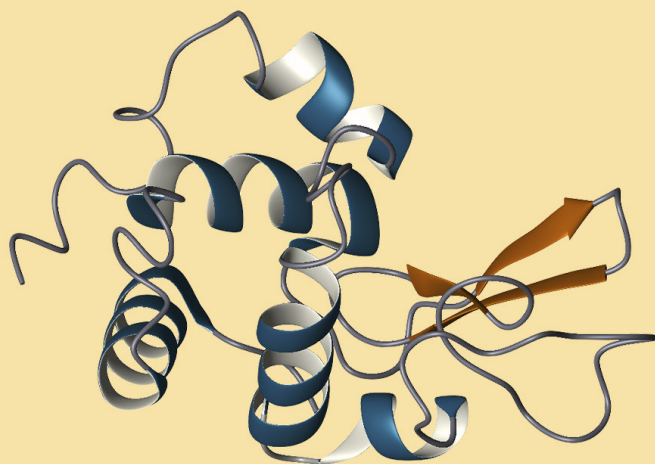


Clitor Junior Fernandes de Souza  
Caroline Santos da Silva

FORMAÇÃO DOS

# COMPLEXOS COACERVADOS:

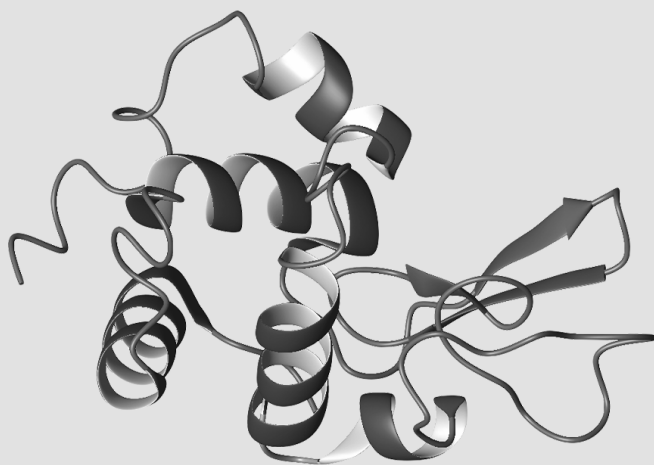
POTENCIALIDADES DAS PROTEÍNAS  
DA CLARA DO OVO



Clitor Junior Fernandes de Souza  
Caroline Santos da Silva

# FORMAÇÃO DOS COMPLEXOS COACERVADOS:

POTENCIALIDADES DAS PROTEÍNAS  
DA CLARA DO OVO



**Editora chefe**

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Editora executiva**

Natalia Oliveira

**Assistente editorial**

Flávia Roberta Barão

**Bibliotecária**

Janaina Ramos

**Projeto gráfico**

Camila Alves de Cremo

Luiza Alves Batista

Nataly Evilin Gayde

**Imagens da capa**

iStock

**Edição de arte**

Luiza Alves Batista

2023 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2023 Os autores

Copyright da edição © 2023 Atena

Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.

Open access publication by Atena

Editora



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo do texto e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

**Conselho Editorial**

**Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano

Profª Drª Amanda Vasconcelos Guimarães – Universidade Federal de Lavras

Profª Drª Andrezza Miguel da Silva – Universidade do Estado de Mato Grosso

Prof. Dr. Arinaldo Pereira da Silva – Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás

Profª Drª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados  
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia  
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa  
Prof. Dr. Edevaldo de Castro Monteiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido  
Prof. Dr. Jayme Augusto Peres – Universidade Estadual do Centro-Oeste  
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará  
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Renato Jaqueto Goes – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

# Formação dos complexos coacervados: potencialidades das proteínas da clara do ovo

**Diagramação:** Letícia Alves Vitral  
**Correção:** Maiara Ferreira  
**Indexação:** Amanda Kelly da Costa Veiga  
**Revisão:** Os autores  
**Autores:** Clitor Junior Fernandes de Souza  
 Caroline Santos da Silva

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)	
S729	<p>Souza, Clitor Junior Fernandes de</p> <p>Formação dos complexos coacervados: potencialidades das proteínas da clara do ovo / Clitor Junior Fernandes de Souza, Caroline Santos da Silva. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2023.</p> <p>Formato: PDF            Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader            Modo de acesso: World Wide Web            Inclui bibliografia            ISBN 978-65-258-1377-6            DOI: <a href="https://doi.org/10.22533/at.ed.776232404">https://doi.org/10.22533/at.ed.776232404</a></p> <p>1. Proteínas. I. Souza, Clitor Junior Fernandes de. II. Silva, Caroline Santos da. III. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDD 613.282</p>
Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166	

**Atena Editora**  
 Ponta Grossa – Paraná – Brasil  
 Telefone: +55 (42) 3323-5493  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
[contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)

## DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao conteúdo publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que o texto publicado está completamente isento de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

## DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access*, *desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce*, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.

Proteínas alimentares e polissacarídeos são principais constituintes alimentares nas mais diversas matrizes alimentares. Muitas proteínas e polissacarídeos são capazes de estabilizar emulsões e espumas, espessar soluções e formar géis, embora difiram consideravelmente em suas habilidades para fornecer esses atributos funcionais. As proteínas da clara do ovo são amplamente utilizadas como ingredientes alimentares devido suas propriedades funcionais únicas. Contudo, várias tentativas foram feitas para melhorar as propriedades funcionais das proteínas da clara do ovo e para identificar as formulações ideais para produtos alimentícios exclusivos. Logo, as proteínas e polissacarídeos podem formar complexos entre si, o que leva a mudanças nas propriedades funcionais e nutricionais dos sistemas combinados. Este livro pretende apresentar alguns dos avanços recentes em coacervação complexa para uso nas áreas de alimentos e agricultura. O estado atual e as tendências futuras da utilização de proteínas da clara do ovo e a possível formação de complexos coacervados também foram revisados. Espera-se que este livro seja um recurso útil para cientistas de materiais, tecnólogos, nutricionistas e engenheiros de alimentos.

**PALAVRAS CHAVE:** Proteínas da clara, Pectina, Carragena, Goma xantana, Complexo coacervado.



Food proteins and polysaccharides are the main food constituents in the most diverse food matrices. Many proteins and polysaccharides are capable of stabilizing emulsions and foams, thickening solutions and forming gels, although they differ considerably in their abilities to provide these functional attributes. Egg white proteins are widely used as food ingredients due to their unique functional properties. However, several attempts have been made to improve the functional properties of egg white proteins and to identify ideal formulations for unique food products. Therefore, proteins and polysaccharides can form complexes with each other, which leads to changes in the functional and nutritional properties of the combined systems. This book aims to present some of the recent advances in complex coacervation for use in food and agriculture. The current status and future trends in the utilization of egg white proteins and the possible formation of coacervate complexes were also reviewed. It is hoped that this book will be a useful resource for materials scientists, technologists, nutritionists, and food engineers.

**KEYWORDS:** Egg white, pectin, carrageenan, xanthan gum, complex coacervate.

<b>INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>1</b>
<b>HISTÓRICO SOBRE O ESTUDO DA FORMAÇÃO DOS COMPLEXADOS.....</b>	<b>2</b>
<b>COMPLEXAÇÃO.....</b>	<b>4</b>
ASPECTOS TERMODINÂMICOS.....	5
<b>PRINCIPAIS PARÂMETROS QUE INFLUENCIAM A FORMAÇÃO DO COMPLEXO PROTEÍNA/POLISSACARÍDEO .....</b>	<b>7</b>
PH.....	7
FORÇA IÔNICA.....	9
PROPORÇÃO ENTRE PROTEÍNA E POLISSACARÍDEO E CONCENTRAÇÃO TOTAL DE BIOPOLÍMERO.....	10
INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA .....	11
CISALHAMENTO E PRESSÃO .....	12
MASSA MOLECULAR.....	13
<b>REOLOGIA DE COACERVADOS.....</b>	<b>14</b>
<b>PRINCIPAIS PROPRIEDADES FUNCIONAIS DOS COMPLEXADOS COACERVADOS .....</b>	<b>15</b>
CAPACIDADE GELIFICANTE.....	15
CAPACIDADE ESPUMANTE .....	16
CAPACIDADE EMULSIFICANTE .....	17
<b>APLICAÇÕES INDUSTRIAIS DOS COMPLEXOS COACERVADOS.....</b>	<b>19</b>
CONTROLE E LIBERAÇÃO DE PROTEÍNAS E/OU DROGAS A BASE DE PROTEÍNAS.....	19
ENCAPSULAMENTO.....	19
PURIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS .....	21
ESTRUTURAÇÃO DE BIOFILMES ALIMENTÍCIOS.....	22
DEMAIS PROPRIEDADES.....	23
<b>BIOPOLÍMEROS.....</b>	<b>24</b>
OVO DE GALINHA.....	24
Importância econômica.....	25

PROTEÍNAS DA CLARA DO OVO .....	27
Ovoalbumina .....	28
Conalbumina ou Ovotransferrina .....	29
Ovomucoide .....	29
Ovomucina .....	29
Liozima (Ovoglobulina G <sub>1</sub> ) .....	30
Outras Proteínas .....	30
GOMA XANTANA .....	31
PECTINA .....	32
CARRAGENA .....	33
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>36</b>
<b>SOBRE O AUTOR .....</b>	<b>48</b>

# INTRODUÇÃO GERAL

O interesse na aplicação de tecnologias envolvendo a utilização de polissacarídeos vem aumentando na última década. Grandes investimentos têm sido realizados por este ramo da indústria para fabricar produtos com alto valor agregado. Como exemplo pode-se citar a goma xantana, polissacarídeo que se tornou desde a introdução no mercado, o espessante mais escolhido em muitas aplicações. Isto é devido ao fato de ter comportamento reológico único, pois forma soluções altamente viscosas em concentrações muito baixas, sem grandes alterações por mudanças no pH, presença de sais e temperatura do meio. Assim como a goma xantana, a pectina e a carragena também apresentam excelentes propriedades funcionais, tendo grande aplicabilidade nas indústrias alimentícias.

Aliado a esse fato está à necessidade de estudos na área de formação de complexos coacervados de tais polissacarídeos com proteínas já bastante úteis à indústria, como é o caso das proteínas da clara do ovo, que devido às suas importantes propriedades funcionais (coagulação, gelificação e formação de espuma), ação antimicrobiana e propriedades nutricionais, tem sido largamente empregada como ingrediente em alimentos processados. Porém, durante o processamento e o armazenamento, as proteínas da clara podem sofrer significativa perda de algumas de suas propriedades funcionais ou nutricionais devido a diversos fatores, como as altas temperaturas e pHs extremos aos quais podem ser submetidas.

Os complexos coacervados formados, após a mistura de polissacarídeos com proteínas, têm demonstrado grande potencial para melhorar as características funcionais dos biopolímeros de origem. A potencialidade de aplicação decorre do fato que certas propriedades do complexo se apresentam superiores em relação aos materiais de partida isolados, tornando-se assim uma ferramenta tecnológica importante nas indústrias de alimentos ou farmacêuticas para a proteção de agentes ativos, como as proteínas da clara de ovo.

# HISTÓRICO SOBRE O ESTUDO DA FORMAÇÃO DOS COMPLEXADOS

A primeira explicação teórica sobre o fenômeno de coacervação foi proposta por BUNGENBERG DE JONG e KRUYT (1929), onde estes afirmam que a estabilidade dos hidrocolóides era influenciada por dois fatores sendo estes a carga elétrica capilar e a hidratação. A coacervação seria o resultado da remoção destes dois fatores, pois sugeria-se que isto iria provocar uma dessolvatação entorno das partículas, que então seriam fundidas formando assim os coacervados. Esta explicação foi usada inicialmente para o fenômeno de coacervação simples, contudo posteriormente, BUNGENBERG DE JONG (1949), ao estudar a formação de coacervação complexa entre gelatina/goma árabica (GA), este pode perceber que esta interação ocorria devido à alteração das cargas eletrostáticas ao redor dos biopolímeros (GA carga -; gelatina carga +) promovida pela alteração do pH e dos teores de NaCl.

OVERBEEK e VOORN (1957) com base nos resultados experimentais de Bungenberg de Jong desenvolveram a primeira teoria quantitativa sobre coacervação complexa tendo como modelo a coacervação entre gelatina/GA. Eles puderam interpretar que a coacervação ocorria por uma competição entre as forças eletrostáticas e os efeitos entrópicos que tendiam formar interação entre as moléculas carregadas ou como o caso dos efeitos entrópicos tendiam a dispersar a interação. Pode-se perceber que a presença de determinados solventes contribuíam para o aumento da entropia permitindo assim que houvesse um certo rearranjo das moléculas. Esta teoria foi baseada nas seguintes suposições: (1) as moléculas têm uma configuração aleatória da cadeia, (2) interações solvente-soluto são menos significantes, (3) as forças interativas são distribuídas conforme a orientação da sua natureza do biopolímero, portanto estas cargas são livres para se moverem (4) não existe qualquer interação local específico entre as moléculas.

O tratamento teórico da coacervação complexa foi colocado sobre uma base quantitativa por meio das equações de Debye-Hückel para as interações eletrostáticas e através da teoria de Flory-Huggins para a entropia. De acordo com esta teoria, para um sistema de dois componentes constituído por um sal poliônico e água as condições críticas satisfatórias para a coacervação são alcançadas quando  $\bar{\phi}^3 r \geq 0,53$ , isto é, quando a densidade de carga ( $\bar{\phi}$ ) ou a massa molar ( $r$ ) são suficientemente grandes. Este modelo foi aumentado para três ou quatro componentes de sistemas e Overbeek e Voorn explicaram que a supressão da coacervação causada pelo excesso de sal ocorreu devido a um aumento da solubilidade dos políons em detrimento da quantidade de políons do coacervado.

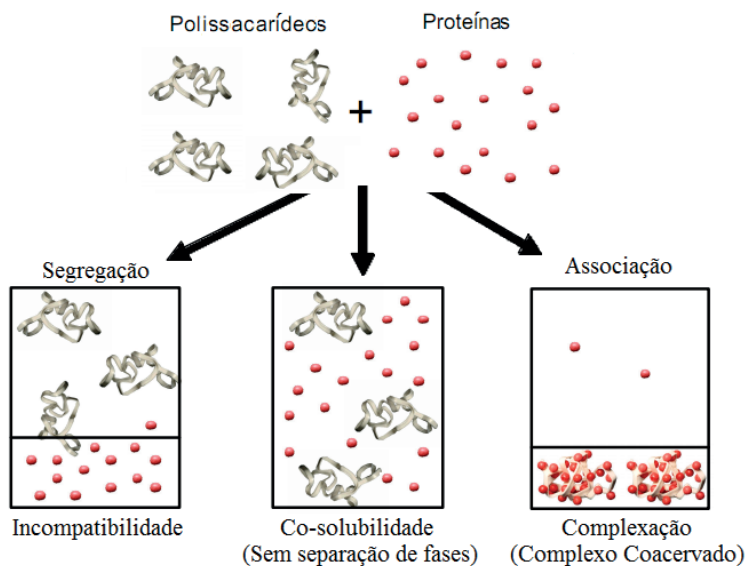
Veis e Aranyi desenvolveram uma teoria onde  $\bar{\phi}^3 r < 0,53$ , teoria esta que não se

aplicava ao modelo de Voorn-Overbeek (VEIS e ARANYI, 1960; VEIS, 1961, 1963; VEIS et al., 1967). Esta teoria foi baseada em um caso prático de coacervação que ocorria com a redução da temperatura com duas gelatinas de cargas opostas. Veis modificou a teoria de Overbeek incluindo o parâmetro de interação Huggins, correspondente a interação solvente-soluto, pois este parâmetro aumentava com a diminuição da temperatura. Através desta nova forma de avaliação a coacervação foi considerada como um processo de dois passos ao invés de uma interação apenas espontânea. Primeiro, as gelatinas formavam agregados espontaneamente por interação eletrostática até que estes agregados adquirissem entropia configuracional baixa e em seguida, estes agregados eram lentamente rearranjados para formar a fase coacervada. Este comportamento era impulsionado pelo ganho na entropia configuracional resultante da formação de uma fase de coacervado misturada aleatoriamente, pois Veis e Aranyi consideravam que as moléculas não eram distribuídas de forma aleatória em ambas as fases, mas que os agregados de íons emparelhavam-se na fase diluída.

A teoria Tainaka é o modelo mais recente desenvolvido para o entendimento da formação da coacervação complexa e este modelo foi adaptado da teoria de Veis e Aranyi, porém a principal diferença era que os agregados presentes tanto na fase diluída quanto na fase concentrada eram formados sem o emparelhamento de íons específicos (TAINAKA, 1979; TAINAKA, 1980). Os agregados biopoliméricos presentes na fase inicial se condensam para formar um coacervado e de acordo com Tainaka, as forças motrizes para a separação de fases são a eletrostática e a força de atração entre os agregados, pois estas se tornam mais fortes quando a massa molar e a densidade de carga dos polímeros aumentam. A densidade de carga e a massa molar dos polímeros devem cair dentro de um intervalo crítico para que a coacervação possa ocorrer, pois se a densidade de carga ou a massa molar do polímero aumentar acima de um ponto crítico, haverá a formação de um gel concentrado ou um precipitado induzido pelas forças de longo alcance entre os agregados. Por outro lado se a densidade de carga, ou a massa molar estiver abaixo do ponto crítico as forças repulsivas de curto alcance irão estabilizar a solução diluída e não haverá a formação de coacervado. A teoria proposta por Tainaka é mais abrangente do que todas as teorias anteriores e é aplicável a ambos os sistemas de alta e baixa densidade de carga fornecendo uma explicação adequada do processo de coacervação complexa para um grande número de sistemas.

