

UNIVERSIDADE REGIONAL INTEGRADA DO ALTO URUGUAI E DAS MISSÕES
URI - CAMPUS ERECHIM
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ROSA CRISTINA PRESTES

EFEITOS DA ADIÇÃO DE COLÁGENO NA QUALIDADE DE PRESUNTO DE
FRANGO

ERECHIM
2011

UNIVERSIDADE REGIONAL INTEGRADA DO ALTO URUGUAI E DAS MISSÕES
URI - CAMPUS ERECHIM
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ROSA CRISTINA PRESTES

EFEITOS DA ADIÇÃO DE COLÁGENO NA QUALIDADE DE PRESUNTO DE FRANGO

Tese apresentada como requisito para a obtenção do grau de Doutor em Engenharia de Alimentos, no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI).

Orientadores: Dra. Geciane Toniazzo
Dr. Marco Di Luccio

ERECHIM
2011

Efeitos da adição de colágeno na qualidade de presunto de frango

Rosa Cristina Prestes

Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, URI – Campus de Erechim.

Comissão Julgadora:

Dra. Geциane Toniazzo (Orientadora)
URI – Erechim

Dr. Marco Di Luccio
URI – Erechim

Dr. Ernesto Hashime Kubota
UFSM – Santa Maria

Dra. Rodicler Cerezoli Bortoluzzi
Cooperativa Central Oeste Catarinense (Aurora Alimentos) – Chapecó

Dra. Eunice Valduga
URI – Erechim

Dra. Silvane Souza Roman
URI – Erechim

Erechim, Outubro de 2011

A meus pais,

A meu irmão e irmãs.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me dar força e guiar meu caminho e também por proporcionar mais um momento de crescimento e vitória na minha vida.

A minha família pelo constante apoio e incentivo.

Aos meus orientadores professores Marco Di Luccio e Geciane Toniazzo, pela paciência, dedicação, incentivo, orientação e apoio que foram fundamentais para a realização deste estudo.

À banca examinadora desta tese, pelas opiniões e correções, que em muito valorizaram este trabalho.

À Dra. Rodicler Bortoluzzi Cerezoli, por permitir a interação Universidade e Indústria, pelo incentivo, confiança e apoio para realização desta pesquisa.

As empresas Cooperativa Central Oeste Catarinense (Aurora Alimentos), Gelita South America e Novaprom Food Ingredients Ltda. pelo fornecimento de ingredientes e insumos.

A Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI) pela estrutura física e profissional que foram fundamentais para a realização desta pesquisa.

A Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) pela estrutura física e profissional e pelo apoio para a realização deste trabalho.

À querida amiga Anielia Pinto Kempka, pela amizade e apoio nos momentos de dificuldade e também por nossas vitórias de cada dia-a-dia!

A minha irmã Ana Paula Prestes pela companhia e também a Adriana Graboski pela ajuda nos testes na usina piloto.

A minha irmã Andréia do Rocio Prestes pelo apoio e companhia na qualificação!

As minhas alunas Michele (*in memoriam*), Daniela, Laiz, Fernanda, Lilian e Ana pela ajuda com as análises.

A Simone pela grande ajuda com a eletroforese e pela amizade.

As minhas colegas Juliana e Zuleica pela amizade e por tornar as sextas-feiras e sábados em Erechim mais agradáveis!

Ao Dr. Clóvis Klock e toda a sua equipe pela paciência, disposição e ajuda para realização das análises histológicas.

Ao Rodrigo Geremias da empresa Brasil Foods (BRF) de Videira (SC) pela ajuda com as análises de textura.

A Adriana Schmidt pela amizade e pelo incentivo.

A professora Dra. Helen Treichel pelo auxílio com relação ao delineamento experimental.

A pesquisadora Marta Teixidor da Metalquimia (Girona – Espanha) pelas dicas e orientações que nortearam o início deste trabalho.

Aos colegas de Aurora (Andréia, Jean, Rosângela, Marcos e Carol) pelas caronas para Erechim e pela amizade.

Aos colegas da UDESC e da URI pela amizade e convivência.

A todos que de alguma maneira me ajudaram no decorrer deste trabalho.

Resumo da Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Doutor em Engenharia de Alimentos.

EFEITOS DA ADIÇÃO DE COLÁGENO NA QUALIDADE DE PRESUNTO DE FRANGO

Rosa Cristina Prestes

Outubro/2011

Orientadores: Dra. Geciane Toniazzo

Dr. Marco Di Luccio

O consumo de presuntos tem um mercado exigente e expressivo onde a qualidade é um dos fatores determinantes para compra. Visando atender este mercado o presunto de frango é uma alternativa aos presuntos tradicionais e também uma forma de agregar valor a carne de frango. Para a elaboração deste produto a matéria-prima deve passar pelo processo de cominuição devido às características dos cortes comumente utilizados (coxa e/ou sobrecoxa). Pesquisas com utilização de colágeno mostraram que, mesmo em baixos níveis, este ingrediente é um efetivo estabilizante e contribui para melhoria da textura e da capacidade de retenção de água (CRA). Foram realizadas diferentes formulações de presunto de frango utilizando um delineamento fatorial 2^3 com três repetições no ponto central com objetivo de estudar os efeitos da adição de mistura de colágenos, proteína isolada de soja e grau de moagem na composição físico-química, nas características físicas, histológicas e sensoriais de presunto de frango. As variáveis foram: concentração de proteína de soja (0 a 2,0 %), concentração de uma mistura de colágenos (0,75 a 1,25 %) e grau de moagem (disco 8 a 22 mm). A mistura de colágenos testada consistiu de 50 % de fibra de colágeno e 50 % de fibra de colágeno em pó. Os resultados indicaram que a adição de colágeno e proteína de soja nas proporções testadas e o grau de cominuição da matéria-prima afetaram significativamente ($p < 0,05$) a qualidade dos produtos desenvolvidos, principalmente nos parâmetros físicos (textura, perdas e sinerese), químicos (composição) e a nível estrutural. Os melhores resultados foram obtidos para a formulação com a matéria prima mais

cominuída, sem adição de proteína de soja e maior concentração de mistura de colágenos. Com a avaliação histológica foi possível verificar a presença de colágeno e as diferenças de moagem na estrutura do produto. A adição de colágeno na forma de mistura de fibra de colágeno e fibra de colágeno em pó em associação a maior moagem da carne se mostrou uma alternativa viável para produção de presunto de frango com as características químicas e físicas esperadas e com boa aceitação por parte dos consumidores.

Palavras-chave: presunto de frango, colágeno, proteína de soja, moagem, qualidade.

Abstract of Thesis presented to Food Engineering Program as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor in Food Engineering

EFFECTS OF ADDITION OF COLLAGEN IN THE QUALITY OF CHICKEN HAM

Rosa Cristina Prestes

October/2011

Supervisors: Dra. Geciane Toniazzo

Dr. Marco Di Luccio

The consumption of hams has a demanding and expressive where quality is a determining factor for purchase. In order to satisfy this market chicken ham is an alternative to traditional hams and also a way of adding value to chicken. To prepare this product the raw material must go through the process of comminution due to the characteristics of commonly used cuts (leg and drumsticks). Researches using collagen showed that even at low levels, this ingredient is an effective stabilizer and contributes to improving the texture and water holding capacity (WHC). This work was carried out different formulations of ham chicken using a factorial design 2^3 with three replications at the central point in order to study the effects of adding a mixture of collagen, soy protein isolate and degree of grinding on the physical and chemical characteristics physical, sensory histological and chicken ham. The variables were: concentration of soy protein (0 to 2.0%), concentration of the mixture of collagen (0.75 to 1.25%) and degree of grinding grade (disc 8 to 22 mm). The mixture of collagens tested consisted of 50% fiber and 50% of collagen fiber collagen powder. The results showed that the addition of collagen and soy protein significantly affected ($p < 0.05$) the quality of the products, especially when the physical and chemical parameters are concerned (texture, losses, syneresis and chemical composition) as well as at the structural level. The best results were obtained with the more comminuted raw material, without the addition of soy protein and at higher concentrations of collagen mixture. With the histological evaluation was possible to check the presence of the addition of ingredients tested and the degree of grinding in the product structure. The addition of collagen as a mixture of collagen fiber and collagen fiber powder in association with higher degree of meat grinding proved a

viable alternative for the production of chicken ham with the expected physical, chemical and sensorial characteristics.

Key-words: chicken ham, soy protein, collagen, comminution, quality.

LISTA DE SIGLAS

| | |
|--------|---|
| ABNT | Associação Brasileira de Normas Técnicas |
| ANOVA | Análise de Variância |
| ANVISA | Agência Nacional de Vigilância Sanitária |
| ATP | Adenosina Trifosfato |
| Aw | Atividade de Água |
| CAA | Capacidade de Absorção de Água |
| CRA | Capacidade de Retenção de Água |
| Da | Daltons |
| DFD | Dark Firm and Dry (Escura, Firme e Seca) |
| EP | Erro Puro |
| FDA | Food and Drug Administration |
| FTIR | Espectroscopia de Infravermelho |
| MM | Massa Molecular |
| PC | Ponto Central |
| PEBD | Polietileno de Baixa Densidade |
| PET | Polietileno Tereftalato |
| pH | Potencial hidrogeniônico |
| PIQ | Padrão de Identidade e Qualidade |
| PSE | Pale Soft and Exsudative (Pálida, Flácida e Exsudativa) |
| TACO | Tabela Brasileira de Composição de Alimentos |
| USDA | United States Department of Agriculture |

LISTA DE FIGURAS

| | | PÁGINA |
|--------------------|---|--------|
| Figura 1 - | Discos de moagem e esquema de montagem do triturador | 29 |
| Figura 2- | Estrutura molecular do colágeno | 46 |
| Figura 3 - | Sequência de aminoácidos presentes na estrutura primária do colágeno | 47 |
| Figura 4 - | Diagrama de fluxo de obtenção de fibra de colágeno, colágeno hidrolisado e colágeno parcialmente hidrolisado (gelatina) | 50 |
| Figura 5 - | Microscopia eletrônica da fibra de colágeno. | 53 |
| Figura 6 - | Microscopia eletrônica da fibra de colágeno em pó. | 54 |
| Figura 7 - | Representação do caráter anfótero da gelatina dependendo do pH. | 61 |
| Figura 8 - | Aspecto da fibra de colágeno em pó (A) e da fibra de colágeno (B). | 71 |
| Figura 9 - | Aspecto dos colágenos hidrolisados (C) e (D) e da gelatina (E) | 72 |
| Figura 10 - | Aspecto da coxa e sobrecoxa de frango antes do refile (lado externo | 76 |
| Figura 11 - | Aspecto da coxa (A) e sobrecoxa (B) de frango após o refile. após o refile. | 76 |
| Figura 12 - | Da esquerda para a direita os discos de 22, 14 e 8 mm respectivamente utilizados na trituração da matéria-prima. | 77 |
| Figura 13 - | Misturadeira (A) e aspecto da massa em processo de mistura (B). | 77 |
| Figura 14 - | Aspecto da massa após o processo de cura (A) e embutimento em sacos termoencolhíveis (B). | 78 |
| Figura 15 - | Detalhe das etapas de Cozimento (A) e resfriamento dos presuntos (B). | 78 |
| Figura 16 - | Aspecto dos produtos após o resfriamento: vista superior (A) e vista lateral (B). | 79 |
| Figura 17 - | Amostras de presunto de frango para CRA (A) e compressão das amostras (B). | 80 |

LISTA DE FIGURAS

| | PÁGINA |
|--|---------------|
| Figura 18 - Amostras de presunto de frango antes do congelamento. | 81 |
| Figura 19 - Amostras de presunto de frango para teste de reaquecimento (A) e (B). | 82 |
| Figura 20 - Teste de compressão (A) e teste de cisalhamento (B) das amostras de presunto de frango. | 82 |
| Figura 21 - Diferenças na composição dos principais aminoácidos presentes nos diversos tipos de colágeno. | 102 |
| Figura 22 - Espectro obtido para amostra de colágeno A (fibra de colágeno em pó). | 105 |
| Figura 23 - Espectro obtido para amostra de colágeno B (fibra de colágeno). | 106 |
| Figura 24 - Espectro obtido para amostra de colágeno C (colágeno hidrolisado 2). | 107 |
| Figura 25 - Espectro obtido para amostra de colágeno D (gelatina). | 108 |
| Figura 26 - Foto da eletroforese obtida para as amostras de colágeno testadas. | 109 |
| Figura 27 - Evidência da presença de gel na formulação T1 com fibra de colágeno (B) e grau de moagem 50 % em disco de 14 mm e 50 % em 8 mm. | 112 |
| Figura 28 - Peça íntegra de presunto de frango (A) e em cubos (B) do experimento T1 (1 % B e com moagem da matéria-prima 50 % em disco de 8 mm e 50 % em disco de 14 mm). | 113 |
| Figura 29 - Peça íntegra de presunto de frango (A) e em cubos (B) do experimento T2 (0,5 % B + 0,5 % A e com moagem de 100 % da matéria-prima em disco de 8 mm). | 113 |
| Figura 30 - Peça íntegra de presunto de frango (A) e em cubos (B) do experimento T3 (0,5 % E + 0,5 % de C e com moagem de 100 % da matéria-prima em disco de 14 mm). | 113 |
| Figura 31 - Peça íntegra de presunto de frango (A) e em cubos (B) do experimento T4 (0,5 % D + 0,25 % A + 0,25 % B e com moagem de 100 % da matéria-prima em disco de 14 mm). | 114 |
| Figura 32 - Aceitabilidade das amostras de presunto de frango desenvolvidas nos testes preliminares. | 122 |

LISTA DE FIGURAS

| | PÁGINA |
|--|---------------|
| Figura 33 - Produto obtido no experimento T5 (1,0 % de gelatina (E) com moagem de 100 % da matéria-prima em disco de 14 mm) mostrando formação de precipitado gelatinoso, presença de gel no interior e textura quebradiça. | 124 |
| Figura 34 - Aspecto visual dos presuntos de frango desenvolvidos. | 127 |
| Figura 35 - Problemas observados em algumas formulações desenvolvidas no planejamento fatorial. | 128 |
| Figura 36 - Superfícies de resposta e curvas de contorno considerando a variável de saída perdas por congelamento (%) em função das variáveis mistura de colágenos (%), proteína de soja (%) e granulometria da Carne (mm). | 156 |
| Figura 37 - Aceitabilidade das amostras de presunto de frango avaliadas. | 162 |
| Figura 38 - Fotomicrografias obtidas para as formulações através de corte transversal com utilização do método Hematoxilina-Eosina. | 168 |
| Figura 39 - Fotomicrografias obtidas para as formulações com utilização do método Hematoxilina-Eosina (A), Tricrômico de Masson (B, C e D) e Imunocitoquímico (E e F). | 169 |
| Figura 40 - Valores de pH no 10° e 60° dia após a elaboração. | 171 |
| Figura 41 - Percentagem de sinerese no 10° e 60° dia após a elaboração. | 172 |

LISTA DE TABELAS

| | PÁGINA |
|---|---------------|
| TABELA 1 - Características físico-químicas obrigatórias para presunto. | 25 |
| TABELA 2 - Tipos de colágeno, características da estrutura secundária e distribuição dos mesmos. | 46 |
| TABELA 3 - Composição de aminoácidos da gelatina (Tipo A e Tipo B), fibra de colágeno e fibra de colágeno em pó e colágeno nativo Tipo I por 100 resíduos. | 52 |
| TABELA 4 - Delineamento fatorial 2 ³ para desenvolvimento das formulações (valores reais e codificados). | 94 |
| TABELA 5 - Experimentos adicionais ao planejamento 2 ³ . | 95 |
| TABELA 6 - Caracterização físico-química da matéria-prima empregada para a elaboração do presunto (coxa e sobrecoxa de frango). | 96 |
| TABELA 7 - Capacidade de absorção de água (CAA) e valores de pH nas concentrações de 1,0 e 6,67 % dos colágenos testados. | 98 |
| TABELA 8 - Teores de umidade, cinzas, proteína bruta, hidroxiprolina, colágeno e lipídios para as amostras de colágeno analisadas. | 99 |
| TABELA 9 - Bandas evidenciadas nos espectros obtidos para as amostras de colágeno testadas através da análise de FTIR e suas respectivas interpretações e referências utilizadas. | 104 |
| TABELA 10 - Valores de umidade, proteína, lipídios, cinzas, pH, nitrito, nitrato, CRA, sinerese, perdas por congelamento, resfriamento, reaquecimento, cisalhamento e compressão das amostras referentes aos testes T1, T2, T3 e T4. | 115 |
| TABELA 11 - Características sensoriais das formulações de presunto de frango desenvolvidas nos testes preliminares. | 123 |
| TABELA 12 - Valores de compressão (N) para os testes de redução de tempo de mistura. | 124 |

LISTA DE TABELAS

PÁGINA

| | |
|---|-----|
| TABELA 13 - Teores de umidade, cinzas, proteína bruta, hidroxiprolina, colágeno e lipídios para as formulações desenvolvidas no planejamento fatorial 2 ³ . | 130 |
| TABELA 14 - Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta umidade (%). | 131 |
| TABELA 15 - Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta proteína (%). | 133 |
| TABELA 16 - Teores de nitrito (NaNO ₂), nitrato (NaNO ₃), pH e Aw para as formulações de presunto de frango desenvolvidas. | 136 |
| TABELA 17 - Cor (L ₁ [*] , a ₁ [*] , b ₁ [*]), oxidação após exposição a luz (L ₂ [*] , a ₂ [*] , b ₂ [*]) e Cromaticidade (C ₁ [*] e C ₂ [*]) para as formulações de presunto de frango desenvolvidas. | 138 |
| TABELA 18 - Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta L [*] . | 140 |
| TABELA 19 - Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta b [*] . | 141 |
| TABELA 20 - Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta a [*] . | 143 |
| TABELA 21 - Resultados para as determinações de CRA (%), Sinerese (%) e Fatiabilidade (%) para as formulações desenvolvidas com base no delineamento fatorial 2 ³ . | 144 |
| TABELA 22 - Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta CRA (%). | 145 |
| TABELA 23 - Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta sinerese (%). | 148 |
| TABELA 24 - Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta fatiabilidade. | 150 |
| TABELA 25 - Valores para perdas por resfriamento (%), perdas por congelamento (%), perdas por reaquecimento (%) e resistência à compressão (N) para os presuntos desenvolvidos com base no delineamento 2 ³ . | 152 |
| TABELA 26 - Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta perdas por resfriamento (%). | 153 |

LISTA DE TABELAS

PÁGINA

| | |
|--|-----|
| TABELA 27 - Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta perdas por congelamento (%). | 154 |
| TABELA 28 - Análise de Variância (ANOVA) para a resposta perdas por congelamento (%). | 155 |
| TABELA 29 - Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta perdas por reaquecimento (%). | 158 |
| TABELA 30 - Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta Compressão (N). | 160 |
| TABELA 31 - Comparação múltipla para o parâmetro textura das amostras de presunto de frango. | 164 |

SUMÁRIO

| | Página |
|----------|---|
| 1 | INTRODUÇÃO..... 21 |
| 2 | FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA..... 24 |
| 2.1 | PRODUÇÃO DE PRESUNTO..... 24 |
| 2.1.1 | PROCESSAMENTO DE PRESUNTO..... 26 |
| 2.2 | PROPRIEDADES FUNCIONAIS DA CARNE..... 36 |
| 2.3 | UTILIZAÇÃO DE PROTEÍNAS EM PRESUNTO..... 42 |
| 2.3.1 | COLÁGENO..... 44 |
| 2.3.1.1 | ESTRUTURA E COMPOSIÇÃO..... 45 |
| 2.3.1.2 | DERIVADOS DO COLÁGENO NATIVO..... 48 |
| 2.3.3 | PROPRIEDADES FÍSICAS DA GELATINA..... 60 |
| 2.3.4 | APLICAÇÕES DE COLÁGENO EM PRODUTOS CÁRNEOS..... 61 |
| 2.3.5 | CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 68 |
| 3 | MATERIAL E MÉTODOS..... 70 |
| 3.1 | CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA E INGREDIENTES..... 70 |
| 3.1.1 | CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA..... 70 |
| 3.1.2 | CARACTERIZAÇÃO DOS COLÁGENOS..... 71 |
| 3.2 | PROCESSAMENTO DO PRESUNTO DE FRANGO..... 75 |
| 3.3 | CARACTERIZAÇÃO DOS PRESUNTOS..... 79 |
| 3.3.1 | Determinações físico-químicas..... 79 |
| 3.3.2 | Determinação da Capacidade de Retenção de Água (CRA)..... 80 |
| 3.3.3 | Atividade de Água (Aw)..... 80 |
| 3.3.4 | Determinação das Perdas..... 80 |
| 3.3.5 | Medida da Força de Cisalhamento e Compressão..... 82 |
| 3.3.6 | Avaliação da cor, cromaticidade e oxidação..... 83 |
| 3.3.7 | Sinerese..... 83 |
| 3.3.8 | Fatiabilidade..... 84 |
| 3.3.9 | Análise Microbiológica..... 84 |
| 3.3.10 | Análise Sensorial..... 84 |
| 3.3.11 | Avaliação histológica..... 85 |
| 3.3.12 | Avaliação do <i>shelf-life</i> dos presuntos desenvolvidos..... 90 |
| 3.3.13 | Análise Estatística..... 91 |
| 3.4 | TESTES PRELIMINARES..... 91 |
| 3.5 | PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL..... 93 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 96 |
| 4.1 | CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA..... 96 |
| 4.2 | CARACTERIZAÇÃO DOS COLÁGENOS..... 97 |
| 4.2.1 | Determinação da capacidade de absorção de água (CAA)..... 97 |
| 4.2.2 | Características físico-químicas..... 99 |
| 4.2.3 | Análise de Espectroscopia de Infravermelho Transformada de Fourier..... 102 |
| 4.2.4 | Análise de Eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE)..... 109 |
| 4.3 | PRODUTOS OBTIDOS NOS TESTES PRELIMINARES..... 112 |
| 4.3.1 | Aspectos visuais..... 112 |
| 4.3.2 | Caracterização físico-química..... 114 |

| | | |
|----------|--|------------|
| 4.3.3 | Análise Microbiológica..... | 121 |
| 4.3.4 | Análise Sensorial..... | 121 |
| 4.4 | CARACTERIZAÇÃO DO PRODUTO FINAL..... | 126 |
| 4.4.1 | Aspecto visual dos presuntos desenvolvidos..... | 126 |
| 4.4.2 | Teores de umidade, cinzas, proteína, hidroxiprolina, colágeno e lipídios..... | 128 |
| 4.4.3 | Teores de nitrito, nitrato, pH e Aw..... | 135 |
| 4.4.4 | Cor instrumental, oxidação e cromaticidade..... | 137 |
| 4.4.5 | Avaliação da CRA, sinerese e fatiabilidade..... | 143 |
| 4.4.6 | Perdas por resfriamento, reaquecimento, congelamento e resistência a compressão..... | 150 |
| 4.4.7 | Análise Microbiológica..... | 161 |
| 4.4.8 | Análise Sensorial..... | 161 |
| 4.4.9 | Avaliação Histológica..... | 165 |
| 4.4.10 | Avaliação de <i>shelf-life</i> dos presuntos desenvolvidos..... | 170 |
| 5 | CONCLUSÕES | 173 |
| 6 | SUGESTÃO DE TRABALHOS FUTUROS..... | 176 |
| 7 | REFERÊNCIAS..... | 177 |
| 8 | APÊNDICE..... | 187 |

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, os presuntos têm um mercado consumidor exigente (BEDENDI, 2003), onde a qualidade do produto pode definir a uma marca melhor ou pior posição no mercado (BALDISSERA, 2007). Visando atender estes consumidores a indústria vem inovando, inclusive neste produto, que tradicionalmente era elaborado apenas com cortes suínos e hoje já se encontra presuntos de frango e de peru (MENDONZA et al., 2009).

Os produtos de frango são vistos de forma diferencial pelos consumidores que tem uma maior preocupação com a saúde (RESURRECION, 2003) devido ao menor teor de gordura e tipo de proteína. Além disso, produtos derivados de frango atendem mercados de consumidores que por motivos religiosos não podem consumir produtos derivados de suínos (FEINER, 2006).

A utilização de colágeno vem de encontro com a tendência de consumo de alimentos com maior apelo nutricional e com a substituição parcial ou total de gordura e carboidratos por ingredientes funcionais (MICHELINI et al., 2007), além do apelo da elaboração de um produto com apenas proteínas de origem cárnea. A substituição parcial ou total da proteína de soja por colágeno (proteína presente na própria carne) proporcionaria o desenvolvimento de um produto isento de proteínas vegetais.

As próprias características da matéria-prima (coxa e sobrecoxa de frango) dificultam o processo de produção (FEINER, 2006) devido às dificuldades de liga, textura e quantidade de tecido conjuntivo gerando produtos que apresentam má fatiabilidade, sinerese e elevados reprocessos. A aplicação de colágeno pode ser uma solução tecnológica para evitar problemas de textura e liberação de líquido sem modificar as características sensoriais do produto (ALMEIDA et al., 2006; FRANCISCHETTI et al., 2007; PRABHU e DOERSCHER, 2003).

O colágeno apresenta ampla disponibilidade e é comumente utilizado como agente de liga com baixo valor nutricional, sendo interessante sua aplicação principalmente pela capacidade de retenção de água (SAMS, 2001; SCHILLING et al., 2003). Porém há uma lacuna em pesquisas sobre a utilização de colágenos de vários tipos associados (MICHELINI et al., 2007; PRESTES, 2008) e principalmente levando em conta as características funcionais de cada colágeno e os resultados da aplicação nas características físico-químicas, microbiológica, sensoriais e estrutural

de presuntos.

Também há uma carência de estudos sobre presunto de frango e estudos que correlacionem a textura com o grau de moagem da matéria-prima e quais as implicações na aceitação sensorial do produto final por parte dos consumidores.

Em relação à moagem se faz necessário gerar informação a respeito da cominuição da carne para o presunto de frango pois há uma cobrança “informal” pelos órgãos fiscalizadores de que a matéria-prima deveria ser utilizada íntegra. Porém, a maioria dos países utiliza carne moída e em alguns casos até peito de frango como matéria-prima. Além disso, na legislação brasileira não há uma obrigatoriedade clara a respeito da utilização de músculos íntegros (BRASIL, 2000).

Outra informação importante é que este trabalho poderá dar respaldo às possíveis exigências do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) quanto à adição e teor final de colágeno em presuntos, visto que há uma proposta em estudo de nova versão do Regulamento de Inspeção Industrial Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) onde pretende-se limitar a porcentagem de colágeno adicionado e presente no produto final, visando evitar fraudes.

Esta pesquisa também pretende inovar pela utilização da matéria-prima 100 % congelada e posteriormente descongelada o que representa uma condição adversa de menor capacidade de retenção de água quando comparada com a carne fresca (Damoradan et al., 2010) e assim representa uma possibilidade de avaliação dos ingredientes testados em condições desfavoráveis.

Com base neste contexto, o presente estudo teve por objetivo geral avaliar os efeitos da adição de colágeno na qualidade de presunto de frango.

Os objetivos específicos foram:

- Selecionar os colágenos e/ou mistura de colágenos e grau de moagem da matéria-prima através da aplicação e avaliação dos efeitos no produto final;
- Desenvolver as formulações utilizando mistura de colágenos variando as concentrações desta, variando o grau de cominuição da matéria-prima e também a concentração de proteína de soja empregando a técnica de planejamento de experimentos (delineamento fatorial 2³) buscando a substituição parcial e/ou total da proteína de soja por colágeno;
- Desenvolver as formulações citadas acima utilizando 100 % da matéria-prima submetida ao congelamento e descongelamento.
- Avaliar a qualidade dos produtos obtidos através do estudo das

características físico-químicas, sensoriais, microbiológicas, textura, perdas, propriedades funcionais e estruturais.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Neste capítulo será apresentada a fundamentação teórica e revisão bibliográfica sobre a produção e processamento de presunto. Serão contemplados também os principais aspectos sobre a carne de frango, processo de moagem, utilização de carne descongelada para produção de presunto e as propriedades funcionais da carne. Para finalizar o capítulo uma descrição sobre utilização de proteínas em presunto com foco para o colágeno, abordando sua estrutura, composição, tipos e aplicação deste ingrediente em produtos cárneos.

2.1 PRODUÇÃO DE PRESUNTO

Presuntos já eram fabricados na Europa e na China há pelo menos 2.500 anos. Já no século II a.C., Catão descreve o processo de elaboração de presunto que praticamente não se diferencia do que se utiliza hoje na Itália, França, Estados Unidos ou na China (ORDÓÑEZ et al., 2005).

Segundo Bedendi (2003), no Brasil o consumo de presuntos tem um mercado exigente, expressivo e a tecnologia utilizada no processo de elaboração é muito diversificada e isso faz com que os presuntos apresentem variações em suas composições (BALDISSERA, 2007).

Conforme Feiner (2006), na Inglaterra o termo “presunto” refere-se apenas ao produto obtido de carne suína, no entanto, no resto do mundo é usado para muitos produtos que são adicionados de salmoura e elaborados com carne em pequenos pedaços. Em países onde não é possível o consumo de carne suína, muitos diferentes tipos de presunto são elaborados com carnes de várias espécies.

Para Mendonza et al. (2009) já existem no mercado uma variedade de presuntos de peru e frango, o quais são elaborados a partir de carne da coxa ou do peito destas aves. Segundo estes mesmos autores a comercialização de presuntos fatiados vem passando por aumento significativo para atender as necessidades dos consumidores que buscam alimentos mais práticos e de rápido preparo.

Feiner (2006) menciona que o presunto de frango é um produto não injetado, adicionado de salmoura e classificado como reestruturado. Para este mesmo autor os presuntos podem ser classificados em produtos de alta, média e baixa qualidade. Produtos de alta qualidade contêm grandes pedaços de carne magra cominuída em

lâminas de grande diâmetro e produtos de média qualidade são elaborados com pequenos pedaços de carne magra moída em discos de 2 a 4 mm de diâmetro. Já os produtos de baixa qualidade ou chamados econômicos contém retalhos suínos e de frango, carne mecanicamente desossada e emulsão de pele. Ordóñez et al. (2005) também mencionaram o presunto de peru como um produto reestruturado elaborado com pedaços de carne de coxa e sobrecoxa.

No Brasil o Padrão de Identidade e Qualidade de Presunto (PIQ) (BRASIL, 2000), define presunto como sendo o produto cárneo industrializado obtido dos cortes do membro posterior de suíno, desossado ou não, adicionado de ingrediente e submetido a um processo térmico adequado. Quando o membro posterior utilizado não for de suíno, o produto será denominado de Presunto, seguido do nome da espécie animal de procedência. Não há uma especificação clara neste regulamento quanto à permissão ou proibição de utilização de carne moída para produtos obtidos de aves, embora seja uma prática comum na indústria.

Segundo esta mesma legislação, os ingredientes obrigatórios na produção de presunto são: carne, sal, nitrito e/ou nitrato de sódio e/ou potássio. Os ingredientes considerados opcionais são: proteínas de origem animal e/ou vegetal, açúcares, malto-dextrina, condimentos, aromas, especiarias e aditivos intencionais (BRASIL, 2000).

Em presuntos é permitida a adição de proteínas não-cárneas em no máximo 2 %. Na Tabela 1 podem ser observadas as características físico-químicas obrigatórias para presuntos segundo o (PIQ) Padrão de Identidade e Qualidade para Presunto (BRASIL, 2000).

TABELA 1 – Características físico-químicas obrigatórias para presuntos.

| Características físico-químicas | Quantidade permitida | Valor (%) |
|--|-----------------------------|------------------|
| Carboidratos totais | Máximo | 2,0 |
| Relação Umidade:Proteína | Máximo | 5,2 |
| Proteína | Mínimo | 14,0 |

FONTE: BRASIL (2000).

2.1.1 PROCESSAMENTO DE PRESUNTO

A tecnologia de fabricação de presunto é muito diversificada, o que faz com que os presuntos apresentem variações na sua composição (BEDENDI, 2003; BALDISSERA, 2007). De uma maneira geral, a composição físico-química média apresenta um teor de umidade de 72,72 a 79,94 %, proteína de 15 %, gordura de 1,56 a 9 %, cinzas de 3,13 a 4,83 %, pH entre 5,9 e 6,1 e Aw de 0,96 a 0,98 (PEARSON e TAUBER, 1984; VAÁLKOVÁ et al., 2007).

As etapas básicas do processamento de presunto de frango que aqui serão descritas são: seleção e preparo da matéria-prima, moagem, mistura, cura, embalagem, enformagem, cozimento, resfriamento e acondicionamento.

Seleção e preparo da matéria-prima

O Brasil vem se destacando na produção e exportação de carne de frango. Em 2010 a produção superou 12 milhões de toneladas, dando ao Brasil a terceira posição nesse segmento. As exportações representaram 31 % e a carne de frango brasileira está presente em mais de 150 países (UBABEF, 2010).

Salle et al. (1998) comentam que a oferta de carne de frango a um custo relativamente baixo, tornou-a umas das fontes protéicas mais baratas e certamente uma das mais acessíveis proteínas cárneas, ao mesmo tempo, a produção de produtos industrializados de carne de frango vem crescendo.

Uma grande parte deste aumento de consumo deve-se às exigências dos consumidores por produtos convenientes e uma maior preocupação com a saúde. A demanda por produtos derivados de frango levou as indústrias a investirem em embalagens, posicionamento, formato, preço e diversificação da linha de produtos. Os produtos de frango são vistos de forma diferenciada pelo consumidor, tem uma imagem saudável, proteína de fácil digestão e ao contrário da carne bovina cuja imagem permanece inalterada (RESURRECCION, 2003; FEINER, 2006).

No caso de presunto de frango ou peru a matéria-prima básica é coxa e/ou sobrecoxa (IQBAL et al., 2010). A preparação (nível de “refile”), composição e uniformidade do tamanho dos músculos são importantes na etapa de preparação da matéria-prima. A retirada de cartilagens, tendões e excesso de gordura facilitarão a liga e união dos pedaços de carne nas etapas subsequentes do processamento (ORDÓÑEZ, 2005).

Segundo Feiner (2006) a carne da coxa de frango apresenta colágeno que contribui para a textura do produto final. Entretanto, este mesmo autor menciona que esta mesma matéria-prima apresenta uma estrutura muito mais difícil de processar que a do peito.

A composição média aproximada da carne de frango segundo USDA (2005) é 74,76 % de água, 23,09 % de proteína, 1,24 % de lipídeos e 1,02 % de cinzas. No trabalho realizado por Galvão (1992) a carne de coxa e sobrecoxa de frango apresentou 74,8 % de umidade, 5,1 % de gordura, 19,1 % de proteína, 1,0 % de cinzas e o pH encontrado foi de 6,35. Estes resultados condizem com os relatados por Ordóñez et al. (2005).

Cavenaghi (2005) determinou a composição de coxa de frango e os resultados encontrados foram: $77,2 \pm 0,4$ % para umidade, $3,2 \pm 0,6$ % para gordura, $18,1 \pm 1,0$ % para proteína, $1,1 \pm 0,1$ % para cinzas e pH de 6,6. A proporção de gordura na parte muscular é um fator importante na produção de presunto, pois a gordura pode provocar a liga inadequada entre os pedaços de carne e perdas na cocção (TEIXIDOR, 2006).

Também é importante o aspecto visual do produto que dependerá da região onde será consumido. Feiner (2006) menciona que fragmentos de gordura no interior do presunto não são aceitáveis por alguns consumidores. Nos Estados Unidos, por exemplo, exige-se que os produtos sejam completamente isentos de gordura visual, ao contrário da Itália e França, onde o produto deve apresentar a gordura exterior para dar um aspecto de produto elaborado artesanalmente. A gordura influenciará também na mastigabilidade do produto.

Além do teor de gordura, a temperatura da carne é outro fator importante. Recomenda-se no máximo 8°C para a matéria-prima com objetivo de garantir a qualidade microbiológica e evitar posteriormente o aumento excessivo da temperatura da massa (acima 20°C) o que provoca redução da estabilidade ocasionando liberação de gordura e desnaturação de proteínas (ORDÓÑEZ, 2005).

Utilização de carne descongelada na produção de presunto

Segundo Ordóñez (2005) embora o congelamento seja um dos métodos mais suaves de conservação algumas modificações são produzidas nos alimentos durante o mesmo, principalmente a formação de cristais de gelo que afetam as

características do produto. A magnitude desse dano está relacionada à velocidade de congelamento e as características do produto.

Segundo Damodaran et al. (2010) o congelamento altera a textura pela desnaturação e agregação das proteínas. A desnaturação é devido à formação e crescimento dos cristais de gelo e pelos processos associados à desidratação e concentração de solutos no tecido do músculo. Segundo Girard (1991) no descongelamento uma parte da água proveniente da fusão dos cristais de gelo não será reabsorvida dando lugar à exsudação.

Segundo Colla e Prentice-Hernandéz (2003) de maneira geral recomenda-se que o descongelamento deve ser realizado lentamente e em baixas temperaturas (refrigeradores domésticos ou câmaras frigoríficas). Nesse caso, a água volta lentamente à posição original no tecido anterior ao congelamento, e a reposição pela proteína é mais completa.

Também é possível descongelar carnes a temperaturas relativamente mais altas, como em estufas ou a temperatura ambiente. Porém, carnes descongeladas a temperaturas entre 20 e 30 °C podem contribuir para o crescimento microbiano e aumentar a perda de exsudado tornando-a inaceitável para o consumo humano.

Para Olivo (2006) carnes previamente congeladas perdem parcialmente suas propriedades funcionais, principalmente fixação de gordura e água, pois este processo pode causar desnaturação de proteínas. No descongelamento, a umidade drenada pode carregar parte das proteínas sarcoplasmáticas (solúveis em água) e que poderão faltar no processo de geleificação no produto final. Neste caso, faz-se necessário a adição de maior quantidade de agentes estabilizadores externos para garantir a textura e estabilidade desejada.

Moagem

Dependendo do tipo de presunto e do tipo de matéria-prima cárnea (principalmente frango e peru) os cortes podem passar pelo processo de moagem.

A redução do tamanho das partículas de carne, também chamada de trituração, moagem ou cominuição é uma das operações mais utilizadas na elaboração de produtos cárneos (WEISS et al., 2010). A moagem consiste em utilizar a energia mecânica para desorganizar a estrutura dos tecidos pelas operações de corte, achatamento e ruptura. Este processo leva à formação de grãos constituídos de células mais ou menos intactas. Depois de cominuídos, a ação

mecânica contínua libera os componentes que interagem e formam novas estruturas como geis e emulsões (GIRARD, 1991).

Segundo Rust (2004) citado por Weiss et al. (2010) o equipamento (Figura 1) consiste de uma rosca sem fim que empurra e comprime os cortes através de um sistema moedor que é uma combinação de uma chapa perfurada com um número selecionado de furos com tamanhos específicos e com facas rotativas que cortam as fibras da carne antes de terem passado através dos orifícios.

Barbut (2002) sugere que para a elaboração de presunto de peru as coxas sejam dilaceradas (especialmente o lado da pele) para aumentar a área de superfície de contato da porção magra de carne. Feiner (2006) sugere que deve ser feita a remoção da fina membrana de tecido conjuntivo ao redor do músculo (epimísio) para tornar mais fácil a ação dos aditivos e ingredientes.

Esta etapa é de extrema importância devido à liberação das proteínas actina e miosina da célula muscular mediante o processo de redução de tamanho, dando lugar posteriormente a uma intensa solubilização (PEARSON e GILLET, 1999).

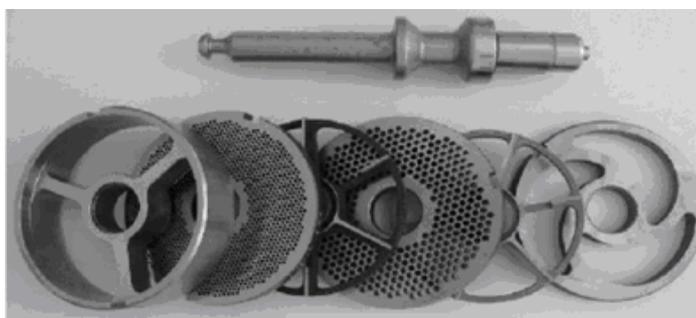


Figura 1 – Discos de moagem e esquema de montagem do triturador.

FONTE: WEISS et al. (2010).

A actina e a miosina se encontram envolvidas por uma membrana de tecido conectivo (sarcolema) (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008). Muitas vezes esta membrana está intacta e a actina e miosina retém apenas a própria água existente na carne e a da própria célula. Porém, no caso da elaboração de presunto é necessário que estas proteínas retenham a água agregada ou adicionada. Com a moagem, os fragmentos livres da estrutura proteica podem incorporar a água adicional e formar um gel proteico, o qual irá incorporar a gordura impedindo que a mesma se solubilize durante o cozimento (massa estável ao calor) (WIRTH et al., 1992).

Segundo Wirth et al. (1992) além da actina e miosina presentes no citoplasma da célula muscular, os elementos do tecido conjuntivo contribuem fundamentalmente para obter uma consistência firme característica que define a resistência à mordida. Para isso, é necessário conservar uma parte da estrutura do tecido conjuntivo sem estar demasiadamente fragmentada.

A gordura também é recoberta por tecido conectivo que a rodeia. Portanto as células adiposas intactas e as uniões de células devem estar devidamente distribuídas no gel protéico com a finalidade de evitar a separação de gordura (situação extrema). Um processo demasiadamente intenso de moagem pode ser desvantajoso porque quando se destrói excessivamente a membrana celular dos adipócitos e formam pequenas gotículas com maior área de superfície e a massa protéica deverá impedir a confluência das mesmas (WIRTH et al., 1992).

Segundo Feiner (2006), na moagem grosseira a ruptura das células constituintes dos tecidos é limitada e por isso a quantidade de componentes protéicos e lipídicos obtidos a partir destas células são escassos. Porém, no cozimento ocorrerá maior perda de gordura e líquidos devido ao maior tamanho da partícula. Para este mesmo autor a aceitabilidade de um produto produzido com uma mescla de partículas de diferentes tamanhos é menor do que de partículas de tamanho único.

A desorganização das estruturas permite aos grãos a interação íntima permitindo ligações do tipo: pontes de hidrogênio, interações eletrostáticas, interações hidrofóbicas e ligações de Van der Waals, estas forças asseguram a coesão final da massa (GIRARD, 1991).

Segundo Wirth et al. (1992) a gordura distribuída de maneira homogênea impedirá uma redução de tamanho da estrutura protéica, devido à desnaturação pelo calor. Isto também é uma explicação porque produtos mais pobres em gordura tendem mais rapidamente a separarem gel, por outro lado, demasiada gordura requer uma grande trama protéica (a qual nem sempre existe na fórmula).

Existem poucos trabalhos que tratam do efeito do grau de moagem sobre a qualidade dos produtos cárneos. Isto é devido primeiramente aos moedores que são pouco analisados, pois a única medida disponível é o diâmetro dos orifícios que permite determinar o tamanho dos grãos (GIRARD, 1991).

Segundo este mesmo autor, os resultados de estudos de granulometria indicam que as partículas se distribuem segundo seu tamanho seguindo uma curva

de Gauss e o grau de dispersão depende em parte do tipo de triturador utilizado e da temperatura da matéria-prima. De uma maneira geral os produtos com partículas de maior tamanho apresentam menor coesão do que os com partículas de médio ou menor tamanho. A dureza e a suculência diminuem quando o tamanho das partículas aumenta e a aceitabilidade é menor para produtos com partículas maiores.

Paulino et al. (2006) estudaram diferentes tipos equipamentos de cominuição: *cutter*, moedor e cubetadeira, para diferentes cortes bovinos e estes foram adicionados de fibra de colágeno. Estes cortes foram submetidos a diferentes processos de cocção e os resultados mostraram que quando foi utilizado moedor a textura e as perdas por cocção apresentaram resultados maiores ($p < 0,05$), sendo $7,6 \text{ kgf.cm}^{-2}$ e $26,5 \%$ respectivamente. O estudo permitiu concluir que o equipamento utilizado para cominuição da carne e os ingredientes adicionados afetaram os parâmetros de rendimento do processo.

Teixidor (2006) sugere que, diferente da coxa de peru em que os músculos são maiores e a aparência do produto fica mais uniforme, para coxa e sobrecoxa de frango devido o tamanho ser muito pequeno e a grande quantidade de tecido conjuntivo ocorrem problemas no aspecto e a liga do produto. Esta mesma autora relata que mesmo para produtos de peru são utilizados discos de 18 e 22 mm.

Feiner (2006) menciona que para presunto de frango a moagem pode ser de 3 a 20 mm. Em contrapartida, Olivo (2006) relata que a moagem é realizada em geral para matérias-primas que serão utilizadas na fabricação de produtos de menor valor agregado (como exemplo apresuntados, mortadelas e salsichas) onde não há a preocupação em apresentar partes maiores de carne.

Na legislação brasileira existe ainda o produto denominado “apresuntado” que restringe-se apenas ao produto elaborado a partir de recortes e/ou cortes de massas musculares dos membros anteriores e/ou posteriores exclusivamente de suínos (BRASIL, 2000). Não é permitida a elaboração de apresuntados com cortes de aves e por este motivo a indústria processadora opta pela produção de presuntos (produtos mais nobres) e produtos mais econômicos (fiambres ou lanches) utilizando este tipo de matéria-prima.

Mistura

A mistura é definida como operação unitária na qual uma mistura homogênea

é obtida de dois ou mais componentes, pela dispersão de um ou outro (FELLOWS, 2006).

Quando se trata da elaboração de presunto de frango e peru, devido aos métodos de corte ou cominuição utilizados na matéria-prima, se faz necessário o uso de misturadores ao invés dos tradicionais *tumblers*, pois estes são adequados apenas para peças grandes ou músculos íntegros (PEARSON e GILLET, 1999). Assim, na produção são utilizados misturadores para permitir uma completa e adequada mistura.

Segundo Olivo (2006) a misturadeira apresenta boa extração protéica e dada a sua natureza e movimentação intensa podem provocar danos à estrutura da carne. Segundo Teixidor (2006), a velocidade excessiva vai gerar ruptura dos músculos, e esta velocidade deve ser otimizada, pois enquanto que velocidades muito baixas não provocarão a solubilização adequada das proteínas.

O fenômeno de liga ou união das peças de carne depende principalmente da extração das proteínas miofibrilares (miosina e/ou actomiosina) proporcionada por este processo (Katsaras e Budras, 1993) e da coagulação das proteínas no cozimento (LACHOWICZ et al., 2003).

Inúmeros fatores, tais como diferenças no conteúdo de umidade da carne, fricção entre as partículas de carne, habilidade de absorver água e extração protéica podem promover diferentes efeitos nas propriedades de hidratação. Quanto maiores os níveis de extensão mais diluída estarão as proteínas e menor será a liga. Quanto maior a extração protéica maior o potencial de interação das cadeias polipeptídicas durante o aquecimento (LACHOWICZ et al, 2003).

A temperatura ideal de mistura encontra-se na faixa de 4 a 8 °C, sendo que temperaturas mais elevadas representam risco de contaminação e excesso de extração, ressecando a superfície da carne. A utilização de vácuo é vantajosa porque permite a melhor absorção dos ingredientes de cura e coesão das peças de carne. Além disso, as bolhas de ar presentes entre as porções cárneas e no exsudado são removidas prevenindo a expansão das bolhas durante o cozimento e subsequente diminuição da coesão entre os pedaços de carne (KATSARAS e BUDRAS, 1993).

Cura

A operação de cura ou maturação refere-se à conservação por adição de sal,

compostos fixadores de cor (nitratos e/ou nitritos), açúcares e condimentos, obtendo-se a melhora das propriedades sensoriais (LAWRIE, 2005; BARBUT, 2002).

Recomenda-se que a duração da operação de cura seja de 12 a 15 horas, uma vez que os filamentos musculares são capazes de inchar durante este tempo e a água imobilizada é então depositada na estrutura do músculo.

Papel do Nitrito e Nitrato de Sódio

Os nitratos e nitritos têm as funções de estabilizar a cor, contribuir para o desenvolvimento de aroma, inibir o crescimento de *Clostridium botulinum* e retardar o desenvolvimento de rancificação (CASSENS, 1995).

A indústria vem trabalhando na redução dos níveis de nitrito pois em determinadas condições (baixo pH e temperatura elevada) o nitrito reage com aminas formando as nitrosaminas, compostos estes que são cancerígenos segundo uma variedade de estudos (WEISS et al., 2010).

A inibição de patógenos pelo nitrito tem sido atribuída a diversos mecanismos, incluindo a inibição do consumo de oxigênio, fosforilação oxidativa e transporte de prótons. O nitrito inibe uma série de enzimas necessárias ao metabolismo das bactérias.

A ação antimicrobiana dos nitratos é dirigida fundamentalmente contra as bactérias anaeróbias já que para muitos destes micro-organismos, estes representam uma fonte de nitrogênio. Do nitrato, por si só, não se pode esperar ação antimicrobiana direta inibidora do crescimento bacteriano; a ação antimicrobiana deve-se em maior parte aos nitritos resultantes e, concretamente, ao ácido nitroso gerado e aos ácidos que se formam a partir dele (DINEEN et al., 2000). Conforme os mesmos autores, o nitrito atua apenas sobre as bactérias e não afeta o crescimento de fungos nem de leveduras.

A cor é um componente extremamente crítico na aparência da carne e tem influência substancial na decisão de compra pelos consumidores (DELAHUNTY et al., 1997). O uso de nitrito de sódio em carnes curadas é responsável pelas características de carne rosada e estabilidade do *flavor*.

As condições que favorecem as reações que provocam a formação dos pigmentos da carne curada (óxido nitroso mioglobina ou nitrosomioglobina e nitroso-hemocromogênio) devem ser proporcionadas com a cura da carne. O pigmento normal da carne curada não-tratada pelo calor é a nitrosomioglobina que, pelo

aquecimento, transforma-se em nitroso-hemocromogênio. A quantidade mínima a ser adicionada nos produtos cárneos para produzir a cor adequada é estimada em 30 mg.kg^{-1} , no entanto, a legislação brasileira permite a utilização de até 50 mg.kg^{-1} (BRASIL, 2000). Para o produto final o teor residual máximo da soma de nitrito e nitrato é de 150 ppm.

As perdas de nitrito durante o processamento estão na faixa de 22 a 34 %, porém, outros autores mencionam perdas entre 10 a 20 % em relação ao nitrito adicionado inicialmente (CHENG et al. 2007).

Embalagem e Enformagem

Após a cura, o presunto é destinado à máquina de envase, moldagem e selagem. O mecanismo de funcionamento consiste na extração do ar da massa, moldagem e selagem da tampa. Uma moldagem em temperaturas demasiadamente baixas ou altas afeta negativamente a retração da embalagem (processo que ocorre após embalagem/moldagem na cavidade). Uma retração total de 30 % é uma das condições mais importantes para obtenção de um presunto em filme plástico livre de gelatina (SILVEIRA, 1995).

A quantidade de material dosado deve ser correta para a obtenção de um bom resultado final, porque se a quantidade de carne for demasiada ocorrerão problemas durante o processo de vácuo, onde o material em excesso poderá obstruir e resultar em vácuo insuficiente. Como consequência aparece entre a carne e o filme (SCHEID, 1986) espaços que após o cozimento dão lugar ao depósito de gelatina (ARIMA, 1995).

Após a selagem, os envases plásticos são destinados para enformagem onde as peças de presunto são colocadas em fôrmas metálicas cuja função é dar forma ao produto final.

Cozimento

O aquecimento (65 a 70°C) induz a ligação proteína-proteína o que transforma o extrato protéico viscoso na matriz tridimensional durante o processamento da carne (LI, 2006). Este extrato une os músculos e torna o presunto uma peça compacta (CASIRAGHI, 2007) favorecendo o aparecimento da textura desejada.

O cozimento escalonado na primeira fase de 30 a 60 minutos a 90 °C para em

seguida diminuir até 75 a 85 °C é sugerido para se conseguir o fechamento dos poros, aumentando assim o rendimento, reduzindo a perda de peso, aumentando a suculência, melhorando a consistência, cor e coesão das peças. Além da redução do consumo de energia o cozimento escalonado também evita um fluxo de calor excessivo que provocará desnaturação da camada protéica mais externa formando uma barreira térmica impedindo o correto cozimento do produto (OLIVO, 2006).

Segundo Tornberg (2005) as proteínas sarcoplasmáticas agregam-se entre 40 e 60°C, entretanto a coagulação pode ocorrer até acima de 90°C. As proteínas miofibrilares em solução iniciam a associação entre 36 e 40°C com subsequente gelatinização em 45 a 50°C. Em temperaturas entre 53 e 63°C ocorre a desnaturação do colágeno formando gelatina e também em temperaturas próximas de 60°C (temperatura suficiente para desnaturar o colágeno estudado neste trabalho) ocorre a geleificação da carragena e da proteína de soja. As mudanças estruturais durante o cozimento alteram a capacidade de retenção de água e textura dos produtos cárneos.

A força de cisalhamento (*shear force value*) aumenta durante o cozimento enquanto que a retenção da água ligada decresce devido à desnaturação protéica (SOMBOONPANYAKUL et al., 2005).

Segundo Li (2006) outro objetivo do cozimento é o desenvolvimento das características sensoriais desejadas: sabor, textura e cor no caso dos produtos curados e cozidos. O cozimento é aplicado para conferir certa vida-de-prateleira associado também à exclusão de micro-organismos que causam mudanças de cor (esverdeamento por *Lactobacillus viridescens*), destruição das formas vegetativas dos micro-organismos e inativação de enzimas cárneas que poderiam causar alterações posteriores no produto.

Resfriamento e acondicionamento

Após o tratamento térmico e a fim de assegurar sua eficácia, procede-se o resfriamento rápido das peças de preferência em banhos ou duchas de água fria (0 a 4°C), seguido de armazenamento até 10°C (MULLER, 1990).

O choque térmico abaixo de 45°C, com diminuição até 5°C visa cessar o cozimento e ajudar na destruição de possíveis micro-organismos que ainda sobreviveram ao tratamento térmico e também evitar o enrugamento da superfície da peça.

