



**UNIVERSIDADE REGIONAL INTEGRADA DO ALTO URUGUAI E MISSÕES URI
ERECHIM**

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

CHRISTIAN ALEXANDRETTI

**CARACTERIZAÇÃO DE FIBRA DE COLÁGENO E COLÁGENO PÓ E
APLICAÇÃO EM FORMULAÇÃO DE HAMBÚRGUERES MISTOS EM ESCALA
INDUSTRIAL**

ERECHIM, RS - BRASIL

JUNHO DE 2016

**UNIVERSIDADE REGIONAL INTEGRADA DO ALTO URUGUAI E MISSÕES URI
ERECHIM**

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**CARACTERIZAÇÃO DE FIBRA DE COLÁGENO E COLÁGENO PÓ E
APLICAÇÃO EM FORMULAÇÃO DE HAMBÚRGUERES MISTOS EM ESCALA
INDUSTRIAL**

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós - Graduação em Engenharia de Alimentos da URI Erechim –RS como requisito parcial à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração: Engenharia de Alimentos, da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim.

Orientadoras: Prof Dr^a Eunice Valduga
Prof Dr^a Mônica B. Alvarado Soares

Co-Orientador: Rodrigo Schwert

ERECHIM, RS – BRASIL

JUNHO DE 2016

**CARACTERIZAÇÃO DE FIBRA DE COLÁGENO E COLÁGENO PÓ E
APLICAÇÃO EM FORMULAÇÃO DE HAMBÚRGUERES MISTOS EM ESCALA
INDUSTRIAL**

Christian Alexandretti

Dissertação de mestrado submetida à Comissão Julgadora do Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração: Engenharia de Alimentos.

Comissão Julgadora:

Prof^a Eunice Valduga, D. Sc.
(Orientadora)

Prof^a Mônica B. Alvarado Soares, D. Sc.
(Orientadora)

Rodrigo Schwert D. Sc.
(Co-orientador, Aurora Alimentos)

Jean Carlos Brustolin, D. Sc.
(Aurora Alimentos)

Prof^a. Geciane Toniazzo Backes, D. Sc.
(URI Erechim)

Erechim, 29 de Junho de 2016

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a Deus por me proporcionar a oportunidade de estar sempre evoluindo profissionalmente e pessoalmente.

A empresa COOPERCENTRAL AURORA ALIMENTOS na pessoa do Sr. Rodrigo Schwert e Sr. Caciano Antonio Capello por colaborar e principalmente incentivar a minha formação profissional e acadêmica. Também a minha amiga Lisiane Barbosa pelo planejamento deste trabalho e aplicação em escala industrial.

As professoras Eunice Valduga e Monica B. Alvarado Soares, as quais me ajudaram muito no decorrer desta dissertação e tenho grande admiração pessoal e profissional.

Agradecer a todos que viabilizaram a realização desta dissertação, em especial a Marcia Santin Trentin pela realização das análises de eletroforese, Alexandra Manzoli e Embrapa Instrumental São Carlos – SP pela realização das análises MEV, Raio – x – EDX e Prof^a Silvane Roman pelas análises histológicas, bem como os professores da URI Erechim pelo aprendizado e apoio.

Agradecer aos amigos Sidiane Itchenco e Gustavo Oliveira pelo grande apoio na realização deste estudo.

Aos membros da banca pelas correções, sugestões e avaliações deste trabalho.

Aos meus pais Waldir e Ivete e meu irmão Julhano pelo apoio e incentivo de sempre.

Por fim, agradecer a minha namorada Paula Eckert pelo apoio, ajuda e carinho que sempre teve comigo, mesmo nos momentos ausentes.

Resumo da Dissertação apresentada ao Programa de Pós – Graduação em Engenharia de Alimentos como parte dos requisitos necessários para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos.

APLICAÇÃO DE FIBRA DE COLÁGENO E COLÁGENO PÓ EM HAMBÚRGUERES MISTOS

Christian Alexandretti

Junho/2016

Orientadoras: Prof^a Dr^a Eunice Valduga; Prof^a Dr^a Mônica B. Alvarado Soares.

Co-orientador: Dr. Rodrigo Schwert

Com a crescente industrialização de produtos cárneos, o hambúrguer é uma alternativa para o aproveitamento de carnes menos nobres. O presente estudo teve por objetivo caracterizar os colágenos bovino em pó e fibra e elaborar formulações de hambúrgueres mistos (carne de frango e suína) a base de colágeno bovino em pó e/ou em fibra e proteína floculada de soja, avaliando a estabilidade ao armazenamento. Os colágenos utilizados no estudo foram caracterizados quanto ao teor de hidroxiprolina, proteína, força de gel, eletroforese, estrutura física (MEV e difração de raio X) e microelementos (raio X – EDX). Foram elaboradas 5 formulações de hambúrgueres: Padrão – Formulação padrão com 4,0 % de proteína floculada de soja; Teste 1 – 3,25 % de proteína floculada de soja e 0,75 % de colágeno fibra; Teste 2 – 2,50 % de proteína floculada de soja e 1,50 % de colágeno fibra; Teste 3 – 3,25 % de proteína floculada de soja e 0,75 % de colágeno pó; Teste 4 – 2,50 % de proteína floculada de soja e 1,50 % de colágeno pó. Os hambúrgueres foram caracterizados em termos de proteína, umidade, gordura e hidroxiprolina, estrutura tecidual (histologia) e análise sensorial no 1º dia de armazenamento. Na avaliação da estabilidade da formulações avaliou-se a oxidação lipídica (TBARs), dureza (textura instrumental) e a perda de peso por cocção (forno e chapa) no 1º, 30º, 60º e 90º dia de armazenamento. A fibra de colágeno apresentou maior teor de proteína (97,81%), separando por eletroforese uma banda com massa molar de 100 kDa, e também com maior força gel (1491,86 g.cm/s) e uma estrutura fibrilar. O colágeno pó obteve maior teor de hidroxiprolina, bandas de massa molar de 50 e 100 kDa e estrutura com micropartículas em formato esférico. O colágeno em forma de pó é mais amorfo do que o colágeno em fibra. Em imagens de raio X – EDX, ambos os colágenos são compostos pelos elementos como o carbono, nitrogênio, oxigênio, cálcio, alumínio, magnésio, sódio e potássio. Para os hambúrgueres foi verificado que todas as formulações apresentaram um acréscimo de hidroxiprolina com a adição de colágeno fibra ou pó, sendo o maior valor (0,77%) obtido na formulação T4 com adição de 1,5% de colágeno pó e 2,5% de farinha de soja floculada. O teor de proteína e umidade também apresentaram um aumento nas formulações T2 e T4 adicionadas de 1,5 % de colágeno em fibra e em pó, respectivamente. A análise sensorial mostrou que existe diferença significativa ($p < 0,05$) entre as formulações, sendo que a formulação T3 com 0,75% de colágeno

em pó apresentou uma maior aceitação se sobressaindo das demais formulações nos atributos de cor, aparência e textura. Durante o armazenamento a formulação padrão foi que apresentou o maior valor de TBAR 1,60 mg de MAD/kg e também a única que apresentou aumento gradativo da dureza ao longo do tempo. Para a perda de peso os resultados demonstraram que os métodos de cocção aplicados apresentaram resultados distintos ao longo do armazenamento. Aos 90 dias as menores perdas de peso foram obtidas para formulação T4 de 29,33% (forno) e formulação T3 de 28,60% (chapa). Os resultados obtidos neste estudo trazem informações relevantes e contribuem com o meio científico e também com o meio industrial.

Palavras-chave: Perda de peso, Hidroxiprolina, Proteína de soja.

Abstract of Dissertation presented to Food Engineering Program as a partial fulfillment of the requirements for the Degree of Master in Food Engineering.

COLLAGEN FIBER APPLICATION AND COLLAGEN POWDER IN MIXED BURGERS

Christian Alexandretti
June/2016

Advisors: Prof Dr^a Eunice Valduga
Prof Dr^a Mônica B. Alvarado Soares
Rodrigo Schwert

With the increasing industrialization of meat products, the burger is an alternative to the utilization of less noble meat. This study aimed to characterize the bovine collagen powder and fiber and prepare burgers mixed formulations (chicken and pork meat) based by Bovine collagen powder and / or fiber and soy protein flakes evaluating the storage stability. The collagens used in the study were characterized as the hydroxyproline content, protein gel strength, electrophoresis, physical structure (SEM and X-ray diffraction) and microelements (X-ray - EDX). Five burgers formulations were prepared: Standard - Standard Formulation with 4.0% soy protein flakes; Test 1 - 3.25% of flaked soy protein and 0.75% of collagen fiber; Test 2 - 2.50% of flocculated soy protein and 1.50% of fiber collagen; Test 3 - 3.25% flocculated soy protein and 0.75% collagen powder; Test 4 - 2.50% of flocculated soy protein and 1.50% collagen powder. The burgers were characterized in terms of protein, moisture, fat and hydroxyproline, tissue structure (histology) and sensory analysis in the first storage day. In evaluating the stability of the formulations, evaluated the lipid oxidation (TBARS), hardness (texture instrument) and by cooking weight loss (oven and plate) on the 1st, 30th, 60th and 90th storage day. The collagen fiber had a higher protein content (97.81%), separating by electrophoresis a band with molecular mass of 100 kDa and also with higher gel strength (1491,86 g.cm/s) and a fibrillar structure. The collagen powder obtained greater hydroxyproline content, molecular weight bands of 50 and 100 kDa and structure microparticles in spherical shape. The collagen in powder form is more amorphous than the collagen fiber. In X-ray imaging - EDX, both collagens are composed of elements such as carbon, nitrogen, oxygen, calcium, aluminum, magnesium, sodium and potassium. For the hamburgers it was found that all formulations showed an increase of hydroxyproline with the addition of collagen fiber or powder, being the highest value (0.77%) obtained in T4 formulation with addition of 1.5% collagen powder and 2, 5% flocculated soy flour. Protein content and moisture also showed an increase in T2

and T4 formulations added 1.5% of collagen fiber and powder, respectively. Sensory analysis showed a significant difference ($p < 0.05$) between the formulations, and the T3 formulation with 0.75% powder collagen showed a greater acceptance jutting from other formulations in color attributes, appearance and texture. During storage the standard formulation was that presented the highest value of 1.60 mg TBAR MAD / kg and also the only one that showed a gradual increase hardness over time. For the weight loss results show that cooking methods applied showed different results during storage. At 90 days, the smaller weight losses were obtained for formulation T4 29.33% (oven) and T3 formulation of 28.60% (plate). The results of this study provide relevant information and contribute to the scientific community and with the industrial environment.

Keywords: Weight loss, Hydroxiprolin Collagen, Soy Protein.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 CARNE SUÍNA	3
2.2 CARNE DE FRANGO.....	4
2.3 PROCESSAMENTO E CARACTERÍSTICAS DO HAMBURGUER	5
2.4 TRATAMENTOS TÉRMICOS APLICADOS À PRODUTOS CÁRNEOS.....	8
2.5 COLÁGENO.....	11
2.5.1 Estrutura e composição	11
2.5.2 Fibra de colágeno e fibra de colágeno em pó.....	14
2.6 ESTUDO DA ARTE: CONSIDERAÇÕES FINAIS	19
3 MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1 CARACTERIZAÇÃO DOS COLÁGENOS	21
3.1.1 Teor de Hidroxiprolina.....	21
3.1.2 Proteína total	21
3.1.3 Força gel	22
3.1.4 Eletroforese em gel de policrilamida.....	22
3.1.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	23
3.1.6 Microanálise por energia dispersiva de raio X (EDX)	23
3.1.7 Difração de raios X (DRX)	23
3.2 ELABORAÇÃO DAS FORMULAÇÕES DE HAMBÚRGUERES.....	23
3.3 DETERMINAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS	25
3.3.1 Proteína	25
3.3.2 Gordura	26
3.3.3 Umidade	26
3.3.4 Hidroxiprolina.....	26
3.3.5 Oxidação de lipídios - Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)	26
3.4 DUREZA: TEXTURA INSTRUMENTAL.....	27
3.5 DETERMINAÇÃO DE PERDA DE PESO DURANTE OS PROCESSOS DE COCÇÃO.....	27
3.6 CARACTERIZAÇÃO HISTOLÓGICA	28
3.7 AVALIAÇÃO SENSORIAL.....	28
3.8 TRATAMENTO ESTATÍSTICO.....	29

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS COLÁGENOS	30
4.1.1 Proteína, hidroxiprolina e força de gel.....	30
4.1.2 Eletroforese SDS-PAGE.....	31
4.1.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	32
4.1.4 Microanálise por Energia dispersiva de raios-X (EDX)	34
4.1.5 Difração de Raios X (DRX)	38
4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS FORMULAÇÕES DE HAMBÚRGUERES	39
4.2.1 Características físico-químicas.....	39
4.2.2 Análise sensorial.....	43
4.2.3 Análise multivariada: características físico-químicas e sensoriais.....	45
4.2.4 Caracterização histológica	47
4.3 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES DE HAMBÚRGUERES	50
4.3.1 Análise sensorial.....	50
4.3.2 Textura instrumental – Dureza (Hardness)	51
4.3.3 Perda de peso	52
5 CONCLUSÕES.....	56
6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	58
7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma de produção de hambúrgueres.	7
Figura 2 - Estrutura molecular do colágeno.	12
Figura 3 - Microscopia eletrônica de varredura da fibra de colágeno (a) e fibra de colágeno em pó (b).....	15
Figura 4 - Fluxograma de preparação dos hambúrgueres.....	24
Figura 5 - Imagem dos géis de eletroforese SDS-PAGE para as diferentes frações de colágenos..	32
Figura 6 - Imagens micrográficas do colágeno (A1 e A2) em fibra e (B1 e B2) em pó. 1 e 2 referem-se a magnificação, 1 = aumento de 100X e 2= aumento de 1.500x.....	33
Figura 7 - Micrografias obtidas por microscopia de energia dispersiva (EDX) para o colágeno em pó (A) e para o colágeno em fibra (B), respectivamente.	35
Figura 8 - Padrões de DRX dos colágenos (—) em pó e (—) em fibra.	39
Figura 9 - Perfil de Características das formulações de hambúrgueres.....	44
Figura 10 - Análise dos Componentes Principais (ACP) das formulações de hambúrgueres no 1º dia de armazenamento.....	47
Figura 11 - Fotomicrografias das formulações de hambúrgueres com um detalhe a direita. Amostra padrão (A, B); Formulação 1 (C, D); Formulação 2 (E, F); Formulação 3 (G, H); Formulação T4 (I, J).	49
Figura 12 – Perda de peso (%) da cocção em chapa e forno convencional das formulações no 1º dia (a), 30º dia (b), 60º dia (c) e 90º dia (d) de armazenamento, respectivamente.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Composição de alguns constituintes na carne de frango por 100 g de carne sem pele.....	5
Tabela 2- Caracterização em termos de hidroxiprolina proteína e força gel das amostras de colágeno.....	30
Tabela 3 – Teor de proteína, lipídeos, umidade, hidroxiprolina para as formulações de hambúrgueres no 1º dia de armazenamento.	40
Tabela 4 - Valores da dureza, perda de peso na chapa e forno das formulações de hambúrgueres no 1º dia de armazenamento.	42
Tabela 5 - Perfil de características sensoriais das formulações de hambúrgueres no 1º dia de armazenamento.	43
Tabela 6 - Matriz de correlação de Pearson para as variáveis proteína, gordura, umidade, hidroxiprolina, dureza, perda de peso no forno e na chapa, aparência, cor, odor, sabor e textura para as formulações de hambúrgueres no 1º dia de armazenamento.	45
Tabela 7 - Evolução da oxidação lipídica - TBARS (mg malonaldeído- MA/kg-1) ao longo de 90 dias de armazenamento – 9 °C.....	50
Tabela 8 - Evolução de Dureza (gf) ao longo de 90 dias de armazenamento.....	51
Tabela 9 - Perda de peso (%) por forno convencional avaliado após diferentes períodos de armazenamento a -9 °C.	53
Tabela 10 - Perda de peso (%) por chapa avaliado após diferentes períodos de armazenamento a -9 °C.....	53

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES DE MEDIDA

ABPA	Associação Brasileira de proteína Animal
Da	Daltons
DRX	Difração de raios X
EDX	Microanálise por energia dispersiva de raios-X
Gly	Glicina
KDa	Quilo Daltons
Kg	Quilograma
MAD	Malonaldeído
MEV	microscopia eletrônica de varredura
mm	Milímetros
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
CMS	Carne mecanicamente separada

1 INTRODUÇÃO

Os produtos semi-prontos para o consumo, entre estes, os produtos cárneos, se apresentam como excelente alternativa para o mercado. Para o consumidor, é uma boa opção diante da necessidade crescente de minimizar o tempo de preparo dos alimentos, principalmente para as pessoas dos grandes centros urbanos. Desta forma, o hambúrguer apresenta-se como uma grande alternativa por possuir características sensoriais, valor nutritivo, baixo preço e praticidade durante o seu preparo (TAVARES e SERAFINI, 2006; QUEIROZ, 2005).

O hambúrguer é produzido em larga escala no Brasil, chegando a 1300 toneladas em 2014 e crescendo cerca de 10 % ao ano, sendo que uma única rede de “fast food” vende anualmente mais de 100 bilhões de hambúrgueres no mundo todo. Seu processo consiste em seguidas cominuições das matérias primas, seguida de mistura de ingredientes e moldagem. Dentre as matérias primas, carne bovina, suína e frango são as mais utilizadas para sua fabricação.

Contudo, durante o preparo, os hambúrgueres podem apresentar alguns problemas como o encolhimento, perda de peso e baixo rendimento, que podem ocorrer durante seu preparo ou cocção (chapa, fornos e micro-ondas). Além disso, poderão apresentar alterações sensoriais como rancidez oxidativa, que normalmente ocorre durante sua vida de prateleira, já que este produto, congelado, pode ser armazenado até 120 dias.

Para minimizar as alterações a indústria utiliza ingredientes alternativos, como proteínas não cárnicas (soja na forma isolada, concentrada, texturizada e floculada), na concentração máxima de 4 % (BRASIL, 2000). As fibras de colágeno e/ou colágeno em pó também são alternativas para se utilizar em hambúrgueres, já que além de aumentar o seu valor nutricional, podem resolver problemas de deformações e perda de peso durante o tratamento térmico, além de aumentar a retenção de água e melhorar a textura do produto (PRESTES, 2013). Além disso, possuem vantagens de redução de custos, capacidade de retenção de água e aumenta o valor proteico, sendo permitido utilizar até 1,5 % em produtos cárneos (BRASIL, 2011).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi caracterizar os colágenos em pó e em fibra, elaborar formulações de hambúrgueres mistos (carne de frango e suína) a base de colágeno bovino em pó e/ou em fibra e proteína floculada de soja, bem

como e avaliar a estabilidade ao armazenamento a -8 °C. Para tanto, algumas metas ou objetivos específicos foram traçados:

- ✓ Caracterizar os colágenos em pó e em fibra em termos de proteína, hidroxiprolina, frações proteicas (eletroforese), força do gel, análise elementar (espectroscopia por fluorescência de raio X – EDX) e estrutura física (Difração de Raios X – DRX e microscopia eletrônica de varredura – MEV)
- ✓ Elaborar formulações de hambúrgueres utilizando colágeno bovino em pó e/ou fibra e proteína floculada de soja.
- ✓ Avaliar as características físico-químicas (Proteína, umidade, gordura, hidroxiprolina, perda de peso e textura: Dureza) de cada tratamento;
- ✓ Avaliar a estrutura tecidual (análise histológica) das formulações e Hambúrgueres;
- ✓ Avaliar características sensoriais (sabor, aparência, odor, cor e textura) das formulações e Hambúrgueres;
- ✓ Acompanhar a estabilidade do produto armazenado a -8°C, mediante determinações de oxidação lipídica (Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico – TBARs) e perdas de peso com o tratamento térmico (forno e chapa).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste item é apresentada uma breve revisão da literatura sobre produção de carne suína e de frango; características e produção de hambúrgueres, processos de cocção aplicados em produtos cárneos bem como definições de colágeno e suas aplicações na indústria cárnea.