# COMPLEXAÇÃO

Macromoléculas são os principais componentes de produtos alimentícios formulados e o controle das propriedades estruturais de proteínas e polissacarídeos são um amplo tema de investigação, pois este está diretamente ligado às características físico-químicas e sensoriais do alimento (TOLSTOGUZOV, 2002). As interações entre macromoléculas do alimentos podem ser repulsivas ou atrativas, demonstrando assim dois fenômenos opostos que são a incompatibilidade biopolimérica e a formação do complexo (TOLSTOGUZOV, 2007). Tal separação pode ocorrer por meio de dois caminhos principais, além da miscibilidade entre os componentes (Figura 1), dependendo principalmente da carga elétrica das duas macromoléculas e, portanto, dos fatores que as afetam, como pH e a força iônica. Em um dos caminhos ocorre a incompatibilidade termodinâmica (segregação), também conhecida como separação segregativa de fases. Outra possível situação é a complexação (coacervação complexa), também conhecida por separação de fases associativa (KASAPIS, 2009).



**Figura 1:** Principais tendências no comportamento de misturas de proteínas-polissacarídeos (adaptado de WEINBRECK, 2004).

A separação de fase segregativa ocorre quando há incompatibilidade termodinâmica entre os polímeros, predominando a repulsão eletrostática entre as moléculas. Com isso, são formadas duas fases aquosas imiscíveis, sendo uma rica em proteína e a outra em polissacarídeo. Isso pode ocorrer em altas concentrações e altas forças iônicas ou quando pelo menos um dos polímeros é um polieletrólito forte (KRUIF et al., 2004; KASAPIS, 2009).

A co-solubilidade ou miscibilidade ocorre quando a interação entre dois biopolímeros diferentes se comportam de maneira similar à interação entre dois da mesma espécie, ou seja, há uma miscibilidade instantânea (SYRBE et al., 1998).

Por outro lado, a compatibilidade termodinâmica, também chamada de separação associativa de fases ou coacervação complexa, usualmente ocorre em concentrações relativamente menores (< 3 a 4%) de sólidos totais, baixas concentrações iônicas (< 0,4 mol/L) e quando as duas moléculas estão com cargas líquidas opostas. Tal compatibilidade ocorre em pH entre o ponto isoelétrico (pI) da proteína e o  $pK_a$  do polissacarídeo. Sob essas condições, as moléculas atraem espontaneamente umas às outras e ocorre à separação do sistema em duas fases, uma rica em proteína e polissacarídeo e a outra pobre em biopolímeros, mas rica em solvente. Na fase rica em biopolímero, a proteína e o polissacarídeo são mantidos unidos por forças eletrostáticas e podem tomar a forma de coacervado ou precipitado (MOHANTY e BOHIDAR, 2003; KASAPIS, 2009).

## ASPECTOS TERMODINÂMICOS

A energia envolvida na formação do complexo de coacervação, ou complexos solúveis entre polissacarídeos e proteínas tem recebido muita atenção do meio científico e os principais métodos de estudo dos aspectos calorimétricos tem sido a utilização de instrumentos de calorimetria de varredura diferencial (DSC) e calorimetria de titulação isotérmica (ITC) (TOLSTOGUZOV, 2002).

A formação de coacervados entre biopolímeros ocorre de forma espontaneamente quando o total de energia livre de Gibbs diminui ( $\Delta G$ ), sendo assim,  $\Delta G < 0$ . Este valor negativo é alcançado de forma independente à energia acumulada de pelo contato entre os biopolímeros (PEROZZO et al., 2004). Para determinarmos a possibilidade de formação de complexado é preciso elucidar que há um delicado equilíbrio entre a entropia favorável ( $-T\Delta S$ ) e os altos valores entálpicos ( $\Delta H$ ) para a determinação dos valores de  $\Delta G$ , pois a entropia favorável é responsável pela liberação das moléculas de água e de contraíons já a entalpia diminui a mobilidade dos biopolímeros devido à modificação da interface do mesmo ou do complexado frente à água (JELESAROV e BOSSHARD, 1999; KRUIF et al., 2004; LAUGEL et al., 2006). É possível também relatar que ligações do tipo covalentes também contribuem para o  $\Delta H$ , entretanto é muito difícil classificar a entalpia de cada ligação não covalente (JELESAROV e BOSSHARD, 1999).

A Calorimetria de titulação isotérmica (ITC) produz dois resultados:  $\Delta H$  para todos os processos ocorrendo em mais de uma gama estequiométrica (não dependentes do modelo) e a isotérmica de ligação levando em consideração que os valores de entalpia obtidos refletem a progressão das ligações. Quando  $\Delta G$  e o  $\Delta H$  são combinados para



obtermos o  $\Delta S$ , as diferentes fontes destes dois termos devem ser considerados se o  $\Delta H$  e o  $\Delta S$  forem para permitir comparações qualitativas entre modelos propostos.

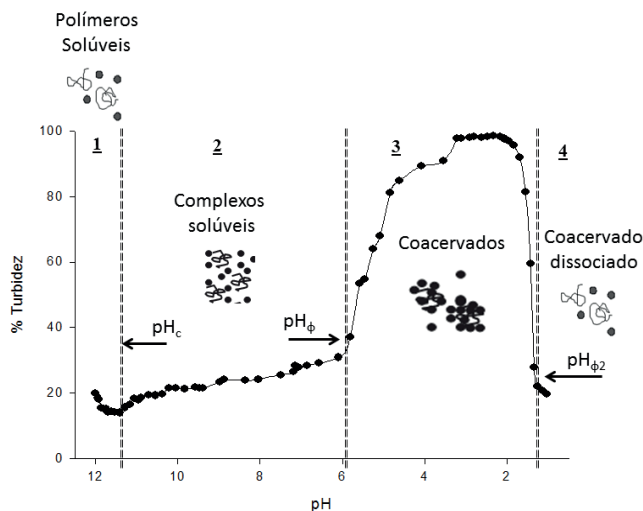
GIRARD et al. (2002) utilizaram ITC para determinar a constante de ligação e os valores de entalpia, estequiometria e entropia de complexos formados entre  $\beta$ -lactoglobulina/Pectina de alto e baixo grau de metilação e puderam constatar que os fatores entálpicos foram os responsáveis pela solubilização intrapolimérica enquanto que a formação dos complexos solúveis interpoliméricos foram promovidos pelos fatores entálpicos e entrópicos. HARNSILAWAT et al. (2006a) ao estudar a interação entre  $\beta$ -lactoglobulina e alginato de sódio em pH 3 e 4 encontrou características exotérmicas devido a formação das ligações eletrostáticas, em contra partida quando o pH foi alterado para 4 e 5 houve uma transição das fases por diluição dos agregados de  $\beta$ -lactoglobulina. Outros autores também observam características endotérmicas (HARNSILAWAT et al., 2006a; NIGEN et al., 2007; ABERKANE et al., 2010). Tal comportamento também pode ser explicado com base no modelo de simulação dinâmica de langevin que descreve dois cenários para a energia de complexação levando em consideração que o polieletrólito pode ser fraco ou forte. Polieletrólitos fracos demonstram que sua força de complexação advem da entalpia de ligação, impulsionada pelas interações eletrostáticas, em detrimento dos contraíons liberados pela força de entropia. Por outro lado a liberação de contraíons em polieletrólitos fortes contribui para um sinal endotérmico global (BALL et al., 2002; OU e MUTHUKUMAR, 2006).

# PRINCIPAIS PARÂMETROS QUE INFLUENCIAM A FORMAÇÃO DO COMPLEXO PROTEÍNA/POLISSACARÍDEO

Os fatores que afetam o curso da separação associativa de fases e as características das estruturas formadas podem ser classificados como extrínsecos ou intrínsecos. Entre os extrínsecos estão a mistura macromolecular, pH, a força iônica, o teor de sólidos totais, temperatura, a taxa de acidificação e a taxa de cisalhamento durante a acidificação. Já os parâmetros intrínsecos estão relacionados com a natureza e as características das moléculas poliméricas, como massa molar, concentração total de macromoléculas no meio, densidade de cargas e flexibilidade das cadeias ((DICKINSON, 2003; KRUIF et al., 2004). Iremos apresentar abaixo os fatores extrínsecos e intrínsecos mais relevantes.

## PH

O pH realiza um papel chave na formação de complexos proteína-polissacarídeo por interação eletrostática, pois este promove o aumento ou diminuição do grau de ionização dos grupos laterais funcionais dos biopolímeros (SCHMITT et al., 2005a; GENTÉ et al., 2010). Quando expomos uma proteína abaixo do seu ponto isoelétrico ocorre uma transição da densidade das cargas de uma maior protonação negativa para neutra e finalmente uma maior densidade negativa dos seus grupos laterais. O mesmo efeito também ocorre com os polissacarídeos aniônicos, porém esta transição ocorre mediante ao  $pK_a$  do polissacarídeos. Diferentes partículas de biopolímero podem ser formadas através da associação de um único par de polímeros. Este comportamento pode ser melhor elucidado ao observarmos a Figura 2 (DICKINSON, 2003; COOPER et al., 2005; CHANASATTRU et al., 2009).



**Figura 2:** Regiões de estabilidade e instabilidade (1, 2, 3 e 4) do complexo em função do pH. Valores de turbidez de complexos formados entre Lisozima-Goma xanta na proporção de 1:1 de massa total do sistema com 0,1 mol/L NaCl. (Baseado em WEINBRECK, 2004).

1. Não Complexação ( $\text{pH} > \text{pI}$ ). Nesta região as moléculas de proteína e polissacarídeo possuem uma grande densidade de carga negativa que promove repulsão eletrostática entre elas. Está repulsão impede que haja uma aproximação suficiente para sua associação (SANCHEZ e RENARD, 2002; ESPINOSA-ANDREWS et al., 2007; PICONE e CUNHA, 2010).
2. Complexos solúveis ( $\text{pH} < \text{pH}_c < \text{pH}_\phi$ ). Quando o pH é reduzido abaixo de certo valor crítico o qual nos referimos como  $\text{pH}_c$  podemos perceber um ligeiro aumento nos percentuais de turbidez, que ainda sim são menores que os valores no  $\text{pH}_\phi$ . Isso ocorre devido à fraca associação entre os polímeros que formam, majoritariamente, complexos solúveis, que são relativamente pequenos e por isso eles não impedem a passagem de luz, levando a uma solução transparente ou ligeiramente turva. Esta associação fraca ocorre com frequência em pHs pouco acima do pI da proteína, pois mesmo ambos tendo densidade de carga negativa em sua superfície, ainda podem ser encontrados pequenos fragmentos de carga positiva na superfície da proteína na qual o polissacarídeo pode se ligar (XIA et al., 1993; TURGEON et al., 2007b). Esta associação fraca pode ser facilmente dissociada quando o pH ou o teor de NaCl é alterado, contudo uma vez formado o complexo solúvel existe a possibilidade de formação de interações covalentes, interações estas de caráter mais permanente que podem ser induzidas por métodos enzimáticos ou agentes físicos e químicos.
3. Coacervado ( $\text{pH} < \text{pH}_\phi < \text{pH}_c$ ). Ao avançar na região seguinte ao  $\text{pH}_c$ , nos deparamos com um abrupto aumento do percentual de turbidez e denominamos este ponto como  $\text{pH}_\phi$ . É exatamente nesta região que ocorre a associação entre o polímero e a proteína, denominado como complexo interpolimérico ou coacervado. Estes complexos podem ser relativamente grandes podendo estar na ordem de 100-10000 nm, sendo esta a principal justificativa da

não dispersão da luz e consequentemente altos valores de turbidez. Outra importante característica é a alta propensão a formação de coalescência entre os complexados. Isso ocorre devido à baixa densidade negativa em sua superfície. O resultado desta agregação é a precipitação dos complexados e a formação de duas fases, sendo a superior semitransparente, com baixa viscosidade e pobre em polímeros e a inferior rica em polímeros coacervados geralmente viscosos podendo até formar géis.

4. Dissociação do complexado ( $\text{pH} \ll \text{pH}_{\text{pI}}$ ). Quando o pH é reduzido a valores abaixo do valor de  $\text{pK}_a$  do polissacarídeo, os grupos aniônicos da molécula perdem sua densidade de carga positiva, o que enfraquece as interações eletrostáticas entre o polissacarídeo e a proteína, tendo com resultado final a dissociação do complexado.

## FORÇA IÔNICA

Em altas concentrações de NaCl, a densidade de íons transportada pelas proteínas e polissacarídeos é reduzida pela interação com os micro íons do NaCl, resultando numa diminuição na atração eletrostática entre as macromoléculas. Em força iônica elevada, o rastreamento das cargas das proteínas e polissacarídeos também pode levar à redução de interações eletrostáticas e, portanto, afetar a formação de complexos (WEINBRECK et al., 2003a; YE e SINGH, 2006). Na baixa força iônica, a concentração micro íon tem somente um pequeno efeito sobre os complexos proteína/polissacarídeos e o número de cargas presentes nas proteínas e polissacarídeos é suficiente para permitir a interação eletrostática.

Quando a força iônica do sistema aumenta dois efeitos podem ocorrer. O primeiro efeito é a redução do número de moléculas de proteínas capazes de interagir com as cadeias de polissacarídeos ou polieletrólito, enquanto o segundo é a supressão ou modificação da constante dielétrica para as interações (WEINBRECK et al., 2004a; YE e SINGH, 2006; MATSUNAMI et al., 2007). O efeito da força iônica sobre o complexo coacervado foi descrito por FANG et al. (2006), onde estes puderam demonstrar que a força iônica aumentada foi capaz de suprimir a coacervação entre gelatina/k-carragena. Eles também relataram que quando os íons bivalentes foram usados à supressão da coacervação ocorreu em valores mais baixos de força iônica quando comparado com os monovalentes. Isto pode ser compreendido em termos de ganho de dupla entropia eletrostática, pois dois íons monovalentes são libertados em comparação a um único íon divalente. Uma característica interessante sobre a supressão da coacervação complexa por adição de sal é que este processo pode ser reduzido com uma diluição do sistema através de um solvente, pois o efeito esperado seria que a sua concentração em massa de contra íons ao redor dos polímeros seja menor, favorecendo novamente assim a formação do complexo (BIESHEUVEL e STUART, 2004).

## PROPORÇÃO ENTRE PROTEÍNA E POLISSACARÍDEO E CONCENTRAÇÃO TOTAL DE BIOPOLÍMERO

A proporção de proteína e polissacárido na mistura influencia o equilíbrio de carga dos complexos e, portanto altera o comportamento de formação dos complexos. Para que a complexação máxima seja obtida é necessário conhecer a proporção exata de uma proteína frente a um polissacarídeo a uma dada condição de pH (TAINAKA, 1980; KIZILAY et al., 2011). Vários estudos têm mostrado que a proporção de proteína e polissacarídeo de mistura tem um grande efeito sobre as características do complexo resultante, ou seja, na composição e tamanho do complexo e consequente na viscosidade que este apresenta (RU et al., 2012). WANG et al. (2000), relataram que quando relação de polímero e proteína no sistema é baixa, são formados apenas os complexos intrapoliméricos. Entretanto quando esta relação é aumentada, pode ocorrer à formação de coacervado ou complexos interpoliméricos. Outro ponto a ser relatado frente às baixas concentrações é que os coacervados formados tendem a coalescer rapidamente formando coacervados ainda maiores ou tendem a permanecerem carregados ao longo de um amplo intervalo de pH enquanto que em altas concentrações isto não ocorre tão prontamente (SCHMITT et al., 2000; SCHMITT et al., 2001). Quando um complexado é formado com altas concentrações de proteína, este tende a ter grandes dimensões devido ao este excesso. Contudo WANG et al. (2007a) relataram que o aumento da concentração de  $\beta$ -Lactoglobulina em um complexado  $\beta$ -Lg/Pectina foi capaz de proporcionar uma maior elasticidade ao mesmo (SANCHEZ e RENARD, 2002).

Quando comparamos a concentração necessária para a separação das fases por segregação, podemos notar que a complexação pode ocorrer numa ampla faixa de concentração do biopolímero ( $10^{-2}\text{mg ml}^{-1}$ ), quando a força iônica é suficientemente baixa ( $< 0,2 \text{ mol/L}$ ), no entanto, em concentrações muito elevadas de biopolímero há uma auto- supressão da interação devido à incompatibilidade termodinâmica, uma vez que, a coacervação complexa é favorecida por fatores entrópicos (TOLSTOGUZOV, 2002). Quando há formação de complexado em altas concentrações de biopolímero ocorre um impedimento do rearranjo do mesmo e o ganho de entropia é completamente perdido, não havendo força para conduzir a separação das fases (LI et al., 1994; TOLSTOGUZOV, 2002).

