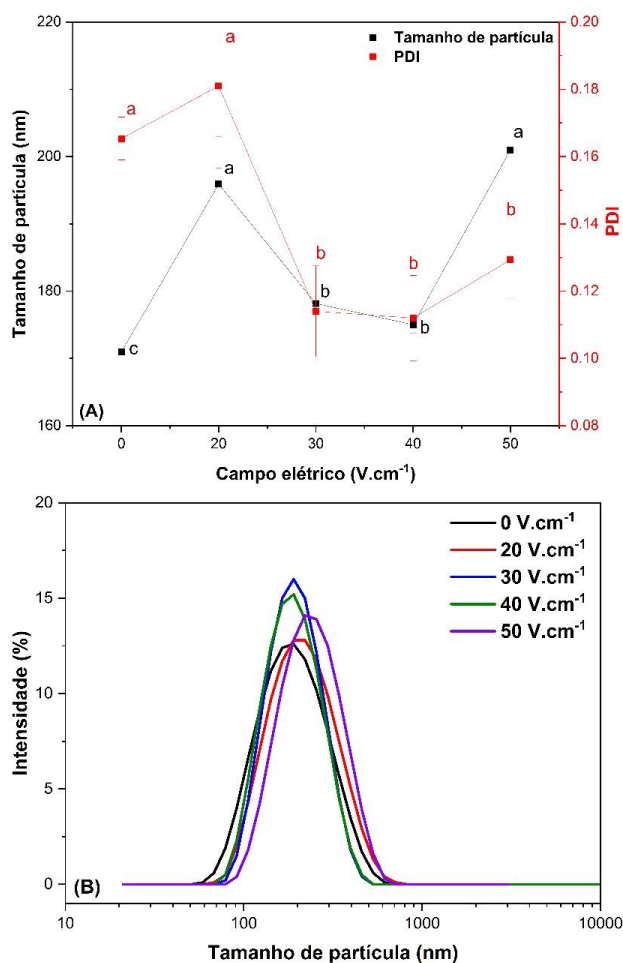


Figura 6. Relação entre o tamanho médio das partículas (em nm) e o índice de polidispersidade (PDI) (A). Distribuição de tamanho das partículas em função da intensidade (B)

O tamanho médio das partículas aumenta inicialmente entre 0 e 20 V/cm^{-1} , indicando a formação de agregados maiores devido à desnaturação das proteínas e à exposição de regiões hidrofóbicas que promovem interações intermoleculares. Em seguida, há uma redução no tamanho das partículas em 30 e 40 V/cm , sugerindo a dissociação parcial desses agregados ou a formação de estruturas mais compactas. Após esse ponto, observa-se um novo aumento do tamanho médio em campos elétricos mais altos (50 V/cm^{-1}), o que pode ser associado à formação de agregados mais estáveis e maiores, potencialmente devido à formação de pontes dissulfeto e interações hidrofóbicas (Wang *et al.*, 2022). Apesar do ligeiro aumento em 50 V/cm^{-1} , os valores não diferiram

estatisticamente. O índice de polidispersão (PDI) é uma medida utilizada para avaliar a distribuição e a homogeneidade do tamanho das partículas, variando de 0 a 1. Valores elevados de PDI indicam uma maior heterogeneidade, com partículas de diferentes tamanhos, enquanto valores mais baixos refletem uma distribuição mais uniforme (Gul *et al.*, 2023). O índice de polidispersidade (PDI) acompanha essas mudanças, indicando uma maior heterogeneidade no tamanho das partículas em campos intermediários e uma redução na heterogeneidade em campos elétricos mais altos, onde predominam agregados maiores e mais uniformes.

A distribuição de tamanho das partículas em função da intensidade pode ser observada na Figura 6. Em 0 V/cm a distribuição é mais estreita, com tamanhos menores predominantes. À medida que o campo elétrico aumenta, a distribuição se desloca para tamanhos maiores, refletindo a agregação proteica induzida pelo aquecimento ôhmico e pelo campo elétrico. Em campos elétricos mais altos, como 40 e 50 V/cm^{-1} , a distribuição se torna mais homogênea, indicando que as partículas formadas possuem tamanhos mais uniformes, o que está de acordo com a redução no PDI observada Figura 6A.

Essas alterações observadas na Figura 6 podem ser explicadas pelas mudanças estruturais das proteínas induzidas pelo aquecimento ôhmico. O calor gerado, aliado ao campo elétrico, causa a desnaturação das proteínas, expondo grupos hidrofóbicos e promovendo interações intermoleculares, como ligações covalentes (pontes dissulfeto) e interações hidrofóbicas (De Figueiredo Furtado *et al.*, 2018; Rodrigues *et al.*, 2015). A formação inicial de agregados ocorre devido à exposição de resíduos hidrofóbicos e à quebra de forças estabilizadoras da estrutura nativa das proteínas (Pero; Kiani; Askari, 2019). Em campos elétricos intermediários, os agregados podem ser desestabilizados devido ao efeito combinado do campo elétrico e do calor, resultando em partículas menores ou mais compactas (Subaşı *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2022), em campos mais altos, a agregação se intensifica novamente devido à estabilização das interações intermoleculares e à formação de redes proteicas mais organizadas e estáveis. Essa reorganização estrutural influencia propriedades funcionais, como solubilidade, estabilidade coloidal e comportamento de agregação, evidenciadas

pelo aumento do tamanho médio das partículas e pela homogeneidade em intensidades de campo elétrico mais altas (Rodrigues *et al.*, 2015).

4.7. Solubilidade

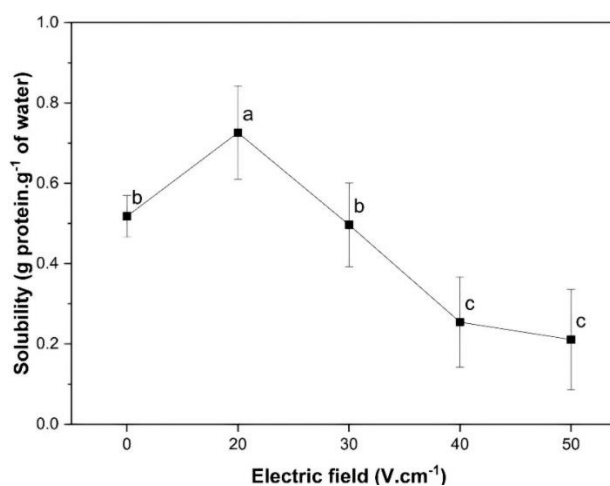


Figura 7. Efeito do aquecimento ôhmico na solubilidade do CPSL em função do campo elétrico. ^{a-c}Letras diferentes significam diferença significativa entre os tratamentos (p -valor < 0,05). As linhas são guias para os olhos.

A solubilidade das proteínas é determinada por um equilíbrio termodinâmico entre as interações proteína-proteína e proteína-solvente. Esse equilíbrio pode ser influenciado tanto por características estruturais intrínsecas das proteínas, como a composição de aminoácidos, peso molecular, distribuição de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos na superfície e a presença de ligações de hidrogênio, quanto por fatores externos, incluindo temperatura, força iônica, pH e a natureza do solvente (Kumar *et al.*, 2022). Como pode ser observado na Figura 7 que apresenta a relação entre a solubilidade do CPSL e a intensidade do campo elétrico durante o aquecimento ôhmico, inicialmente a solubilidade aumenta de forma significativa com o aumento do campo elétrico, atingindo um pico em torno de 20 V/cm^{-1} , no qual a solubilidade é máxima. O mesmo efeito foi observado por Wang *et al.*, (2024), ao avaliar o efeito do AO nas propriedades de complexos de isolado proteico de soja-quitosana, verificou-se que com o aumento do campo elétrico houve um aumento na solubilidade. Estudos anteriores sobre a agregação do isolado de proteína do soro do leite após aquecimento ôhmico a $90 \text{ }^\circ\text{C}$

demonstraram que esse tratamento levou à perda de solubilidade devido à desnaturação irreversível das proteínas (Pereira *et al.*, 2016).

Este aumento inicial pode ser atribuído à desnaturação parcial das proteínas causada pelo aquecimento uniforme e rápido gerado pelo aquecimento ôhmico, que promove a ruptura de interações fracas, como pontes de hidrogênio e interações hidrofóbicas, resultando na exposição de grupos polares e hidrofílicos previamente ocultos no interior da estrutura terciária das proteínas (Bischof e He, 2006; Indiaro e Rezaeharsanto, 2020; Miranda *et al.*, 2023). Esses grupos interagem mais efetivamente com moléculas de água, aumentando a solubilidade. No entanto, com o aumento adicional do campo elétrico para valores superiores a 20 V/cm^{-1} ($30\text{--}50 \text{ V/cm}^{-1}$), a solubilidade diminui de maneira progressiva e significativa. Isso ocorre porque campos elétricos mais intensos, combinados com o aumento da temperatura, podem causar desnaturação severa das proteínas, levando à formação de agregados insolúveis devido à exposição e interação de grupos hidrofóbicos previamente enterrados. Esses grupos interagem entre si, formando redes proteicas insolúveis por meio de ligações covalentes (como pontes dissulfeto) ou interações hidrofóbicas intensificadas, diminuindo a disponibilidade de proteínas solúveis (Pereira *et al.*, 2016).