2.1 CARNE SUÍNA

A carne suína é a fonte de proteína animal mais importante no mundo, representando quase metade do consumo e da produção de carnes (MIELE e WAQUIL, 2007). O Brasil é o quarto maior produtor de carne suína do mundo, chegando a produzir em 2014, o volume de 3.344 mil toneladas da carne, atrás apenas da China, União Européia e Estados Unidos. A produção da carne esta concentrada na região sul do país onde estão os três maiores produtores, Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Paraná, respectivamente (ABPA, 2015).

Em 2014 o Brasil exportou cerca de 505 mil toneladas de carne suína, sendo os estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul responsáveis por 37,01 e 30 % (ABPA, 2015).

Ao contrário do perfil mundial a ingestão *per capita* de carne suína no Brasil, mesmo tendo crescido significativamente nos últimos dez anos, ainda se mantém bastante inferior à média mundial e também à das carnes bovina e de frango. A carne suína se encontra no terceiro lugar da preferência geral dos consumidores brasileiros, precedida pela bovina e de frango (RAIMUNDO e BATALHA, 2015).

A carne suína é classificada como carne vermelha e possui composição muito semelhante as demais e ao contrário do que muitos pensam, é um alimento rico em nutrientes, apresentando diversos benefícios indiscutíveis à saúde humana. A mesma apresenta composição geral com cerca de 20 % de proteína, 7 % de gorduras, 1 % de minerais (Fe, Mg, K e Se), menos de 1 % de carboidratos (SARCINELLI, VENTURINI e SILVA, 2007), ácidos graxos tais como ácido palmítico, esteárico, oleico, linoleico, linolênico e aracdônico (LUDKE e LÓPEZ, 1999) e vitaminas do complexo B. O teor de gordura e valor calórico depende da localização da carne no animal, média de 14,8 g e 213 Kcal por 100 g de carne crua

respectivamente. Possui sabor e maciez característicos e sua qualidade é consequência de fatores ambientais e genéticos. Textura, cor, sabor, suculência e aroma são características da carne suína e influenciadas pelo processo bioquímico que acontece durante a conversão do músculo em carne (SARCINELLI, VENTURINI e SILVA, 2007).

2.2 CARNE DE FRANGO

O Brasil é o terceiro maior produtor de carne de frango do mundo, chegando a produzir em 2014, o volume de 12.691 mil toneladas da carne ficando atrás apenas dos Estados Unidos e da China. É ainda o principal exportador de carne de frango do mundo, exportando em 2014 um total 4,099 mil toneladas (ABPA, 2015).

A carne de frango é a proteína animal mais consumida pela população brasileira, com o consumo *per capita* de 42,78 quilos ao ano, sendo que o mercado interno brasileiro absorve em torno de 70 % da produção total. Os maiores produtores de carne de frango estão concentrados na região sul do país onde estão os três maiores produtores: Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul respectivamente (ABPA, 2015).

A carne de frango é classificada como alimento saudável, pobre em gorduras (4,82 g por 100 g de carne), desde que seja consumido sem pele (VENTURINI et al., 2007).. A mesma constitui uma fonte importante de proteínas de boa qualidade e ricas em aminoácidos tais como triptofano, treonina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, cisteína, fenilalanina, tirosina, valina, arginina, aspartamo, glutamato, glicina, prolina e serina (UFSP, 2015). As proteínas, lipídios, vitaminas e minerais encontrados na composição da carne variam de acordo com a raça, idade e condições higiênicas do animal (VENTURINI, SARCINELLI e SILVA, 2007). A Tabela 1 mostra a composição média desses constituintes.

Tabela 1- Composição de alguns constituintes na carne de frango por 100 g de carne sem pele.

Nutrientes	Quantidade em 100g
Proteína	22,2 g
Lipídios	1,63 g
Vitaminas	0,011 g
Minerais	0,56 g

Fonte: UFSP, 2016 (adaptado).

Ainda de acordo com Venturini, Sarcinelli e Silva (2007) a carne de frango é uma fonte não negligenciável em ferro (0,89 mg por 100 g de carne) visto que se trata de ferro hemínico que é a forma do ferro mais bem assimilada pelo organismo além de fonte importante de vitaminas do grupo B, principalmente, B2 e B12. Estas vitaminas são indispensáveis, visto que ajudam na síntese de energia a partir dos nutrientes ingeridos.

2.3 PROCESSAMENTO E CARACTERÍSTICAS DO HAMBURGUER

De acordo com Nascimento, Oliveira e Nascimento (2005), o hambúrguer teve sua origem na Alemanha, na cidade de Hamburgo, apresentando comercialização nos Estados Unidos, a partir da década de 20. No Brasil a comercialização teve início nos anos 50 e ficou conhecido depois que uma rede de *fast-food* começou a produzi-lo em larga escala.

Para Queiroz et al. (2005) além de suas características sensoriais apreciáveis, o hambúrguer apresenta ainda elevado teor de lipídios (23 %), proteína de alto valor biológico (15 %), vitaminas e minerais em sua composição. De acordo com Borba et al. (2013) em um estudo realizado pela Comissão do *Codex Alimentarius*, estima-se que em 2020 o hambúrguer será uma das preparações mais difundidas no mundo.

Conforme a legislação brasileira específica (BRASIL, 2000) define-se por hambúrguer o produto cárneo industrializado, obtido de carne moída dos animais de açougue, adicionado ou não de tecido adiposo e ingredientes, moldado e submetido a processo tecnológico adequado. Tem como ingrediente obrigatório carne e como

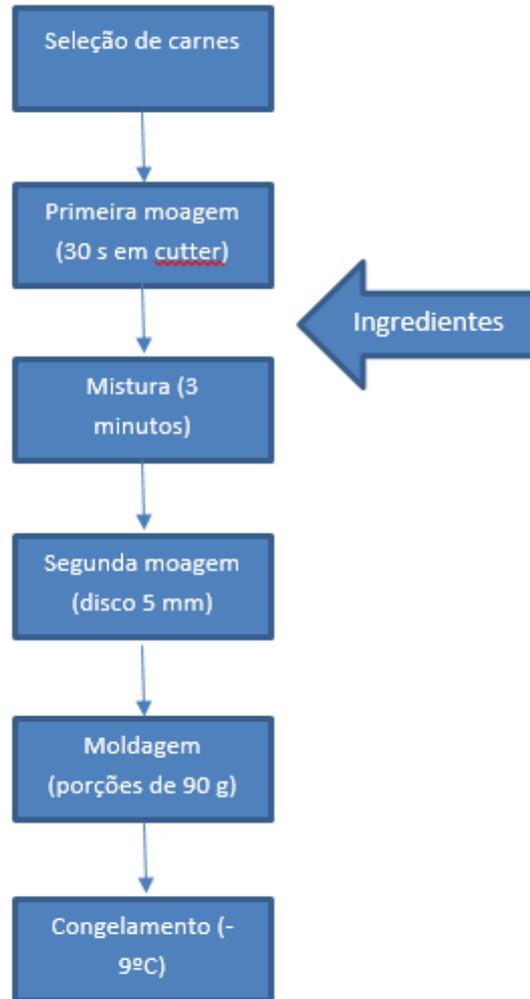
ingredientes opcionais gordura animal ou vegetal, água, sal, proteínas de origem animal e/ou vegetal, leite em pó, açúcares, maltodextrina, aditivos intencionais, condimentos, aromas e especiarias, vegetais, queijos e outros recheios. O limite máximo de adição de carne mecanicamente separada é 30 %, exclusivamente em hambúrguer cozido, e de no máximo 4 % de proteína não cárnica na forma agregada.

Os hambúrgueres podem ser fabricados com carne moída de bovino, de frango, de suíno ou de peru e podem ser classificados como produtos crus, semifrios, cozidos, fritos, congelados ou resfriados. É considerado um produto reestruturado, pois a peça cárnea é parcialmente ou completamente cominuída em trituração grosseira, condimentados e novamente reconstituídos e moldados (BRASIL, 2000).

Ainda de acordo com Brasil (2000), os requisitos das características sensoriais do hambúrguer envolvem textura, cor, sabor e odor próprios. Também devem atender as seguintes características físico-químicas: gordura (máxima) 23,0 %; proteína (mínima) 15,0 %; carboidratos totais 3,0 %; teor de cálcio (máximo base seca) 0,1 % em hambúrguer cru e 0,45 % em hambúrguer cozido. O acondicionamento prevê embalagem com materiais adequados às condições de armazenamento e que confirmam proteção apropriada ao hambúrguer. Na exposição à venda, os produtos devem ser mantidos sob congelamento.

As principais etapas do processamento de produtos cárneos podem sofrer variações dependendo do tipo de produto que se deseja obter, bem como do fabricante. Desde que seja atendida a legislação pertinente, o fabricante ou empreendedor poderá seguir a sua metodologia de processamento, incluindo o tipo de carne, condimentos utilizados e outros ingredientes que fazem parte da formulação (MADRUGA et al., 2007). A Figura 1 apresenta um fluxograma de processo englobando as principais operações.

Figura 1 - Fluxograma de produção de hambúrgueres.



Fonte: O autor.

De acordo com Ordóñez (2000) o processamento tecnológico de elaboração do hambúrguer é muito simples, limitando-se a desintegração da carne e a misturá-las com especiarias e aditivos que se deseja para dar um determinado sabor, e posteriormente conformá-la em moldes circulares.

Madruga et al. (2007), salientam como básico no processamento para elaboração de hambúrguer, a desossa que constitui a retirada ou separação da carne dos ossos, excesso de gorduras e nódulos, sendo recomendado a desossa com a carne resfriada. Trituração ou moagem refere-se à etapa onde os pedaços de carne e gordura são subdivididos em partículas menores. Sendo geralmente utilizados discos de 8 mm (grosso) e 4 mm (fino). A mistura e emulsão é onde os ingredientes como carnes trituras, aditivos e especiarias são misturados para

obtenção de uma massa homogênea. O equipamento misturador possibilita uma homogeneização/massageamento da carne, o que provoca a extração de proteínas que dão liga à mistura e acarretam o aumento da capacidade de retenção de água e garante a maciez do produto.

2.4 TRATAMENTOS TÉRMICOS APLICADOS À PRODUTOS CÁRNEOS

O tratamento térmico é um dos métodos mais utilizados no processamento de alimentos e também um dos mais importantes sendo amplamente aplicado no processamento de produtos cárneos tendo uma influência marcante na qualidade sensorial e conservação (FELLOWS, 2006).

De acordo com Lawri (2005) e Savio e Sassano, (2013) os processos de transferência de calor e massa durante o cozimento de carnes e produtos cárneos são bastante complexos. Nestes produtos, modificações como o derretimento de gordura, a desnaturação protéica e a diminuição de retenção de água alteram suas propriedades térmicas, físicas e sensoriais. A importância de uma maior compreensão destes fenômenos e suas repercussões pode não só garantir alimentos de qualidade superior, mas também gerar subsídios para otimizar o processamento dos mesmos.

De acordo com Pardi et al. (2006), na carne e em produtos cárneos as transferências de calor ocorrem primeiro com o aporte de energia até a superfície da carne, sendo que depois a penetração na mesma. Quanto ao modo de transferência de calor, este vai variar de acordo com cada tipo de cozimento.

O processo de cocção da carne altera os teores de proteína, gordura, minerais e matéria seca, devido à perda de nutrientes e água durante o preparo dos alimentos (ROSA et al., 2006). Pardi et al. (2006) citam ainda que o efeito do calor nos componentes da carne dependem da temperatura e do tempo de cocção aplicados. Quando expostas ao calor, as proteínas da carne perdem sua estrutura original e sofrem transformações devido à desnaturação das proteínas. Desta forma, carnes cozidas com temperaturas elevada tornam-se mais rígidas em função da maior desnaturação proteica. Entretanto, o cozimento também determina o amaciamento das carnes, visto que promove mudanças na estrutura do colágeno resultando no amaciamento da carne em função do tempo de cocção.

As mudanças mais significativas ocorridas em produtos cárneos como perda de água e encolhimento, são causadas pela desnaturação de proteínas musculares, a qual é definida como a mudança na conformação que ocorre nas estruturas secundárias e terciárias das proteínas, sem que haja modificação química dos aminoácidos. Esta desnaturação resulta em alterações na estrutura da carne, tais como a destruição de membranas celulares, o encolhimento transversal e longitudinal das fibras, o encolhimento e a solubilização do tecido conjuntivo (TORNBERG, 2005).

No caso específico, de hambúrgueres a manutenção da massa e do tamanho após o seu preparo é uma característica importante para o consumidor. Garantindo que estas características permaneçam inalteradas ou sofram poucas alterações, outros aspectos importantes na aceitação do produto, como a suculência, palatabilidade e impressão visual são asseguradas (FONTAN et al., 2011).

Segundo Rosa et al. (2006) quando são utilizadas formas de aquecimento convencionais (chama direta, ar quente, contato direto com chapa quente e outros similares), as fontes de calor fazem com que as moléculas do alimento sejam aquecidas da superfície da peça até o interior da massa muscular, de maneira que o aquecimento ocorre em camadas sucessivas. O cozimento do exterior da peça, ou seja, a coagulação das proteínas forma um envoltório sobre o produto, que evita a perda de componentes cárneos para o exterior antes que sua temperatura interna aumente, resultando em perdas mais baixas no cozimento.

No processo de fritura o óleo é incorporado ao alimento para modificar de forma positiva suas propriedades nutricionais e sensoriais, atuando como meio de transferência de calor reutilizável. As altas temperaturas que se utilizam, em torno de 180°C, produzem uma acelerada penetração de calor, levando a uma rápida elaboração dos alimentos, necessários no momento atual. É considerada uma técnica rápida e muito mais eficiente que o forneamento (CELLA, REGITANO-D'ARCE e SPOTO, 2002).

Porém, a fritura pode resultar também em aspectos não desejáveis nos alimentos, tendo como exemplo o encolhimento. Para Moreira et al. (2000) e Krokida, Oreopoulou e Maroulis (2000) o encolhimento é uma mudança no volume induzida pela perda de umidade, redução de poros, desnaturação de proteínas, sendo dependentes de vários fatores, como geometria do produto, das condições experimentais e dos métodos de fritura.

O forno de micro-ondas é um equipamento que passou a fazer parte da maioria dos lares nas duas últimas décadas. Talvez o ponto mais favorável na sua utilização, em relação ao sistema convencional, está relacionado ao aquecimento rápido e ao menor tempo requerido para o cozimento dos alimentos em relação aos métodos convencionais (BARBOZA et al., 2001).

Para Aymerichet, Picouet e Monfort (2008) o aquecimento promovido pelas micro-ondas é influenciado pelo tamanho, forma, composição e também pelas propriedades dielétricas e térmicas do alimento, bem como pelo tipo de equipamento, frequência e tempo de exposição à radiação. A radiação por micro-ondas refere-se à propagação de ondas eletromagnéticas na gama de 300 a 300.000 MHz, sendo caracterizadas por energia elétrica e magnética que se movem juntas através do espaço. Esta radiação, quando absorvida faz com que as moléculas polares e os íons que estão presentes no interior do alimento sofram movimentação de acordo com o campo eletromagnético alternado e o calor é gerado, elevando assim, a temperatura (FARID e TAHER, 2001; MENEZES et al., 2014).

De acordo com Borba et al. (2013) grande parte das carnes e de produtos cárneos consumidos pelo homem passa por algum tipo de tratamento térmico e isto pode alterar a qualidade do produto *in natura* e o rendimento, fazendo-se assim necessário conhecer as modificações sofridas pela matriz cárnea e a composição centesimal de produtos cárneos processados.

Vieira et al. (2007) avaliaram efeitos de diferentes métodos de cocção, cozimento em água, fritura em óleo de soja, assado em forno convencional e assado em micro-ondas sobre a perda de peso e composição química em peitos de frango. A perda de peso por cocção mais elevada foi verificada no método assado em micro-ondas (52,35 %), seguida pelo método forno convencional (30,59 %), fritura em óleo (22,98 %) e cozimento em água (19,99 %). Os peitos de frango assados em micro-ondas apresentaram a menor umidade (56,18 %) e médias mais elevadas de proteínas (40,22 %), minerais totais (1,64 %) em relação aos demais métodos. Os percentuais de gordura foram maiores no método fritura em óleo (3,23 %). Os peitos de frango que foram submetidos ao micro-ondas mostraram as perdas mais elevadas (52,35%) e modificações mais severas com relação à composição química com relação aos demais métodos.

A qualidade físico-química de hambúrgueres de carne bovina e de frango submetidos a diferentes tratamentos térmicos, cozimento em micro-ondas, forno convencional e fritura em óleo, também, foram investigadas por Borba et al. (2013), onde as amostras expostas ao forno de micro-ondas apresentaram os maiores percentuais de perda de umidade (38,87% para hambúrguer de frango e 47,84% para hambúrguer bovino), maior perda de peso (37,06% para hambúrguer de frango e 26,50% para hambúrguer bovino) e maior grau de retração (16,00% para hambúrguer de frango e 22,80% para hambúrguer bovino); os percentuais de gordura (22,00 %), proteína (26,87%) e cinzas (5,50%) foram maiores no tratamento micro-ondas para o hambúrguer de frango. No hambúrguer de carne bovina foi observado o maior percentual de proteínas (21,31 %) e cinzas (4,32%) no tratamento com micro-ondas, enquanto que o maior percentual de lipídios (21,68 %) foi encontrado no tratamento com fritura em óleo.

2.5 COLÁGENO

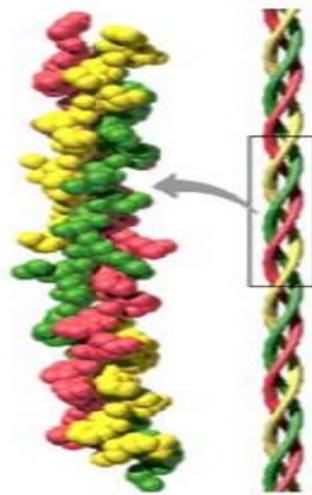
2.5.1 Estrutura e composição

O colágeno é uma proteína estrutural básica, representando ao redor de 33 % do total de proteínas dos mamíferos. É um componente essencial dos tecidos e sistema esquelético, sendo encontrado como constituinte da pele, tendões, cartilagens, ossos e tecido conectivo, exercendo funções diversas dependendo de sua localização (BOBBIO e BOBBIO 2003; DAMORADAN et al., 2010). Em aves e peixes seu papel é similar, e em invertebrados é um importante constituinte da parede do corpo. Ao contrário da maioria das proteínas globulares, que são dobradas em uma estrutura compacta, o colágeno possui uma estrutura alongada baseada em uma cadeia de polipeptídeos (VARGAS et al., 1997; PARDI et al., 1996).

De acordo com Silva e Pena (2012) o colágeno pode ser obtido de diversas espécies animais (bovinos, suínos, peixes, etc.). No Brasil, a maior parte do colágeno é proveniente dos subprodutos da indústria de carne, em função da elevada produção brasileira de carne para exportação.

O colágeno é classificado de acordo com a estrutura supramolecular que ele se forma. Estes grupos incluem (1) estriado (fibroso), (2) não fibroso (formador de rede), (3) microfibrilar (filamentoso) e (4) associado às fibrilas (DAMORADAN et al., 2010). A unidade básica do colágeno é o tropocolágeno que é formado por três cadeias de polipeptídeos que se entrelaçam em formato helicoidal formando uma molécula linear com 180 nm de comprimento, 1,4 a 1,5 nm de largura e massa molecular de 360.000 Da. As moléculas de tropocolágeno são estabilizadas pelas interações hidrofóbicas e eletrostáticas (DAMODARAN et al., 2010). A Figura 2 apresenta a estrutura do colágeno.