SCHMITT et al. (2000) puderam notar que a concentração total de biopolímero no sistema também está diretamente ligada à incompatibilidade termodinâmica devido principalmente, pela supressão das ligações, pois em seu estudo de formação de complexado  $\beta$ -lg/Goma acácia esse ponto crítico foi alcançado no pH 4,2, com uma concentração variando em torno de 4,5% até 20% do peso total do sistema. Entretanto em

um sistema similar WEINBRECK et al. (2003a) puderam formar complexos entre proteína do soro do leite/goma arábica em pH 3,5, com 15% do peso total do sistema formado por biopolímeros. Acredita-se que isso tenha sido possível devido ao ganho de entropia no pH 3,5, quando comparado ao pH 4,5.

Outro parâmetro relatado é a possibilidade da concentração total de biopolímero modificar os valores de  $pH_c$  e do  $pH_\phi$ . WEINBRECK et al. (2003a) puderam constatar que altos valores de massa total de biopolímeros foram capazes de aumentar o valor de  $pH_\phi$ , contudo outros trabalhos não encontraram relação alguma entre estes fatores (MATTISON et al., 1999; WEINBRECK et al., 2003b).

## INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA

Pode-se notar que a variação na temperatura promove eventualmente uma modificação na conformação estrutural de proteínas e polissacarídeos, além de gerar interações não eletrostáticas entre os mesmos pois, em princípio, baixas temperaturas favorecem as ligações de hidrogênio, enquanto altas temperaturas favorecem as ligações hidrofóbicas (SCHMITT et al., 1999; TOLSTOGUZOV, 2002).

HARDING et al. (1993) estudaram a formação de complexos entre BSA-Alginato variando a temperatura entre 35 e 95 °C. Eles puderam perceber que entre 35 e 70 °C os complexos não eram formados em pH 6,8 com concentração de NaCl de 0,1 mol/L. Contudo em temperaturas acima de 70 °C os complexos foram formados, pois os grupos hidrofóbicos expostos pela desnaturação do BSA favoreceram a complexação. Resultados semelhantes foram encontrados por FANG et al. (2006), que notaram que complexos de gelatina/ $\kappa$ -Carragena só eram formados em temperatura acima da sua faixa de transição (25 °C), enquanto que em temperaturas abaixo desse valor não havia complexação devido à incompatibilidade termodinâmica. Interações hidrofóbicas tem demonstrado grande importância na formação de complexados, haja vista, que em alguns casos a interação eletrostática seria impossível, a menos que as interações hidrofóbicas fossem formadas por aquecimento, primariamente (ZHANG et al., 2007). NIGEN et al. (2007) sugeriram que as interações eletrostáticas entre biopolímeros podem ser na maioria das vezes muito importantes na formação inicial dos complexos, entretanto em uma aplicação de larga escala de coacervação ou agregação esta seria impulsionada principalmente por ligações de hidrogênio ou de interações hidrofóbicas, em função da temperatura.

Outro ponto importante referente à variação da temperatura foi à constatação de que esta pode afetar a organização estrutural do polissacarídeo (KAYITMAZER et al., 2007b). Ao comparar o efeito da temperatura de 12 e 25 °C na estrutura de complexos formados entre BSA/Quitosana e BSA/Poli (cloreto de dialildimetilamônio), também conhecido como

(PDADMAC), estes puderam constatar que mesmo que os polieletrólitos tivessem a mesma densidade de carga, propriedades reológicas diferentes foram verificadas para quitosana. Também vale ressaltar que alguns estudos tiveram como objetivo avaliar a influência da temperatura no  $pH_c$  e  $pH_p$ , todavia estes puderam constatar que a temperatura não afetou estes valores (WEINBRECK et al., 2004b; SINGH et al., 2007; LEE e HONG, 2009).

## CISALHAMENTO E PRESSÃO

Forças de cisalhamento podem ter um impacto importante sobre as propriedades dos coacervados e um importante parâmetro para ser observado na escala industrial. Verificou-se que quando as forças de cisalhamento foram aplicadas durante o processo de complexação houve uma reestruturação dos complexos interpoliméricos, causada pela competição entre as forças de interação eletrostática e as forças de cisalhamento além de poder ser observado o impedimento da floculação dos complexados na temperatura adequada devido à alteração da massa molecular dos mesmos causada pelo cisalhamento (SANCHEZ et al., 2001; LANEUVILLE et al., 2005b).

DUBIN et al. (2008) relataram a separação de fases induzida por cisalhamento a uma temperatura próxima da fase quiescente. Este comportamento foi atribuído à temperatura crítica associada ou não a velocidade de corte alcançada, pois o líquido apresentou uma característica pseudoplástica acoplada a transição de fase o que conferiu estruturas micelares acopladas de polieletrólitos aos complexos formados (LIBERATORE et al., 2009).

A maioria dos estudos com sistemas polieletrólito/proteína, investigaram o efeito da velocidade de corte ou de cisalhamento sobre o tamanho das partículas de coacervado ou sobre a coalescência de suspensões de coacervado e o que se pode perceber é que o tamanho das partículas de coacervados suspensos diminuiu com a taxa de cisalhamento, enquanto que em uma taxa de cisalhamento constante o tamanho das suspensões de coacervado aumentou (LEE e CABANE, 1997; LANEUVILLE et al., 2005b; LIBERATORE et al., 2009).

GALAZKA et al. (1999) ao estudarem sistemas BSA/carragena relataram que ao aplicarem um tratamento de alta pressão nos complexados, houve um fortalecimento nas interações devido à maior exposição de grupos carregados causada pela parcial desnaturação da proteína. Resultado semelhante foi descrito com complexados formados entre BSA/polissacarídeos aniônicos, pois este estudo demonstrou que o tratamento com pressão promoveu uma maior mobilidade a cadeia da proteína parcialmente desnaturada o que promoveu interações ainda mais fortes e estáveis com polissacarídeo quando comparada com interações com a proteína *in natura* ou desnaturada (SAMANT et al., 1993; GALAZKA et al., 1997)

## MASSA MOLECULAR

Estudos sobre o efeito do peso molecular nas características dos complexos descobriram que polímeros com maior peso molecular promovem a formação de grandes complexos primários que se agregam mais prontamente em complexos interpoliméricos, uma vez que o polieletrólito atua como uma espinha dorsal para a formação dos complexos e possivelmente devido ao aumento da entropia (WANG et al., 2000; LANEUVILLE et al., 2005b).

Estudos sobre PDADMAC, um polímero catiônico forte, interagindo com micelas carregadas, mostraram que um aumento no peso molecular da micela reduziu a densidade necessária para a carga de coacervação e aumentou o rendimento de coacervação, concluindo que era necessária uma massa molar crítica para a formação do coacervado e que essa massa molar estava diretamente ligada ao tamanho final dos complexos (WANG et al., 2000). Cabe também salientar que ao controlar a massa molar dos polieletrólitos é possível manipular a densidade dos complexos e, por conseguinte controlar algumas de suas propriedades funcionais (LANEUVILLE et al., 2005b).



# REOLOGIA DE COACERVADOS

Coacervados formados entre a associação de proteína-polissacarídeo formam uma fase densa e estruturada rica em biopolímeros e seu comportamento reológico varia de viscoso para viscoelástico, podendo até resultar em uma estrutura gelificada. As propriedades reológicas destes sistemas geralmente são moduladas pelo pH e pelo teor de biopolímeros (TAN e TAM, 2008). As partículas de coacervado podem ser produzidas para fornecer propriedades ou atributos reológicos desejáveis de um produto tal como a espessura ou a cremosidade, ou podem ser concebidos de modo a que eles não venham a impactar negativamente os atributos esperados de textura de um produto como sua alta ou baixa viscosidade. Alguns alimentos necessariamente devem apresentar uma baixa viscosidade como é o caso de algumas bebidas, no entanto outros alimentos necessitam ser altamente viscosos ou devem apresentar características de um gel, tais como molhos, temperos ou sobremesas (JONES e MCCLEMENTS, 2010).

As propriedades reológicas de coacervados formados entre WPC/goma arábica foram estudados por WEINBRECK et al. (2004c) em função do pH e estes puderam verificar que o pH desempenhou um papel importante na viscosidade do coacervado, pois a viscosidade máxima foi encontrada no pH 4,0 devido a maior interação eletrostática entre os biopolímeros. Abaixo da taxa de cisalhamento de  $30 \text{ s}^{-1}$  uma viscosidade limitada foi observada, porém acima deste valor houve uma diminuição da viscosidade, pois quanto mais forte for a interação eletrostática entre os polímeros menor será a sua viscosidade devido principalmente à lenta reorganização das moléculas após o cisalhamento. Quando as misturas com a mesma composição em proteína de soro de leite e goma arábica foram expostas a pHs acima do seu ponto isoelétrico houve uma menor interação eletrostática entre os polímeros, o que resultou em um comportamento mais elástico do que viscoso (GUSTAW e MLEKO, 2003). Um comportamento semelhante também foi encontrado SCHMITT et al. (2005b) em complexados formados entre  $\beta$ -lactoglobulina-goma acácia com cargas completamente neutralizadas. Pode-se perceber que o coacervado adotou um comportamento mais elástico após a sua formação devido à reorganização das moléculas de proteína ao longo das cadeias do polissacarídeo. Ao observar esta organização também puderam concluir que o polissacarídeo estava modulando as propriedades reológicas do coacervado, pois à medida que usavam menos polissacarídeo a estrutura reológica do coacervado mais se assemelhava a um gel, característica esta, também relatada por outros autores (BOHIDAR et al., 2005; LANEUVILLE et al., 2006; WANG et al., 2007a; RU et al., 2012).

# PRINCIPAIS PROPRIEDADES FUNCIONAIS DOS COMPLEXADOS COACERVADOS

## CAPACIDADE GELIFICANTE

O processo de formação do gel é resultado da agregação de moléculas desnaturadas com a formação contínua de rede entrelaçada, que exibe certo grau de ordem. A reação inicial do processo de gelificação envolve o enfraquecimento e quebra das ligações de hidrogênio e dissulfídicas, desestabilizando a estrutura conformacional das proteínas. Posteriormente, ocorre a organização das moléculas, produzindo uma estrutura tridimensional capaz de imobilizar fisicamente grande parte do solvente (ZASYPKIN *et al.*, 1997). Na formação da estrutura tridimensional, três ligações podem ser formadas e a integridade física do gel é mantida pelo contrabalanceamento destas forças de atração envolvidas nas ligações e a repulsão entre as moléculas de proteína e destas com o solvente circundante. As ligações covalentes fornecem grande resistência e estabilidade ao gel, enquanto as não covalentes são mais fracas, deixando o gel mais suscetível à quebra. Nas atrações não específicas, podem ocorrer tais atrações entre regiões de uma mesma macromolécula ou entre moléculas (PICONE e CUNHA, 2010). O gama de géis formados entre associação de proteína-polissacarídeo pode ser classificado como interpenetrantes, redes acopladas e rede de fases separadas. A temperatura, o pH e a força iônica são fatores importantes na capacidade de gelificação das moléculas nos alimentos (DAMODARAN *et al.*, 2010; ORDÓÑEZ *et al.*, 2005).

Ao analisar um gel formado entre  $\beta$ -lactoglobulina/ $\kappa$ -carragena utilizando análise micro reológica com oscilação da temperatura foi possível identificar a contribuição específica de cada biopolímero na formação do gel de fases separadas. Durante o aquecimento foi observado uma contribuição adicional do polissacarídeo no módulo de armazenamento ( $G'$ ), característica esta não observada nos géis de rede acoplada. Além disso, foi possível observar que houve interação e difusividade entre os biopolímeros após a centrifugação e avaliação dos géis (OULD ELEYA e TURGEON, 2000; KASAPIS, 2008).

FIROOZMAND *et al.* (2012) avaliaram a influência do pH nos géis formados entre Gelatina/amido oxidado e puderam notar que nas condições normais no pH 5,2 as amostras exibiram separação de fases com uma morfologia característica de tipo spinodal. Porém, ao adicionarem um teor maior de amido (6%) associado a redução do pH (4,2) houve a maior rigidez do gel por inibição da separação das fases. Isso ocorreu devido à transição das fases induzida pela acidificação, pois em pH mais elevado houve incompatibilidade termodinâmica enquanto que em pH mais baixos houve interações associativas (FIROOZMAND *et*

al., 2009). Outro estudo com géis formados com  $\beta$ -lactoglobulina/goma de semente de manjeriço pode constatar que após o resfriamento, os géis apresentaram duas fases distintas, sendo que a superior obteve um aumento no módulo de armazenamento devido, a gelificação da proteína enquanto que a fase inferior apresentava um aumento no módulo de armazenamento devido a formação da rede com o polímero principal responsável pela fina microestrutura capaz de reter grande quantidade de água (RAFE et al., 2013).

Efeitos negativos podem ser também obtidos com a adição de polissacarídeos. A presença de pectina em um gel ácido de caseína impediu a agregação da caseína e consequentemente a formação de um gel quando sua concentração alcançou 0,8% de massa do sistema enquanto que a rigidez gel foi reduzida a concentrações mais baixas de pectina (MATIA-MERINO et al., 2004). Da mesma forma, se a proteína do soro do leite formar complexos com polissacarídeos o tamanho destas partículas devem ser monitorados, pois grandes complexos podem perturbar a formação da rede e resultar em géis mais fracos com uma textura arenosa (ROCHA et al., 2009).

## CAPACIDADE ESPUMANTE

O estudo das propriedades interfaciais em interfaces ar-água constitui uma abordagem fundamental para compreender como polímeros podem absorver e interagir como espumas. Várias proteínas de alimentos tais como clara de ovo e gelatina, são amplamente utilizadas na produção de espuma, contudo com o objetivo de ampliar as funcionalidades destas proteínas alguns polissacarídeos têm sido adicionados (WIERENGA e GRUPPEN, 2010). Dois modelos de adsorção foram propostos dependendo da proteína inicial ou da proporção de mistura de polissacarídeo (GANZEVLES et al., 2006a): i) termodinamicamente limitado à adsorção de proteínas (barreira eletrostática) na interface, em que os complexos são carregados por causa de um excesso de polissacarídeo, ii) uma difusão limitada a adsorção dos complexos quando a proporção de proteína e de polissacarídeo está perto de neutralização de cargas.

A formação e a estabilidade de espumas são as características funcionais mais importantes da albumina proveniente da clara do ovo e de proteínas do soro do leite, com muitas aplicações na indústria de alimentos. Produtos como *mousses* e sistemas proteína-açúcar, como o *mashmallow* e merengue, contém em sua composição a ovoalbumina, que auxiliam de forma significativa na aeração (PELEGRINE e GASPARETTO, 2003). Vale ressaltar que as espumas formadas por proteínas junto a outros agentes de estabilização, como a gelatina e outros polissacarídeos, apresentam maior estabilidade em relação à maioria das proteínas puras (DAMODARAN et al., 2010). Os polissacarídeos tem um impacto importante sobre a estrutura da interface e mediante a esta informação foi

demonstrado que as proteínas não se organizam da mesma forma na interface quando complexadas com um polissacarídeo, pois a complexação de proteínas permite que haja uma preservação da sua conformação inicial, até mesmo na interface através da manutenção de um microambiente aquoso favorável (KUDRYASHOVA et al., 2007). Usando um modelo de  $\beta$ -lactoglobulina-pectina em pH 4,5, GANZEVLES et al. (2006b) demonstraram que as redes interfaciais com maior módulo de cisalhamento foram formadas quando a proteína foi adsorvida em primeiro lugar na interface em comparação ao complexos de adsorção, contudo, o módulo de cisalhamento das redes interfaciais de  $\beta$ -lactoglobulina-pectina formados a partir do complexo de adsorção foram maiores que a proteína sozinha alcançando seu valor máximo quando suas cargas foram neutras. SCHMITT et al. (2001) relataram comportamento muito semelhante com complexos  $\beta$ -lactoglobulina/goma acácia na proporção de neutralização de cargas. A elasticidade da superfície de dilatação ( $E'$ ) e a viscosidade ( $\eta_g$ ) foram significativamente maiores quando comparada a  $\beta$ -lactoglobulina adsorvida sozinha. O efeito da razão de mistura de  $\beta$ -lactoglobulina-pectina sobre a estrutura da camada adsorvida foi relatado por GANZEVLES et al. (2008), onde se pode verificar que os complexos neutros foram capazes de formar uma estrutura muito mais densa e menos e espessa que os complexos carregados.

Ainda há necessidade de um estudo mais detalhado sobre a aplicação desta tecnologia nos alimentos propriamente ditos, no entanto, os resultados apresentados até o presente momento oferecerem um comportamento promissor em vários produtos, tais como sorvetes e as espumas obtidas a partir produtos lácteos (WIERENGA e GRUPPEN, 2010).