Do ponto de vista físico, o aquecimento ôhmico também pode causar mudanças na estrutura secundária das proteínas, como a perda de alfa hélices e folhas betas, resultando em uma conformação mais desordenada que, em altas intensidades, favorece a agregação (Pereira *et al.*, 2016; Pereira *et al.*, 2017; Rodrigues *et al.*, 2019). Portanto, o campo elétrico durante o aquecimento ôhmico exerce um impacto não linear sobre a solubilidade das proteínas, promovendo um equilíbrio entre a desnaturação benéfica para solubilidade em campos moderados e a agregação em campos elevados (Dewit & Klarenbeek, 1984; Rodrigues *et al.*, 2020). No entanto em um estudo realizado por Avelar *et al.*, (2024), em que o objetivo foi avaliar a influência do aquecimento ôhmico em temperaturas entre 90 e 150 °C na solubilidade de uma proteína de ervilha comercial, observou-se que houve um aumento em até 240 % na solubilidade da proteína após a aplicação do aquecimento ôhmico a 150 °C. Além disso, temperaturas mais elevadas durante o tratamento podem ter induzido a clivagem hidrolítica das ligações peptídicas da

proteína, resultando na formação de agregados solúveis e fragmentos peptídicos menores. Esses fragmentos, devido à quebra parcial da estrutura proteica original, contribuíram significativamente para o aumento da solubilidade observado sob essas condições térmicas (Pereira *et al.*, 2016; Rosa *et al.*, 2023; Wang *et al.*, 2021).

4.8. Fluorescência intrínseca relativa do CPSL-modificado

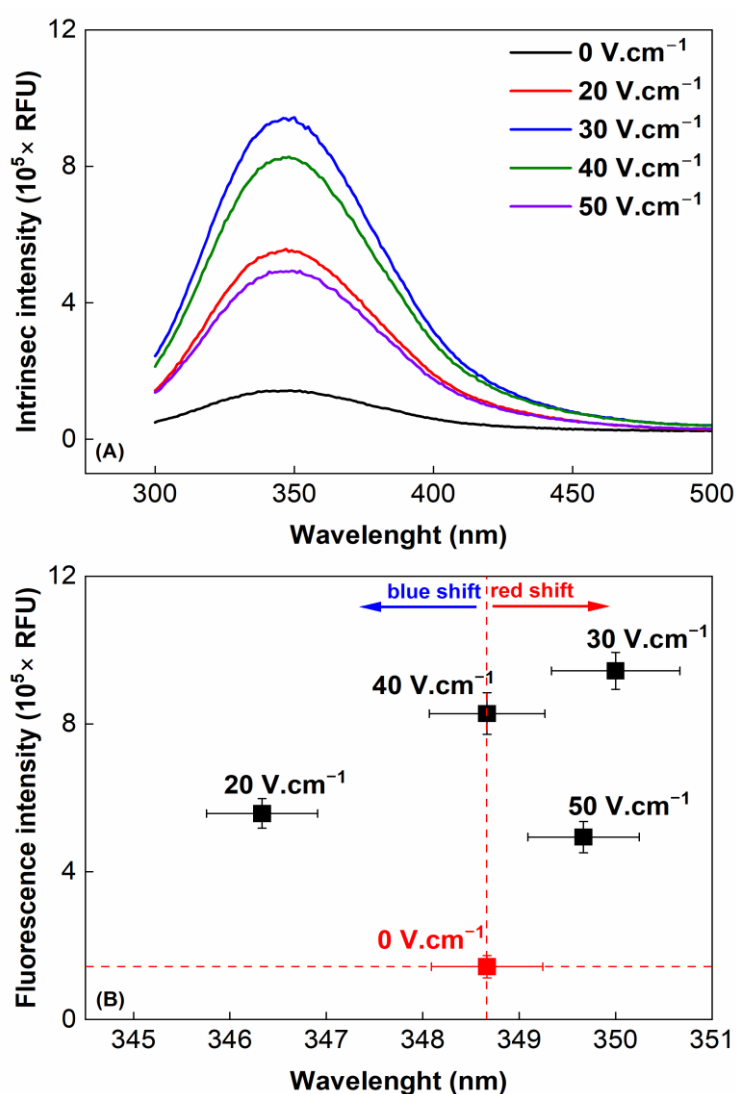


Figura 8. (A) demonstra a intensidade de fluorescência intrínseca em relação ao aumento do campo elétrico aplicado e (B) mostra os deslocamentos no comprimento de onda de emissão máxima.

A espectroscopia de fluorescência é uma ferramenta eficiente para investigar as características estruturais das proteínas, pois permite obter informações sobre a localização relativa dos aminoácidos aromáticos e suas interações com resíduos adjacentes, pontes dissulfeto ou até mesmo ligantes (Ferreira *et al.*, 2021). A Figura 8 apresenta a fluorescência intrínseca de uma solução de 8% de CPSL tratada com aquecimento ôhmico. A intensidade de fluorescência intrínseca aumenta progressivamente com o campo elétrico aplicado, atingindo valores máximos em 30 V/cm, enquanto no campo de 50 V/cm^{-1} observa-se uma leve redução (Figura 8A). O aumento da intensidade de fluorescência em campos mais baixos e intermediários indica a possível exposição de resíduos de triptofano, tirosina e fenilalanina, que estavam inicialmente localizados no interior da estrutura tridimensional das proteínas, resultado da desnaturação e reorganização estrutural causada pelo calor e pelo campo elétrico (Lakowicz, 2006).

No entanto, a diminuição em 50 V/cm^{-1} sugere que a maior reorganização estrutural, incluindo a formação de agregados mais complexos ou até mesmo a oxidação de resíduos aromáticos, pode limitar a eficiência da emissão de fluorescência. A Figura 8B destaca os deslocamentos no comprimento de onda de emissão máxima, inicialmente ocorre um deslocamento para o vermelho (*red shift*) em 30 V/cm^{-1} , indicando que os resíduos de triptofano tornam-se mais expostos a um ambiente mais polar, seguido de um deslocamento para o azul (*blue shift*) em campos maiores (40 e 50 V/cm^{-1}), indicando que os resíduos aromáticos passam a ser parcialmente menos expostos, possivelmente devido à formação de agregados compactos e à redução da interação com o solvente. Wang *et al.* (2022) observam que o aumento do campo elétrico para 12 V/cm^{-1} , no isolado proteico de soja (SPI) resultou em uma redução no grau de deslocamento para o vermelho (*red shift*), possivelmente em razão da agregação proteica causada pela intensidade elevada do campo elétrico (Chen e Barkley, 1998). O que difere dos resultados obtidos por Leal *et al.*, (2024) que avaliou os espectros de fluorescência do triptofano de β -lactoglobulina do soro do leite após tratamentos térmicos com campos elétricos moderados, observou que as proteínas desnaturadas apresentaram uma redução na intensidade da fluorescência do triptofano, acompanhada por um deslocamento para o vermelho,

com o comprimento de onda máximo de emissão passando de aproximadamente 330 nm para cerca de 342 nm.

Essas mudanças refletem as alterações estruturais e ambientais em torno dos resíduos de aminoácidos fluorescentes. O aquecimento ôhmico, além de desnaturar as proteínas, altera suas interações intermoleculares e intramoleculares. A exposição inicial de resíduos aromáticos é causada pela quebra de interações hidrofóbicas e desestruturação parcial das proteínas. Com o aumento do campo elétrico, os resíduos podem ser envolvidos em estruturas proteicas reorganizadas, como agregados ou redes estáveis, reduzindo a acessibilidade ao solvente. O deslocamento no comprimento de onda reflete diretamente as mudanças na polaridade do microambiente desses resíduos, enquanto a intensidade da fluorescência é influenciada pela extensão da exposição, rearranjos estruturais e possíveis modificações químicas, como oxidação de triptofanos em condições de tratamento intenso (Lakowicz, 2006). Essas mudanças são indicativas do impacto funcional do aquecimento ôhmico na estrutura proteica e suas propriedades bioquímicas. Quando ocorre uma alteração na polaridade dos resíduos de (Triptofano) Trp ou (Tirosina) Tyr, o espectro de emissão de fluorescência das proteínas também se modifica. Dessa forma, variações na intensidade da fluorescência e deslocamentos nos picos de emissão podem ser utilizados para investigar a interação entre proteínas e outras moléculas (Zhang *et al.*, 2018).

4.9. Fluorescência intrínseca relativa

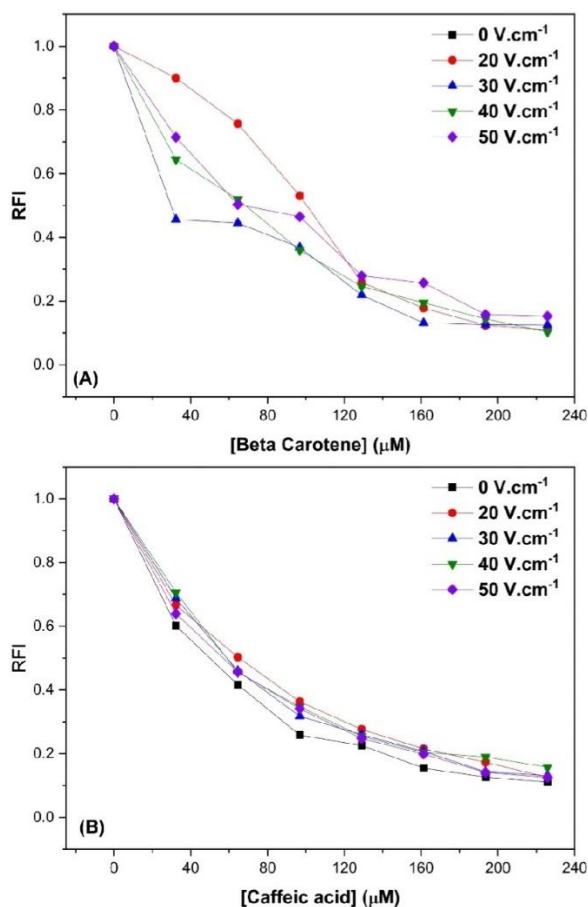


Figura 9. Apresentam a correlação entre a fluorescência intrínseca relativa (RFI) e a presença de concentrações crescentes de beta-caroteno (A) e ácido cafeico (B).