Figura 2 - Estrutura molecular do colágeno.



Fonte: Sionkowska (2006) (adaptado).

Atualmente, existem 29 tipos de colágeno sendo os mais comuns do tipo I, II, III, IV e XI (PARENTEAU-BAREIL et al., 2010). O colágeno tipo I é o mais abundante, sendo o maior constituinte da pele (80 % da matéria seca da pele adulta), tendões (90 % da matéria seca), ligamentos e ossos (90 % da matéria seca (TORLEY et al., 2000; SWAN & TORLEY, 1991)). Possui como unidade básica o tropocolágeno que é uma molécula linear, semiflexível e com ao redor de 300 nm de comprimento e 1,5 nm de diâmetro. Este é formado por duas cadeias idênticas ($\alpha 1$), com cerca de 1.055 resíduos de aminoácidos e uma cadeia diferente ($\alpha 2$), com cerca de 1.029 resíduos (SIONKOWSKA, 2006).

Nos colágenos I e II 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). O colágeno IV presente na membrana basal não forma fibras nem fibrilas. Neste colágeno ocorre uma associação peculiar formando uma trama complexa e sua estrutura é composta por uma tripla hélice de duas cadeias polipeptídicas $\alpha 1$ (Tipo IV) e uma $\alpha 2$ (Tipo IV). O tamanho da cadeia é de 340 nm, sendo altamente reticulada por pontes dissulfeto (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 2008 apud PRESTES, 2013).

A tripla hélice do colágeno 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 apud PRESTES, 2013). Para Swan e Torley (1991) a diversidade biológica do colágeno é baseada em variações da sequência primária, juntamente com um pequeno número de modificações na cadeia lateral. Os aminoácidos não-essenciais (glicina, prolina, hidroxiprolina, arginina e alanina) constituem dois terços dos resíduos e os aminoácidos essenciais (metionina, tirosina e histidina) entram em pequena quantidade. Cistina e triptofano estão comumente ausentes. Portanto, o colágeno contém apenas metade da média do teor de aminoácidos essenciais comum em proteínas não colagenosas.

A sequência de aminoácidos do colágeno mostra que a maior parte da cadeia polipeptídica está formada por 44 % de (Gly-X-X), 20 % de (Gly-X-I), 27 % de (Gly-I-X) e 9 % de (Gly-I-I). Onde I é prolina ou hidroxiprolina e X é outro aminoácido que pode estar presente (Wong, 1995 apud Prestes, 2013). Para Damodaran et al. (2010) 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 hidroxiprolina é o aminoácido responsável pela estabilidade térmica e absorção de umidade e é usada como parâmetro para estabelecer a quantidade de colágeno na carne e produtos cárneos. 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 altere a conformação de tripla hélice quando submetida à elevação da temperatura (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2002; FRANÇA e WASZCZYNSKYJ, 2002).

Para Lehninger (2001) o colágeno apresenta estrutura molecular relativamente simples e é insolúvel em água, em virtude da grande concentração de aminoácidos hidrofóbicos, quer no interior da proteína e/ou na superfície. Apresenta uma exceção à regra de que os grupos hidrofóbicos precisam estar escondidos no interior da molécula proteica. O núcleo hidrofóbico, portanto, contribui menos para a estabilidade estrutural da molécula, enquanto as ligações covalentes assumem um papel especialmente importante.

O colágeno nativo insolúvel é um subproduto do couro de curtume obtido dos resíduos da derme e do tecido subcutâneo, devendo ser pré-tratado antes que possa ser convertido em uma forma adequada para a extração (SILVA e PENNA, 2012). A partir do colágeno nativo (tropocolágeno) podem ser obtidos, a fibra de colágeno, a fibra de colágeno em pó, o colágeno parcialmente hidrolisado (gelatina) e o colágeno hidrolisado (OCKERMAN e HANSEN 1994 apud PRESTES, 2013).

A seguir estão descritas as principais características da fibra de colágeno bruta e em pó.

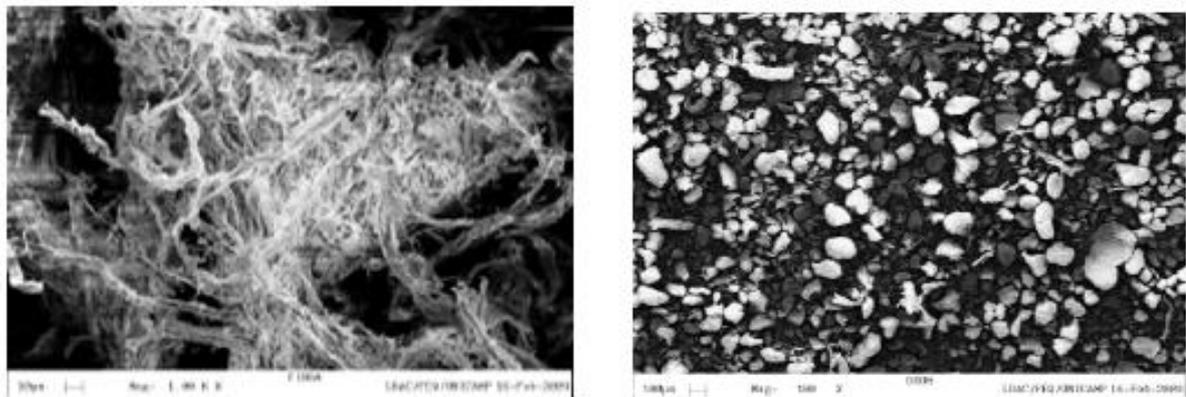
2.5.2 Fibra de colágeno e fibra de colágeno em pó

A fibra de colágeno é um ingrediente obtido do colágeno nativo através das camadas internas do couro bovino provenientes do fibroblasto (célula que origina o colágeno que está presente no tecido conjuntivo). Estes materiais são previamente submetidos a um tratamento químico, posteriormente desengordurados, submetidos a secagem, a baixas temperaturas e moagem (SANTANA et al., 2012, apud Prestes 2014). Durante a última etapa, duas frações são geradas de acordo com o tamanho da partícula, o de menor granulometria é classificado como colágeno em pó, enquanto que os demais correspondem às fibras de colágeno (NICOLETI e TELES 2009). Prestes et al. (2014) cita que a fibra de colágeno em pó é obtida por processo semelhante ao da fibra de colágeno, porém submetida a temperaturas mais elevadas e posterior moagem. Com relação ao tamanho das partículas a fibra apresenta tamanho entre 1,80 a 1,92 mm, enquanto que o colágeno em pó entre 0,45 a 0,57 mm (PRESTES, 2011).

De acordo Santana et al. (2011) a fibra de colágeno ainda apresenta potencial como emulsificantes em produtos alimentares em pH ácido, devido ao seu alto valor de ponto isoelétrico (6,5 a 8,5), quando comparado com outros emulsificantes proteicos (soja, caseína e proteína do soro).

A Figura 3 apresenta a imagem em microscopia eletrônica de varredura da fibra de colágeno (a) e fibra em pó de colágeno (b) em ampliação em 1000x.

Figura 3- Microscopia eletrônica de varredura da fibra de colágeno (a) e fibra de colágeno em pó (b) (ampliação em 1000x).



(a)

(b)

Fonte: Prestes, 2011 (adaptado).

A maior diferença entre a fibra de colágeno e a fibra de colágeno em pó é que a fibra bruta devido a sua forma física retém água quimicamente, tanto pela matriz proteica, quanto pelas pontes de hidrogênio, a mesma incha ao entrar em contato com a água e bloqueia a saída de umidade e gordura do sistema. Uma desvantagem da fibra é que não pode ser injetada, ambas apresentam capacidade de retenção de água em até seis vezes o seu peso (PRESTES, 2011). Nicoletti e Teles (2009), afirmam que ambos os tipos podem ser usados como aditivos em produtos à base de carne, a fim de melhorar a capacidade de retenção de água e propriedades de textura dos produtos.

De acordo com Silva e Penna (2012) devido às suas propriedades mecânicas, à capacidade de absorção de água, ao potencial gelificante, estabilizante e como biomaterial, a um crescente aumento no interesse do uso de fibras de colágeno e colágeno em pó em alimentos. Este interesse está relacionado ao seu teor proteico,

às maiores concentrações de proteínas e às frações de proteínas solúveis e insolúveis.

Prestes et al. (2013b) avaliaram as características físico-químicas e estruturais da fibra de colágeno (natural e em pó) em comparação a gelatina e colágeno hidrolisado. Com base nos resultados obtidos os autores concluíram que a fibra natural de colágeno e fibra de colágeno em pó são produtos diferentes e com características distintas. A fibra de colágeno em pó apresentou maior teor de proteínas (97,39 %) entre todas as amostras de colágeno avaliadas. Entretanto, o maior teor de hidroxiprolina (7,55 %) e de colágeno (60,00 %) foram evidenciados para a fibra de colágeno natural, indicando menor dano estrutural em decorrência do processo de obtenção. Com relação a capacidade de retenção de água a fibra de colágeno em pó foi a que absorveu maior quantidade de água, cerca de 11 vezes a sua massa, o que pode ser justificado pela maior área de superfície do pó em relação à fibra de colágeno. De forma geral, o elevado teor proteico, alto teor de hidroxiprolina, grande capacidade de absorção de água e fácil disponibilidade tornam a fibra de colágeno uma alternativa de ingrediente funcional para aplicação na indústria de alimentos.

Santana et al. (2012) avaliaram o efeito do tratamento térmico sobre as propriedades emulsificantes das fibras de colágeno. As fibras de colágeno foram tratadas por aquecimento a 50- 85°C, por 20 ou 60 min e caracterizadas. O efeito do tratamento foi avaliado determinando-se as propriedades de emulsão. De acordo com os autores, o tratamento térmico resultou em mudanças na estrutura das fibras de colágeno, porém não suficientes para melhorar suas propriedades emulsificantes. O processo de aquecimento diminuiu a carga da proteína e aumentou a solubilidade da proteína em água, o que provavelmente diminuiu a interação óleo/proteína. Como consequência, uma emulsão primária composta por fibras de colágeno tratado pelo calor mostrou a mais alta taxa e índice de cremosidade.

As características físico-químicas de fibras de colágeno e de colágeno em pó para a produção de filmes foram estudas por Wolf, Sobral e Telis (2009), demonstrando que os filmes contendo as fibras de colágeno e colágeno em pó apresentaram praticamente o mesmo teor de proteínas (85,60 g/100 g de matéria e 85,80 g/100 g de matéria, respectivamente). Porém, diferiram no tamanho e formato da partícula e solubilidade em água. As características do colágeno podem ser

exploradas para a produção de filmes, sendo o pó a base da matriz do filme, e as fibras agem como preenchedores, exercendo um efeito de reforço.

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).

Para Daigleet et al (2005) e Olivo e Shimokomaki (2002) a sua utilização justifica-se devido alta capacidade de retenção de água ao seu alto teor proteico e as suas propriedades gelificantes e melhorador de textura. Sendo que na indústria cárnea, o colágeno poderia ser melhor aproveitado em produtos reestruturados e emulsionados, conferindo melhor desempenho tecnológico e econômico.

De acordo com Seifert (2004) o colágeno homogeneizado pode ser adicionado em carne enlatada na proporção de 1,5 a 2,0 %, visando à redução da formação de gel e dos depósitos de gordura. Em embutidos cozidos, utiliza-se o colágeno hidrolisado em 2,0 % para reduzir as perdas pelo cozimento e para melhorar sua fatiabilidade. Motzeret et al. (1998) afirmam ainda que o colágeno apresenta habilidades semelhantes as do amido, diminuindo perdas por exsudação e podendo atuar como seu substituto em formulações. Já Kenney, Kastner e Kropfet (1992) enfatizam que a atuação do colágeno no melhoramento da funcionalidade proteica, ocorre através da imobilização da água livre, aumentando a estabilidade final do produto e refletindo positivamente no seu rendimento após cocção.

Entretanto o uso de colágeno em produtos cárneos deve ser avaliado com cautela. De acordo com Prestes (2013) o colágeno adicionado em formulações pode ter efeito negativo, provocando encolhimento quando estes produtos são submetidos às altas temperaturas. Seu uso 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. Em emulsionados, o colágeno pode aumentar o rendimento e rigidez, entretanto, teores elevados podem levar a redução da estabilidade da massa causando liberação de gordura e gelatina e/ou redução da cor vermelha, devido à diluição da mioglobina.

Prestes et al. (2012) avaliaram os efeitos da adição de amido modificado, colágeno hidrolisado e goma guar na composição química, características físicas e

sensoriais de presunto de peru. O colágeno testado continha frações superiores a 10.000 Da e foi testado nas concentrações de até 2,0 %. 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 sinérese no produto durante armazenamento.

Prabhuet et al. (2004) estudaram o efeito da adição de colágeno nas proporções de 1,0, 2,0 e 3,0 % sob as sinérese, textura e características sensoriais de presunto suíno. Os valores de umidade e proteína no produto final ficaram entre 74,36 a 77,15 % e 16,30 a 16,90 %, respectivamente. De acordo com os autores a adição de colágeno foi responsável pela redução da umidade e aumento da proteína final. Na avaliação sensorial, a adição colágeno acima de 2 % foi percebida pelos consumidores no teste de diferença. Já com relação à sinérese os autores concluíram que, de maneira geral, a utilização de 1,0, 2,0 ou 3,0 % de colágeno foram efetivos após 8 semanas.

A utilização de fibra natural de colágeno em concentrações de 0,1 a 0,3 % em cortes bovinos foi estudada por Bueno (2008), sendo que a fibra de colágeno atuou favoravelmente ao acréscimo da capacidade de retenção de água, mas sofreu decréscimo do seu efeito, quando o nível de adição foi maior (>0,2 %).

O desenvolvimento de uma formulação de mortadela com teor gordura reduzida usando diferentes tipos de colágeno bovino foram estudadas por Prestes et al. (2014), onde as fibras de colágeno natural e de colágeno em pó foram testados, variando-se as concentrações de ambos até 2,0 %. O uso simultâneo de ambos os tipos de colágeno apresentou benefícios no aumento do teor de proteínas. A formulação contendo 2,0 % de fibra de colágeno e 2,0 % de fibra de colágeno em pó simultaneamente apresentou teor de proteínas de 14,61 % superior às demais formulações. As formulações com fibra de colágeno em pó (2,0 %) apresentaram maior capacidade de retenção de água. De acordo com os autores, isto se deve ao fato da fibra de colágeno em pó possuir uma área de superfície maior, devido ao menor tamanho da partícula havendo uma maior interação no produto, o que permitiu uma maior retenção de água e maior sinergia com as proteínas miofibrilares. De forma geral, os autores concluíram que adição de fibras de colágeno em pó mostrou um melhor desempenho do que a fibra de colágeno natural principalmente em relação a perdas, o que demonstrou forte interação entre o pó

das fibras de colágeno na estrutura do produto e a possibilidade de a aplicação deste tipo de colágeno em outros tipos de produtos cárneos.

Benelli et al. (2015), estudaram a obtenção de emulsão de pele suína como substituto parcial da proteína de soja na qualidade de mortadelas. Para a obtenção da emulsão foi utilizado um planejamento experimental fatorial 2^3 . A melhor condição para elaboração da emulsão (tamanho de disco maior, 3 mm), maior quantidade de pele (80%) e menor quantidade de sal (1,5%) foi aplicada na substituição parcial da proteína de soja na formulação de mortadela suína. Os parâmetros de textura (dureza, coesividade, adesividade e mastigabilidade) da mortadela elaborada com adição da emulsão de pele suína apresentaram maiores valores, diferindo estatisticamente ($p < 0,05$) da formulação de mortadela padrão (sem a aplicação de pele suína). A análise sensorial mostrou que houve diferença significativa a nível de 5% para a amostra de mortadela com adição da emulsão, sendo que a amostra do teste apresentou 71,4% de preferência pelos julgadores, obtendo a preferência dos provadores.

2.6 ESTUDO DA ARTE: CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em decorrência da sua praticidade de preparo e por possuir nutrientes que alimentam e saciam a fome rapidamente, o hambúrguer se tornou um produto popular consumido por todas as classes e por pessoas de todas as idades. É considerado um produto reestruturado e podem ser fabricados com carne moída bovina, de frango, de suíno ou de peru podendo ser adicionadas no máximo 4% de proteína não cárnica na forma agregada. Devido ao elevado teor protéico, capacidade de absorção de água e por ser uma proteína presente na própria carne, o emprego de colágeno e seus derivados é uma alternativa interessante para indústria de carnes como substituto de proteínas vegetais.

Com base na revisão da literatura apresentada, foi possível verificar que existem poucos trabalhos que tratem especificamente de hambúrgueres e aplicação de colágeno neste produto, visando a melhoria da qualidade do produto. Também não há muitas pesquisas que avaliaram as diferenças entre colágenos e efeitos destes no tipo de produto em questão. Principalmente avaliando as características de cada colágeno e os resultados da aplicação nas características físico-químicas,

sensoriais e estruturais através da microscopia. Assim após as considerações apresentadas, verifica-se que o presente estudo tem grande relevância e vem a contribuir com a literatura, além disso, a substituição parcial da proteína de soja por colágeno proporcionaria uma alternativa para o desenvolvimento de um produto mais econômico e viável à proteína soja e que pode ser aplicado industrialmente.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Neste item estão descritas as metodologias de caracterização dos colágenos em pó e em fibra, bem como procedimentos de elaboração e caracterização das formulações de Hambúrgueres.

3.1 CARACTERIZAÇÃO DOS COLÁGENOS

Os colágenos foram caracterizados quanto ao teor de Hidroxiprolina, proteína, força de gel, eletroforese, análise em microscopia eletrônica de varredura – ME, microanálise por energia de raio X - EDX e por difração de raio X.

Os teores de hidroxiprolina, proteína total e força de gel foram realizados em uma agroindústria da região Oeste de Santa Catarina. A análise em eletroforese foi realizada na URI Erechim. As análises de microscopia eletrônica de varredura – ME, microanálise por energia de raio X - EDX e por difração de raio X foram realizadas em parceria com a Embrapa Instrumentação – São Carlos/SP.

3.1.1 Teor de Hidroxiprolina

O teor de hidroxiprolina foi determinado segundo metodologia do Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005). A amostra foi hidrolisada com solução de ácido clorídrico, filtrada e diluída. Posteriormente, a hidroxiprolina foi oxidada com cloramina – T e realizada a leitura em espectrofotômetro (Spectroquant Pharo 300 - Merck) a 558 nm.

3.1.2 Proteína total

A quantidade de proteína foi determinada de acordo com o método do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Instrução Normativa Nº 20 (BRASIL, 1999). O método baseia-se na transformação do nitrogênio da amostra em sulfato de amônio através de digestão com ácido sulfúrico e posterior destilação com liberação da amônia, que é fixada em solução ácida e titulada.

3.1.3 Força gel

Os géis de colágenos (fibra e pó) foram preparados na proporção de 1:6 (m/v), aquecendo e agitando até atingir a temperatura de 72°C. Após, a solução foi submetida a um resfriamento de 8°C por no mínimo 12 h. A força de gel foi então determinada em texturômetro TA XT (Stable Micro Systems LTDA.) com célula de carga de 10 kg e velocidade de pré-teste, teste e pós-teste de 1 mm/s, 1 mm/s e 10 mm/s, respectivamente. Para esta análise foi utilizado probe esférica com 0,5 polegadas de diâmetro e os resultados foram expressos em g.cm.

3.1.4 Eletroforese em gel de poliacrilamida

Para realização das análises de eletroforese em gel de poliacrilamida utilizou-se a metodologia baseada no método descrito por Laemmli (1970).