Segundo Damoradan et al. (2010), o resfriamento contribui para a diminuição da energia cinética térmica, facilitando a formação de ligações não covalentes estáveis entre grupos funcionais expostos das diversas moléculas de proteínas que promovem a gelificação que garante a textura do produto.

2.2 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DA CARNE

Segundo Sams (2001) as propriedades funcionais das proteínas podem ser classificadas em três categorias: interações proteína-água, interações proteína-gordura e interações proteína-proteína. Sendo que a retenção de água, ligação com gordura e gelatinização são umas das mais importantes propriedades funcionais em produtos cárneos cozidos.

As propriedades moleculares exatas das proteínas que são responsáveis por várias funcionalidades desejáveis nos alimentos ainda não são bem compreendidas. Entre as propriedades físico-químicas que controlam a funcionalidade protéica incluem tamanho, forma, composição e sequência dos aminoácidos, carga líquida e distribuição das cargas, razão de hidrofobicidade/hidrofilicidade, estruturas secundárias, terciárias e quaternárias, flexibilidade e rigidez molecular e capacidade de interagir/reagir com outros componentes (DAMORADAN et al., 2010).

Segundo estes mesmos autores uma vez que as proteínas apresentam múltiplas propriedades físico-químicas, é difícil delinear o papel de cada uma dessas propriedades em relação a uma propriedade funcional determinada.

Como exemplo, o colágeno tem função de aumentar a viscosidade através do mecanismo de ligação à água; as proteínas da carne têm função de ligação à água através do mecanismo de pontes de hidrogênio e hidratação iônica; a geleificação ocorre através de retenção e imobilização da água pela formação de redes; a coesão-adesão através de ligações hidrofóbicas, iônicas e de hidrogênio; a elasticidade pelas ligações hidrofóbicas e ligações cruzadas dissulfeto e a emulsificação pela formação de película e adsorção nas interfaces.

Capacidade de Absorção de Água (CAA) e Capacidade de Retenção de Água (CRA)

Existem na literatura diversas metodologias para determinação da Capacidade de Absorção de Água (CAA). Wang et al. (2006) mencionam a metodologia

desenvolvida por Sosulski (1962), a qual determina a absorção de água em farinhas por centrifugação e secagem em estufa. Tsai et al. (1998) sugerem apenas a centrifugação sem a necessidade de secagem. Hedenus et al. (2000) sugerem dois métodos de avaliação da absorção de água, um com a utilização de isotermas e outro através da avaliação do volume antes e depois do inchamento. De maneira geral a metodologia para CAA consiste na adição de água ou solução aquosa ao material com posterior centrifugação e a quantificação da água que ficou retida pelo material sedimentado no tubo da centrífuga (DAMORADAN et al., 2010).

A CAA é economicamente importante para a indústria processadora de carne, pois a perda de umidade afetará negativamente o rendimento e os atributos de qualidade como maciez, textura e *flavor* dos produtos (ORDÓÑEZ et al., 2005). Segundo Wang et al. (2006) altos valores de capacidade de absorção de água são importantes para ajudar a manter a umidade.

Tsai et al. (1998) utilizaram o método de Comer (1979) com algumas modificações para avaliar a CAA. O método consiste na adição de água e posterior centrifugação, o sobrenadante é descartado sendo a CAA calculada em g de água absorvida por g de carne. Segundo Damoradan et al. (2010) a capacidade de hidratação do colágeno é 0,45 g de água/g de proteína e da proteína de soja é 0,33 g de água/g de proteína.

Já a propriedade de capacidade de retenção de água (CRA) refere-se à capacidade da carne reter sua própria água durante a aplicação de forças externas, como cortes, aquecimento, trituração e prensagem (JUDGE et al., 1989) e também se refere à capacidade da carne reter total ou parcialmente a água adicionada durante o processamento (ORDÓÑEZ et al., 2005). Quanto maior a CRA, maior é a suculência das carnes, com aumento de percepção sensorial de maciez.

A CRA e o processo de gelatinização exercem influência sobre a aceitação sensorial dos produtos pelos consumidores (WESTPHALEN et al. 2006). Muitas propriedades físicas, como a cor, a textura e a firmeza da carne crua, assim como a suculência, a palatabilidade e a dureza quando cozida, dependem em parte da CRA da carne.

Basicamente não existe diferença entre as metodologias para determinação da CRA e CAA. A CRA pode ser caracterizada pela medição do líquido de uma amostra de carne, tanto por pressão como por centrifugação, bem como por adição de água ou de uma solução aquosa ao tecido triturado, determinando-se a

quantidade de água retida pelo material sedimentado no tubo da centrífuga (DAMORADAN et al. 2010). Já a CAA também é determinada pela adição de líquido ou solução com posterior centrifugação.

Tsai et al. (1998) analisaram a capacidade de retenção de água através do método de Wierbicki e Deatherage, este método consiste em colocar a amostra em solução saturada de KCl por uma noite e posteriormente colocar a amostra em filtro de papel para submeter a compressão por 5 minutos a 500 psi. A área do círculo envolta da carne é circulada e a que se forma pela compressão (umidade expressível) são planificadas e a CRA é expressa na razão entre as duas áreas.

A CRA está intimamente relacionada com o pH final devido ao ponto isoelétrico provocado pelo aumento nas cargas da molécula de proteína. Segundo Monteiro e Terra (1999) o valor de pH recomendado para a produção de presunto, que assegura uma boa CRA é acima de 5,8. Aproximadamente 95 % da “água livre” da carne é mantida por interações eletrostáticas e é responsável pelas mudanças na CRA. O restante, 5 %, está fortemente ligado na superfície das moléculas de proteína e é pouco influenciado pelas mudanças na estrutura e nas proteínas musculares (TSAI et al., 1998).

Do ponto de vista físico-químico a pasta ou massa do embutido cozido é composta por diferentes sistemas: solução de proteínas e sais, suspensão de componentes tissulares na água existente e na água adicionada, gel de substâncias proteicas do tecido muscular e fixação de células adiposas e de gordura livre no gel das proteínas musculares solúveis em água e sal, em parte na forma de emulsão (WIRTH, 1992).

Segundo estes mesmos autores, entre os objetivos tecnológicos necessários para a elaboração de embutidos cozidos encontram-se a fixação de água, ou seja, a fixação estável ao calor por parte da proteína cárnea da água componente dos tecidos e da água agregada e da fixação de gordura na trama formada pela proteína muscular e água. Para retenção de água e gordura (ambos os processos de integração de água agregada e gordura estão estritamente ligados entre si), sendo a actomiosina a principal responsável.

A cor, a textura, a firmeza, a maciez e, sobretudo a suculência são fortemente influenciadas pela CRA. A suculência e palatabilidade reduzem com a sua diminuição. Além disso, a água liberada arrasta vitaminas, minerais e proteínas solúveis diminuindo o valor nutritivo da carne. Fatores como pH, ação do calor, força

iônica e fosfatos alteram a CRA. Outros fatores como espécie, idade e localização anatômica muscular também alteram a CRA. No geral a adição de proteínas e agentes geleificantes aumenta a CRA (ORDÓÑEZ et al., 2005).

Na elaboração de presunto a utilização de carnes com baixa CRA provoca grandes perdas durante o processamento e origina produtos de baixíssima qualidade sensorial, qualificados como insípidos, exsudativos e mal ligados.

pH

O pH do músculo de um animal sadio e devidamente descansado no momento imediatamente anterior ao abate varia de 7 a 7,3. Após o sacrifício do animal, o pH diminui devido à degradação do ATP até chegar ao chamado pH final, entre 5,5 e 5,8 (LAWRIE, 2005).

A velocidade de decréscimo do pH é influenciada por muitos fatores, como a espécie do animal, o tipo de músculo, a temperatura em que ocorre o processo *post-mortem* e fatores de estresse. Nos músculos em que predominam as fibras de contração rápida ou fibras brancas, o pH final atinge valores de 5,5 a 5,8, já nos músculos de contração lenta (principalmente fibras vermelhas) o pH atinge valores entre 6,1 a 6,4 (ORDÓÑEZ et al., 2005).

No momento do abate, o músculo é mole e extensível, mas em poucas horas converte-se em uma estrutura inextensível e relativamente rígida, o que é conhecido como *rigor mortis* ou rigidez cadavérica. A maturação da carne ou resolução do *rigor mortis* compreende as mudanças posteriores ao desenvolvimento da rigidez cadavérica que determinam o relaxamento lento do músculo provocando amolecimento da carne após 3 a 4 dias de armazenamento em refrigeração (HONKAVAARA, 1998).

Anomalias PSE e DFD

PSE (*Pale, Soft, Exudative*) é uma anomalia de qualidade comumente encontrada em suínos, contudo, a sua ocorrência em aves, particularmente em perus, ganhou relevância há apenas alguns anos (OLIVO e SHIMOKOMAKI, 2001).

O que caracteriza o desenvolvimento de PSE é uma glicólise *post-mortem* muito rápida, resfriamento lento ou uma combinação de várias condições que resultam em um músculo com alta temperatura e baixo pH (< 6,0) (SHIMOKOMAKI et al., 2006).

Pode-se atingir o pH final em 15 a 20 minutos *post-mortem* quando a temperatura do músculo está próxima de 37 °C. A combinação de pH baixo e hipertermia provocam a precipitação das proteínas sarcoplasmáticas (particularmente a miosina) e menor capacidade de retenção de água (OFFER e KNIGHT, 1988).

Carnes PSE apresentam propriedades funcionais comprometidas, como pobre capacidade de retenção de água (CRA), excessiva perda de água no descongelamento e cozimento, palidez excessiva e são consideradas impróprias para o processamento (OLIVO e SHIMOKOMAKI, 2001).

A miosina determina propriedades funcionais tais como a textura, e sua desnaturação está relacionada a perdas no cozimento e aspecto inadequado do produto. A miosina do músculo PSE difere no tamanho da cadeia, menos espaços entre os filamentos, menor atividade do ATP (OFFER e KNIGHT, 1988) e estas diferenças nas propriedades bioquímicas consequentemente afetam a solubilidade.

Estas carnes, quando utilizadas em presuntos, apresentam efeitos no produto final, principalmente na liberação de líquido (sinerese), perdas por cozimento, fatiabilidade, cor, textura, oxidação lipídica e menor rendimento (NAMPO et al., 2006; HONKAVAARA, 1998). Outro fator importante é o impacto econômico referente às perdas de até 50 %, comparadas com a carne normal.

Nas carnes DFD (*Dark, Firm, Dry*) a queda do pH é muito pouco acentuada devido à baixa concentração de glicogênio muscular, fazendo com que a combinação pH-temperatura tenha pouca incidência sobre as proteínas sarcoplasmáticas e miofibrilares, dando lugar a carnes mais secas e escuras, reflexo de sua maior capacidade de retenção de água. Devido ao pH elevado estas carnes têm maior susceptibilidade a alterações de origem microbiana (O'NEILL et al., 2003).

Gelificação, Coagulação e Desnaturação

A gelatinização de proteínas é um processo físico-químico que ocorre em produtos com carne reestruturada e moída. A formação de gel é responsável pela aderência de partículas e pedaços de carne e também representa importante papel em relação à ligação de água, ao sabor e à gordura de produtos cozidos. Basicamente ocorre em três etapas: desdobramento inicial das moléculas de proteína (desnaturação), seguido por sua agregação (principalmente por interações hidrofóbicas), e por fim as agregações de proteínas pequenas ou oligômeros que

formam pequenas fitas que formarão uma rede viscoelástica contínua (DAMORADAN et al., 2010; CLEMENTS e KEOGH, 1995).

A gelificação também pode ser definida como uma rede protéica tridimensional que exibe certo grau de ordem, formada por moléculas desnaturadas ou não. A coagulação apresenta uma rede protéica desordenada, ao acaso, formando coágulos. E por fim a desnaturação é uma mudança conformacional, pela qual a proteína é transformada de um estado ordenado para um estado desordenado, sem ruptura das ligações covalentes (ZIEGLER e FOEGEDING, 1990).

As proteínas miofibrilares são consideradas proteínas de gelatinização superior, pois desempenham um papel fundamental principalmente em relação à textura do produto final. Para formar gel as proteínas miofibrilares devem ser primeiramente extraídas pela ação do sal (NaCl) e dos fosfatos.

As fibras de músculos brancos formam géis mais rígidos do que as das fibras vermelhas, o que se deve às diferenças das características físico-químicas existentes entre as isoformas da miosina (XIONG, 1994). Isto explica porque o peito de frango, constituído quase que exclusivamente de fibras brancas, miosina ou de fibras miofibrilares mistas, forma um gel mais resistente do que o músculo gastrocnêmico da ave (correspondente a coxa do frango) quase só constituído de fibras vermelhas ou suas proteínas sob as mesmas condições de processamento (DAMORADAN et al., 2010).

Em geral as proteínas miofibrilares começam a desnaturar a 4°C, antes de atingir o ponto de gel que é cerca de 60°C. Aquecimento acima de 70°C é prejudicial para a qualidade dos produtos devido à agregação da proteína dentro da extensa rede de gel podendo levar a sinerese ou perda de água do produto. O colágeno também pode ser responsável pela sinerese acima de 70°C. A taxa de aquecimento também pode afetar o tipo de rede de gel formado e conseqüentemente a qualidade do produto (SAMS, 2001).

Devido a sua capacidade de adesão, o gel formado na geleificação promoverá a junção entre pedaços de carne, isto ocorre em produtos reestruturados e como exemplo em presuntos. Já as proteínas sarcoplasmáticas e do tecido conjuntivo (estroma) não tem participação no processo de gelatinização das carnes processadas porque não formam gel de maneira ordenada e funcional (DAMORADAN et al., 2010).

A formação de géis requer a desnaturação parcial das proteínas com desdobramento das cadeias polipeptídicas (estado SOL), que depois se associam para formar redes tridimensionais (estado GEL), por meio de pontes de hidrogênio, forças eletrostáticas, de Van der Waals, pontes dissulfeto e interações hidrofóbicas. Essas redes podem reter água e outros componentes do sistema, principalmente gordura (ORDÓÑEZ et al., 2005; DAMORADAN et al., 2010).

Entre os parâmetros críticos para formação do gel estão temperatura, força iônica, pH, concentração de sal e natureza da proteína. Os géis mais interessantes são aqueles formados pela miosina, que é a proteína cárnea emulsificante por excelência (LAWRIE, 2005). O pH ótimo para formação de gel para a maioria das proteínas fica em torno de 7,0 a 8,0.

A desnaturação da miosina ocorre em pH em torno de 6,0 e temperatura de 45°C. Os géis formados pela miosina surgem como resultado do aparecimento de agregações entre as cabeças e as caudas das moléculas de miosina, adquirindo maior firmeza em presença de concentrações salinas entre 3 a 4 % (SCHEID, 1986).

As proteínas podem formar géis do tipo coágulo (opacos) ou translúcidos. Proteínas ricas em resíduos de aminoácidos hidrofóbicos não polares formam géis do tipo coágulo que são considerados fracos e propensos a sinerese. Já proteínas com pequenas quantidades destes aminoácidos formam complexos solúveis durante a desnaturação e o gel só é formado quando ocorre o resfriamento. O gel formado é ordenado e translúcido (DAMORADAN et al., 2010).

Segundo estes mesmo autores, quando a soma dos resíduos de aminoácidos valina, prolina, leucina, fenilalanina e triptofano exceder 35 mol % tem-se a tendência a formação de gel do tipo coágulo. Entretanto, na presença de NaCl o comportamento pode ser diferente pois ocorre um desequilíbrio nas interações hidrofóbicas atrativas e nas eletrostáticas repulsivas que conseqüentemente controlam o mecanismo de geleificação e aparência do gel.

2.3 UTILIZAÇÃO DE PROTEÍNAS EM PRESUNTO

A adição de proteínas na elaboração de presuntos tem como finalidade principal substituir a proteína cárnea. Além do valor nutritivo, a proteína agregada contribuirá para os aspectos tecnológicos, entre eles retenção de água e gordura, formação de estrutura e influência no sabor.

Segundo a legislação brasileira (BRASIL, 2000) podem ser adicionadas proteínas de origem vegetal e/ou animal em presuntos até o máximo de 2,0 %. Como exemplo de proteína de origem vegetal a mais utilizada é a proteína de soja (isolada, concentrada e texturizada). Para as proteínas de origem animal podem ser utilizadas proteínas do leite, caseinato, plasma e colágeno. Nos EUA o FDA (*Food and Drug Administration*) permite a adição de colágeno como agente redutor de sinerese em produtos cárneos a níveis de até 3,5 %.

Diferente da legislação brasileira, a legislação Argentina não permite a adição de proteínas (vegetais ou animais) e/ou substâncias amiláceas em presuntos (Resolución Senasa n° 395/03). Apenas é permitida a adição de proteínas e extensores nos produtos de menor valor agregado denominados de “fiambres” (Boletín Oficial n°. 30676 de 16 de junho de 2005).

Segundo Válková et al. (2007), na República Tcheca é permitido o emprego de proteínas não cárneas, entretanto, existe uma regulamentação para o teor de proteínas no produto final sem considerar o colágeno. O mínimo de proteínas exigido para produtos de qualidade superior é de 16 % e de 10 % para produtos de menor qualidade.

Messia et al. (2008) mencionam que para evitar fraudes e adulterações alguns países como a Itália regulamentaram o teor máximo de colágeno em produtos cominuídos (mortadelas e salames). O máximo nível fixado para mortadela pelo Council Regulation (EEC) de 17/07/1998 é 0,20. Já para salame o máximo é 0,15.

As proteínas não-cárneas (proteínas da soja e do leite) apresentam comportamento muito parecido com as proteínas da própria carne, promovendo liga entre os pedaços de carne e retenção de água porque interagem diretamente com as proteínas cárneas ocupando espaços intersticiais na matriz do gel (PIETRASIK et al. 2006).

Frequentemente as proteínas atuam como agentes gelificantes em produtos cárneos, por aumentarem o rendimento e melhorarem textura através das propriedades de retenção de água (PIETRASIK e SHAND, 2003). Também atuam como estabilizantes naturais devido à sua natureza hidrofóbica e hidrofílica (OLIVO e SHIMOKOMAKI, 2001). Segundo Hsu e Sun (2005) existem diversos estudos da incorporação de proteínas nos mais diversos tipos de produtos cárneos, entre eles os embutidos emulsionados, presuntos, almôndegas e hambúrguer, com a finalidade de reduzir perdas no cozimento, reduzir custos de formulação, melhorar a

capacidade emulsificante, aumentar a retenção de água, melhorar o valor nutritivo e as características de fatiamento.

Youssef e Barbut (2011) mencionam que a proteína de soja melhora a capacidade de emulsificação e estabilidade dos produtos cárneos. Estes autores relatam que a utilização de proteína de soja na concentração de 1,50 % aumentou a dureza de emulsões. O aumento na concentração de proteína resultou em uma matriz mais densa e conseqüentemente produtos mais rígidos. Entretanto, os produtos apresentaram menor valor de L^* (luminosidade) e maiores valores de a^* (verde a vermelho) devido a redução da concentração da mioglobina o que resultou em produtos mais escuros.

Hsu e Sun (2006) afirmam que além de alterar a cor a soja pode desenvolver *off-flavor* em produtos cárneos. Schilling et al. (2004) testaram 1,5 a 3,5 % de proteína de soja concentrada em presuntos e observaram maior teor de umidade devido à maior retenção de água na matriz proteica e a soja prejudicou a cor do produto reduzindo a luminosidade e aumentando b^* (azul a amarelo). Os melhores resultados foram obtidos para concentrações de 2,0 a 2,5 %. Valores acima apresentaram liberação de líquido no produto final.

Daigle et al. (2005) mencionaram que a proteína de soja é um ingrediente barato e tem grande volume de produção. A soja aumenta a funcionalidade contribuindo para aumentar a capacidade de absorção de água, melhora a liga, coesão e absorção de gordura em produtos cárneos.

Estes últimos autores testaram 1,50 % de proteína de soja em presunto suíno. Os produtos apresentaram sinerese de 3,34 % e umidade expressível de 20,2 %. A utilização de soja reduziu a^* e aumentou b^* porém não houve diferença na aceitabilidade por parte dos consumidores.

2.3.1 COLÁGENO

O colágeno é a proteína dominante no tecido conjuntivo sendo encontrado sob várias formas em tecidos de todas as espécies de organismos multicelulares, exercendo funções diversas dependendo de sua localização (SHIMOKOMAKI et al., 2006; DAMORADAN et al., 2010) e é o maior responsável pela textura da carne e dos produtos cárneos (SCHILLING et al., 2003).

O termo colágeno deriva das palavras gregas KOLLA (cola) e GENNO

(produção), e literalmente tem sido empregado como matéria-prima na produção de cola animal (OLIVO e SHIMOKOMAKI, 2001).

O colágeno constitui cerca de 30 % de toda a matéria-prima orgânica do corpo dos animais e 60 % das proteínas totais do corpo (OCKERMAN e HANSEN, 1994).

O termo “colágeno” é atualmente utilizado para denominar uma família de pelo menos 27 isoformas de proteínas encontradas em tecidos conjuntivos ao longo do corpo, como ossos, tendões, cartilagem, veias, pele, dentes, bem como nos músculos (DAMORADAN et al., 2010; DEMAN, 1999).

2.3.1.1 ESTRUTURA E COMPOSIÇÃO

O colágeno é classificado em estriado (fibroso), não fibroso (formador de rede), microfibrilar (filamentoso) e associado às fibrilas. A unidade básica do colágeno é o tropocolágeno que é formado por três cadeias de polipeptídeos que se entrelaçam em formato helicoidal (Figura 2) formando uma molécula linear com 180 nm de comprimento, 1,4 a 1,5 μ m de largura e massa molecular de 360.000 Da (DEMAN, 1999). As moléculas de tropocolágeno são estabilizadas pelas interações hidrofóbicas e eletrostáticas (DAMORADAN et al., 2010).

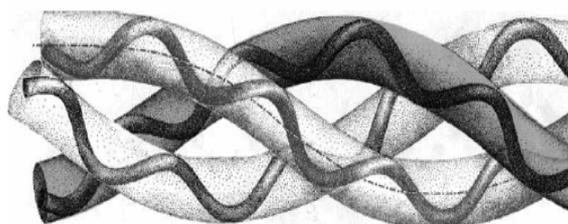


Figura 2 – Estrutura molecular do colágeno.

FONTE: TORNBERG , 2005.

O colágeno tipo I é o mais abundante e pode ser encontrado na pele, tendões, ligamentos e ossos. Este colágeno é uma proteína macromolecular constituída de três cadeias polipeptídicas (duas α_1 e uma α_2) que em sua porção central estão sob a forma helicoidal e nas extremidades amínica e carboxílica permanecem na forma globular (TORLEY et al., 2000). Nas porções globulares localizam-se as pontes cruzadas intermoleculares que estabilizam a estrutura das

fibrilas colagenosas o que, como consequência resulta em alteração da textura (enrijecimento) da carne na medida em que o animal envelhece (PRABHU e DOERSCHER, 2003).

Segundo Junqueira e Carneiro (2008) nos colágenos I, II e III as moléculas de tropocolágeno se juntam através de pontes de hidrogênio, interações hidrofóbicas e ligações covalentes para formar as fibrilas. Nos colágenos tipos I e III as fibrilas se associam para formar fibras. Para o colágeno tipo I a formação de fibras ocorre em pH 7,0, sendo este o pH em que ocorre a máxima interação eletrostática entre as moléculas de tropocolágeno fazendo com que a resultante de cargas na molécula seja zero (colágeno nativo) (PEDROSO, 2009).

No tipo II (presente na cartilagem) forma fibrilas mas não fibras. O colágeno IV presente na membrana basal não forma fibras nem fibrilas. Neste colágeno ocorre uma associação peculiar formando uma trama complexa (Junqueira e Carneiro, 2008) e sua estrutura é composta por uma tripla hélice de duas cadeias polipeptídicas α_1 (Tipo IV) e uma α_2 (Tipo IV). O tamanho da cadeia é de 340 nm sendo altamente reticulada por pontes dissulfeto. Na Tabela 2 podem ser observados os tipos de colágenos, característica da estrutura secundária e a distribuição dos mesmos.

TABELA 2 - Tipos de colágeno, características da estrutura secundária e distribuição dos mesmos.

| Tipo | Tripla Hélice | Distribuição |
|-------------|---|-----------------------|
| I | Duas cadeias α_1 idênticas e + uma cadeia α_2 | Pele, tendões e ossos |
| II | Três cadeias α_1 (II) | Cartilagens |
| III | Três cadeias α_1 (III) | Vasos sanguíneos |
| IV | Três cadeias α_1 (IV) | Membrana basal |

FONTE: WONG (1995); JUNQUEIRA e CARNEIRO (2008).

A tripla hélice contém 100 resíduos de aminoácidos de composição variada, esta diversidade de composição de aminoácidos das cadeias α leva à classificação de pelo menos quatro tipos de colágeno principais, porém em cada um dos tecidos pode haver mais de um tipo de colágeno (WONG, 1995).

Na microscopia de luz os colágenos que formam fibrilas: I, II, III, V e XI; são visíveis e podem ser visualizados como espessos, agregados frouxos, finos,

associados as fibras de colágeno I e fibras pequenas respectivamente. Os colágenos IX, XII, XIV estão associados às fibrilas e colágeno IV (que forma rede) não são visualizados sendo apenas detectados por imunocitoquímica (método que se baseia em reações químicas ou em interações de alta afinidade entre as moléculas). As fibras de colágeno tipo I ao microscópio de luz se coram em rosa pela hematoxilina e eosina, em azul pelo tricrômico de Masson e em vermelho pelo Sirius red (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008).

No colágeno tipo I, uma cadeia de polipeptídios comum apresenta aproximadamente 1.014 resíduos de aminoácidos com uma sequência repetida ao longo da cadeia de $(\text{Gly-X-Y})_n$ conforme a Figura 3. Gly é o aminoácido glicina, X quase sempre é prolina e o Y, hidroxiprolina ou hidroxilisina. Podem ocorrer aproximadamente 334 repetições desta sequência e a estrutura primária pode chegar a aproximadamente 100.000 Da (SCHRIEBER e GAREIS, 2007; GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2002). Os outros aminoácidos são formados por hidroxilação pós-translacional de prolina e lisina pela prolil hidroxilase e pela lisil hidroxilase, respectivamente (DAMORADAN et al., 2010; DEMAN, 1999).

Segundo Wong (1995) a sequência de aminoácidos do colágeno mostra que a maior parte da cadeia polipeptídica está formada por 44 % (Gly-X-X), 20 % (Gly-X-I), 27 % (Gly-I-X) e 9 % (Gly-I-I). Onde I é prolina ou hidroxiprolina e X é outro aminoácido que pode estar presente.

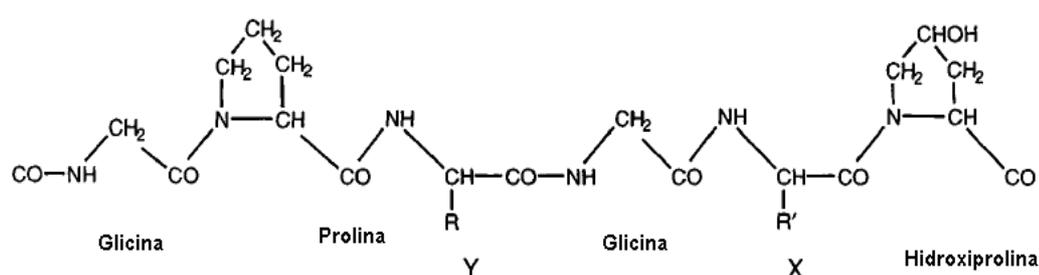


Figura 3 – Sequência de aminoácidos presentes na estrutura primária do colágeno.

FONTE: DEMAN (2009).

Em geral o colágeno contém cerca de 30 % de glicina, 12 % de prolina, 11 % de alanina, 10 % de hidroxiprolina, 1 % de hidroxilisina e pequenas quantidades de aminoácidos polares e carregados. A glicina, prolina e alanina são aminoácidos alifáticos e a lisina é um aminoácido com características básicas (DAMORADAN et al., 2010). O teor de hidroxiprolina é usado como parâmetro para estabelecer a

quantidade de colágeno na carne e produtos cárneos (SCHILLING et al., 2003).

A prolina e hidroxiprolina são responsáveis pela estrutura secundária do colágeno e estes aminoácidos são responsáveis pela estabilidade da tripla hélice. Uma menor quantidade ou a falta de hidroxiprolina faz com que o colágeno perca a conformação de tripla hélice quando submetida à elevação da temperatura (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2002). O teor de hidroxiprolina é importante para a propriedade de gelificação. Também estão presentes no colágeno hidrocarbonetos como galactose e glicose ligados nos resíduos de hidroxilisina via grupo funcional do aminoácido hidroxil (SCHRIEBER e GAREIS, 2007).

Devido ao predomínio dos aminoácidos glicina, prolina, alanina, hidroxiprolina e hidroxilisina e ausência da maioria dos aminoácidos essenciais (não há triptofano e as concentrações de metionina, cistina e tirosina são muito baixas) fazem com que o colágeno seja considerado pobre para a dieta humana (OCKERMAN e HANSEN, 1994; PEARSON e GILLET, 1999). Entretanto, segundo Ziegler (2006) o valor nutricional da gelatina, bem como do colágeno hidrolisado só é estabelecido quando consumido em combinação com outra proteína ou misturas de proteínas, usados com a finalidade de suplemento proteico, aumentando assim seu valor nutritivo.

Estudos da estrutura indicam que a cadeia lateral de cada resíduo de glicina, composta por um átomo de hidrogênio, é direcionada para o centro da espiral da hélice. Devido ao tamanho reduzido do átomo de hidrogênio, em comparação a outros aminoácidos, a glicina é o único aminoácido cuja cadeia é levemente torcida em relação à outra, o que permite uma ponte de hidrogênio entre a amida polipeptídica do hidrogênio de um resíduo de glicina com o oxigênio carbonila do resíduo X adjacente, em outra cadeia. A presença de prolina e de hidroxiprolina em intervalos frequentes ao longo da sequência impede que a cadeia adote a forma clássica de α -hélice por causa das limitações possíveis dos ângulos dos resíduos (DAMORADAN et al. 2010).

2.3.2 DERIVADOS DO COLÁGENO NATIVO

A partir do colágeno nativo podem ser obtidos: fibra de colágeno, colágeno parcialmente hidrolisado (gelatina) e colágeno hidrolisado, como pode ser observado na Figura 4.

Do ponto de vista químico o colágeno e a gelatina (colágeno parcialmente hidrolisado) são compostos por grandes cadeias de aminoácidos, ligados por ligações peptídicas e estes aminoácidos contêm grupos funcionais ácidos e básicos (OCKERMAN e HANSEN, 1994).

Para fins de produção industrial, a gelatina é obtida a partir da matéria-prima por hidrólise parcial via ácida e alcalina e o colágeno hidrolisado é obtido por hidrólise química e enzimática sob condições controladas (SCHRIEBER e GAREIS, 2007; DENIS et al., 2008).

Conforme Stainsby, (1987) citado por Gómez-Guillén et al. (2011), o colágeno nativo insolúvel é convertido em uma forma adequada para a extração através do aquecimento acima de 45 °C. Um pré-tratamento químico é utilizado para quebrar as ligações não-covalentes e desorganizar a estrutura da proteína para produzir um adequado inchamento e solubilização do colágeno. O tratamento de aquecimento subsequente quebra as ligações de hidrogênio e ligações covalentes desestabilizando a tripla-hélice resultando em um estado de transição entre colágeno e gelatina.

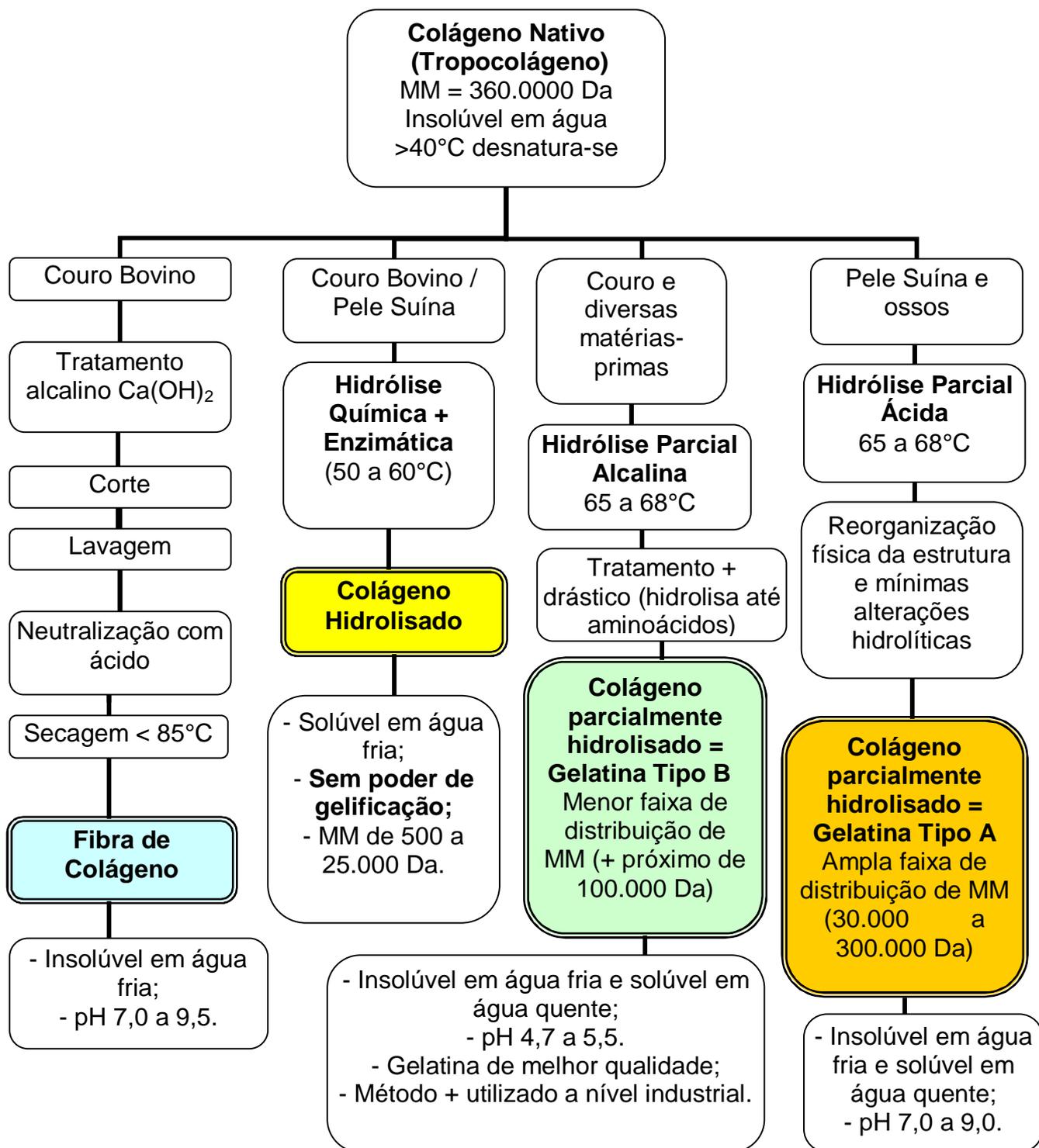


Figura 4 – Diagrama de fluxo de obtenção de fibra de colágeno, colágeno hidrolisado e colágeno parcialmente hidrolisado (gelatina). FONTE: Adaptado de SCHRIEBER e GAREIS (2007), OCKERMAN e HANSEN (1994), NOVAPROM (2006), DEMAN, (1999) e DAMORADAN et al. (2010).

O grau de conversão de colágeno depende do pré-tratamento realizado e do processo de extração (pH, tempo e temperatura). A presença de prolina e hidroxiprolina em adequadas proporções no produto final são importantes pois estabilizarão a tripla hélice através de pontes de hidrogênio (SEGTMAN e ISAKSSON, 2004).

Gómez-Estaca et al. (2009) mencionam que uma proporção de aproximadamente 33 % de glicina e 22 % de prolina é característica da presença de colágeno tipo I e que a provável disposição das cadeias α é Gly-X-Y (onde X é prolina e Y é hidroxiprolina). Entretanto, Olivo e Shimokomaki (2001) encontraram uma proporção de apenas 18,13 % \pm 2,10 de glicina para fibra de colágeno bovino onde foi identificada a presença de colágeno tipo I. Segundo estes mesmos autores a presença de glicina em menor proporção indica que existem outras proteínas presentes no colágeno. Na Tabela 3 podem ser visualizada a composição de aminoácidos dos diferentes tipos de colágeno.

Segundo Gómez-Guillén (2002) e Gómez-Guillén et al. (2011) a sequência glicina-prolina-hidroxiprolina é um dos fatores que afeta a termoestabilidade do colágeno porque a hidroxiprolina e prolina são responsáveis pela estabilidade da tripla hélice através de ponte de hidrogênio (SEGTMAN e ISAKSSON, 2004). Como o processo de produção de colágeno e gelatina envolve a destruição da estrutura terciária, secundária (tripla hélice) e em alguns casos da estrutura primária (cadeia α) da macromolécula do colágeno (Bosch e Gielens, 2003) ocorre fragmentação e formação de pequenas cadeias (KARIM e BHAT, 2008).

Schrieber e Garreis (2007) mencionam que além da composição de aminoácidos a presença de cadeias α e β e os respectivos fragmentos de maior e menor massa molecular são responsáveis pelas características da gelatina pois segundo Karim e Bhat (2008) no processo de resfriamento as cadeias podem retroceder e formar novas estruturas em tripla hélice embora não necessariamente com as mesmas características da tripla hélice do colágeno nativo. Essa re-formação de nova triplas hélices é necessária para o processo de geleificação.

TABELA 3 – Composição de aminoácidos da gelatina (Tipo A e Tipo B), fibra de colágeno e fibra de colágeno em pó e colágeno nativo Tipo I por 100 resíduos.

| Aminoácidos (g/100g) | Gelatina Tipo A | Gelatina Tipo B | Fibra de Colágeno Bovino* | Fibra de Colágeno Bovino em Pó* | Colágeno Bovino Tipo I |
|-----------------------------|------------------------|------------------------|----------------------------------|--|-------------------------------|
| Alanina | 11,2 | 11,7 | 9,98 | 9,04 | 11,4 |
| Arginina | 4,9 | 4,8 | 8,05 | 7,24 | 5,1 |
| Asparagina | 1,6 | 0 | 0 | 0 | 1,6 |
| Ácido | | | | | |
| Aspártico | 2,9 | 4,6 | 5,95 | 5,47 | 2,9 |
| Cistina | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Ácido | | | | | |
| glutâmico | 4,8 | 7,2 | 11,01 | 10,06 | 4,8 |
| Glutamina | 2,5 | 0 | 0 | 0 | 2,5 |
| Glicina | 33 | 33,5 | 22,96 | 20,95 | 33,2 |
| Histidina | 0,4 | 0,42 | 0,93 | 0,96 | 0,44 |
| Hidroxiprolina | 9,1 | 9,3 | ** | ** | 10,4 |
| Hidroxilisina | 0,64 | 0,43 | ** | ** | 0,54 |
| Isoleucina | 1,0 | 1,1 | 1,79 | 1,62 | 1,1 |
| Leucina | 2,4 | 2,43 | 3,31 | 2,96 | 2,4 |
| Lisina | 2,7 | 2,8 | 4,07 | 3,86 | 2,8 |
| Metionina | 0,36 | 0,39 | 0,74 | 0,70 | 0,57 |
| Fenilalanina | 1,4 | 1,4 | 2,13 | 1,96 | 1,3 |
| Prolina | 13,2 | 12,4 | 13,18 | 12,03 | 11,5 |
| Serina | 3,5 | 3,3 | 3,34 | 3,04 | 3,5 |
| Treonina | 1,8 | 1,8 | 1,85 | 1,66 | 1,7 |
| Triptofano | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Tirosina | 0,26 | 0,12 | 0,66 | 0,60 | 0,44 |
| Valina | 2,6 | 2,2 | 2,57 | 2,31 | 2,2 |

FONTE: Adaptado de SCHRIEBER e GAREIS (2007) e NOVAPROM (2006).

Fibra de colágeno e fibra de colágeno em pó

Segundo Santana et al. (2012) e Máximo e Cunha (2010), a fibra de colágeno (Figura 5) é um novo ingrediente obtido do colágeno nativo obtida de camadas internas do couro bovino (provenientes do fibroblasto que é a célula que origina o colágeno que está presente no tecido conjuntivo). A fibra passa por processo químico (tratamento alcalino com hidróxido de cálcio), posterior desengorduramento e secagem a baixas temperaturas.

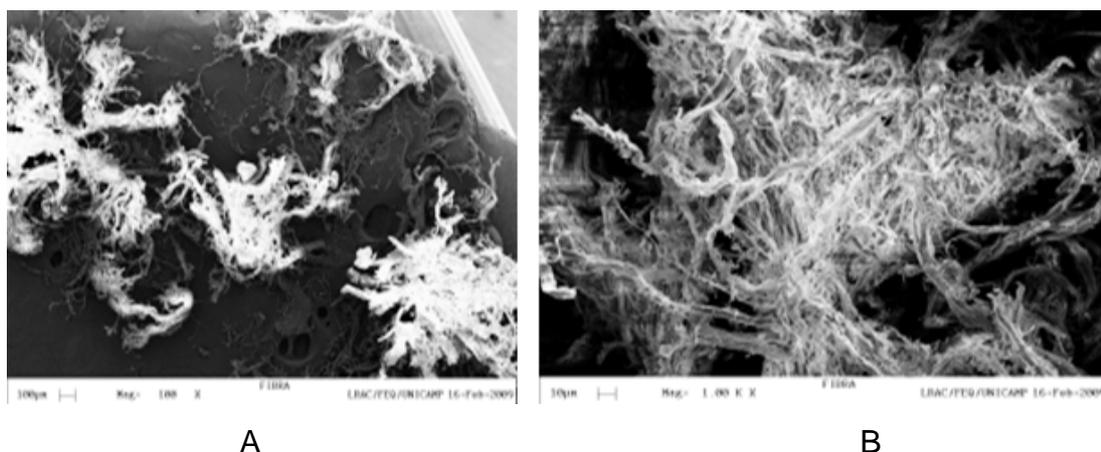


Figura 5 – Microscopia eletrônica de varredura da fibra de colágeno. A ampliação em 100x e B em 1000x. FONTE: NOVAPROM (2006).

A fibra de colágeno em pó (Figura 6) é obtida por processo similar ao da fibra de colágeno, porém submetida a temperaturas mais elevadas e posterior moagem. A maior diferença entre a fibra de colágeno e a fibra de colágeno em pó é que a fibra além de reter água quimicamente (tanto pela matriz proteica quanto pelas pontes de hidrogênio feitas com a água) devido a sua forma física, a fibra incha ao entrar em contato com a água e bloqueia a saída de umidade e gordura do sistema. Este efeito confere textura e coesão à massa, propriedade inexistente no colágeno hidrolisado (NOVAPROM, 2006) e por isso a aplicação da fibra de colágeno proporciona vantagens funcionais como extensor e ligante de água (OLIVO e SHIMOKOMAKI, 2001).

Em termos de dimensões, a fibra tem tamanho de partícula entre 1,80 a 1,92 mm e a fibra em pó entre 0,45 a 0,57 mm. Uma desvantagem da fibra é que não pode ser injetada e ambos apresentam capacidade de retenção de água em até seis vezes o seu peso.

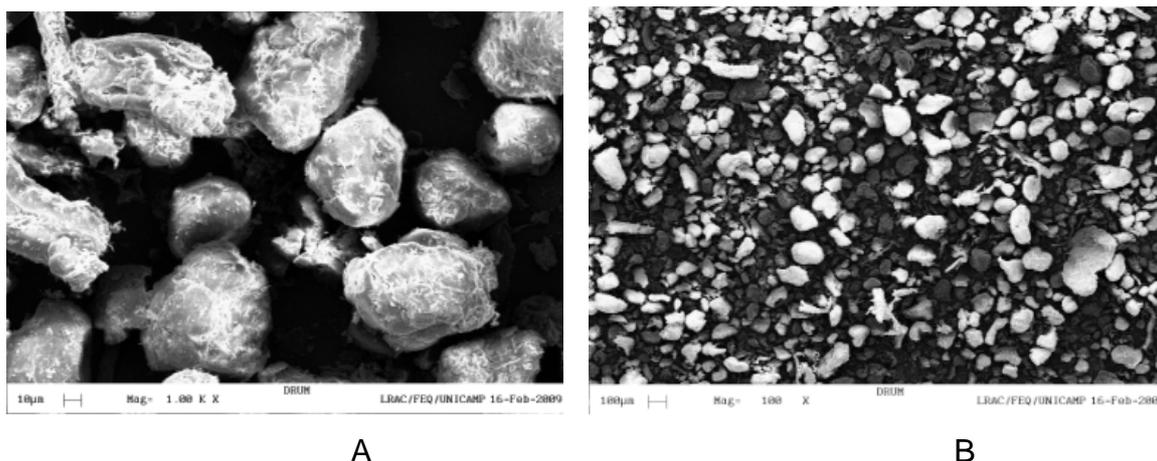


Figura 6 – Microscopia eletrônica de varredura da fibra de colágeno em pó. A ampliação em 100x e B em 1000x. FONTE: NOVAPROM (2006).

Colágeno hidrolisado

Colágeno hidrolisado é uma proteína natural derivada do colágeno nativo, encontrado na pele e ossos (particularmente de bovinos, suínos, aves e peixes) (DENIS et al., 2008). A diferença em relação ao colágeno nativo é que estas proteínas são solúveis em água ou em salmoura e apresentam um elevado conteúdo proteico (84 a 90 %). Sua utilização deve-se pela capacidade de retenção de água e alto teor proteico (FRANCISCHETTI, 2007).

O colágeno hidrolisado é extraído da pele ou de ossos de animais devidamente inspecionados, em água de 50 a 60°C ou utilizando-se enzimas (OLIVO e SHIMOKOMAKI, 2001; DAMORADAN et al., 2010).

Em função do método de extração utilizado, as frações obtidas podem apresentar propriedades de gelificação distintas, entretanto, segundo Damoradan et al. (2010) preparações com colágeno com massas moleculares menor que 20.000 Da não podem formar géis.

A distribuição de massa molar, estrutura, composição e subsequente características e propriedades funcionais, dependem das condições de processamento, da matéria-prima e da especificidade da enzima utilizada na obtenção de colágeno hidrolisado. O controle da distribuição da massa molar do colágeno hidrolisado é um meio de assegurar o controle do processo de fabricação.

A cromatografia de exclusão molecular, cromatografia de permeação em gel ou cromatografia de filtração em gel são métodos utilizados para determinação da

distribuição do massa molar, número e massa molar média de polímeros e em particular de gelatina e colágeno (DENIS et al., 2008).

O colágeno pode ser quimicamente modificado por esterificação, acilação, desaminação de grupos amino de lisina ou proteção de grupos guanidino dos resíduos de arginina (BET et al., 2001)

Colágeno parcialmente hidrolisado (gelatina)

A gelatina é uma proteína solúvel em água obtida pela hidrólise controlada (65 a 68 °C) do colágeno (tecido conectivo branco fibroso) que inicialmente é insolúvel em água (OCKERMAN e HANSEN, 1994; BARBUT e MITTAL, 1991; DEMAN, 1999; DAMORADAN et al., 2010).

Existem três tipos de gelatina: α , com uma massa molecular de 80.000 a 125.000 Da; β , com massa molecular de 160.000 para 250.000 Da; e γ , com massa molecular de 240.000 a 375.000 Da (POPPE, 1992). Comercialmente se misturam as gelatinas para obtenção de produtos com determinadas aplicações industriais (OCKERMAN e HANSEN, 1994).

Gelatina é um ingrediente barato, comumente utilizado para reter água e como agente de gelificação com mínimo valor nutricional. Ela pode ser utilizada em produtos cárneos tais como presuntos, salsichas, etc. É usada para diminuir as perdas e melhorar a transferência de massa durante o cozimento. Pode ser utilizada na proporção de 3 a 15 %, mas normalmente utilizam-se de 0,5 a 3 % (SAMS, 2001).

O objetivo na elaboração de gelatina é controlar a hidrólise do colágeno e converter o produto resultante em um material solúvel com propriedades físicas e químicas desejáveis, entre elas a consistência do gel, aderência, cor e transparência (OCKERMAN e HANSEN, 1994).

Gelatina também é o termo usado para os produtos derivados de colágeno de mamíferos que podem ser dispersos em água e formam geis termorreversíveis. Os geis formados pela gelatina podem ser considerados como um retorno parcial das moléculas para um estado ordenado (GIRARD, 1991).

A gelatina forma geis reversíveis induzidos por frio que são estabilizados por ligações de hidrogênio. No entanto, a dissociação e a agregação do colágeno em gelatina solúvel necessitam de umidade e calor prolongados (DAMORADAN et al., 2010).

A conversão de tropocolágeno em gelatina requer a quebra das ligações de hidrogênio que estabilizam a tripla hélice, transformando-a em uma configuração ao acaso que é característica da gelatina. O produto hidrolisado depende das ligações cruzadas entre as cadeias peptídicas e os grupos reativos livres amino ou carboxílicos terminais que se formam.

Dado que as três cadeias não são idênticas, depois da degradação resultam três tipos novos de cadeias: a cadeia α (composta de apenas uma cadeia peptídica), as cadeias β (formadas por duas cadeias peptídicas entrelaçadas) e as cadeias γ (formadas por três cadeias interconectadas). A gelatina conterà, portanto várias massas molares (OCKERMAN e HANSEN, 1994). A distribuição das massa molares da gelatina determinará características como dispersabilidade em água, viscosidade, aderência e resistência do gel.

Quanto maior a concentração de moléculas de baixa massa molar, menor a viscosidade e a resistência do gel. Este efeito se deve à exposição do colágeno e da gelatina a temperaturas elevadas ou uma acidez ou alcalinidade elevadas, o que pode também ser influenciado pela qualidade da matéria-prima e tempo de maceração em álcali (SCHRIEBER e GAREIS, 2007).

O processo de transformação de colágeno em gelatina envolve as três seguintes alterações: ruptura de um número limitado de peptídeos, ruptura ou desorganização das ligações entre as cadeias laterais e mudança na configuração da cadeia. A última delas é a única mudança fundamental para conversão de colágeno em gelatina (DEMAN, 1999; BOSCH e GIELENS, 2003).

Segundo este mesmo autor, as condições empregadas durante a produção de gelatina determina suas características. Se há uma ruptura extensa de peptídeos, muitos resíduos laterais podem permanecer intactos e fragmentos solúveis são produzidos. Se muitas ligações laterais são destruídas, as moléculas de gelatina podem ter comprimentos de cadeia relativamente longos. Assim, há uma grande variedade de gelatinas. O retorno a uma estrutura altamente organizada não é possível. Uma gelatina de alta qualidade tem uma massa molecular de 60.000 a 80.000 Da (SCHRIEBER e GAREIS, 2007).

Quando a gelatina é colocada em água fria absorve 5 a 10 vezes seu próprio peso em água e incha. Quando este material é aquecido acima do ponto de fusão, entre 27 e 34°C, a gelatina dissolve-se inchando-se. Este estado de transformação sol-gel é reversível.

Poppe (1992) descreveu que o mecanismo de formação de gel envolve a reversão de uma estrutura de bobina para hélice. Após o resfriamento, as regiões ricas em ácido imino de diferentes cadeias formam uma estrutura helicoidal, que é estabilizada por ligações de hidrogênio. Então ocorre a formação do gel tridimensional da matriz.

As principais matérias-primas da indústria de colágeno e gelatina são a pele suína, couro bovino e ossos. Nos EUA a elaboração da gelatina comestível utiliza-se basicamente a pele suína. A matéria-prima é pré-tratada durante 8 a 12 semanas submersa a 15 a 20°C em uma solução de 2 a 5 % de hidróxido de cálcio seguido de neutralização ou ação de ácido mineral diluído (< 5 %, pH 3,5 - 4,5) durante 24 a 48 horas a temperatura ambiente, seguida de lavagem (WONG, 1995; SCHRIEBER e GAREIS, 2007).

O processo alcalino é utilizado amplamente para o pré-tratamento do couro bovino e o ácido para a pele suína. A gelatina obtida pelo método ácido é denominada Tipo A e pelo método básico é do Tipo B. O tratamento despolimeriza o colágeno rompendo as ligações cruzadas inter e intramoleculares (WONG, 1995). Os dois tipos de gelatina diferem em sua viscosidade e na capacidade de combinar com hidrocoloides carregados negativamente, como exemplo a carragena (DEMAN, 1999).

Em produção normal, as peles e ossos são extraídos em primeiro lugar, em condições relativamente suaves, seguida por extrações sucessivas em condições mais severas. Na primeira extração obtém gelatinas de melhor qualidade.

Essencialmente o processo consiste em três etapas fundamentais: separação do colágeno do resto dos componentes da matéria-prima com a mínima alteração possível, hidrólise controlada do colágeno para sua conversão em gelatina, recozimento e dessecação do produto final. É necessária uma hidrólise controlada para converter o colágeno (cuja massa molar oscila entre 345.000 e 360.000 Da) em gelatina (com uma margem de massa molar de 10.000 a 65.000 Da, e só em alguns casos chegando a 250.000 Da). Uma hidrólise prolongada provoca redução dos rendimentos e das propriedades desejáveis. A natureza e as condições da matéria-prima podem influenciar no produto final (OCKERMAN e HANSEN, 1994). Segundo estes mesmos autores além do processo alcalino e ácido existe ainda a extração por pressão com vapor.

A extração a temperaturas elevadas segue rompendo as ligações cruzadas,

no entanto, sobretudo destrói as pontes de hidrogênio que são o papel chave da estabilidade da estrutura do colágeno (WONG, 1995).