Conforme a concentração de β -caroteno aumenta, observa-se uma diminuição progressiva da RFI, indicando *quenching* de fluorescência conforme ilustrado na Figura 9A. Esse efeito é mais pronunciado nas amostras tratadas com campos elétricos mais elevados (40 e 50 V/cm^{-1}), sugerindo que o aquecimento ôhmico promove alterações conformacionais nas proteínas, favorecendo a interação com o ligante hidrofóbico. Embora a hidrofobicidade superficial, medida pelo teste com azul de bromofenol, diminua em campos mais intensos (Figura 4), é possível que a reorganização estrutural das proteínas tenha levado à formação de cavidades ou microambientes hidrofóbicos parcialmente acessíveis. Essas estruturas internas podem permitir a interação com o β -caroteno, mesmo com menor exposição de regiões hidrofóbicas na superfície.

Allahdad *et al.*, (2019) demonstraram que o β -caroteno pode se alojar em sítios hidrofóbicos internos da β -lactoglobulina, formando complexos estáveis que resultam em alterações conformacionais da estrutura proteica, mesmo na ausência de exposição hidrofóbica superficial evidente. Um resultado semelhante foi relatado nos complexos de nanofibrilas de proteína de soro de leite e curcuminas (Hu *et al.*, 2020). No Figura 8B, a mesma tendência de *quenching* é observada com o ácido cafeico, mas com menor distinção entre os tratamentos de campo elétrico, indicando que as interações do ácido cafeico com as proteínas são menos dependentes das alterações estruturais hidrofóbicas causadas pelo aquecimento ôhmico.

O *quenching* de fluorescência intrínseca está associado às interações entre os resíduos aromáticos fluorescentes das proteínas, como triptofano, tirosina e fenilalanina, e as moléculas externas (Crouse *et al.*, 2012). O β -caroteno, por ser altamente hidrofóbico, interage preferencialmente com regiões hidrofóbicas expostas das proteínas. O aquecimento ôhmico, ao induzir desnaturação parcial e rearranjos conformacionais, provoca a exposição de regiões internas hidrofóbicas que anteriormente estavam ocultas no núcleo das proteínas. Isso permite maior interação entre o β -caroteno e as proteínas desnaturadas, intensificando o *quenching* conforme a concentração de β -caroteno aumenta, um comportamento semelhante foi observado por Zhou *et al.*, (2024) quando avaliou os espectros de fluorescência de proteínas miofibrilares (MP) e a interação com β -caroteno, de acordo com o aumento da concentração de β -caroteno, a fluorescência das proteínas miofibrilares diminuiu constantemente. Além disso, a magnitude do *quenching* se correlaciona diretamente com a intensidade do campo elétrico, indicando que campos mais altos promovem maior desnaturação proteica e exposição hidrofóbica.

Contudo o ácido cafeico, uma molécula hidrofílica e antioxidante, o *quenching* é causado por interações com resíduos polares e aromáticos da superfície proteica. O ácido cafeico pode interagir por meio de ligações de hidrogênio com os resíduos aromáticos, além de reações com resíduos oxidados que podem ser formados devido ao estresse oxidativo induzido pelo aquecimento ôhmico (Ferreira *et al.*, 2021). Um resultado semelhante foi observado no estudo de Wang *et al.*, (2024) que relatou que com o aumento do teor de Antocianina

Roselle (RA), observou-se uma redução gradual e um deslocamento para o vermelho (*red shift*) nos picos de fluorescência das proteínas do leite e ovo em diferentes intensidades, sugerindo que o RA se liga às proteínas e extingue sua fluorescência intrínseca de maneira dependente da concentração (Ren, Jiménez-Flores e Giusti, 2021). O deslocamento para o vermelho indica uma redução na hidrofobicidade ao redor dos resíduos de triptofano (Trp) e tirosina (Tyr), além de alterações na estrutura terciária da proteína e um aumento na polaridade do ambiente próximo (Cheng *et al.*, 2023; He *et al.*, 2022). Como as interações do ácido cafeico dependem menos das exposições hidrofóbicas, as diferenças no *quenching* entre os tratamentos de campo elétrico são menos marcantes. Contudo, as proteínas tratadas em campos mais elevados podem apresentar alterações na carga superficial ou nos grupos reativos expostos, que modulam levemente as interações com o ácido cafeico (Ferreira *et al.*, 2021).

Em síntese, o aquecimento ôhmico induz modificações estruturais significativas nas proteínas do CPSL, levando à exposição de regiões previamente ocultas e alterando a acessibilidade de resíduos aromáticos e grupos reativos. Essas transformações afetam diretamente a interação das proteínas com compostos externos, como β caroteno e ácido cafeico, refletindo-se nos padrões de *quenching* observados na Figura 9. Essa análise evidencia como o aquecimento ôhmico influencia as propriedades estruturais e funcionais das proteínas, ressaltando seu potencial para a modulação das interações proteína-ligante em sistemas alimentares.

4.10. Interação CPSL-modificado/Beta caroteno e interação CPSL-modificado/ácido cafeico

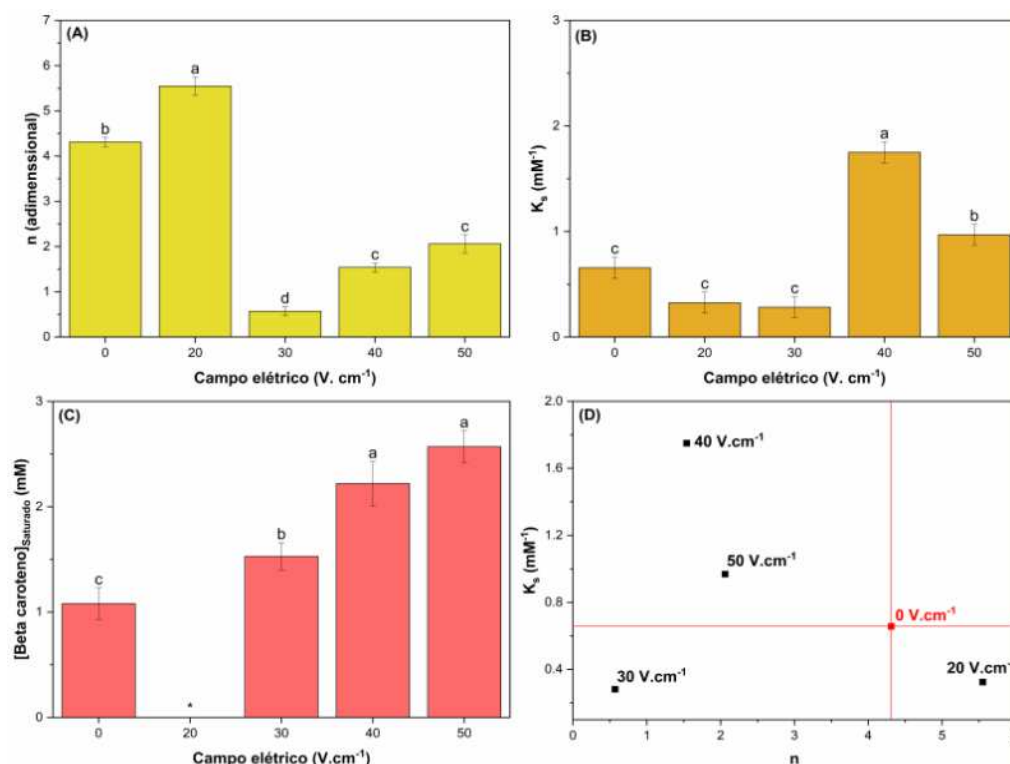


Figura 10. Efeito do aquecimento ôhmico na interação entre CPSL-modificado e β -caroteno. As Figuras mostram as emissões de fluorescência (A), a constante de associação (K_a) (B e D) e a concentração de β -caroteno ligado (C) em diferentes intensidades de campo elétrico. Para 20 V/cm^{-1} , o modelo exponencial de decaimento não teve ajuste e o valor da concentração de saturação não pode ser calculada.

As interações entre proteínas de CPLS tratadas por aquecimento ôhmico e o β -caroteno em diferentes campos elétricos podem ser observadas na Figura 10. A fluorescência máxima da proteína diminui à medida que o campo elétrico aumenta Figura 10A. Isso pode ocorrer pois o aquecimento ôhmico induz desnaturação das proteínas, expondo regiões hidrofóbicas e sítios de ligação e permitindo maior interação com o β -caroteno, o que também foi observado por (Hu *et al.*, 2020). No Figura 10B, K_s , que representa a constante de afinidade proteína-ligante, cresce com o aumento do campo elétrico até 40 V/cm^{-1} , indicando que a desnaturação moderada das proteínas aumenta a capacidade de ligação ao β -caroteno. Contudo, a redução de K_s em 50 V/cm^{-1} sugere que a desnaturação excessiva ou agregação proteica limita a interação eficiente (Leal *et al.*, 2024). O $[\beta$ -caroteno] máximo aumenta com o campo elétrico,

demonstrando que a saturação ocorre com concentrações maiores de β -caroteno, devido ao aumento de sítios de ligação disponíveis em proteínas desnaturadas (Figura 10C).