Para as análises de eletroforese em gel, as amostras foram preparadas por diluição em água obtendo-se uma concentração final de aproximadamente 5,0 mg/mL para amostra A – Colágeno em pó e de 2,5 mg/mL para as amostras B – colágeno fibroso. Posteriormente, adicionou-se 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 aproximadamente 8 h. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 10000 x g, 4 °C por 30 min, 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 min.

Com o gel de empilhamento e de resolução prontos deu-se início a adição das amostras. 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 (colágeno em pó e colágeno fibroso).

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 250 V, num tempo de aproximadamente 1 h para as amostras percorrerem o gel.

Após a corrida, o gel de empilhamento foi removido, e o gel de resolução foi corado com solução corante azul brilhante (Blue R-250) durante aproximadamente 24 h, até perfeita visualização das bandas.

3.1.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia do colágeno em fibra e em pó foi analisada em um microscópio eletrônico de varredura (MEV), modelo JSM6510/JEOL. Para o recobrimento da superfície das amostras com ouro foi utilizado um metalizador Balzer, SCD 050.

3.1.6 Microanálise por energia dispersiva de raio X (EDX)

Para a análise elementar ou caracterização química das amostras foi utilizado a espectroscopia por fluorescência de raio X (EDX), modelo do EDS 6742A/Thermo Scientific acoplado ao Microscópio Eletrônico de Varredura Zeiss, modelo JSM6510/JEOL. O método se baseia na investigação de uma amostra através de interações entre partículas ou radiação eletromagnética e matéria, analisando os raios X emitidos pela matéria em resposta à incidência de partículas carregadas.

3.1.7 Difração de raios X (DRX)

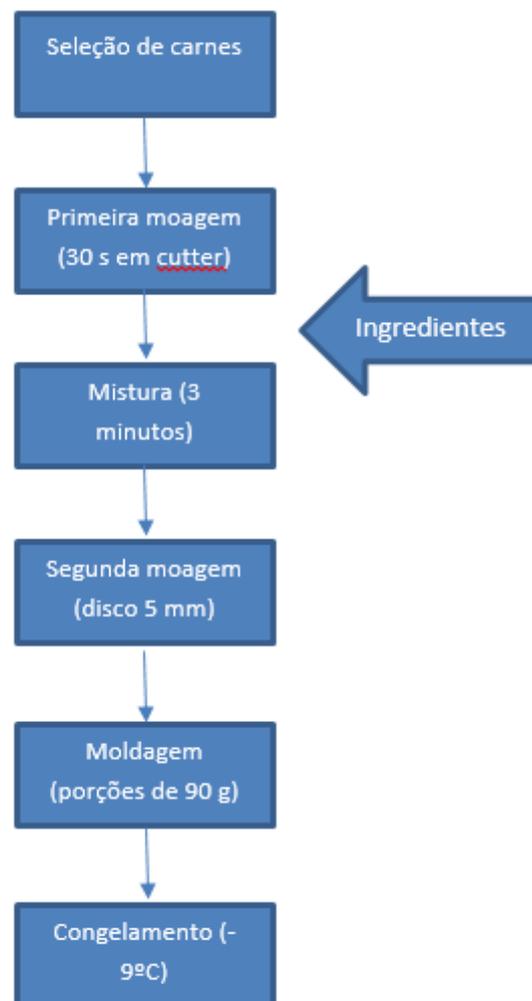
Para caracterizar a estrutura física (cristalina e/ou amorfa) dos colágenos foi utilizado um difratômetro 6000 da Shimadzu XRD com radiação $\text{CuK}\alpha$ de 10° to 80° (2θ) a 2° min^{-1} .

3.2 ELABORAÇÃO DAS FORMULAÇÕES DE HAMBÚRGUERES

Os hambúrgueres foram preparados conforme formulação padrão de uma agroindústria, situada na região Oeste de Santa Catarina. As formulações seguiram

os limites estabelecidos para formulação na Instrução Normativa Nº 4 de 31/03/2000 (BRASIL, 2000) e foram divididas em 5 tratamentos: Padrão – Formulação padrão com 4,0 % de proteína floculada de soja; Formulação 1 – 3,25 % de proteína floculada de soja e 0,75 % de colágeno fibra; Formulação 2 – 2,50 % de proteína floculada de soja e 1,50 % de colágeno fibra; Formulação 3 – 3,25 % de proteína floculada de soja e 0,75 % de colágeno pó; Formulação 4 – 2,50 % de proteína floculada de soja e 1,50 % de colágeno pó. O fluxograma de preparação dos hambúrgueres está expresso na Figura 4

Figura 4 - Fluxograma de preparação dos hambúrgueres



Fonte: O autor

Na etapa de seleção de carnes, utilizou somente cortes cárneos de suínos e de frango. Buscou-se utilizar cortes cárneos sem gordura aparente, e com o mínimo possível de tecido conjuntivo visível, para isso utilizou-se carne proveniente do

lombo suíno e também do peito de frango. A gordura utilizada foi retirada do lombo suíno. Todos os cortes utilizados estavam congelados, com temperatura de no máximo 0 °C.

A primeira moagem foi realizada em mini cutter (Incomaf 15 L) por 30 segundos visando uma moagem inicial para posterior processo de mistura juntamente com os ingredientes.

No processo de mistura juntou-se as carnes, previamente moídas em cutter, com os ingredientes da formulação. Estes ingredientes juntamente com a proteína de soja e os colágenos foram previamente homogeneizados e hidratados com água por 15 minutos. A mistura aconteceu em misturadeira (RISCO) por 3 minutos.

A segunda moagem visou padronizar o tamanho da carne. Também auxilia na interação dos ingredientes com a carne. Para isso utilizou-se moedor (Seydelmann), com disco 5 mm.

Após o preparo da formulação e moagem, a massa de hambúrguer seguiu para a etapa de moldagem. O processo foi conduzido utilizando uma moldadeira manual, sendo pesado porções de 90 gramas. Após a moldagem as amostras seguiram para congelador com faixa de temperatura de – 9 °C por um período de 90 dias. As amostras foram retiradas periodicamente (a cada 30 dias) para realizar os acompanhamentos de estabilidade do produto.

3.3 DETERMINAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS

As determinações físico químicas (proteína, umidade, gordura e hidroxiprolina) foram avaliadas no 1º dia de armazenamento. A determinação de oxidação de lipídios foi avaliada no tempo 1, 30, 60 e 90 dias de armazenamento. Estas determinações foram realizadas em uma agroindústria na região de Chapecó – SC.

3.3.1 Proteína

A quantidade de proteína foi determinada de acordo com o método do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Instrução Normativa Nº 20 (BRASIL, 1999), conforme descrito no item 3.1.2.

3.3.2 Gordura

A gordura foi determinada através de método gravimétrico, de acordo com a Instrução Normativa Nº 20, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1999). O método consiste em extrair a gordura da carne com um solvente (éter-etílico) em um balão de Soxhlet por 6 h, evaporar o solvente e dessecar em estufa a 105°C, até obter peso constante.

3.3.3 Umidade

A determinação da umidade foi de acordo com o método do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Instrução Normativa Nº 20 (BRASIL, 1999). O método fundamenta-se na perda de água através da secagem de produto em estufa a 105 °C por 3 h ou até que o peso se estabilize.

3.3.4 Hidroxiprolina

O Teor de Hidroxiprolina foi determinado segundo metodologia do Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005), conforme descrito no item 3.1.1.

3.3.5 Oxidação de lipídios - Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A determinação das substâncias reativas ao ácido 2 tiobarbitúrico (TBA) foi realizada segunda a metodologia descrita por Raharjo et al. (1992), modificado por Wang et al. (2002). Inicialmente, 5 g de amostra foi triturada com adição de 0,5 mL de butil-hidroxi-tolueno (BHT) 0,5 % e 2 mL de solução de sulfanilamida 0,5 % e permanecendo em repouso por 10 min. Em seguida, adicionou-se 18 mL de ácido tricloroacético (TCA) 5 %, homogeneizou-se e submeteu-se a filtração. A uma alíquota de 2 mL do filtrado foi adicionado 2 mL de ácido tiobarbitúrico TBA 0,08 M e aquecida em banho-maria (De Leo & CIA LTDA) a 40°C por 1 h:30 min. Após efetuou-se a leitura em espectrofotômetro (Perkin Elmer – Lambda EZ 150) a 531 nm. A quantificação foi realizada frente a uma curva padrão de solução de 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) nas concentrações de $1 \cdot 10^{-8}$ a $10 \cdot 10^{-8}$ mol/mL. Os

resultados são expressos em miligramas de malonaldeído por quilograma de amostra.

3.4 DUREZA: TEXTURA INSTRUMENTAL

O valor da dureza foi determinado através do método de compressão da amostra através de análise de textura utilizando um texturômetro TA XT (Stable Micro Systems LTDA.), com célula de carga de 10 kg, utilizando uma probe cilíndrica de 2,5 polegadas. Os parâmetros de pré-teste, teste e pós teste foram 2,0 mm/s, 1,0 mm/s e 7 mm/s, respectivamente.

As análises foram realizadas no produto pronto para consumo, em amostras de cerca de 10 mm de altura nos dias 1, 30, 60 e 90 de armazenamento. As amostras foram comprimidas em 25 % de seu tamanho.

3.5 DETERMINAÇÃO DE PERDA DE PESO DURANTE OS PROCESSOS DE COCÇÃO

A determinação da perda de peso durante os processos de cocção (forno e chapa) foram realizadas na agroindústria (Chapecó – SC) nos 1, 30, 60 e 90º dia de armazenamento.

Os produtos foram preparados em dois métodos diferentes em chapa e em forno. No preparo em chapa, inicialmente a chapa foi untada com óleo e pré-aquecida por 2 min. Posteriormente, os hambúrgueres congelados foram adicionados na chapa aquecida e submetidos a cocção por 3 min de cada lado. A temperatura foi monitorada, visando o atingimento interno de no mínimo 72°C.

Para o preparo em forno, o mesmo foi pré-aquecido a 250°C por 5 min, os hambúrgueres congelados foram a cocção em forno por 15 min (7,5 min para cada lado). A temperatura foi monitorada, visando o atingimento interno de no mínimo 72°C.

Para determinar a perda de peso, os hambúrgueres foram pesados em balança analítica antes e após cada tratamento térmico, e seu valor foi determinado pela diferença de peso.

3.6 CARACTERIZAÇÃO HISTOLÓGICA

O processamento histológico e a análise das lâminas foram realizados no Laboratório de Histologia da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Campus de Erechim - RS. Foram encaminhadas as amostras no tempo 90 dias para avaliação da histologia dos hambúrgueres.

As amostras de hambúrgueres de cada formulação foram fixadas em formol a 10 % com posterior técnica histológica de rotina segundo Lison (1960) incluindo as etapas de desidratação gradativas, diafanização, infiltração e emblocamento em parafina das amostras. A partir de cada bloco de parafina obteve-se lâminas histológicas com cortes de 4 µm de espessura de cada grupo para posterior coloração pela técnica de Hematoxilina-Eosina. As lâminas foram numeradas de acordo com o grupo a que pertencia.

As análises dos cortes histológicas foram realizadas em microscópico (Lambda Lqt – 3) e as imagens foram fotografadas no software Motic Images Plus 2.0. O campo histológico de cada lâmina foi avaliado, utilizando-se as objetivas de 10 e 25 vezes de aumento e ocular de 10 vezes.

3.7 AVALIAÇÃO SENSORIAL

As avaliações sensoriais foram realizadas na agroindústria (Oeste de Santa Catarina) com degustadores treinados pela própria empresa. A avaliação foi realizada em escala laboratorial com equipe formada por 12 provadores treinados, ambos os sexos e de diferentes faixas etárias (de 20 a 50 anos). As avaliações sensoriais foram avaliadas no 1º dia de armazenamento, em amostras submetidas a cocção em chapa (conforme procedimento descrito no ítem 3.5) em porções de 90 g.

Após preparada as amostras de hambúrgueres, as mesmas foram distribuídas de forma balanceada em recipientes codificados com números aleatórios de três dígitos, juntamente com a ficha de avaliação.

Os provadores expressaram suas avaliações para cada atributo (sabor, cor, odor, aparência e textura) em uma escala hedônica de 9 pontos (1 – Desgostei muitíssimo; 2 – Desgostei muito; 3 – Desgostei moderadamente; 4 – Desgostei ligeiramente; 5 – Indiferente; 6 – Gostei ligeiramente; 7 – Gostei moderadamente; 8

– Gostei muito; 9 – Gostei muitíssimo), conforme procedimento descrito por Queiroz (2006).

3.8 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Os resultados (triplicata) obtidos foram tratados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA), seguida de comparação das diferenças das médias pelo teste de Tukey, com nível de 95 % de confiança, com auxílio do software Statistica versão 8.0. Para a análise de correlação de Pearson e Análise dos Componentes Principais (ACP) utilizou-se o programa XLSTAT (ADDINSOFT, 2007).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente item tem por objetivo apresentar e discutir os resultados obtidos no decorrer deste trabalho. Primeiramente serão apresentados os resultados da caracterização das amostras de fibra e pó de colágenos bovino. Na sequência a caracterização das formulações de hambúrgueres. Posteriormente, os resultados da estabilidade das formulações de Hambúrgueres ao armazenamento.

4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS COLÁGENOS

4.1.1 Proteína, hidroxiprolina e força de gel

A Tabela 2 apresenta a caracterização das amostras de colágeno fibra e colágeno pó utilizadas no presente estudo. É possível observar que para hidroxiprolina houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os colágenos, sendo que o colágeno em pó foi o que apresentou o maior valor de 2,06 g/100g. Já para teor de proteína, o colágeno fibra apresentou ($p < 0,05$) valor ligeiramente superior (97,81 g/100g) ao obtido para o colágeno em pó (96,88 g/100g).

Tabela 2- Caracterização em termos de hidroxiprolina proteína e força gel das amostras de colágeno.

Amostras	Hidroxiprolina (g/100g)	Proteína (g/100g)	Força de gel (g.cm/s)
Colágeno Fibra	1,96 ^b ±0,01	97,81 ^a ±0,11	1491,86 ^a ±8,82
Colágeno pó	2,06 ^a ±0,01	96,87 ^b ±0,09	937,36 ^b ±42,05

Médias (\pm desvio padrão) seguidas letras iguais nas colunas não diferem significativamente pelo teste de t student com 95% de confiança.

Os teores de hidroxiprolina obtidos para a fibra e pó de colágenos foram inferiores aos relatados na literatura. Prestes et al. (2013b), obtiveram teores de hidroxiprolina para fibra e pó de respectivamente 7,50 e 3,55%. Já Olivo e Shimokomaki (2001), encontraram valores entre 8,06 e 8,20 % de para fibra de colágeno bovino. As variações observadas possivelmente são decorrentes em função do 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).

Os valores de proteína obtidos no presente estudo foram semelhantes aos obtidos por Prestes et al. (2013b), que encontraram valores para a fibra e pó de colágeno de 97,39 e 95,18 %, respectivamente. Porém, superiores aos obtidos para Wolf et al. (2009), que foram de 85,6 e 85,8% para o colágeno fibra e em pó, respectivamente.

Para a força de gel, a fibra de colágeno apresentou o maior ($p < 0,05$) valor. Indicando assim que a fibra permite um maior aprisionamento do solvente, quando comparado aos gel de colágeno pó. Para Prestes et al. (2013a), a resistência do gel (Força de *Bloom*) depende da concentração e da massa molar, um maior valor de *Bloom* está correlacionado com a massa molar do colágeno, portanto alto valor de *Bloom* resulta em géis mais firmes.

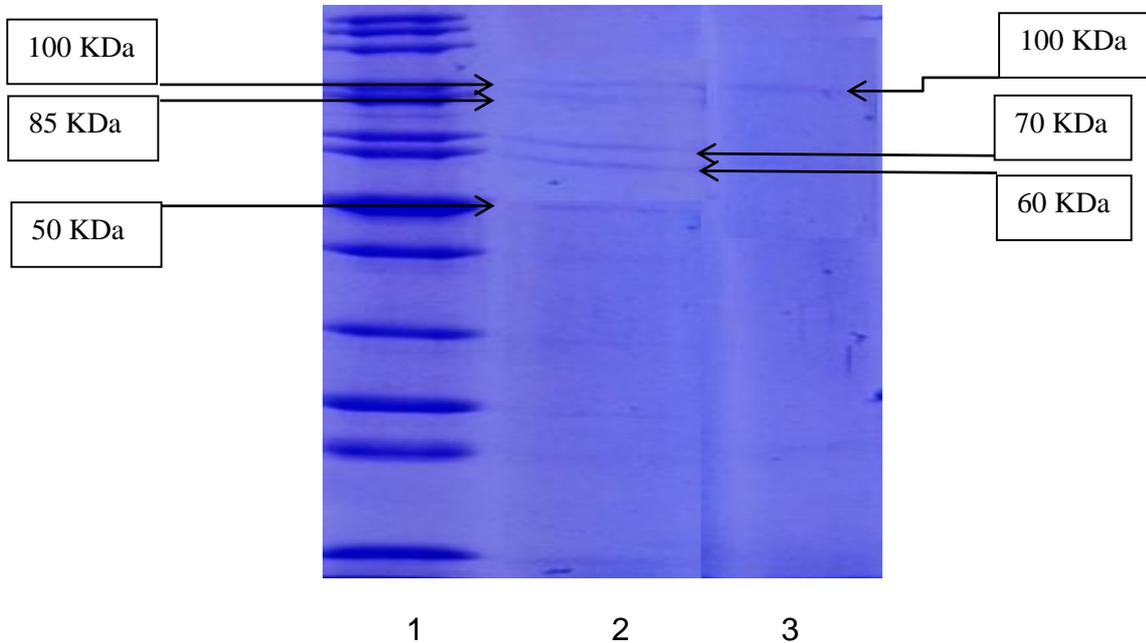
Os dados obtidos indicam que a fibra de colágeno em pó e a fibra de colágeno são produtos diferentes e com características distintas, possivelmente devido o processo de extração da fibra e fibra em pó apresentarem diferenças. Para Wolf et al. (2009), as fibras de colágeno são mais susceptíveis a mudanças estruturais que o pó de colágeno, devido a uma maior capacidade de hidratação.

4.1.2 Eletroforese SDS-PAGE

A eletroforese em gel de policacrilamida (SDS) foi realizada para determinar se haviam diferenças na massa molar das proteínas para os colágenos testados (Figura 5). No gel de eletroforese para o colágeno em pó foi possível visualizar 04 bandas distintas, de massas molares que variaram de 50 a 100 kDa. Para a fibra de colágeno foi possível visualizar uma banda com massa molar de 100 kDa.

Prestes (2011) indicou na fibra de colágeno a presença de duas bandas bem próximas ao redor de 100 kDa (que corresponde a $\alpha 1$ e $\alpha 2$) e uma banda mais acima (que correspondente a β).

Figura 5 - Imagem dos géis de eletroforese SDS-PAGE para as diferentes frações de colágenos. Da esquerda para a direita: Coluna 1: marcador de massa molar (de cima para baixo) 200, 150, 120, 100, 85, 70, 60, 50, 40, 30, 25, 20, 15 e 10 kDa; Coluna 2: Colágeno em pó; Coluna 3: Fibra de colágeno.



Fonte: O autor.

Hoque et al. (2011) na eletroforese de filmes de gelatina, encontraram duas bandas características de gelatina com 116 kDa e 97 kDa, valores estes próximos às bandas encontradas para as amostras de fibra de colágeno e colágeno em pó (Figura 5).

No estudo do gel de SDS-PAGE com colágeno bovino pelo peptídeo-pobres, Oechsle et al. (2016), mostraram duas bandas distintas de aproximadamente 123 kDa, indicando $\alpha 1(I)$ - e $\alpha 2(I)$ -cadeias de monômeros de colágeno tipo I. Além disso, a banda ligeiramente maior $\alpha 1(III)$ -cadeia foi verificada logo acima, indicando o colágeno do tipo III. A análise por espectrometria de massa verificou a presença de $\alpha 1(I)$ -, $\alpha 2(I)$ -, e $\alpha 1(III)$ -cadeia com 133, 129 e 138 kDa, respectivamente.