Processo ácido (Gelatina Tipo A)

Aplica-se principalmente para pele suína e ossos. No processo ácido ocorre uma reorganização física da estrutura do colágeno com um mínimo de alterações hidrolíticas. Como consequência há um ligeiro aumento dos grupo amino primários e dos grupo carboxílicos livres (OCKERMAN e HANSEN, 1994).

O método ácido é o menos eficaz, mas como a matéria-prima pele suína apresenta colágeno com menor grau de ligações inter cruzadas este método acaba sendo adequado (WONG, 1995).

A massa molar dos produtos é de 70.000 a 90.000 Da. As gelatinas obtidas de pele suína apresentam géis mais transparentes e melhor cor do que as obtidas de couro bovino pelo processo alcalino.

Segundo Ockermann e Hansen (1994) a gelatina obtida no processo ácido mantém muitas ligações cruzadas do colágeno e tem sido sugerido que este tipo de produto seja chamado de colágeno hidrolisado solúvel.

Processo alcalino (Gelatina Tipo B)

É o sistema mais empregado a nível comercial. Qualquer material com colágeno (peles, nervos e osseína dos ossos) pode ser processado com esta técnica.

A alcalinidade faz com que as substâncias distintas do colágeno como queratina, globulinas, mucopolissacarídeos, elastina, mucina e albuminas se modifiquem tornando-se mais solúveis. Os lipídeos se convertem em produtos polares. Com isso quando submetidos à lavagem estes produtos são facilmente removidos (SCHRIEBER e GAREIS, 2007).

O processo alcalino promove alterações químicas (reações hidrolíticas) no colágeno e o processo térmico tem a função de romper as ligações que mantém a estrutura fibrilar do colágeno. Este procedimento libera amônia que é proveniente dos grupos amino do colágeno. Depois deste processo as fibras ficam inchadas e a coesão interna se reduz. Este fato possibilita a ruptura de certas ligações peptídicas e a introdução de novos grupos iônicos nas moléculas.

Alguns grupos específicos se rompem dando lugar a hidrólise das ligações

cruzadas (despolimerização) que mantém as unidades de tropocolágeno, assim mantém-se as ligações intramoleculares das unidades básicas e o produto solubiliza-se facilmente em água. O processo alcalino pode gerar moléculas ligeiramente ramificadas com massas molares de 10.000 a 60.000 Da (OCKERMAN e HANSEN, 1994).

O tratamento alcalino hidrolisa também a glutamina e a asparagina (o que pode ser comprovado na Tabela 4 anterior) porque o ponto isoelétrico da gelatina preparada por este processo é de aproximadamente pH ~ 5,0, em contraste com a gelatina obtida pelo método ácido (pH ~ 9,0) (WONG, 1995).

A gelatina extraída pelos dois processos seguem para as etapas de filtração, evaporação, esterilização e dessecação para obtenção de um produto final pulverulento (SCHRIEBER e GAREIS, 2007).

A estabilidade térmica do colágeno está relacionada com seu conteúdo de aminoácidos (prolina e hidroxiprolina). Quanto mais elevado o conteúdo de aminoácidos maior é a estabilidade das hélices. O colágeno se desnatura a temperaturas superiores a 40°C gerando uma mescla de espécies com uma, duas ou três cadeias polipeptídicas enroladas ao acaso (WONG, 1995).

O resfriamento controlado (abaixo da temperatura de fusão) conduz a recuperação de uma estrutura helicoidal.

A gelificação da gelatina dissolvida permite um retorno da estrutura do colágeno por parte das moléculas desorganizadas da gelatina. No entanto, a gelatina comercial tem uma composição e uma estrutura heterogênea relacionada com as condições do processo de obtenção e da matéria-prima. A gelatina pode conter cadeias polipeptídicas de massas moleculares de aproximadamente 30.000 a 300.000 Da. A obtenção pelo método alcalino contém mais grupos carboxílicos do que a obtida pelo tratamento ácido (WONG, 1995; SCHRIEBER e GAREIS, 2007).

A nucleação que afeta as seções ricas em aminoácidos proporciona zonas de união para estabelecimento de uma rede tridimensional de gel. Durante o resfriamento posterior se produz um ordenamento adicional via ligações intra e interquaternárias (WONG, 1995).

Para Wong (1995) o enrolamento e repregueamento dão origem a um retorno da estrutura típica do colágeno e isto reforça a rigidez do gel. O resultado é essencialmente uma rede aberta formada através da associação de cadeias nas zonas de união, ricas em grupos amino, reforçadas por regiões nas quais se tem

reconstituída a estrutura helicoidal do colágeno.

2.3.3 PROPRIEDADES FÍSICAS DA GELATINA

A gelatina é praticamente insípida e inodora, sólida com aspecto vítreo, de uma densidade relativa de 1,3 a 1,4 kg.L⁻¹. A coloração da gelatina é alterada conforme o aumento da temperatura no processo de extração porque ocorre reação de Maillard entre as proteínas e os carboidratos presentes no material.

As gelatinas Tipo A tem ponto isoelétrico entre 7 e 9 e do Tipo B entre 4,7 a 5,5. Através de modificações no processo podem ser obtidas gelatinas com ponto isoelétrico intermediário entre os tipos A e B. As diferenças de massa molar podem influenciar diretamente nas propriedades físicas (SCHRIEBER e GAREIS, 2007).

Segundo Schrieber e Gareis (2007) as propriedades funcionais da gelatina podem ser divididas em dois grupos. O primeiro grupo são as propriedades gelificantes (força de gel, viscosidade, espessamento, texturização e ligação de água) e o segundo grupo refere-se as propriedades de superfície, ou seja, estabilização e formação de emulsão, formação de espuma, formação de filme, coesão e adesão.

A formação do gel é devido a pontes de hidrogênio que fazem com que as moléculas de gelatina se agrupem em micelas formando um produto semi-sólido que se liga-se com a água. As gelatinas comerciais oscilam de 50 a 300 g (*Bloom*) (SCHRIEBER e GAREIS, 2007; OCKERMAN e HANSEN, 1994).

A resistência do gel (Força de *Bloom*) é uma medida de dureza, consistência, firmeza e compressibilidade de um gel a uma determinada temperatura, avaliada através da carga em g (gramas) requerida para produzir uma depressão no gel em condições normais. A resistência do gel também depende da concentração e do massa molar. Diferentes tipos de gelatina resultam em diferentes tipos de força de gel. O valor de *Bloom* está correlacionado com a massa molecular do colágeno. Alto valor de *Bloom* resulta em geis mais firmes.

Hernández-Briones et al. (2009) estudaram a capacidade de formação de gel de gelatina de peixe. Concentrações até 0,5 % foram efetivas na melhoria da capacidade de formação de gel, em contrapartida, concentrações entre 5 e 10 % reduziram o modo elástico do gel consideravelmente. Isto pode ser explicado porque devido a alta concentração de gelatina aumentam-se as interações proteína-proteína

e reduz-se a entrada de água na estrutura tornando-a indisponível para a gelatinização protéica.

Concordando com estes autores, Yang et al. (2007) encontraram para a gelatina de peixe pequena ou nenhuma interação com a matriz do gel. Também foi observado no perfil de gelatinização da mistura de miosina de carne de frango e gelatina de pele suína em temperaturas de 25 a 80°C que ocorreu um maior módulo elástico do gel para miosina pura do que para mistura gelatina-miosina. Possivelmente pela natureza eletrostática das interações entre estas proteínas. Neste trabalho sugeriu-se que a aplicação de gelatina em produtos reestruturados de frango não é adequada.

A gelatina pode ter caráter anfótero (Figura 7), ou seja, dependendo do pH pode ter características negativas ou positivas. A umidade pode variar de 7 a 15 % e varia de acordo com o grau de secagem. O conteúdo de cinzas deve ser inferior a 2 % (OCKERMAN e HANSEN, 1994).

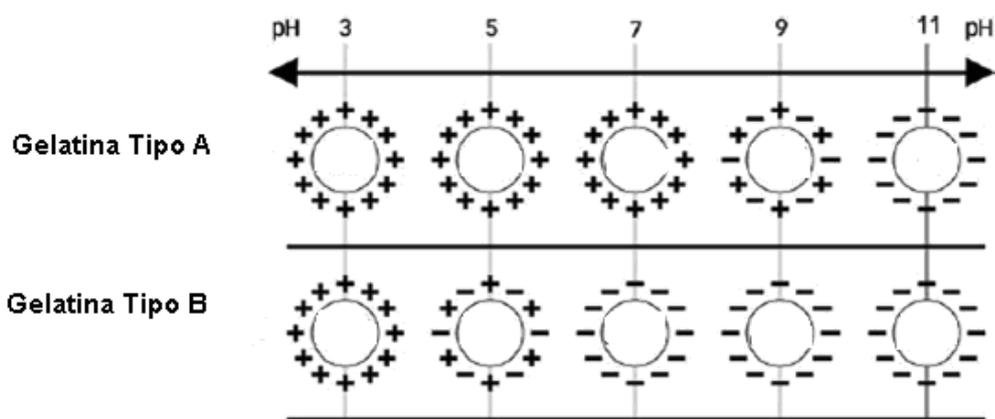


Figura 7 – Representação do caráter anfótero da gelatina dependendo do pH.

FONTE: Adaptado de SCHRIEBER e GAREIS (2007).

2.3.4 APLICAÇÕES DE COLÁGENO EM PRODUTOS CÁRNEOS

Com aumento do consumo de produtos industrializados e das exigências por parte dos consumidores, a textura passou a ter um papel muito importante na percepção do consumidor no que se refere à qualidade de presunto. Diferenças na textura, observadas durante a degustação, podem conferir a um produto de uma determinada marca uma melhor ou pior posição no mercado (RAMOS e GOMIDE, 2007).

A textura relaciona-se às propriedades reológicas e estruturais (geométricas e de superfície) dos produtos. Relaciona-se também com a sensibilidade térmica e sinestésica. A avaliação da textura é mais complexa nos alimentos sólidos, como nos ensaios de corte, compressão, relaxação, penetração, cisalhamento, dobramento. Pode afetar o processamento, manipulação, conservação e aceitabilidade de um produto. É também conhecida como parâmetro sensorial multidimensional (PIETRASIK et al., 2006).

Segundo Delahunty et al. (1997) as principais características de qualidade desejadas em presuntos são: coesividade, cor, flavor, textura firme e suculência, sendo a textura a mais importante entre elas porque está diretamente relacionada com a fatiabilidade do produto.

Os principais problemas observados após o processamento de presuntos são: difícil fatiabilidade (quebra das peças) e perda excessiva de líquidos após o cozimento (sinerese) (PARDI, 1996). Segundo Pedroso (2008) a perda de água pode gerar acúmulo de líquidos em embalagens, causando má impressão ao consumidor. Outro problema é que os presuntos normalmente são fatiados no ponto de venda e a liberação de líquido pode causar prejuízo devido à perda de massa.

A sinerese ou liberação de líquido é a exsudação de pequenas quantidades de água e nutrientes solúveis que ocorre devido à aproximação das moléculas de proteínas durante o cozimento (MORI et al., 1998; CASSENS, 1995).

Para Sams (2001) a quebra das peças durante o fatiamento está relacionada com a má qualidade dos músculos utilizados, balanço da salmoura deficiente, falhas na extração das proteínas solúveis, relação gordura-proteína desfavorável, carne com pH muito ácido, falta de vácuo no “tumbleamento”, falhas na extração de vácuo no envase e excesso de cozimento. A fatiabilidade considerada padrão em presunto suíno é de 77 % (MITTAL e USBORNE, 2006).

Vários ingredientes são utilizados com objetivo de reduzir a quebra de cozimento, aumentar a vida-de-prateleira, reduzir custos da formulação, aumentar a capacidade de retenção de água, melhorar o valor nutritivo e fatiamento (MITTAL e USBORNE, 2006; BARBUT, 2002). É muito raro que um ingrediente por si só possa suprir todas as características funcionais desejadas em um produto cárneo. Usualmente combinações são necessárias, tais como, a inclusão de proteína de soja, amido e gomas para dar textura semelhante a dos produtos cárneos (SAMS, 2001).

Tratando-se de presunto, os ingredientes mais utilizados são combinações de gomas e proteína de soja. Estes ingredientes influenciam na formação de uma matriz contínua durante o aquecimento e gelatinização, modificando a viscosidade, mobilidade e outras propriedades da fase aquosa e influenciando na aparência e no tamanho das partículas, distribuição e propriedades reológicas (textura) e fração volumétrica do gel (BARRERA et al., 2002).

Pesquisas com utilização de colágeno para melhorar CRA, mostraram que, mesmo em baixos níveis, este ingrediente é um efetivo estabilizante, contribuindo para melhoria do sabor e da suculência (ALMEIDA et al., 2006). Embora alguns estudos não sejam concordantes, a adição de colágeno geralmente aumenta a dureza e a suculência de salsichas (BUENO, 2008).

Os estudos do colágeno iniciaram na década de 30, mas vêm se intensificando nos últimos trinta anos, especialmente o desenvolvimento de aplicações e na abordagem nutricional (MICHELINI et al., 2007). Sua utilização se deve à capacidade de retenção de água, propriedades geleificantes e alto teor proteico (FRANCISCHETTI, 2007). Segundo Daigle et al. (2005) a utilização de colágeno pode aumentar o teor de umidade, gordura e proteínas de produtos cárneos.

No Brasil, os estudos de Olivo (1995) revelaram que o colágeno participa benéficamente em emulsões cárneas na faixa de 15 % a 18 % de seu peso em relação à fração proteica ou aproximadamente 2 % em relação ao peso total da massa. Acima desse teor, apesar de continuar auxiliando na textura, o colágeno passa a prejudicar a estabilidade da massa, principalmente em sistemas com alto teor de gordura.

Segundo Olivo e Shimokomaki (2002) devido às suas propriedades como extensor, umidificante, emulsificante, melhorador de textura e valor nutritivo, o colágeno tem um grande potencial de aplicação na indústria de alimentos. Na indústria de carnes as potencialidades funcionais do colágeno poderiam ser melhor aproveitadas em produtos reestruturados e emulsionados, conferindo melhor desempenho tecnológico e econômico.

Segundo Della Torre (2004) são conhecidos poucos detalhes sobre o exato mecanismo de interação do colágeno com outros ingredientes em emulsões cárneas.

A aplicação de colágeno hidrolisado em produtos cárneos pode constituir uma

alternativa para incrementar a ingestão de colágeno pelo consumidor moderno e criando uma oportunidade para a indústria frigorífica introduzir produtos cárneos funcionais (FRANCISCHETTI, 2007). Devido às suas características e propriedades tais como baixa viscosidade em solução aquosa, odor neutro, incolor, transparência, propriedades emulsificantes e estabilizantes, formação de espuma e filmes, solubilidade, dispersibilidade, molhabilidade, compressibilidade, transportador de substâncias e baixa alergenicidade, o colágeno apresenta numerosas aplicações industriais (DENIS et al., 2008).

As principais funcionalidades do colágeno hidrolisado em carnes são: aumento da retenção de água, melhoria de textura, melhoria da retenção de gordura, aumento do rendimento após cozimento, melhoria do fatiamento, não interferir na cor natural do produto ao qual é adicionado e diminuição da exsudação de líquidos em produtos frescos (NOVAPROM, 2006; MICHELINI et al., 2007). Geralmente os produtos cárneos adicionados de colágeno tornam-se mais macios (PEARSON e GILLET, 1999).

Michellini et al. (2007) estudaram o uso de colágeno hidrolisado a uma concentração de 4,89 %, como substituto de gordura em hambúguer bovino e observaram que o colágeno hidrolisado influenciou na cor, tornando-a mais clara e atribuindo um certo amarelamento ao produto. O produto desenvolvido foi considerado macio, porém a avaliação sensorial foi negativa. As perdas observadas no cozimento chegaram a 36,80 % e o mesmo estudo sugeriu a utilização de colágeno em pó em associação com a fibra.

Segundo Almeida et al. (2006) as concentrações de proteína dos produtos cárneos adicionados de colágeno aumentam a partir da adição de 3,63 %, demonstrando incorporação do colágeno no gel cárneo formado. Como o colágeno retém umidade no cozimento observa-se maior teor de umidade final nos produtos elaborados com este ingrediente (SCHILLING et al., 2003).

Li (2006) avaliou o emprego de 6 % de colágeno proveniente de galinhas de descarte em presunto cozido. A adição deste ingrediente conferiu maior dureza, sugerindo que as proteínas de pequeno tamanho quando adicionadas afetaram a textura dos presuntos, o que foi verificado pelo aumento da dureza de 11,96 para 16,91 N. As perdas durante o cozimento foram reduzidas de 21,3 % para 19,75 %. A adição deste extrato não provocou diferença nas propriedades de adesividade, elasticidade, coesividade e mastigabilidade.

Para Sams (2001) o colágeno adicionado em formulações pode ter um efeito negativo provocando encolhimento especialmente quando estes produtos são submetidos às altas temperaturas ou pode interferir na liga dos pedaços de carne em produtos formados.

Segundo Della Torre (2004) o uso de colágeno em carnes processadas é geralmente limitado, pois no aquecimento as moléculas de colágeno tendem a encolher-se e gelatinizar o que resulta na liberação de gel e gordura do produto. No entanto, a indústria processadora tem utilizado colágeno em produtos *low fat* em substituição à gordura, pois o mesmo tende a melhorar a textura excessivamente dura dos produtos com redução de gordura. A aceitação sensorial dos produtos adicionados de níveis elevados de colágeno diminui enquanto que a suculência do produto aumenta sugerindo que o colágeno interage na matriz proteica ao invés de prejudicar.

Segundo Rao e Henrickon (1983) citados por Della Torre (2004) o colágeno é uma proteína não balanceada e pode ser utilizado na substituição de carne gorda ou magra em embutidos suínos e bovinos até o máximo de 20 %, sem prejudicar as propriedades funcionais do produto final. Em emulsionados, o colágeno pode aumentar o rendimento e rigidez, entretanto, teores elevados podem reduzir a estabilidade da massa causando liberação de gordura e gelatina. Também ocorre uma redução da cor vermelha devido à diluição da mioglobina.

Fibras de colágeno foram adicionadas em produtos reestruturados de frango com baixo teor de gordura na proporção de 2 % e 20 % de água proporcionando uma textura mais macia e permitindo adição de altos níveis de água (PEARSON e DUTSON, 1997).

Bueno (2008) utilizou fibra natural de colágeno em concentrações de 0,1 % a 0,3 % em cortes bovinos. A fibra de colágeno atuou favoravelmente ao acréscimo da capacidade de retenção de água, mas sofreu decréscimo do seu efeito quando o nível de injeção foi alto (>20 %). Teores maiores de 0,14 % da fibra de colágeno na formulação injetada promoveram um aumento acentuado nos valores de força de cisalhamento observados no músculo Tríceps braquial. A adição de até 0,2 % de fibra de colágeno num processamento onde os níveis de injeção foram de 14 % ou menores possibilitou um alto rendimento para o processamento de carne cozida congelada elaborado com o músculo Tríceps braquial sem a utilização de tripolifosfato de sódio.

O colágeno hidrolisado modificado quimicamente também tem sido testado como componente de mistura de polímeros e complexos interpoliméricos com diversos usos na indústria médica (DASCALI et al., 2005).

Prestes (2008) estudou os efeitos da adição de amido modificado, colágeno hidrolisado e goma guar em presunto de peru. O colágeno testado continha frações superiores a 10.000 Da e foi testado nas concentrações de 0 a 2 %. Os resultados foram insatisfatórios para perdas e os presuntos tiveram baixa aceitação devido à formação de gel. Com base nos resultados encontrados sugeriram-se novas pesquisas utilizando a associação de colágeno na forma de fibra e colágeno hidrolisado para melhorar o desempenho deste ingrediente.

Neste mesmo trabalho os resultados mostraram que a adição de colágeno hidrolisado alterou a composição, características físicas e qualidade do produto final. Menores concentrações de colágeno indicaram menores perdas por congelamento e reaquecimento e menor sinerese no produto durante armazenamento. Os produtos desenvolvidos foram considerados iguais ao produto comercial em relação à textura ($p < 0,05$).

Daigle et al. (2005) estudaram a utilização de colágeno de peru em produto elaborado com peito de peru classificado como PSE. Foram testados 1,50 % colágeno de peru e 1,50 % de proteína de soja nas amostras trituradas em cubos de 2,5 x 2,5 mm. Os produtos apresentaram sinerese de 3,01 % após 48 h a 4°C e umidade expressível (determinação que corresponde a CRA) de 18,3 %. Para soja a sinerese foi de 3,34 % e umidade expressível de 20,2%. A utilização de colágeno e soja reduziu a^* e aumentaram b^* de 7,92 e 9,12 na carne para 6,42 e 6,96 e 9,90 e 9,44 respectivamente para colágeno e soja. Não houve diferença na aceitabilidade do produto pelos provadores. A utilização de colágeno e soja foi efetiva na redução da sinerese 22,2 % para 18,3 % e 20 % respectivamente.

A aplicação de colágeno nativo na proporção de 2 % mostrou efeito benéfico em emulsões cárneas. No estudo feito por Prabhu e Doerscher (2003) a adição de 1 % de colágeno em presuntos reduziu as perdas no cozimento e em níveis de 2 a 3 % reduziu a sinerese após quatro semanas de armazenamento. Não houve diferença na textura, leve alteração de cor foi observada, mas houve diferença sensorial quando o colágeno foi adicionado em quantidade acima de 2 %. Neste mesmo estudo, a sinerese observada após quatro semanas de armazenamento foi de 3,57, 3,29 e 2,50 % para adição de colágeno nas concentrações de 1, 2 e 3 %,

respectivamente.

Prabhu et al. (2004) estudaram quatro tratamentos de presunto suíno com colágeno (0 %, 1 %, 2 % e 3 %) e avaliaram sinerese, cor, textura e sensorial. Foram encontrados no produto final umidade de 74,36 % a 77,15 % (o colágeno contribuiu para redução da umidade) e proteína de 16,30 a 16,90 % (o colágeno contribuiu para aumento da proteína final). A avaliação de sinerese após duas semanas de produção indicou valores de 4,34, 3,44, 3,11 e 2,60 % respectivamente para os valores acima. Para os parâmetros de cor os valores encontrados para L* foram de 65 a 63,10, para a* de 12,09 a 12,51 e para b* 9 a 10,49. A incorporação de colágeno reduziu L* e aumento a* e b*. Na avaliação sensorial a adição colágeno acima de 2 % foi percebida pelos consumidores no teste de diferença. De maneira geral a utilização de 1,0, 2,0 ou 3,0 % de colágeno foram efetivos na sinerese após 8 semanas.

Waszkowiak e Dolata (2007) testaram colágeno hidrolisado e fibra de colágeno de suíno (separadamente) na imobilização de extrato de rosas como antioxidante e aplicando em salsichas numa concentração máxima de 2 %. Houve diferenças para umidade e proteína no produto final indicando menores valores para umidade e maiores de proteína para fibra de colágeno. De maneira geral a fibra de colágeno foi melhor que o hidrolisado quando testada para imobilizar antioxidante extrato de rosas para aplicação em salsichas.

Segundo Pietrazik (1999) quanto maior a porcentagem de proteínas adicionadas menor é a liberação de líquido, pois ocorre um maior o número de ligações entre as cadeias polipeptídicas durante o cozimento (formação de uma matriz proteica mais densa). A redução do teor de proteínas adicionadas resulta numa menor diluição da mioglobina melhorando a cor do produto.

Válková et al. (2007) avaliaram presuntos cozidos e encontraram 72,72 a 79,94 % de umidade, 1,56 a 4,04 % de lipídios, 0,420 a 0,970 % de colágeno, 8,77 a 14,85 % de proteína (sem colágeno) e cinzas de 3,13 a 4,83 %. Para textura foram obtidos valores entre 8,84 a 28,52 N. Nos parâmetros de cor os presuntos apresentaram 61,57 a 68,79 para L*, 8,14 a 13,95 (vermelho) para a* e 6,60 a 9,70 para b* (amarelo). O colágeno apresentou correlação negativa com b* e a*. Os produtos com menores valores de a* foram mais aceitos pelos consumidores provavelmente pelos produtos serem mais claros, além disso, foi observado que produtos com maior o teor de proteína apresentaram maior aceitação por parte dos

consumidores.

Schilling et al. (2003) concluíram que colágeno suíno auxiliou na retenção da água livre e contribuiu para a estabilidade da estrutura final de presunto suíno elaborado com 0, 50 e 100 % de carne PSE e adicionado de 0 a 3 % de colágeno. Quando adicionado em carne normal o colágeno foi efetivo na redução da perda no cozimento, entretanto, para carnes PSE 50 e 100 % não foi adequada. Foi observada tendência do colágeno em atuar em sinergia com as proteínas miofibrilares na retenção de água na estrutura cárnea.

Para os parâmetros físicos foram encontrados 18,39 % de umidade expressível quando foram adicionados 3% de colágeno. Para textura foi observado aumento da liga do produto e os resultados para textura ficaram em 1,45 kgf (o que corresponde a 14,22 N) para o produto com colágeno. Para cor foi observado que a adição de colágeno gerou produtos mais amarelados.

Binsi et al. (2009) e Vlierberghe; Schacht; Dubruel (2011) relataram recentes aplicações de gelatina como colóide e estabilizante principalmente em geis. Os estudos mais recentes baseia-se na caracterização e utilização de gelatina de peixe em hidrogéis (KARIM e BHAT, 2008; GOMÉZ-GUILLÉN et al., 2011).

Santana; Sato; Cunha (2012) e Máximo e Cunha (2010) estudaram fibra de colágeno ao nível de 1 % como estabilizante de emulsões, porém, antes da aplicação a fibra foi tratada em diferentes valores de pH e temperatura. Os resultados mostraram diferenças perceptíveis em análises de microscopia.

Karim e Bhat (2008) mencionam que a principal desvantagem da gelatina é a baixa estabilidade ao aquecimento, por isso sugerem a mistura de gelatina com polissacarídeos.

2.3.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base na revisão da literatura apresentada, foi possível verificar que existem poucos trabalhos que tratem especificamente de presunto de frango e aplicação de colágeno neste produto, visando melhoria da qualidade do produto. As características da própria matéria-prima já atuam de forma desfavorável para a I 70 textura do produto, dificultando o processo de produção e gerando perdas (má fatiabilidade, sinerese, reprocesso, etc.).

Como a produção de carne de frango no Brasil é significativa e cada vez mais

os consumidores vêm buscando novos produtos o presunto de frango é uma opção para indústria aumentar a linha de produtos com valor agregado e também atender aos consumidores que por razões religiosas ou de saúde não podem consumir o presunto suíno.

Também não há muitas pesquisas que avaliaram as diferenças entre colágenos e efeitos destes no tipo de produto em questão. Principalmente avaliando as características funcionais de cada colágeno e os resultados da aplicação nas características físico-químicas, microbiológicas, sensoriais e estruturais através da microscopia. Da mesma forma que existem poucos trabalhos que avaliaram o grau de moagem correlacionando com a qualidade do produto e se um maior ou menor tamanho da carne influencia na percepção do consumidor final deste tipo de produto.

Embora alguns resultados da aplicação de colágeno sejam contraditórios onde há melhora de textura em mortadelas e salsichas e formação de gel e menor aceitação sensorial em outros, se fazem necessárias novas pesquisas utilizando a associação de fibra de colágeno e colágeno hidrolisado para melhorar o desempenho deste ingrediente e também buscar respostas aos resultados desfavoráveis e encontrar o ponto ótimo para sua utilização.

Além disso, a substituição parcial ou total da proteína de soja por colágeno (proteína presente na própria carne) proporcionaria o desenvolvimento de um produto isento de proteínas vegetais e também uma alternativa mais econômica e viável à proteína isolada de soja.

Neste sentido este trabalho tem por objetivo gerar informação a respeito da diminuição da carne para o presunto de frango pois há uma cobrança "informal" da indústria pelos órgãos fiscalizadores de que a matéria-prima deveria ser utilizada integra, porém, como foi exposto na revisão bibliográfica e nos fundamentos teóricos a maioria dos países utiliza carne moída e em alguns casos até peito de frango como matéria-prima, o que não é permitido pela legislação brasileira.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Neste capítulo serão descritos os procedimentos experimentais adotados nos experimentos detalhando a metodologia empregada para a caracterização da matéria-prima e colágenos utilizados, testes preliminares, planejamento experimental utilizado para o desenvolvimento das formulações e descrição das metodologias para avaliação dos presuntos obtidos.

3.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA E INGREDIENTES

Os presuntos foram elaborados com coxas e sobrecoxas de frango sem pele desossadas congeladas adquiridas da empresa Aurora Alimentos de Erechim-RS. Para o processamento a matéria-prima foi previamente descongelada e refilada. A matéria-prima e produtos foram processados nas instalações da usina piloto de Tecnologia de Carnes da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI) em Erechim-RS.

3.1.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

Determinação do pH e temperatura

Foi utilizado um potenciômetro de pH DIGIMED DM-20 calibrado com solução a pH 3,0 e 7,0. O eletrodo de pH foi inserido na massa muscular previamente moída e diluída em 100 mL (BRASIL, 2005). A temperatura foi avaliada com termômetro que acompanha o potenciômetro.

Determinações físico-químicas

Foram realizadas as seguintes determinações em base úmida: umidade (método de gravimetria indireta a 105 °C), cinzas (método de incineração em mufla a 550 °C) e proteínas (método de Kjeldahl) e em base seca foram determinados os lipídios (método de Soxhlet). Todas as metodologias utilizadas para determinação da composição seguiram a metodologia oficial do Ministério da Saúde (BRASIL, 2005).

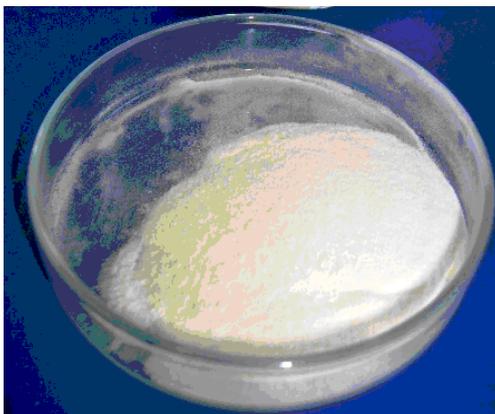
Determinação espectrofotométrica de hidroxiprolina e colágeno

Foi utilizado o método de referência para determinação do aminoácido

hidroxiprolina segundo metodologia descrita por BRASIL (2005). O método consiste na hidrólise da amostra em solução de ácido clorídrico em constante ebulição sob refluxo, sendo a solução então filtrada e diluída. A hidroxiprolina é então oxidada com Cloramina T. Posteriormente a cor púrpura é formada pela adição de 4-dimetilaminobenzaldeído sendo possível então a leitura espectrofotométrica (Biospectro) a 558 nm. A quantidade de hidroxiprolina na amostra é obtida em g/100g ou %. O fator 8,0 foi utilizado para converter o valor de hidroxiprolina em colágeno em g/100g ou %. Além da matéria-prima, os teores de hidroxiprolina e colágeno também foram determinados para os colágenos testados e presuntos desenvolvidos.

3.1.2 CARACTERIZAÇÃO DOS COLÁGENOS

Os colágenos bovinos testados foram codificados em A, B, C, D e E correspondendo respectivamente a fibra de colágeno em pó, fibra de colágeno, colágeno hidrolisado 1 (90 a 95 % de proteína e 3 a 8 % de umidade, colágeno sem poder de gelificação conforme informações do fornecedor), colágeno hidrolisado 2 (≥ 85 % de proteína e 12 % de umidade), colágeno sem poder de gelificação conforme informações do fornecedor) e gelatina (Bloom ≤ 260 g) (Figuras 8 e 9). Os colágenos testados foram doados pelas empresas Gelita South America e Novaprom Food Ingredients.



(A)



(B)

Figura 8 – Aspecto da fibra de colágeno em pó (A) e da fibra de colágeno (B).

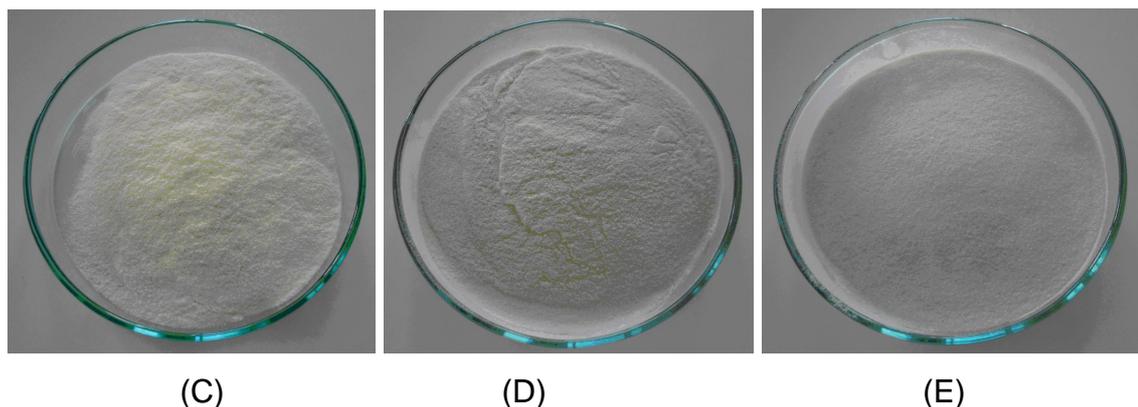


Figura 9 – Aspecto dos colágenos hidrolisados (C) e (D) e da gelatina (E).

Determinação da capacidade de absorção de água (CAA)

A absorção de água foi determinada para os colágenos e gelatinas testados seguindo o método descrito por Wang et al. (2006). Foram pesados 0,090 g de amostra em um tubo plástico de centrífuga de 14 mL e adicionados 9 mL de água destilada. Agitou-se a amostra por 30 segundos e o conteúdo foi deixado em repouso por 10 min e em seguida, centrifugou-se a amostra a 2.300 rpm por 25 min (centrífuga Quimis Q-222B2). Decantou-se e esgotou-se o sobrenadante.

O tubo foi colocado inclinado para baixo (ângulo de 15° a 20°) numa estufa a 50°C com circulação de ar por 25 min (Estufa Alpax 400-4ND). Esfriou-se o tubo em dessecador e pesou-se. A absorção de água foi calculada em relação a 100 g de amostra.

Determinação do pH

Conforme metodologia descrita por Schrieber e Gareis (2007) foi utilizado um potenciômetro de pH DIGIMED DM-20. O eletrodo de pH foi inserido nas soluções de colágeno e gelatina a 55 a 60°C, nas concentrações de 1,0 % (próximo da concentração que foi utilizada no produto) e 6,67 % (conforme metodologia utilizada).

Determinações físico-químicas

Foram realizadas as seguintes determinações em base úmida: umidade (método de gravimetria indireta a 105°C), cinzas (método de incineração em mufla a 550°C) e proteínas (método de Kjeldahl) e em base seca foram determinados os

lipídios (método de Soxhlet). Todas as metodologias utilizadas para determinação da composição seguiram metodologia oficial do Ministério da Saúde (BRASIL, 2005).

Análise de Espectroscopia de Infravermelho Transformada de Fourier (FTIR)

A FTIR utiliza a região do infravermelho do espectro eletromagnético. Pode ser usada para identificar um composto ou investigar a composição de uma amostra. Esta técnica se baseia no fato de que as ligações químicas das substâncias possuem frequências de vibração específicas, as quais correspondem a níveis de energia da molécula (chamados nesse caso de níveis vibracionais). Tais frequências dependem da forma, da superfície de energia potencial da molécula, da geometria molecular, das massas dos átomos e eventualmente do acoplamento vibrônico (SILVESTRIN e ALENCASTRO, 2007; PASQUINI, 2003).

As posições das bandas no espectro de infravermelho são apresentadas em número de ondas, cuja unidade é o centímetro inverso (cm^{-1}). A intensidade das bandas pode ser expressa em transmitância (T). Sendo que a transmitância é a razão entre a energia radiante transmitida por uma amostra e a energia radiante que nela incide (PASQUINI, 2003).

Se a molécula receber radiação eletromagnética com “exatamente” a mesma energia de uma dessas vibrações, então a luz será absorvida desde que sejam atendidos a determinadas condições. Para que uma vibração apareça no espectro, a molécula precisa sofrer uma variação no seu momento dipolar durante essa vibração (SILVESTRIN e ALENCASTRO, 2007; PASQUINI, 2003).

Com objetivo de avaliar as diferenças na estrutura dos colágenos e gelatina testados foi realizada a análise de FTIR. Geralmente a FTIR fornece informações a respeito da estrutura secundária α -hélice, folhas β , voltas β e irregulares (FORATO e COLNAGO, 1997).

Embora o espectro seja característico da molécula como um todo, certos grupos de átomos dão origem a bandas que correm mais ou menos na mesma frequência, independentemente da estrutura da molécula. Como exemplo a molécula de água a absorbância das ligações O-H ocorre em 1450 e 1940 cm^{-1} e nas proteínas a ligação N-H é em 1460-1570 cm^{-1} .

Conforme metodologia sugerida por Pedroso (2009) foi realizada FTIR dos colágenos utilizando espectrômetro Perkin-Elmer modelo Spectrum 100 através da

técnica de Refletância Total Atenuada (ATR) no intervalo de 500 a 4000 cm^{-1} . Foram realizadas 16 varreduras por espectro e resolução de 4 cm^{-1} .

Análise de Eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE)

A eletroforese é uma técnica amplamente utilizada para purificação de macromoléculas que permite que as moléculas sejam separadas de acordo com seu tamanho, forma ou carga. A metodologia utilizada foi baseada no método descrito por Laemmli (1970) citado por Pedroso (2009).

Para as análises de eletroforese em gel, as amostras foram preparadas por diluição em água obtendo-se uma concentração final de aproximadamente 5,0 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ para amostras A e B e 50,0 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ para as amostras C, D e E. Posteriormente foram adicionados 40 μL de ácido tricloroacético (TCA) em 100 μL das amostras a serem aplicadas no gel, contidas em tubos de centrífuga do tipo eppendorfs. Esta solução foi armazenada em freezer durante uma noite. Posteriormente as amostras foram centrifugadas a 10000xg, 4°C por 30 minutos, retirado o sobrenadante, tomando cuidado para que o pellet não fosse desfeito. Foi adicionado 100 μL de uma solução aquosa gelada de acetona 90 %, a fim de lavar o pellet sem desfazê-lo, sendo este centrifugado como na etapa anterior. Novamente o sobrenadante foi removido e adicionado mais 100 μL de acetona 90 % gelada e centrifugado nas mesmas condições, removendo novamente o sobrenadante. O precipitado foi ressuscitado com 50 μL do tampão da amostra (β -mercaptoetanol). Em seguida, as amostras foram desnaturadas em banho-maria a 100°C por 10 minutos.

O preparo do gel de resolução 7 % foi realizado em um béquer com adição de 2,298 mL de acrilamida / bis-acrilamida (30:0,8), 2,333 mL da solução tampão Tris-HCl 0,75 M pH 8,8, 35 μL da solução de persulfato de amônio 10 % e 2,33 μL de tetrametiletilenodiamina (TEMED). Todos estes componentes foram misturados e transferidos para a célula de eletroforese, deixando aproximadamente 2,5 cm da célula livre, o restante da célula foi completada com água destilada para formar uma linha reta sobre o gel, e deixado-o polimerizar por 40 minutos em temperatura ambiente, após a polimerização do gel a água foi retirada.

O preparo do gel de empilhamento 5 % foi realizado em um béquer, onde adicionou-se 0,208 mL de acrilamida / bis acrilamida (30:0,8), 1,042 mL da solução tampão Tris-HCl 0,25 M pH 6,8, 0,802 mL de água destilada e 31,25 μL da solução

de persulfato de amônio e 73,125 µL de tetrametiletilenodiamina (TEMED). Todos estes componentes foram misturados e transferidos para a célula de eletroforese, sobre o gel de resolução que já estava polimerizado. Antes de aplicar o gel de empilhamento, o pente foi colocado para a formação dos poços para a aplicação das amostras. Depois da completa polimerização do gel de empilhamento (cerca de 30 minutos), o pente foi retirado.

Após a polimerização do gel as amostras foram adicionadas. No primeiro poço foram adicionados 15 µL do padrão de massa molar (Fermentas Life Sciences), e nos outros poços foram adicionados 20 µL das amostras a serem analisadas.

A célula de eletroforese foi acomodada na cuba de eletroforese vertical e preenchida com tampão de corrida (contendo: 14 g de glicina, 1 g de dodecil sulfato de sódio (SDS), 3 g de Tris base e 1000 mL de água destilada) de modo a cobrir os poços do gel de empilhamento. A cuba foi fechada e ligada a uma fonte de alimentação de energia com corrente constante de 30 A e uma voltagem de 150 V, num tempo de aproximadamente 2 horas para as amostras percorrerem o gel.

Após a corrida, o gel de empilhamento foi removido, e o gel de resolução foi corado com a solução corante *Coomassie Brilliant Blue R-250* 0,1 % por aproximadamente 12 horas. Posteriormente o gel foi descorado com aquecimento em água destilada em micro-ondas até a perfeita visualização das bandas.

3.2 PROCESSAMENTO DO PRESUNTO DE FRANGO

Para a elaboração do presunto a matéria-prima foi previamente descongelada por aproximadamente 30 horas à temperatura ambiente ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) com objetivo de avaliar a ação dos ingredientes testados em condições desfavoráveis de CRA e funcionalidade. O exsudado liberado no descongelamento foi descartado. Posteriormente foi realizado o refile da matéria-prima que consistiu na retirada de cartilagens, tendões e excesso de gordura que poderiam posteriormente prejudicar sensorialmente o produto (Figuras 10 e 11). Esta matéria-prima foi caracterizada e utilizada para a elaboração dos presuntos.

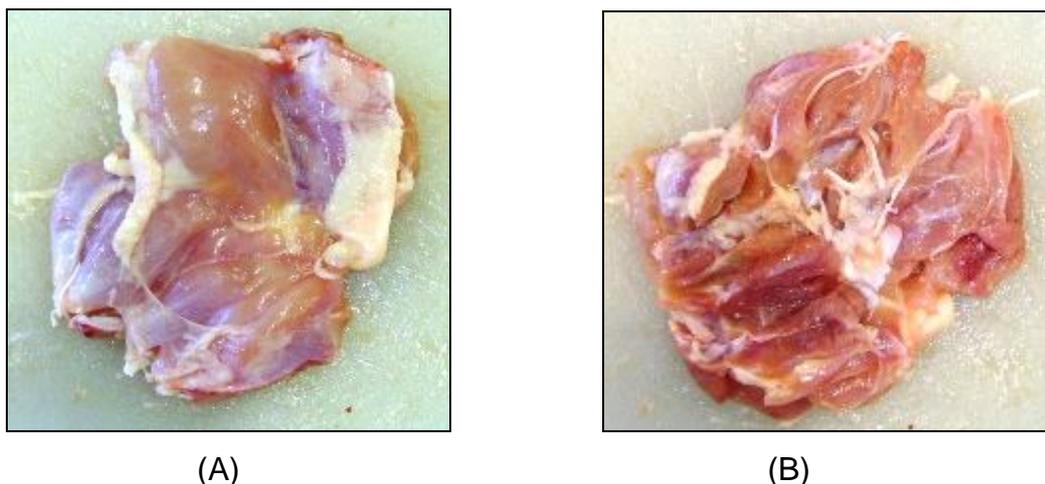


Figura 10 – Aspecto da coxa e sobrecoxa de frango antes do refile (lado externo (A) e lado interno (B)).



Figuras 11 – Aspecto da coxa (A) e sobrecoxa (B) de frango após refile.

Após o refile a matéria-prima foi triturada no moedor (Visa) utilizando diferentes discos (8, 14 e 22 mm) conforme Figura 12. Apenas para a formulação F14 a carne foi utilizada sem moer. Para padronizar a matéria-prima triturada em disco de 8 mm foi denominada de menor granulometria e a em disco de 22 mm foi denominada maior granulometria. No momento da preparação da matéria-prima foram retiradas amostras de carne para a etapa de caracterização. Os ingredientes foram adicionados à carne diretamente na misturadeira (Frigomaq) com capacidade para 15 kg (Figura 13) conforme será proposto adiante nos itens 3.4 e 3.5.



Figura 12 – Da esquerda para direita os discos de 22, 14 e 8 mm respectivamente utilizados para trituração da matéria-prima.



(A)



(B)

Figura 13 – Misturadeira (A) e aspecto da massa em processo de mistura (B).

A etapa de mistura ocorreu por período de 45 minutos (sem vácuo e sem refrigeração). Como precaução, a misturadeira foi revestida com gelo para garantir que a temperatura máxima da massa não atingisse valores acima dos 12°C conforme recomendam Ordóñez et al. (2005). A massa obtida ficou acondicionada em refrigerador convencional ($\pm 7^{\circ}\text{C}$) por período de aproximadamente 8 horas para cura do produto (Figura 14 (A)). Em seguida, as peças foram embutidas manualmente em embalagens de nylon/poliamida termoencolhíveis (Figura 14 (B)) que foram doados pela empresa Aurora Alimentos de Erechim-RS. As embalagens foram previamente hidratadas em água a $\pm 30^{\circ}\text{C}$ por um período aproximado de 30 minutos e cortadas para se adaptarem ao tamanho das fôrmas ovais (ZEUS S/A) de 500 g. Após o embutimento, as embalagens foram seladas em seladora (Selovac) e acondicionados nas formas.



Figura 14 – Aspecto da massa após processo de cura (A) e embutimento em embalagens termoencolhíveis (B).

O cozimento (Figura 15 (A)) foi realizado em tanque encamisado (Frigomaq) em etapas (escalonado), sendo: 30 minutos a 60°C, 30 minutos a 67°C, 30 minutos a 72°C, 30 min a 75°C e aproximadamente 185 minutos a 80°C até as peças atingirem 72°C internamente. Em seguida ocorreu o resfriamento (Figura 15 (B)) em banho de água fria e gelo por 2 horas. As amostras foram mantidas sob refrigeração ($\pm 7^{\circ}\text{C}$) até serem realizados os demais testes (Figura 16).



Figura 15 – Detalhe das etapas de cozimento (A) e resfriamento dos presuntos (B).

Etapa de cozimento foi escalonado para garantir a adequada gelatinização das proteínas sarcoplasmáticas, miofibrilares e estromais além de reduzir o consumo de energia e evitar a desnaturação proteica superficial que provocaria formação de uma barreira à troca de calor (TORNBERG, 2005).



Figura 16 – Aspectos dos produtos após resfriamento: vista superior (A) e vista lateral (B).

3.3 CARACTERIZAÇÃO DOS PRESUNTOS

As análises físico-químicas, sensoriais e microbiológicas do produto final foram realizadas nos laboratórios da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) no Campus de Pinhalzinho – SC e nos laboratórios da Universidade Regional do Alto Uruguai e das Missões (URI) em Erechim-RS. As análises de textura foram realizadas no laboratório de Embalagem do Centro de Tecnologia (CETEC) da empresa Brasil Foods (BRF) em Videira (SC) e a microscopia foi realizada no Laboratório de Histologia da clínica Medicina Diagnóstica em Erechim (RS).

Os presuntos foram avaliados visualmente através de fotografias e posteriormente submetidos as determinações posteriores conforme descrito abaixo.

3.3.1 Determinações físico-químicas

Foram realizadas as seguintes determinações em base úmida: umidade (método de gravimetria indireta a 105°C), cinzas (método de incineração em mufla a 550°C), proteínas (método de Kjeldahl), teor de nitrato (NaNO_3) e nitrito (NaNO_2) (método espectrofotométrico) e pH (método eletrométrico – amostra previamente triturada e adicionada de água destilada) conforme metodologia recomendada por BRASIL (2005). Para lipídios (método de Soxhlet) foi utilizada base seca conforme metodologia indicada por BRASIL (2005).

3.3.2 Determinação da Capacidade de Retenção de Água (CRA)

A Capacidade de Retenção de Água (CRA) foi avaliada utilizando o método de Ockermann e Organisciak (1989) adaptado. O método consistiu em retirar amostras de presunto com aproximadamente 3 cm de diâmetro e 2,5 cm de altura e pesá-las. As amostras foram comprimidas (50 %) com uso de uma placa de 3 kg durante 15 minutos (foi utilizada uma placa de vidro para proteger a amostra) (Figura 17). Esta avaliação foi realizada a temperatura ambiente. Após este período as amostras foram secas com papel toalha e pesadas novamente. O valor percentual de água retida foi determinado pela diferença de peso.



Figura 17 – Amostras de presunto de frango para CRA (A) e compressão das amostras (B).

3.3.3 Atividade de Água (A_w)

A A_w foi determinada com o aparelho com o aparelho Testo[®] modelo 650 calibrado e a uma temperatura de aproximadamente 20°C. O equipamento utiliza a técnica de determinação do ponto de orvalho em espelho encapsulado para medir a A_w de um produto.

3.3.4 Determinação das perdas

As perdas foram avaliadas com objetivo de analisar o comportamento dos presuntos quando submetidos ao resfriamento, congelamento, descongelamento e reaquecimento visto que atualmente a utilização deste produto em pratos prontos tem se tornado significativa.

Perdas por resfriamento

As perdas por resfriamento foram determinadas segundo metodologia sugerida por Yang et al. (2001) onde as amostras de presunto com aproximadamente 500 g foram mantidas por 10 dias a temperatura de refrigeração ($\pm 7^{\circ}\text{C}$) em balcão frigorífico (Refrimate), pesadas individualmente e retiradas das embalagens. As peças e embalagens foram secas com papel absorvente e novamente pesadas. O valor percentual foi determinado pela diferença de peso.

Perdas por congelamento

Seguindo a metodologia de Lee et al. (2002), com algumas adaptações, as amostras foram cortadas em cilindros de aproximadamente 1 cm de altura e 3 cm de diâmetro. As amostras foram então pesadas e embaladas individualmente em papel laminado (Figura 18) e levadas ao congelamento a $\pm 18^{\circ}\text{C}$. Após 72 horas de congelamento as peças foram descongeladas a temperatura ambiente por 4 horas e então embaladas em papel filtro (Whatmann nº1) de 12,5 cm de diâmetro. Posteriormente, as amostras foram prensadas entre duas placas de vidro usando aproximadamente 2.000xg por 5 minutos. Após a prensagem as amostras foram retiradas do papel filtro e novamente pesadas e o percentual de água perdido foi determinado pela diferença de peso.



Figura 18 – Amostras de presunto de frango antes do congelamento.

Perdas por reaquecimento

Seguindo metodologia proposta por Hachmeister e Herald (1998) as amostras foram cortadas em tamanhos uniformes de aproximadamente 2,0 x 2,0 x 6,0 cm e pesadas. Posteriormente foram mergulhadas em aproximadamente 400 mL de água em ebulição em béquer de 500 mL (Figura 19). Após o tratamento foram escorridas em papel toalha e colocadas sob refrigeração ($\pm 7^{\circ}\text{C}$) por 6 minutos. O percentual de

perda por reaquecimento foi dado pela diferença de peso.



(A)



(B)

Figura 19 – Amostras de presunto de frango para teste de reaquecimento (A) e (B).

3.3.5 Medida da Força de Cisalhamento e Compressão

Seguindo metodologia adaptada de Desmond et al. (2000), foi utilizado o texturômetro universal modelo IKCL2-USB (Kratos Equipamentos) com célula de carga de 5 kgf, carga máxima no eixo Y de 3 kgf, deslocamento máximo no eixo X de 8,32 mm, velocidade de $10 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$ e carga para ruptura de 20 % da carga total. Foram obtidos os valores de tensão de cisalhamento e compressão das amostras de presunto para os testes preliminares e para os experimentos do delineamento experimental foi realizada apenas avaliação da compressão.

As amostras foram cortadas em cilindros de aproximadamente 1,1 cm de altura e de diâmetro (Figura 20). Os valores de picos máximos de compressão foram convertidos de kgf para N. Para avaliação da tensão de cisalhamento as amostras de presunto de frango foram cortadas cilindros de aproximadamente 3,0 cm de diâmetro e 2,5 cm de altura.



Figura 20 – Teste de compressão (A) e teste de cisalhamento (B) das amostras de presunto de frango.

3.3.6 Avaliação da cor, cromaticidade e oxidação

As coordenadas de cor luminosidade (L^*) e cromaticidade (sendo a^* o índice de verde a vermelho e b^* o índice azul a amarelo) foram obtidas através do colorímetro Hunter Lab (modelo Mini Scan EZ 4500L) calibrado com padrão branco ($Y=93$, $x=0,3136$ e $y=0,3321$). A leitura foi realizada em fatias de presunto com aproximadamente 5 mm de espessura retiradas do centro da peça ($\pm 7^\circ\text{C}$). A cromaticidade (C^*_{ab}) foi calculada conforme a Equação (1) sugerida por CIE (1978) citado por García-Segovia; Andrés-Bello; Martínez-Monzó (2007).

$$\text{Equação (1): } C^*_{ab} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

A cromaticidade também pode ser denominada Índice de Saturação (C^*) e corresponde ao comprimento da projeção da localização da cor no plano (a^* , b^*) ou seja, o comprimento do vetor (RAMOS e GOMIDE, 2007).

Para avaliação da alteração da cor (oxidação) as mesmas fatias foram deixadas expostas a luz (aproximadamente 500 lux) por período de 60 minutos (temperatura ambiente de aproximadamente 20°C). Posteriormente foram avaliados os parâmetros de cor L^* , a^* e b^* para avaliar a alteração da cor (oxidação) quando exposta a luz e oxigênio.

3.3.7 Sinerese

Seguindo metodologia sugerida por Honikel e Hamm (1994) citada por O'Neill et al. (2003) com adaptações, as amostras de presunto foram cortadas em cubos medindo aproximadamente 2 x 2 cm de espessura. Posteriormente, dez cubos foram embalados a vácuo (embaladora Selovac) em pacotes plásticos (PET + PEBD laminado sem barreira e com aproximadamente 0,12 mm de espessura) que foram armazenados sob refrigeração ($\pm 7^\circ\text{C}$), em balcão frigorífico (Refrimate), e a cada dois dias foram deixados por 2 horas a temperatura ambiente para simular condições de estresse ao produto. Após as 2 horas o produto era retornado à refrigeração.