O aquecimento ôhmico modifica a estrutura terciária e secundária das proteínas do CPSL, expondo resíduos hidrofóbicos e aromáticos como triptofano, tirosina e fenilalanina que interagem com o β -caroteno (He *et al.*, 2022; Cheng *et al.*; Miranda *et al.*, 2023). A constante K_s reflete a afinidade entre a proteína e o β -caroteno, valores maiores indicam interações mais fortes, enquanto a redução em $50 V/cm^{-1}$ sugere que a desnaturação excessiva prejudica a estabilidade das interações proteína-ligante. Tian *et al.*, (2023) observaram um comportamento similar ao avaliar o mecanismo de interação entre fibrilas de proteína de soja e β -caroteno, com o aumento da temperatura, ocorreu um crescimento nos valores de K_a ou n , possivelmente devido à expansão conformacional das fibrilas proteicas. Como resultado, a probabilidade de interação entre o β -caroteno e as fibrilas proteicas também aumentou (Liu *et al.*, 2021). Em relação às proteínas nativas, as fibrilas proteicas apresentaram valores de K_a mais elevados na interação com o β -caroteno, sugerindo uma maior afinidade de ligação desse composto às fibrilas (Zhang *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2021).

[Beta-caroteno] máximo indica a concentração necessária para saturar os sítios de ligação. À medida que a desnaturação aumenta, mais sítios de ligação tornam-se acessíveis, elevando [Beta-caroteno] máximo. Porém, em campos muito altos, a agregação proteica pode dificultar essas interações. O aquecimento ôhmico, assim, oferece uma ferramenta para modular a afinidade e a capacidade de ligação das proteínas a compostos hidrofóbicos, ajustando-se o campo elétrico para equilibrar funcionalidade e estabilidade.

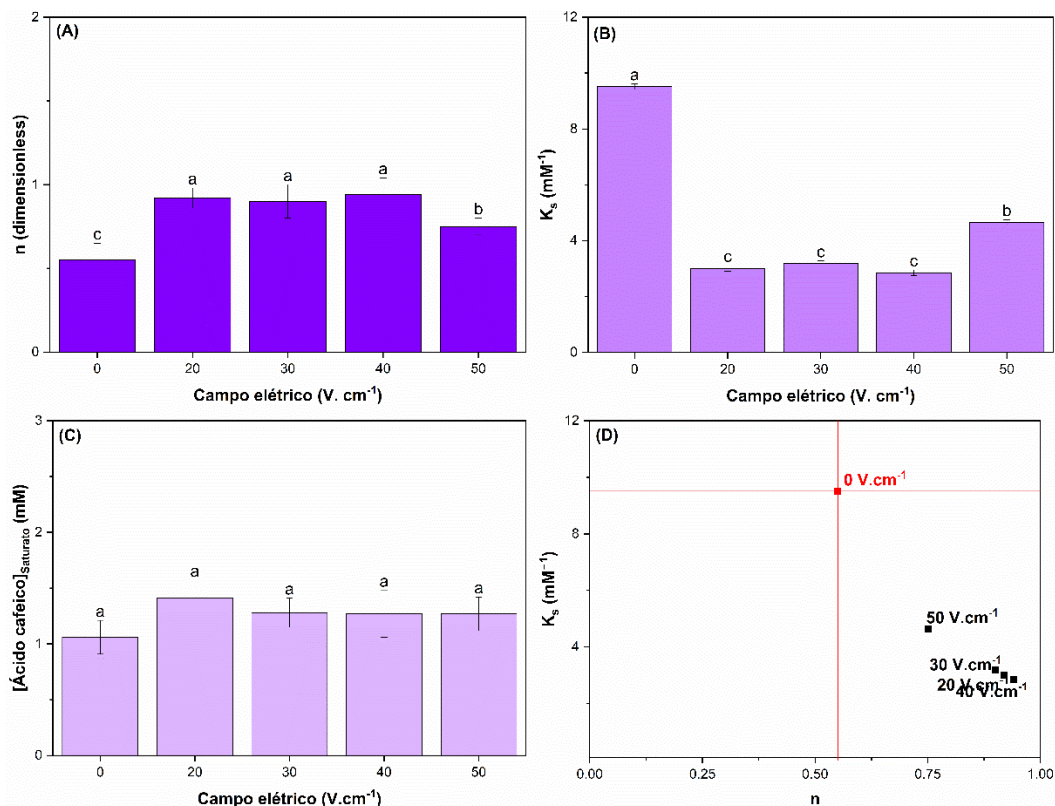


Figura 11. Efeito do aquecimento ôhmico na interação entre CPSL-modificado e ácido cafeico. As figuras mostram as emissões de fluorescência (A), a constante de associação (K_a) (B e D) e a concentração de ácido cafeico ligado (C) em diferentes intensidades de campo elétrico.

Na Figura 11A, o parâmetro n , que indica a cooperatividade do sistema, é mais elevado em campos elétricos intermediários (20–40 V/cm^{-1}), enquanto em 0 V/cm^{-1} e 50 V/cm^{-1} apresenta valores reduzidos. Isso sugere que, na ausência de campo elétrico, a proteína mantém uma baixa organização estrutural e sítios de ligação pouco cooperativos. Em 50 V/cm^{-1} , a desnaturação mais intensa reduz novamente a cooperatividade. O parâmetro K_s , que reflete a afinidade de ligação, é mais alto em 0 V/cm^{-1} , diminuindo gradativamente com o aumento do campo elétrico até atingir os menores valores em 20, 30 e 40 V/cm^{-1} , e apresenta uma leve recuperação em 50 V/cm^{-1} devido à exposição de novos sítios de interação (Figura 11B). A concentração de saturação [ácido cafeico] saturado (mM) permanece praticamente constante, indicando que o número total de sítios de ligação do CPSL para o ácido cafeico não é significativamente afetado pelas alterações conformacionais induzidas pelo campo elétrico (Figura 11C). Na Figura

11D, observa-se que em 0 V/cm^{-1} , o K_s é elevado e o n reduzido, demonstrando interações eficientes, porém independentes. Em campos intermediários, a cooperatividade aumenta (n elevado), mesmo com uma redução na afinidade (K_s). Em 50 V/cm^{-1} , tanto o K_s quanto o n são reduzidos, evidenciando os impactos negativos de uma desnaturação mais acentuada.

O comportamento observado reflete a natureza hidrofílica do ácido cafeico e sua interação com os sítios hidrofílicos e eletrostáticos do CPLS. Em 0 V/cm^{-1} , a proteína em sua conformação nativa possui alta afinidade devido à preservação de sítios específicos para interação. Conforme o campo elétrico aumenta, mudanças conformacionais provocadas pelo aquecimento ôhmico afetam negativamente a exposição e a funcionalidade desses sítios, reduzindo a afinidade. Contudo, em campos intermediários ($20\text{--}40 \text{ V/cm}^{-1}$), ocorre uma reorganização estrutural que aumenta a cooperatividade entre os sítios, promovendo interações mais cooperativas, algo semelhante foi notado por Wang *et al.*, (2024), ao avaliar efeito da reação de glicação assistida por aquecimento ôhmico nas propriedades de complexos de isolado proteico de soja-quitosana, foi observado que o tratamento com aquecimento ôhmico alterou a estrutura da proteína, intensificando a reação de glicação. Houve um aumento na exposição de cromóforos internos, resultando na extinção da fluorescência e na redução da intensidade fluorescente das amostras. Além disso, o aquecimento ôhmico favoreceu a glicação e a exposição dos resíduos de triptofano, tornando o microambiente ao redor mais hidrofílico. Em 50 V/cm^{-1} , a desnaturação mais severa expõe novos sítios, mas também desestabiliza a estrutura geral da proteína, resultando em baixa afinidade e cooperatividade. Comparando com o β -caroteno, que interage via forças hidrofóbicas, o ácido cafeico é mais sensível às alterações nos sítios hidrofílicos da proteína, destacando diferenças bioquímicas importantes entre esses compostos.

5. CONCLUSÃO

A aplicação do aquecimento ôhmico demonstrou ser uma estratégia para modificação estrutural e funcional das proteínas do concentrado proteico do soro do leite (CPSL), promovendo alterações significativas nas suas propriedades interfaciais. A análise dos parâmetros térmicos e elétricos revelou que a taxa de

aquecimento e a condutividade elétrica aumentaram com o incremento do campo elétrico e da concentração proteica, reforçando a importância dessas variáveis no controle do processo. A eletroforese SDS-PAGE evidenciou mudanças nas bandas proteicas, indicando desnaturação parcial e formação de agregados em intensidades moderadas de campo elétrico, com possível reestruturação em níveis mais altos. As análises de sulfidrilas livres sugeriram que os campos elétricos promovem tanto a exposição de grupos -SH quanto a formação de pontes dissulfeto, dependendo da intensidade aplicada. De forma coerente, a hidrofobicidade superficial diminuiu progressivamente com o aumento do campo elétrico, sugerindo reorientação conformacional das proteínas e a ocultação de resíduos hidrofóbicos em agregados estruturados. Os resultados de potencial zeta e tamanho de partícula apontaram para uma redução da estabilidade coloidal e tendência à agregação proteica em campos mais elevados. A solubilidade, por sua vez, foi favorecida por campos moderados, mas reduziu-se em intensidades mais elevadas, provavelmente devido à formação de agregados menos solúveis. A fluorescência intrínseca reforçou essas observações, mostrando alterações na exposição de resíduos aromáticos, refletidas nos deslocamentos do comprimento de onda. As interações entre as proteínas modificadas e os ligantes β -caroteno e ácido cafeico demonstraram que o aquecimento ôhmico influenciou significativamente a afinidade de ligação. Houve maior interação com β -caroteno em campos moderados e uma redução da constante de afinidade com ácido cafeico em campos elevados, destacando a seletividade conformacional induzida pelo tratamento. Portanto, o presente estudo confirma que o aquecimento ôhmico, ao modular a estrutura terciária e a superfície funcional das proteínas do soro, é uma tecnologia promissora para ajustar propriedades como solubilidade, estabilidade coloidal e capacidade de ligação a compostos bioativos, com implicações relevantes para a indústria de alimentos.