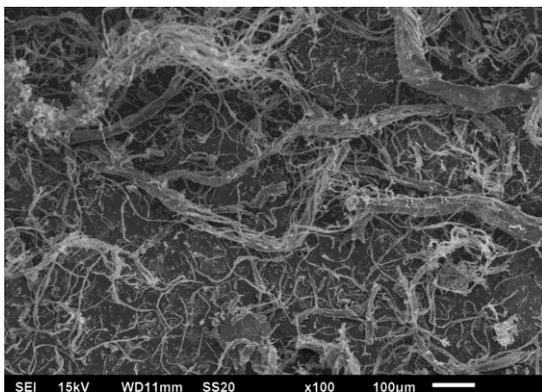
4.1.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Na microscopia eletrônica a área ou o microvolume a ser analisado é irradiado por um fino feixe de elétrons ao invés da radiação da luz. Como resultado da interação do feixe de elétrons com a superfície da amostra, uma série de

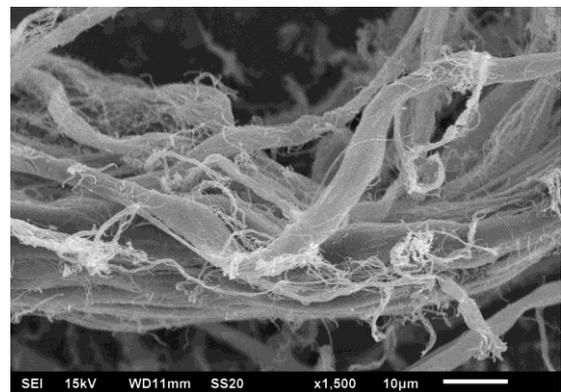
radiações são emitidas tais como: elétrons secundários, elétrons retroespalhados, raios-X característicos, elétrons Auger, fótons, etc. Estas radiações quando captadas corretamente irão fornecer informações características sobre a amostra (topografia da superfície, composição, cristalografia, etc.).

A Figura 6 apresenta a microscopia eletrônica de varredura da fibra de colágeno e do colágeno em pó, por meio da qual foi possível comprovar a estrutura fibrilar para o colágeno em fibra (A1 e A2) e, observar micropartículas em formato esférico para o colágeno em pó.

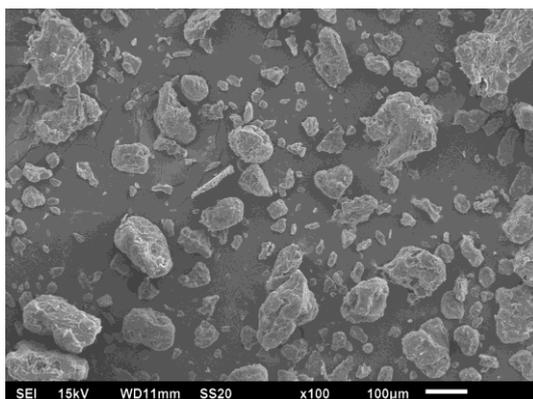
Figura 6 - Imagens micrográficas do colágeno (A1 e A2) em fibra e (B1 e B2) em pó. 1 e 2 referem-se a magnificação, 1 = aumento de 100X e 2= aumento de 1.500x.



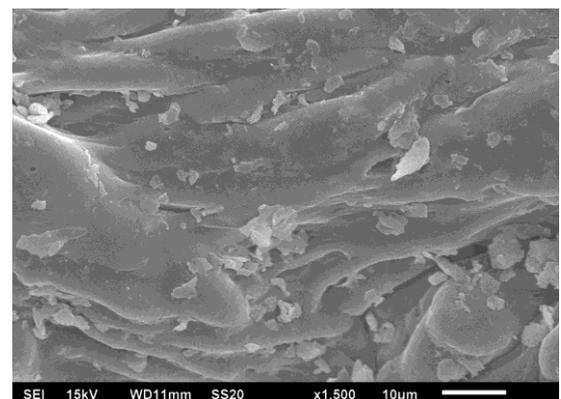
A1



A2



B1



B2

Fonte: O autor.

Segundo Prestes (2011), 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, incha ao entrar em contato com a água e bloqueia a saída de umidade e gordura do sistema.

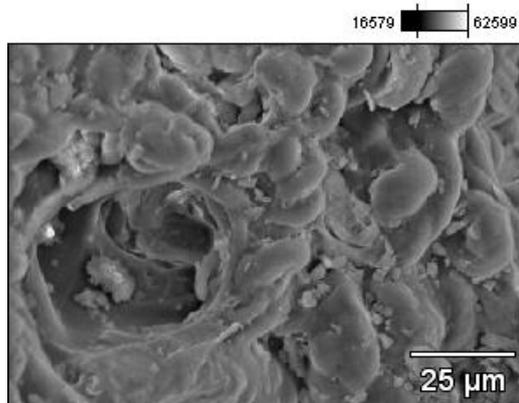
As características do colágeno obtido de pele de frango e colágeno obtido do osso de frango foram comparadas com o colágeno bovino em estudo realizado por Oechslea et al. (2016). As imagens obtidas por MEV demonstraram que todas as amostras de colágeno apresentaram estruturas fibrosas. O colágeno bovino exibiu a rede fibrosa mais distinta, seguido do colágeno da pele de frango com fibras mais finas enquanto que o colágeno obtido do osso de frango demonstrou uma matriz mais grosseira, com poros de maiores dimensões.

4.1.4 Microanálise por Energia dispersiva de raios-X (EDX)

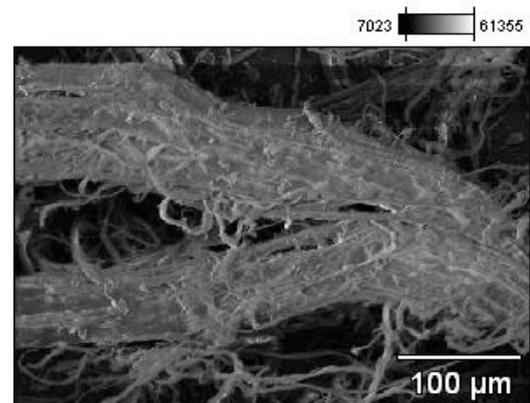
A Microanálise por energia dispersiva de raios-X é uma técnica usada para a análise elementar ou caracterização química de uma amostra. É uma das variantes da espectroscopia por fluorescência de raio X que se baseia na investigação de uma amostra através de interações entre partículas ou radiação eletromagnética e matéria, analisando os raios X emitidos pela matéria em resposta à incidência de partículas carregadas. Sua capacidade de caracterização é devida em grande parte ao princípio fundamental que cada elemento tem uma estrutura atômica única, de modo que os raios X emitidos são característicos desta estrutura, que identificam o elemento (fonte).

Os microscópios eletrônicos em geral possuem equipamentos para a microanálise, permitindo a obtenção de informações químicas em áreas da ordem de micrometros, as quais (qualitativas e quantitativas) são obtidas pela detecção dos raios x resultantes da interação entre o feixe primário e a amostra. A Figura 7 apresenta as micrografias obtidas por microscopia de energia dispersiva (EDX) para o colágeno em pó e para o colágeno em fibra.

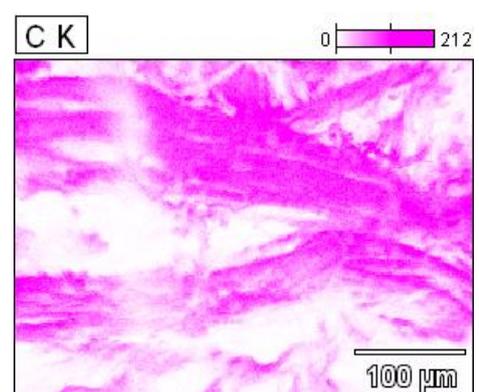
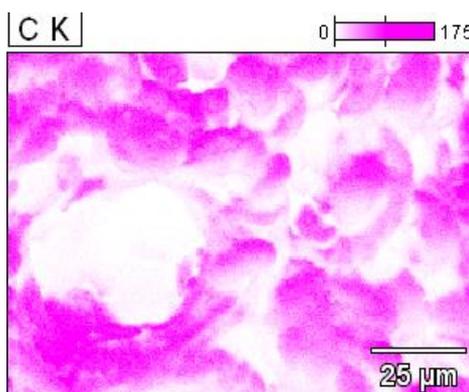
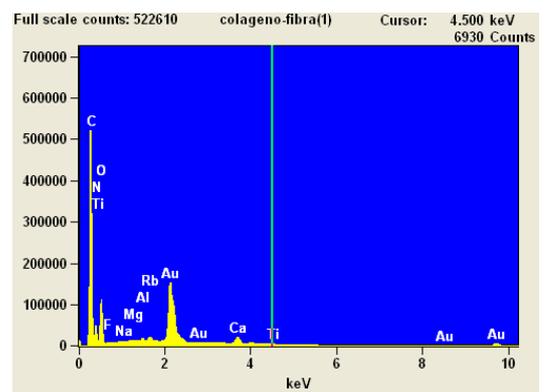
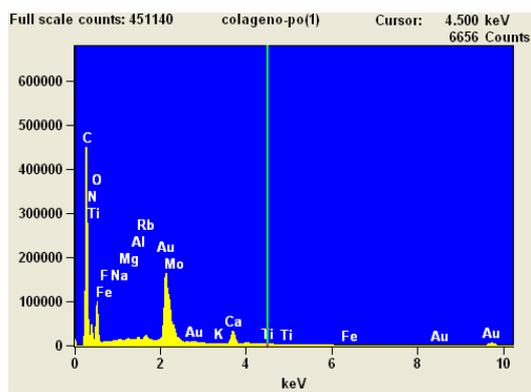
Figura 7 - Micrografias obtidas por microscopia de energia dispersiva (EDX) para o colágeno em pó (A) e para o colágeno em fibra (B), respectivamente.

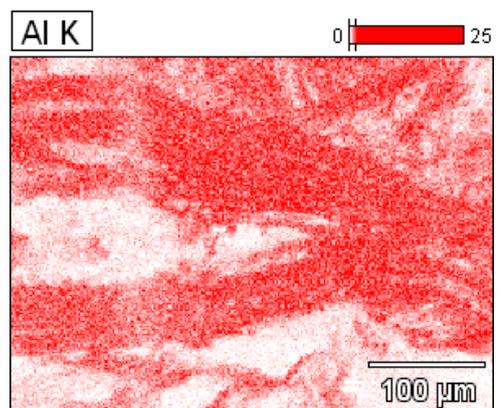
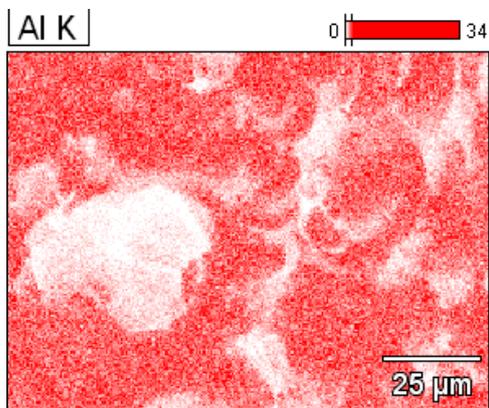
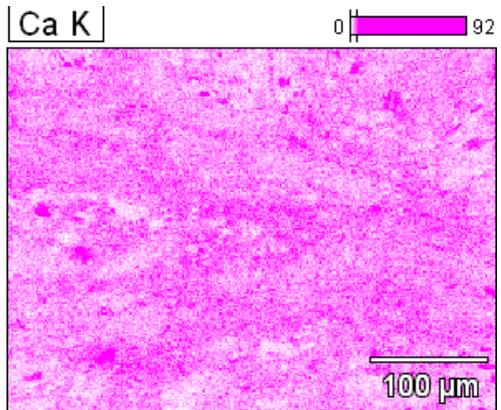
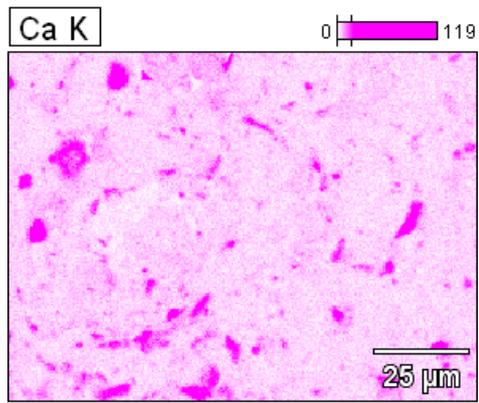
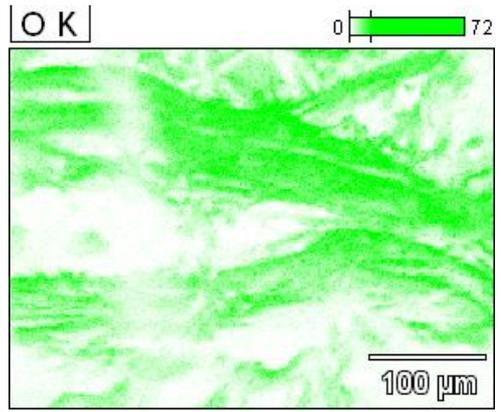
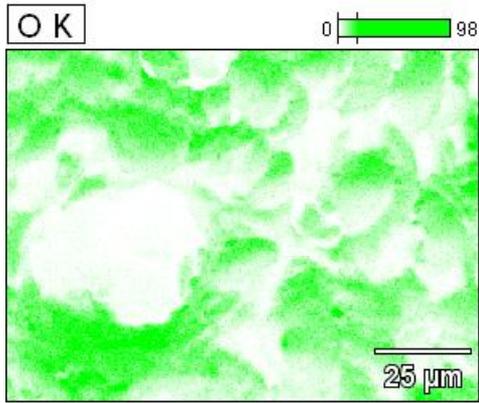
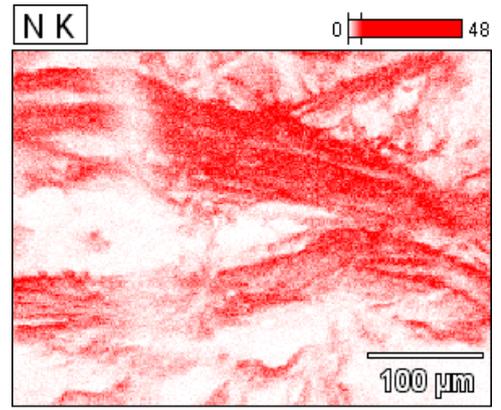
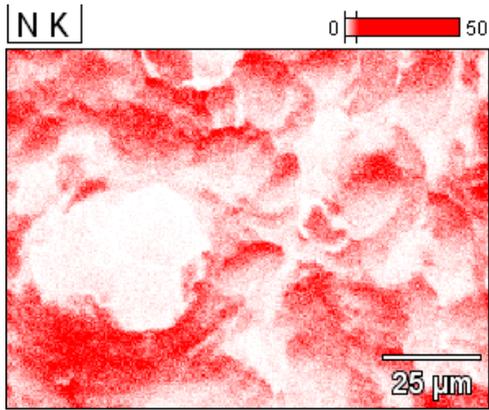


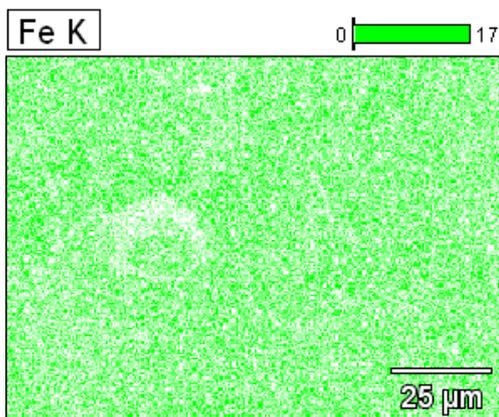
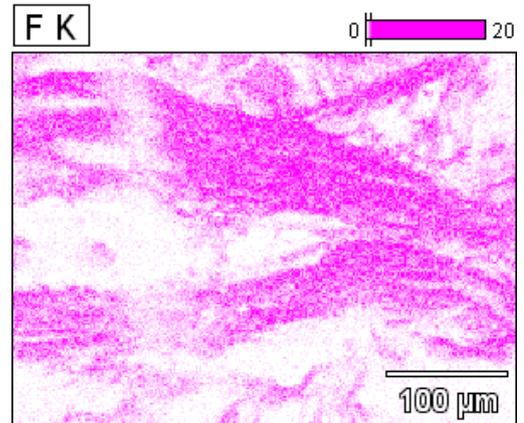
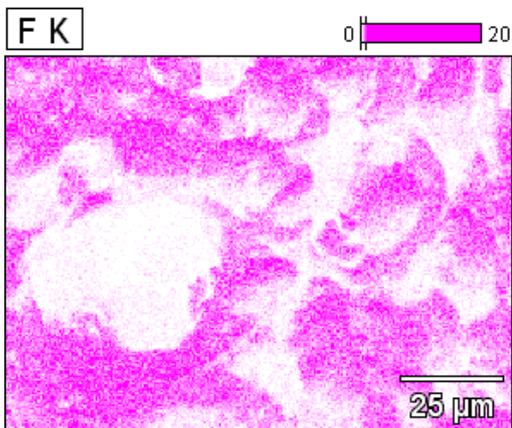
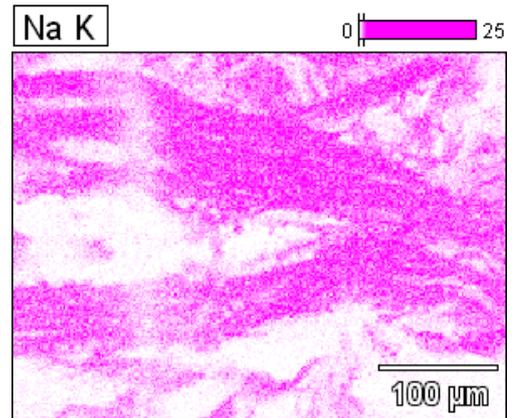
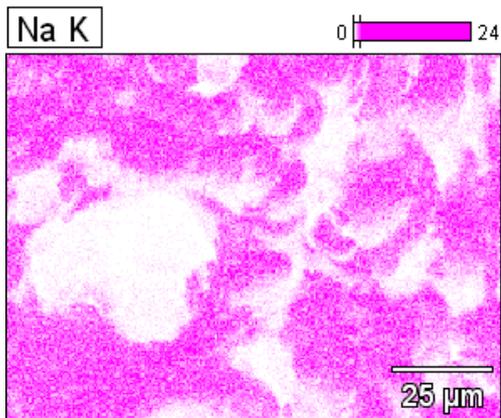
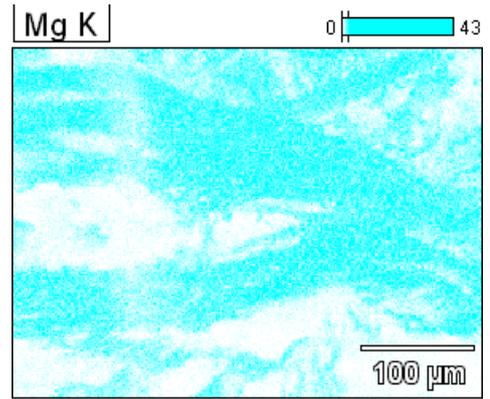
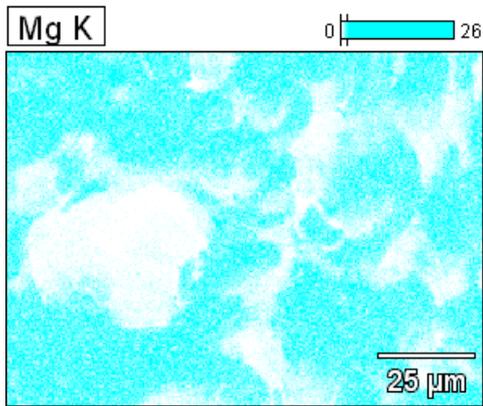
A



B







Fonte: O autor

A partir das imagens obtidas por EDX (Figura 7) foi possível observar, que tanto para o colágeno em pó como para o em fibra, a estrutura característica deste material, é composta por carbono, nitrogênio e oxigênio, uma vez que esses elementos estão representadas nas micrografias. Nota-se também, que a inserção de cálcio não foi homogênea ao longo de toda extensão do material.