Após o período de sete dias de repetição do procedimento descrito acima a embalagem foi aberta e os cubos foram secos em papel toalha e pesados. O percentual de sinerese foi calculado pela diferença de peso.

3.3.8 Fatiabilidade

Seguindo a metodologia sugerida por O'Neill et al. (2003), em uma fatiadeira (Fun Kitchen) foram cortadas 10 fatias de presunto com aproximadamente 2 mm de espessura e monitorados os pedaços que se quebrarem durante o corte. O escore de fatiabilidade foi de 0 (extremamente ruim) a 10 (excelente). Os resultados foram expressos em porcentagem.

3.3.9 Análise Microbiológica

A análise microbiológica foi realizada segundo a RDC12 (BRASIL, 2001) para Coliformes 45 °C, *Salmonella* sp. e *Staphylococcus aureus* coagulase positiva e Clostrídios sulfito redutores. A análise microbiologia foi realizada apenas nas amostras destinadas à análise sensorial.

3.3.10 Análise Sensorial

A avaliação sensorial foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) na qual participaram 40 provadores não treinados (70 % mulheres e 30 % homens com idade média de 20 anos). Os provadores não consome habitualmente presunto de frango, no entanto consomem frequentemente presunto cozido de suíno.

Foram realizados dois testes com objetivo de verificar se os ingredientes testados e grau de moagem influenciaram ou não nas características sensoriais esperadas para presunto de frango (fichas no APÊNDICE).

Primeiramente foi realizado o teste de aceitabilidade das melhores formulações (escolhidas com base nos resultados físico-químicos) e posteriormente realizado o teste de comparação múltipla para comparar os produtos desenvolvidos com o padrão comercial. Nos testes preliminares (item 3.4) o produto foi comparado com presunto de frango disponível no mercado. Nos experimentos do Planejamento

Fatorial (item 3.5) os produtos foram comparados com a formulação padrão (CONTROLE) desenvolvida.

Teste de Aceitabilidade

Para a análise de aceitabilidade foi utilizada a Escala Hedônica. Este método avalia o quanto o provador gostou ou desgostou de uma determinada amostra e pode ser utilizado para provadores não-treinados (DUTKOSKY, 1996). Foi utilizada uma Escala Hedônica de nove pontos ancorada no nível máximo e mínimo desgostei extremamente (1) e gostei extremamente (9) (ABNT, 1998). As amostras cortadas em cubos foram codificadas e fornecidas aos 25 provadores não treinados onde cada um avaliou a impressão global do produto.

Comparação Múltipla ou Teste de Diferença-do-Controle

O objetivo do teste é saber ao mesmo tempo se existe diferença significativa ($p < 0,05$) entre vários tratamentos e uma referência e também estimar a magnitude da diferença. Foi realizado o Teste de Comparação Múltipla para avaliar se existia diferença significativa ($p < 0,05$) na textura das amostras tendo como referência uma amostra de presunto de frango controle (DUTCOSKY, 1996). Esta análise também foi realizada para estimar o grau de diferença de textura.

O princípio do teste consta do fornecimento de uma fatia da amostra padrão especificada com a letra P e as outras fatias das amostras codificadas seguindo o planejamento fatorial das formulações de presunto de frango. Os provadores foram solicitados a provar as amostras e compará-las com o padrão através de uma escala (1-melhor, 2-igual e 3-pior) e em uma segunda etapa avaliaram o grau de diferença entre a amostra codificada e a padrão usando uma escala (0-nenhum, 1-ligeiro, 2-regular, 3-muito e 4-extremo).

Foram feitos 15 julgamentos com provadores não treinados e as amostras foram fornecidas em fatias enroladas.

3.3.11 Avaliação Histológica

Como o presunto é um produto espesso, o mesmo precisa ser reduzido a cortes finos suficientemente transparentes para serem analisados ao microscópio de luz. Podem ser utilizados métodos de corte por congelamento ou métodos de

inclusão em parafina ou resinas (FLINT, 1994).

Foi utilizado o método de inclusão em parafina (convencional) seguido de dois métodos de coloração (Hematoxilina-Eosina e Tricrômico de Masson) para colágeno. Também foi realizado o método de Imunocitoquímico para identificar e localizar colágeno tipo IV nos cortes histológicos. A avaliação histológica e imunocitoquímica foi realizada no Laboratório de Medicina Diagnóstica em Erechim (RS).

Primeiramente, os presuntos foram seccionados longitudinalmente retirando-se três fragmentos que corresponderam ao centro e as duas extremidades. O material foi então, tratado segundo a técnica histológica convencional sendo preparadas 6 (seis) lâminas histológicas de cada formulação escolhida.

Foram realizadas três metodologias diferentes de histologia com o objetivo de visualizar e confirmar a presença de colágeno na estrutura do produto além da visualização da fibra muscular conforme as variações na granulometria da carne. O método de Hematoxilina-Eosina foi utilizado para visualizar as fibras de colágeno e diferenças na distribuição da gordura (adipócitos) e as fibras da carne para os tratamentos realizados. Já a técnica de Tricrômico de Masson foi utilizada para uma melhor visualização do colágeno presente nas amostras. E por fim, a técnica de imunocitoquímica foi utilizada com objetivo de comprovar a presença do colágeno nas amostras testadas.

As formulações foram escolhidas conforme o grau de moagem e presença/ausência de colágeno e proteína de soja, ou seja, aquelas que se esperava diferença perceptível em análises de microscopia. Foram selecionadas amostras das formulações F4 (menos cominuído e maior concentração de mistura de colágeno), F7 (maior proteína de soja, maior concentração de mistura de colágenos e mais cominuído), F8 (diferente do F7 apenas na moagem em maior disco), PC, F12 (sem colágeno e sem proteína de soja) e F13 (só com proteína de soja e moagem maior). Devido à grande quantidade de experimentos foram escolhidas as formulações nas quais era mais provável a visualização de diferenças por microscopia. Considerou-se que a formulação F4 é semelhante a F2; que a formulação F7 é semelhante a F5 e as formulações F3 e F8 semelhantes a F6.

Técnica Histológica Convencional

A técnica convencional consistiu nas etapas de fixação, inclusão e microtomia

conforme metodologia descrita por JUNQUEIRA e CARNEIRO (2008).

Fixação

Teve como objetivo evitar a destruição do produto por suas próprias enzimas ou por bactérias. As peças foram adequadamente tratadas com formol 10 % imediatamente após o corte visando endurecer os tecidos tornando-os mais resistentes às etapas subsequentes.

Inclusão

Na etapa de inclusão a peça foi embebida em parafina a fim de se obter cortes suficientemente finos para serem observados no microscópio. Para a inclusão na parafina foram necessárias outras quatro etapas (desidratação, diafanização, impregnação e inclusão propriamente dita). Na etapa de desidratação foi retirada a água presente nos tecidos pela passagem em alcoóis crescentes: 70°, 80°, 90° GL e absoluto. Esta etapa foi realizada em Histotécnico (LUPE PT 05).

A etapa seguinte foi a diafanização consistiu em impregnar a peça em xilol. Na impregnação ou embebição na parafina mergulha-se a peça em parafina fundida (60°C) no interior de uma estufa. Devido ao calor, o xilol evapora-se e os espaços previamente ocupados por eles são ocupados pela parafina. A inclusão propriamente dita é a confecção do bloco de parafina com a peça envolvida pela mesma.

Microtomia

É a etapa que consistiu na obtenção de cortes delgados por meio de uma navalha de aço do micrótomo rotativo (LEICA Modelo RM2125RT). A espessura média dos cortes foi de 4 µm. As etapas que sucedem são: Banho Maria a 37°C com objetivo de não formar dobras no preparo, adaptação na lâmina e adesão do corte na lâmina e a seguir foi levado à estufa a 37 a 40°C para posterior coloração.

Coloração

Realizada com a finalidade de se obter contraste e evidenciar os vários componentes estruturais na delgada fatia de tecido. A maioria dos corantes em histologia comportam-se como ácidos e bases. Para se corar foi necessário desparafinar o corte com xilol e hidratar com alcoóis decrescentes (absoluto, 90°,

70° e água destilada).

Hematoxilina – Eosina

Eosina é um corante ácido e a hematoxilina, embora não seja um corante básico, tem propriedades muito semelhantes às dos corantes básicos. Corante básico é a molécula que tem carga positiva (ou cargas positivas) na porção que possui maior cor, e, corante ácido é a molécula que tem carga negativa na sua porção que possui cor. Para esta avaliação foi utilizada hematoxilina (Merck) e eosina (Pró-Cito).

A técnica consistiu em banho de 30 minutos em xilol, deixa-se secar, mergulha-se 2 minutos em álcool absoluto, lava-se em água, aplica-se o corante Hematoxilina e deixa-o em contato por 90 minutos. Lava-se em água corrente e deixa-se descansar por 2 minutos. Aplica-se o corante Eosina por 30 minutos, lava-se em água por 2 minutos, na sequência utilizam-se banhos em álcool absoluto por 2 minutos, deixa-se secar e por fim 20 minutos em xilol.

Tricrômico de Masson para colágeno

Este método de coloração tem como finalidade demonstrar os tecidos conjuntivos(galhos) em especial as fibras de colágeno. Consistiu em desparafinizar as lâminas em xilol por 5 minutos. Após, hidratar as lâminas em álcool 99°, 95° e 70° GL e lavar em água corrente. Posteriormente as lâminas foram secas com papel.

Em um béquer pequeno foram misturadas 10 gotas do reagente hematoxilina férrica Weigert (cloreto férrico em ácido clorídrico diluído, hematoxilina em etanol a 95 % e ferricianeto de potássio alcalinizada por borato de sódio). Cobriu-se a lâmina com a mistura e deixou-se reagir por 10 minutos. Após a lâmina foi lavada em água corrente e seca. Colocou-se então 10 gotas do reagente C (solução alcoólica de ácido pícrico) e deixou-se agir por 6 minutos. Na sequência lavou-se rapidamente as seções com água destilada sem deixar sair totalmente a cor amarelada. Secou-se a lâmina e adicionou-se 10 gotas do reagente D (fucsina ponceau) deixando agir por 4 minutos. Lavou-se a lâmina em água e colocou-se na seção 10 gotas do reagente E (solução fosfomolibídica) e deixou-se agir por 5 minutos. As lâminas foram secas sem serem lavadas e colocou-se na seção 10 gotas do reagente F (azul anilina de Masson) e deixou-se agir por 10 minutos. Lavou-se em água destilada e desidratou-se rapidamente em série de álcool ascendente até xilol. Posteriormente montou-se

as lâminas. Todos os reagentes utilizados foram adquiridos da empresa Erviegas.

Método Imunocitoquímico

A imunocitoquímica é a detecção de antígenos específicos nos tecidos através do uso de anticorpos preparados para reagir contra essas substâncias (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008).

Ramos e Gomide (2007) mencionam a utilização de diversos métodos histoquímicos para determinação da atividade enzimática em tecidos cárneos.

Foi utilizado o anticorpo primário de colágeno IV (Collagen Type IV Clone CIV-22 M0785 e Isotipo IgG1 kappa da DAKO) para avaliação *in vitro*. Este anticorpo foi fornecido na forma líquida como sobrenadante de cultura de células dialisadas com 50 mmol/L com tampão Tris-HCl em pH 7,2 e adicionado de 14 μ mol/L de NaN_3 . O anticorpo reconhece o colágeno IV na conformação nativa apresentando coloração marrom. O anticorpo é efetivo em diagnósticos de carcinomas em rins, pele, músculo liso e estriado, baço, linfonodos, pulmão, placenta e tendões.

Na mesma lâmina foi colocado um controle positivo, que consistiu em um fragmento de pele humana que havia apresentado diagnóstico positivo para o anticorpo ao qual foi testado.

Para esta análise foi utilizado o sistema de polímero EnVision FLEX em plataforma automatizada Autostainer LINK 48 (DAKO) e todo procedimento utilizado está devidamente documentado e padronizado pelo laboratório de Medicina Diagnóstica e auditado pelo Ministério da Saúde (ANVISA).

Fixação dos tecidos

O início da técnica consistiu na fixação dos tecidos nas lâminas onde as mesmas foram colocadas em estufa (BIOPAR) à temperatura entre 65 a 70°C durante 1 hora.

Desparafinização e Recuperação

Primeiramente é feita a desparafinização, rehidratação e recuperação antigênica com tampões FLEX (DAKO) de baixo ou alto pH de acordo com pré-definição presente no programa informatizado para cada marcador tecidual. Ao final do ciclo o equipamento emite sinal sonoro, as “raques” são então retiradas e

depositadas em “*rinse stations*” onde aguardam por 5 minutos em solução “*Wash Buffer*” equivalente a tampão de lavagem.

Incubação, Revelação e Contracoloração

Na plataforma automatizada são depositados em “*raque*” específica os marcadores e demais reagentes requeridos pela técnica e também são colocadas as lâminas. Neste momento ocorre a incubação com anticorpos primários por 20 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente ocorre a amplificação realizada com sistemas EnVision FLEX (DAKO), revelação em dois tempos de 5 minutos com o sistema cromogênico DAB+líquido FLEX (DAKO) e contracoloração com Hematoxilina.

Desidratação e Montagem

As lâminas passam agora por três cubas contendo álcool em concentração ascendente e dois xilóis, posteriormente são depositadas em “*raque*” e montadas com bálsamo do Canadá em aparelho CoverSlipper (DAKO).

Avaliação dos dados

O objetivo da utilização das três técnicas foi avaliar qualitativamente a presença do colágeno natural e o adicionado nas formulações, variações nos adipócitos e na fibra da carne com a variação da moagem e comprovação da presença do colágeno através da imunocitoquímica. As lâminas foram avaliadas no microscópio de luz (NIKON Model Eclipse E200) e as imagens foram capturadas pelo programa Laudo-Imagem com auxílio de câmera (LINCE MV LAB PLUS). Os aumentos utilizados foram de 40 e 100x (vezes).

3.3.12 Avaliação do *shelf-life* dos presuntos desenvolvidos

Para avaliar o *shelf-life* dos produtos desenvolvidos foram realizadas avaliações de pH e sinerese após os 60 dias de produção seguindo as metodologias descritas anteriormente para pH e sinerese.

3.3.13 Análise Estatística

Para os experimentos preliminares o delineamento experimental foi casualizado e foram realizadas triplicatas para cada teste.

Para os testes posteriores foi utilizado o delineamento composto central (DCC) 2³ e foram realizadas triplicatas para cada teste. Apenas para cor instrumental (L*, a* e b*) e compressão foram realizadas seis leituras devido as variações destes parâmetros em decorrência do tipo de amostra (presunto).

Os resultados obtidos nos testes preliminares e posteriores (análises físico-químicas e sensoriais) foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e Teste de Tukey com nível de significância de 95 % ($p < 0,05$) utilizando o programa Statistica[®] 8.0 (STATSOFT Inc). Os gráficos e cálculos dos efeitos também foram obtidos pelo programa computacional mencionado anteriormente e Microsoft Excel[®] 2003 (Microsoft Co.).

Foram avaliadas as seguintes respostas: capacidade de retenção de água (CRA), sinerese, perdas por reaquecimento, congelamento e resfriamento, fatiabilidade, compressão, umidade, hidroxiprolina, proteína e os parâmetros de cor (L*, a* e b*).

3.4 TESTES PRELIMINARES

Com a finalidade de selecionar os colágenos e/ou mistura destes e grau de moagem da matéria-prima foram realizados alguns testes preliminares com base em algumas informações que nortearam o desenvolvimento deste estudo e que estão citadas abaixo:

- Vários autores mencionam que a utilização de colágeno é viável em concentrações de até 2,0 % (OLIVO, 1995; PRABHU e DOERSCHER, 2003; PEARSON e DUTSON, 1997; DAIGLE et al., 2005; PRABHU; DOERSCHER; HULL, 2004) porém não mencionam o emprego de menores concentrações e nem qual seriam os resultados para misturas de colágenos.

- Com base nos resultados de Prestes (2008) e Michelini et al. (2007) sugeriu-se novos testes com colágeno e/ou misturas de colágeno, com o objetivo de melhorar o desempenho deste ingrediente, pois os resultados obtidos para colágeno hidrolisado, em presunto de peru, foram insatisfatórios (formação de gel e baixa

aceitação sensorial) quando testado em até 2,0 % (que também é o máximo permitido pela legislação).

- Neste trabalho, conforme já citado anteriormente, as formulações que continham colágeno acima de 1,0 % apresentaram exsudado gelatinoso prejudicando sensorialmente o aspecto visual dos produtos.

- Conhecimentos adquiridos em período anterior de atuação na indústria (aproximadamente 3,5 anos) na área de Pesquisa e Desenvolvimento de Produtos a partir de testes com diferentes tipos de colágeno em produtos da linha de Presuntaria e também pelas dificuldades encontradas no desenvolvimento do Presunto de Frango em escala industrial, levaram à necessidade de maior estudo sobre este produto. Neste período de desenvolvimento do trabalho foi observado que havia oportunidade de um maior estudo da adição de hidrocoloides para melhorar a textura do produto e do grau de moagem, visto que a matéria-prima influencia extremamente a qualidade, devido às suas características peculiares em termos de tamanho, coloração e quantidade de tecido conjuntivo.

- Interesse pelo maior conhecimento da influência do grau de moagem nas características dos produtos cárneos e na percepção sensorial dos consumidores devido à “polêmica de moer ou não” a carne para utilização neste produto.

- Para realização dos testes haviam cinco amostras de diferentes colágenos e de diferentes fornecedores. A seleção destes foi proposta com base nos resultados que seriam obtidos pela aplicação direta nos produtos nos testes preliminares, pois era inviável a aplicação de um delineamento experimental apenas para seleção do colágeno devido à quantidade excessiva de experimentos.

Primeiramente foram realizados quatro testes (T1, T2, T3 e T4) com diferentes concentrações de colágeno e/ou mistura na concentração máxima de 1,0 % (melhores resultados encontrados no Mestrado de Prestes (2008)) mantendo-se 1,0 % de proteína de soja (onde a somatória dos dois ingredientes não excederia os 2,0 % permitidos pela legislação para proteínas não-cárneas) e variando o grau de moagem da matéria-prima utilizando os discos disponíveis (8 e 14 mm) sendo:

T 1 – 1 % B e moagem da matéria-prima 50 % em disco de 8 mm e 50 % em disco de 14 mm.

T 2 – (0,5 % A + 0,5 % B) e moagem de 100 % da matéria-prima em disco de 8 mm.

T 3 – (0,5 % E + 0,5 % de C) e moagem de 100 % da matéria-prima em disco de

14 mm.

T 4 – (0,5 % D + 0,25 % A + 0,25 % B) e moagem de 100 % da matéria-prima em disco de 14 mm.

Para avaliar os produtos desenvolvidos nestes testes foram determinadas: as características físico-químicas, capacidade de retenção de água (CRA), pH, perdas por congelamento, resfriamento e reaquecimento, força de cisalhamento e compressão, cor, análise microbiológica e sensorial conforme descrito no item 3.5.

Posteriormente foram realizados quatro testes adicionais (T5, T6, T7 e T8), sendo T5 para avaliar o desempenho individual do colágeno E na concentração de 1,0 % e T6, T7 e T8 reduzindo o tempo de mistura de 1 hora para 30 ou 45 minutos seguindo as especificações abaixo:

T 5 – 1 % E e moagem da matéria-prima 100 % em disco de 14 mm.

T 6 - (0,5 % A + 0,5 % B) e moagem de 100 % da matéria-prima em disco de 14 mm por 30 minutos.

T 7 - (0,5 % A + 0,5 % B) e moagem de 100 % da matéria-prima em disco de 14 mm por 45 minutos.

T 8 - (0,5 % A + 0,5 % B) e moagem de 100 % da matéria-prima em disco de 14 mm por 60 minutos.

Para avaliar estes últimos testes foi realizado apenas a avaliação visual do aspecto do produto e avaliação da textura através do teste de compressão conforme descrito no item 3.5.

3.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Com base nos resultados preliminares e informações citadas anteriormente, como também no interesse de ampliar o grau de cominuição da matéria-prima, diminuir a concentração de soja até o nível de 0% e ampliar a concentração de colágeno testada na busca do ponto ótimo para sua utilização, optou-se por um delineamento fatorial 2^3 com três repetições no ponto central (Tabela 4). As variáveis foram: grau de moagem (mm), proteína isolada de soja (%) e mistura de colágenos (%).

Baseando-se nos melhores resultados dos testes preliminares utilizou-se uma

mistura de colágenos seguindo a proporção fixa de 50 % de fibra de colágeno e 50 % de fibra de colágeno em pó. Portanto, no delineamento experimental foram testadas as seguintes concentrações da mistura: 0,75 % (0,375 % de fibra e 0,375 % de fibra em pó), 1,00 % (0,50 % de fibra e 0,50 % de fibra em pó) e 1,25 % (0,625 % de fibra e 0,625 % de fibra em pó).

As concentrações de proteína isolada de soja e/ou colágeno foram definidas com base no limite máximo de 2,0 % permitido pela legislação brasileira para utilização de proteínas de origem vegetal e/ou animal em presunto (BRASIL, 2000). Para o grau de moagem foram testados três graus de moagem diferentes (8, 14 e 22 mm) sendo que foram mantidos os dois discos testados nos testes preliminares (8 e 14 mm) e adicionado o disco de 22 mm com objetivo de aumentar a granulometria acima do testado nos testes preliminares. Optou-se por não misturar as matérias-primas em diferentes granulometrias para facilitar a nível de indústria. A proteína isolada de soja utilizada apresentava 90 % de proteína conforme as informações do fornecedor.

TABELA 5 – Delineamento fatorial 2^3 para desenvolvimento das formulações (valores reais e codificados). Estão apresentados apenas os itens que diferiram nas formulações.

| Ingredientes | Formulações (%*) | | | | | | | | |
|----------------------|------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|------------|
| | F1 | F2 | F3 | F4 | F5 | F6 | F7 | F8 | PC** |
| Água | 25,13 | 25,13 | 24,63 | 24,63 | 25,13 | 25,13 | 24,63 | 24,63 | 24,88 |
| Mistura de colágenos | 0,75 (-1) | 0,75 (-1) | 1,25 (+1) | 1,25 (+1) | 0,75 (-1) | 0,75 (-1) | 1,25 (+1) | 1,25 (+1) | 1,0 (0) |
| Proteína de Soja | 0,0 (-1) | 0,0 (-1) | 0,0 (-1) | 0,0 (-1) | 2,0 (+1) | 2,0 (+1) | 2,0 (+1) | 2,0 (+1) | 1,0 (0) |
| Grau de Moagem*** | 8 (-1) | 22 (+1) | 8 (-1) | 22 (+1) | 8 (-1) | 22 (+1) | 8 (-1) | 22 (+1) | 14 (0) |

*% refere-se ao percentual do ingrediente adicionado em relação ao produto final.

** Ponto central (PC) refere-se às formulações F9, F10 e F11.

*** Grau de moagem em mm.

A formulação base para todos dos experimentos consistiu de: 70,000 % de carne (coxa e sobrecoxa de frango sem pele refilada resfriada), 2,200 % de cloreto

de sódio, 0,500 % de polifosfato de sódio, 0,500 % de glicose desidratada, 0,500% de kappa-carragena semi-refinada, 0,200 % de glutamato monossódico, 0,100 % de eritorbato de sódio, 0,100 % de condimento para presunto, 0,020 % de corante carmim e 0,015 % de nitrito de sódio.

Além dos ensaios do planejamento de experimentos foram realizados três experimentos adicionais (Tabela 5) com objetivo de comparar os resultados e avaliar os efeitos destes tratamentos no produto final.

A formulação F13 foi denominada CONTROLE e consistiu na formulação apenas com proteína isolada de soja, o que é comumente utilizada pela indústria. O teste F12 consistiu na formulação sem a adição de nenhum tipo de proteína não-cárnea com o objetivo de avaliar se a adição de proteínas aumentaria ou não o conteúdo protéico final e também como seria o desempenho deste produto em termos de características físico-químicas. Por fim, o teste F14 consistiu na formulação do ponto central (PC) elaborada com a matéria-prima íntegra (sem moer) com o objetivo de avaliar se é possível a produção de presunto de frango sem a cominuição da matéria-prima.

TABELA 6 – Experimentos adicionais ao planejamento 2³. Estão apresentados apenas os itens que diferiram nas formulações.

| Ingredientes | Formulações (%)* | | |
|----------------------|------------------|-------|----------|
| | F12 | F13** | F14 |
| Água | 25,86 | 23,86 | 24,88 |
| Mistura de colágenos | — | — | 1,0 |
| Proteína de soja | — | 2,0 | 1,0 |
| Grau de moagem*** | 22 | 22 | Sem moer |

*% refere-se ao percentual do ingrediente adicionado em relação ao produto final.

** F13 foi denominada (CONTROLE).

*** Grau de moagem em mm.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

Na Tabela 6 podem ser visualizados os resultados obtidos na caracterização da matéria-prima.

TABELA 6 – Caracterização físico-química da matéria-prima empregada para a elaboração do presunto (coxa e sobrecoxa de frango).

| Determinações | Valores ⁽¹⁾ |
|---------------------|------------------------|
| Umidade (%) | 75,21 ± 0,098 |
| Proteína (%)* | 20,67 ± 0,056 |
| Proteína (%)** | 83,38 ± 0,056 |
| Lipídios (%)** | 5,74 ± 0,115 |
| Lipídios (%)* | 23,15 ± 0,115 |
| Cinzas (%) | 1,14 ± 0,032 |
| Temperatura (°C) | 6,0 ± 0,90 |
| Hidroxiprolina (%)* | 0,06 ± 0,001 |
| Colágeno (%)* | 0,47 ± 0,001 |
| pH | 6,7 ± 0,01 |

* Determinação em base seca. ** Determinação em base úmida. (1) Média ± Erro Puro.

Constatou-se que o pH médio da matéria-prima foi de $6,7 \pm 0,01$ e a temperatura média foi de $6,0^{\circ}\text{C} \pm 0,90$. A temperatura abaixo de 8°C é necessária para se garantir baixas temperaturas da massa no processo de mistura e também para reduzir o desenvolvimento microbiano.

Pode-se considerar que o valor de pH ficou próximo do valor encontrado por Cavenaghi (2005) de 6,60, desta forma descartando a possibilidade de que a carne utilizada tenha tido características PSE ou DFD e que pudesse afetar negativamente as características de qualidade dos presuntos elaborados.

Zorba e Kurt (2006) encontraram para carne de frango pH de 6,16; 2,20 % para lipídios; 23,04 % de proteína; 73,07 % de umidade e 1,16% de cinzas. Já Novello et al. (2008) avaliaram coxa e sobrecoxa de frango e obtiveram para

umidade teores de 75,62 a 76,46 %, cinzas de 0,92 a 1,13 %, proteína de 18,41 a 21,82 % e lipídios de 4,71 a 5,08 %.

Os resultados encontrados ficaram próximos dos parâmetros recomendados para proteína e umidade pelo USDA (2005) e TACO (2006) e dos resultados encontrados por GALVÃO (1992). Para a determinação de lipídios os valores encontrados ficaram dentro do intervalo recomendado por TACO (2006) entre 4,9 e 9,6 % e abaixo dos $3,2 \pm 0,6$ % encontrados por CAVENAGHI (2005). Isso pode ser justificado pelas diferenças no refile da matéria-prima e diferenças ocasionadas pelo próprio sistema de produção (manejo, alimentação, genética, etc.).

Os valores encontrados para colágeno e hidroxiprolina para coxa e sobrecoxa de frango (0,47 e 0,06 % respectivamente) são inferiores dos encontrados para a carne bovina e próximos da carne suína (pernil), estes resultados eram esperados, pois visualmente esta matéria-prima apresenta quantidade considerável de tecido conjuntivo.

Para a determinação de colágeno, Kamdem e Hardy (1995) mencionaram concentrações entre 0,33 e 1,06 % para carne bovina. Já Lepeti (2007) relatou valores entre 0,63 a 1,50 % para este mesmo tipo de carne. Convertendo estes valores de colágeno em hidroxiprolina (dividindo pelo fator 8,0), os valores encontrados para carne bovina variam de 0,04 % a 0,19 %.

Boutten et al. (2000) relatam que o teor de colágeno é um dos fatores que influencia a qualidade de presunto pois afeta diretamente na textura e fatiabilidade. Estes mesmos autores avaliaram colágeno em pernil suíno e chegaram a valores ao redor de 0,50 % o que corresponde a 0,06 % de hidroxiprolina.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS COLÁGENOS

4.2.1 Determinação da capacidade de absorção de água (CAA)

Para a caracterização dos colágenos foi determinada a capacidade de absorção de água (CAA) e pH, os resultados podem ser observados na Tabela 7. A determinação da Capacidade de Absorção de Água (CAA) dos ingredientes foi realizada para mostrar que de maneira individual os colágenos testados apresentaram grande capacidade de absorção de água.

TABELA 7 – Capacidade de absorção de água (CAA) e valores de pH nas concentrações de 1,0 e 6,67 % dos colágenos testados.

| Ingredientes | CAA (%) | pH | |
|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | 1,00 %** | 6,67 %** |
| A (fibra de colágeno em pó) | 1117,10 ^b ± 0,05 | 8,16 ^c ± 0,001 | 7,78 ^c ± 0,001 |
| B (fibra de colágeno) | 902,00 ^a ± 0,10 | 8,41 ^d ± 0,001 | 8,05 ^d ± 0,001 |
| C (colágeno hidrolisado 1) | - | 6,26 ^b ± 0,001 | 5,98 ^b ± 0,001 |
| D (colágeno hidrolisado 2) | - | 6,24 ^b ± 0,001 | 5,96 ^b ± 0,001 |
| E (gelatina) | 868,10 ^a ± 0,16 | 6,11 ^a ± 0,001 | 5,88 ^a ± 0,001 |

*Médias ± Erro Puro onde as letras diferentes na vertical diferem significativamente (p<0,05).

** Concentração de colágeno na solução.

Não foi possível a determinação da CAA para os colágenos C e D, pois não ocorreu a separação na centrifugação, seguindo a metodologia testada, pois estes são colágenos hidrolisados solúveis em água fria e sem capacidade de gelificação. Os resultados revelaram, como era esperado, diferença significativa entre os ingredientes (p<0,05). A fibra de colágeno em pó foi a que absorveu maior quantidade de água, cerca de 11 vezes o seu peso, o que pode ser justificado pela maior área de superfície do pó em relação à fibra.

Os resultados estão coerentes com 5 a 10 vezes de absorção de água para colágeno mencionados por Deman (1999). Em contrapartida, Alves e Prudêncio-Ferreira (2002) encontraram absorção de 4 vezes para colágeno obtido de pés de frango com granulometria de 0,59 mm, ou seja, muito próxima da fibra testada neste trabalho (0,45 a 0,57 mm). Estas divergências podem ser explicadas pelas diferenças no processo de obtenção do colágeno (tempo, temperatura e pH), que influenciam diretamente na absorção e capacidade de inchamento.

As amostras apresentaram diferenças significativas (p<0,05) entre si quanto aos valores de pH, conforme resultados apresentados na Tabela 7. A fibra de colágeno apresentou maiores valores de pH (8,16 a 8,41) e a gelatina os menores valores (6,11). O pH para fibra testada (obtida de couro bovino) foi maior que os 7,10±0,13 mencionados por Olivo e Shimokomaki (2001) para fibra de colágeno obtida de tendões bovinos. Isto se deve principalmente ao processo de obtenção destes. Devidos às condições de processo (tempo, temperatura e pH) para obtenção da fibra e da gelatina, o colágeno nativo sofrerá hidrólise de maneira diferente,

afetando principalmente a composição de aminoácidos e também a distribuição das massas molares.

Os valores de pH encontrados para os colágenos hidrolisados C e D e para gelatina E (entre 6,11 e 6,26) e ficaram próximos do pH 6,4 encontrado por Binsi et al. (2009) para gelatina obtida de peixe.

4.2.2 Determinações físico-químicas

Houve diferença significativa na composição para as características analisadas conforme pode ser visualizado na Tabela 8.

TABELA 8 – Teores de umidade, cinzas, proteína bruta, hidroxiprolina, colágeno e lipídios para as amostras de colágeno analisadas.

| Colágenos | Umidade (%) | Cinzas (%) | PB** (%) | PB*** (%) | HP*** (%) | Colágeno (%) | LP*** (%) | LP** (%) |
|------------------|------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| A ⁽¹⁾ | 6,68 ^b ±0,058 | 1,92 ^e ±0,009 | 102,00 ^c ±0,029 | 95,18 ^c ±0,029 | 3,53 ^b ±0,035 | 28,25 ^b ±0,035 | 0,71 ^{ab} ±0,038 | 0,76 ^{ab} ±0,038 |
| B ⁽¹⁾ | 5,72 ^a ±0,049 | 1,78 ^d ±0,020 | 103,30 ^d ±0,269 | 97,39 ^d ±0,269 | 7,50 ^d ±0,071 | 60,00 ^d ±0,001 | 1,36 ^c ±0,053 | 1,44 ^c ±0,053 |
| C ⁽²⁾ | 9,81 ^d ±0,163 | 1,01 ^b ±0,029 | 96,85 ^a ±0,330 | 87,35 ^a ±0,330 | 3,75 ^c ±0,071 | 30,00 ^c ±0,707 | 1,12 ^{bc} ±0,247 | 1,24 ^{bc} ±0,247 |
| D ⁽²⁾ | 9,14 ^c ±0,170 | 1,19 ^c ±0,018 | 99,62 ^b ±0,041 | 90,52 ^b ±0,041 | 1,92 ^a ±0,035 | 15,34 ^a ±0,311 | 1,36 ^c ±0,013 | 1,50 ^c ±0,013 |
| E ⁽²⁾ | 12,30 ^e ±0,038 | 0,67 ^a ±0,037 | 96,34 ^a ±0,223 | 84,49 ^a ±0,223 | 1,95 ^a ±0,064 | 15,57 ^a ±0,467 | 0,59 ^a ±0,014 | 0,67 ^a ±0,014 |

A – Fibra de colágeno em pó, B – Fibra de colágeno, C – Colágeno hidrolisado 1, D – Colágeno hidrolisado 2 e E – gelatina. P – Proteína Bruta, HP - Hidroxiprolina e LP – Lipídios.

*Médias ± Erro Puro indicadas com letras diferentes na vertical diferem significativamente (p<0,05).

*** Determinação em base seca.

** Determinação em base úmida.

(1) Características de colágeno Tipo A.

(2) Características de colágeno Tipo B.

Os valores de umidade encontrados variaram de 6,68 a 12,30 % e ficaram abaixo dos 15,06 % encontrados por Alves e Prudêncio-Ferreira (2002) e próximos dos 8,31 % mencionados por OLIVO e SHIMOKOMAKI (2001). Estas variações são decorrentes do processo de secagem do colágeno que pode ser por liofilização ou secagem em estufa. A fibra de colágeno (B) apresentou o menor teor (6,68 %) de umidade enquanto que a gelatina apresentou o maior teor (12,30 %). Conforme

informações do fornecedor, a fibra de colágeno e fibra de colágeno em pó passam por um processo de secagem mais drástico do que num processo convencional de produção de gelatina e em contrapartida o processo de extração é menos drástico em termos de pH, tempo e temperatura.

Para cinzas, os valores foram maiores para fibra e fibra em pó (1,92 e 1,78 % respectivamente) e menores (0,67 %) para gelatina (E). Estes resultados ficaram abaixo dos 3,05 % sugeridos por Olivo e Shimokomaki (2001) para fibra de colágeno bovino obtida em escala laboratorial. Já a gelatina E apresentou o teor de cinzas muito próximo dos 0,61 % mencionados por Alves e Prudêncio-Ferreira (2002) para colágeno obtido de pés de frango.

Para o teor de proteína, os resultados mostraram que tanto a fibra (B) como fibra em pó (A) apresentaram os maiores valores de proteína (97,39 % e 95,18 % respectivamente). A fibra chegou a um teor 15 % maior de proteína quando comparada com a gelatina (E). O colágeno hidrolisado C não diferiu ($p > 0,05$) em relação à gelatina E e o colágeno hidrolisado D apresentou teor de proteína maior que o colágeno hidrolisado C.

Quando comparados com a literatura, os teores de proteína ficaram próximos aos 86,35 % sugeridos por Alves e Prudêncio-Ferreira (2002); Santana et al. (2012) e Máximo e Cunha (2010) e acima dos 76,27 a 81,41 % obtidos por Olivo e Shimokomaki (2001).

Para lipídios, os valores foram menores (0,59 e 0,71 % respectivamente) para gelatina (E) e fibra em pó (A), já os colágenos B, C e D não apresentaram diferença estatística neste parâmetro. Alves e Prudêncio-Ferreira (2002) e Olivo e Shimokomaki (2001) encontraram teores de lipídios entre 7,66 a 10,90 % (base seca). Estes valores estão muito acima dos 0,67 a 1,50 % (base seca) encontrados. As diferenças de lipídios entre a fibra de colágeno (B) e a fibra de colágeno em pó (A) podem ser justificadas pelas diferenças no processo de desengorduramento que ocorre na produção destes tipos de colágeno.

Segundo Santana et al. (2012), a fibra de colágeno passa por processo de desengorduramento para posterior moagem o que pode justificar os baixos teores de lipídios encontrados. Os resultados obtidos por Olivo e Shimokomaki (2001) foram maiores porque não foi realizada a etapa desengorduramento.

Para hidroxiprolina e colágeno foram encontradas diferenças significativas ($p < 0,05$) sendo que a fibra de colágeno (B) foi a que apresentou os maiores valores

(7,55 % para hidroxiprolina e 60,00 % para colágeno). Comparando os teores de hidroxiprolina e colágeno para gelatina (E) e colágeno hidrolisado (D) foram os menores valores. Para fibra em pó (A) e colágeno hidrolisado (C) os resultados ficaram intermediários entre os colágenos B e D.

No estudo realizado por Binsi et al. (2009) e Gómez-Estaca et al. (2009) foram encontrados 8,45 e 7,8 % de hidroxiprolina para gelatina de peixe, respectivamente. Já Olivo e Shimokomaki (2001) encontraram entre 8,06 e 8,20 % de hidroxiprolina e 65,05 % de colágeno para fibra de colágeno bovino e Wong (1995) menciona que o colágeno nativo apresenta 9,4 % de hidroxiprolina.

Estas diferenças podem ser justificadas pelo processo de extração do colágeno onde as altas temperaturas provocam a solubilização de proteínas e maior fragmentação da estrutura do colágeno (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2002; BOSCH e GIELENS; 2003).

Comparando-se os resultados de hidroxiprolina e colágeno da fibra de colágeno (B) com a fibra de colágeno em pó (A) observa-se que há uma diferença de aproximadamente 53 % do teor de colágeno e hidroxiprolina para fibra em relação a fibra em pó. Além do teor de hidroxiprolina, outros aminoácidos presentes na fibra estão em menor proporção na fibra de colágeno em pó como pode ser visualizado na Tabela 3 e na Figura 21.

Avaliando-se a Figura 21 observa-se que as gelatinas apresentam maiores teores de glicina e hidroxiprolina conforme os dados mencionados na literatura (SCHRIEBER e GAREIS, 2007; NOVAPROM, 2006. Já a fibra e fibra em pó apresentaram menor teor de hidroxiprolina (conforme os resultados obtidos neste presente estudo) e menor glicina (conforme dados da literatura). Para prolina observa-se que a diferença é pequena para os tipos de colágenos avaliados. A partir destas comparações conclui-se que há diferenças entre a fibra de colágeno e a fibra de colágeno em pó e diferenças consideráveis com as gelatinas A e B. Estas diferenças são ainda maiores quando se compara com o colágeno nativo. Estas variações são decorrentes do processo de extração da fibra e fibra em pó que utiliza tratamento alcalino (mais drástico), o que acaba por hidrolisar aminoácidos, como por exemplo, glutamina e asparagina, e pode também ser comprovado pela menor proporção de hidroxiprolina.

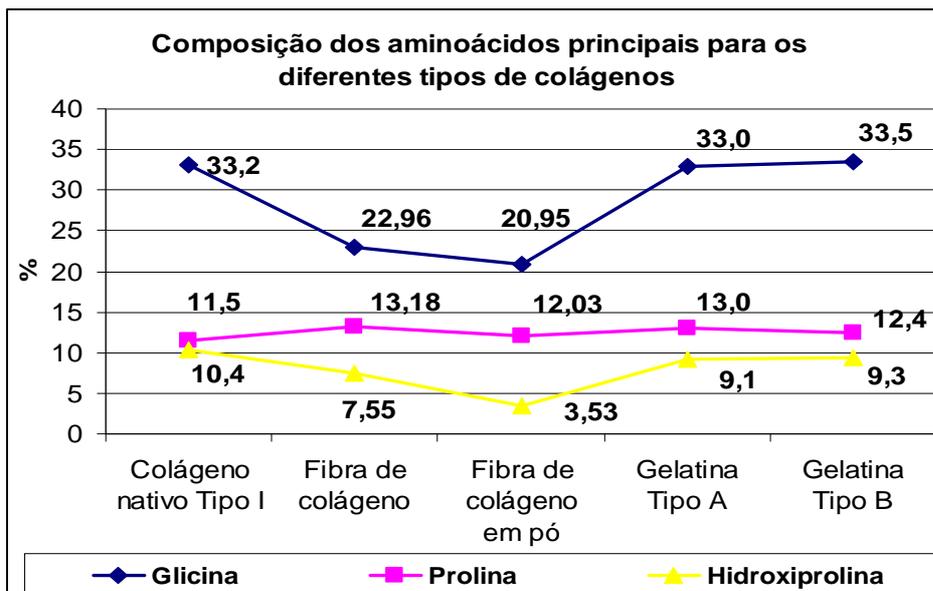


Figura 21 – Diferenças na composição dos principais aminoácidos presentes nos diversos tipos de colágeno.

FONTE: SCHRIEBER e GAREIS (2007), NOVAPROM (2006) e resultados obtidos pela autora.

4.2.3 Análise de Espectroscopia de Infravermelho Transformada de Fourier (FTIR)

Conforme metodologia sugerida por Pedroso (2009) foi realizada FTIR dos colágenos A, B, C e D como pode ser observado nas Figuras 22 a 25. Foi possível observar semelhanças dos colágenos (hidrolisados e fibra) e gelatina testados, sendo que os espectros obtidos apresentaram bandas com frequências similares e várias bandas se repetiram entre as amostras testadas (observar Tabela 9 e Figuras 22 a 25).

Segundo Lacerda et al. (1998) e Bet et al. (2001) a banda em 1235 cm^{-1} é sensível à alterações na estrutura secundária do tropocolágeno (tripla hélice), enquanto a banda 1450 cm^{-1} corresponde às vibrações dos anéis pirrolidínicos de prolina e hidroxiprolina, que diferentemente da banda 1235 cm^{-1} , tem sua intensidade independente das variações estruturais da matriz do colágeno.

Hoque et al. (2011) estudaram os efeitos da adição de plastificantes em filmes de gelatina e observaram na FTIR bandas semelhantes às encontradas.

As bandas encontradas também foram semelhantes às observadas por Lacerda et al. (1998) e Bet et al. (2001) onde estudaram o efeito de diferentes tratamentos em colágeno bovino.

A fibra de colágeno em pó (A) foi a que apresentou maior número de bandas e houve diferença no número de bandas para as encontradas na fibra de colágeno (B).

Pode-se concluir que as amostras analisadas mantiveram a estrutura secundária (hélice) e que pequenas diferenças puderam ser observadas entre a fibra, fibra em pó, colágeno hidrolisado e gelatina, evidenciando a influência do processo de extração na estrutura terciária.

TABELA 9 – Bandas evidenciadas nos espectros (cm^{-1}) obtidos para as amostras de colágeno testadas (A, B, C e D) através da análise de FTIR e suas respectivas interpretações e referências utilizadas.

| Bandas | A* | B* | C* | D* | Interpretação/Referências |
|--------|-------|-------|-------|-------|--|
| 1 | ~3281 | ~3283 | ~3277 | ~3278 | Estiramento O-H (Lacerda et al., 1998; Silvestrin e Alencastro, 2007) |
| 2 | ~2926 | NE | NE | NE | Vibração no plano de C-N da amina (Silvestrin e Alencastro, 2007) |
| 3 | ~1631 | ~1631 | ~1633 | ~1632 | Vibração C=O da amida I (Silvestrin e Alencastro, 2007) |
| 4 | ~1521 | ~1523 | ~1525 | ~1525 | Vibrações da amida II (vibração no plano de C-N e N-H ou CH ₂ da glicina) (Silvestrin e Alencastro, 2007) |
| 5 | ~1443 | ~1444 | ~1445 | ~1445 | Vibrações dos anéis pirrolidínicos de prolina e hidroxiprolina (Bet et al., 2001) |
| 6 | NE | NE | ~1395 | NE | Deformação C-N amina (Silvestrin e Alencastro, 2007) |
| 7 | ~1333 | ~1333 | ~1332 | NE | Deformação C-N amina (Silvestrin e Alencastro, 2007) |
| 8 | ~1236 | ~1235 | ~1238 | ~1236 | Vibrações da amida III (estiramento C-N e vibração N-H) (Lacerda et al., 1998; Silvestrin e Alencastro, 2007) |
| 9 | ~1081 | ~1081 | ~1081 | ~1081 | Deformação axial C-N (Silvestrin e Alencastro, 2007) |
| 10 | ~873 | NE | NE | NE | Deformação angular fora do plano para N-H (Silvestrin e Alencastro, 2007) |

A – Fibra de colágeno em pó; B – Fibra de colágeno; C – Colágeno hidrolisado 2 e D – Gelatina.

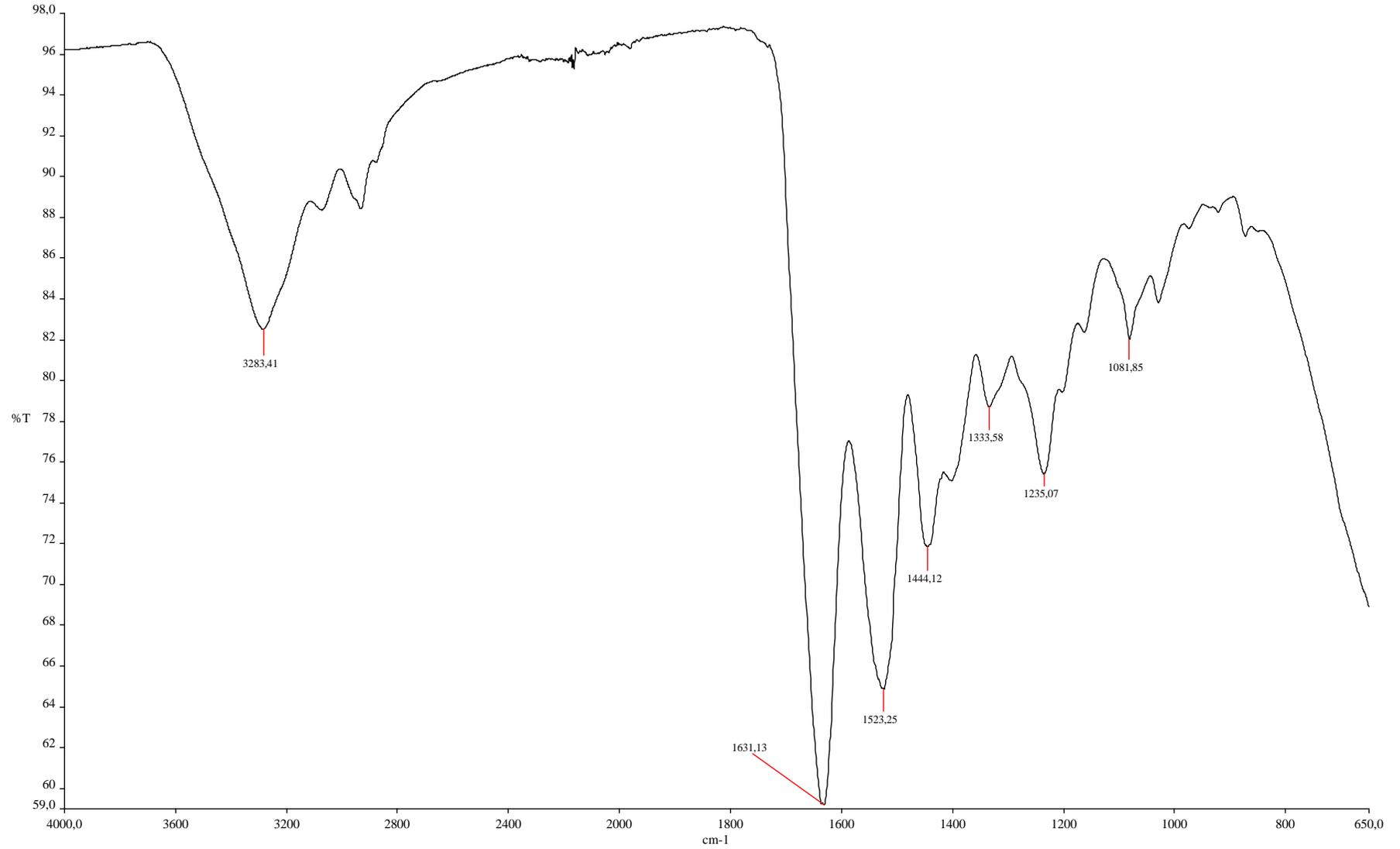


Figura 22 – Espectro obtido para amostra de colágeno B (fibra de colágeno).

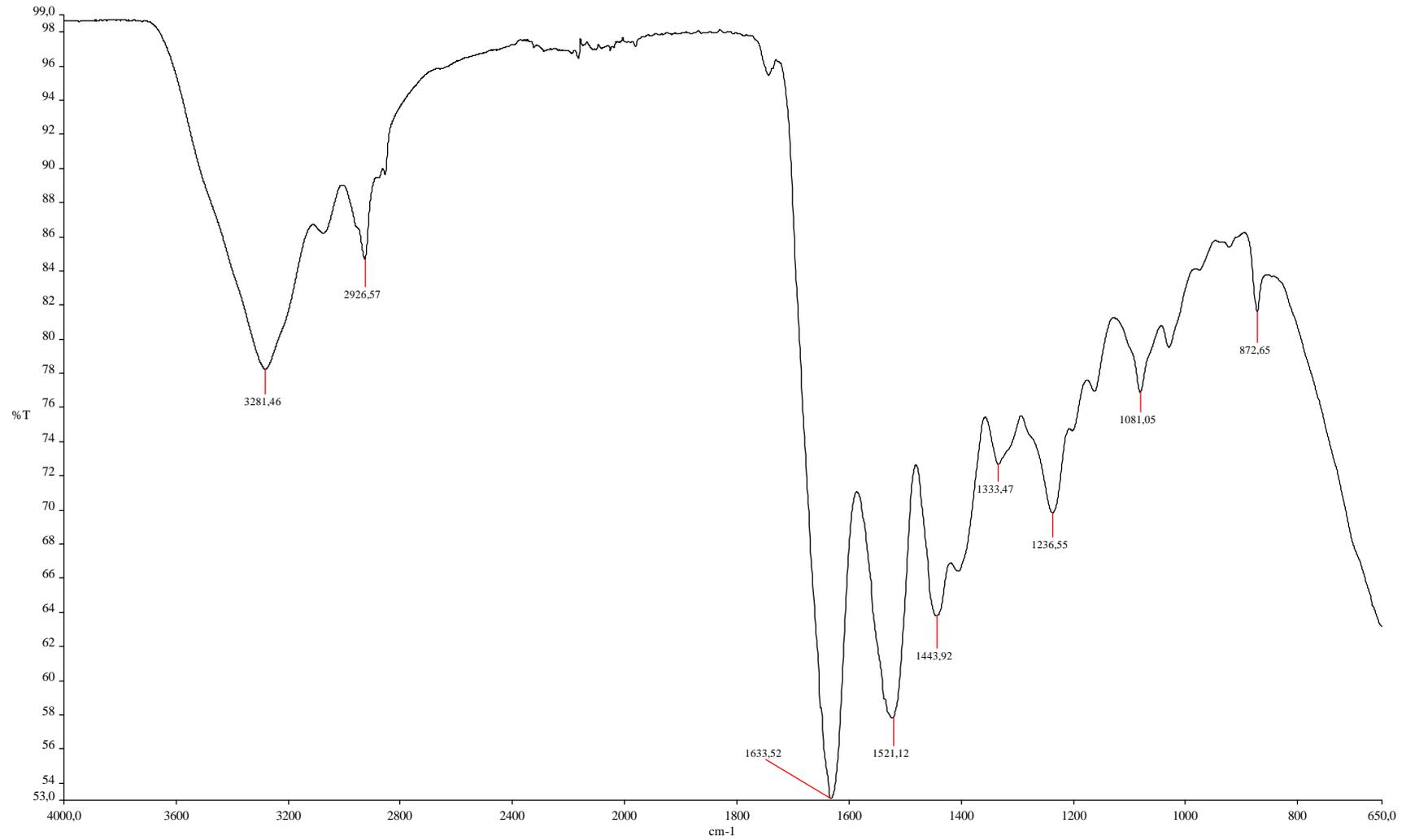


Figura 23 - Espectro obtido para amostra de colágeno A (fibra de colágeno em pó).