6. REFERÊNCIAS

- ADEY, W. R. Biological effects of electromagnetic fields. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 51, n. 4, p. 410–416, abr. 1993. <https://doi.org/10.1002/jcb.2400510405>.
- ALKANAN, Z. T.; ALTEMIMI, A. B.; AL-HILPHY, A. R. S.; WATSON, D. G.; PRATAP-SINGH, A. Ohmic Heating in the Food Industry: Developments in Concepts and Applications during 2013–2020. **Applied Sciences**, v. 11, n. 6, p. 2507, 2021.
- ALLAHDAD, Z.; VARIDI, M.; ZADMARD, R.; SABOURY, A. A.; HAERTLÉ, T. Binding of β -carotene to whey proteins: multispectroscopic techniques and docking studies. **Food Chemistry**, v. 277, p. 96-106, 30 mar. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.057>.
- ALIZADEH, O., ALIAKBARLU, J. Effects of ultrasound and ohmic heating pretreatments on hydrolysis, antioxidant and antibacterial activities of whey protein concentrate and its fractions, **LWT**, v.131, p. 109913, 2020.
- ALTAY, I.; KOMINAMI, Y.; QUEIROZ, L. S.; HUPPERTZ, T.; SLOTH, J. J.; MOHAMMADIFAR, M. A. Combined effect of ultrasonication and ohmic heating on protein functionality of Cheddar cheese. **International Dairy Journal**, v. 160, 2025, art. 106116. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2024.106116>
- ANDREANI, G.; SOGARI, G.; MARTI, A.; FROLDI, F.; DAGEVOS, H.; MARTINI, D. Plant-Based Meat Alternatives: Technological, Nutritional, Environmental, Market, and Social Challenges and Opportunities. **Nutrients**, v. 15, n. 2, p. 452, 15 jan. 2023. <https://doi.org/10.3390/nu15020452>.
- ASHAOLU, T. J. Health Applications of Soy Protein Hydrolysates. **International Journal of Peptide Research and Therapeutics**, v. 26, n. 4, p. 2333–2343, dez. 2020. <https://doi.org/10.1007/s10989-020-10018-6>.
- ASSIRY, A. M.; SASTRY, S. K.; SAMARANAYAKE, C. P. Influence of concentration and temperature on electrical conductivity of selected juices during ohmic heating. **Journal of Food Engineering**, v. 60, n. 2, p. 167–174, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(03\)00037-4](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00037-4).
- AVELAR, Z.; SARAIVA, J. A.; VICENTE, A. A.; RODRIGUES, R. M. Desvendando o impacto do aquecimento ôhmico na estrutura da proteína da ervilha comercial. **Food Hydrocolloids**, v. 150, p. 109748, maio 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.109748>.

AXELROD, R.; BEYRER, M.; MATHYS, A. Impact of the electric field intensity and treatment time on whey protein aggregate formation. *Journal of Dairy Science*, v. 105, p. 6589–6600, 2022. Doi : <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21395>.

BALTHAZAR, C. F.; CABRAL, L.; GUIMARÃES, J. T.; NORONHA, M. F.; CAPPATO, L. P.; CRUZ, A. G.; SANT'ANA, A. S. Conventional and ohmic heating pasteurization of fresh and thawed sheep milk: Energy consumption and assessment of bacterial microbiota during refrigerated storage. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 76, p. 102947, mar. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2022.102947>.

BISCHOF, J. C.; HE, X. Thermal Stability of Proteins. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1066, n. 1, p. 12–33, mar. 2006. <https://doi.org/10.1196/annals.1363.003>.

BRADFORD, O.; FANGER, B. Adaptation of the Bradford protein assay to membrane-bound proteins by solubilizing in glucopyranoside detergents. **Analytical Biochemistry**, v. 162, n. 1, p. 11-17, 1987. DOI: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23481383/>

CAPPATO, L. P.; FERREIRA, M. V. S.; MORAES, J.; PIRES, R. P. S.; ROCHA, R. S.; SILVA, R.; NETO, R. P. C.; TAVARES, M. I. B.; FREITAS, M. Q.; RODRIGUES, F. N.; CALADO, V. M. A.; RAICES, R. S. L.; SILVA, M. C.; CRUZ, A. G. Whey acerola-flavoured drink submitted Ohmic Heating: Bioactive compounds, antioxidant capacity, thermal behavior, water mobility, fatty acid profile and volatile compounds. **Food Chemistry**, v. 263, p. 81–88, out. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.115>.

CASSANELLI, M.; PROSAPIO, V.; NORTON, I.; MILLS, T. Acidified/basified gellan gum gels: The role of the structure in drying/rehydration mechanisms. **Food Hydrocolloids**, v. 82, p. 346–354, set. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.04.024>.

CATARINO, M. D.; ALVES-SILVA, J. M.; FERNANDES, R. P.; GONÇALVES, M. J.; SALGUEIRO, L. R.; HENRIQUES, M. F.; CARDOSO, S. M. Development and performance of whey protein active coatings with *Origanum virens* essential oils in the quality and shelf life improvement of processed meat products. **Food Control**, v. 80, p. 273–280, out. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.03.054>

CHA, Y.-H. Effect of Ohmic Heating on Characteristics of Heating Denaturation of Soybean Protein. **The Korean Journal of Food And Nutrition**, n. 24, v.4, p. 740–745, 2011. <https://doi.org/10.9799/KSFAN.2011.24.4.740>

CHELH, I.; GATELLIER, P.; SANTÉ-LHOUTELLIER, V. Technical note: A simplified procedure for myofibril hydrophobicity determination. *Meat Science*, v. 74, n. 4, p. 681–683, dez. 2006.

CHEN, Y.; WANG, T.; ZHANG, Y.; YANG, X.; DU, J.; YU, D.; et al. Effect of moderate electric fields on the structural and gelling properties of pea protein isolate. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 77, 2022, art. 102959.

CHEN BARKLEY, Y. To understand the fluorescence of tryptophan in proteins. *Biochemistry*, v. 37, n. 28, p. 9976-9982, 1998. DOI: 10.1021/bi980274n.

CHENG, Y.; CHEN, X.; YANG, T.; WANG, Z.; CHEN, Q.; ZENG, M.; et al. Storage stability and multi-spectroscopy analysis of the ternary complex induced by mulberry anthocyanin extract interacting with whey protein isolate and rutin under acidic conditions. **Food Hydrocolloids**, v. 143, 2023, art. 108911. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2023.108911.

COSTA, N. R.; CAPPATO, L. P.; FERREIRA, M. V. S.; PIRES, R. P. S.; MORAES, J.; ESMERINO, E. A.; SILVA, R.; NETO, R. P. C.; TAVARES, M. I. B.; FREITAS, M. Q.; SILVEIRA JÚNIOR, R. N.; RODRIGUES, F. N.; BISAGGIO, R. C.; CAVALCANTI, R. N.; RAICES, R. S. L.; SILVA, M. C.; CRUZ, A. G. Ohmic Heating: A potential technology for sweet whey processing. **Food Research International**, v. 106, p. 771–779, abr. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.046>.

COUTINHO, N. M., SILVEIRA, M. R., PIMENTEL, T. C., FREITAS, M. Q., MORAES, J., FERNANDES, L. M., ... CRUZ, A. G. Chocolate milk drink processed by cold plasma technology: Physical characteristics, thermal behavior and microstructure. **LWT- Food Science and Technology**, v.102, p. 324–329, 2019.

CROUSE, H.; POTOMA, J.; NEJRABI, F.; SNYDER, D.; CHOCHAN, B.; BASU, S. Quenching of tryptophan fluorescence in various proteins by a series of small nickel complexes. **Dalton Transactions**, v. 41, n. 9, p. 2720-2731, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1039/c2dt12169g>.

DANILOSKI, D.; PETKOSKA, A. T.; LEE, N. A.; BEKHIT, A. E.-D.; CARNE, A.; VASKOSKA, R.; VASILJEVIC, T. Active edible packaging based on milk proteins: A route to carry and deliver nutraceuticals. **Trends in Food Science & Technology**, v. 111, p. 688–705, maio 2021. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.024>.

DE ALWIS, A. A. P.; FRYER, P. J. Operability of the ohmic heating process: Electrical conductivity effects. **Journal of Food Engineering**, v. 15, n. 1, p. 21–48, jan. 1992. [https://doi.org/10.1016/0260-8774\(92\)90038-8](https://doi.org/10.1016/0260-8774(92)90038-8).

DE FIGUEIREDO FURTADO, G.; PEREIRA, R. N. C.; VICENTE, A. A.; CUNHA, R. L. Cold gel-like emulsions of lactoferrin subjected to ohmic heating. **Food Research International**, v. 103, p. 371–379, jan. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.061>.

DE PAIVA GOUVÊA, LUCAS *et al.* Physical and techno-functional properties of a common bean protein concentrate compared to commercial legume ingredients for the plant-based market. **Food Hydrocolloids**, v. 137, p. 108351, 2023.

DEVRIES, M. C.; PHILLIPS, S. M. Supplemental Protein in Support of Muscle Mass and Health: Advantage Whey. **Journal of Food Science**, v. 80, n. S1, mar. 2015. DOI 10.1111/1750-3841.12802.