É possível observar ainda (Figura 7) a presença de elementos como alumínio, magnésio, sódio e potássio em ambos os colágenos e o elemento ferro, somente no colágeno em pó. Estas diferenciações podem ser devido aos métodos de obtenção dos colágenos.

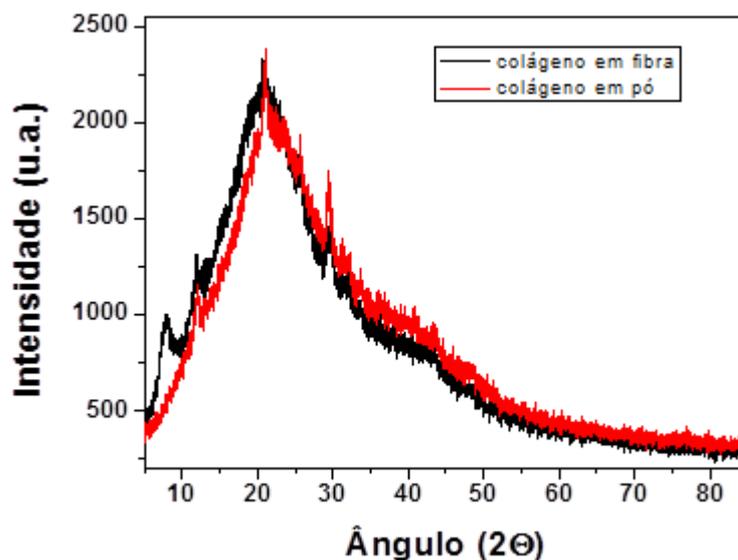
Na literatura não foi encontrado estudos que analisaram por esta metodologia os componentes presentes no colágeno, sendo difícil a comparação. Desta forma, os resultados do presente estudo vem a contribuir para enriquecer a literatura nesse assunto.

4.1.5 Difração de Raios X (DRX)

Raios X são radiações eletromagnéticas de curto comprimento de onda produzidas pela desaceleração de elétrons de alta energia ou pela transição eletrônica envolvendo elétrons nos orbitais internos dos átomos. A difração acontece quando um feixe paralelo de radiação passa por uma fenda ou orifício e corresponde à mudança de direção de uma onda por centros de espalhamento cujos espaçamentos são aproximadamente do mesmo tamanho do comprimento de onda da radiação eletromagnética. Considerando que os cristais apresentam um reticulado ordenado com os espaçamentos conhecidos como d_{hkl} entre os planos de átomos (hkl), é possível a ocorrência de difração nestes planos cristalinos desde que o comprimento de onda da radiação seja da ordem de 0,1nm. Desta forma, é possível a caracterização da estrutura cristalina de um material através da difração de raios X (MANSUR, 2006).

A técnica de difração de raios X (DRX) possibilita a caracterização da estrutura cristalina de um material (MANSUR, 2006). Isso ocorre devido a cada sólido cristalino ter seu padrão único de difração de raios X, o qual pode ser usado como uma “impressão digital” para sua identificação. A Figura 8 apresenta os padrões de DRX para o colágeno fibra e colágeno pó.

Figura 8 - Padrões de DRX dos colágenos (—) em pó e (—) em fibra.



Fonte: O autor.

É possível observar (Figura 8) que os espectros de raios X para os dois tipos de colágeno, fibra e pó, são muito semelhantes. Foram obtidos para o colágeno em fibra picos preponderantes com 2θ em aproximadamente 7°, 25° e 30° e, para o colágeno em pó, picos preponderantes com 2θ em aproximadamente 25° e 30°, os quais são concordantes com os valores reportados para colágeno reticulado (JARDIM et al., 2008), característico de material amorfo. Porém, os resultados indicam que o colágeno em forma de pó é mais amorfo do que o colágeno em fibra.

Moreira (2014) avaliou a estrutura do colágeno na forma de gel através de DRX, e obteve um perfil da curva típico de um material amorfo, apresentando apenas um halo largo em 2θ variando de 20-50°, resultados semelhantes ao do presente estudo.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS FORMULAÇÕES DE HAMBÚRGUERES

4.2.1 Características físico-químicas

Os valores médios da composição química e os respectivos desvios padrões de proteína, gordura, umidade e hidroxiprolina avaliados nas diferentes formulações

de hambúrgueres no 1º dia de armazenamento encontram-se na Tabela 3.

Observa-se que para proteína os valores variaram de 16,73 (T2) a 17,83 % (T4). Resultados estes inferiores ao reportado por Rodríguez-Carpena et al. (2012), que encontraram teor proteico de 22,09 % em hambúrguer suíno convencional, sendo a variação decorrente de diferenças de matéria prima utilizada ou até mesmo quantidade de água e gordura adicionado na formulação.

As formulações T1 e T3 adicionadas de 0,75 % de colágeno fibra e colágeno pó, não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao padrão, respectivamente. Enquanto que as formulações T2 e T4 adicionadas de 1,5 % de colágeno fibra e pó apresentaram teores de proteína superiores ($p < 0,05$). Os resultados apresentados para os teores de proteína das formulações de hambúrgueres nos levam a supor que a adição de 1,5 % de colágeno independente se fibra ou pó levou a um acréscimo nos teores de proteína. Estes resultados estão em concordância com o observado por Olivo e Shimokomaki (2001) e Prestes et al. (2013c), o qual também relataram um aumento no teor total de proteínas em produtos adicionados colágeno bovino.

Tabela 3 – Teor de proteína, lipídeos, umidade, hidroxiprolina para as formulações de hambúrgueres no 1º dia de armazenamento.

Formulações	Proteína (g/100g)	Lipídeos (g/100g)	Umidade (g/100g)	Hidroxiprolina (g/100g)
Padrão	16,93 ^b ±0,08	8,22 ^d ±0,09	67,71 ^a ±0,18	0,16 ^d ±0,05
T1	17,05 ^b ±0,06	9,49 ^{bc} ±0,17	67,52 ^b ±0,07	0,34 ^c ±0,05
T2	17,67 ^a ±0,24	9,66 ^b ±0,09	68,01 ^a ±0,18	0,42 ^b ±0,05
T3	16,73 ^b ±0,09	10,15 ^a ±0,12	67,55 ^b ±0,09	0,35 ^c ±0,04
T4	17,83 ^a ±0,14	9,2 ^c ±0,16	67,80 ^a ±0,13	0,77 ^a ±0,03

Médias (±desvio padrão) seguidas letras iguais nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey com 95 % de confiança; Padrão – 4 % de proteína de soja; T1 – 0,75% de colágeno fibra e 3,25% de proteína de soja; T2 – 1,5% de colágeno fibra e 2,5% de proteína de soja; T3 - 0,75% de colágeno em pó e 3,25% de proteína de soja; T4 – 1,5% de colágeno em pó e 2,5% de proteína de soja.

Para o teor de lipídeos, observa-se que houve variação entre as formulações com valores de 8,22 (padrão) a 10,15 % (T3), sendo que a T3 apresentou teor de lipídios estatisticamente superior ($p < 0,05$) quando comparada as demais formulações. As variações no teor de lipídeos observadas nas formulações ocorreram possivelmente devido a variações no grau de refile das matérias-primas.

Os valores de lipídeos obtidos neste estudo foram inferiores aos obtidos por Borba et al. (2013), para hambúrguer de carne de frango (11,89 %) e para hambúrguer cru de carne bovina (18,31 %).

O regulamento técnico de identidade e qualidade de hambúrguer estabelecido pela legislação brasileira vigente exige teor mínimo de 15 % para proteínas e máximo de 23 % para lipídios (BRASIL, 2000). Com relação a esses padrões, todas as formulações desenvolvidas neste estudo encontram-se de acordo com a legislação.

Apesar das formulações T2 e T4 com a adição de 1,5 % de colágeno em fibra e em pó, respectivamente não apresentarem diferença significativa em comparação à formulação padrão (Tabela 3), observa-se que ambas apresentaram valores de umidade levemente superiores apresentando uma correlação positiva fato este comprovado pelos valores obtidos na análise dos componentes principais (Figura 10). Esses resultados justificam-se devido alta capacidade que o colágeno possui na retenção de água evitando possíveis perdas de água durante o processo de congelamento. Bueno (2008), avaliou a utilização de 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.

Os teores de umidade encontradas neste estudo foram semelhantes aos obtidos para hambúrguer de frango (67,73 %) e superiores as de hambúrgueres bovino (60,29 %) em estudo realizado por Borba et al. (2013).

O teor de hidroxiprolina é usado como parâmetro para estabelecer a quantidade de colágeno na carne e produtos cárneos (SCHILLING et al., 2003). Para o aminoácido hidroxiprolina foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) para as formulações desenvolvidas (Tabela 3). Todas as formulações adicionadas de colágeno apresentaram valores superiores de hidroxiprolina quando comparadas com o padrão, sendo que as formulações T1 e T3 adicionadas de 0,75 % de colágeno fibra e 0,75 % colágeno pó, não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre si

Observa-se ainda, que a formulação T4 com a adição de 1,5 % de colágeno pó foi o que apresentou o maior teor de hidroxiprolina (0,77 g/100g), teor este cerca de 4,80 vezes superior à formulação padrão.

Os resultados encontrados estão de acordo com os obtidos por Prestes (2011), onde as formulações de presunto de frango que foram adicionadas de mistura de colágenos apresentaram maiores valores de hidroxiprolina. 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.

Os teores de hidroxiprolina do presente estudo foram superiores aos obtidos por Messia et al. (2008) em mortadela tipo Bologna elaborada com a adição de colágeno purificado que foi de (0,13 %).

Tabela 4 - Valores da dureza, perda de peso na chapa e forno das formulações de hambúrgueres no 1º dia de armazenamento.

Formulações	Dureza (gf)	Perda de peso no forno (%)	Perda de peso na chapa (%)
Padrão	6089,03 ^b ±533,86	36,15 ^{bA} ±0,77	32,69 ^{bB} ±0,92
T1	7761,95 ^b ±627,65	41,90 ^{aA} ±0,68	26,50 ^{dB} ±0,05
T2	8741,94 ^a ±245,26	32,55 ^{cA} ±0,03	26,13 ^{dB} ±0,49
T3	6018,72 ^b ±246,09	23,82 ^{dB} ±0,51	27,49 ^{cA} ±0,64
T4	6549,00 ^b ±257,44	41,10 ^{aA} ±0,06	37,49 ^{aB} ±0,42

Médias (±desvio padrão) seguidas letras iguais minúsculas/colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey com 95 % de confiança; Médias (±desvio padrão) seguidas letras iguais maiúsculas/linhas não diferem significativamente pelo teste de "t student" com 95 % de confiança; Padrão – 4 % de proteína de soja; T1 – 0,75% de colágeno fibra e 3,25% de proteína de soja; T2 – 1,5% de colágeno fibra e 2,5% de proteína de soja; T3 - 0,75% de colágeno em pó e 3,25% de proteína de soja; T4 – 1,5% de colágeno em pó e 2,5% de proteína de soja.

Observa-se na Tabela 4 que no tempo inicial a formulação T2 (1,5 % de colágeno fibra) apresentou uma maior ($p < 0,05$) dureza, o que também pode ser visualizado na Figura 10. Fato que pode ser explicado que teores elevados de colágenos, em emulsionados pode aumentar o rendimento e rigidez, levando a redução da estabilidade da massa (Prestes, 2013).

Em estudo realizado por Meullenet et al. (1994) em salsichas de frango, foi verificado que a adição de fibras de colágeno aumentou a resistência e a tensão de cisalhamento, o qual está altamente correlacionada com a dureza.

As perdas de peso das amostras de hambúrguer no 1º dia de armazenamento pelo método de forno convencional, de maneira geral, foram superiores (exceto a formulação 3) aos obtidos pelo método em chapa.

Ressalta-se que a formulação T3 foi a que apresentou menor perda de peso. Este resultado pode ser melhor visualizado pela análise multivariada apresentada na Tabela 6 e Figura 10.

4.2.2 Análise sensorial

A Tabela 5 e Figura 9 apresentam os resultados do perfil de características sensoriais das formulações de hambúrgueres. Foi possível verificar que houve diferença significativa ($p < 0,05$), entre as formulações.

De forma geral, a formulação T3 elaborada com 0,75 % de colágeno pó foi o que em todos os atributos, apresentou maior pontuação em comparação com os demais formulações, ou seja, foi a que obteve maior aceitabilidade pela equipe de provadores. Em contrapartida, a formulação padrão foi a que recebeu as menores notas pelos avaliadores. Para o atributo sabor observa-se que todas as formulações desenvolvidas com colágeno apresentaram notas superiores quando comparada ao padrão, porém não diferindo ($p < 0,05$) das formulações com colágenos.

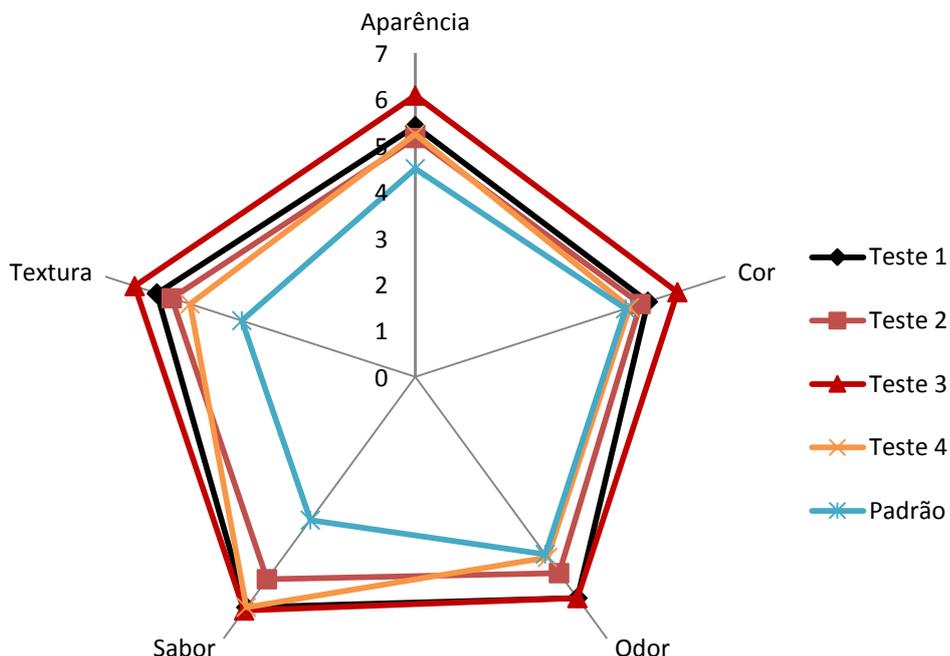
Tabela 5 - Perfil de características sensoriais das formulações de hambúrgueres no 1º dia de armazenamento.

Amostras	Atributos Sensoriais*				
	Aparência	Cor	Odor	Sabor	Textura
T1	5,42 ^{ab}	5,25 ^{ab}	5,92 ^a	6,17 ^a	5,83 ^{ab}
T2	5,17 ^{ab}	5,08 ^{ab}	5,25 ^{ab}	5,42 ^a	5,5 ^{ab}
T3	6,08 ^a	5,92 ^a	5,93 ^a	6,25 ^a	6,33 ^a
T4	5,25 ^{ab}	4,83 ^b	4,83 ^b	6,17 ^a	5,08 ^b
Padrão	4,5 ^b	4,75 ^b	4,75 ^b	3,83 ^b	3,97 ^c

* Médias seguidas de letras iguais nas colunas indicam não haver diferença significativa á nível de 5% (Teste de Tukey). (Padrão – 4 % de proteína de soja; T1 – 0,75% de colágeno fibra e 3,25% de proteína de soja; T2 – 1,5% de colágeno fibra e 2,5% de proteína de soja; T3 - 0,75% de colágeno em pó e 3,25% de proteína de soja; T4 – 1,5% de colágeno em pó e 2,5% de proteína de soja).

No perfil visualizado pela Figura 9, verifica-se que a Formulação T3 foi o que se sobressaiu das demais nos atributos sensoriais de cor, aparência e textura.

Figura 9 - Perfil de Características das formulações de hambúrgueres.



Os resultados obtidos indicam uma boa aceitação pelos consumidores pelo hambúrguer elaborado com colágeno, visto que as formulações T1, T2, T3 e T4 obtiveram notas superiores à formulação padrão (Tabela 5 e Figura 9). Em geral, a substituição de proteína de soja por colágeno em hambúrgueres não foi recebido negativamente pelos provadores. Supõe-se que estes substitutos aumentou a aceitabilidade dos hambúrgueres, melhorou as características físicas, principalmente para a formulação T3.

Resultado semelhante ao presente estudo foi também relatado por Benelli et al (2015), o qual utilizaram emulsão de pele suína como substituto parcial de proteína de soja em formulação de mortadela e verificaram a mortadela com adição da emulsão apresentou 71,4 % de aceitação pelos julgadores.

Michelini et al. (2008) avaliaram os efeitos da adição de colágeno hidrolisado e fibra de colágeno sobre a aceitação de hambúrguer bovino com baixo teor de gordura. Dentre as formulações testadas houve uma boa aceitação pelos consumidores pelo hambúrguer com fibra de colágeno.

Daigle et al. (2005), realizaram análise sensorial em produtos cárneos fabricados com carne PSE de peru e adição de hidrocolóides como carragena, colágeno e proteína de soja e não detectaram diferenças sensoriais ($p > 0,05$) entre

todos os tratamentos. De acordo com os autores a adição 1,5 % de colágeno, 0,3 % de carragena e 1,5 % de proteína de soja concentrada não afetou a aceitação dos consumidores.

Prestes (2011) estudou os efeitos da adição de colágeno na qualidade de presunto de frango. 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 do que a aparência de produto com grandes pedaços de carne.

4.2.3 Análise multivariada: características físico-químicas e sensoriais

A Tabela 6 e Figura 10 apresentam a correlação de Pearson e análise dos componentes principais (ACP) das variáveis físico-químicas e sensoriais das formulações no 1º dia de armazenamento, respectivamente.

Tabela 6 - Matriz de correlação de Pearson para as variáveis proteína, gordura, umidade, hidroxiprolina, dureza, perda de peso no forno e na chapa, aparência, cor, odor, sabor e textura para as formulações de hambúrgueres no 1º dia de armazenamento.

Variáveis	Proteína	Gordura	Umidade	Hidroxiprolina	Dureza	Perda chapa	Perda Forno	Aparência	Cor	Odor	Sabor	Textura
Proteína	1											
Gordura	-0,021	1										
Umidade	0,556	-0,128	1									
Hidroxiprolina	0,666	0,116	0,102	1								
Dureza	0,424	0,267	0,407	-0,024	1							
Perda de peso chapa	0,338	-0,549	0,156	0,568	-0,53	1						
Perda de peso no forno	0,521	0,482	0,078	0,418	0,17	0,529	1					
Aparência	-0,28	0,705	-0,354	0,006	-0,056	-0,288	-0,425	1				
Cor	-0,588	0,635	-0,52	-0,253	-0,235	-0,525	-0,722	0,557	1			
Odor	-0,419	0,65	-0,442	-0,417	-0,2095	-0,669	-0,342	0,584	0,639	1		
Sabor	0,173	0,748	-0,316	0,353	0,169	-0,179	0,000	0,534	0,33	0,514	1	
Textura	-0,102	0,901	-0,216	-0,032	0,185	-0,547	-0,379	0,563	0,582	0,759	0,767	1

Valores em negrito são diferentes um nível de significância 95% (alfa de 0,05).