## **CAPACIDADE EMULSIFICANTE**

As propriedades comumente hidrofóbicas dos complexos proteína-polissacarídeo possuem uma funcionalidade muito valorizada na interface óleo/água, que é a capacidade emulsificante. Para que uma emulsão seja formada por meio desta interação, primeiramente esta deve passar por um processo de homogeneização, que pode ser feito por alta pressão ou cisalhamento a altas velocidades (DICKINSON, 2001). Estas emulsões são caracterizadas geralmente por gotículas de óleo envoltas por uma fina camada de proteína complementar. Quando as condições de emulsificação são suficientes, à razão proteína/óleo e alcançada e uma emulsão não floculada pode ser formada, mas se gotas agregarem-se ou houver floculação isso pode ser um sinal de baixa concentração da razão proteína/óleo ou pode ser um excesso de proteína não adsorvida no sistema (DICKINSON, 2010). A fim de resolver este problema de estabilidade, é adicionada ao sistema, um surfactante ou um polissacarídeo irá gelificar o sistema impedindo a depleção ou floculação do emulsionado

(DICKINSON, 2003; MOSCHAKIS et al., 2006; DICKINSON, 2009)

Dois tipos de métodos são comumente usados para gerar emulsões estabilizadas por complexos proteína-polissacarídeo: i) a emulsificação de uma fase de óleo em um complexo aquoso disperso, ii) a emulsificação de uma fase de óleo com uma solução aquosa dispersa por um biopolímero, seguido por um passo de enxague e posterior adsorção por um segundo biopolímero (emulsão camada por camada). Obviamente, as duas técnicas levam a diferentes composições e estruturas interfaciais, e também a diferentes características de estabilidade frente à cremeação ou floculação, dependendo do pH, força iônica ou temperatura (GUZEY e MCCLEMENTS, 2006). Para que uma emulsão seja mantida constante com um teor baixo ou moderado de óleo, se faz-se necessário uma suave transformação do meio líquido para sólido. Os métodos mais populares de gelificação de proteínas são o tratamento térmico, acidificação ou tratamento enzimático (VAN VLIET et al., 2004c).

Em um estudo realizado sobre a formação de emulsões formadas entre  $\beta$ -lactoglobulina-pectina, verificou-se que a membrana multicamadas foi capaz de conferir estabilidade com a concentração de NaCl de 50mM em uma ampla de pHs ácidos (GUZEY et al., 2004). A provável explicação para este comportamento foi a repulsão eletrostática entre as gotículas formadas pelo complexo, promovida pelo NaCl, em detrimento das forças de van der Waals. (GUZEY e MCCLEMENTS, 2007). Características semelhantes foram encontradas em emulsões formadas entre  $\beta$ -lactoglobulina- $\kappa$ -carragena ou  $\beta$ -lactoglobulina-goma acácia estabilizadas utilizando NaCl ou calor (90 °C), entretanto, quando as emulsões formadas entre os complexos  $\beta$ -lactoglobulina-goma houve floculação logo após a adição de 50mM de NaCl. Isso provavelmente deve ter ocorrido devido à baixa interação eletrostática entre os biopolímeros (GU et al., 2005; HARNASILAWAT et al., 2006b).

Foi demonstrado que complexo eletrostático formado entre WPI-goma xantana podem ser utilizados em sistemas água/óleo/água ou óleo/água/óleo podem ser utilizados para liberação de fármacos lipofílicos (BENICHO et al., 2007b, a). O sistema de goma arábica- gelatina foi o primeiro a ser relatado para fins de encapsulamento e certamente é o mais estudado (THIES, 2007). Este sistema possui várias características chave para numerosas aplicações, pois forma coacervados viscosos durante a formação da microcápsula geralmente preparadas entre 50 e 60 ° C. No resfriamento, a rigidez do gel aumenta resultando numa concha gelificada estável em torno do composto a ser protegido. Se a entrega do bioativo for no corpo humano, a gelatina é facilmente derretido na boca e as aplicações das emulsões coacervadas podem variar de liberação de sabor (YEO et al., 2005; PRATA et al., 2008) a proteção de nutrientes para mascarar compostos como gosto desagradáveis ou odor (PIERUCCI et al., 2007; LECLERCQ et al., 2010).

# APLICAÇÕES INDUSTRIAIS DOS COMPLEXOS COACERVADOS

## CONTROLE E LIBERAÇÃO DE PROTEÍNAS E/OU DROGAS A BASE DE PROTEÍNAS

Através da formação dos hidrogéis iônicos ligeiramente reticulados há possibilidade de controle e liberação de proteínas e/ou drogas a base de proteínas. Quando este hidrogéis sofrem estímulos ambientais como alteração da temperatura, pH, força iônica, íons específicos e metabólitos, há uma alteração em sua rede tridimensional, que pode promover a liberação ou retenção destas proteínas (BROMBERG e RON, 1998; PEPPAS e LEOBANDUNG, 2004; MALMSTEN et al., 2010).

Um aumento na concentração de grupos ionizáveis no polímero pode causar um aumento, ou uma diminuição, da liberação de proteína, dependendo do sinal de carga do polímero. Por exemplo, a quantidade de mioglobina liberada a partir de um hidrogel catiônico foi aumentada quando um homopolímero de metacrilato de 2-hidroxietilo (HEMA) foi substituído por um copolímero catiônico de metacrilato de dietilaminoetilo HEMA (ENDE et al., 1995). Outro ponto a ser citado é que proteínas com baixos pesos moleculares e as proteínas globulares são facilmente liberadas quando comparadas com as proteínas de estrutura fibrosa.

Proteínas transportadas por hidrogéis têm sido utilizadas como materiais biocompatíveis em cronobiologia, ou seja, no estudo dos fenômenos biológicos temporais para o tratamento de doenças cronobiológicas (PEPPAS e LEOBANDUNG, 2004). A utilização de Alginato hidrofobicamente modificado foi capaz de controlar a liberação de BSA e hemoglobina humana.

## ENCAPSULAMENTO

A microencapsulação é uma tecnologia utilizada para a proteção, estabilização e liberação lenta de ingredientes alimentares (SCHMITT et al., 1998). Os materiais de encapsulação ou de revestimento utilizados são geralmente constituídos de amido, derivados de amido, proteínas, gomas, lipídeos, ou qualquer combinação dos mesmos (BURGESS, 1994; JONES e MCCLEMENTS, 2010; KATONA et al., 2010). Os métodos de encapsulação de ingredientes alimentares incluem spray drying, liofilização, revestimento em leite fluidizado, extrusão, alta pressão, co-cristalização, inclusão molecular e coacervação (SHAHIDI e HAN, 1993; RAO e MCCLEMENTS, 2012). A formação de complexados entre polissacarídeo-proteína é um método físico comum utilizado em microencapsulação de

óleos e sabores para alimentos e bebidas, todavia este também tem sido utilizado para encapsular medicamentos, aditivos cosméticos, aromas, pesticidas, células vivas e vacinas (SCHMITT et al., 1998; CHANG et al., 2006; DONG et al., 2007; LECLERCQ et al., 2009; VOETS et al., 2009; HAMMAN, 2010).

BÉDIE et al. (2008) utilizaram complexos de WPI + pectina de baixo grau de metoxilação para avaliar a sua funcionalidade como uma matriz de retenção de tiamina. Foram avaliados dois processos de acidificação, sendo um durante a mistura e outro por titulação após a mistura. Através destes dois métodos foram avaliadas as características morfológicas do complexo, além da eficiência de encapsulamento do mesmo frente ao pH e a relação proteína-polissacarídeo. Pode-se notar que o maior rendimento ocorreu pelo método de acidificação durante a mistura. E isso ocorreu devido à busca acidificação das soluções durante o seu preparo, porém, a acidificação após a mistura proporcionou complexos menores e mais homogêneos, o que confere uma boa alternativa para aplicação em alimentos líquidos onde a preocupação com a sedimentação é recorrente.

Uma emulsão alimentícia instantânea foi formulada contendo azeite e sumo de limão utilizando complexos de polímeros, tais como alginato, goma arábica, maltodextrina e carboximetilcelulose tendo em vista o desenvolvimento de um novo produto microencapsulado. As misturas de maltodextrina-goma arábica apresentaram os menores valores médios de partícula, porém estas apresentaram formas arredondadas com pequenas depressões nas análises de microscopia eletrônica de varredura, além de apresentarem características amorfas nas análises de difração de raios-X. Este estudo demonstrou uma possível forma de encapsulamento por secagem a frio que, segundo os autores, podem ser usados para produção de molhos de salada instantâneos (SILVA et al., 2013). ZIMET e LIVNEY (2009), demonstraram que nano complexos de  $\beta$ -Lg/pectina de baixo grau de metoxilação foram capazes de nano encapsular ácido docosaenoico (DHA), que é um ácido graxo essencialmente do tipo  $\omega$ -3. Ao avaliar a formação da complexação no pH 4,5, pode-se perceber que o excesso de pectina foi capaz de reter cerca de 166 vezes mais DHA quando comparado com os valores encontrados no sistema e isso permitiu a formação de partículas diluíveis e transparentes com 0,05% de  $\beta$ -Lg e DHA, na proporção de 1:2 ( $\beta$ -Lg: DHA). Estas características conferiram ao encapsulado uma eficiência de proteção de cerca de 80% mediante um teste de stress de 100h a 40 °C, além de sugerir uma nova forma de enriquecimento de bebidas ácidas e claras.

Uma promissora aplicação do encapsulamento formado entre coacervados proteína + polissacarídeo é a utilização desta cápsula como forma de proteção de bioativos no trato digestivo superior (em condições de pH ácido), para em seguida, ser liberada no intestino delgado, onde o pH prevalece básico, o que favorece a biodisponibilidade e a bioestabilidade

de algumas moléculas (LAMPRECHT e KAWASHIMA, 2006; BALAMURALIDHARA et al., 2011). A adição de surfactantes foi sugerida para melhorar a eficiência de encapsulamento (MAYYA et al., 2003), diminuir o diâmetro das gotículas e acelerar coacervação de um sistema de goma arábica + gelatina (TAN e TAM, 2008). ZIANI et al. (2012) estudaram a influência do tipo de tensoativo (Tween 20, 60 e 80) e do tipo de óleo (vitamina E, D<sub>3</sub> e óleo de limão) sobre o encapsulamento dos componentes lipofílicos na micela do surfactante. Estes puderam constatar que os diferentes óleos e surfactantes tinham uma influência direta na natureza das dispersões formadas, pois microemulsões não podiam ser formados usando vitamina D ou E em soluções com 1% de Tween, devido ao tamanho de relativamente grande de moléculas lipofílicas em relação ao interior hidrofóbico das micelas tensoativas. Por outro lado, as microemulsões podiam ser formadas a partir de óleo de limão em concentrações relativamente elevadas de óleo e surfactante. Outro ponto importante relatado foi à constatação que o tipo de tensoativo não influenciou de modo tão significativo na formação das micelas, contudo Tween 20 parece ser menos capaz de solubilizar óleo de limão, quando comparado a Tween 60 ou 80, fato este que presumivelmente ocorre devido às suas pequenas dimensões.

Mediante as aplicações anteriores dos encapsulados, possivelmente a mais bem sucedida na indústria alimentícia tem sido de libertação de aroma por encapsulamento. As cápsulas de liberação de aroma consistem geralmente de uma gota de óleo vegetal rodeado por uma fina camada de coacervado, que dependendo das condições da matriz do alimento (teor de água), estas moléculas podem passar por permeabilidade por micro poros nesta fina barreira hidratada devido ao seu baixo tamanho molecular (menor que 200 Da) (GIVEN JR, 2009). No entanto, um dos principais desafios para a aplicação de encapsulamento de aromas por coacervação é que diferentes óleos possuem diferentes graus de hidrofiliicidade o que determina diferentes taxas de liberação da molécula. Contudo estudos mais detalhados destas taxas podem possibilitar alimentos industrializados ainda mais atraentes ao consumidor (TAYLOR, 2002; GIVEN JR, 2009).

## **PURIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS**

Os coacervados formados podem ter suas interações dissociadas, o que proporciona um bom método de fracionamento de proteínas. A diferença entre o ponto isoelétrico da proteína e a densidade de carga do polímero a um dado pH são os principais fatores que permitem a precipitação seletiva de uma proteína numa mistura com polissacarídeos aniônicos (HANSEN e CHANG, 1968; CASAL et al., 2006). Este método oferece uma vantagem interessante que é a não utilização de solventes orgânicos, além de permitir que haja uma reutilização dos polissacarídeos em uma larga escala de purificação.



A recuperação de proteína de soro de leite pode ser realizada em condições de pH básico quando a quitosana foi utilizado para a formação do complexo, pois até 90% de  $\beta$ -Lg pode ser removida a partir do soro do queijo complexado com quitosana. A faixa de pH para recuperação variou entre 8 a 10 e forças iônicas foi variada entre 0,08 a 0,3 mol/L (MONTILLA et al., 2007). Curiosamente, uma variedade de outras proteínas como as proteínas de soja e de batata podem ser fracionadas usando o mesmo princípio (SMITH et al., 1962; VIKELOUDA e KIOSSEOGLOU, 2004). Pois esta técnica mostrou eficiente até para o isolamento de imunoglobulinas Y (IgY) a partir de complexos formados entre proteínas da gema do ovo e polissacarídeos aniônicos (CHANG et al., 2000). As condições de isolamento de IgY de ovo foram otimizadas através da adição de várias concentrações de Alginato de sódio,  $\kappa$ -carragena, CMC, e pectina em um sistema contendo gema de ovo diluída. Pode-se verificar que a variação do pH afetou tanto a quantidade de complexados formados quanto o grau de recuperação da imunoreatividade da IgY quando avaliada pelo método de imunodifusão de radial simples. Outro ponto a ser citado foi que o grau de recuperação variou entre 33 e 74% e que dentre os polissacarídeos testados, o uso de 0.15% de pectina no pH 5,0 exibiu o melhor grau de recuperação da imunoreatividade da IgY.

## ESTRUTURAÇÃO DE BIOFILMES ALIMENTÍCIOS

Ao longo dos últimos anos, várias pesquisas têm sido realizadas para desenvolver e aplicar biopolímeros a partir de uma variedade de commodities agrícolas e / ou resíduos da industrialização de produtos alimentícios (KUORWEL et al., 2011). Estes materiais apresentam a possibilidade de obtenção de filmes finos para revestimentos ou cobertura de alimentos frescos ou processados com um objetivo principal de estender a vida de prateleira. Os principais biopolímeros utilizados na formulação dos biofilmes são os amidos, os derivados de celulose, quitosana / quitina, gomas, proteínas (animal ou à base de plantas) e lipídios (CUTTER, 2006). Os filmes comestíveis e/ou revestimentos formados a partir destes biopolímeros oferecem algumas vantagens como uma segura comestibilidade, biocompatibilidade, uma boa aparência estética, propriedades de barreira, sendo não tóxico e não poluente e com baixo custo, além de possuir também capacidade de transporte de aditivos alimentares tais como agentes antimicrobianos ou antioxidantes (APPENDINI e HOTCHKISS, 2002; BOURTOOM, 2008; DUTTA et al., 2009).

DUAN et al. (2011) estudaram a capacidade encapsulante de óleo de peixe biofilmes formados a partir da interação quitosana/WPI. Estes filmes foram incorporados com 1,5 ou 2% m/v de óleo de peixe, 2% m/v de glicerol, Tween 80 na proporção 3 vezes maior que a massa de óleo de peixe ou 0,5% de óleo essencial de alecrim ou orégano. Ao avaliar esta capacidade encapsulante, estes puderam perceber que após o armazenamento de 30

dias a 2 °C destes filmes, houve um aumento no teor total de óleo nos filmes previamente formados com óleo de peixe, pois o percentual variou de 28 % com somente óleo de peixe, 32% para óleo de peixe e glicerol, 33,4% para óleo de peixe e Tween 80 e 37% para óleo de peixe e óleo de alecrim ou orégano. O teor de umidade e atividade de água não apresentou diferença significativa entre as diferentes formulações, contudo o aumento de óleo de peixe de 1,5% a 2% diminuiu a resistência à tração dos filmes, mas não o alongamento do mesmo. A adição de óleo de orégano diminuiu a oxidação do óleo de peixe encapsulado o que corroborou juntamente com as outras características para um meio simples e econômico de encapsulamento e estabilização de óleo de peixe em biofilmes, podendo ser aplicados em diferentes alimentos.

## DEMAIS PROPRIEDADES

Proteínas complexadas eletrostaticamente com polissacarídeos aniônicos podem ter sua solubilidade aumentada devido à inibição da precipitação que esta sofre em pHs próximos ao seu ponto isoelétrico (JONES e MCCLEMENTS, 2010). A formação destes complexos também pode proporcionar um meio prático de controlar a agregação térmica de proteínas globulares, pois a força desta interação pode inibir a agregação térmica das proteínas. Este comportamento ocorre provavelmente devido a limitação do número de acesso aos sítios reativos da proteína, consequência esta do baixo coeficiente de difusão do biopolímero. (TURGEON et al., 2007b; JONES e MCCLEMENTS, 2010).

## OVO DE GALINHA

O ovo de galinha é conhecido como um dos alimentos mais completos, ocupando posição de destaque na área da nutrição por ser uma fonte de proteína de baixo custo, capaz de fornecer elementos indispensáveis à saúde. Além de ser rico em proteínas, é excelente fonte de minerais e vitaminas, principalmente as do complexo B, além das vitaminas A, D e E, que por serem lipossolúveis, depositam-se apenas na gema (FONSECA, 1985; SIM e NAKAI, 1994; LEANDRO et al., 2006).

Do ponto de vista legal, a simples designação de ovos indica os ovos oriundos de galinha, sendo necessário, quando se trata de ovos de outras aves, mencionar a espécie da qual procedem (BRASIL, 1990). De acordo com FONSECA (1985) o ovo é constituído de gema, clara (ou albúmen), casca e membranas da casca e, de uma maneira geral, sua composição depende de fatores como idade, tamanho, alimentação e estado sanitário das aves, sendo constituído basicamente de 74% de água, 12,5% de proteínas, 12% de lipídeos, 1% de sais minerais e 0,5% de carboidratos (FONSECA, 1985; SARCINELLI et al., 2007a).