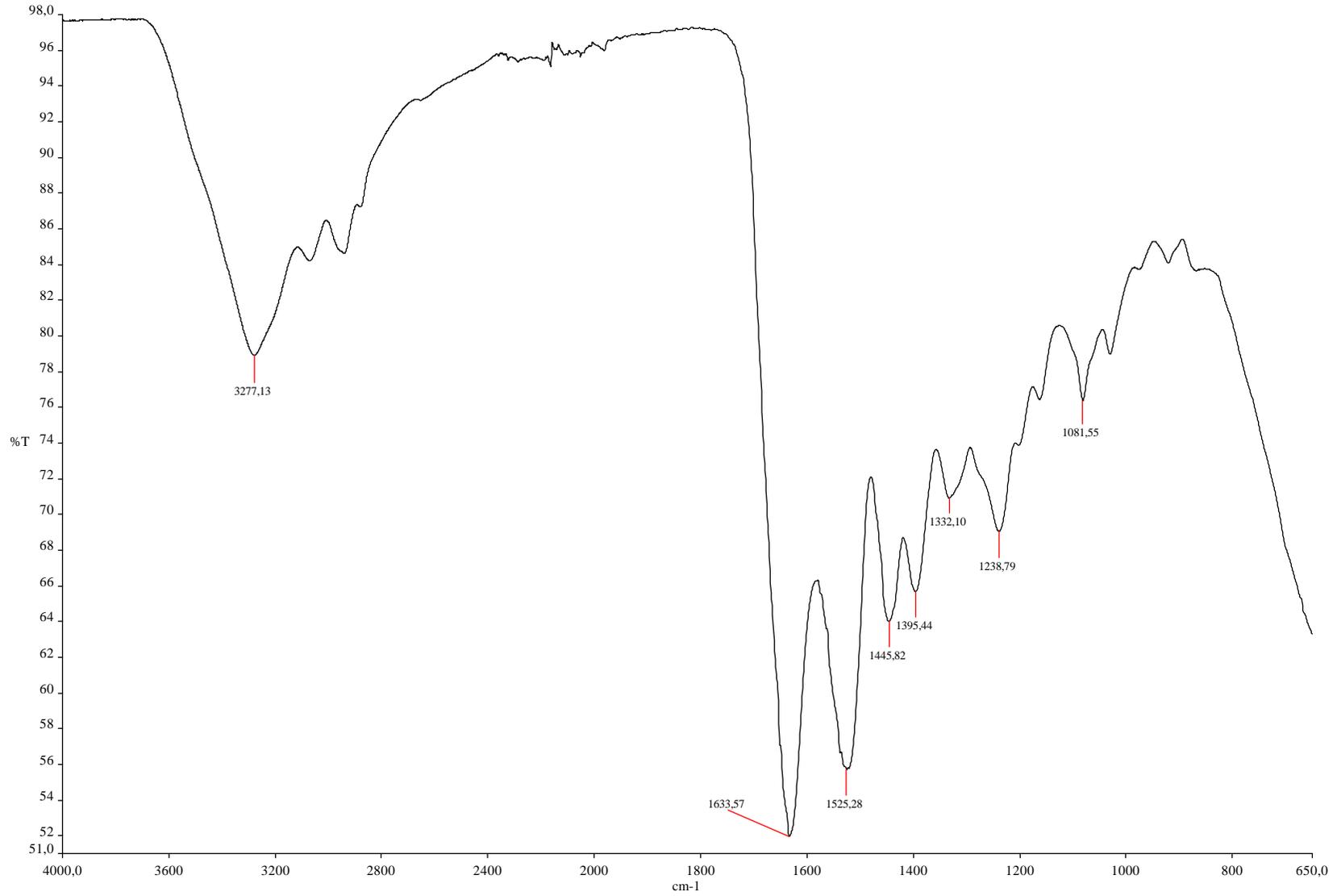


Figura 24 - Espectro obtido para amostra de colágeno C (colágeno hidrolisado 2).

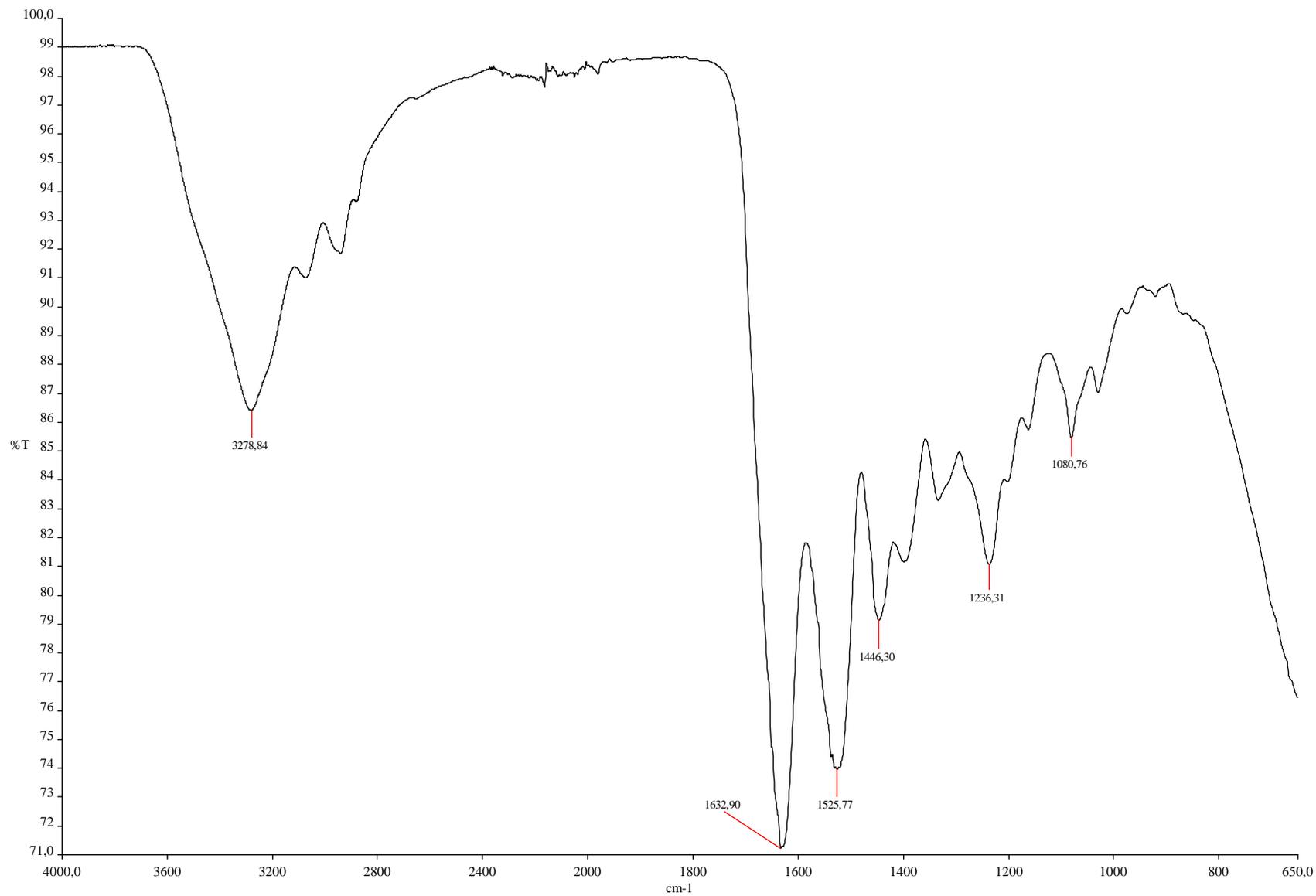


Figura 25 - Espectro obtido para amostra de colágeno D (gelatina).

4.2.4 Análise de Eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE)

A eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS) foi realizada para determinar se haviam diferenças na massa molar para os cinco colágenos testados.

Foram realizados sete testes com variações na metodologia (concentração da amostra, concentração dos geis, tempo de corrida, etc.) para melhorar a clareza das bandas, no entanto, na Figura 26 foi o resultado com a melhor resolução obtida para os colágenos testados.

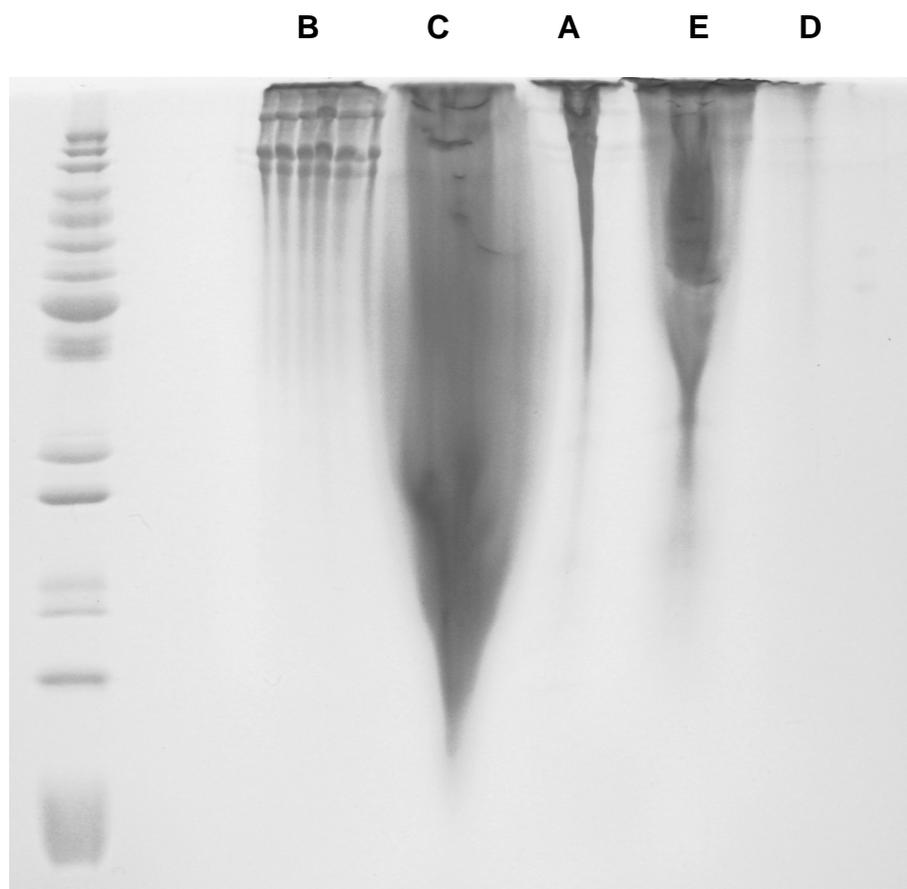


Figura 26 – Foto da eletroforese obtida para as amostras de colágeno testadas.

A – Fibra de colágeno em pó, B – Fibra de colágeno, C – Colágeno hidrolisado 1, D – Colágeno hidrolisado 2 e E – gelatina.

A amostra B (fibra de colágeno) foi a que apresentou melhor clareza indicando a presença de duas bandas bem próximas ao redor de 100.000 Da (que corresponde a α_1 e α_2) e uma banda mais acima (que correspondente a β). Para a amostra A (fibra de colágeno em pó) e D (colágeno hidrolisado 2) não foi possível a visualização de bandas características. Para os colágenos C (colágeno hidrolisado

1) e E (gelatina) as bandas apresentaram-se sem boa definição.

Os resultados encontrados conferem com os encontrados por Olivo e Shimokomaki (2001) para fibra de colágeno bovino, onde através da eletroforese se demonstrou a presença de colágeno tipo I (Gómez-Guillén et al., 2002; Binsi et al., 2009) caracterizado pela presença das bandas α_1 e α_2 próximas de 100.000 Da.

Para Lacerda et al. (1998), Tonhi e Plepis (2002), Santos et al. (2006) a eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS) com gel de empacotamento 5 % e de resolução de 10 % mostrou duas bandas de maior intensidade com massas moleculares de 116.000 Da e 197.000Da correspondendo respectivamente as cadeias α_1 e α_2 que são esperadas para colágeno tipo I. Cadeias do tipo β (duas cadeias α unidas) apresentam bandas a 193.000 Da (Lacerda et al., 1998, Tonhi e Plepis, 2002, Santos et al., 2006).

Bueno (2009) estudando gelatinas de peixe e comparando com a suína observou bandas bem definidas α_1 e α_2 para gelatina de peixe. Para gelatina bovina esta mesma autora encontrou apenas uma mancha característica de uma maior quantidade de polímeros com menor massa molecular como observado no perfil eletroforético da gelatina (E) e colágeno hidrolisado 1 (C) avaliados.

Na eletroforese de filmes de gelatina, Hoque et al. (2011) encontraram duas bandas características de gelatina com 116.000 Da e 97.000 Da próximos às bandas encontradas para a amostra de fibra de colágeno (B) conforme pode ser observado na Figura 27.

Gómez-Estaca et al. (2009) compararam gelatina obtida de pele de peixe com gelatina bovina através de eletroforese SDS e encontraram três bandas características das cadeias β , α_1 e α_2 com massas moleculares aproximadas de 200.000 Da para β e ao redor de 100.000 Da para α_1 e α_2 para a gelatina de peixe. Essas bandas são características da presença de colágeno tipo I (SEGTMAN e ISAKSSON, 2004). Também foram identificadas bandas acima de 200.000 Da o que indica a presença de cadeias de alta massa molar provavelmente devido à ligação de várias cadeias α . Na gelatina bovina apareceram bandas de menor massa molar (<100.000 Da) indicando a presença de frações geradas pelo processo de extração da gelatina, entretanto as bandas não apresentaram boa definição (mancha).

Novamente pode-se concluir que o processo de extração pelas altas temperaturas provocam a solubilização de proteínas de baixa massa molar, induzindo a fragmentação e hidrólise das cadeias α de colágeno evidenciada pela

quantidade de fragmentos de menor massa molecular (BINSI et al., 2009; GOMÉZ-GUILLÉN et al., 2002, BOSCH e GIELENS, 2003, SEGTNAN e ISAKSSON, 2004).

Segundo Binsi et al. (2009) a falta de clareza das bandas pode ser devido à concentrações da amostra e do gel de resolução. A falta de resolução para as amostras analisada também pode ser justificadas por interferentes presentes na própria amostra, como exemplo a presença de carboidratos.

Conforme Gómez-Guillén et al. (2011) é uma prática normal da indústria para obtenção de maior rendimento a utilização de condições extremas de extração (pH, tempo e temperatura) o que ocasiona a maior formação de pequenos fragmentos na gelatina.

Embora na análise de FTIR tenha sido evidenciada a manutenção da estrutura secundária em todas as amostras analisadas, apenas para a amostra B (fibra de colágeno) foi possível observar as bandas que caracterizam esta estrutura (α_1 e α_2) com clareza.

Com base nas composição físico-química dos colágenos (Tabela 9) pode-se observar que a fibra de colágeno (B) apresentou maior teor de proteínas, maior teor de hidroxiprolina e maior teor de colágeno. Já a fibra de colágeno em pó (B) apresentou resultados para proteína, hidroxiprolina e colágeno abaixo da fibra de colágeno (A) e também menores teores de hidroxiprolina e colágeno, sendo que estes últimos ficaram próximos do colágeno hidrolisado (C). Porém, os resultados da fibra em pó (A) foram superiores aos do colágeno hidrolisado (D) e da gelatina (E). A gelatina E e o colágeno (D) apresentaram teores de hidroxiprolina e colágeno estatisticamente iguais.

Correlacionando a composição físico-química com os dados obtidos das análises de FTIR (Tabela 10 e Figuras 23 a 26) e eletroforese (Figura 27) que auxiliaram na caracterização e diferenciação dos colágenos testados indicaram que a fibra de colágeno em pó e a fibra de colágeno são produtos diferentes e com características distintas. Possivelmente o processo de extração da fibra e fibra em pó por apresentarem diferenças pode ter provocado modificações estruturais, físico-químicas e funcionais e que também podem alterar o desempenho destes ingredientes no produto cárneo. A fibra de colágeno (B) e fibra de colágeno em pó (A) apresentarem características de produto obtido pelo processo alcalino (Tipo A).

Já os colágenos hidrolisados (C) e (D) e gelatina (E) apresentaram características de produto obtido pelo processo ácido (Tipo B). O colágeno

hidrolisado (C) passa por processo de obtenção menos drástico pois apresentou maior teor de hidroxiprolina, mais bandas na análise de FTIR e mais frações na eletroforese. O colágeno hidrolisado (D) e a gelatina (E) passaram provavelmente por processo de extração mais drástico gerando menores frações.

4.3. PRODUTOS OBTIDOS NOS TESTES PRELIMINARES

4.3.1 Aspectos visuais

Inicialmente foram realizados quatro testes preliminares (T1, T2, T3 e T4) para avaliar o desempenho dos cinco colágenos e utilizando diferentes tipos de disco de moagem (14 e 8 mm). Na primeira formulação (T1) foi utilizada fibra de colágeno (B) e grau de moagem 50 % em disco de 8 mm e 50 % em disco de 14 mm. Já nesta primeira formulação (T1) foi evidenciada a presença de precipitado gelatinoso firme externo à peça (Figura 27) após o cozimento e resfriamento e posteriormente também foi evidenciado na formulação T3.



Figura 27 – Evidência da presença de gel na formulação T1 com fibra de colágeno (B) e grau de moagem 50% em disco de 14 mm e 50% em 8 mm.

Na segunda formulação (T2) foi testada a fibra de colágeno (B) e a fibra de colágeno em pó (A) e grau de moagem de 8 mm. Na terceira formulação (T3) foi testado mistura de colágeno hidrolisado (C) e uma gelatina (E) sendo 0,5 % de cada e grau de moagem de 14 mm. Já na quarta formulação (T4) testou-se mistura de colágeno hidrolisado (D), fibra de colágeno em pó (A) e fibra de colágeno (B) com grau de moagem de 14 mm. A aparência íntegra e cortada dos experimentos T1, T2, T3 e T4 podem ser visualizadas nas Figuras 28 a 31.

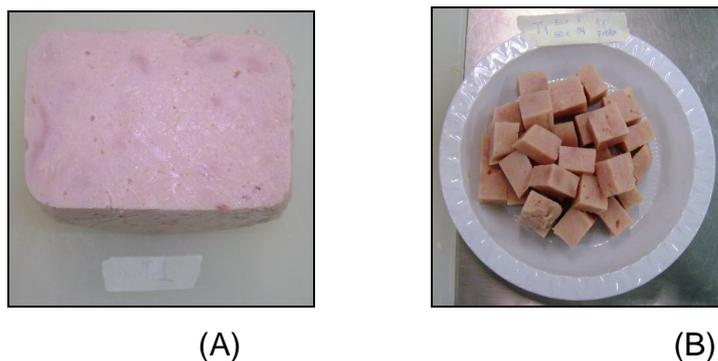


Figura 28 – Peça íntegra de presunto de frango (A) e em cubos (B) do experimento T1 (1 % B e com moagem da matéria-prima 50 % em disco de 8 mm e 50 % em disco de 14 mm).

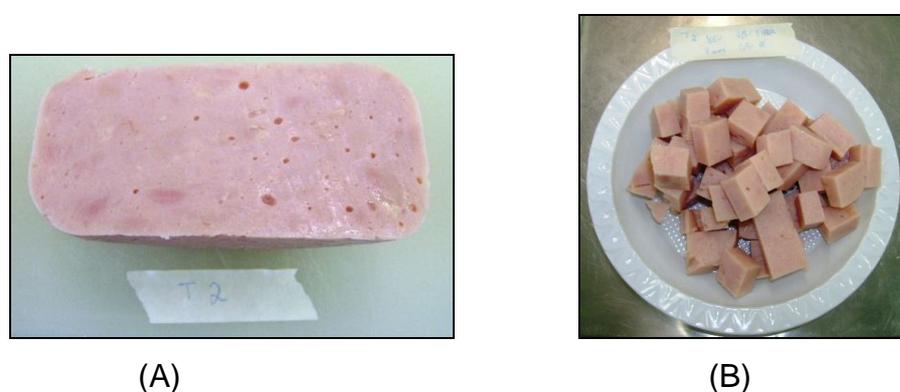


Figura 29 - Peça íntegra de amostra de frango (A) e em cubos (B) do experimento T2 (0,5 % B + 0,5 % A e com moagem de 100 % da matéria-prima em disco de 8 mm).

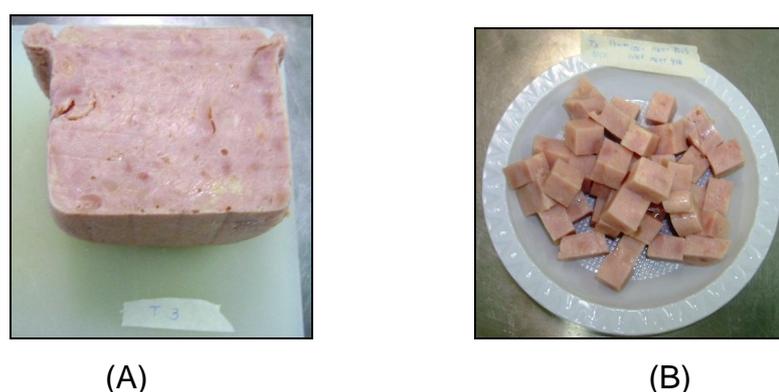


Figura 30 – Peça íntegra de presunto de frango (A) e em cubos (B) do experimento T3 (0,5 % E + 0,5 % de C e com moagem de 100 % da matéria-prima em disco de 14 mm).

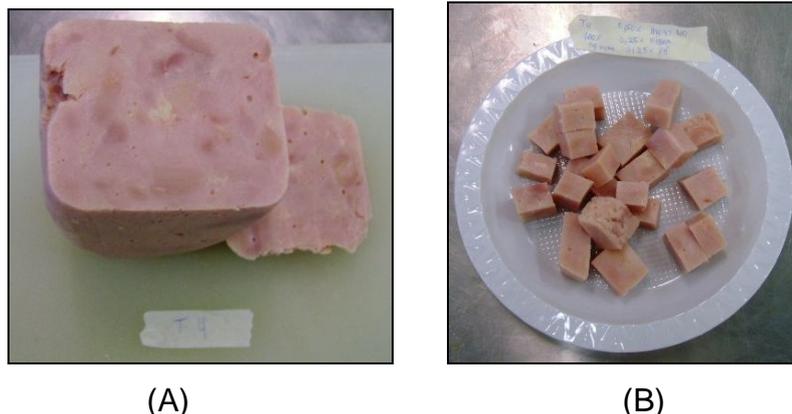


Figura 31 – Peça íntegra de presunto de frango (A) e Em cubos (B) do experimento T4 (0,5 % D + 0,25 % A + 0,25 % B e com moagem de 100 % da matéria-prima em disco de 14 mm).

4.3.2 Determinações físico-químicas

Na Tabela 10 estão apresentados os resultados referentes aos teores de umidade, proteína, cinzas, lipídios, pH, nitrito, nitrato, CRA, sinerese, perdas por congelamento, perdas por resfriamento, perdas por reaquecimento, cisalhamento, compressão, L^* , a^* e b^* dos presuntos de frango elaborados nos testes preliminares.

Analisando a Tabela 10, observa-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) para os valores de umidade, lipídios e cinzas, porém o mesmo não foi observado para os teores de proteína. Os resultados de umidade variaram de 76,46 (T1) a 76,90 % (T3). Esta pequena variação reflete o efeito dos ingredientes adicionados na retenção de umidade, embora a quantidade de água tenha sido adicionada na mesma proporção para todas as formulações (23,88 %).

Os teores de nitrito e nitrato para as diferentes formulações apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$). Conforme Cassens (1995), os nitratos e nitritos residuais são importantes para garantir a vida-de-prateleira de produtos cozidos porque inibem o crescimento de algumas bactérias, especialmente o *C. botulinum* e retardam o desenvolvimento da rancificação. A soma dos teores de nitrato e nitrito para todas as formulações desenvolvidas ficou dentro do limite máximo permitido pela legislação (150 ppm) (BRASIL, 2000).

TABELA 10 – Valores de umidade, proteína, lipídios, cinzas, pH, nitrito, nitrato, CRA, sinerese, perdas por congelamento, resfriamento, reaquecimento, cisalhamento e compressão das amostras referentes aos testes T1, T2, T3 e T4.

| Ensaio | Umidade (%) | Proteína (%) | Lipídios (%) | Cinzas (%) | pH | Nitrito (ppm) | Nitrato (ppm) | CRA (%) | Siner. (%) | Perdas Cong. (%) | Perdas Resf. (%) | Perdas Reaq. (%) | Cisal. (N) | Compr. (N) | L* | a* | b* |
|--------|---------------------|--------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|--------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|---------------------|--------------------|---------------------|-------------------|
| T 1 | 76,46 ^a | 13,78 ^a | 5,76 ^b | 4,14 ^b | 6,770 ^a | 22,19 ^a | 103,94 ^c | 98,62 ^c | 6,43 ^a | 4,37 ^b | 0,46 ^a | 15,19 ^b | 2,01 ^a | 8,13 ^a | 59,47 ^a | 7,74 ^a | 6,38 ^a |
| | ±0,10 | ±0,45 | ±0,32 | ±0,05 | ±0,001 | ±0,98 | ±0,44 | ±0,24 | ±0,43 | ±0,12 | ±0,29 | ±1,72 | ±0,53 | ±0,91 | ±0,83 | ±0,58 | ±0,82 |
| T 2 | 76,60 ^{ab} | 14,28 ^a | 5,51 ^b | 3,88 ^a | 6,760 ^a | 26,20 ^b | 103,53 ^c | 98,38 ^{bc} | 6,21 ^{a±} | 3,82 ^a | 0,42 ^a | 11,68 ^a | 2,49 ^a | 13,60 ^{ab} | 63,62 ^b | 8,82 ^{bc±} | 8,53 ^c |
| | ±0,18 | ±0,17 | ±0,06 | ±0,01 | ±0,001 | ±0,81 | ±0,60 | ±0,23 | 0,19 | ±0,02 | ±0,54 | ±0,74 | ±0,35 | ±0,83 | ±0,60 | 0,44 | ±0,28 |
| T 3 | 76,90 ^b | 14,11 ^a | 3,94 ^a | 3,96 ^a | 6,730 ^a | 24,71 ^b | 94,17 ^b | 96,57 ^a | 7,34 ^{ab} | 6,41 ^c | 0,73 ^a | 25,13 ^c | 2,34 ^a | 10,68 ^{ab} | 64,13 ^b | 8,69 ^b | 8,68 ^c |
| | ±0,18 | ±0,07 | ±0,09 | ±0,03 | ±0,001 | ±0,89 | ±0,36 | ±0,67 | ±0,08 | ±0,09 | ±0,30 | ±1,72 | ±0,55 | ±0,39 | ±0,80 | ±0,42 | ±0,47 |
| T 4 | 76,56 ^{ab} | 14,34 ^a | 4,56 ^b | 3,87 ^a | 6,720 ^a | 20,94 ^a | 63,32 ^a | 97,14 ^{ab} | 7,66 ^b | 6,47 ^c | 0,49 ^a | 12,68 ^a | 2,40 ^a | 13,77 ^{ab} | 63,44 ^b | 9,51 ^c | 7,75 ^b |
| | ±0,05 | ±0,25 | ±0,03 | ±0,05 | ±0,011 | ±0,55 | ±1,59 | ±0,53 | ±0,37 | ±0,17 | ±0,03 | ±0,56 | ±0,38 | ±0,71 | ±1,00 | ±0,62 | ±0,54 |

* Médias ± Erro Puro indicadas com letras diferentes na vertical diferem significativamente ($p < 0,05$).

** Formulações:

T 1 – 1 % B e moagem da matéria-prima 50 % em disco de 8 mm e 50 % em disco de 14 mm.

T 2 – (0,5 % A + 0,5 % B) e moagem de 100 % da matéria-prima em disco de 8 mm.

T 3 – (0,5 % E + 0,5 % C) e moagem de 100 % da matéria-prima em disco de 14 mm.

T 4 – (0,5 % D + 0,25 % A + 0,25 % B) e moagem de 100 % da matéria-prima em disco de 14 mm.

Estas variações nos teores de nitratos e nitritos podem ser decorrentes das condições de elaboração do produto tais como: tempo decorrente entre elaboração e análise, mistura, tempo de cura, temperatura de armazenagem e também da sensibilidade do método analítico. As perdas durante o processamento chegaram a 22,6 % da quantidade adicionada inicialmente e os valores encontrados estão próximos dos 10 a 20 % mencionados por Cheng et al. (2007).

É importante salientar que foi adicionado apenas 1 % de proteína isolada de soja, embora na prática seja muito comum a indústria utilizar o máximo de 2 % para garantir o teor mínimo exigido de proteínas (14 %), sendo que a proteína isolada de soja tem um teor protéico de aproximadamente 90 %.

Os teores de cinzas variaram de 3,87 a 4,14 % sendo que T1 apresentou o maior valor. Pedroso (2006) encontrou valores de 2,94 a 3,39 % e Prestes (2008) de 2,64 a 4,20 %.

A porcentagem de lipídios encontrada variou entre as amostras analisadas (3,94 a 5,76 %), sendo que a formulação T3 apresentou teor de lipídios estatisticamente inferior quando comparada as demais formulações e isto ocorreu devido a variações no grau de refile da matéria-prima. Uma das justificativas para este resultado é a forma como os ingredientes testados auxiliaram na retenção da gordura na matriz protéica, dificultando ou não a extração com solvente (método Soxhlet) (CECCHI, 1999) também pode ser uma das justificativas.

Os valores encontrados para o teor de lipídios divergem dos 2 a 3,2 % sugeridos por Barbut (2002) e dos 0,69 a 2,23 % encontrados por Prestes (2008) em presunto de peru elaborado com coxa e sobrecoxa. Pedroso (2006) utilizando como matéria-prima carne de sobrecoxa de peru encontrou teores de lipídios entre 2,39 e 3,79 %. Comparando os valores mencionados para presunto de peru com o presunto elaborado com carne de frango (coxa e sobrecoxa), os teores de gordura foram consideravelmente maiores, embora as proporções de carne utilizadas por Prestes (2008) tenham sido 71,4 %, enquanto que o presente trabalho utilizou 70 %. Este maior teor de gordura também pode ser justificado pelo fato de que no preparo da matéria-prima buscou-se o menor grau de refile possível, visando se aproximar da condição industrial de preparo, que preconiza o mínimo refile possível para facilitar a produção e reduzir o nível de perdas para indústria.

Os altos teores de lipídios encontrados provavelmente podem estar associados à utilização de carne de sobrecoxa de frango que apresenta mais tecido

adiposo que a carne de coxa. No refil apenas foram retiradas as gorduras mais salientes e soltas que porventura pudessem provocar bolsões que podem acumular líquido no produto final.

Os resultados visualizados na Tabela 10 mostram que as amostras não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre si quanto aos valores de pH (entre 6,72 e 6,77). Estes dados divergem dos 6,59 a 6,65 encontrados em presunto de peru com adição de amido de mandioca e carragena desenvolvidos por Pedroso (2006) e dos 6,55 a 6,59 encontrados por Prestes (2008) em presunto de peru adicionado de colágeno hidrolisado, amido modificado e goma guar. Segundo Pearson e Tauber (1984) o pH do presunto suíno encontra-se numa faixa de 5,9 a 6,1, portanto mais baixo que o presunto de frango e de peru.

Com relação aos resultados referentes à capacidade de retenção de água para os presuntos desenvolvidos, pode-se observar que houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras (Tabela 10). Os resultados indicaram CRA de 96,57 % (T3) até 98,62 % (T1).

Prestes (2008) encontrou valor de 96,63 % para presunto elaborado com 2 % de colágeno hidrolisado. Os resultados encontrados foram superiores para T1, T2 e T4 indicando a habilidade dos ingredientes testados em reter a água presente no produto. Observa-se que os ensaios T2 e T1, que foram elaborados com carne com diferente granulometria, apresentaram valores similares de CRA, ao contrário do que se esperava, ou seja, com menor grânulo poderia haver uma maior interação dos ingredientes e maior quantidade de água ficaria retida.

Os resultados obtidos concordam com Girard (1991), que menciona que de uma maneira geral os produtos com partículas de maior tamanho apresentam menor coesão do que os com partículas de médio ou menor tamanho o que afeta diretamente a CRA. Os resultados para CRA foram maiores do que os obtidos por Daigle et al. (2005) com adição de 1,50 % de colágeno em carne de peito de peru classificada como PSE (81,7 %).

Na Tabela 10 estão apresentadas as perdas por resfriamento (0,42 a 0,73 %), podendo-se observar que não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre as amostras. Pode-se verificar que os ingredientes testados reduziram as perdas no resfriamento. Os resultados encontrados foram inferiores aos 3,43 % encontrados por Prestes (2008) em formulação de presunto de peru quando adicionada de 2 % de colágeno hidrolisado.

O congelamento não é recomendado para presuntos, porém devido ao aumento de produtos prontos ou semi-prontos, a indústria de produtos cárneos direciona seus estudos para este segmento. No caso de massas como pizzas e lasanhas congeladas, a utilização de produtos cárneos não pode gerar perda de água durante o descongelamento do produto e o produto deve resistir às falhas na cadeia de frio durante o transporte até os pontos de venda.

As amostras submetidas a um ciclo de congelamento e descongelamento apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) no percentual de perdas. As perdas variaram de 3,82 % (T2) a 6,47 % (T4) (Tabela 10). A formulação T2 foi a que apresentou as menores perdas, ou seja, resistiu mais ao estresse do congelamento-descongelamento. Isto pode ser devido a menor granulometria da carne o que permitiu maior interação entre os ingredientes e maior resistência ao congelamento-descongelamento. Os resultados encontrados foram inferiores as 10,02 % encontrados por Prestes (2008) utilizando 2 % de colágeno hidrolisado em presunto de peru.

Estes resultados são interessantes, porque as misturas de ingredientes (colágeno e gelatina) e o grau de moagem parecem ter influenciado nas perdas. A princípio, um maior tamanho (14 mm) das partículas da carne apresentou maiores perdas, independentemente da mistura de colágenos utilizada.

A perda por reaquecimento é importante para presuntos que serão utilizados em pratos quentes, como por exemplo, pizzas e lasanhas, pois esta perda de líquidos pode gerar amolecimento da massa e exsudação excessiva no prato pronto.

Para esta análise, considerou-se que a absorção de água pelas amostras de presunto não foram significativas e não afetariam os resultados. Na Tabela 10 estão apresentadas as porcentagens de perdas por reaquecimento com diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras desenvolvidas. Dentre os ingredientes testados a amostra T3 foi a que apresentou as maiores perdas (25,13 %). Esta formulação apresentou resultado similar aos 24,96 % de perdas encontrados por Prestes (2008) em presunto de peru adicionado de 2 % de colágeno hidrolisado. Os resultados encontrados foram muito próximos aos 26,5 % encontrados por Paulino et al. (2006) para cortes bovinos adicionados de fibra de colágeno.

As formulações T2 e T4 apresentaram os menores valores de perdas (11,68 e 12,68 % respectivamente), mesmo sendo elaboradas com matérias-primas cominuídas em diferentes discos. Pode-se concluir que a ação da mistura de

colágenos proporcionou resistência ao reaquecimento, mesmo com uma matéria-prima com maior tamanho (14 mm).

Com a finalidade de verificar a interferência dos ingredientes na textura do produto final, foram realizados testes em texturômetro para compressão e força de cisalhamento. Na Tabela 10 podem ser visualizados os resultados para a força de cisalhamento e compressão para as amostras desenvolvidas de presunto de frango. Houve diferença significativa ($p < 0,05$) apenas para compressão para as amostras analisadas.

Os resultados para cisalhamento (2,01 a 2,49 N) foram inferiores aos 9,77 N encontrados por Prestes (2008) para amostras de presunto de peru adicionadas de colágeno hidrolisado. Este resultado mostra que os ingredientes adicionados contribuíram para maior retenção de água no interior do produto e conseqüentemente maior maciez e menores forças necessárias para cortar as amostras. Além disso, Prestes (2008) elaborou os presuntos com coxas, cuja carne é mais dura que a de sobrecoxa e utilizou apenas pré-cortadores. Já o presente trabalho utilizou grau de moagem maior, o que provoca menor resistência das fibras ao corte.

Almeida et al. (2006) e Li (2006) mencionam que o colágeno apresenta efeito significativo na força de cisalhamento, onde o aumento na concentração aumenta a dureza da amostra. Estas diferenças podem ser explicadas pelo tipo de colágeno utilizado (nativo ou hidrolisado). No entanto, no presente estudo não foram identificadas diferenças nas amostras nas concentrações e condições testadas.

Os resultados para compressão mostraram que a formulação T1 apresentou menor valor para compressão (8,13 N), portanto, resistiu menos a compressão. Comparando a formulação T3 com T4, cuja diferença é apenas nos colágenos testados, não houve diferença significativa (10,68 e 13,77 N respectivamente). Diferente do esperado, a formulação T2 não apresentou maior resistência à compressão devido a menor granulometria da matéria-prima, o que proporcionaria maior resistência da matriz protéica formada.

Este resultado discorda com o proposto por Girard (1991) que a dureza e a suculência diminuem quando o tamanho das partículas aumenta.

Os resultados encontrados foram inferiores aos 38,11 N encontrados para compressão por Prestes (2008) para cisalhamento em amostras de presunto de peru adicionadas de colágeno hidrolisado. Novamente estas diferenças podem ser

justificadas pelo tipo de músculo utilizado e grau de moagem da matéria-prima.

Prabhu et al. (2004) estudaram adição de 1, 2 e 3 % de colágeno suíno em presunto fresco e sugeriram que aumento nos níveis de colágeno testados aumentam a firmeza do produto.

Na Tabela 10 estão apresentados os resultados para os parâmetros a^* , L^* e b^* . Houve diferença significativa ($p < 0,05$) nos três parâmetros avaliados. A formulação T1 apresentou os menores valores de L^* , a^* e b^* , o que indica produto mais opaco, mais escuro e coloração menos avermelhada. A adição da fibra de colágeno contribuiu para amarelamento do produto.

No estudo realizado por Pedroso (2006) a adição de carragena e amido de mandioca não afetaram significativamente os valores de L^* e a^* e para os valores de b^* , somente a carragena apresentou efeito significativo ($p < 0,05$). No estudo realizado por Pietrazik et al. (2003) a carragena ocasionou menores valores de L^* e b^* e mais altos de a^* .

No estudo realizado por Prestes (2008) a adição de colágeno hidrolisado em presunto de peru afetou significativamente os parâmetros L^* e b^* . O mesmo colágeno hidrolisado foi testado por Michelini et al. (2007) em hambúrguer bovino onde também foi observada alteração na cor. Esta alteração também foi observada por Prabhu e Doerscher (2003) em emulsões cárneas adicionadas de 1 % de colágeno. Já a adição de 3 % de colágeno nativo em presunto elaborado com carne PSE não afetou a cor do produto final (SCHILLING et al., 2003; 2004).

Os valores de L^* , a^* e b^* obtidos por Daigle et al. (2005) foram respectivamente 73,7, 6,42 e 9,90 em produto elaborado com carne de peito de peru adicionada de 1,50 % de colágeno. Já Prabhu et al. (2004) adicionaram 1, 2 e 3 % de colágeno suíno em presunto fresco e os valores de L^* , a^* e b^* não foram afetados.

A sinerese foi avaliada com objetivo de simular as condições rigorosas que o produto pode ser submetido, situação semelhante ao armazenamento inadequado, de maneira que possa ser observada a liberação de líquido do produto. Foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as amostras conforme Tabela 10. Os resultados ficaram entre 6,21 e 7,66 % e foram superiores aos 3,72 % encontrados por Prestes (2008) em presunto de peru adicionado de colágeno hidrolisado e por Prabhu e Doerscher (2003), sendo que os valores por eles

encontrados para sinerese após quatro semanas de armazenamento com a utilização de 2 % de colágeno chegaram a até 3,29 %.

Pode-se observar que as formulações T3 e T4 apresentaram as maiores perdas (7,34 e 7,66 % respectivamente), o que pode ser justificado pelo tamanho da matéria-prima utilizada quando comparadas com as formulações T1 e T2, elaboradas com carne mais triturada (menor granulometria).

Estes resultados superiores podem ser justificados pelo fato que a proporção de ingredientes testados foi inferior aos utilizados por Prestes (2008) e as variações na matéria-prima utilizada possibilitaram uma menor resistência dos produtos às condições de estresse ao qual foram submetidos.

Schilling et al. (2003; 2004) observaram perdas de líquido superiores às encontradas neste estudo, em torno de 10,95 % para presuntos elaborados com 3 % de colágeno nativo tendo como matéria-prima carnes com características PSE. E Daigle et al. (2005) concluíram que a adição de 1,50 % de colágeno em carne de peito de peru classificada como PSE reduziu a sinerese e melhorou a textura.

4.3.3 – Análise Microbiológica

A análise microbiológica revelou que as amostras de presunto de frango nas formulações testadas apresentaram condições próprias para consumo conforme a RDC 12 (BRASIL, 2001) o que permitiu a posterior realização da análise sensorial. Para este estudo foram avaliados coliformes totais, *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* sp, sendo que foi verificada a ausência destes micro-organismos em todas as amostras analisadas.

4.3.4 – Análise Sensorial

Teste de Aceitabilidade

Na Figura 32 estão apresentados os resultados da Escala Hedônica de presunto de frango. O objetivo do teste foi verificar quais as melhores formulações, no entanto, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as formulações. Os resultados encontrados foram maiores dos que obtidos por Prestes (2008) que foram de 6,30 a 6,80 para presunto de peru.

Os resultados encontrados ficaram entre “gostei ligeiramente” e “gostei muito”

conforme a escala de pontos. Em geral, as formulações desenvolvidas apresentaram índice de aceitação de 68,3 a 81,7 % e na média a 75 %. Portanto, os presuntos desenvolvidos apresentaram boa aceitação. Como não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre as formulações para o teste de comparação múltipla, foram utilizadas todas as formulações desenvolvidas.

Os resultados da análise da aceitabilidade divergem do mencionado por Girard (1991) de que a aceitabilidade é menor para produtos com partículas maiores.

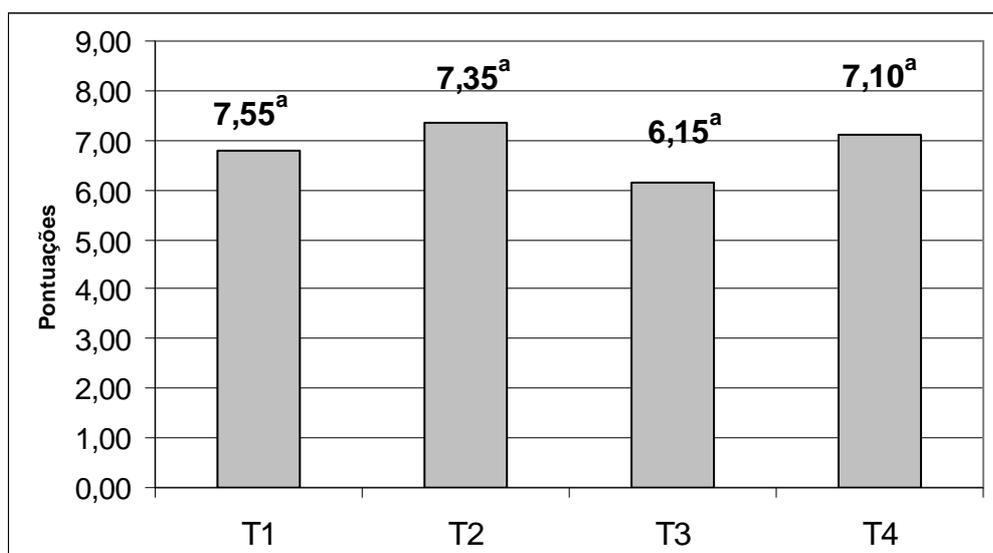


Figura 32 – Aceitabilidade de amostras de presunto de frango desenvolvidas nos testes preliminares. * Formulações: T1 – 1 % B e moagem da matéria-prima 50 % em disco de 8 mm e 50 % em disco de 14 mm; T2 – (0,5 % A + 0,5 % B) e moagem de 100 % da matéria-prima em disco de 8 mm; T3 – (0,5 % E + 0,5 % C) e moagem de 100 % da matéria-prima em disco de 14 mm; T4 – (0,5 % D + 0,25 % A + 0,25 % B) e moagem de 100 % da matéria-prima em disco de 14 mm. ** Médias com letras iguais não diferem significativamente ($p>0,05$). ***Valores de critérios: (9) Gostei extremamente; (8) Gostei muito; (7) Gostei moderadamente; (6) Gostei ligeiramente; (5) Indiferente; (4) Desgostei ligeiramente; (3) Desgostei moderadamente; (2) Desgostei muito; (1) Desgostei extremamente.

Comparação com presunto de frango produzido comercialmente

Os resultados do teste de comparação múltipla obtidos para as amostras de presunto de frango produzido comercialmente e desenvolvidos (T1, T2, T3 e T4) encontram-se na Tabela 11. Pode-se observar que as médias com mesmas letras na vertical não diferem significativamente ($p>0,05$).

As amostras foram consideradas iguais ao padrão comercial em relação a textura (teste de comparação) mostrando que a adição dos ingredientes testados não apresentou efeito significativo na textura dos presuntos (média 1,9).

TABELA 11 – Características sensoriais das formulações de presunto de frango desenvolvidas nos testes preliminares.

| Amostras | Comparação*** | Grau de Diferença**** |
|-----------------|----------------------|------------------------------|
| Padrão | 2,00 ^a | 1,00 ^a |
| T 1 | 2,10 ^a | 1,80 ^{ab} |
| T 2 | 1,80 ^a | 1,05 ^a |
| T 3 | 2,00 ^a | 2,00 ^b |
| T 4 | 2,05 ^a | 1,45 ^{ab} |

* Formulações: T1 – 1 % B e moagem da matéria-prima 50 % em disco de 8 mm e 50 % em disco de 14 mm; T2 – (0,5 % A + 0,5 % B) e moagem de 100 % da matéria-prima em disco de 8 mm; T 3 – (0,5 % E + 0,5 % C) e moagem de 100 % da matéria-prima em disco de 14 mm; T 4 – (0,5 % D + 0,25 % A + 0,25 % B) e moagem de 100 % da matéria-prima em disco de 14 mm.

**Médias com letras iguais não diferem significativamente ($p > 0,05$).

*** Critérios utilizados para comparação: (1) melhor que o padrão, (2) igual ao padrão e (3) pior que o padrão.

****Critérios empregados para grau de diferença: (0) nenhum, (1) ligeiro, (2) regular, (3) muito e (4) extremamente.

Quando os provadores foram questionados sobre o grau de diferença das amostras em relação ao padrão a média obtida na escala foi 1,56, indicando diferença regular entre as amostras. As amostras com maior e menor grau de diferença foram respectivamente T3 e T2. T3 foi elaborada com matéria-prima moída em disco de 14 mm e T2 em disco de 8 mm, em relação ao padrão comercial (elaborado com disco de 8 mm) os consumidores perceberam diferença na textura.

Prabhu et al. (2004) verificaram o efeito da adição de 1, 2 e 3 % de colágeno suíno em presunto e os resultados indicaram que até 2 % de colágeno adicionado não influenciou na avaliação sensorial em relação à textura quando comparado com produto controle.

Os resultados obtidos sensorialmente mostram que a substituição parcial da proteína isolada de soja por colágeno é viável, e a textura foi considerada igual à do padrão. As formulações T2 e T4 (maior e menor granulometria respectivamente) foram as que apresentaram menor grau de diferença, mesmo quando elaboradas com carne em diferentes discos de moagem.

Para os teste adicional (T5) os resultados mostraram que o ensaio com a utilização de 1,00 % de colágeno com a matéria-prima 100 % em disco de 14 mm o produto apresentou aspecto inadequado devido grande formação de exsudado gelatinoso, presença de gel no interior da peça e textura quebradiça, conforme pode ser observado na Figura 33. Devido ao aspecto desagradável do produto, não foi

realizada a avaliação sensorial. Este resultado comprovou que a adição de colágeno hidrolisado e gelatina (T3) ou só exclusivamente gelatina (T5) não foi adequada nas concentrações e condições testadas para o presunto de frango.



Figura 33 – Produto obtido no experimento T5 (1,0 % de gelatina (E) com moagem de 100 % da matéria-prima em disco de 14 mm) mostrando formação de precipitado gelatinoso, presença de gel no interior e textura quebradiça.

Nos ensaios T6, T7 e T8 foi avaliada a redução de tempo da mistura para obter ganho em produtividade e para avaliar se os 60 minutos de mistura foram adequados. Estes experimentos foram avaliados através da medida de resistência à compressão e podem ser observados na Tabela 12. Os resultados mostraram que foi possível a redução de 15 minutos do tempo de mistura sem comprometer a textura do produto final, pois não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre T7 e T8. Em termos de características visuais foi possível observar textura quebradiça do teste T6 e que pode ser comprovada pela baixa resistência a compressão.

TABELA 12 – Valores de compressão (N) para os testes de redução do tempo de mistura.

| Ensaio | Compressão (N) |
|--------------|---------------------|
| T 6 (30 min) | $5,86^a \pm 0,870$ |
| T 7 (45 min) | $9,02^b \pm 1,155$ |
| T 8 (60 min) | $10,39^b \pm 1,696$ |

* Médias \pm Erro Puro indicadas com letras diferentes na vertical diferem significativamente ($p < 0,05$).

Os resultados preliminares mostraram que a adição de colágeno nas proporções testadas e o grau de cominuição da matéria-prima afetaram significativamente ($p < 0,05$) algumas características tais como: perdas por

reaquecimento e congelamento, resistência a compressão, CRA, sinerese e cor.

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para pH, força de cisalhamento e em relação a textura quando comparado com o padrão comercial na análise sensorial. Em geral, o grau de moagem e misturas de tipos de colágeno afetaram as perdas por congelamento e reaquecimento, ou seja, dependendo da moagem (maior ou menor granulometria) e do tipo de colágeno houve uma maior ou menor resistência a situações de estresse para o produto.

A formulação T3 adicionada de 0,5 % de gelatina e 0,5 % de colágeno hidrolisado (C) e elaborada com carne em maior granulometria (14 mm) e a formulação T5 adicionada apenas de 1,0% de gelatina e também com maior granulometria, apresentaram os piores resultados em termos de textura e perdas. Nestas duas formulações foi evidenciada a presença de precipitado gelatinoso firme externo provocado pela adição de gelatina. Segundo informações de alguns autores (Damoradan et al., 2010), a gelatina quando submetida a elevadas temperaturas (como as empregadas no cozimento) solubiliza-se e ao resfriar gelifica de maneira desordenada. Em determinadas concentrações, a interação proteína-proteína da gelatina é mais forte do que a interação gelatina-proteína (Hernandez-Briones et al., 2009; Yang et al, 2007) e Damoradan et al. (2010) mencionam que existe uma concentração limite para interações entre proteínas e polissacarídeos, acima desta concentração ocorre a liberação de gel no produto.

A fibra de colágeno quando adicionada individualmente na concentração de 1 % afetou a coloração do produto tornando-o mais amarelado e resultou na presença de gel no exterior das peças.

As formulações T2 e T4, embora desenvolvidas com graus de moagem diferentes e misturas de colágenos diferentes, na análise sensorial obtiveram notas muito próximas e foram bem aceitas pelos provadores.

Todas as formulações desenvolvidas não atenderam o PIQ de Presunto e foram necessários novos ajustes e experimentos para adequação das formulações.

Nesta etapa do trabalho foi possível observar que as misturas de tipos de colágeno atuam de forma diferente na matriz proteica e que os graus de cominuição influenciaram diretamente no desempenho destes.

Conclui-se nos testes preliminares que a mistura de 50% de fibra de colágeno em pó e 50 % de fibra de colágeno foi o melhor resultado, sendo esta mistura escolhida para a continuação do estudo. Com relação a granulometria da carne nos

próximos testes será utilizado o disco de 22 mm além dos dois discos testados (8 e 14 mm) com a finalidade de ampliar o grau de cominuição (maior granulometria) e avaliar a influência desta variação na aceitação e propriedades do produto.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DO PRODUTO FINAL

4.4.1 *Aspecto visual dos presuntos desenvolvidos*

Na Figura 34 podem ser visualizados os aspectos das formulações desenvolvidas no planejamento fatorial e os testes extras realizados. Todas as formulações geraram presunto. No entanto, alguns com apresentaram melhores características (letras A, C e E). Os problemas evidenciados nas amostras estão detalhados e mostrados na Figura 35.

A princípio, na primeira avaliação dos presuntos, observou-se que com maior tamanho de matéria prima, pior foi a aparência, pois houve maior destaque para o tamanho da gordura e os produtos ficaram menos homogêneos na Figura 34 (letras B, D, F, H, F, J, K e L) e na Figura 35 (letras E, F, G e I). Segundo Iqbal et al. (2010) produtos que apresentam coloração mais uniforme são geralmente mais aceitos pelos consumidores. Também com relação à gordura, Resurrección (2003) menciona que o conteúdo de gordura e a cor são fatores importantes na escolha dos consumidores. Gordura visível gera uma percepção negativa, pois a gordura está associada a alimentos que fazem mal a saúde. Este tipo de problema pode ser visualizado na Figura 35 (letras E, F, G, H e I).

Já os produtos mais cominuídos (formulações F1, F3, F5 e F7) apresentaram cor uniforme, maior firmeza e a gordura não ficou visível (Figura 34 letras A, C, E e G). Foi observado nos presuntos elaborados com carne triturada em disco de 22 mm (Figura 35, letras A, D, E, F, G e H)) e na formulação em que a carne não foi moída (Figura 35 letra L) a presença da membrana de tecido conjuntivo que recobre os músculos da coxa e sobrecoxa, o que prejudicou o aspecto visual e ação dos ingredientes adicionados. Tal comportamento também foi relatado por Feiner (2006).

Embora 100 % da matéria-prima tenha sofrido um ciclo de congelamento e descongelamento, a moagem proporcionou a exposição das proteínas miofibrilares e a ação dos ingredientes testados foi eficiente na produção de presunto de frango.