DEWIT, J., & KLARENBECK, G. (1984). Effects of various heat treatments on the structure and solubility of whey proteins. **Journal of Dairy Science**, 67(12), 12701-2710. [https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302\(84\)81628-8](https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302(84)81628-8)

DOAN, K. N.; LAI, D. Q.; KIM LE, P. T.; LE, T. N. Inactivation of pectin Methylesterase and *Lactobacillus Plantarum* by ohmic heating in pomelo juice. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 56, n. 4, p. 1987–1995, 2021.

FERREIRA, S.; MACHADO, L.; PEREIRA, R. N.; VICENTE, A. A.; RODRIGUES, R. M. Unraveling the nature of ohmic heating effects in structural aspects of whey proteins – The impact of electrical and electrochemical effects. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, v. 74, dez. 2021, art. 102831. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102831>.

FERREIRA, M. V. S. Processamento de bebida láctea de framboesa por aquecimento ôhmico. 2019. 57 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2019.

FIGURA, L. O.; TEIXEIRA, A. A. Electrical Properties. *In*: FIGURA, L. O.; TEIXEIRA, A. A. **Food Physics**. Cham: Springer International Publishing, p. 403–430, 2023. DOI 10.1007/978-3-031-27398-8_9.

FRIEDMAN, M. Nutritional Value of Proteins from Different Food Sources. A Review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, n. 1, p. 6–29, 1 jan. 1996. <https://doi.org/10.1021/jf9400167>.

GLAZER, A. N. Specific Chemical Modification of Proteins. **Annual Review of Biochemistry**, v. 39, n. 1, p. 101–130, jun. 1970. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.39.070170.000533>.

GUO, W.; LLAVE, Y.; JIN, Y.; FUKUOKA, M.; SAKAI, N. Mathematical modeling of ohmic heating of two-component foods with non-uniform electric properties at high frequencies. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 39, p. 63–78, fev. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.11.005>.

GUL, O.; SARICA OGLU, F. T.; ATALAR, I.; GUL, L. B.; TORNUK, F.; SIMSEK, S. Structural characterization, technofunctional and rheological properties of sesame proteins treated by high-intensity ultrasound. **Foods**, v. 12, n. 9, p. 1791, 2023.

HAN, T.; WANG, M.; WANG, Y.; TANG, L. Effects of high pressure homogenization and ultrasonic treatment on the structure and characteristics of casein. **LWT**, v. 130, 2020, art. 109560.

HAN, Z.; CAI, M.; CHENG, J.-H.; SUN, D.-W. Effects of electric fields and electromagnetic wave on food protein structure and functionality: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 75, p. 1–9, maio 2018. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.02.017>.

HARAGUCHI, F. K.; ABREU, W. C. de; PAULA, H. de. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. *Revista de Nutrição*, v. 19, n. 4, p. 479-488, 2006.

HE, W.; GUO, F.; JIANG, Y.; LIU, X.; CHEN, J.; ZENG, M.; et al. Enzymatic hydrolysates of soy protein promote the physicochemical stability of mulberry anthocyanin extracts in food processing. **Food Chemistry**, v. 386, 2022, art. 132811. DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.132811.

HU, Y.; ELE, C.; JIANG, C.; LIAO, Y.; XIONG, H.; ZHAO, Q. Complexation with whey protein fibrils and chitosan: A potential vehicle for curcumin with improved aqueous dispersion stability and enhanced antioxidant activity. *Food Hydrocolloids*, 1 v. 104, 2020, art. 105729. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2020.105729

ICIER, F. Ohmic Heating of Fluid Foods. **Novel Thermal and Non-Thermal Technologies for Fluid Foods**. [S. l.]: Elsevier, 2012. p. 305–367. DOI 10.1016/B978-0-12-381470-8.00011-6.

ICIER, F. Influence of ohmic heating on rheological and electrical properties of reconstituted whey solutions, *Food and Bioproducts Processing*, v. 87, p. 308–316, 2009.

ICIER, F.; ILICALI, C. The effects of concentration on electrical conductivity of orange juice concentrates during ohmic heating. **European Food Research and Technology**, v. 220, n. 3–4, p. 406–414, mar. 2005. <https://doi.org/10.1007/s00217-004-1043-x>

INDIARTO, R., & REZAHARSAMTO, B. *A Review On Ohmic Heating And Its Use In Food*. V.9, n. 01, 2020.

JAEGER, H.; ROTH, A.; TOEPFL, S.; HOLZHAUSER, T.; ENGEL, K.-H.; KNORR, D.; VOGEL, R. F.; BANDICK, N.; KULLING, S.; HEINZ, V.; STEINBERG, P. Opinion on the use of ohmic heating for the treatment of foods. **Trends in Food**

Science & Technology, v. 55, p. 84–97, set. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.07.007>.

JIANG, Q.; JIN, X.; LEE, S.-J.; YAO, S. Protein secondary structure prediction: A survey of the state of the art. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 76, p. 379–402, set. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2017.07.015>.

JOERES, E.; DRUSCH, S.; TÖPFL, S.; JUADJUR, A.; BINDRICH, U.; VÖLKER, T.; HEINZ, V.; TERJUNG, N. Ohmic vs. conventional heating: Influence of moderate electric fields on properties of potato protein isolate gels. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 85, p. 103333, maio 2023. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2023.103333>.

JOERES, E.; SCHÖLZEL, H.; DRUSCH, S.; TÖPFL, S.; HEINZ, V.; TERJUNG, N. Ohmic vs. conventional heating: Influence of moderate electric fields on properties of egg white protein gels. **Food Hydrocolloids**, v. 127, p. 107519, jun. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107519>.

JOSHI, M.; TIMILSENA, Y.; ADHIKARI, B. Global production, processing and utilization of lentil: A review. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 16, n. 12, p. 2898–2913, dez. 2017. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61793-3](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61793-3).

JOST, R.; MAIRE, J.; MAYNARD, F.; SECRETIN, M. Aspects of whey protein usage in infant nutrition, a brief review. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 34, n. 5–6, p. 533–542, out. 1999. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.1999.00324.x>.

KARACA, A. C.; LOW, N.; NICKERSON, M. Emulsifying properties of chickpea, faba bean, lentil and pea proteins produced by isoelectric precipitation and salt extraction. *Food Research International*, v. 44, n. 9, p. 2742–2750, nov. 2011.

Kasapis, S., Norton, I. T., & Ubbink, J. B. *Modern Biopolymer Science*. Elsevier. 2009. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374195-0.X0001-8>.

KNIRSCH, M. C.; ALVES DOS SANTOS, C.; MARTINS DE OLIVEIRA SOARES VICENTE, A. A.; VESSONI PENNA, T. C. Ohmic heating – a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, n. 9, p. 436–441, set. 2010. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.06.003>.

KUMAR, M.; TOMAR, M.; POTKULE, J.; PUNIA, S.; DHAKANE-LAD, J.; SINGH, S.; et al. Functional characterization of plant-based protein to determine its quality for food applications. **Food Hydrocolloids**, v. 123, 2022, art. 106986.

KURIYA, S. P.; SILVA, R.; ROCHA, R. S.; GUIMARÃES, J. T.; BALTHAZAR, C. F.; PIRES, R. P. S.; TAVARES FILHO, E. R.; PIMENTEL, T. C.; FREITAS, M. Q.; CAPPATO, L. P.; RAICES, R. S. L.; CRUZ, A. G.; SILVA, M. C.; ESMERINO, E. A. Impact assessment of different electric fields on the quality parameters of

blueberry flavored dairy desserts processed by Ohmic Heating. **Food Research International**, v. 134, p. 109235, ago. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109235>.

LAKOWICZ, J. R. Principles of fluorescence spectroscopy. 3. ed. New York: Springer, 2006. DOI: 10.1007/978-0-387-46312-4/COVER.

LEAL, R. T.; PEREIRA, R. S.; RODRIGUES, R. M.; PEREIRA, R. N. Characterization and kinetics of whey protein isolate amyloid fibril aggregates under moderate electric fields. **Food Research International**, v. 196, 2024, art. 115033. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.115033>.

Le Maux, S., Bouhallab, S., Giblin, L., Brodkorb, A., & Croguennec, T. (2013). Complexes between linoleate and native or aggregated β -lactoglobulin: Interaction parameters and in vitro cytotoxic effect. **Food Chemistry**, 141(3), 2305–2313. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.031>

LI-CHAN, E. Heat-induced changes in the proteins of whey protein concentrate. **Journal of Food Science**, v. 48, p. 47-56, 1983. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.1983.TB14786.X>

LI, X.; YE, C.; TIAN, Y.; PAN, S.; WANG, L. Effect of ohmic heating on fundamental properties of protein in soybean milk. **Journal of Food Process Engineering**, v. 41, n. 3, p. e12660, maio 2018. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12660>.

LIU, F.; LI, M.; WANG, Q.; YAN, J.; HAN, S.; MA, C.; MA, P.; LIU, X.; MCCLEMENTS, D. J. Future foods: Alternative proteins, food architecture, sustainable packaging, and precision nutrition. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 63, n. 23, p. 6423–6444, 10 set. 2023. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2033683>.

LIZARRAGA, M. S. DE PIANTE VICIN, D.; GONZÁLEZR, R., RUBIOLO, A., SANTIAGO, L.G. Rheological behavior of whey protein concentrate and λ -carrageenan aqueous mixtures, **Food Hydrocolloid**, v. 20, p. 740-748, 2006.