A casca representa de 8 a 11% da composição proporcional do ovo e é formada por uma matriz de fibras entrelaçadas de natureza protéica e carbonato cálcico intersticiais, sendo composta por 94% de carbonato de cálcio, 1% de carbonato de magnésio, 1% de fosfato de cálcio. A matéria orgânica, bastante reduzida, apresenta-se principalmente na forma de proteínas (STADELMAN e COTTERILL, 1995a; ORDONEZ, 2005).

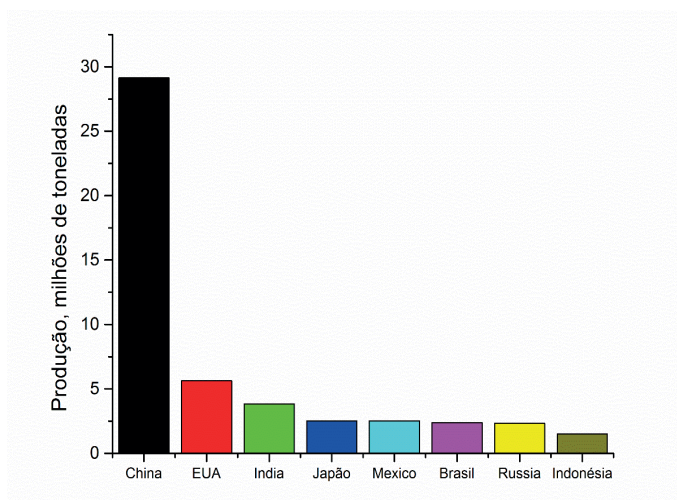
A gema representa de 27 a 32% da composição proporcional do ovo e contém grande fração de nutrientes como vitaminas, proteínas de alto valor biológico, fosfolipídios, ácidos graxos essenciais e minerais. É constituída de aproximadamente 47% de água, 35% de lipídeos, 16% de proteína, 1% de carboidratos e 1% de minerais (SARCINELLI et al., 2007b). De acordo com YAMAMOTO (1997) a maioria dos lipídeos da gema está associada a proteínas na forma de lipoproteínas. A fração lipídica da gema é composta por cerca de 70 % de triglicerídeos, 25% de fosfolipídios e 5% de colesterol com os ácidos graxos tendo papel relevante por serem os principais elementos dos triglicerídeos e fosfolipídios, possuindo diferentes comprimentos de cadeia e graus de saturação. Os ácidos graxos insaturados estão presentes em maior percentual nos ovos convencionais disponíveis no mercado, representando cerca de 64 % do total (KOVACS-NOLAN et al., 2005; MINE, 2007).

Já a clara, também chamada de albúmen, participa com 56 a 61% da composição

total do ovo e armazena a maior parte da água presente no ovo, correspondendo a 88% de seu conteúdo (ORDONEZ, 2005). Além disso, contém grande quantidade de proteínas de alto valor nutricional e funcional (que varia de 9,7 a 10,6% de acordo com a idade da ave), cerca de 0,03 % de lipídeos, 0,4 a 0,9% de carboidratos e 0,5 a 0,6% de cinzas, correspondentes ao conteúdo mineral. O sistema proteico é constituído por fibras de ovomucina incluídas em solução aquosa de numerosas proteínas globulares (STADELMAN e COTTERILL, 1995a; KOVACS-NOLAN et al., 2005) .

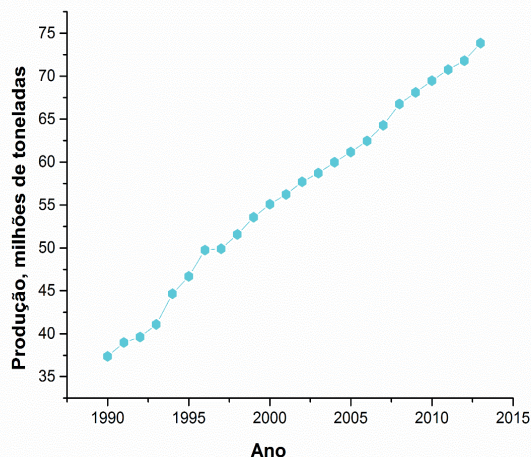
### Importância econômica

Em 2001, o Brasil ocupou a sétima posição na produção mundial de ovos, com pouco mais de 1 milhão de toneladas produzidas de ovo com casca. Em 2013 sua colocação mundial mudou como pode ser visto na Figura 3, pois este passou a ocupar a sexta colocação mundial com uma produção anual total de pouco mais de 1.6 milhões de toneladas (FAO-DATABASE, 2011).



**Figura 3:** Produção de ovos de galinha com casca dos principais países produtores em 2013.  
Fonte: FAOSTAT.® FAO Divisão de estatística, 2015

A produção global de ovos tem crescido rapidamente nos últimos anos. Ela duplicou desde 1990, quando a produção mundial foi de cerca de 37 milhões de toneladas, em comparação com quase 75 milhões de toneladas em 2013, como pode ser visto na Figura 4 (FAO-DATABASE, 2011). Especialistas da Comissão Internacional do Ovo (IEC) esperam que se as taxas de crescimento de produção permaneçam constantes, pois dentro de alguns anos o volume de produção de ovos pode ser tão grande quanto à produção de carne de bovina o que elevaria ainda mais a importância econômica deste produto no cenário agroindustrial (IEC, 2012).



**Figura 4:** Dinâmica de produção de ovos de galinha com casca no mundo.  
 Fonte: FAOSTAT.® FAO Divisão de estatística, 2015.

Atualmente, o país continua com a sexta colocação mundial em uma crescente progressão na sua produção anual (FAO-DATABASE, 2011). No primeiro trimestre de 2009 a produção de ovos de galinha no país foi de 580.832 milhões de dúzias, considerando-se apenas estabelecimentos com 10.000 ou mais galinhas de postura. Isto reflete uma variação positiva de 2,2% em comparação ao mesmo período de 2008 totalizando ao final de 2009 uma produção de 1.798,257 milhões de dúzias (IBGE, 2012) o que já em 2007 colocou o ovo como sendo o 14º produto agropecuário brasileiro com rendimento de 1.198 U\$ Bilhões (FAO-DATABASE, 2011).

A principal região produtora de ovos de galinha é a região sudeste com 50,4% do total nacional. São Paulo é o maior estado produtor, representando 31,3% da produção nacional (IBGE, 2012). (SIM e NAKAI, 1994), destacou em seu trabalho que em média 20 % do ovo “in natura” de uma granja segue diretamente para o mercado consumidor. O restante destina-se ao uso industrial, geralmente na forma de clara, gema ou ovo integral desidratado. O produto desidratado é normalmente utilizado como ingrediente alimentar no preparo de biscoitos, bolos, doces, maioneses e massas. Os principais constituintes da gema, lipídios e proteínas, têm importância particular e essencial em vários segmentos da indústria e aqui podemos citar alguns exemplos como o processamento da indústria de alimentos onde está é utilizada para elaboração de novos emulsificantes, na formulação de cosméticos como shampoos e condicionadores e como componente bioativo da indústria farmacêutica onde ela é utilizada como excelente meio de crescimento de vírus para elaboração de vacinas (GARCIA ROJAS et al., 2007; AEB, 2012).

## PROTEÍNAS DA CLARA DO OVO

Segundo MINE (2007) a clara do ovo é constituída de quatro camadas distintas, sendo elas: (1) Albúmen fluido externo, sendo 23% do total da clara. Está em contato com a membrana da casca. Quando o ovo se rompe sobre uma superfície plana, este albúmen é, precisamente, o que se estende com rapidez; (2) Albúmen denso, sendo 57% do total da clara. Encontra-se unido aos dois extremos do ovo. Apresenta um aspecto de gel; (3) Albúmen fluido interno, sendo 17% do total da clara. Encontra-se localizado entre o albúmen denso e a gema; (4) Chalaza, sendo 3% do total do albúmen. São filamentos dispostos em espiral, que vão desde a gema até os dois pólos do ovo e atravessam o albúmen denso. Colaboram para manter a gema no centro do ovo.

A proporção com que estas zonas aparecem varia em função da raça da ave, peso do ovo e do tempo em que foi posto (STADELMAN e COTTERILL, 1995a). Quando o peso do ovo aumenta com a idade da ave, também aumenta a presença de albúmen denso, enquanto o albúmen fluido interno diminui.

A clara de ovo apresenta alto teor de umidade (cerca de 88 % de água) e conteúdo de sólidos variando de 11 a 13 %, sendo as proteínas as maiores constituintes e a quantidade de lipídeos insignificante. Assim como a gema, a clara apresenta baixo teor de carboidratos, sendo, entretanto, relativamente abundante em *Mg* e *Na* (STADELMAN e COTTERILL, 1995a).

Segundo STADELMAN e COTTERILL (1995a) a clara pode ser considerada um sistema protéico constituído por fibras de ovomucina em uma solução aquosa de numerosas proteínas globulares, sendo a ovoalbumina, conalbumina (ovotransferrina), ovomucoide, lisosima, globulinas e a ovomucina as principais proteínas consideradas no sistema (Tabela 1). A composição protéica das camadas fluida e densa diferencia-se apenas no conteúdo em ovomucina, que é cerca de quatro vezes maior na camada densa.

Análises calorimétricas mostram três principais endotermas que ocorrem durante o aquecimento da clara de ovo, que correspondem à desnaturação da ovotransferrina, lisozima e ovoalbumina. As proteínas da clara são termo lábeis e formam géis fortes sob aquecimento. Durante a desnaturação pelo calor, são formadas estruturas intermoleculares estáveis entre a ovoalbumina, ovotransferrina e lisozima. Sob uma temperatura de cerca de 60 °C, as proteínas da clara sofrem o desdobramento, expondo seus grupos sulfidríla internos (que podem afetar a formação de ligações dissulfídicas) e a hidrofobicidade superficial aumenta. A desnaturação das proteínas da clara pode ser afetada pelo pH, concentração de sal, açúcar ou tratamentos prévios de aquecimento (EMBUSCADO e HUBER, 2009).

Proteína	% na Clara	Massa Molar (KDa)	Ponto Isoelétrico	Temperatura de Desnaturação (°C)	Características
Ovoalbumina	54	45	4,6	84,0	Fosfoglicoproteína, Capacidade de formar géis
Conalbumina (ovotranferrina)	12	76	6,1	61,0	Combina-se com íons metálicos, inibidor bacteriano
Ovomucóide	11	28	4,1	79,0	Inibidor proteinase
Lisozima	3,4	14,3	10,7	75,0	Lise bacteriana
Ovoglobulina G <sub>2</sub>	4	45	5,6	92,5	Espumante
Ovoglobulina G <sub>3</sub>	4		5,8	-	Espumante
Ovomucina	3,5	550 a 830	4,5 - 5,0	-	Viscosidade
Ovoflavoproteína	0,8	32	4,0	-	Fixa riboflavina
Ovoinibidor	1,5	49	5,1	-	Inibidor proteinase
Ovoglicoproteína	1,0	24,4	3,9	-	Sialoproteína, viscosidade
Ovomacroglobulina	0,5	830 x 1000	4,5	-	Fortemente antigénica
Avidina	0,05	67	10	85,0	Complexação com Biotina

**Tabela 1:** Proteínas da clara do ovo e suas principais propriedades funcionais.  
Fonte: Adaptada de Ordóñez et al.(2005) e Stadelman e Cotterill (1995)

## Ovoalbumina

A ovoalbumina é a proteína majoritária da clara, representando em torno de 54% do total. Trata-se de uma fosfoglicoproteína, constituída por três componentes (A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> e A<sub>3</sub>) que se diferenciam pelo número de grupos fosfato (dois, um ou nenhum, respectivamente), com o grupo carboidrato sendo constituído por duas moléculas de N-acetilglicosamina e quatro unidades de manose. A cadeia polipeptídica é composta por 385 resíduos de aminoácidos, incluindo 4 grupamentos sulfidríla e uma ligação dissulfídica simples (ORDONEZ, 2005).

A ovoalbumina pode ser desnaturada e coagulada com relativa facilidade nas interfaces após a agitação ou batidura em solução aquosa (espumas e emulsões), porém é relativamente estável ao tratamento térmico. O aquecimento da clara a 62°C por 3,5 minutos sob pH 9,0 é capaz de alterar apenas 3 a 5% da ovoalbumina, enquanto em pH 7,0

praticamente não há alteração (STADELMAN e COTTERILL, 1995a).

Quando os ovos são armazenados por longos períodos, ocorre a conversão da ovoalbumina em S-ovalbumina, proteína mais termoestável devido a um intercâmbio sulfidríla-dissulfeto. A S-ovalbumina é encontrada em pequena quantidade na clara quando o ovo está fresco, porém, após seis meses de armazenamento sob refrigeração, pode chegar a representar 81% da ovoalbumina da clara (LINDEN et al., 1996; FENNEMA, 2000).

### **Conalbumina ou Ovotransferrina**

A conalbumina, também conhecida por ovotransferrina, representa em torno de 12% do total de proteínas da clara. É uma glicoproteína constituída por uma cadeia polipeptídica, podendo existir em equilíbrio sob três formas distintas conforme o conteúdo de ferro (dois, um ou nenhum átomo por molécula) formando complexos metálicos que são mais termoestáveis que a proteína nativa. É a proteína da clara mais sensível ao calor, desnaturando-se a 61°C, sendo, quando comparada à ovoalbumina, menos suscetível à desnaturação nas interfaces (ORDONEZ, 2005).

A sua habilidade em se associar ao ferro relaciona-se com sua atividade antimicrobiana a partir do momento que é capaz de inativar microrganismos que necessitam deste íon para sobrevivência. Quando não ligada ao ferro, a conalbumina é mais sensível ao tratamento térmico do que a ovoalbumina, porém menos suscetível à desnaturação de superfície (LINDEN et al., 1996).

### **Ovomucóide**

A ovomucóide, presente em um percentual de 11% da clara, é uma glicoproteína com nove pontes dissulfeto, o que faz com que seja mais estável à coagulação pelo calor, precipitando-se apenas em presença de lisozima e em meio alcalino. Possui uma única cadeia polipeptídica com segmentos helicoidais (aproximadamente 22%) e segmentos desorganizados (estrutura primária) e há ocorrência de um resíduo de cistina, em média, a cada 11 resíduos de aminoácidos. Contém de 20 a 25% de carboidratos constituídos por D-manose, D-galactose, glicosamina e ácido siálico. A ovomucóide se diferencia bioquimicamente da ovoalbumina e da conalbumina por não se coagular na presença de calor. Outra característica é a ação de anti-enzima para a tripsina, diminuindo a atividade da protease (STADELMAN e COTTERILL, 1995a).

### **Ovomucina**

A ovomucina é uma glicoproteína sulfatada que representa 3,5% do total das



proteínas da clara e se difere das demais proteínas por conter galactosamina, ésteres sulfúricos, grande quantidade de cistina (que interliga as subunidades por meio de pontes intermoleculares) e ácido siálico (contém cerca de 50% de todo o presente na clara) (SGARBIERI, 1996).

A estrutura estirada da molécula é resultado das repulsões eletrostáticas devido às cargas negativas dos resíduos de ácido siálico responsáveis pela viscosidade da capa gelificada do albúmen. Cabe ressaltar que esta proteína é insolúvel em água (LINDEN et al., 1996).

Quando em solução com a lisozima, pode interagir por ligações eletrostáticas formando complexos insolúveis em água. Na faixa de pH 7,2 a 10,4, a interação dessas proteínas decresce com o aumento de pH. O complexo vai se desfazendo conforme o pH se aproxima do ponto isoelétrico da lisozima (10,7). O complexo ovomucina–lisozima provavelmente tem papel importante na diminuição da viscosidade da clara de ovo durante o armazenamento (STADELMAN e COTTERILL, 1995a).

### **Liozima (Ovoglobulina G<sub>1</sub>**

A lisozima (cerca de 3,5% do total de proteínas) possui massa molar mais baixa (14,307) e o pI mais alto (10,7) dentre todas as proteínas da clara. É formada de um único polipeptídio com 129 resíduos de aminoácidos e quatro pontes dissulfeto, não possuindo grupos sulfidril livres. Representa uma proteína básica com alta porcentagem de histidina, lisina e arginina que apresenta estabilidade ao calor, frio e a muitos agentes de desnaturação, porém não é estável em álcalis. Algumas proteases, como a tripsina e a papaína, não a atacam. Sua grande estabilidade pode ser atribuída à estrutura compacta da molécula, com quatro pontes dissulfeto intermolecular e a presença de apenas três moléculas de água por molécula de lisozima (YAMAMOTO, 1997).

Sua ação enzimática inclui a clivagem de polissacarídeos, ligação glicosídica  $\beta$ -1,4 entre N-acetilglicosamina e ácido murâmico, em parede celular de bactérias. Além da atividade glicosídica, possui também atividade de transglicosidade de esterase, exercendo ação antimicrobiana. A lisozima da clara de ovo é homóloga à lisozima humana e à  $\alpha$ -lactalbumina (YAMAMOTO, 1997; MINE, 2007).