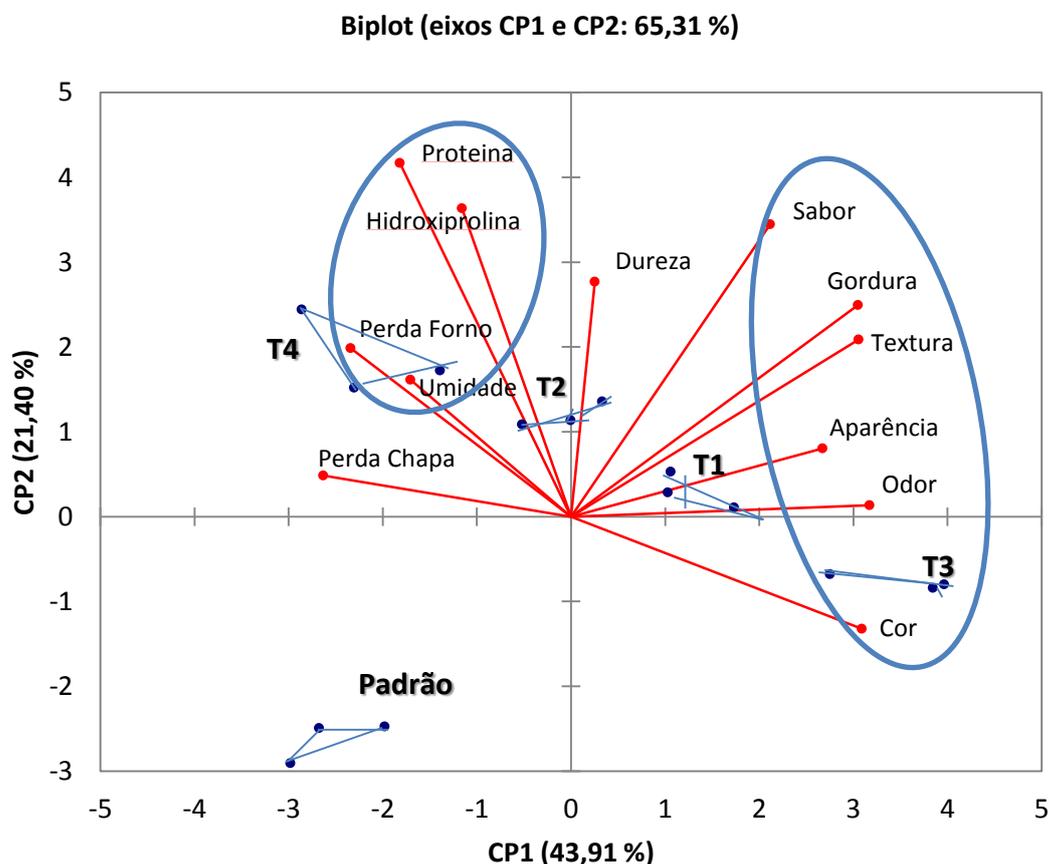
No gráfico (Figura 10) da Análise dos Componentes Principais (ACP), as variáveis são representados como vetores, os quais caracterizam as amostras/formulações que se localizam próximas a eles. Quanto mais longo o vetor,

melhor a explicação da variabilidade entre as amostras/formulações. As amostras (formulações) são representadas por triângulos, sendo cada vértice uma repetição. Observa-se que houve boa discriminação entre as formulações.

Pela análise da Figura 10, a primeira (CP1) e segunda (CP2) dimensão explicaram 65,31 % da variância total. O componente principal 1 (CP1) respondeu por 43,91 %, enquanto ao componente principal 2 (CP2) por 21,40 %.

Os valores obtidos por meio de correlação de Pearson (Tabela 5) confirmam a relação entre os parâmetros observados na análise de componentes principais (Figura 10), sendo que a proteína apresenta correlação positiva ($p < 0,05$) em relação ao teor de hidroxiprolina, perda de peso no forno e umidade, de 0,666; 0,521 e 0,556, respectivamente. A amostra T4 é a que se localiza mais próxima a estes vetores, o que também é confirmado pelos valores apresentados na Tabela 3, ou seja, a formulação T4 que apresentou maiores teores de proteína (17,8 %) e hidroxiprolina (0,77%).

Figura 10 - Análise dos Componentes Principais (ACP) das formulações de hambúrgueres no 1º dia de armazenamento. (Padrão – 4 % de proteína de soja; T1 – 0,75% de colágeno fibra e 3,25% de proteína de soja; T2 – 1,5% de colágeno fibra e 2,5% de proteína de soja; T3 - 0,75% de colágeno em pó e 3,25% de proteína de soja; T4 – 1,5% de colágeno em pó e 2,5% de proteína de soja).



Há também forte correlação (Tabela 6) da textura em relação ao teor de gordura, aparência, cor, odor e sabor, respectivamente. A amostra T3 (Figura 10) é a que se localiza próxima a estes vetores, sendo a formulação T3 (0,75% de colágeno em pó e 3,25 % de proteína de soja) a que se sobressaiu no perfil de características sensoriais (Tabela 5 e Figura 9).

4.2.4 Caracterização histológica

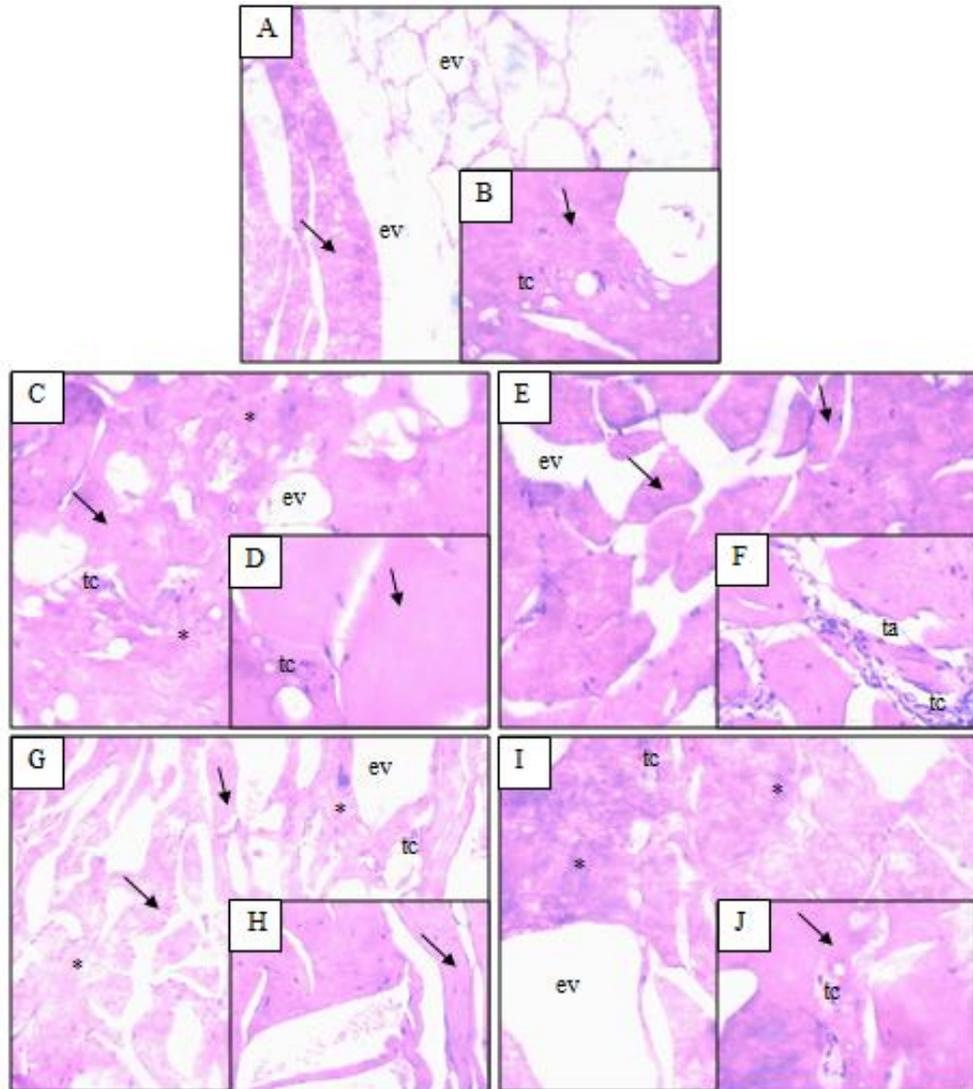
Através da utilização dos métodos histológicos foi possível a análise qualitativa da presença de tecido muscular, tecido adiposo e tecido conjuntivo. Pode-se visualizar na Figura 11 as fotomicrografias obtidas pelo método de Hematoxilina-Eosina das formulações de hambúrgueres aos 90 dias de armazenamento.

De acordo com a Figura 11, amostra padrão (A, B) mostra tecido muscular (setas) associado ao tecido conjuntivo denso (tc). Pode-se notar presença espaços vazios (ev) entre os tecidos musculares, separado dos demais tecidos e/ou espaços aonde havia tecido adiposo. Sendo classificado segundo sua organização celular como “bom”, mas sem consistência. Porém, é a amostra que apresentou sensorialmente (Tabela 4 e Figura 9) a pior textura.

A formulação T1 (C, D) apresenta intensa desestruturação tecidual (*) mostrada pelos espaços vazios (ev) disperso entre as células musculares (setas), podendo ser tecido adiposo e também apresentou tecido conjuntivo denso (tc). Sendo classificado segundo sua organização celular como “ruim”. A amostra da formulação T2 (E, F) mostra a organização das células musculares com núcleos periféricos (setas) e com algumas células adiposas (ta). Presença de tecido conjuntivo não emulsionado e com espaços entre os tecidos conjuntivos. Sendo classificado segundo sua organização celular como “bom”. A amostra da formulação T3 (G, H) mostra intensa desorganização tecidual (*) por não apresentar distinção entre os tecidos muscular (setas), conjuntivo e adiposo. Sendo classificado segundo sua organização celular como “muito ruim”. Porém, característico de material emulsionado.

Na amostra da formulação T4 (I, J) observa-se uma intensa conexão tecidual, mas com pouca distinção de tecido adiposo, muscular e conjuntivo(*). Sendo classificado segundo sua organização celular como “ruim”, mas com consistência.

Figura 11 - Fotomicrografias das formulações de hambúrgueres com um detalhe a direita. Amostra padrão (A, B); Formulação 1 (C, D); Formulação 2 (E, F); Formulação 3 (G, H); Formulação T4 (I, J); Tecido muscular (setas); tecido adiposo (ta); tecido conjuntivo (tc). Desorganização tecidual (*); espaços vazios (ev). Hematoxilina e eosina. 10x e 25x, respectivamente.



Na literatura são escassos estudos que avaliaram a caracterização histológica de hambúrgueres. Teixidor (2006) e Prestes et al. (2013c), abordaram a técnica Hematoxilina-Eosina para verificar a estrutura tecidual de presuntos suínos e de frangos, respectivamente. De acordo com Prestes et al. (2013c) a avaliação histológica dos presuntos mostrou a existência do colágeno natural presente na própria carne e o aumento da quantidade de colágeno distribuído no produto final quando este ingrediente foi adicionado na formulação.

4.3 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES DE HAMBÚRGUERES

A avaliação da estabilidade das formulações de hambúrgueres foi realizada no 1º, 30º, 60º e 90º dia de armazenamento a – 9 °C mediante as determinações da oxidação de lipídeos (TBARS), dureza, perda de peso após cocção em forno convencional e chapa elétrica.

4.3.1 Oxidação lipídica (TBARS)

A Tabela 7 apresenta os resultados obtidos de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico - TBARS para as diferentes formulações de hambúrgueres no tempo inicial, 30, 60 e 90 dias de armazenagem – 9 °C.

Tabela 7 - Evolução da oxidação lipídica - TBARS (mg malonaldeído- MA/kg-1) ao longo de 90 dias de armazenamento – 9 °C.

Formulações	TBARS (mg MA/kg)			
	1º dia	30º dia	60º dia	90º dia
Padrão	0,56 ^{aB} ±0,02	0,46 ^{cD} ±0,01	0,53 ^{cC} ±0,01	1,60 ^{aA} ±0,01
T1	0,35 ^{dD} ±0,01	0,46 ^{cC} ±0,01	0,66 ^{aB} ±0,01	0,84 ^{bA} ±0,07
T2	0,45 ^{cD} ±0,01	0,49 ^{bC} ±0,01	0,55 ^{bB} ±0,01	0,59 ^{cA} ±0,05
T3	0,56 ^{aA} ±0,01	0,56 ^{aA} ±0,01	0,57 ^{bA} ±0,04	0,56 ^{cA} ±0,01
T4	0,52 ^{bB} ±0,01	0,39 ^{dC} ±0,01	0,56 ^{bB} ±0,03	0,80 ^{bA} ±0,01

Médias (±desvio padrão) seguidas de letras iguais minúsculas/maiusculas nas colunas/linhas não diferem significativamente pelo teste de Tukey com 95% de confiança. (Padrão – 4 % de proteína de soja; T1 – 0,75% de colágeno fibra e 3,25% de proteína de soja; T2 – 1,5% de colágeno fibra e 2,5% de proteína de soja; T3 - 0,75% de colágeno em pó e 3,25% de proteína de soja; T4 – 1,5% de colágeno em pó e 2,5% de proteína de soja).

A formulação T3 foi a que obteve menor índice oxidação lipídica (TBARS) aos 90 dias de armazenamento a -9 °C, seguida da formulação T2, com valores de 0,56 e 0,59 mg de MA/kg, respectivamente. As formulações T1 e T4 apresentaram os maiores valores de 0,84 e 0,80 mg de MA/kg, respectivamente, não diferindo entre si ($p>0,05$), mas diferiram das demais amostras. A formulação T3 foi a única que não apresentou diferença significativa no decorrer dos dias de armazenamento, ou seja, do tempo inicial até 90 dias, mantendo-se estável.

No entanto, a amostra padrão foi a que apresentou maior valor de TBARs, 1,60 mg de MA/kg aos 90 dias de armazenamento e diferindo ($p < 0,05$) das demais amostras.

Na literatura são poucos os trabalhos que relatam a evolução da oxidação lipídica de hambúrgueres. Em um estudo da elaboração de hambúrguer proveniente da paleta de cordeiros, Zeola et al. (2012) encontraram valores de TBAR de 1,84 mg de MA/kg pelo método de cocção por forno convencional (170°C), valor este acima dos encontrados neste estudo.

Resultados semelhantes foram encontrados por Almeida (2011) com índices de TBARs que variaram entre 0,52 a 0,74 mg de MA/kg em amostras de hambúrguer de carne de caprino da raça Anglo Nubiana com diferentes níveis de farinha de aveia de 0, 2 e 4 %, durante 5 meses de estocagem a -18°C.

4.3.2 Textura instrumental – Dureza (Hardness)

A Tabela 8 apresenta os resultados para o dureza (gf) das diferentes formulações dos hambúrgueres durante o armazenamento. Pode-se observar que no decorrer dos dias de armazenamento houve oscilação da textura para as formulações T1, T2, T3 e T4, sendo que apenas a amostra padrão apresentou aumento gradativo da dureza com o passar dos dias. Aos 90 dias de armazenamento não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras, ou seja, os tipos de colágenos testados neste estudo não interferiram na textura instrumental dos hambúrgueres.

Tabela 8 - Evolução de Dureza (gf) ao longo de 90 dias de armazenamento.

Amostras	Dureza (gf)			
	1ºdia	30ºdia	60ºdia	90ºdia
Padrão	6089,03 ^{bd} ±533,86	6720,77 ^{bc} ±343,50	8264,80 ^{bb} ±112,26	9713,63 ^{aa} ±566,65
T1	7761,95 ^{bc} ±627,65	9522,17 ^{aa} ±35,87	6172,99 ^{dd} ±202,51	9243,60 ^{ab} ±51,52
T2	8741,94 ^{ab} ±245,26	9152,88 ^{aa} ±104,99	6832,83 ^{cc} ±328,97	8198,59 ^{ab} ±831,80
T3	6018,72 ^{bb} ±246,09	5562,91 ^{bc} ±219,90	9187,86 ^{aa} ±351,57	6329,80 ^{ab} ±99,82
T4	6549,00 ^{bb} ±257,44	6150,35 ^{bb} ±7,47	7316,33 ^{ca} ±101,14	7371,43 ^{aa} ±461,00

Médias (±desvio padrão) seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem significativamente pelo teste de Tukey com 95% de confiança. (Padrão – 4 % de proteína de soja; T1 – 0,75% de colágeno fibra e 3,25% de proteína de soja; T2 – 1,5% de colágeno fibra e 2,5% de proteína de soja; T3 - 0,75% de colágeno em pó e 3,25% de proteína de soja; T4 – 1,5% de colágeno em pó e 2,5% de proteína de soja).

Os valores de dureza de hambúrgueres neste estudo estão abaixo da faixa de dureza de 23.280 a 42.140 gf relatado para hambúrgueres de carne bovina por Ganhão et al., (2010). Fernández-López et al. (2006) obteve uma gama de valores de dureza de 3.207,46 para 11.364,49 gf para hambúrgueres de avestruz, e Coelho et al.(2007) relataram valores de 5.816 a 8.143 gf para hambúrgueres de peixe. Segundo Kassama et al.(2003) ingredientes não-cárneos adicionados à formulação de hambúrguer contribuiu para as propriedades de textura, segundo os autores a adição de proteína de soja aumenta a dureza e coesão.

Pereira et al. (2011) no estudo de salsichas tipo Frankfurter com fibra de colágeno, verificou que a textura (dureza) das salsichas foi influenciada pela quantidade de fibra adicionada à formulação de carne, ou seja, maior teor de fibras de colágeno maior a dureza (hardness) nas salsichas, independentemente do teor da carne de frango mecanicamente desossada.

No desenvolvimento de diferentes formulações de hambúrguer funcional de carne bovina, Vidal et al. (2014) encontraram os melhores resultados utilizando fibra de trigo com maior granulometria (Fibra 200) a qual permitiu a manutenção da textura próxima do padrão (sem fibra) e menores perdas por cocção, quando comparado com o produto adicionado da fibra de menor granulometria (Fibra 600/30).

4.3.3 Perda de peso

As Tabelas 9 e 10 e Figura 12 apresentam a perda de peso dos hambúrgueres durante o armazenamento a -9 °C, e posteriormente submetido a cocção em forno convencional e por chapa, respectivamente.

Tabela 9 - Perda de peso (%) por forno convencional avaliado após diferentes períodos de armazenamento a -9 °C.

Amostras	Perda de peso em forno convencional (%)			
	1ºdia	30ºdia	60ºdia	90ºdia
Padrão	36,15 ^{bA} ±0,77	21,9 ^{bC} ±0,43	32,43 ^{bB} ±0,87	35,09 ^{aA} ±0,29
T1	41,90 ^{aA} ±0,68	32,55 ^{aC} ±1,13	40,61 ^{aB} ±0,45	30,13 ^{cD} ±0,25
T2	32,55 ^{cA} ±0,03	28,07 ^{bC} ±0,54	31,01 ^{bB} ±0,92	30,16 ^{cB} ±0,23
T3	23,82 ^{dB} ±0,51	20,22 ^{dC} ±0,93	23,99 ^{cB} ±0,54	32,49 ^{bA} ±0,38
T4	41,10 ^{aA} ±0,06	24,14 ^{bD} ±0,81	31,38 ^{bB} ±0,37	29,33 ^{cC} ±1,01

Médias (±desvio padrão) seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem significativamente pelo teste de Tukey com 95% de confiança. (Padrão – 4 % de proteína de soja; T1 – 0,75% de colágeno fibra e 3,25% de proteína de soja; T2 – 1,5% de colágeno fibra e 2,5% de proteína de soja; T3 - 0,75% de colágeno em pó e 3,25% de proteína de soja; T4 – 1,5% de colágeno em pó e 2,5% de proteína de soja).