LLAVE, Y.; MORINAGA, K.; FUKUOKA, M.; SAKAI, N. Characterization of ohmic heating and sous-vide treatment of scallops: Analysis of electrical conductivity and the effect of thermal protein denaturation on quality attribute changes. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 50, p. 112–123, dez. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.09.007>.

MA, Z.; GUO, A.; JING, P. Advances in the binding of dietary proteins with coexisting anthocyanins in foods: Driving forces, structure-affinity relationship and functional and nutritional properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 63, n. 31, p. 10792-10813, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2086211>.

MAKROO, H. A.; RASTOGI, N. K.; SRIVASTAVA, B. Ohmic heating assisted inactivation of enzymes and microorganisms in foods: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 97, p. 451–465, mar. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.015>.

MCCMAHON, D. J.; DU, H.; MCMANUS, W. R.; LARSEN, K. M. Microstructural changes in casein supramolecules during acidification of skim milk. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 12, p. 5854–5867, dez. 2009. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2324>.

MENDOZA, D.R.; KOSMERL, E.; KRENTS, A.; ZHANG, L.; BADIGER, S.; CRUZADO, G. M.; APAZA, A. M.; GIUSTI, M.; FLORES, R.J.; CANO, I.G. invited review: Acid whey trends and health benefits, **Journal of Dairy Science**, v. 104, n.2, p. 1262-1275, 2021.

MERCALI, G. D.; SCHWARTZ, S.; MARCZAK, L. D. F.; TESSARO, I. C.; SASTRY, S. Effect of the Electric Field Frequency on Ascorbic Acid Degradation during Thermal Treatment by Ohmic Heating. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 25, p. 5865–5870, 25 jun. 2014. <https://doi.org/10.1021/jf500203u>.

MERKEL, A.; VOROPAEVA, D.; ONDRUSEK, M. The impact of integrated nanofiltration and electrodialytic processes on the chemical composition of sweet and acid whey streams, **Journal of Food Engineering**, v.298, p.110500, 2021.

MINJ, S; ANAND, S. Proteínas de soro de leite e seus derivados: Bioatividade, funcionalidade e aplicações atuais, *Laticínios*, v. 1, n 3, p. 233- 258, 2020

MIRANDA, C. G.; RODRIGUES, R. M.; PEREIRA, R. N.; SPERANZA, P.; KUROZAWA, L. E.; VICENTE, A. A.; SATO, A. C. K. Influence of ohmic heating on lentil protein structure and protein-pectin interactions. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 87, p. 103413, jul. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2023.103413>.

MIRANDA, C. G.; SPERANZA, P.; KUROZAWA, L. E.; KAWAZOE SATO, A. C. Lentil protein: impact of different extraction methods on structural and functional properties. **Heliyon**, v. 8, n. 11, p. e11775, nov. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11775>.

MOUNSEY, J. S.; O'KENNEDY, B. T. Conditions limiting the influence of thiol–disulphide interchange reactions on the heat-induced aggregation kinetics of β -lactoglobulin. *International Dairy Journal*, v. 17, n. 9, p. 1034-1042, 2007.

MOREIRA, T. C. P.; PEREIRA, R. N.; VICENTE, A. A.; DA CUNHA, R. L. Effect of Ohmic heating on functionality of sodium caseinate – A relationship with protein gelation. **Food Research International**, v. 116, p. 628–636, fev. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.08.087>.

NIKBAKHT NASRABADI, M.; SEDAGHAT DOOST, A.; MEZZENGA, R. Modification approaches of plant-based proteins to improve their techno-functionality and use in food products. **Food Hydrocolloids**, v. 118, p. 106789, set. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106789>.

NUNES, L.; TAVARES, G. M. Thermal treatments and emerging technologies: Impacts on the structure and techno-functional properties of milk proteins. **Trends in Food Science & Technology**, v. 90, p. 88–99, ago. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.06.004>.

PEREIRA, R.N.; RODRIGUES, R. M.; MACHADO, L.; FERREIRA, S.; COSTA, J.; VILLA, C.; BARREIROS, M. P.; MAFRA, I.; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A. Influence of ohmic heating on the structural and immunoreactive properties of soybean proteins. **LWT**, v. 148, p. 111710, ago. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111710>.

PEREIRA, R. N.; COSTA, J.; RODRIGUES, R. M.; VILLA, C.; MACHADO, L.; MAFRA, I.; VICENTE, A. Effects of ohmic heating on the immunoreactivity of β -lactoglobulin - a relationship towards structural aspects. **Food & Function**, v. 11, n. 5, p. 4002-4013, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1039/c9fo02834j>.

PEREIRA, R.N; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A.; CAPPATO, L. P.; DA SILVA FERREIRA, M. V.; DA SILVA ROCHA, R.; DA CRUZ, A. G. Ohmic heating for the dairy industry: a potential technology to develop probiotic dairy foods in association with modifications of whey protein structure. **Current Opinion in Food Science**, v. 22, p. 95–101, ago. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.01.014>.

PEREIRA, R.; RODRIGUES, R.; ALTINOK, E.; RAMOS, O.; RAMOS, O.; MALCATA, F.; MARESCA, P.; FERRARI, G.; TEIXEIRA, J.; VICENTE, A. Development of iron-rich whey protein hydrogels after ohmic heating application – Effects of moderate electric fields. **Food Research International**, v. 99, n. 1, p. 435-443, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.05.023>

PEREIRA, R.; RODRIGUES, R.; RAMOS, O.; RAMOS, O.; MALCATA, F.; TEIXEIRA, J.; VICENTE, A. Production of whey protein-based aggregates under ohmic heating. **Food and Bioprocess Technology**, v. 9, n. 4, p. 576-587, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1651-4>

PEREIRA, RN, TEIXEIRA, JA, & VICENTE, AA. Explorando a desnaturação de proteínas de soro de leite mediante aplicação de campos elétricos moderados: um estudo cinético e termodinâmico. **Jornal de Química Agrícola e Alimentar**, v.59, n.21, p. 11589–11597, 2011. <https://doi.org/10.1021/Jf201727>

PEREIRA, R.; SOUZA, B.; CERQUEIRA, M.; TEIXEIRA, J.; VICENTE, A. Effects of electric fields on protein unfolding and aggregation: influence on edible film

formation. *Biomacromolecules*, v. 11, n. 11, p. 2912-2918, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1021/bm100681a>

PERO, M.; KIANI, H.; ASKARI, G. A novel numerical approach for modeling the coagulation phenomenon in egg white. **Journal of Food Process Engineering**, v. 42, 2019, p. 1-11. DOI: 10.1111/jfpe.13033.

PETRUCCELLI, S.; ANON, M. C. Thermal Aggregation of Soy Protein Isolates. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, n. 12, p. 3035–3041, dez. 1995. <https://doi.org/10.1021/jf00060a009>.

PINTADO, M.E.; MACEDO, A.C.; MALCATA, F.X. Tecnologia, química e microbiologia de queijos de soro de leite. *Ciência alimentar. Tecnologia. Internacional*, v. 7, p. 105-116, 2001.

PIRES, R. P. S.; CAPPATO, L. P.; GUIMARÃES, J. T.; ROCHA, R. S.; SILVA, R.; BALTHAZAR, C. F.; FREITAS, M. Q.; SILVA, P. H. F.; NETO, R. P. C.; TAVARES, M. I. B.; GRANATO, D.; RAICES, R. S. L.; SILVA, M. C.; CRUZ, A. G. Ohmic heating for infant formula processing: Evaluating the effect of different voltage gradient. **Journal of Food Engineering**, v. 280, p. 109989, set. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.109989>.

POOJARY, M. M.; ROOHINEJAD, S.; KOUBAA, M.; BARBA, F. J.; PASSAMONTI, P.; REŽEK JAMBRAK, A.; OEY, I.; GREINER, R. Impact of Pulsed Electric Fields on Enzymes. *In: MIKLAVCIC, D. (org.). Handbook of Electroporation*. Cham: Springer International Publishing, p. 1–21, 2016.

RECUPAS, A.; SANDU, R.; LEONTIES, A. R.; ANGHEL, D. F.; POPA, V. T. Complex interaction of caffeic acid with bovine serum albumin: calorimetric, spectroscopic and molecular docking evidence. **New Journal of Chemistry**, v. 41, n. 24, 2017.

PRIYADARSHINI, A.; RAYAGURU, K.; BISWAL, A. K.; PANDA, P. K.; LENKA, C.; MISRA, P. K. Impact of conventional and ohmic blanching on color, phytochemical, structural, and sensory properties of mango (*Mangifera indica* L.) cubes: A comparative analysis. **Food Chemistry Advances**, v. 2, p. 100308, 2023.

PROCTOR, A. (Org.). Front Matter. **Green Chemistry Series**. 2. ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2018. p. P001–P006. DOI 10.1039/9781782626596-FP001.

RAMASWAMY, H. S.; MARCOTTE, M.; SASTRY, S.; ABDELRAHIM, K. (Orgs.). **Ohmic Heating in Food Processing**. 0 ed. [S. l.]: CRC Press, 2014. DOI 10.1201/b16605.

REN, S.; JIMÉNEZ-FLORES, R.; GIUSTI, M. M. Anthocyanin-whey protein interactions: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 20, 2021, p. 5992-6011. DOI: 10.1111/1541-4337.12854.

RIBEIRO, L.F; LOPES, E.T.S.V; GUIMARÃES, D.G.F. Soro de leite: de subproduto a coproduto nas indústrias de laticínios. *Revista GeTeC*, v.12, n.40, 2023.