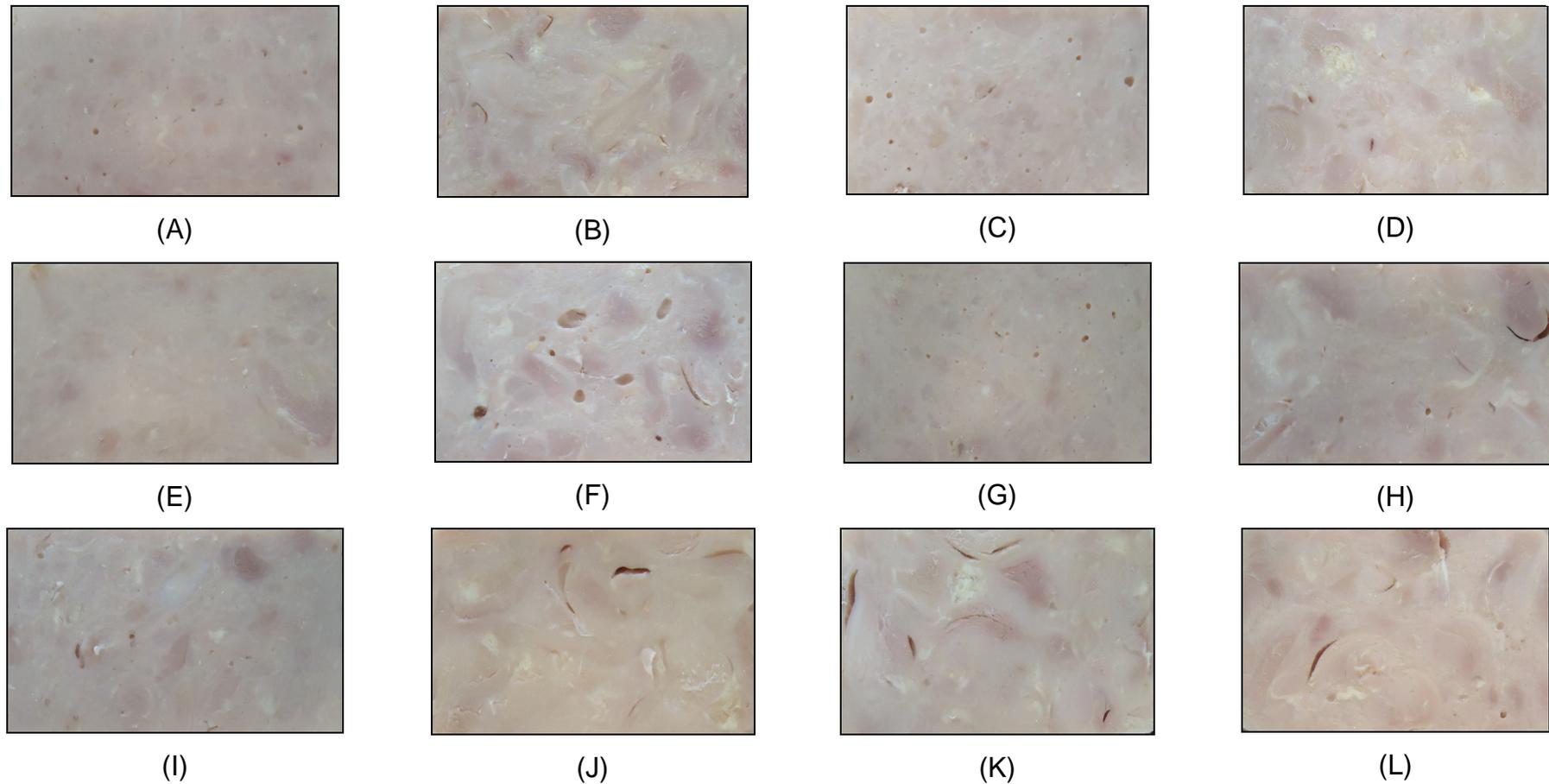


Figura 34 – Aspecto visual dos presuntos de frango desenvolvidos.

(A) F1 – 0,75 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; (B) F2 – 0,75 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; (C) F3 – 1,25 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; (D) F4 – 1,25 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; (E) F5 – 0,75 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; (F) F6 – 0,75 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; (G) F7 – 1,25 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; (H) F8 – 1,25 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; (I) PC (F9, F10 e F11) – 1,0 % de mistura de colágenos, 1,0 % de proteína de soja e moagem de 14 mm; (J) F12 – 0 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; (K) F13 – 0 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm (CONTROLE); (L) F14 – 1,0 % de mistura de colágenos, 1,0 % de proteína de soja e matéria-prima sem moer.

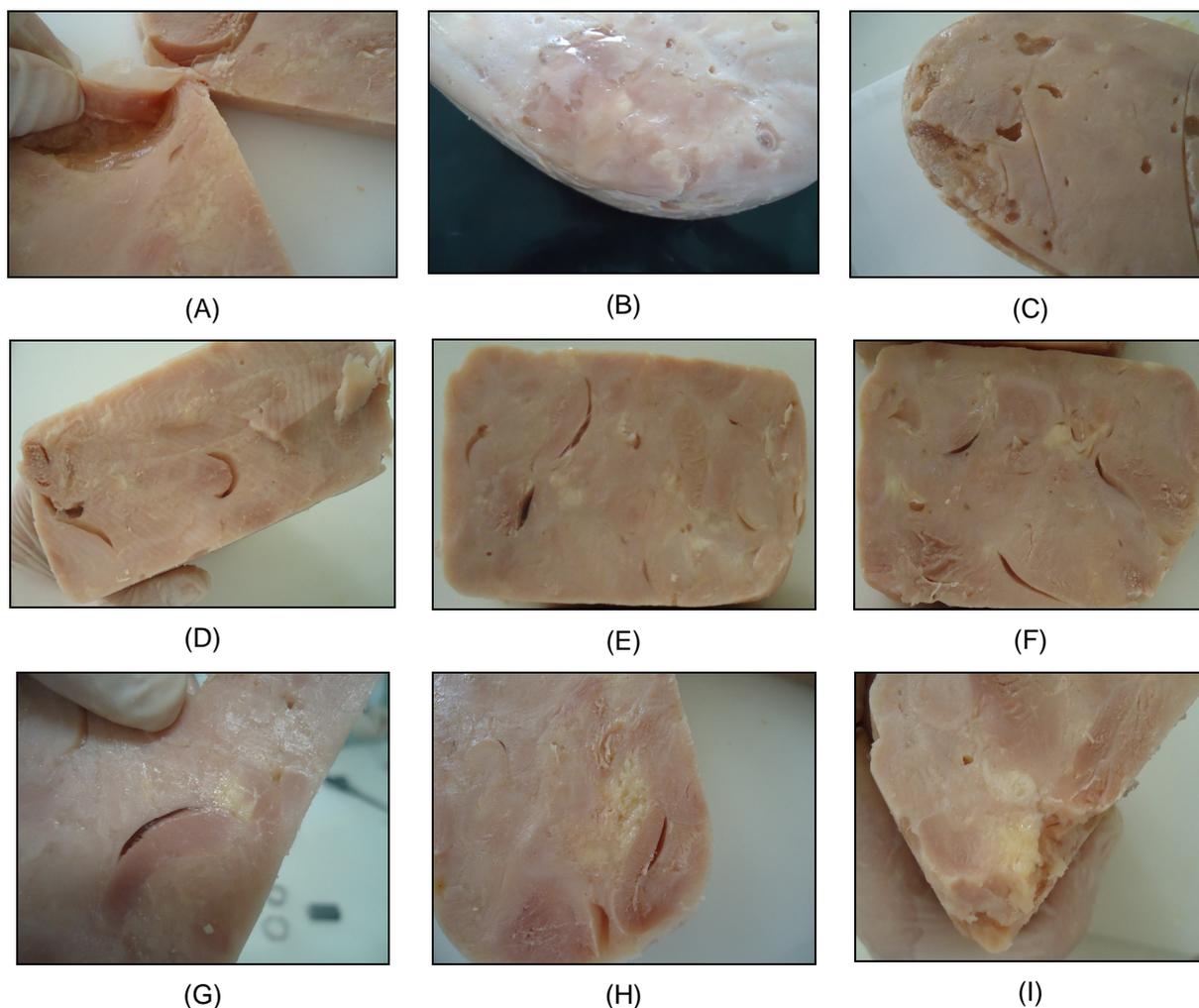


Figura 35 – Problemas observados em algumas formulações desenvolvidas do planejamento fatorial.

- (A) Falta de liga e gelatinização do colágeno existente na matéria-prima (disco 22 mm) (evidenciada nas formulações F12 e F13).
 (B) Presença de precipitado gelatinoso externo (firme) (evidenciada nas formulações F2 e F7).
 (C) Problemas de bolhas decorrentes do embutimento manual e precipitado gelatinoso externo (mole) evidenciado na formulação F 6 e F8).
 (D) e (G) Falhas e falta de liga na matéria-prima moída em disco 14 mm (evidenciado nas formulações correspondente ao Ponto Central (F9, F10 e F11).
 (E) Maior evidência de falhas e falta de liga na matéria-prima moída em disco 22 mm e também maior visualização da gordura (formulações F12 e F13).
 (F) Falhas, problemas de textura, falta de liga da matéria-prima sem moer e maior visualização da gordura presente na carne (disco 22 mm) (formulação F14).
 (H) Falhas, problemas de liga e visualização da gordura (disco 22 mm) (formulações F12, F13 e F2).
 (I) Falta de liga e textura quebradiça devido presença da gordura (sem moer) (formulação F14).

4.4.2 Teores de umidade, cinzas, proteína, hidroxiprolina, colágeno e lipídios

Na Tabela 13 estão apresentados os resultados para os teores de umidade, cinzas, proteína bruta, hidroxiprolina, colágeno e lipídios para os presuntos desenvolvidos. Observa-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) para os

valores de umidade, cinzas, proteínas, colágeno, hidroxiprolina e lipídios.

Os resultados para umidade variaram de 75,11 a 78,12 %. As formulações que apresentaram maior e menor teor de umidade foram F1 e F8 respectivamente. Esta variação reflete o efeito dos ingredientes adicionados na retenção de umidade e também a pequena diferença do teor de água adicionada nas formulações. Além disso, as formulações com maior adição de sólidos a umidade foi menor (F5, F6, F7 e F8). Na amostra que continha os ingredientes estudados nos maiores níveis (F8) foi observado o menor teor de umidade. As formulações F6 e F7 também apresentaram valores próximos da formulação F8. Avaliando-se os resultados obtidos para as formulações F1, F2, F3, F4 e F12, que não continham proteína de soja, foi observado maiores teores de umidade. Para F12 não foi adicionado colágeno nem soja e os resultados, como era esperado, indicaram maiores teores de umidade entretanto, os valores foram inferiores a F1. Os resultados de umidade para o PC coincidem com os resultados de umidade encontrados nos testes preliminares (76,46 a 76,90 %).

Prestes (2008) estudou a adição de colágeno hidrolisado, amido modificado e goma guar em presunto de peru e obteve para o teor de umidade valores de 73,61 a 77,13 %. Já Pedroso (2006) encontrou para este mesmo tipo de produto teores de 74,06 a 75,85 %.

Os resultados obtidos para F1, F2, F3 e F4 confirmam o que mencionaram Schilling et al. (2003; 2004), onde a adição de colágeno auxilia na retenção da umidade no cozimento e como consequência observou-se maior teor de umidade no produto final.

As diferenças no teor de umidade também são decorrentes das perdas no decorrer do processo de descongelamento e que podem afetar a CRA da carne e também as propriedades de liga e interação desta com a água adicionada e com demais ingredientes da formulação (ORDÓÑEZ, 2005). Este aspecto é relevante na produção de presunto, onde é preciso obter uma adequada proporção de proteína e umidade, tanto para palatabilidade como para alcançar o peso adequado do produto final.

Os valores encontrados ficaram próximos dos 74,36 % a 77,15 % encontrados por Prabhu et al. (2004) para presunto suíno adicionado de colágeno. Já Válková et al. (2007) avaliaram presuntos cozidos (de carne suína) e encontraram teores desde 72,72 até 79,94 % de umidade.

TABELA 13 – Teores de umidade, cinzas, proteína bruta, hidroxiprolina, colágeno e lipídios para as formulações desenvolvidas no planejamento fatorial 2³.

| Ensaio | Umidade (%) | Cinzas (%) | PB** (%) | PB*** (%) | HP*** (%) | Colágeno*** (%) | LP*** (%) | LP** (%) |
|-------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| F1 | 78,12 ^e ±0,139 | 3,61 ^{abc} ±0,029 | 13,99 ^{ab} ±0,050 | 63,91 ^c ±0,050 | 0,14 ^{abc} ±0,001 | 1,09 ^{abc} ±0,007 | 3,03 ^a ±0,314 | 10,81 ^a ±0,314 |
| F2 | 77,46 ^{cde} ±0,166 | 3,85 ^{hij} ±0,013 | 13,67 ^a ±0,090 | 60,64 ^a ±0,090 | 0,110 ^{ab} ±0,001 | 0,86 ^{ab} ±0,007 | 5,52 ^{de} ±0,137 | 18,97 ^{de} ±0,137 |
| F3 | 77,64 ^{cde} ±0,083 | 3,59 ^{ab} ±0,053 | 14,80 ^{ab} ±0,198 | 66,19 ^{ef} ±0,198 | 0,13 ^{abc} ±0,007 | 0,99 ^{abc} ±0,049 | 5,03 ^{cde} ±0,135 | 17,47 ^{cde} ±0,135 |
| F4 | 77,28 ^{cd} ±0,301 | 3,92 ^{jk} ±0,015 | 13,90 ^a ±0,173 | 61,18 ^a ±0,173 | 0,24 ^c ±0,002 | 1,88 ^c ±0,014 | 5,83 ^e ±0,360 | 19,84 ^e ±0,360 |
| F5 | 76,06 ^b ±0,313 | 3,59 ^a ±0,020 | 15,61 ^{cde} ±0,027 | 65,20 ^d ±0,027 | 0,14 ^{abc} ±0,001 | 1,10 ^{abc} ±0,014 | 5,99 ^{cde} ±0,659 | 19,01 ^{cde} ±0,659 |
| F6 | 75,76 ^{ab} ±0,157 | 3,88 ^{ij} ±0,008 | 15,59 ^{cde} ±0,462 | 64,30 ^c ±0,462 | 0,13 ^{abc} ±0,001 | 1,04 ^{abc} ±0,007 | 4,10 ^{abcd} ±0,253 | 12,80 ^{abcd} ±0,253 |
| F7 | 75,46 ^{ab} ±0,125 | 3,82 ^{fghi} ±0,010 | 16,26 ^e ±0,233 | 66,28 ^{fg} ±0,233 | 0,21 ^{bc} ±0,002 | 1,67 ^{bc} ±0,014 | 4,10 ^{abcd} ±0,253 | 12,60 ^{abcd} ±0,253 |
| F8 | 75,11 ^a ±0,139 | 3,98 ^k ±0,038 | 15,63 ^{de} ±0,276 | 62,80 ^b ±0,276 | 0,19 ^{bc} ±0,001 | 1,49 ^{bc} ±0,001 | 5,01 ^{cde} ±0,464 | 15,12 ^{cde} ±0,464 |
| PC | 76,93 ^c ±0,103 | 3,78 ^{efgh} ±0,022 | 15,42 ^{cd} ±0,087 | 66,86 ^g ±0,087 | 0,11 ^{ab} ±0,001 | 0,88 ^{ab} ±0,035 | 3,47 ^{ab} ±0,524 | 11,58 ^{ab} ±0,524 |
| F12 | 77,93 ^{de} ±0,188 | 3,83 ^{ghi} ±0,014 | 13,88 ^a ±0,094 | 62,89 ^b ±0,094 | 0,06 ^a ±0,001 | 0,51 ^a ±0,014 | 3,82 ^{abc} ±0,353 | 13,47 ^{abc} ±0,353 |
| F13 (controle) | 75,55 ^{ab} ±0,029 | 3,69 ^{cde} ±0,023 | 15,75 ^{de} ±0,258 | 64,41 ^c ±0,258 | 0,05 ^a ±0,001 | 0,39 ^a ±0,007 | 3,46 ^{ab} ±0,467 | 10,69 ^a ±0,467 |
| F14 | 76,024 ^e ±0,035 | 3,67 ^{bcd} ±0,043 | 15,73 ^{de} ±0,040 | 65,60 ^{de} ±0,040 | 0,12 ^{abc} ±0,001 | 0,97 ^{abc} ±0,007 | 4,10 ^{abcd} ±0,324 | 12,99 ^{abcd} ±0,324 |

F1 – 0,75 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F2 – 0,75 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F3 – 1,25 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F4 – 1,25 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F5 – 0,75 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F6 – 0,75 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F7 – 1,25 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F8 – 1,25 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; PC (F9, F10 e F11) – 1,0 % de mistura de colágenos, 1,0 % de proteína de soja e moagem de 14 mm; F12 – 0 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F13 – 0 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm (CONTROLE); F14 – 1,0 % de mistura de colágenos, 1,0 % de proteína de soja e matéria-prima sem moer.

PB – Proteína Bruta, HP – Hidroxiprolina e LP – Lipídios.

*Médias ± Erro Puro indicadas com letras diferentes na vertical diferem significativamente (p<0,05). ** Determinações em base úmida. *** Determinações em base seca.

Os resultados encontrados confirmam que a adição de colágeno pode aumentar a retenção de umidade no produto final (comparando os valores de F1 a F4) conforme mencionado por DAIGLE et al. (2005), MICHELINI et al. (2007); SCHILLING et al. (2003) e ALMEIDA et al. (2006).

Além das interpretações individuais dos resultados, por intermédio do planejamento fatorial é possível prever o comportamento dos produtos e medir o efeito da utilização de um determinado ingrediente e/ou variável bem como a interação entre eles em toda a faixa avaliada.

Pela Tabela 14 é possível verificar os efeitos das variáveis estudadas sobre o teor de umidade. O valor **p** é uma medida de plausibilidade dos resultados da amostra quando a hipótese nula é assumida como verdadeira. Quanto menor o valor de **p**, menos provável que os resultados da amostra venham de uma população onde a hipótese nula é verdadeira (OLIVEIRA et al., 2006). Pode ser observado apenas efeito significativo ($p < 0,05$) de primeira ordem negativo para proteína de soja sobre a umidade (%). Comprovou-se que a adição de soja contribui para redução da umidade do produto final devido suas propriedades de retenção de água no cozimento e devido suas propriedades de hidratação e aprisionamento da água na estrutura da matriz proteica gelificada.

Este resultado é muito favorável a nível tecnológico pois produtos com menor umidade final indicam menor tendência a sinerese, maior capacidade de retenção de água e conseqüentemente um produto mais estável as condições adversas de temperatura e armazenamento.

TABELA 14 – Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta umidade (%).

| | Efeitos | Desvio Padrão | p |
|------------------------|----------------|----------------------|----------|
| Média/Interação | 76,434 | 0,128 | <0,001* |
| (1) Colágeno | -0,485 | 0,301 | 0,130 |
| (2) Soja | -1,980 | 0,301 | <0,001* |
| (3) Moagem | -0,371 | 0,301 | 0,238 |
| 1X2 | -0,062 | 0,301 | 0,841 |
| 1X3 | 0,055 | 0,301 | 0,858 |
| 2X3 | 0,270 | 0,301 | 0,386 |
| 1X2X3 | -0,112 | 0,301 | 0,715 |

* Significância de 95 %.

O modelo encontrado para umidade não foi adequado para utilização na

construção das superfícies de resposta, devido à baixa correlação obtida e ao valor do teste F ser menor que o tabelado.

Para os valores de cinzas a adição de cloreto de sódio e polifosfato de sódio pode contribuir para elevação desta análise em relação à carne o que pode ser observado comparando os resultados de cinzas para a matéria-prima (1,14 %) com os 3,59 a 3,92 % obtidos para os presuntos. A formulação F5 foi a que apresentou o menor valor do teor de cinzas (3,585 %) , enquanto a formulação F8 apresentou o maior valor (3,97 %) (Tabela 13). Em presunto de peru Pedroso (2006) encontrou valores de 2,94 a 3,39 % e Prestes (2008) de 2,64 a 4,20 %. Estas variações são decorrentes da variação da própria carne pois as formulações adicionadas de colágeno e soja não apresentaram aumento no teor de cinzas, o que pode ser observado pelo teor de cinzas encontrado na formulação F12. Os resultados obtidos para cinzas coincidiram com os obtidos nos testes preliminares (3,86 a 4,14 %).

Válková et al. (2007) avaliaram presuntos cozidos (elaborados com carne suína) e encontraram valores de cinzas de 3,13 a 4,83 %, valores estes próximos dos encontrados para presunto de frango.

Para os resultados de proteína observa-se que os valores variaram de 13,67 (F2) até 16,2 % (F7). Nos testes preliminares com a adição de 1 % de colágeno e 1 % de proteína de soja os resultados variaram de 13,78 % a 14,34 %.

Na Tabela 13 observa-se que na formulação controle F12 (sem adição de soja e colágeno) os resultados foram de 13,88%. Já para as formulações adicionadas de 2,00 % de soja e 1,25 % de colágeno (nível máximo) os resultados chegaram até 16,26 %. Pedroso (2006) e Prestes (2008) encontraram para presunto de peru valores de 14,65 a 15,78 % e 12,72 a 15,36 %, respectivamente.

A adição de proteína de soja e misturas de colágenos aumentou proteína no produto final quando considerada a formulação F12 (sem a adição de mistura de colágeno e proteína isolada de soja) como padrão para a comparação.

Verifica-se também que as amostras F1, F2, F4 e F12 não se enquadram no Padrão de Identidade e Qualidade de Presunto (BRASIL, 2000), uma vez que o teor de proteína encontrado foi inferior a 14 % e a relação umidade:proteína foi superior a 5,20 (dados não mostrados). As demais amostras encontraram-se dentro dos parâmetros físico-químicos obrigatórios. Para as formulações adicionadas apenas de colágeno somente F3 (adição de 1,250 % de mistura de colágeno e disco de 8 mm) atingiu os parâmetros físico-químicos obrigatórios. Os resultados mostram

também que deve-se ter a adição mínima de proteína para atingir os parâmetros do RTIQ com adição de água na formulação a um nível aproximado de 25 %.

Os resultados encontrados concordam com os obtidos por Olivo e Shimokomaki (2001) onde a adição de 0,40 a 2,0 % de colágeno aumentou o nível protéico total, porém, isto só não foi observado na formulação F2, F1 e F4.

Na Tabela 15 pode-se observar os efeitos das variáveis de entrada colágeno, soja e moagem na variável de resposta porcentagem de proteína. Podem ser observados efeitos significativos ($p < 0,05$) de primeira ordem para as três variáveis e de interação entre % de colágeno e grau de moagem e entre % de proteína de soja e grau de moagem. Sendo que a moagem, adição de mistura de colágenos, adição de proteína isolada de soja e interações destes influenciaram o teor de proteínas do produto final. Observa-se que a soja e o colágeno afetaram positivamente o teor de proteínas. Já para a moagem o efeito é muito pequeno quando comparado a soja e o colágeno (não chega a 10 % do efeito da proteína de soja) e este pode ter sido gerado por erros experimentais sendo que foi considerado desprezível.

Através do cálculo dos efeitos comprovou-se que a adição de proteína isolada de soja e mistura de colágenos contribuiu para o aumento do teor proteico final dos presuntos.

TABELA 15 – Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta proteína (%).

| | Efeitos | Desvio Padrão | p |
|------------------------|----------------|----------------------|----------|
| Média/Interação | 15,182 | 0,076 | <0,001* |
| (1) Colágeno | 0,651 | 0,178 | 0,003* |
| (2) Soja | 1,595 | 0,178 | <0,001* |
| (3) Moagem | -,0782 | 0,178 | 0,001* |
| 1X2 | -0,177 | 0,178 | 0,336 |
| 1X3 | -0,611 | 0,178 | 0,004* |
| 2X3 | 0,470 | 0,178 | 0,019* |
| 1X2X3 | 0,323 | 0,178 | 0,090 |

* Significância de 95 %.

Para o aminoácido hidroxiprolina, que é característico da presença de colágeno, foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) para as formulações desenvolvidas (Tabela 13). Os resultados variaram de 0,050 % (F13) até 0,236 % (F4). As formulações adicionadas da mistura de colágeno apresentaram maiores valores de hidroxiprolina e conseqüentemente de colágeno. Para as amostras sem

colágeno (F12 e F13) foram observados os menores valores (0,050 e 0,060% respectivamente) e estes teores coincidem com os encontrados na matéria-prima. A adição de 0,75% de colágeno aumentou em duas vezes o valor de hidroxiprolina em relação à carne. Quando foram adicionados 1,25 % de colágeno, o aumento de hidroxiprolina foi de até 4,3 vezes.

Messia et al. (2008) encontraram teores de hidroxiprolina entre de 0,13 a 0,38 % para mortadelas e salames. Para colágeno, estes mesmos autores encontraram valores de 1,04 a 3,04 %. Fazendo a relação colágeno/proteína, os valores ficaram de 0,06 a 0,20. Fazendo esta relação para o presente trabalho observa-se que os valores ficaram entre 0,098 para formulação sem colágeno e até 0,126 para formulação com 1,25 % de colágeno (F4).

Os resultados encontrados discordam com os obtidos por Olivo e Shimokomaki (2001) onde a adição de 0,4 a 2,0 % de colágeno não alterou o teor de hidroxiprolina em salsichões. No estudo de Olivo e Shimokomaki (2001) os resultados obtidos para colágeno no produto final variaram de 1,20 a 2,58 %. Os autores justificaram estes resultados pela substituição da matéria-prima por carne bovina e papada suína para obtenção de um nível de gordura desejado, o que acabou afetando os resultados, pois estas matérias-primas apresentam elevados níveis de tecido conjuntivo.

Os resultados encontrados neste estudo foram maiores que os obtidos por Válková et al. (2007) para presunto suíno (0,420 a 0,970 % de colágeno). Boutten et al. (2000) relatam que o teor de colágeno é um dos fatores que afetam a qualidade de presunto pois afeta diretamente a textura e fatiabilidade.

Para lipídios os resultados variaram de 3,03 % até 5,99 % (Tabela 13). As formulações F1 e F5 apresentaram o menor e o maior teor de lipídios, respectivamente. Estas variações são decorrentes de variações na matéria-prima em função do grau de refile e também perdas decorrentes da sinerese do produto. Estas variações também haviam sido evidenciadas nos testes preliminares, onde os resultados variaram de 3,94 a 5,76 % de gordura. Comparando-se alguns resultados com a matéria-prima observa-se que os valores chegaram bem próximos aos 5,74 % encontrados para coxa e sobrecoxa.

Devido ao menor grau de refile realizado com a finalidade de facilitar a produção e reduzir o nível de perdas para indústria, os teores de lipídios foram maiores do que os encontrados por Barbut (2002) (0,69 a 2,23 %), Prestes (2008)

(2,39 e 3,79 %) e Válková et al. (2007) (1,56 a 4,04 %). Buscou-se no refile a retirada de apenas as gorduras mais salientes e soltas que porventura pudessem provocar bolsões que podem acumular líquido no produto final. As diferenças no teor de lipídios chegaram até 2,96 %.

4.4.3 Teores de Nitrito, nitrato, pH e A_w

A Tabela 16 mostra que os teores de nitrito e nitrato, pH e A_w apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre as formulações. Os resultados para nitrito variaram de 6,37 a 10,95 ppm e para nitrato de 26,86 a 80,83 ppm.

Para a somatória de nitrito e nitrato todas as formulações atenderam o limite máximo permitido pela legislação brasileira (150 ppm) (BRASIL, 2000).

As perdas durante o processamento chegaram a 78 % (F6) da quantidade adicionada inicialmente. Dineen et al. (2000) encontraram um residual de nitrito após 4 dias de produção de 76 a 92 ppm para uma adição de 100 ppm em presunto suíno. Segundo estes mesmos autores, apenas 10 a 20 % do nitrito é detectado ao final da estocagem.

As diferenças para nitrito e nitrato podem ser justificadas pelas diferenças de dias de produção e conseqüentemente diferentes dias de realização das análises, decorrentes do atraso na produção dos presuntos devido à quebra da misturadeira no decorrer dos experimentos. É importante mencionar que também podem ocorrer variações devido à sensibilidade do método analítico.

Nos testes preliminares também haviam sido observadas variações no teor de nitrito de 20,94 a 26,20 ppm e 63,32 a 103,94 ppm para o nitrato. Aqui as diferenças foram decorrentes também da análise ter sido realizada após vários dias da produção. Além disso, estas variações e contradições podem ser decorrentes das condições de processo, pH, temperatura, presença de oxigênio ou ausência (vácuo), presença de condimentos e especiarias com nitrito e nitrato em sua composição, etc. Sobre este assunto sugerem-se novos trabalhos para avaliar e acompanhar as reações que ocorrem neste tipo de produto.

TABELA 16 – Teores de nitrito (NaNO_2), nitrato (NaNO_3), pH e A_w para as formulações de presunto de frango desenvolvidas.

| Ensaio | Nitrito (ppm) | Nitrato (ppm) | pH | A_w |
|----------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| F1 | 9,97 ^e ±0,118 | 80,83 ^e ±0,023 | 6,9 ^f ±0,028 | 0,932 ^{ab} ±0,001 |
| F2 | 10,95 ^f ±0,167 | 64,04 ^d ±2,540 | 6,7 ^{bcd} ±0,015 | 0,943 ^b ±0,005 |
| F3 | 9,02 ^c ±0,160 | 66,09 ^d ±0,933 | 6,8 ^e ±0,007 | 0,930 ^{ab} ±0,003 |
| F4 | 9,09 ^c ±0,344 | 43,05 ^b ±3,497 | 6,9 ^f ±0,049 | 0,933 ^{ab} ±0,003 |
| F5 | 10,62 ^f ±0,167 | 70,24 ^d ±2,743 | 6,9 ^f ±0,021 | 0,920 ^a ±0,006 |
| F6 | 6,37 ^a ±0,070 | 26,86 ^a ±0,670 | 6,7 ^{bcd} ±0,015 | 0,932 ^{ab} ±0,002 |
| F7 | 9,75 ^{de} ±0,092 | 67,40 ^d ±0,136 | 6,7 ^{bcd} ±0,014 | 0,932 ^{ab} ±0,001 |
| F8 | 7,45 ^b ±0,090 | 27,03 ^a ±0,952 | 6,7 ^{bcd} ±0,001 | 0,931 ^{ab} ±0,001 |
| PC | 7,51 ^b ±0,023 | 51,81 ^c ±4,439 | 6,7 ^{bcd} ±0,012 | 0,932 ^{ab} ±0,011 |
| F12 | 10,04 ^e ±0,430 | 55,10 ^c ±0,752 | 6,6 ^{ab} ±0,007 | 0,929 ^{ab} ±0,001 |
| F13 (CONTROLE) | 9,28 ^{cd} ±0,149 | 52,89 ^c ±0,498 | 6,7 ^{bcd} ±0,006 | 0,937 ^b ±0,001 |
| F14 | 9,11 ^c ±0,200 | 71,98 ^d ±1,086 | 6,7 ^{bcd} ±0,025 | 0,931 ^{ab} ±0,004 |

*Médias ± Erro Puro indicadas com letras diferentes na vertical diferem significativamente ($p < 0,05$).

F1 – 0,75 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F2 – 0,75 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F3 – 1,25 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F4 – 1,25 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F5 – 0,75 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F6 – 0,75 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F7 – 1,25 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F8 – 1,25 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; PC (F9, F10 e F11) – 1,0 % de mistura de colágenos, 1,0 % de proteína de soja e moagem de 14 mm; F12 – 0 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F13 – 0 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm (CONTROLE); F14 – 1,0 % de mistura de colágenos, 1,0 % de proteína de soja e matéria-prima sem moer.

Analisando os valores de pH (Tabela 16), observa-se que as amostras apresentaram diferenças significativas entre si ($p < 0,05$). O maior valor foi encontrado

para F1 (6,90) e o menor para F12 (6,56). Estes resultados coincidem com os 6,59 a 6,65 encontrados em presunto de peru com adição de amido de mandioca e carragena desenvolvidos por Pedroso (2006) e dos 6,55 a 6,59 encontrados por Prestes (2008) em presunto de peru adicionado de colágeno hidrolisado, amido modificado e goma guar. Pearson e Tauber (1984) mencionam que o pH para presunto suíno encontra-se numa faixa de 5,9 a 6,1.

Nos testes preliminares o pH variou de 6,72 a 6,77 e nos experimentos do delineamento fatorial chegaram até 6,90. Estas pequenas variações no pH também foram observadas por Olivo e Shimokomaki (2001) com a adição de 0,4 a 2,0 % de colágeno em salsichões e foram consideradas aceitáveis.

Para a atividade de água (A_w) observa-se que os valores variaram pouco (0,920 a 0,937), ficando abaixo dos 0,960 a 0,980 mencionados por Pearson e Tauber (1984) e dos 0,979 encontrados por PEDROSO (2006). Este resultado é benéfico do ponto de vista microbiológico onde a adição dos ingredientes testados e menor granulometria da carne permitiram uma matriz mais coesa e um produto com menos água disponível para os micro-organismos.

4.4.4 *Cor instrumental, oxidação e cromaticidade*

Na Tabela 17 podem ser visualizados os resultados encontrados para os parâmetros de cor (L_1^* , a_1^* e b_1^*), oxidação avaliada após exposição sob luz (L_2^* , a_2^* e b_2^*) e cromaticidade antes e após a oxidação (C_1^* e C_2^*). Houve diferença significativa ($p < 0,05$) indicando que todos estes parâmetros foram influenciados pelas três variáveis estudadas.

Para luminosidade L_1^* observa-se que a formulação F4 apresentou menor valor (56,74) e a F2 maior valor (61,18). A formulação F4 utilizou 1,25 % de e maior granulometria da carne (22 mm). Já a formulação F2 também foi moída em disco maior, no entanto, a diferença foi a menor concentração de colágeno (0,75 %). Isso indica que a presença de colágeno em maior concentração reduziu o brilho do produto, causando escurecimento. Já as formulações F1, F5, F6, F7, PC, F13 e F14 apresentaram valores similares de luminosidade embora as concentrações dos ingredientes testados e grau de moagem fossem diferentes.

Nos testes preliminares, a adição da fibra em 1,0% (T1) acarretou menor valor de L^* já as formulações T2, T3 e T4 não apresentaram diferenças para este parâmetro.

TABELA 17 – Cor (L_1^* , a_1^* e b_1^*), oxidação após exposição a luz (L_2^* , a_2^* e b_2^*) e Cromaticidade (C_1^* e C_2^*) para as formulações de presunto de frango desenvolvidas.

| Ensaio | L_1^* | L_2^* | a_1^* | a_2^* | b_1^* | b_2^* | C_1^* | C_2^* |
|------------|------------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|------------------------|----------------------|--------------------|--------------------|
| F1 | 58,89 ^{bcdA} | 58,32 ^{abcA} | 7,77 ^{abA} | 9,44 ^{cdB} | 9,59 ^{aA} | 11,13 ^{bcB} | 13,40 ^A | 13,57 ^B |
| | ±0,426 | ±0,272 | ±0,107 | ±0,120 | ±0,244 | ±0,085 | ±0,030 | ±0,039 |
| F2 | 61,18 ^{eaA} | 60,97 ^{daA} | 8,46 ^{caA} | 8,66 ^{abA} | 11,24 ^{efA} | 11,64 ^{cdA} | 14,22 ^A | 14,39 ^A |
| | ±0,704 | ±0,369 | ±0,377 | ±0,278 | ±0,258 | ±0,297 | ±0,319 | ±0,310 |
| F3 | 59,36 ^{daA} | 59,87 ^{cdA} | 8,44 ^{caA} | 9,23 ^{bcdB} | 9,49 ^{aA} | 10,79 ^{abB} | 13,28 ^A | 13,71 ^B |
| | ±0,508 | ±0,618 | ±0,180 | ±0,109 | ±0,056 | ±0,018 | ±0,005 | ±0,036 |
| F4 | 56,74 ^{aA} | 57,93 ^{abA} | 8,55 ^{caA} | 9,25 ^{bcdB} | 9,49 ^{aA} | 10,70 ^{abB} | 13,18 ^A | 13,69 ^B |
| | ±0,287 | ±0,589 | ±0,223 | ±0,510 | ±0,221 | ±0,169 | ±0,015 | ±0,307 |
| F5 | 58,86 ^{bcdA} | 58,28 ^{abA} | 7,45 ^{aA} | 8,76 ^{abcB} | 10,48 ^{bcA} | 11,78 ^{dB} | 13,54 ^A | 13,88 ^B |
| | ±0,340 | ±0,941 | ±0,186 | ±0,203 | ±0,233 | ±0,143 | ±0,028 | ±0,165 |
| F6 | 58,03 ^{abcdA} | 58,68 ^{abcA} | 8,44 ^{caA} | 9,52 ^{dB} | 10,97 ^{cdefA} | 12,07 ^{deB} | 14,19 ^A | 14,73 ^B |
| | ±0,859 | ±0,123 | ±0,213 | ±0,575 | ±0,291 | ±0,564 | ±0,051 | ±0,092 |
| F7 | 57,92 ^{abcdA} | 57,82 ^{abA} | 8,38 ^{caA} | 9,05 ^{bcdB} | 10,60 ^{bcdA} | 11,75 ^{dB} | 13,59 ^A | 14,39 ^B |
| | ±0,847 | ±0,586 | ±0,358 | ±0,466 | ±0,269 | ±0,256 | ±0,010 | ±0,331 |
| F8 | 57,55 ^{abcA} | 58,67 ^{abcA} | 9,12 ^{daA} | 9,47 ^{cdA} | 11,49 ^{faA} | 12,05 ^{deB} | 15,01 ^A | 15,14 ^A |
| | ±0,869 | ±0,578 | ±0,415 | ±0,269 | ±0,147 | ±0,237 | ±0,035 | ±0,083 |
| PC | 58,19 ^{abcdA} | 58,22 ^{abA} | 7,81 ^{abA} | 9,01 ^{bcdB} | 11,13 ^{defA} | 11,95 ^{deB} | 13,77 ^A | 14,34 ^B |
| | ±0,413 | ±0,475 | ±0,208 | ±0,419 | ±0,348 | ±0,387 | ±0,058 | ±0,105 |
| F12 | 59,08 ^{cdA} | 59,90 ^{cdA} | 8,55 ^{cdA} | 8,99 ^{bcdA} | 9,54 ^{aA} | 10,40 ^{aB} | 13,11 ^A | 13,46 ^A |
| | ±0,583 | ±0,843 | ±0,210 | ±0,291 | ±0,331 | ±0,257 | ±0,182 | ±0,160 |
| F13 | 58,42 ^{abcdA} | 57,69 ^{aA} | 8,03 ^{bcA} | 8,15 ^{aA} | 11,13 ^{defA} | 11,81 ^{dB} | 13,08 ^A | 14,28 ^B |
| (CONTROLE) | ±0,961 | ±1,103 | ±0,155 | ±0,379 | ±0,250 | ±0,149 | ±0,115 | ±0,095 |
| F14 | 58,12 ^{abcdA} | 58,80 ^{bcdA} | 8,25 ^{bcA} | 8,93 ^{abcdB} | 9,72 ^{aA} | 10,77 ^{abB} | 13,23 ^A | 13,56 ^B |
| | ±0,570 | ±0,869 | ±0,119 | ±0,254 | ±0,160 | ±0,219 | ±0,189 | ±0,001 |

*Médias ± Erro Puro indicadas com letras minúsculas diferentes na vertical diferem significativamente ($p < 0,05$).

** Médias com letras maiúsculas diferentes na horizontal diferem significativamente ($p < 0,05$) para o mesmo tipo de parâmetro avaliado.

F1 – 0,75 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F2 – 0,75 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F3 – 1,25 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F4 – 1,25 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F5 – 0,75 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F6 – 0,75 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F7 – 1,25 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F8 – 1,25 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; PC (F9, F10 e F11) – 1,0 % de mistura de colágenos, 1,0 % de proteína de soja e moagem de 14 mm; F12 – 0 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F13 – 0 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm (CONTROLE); F14 – 1,0 % de mistura de colágenos, 1,0 % de proteína de soja e matéria-prima sem moer.

Comparando os resultados obtidos para a_1^* e b_1^* com os obtidos por Prestes

(2008), Michelini et al. (2007), Prabhu e Doerscher (2003) e Schilling et al. (2003; 2004), estes autores observaram alteração da cor quando colágeno foi utilizado em presunto de peru (ao nível de 2,0 %), hambúrguer bovino (ao nível de 4,89 %), emulsões cárneas (1,0 %) e presunto suíno (3,0 %) respectivamente. Em discordância com os resultados encontrados, Prabhu et al. (2004) adicionaram 1, 2 e 3 % de colágeno suíno em presunto fresco e a cor não foi afetada, entretanto, estes autores mencionam em outro trabalho (Prabhu e Doerscher, 2003) que foi observada leve alteração de cor quando foi adicionado colágeno em presunto em quantidade acima de 2 %.

Os valores de luminosidade encontrados foram inferiores aos 63,10 a 65,00 mencionados por Prabhu et al. (2004) em presunto suíno adicionado de colágeno (0 %, 1 %, 2 % ou 3 %), inferiores aos 73,7 mencionados por Daigle et al. (2005) para produto elaborado com peito de peru e adicionado de 1,5 % de colágeno e 1,5 % de proteína de soja e inferiores aos 61,57 a 68,79 encontrados por Válková et al. (2007).

Estas diferenças de L_1^* são decorrentes da matéria-prima utilizada (coxa e sobrecoxa de frango que apresenta coloração mais escura), grau de moagem do produto e adição de proteína de soja e colágeno. Além disso a adição de polissacarídeos na formulação como carragena e maltodextrinas podem interferir na luminosidade do produto.

Youssef e Barbut (2011) mencionam que a proteína de soja na concentração de 1,50 % em emulsões também reduziu L^* e aumentou a^* , estes autores justificam que há uma redução na concentração da mioglobina o que resulta em produtos mais escuros.

Há uma certa unanimidade em relação à adição de proteína de soja e colágeno na alteração da cor, no geral, reduz-se L^* e aumentam a^* e b^* como mencionaram Youssef e Barbut (2011), Schilling et al. (2004), Daigle et al. (2005). Entretanto, nem sempre estes produtos são menos aceitos pelos consumidores.

Para L_2^* observa-se que os valores mantiveram-se semelhantes ($p > 0,05$) mesmo após 1 hora de exposição a luz. O que indica que este tempo não foi suficiente para reduzir o brilho do produto. Os valores encontrados variaram de 57,82 a 60,97.

Na Tabela 18 pode-se observar os efeitos das variáveis de entrada % de colágeno, % de soja e grau de moagem na variável de resposta luminosidade (L_1^*).

Pode-se observar que todos os efeitos foram significativos ($p < 0,05$), com exceção da interação entre a % de soja e o grau de moagem.

TABELA 18 – Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta L^* .

| | Efeitos | Desvio Padrão | p |
|------------------------|---------|---------------|---------|
| Média/Interação | 58,705 | 0,556 | <0,001* |
| (1) Colágeno | -0,945 | 0,130 | <0,001* |
| (2) Soja | -1,025 | 0,130 | <0,001* |
| (3) Moagem | -0,320 | 0,130 | 0,028* |
| 1X2 | 1,400 | 0,130 | <0,001* |
| 1X3 | -1,090 | 0,130 | <0,001* |
| 2X3 | -0,165 | 0,130 | 0,226 |
| 1X2X3 | 1,440 | 0,130 | <0,001* |

* Significância de 95 %.

Observa-se que as três variáveis estudadas apresentaram efeito negativo na luminosidade o que é prejudicial ao produto pois indica escurecimento. A soja e o colágeno apresentaram efeitos maiores que a moagem o que pode ser interpretado que o aumento da granulometria também reduz a luminosidade do produto.

Os valores de b_1^* ficaram entre 9,49 (F3 e F4) e 11,49 (F8) (Tabela 17). As formulações F1, F3, F4, F12 e F14 apresentaram os menores valores de b_1^* , semelhantes entre si. Já as formulações F2, F8, PC e F13 apresentaram os maiores valores de b_1^* o que indica maior amarelamento do produto.

Os resultados encontrados conferem como os obtidos por Prabhu et al. (2004) que estudaram quatro tratamentos de presunto suíno com colágeno (0 %, 1 %, 2 % e 3 %) e também observaram maiores valores de b^* (entre 9 e 10,49). Estes autores concluíram que a incorporação de colágeno reduziu L^* e aumentou a^* e b^* .

Válková et al. (2007) encontraram valores de 6,60 a 9,70 para b^* . Estes mesmos autores mencionam que o colágeno apresentou correlação negativa com b^* e a^* . O valores de b^* obtido por Daigle et al. (2005) foi de 9,90 para produto elaborado com carne de peito de peru adicionada de 1,5 % de colágeno e 1,5 % de proteína de soja.

Discordando com os autores anteriormente mencionados, Prabhu et al. (2004) adicionaram 1, 2 e 3 % de colágeno suíno em presunto fresco e os valores de b^* não foram afetados.

Observa-se que após 1 hora de exposição à luz (b_2^*), ocorreram diferenças significativas ($p < 0,05$) para todas as amostras (Tabela 17), exceto F2, onde b_2^* manteve-se igual mesmo após 1 hora de exposição a luz. Os valores encontrados

variaram de 10,40 a 12,07. As amostras apresentaram elevação dos valores de b_2^* indicando maior amarelamento.

Na Tabela 19 pode-se observar os efeitos das variáveis manipuladas sobre o parâmetro de cor b_1^* (amarelo). Pode-se observar que apenas a concentração de soja e moagem afetaram significativamente a resposta a nível de primeira ordem. Contudo, a interação entre colágeno e soja e a interação entre as três variáveis estudadas também foram significativas ($p < 0,05$).

TABELA 19 – Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta b^* .

| | Efeitos | Desvio Padrão | p |
|------------------------|----------------|----------------------|----------|
| Média/Interação | 10,407 | 0,076 | <0,001* |
| (1) Colágeno | -0,338 | 0,179 | 0,080 |
| (2) Soja | 0,845 | 0,179 | <0,001* |
| (3) Moagem | 0,825 | 0,179 | <0,001* |
| 1X2 | 0,683 | 0,179 | 0,019* |
| 1X3 | -0,358 | 0,179 | 0,065 |
| 2X3 | -0,065 | 0,179 | 0,721 |
| 1X2X3 | 0,658 | 0,179 | 0,002* |

* Significância de 95 %.

Avaliando-se os efeitos observa-se que a soja e moagem apresentaram efeito positivo para b_1^* e que a interação colágeno com moagem e interação das três variáveis também apresentaram efeito positivo. Isto comprova que a adição dos ingredientes testados e a maior granulometria da carne proporcionaram maiores valores de b_1^* o que indica maior amarelamento do produto.

Analisando-se o parâmetro a_1^* na Tabela 17 podemos observar que os resultados apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) e encontraram-se na faixa de 7,45 (F5) a 9,12 (F8). As formulações F2, F3, F4, F6, F7, F12, F13 e F14 apresentaram os maiores valores, já F1, F5 e PC apresentaram os menores valores. Maiores valores de a_1^* indicam cor vermelha mais escura no produto.

Os valores encontrados para a_1^* divergem dos 12,09 a 12,51 encontrados por Prabhu et al. (2004) para presunto suíno adicionado de colágeno. Já Válková et al. (2007) obtiveram valores de 8,14 a 13,95 (vermelho) para a^* para presuntos suínos, valores próximos dos encontrados. Estes mesmos autores relatam que o colágeno apresentou correlação negativa com b^* e a^* . Produtos com menores valores de a^* foram mais aceitos pelos consumidores, provavelmente pelos produtos apresentarem coloração vermelha menos intensa ou mais clara.

Daigle et al. (2005) encontraram 6,42 para a^* em produto elaborado com

carne de peito de peru adicionada de 1,5 % de colágeno e 1,5 % de proteína de soja.

Conforme a maioria dos autores e trabalhos mencionados na literatura (Micheini et al., 2007; Prestes, 2008; Della Torre, 2004; Daigle et al., 2005; Prabhu et al., 2004; Válková et al., 2007), observa-se que a incorporação de proteína de soja e colágeno afetam a cor dos produtos reduzindo a luminosidade (L^*) e aumentando o amarelo (b^*) e reduzindo o vermelho (a^*) porém, nem sempre são observadas diferenças por parte dos provadores a nível de aceitação sensorial destes produtos. Isto também pode ser comprovado pela própria coloração amarela da dos ingredientes testados (soja e colágenos).

Além do colágeno e soja também foi observada influência do grau de moagem da matéria-prima o que pode ser comprovado na Tabela 20 onde pode-se verificar os efeitos das variáveis de entrada colágeno, soja e moagem na variável de resposta a_1^* (vermelho). Pode-se observar que apenas a variável % de colágeno afetou significativamente ($p < 0,05$) a resposta a_1^* . No entanto, as interações entre % de colágeno e grau de moagem e % de soja e grau de moagem também foram significativas.

Através da interpretação dos efeitos comprova-se que a adição de colágeno em maior nível aumentou o valor de a_1^* indicando redução da cor vermelha do produto pois aumento de a^* significa coloração mais apagada. Este mesmo comportamento ocorreu para interação de colágeno com maior granulometria da carne e a interação da proteína de soja com a maior granulometria também apresentou este comportamento.

Este resultado é desfavorável para o produto final pois reduz a cor vermelha brilhante e atrativa para os consumidores. Este resultado pode ser explicado porque as proteínas tipicamente absorvem luz na região do UV (280 nm) e provavelmente a interação com a soja provoque um aumento nesta absorção levando-a para perto de 400 nm. Já para o colágeno devido as características serem semelhantes a própria matéria-prima o efeito é menor devido a diluição do pigmento mioglobina.

Outros fatores como oxidação de substâncias presentes no produto, tais como polissacarídeos também podem causar este aumento de absorção.

Para a_2^* observa-se que os valores mantiveram-se semelhantes ($p > 0,05$) para quase todas as formulações. Apenas F2, F8, F12 e F13 não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$). O que indica que o tempo de uma hora de

exposição à luz não foi suficiente para reduzir a cor vermelha do produto. Os valores encontrados variaram de 8,15 a 9,47 para F13 e F8 respectivamente.

TABELA 20 – Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta a*.

| | Efeitos | Desvio Padrão | p |
|------------------------|---------|---------------|---------|
| Média/Interação | 9,171 | 0,025 | <0,001* |
| (1) Colágeno | 0,284 | 0,059 | <0,001* |
| (2) Soja | -0,068 | 0,059 | 0,265 |
| (3) Moagem | 0,114 | 0,059 | 0,075 |
| 1X2 | -0,014 | 0,059 | 0,820 |
| 1X3 | 0,354 | 0,059 | <0,001* |
| 2X3 | 0,586 | 0,059 | <0,001* |
| 1X2X3 | -0,114 | 0,059 | 0,075 |

* Significância de 95 %.

Por fim a cromaticidade (C_1^*) foi calculada em função das coordenadas de cor a_1^* e b_2^* e os valores ficaram entre $13,08 \pm 0,115$ (F13) e $15,01 \pm 0,035$ (F8) (Tabela 17). Já para a cromaticidade após a oxidação (C_2^*), os valores ficaram entre $13,46 \pm 0,160$ (F12) e $15,14 \pm 0,083$ (F8) (Tabela 17).

Os valores ficaram próximos dos 11 a 19 encontrados para carne bovina submetida a diferentes tratamentos de cozimento por García-Segovia et al. (2007). Segundo estes mesmos autores, um maior valor de cromaticidade indica cores mais fortes, pois decorrem de maiores valores de a^* e b^* . Para este estudo observa-se que a formulação F8 (nível máximo de mistura de colágeno, proteína de soja e moagem) apresentou maior valor de cromaticidade. Os valores de cromaticidade após a oxidação alteraram-se significativamente ($p < 0,05$), devido o aumento dos parâmetros a^* e b^* em decorrência do escurecimento do produto, exceto para F12 e F8 em que a cromaticidade manteve-se sem alterações significativas ($p > 0,05$).

4.4.5 Avaliação da CRA, sinerese e fatiabilidade

Na Tabela 21 estão apresentados os resultados para a CRA (%), sinerese (%) e fatiabilidade (%) para os presuntos desenvolvidos. Pode-se observar que houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras para estas três determinações.

Em relação a CRA os valores variaram de 87,64 % (F6) a 99,63 % (F5). Nos experimentos preliminares a CRA dos presuntos desenvolvidos foi de 96,57 a 98,62 %. A formulação F5 onde foi utilizado maior concentração de soja, menor de colágeno e menor granulometria da carne apresentou maior CRA.

TABELA 21 – Resultados para as determinações de CRA (%), Sinerese (%) e Fatiabilidade (%) para as formulações desenvolvidas com base no delineamento fatorial 2³.

| Ensaio | CRA (%) | Sinerese (%) | Fatiabilidade (%) |
|----------------|--------------------------------|------------------------------|--------------------------------|
| F1 | 94,38 ^{bc} ±1,000 | 3,31 ^d ±0,146 | 97,50 ^k ±0,707 |
| F2 | 95,14 ^c ±0,005 | 4,59 ^{fg} ±0,065 | 84,00 ^{de} ±1,414 |
| F3 | 99,53 ^e ±0,015 | 1,79 ^b ±0,060 | 96,50 ^{jk} ±0,707 |
| F4 | 99,18 ^{de} ±0,131 | 3,85 ^e ±0,124 | 80,50 ^{cd} ±0,710 |
| F5 | 99,63 ^e ±0,004 | 2,82 ^{cd} ±0,302 | 93,00 ^{ji} ±1,500 |
| F6 | 87,64 ^a ±0,1,000 | 2,51 ^c ±0,140 | 84,50 ^{def} ±0,700 |
| F7 | 99,17 ^{de} ±0,019 | 1,15 ^a ±0,137 | 92,00 ^{hi} ±1,600 |
| F8 | 98,61 ^{de} ±0,060 | 1,71 ^b ±0,001 | 84,00 ^{de} ±1,414 |
| PC | 96,24 ^{cd} ±0,913 | 4,62 ^g ±0,122 | 88,50 ^{gh} ±0,707 |
| F12 | 94,97 ^c ±0,783 | 4,51 ^{fg} ±0,060 | 67,00 ^b ±1,414 |
| F13 (CONTROLE) | 95,11 ^c ±0,166 | 4,08 ^{ef} ±0,130 | 79,50 ^c ±0,707 |
| F14 | 98,39 ^{de} ±0,096 | 3,05 ^d ±0,086 | 51,00 ^a ±1,414 |

*Médias ± Erro Puro indicadas com letras diferentes na vertical diferem significativamente (p<0,05).