### **Outras Proteínas**

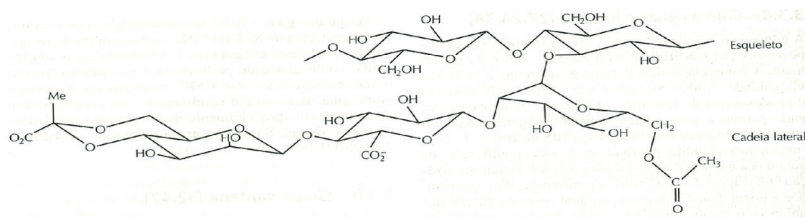
A avidina é uma glicoproteína básica composta de quatro subunidades idênticas, podendo se fixar a cada uma delas uma molécula de biotina. Por ser encontrada na clara do ovo quase sempre na forma livre de biotina, apresenta também atividade antimicrobiana.

Já as ovoglobulinas  $G_2$  e  $G_3$  são bons agentes espumantes e, diferentemente de outras globulinas, não apresenta atividade inibitória de proteinases. O Ovoinibidor, outra proteína presente na clara, é capaz de inibir tripsina, quimotripsina e enzimas microbianas enquanto a ovomacroglobulina é uma glicoproteína de elevada massa molar que representa 0,5% das proteínas da clara e apresenta ponto isoelétrico em pH 4,5. É fortemente antigênica e mostra muita reatividade cruzada contra ovomacroglobulina de outras espécies de aves (ORDONEZ, 2005; MINE, 2007).

Os polissacarídeos são polímeros naturais de alta massa molar, formados por mais de 20 unidades de monossacarídeos dispostos de forma linear ou ramificada, podendo ser solúveis ou insolúveis em água (DAMODARAN et al., 2010). Segundo LEWIS et al. (1993) são hidrocolóides que conferem maior viscosidade e consistência gelatinosa aos alimentos aos quais são adicionados, pois contêm grupos hidrofílicos e hidrofóbicos que favorecem suas propriedades emulsificantes. São exemplos de polissacarídeos o amido, o glicogênio, a celulose, a pectina, a carragena e a goma xantana. A seguir serão descritas algumas características dos polissacarídeos utilizados neste trabalho.

## GOMA XANTANA

A goma xantana é um polímero aniônico, um exopolissacarídeo microbiano produzido por *Xanthomonas campestris* em grandes fermentadores. É atóxica e foi aprovada no Brasil como aditivo em alimentos desde 1965 pela Legislação Brasileira de Alimentos. Sua estrutura primária é composta de repetidas unidades pentassacarídicas, formada por duas unidades de glicose, três unidades de manose (sendo o primeiro resíduo de manose normalmente acetilado no C-6) e duas unidades de ácido glicurônico. A cadeia principal consiste de unidades de glicose ligadas na posição 1 e 4 (DAMODARAN et al., 2010) (Figura 5).



**Figura 5:** Estrutura da unidade repetitiva do pentassacarídeo da goma xantana (DAMODARAN et al., 2010).

Quando em solução e com o aumento da temperatura, a goma xantana passa por uma transição conformacional irreversível de um estado ordenado e rígido para um estado mais desordenado e flexível (desnaturado). A temperatura de transição é, ainda, função de alguns fatores como a concentração da goma e a força iônica do meio, mas geralmente

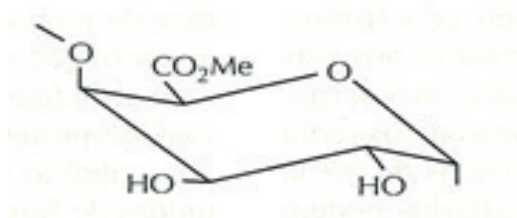
ocorre até 50°C (URLACHER e NOBLE, 1997).

Na indústria alimentícia seu uso é bastante valorizado devido a algumas características como a alta solubilidade, tanto em água quente como fria, por produzir alta viscosidade em soluções mesmo em baixas concentrações, por não provocar mudanças perceptíveis na viscosidade das soluções, em uma ampla faixa de temperatura, de 0 a 100°C (o que a torna única entre as gomas alimentícias), por ser solúvel e estável em soluções ácidas, por ser bastante compatível com sal, por ser estabilizante de suspensões e emulsões e por conferir estabilidade a produtos submetidos a congelamento e descongelamento. Além disso, tem a propriedade de interagir com a goma guar de forma sinérgica para produzir aumento da viscosidade da solução e gelifica somente em presença de outras gomas, especialmente a goma locusta (DAMODARAN et al., 2010).

Pelo fato de possuir propriedades reológicas únicas e muito úteis para as indústrias, a goma xantana vem sendo amplamente utilizada para espessar e estabilizar suspensões e emulsões. Como a viscosidade das soluções é pouco alterada pela temperatura, não se tornando mais espessas quando resfriadas, a xantana é insubstituível em produtos como molhos para salada e calda de chocolate aos quais necessitam fluir de forma fácil quando retirados do refrigerador ou em temperatura ambiente ou outros molhos que não devem ser muito espessos quando frios nem muito fluidos quando aquecidos (HUI et al., 2005).

## PECTINA

A pectina é um polissacarídeo natural presente em quase todas as plantas terrestres e responsável por propriedades estruturais de frutas e vegetais (CLEGG, 2010). As pectinas comerciais possuem como componente majoritário o ácido galacturônico parcialmente esterificado com um grupo metoxila (Figura 6) e são obtidas geralmente pela hidrólise de substâncias pécticas sob aquecimento em meio ácido (60 a 100°C em pH 1,5 a 3,0), estando entre as principais fontes à casca de frutas cítricas (20 a 30% de pectina) e a polpa de maçã (10 a 15% de pectina).



**Figura 6:** Unidade monomérica predominante de uma pectina de alta metoxilação (DAMODARAN et al., 2010)

As pectinas podem ser classificadas de acordo com o grau de esterificação (GE) ou metoxilação (GM). As que possuem GE superior a 50% (mais da metade dos grupos carboxila sob a forma de éster metílico) são denominadas pectinas de alto teor de metoxilação (ATM) e as com GE inferior a 50%, são de baixo teor de metoxilação (BTM). Em ambos os casos, os grupos carboxilas remanescentes estão presentes como uma mistura na forma de ácidos livres (-COOH) e sais (-COO<sup>-</sup>Na<sup>+</sup>) (ORDONEZ, 2005; DAMODARAN et al., 2010).

Possuem uma capacidade única de formar géis espalháveis na presença de açúcar ou ácido ou na presença de íons cálcio, sendo usados principalmente como ingrediente na indústria de alimentos na produção de geleias, sucos de frutas, artigos de confeitaria e na fabricação de filmes biodegradáveis comestíveis. As pectinas têm pouco uso como espessantes devido à sua baixa capacidade de formar soluções viscosas, quando comparadas com outros biopolímeros (SPERBER et al., 2009).

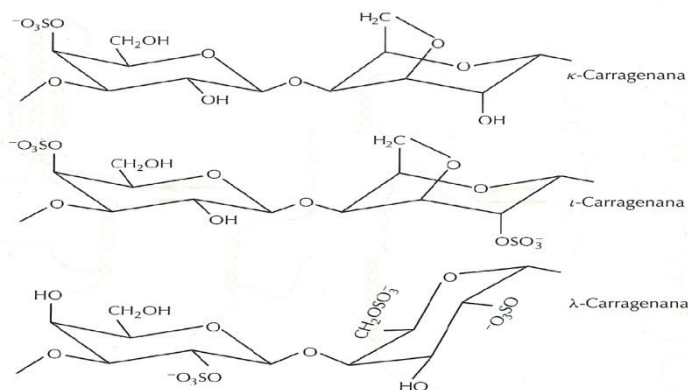
A gelificação das soluções de pectina ATM ocorre quando há ácido (com pH ideal na faixa de 2,8 a 3,5) e açúcar (cerca de 65%) em quantidade suficiente, de maneira que à medida que o pH da solução diminui, os grupos carboxila, altamente hidratados e carregados, são convertidos em grupos não carregados e apenas levemente hidratados. Como resultado da perda de algumas de suas cargas e de sua hidratação, as moléculas poliméricas podem então associar-se em porções ao longo de seu comprimento formando junções e uma rede de cadeias poliméricas que aprisionam a solução aquosa de moléculas de soluto, formando zonas de junção que são favorecidas em alta concentração de açúcar. Os géis formados por pectinas ATM possuem grande quantidade de grupos éster metílicos (COOCH<sub>3</sub>) cujas interações hidrofóbicas sustentam a estrutura do gel (NEIRYNCK et al., 2004).

Já as pectinas BTM gelificam apenas na presença de 0,01 a 0,05g/L de cátions divalentes (que proporcionam pontes cruzadas), sem a necessidade de altos teores de açúcar, sendo portanto, muito úteis na confecção de geleias e marmeladas com baixo teor deste componente (ORDONEZ, 2005; DAMODARAN et al., 2010).

## CARRAGENA

Carragena é o termo utilizado para identificar um grupo ou família de galactanas sulfatadas extraídas alcalinamente de algas vermelhas das espécies *Gigartina*, *Hypnea*, *Eucheuma*, *Chondrus* e *Iridaea*. São biopolímeros de cadeias lineares de unidades D-galactopiranosil unidas por ligações D-glicosídicas alternadas α-1,3 e β-1,4 com a maioria das unidades de açúcar apresentando um ou dois grupos semi éster sulfato esterificados no grupo hidroxila dos átomos de carbono C-2 e ou C-6. As principais estruturas são

denominadas carragena kappa ( $\kappa$ ), iota ( $\iota$ ) e lambda ( $\lambda$ ). As unidades dissacarídicas demonstradas na Figura 7 representam os blocos constituintes predominantes de cada tipo, mas não são, necessariamente, unidades estruturais repetidas (SHUMILINA e SHCHIPUNOV, 2002; CAMPO et al., 2009).



**Figura 7:** Estruturas unitárias idealizadas das carragenas tipos  $\kappa$ ,  $\iota$  e  $\lambda$  (DAMODARAN et al., 2010).

As carragenas comerciais são misturas de polissacarídeos não homogêneos, contendo diferentes proporções dos três principais tipos estruturais ( $\kappa$ ,  $\iota$  e  $\lambda$ ), produzidos com misturas de espécies de algas vermelhas. Possuem geralmente 60% da fração  $\kappa$  (gelificante) e 40% da fração  $\lambda$  (não gelificante), sendo estáveis em valores de pH acima de 7,0, com diminuição na estabilidade na faixa de pH de 5,0 a 7,0 e degradando-se rapidamente em pH abaixo de 5,0 (TOLSTOGUZOV, 2007).

As carragenas apresentam moléculas muito flexíveis, sendo que em altas concentrações podem formar uma estrutura mais ordenada na forma de duplas hélices, a qual pode levar à formação de géis. Quanto maior for o grau de sulfatação das moléculas, maior é a solubilidade a frio. A  $\lambda$ -carragena apresenta três radicais sulfatos para cada dois resíduos de galactose, com fortes repulsões eletrostáticas. Com isso, há maior mobilidade das moléculas, que, separadas umas das outras, não tendem a se associar, diminuindo a capacidade de gelificação, porém apresentando a propriedade de espessante tanto a frio quanto a quente. Já a  $\kappa$ -carragena possui um grupo sulfato para duas unidades de galactose, sendo capaz de apresentar alto poder de gelificação (TOLSTOGUZOV, 2007). A  $\kappa$ -carragena forma géis termo reversíveis que ocorrem a partir do ordenamento molecular com o resfriamento. A presença dos cátions  $K^+$  e  $Ca^{2+}$  no sistema contribuem tanto para induzir a gelificação a temperaturas mais elevadas, quanto para a formação de géis mais fortes. As carragenas do tipo iota e kappa além de serem amplamente utilizadas como agentes espessantes em produtos que se preparam a altas temperaturas, também resultam

géis estáveis em água à temperatura ambiente sem necessidade de refrigeração. Esses géis são transparentes e termo reversíveis, conseguindo uma ampla variedade de texturas desde muito elásticas e coesas, até géis firmes e quebradiços, dependendo da combinação das frações que se utiliza (CAMPO et al., 2009).

Uma das propriedades mais importantes que diferencia a carragena de outros hidrocolóides é sua capacidade única de formar complexos e interagir com proteínas do leite, sob diversas condições. Suas propriedades funcionais são amplamente utilizadas pela indústria alimentícia, com diversas aplicações como espessante, gelificante, emulsão e estabilização de gorduras; estabilidade de congelamento-degelo; controle de textura; propriedades de fusão controladas; controle de viscosidade no processamento, sendo útil em produtos lácteos, carnes enlatadas, gelatinas, geléias, produtos *light*, macarrão, entre outros (TOLSTOGUZOV, 2007; DAMODARAN et al., 2010).

## REFERÊNCIAS

ABERKANE, L. L.; JASNIEWSKI, J.; GAIANI, C.; SCHER, J. L.; SANCHEZ, C. Thermodynamic Characterization of Acacia Gum- $\beta$ -Lactoglobulin Complex Coacervation. **Langmuir**, v. 26, p. 12523-12533, 2010.

AEB. American Egg Board. [www.aeb.org](http://www.aeb.org), 2012. Acesso em: setembro de 2012.

APPENDINI, P.; HOTCHKISS, J. H. Review of antimicrobial food packaging. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 3, n. 2, p. 113-126, 2002.

BALAMURALIDHARA, V.; PRAMODKUMAR, T. M.; SRUJANA, N.; VENKATESH, M. P.; VISHAL GUPTA, N.; KRISHNA, K. L.; GANGADHARAPPA, H. V. pH Sensitive Drug Delivery Systems: A Review. **American Journal of Drug Discovery and Development**, v. 1, n. 1, p. 24-48, 2011.

BALL, V.; WINTERHALTER, M.; SCHWINTÉ, P.; LAVALLE, P.; VOEGEL, J. C.; SCHAAF, P. Complexation Mechanism of Bovine Serum Albumin and Poly(allylamine hydrochloride). **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 106, p. 2357-2364, 2002.

BÉDÍÉ, G. K.; TURGEON, S. L.; MAKHLOUF, J. Formation of native whey protein isolate-low methoxyl pectin complexes as a matrix for hydro-soluble food ingredient entrapment in acidic foods. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 836 – 844, 2008.

BENICHO, A.; ASERIN, A.; GARTI, N. O/W/O double emulsions stabilized with WPI-polysaccharide conjugates. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 297, p. 211-220, 2007a.

BENICHO, A.; ASERIN, A.; GARTI, N. W/O/W double emulsions stabilized with WPI-polysaccharide complexes. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 294, p. 20-32, 2007b.

BIESHEUVEL, P. M.; STUART, M. A. C. Cylindrical Cell Model for the Electrostatic Free Energy of Polyelectrolyte Complexes. **Langmuir**, v. 20, p. 4764-4770, 2004.

BOHIDAR, H.; DUBIN, P. L.; MAJHI, P. R.; TRIBET, C.; JAEGER, W. Effects of Protein-Polyelectrolyte Affinity and Polyelectrolyte Molecular Weight on Dynamic Properties of Bovine Serum Albumin-Poly(diallyldimethylammonium chloride) Coacervates. **Biomacromolecules**, v. 6, p. 1573-1585, 2005.

BOURTOOM, T. Review Article Edible films and coatings: characteristics and properties. **International Food Research Journal** v. 15, n. 3, p. 237-248, 2008.

BRASIL. **Eggs Uses and Processing Technologies: New Developments**. Portaria no 01. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, P. E. A. 1990.

BROMBERG, L. E.; RON, E. S. Temperature-responsive gels and thermogelling polymer matrices for protein and peptide delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 31, n. 3, p. 197-221, 1998.

BUNGENBERG DE JONG, H. G. Complex colloid systems. In: KRUYT, H. R. (Ed.). **Colloid Science**. Amsterdam: Elsevier Publishing Company, v.II, 1949. cap. X, p.335-432.

BUNGENBERG DE JONG, H. G.; KRUYT, H. R. Coacervation (Partial miscibility in colloid systems). **Proc. Koninkl. Med. Akad. Wettershap.**, v. 23, p. 849-856, 1929.

BURGESS, D. J. Complex coacervation: microcapsule formation. In: BOCK, D. e SCHULZ, D. (Ed.). **Macromolecular complexes in chemistry and biology**. Berlin: Springer-Verlag, 1994. p.285–300.

CAMPO, V. L.; KAWANO, D. F.; SILVA JR, D. B. D.; CARVALHO, I. Carrageenans: Biological properties, chemical modifications and structural analysis – A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, n. 2, p. 167-180, 2009.

CASAL, E.; MONTILLA, A.; MORENO, F. J.; OLANO, A.; CORZO, N. Use of Chitosan for Selective Removal of  $\beta$ -Lactoglobulin from Whey. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 5, p. 1384-1389, 2006.

CHANASATTRU, W.; JONES, O. G.; DECKER, E. A.; MCCLEMENTS, D. J. Impact of cosolvents on formation and properties of biopolymer nanoparticles formed by heat treatment of  $\beta$ -lactoglobulin–Pectin complexes. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 2450–2457, 2009.

CHANG, C.-P.; LEUNG, T.-K.; LIN, S.-M.; HSU, C.-C. Release properties on gelatin-gum arabic microcapsules containing camphor oil with added polystyrene. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 50, n. 2, p. 136-140, 2006.