ROCHA, R. S.; SILVA, R.; RAMOS, G. L. P.; CABRAL, L. A.; PIMENTEL, T. C.; CAMPELO, P. H.; BLUMER ZACARCHENCO, P.; FREITAS, M. Q.; ESMERINO, Erick. A.; SILVA, M. C.; CRUZ, A. G. Ohmic heating treatment in high-protein vanilla flavored milk: Quality, processing factors, and biological activity. **Food Research International**, v. 161, p. 111827, nov. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111827>.

RODRIGUES, R. M.; AVELAR, Z.; MACHADO, L.; PEREIRA, R. N.; VICENTE, A. A. Electric field effects on proteins – Novel perspectives on food and potential health implications. **Food Research International**, v. 137, p. 109709, nov. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109709>.

RODRIGUES, R.; FASOLIN, L.; AVELAR, Z.; PETERSEN, S.; VICENTE, A.; PEREIRA, R. Effects of moderate electric fields on cold gelation of whey proteins - From molecular interactions to functional properties. **Food Hydrocolloids**, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105505>.

RODRIGUES, R. M.; VICENTE, A. A.; PETERSEN, S. B.; PEREIRA, R. N. Electric field effects on β -lactoglobulin thermal unfolding as a function of pH – Impact on protein functionality. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 52, p. 1–7, mar. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.11.010>.

RODRIGUES, R. M.; MARTINS, A. J.; RAMOS, O. L.; MALCATA, F. X.; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A.; PEREIRA, R. N. Influence of moderate electric fields on gelation of whey protein isolate. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 329–339, jan. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.06.002>.

ROSA, D. A.; GUIMARÃES, J. D. T.; CABRAL, L. A.; SILVA, M. C.; RAICES, R. S. L.; RAMOS, G. L. P. A.; PIMENTEL, T. C.; ESMERINO, E. A.; CRUZ, A. G. D.; FREITAS, M. Q. D. Effect of ohmic heating temperature and voltage on liquid whole egg processing. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 89, p. 103490, out. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2023.103490>.

SAMADI SAEEDABAD, S.; SHAHIRI TABARESTANI, H.; GHORBANI, M.; ZIAIFAR, A. Ohmic heating as a novel approach to improve the techno-functional properties of sesame protein isolate. **LWT**, v. 214, Dec. 15, 2024, art. 117151. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.117151>

SABANCI, S.; ICIER, F. Applicability of ohmic heating assisted vacuum evaporation for concentration of sour cherry juice. **Journal of Food Engineering**, v. 212, p. 262–270, nov. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.06.004>.

SEREECHANTARERK, C., HONGSPRABHAS, P., CHANPUT, W., & KAMONPATANA, P. Effects of ohmic heating on structural and physicochemical changes of whey proteins. **Agriculture and Natural Resources**, 55 issue v. 3, n3, 2021. <https://doi.org/10.34044/j.anres.2021.55.3.17>

SHEN, X., ZHAO, C., & GUO, M. (2017). Effects of high intensity ultrasound on acid-induced gelation properties of whey protein gel. **Ultrasonics Sonochemistry**, 39, 810-815. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.05.039>.

SHIMOYAMADA, M.; ITABASHI, Y.; SUGIMOTO, I.; KANAUCHI, M.; ISHIDA, M.; TSUZUKI, K.; EGUSA, S.; HONDA, Y. Characterization of Soymilk Prepared by Ohmic Heating and the Effects of Voltage Applied. **Food Science and Technology Research**, v. 21, n. 3, p. 439–444, 2015. <https://doi.org/10.3136/fstr.21.439>.

Sponton, O. E., Perez, A. A., Ramel, J. V., & Santiago, L. G. (2017). Protein nanovehicles produced from egg white. Part 1: Effect of pH and heat treatment time on particle size and binding capacity. **Food Hydrocolloids**, 73, 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.06.033>

SUBAŞI, B. G.; JAHROMI, M.; CASANOVA, F.; CAPANOGLU, E.; AJALLOUEIAN, F.; MOHAMMADIFAR, M. A. Effect of moderate electric field on structural and thermo-physical properties of sunflower protein and sodium caseinate. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 67, p. 102593, jan. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102593>.

SUN, M.; MA, P.; CHEN, C.; PANG, Z.; HUANG, Y.; LIU, X.; WANG, P. Características físico-químicas, morfologia e propriedades lubrificantes de partículas de proteína de soro de leite de tamanho específico por agregação ácida ou iônica. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 252, art. 126346, 2023. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.126346

SUN-WATERHOUSE, D.; ZHAO, M.; WATERHOUSE, G. I. N. Protein Modification During Ingredient Preparation and Food Processing: Approaches to Improve Food Processability and Nutrition. **Food and Bioprocess Technology**, v. 7, n. 7, p. 1853–1893, jul. 2014.

TABTABAEI, S. et al. Functional properties of navy bean (*Phaseolus vulgaris*) protein concentrates obtained by pneumatic tribo-electrostatic separation. **Food Chemistry**, v. 283, p. 101–110, jun. 2019.

TIAN, T.; LIU, S.; LI, L.; WANG, S.; CHENG, L.; FENG, J.; WANG, Z.; TONG, X.; WANG, H.; JIANG, L. Soy protein fibrils– β -carotene interaction mechanisms: Toward high nutrient plant-based mayonnaise. **LWT**, v. 184, 2023, art. 114870. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114870>

VAN DER PLANCKEN, I.; VAN LOEY, A.; HENDRICKX, M. E. G. Changes in Sulfhydryl Content of Egg White Proteins Due to Heat and Pressure Treatment. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 14, p. 5726–5733, 1 jul. 2005. <https://doi.org/10.1021/jf050289+>.

Visentini, F. F., Sponton, O. E., Perez, A. A., & Santiago, L. G. (2017). Formation and colloidal stability of ovalbumin-retinol nanocomplexes. **Food Hydrocolloids**, 67, 130–138. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.12.027>

VARGHESE, K. S.; PANDEY, M. C.; RADHAKRISHNA, K.; BAWA, A. S. Technology, applications and modelling of ohmic heating: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 10, p. 2304–2317, out. 2014. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0710-3>.

VENKATESWARA RAO, M.; C. K., S.; RAWSON, A.; D. V., C.; N., V. Modifying the plant proteins techno-functionalities by novel physical processing technologies: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 63, n. 19, p. 4070–4091, 26 jul. 2023. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1997907>.

WANG, Y.; WANG, S.; ZHANG, X.; WU, W.; BAI, W.; TIAN, L. Non-covalent interactions of roselle anthocyanins with milk proteins and egg white protein. **Food Hydrocolloids**, v. 154, 2024, art. 110125. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.110125>.

WANG, H.; WANG, N.; CHEN, X.; WU, Z.; ZHONG, W.; YU, D.; et al. Effects of moderate electric field on the structural properties and aggregation characteristics of soybean protein isolate. **Food Hydrocolloids**, v. 133, art. 107911, 2022.

WANG, X.; WANG, W.; HU, X.; ZHU, X.; WANG, L.; ZHANG, N.; YU, D. Structural and physical properties of soybean protein isolate films with ohmic heating treatment: Impacts of electric field. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 82, p. 103213, dez. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2022.103213>.

WANG, C.; LLAVE, Y.; SAKAI, N.; FUKUOKA, M. Analysis of thermal processing of liquid eggs using a high frequency ohmic heating: Experimental and computer simulation approaches. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 73, 2021, art. 102792. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102792>

WANG, L.-J.; LI, D.; TATSUMI, E.; LIU, Z.-S.; CHEN, X. D.; LI, L.-T. Application of two-stage ohmic heating to tofu processing. **Chemical Engineering and**

Processing: Process Intensification, v. 46, n. 5, p. 486–490, maio 2007.
<https://doi.org/10.1016/j.cep.2006.06.017>.

WONGSA-NGASRI, P.; SASTRY, S. K. Effect of ohmic heating on tomato peeling.
LWT - Food Science and Technology, v. 61, n. 2, p. 269–274, 2015.

XUE, H.; GAO, Y.; SHI, Z. M.; GAO, H.; XIE, K.; TAN, J. Interactions between polyphenols and polysaccharides/proteins: mechanisms, effect factors and physicochemical and functional properties: a review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 309, Pt 2, p. 142793, maio 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.142793>.

YADAV, J. S. S., Yan, S., PILLI, S., KUMAR, L., TYAGI, R. D., & SURAMPALLI, R. Y. Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 6, p. 756–774. 2015.

YU, Z.; CUI, Y.; ZHANG, A.; DONG, Y.; WANG, X.; XU, N.; CHEN, Q. The effect of preheated WPI interaction with AN on its complexes based on protein structure and function. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 17, n. 4, p. 3272–3282, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11694-023-01867-y>.

ZHANG, X.; SUN, X.; GAO, F.; WANG, J.; WANG, C. Systematical characterization of physiochemical and rheological properties of thermal-induced polymerized whey protein. **J Sci Food Agric**, v. 99, n. 2, p. 923-932, 2019. doi: <https://doi.org/10.1002/jsfa.9264>.

ZHANG, Y.T.; NIU, F.G.; ZHANG, X.M.; LU, Z.L.; GUO, Y.; WANG, H.W. Controlled enzymatic hydrolysis on the characteristic and antioxidant properties of soy protein isolate-maltodextrin conjugates. **International Journal of Food Properties**, v. 21, n. 1, p. 2239-2249, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1508154>.

ZHOU, T.; LIU, H.; DIAO, X.; ZHAO, Q.; DUAN, J.; HENRY, I. I.; YAR, M. S.; WU, J.; LI, C. Molecular interaction between myofibrillar protein and beta-carotene during heating. **Food Chemistry**, v. 435, 2024, art. 137588.