F1 – 0,75 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F2 – 0,75 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F3 – 1,25 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F4 – 1,25 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F5 – 0,75 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F6 – 0,75 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F7 – 1,25 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F8 – 1,25 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; PC (F9, F10 e F11) – 1,0 % de mistura de colágenos, 1,0 % de proteína de soja e moagem de 14 mm; F12 – 0 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F13 – 0 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm (CONTROLE); F14 – 1,0 % de mistura de colágenos, 1,0 % de proteína de soja e matéria-prima sem moer.

Estes resultados indicam que o colágeno e moagem afetaram

significativamente esta determinação pois menor grânulo da carne propiciou maior resistência (dificultando o escape) e conseqüentemente maior retenção da água na estrutura da carne.

Comparando-se F1 (94,38 %) com F3 (99,53 %) observa-se que uma maior concentração de colágeno proporcionou aumento na CRA. Os resultados encontrados concordam com Almeida et al. (2006) onde mencionaram que utilização de colágeno pode melhorar CRA contribuindo para melhoria do sabor e da suculência.

Daigle et al. (2005) encontraram em presuntos elaborados com carne PSE e adicionados de 1,5 % de colágeno umidade expressível de 18,3 %, o que corresponde a uma CRA de 81,7 % e os adicionados de 1,5 % de soja, uma umidade expressível de 20,2 % (o que corresponde a uma CRA de 79,8 %).

Schilling et al. (2003) concluíram que colágeno suíno auxiliou na retenção da água livre e contribuiu para a estabilidade da estrutura final de presunto suíno elaborado com 0,50 e 100 % de carne PSE e adicionado de 0 a 3 % de colágeno. Estes mesmos autores sugeriram que o colágeno atua em sinergia com as proteínas miofibrilares na retenção de água na estrutura cárnea. Prestes (2008) encontrou valor de CRA semelhante aos encontrados para presunto elaborado com 2 % de colágeno hidrolisado (96,63 %). A análise estatística mostrou que houve efeito significativo da concentração de colágeno e grau de moagem sobre a CRA ($p < 0,05$), sendo o primeiro positivo e o segundo negativo. Ainda, as interações entre % de colágeno e grau de moagem (mm), % de soja e grau de moagem (mm) e interação entre as três variáveis juntas também apresentaram efeitos significativos (Tabela 22).

TABELA 22 – Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta CRA (%).

| | Efeitos | Desvio Padrão | p |
|------------------------|---------|---------------|---------|
| Média/Interação | 96,365 | 0,494 | <0,001* |
| (1) Colágeno | 4,926 | 1,159 | 0,001* |
| (2) Soja | -0,796 | 1,159 | 0,503 |
| (3) Moagem | -3,035 | 1,159 | 0,020* |
| 1X2 | 0,333 | 1,159 | 0,778 |
| 1X3 | 2,581 | 1,159 | 0,043* |
| 2X3 | -3,238 | 1,159 | 0,014* |
| 1X2X3 | 3,133 | 1,159 | 0,017* |

* Significância de 95 %.

Diferente dos resultados encontrados nos testes preliminares os resultados para CRA mostraram que amostras elaboradas com carnes com menor granulometria apresentaram uma maior interação dos ingredientes e maior quantidade de água ficou retida o que proporcionou produtos com maior CRA. Todavia, nem sempre só a moagem foi responsável pela CRA, o que pode ser comprovado comparando-se F7 e F8 com F12, observa-se que a ação dos ingredientes estudados foi efetiva na manutenção de uma alta CRA. Segundo Schilling et al. (2003) o colágeno atua em sinergia com as proteínas miofibrilares auxiliando na retenção de água na estrutura da matriz cárnea.

De maneira geral, os produtos com partículas de maior tamanho apresentam menor coesão do que os com partículas de médio ou menor tamanho, o que afetou diretamente a CRA e sinerese. Este resultado concorda com Tornberg (2005) que mencionou que a redução de tamanho da carne proporciona uma matriz mais densa, ou seja, mais resistente as forças aplicadas na estrutura (como exemplo o fatiamento).

Avaliando-se os efeitos observa-se que a adição do colágeno aumentou a CRA e a moagem em maior granulometria reduziu. Isto indica que o colágeno auxiliou na retenção da água na estrutura (o que pode ser observado pelo maior teor de umidade final nos produtos) e que a menor granulometria proporcionou maior interação entre os ingredientes, estrutura mais coesa e maior retenção da água.

A sinerese foi avaliada com objetivo de simular as condições extremas em que o produto pode ser submetido como exemplo o armazenamento inadequado em supermercado e em refrigerador doméstico, de maneira que possa ser observada a liberação de líquido do produto.

Foram observadas diferenças significativas entre as amostras ($p < 0,05$) (Tabela 21). A amostra F7 (amostra com menor granulometria e com os níveis máximos de proteína de soja e mistura de colágeno) apresentou o menor valor de sinerese (1,15 % \pm 0,14) embora F5 tivesse apresentado maior CRA não houve uma concordância de maior CRA menor sinerese. Já para F7 (menor granulometria, maior nível de colágeno e maior nível de soja) pode ser observada maior CRA, menor sinerese e menor umidade no produto final. Assim, comprova-se a ação da mistura de colágenos, menor granulometria da carne e maior concentração de proteína de soja no aprisionamento da água na estrutura do presunto promovendo uma estrutura mais coesa e resistente.

As formulações F3 e F8 também apresentaram baixas porcentagens de sinerese o que pode ser explicado pela menor granulometria da carne e maior adição de colágeno para F3 e no caso de F8, maiores proporções de proteína de soja e colágeno. O pior resultado foi observado para PC, F2 e F12. Para F12 era esperada uma maior sinerese devido à formulação não conter proteína de soja e colágeno e ter sido produzida com carne menos cominuída. Porém, o resultado foi interessante porque não foi adicionado nenhum dos ingredientes testados e foi realizada a moagem em maior disco. Este resultado pode ser justificado por Dineen et al. (2000) e Jiménez-Colmenero (1996) onde a ação do fosfato refletiu em uma maior CRA da carne e conseqüentemente maior CRA do produto o que ocasionará menor liberação de líquido. Os resultados para F2 podem ser justificados pela maior moagem e quantidade insuficiente de mistura de colágeno.

Comparando-se os resultados com a sinerese obtida nos testes preliminares, observa-se que os valores foram inferiores aos 6,21 % (T2) a 7,66 % (T4) encontrados e comparando-se F12 com F8 observa-se uma redução da sinerese na ordem de ± 75 % com a adição de proteína de soja, colágeno e redução da granulometria da carne.

Na Tabela 23 apresenta os efeitos das variáveis estudadas sobre a sinerese do presunto de frango. Os efeitos de primeira ordem foram significativos para as três variáveis testadas ($p < 0,05$), enquanto o único efeito de interação significativo foi obtido para a % de proteína de soja e grau de moagem.

Os resultados obtidos para sinerese ficaram próximos dos 3,146 encontrados por Prestes (2008) em presunto de peru adicionado de colágeno hidrolisado e por Prabhu e Doerscher (2003), sendo que os valores por eles encontrados para sinérese após quatro semanas de armazenamento com a utilização de 1, 2 e 3 % de colágeno chegaram a valores de 3,57, 3,29 e 2,50 % respectivamente.

Já Schilling et al. (2003; 2004) observaram perdas de líquido superiores as encontradas neste estudo, em torno de 10,95 % para presuntos elaborados com 3 % de colágeno nativo tendo como matéria-prima carnes com características PSE. Segundo estes autores os níveis de utilização de colágeno precisam ser explorados para se determinar o ótimo na melhoria da qualidade. Estes mesmos autores relataram que concentrações acima de 2,5 % de proteína de soja pode ocasionar liberação de líquido no produto final.

TABELA 23 – Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta sinerese (%).

| | Efeitos | Desvio Padrão | p |
|------------------------|----------------|----------------------|----------|
| Média/Interação | 2,989 | 0,151 | <0,001* |
| (1) Colágeno | -1,184 | 0,354 | 0,005* |
| (2) Soja | -1,339 | 0,354 | 0,002* |
| (3) Moagem | 0,895 | 0,354 | 0,024* |
| 1X2 | -0,051 | 0,354 | 0,888 |
| 1X3 | 0,419 | 0,354 | 0,256 |
| 2X3 | -0,768 | 0,354 | 0,048* |
| 1X2X3 | 0,021 | 0,354 | 0,953 |

* Significância de 95 %.

Daigle et al. (2005) estudaram a utilização de colágeno de peru em produto elaborado com peito de peru classificado como PSE. Foram testados 1,5 % colágeno de peru e 1,5 % de proteína de soja nas amostras trituradas em cubos de 2,5 x 2,5 mm. Os produtos adicionados de colágeno apresentaram sinerese de 3,01 % após 48 horas a 4°C e para soja a sinerese foi de 3,34 %. Segundo estes autores a utilização de colágeno e soja foi efetiva na redução da sinerese de 22,2 para 18,3 % para colágeno e de 22,2 para 20 % para proteína de soja.

Prabhu et al. (2004) estudaram quatro tratamentos de presunto suíno com colágeno e avaliaram a sinerese após duas semanas de produção. Os resultados indicaram valores de 4,34, 3,44, 3,11 e 2,60 % para adição de 0, 1, 2 e 3 % de colágeno respectivamente.

Schilling et al. (2004) testaram 1,5 a 3,5 % de proteína de soja concentrada em presuntos e observaram maior teor liberação de líquido para concentrações $\geq 2,0$ % de soja.

Avaliando-se os efeitos observa-se claramente que maiores concentrações de proteína de soja e mistura de colágenos propiciou uma redução na liberação de líquidos (sinerese no produto final) e o aumento da granulometria da carne provocou efeito negativo de aumento da sinerese. Estes resultados são de grande importância tecnológica visto que a sinerese além de gerar aspecto inadequado do produto leva à perdas e reprocessos a nível de indústria.

Como grande parte dos presuntos são fatiados nos pontos de venda foi realizada a avaliação da fatiabilidade dos presuntos desenvolvidos. Houve diferenças significativas ($p < 0,05$) para as amostras analisadas (Tabela 21). A

amostra que apresentou melhor índice de fatiabilidade foi a F1 (97,50 %) enquanto que a amostra F14 apresentou apenas 51,00 %.

Ao todo, aproximadamente 83 % das amostras avaliadas enquadraram-se no mínimo de fatiabilidade de 77 % sugerida por Mittal e Usborne (2006). Algumas amostras (F12, F13 e F14) apresentaram perdas no fatiamento devido à quebra excessiva e falta de liga e também à presença de precipitado gelatinoso externo (F2, PC, F4, F6, F8) o que prejudicou o aspecto visual do produto devido à permanência deste gel nas fatias (indesejável). As formulações com menor granulometria (F1, F3, F5 e F7) apresentaram melhor fatiabilidade devido à maior liga, textura mais firme e não apresentaram formação de gel. Em nenhuma amostra foi observado gel interno, observando-se gel apenas externo à peça, diferente do resultado obtido com 1 % de gelatina nos testes preliminares.

Segundo Pietrasik et al. (2006), as proteínas não-cárneas apresentam comportamento parecido com as proteínas presentes na própria carne, promovendo retenção de água, maior liga e ocupando os espaços intersticiais da matriz do gel. Entretanto, conforme menciona Sams (2001), Pearson e Dutson (1997) e Della Torre (2004), o colágeno adicionado em determinadas concentrações pode ter um efeito negativo provocando encolhimento, especialmente quando estes produtos são submetidos às altas temperaturas devido à baixa estabilidade ao calor (Karim e Bhat, 2008), o que pode interferir na liga dos pedaços de carne em produtos formados.

Esta hipótese é confirmada por Hernández-Briones et al. (2009), que investigou geis elaborados de gelatina de peixe em concentrações elevadas (5 a 10 %). Estes apresentaram liberação de água devido à interação proteína-proteína ser muito forte. Yang et al. (2007) também observaram este comportamento para a própria proteína da carne de frango (miosina), onde a gelatinização da miosina pura foi melhor do que para mistura miosina-gelatina. Estes mesmos autores sugeriram que a aplicação de gelatina em produtos de frango não é adequada (o que pode ser observado nos testes preliminares deste presente trabalho).

Damoradan et al. (2010) também confirmam que existe uma concentração limite da adição de colágeno pois há a tendência de formação de ligações proteína-proteína mais fortes que as interações com a proteína da própria carne. Estas concentrações também podem variar principalmente se houver a adição de polissacarídeos pois ocorrem interações entre o colágeno e os polissacarídeos,

colágeno e colágeno natural presente e colágeno com proteínas da carne. Acima desta concentração limite ocorre a expulsão de gel da estrutura.

Em contrapartida, Pearson e Dutson (1997) e Della Torre (2004) mencionam que o colágeno interage na matriz proteica ao invés de prejudicar. Novaprom (2006) e Michelini et al. (2007) destacaram a funcionalidade do colágeno em melhorar a fatiabilidade, entretanto, este efeito só foi percebido nas formulações com a matéria-prima em menor tamanho, o que provavelmente permitiu uma maior interação e melhor funcionalidade da mistura de colágenos testada. Porém, segundo Della Torre (2004), este mecanismo de interação entre o colágeno e os demais ingredientes ainda não está bem elucidado.

A Tabela 24 apresenta os efeitos das variáveis de entrada concentração da mistura de colágenos, proteína de soja e grau de moagem na variável de resposta porcentagem de fatiabilidade. Todas as variáveis estudadas apresentaram efeito significativo ($p < 0,05$) na fatiabilidade a nível de primeira ordem e a interação proteína de soja e moagem afetaram significativamente ($p < 0,05$) a fatiabilidade do produto.

TABELA 24 – Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta fatiabilidade (%).

| | Efeitos | Desvio Padrão | p |
|------------------------|---------|---------------|---------|
| Média/Interação | 88,864 | 0,233 | <0,001* |
| (1) Colágeno | -1,500 | 0,546 | 0,017* |
| (2) Soja | -1,250 | 0,546 | 0,039* |
| (3) Moagem | -11,500 | 0,546 | <0,001* |
| 1X2 | 0,750 | 0,546 | 0,193 |
| 1X3 | -0,500 | 0,546 | 0,376 |
| 2X3 | 3,250 | 0,546 | <0,001* |
| 1X2X3 | 0,750 | 0,546 | 0,193 |

* Significância de 95 %.

4.4.6 Perdas por resfriamento, reaquecimento, congelamento e resistência a compressão

No que se refere às perdas, é importante mencionar que a matéria-prima utilizada neste experimento foi previamente congelada e descongelada por aproximadamente 30 horas antes de serem utilizadas. O processo de descongelamento foi realizado a temperatura ambiente (temperatura de aproximadamente 10°C). Todo o exsudado líquido liberado no descongelamento foi

descartado e utilizada apenas os músculos.

É sabido que o descongelamento prejudica a CRA da carne, entretanto os resultados foram satisfatórios visto que 100 % da carne utilizada foi descongelada e todas as formulações desenvolvidas permitiram a obtenção de produto com características de presunto, embora alguns com características físicas e físico-químicas melhores que outros. Uma outra informação importante é que industrialmente é comum a utilização de até 30 % do volume de carne descongelada e este trabalho mostrou que é possível a utilização de maiores proporções sem perder a qualidade do produto final.

Na Tabela 25 estão apresentadas as perdas por resfriamento, podendo-se observar que houve diferença significativa entre as amostras ($p < 0,05$). O $n = 150$ valor encontrado foi para F5 (0,10 %) e o maior valor para F12 (3,00 %).

Como era esperado na formulação F12 foi observada grande quantidade de líquido exsudado (3,00 %) devido esta fórmula não apresentar proteína de soja nem colágeno e maior granulometria da matéria-prima.

Pode-se verificar que os ingredientes testados e maior grau de cominuição provocaram uma redução nas perdas no resfriamento. Pedroso (2006) obteve 0,91 a 8,18 % de perdas no resfriamento de presunto de peru adicionado de amido e carragena. Os resultados encontrados foram inferiores aos 3,43 % encontrados por Prestes (2008) em formulação de presunto de peru quando adicionada de 2 % de colágeno hidrolisado.

Na Tabela 26 pode-se observar os efeitos das variáveis manipuladas sobre a % de perdas por resfriamento. A concentração de colágeno e de soja apresentaram efeitos de primeira ordem significativos negativos ($p < 0,05$), mostrando que a adição destes ingredientes reduz as perdas por resfriamento. As interações entre % de colágeno e % de soja e entre % de colágeno e grau de moagem também apresentaram efeitos significativos, bem como a interação entre as três variáveis estudadas.

Comparando-se os efeitos observa-se que a adição da mistura de colágenos em maior concentração ou a adição de proteína isolada de soja em maior concentração proporcionaram menores perdas no resfriamento com efeitos muito próximos. Já as interações mostraram efeitos interessantes de segunda ordem onde o colágeno associado a soja aumentaram as perdas por resfriamento e colágeno com moagem em maior granulometria aumentaram as perdas.

TABELA 25 – Valores para perdas por resfriamento (%) (PRE), perdas por congelamento (%) (PC), perdas por reaquecimento (%) (PR) e resistência à compressão (N) (RC) para os presuntos desenvolvidos com base no delineamento fatorial 2³.

| Ensaio | PRE (%) | PC (%) | PR (%) | RC (N) |
|----------------|------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|
| F1 | 0,13 ^{ab} ±0,015 | 1,72 ^{ab} ±0,128 | 14,18 ^a ±0,129 | 13,68 ^{fg} ±0,073 |
| F2 | 0,74 ^{ab} ±0,351 | 4,41 ^{bc} ±0,156 | 23,20 ^{fg} ±0,747 | 5,61 ^a ±0,053 |
| F3 | 0,46 ^{ab} ±0,034 | 1,61 ^{ab} ±0,014 | 14,70 ^{ab} ±0,278 | 11,79 ^{ef} ±0,054 |
| F4 | 0,27 ^{ab} ±0,179 | 1,82 ^{ab} ±0,128 | 26,96 ^g ±1,000 | 8,12 ^{abc} ±0,114 |
| F5 | 0,10 ^a ±0,092 | 1,28 ^a ±0,003 | 13,54 ^a ±0,163 | 15,36 ^{gh} ±0,176 |
| F6 | 0,47 ^{ab} ±0,150 | 1,616 ^{ab} ±0,126 | 17,542 ^{abcd} ±0,618 | 7,747 ^{abc} ±0,129 |
| F7 | 0,46 ^{ab} ±0,286 | 0,92 ^a ±0,125 | 15,43 ^{abc} ±0,198 | 16,67 ^h ±0,070 |
| F8 | 0,63 ^{ab} ±0,622 | 1,23 ^a ±0,047 | 18,55 ^{bcde} ±0,555 | 9,73 ^{cde} ±0,095 |
| PC | 0,44 ^{ab} ±0,322 | 1,55 ^{ab} ±0,074 | 22,58 ^{ef} ±1,000 | 10,91 ^{de} ±0,066 |
| F12 | 3,00 ^b ±1,000 | 9,34 ^d ±1,000 | 22,29 ^{ef} ±0,725 | 5,54 ^a ±0,048 |
| F13 (CONTROLE) | 1,38 ^{ab} ±1,000 | 5,61 ^c ±1,000 | 19,450 ^{cdef} ±0,680 | 8,01 ^{abc} ±0,159 |
| F14 | 1,27 ^{ab} ±0,682 | 1,50 ^a ±0,129 | 23,37 ^{fg} ±1,000 | 6,79 ^{ab} ±0,113 |

*Médias ± Erro Puro indicadas com letras diferentes na vertical diferem significativamente (p<0,05).

F1 – 0,75 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F2 – 0,75 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F3 – 1,25 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F4 – 1,25 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F5 – 0,75 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F6 – 0,75 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F7 – 1,25 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F8 – 1,25 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; PC (F9, F10 e F11) – 1,0 % de mistura de colágenos, 1,0 % de proteína de soja e moagem de 14 mm; F12 – 0 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F13 – 0 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm (CONTROLE); F14 – 1,0 % de mistura de colágenos, 1,0 % de proteína de soja e matéria-prima sem moer.

TABELA 26 – Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta perdas por resfriamento (%).

| | Efeitos | Desvio Padrão | p |
|------------------------|---------|---------------|---------|
| Média/Interação | 9,686 | 0,279 | <0,001* |
| (1) Colágeno | -4,887 | 0,653 | <0,001* |
| (2) Soja | -4,383 | 0,653 | <0,001* |
| (3) Moagem | 0,752 | 0,653 | 0,269 |
| 1X2 | 1,834 | 0,653 | 0,014* |
| 1X3 | -2,553 | 0,653 | 0,002* |
| 2X3 | -0,556 | 0,653 | 0,409 |
| 1X2X3 | 2,992 | 0,653 | 0,004* |

* Significância de 95 %.

Este resultado indica que as melhores condições para menores perdas de resfriamento são em maiores concentrações de mistura de colágenos e maior concentração de proteína isolada de soja associados a uma menor granulometria. Como já exposto anteriormente a menor granulometria proporciona maior interação e menores perdas devido matriz do produto apresentar-se mais coesa e mais firme.

O congelamento não é recomendado para presuntos, porém devido ao aumento de produtos prontos ou semi-prontos, a indústria de produtos cárneos direciona seus estudos para este segmento. No caso de massas como pizzas e lasanhas congeladas, a utilização de produtos cárneos não pode gerar perda de água durante o descongelamento do produto e o produto deve resistir às falhas na cadeia de frio durante o transporte até os pontos de venda.

Para estimar a resistência ao congelamento, as amostras foram submetidas a um ciclo de congelamento e descongelamento. Os resultados (Tabela 25) mostraram que houve diferenças significativas ($p < 0,05$) no percentual de perdas e estas variaram de 0,92 % (F7) até 9,34 % (F12). Menores perdas foram observadas para F1, F3, F5, F6, F8 e PC. As maiores perdas foram observadas para F4, F12, F13. Os testes preliminares apresentaram perdas variando de 3,82 % (T2) até 6,47 % (T4).

A formulação F7 foi a que apresentou as menores perdas (0,92 %), ou seja, resistiu mais ao estresse do congelamento-descongelamento. Esta maior resistência deve-se à utilização de mistura de colágenos, proteína de soja e menor granulometria, o que proporcionou maior resistência ao produto.

Na amostra em que não foi adicionado nenhum dos ingredientes testados (F12) as perdas chegaram a 9,34 %, demonstrando a baixa resistência da matriz

protéica principalmente pelo maior tamanho da carne e ausência de proteína isolada de soja e mistura de colágenos.

Os resultados obtidos ficaram próximos dos 4,00 a 10,18 % obtidos por Prestes (2008) para presunto de peru.

Na Tabela 27 é possível verificar os efeitos dos ingredientes testados nas perdas por congelamento-descongelamento. Todas as variáveis apresentaram efeito significativo na variável perda por descongelamento (%).

TABELA 27 – Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta perdas por congelamento (%).

| | Efeitos | Desvio Padrão | p |
|------------------------|---------|---------------|---------|
| Média/Interação | 1,864 | 0,051 | <0,001* |
| (1) Colágeno | -0,863 | 0,119 | <0,001* |
| (2) Soja | -1,127 | 0,119 | <0,001* |
| (3) Moagem | 0,882 | 0,119 | <0,001* |
| 1X2 | 0,489 | 0,119 | 0,001* |
| 1X3 | -0,629 | 0,119 | <0,001* |
| 2X3 | -0,563 | 0,119 | <0,001* |
| 1X2X3 | 0,613 | 0,119 | <0,001* |

* Significância de 95 %.

Avaliando-se os efeitos podemos comentar que a aumento na concentração de mistura de colágenos, aumento na concentração de proteína isolada de soja e redução da granulometria da carne proporcionaram o efeito benéfico na redução das perdas do produto quando este foi submetido ao congelamento-descongelamento.

A Tabela 28 apresenta a ANOVA para a resposta perdas por congelamento. O teste-F assegurou a validade do modelo. Assim, utilizando este modelo para construção da superfícies de resposta permite-se a visualização das perdas por congelamento em função das variáveis testadas.

Com os coeficientes de regressão obtidos pela ANOVA é possível testar a significância dos mesmos através da estatística **F (Fischer-Snedecor)**. A estatística **F** determina a relação significativa entre a variável dependente e o conjunto de variáveis explicativas, testando-se as hipóteses: H0 (hipótese nula) se $1= 2=...= n=0$ (não existe relação linear entre a variável dependente e o conjunto de variáveis explicativas), e H1 (hipótese alternativa) se pelo menos um coeficiente de regressão não é igual a zero, existe relação linear. Os valores críticos de **F** são obtidos em tabelas. Se **F** encontrado for maior que o **F** crítico, rejeita-se H0.

A Tabela 28 apresenta a Análise de Variância (ANOVA) para a porcentagem de perdas por congelamento. O valor de F encontrado foi aproximadamente 15 vezes maior que o F tabelado (2,76). O teste-F assegurou a validade do modelo, já que o F calculado foi maior que o F tabelado (4,67), para um intervalo de confiança de 95 %. Já o F da falta de ajuste foi aproximadamente 3 vezes menor que o F tabelado.

TABELA 28 – Análise de Variância (ANOVA) para a resposta perdas por congelamento (%).

| Fonte de variação | Soma quadrática | GL | Média quadrática | F calculado |
|-------------------|-----------------|----|------------------|-------------|
| Regressão | 16,469 | 7 | 2,353 | 41,281 |
| Resíduo | 0,799 | 14 | 0,057 | |
| Falta de ajuste | 0,085 | 1 | 0,085 | 1,545 |
| Erro puro | 0,714 | 13 | 0,055 | |
| Total | 17,268 | 21 | | |

O valor de F também é calculado para Falta de Ajuste para avaliar se o modelo está ou não bem ajustado, ou seja, valores altos de F significam muita falta de ajuste. Neste caso o valor de F encontrado para Falta de Ajuste foi menor que o F tabelado, portanto o modelo encontrado para a resposta perdas por congelamento foi preditivo e significativo, tornando adequada a sua utilização.

Assim, o modelo (**Equação 2**) foi utilizado na construção das superfícies de resposta, permitindo a visualização do comportamento da % de perdas por congelamento dos presuntos desenvolvidos em função das variáveis significantes.

Equação (2)

% Perdas por Congelamento*: $1,864 - 0,431C - 0,563S + 0,441M + 0,245CS - 0,314CM - 0,284SM + 0,307CSM$

Coefficiente de correlação $R^2 = 95\%$

*Variáveis independentes: C - mistura de colágenos, M – grau de moagem e S – proteína de soja.

A Figura 36 representa as superfícies de resposta e curvas de contorno que correlacionam as variáveis independentes mistura de colágenos (%), proteína de soja (%) e grau de moagem (mm), com a variável dependente porcentagem de perdas por congelamento, facilitando a visualização da melhor região para obtenção das menores perdas.

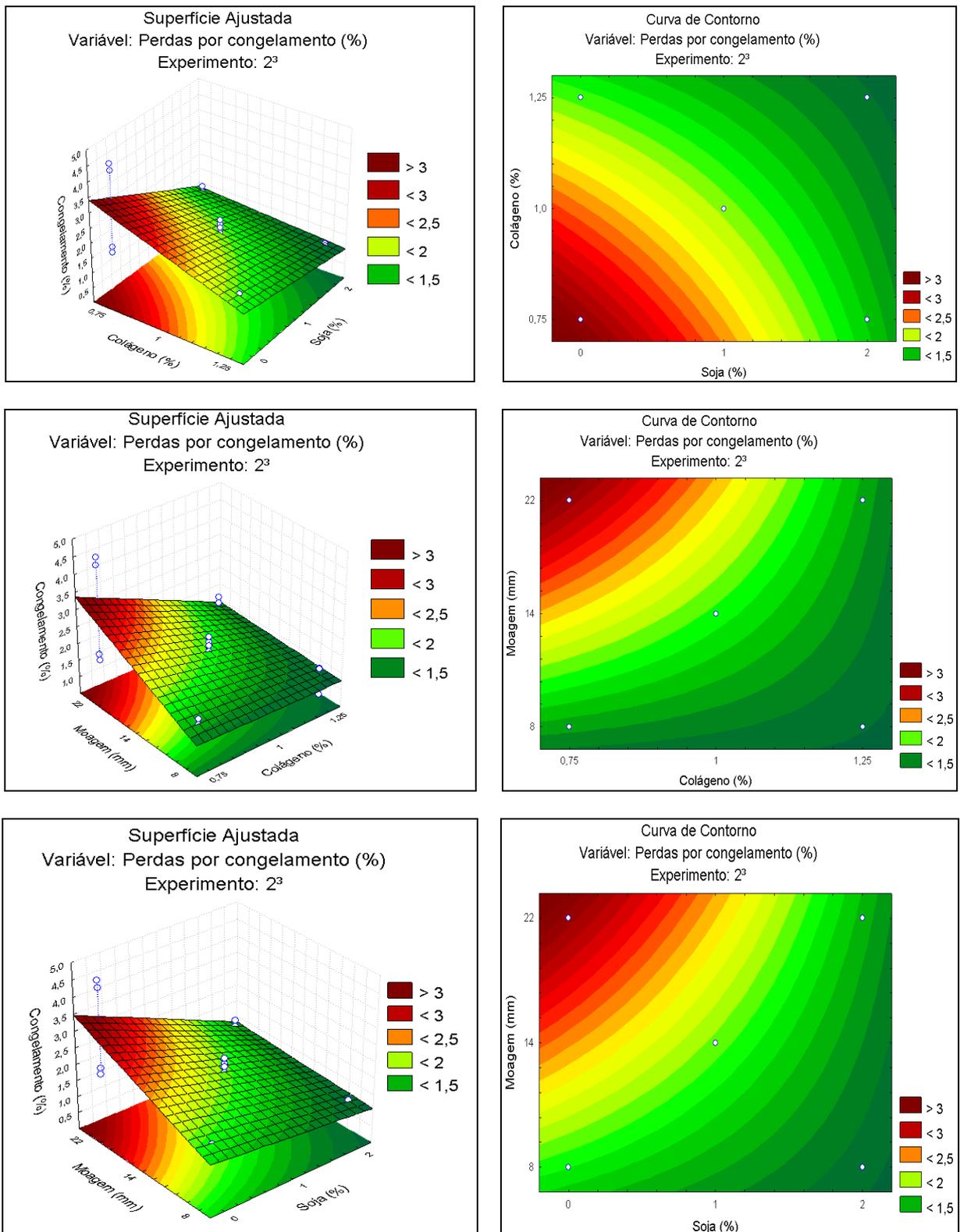


Figura 36 - Superfícies de resposta e curvas de contorno considerando a variável de saída perdas por congelamento (%) em função das variáveis mistura de colágenos (%), proteína isolada de soja (%) granulometria da carne (mm).

Através da interpretação da superfície de resposta (Figura 36) pode-se observar que nas maiores concentrações de proteína de soja e mistura de colágenos e menor granulometria da carne, menores serão as perdas por congelamento-descongelamento.

Verifica-se que a melhor região para evitar perdas por congelamento-descongelamento encontra-se nas maiores concentrações de proteína de soja e misturas de colágeno associadas a um menor grau de moagem (carne de menor granulometria).

A perda por reaquecimento é importante para presuntos que serão utilizados em outros pratos, como por exemplo, pizzas e lasanhas, pois esta perda de líquidos pode gerar amolecimento da massa e exsudação excessiva no prato pronto. Para esta análise considerou-se que a absorção de água pelas amostras de presunto não foram significativas e não afetariam os resultados.

Na Tabela 25 estão apresentadas as porcentagens de perdas por reaquecimento. Houve diferença significativa entre as amostras desenvolvidas ($p < 0,05$). Os resultados variaram de 13,54 % (F5) até 26,96 % (F4). Os resultados obtidos ficaram acima dos obtidos nos testes preliminares (mínimo de 11,68 % para T2 e máximo de 25,13 % para T3).

Dentre os ingredientes testados a amostra F5 foi a que apresentou as menores perdas (13,54 %), o que novamente justifica-se pela utilização dos dois ingredientes testados e menor granulometria da carne, entretanto, isto não pode ser comprovado pela interação entre os três ingredientes testados pois o efeito foi significativo apenas para proteína de soja e moagem.

As formulações F2, F4, PC, F12 e F14 apresentaram os piores resultados e estes ficaram próximos dos 24,96 % encontrados por Prestes (2008) em presunto de peru adicionado de 2 % de colágeno hidrolisado e dos 26,5 % encontrados por Paulino et al. (2006) para cortes bovinos adicionados de fibra de colágeno.

Observando-se as formulações que apresentaram menores perdas (F1, F3, F5, F6, F7, F8 e F13) percebe-se que nestas formulações houve efeito da adição de proteína de soja em maior concentração ou ainda efeito da menor granulometria da carne o que resultou em maior resistência da matriz protéica. Este resultado pode ser comprovado pelo cálculo dos efeitos onde as variáveis proteína de soja e moagem individualmente afetaram a resposta perdas por reaquecimento e que a

interação das duas foi efetiva na redução das perdas (Tabela 29).

Com os resultados obtidos sugere-se que a matriz proteica do produto apresenta maior estabilidade ao reaquecimento retendo a água incorporada quando esta é adicionada de maior porcentagem de proteína isolada de soja e submetida a maior moagem (granulometria menor). Este resultado concorda com Hachmeister; Herald (1998), onde afirmaram que a adição de hidrocoloides afeta significativamente as perdas por cozimento de embutidos elaborados com carne de peru.

TABELA 29 – Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta perdas por reaquecimento (%).

| | Efeitos | Desvio Padrão | p |
|------------------------|----------------|----------------------|----------|
| Média/Interação | 19,222 | 0,560 | <0,001* |
| (1) Colágeno | 1,792 | 1,314 | 0,194 |
| (2) Soja | -3,496 | 1,314 | 0,019* |
| (3) Moagem | 7,101 | 1,314 | <0,001* |
| 1X2 | -0,346 | 1,314 | 0,796 |
| 1X3 | 0,589 | 1,314 | 0,661 |
| 2X3 | -3,538 | 1,314 | 0,017* |
| 1X2X3 | -1,030 | 1,314 | 0,446 |

* Significância de 95 %.

Também foi possível verificar que maiores perdas foram observadas com a utilização de colágeno no maior ou menor nível e maior tamanho da carne (F2 e F4), porém o efeito individual não foi significativo através do cálculo dos efeitos. Devido a baixa resistência do colágeno a altas temperaturas pode ocorrer a perda de líquido e quando este é associado ao maior grânulo da carne há mais facilidade de liberação maior de líquido da estrutura. Também as interações da mistura de colágenos e proteína isolada de soja com as proteínas da carne e polissacarídeos presentes provavelmente ocorre de maneira diferente o que proporcionou maior ou menor aprisionamento destas proteínas na estrutura.

Em relação ao colágeno não houve efeito de primeira, segunda e terceira ordem. Este resultado coincide com os encontrados por Prestes (2008) com a utilização de colágeno em até 2,0 %. Este resultado pode ser justificado devido as baixas concentrações testadas e também pelas complexas interações desta proteína com as proteínas da carne e demais ingredientes adicionados.

Para os produtos desenvolvidos com as formulações F4, F2, PC, F12 e F14 não seria recomendado o reaquecimento devido às elevadas perdas, e isto também

inviabilizaria a utilização destes presuntos como matéria-prima para pratos prontos.

Na Tabela 25 podem ser visualizados os resultados de resistência a compressão para as amostras desenvolvidas. Houve diferença significativa ($p < 0,05$) para as amostras analisadas sendo que os melhores resultados foram para F7 (16,67 N) e piores para F12 (5,54 N). Os resultados conferem com os testes preliminares onde a amostra elaborada com carne mais cominuída (menor granulometria) apresentou maior valor de resistência a compressão.

Melhores resultados significam maiores valores de compressão (N) indicando que as amostras ofereceram maior resistência. Este resultado mostra que os ingredientes adicionados e grau de moagem influenciaram numa matriz mais coesa e conseqüentemente maior resistência a compressão.

Como era esperado a formulação F12 (sem adição de colágeno e soja e moída em maior granulometria) apresentou o pior resultado (5,54 N). Comparando esta formulação com F14 (6,79 N) percebe-se que a ação da proteína de soja e mistura de colágeno numa concentração de 1,0 % de cada auxiliaram na maior firmeza e liga do produto o que melhorou um pouco a resistência ao cisalhamento embora nesta formulação a carne não tenha sido moída.

Youssef e Barbut (2011) mencionaram que a adição de proteína de soja a 1,50 % aumentou a dureza de emulsões o que também foi observado. Li (2006) observou aumento da dureza de 11,96 N para 16,91 N em presuntos adicionados de 6,0 % de colágeno de galinhas. Schilling et al. (2003) obtiveram resultados para textura de presunto de 1,45 kgf (o que corresponde a 14,22 N). Válková et al. (2007) avaliaram presuntos cozidos e chegaram a uma variação de 8,84 a 28,52 N.

Através da análise dos efeitos (Tabela 30) pode-se verificar que apenas a proteína de soja e a moagem afetaram a variável de saída compressão e que não houve interações de segunda e terceira ordem estatisticamente significativas ($p < 0,05$) para as variáveis testadas.

Observando-se os efeitos podemos concluir que a adição de proteína de soja em maior concentração e a menor granulometria da carne apresentam efeito significativo ($p < 0,05$) e que este efeito é positivo a nível de produto pois proporciona um aumento na resistência a compressão.

Os resultados testados mostraram que maior resistência a compressão foi obtida com menor granulometria da matéria-prima o que proporcionou maior resistência da matriz protéica formada (resultados obtidos para F1, F3, F5 e F7).

Este resultado concorda com o proposto por Girard (1991) que a dureza diminui quando o tamanho das partículas aumenta.

TABELA 30 – Cálculo dos efeitos das variáveis estudadas para a resposta resistência a compressão (N).

| | Efeitos | Desvio Padrão | p |
|------------------------|---------|---------------|---------|
| Média/Interação | 10,275 | 0,370 | <0,001* |
| (1) Colágeno | 0,601 | 0,868 | 0,500 |
| (2) Soja | 3,101 | 0,868 | 0,003* |
| (3) Moagem | -7,049 | 0,868 | <0,001* |
| 1X2 | 0,674 | 0,868 | 0,450 |
| 1X3 | 1,361 | 0,868 | 0,139 |
| 2X3 | -0,797 | 0,868 | 0,374 |
| 1X2X3 | -0,674 | 0,868 | 0,450 |

* Significância de 95 %.

Os resultados encontrados foram inferiores aos 38,11 N encontrados para compressão por Prestes (2008) para amostras de presunto de peru adicionadas de colágeno hidrolisado, amido modificado e goma guar e carne moída em disco pré-cortador (maior tamanho).

Almeida et al. (2006), Li (2006) e Prabhu et al. (2004) mencionaram que aumento nos níveis de colágeno testados aumentam a firmeza do produto o que pode ser observado quando se compara F2 com F4. Porém, esse efeito não foi observado quando comparadas F1 com F3. Esse comportamento refletiu no cálculo dos efeitos, que mostrou que individualmente o colágeno não apresentou efeito significativo na resistência ao processo físico de compressão.

Novamente este resultado também coincidiu com os obtidos por Prestes (2008) com adição de até 2,0 % de colágeno onde também não foram significativos ($p > 0,05$) os efeitos. Uma provável justificativa foram as baixas concentrações testadas (0,75 a 1,25 %) que não chegaram a afetar este parâmetro e novamente as diferentes interações entre o colágeno e a matriz do produto.

Bueno (2008) relata que existem resultados discordantes sobre a ação do colágeno em aumentar a dureza de salsichas. Em contrapartida, Olivo e Shimokomaki (2001) mencionaram que níveis crescentes de colágeno (18, 24 e 30 %) aumentaram a força necessária (N) para compressão do produto. A fibra de colágeno testada por eles agiu como importante reestruturador e contribuiu para textura firme durante o fatiamento.

A provável justificativa para ausência de efeito individual para o colágeno tanto para as perdas por reaquecimento como para a compressão podem ser decorrente das baixas concentrações testadas e do tipo de colágeno utilizado. A maioria dos trabalhos em que ocorre aumento da rigidez da estrutura, como exemplo o de Olivo e Shimokomaki (2001) utilizaram colágeno nativo na forma de tendões diretamente na carne. Estes tendões sofrem processo de congelamento, moagem e posterior liofilização, que são processos menos drásticos à estrutura desta proteína.

Para o presente trabalho os colágenos sofreram aquecimento e provavelmente a interação com a matriz proteica ocorre de forma diferente além disso como evidenciado por diversos autores acima de 2 a 4 % de colágeno há a tendência as interações proteína-proteína do colágeno serem mais fortes que as interações com a proteína da carne e ocorre a expulsão de gel no produto.

4.4.7 – Análise Microbiológica

A análise microbiológica foi realizada apenas para as amostras de presunto de frango escolhidas para análise sensorial. Estas formulações foram escolhidas com base nos melhores resultados nas análises físicas e físico químicas (F3, F8 e PC) e que faziam parte do delineamento experimental, sendo também realizada a análise da formulação denominada CONTROLE (F13). Todas as amostras apresentaram-se em condições próprias para consumo segundo os padrões estabelecidos pela RDC 12 (BRASIL, 2001) o que permitiu a realização posterior da avaliação sensorial.

4.4.8 – Análise Sensorial

Teste de Aceitabilidade

Para a avaliação foram escolhidas as melhores formulações com base nas características físico-químicas e desempenho nos testes físicos. Foram excluídas as formulações F1, F2, F4 e F12 por não atenderem ao RTIQ de Presunto, as formulações F6 e F7 pela presença de precipitado gelatinoso e F5 por não atenderem o máximo de proteínas não-cárneas adicionadas (2,0 %) pela legislação brasileira. Buscou-se também analisar sensorialmente F3 (formulação sem proteína de soja e menor granulometria da carne) pois este trabalho tinha como objetivo

desenvolver uma formulação de presunto de frango sem adição de proteína isolada de soja com características sensoriais adequadas.

Na Figura 37 estão apresentados os resultados da Escala Hedônica de presunto de frango. O objetivo do teste foi verificar qual a melhor formulação das três desenvolvidas com base no delineamento fatorial (2^3) e que apresentaram os melhores resultados nas análises anteriores.

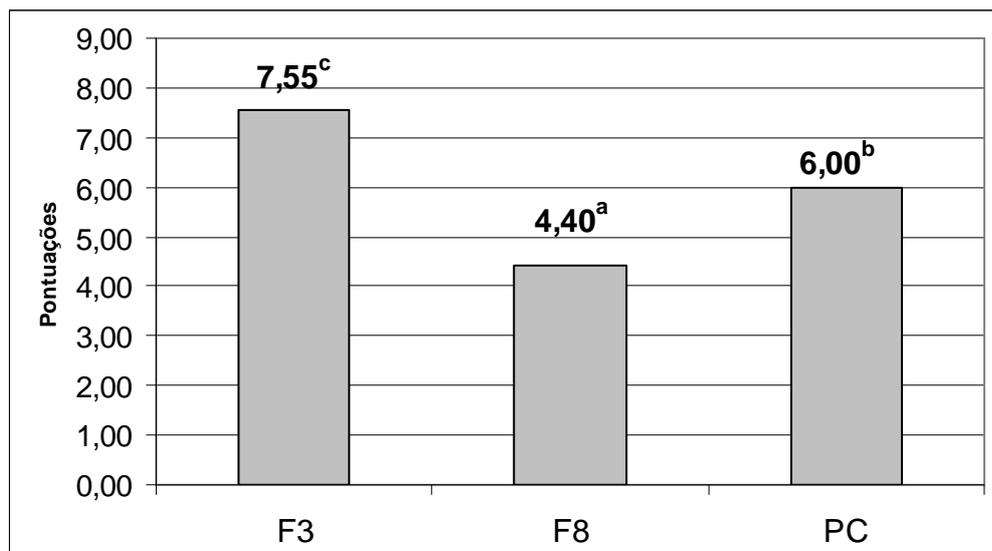


Figura 37 – Aceitabilidade das amostras de presunto de frango avaliadas.

*Formulações: F3 – 1,25 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F8 – 1,25 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm e PC (F9, F10 e F11) – 1,0 % de mistura de colágenos, 1,0 % de proteína de soja e moagem de 14 mm.

** Médias com letras iguais não diferem significativamente ($p > 0,05$). ***Valores de critérios: (9) Gostei extremamente; (8) Gostei muito; (7) Gostei moderadamente; (6) Gostei ligeiramente; (5) Indiferente; (4) Desgostei ligeiramente; (3) Desgostei moderadamente; (2) Desgostei muito; (1) Desgostei extremamente.

Houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as formulações na aceitabilidade indicando que a amostra F3 (1,25 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm) foi a que apresentou melhor nota (7,55). Já a formulação F8 apresentou a pior nota (4,40).

Os resultados encontrados ficaram em “gostei muito” para F3 e “gostei ligeiramente” para a amostra PC (1,0 % de mistura de colágenos, 1,0 % de proteína de soja e moagem de 14 mm). Já a formulação F8 (1,25 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm) foi considerada como “desgostei ligeiramente” conforme a escala utilizada. A formulação F3 apresentou índice de aceitação de 83,9 % e PC de 67,0 %. Já para F8 o índice não chegou a 50 %. Em média considera-se um índice mínimo de 75 % como uma boa aceitação

(DUTCOSKY, 1996).

Estes resultados confirmam o mencionado por Girard (1991) onde a aceitabilidade é menor para produtos com partículas maiores (o que pode ser observado pelas baixas notas para F8 (1,25 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm).

Outros fatores importantes afetam na escolha dos consumidores como a uniformidade da cor e a percepção de gordura visível (RESURRECION, 2003) também foram confirmados nesta avaliação, pois F3 apresentou coloração mais uniforme e foi melhor avaliada e F8 apresentava gordura aparente e foi avaliada negativamente.

Além da cor, a presença da soja também pode desenvolver *off-flavor* em produtos cárneos o que pode justificar a escolha da formulação F3 (sem adição de soja), inclusive ocorreram comentários pelos provadores de que nesta formulação o sabor do condimento era mais forte.

A utilização da mistura de colágenos (50 % fibra de colágeno e 50 % fibra de colágeno em pó) não interferiu negativamente na avaliação sensorial e mostrou-se uma alternativa viável em substituição a proteína isolada de soja o que pode ser comprovado pelo aspecto visual e aceitabilidade do produto.

Teste de comparação múltipla

Para a comparação foram utilizadas as três formulações escolhidas do delineamento experimental e comparadas com o controle desenvolvido apenas com 2,0 % de proteína de soja (formulação F13). Foi solicitado aos provadores que comparassem e avaliassem as diferenças apenas em relação à textura das formulações.

As médias do teste de comparação múltipla obtidas para as amostras encontram-se na Tabela 31. Pode-se observar que houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras. As amostras F3 e F8 foram consideradas melhores que o padrão mostrando que a adição dos ingredientes testados e grau de moagem afetaram significativamente a textura dos presuntos. Quando os provadores foram questionados sobre o grau de diferença as amostras F13 e F8 foram consideradas iguais em relação a textura, o que era esperado devido ao mesmo grau de moagem da carne. Contudo as amostras mais cominuídas F3 e PC foram consideradas entre regular e muito diferentes em relação à textura quando comparadas com o padrão.

TABELA 31 – Comparação Múltipla para o parâmetro de textura das amostras de presunto de frango.

| Amostras | Comparação | Grau de Diferença |
|-----------------|--------------------|--------------------------|
| F13 (CONTROLE) | 2,100 ^b | 0,350 ^a |
| F 3 | 1,150 ^a | 2,750 ^c |
| F 8 | 2,250 ^b | 0,500 ^a |
| PC | 1,400 ^a | 2,000 ^b |

* Formulações: F3 – 1,25 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F8 – 1,25 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; PC (F9, F10 e F11) – 1,0 % de mistura de colágenos, 1,0 % de proteína de soja e moagem de 14 mm e F13 – 0 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm (CONTROLE). **Médias com letras iguais não diferem significativamente ($p > 0,05$). *** Critérios utilizados para comparação: (1) melhor que o padrão, (2) igual ao padrão e (3) pior que o padrão. Critérios empregados para grau de diferença: (0) nenhum, (1) ligeiro, (2) regular, (3) muito e (4) extremamente.

Olivo e Shimokomaki (2001) mencionam que adição de colágeno bovino (0,4 a 2,0 %) em salsichão não alterou o sabor e as características esperadas para este tipo de produto.

Nos testes preliminares as formulações adicionadas de colágeno não apresentaram diferenças de textura em relação ao padrão comercial e tiveram nota máxima 7,35, sendo que a melhor formulação foi a elaborada com carne mais cominuída.

Este resultado se confirmou no planejamento de experimentos, pois F3 apresentou nota 7,55. Porém, foi percebida uma diferença do padrão desenvolvido e as formulações com diferentes graus de moagem e adição de soja e colágeno. Na comparação, as amostras foram consideradas entre igual e melhor que o padrão (2,0 % de proteína de soja e moagem em disco de 22 mm) e foi percebida diferença na textura entre regular e muita diferença.

As amostras com melhores notas também foram as que apresentaram maiores valores de resistência à compressão, como descrito anteriormente.

Os resultados da análise sensorial demonstraram que a formulação com substituição total da soja por colágeno é viável e que os consumidores buscam uma coloração mais uniforme e textura mais firme, que foi obtida na formulação elaborada com carne mais cominuída, do que a aparência de produto com grandes pedaços de carne.

4.4.9 Avaliação Histológica

Através da utilização dos métodos histológicos foi possível a análise qualitativa da presença de colágeno, fibras da carne e tecido conjuntivo. Pode-se visualizar na Figura 38 (letras A a F) e Figura 39 (letra A) as fotomicrografias obtidas pelo método de Hematoxilina-Eosina. Observa-se que conforme o grau de moagem ocorreram diferenças na organização das fibras e distribuição do colágeno no produto (em azul). A imersão em xilol retirou os lipídios deixando o espaço vazio e também bolhas de ar no produto que podem ser visualizadas como espaços vazios na matriz que correspondem a localização dos adipócitos.

Observando as fotomicrografias A e B (Figura 38) pode-se visualizar as formulações F4 e F8 coradas pelo método de Hematoxilina-Eosina. Ressalta-se que, nestas figuras pode-se observar uma maior e menor presença de colágeno pois a intenção é mostrar que distribuição do colágeno em tamanho e localização não é uniforme pois o processo de mistura não é tão íntimo como num processo de *cutter*. Ambas as formulações foram elaboradas com carne em maior disco de moagem (22 mm) e pode-se visualizar as fibras da carne em rosa e o colágeno em azul. Os espaços correspondem ao tecido adiposo presente na própria carne e que apresentam-se em maior tamanho e desorganizados.

Já nas fotomicrografias C e D (Figura 38) observa-se novamente a presença do colágeno e as fibras da carne em menor tamanho devido ao maior grau de moagem (14 mm). Também observa-se o colágeno mais distribuído e os adipócitos em menor tamanho. No entanto, não há uma organização e distribuição homogênea dos adipócitos o que seria característica de uma emulsão.

Nas fotomicrografias E e F (Figura 38) visualizam-se as formulações F12 e F13 onde não houve a adição de colágeno e maior granulometria da carne. Evidencia-se menor presença de colágeno pois o colágeno que pode ser visualizado é o presente naturalmente na carne. Os vazios evidenciam a presença dos adipócitos inerente ao próprio corte e também o aspecto irregular dos adipócitos devido a maior grânulo da carne. Na fotomicrografia E observa-se o tecido conjuntivo (composto de colágeno) envolvendo os feixes da fibra da carne. Na fotomicrografia F (Figura 38) observa-se a manutenção da fibra da carne na moagem com disco de 22 mm. Também podem ser visualizados os glóbulos de gordura irregulares, o mesmo ocorreu para a fotomicrografia A (Figura 39).

Segundo Junqueira e Carneiro (2008) as fibras de colágeno se organizam

paralelamente umas às outras formando feixes. Geralmente as fibras são longas e com percurso sinuoso. Já Leite et al. (2004) mencionam que o tecido conjuntivo se distribui diferentemente quanto à sua orientação e até mesmo quanto à sua concentração, obedecendo a priori e preferencialmente a uma disposição paralela aos arranjos das fibras musculares.

Youssef e Barbut (2011) utilizaram o corante hematoxilina e microscopia de luz para avaliar emulsões e observaram que com o aumento do teor de proteína adicionada aumentou a coalescência do produto (aparência assimétrica dos glóbulos de gordura foi menor) e também foi observada matriz mais densa devido à maior agregação proteica. Neste mesmo trabalho, a presença de tecido adiposo grandes, afilados e irregulares indicaram instabilidade da matriz. Teixidor (2006) citou a técnica Hematoxilina-Eosina para presuntos suínos mostrando as diferenças na estrutura no decorrer das etapas de processamento.

Bet et al. (2001) analisaram preparações de colágeno para uso como biomaterial através da microscopia de luz com Hematoxilina-Eosina e Tricrômico de Gomori (colágeno adquire coloração verde). Nardacci et al. (2003) utilizaram seções de fígado de rato embebidas em parafina utilizando método de Tricromo de Masson e Hematoxilina-Eosina para avaliação de injúrias hepáticas.

Com objetivo de destacar e possibilitar uma maior visualização do colágeno adicionado e o presente na própria carne foi realizado o método de Tricrômico de Masson, pois segundo Leite et al. (2004) esta técnica mostra bem o núcleo e o citoplasma e ajuda a diferenciar o colágeno do músculo liso entre si.

Nas fotomicrografias das formulações F7, F12 e F13 (B, C e D na Figura 39) percebe-se o maior destaque para o colágeno (azul) quando foi utilizado o método de Tricrômico de Masson. Na fotomicrografia C observa-se que na formulação F7 (menor granulometria e adição do nível máximo de colágeno) a presença das fibras da carne alinhadas e uma melhor distribuição do colágeno no produto. Mesmo mais com a carne em menor granulometria as fibras podem ser evidenciadas organizadas e em grande tamanho. Puderam ser evidenciados os adipócitos, porém em menor tamanho do que os apresentados nas formulações com maior tamanho dos grânulos da carne. Nas fotomicrografias que corresponde a F12 e F13 (B e D respectivamente na Figura 39) pode ser visualizada uma distribuição heterogênea de colágeno natural (complexa rede de fibras de tecido conjuntivo) e grandes adipócitos irregulares de gordura e também observa-se que o colágeno envolve os

feixes de fibra.