CHANG, H.-M.; LU, T.-C.; CHEN, C.-C.; TU, Y.-Y.; HWANG, J.-Y. Isolation of Immunoglobulin from Egg Yolk by Anionic Polysaccharides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 4, p. 995-999, 2000.

CLEGG, S. M. The Use of Hydrocolloid Gums as Fat Mimetics. In: ROLLER, S. e JONES, S. A. (Ed.). **Handbook of Fat Replacers** Taylor & Francis, 2010.

COOPER, C. L.; DUBIN, P. L.; KAYITMAZER, A. B.; TURKSEN, S. Polyelectrolyte–protein complexes. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 10, p. 52 – 78, 2005.

CUTTER, C. N. Opportunities for bio-based packaging technologies to improve the quality and safety of fresh and further processed muscle foods. **Meat Science**, v. 74, n. 1, p. 131-142, 2006.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. Artmed Editora, 2010.

DICKINSON, E. Milk protein interfacial layers and the relationship to emulsion stability and rheology. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 20, p. 197-210, 2001.

DICKINSON, E. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. **Food Hydrocolloids**, v. 17, n. 1, p. 25-39, 2003.

DICKINSON, E. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. **Food Hydrocolloids**, v. 23 p. 1473–1482, 2009.

DICKINSON, E. Flocculation of protein-stabilized oil-in-water emulsions. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 81, p. 130-140, 2010.



DONG, Z. J.; TOURÉ, A.; JIA, C. S.; ZHANG, X. M.; XU, S. Y. Effect of processing parameters on the formation of spherical multinuclear microcapsules encapsulating peppermint oil by coacervation. **Journal of Microencapsulation**, v. 24, n. 7, p. 634-646, 2007.

DUAN, J.; JIANG, Y.; ZHAO, Y. Chitosan–Whey Protein Isolate Composite Films for Encapsulation and Stabilization of Fish Oil Containing Ultra Pure Omega-3 Fatty Acids. **JOURNAL OF FOOD SCIENCE**, v. 76, n. 1, p. C133-C141, 2011.

DUBIN, P. L.; LI, Y.; JAEGER, W. Mesophase Separation in Polyelectrolyte-Mixed Micelle Coacervates. **Langmuir**, v. 24, p. 4544-4549, 2008.

DUTTA, P. K.; TRIPATHI, S.; MEHROTRA, G. K.; DUTTA, J. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. **Food Chemistry**, v. 114, n. 4, p. 1173-1182, 2009.

EMBUSCADO, M. E.; HUBER, K. C. **Edible Films and Coatings for Food Applications**. Springer-Verlag New York, 2009.

ENDE, M. T.; HARIHARAN, D.; PEPPAS, N. A. Factors influencing drug and protein transport and release from ionic hydrogels. **Reactive Polymers**, v. 25, n. 2–3, p. 127-137, 1995.

ESPINOSA-ANDREWS, H.; BAÉZ-GONZÁLEZ, J. G.; CRUZ-SOSA, F.; VERNON-CARTER, E. J. Gum Arabic-Chitosan Complex Coacervation. **Biomacromolecules**, v. 8, p. 1313-1318, 2007.

FANG, Y.; LI, L.; INOUE, C.; LUNDIN, L.; APPELQVIST, I. Associative and Segregative Phase Separations of Gelatin/K-Carrageenan Aqueous Mixtures. **Langmuir**, v. 22, p. 9532-9537, 2006.

FAO-DATABASE. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. 2011. Acesso em: 01 Setembro

FENNEMA, O. R. **Química de Los Alimentos**. Acribia, Editorial, S.A., 2000.

FIROOZMAND, H.; MURRAY, B. S.; DICKINSON, E. Microstructure and rheology of phase-separated gels of gelatin + oxidized starch. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 1081-1088, 2009.

FIROOZMAND, H.; MURRAY, B. S.; DICKINSON, E. Microstructure and elastic modulus of mixed gels of gelatin+ ionized starch: Effect of pH. **Food Hydrocolloids**, v. 26, p. 286-292, 2012.

FONSECA, W. **Carne de ave e ovos: vademecum**. São Paulo: Ícone, 1985.

GALAZKA, V. B.; LEDWARD, D. A.; SUMNER, I. G.; DICKINSON, E. Influence of High Pressure on Bovine Serum Albumin and Its Complex with Dextran Sulfate. **J. Agric. Food Chem**, v. 45, p. 3465-3471, 1997.

GALAZKA, V. B.; SMITH, D.; LEDWARD, D. A.; DICKINSON, E. Complexes of bovine serum albumin with sulphated polysaccharides: effects of pH, ionic strength and high pressure treatment. **Food Chemistry**, v. 64, p. 303-310, 1999.

GANZEVLES, R. A.; COHEN STUART, M. A.; VLIET, T. V.; DE JONGH, H. H. J. Use of polysaccharides to control protein adsorption to the air–water interface. **Food Hydrocolloids**, v. 20, p. 872-878, 2006a.

- GANZEVLES, R. A.; FOKKINK, R.; VAN VLIET, T.; COHEN STUART, M. A.; DE JONGH, H. H. J. Structure of mixed  $\beta$ -lactoglobulin/pectin adsorbed layers at air/water interfaces; a spectroscopy study. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 317, p. 137-147, 2008.
- GANZEVLES, R. A.; ZINOVIADOU, K.; VAN VLIET, T.; COHEN STUART, M. A.; DE JONGH, H. H. J. Modulating Surface Rheology by Electrostatic Protein/Polysaccharide Interactions. **Langmuir**, v. 22, n. 24, p. 10089-10096, 2006b.
- GARCIA ROJAS, E. E.; DOS REIS COIMBRA, J. S.; MINIM, L. A.; FREITAS, J. F. Cholesterol removal in liquid egg yolk using high methoxyl pectins. **Carbohydrate Polymers**, v. 69, n. 1, p. 72-78, 2007.
- GENTÉ, M.-C.; T-GELAIS, D.; URGEON, S. T. Stabilization of Whey Protein Isolate-Pectin Complexes by Heat. **J. Agric. Food Chem.**, v. 58, p. 7051–7058, 2010.
- GIRARD, M.; TURGEON, S. L.; GAUTHIER, S. F. Interbiopolymer complexing between  $\beta$ -lactoglobulin and low- and high-methylated pectin measured by potentiometric titration and ultrafiltration. **Food Hydrocolloids**, v. 16, p. 585 - 591, 2002.
- GIVEN JR, P. S. Encapsulation of Flavors in Emulsions for Beverages. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 14, n. 1, p. 43-47, 2009.
- GU, Y. S.; REGNIER, L.; MCCLEMENTS, D. J. Influence of environmental stresses on stability of oil-in-water emulsions containing droplets stabilized by  $\beta$ -lactoglobulin– $\kappa$ -carrageenan membranes. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 286, p. 551-558, 2005.
- GUSTAW, W.; MLEKO, S. THE EFFECT OF pH AND CARRAGEENAN CONCENTRATION ON THE RHEOLOGICAL PROPERTIES OF WHEY PROTEIN GELS. **POLISH JOURNAL OF FOOD AND NUTRITION SCIENCES**, v. 12/53, p. 39-44, 2003.
- GUZEY, D.; KIM, H. J.; MCCLEMENTS, D. J. Factors influencing the production of o/w emulsions stabilized by  $\beta$ -lactoglobulin–pectin membranes. **Food Hydrocolloids**, v. 18, p. 967-975, 2004.
- GUZEY, D.; MCCLEMENTS, D. J. Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 128–130, p. 227-248, 2006.
- GUZEY, D.; MCCLEMENTS, D. J. Impact of Electrostatic Interactions on Formation and Stability of Emulsions Containing Oil Droplets Coated by  $\beta$ -Lactoglobulin–Pectin Complexes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 475-485, 2007.
- HAMMAN, J. H. Chitosan Based Polyelectrolyte Complexes as Potential Carrier Materials in Drug Delivery Systems. **Marine Drugs**, v. 8, n. 1660-3397, p. 1305-1322, 2010.
- HANSEN, P. M. T.; CHANG, J. C. Quantitative recovery of carboxymethyl cellulose from milk. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 16, n. 1, p. 77-79, 1968.
- HARDING, S.; JUMEL, K.; KELLY, R.; GUDO, E.; HORTON, J. C.; MITCHELL, J. R. The Structure and Nature of Protein-Polysaccharide Complexes. In: SCHWENDE, K. D. e MOTHES, R. (Ed.). **Structure and Nature of Protein-Polysaccharide Complexes**: VCH, Weinheim, v.1, 1993. p.216-226.

- HARNSILAWAT, T.; PONGSAWATMANIT, R.; MCCLEMENTS, D. J. Characterization of  $\beta$ -lactoglobulin–sodium alginate interactions in aqueous solutions: A calorimetry, light scattering, electrophoretic mobility and solubility study. **Food Hydrocolloids**, v. 20, p. 577-585, 2006a.
- HARNSILAWAT, T.; PONGSAWATMANIT, R.; MCCLEMENTS, D. J. Stabilization of Model Beverage Cloud Emulsions Using Protein–Polysaccharide Electrostatic Complexes Formed at the Oil–Water Interface. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 15, p. 5540-5547, 2006b.
- HUI, Y. H.; NOLLET, L. M. L.; GUERRERO-LEGARRETA, I.; CULBERTSON, J.; DUNCAN, S.; LI-CHAN, E. C. Y.; MA, C. Y.; MANLEY, C. H.; MARSHALL, D.; MCMEEKIN, T. A. **Handbook of Food Science, Technology, and Engineering, Volume Four**. Taylor & Francis, 2005.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária - Pesquisa da Produção de Ovos de Galinha. [www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos\\_201101\\_publ\\_completa.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos_201101_publ_completa.pdf) 2012. Acesso em: setembro.
- IEC. The International Egg Commission. [www.internationalegg.com](http://www.internationalegg.com), 2012. Acesso em: setembro
- JELESAROV, I.; BOSSHARD, H. R. Isothermal titration calorimetry and differential scanning calorimetry as complementary tools to investigate the energetics of biomolecular recognition. **JOURNAL OF MOLECULAR RECOGNITION**, v. 12, p. 3-18, 1999.
- JONES, O. G.; MCCLEMENTS, D. J. Functional Biopolymer Particles: Design, Fabrication, and Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, p. 374 - 397, 2010.
- KASAPIS, S. Phase Separation in Biopolymer Gels: A Low- to High-Solid Exploration of Structural Morphology and Functionality. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, p. 341-359, 2008.
- KASAPIS, S. CHAPTER 7 - Unified Application of the Materials-Science Approach to the Structural Properties of Biopolymer Co-Gels throughout the Industrially Relevant Level of Solids. In: STEFAN, K.; IAN, T. N.; JOHAN B. UBBINKA2 - STEFAN KASAPIS, I. T. N. e JOHAN, B. U. (Ed.). **Modern Biopolymer Science**. San Diego: Academic Press, 2009. p.225-260.
- KATONA, J. M.; SOVILJ, V. J.; PETROVIC, L. B. Microencapsulation of oil by polymer mixture–ionic surfactant interaction induced coacervation. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, p. 563–570, 2010.
- KAYITMAZER, A. B.; STRAND, S. P.; TRIBET, C.; JAEGER, W.; DUBIN, P. L. Effect of Polyelectrolyte Structure on Protein–Polyelectrolyte Coacervates: Coacervates of Bovine Serum Albumin with Poly(diallyldimethylammonium chloride) versus Chitosan. **Biomacromolecules**, v. 8, p. 3568-3577, 2007b.
- KIZILAY, E.; KAYITMAZER, A. B.; DUBIN, P. L. Complexation and coacervation of polyelectrolytes with oppositely charged colloids. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 167, n. 1–2, p. 24-37, 2011.
- KOVACS-NOLAN, J.; PHILLIPS, M.; MINE, Y. Advances in the Value of Eggs and Egg Components for Human Health. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 22, p. 8421-8431, 2005.
- KRUIF, C. G. D.; WEINBRECK, F.; VRIES, R. D. Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 9, p. 340 – 349, 2004.

KUDRYASHOVA, E. V.; VISSER, A. J. W. G.; VAN HOEK, A.; DE JONGH, H. H. J. Molecular Details of Ovalbumin–Pectin Complexes at the Air/Water Interface: A Spectroscopic Study. **Langmuir**, v. 23, p. 7942-7950, 2007.

KUORWEL, K. K.; CRAN, M. J.; SONNEVELD, K.; MILTZ, J.; BIGGER, S. W. Antimicrobial Activity of Biodegradable Polysaccharide and Protein-Based Films Containing Active Agents. **JOURNAL OF FOOD SCIENCE**, v. 76, n. 3, p. R90-R102, 2011.

LAMPRECHT, A.; KAWASHIMA, Y. pH-sensitive microparticles for oral drug delivery. **J. DRUG DEL. SCI. TECH.**, v. 16, n. 1, p. 25-34, 2006.

LANEUVILLE, S. I.; TURGEON, S. L.; HARDY, J.; PAQUIN, P. small-angle static light-scattering study of associative phase separation kinetics of B-lactoglobulin+xanthan gum mixtures under shear. In: DICKINSON, E. (Ed.). **Food Colloids: interaction, microstructure and processing**: The Royal Society of chemistry, Cambridge, 2005b. cap. 35, p.443-465.

LANEUVILLE, S. I.; TURGEON, S. L.; SANCHEZ, C.; PAQUIN, P. Gelation of Native  $\beta$ -Lactoglobulin Induced by Electrostatic Attractive Interaction with Xanthan Gum. **Langmuir**, v. 22, p. 7351-7357, 2006.

LAUGEL, N.; BETSCHA, C.; WINTERHALTER, M.; VOEGEL, J.-C.; SCHAAF, P.; BALL, V. Relationship between the Growth Regime of Polyelectrolyte Multilayers and the Polyanion/Polycation Complexation Enthalpy. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 110, p. 19443-19449, 2006.

LEANDRO, N. S. M.; DEUS, H. A. B. D.; STRINGHINI, J. H.; CAFÉ, M. B.; ANDRADE, M. A.; CARVALHO, F. B. D. **Aspectos de qualidade interna e externa de ovos comercializados em diferentes estabelecimentos na região de goiânia**. 2006.

LECLERCQ, S.; HARLANDER, K. R.; REINECCIUS, G. A. Formation and characterization of microcapsules by complex coacervation with liquid or solid aroma cores. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 24, n. 1, p. 17-24, 2009.

LECLERCQ, S.; MILO, C.; REINECCIUS, G. A. Effects of Cross-Linking, Capsule Wall Thickness, and Compound Hydrophobicity on Aroma Release from Complex Coacervate Microcapsules. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 1426-1432, 2010.

LEE, A.-C.; HONG, Y.-H. Coacervate formation of  $\alpha$ -lactalbumin–chitosan and  $\beta$ -lactoglobulin–chitosan complexes. **Food Research International**, v. 42, p. 733–738, 2009.

LEE, L.-T.; CABANE, B. Effects of Surfactants on Thermally Collapsed Poly(N-isopropylacrylamide) Macromolecules. **Macromolecules**, v. 30, p. 6559-6566, 1997.

LEWIS, M. J.; TORNEROS, J. Z.; LERA, J. P. B. **Propiedades Físicas de Los Alimentos y de Los Sistemas de Procesado**. Acribia, Editorial, S.A., 1993.

LI, Y.; XIA, J.; DUBIN, P. L. Complex Formation between Polyelectrolyte and Oppositely Charged Mixed Micelles: Static and Dynamic Light Scattering Study of the Effect of Polyelectrolyte Molecular Weight and Concentration. **Macromolecules**, v. 27, p. 7049-7055, 1994.

LIBERATORE, M. W.; WYATT, N. B.; HENRY, M.; DUBIN, P. L.; FOUN, E. Shear-Induced Phase Separation in Polyelectrolyte/Mixed Micelle Coacervates. **Langmuir**, v. 25, p. 13376-13383, 2009.

LINDEN, G.; LORIENT, D.; GARCÍA, F. J. C. **Bioquímica Agroindustrial: Revalorización Alimentaria de la Producción Agrícola**. Acirbia, Editorial, S.A., 1996.

MALMSTEN, M.; BYSELL, H.; HANSSON, P. Biomacromolecules in microgels — Opportunities and challenges for drug delivery. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 15, n. 6, p. 435-444, 2010.

MATIA-MERINO, L.; LAU, K.; DICKINSON, E. Effects of low-methoxyl amidated pectin and ionic calcium on rheology and microstructure of acid-induced sodium caseinate gels. **Food Hydrocolloids**, v. 18, p. 271-281, 2004.

MATSUNAMI, H.; KIKUCHI, R.; OGAWA, K.; KOKUFUTA, E. Light scattering study of complex formation between protein and polyelectrolyte at various ionic strengths. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 56, p. 142-148, 2007.

MATTISON, K. W.; WANG, Y.; GRAYMONPRÉ, K.; DUBIN, P. L. Micro- and macro-phase behavior in protein-polyelectrolyte complexes. **Macromolecular Symposia**, v. 140, p. 53-76, 1999.

MAYYA, K. S.; BHATTACHARYA, A.; ARGILLIER, J. F. Micro-encapsulation by complex coacervation: influence of surfactant. **Polymer International**, v. 52, n. 4, p. 644-647, 2003.