Para comprovar que as lâminas obtidas continham colágeno natural e as que foram adicionadas deveriam apresentar maior quantidade de colágeno foi realizada a avaliação Imunocitoquímica dos cortes obtidos. Neste método as estruturas são evidenciadas por um precipitado ou por um corante fluorescente, mas as células e seus limites não são visíveis (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008). Para confirmar a presença de colágeno tipo IV foi adicionado um padrão positivo que consistiu de pele humana.

A utilização desta técnica confirmou a presença de colágeno nativo na formulação a qual não foi adicionado colágeno (F 12) conforme as fotomicrografias E e F (Figura 39). Já na Figura 51 foi possível visualizar a presença de colágeno em maior quantidade na formulação devido à adição de 1,25 % de mistura de colágeno. Como o anticorpo testado foi colágeno IV e o mesmo está presente na membrana basal da célula (associado ao endomísio das fibras reticulares) ele reagiu gerando a coloração marrom.

Além dos aspectos histológicos é possível correlacionar os parâmetros físico-químicos e as propriedades físicas com o que foi visualizado nas fotomicrografias. Observa-se que produtos elaborados com carne em menor granulometria, maior adição de mistura de colágenos e maior adição de proteína isolada de soja (letra C da Figura 39) apresentaram estrutura mais coesa e adipócitos em menor tamanho o que auxiliou numa estrutura mais coesa e conseqüentemente mais resistente as diferentes forças externas e processos aos quais os produtos podem ser submetidos. Pode-se concluir que mesmo com menor granulometria ainda percebe-se a presença da fibra muscular íntegra e que a menor granulometria provocou maior interação, diferente organização e alinhamento da estrutura do produto. Este comportamento contribuiu para uma maior capacidade de retenção de água do produto, menor sinerese, maior estabilidade e resistência aos processos de congelamento-descongelamento, compressão e reaquecimento.

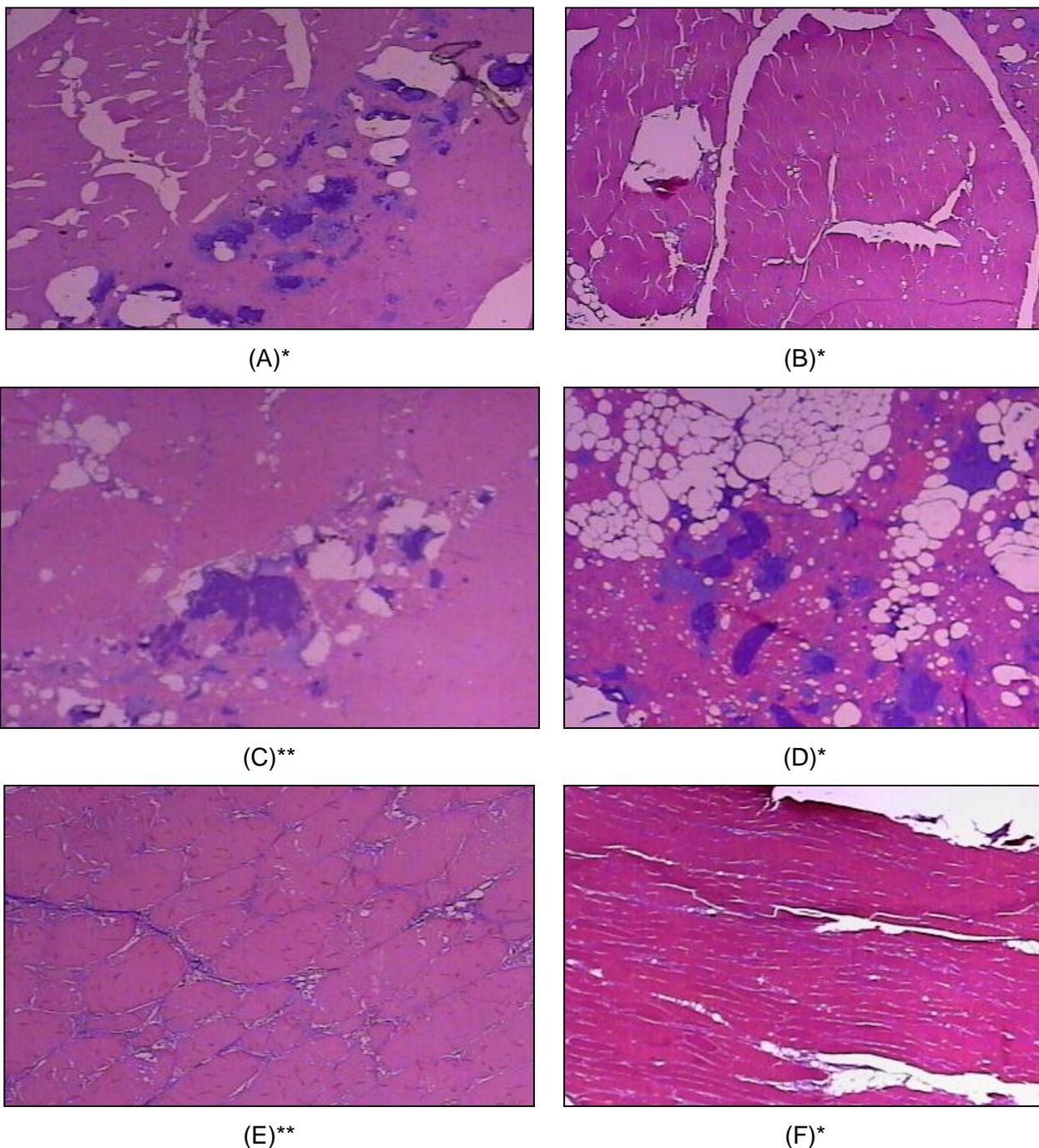


Figura 38 - Fotomicrografias obtidas para as formulações através de corte transversal com utilização do método Hematoxilina-Eosina.

* A, B, D e F com aumento de 40 x.

** C e E com aumento de 100x.

(A) F4 – 1,25 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm.

(B) F8 – 1,25 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm.

(C) e (D) PC (F9, F10 e F11) – 1,0 % de mistura de colágenos, 1,0 % de proteína de soja e moagem de 14 mm.

(E) F13 – 0 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm.

(F) F8 – 1,25 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm.

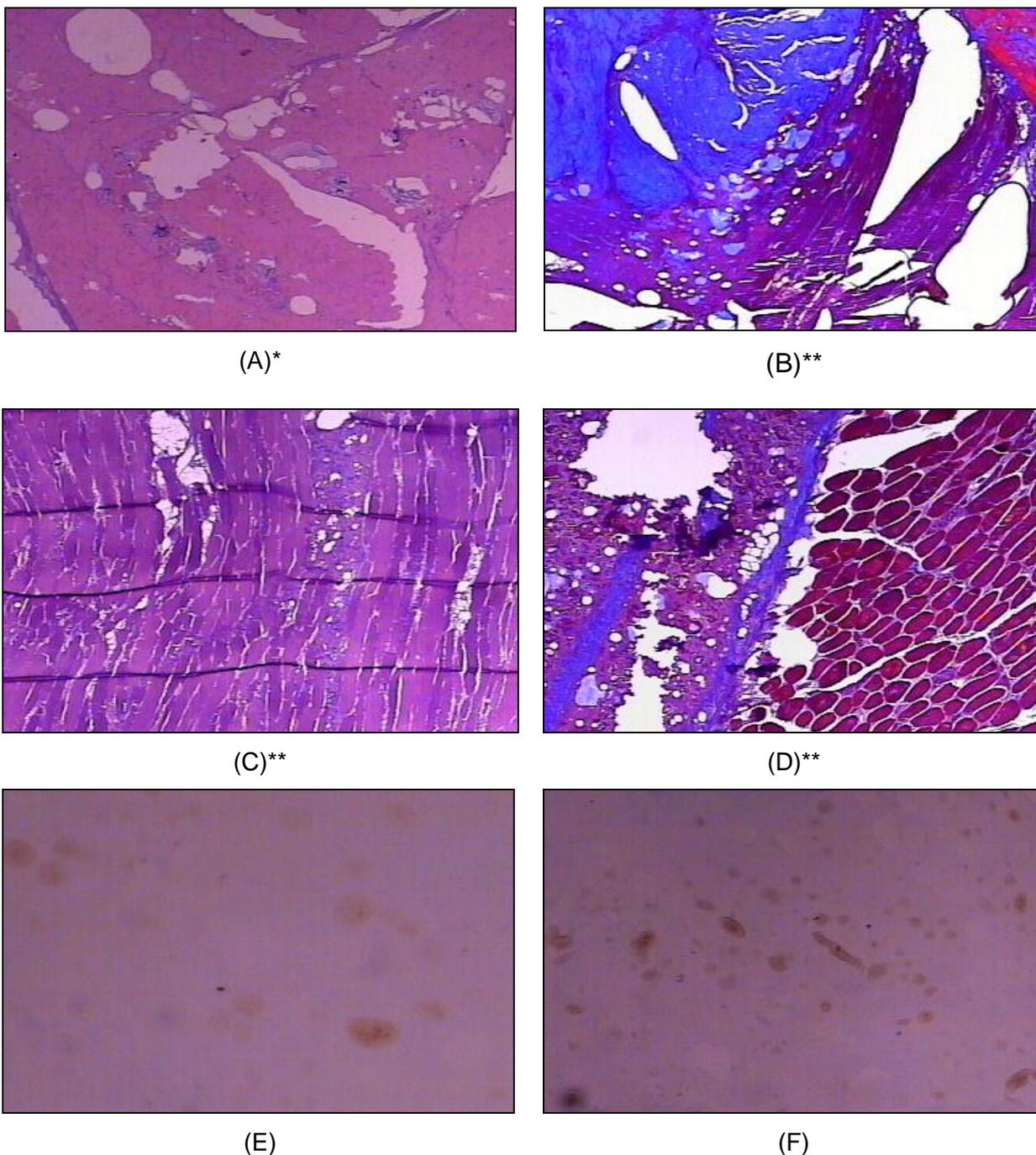


Figura 39 - Fotomicrografias obtidas para as formulações com a utilização do método de Hematoxilina-Eosina (A), Tricrômico de Masson (B, C e D) e Imunocitoquímico (E e F).

* A com aumento de 100X.

** B, C, D, E e F com aumento de 40x.

(A) F12 – 0 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm.

(B) F12 – 0 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm.

(C) F7 – 1,25 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm.

(D) F13 – 0 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm.

(E) F12 – 0 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm.

(F) F4 – 1,25 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm.

4.4.10 Avaliação de *shelf-life* dos presuntos desenvolvidos

Para a avaliação de *shelf-life* dos produtos foi realizada a avaliação da sinerese e pH ao final dos 60 dias de acompanhamento. Os presuntos foram mantidos em refrigeração ($\pm 7^{\circ}\text{C}$) durante todo este período de acompanhamento. Para todas as amostras foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) para pH e % de sinerese quando comparados os resultados para o 10° dia após a elaboração (primeira avaliação) e 60° dia após a elaboração (segunda avaliação) como pode ser observado nas Figuras 40 e 41.

A avaliação do pH mostrou que as amostras apresentaram valores entre 6,35 e 6,72 e que para todas as amostras foi observada a redução do pH com o decorrer do *shelf-life* em maior ou menor nível, dependendo da amostra. Os resultados ficaram de acordo com os valores de 5,9 e 6,1 sugeridos como adequados para presunto (PEARSON e TAUBER, 1984; VAÁLKOVÁ et al., 2007).

A redução do pH era esperada pois a maioria dos produtos cárneos apresentam redução do pH no decorrer da vida-de-prateleira devido à presença de micro-organismos deterioradores, entretanto, como não foi realizado o acompanhamento microbiológico do produto isto não pode ser comprovado.

Como era esperado a sinerese aumentou no decorrer dos 60 dias (8 semanas) após a produção. Esta avaliação é importante pois os presuntos são fatiados no ponto de venda e a liberação de líquido pode causar prejuízo devido à perda de massa (PEDROSO e DEMIATE, 2008). Além disso, este problema afeta o aspecto sensorial do produto e é visto negativamente pelos consumidores.

As formulações que apresentaram menores perdas na primeira avaliação mantiveram os bons resultados na segunda avaliação de liberação de líquido. Os melhores resultados foram obtidos para F3 e F5 comprovando a eficiência dos ingredientes testados (mistura de colágenos e proteína isolada de soja) em associação com maior grau de cominuição da matéria-prima na redução da liberação de líquido.

Os resultados encontrados ficaram próximos dos 3,57 % encontrados por Prabhu e Doerscher (2003) para presunto adicionado de 1,0 % de colágeno após quatro semanas de armazenamento. As formulações F12, F13 e F14 apresentaram os piores resultados.

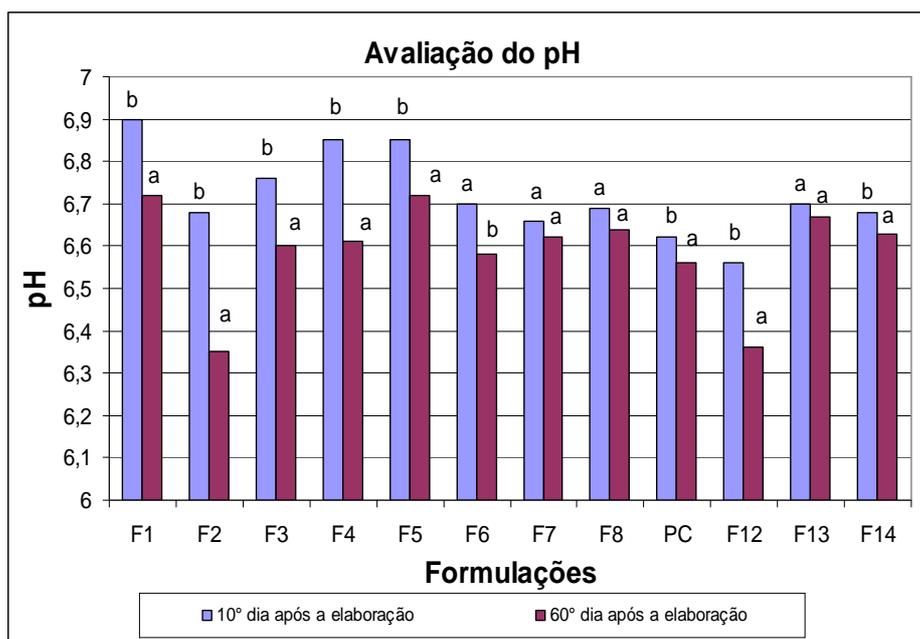


Figura 40 – Valores de pH no 10° e 60° dia após a elaboração.

F1 – 0,75 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F2 – 0,75 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F3 – 1,25 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F4 – 1,25 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F5 – 0,75 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F6 – 0,75 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F7 – 1,25 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F8 – 1,25 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; PC (F9, F10 e F11) – 1,0 % de mistura de colágenos, 1,0 % de proteína de soja e moagem de 14 mm; F12 – 0 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F13 – 0 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm (CONTROLE); F14 – 1,0 % de mistura de colágenos, 1,0 % de proteína de soja e matéria-prima sem moer.

Prabhu et al. (2004) avaliaram a sinerese de presuntos após duas semanas e chegaram a valores de 4,34 % para produto sem colágeno e 3,44 % para produto com 1,0 % de colágeno e estes autores também concluíram que o colágeno foi efetivo na redução da sinerese em até 8 semanas de acompanhamento.

Observa-se que os resultados obtidos para as formulações desenvolvidas no planejamento fatorial, ou seja, com a adição de proteína isolada de soja, mistura de colágenos e menor granulometria da carne foram melhores do que os obtidos nos testes extras sem a adição de colágeno, sem moer a carne ou carne com maior granulometria. Os resultados foram melhores do que os encontrados por PRABHU e DOERSCHER (2003) e PRABHU et al. (2004).

A manutenção da sinerese em baixos níveis no decorrer do *shelf-life* para os presuntos de frango desenvolvidos é decorrente da ação efetiva dos ingredientes testados (mistura de colágenos e proteína de soja) e da moagem, o que proporcionou maior retenção de água na matriz proteica do produto.

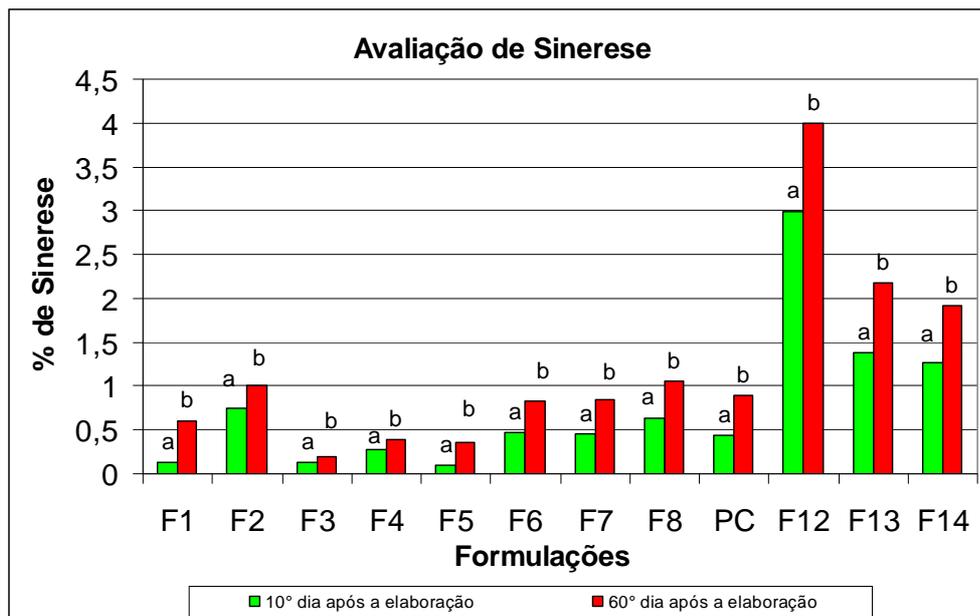


Figura 41 – Percentagem de sinerese no 10° e 60° dia após a elaboração.

F1 – 0,75 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F2 – 0,75 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F3 – 1,25 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F4 – 1,25 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F5 – 0,75 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F6 – 0,75 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F7 – 1,25 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm; F8 – 1,25 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; PC (F9, F10 e F11) – 1,0 % de mistura de colágenos, 1,0 % de proteína de soja e moagem de 14 mm; F12 – 0 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm; F13 – 0 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm (CONTROLE); F14 – 1,0 % de mistura de colágenos, 1,0 % de proteína de soja e matéria-prima sem moer.

5 CONCLUSÕES

Os cinco colágenos testados apresentaram diferenças na composição, teor de hidroxiprolina, teor de colágeno, distribuição de massa molar e a nível de estrutura da cadeia comprovado pela análises realizadas.

Com relação a fibra de colágeno e fibra de colágeno em pó no início deste trabalho achava-se que tratavam-se do mesmo produto, porém com diferenças de granulometria, porém, ficou aqui comprovado que tratam-se de produtos diferentes e que associados mostraram sinergia e bons resultados no produto testado. Se por um lado a fibra em pó amarelou os produtos e ocasionou formação de precipitado gelatinoso quando testada na concentração de 1,0 %, por outro lado em associação com a fibra de colágeno em pó (maior área de contato e maior absorção de água) nas concentrações de 50 % de cada, os resultados se mostraram satisfatórios.

A gelatina testada não apresentou resultados adequados nas condições testadas e pode-se concluir que sua utilização em presuntos não é indicada devido a formação de precipitado gelatinoso e aspecto inadequado do produto.

Foi obtido êxito no desenvolvimento das formulações de presunto com 100 % da matéria-prima submetida ao congelamento-descongelamento, mostrando que é possível a utilização deste tipo de matéria-prima em presunto de frango embora algumas formulações obtiveram melhores resultados nas determinações físico-químicas.

As melhores formulações desenvolvidas foram F3 (1,25 % de mistura de colágenos, 0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm), F5 (F5 – 0,75 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm) e F7 (01,25 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm).

A adição dos colágenos e redução da granulometria da carne proporcionou aumento no teor proteico e conseqüentemente maior capacidade de retenção de água, menor sinerese e melhor fatiabilidade dos produtos desenvolvidos.

Em relação à cor, houve alteração significativa na luminosidade (L^*) e nos parâmetros da cromaticidade (a^* e b^*). O colágeno e a soja contribuíram para certo escurecimento do produto (embora isso não tenha prejudicado a aceitação sensorial dos produtos desenvolvidos).

Nas perdas por reaquecimento, resfriamento e congelamento, novamente o destaque para as formulações mais moídas (menor granulometria), principalmente

F3, F5 e F7. As menores perdas foram consequência da maior resistência da matriz proteica às condições de estresse. Vale ressaltar que os ingredientes testados nas maiores concentrações associados à carne mais moída proporcionaram menores perdas no processo de congelamento-descongelamento.

Os resultados da análise sensorial demonstraram que a formulação com substituição total da soja por colágeno é viável e que os consumidores buscam uma coloração mais uniforme e textura mais firme que foi obtida na formulação elaborada com carne mais moída (F3) do que a aparência de produto com grandes pedaços de carne.

A avaliação histológica mostrou a existência do colágeno natural presente na própria carne e o aumento da quantidade de colágeno distribuído no produto quando este ingrediente foi adicionado na formulação. Foi possível também evidenciar as fibras da carne e os adipócitos mesmo nos produtos com menor granulometria. A técnica de imunocitoquímica comprovou a presença de colágeno nas formulações. Embora as metodologias para análise histológica tenham sido adaptadas para o emprego em um produto alimentício, estas se mostraram eficientes e interessantes para melhor visualização do colágeno na estrutura do produto.

Na avaliação de *shelf-life* os produtos adicionados de maiores concentrações de mistura de colágenos, proteína de soja e menor granulometria (F3 e F5) apresentaram menor liberação de líquido (sinerese) mesmo após 60 dias de produção.

F12 apresentou textura quebradiça, presença de gel e aspecto inadequado levando a conclusão que não é possível a elaboração de presunto de carne de frango com as características de qualidade esperadas sem a adição de proteína de soja e mistura de colágenos (nas condições testadas).

F14 (1,25 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm) apresentou textura inadequada, quebradiça, presença excessiva de gel e aspecto repugnante mostrando que não é possível a elaboração de presunto de frango de qualidade sem a cominuição da carne.

F6 (0,75 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 22 mm) e F7 (1,25 % de mistura de colágenos, 2,0 % de proteína de soja e moagem de 8 mm) apresentaram pequena presença de exsudado gelatinoso externo à peça provavelmente devido o maior granulometria da carne (22 mm), para a formulação F6 e para F7 o excesso de colágeno ou proteína isolada de soja pode ter

ocasionado a expulsão de gel da estrutura. Parece-nos adequado concluir que deve existir um equilíbrio entre as concentrações de colágeno e soja pois quando um ou outro está em excesso ocorre a liberação de gel.

A formulação F5 apresentou resultados similares a F3 (inclusive aspecto visual). Entretanto, como foi utilizado 2,0 % de proteína de soja e 0,75 % de mistura de colágenos, valores estes que extrapolam o limite máximo de adição de 2,0 % de proteínas de origem não-cárnea, segundo a legislação brasileira, o que inviabilizaria a implantação industrial, optou-se por não incluí-la na análise sensorial.

As condições do Ponto Central (PC) não foram os melhores resultados e a formulação não foi a mais preferida pelos provadores, indicando que 1,0 % de proteína de soja e 1,0 % de mistura de colágeno e moagem de 14 mm não foi a mais adequada para obtenção das melhores características.

Com base em todos os resultados obtidos conclui-se que a formulação F3 (sem a adição de proteína de soja, menor granulometria e adição de 1,25% de mistura de colágenos) foi considerada a melhor formulação na avaliação sensorial.

A adição de colágeno na forma de mistura de fibra de colágeno e fibra de colágeno em pó em associação a menor granulometria da carne se mostrou uma alternativa viável para produção de presunto de frango com as características químicas e físicas esperadas e com boa aceitação por parte dos consumidores.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Com base nos resultados obtidos sugerem-se novas pesquisas com aplicação da fibra de colágeno e fibra em pó em produtos emulsionados ou ainda outros produtos classificados como reestruturados tipo hambúrguer e almôndegas.

Sugerem-se também novas pesquisas de avaliação da capacidade de absorção de água (CAA) e capacidade de retenção de água (CRA) em diferentes condições de pH, temperatura e com adição de soluções de composição variada.

Devido aos resultados contraditórios para os teores de nitrato e nitrito no produto final em relação ao nitrito adicionado, se faz necessário um maior estudo para elucidar as condições do processo que acarretam estas diferenças (maior concentração de nitrato onde apenas nitrito foi adicionado).

Sugere-se ainda a investigação da utilização da técnica do infravermelho próximo (FT-NIR) como ferramenta para determinar a composição do produto final, verificando a possibilidade de utilização desta para determinar o teor de colágeno nos produtos.

7 REFERÊNCIAS

ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 14141**: escalas utilizadas em análise sensorial de alimentos e bebidas. Rio de Janeiro, 1998.

ALMEIDA, R.B.; BESERRA, F.J.; AZEREDO, H.M.C. FERREIRA, J.C.G.; BITU, L.A.; MONTE, F.B.R. Uso de colágeno solubilizado como substituto de gordura em emulsão cárnea. XX CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. 2006, Curitiba. **Anais**. Curitiba, 2006, 1CD-ROM.

ALVES, S.G.T.; PRUDENCIO-FERREIRA, S.H. Propriedades funcionais de material colagenoso de pés de frango. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, v.52, n.3, 2002.

ARIMA, H. K. **Curso sobre qualidade e processamento de presunto cozido e apesuntado**. Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) – Centro de Tecnologia de Carnes (CTC), Campinas, 1995, 120p.

BALDISSERA, E.M. **Desenvolvimento de presunto cozido pré-fermentado adicionado de fibra e cloreto de potássio**. 2007, 90f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, 2007.

BARBUT, SHAI. **Poultry Products Processing: An Industry Guide**. CRC Press, 2002, 548p.

BARBUT, S.; MITTAL, G.S. Effect of heat processing delay on the stability of poultry meat emulsions containing 1,5 and 2,5 % salt. **Poultry Science**, v.70, p.2538-2543, 1991.

BARRERA, A.M.; RAMÍREZ, J.A.; GONZÁLEZ-CABRIALES, J.J; VÁZQUEZ, M. Effect of pectins on the gelling properties of surimi from silver carp. **Food Hydrocolloids**, v.16, p.441-447, 2002.

BEDENDI, R.F. **Estudo da estabilidade de presunto cozido fatiado em atmosfera modificada**. 2003, 123f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2003.

BET, M.R.; GOISSIS, G.; LACERDA, C.A. Characterization of Polyanionic collagen prepared by selective hydrolysis of asparagine and glutamine carboxamide side chains. **Biomacromolecules**, v.2, p.1074-1079, 2001.

BINSI, P.K.; SHAMASUNDAR, B.A.; DILLEP, A.O.; BADI, F.; HOWELL, N.K. Rheological and functional properties of gelatin from the skin of Bigeye snapper (*Priacanthus hamrur*) fish: Influence of gelatin on the gel-forming ability of fish mince. **Food Hydrocolloids**, v.23, p.132-145, 2009.

BRASIL, Ministério da Agricultura. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Presunto**. Diário Oficial, Brasília, nº419. seção 1, p.7-12, 2000.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC nº12**, de 2 de Janeiro de 2002. Diário Oficial. Brasília, p.68, 2001.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Métodos Físico-Químicos para Análises de Alimentos, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, Ministério da Saúde, 2005, 1018p.

BOSCH, E.V.D.; GIELENS, C. Gelatin degradation at elevated temperature. **Biological Macromolecules**, v.32, p.129-138, 2003.

BOUTTEN, B.; BRAZIER, M.; MORCHE, N.; MOREL, A.; VENDEUVRE, J.L. Effects of animal and muscle characteristics on collagen and consequences for ham production. **Meat Science**, v.55, p.233-238, 2000.

BUENO, R.V.C.C. **Efeito da fibra de colágeno na qualidade funcional de “Cooked frozen beef”**. 2008, 107f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2008.

BUENO, C.M.M. **Extração e caracterização de gelatina de pele de tilápia e aplicação como agente encapsulante de óleo de salmão em micropartículas obtidas por coacervação complexa**. 2008, 133f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2008.

CASIRAGHI, E.; ALAMPRESE, C.; POMPEI, C. Cooked ham classification on the basis of brine injection level and pork breeding country. **LWT – Food Science and Technology**, v.40, p.164-169, 2007.

CASSENS, R.G. Use of sodium nitrite in cured meats today. **Food Technology**, v.49, p.72-79, 1995.

CAVENAGHI, A.D. **Elaboração de embutidos fermentados cozidos de coxa de frango**. 2005, 206f. Tese de Doutorado (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2005.

CECCHI, H.M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. Campinas: Unicamp, 1999, 212p.

CHENG, J.; WANG, S.; OCKERMAN, H.W. Lipid oxidation and color change of salted pork patties. **Meat Science**, v.75, p.71-77, 2007.

CLEMENTS, D. J.; KEOGH, M. K. Physical properties of cold-setting gels formed from heat-desaturated whey protein isolate. **Journal of the Science and Food Agriculture**, v. 69, p. 7-14, 1995.

COLLA, L.M.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. Congelamento e descongelamento- sua influencia sobre os alimentos. **Revista vetor**. 2003, v. 13, p. 53-66.

DAIGLE, S.P.; SCHILLING, M.W.; MARRIOTT, N.G.; WANG, H.; BARBEAU, W.E.; WILLIAMS, R.C. PSE-like turkey breast enhancement through adjunct incorporation in a chunked and formed deli roll. **Meat Science**, v.69, p.319-324, 2005.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.; FENNEMA, O.R. **Química de Alimentos de Fennema**, Artmed, 2010, 900p.

DASCALI, M.C.; VASILE, C.; SILVESTRE, C.; PASCU, M. On the compatibility of low density polyethylene/hydrolyzed collagen blends. II: New compatibilizers. **European Polymer Journal**, v.14,p.1391-1402, 2005.

DELLA TORRE, J.C.M. **Proteínas de soja e colágeno: validação das metodologias de quantificação e avaliação tecnológica do uso em produtos cárneos**. 2004, 261f. Tese de Doutorado (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2004.

DELAHUNTY, C.M.; MCCORD, A.; O'NEILL, E.E.; MORRISSEY, P.A. Sensory characterization of cooked hams by untrained consumers using free-choice profiling. **Food Quality and Preference**, v.8, n.5/6, p.381-386, 1997.

DEMAN, J.M. **Principles of food Chemistry**. Aspen : Maryland, p.147-149p, 1999.

DENIS, A.; BRAMBATI, N.; DESSAUVAGES, B.; GUEDJI, S.; RIDOUX, C.; MEFFRE, N.; AUTIER, C. Molecular weight determination of hydrolyzed collagens. **Food Hydrocolloids**, v.22, p.989-994, 2008.

DESMOND, E.M.; KENNY, T.A.; WARD, P.; SUN, D. Effect of rapid and conventional cooling methods on the quality of cooked ham joints. **Meat Science**, v. 56, p.271-277, 2000.

DINEEN, N.M.; KERRY, J.P.; LYNCH, P.B.; BUCKLEY, D.J.; MORISSEY, P.A.; ARENDT, E.K. Reduced nitrite levels and dietary α -tocopheryl acetate supplementation, effects on the colours and oxidative stability of cooked hams. **Meat Science**, v.55, p.475-482, 2000.

DUTCOSKY, S. D. **Análise Sensorial de Alimentos**. Curitiba: Champagnat, 1996, 123p.

FELLOWS, P.J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos: princípios e práticas**. Artmed: Porto Alegre, 2006, 602p.

FEINER, GERHARD. **Meat Products Handbook**. England: CRC Press, 2006, 671p.

FLINT, O. **Microscopia de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1994, 132p.

FORATO, L.A.; COLNAGNO, R.B.F.L. Estudo de métodos de aumento de resolução de espectros de FTIR para análise de estruturas secundárias de proteínas. **Química Nova**, v.5, p.146-150, 1997.

FRANCISCHETTI, G.; ORTELAN, C.B.; CONTRERAS-CASTILHO, C.J.C; GALLO, C.R., CAVENAGHI, A., MONTENEGRO, L.C., PUGA, D.E. Caracterização e vida-útil do músculo *biceps femoris* (coxão duro) submetidos à marinação com pó de colágeno, fibra de trigo e proteína isolada de soja. IV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Carnes. 2007, **Anais...**,Campinas, p.378 – 380, 2007.

GALVÃO, M.T.E.L. **Utilização de carne de frango e carne mecanicamente separada em produtos cárneos: Industrialização da Carne de Frango**. Campinas: Centro de Tecnologia de Carnes/ITAL, 1992.

GARCÍA-SEGOVIA, P.; ANDRÉS-BELLO, A.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J. Effect of cooking method on mechanical properties, color and structure of beef muscle (*M. pectoralis*). **Journal of Food Engineering**, v.80, p.813-821, 2007.

GIRARD, J.P. **Tecnologia de la carne y de los productos cárnicos**. Zaragoza: Acribia, 231-241p, 1991.

GOMÉZ-ESTACA, J.; MONTERO, P.; FERNÁNDEZ-MARTÍN, F.; GOMÉZ-GUILLÉN. Physico-chemical and film-forming properties of bovine-hide and tuna-skin gelatin: A comparative study. **Journal of Food Engineering**. V.90, P.48-486, 2009.

GOMÉZ-GUILLÉN, M.C.; FERNÁNDEZ-DÍAZ, M.D.; ULMO, N.; LIZARBE, M.A.; MONTERO, P. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. **Food Hydrocolloids**, v.16, p.25-34, 2002.

GOMÉZ-GUILLÉN, M.C.; GIMÉNEZ, B.; LOPÉZ-CABALLERO, M.E.; MONTERO, M.P. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocolloids*, 2011, doi:10.1016/j.foodhyd.2011.02.007.

HACHMEISTER, K.A.; HERALD, T.J. Thermal and rheological properties and textural attributes of reduced-fat turkey batters. **Poultry Science**, v.77, p.632-638, 1998.

HEDENUS, P.; MATTSSON, M.S.; NIKLASSON, G.A.; CAMBER, O.; EK, R. Characterisation of instantaneous water absorption properties of pharmaceutical excipients. **International Journal of Pharmaceutics**, v.141, p.141-149, 2000.

HERNÁNDEZ-BRIONES, B.; VELÁZQUEZ, G.; VÁZQUEZ, M.; RAMÍREZ, J.A. Effects of adding fish gelatin on Alaska pollock surimi gels. **Food Hydrocolloids**, v.23, p.2446-2449, 2009.

HONKAVAARA, M. Influence of PSE pork on the quality and economics of cooked, cured ham and fermented dry sausage manufacture. **Meat Science**, v.24, p.201-207, 1998.

HOQUE, M.S.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Effects of partial hydrolysis and plasticizer content on the properties of film from cuttlefish (*Speia pharaonis*) skin gelatin. **Food Hydrocolloids**, v.25, p.82-90, 2011.

HSU, S.Y.; SUN, L. Comparisons on 10 non-meat protein fat substitutes for low-fat Kung-wans. **Journal of Food Engineering**, v.74, p.47-53, 2006.

IQBAL, A.; VALOUS, N.; MENDOZA, F.; SUN, D.; ALLEN, P. Classification of pré-sliced pork and Turkey ham qualities based on image colour and textural features and their relationships with consumer responses. **Meat Science**, v.84, p.455-465, 2010.

JIMÉNEZ-COLMENERO, F. Technologies for developing low-fat meat products. **Trends in Food Science and Technology**, v.7, p.41-48, 1996.

JUDGE, M.; ABERLE, E.; FORREST, J. **Principles of meat science**. Iowa: Kendal Hunt Publication, 1989, 351p.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. *Histologia Básica*. São Paulo: Guanabara Koogan, Ed.11, 2008, 524p.

KAMDEM, A.T.; HARDY, J. Grinding as a method of meat texture evaluation. **Meat Science**. v.39, p.225-236, 1995.

KARIM, A.A.; BHAT, R. Gelatin alternatives for the food industry: recent developments, challenges and prospects. **Food Science e Technology**, v.19, p.644-656, 2008.

KATSARAS, K.; BUDRAS, K. The relationship of the microstructure of cooked ham to its properties and quality. **Lebensm Wiss Technology**, v.26, n.3, p.229-234, 1993.

LACERDA, C.; PLEPIS, A.M.G.; GOISSIS, G. Hidrólise seletiva de carboxiamidas de resíduos de asparagina e glutamina em colágeno: preparação e caracterização de matrizes aniônicas para uso como biomateriais. *Química Nova*, v.21, n.3, p.267-271, 1998.

LACHOWICZ, K.; SOBCZAK, M.; GAJOWIECKI, L.; ZYCH, A. Effects of massaging time on texture, rheological properties, and structure of three pork ham muscles. **Meat Science**, v.63, p.225-233, 2003.

LAWRIE, R.A. **Ciência da Carne**. Porto Alegre:Artmed, 2005, 384p.

LEE, M.H.; BAEK, M.H.; CHA, D.S.; PARK, H.J.; LIM, S.T. Freeze-thaw stabilization of sweet potato starch gel by polysaccharide gums. **Food Hydrocolloids**, v.16, p. 345-352, 2002.

LEITE, E.P.; BOMBONATO, P.P.; CARNEIRO E SILVA, F.O.; BENEDICTO, H.G.; SANTANA, M.I.S. Morfometria do tecido conjuntivo do coração de equinos PSI. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.41, p.162-168, 2004.

LEPETIT, J. A theoretical approach of the relationship between collagen content, collagen cross-links and meat tenderness. **Meat Science**, v. 76, p.147-159, 2007.

Li, C-T. Myofibrillar protein extracts from spent hen meat to improve whole muscle processed meat. **Meat Science**, v.72, p.581-583, 2006.

MAXIMO, G.J.; CUNHA, R.L. Mechanical properties of collagen fiber and powder gels. **Journal of Textures Studies**. 2010, Doi:10.1111/j.1745-4603.2010.00528.x.

MENDONZA, F.; VALOUS, N.A.; ALLEN, P.; KENNY, T.A.; WARD, P.; SUN, D. Analysis and classification of commercial ham slice images using directional fractal dimension features. **Meat Science**, v. 81, p.313-320, 2009.

MESSIA, M.C.; DI FALCO, T.; PANFILI, G.; MARCONI, E. Rapid determination of collagen in meat-based foods by microwave hydrolysis of proteins and HPAEC-PAD analysis of 4-hydroxyproline. **Meat Science**, v.80, p.401-409, 2008.

MICHELINI, R.P.; NADAI, A.C.; KAMEI, C.A.K.; SANTANA, J.; YAMADA, E.A, ANDRADE, J.C.; LEMOS, A.L.S.C. Elaboração de hambúrguer bovino com baixo teor de gordura adicionado de colágeno. IV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Carnes. 2007, **Anais...**, Campinas, p.378-380, 2007.

MITTAL, G.S.; USBORNE, W.R. Meat emulsion functionality related to fat-protein ratio and selected dairy and cereal products. **Meat Science**, v.18, p.1-21, 2006.

MONTEIRO, E.M.; TERRA, N.N. Processamento do Presunto "Cook-in" de Cordeiros. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.29, n.4, p.721-725, 1999.

MORI, E.M.; YOTSUYANAGI, K.; FERREIRA, V.L.F. Análise sensorial de goiabadas de marcas comerciais. Disponível em: <http://www.scielo.com.br> .Acesso em: 16/06/07.

MULLER, W.D. Tecnologia de los productos curados cocidos. **Fleischwirtsch**, v.1, p.66-70, 1990.

NAMPO, A.K.; SOARES, A.L.; MARCHI, D.F.; SHIMOKOMAKI, M. Avaliação do perfil de ácidos graxos em filés de frango. XV EAIC E VI EUEPG, 2006, Ponta Grossa. **Anais...** Ponta Grossa:UEPG, 2006. 1 CD ROM.

NARDACCI, R.; IACONO, O.L.; CICCOSANTI, F.; FALASCA, L.; ADDESSO, M.; AMENDOLA, A.; ANTONUCCI, G.; CRAXI, A.; FIMIA, G.M.; IADEVAIA, V.; MELINO, G.; RUCO, L.; TOCCI, G.I.; PIANCETINI, M. Transglutaminase type plays a protective role in hepatic injury. *American Journal of Pathology*, v.162, n.4, p.1293-1303, 2003.

NOVAPROM FOOD INGREDIENTS LTDA. **Informe Técnico**, Lins, 2006.

NOVELLO, D.; OST, P.R. NEUMANN, M.; PELLEGRINI, L.G. Avaliação bromatológica e perfil de ácidos graxos da carne de frango de corte alimentados com rações contendo farinha de carne e ossos. **Revista Ambiência**, v.4, n.3., p.355-366, 2008.

O'NEILL, D.J.; LYNCH, P.B.; TROY, D.J.; BUCKLEY, D.J.; KERRY, J.P. Effects of PSE on the quality of cooked hams. **Meat Science**, v.64, p.113-118, 2003.

OCKERMAN, H.W.; ORGANISCIAK, C.S. Diffusion of curing brine in tumbled and non-tumbled porcine muscle tissue. **J. Food Prot.**, v.41, p178-181, 1978.

OCKERMAN, H.W.; HANSEN, C.L. **Industrialización de subproductos de origen animal**. Zaragoza : Acribia, 133 – 160p., 1994.

OFFER, G.; KNIGHT. The structural basis of water-holding in meat: the swelling and shrinking of myofibrils. **Meat Science**, v.8, p.245-281, 1988.

OLIVO, R. **Uso do colágeno em emulsões cárneas**. 1995, 120f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.

OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. **Carnes: No Caminho da Pesquisa**. Cocal do Sul: Imprint, 2001, 155p.

OLIVO, Rubison. O mundo do frango. Criciúma: Ed. Rubison Olivo, 2006, 680p.

O'NEILL, D.J.; LYNCH, P.B.; TROY, D.J.; BUCKLEY, D.J.; KERRY, J.P. Effects of PSE on the quality of cooked hams. **Meat Science**, v.64, p.113-118, 2003.

ORDÓÑEZ, J. A. P. (coord.) **Tecnología de Alimentos**, Porto Alegre: Artmed, 2005, 279p.

PARDI, M.C.; SANTOS, I.F.; SOUZA, E.R.; PARDI, H.S. **Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne**. Goiânia: UFMG, 1996, v.2, 1109p.

PASQUINI, C. Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Practical Aspects and Analytical Applications. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.14, n.2, p.198-219, 2003.

PAULINO, R.; HAGUIWARA, M.M.H.; LEMOS, A.L.S.C.; NESTRI, M.; ANDRADE, J.C.; ARAÚJO, A.P. Estudo da viscosidade do amido modificado em diferentes concentrações e na presença de aditivos alimentares. XX CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. 2006, Curitiba. **Anais...** Curitiba, 2006, 1CD-ROM.
PEARSON, A.M.; TAUBER, F.W. Composition and Nutritive Value of Materials and Processed Meats. **AVI Publishing Company**, 1984, 367p.

PEARSON, A.M.; DUTSON, T.R. **Advances in meat research**. Blackie Academic & Professional: London and New York, 1997, 367p.

PEARSON, A.M.; GILLET, T.A. **Processed Meats**, Aspen: Maryland, 364p, 1999.

PEDROSO, R.A.; DEMIATE, I.M. Avaliação da influência de amido e carragena nas características físico-químicas e sensoriais de presunto cozido de peru. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 24-31, 2008.

PEDROSO, R.A. **Avaliação da influência de amido e carragena nas características físico-químicas e sensoriais de presunto cozido de peru**. 2006, 74f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2006.

PEDROSO, M.G.V. **Estudo comparativo de colágeno hidrolisado e comercial com adição de PVA**. 2009. 71f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009.

PIETRASIK, Z. Effect of content of protein, fat and modified starch on binding textural characteristics, and colour of comminuted salded sausages. **Meat Science**, v.51, p.17-25, 1999.

PIETRASIK, Z.; JARMOLUK, A.; SHAND, P.J. Effect of non-meat proteins on hydration and textural properties of pork meat gels enhanced with microbial transglutaminase. **LWT – Food Science and Technology**, p.34-38, 2006.

PIETRASIK, Z.; SHAND, P.J. The effect of quantity and timing of brine addition on water binding and textural characteristics of cooked beef rolls. **Meat Science**, v.65, p.771-778, 2003.

POPPE, J. Gelatin: In Thickening and gelling agents for food. London: Blackie Academic and Professional.

PAZ DE PEÑA, M.; CID, C.M.; BELLO, J. A method for identification of frozen meat used for production of cooked ham. **Meat Science**. V.48, P.257-264, 1998.

PRABHU, G.A.; DOERSCHER, D.R. HULL, D.H. Utilization of pork collagen protein in emulsified and whole muscle meat products. **Journal of Food Science**, v.69, p.388-392, 2004.

PRABHU, G.; DOERSCHER, D. Utilizing pork collagen protein in emulsified and whole muscle meat products. In: 49th INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY – 2nd BRAZILIAN CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 2003. **Proceedings...** Campinas:CTC-ITAL, 2003. p.413-414.

PRESTES, R.C. **Avaliação da adição de colágeno hidrolisado, amido modificado e goma guar em presunto cozido de peru**. 2008, 133f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2008.

RAMOS, E.M.; GOMIDE, L.A.M. **Avaliação da qualidade de carnes: fundamentos e metodologias**, Viçosa: Ed. UFV, 2007, 599p.

Resolución 395/03 del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA). www.senasa.gov.ar/dinamicas/prensa; consultada em 21/07/11.

RESURRECCION, A.V.A. Sensory aspects of consumer choices for meat and meat products. **Meat Science**, v. 66, p.11-20, 2003.

SALLE, C.T.P. et al. A cadeia produtiva da avicultura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Brasília, CNPQ, p.224-237, 1998.

SANTANA, R.C.; SATO, A.C.K.; CUNHA, R.S. Emulsions stabilized by heat-treated collagen fibers. **Food Hydrocolloids**, v.26, p.73-81, 2012.

SAMS, Alan R. **Poultry Meat Processing**. CRC Press, 2001, 333p.

SANTOS, M.H.; HENEINE, L.G.D.; MANSUR, H.S. Processamento de baixo custo para compósitos fosfatos de cálcio/colágeno. In: 17^o Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, 2006. **Proceedings...** Foz do Iguaçu, 2006.

SCHEID, D. Manufacture of cook-in ham. **Fleischwirtsch**, v.2, p31-34, 1986.

SCHILLING, M.W.; MINK, L.E.; GOCHENOUR, P.S.; MARRIOTT, N.G.; ALVARADO, C.Z. Utilization of pork collagen for functionality improvement of boneless cured ham manufactured from pale, soft, and exudative pork. **Meat Science**, v.65, p.547-553, 2003.

SCHILLING, M.W.; MARRIOTT, N.G.; ACTON, J.C.; ANDERSON-COOK, C., ALVARADO, C.Z., WANG, H. Utilization of response surface modeling to evaluate the effects of non-meat adjuncts and combinations of PSE and RFN pork on water holding capacity and cooked color in the production of boneless cured pork. **Meat Science**, v.66, p.371-381, 2004.

SCHRIEBER, R.; GAREIS, H. **Gelatine Handbook: Theory and Industry Practice**. Hardcover, 371p. 2007.

SEGTANAN, V.; ISAKSSON, T. Temperature, sample and time dependent structural characteristics of gelatine gels studied by near infrared spectroscopy. **Food Hydrocolloids**, v.18, p.1-11, 2004.

SHIMOKOMAKI, M.; OLIVO, R.; TERRA, N.N.; FRANCO, B.D.G.M. **Atualidades em Ciência e Tecnologia de Carnes**, São Paulo: Varela, 2006, 236p.

SILVESTREIN, R.M.; ALENCASTRO, R.B. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 429p., 2007.

SMITH, D.M. Meat proteins: functional properties in comminuted meat products. **Food Technology**, v.41, p.166-171, 1988.

SOMBOONPANYANKUL, P.; BARBUT, S.; JANTAWAT, P.; CHINPRAHAST, N. Textural and sensory quality of poultry meat batter containing malva nut gum, salt and phosphate. **LWT – Food Science and Technology**, p.43-47, 2005.

TACO. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. Campinas: NEPA-UNICAMP, Versão II, 2 Ed., 2006, 113p.

TEIXIDOR, M.X. **Metalquímia**, v.22, 2006, 120p.

TONHI, E.; PLEPIS, A.M.D. Obtenção e caracterização de blendas de colágeno-quitosana. **Química Nova**, v.25, n.6, p.943-948, 2002.

TORLEY, P.J.; D'ARCY, B.R.; TROUT, G.R. The effect of ionic strength, polyphosphates type, pH, cooking temperature and preblending on the functional properties of normal and pale, soft, exudative (PSE) pork. **Meat Science**, v.55, p.451-462, 2000.

TORNBERG, E. Effects of heat on meat proteins – Implications on Structure and Quality of meat products. **Meat Science**, v.70, p.493-508, 2005.

TSAI, S.; UNKLESBAY, N.; UNKLESBAY, K.; CLARKE, A. Water and absorptive properties of restructured beef with five binders of four isothermal temperatures. **LWT – Food Science Technology**, v. 31, p.78-83, 1998.

UBABEF- União Brasileira de Avicultura. **Relatório anual Ubabef 2010/2011**. Disponível<<http://www.abef.com.br/ubabef/exibenoticiaubabef.php?notcodigo=2761>> Acesso em: 21 jul. 2011.

USDA (Departament of Agriculture, Agricultural Research Service). **Composition of Foods Raw, Processed, Prepared**. USDA, Release 18, 2005, disponível: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/>.

VÁLKOVÁ,V.; SALÁKOVÁ, A.; BUCHTOVÁ, H.; TREMLOVÁ, B. Chemical, instrumental and sensory characteristics of cooked pork ham. **Meat Science**, v.77, p.608-615, 2007.

VLIERBERGHE, S.V.; SCHACHT, E.; DUBRUEL, P. Reversible gelatin-based hydrogels: Finetuning of material properties. **European Polymer Journal**, 2012, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2011.02.015.

XIONG, Y.L. Myofibrillar protein from different muscle fiber types: Implications of biochemical and functional properties in meat processing. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 34, p.293-319, 1994.

ZIEGLER, G.R.; FOEGEDING, E.A. The gelation of proteins. **Advances in Food Nutrition Research**, v.34, p.203-298, 1990.

ZIEGLER, F.L.F. **Desenvolvimento de um produto dietético funcional pra idosos**. 2006, 269F. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Estadual de Campinas – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2006.

YANG, A.; KEETON, J.T.; BEILKEN, S.L.; TROUT, R.G. Evaluation of some binders and fat substitutes in low-fat frankfurters. **Journal of Food Science**, v.66, n.7, p.1039-1046, 2001.

YANG, Y.L.; ZHOU, G.H.; XU, X.L.; WANG, Y. Rheological properties of myosin-gelatin mixtures. **Journal of Food Science**, v.72, p.270-275, 2007.

ZORBA, O.; KURT, S. Optimization of emulsion characteristics of beef, chicken and turkey meat mixtures in model system using mixture design. **Meat Science**, v.73, p.611-618, 2006.

YOUSSEF, M.K.; BARBUT, S. Effects of two types of soy protein isolates, native and preheated whey protein isolates on emulsified meat batters prepared at different protein levels. **Meat Science**, v.87, p.54-80, 2011.

WANG, S.H.; ROCHA, G. O.; NASCIMENTO, T.; ASCHERI, J.L.R. Absorção de água e propriedades espumantes de farinhas extrusadas de trigo e soja. **Ciência e Tecnologia em Alimentos**, v. 26, n.2, p.475-481, 2006.

Science, v.72, p.697-703, 2006.

WASZKOWIAK, K.; DOLATA, W.; The application of collagen preparations as carriers of Rosemary extract in the production of processed meat. **Meat Science**, v.75, p.178-183, 2007.

WEISS, J.; GIBIS, M.; SCHUH, V.; SALMINEN, H. Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products. **Meat Science**, v.86, p.196-213, 2010.

WESTPHALEN, A.D.; BRIGGS, J.L.; LONERGAN, S.M. Influence of muscle type on rheological properties of porcine myofibrillar protein during heat induced gelation. **Meat**
WIRTH, F. **Tecnología de los embutidos escaldados**. Zaragoza: Acribia, 1992, 237p.

WONG, D.W.S. **Química de los alimentos: mecanismos y teoría**. Zaragoza : Zaragoza, 1995. 109-116p.

8 APÊNDICE**ANÁLISE SENSORIAL DE PRESUNTO DE FRANGO**

NOME:.....DATA:...../...../.....

SEXO: F M

IDADE:.....

Conforme escala abaixo, avalie as 3 amostras e atribua nota para as mesmas, segundo sua preferência em relação ao produto.

1 = Desgostei muitíssimo

2 = Desgostei muito

3 = Desgostei regularmente

4 = Desgostei ligeiramente

5 = Indiferente

6 = Gostei ligeiramente

7 = Gostei regularmente

8 = Gostei muito

9 = Gostei muitíssimo

Amostra:

Comentário:.....

Amostra:

Comentário:.....

Amostra:

Comentário:.....

ANÁLISE SENSORIAL DE PRESUNTO DE FRANGO

NOME:.....DATA:...../...../.....

SEXO: F M IDADE:.....

Você irá receber uma amostra padrão marcada com “P” e 3 amostras codificadas. Compare cada amostra com o padrão e identifique se ela é melhor, igual ou pior que o padrão em relação à TEXTURA.

Em seguida, assinale o grau de diferença de acordo com a escala:

| | | | | |
|---------------------|--|--|--|--|
| PARÂMETROS | | | | |
| Melhor que o padrão | | | | |
| Igual ao padrão | | | | |
| Pior que o padrão | | | | |
| GRAU DE DIFERENÇA | | | | |
| Nenhum | | | | |
| Ligeiro | | | | |
| Regular | | | | |
| Muito | | | | |
| Extremo | | | | |

Comentários:.....

.....

.....

.....