MINE, Y. Egg Proteins and Peptides in Human Health-Chemistry, Bioactivity and Production. **Current Pharmaceutical Design**, v. 13, n. 9, p. 875-884, 2007.

MOHANTY, B.; BOHIDAR, H. B. Systematic of Alcohol-Induced Simple Coacervation in Aqueous Gelatin Solutions. **Biomacromolecules**, v. 4, n. 4, p. 1080-1086, 2003.

MONTILLA, A.; CASAL, E.; JAVIER MORENO, F.; BELLOQUE, J.; OLANO, A.; CORZO, N. Isolation of bovine  $\beta$ -lactoglobulin from complexes with chitosan. **International Dairy Journal**, v. 17, n. 5, p. 459-464, 2007.

MOSCHAKIS, T.; MURRAY, B. S.; DICKINSON, E. Particle Tracking Using Confocal Microscopy to Probe the Microrheology in a Phase-Separating Emulsion Containing Nonadsorbing Polysaccharide. **Langmuir**, v. 22, p. 4710-4719, 2006.

NEIRYNCK, N.; MEEREN, P. V. D.; GORBE, S. B.; DIERCKX, S.; DEWETTINCK, K. Improved emulsion stabilizing properties of whey protein isolate by conjugation with pectins. **Food Hydrocolloids**, v. 18, p. 949-957, 2004.

NIGEN, M.; CROGUENNEC, T.; RENARD, D.; BOUHALLAB, S. Temperature Affects the Supramolecular Structures Resulting from  $\alpha$ -Lactalbumin–Lysozyme Interaction. **Biochemistry**, v. 46, p. 1248-1255, 2007.

ORDONEZ, J. A. **Tecnología de alimentos**. Artmed, 2005.

OU, Z.; MUTHUKUMAR, M. Entropy and enthalpy of polyelectrolyte complexation: Langevin dynamics simulations. **The Journal of Chemical Physics**, v. 124, p. 154902-11, 2006.

OULD ELEYA, M. M.; TURGEON, S. L. The effects of pH on the rheology of  $\beta$ -lactoglobulin/ $\kappa$ -carrageenan mixed gels. **Food Hydrocolloids**, v. 14, p. 245-251, 2000.

OVERBEEK, J. T. G.; VOORN, M. J. Phase separation in polyelectrolyte solutions. Theory of complex coacervation. **Journal of Cellular and Comparative Physiology**, v. 49, p. 7-26, 1957.

PEPPAS, N. A.; LEOBANDUNG, W. Stimuli-sensitive hydrogels: ideal carriers for chronobiology and chronotherapy. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 15, n. 2, p. 125-144, 2004.

PEROZZO, R.; FOLKERS, G.; SCAPOZZA, L. Thermodynamics of Protein–Ligand Interactions: History, Presence, and Future Aspects. **JOURNAL OF RECEPTORS AND SIGNAL TRANSDUCTION**, v. 24, p. 1-52, 2004.

PICONE, C. S. F.; CUNHA, R. L. D. Interactions between milk proteins and gellan gum in acidified gels. **Food Hydrocolloids**, v. 24, p. 502–511, 2010.

PIERUCCI, A. P. T. R.; ANDRADE, L. R.; FARINA, M.; PEDROSA, C.; ROCHA-LÃO, M. H. Comparison of alpha-tocopherol microparticles produced with different wall materials: pea protein a new interesting alternative. **Journal of Microencapsulation**, v. 24, p. 201–213, 2007.

PRATA, A. S.; MENUT, C.; LEYDET, A.; TRIGO, J. R.; GROSSO, C. R. F. Encapsulation and release of a fluorescent probe, khusimyl dansylate, obtained from vetiver oil by complex coacervation. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 23, p. 7-15, 2008.

RAFE, A.; RAZAVI, S. M. A.; FARHOOSH, R. Rheology and microstructure of basil seed gum and  $\beta$ -lactoglobulin mixed gels. **Food Hydrocolloids**, v. 30, p. 134-142, 2013.

RAO, J.; MCCLEMENTS, D. J. Impact of lemon oil composition on formation and stability of model food and beverage emulsions. **Food Chemistry**, v. 134, n. 2, p. 749-757, 2012.

ROCHA, C.; TEIXEIRA, J. A.; HILLIOU, V.; SAMPAIO, P.; GONÇALVES, M. P. Rheological and structural characterization of gels from whey protein hydrolysates/locust bean gum mixed systems. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 1734–1745, 2009.

RU, Q.; WANG, Y.; LEE, J.; DING, Y.; HUANG, Q. Turbidity and rheological properties of bovine serum albumin/pectin coacervates: Effect of salt concentration and initial protein/polysaccharide ratio. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, p. 838-846, 2012.

SAMANT, S. K.; SINGHAL, R. S.; KULKARNI, P. R.; REGE, D. V. Protein-polysaccharide interactions: a new approach in food formulations. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 28, p. 547-562, 1993.

SANCHEZ, C.; DESPOND, S.; SCHMITT, C.; HARDY, J. Effect of heart and shear on  $\beta$ -lactoglobulin-acacia gum complex coacervation. In: DICKINSON, E. e MILLER, R. (Ed.). **Food colloids: fundamentals of Formulation**: Royal Society of chemistry, cambridge, 2001. p.332-343.

SANCHEZ, C.; RENARD, D. Stability and structure of protein – polysaccharide coacervates in the presence of protein aggregates. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 242, p. 319 – 324, 2002.

SARCINELLI, M. F.; VENTURINI, K. S.; L.C, S. **Boletim tecnico / Pelotas, Brazil. Universidade Federal de Pelotas. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Departamento de Zootecnia**. 2007a.

SARCINELLI, M. F.; VENTURINI, K. S.; SILVA, L. C. **Características dos ovos**. TÉCNICO, B.: Universidade Federal do Espírito Santo 2007b.

SCHMITT, C.; BOVAY, C. L.; FROSSARD, P. Kinetics of Formation and Functional Properties of Conjugates Prepared by Dry-State Incubation of  $\alpha$ -Lactoglobulin/Acacia Gum Electrostatic Complexes. **J. Agric. Food Chem**, v. 53, p. 9089–9099, 2005a.

SCHMITT, C.; KOLODZIEJCZYK, E.; LESER, M. E. Interfacial and foam stabilization properties of [small beta]-lactoglobulin - acacia gum electrostatic complexes. In: DICKINSON, E. (Ed.). **Food Colloids**: The Royal Society of Chemistry, 2005b. p.284-300.

SCHMITT, C.; SANCHEZ, C.; DESOBRY-BANON, S.; HARDY, J. Structure and Technofunctional Properties of Protein-Polysaccharide Complexes: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 38, n. 8, p. 689-753, 1998.

SCHMITT, C.; SANCHEZ, C.; DESPOND, S.; RENARD, D.; THOMAS, F.; HARDY, J. Effect of protein aggregates on the complex coacervation between  $\beta$ -lactoglobulin and acacia gum at pH 4.2. **Food Hydrocolloids**, v. 14, p. 403-413, 2000.

SCHMITT, C.; SANCHEZ, C.; LAMPRECHT, A.; RENARD, D.; LEHR, C.-M.; DE KRUIF, C. G.; HARDY, J. Study of  $\beta$ -lactoglobulin/acacia gum complex coacervation by diffusing-wave spectroscopy and confocal scanning laser microscopy. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 20, p. 267-280, 2001.

SCHMITT, C.; SANCHEZ, C.; THOMAS, F.; HARDY, J. Complex coacervation between  $\beta$ -lactoglobulin and acacia gum in aqueous medium. **Food Hydrocolloids**, v. 13, p. 483-496, 1999.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos proteicos: propriedades-degradacoes-modificacoes**. Livraria Varela, 1996.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Q. Encapsulation of food ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 6, p. 501-547, 1993.

SHUMILINA, E. V.; SHCHIPUNOV, Y. A. Chitosan–Carrageenan Gels. **Colloid Journal**, v. 64, n. 3, p. 372-378, 2002.

SILVA, K. A.; COELHO, M. A. Z.; CALADO, V. M. A.; ROCHA-LEÃO, M. H. M. Olive oil and lemon salad dressing microencapsulated by freeze-drying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, n. 2, p. 569-574, 2013.

SIM, J. S.; NAKAI, S. **Eggs Uses and Processing Technologies: New Developments**. CAB International, 1994.

SINGH, S. S.; SIDDHANTA, A. K.; MEENA, R.; PRASAD, K.; BANDYOPADHYAY, S.; BOHIDAR, H. B. Intermolecular complexation and phase separation in aqueous solutions of oppositely charged biopolymers. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 41, p. 185-192, 2007.

SMITH, A. K.; NASH, A. M.; ELDRIDGE, A. C.; WOLF, W. J. Soybean By-Products, Recovery of Soybean Whey Protein with Edible Gums and Detergents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 10, n. 4, p. 302-304, 1962.

SPERBER, B. L. H. M.; SCHOLS, H. A.; STUART, M. A. C.; NORDE, W.; VORAGEN, A. G. J. Influence of the overall charge and local charge density of pectin on the complex formation between pectin and  $\beta$ -lactoglobulin. **Food Hydrocolloids** v. 23, p. 765–772, 2009.

STADELMAN, W. J.; COTTERILL, O. J. **Egg Science and Technology**. Food Products Press, 1995a.

- SYRBE, A.; BAUER, W. J.; KLOSTERMEYER, H. Polymer Science Concepts in Dairy Systems—an Overview of Milk Protein and Food Hydrocolloid Interaction. **International Dairy Journal**, v. 8, n. 3, p. 179-193, 1998.
- TAINAKA, K.-I. Effect of counterions on complex coacervation. **Biopolymers**, v. 19, p. 1289-1298, 1980.
- TAINAKA, K. Study of Complex Coacervation in Low Concentration by Virial Expansion Method. I. Salt Free Systems. **Journal of the Physical Society of Japan**, v. Journal of the Physical Society of Japan, p. 1899-1906, 1979.
- TAN, B. H.; TAM, K. C. Review on the dynamics and micro-structure of pH-responsive nano-colloidal systems. **Advances in Colloid and Interface Science** v. 136, p. 25– 44, 2008.
- TAYLOR, A. J. Release and Transport of Flavors In Vivo: Physicochemical, Physiological, and Perceptual Considerations. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 1, n. 2, p. 45-57, 2002.
- THIES, C. Microencapsulation of Flavors by Complex Coacervation. In: (Ed.). **Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems**: Blackwell Publishing, 2007. p.149-170.
- TOLSTOGUZOV, V. Thermodynamic Aspects of Biopolymer Functionality in Biological Systems, Foods, and Beverages. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 22 (2), p. 89–174, 2002.
- TOLSTOGUZOV, V. Food Polymers. In: JOSÉ MIGUEL AGUILERA, P. J. L. (Ed.). **Food Materials Science: Principles and Practice** v.1, 2007. cap. 21-44, p.662.
- TURGEON, S. L.; SCHMITT, C.; SANCHEZ, C. Protein –polysaccharide complexes and coacervates. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 12, p. 166-178, 2007b.
- URLACHER, B.; NOBLE, O. Xanthan gum. In: IMESON, A. (Ed.). **Thickening and Gelling Agents for Food**: Springer, 1997. p.284-311.
- VAN VLIET, T.; LAKEMON, C. M. M.; VISSCHERS, R. W. Rheology and structure of milk protein gels. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 9, p. 298-304, 2004c.
- VEIS, A. Phase separation in polyelectrolyte solutions. li. Interaction effects. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 65, p. 1798-1803, 1961.
- VEIS, A. Phase separation in polyelectrolyte systems. lii. Effect of aggregation and molecular weight heterogeneity. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 67, p. 1960-1964, 1963.
- VEIS, A.; ARANYI, C. Phase separation in polyelectrolyte systems. I. Complex coacervates of gelatin. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 64, n. 9, p. 1203-1210, 1960.
- VEIS, A.; BODOR, E.; MUSSELL, S. Molecular weight fractionation and the self-suppression of complex coacervation. **Biopolymers**, v. 5, p. 37-59, 1967.
- VIKELOUDA, M.; KIOSSEOGLOU, V. The use of carboxymethylcellulose to recover potato proteins and control their functional properties. **Food Hydrocolloids**, v. 18, n. 1, p. 21-27, 2004.



VOETS, I. K.; DE KEIZER, A.; COHEN STUART, M. A. Complex coacervate core micelles. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 147–148, n. 0, p. 300-318, 2009.

WANG, X.; LEE, J.; WANG, Y.-W.; HUANG, Q. Composition and Rheological Properties of  $\beta$ -Lactoglobulin/Pectin Coacervates: Effects of Salt Concentration and Initial Protein/Polysaccharide Ratio. **Biomacromolecules**, v. 8, p. 992-997, 2007a.

WANG, Y.; KIMURA, K.; DUBIN, P. L.; JAEGER, W. Polyelectrolyte–Micelle Coacervation: Effects of Micelle Surface Charge Density, Polymer Molecular Weight, and Polymer/Surfactant Ratio. **Macromolecules**, v. 33, p. 3324-3331, 2000.

WEINBRECK, F.; DE VRIES, R.; SCHROOYEN, P.; DE KRUIF, C. G. Complex Coacervation of Whey Proteins and Gum Arabic. **Biomacromolecules**, v. 4, p. 293-303, 2003a.

WEINBRECK, F.; NIEUWENHUIJSE, H.; ROBIJN, G. W.; DE KRUIF, C. Complexation of Whey Proteins with Carrageenan. **J. Agric. Food Chem.**, v. 52, p. 3550–3555, 2004a.

WEINBRECK, F.; NIEUWENHUIJSE, H.; ROBIJN, G. W.; DE KRUIF, C. G. Complex Formation of Whey Proteins: Exocellular Polysaccharide EPS B40. **Langmuir**, v. 19, p. 9404-9410, 2003b.

WEINBRECK, F.; NIEUWENHUIJSE, H.; ROBIJN, G. W.; DE KRUIF, C. G. Complexation of Whey Proteins with Carrageenan. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 3550-3555, 2004b.

WEINBRECK, F.; WIENTJES, R. H. W.; DE KRUIF, C. G. Rheological properties of whey protein/gum arabic coacervates. **Journal of Rheology**, v. 48, p. 1200-1215, 2004c.

WIERENGA, P. A.; GRUPPEN, H. New views on foams from protein solutions. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 15, p. 365-373, 2010.

XIA, J.; DUBIN, P. L.; KIM, Y.; MUHOBERAC, B. B.; KLIMKOWSKI, V. J. Electrophoretic and quasi-elastic light scattering of soluble protein-polyelectrolyte complexes. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 97, p. 4528-4534, 1993.

YAMAMOTO, T. **Hens Eggs: Their Basic and Applied Science**. CRC Press, 1997.

YE, A.; SINGH, H. Heat stability of oil-in-water emulsions formed with intact or hydrolysed whey proteins: influence of polysaccharides. **Food Hydrocolloids**, v. 20, p. 269-276, 2006.

YEO, Y.; BELLAS, E.; FIRESTONE, W.; LANGER, R.; KOHANE, D. S. Complex Coacervates for Thermally Sensitive Controlled Release of Flavor Compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 7518-7525, 2005.

ZASYPKIN, D. V.; BRAUDO, E. E.; TOLSTOGUZOV, V. B. Multicomponent biopolymer gels. **Food Hydrocolloids**, v. 11, p. 159-170, 1997.

ZHANG, H.; SAIANI, A.; GUENET, J.-M.; CURTIS, R. Effect of Stereoregular Polyelectrolyte on Protein Thermal Stability. **Macromolecular Symposia**, v. 251, p. 25-32, 2007.

ZIANI, K.; FANG, Y.; MCCLEMENTS, D. J. Encapsulation of functional lipophilic components in surfactant-based colloidal delivery systems: Vitamin E, vitamin D, and lemon oil. **Food Chemistry**, v. 134, n. 2, p. 1106-1112, 2012.

ZIMET, P.; LIVNEY, Y. D. Beta-lactoglobulin and its nanocomplexes with pectin as vehicles for u-3 polyunsaturated fatty acids. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 1120–1126, 2009.

**CLITOR JUNIOR FERNANDES DE SOUZA** - Pós-Doutorado pela Universidade de São Paulo (USP-FZEA) e pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ-Instituto de Nutrição Josué de Castro). Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos - PPGCTA da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro/UFRRJ com doutorado sanduiche pela Université laval, Canada. Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos - PPGCTA da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro/UFRRJ. Bacharel em Nutrição pelo Centro Universitário de Barra Mansa. Tem experiência na área de Ciência e Tecnologia de Alimentos, com ênfase em propriedades funcionais de biopolímeros, principalmente nos seguintes temas: Interação entre biopolímeros, hidrogéis, reologia, microencapsulação de compostos bioativos e digestão de alimentos em sistemas digestivos simulados.

FORMAÇÃO DOS

# COMPLEXOS COACERVADOS:

POTENCIALIDADES DAS PROTEÍNAS  
DA CLARA DO OVO

 [www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

 [contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)

 [@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)

 [www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br)

FORMAÇÃO DOS

# COMPLEXOS COACERVADOS:

POTENCIALIDADES DAS PROTEÍNAS  
DA CLARA DO OVO

 [www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

 [contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)

 [@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)

 [www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br)