Tabela 10 - Perda de peso (%) por chapa avaliado após diferentes períodos de armazenamento a -9 °C.

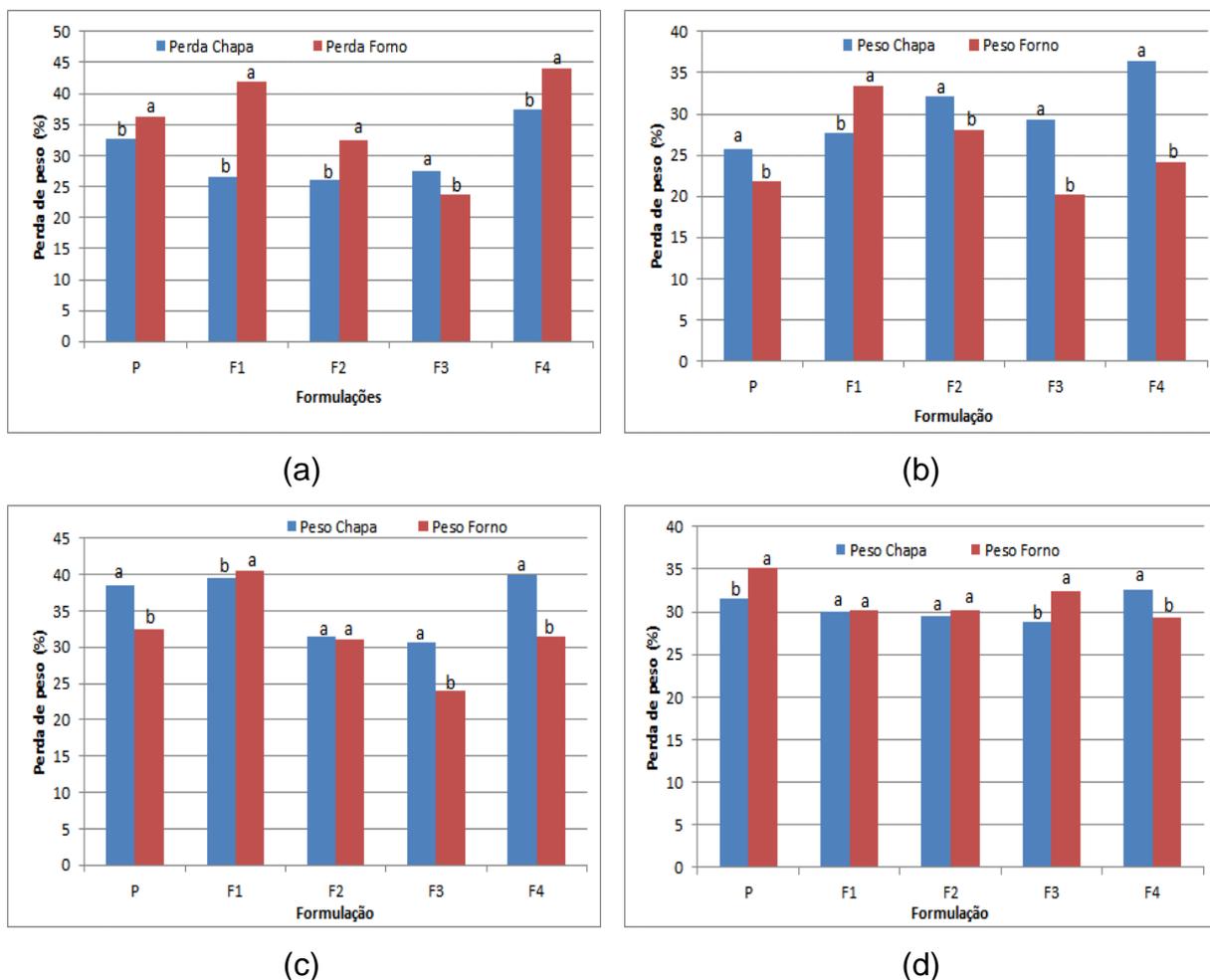
Amostras	Perda de peso em chapa (%)			
	1ºdia	30ºdia	60ºdia	90ºdia
Padrão	32,69 ^{bB} ±0,92	25,80 ^{dC} ±1,10	38,47 ^{aA} ±1,17	32,13 ^{aB} ±0,36
T1	26,50 ^{dD} ±0,05	27,61 ^{cdC} ±0,32	39,47 ^{aA} ±0,48	29,01 ^{bB} ±0,32
T2	26,13 ^{dB} ±0,49	32,05 ^{bA} ±0,24	32,24 ^{bA} ±1,44	29,79 ^{bA} ±0,75
T3	27,49 ^{cA} ±0,64	29,28 ^{cA} ±1,45	30,60 ^{bA} ±0,76	28,60 ^{bA} ±0,35
T4	37,49 ^{aB} ±0,42	36,38 ^{aC} ±0,55	39,96 ^{aA} ±0,42	30,08 ^{aD} ±0,82

Médias (±desvio padrão) seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem significativamente pelo teste de Tukey com 95% de confiança. (Padrão – 4 % de proteína de soja; T1 – 0,75% de colágeno fibra e 3,25% de proteína de soja; T2 – 1,5% de colágeno fibra e 2,5% de proteína de soja; T3 - 0,75% de colágeno em pó e 3,25% de proteína de soja; T4 – 1,5% de colágeno em pó e 2,5% de proteína de soja).

Aos 90 dias de armazenamento as maiores perdas de peso tanto para o método por forno (Tabela 9) como para o método por chapa (Tabela 10) foram verificadas para a formulação padrão com valores de 35,09% para o método de forno e 32,13% para o método chapa. Em contrapartida observa-se que para o método de cocção por forno (Tabela 9), a formulação T4 com 1,5% de colágeno em pó foi a que apresentou a menor perda de peso com valor de 29,33%, já para o método por chapa (Tabela 10) a formulação T3 com 0,75% de colágeno em pó foi a

que apresentou menor perda de 28,60%.

Figura 12 – Perda de peso (%) da cocção em chapa e forno convencional das formulações no 1ºdia (a), 30ºdia (b), 60ºdia (c) e 90ºdia (d) de armazenamento, respectivamente.



Para o primeiro dia de armazenamento (Figura 12a) é possível observar que com exceção da formulação 3 todas as demais apresentaram maior perda de peso pelo método de cocção por forno ($p < 0,05$).

Aos 30 de armazenamento a perda de peso para as formulações apresentou variabilidade, sendo que em todas as formulações foi verificada diferença significativa ($p < 0,05$) entre os métodos de cocção aplicados. De forma geral com exceção da formulação T1 o método por chapa foi o que apresentou maior perda de peso.

Observa-se ainda que aos 60 e 90 dias de armazenamento (Figura 12c e 12d) a perda de peso para a formulação T2 em ambos os tratamentos térmicos foram similares, não apresentando diferença significativa ($p < 0,05$), resultado também

verificado com a formulação T1 aos 90 dias (Figura 12d). Verifica-se que as perdas de peso das demais amostras (P, T3 e T4) de hambúrgueres nos distintos dias de armazenamento pelo método de forno convencional e por chapa obtiveram resultados diferentes ao longo de todo o tempo de armazenamento.

Mikhail et al (2014) investigaram a utilização de resíduos vegetais, tais como (casca de ervilha, cascas de tomate e gérmen de trigo) e outros materiais vegetais, como cenoura como alternativas não tradicionais para fazer hambúrguer de frango de forma mais econômica. A maior perda de peso obtida foi de 36,17% na amostra controle (apenas com carne de frango enquanto que as demais formulações a perda de peso ficou entre 19,28 à 10,88%. De acordo com os autores a perda de peso ocorreu durante o cozimento principalmente devido à evaporação da umidade e gotejamento de gordura derretida.

Borba et al. (2013), verificaram perdas de peso mais elevadas, em hambúrguer de frango, no método micro-ondas (37,06%) e assado (35,20), a menor perda foi verificada no método frito (8,11%). Os resultados foram similares no hambúrguer de carne bovina, os quais apresentaram os maiores percentuais de perda de peso nos métodos micro-ondas (26,50%) e assado (24,06%), estes diferindo estatisticamente do tratamento frito onde encontrou-se uma perda de peso de 20,04%. Os resultados de perda de peso para os hambúrgueres assados obtidos por Borba foram semelhantes aos obtidos no presente estudo.

Rosa et al. (2006), no estudo de cortes de peito de frango, observaram que as perdas mais elevadas foram no método micro-ondas 32,49%, seguida do frito em óleo (29,18%) e assado em forno convencional (27,04%).

Segundo Potter & Hotchkiss (1995), quando se utiliza formas de aquecimento convencionais como a chama direta, o ar quente, o contato direto com a chapa e outros similares, as fontes de calor fazem com que as moléculas de alimento sejam aquecidas da superfície da peça até o interior da massa muscular, de maneira que o aquecimento ocorre em camadas sucessivas. Isso determina que o cozimento ocorra primeiramente no exterior da peça, ou seja, a coagulação das proteínas, formando um envoltório, como uma casca, que evita a perda de componentes cárneos para o exterior antes que sua temperatura interna aumente, resultando em perdas mais baixas no cozimento.

5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos durante o desenvolvimento deste trabalho, pôde-se concluir que:

Os colágenos em pó e em fibra são produtos com características distintas, principalmente em relação a sua composição proteica, teor de hidroxiprolina e força do gel. O colágeno em forma de pó é mais amorfo do que o colágeno em fibra. Em imagens de raio X – EDX, ambos os colágenos são compostos pelos elementos como o carbono, nitrogênio, oxigênio, cálcio, alumínio, magnésio, sódio e potássio. O elemento ferro somente foi constatado no colágeno em pó.

As formulações desenvolvidas com colágeno apresentaram um acréscimo nos valores de hidroxiprolina independente do tipo colágeno utilizado, sendo o maior valor verificado na formulação T4 com adição de 1,5% de colágeno pó e 2,5% de farinha de soja floculada. O teor de proteína e umidade também apresentaram um aumento nas formulações T2 e T4 adicionadas de 1,5 % de colágeno em fibra e em pó, respectivamente enquanto que para lipídeos a adição de colágeno parece não ter relação, sendo que as divergências observadas devem-se possivelmente a diferença de refile das matérias primas.

O desenvolvimento das formulações de hambúrgueres com fibra de colágeno e colágeno pó ficaram dentro dos padrões estabelecidos pela legislação brasileira, quanto aos teores de proteína e gordura.

Os resultados da análise sensorial demonstraram que a formulação elaborada com 0,75% de colágeno em pó (T3) apresentou uma maior aceitação se sobressaindo das demais formulações nos atributos de cor, aparência e textura. Em contrapartida, a análise histológica caracterizou a amostra com intensa desorganização tecidual, ou seja, característico de material emulsionado (tecido adiposo misturado ao tecido conjuntivo).

O menor índice de oxidação lipídica (TBARs) após 90 dias de armazenamento, foi obtido para a formulação T3, enquanto que a formulação padrão foi que apresentou o maior valor de TBARs (1,60 mg de MA/kg). A amostra padrão foi também a única que apresentou aumento gradativo da dureza ao longo do tempo de armazenamento.

Nas condições experimentais deste estudo, os resultados para perda de peso pelo método de forno convencional e por chapa obtiveram resultados distintos para a

maioria das formulações, mostrando que o tipo de tratamento térmico empregado interfere na perda de peso dos hambúrgueres. As formulações testadas mostraram-se promissoras na diminuição da perda de peso quando comparadas a amostra padrão.

Baseado no baixo custo e nas propriedades funcionais do colágeno a adição de colágeno provou ser uma alternativa viável para a produção de hambúrgueres podendo ser aplicado em escala industrial. O trabalho trouxe dados novos vindo a contribuir pra enriquecer a literatura que é escassa nesse assunto.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Avaliar a perda de peso (%) e encolhimento na cocção (%) das formulações de hambúrgueres em diferentes processamentos térmicos (micro-ondas, fritura).
- Desenvolver formulações utilizando mistura de colágenos (fibra e pó) variando as concentrações.
- Avaliar o potencial de aplicação de fibra de colágeno e colágeno em pó em outros produtos cárneos.

7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABPA – **Associação Brasileira de Proteína Animal**. Relatório anual 2015. Disponível em:< <http://abpa-br.com.br>>. Acesso em: 01 fev. 2016.

ALMEIDA, R. S. **Processamento de hambúrguer de carne caprina adicionados com diferentes níveis de farinha de aveia**. Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), Campus de Itapetinga – BA, 2011.

ANDRADE GI, BARBOSA-STANCIOLI EF, MANSUR AAP, VASCONCELOS WL, MANSUR HS. Design of Novel Hybrid Organic-Inorganic Nanostructured Biomaterials for Immunoassay Applications. **Biomed Materials**, v.1, p.221-234, 2006.

AYMERICH, T.; PICOUET, P. A.; MONFORT, J. M. Decontamination technologies for meat products. **Meat Science**, v. 78, p. 114-129, 2008.

BANIK, S.; BANDYOPADHYAY, S.; GANGULY, S. Bioeffects of microwave: a brief review. **Bioresource Technology**, v. 87, p. 155–159, 2003.

BARBOZA A.C.R.N., CRUZ C.V.M.S., GRAZIANI M.B.; LORENZETTI M.C.F. Aquecimento em forno de Microondas/Desenvolvimento de Alguns Conceitos Fundamentais. **Química Nova**, v.24, n.6, p.901-904, 2001.

BENELLI J, TONIAZZO G, PRESTES RC. TRES M.V. Development and utilization of pork skin emulsion in mortadella as a soy protein substitute. **International Food Research Journal**, v.22, n.5, p.2126-2132, 2015.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Introdução à química de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2003.

BORBA, C. M.; OLIVEIRA, V. R.; MONTENEGRO, K. R.; HERTZ, P. F.; VENZKE, J. G. Diferentes processamentos de hambúrguer bovino e de frango. **Alim. Nutr.= Braz. J. Food Nutr.**, Araraquara, v. 24, n. 1, p. 21-27, jan./mar. 2013.

BORBA, C. M.; OLIVEIRA, V. R.; MONTENEGRO, K. R.; HERTZ, P. F.; VENZKE, J. G. Avaliação físico-química de hambúrguer de carne bovina e de frango submetidos a diferentes processamentos térmicos. **Brazilian Journal of Food and Nutrition**, v. 24, n. 1, p. 21-27, 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria da defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº.4, de 31 de Março de 2000. Regulamento Técnico de identidade e

qualidade de Linguiça. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília 05/04/2000

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Regulamento técnico de identidade e qualidade de hambúrguer. Instrução Normativa nº 20, de 31/07/2000. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 31/07/2000.

BUENO, R.V.C.C. **Efeito da fibra de colágeno na qualidade funcional de “Cookedfrozen beef”**. 2008, 107f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2008.

CELLA, R. C. F.; REGITANO-D’ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. Comportamento do óleo de soja refinado utilizado em fritura por imersão com alimentos de origem vegetal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.22, n.2, p. 111-116, 2002.

COELHO, G., Â.; WESCHENFELDER, E.; MEINERT, R.; AMBONI; L. H. BEIRÃO. Effects of starch properties on textural characteristics of fish burgers: Sensory and instrumental approaches. **Bol. Cent. Pesqui. Process. Aliment**, v.25, p.37–50, 2007.

DAIGLE, S. P.; SCHILING, M.W.; MARIRIOT, N.G.; WANG, H.; BARBEAUS, W.E.; WILLIAMS, R.C. PSE-like turkey breast enhancement through adjunct incorporation in a chunked and formed deli roll. **Meat Science**, v. 69, n. 2, p. 319-324, 2005.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.; FENNEMA, O.R. **Química de Alimentos de Fennema**.4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

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.

DREHMER, A. M. F. **Quebra de peso das carcaças e estudo da vida de prateleiras de carne suína**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2005.

FARID, M. M.; TAHER, B. J. Cyclic microwave thawing of frozen meat: experimental and theoretical investigation. **Chemical Engineering and Processing**, v. 40, p. 379–389, 2001.

FELLOWS, P. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e práticas**. 2. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; JIMÉNEZ, S.; SAYAS-BARBERÁ, E.; SENDRA, E.; PÉREZ-ALVAREZ, J. A. quality characteristics of ostrich (*Struthio camelus*) burgers. **Meat Science**, v.73, p.295–303, 2006.

FONTAN, R.C.I.; REBOUÇAS, K.H.; VERÍSSIMO, L.A.A.; MACHADO, A.P.F.; FONTAN, G.C.R.; BONOMO, R.C.F. Influência do tipo de carne, adição de fosfato e proteína texturizada de soja na perda de peso por cocção e redução do tamanho de hambúrguer. **Alim. Nutr.**, v. 22, n. 3, p. 429-434, 2011.

FRANÇA, J.M.; WASZCZYNSKYJ, N. Teor de hidroxiprolina em peles de frango submetidas à tratamento térmico. **B. CEPPA**, v.20, n. 1, p. 19-28, 2002.

GANHÃO, R.; MORCUENDE, D.; ESTÉVEZ, M. Protein oxidation in emulsified cooked burger patties with added fruit extracts: Influence on colour and texture deterioration during chill storage. **Meat Science**, v.85, p.402–409, 2010.

GOMÉZ-GUILLÉN MC, FERNANDÉZ-DÍAZ MD, ULMO N, LIZARBE MA, 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.; FERNANDÉZ-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.

HAUTRIVE, T. P.; OLIVEIRA, V. R.; SILVA, A. R. D.; TERRA, N. N.; CAMPAGNOL, P. C. B. Análise físico-química e sensorial de hambúrguer elaborado com carne de avestruz. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.28, p. 95-101, 2008.

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.

JARDIM M, MANSUR AAP, MANSUR HS. Caracterização de Pericárdio Bovino e Serosa Intestinal Suína Reticulados para Aplicações Biomédicas. **In: V Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais** (COLAOB 2008), 2008, Ouro Preto. Anais de COLAOB 2008, v.1, p. 1-9, 2008.

KASSAMA, L.; NGADI, M.; RAGHAVAN, G. Structural and instrumental textural properties of meat patties containing soy protein. **International Journal of Food Properties**, v.6, p.519–529, 2003.

KENNEY, P. B.; KASTNER, C. L.; KROPF, D. H. Raw and pre-heated epimysium and gelatin affect properties of low-salt, low-fat, restructured beef. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 3, p. 551-444, 1992.

KROKIDA, M. K., V. OREOPOULOU E Z. MAROULIS. B. Effect of frying condition on shrinkage and porosity of fried potatoes. **Journal of Food Engineering**, v.43, p: 147-154. 2000.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, p. 680–685, 1970.

LAWRIE, R.A. **Ciência da carne**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

LEHNINGER, A.L. **Princípios de bioquímica**. 2. ed. São Paulo: Sarvier; 1995.

LUDKE, M. C. M. M.; LOPÉZ, J. Colesterol e composição dos ácidos graxos nas dietas para humanos e na carcaça suína. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 1, p.181-187, 1999.

MADRUGA, M. S; SOUSA, W. H; MENDES, M. S; BRITO, E. A. Carnes caprina e ovina no processamento e fabricação de produtos derivados. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v. 1, n. 2, p 61- 6, 2007.

MANSUR HS. **Técnicas de Caracterização de Materiais**. 1ª Ed., Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2006.

MAXIMO, G.J.; CUNHA, R.L. Mechanical properties of collagen fiber and powder gels. **JornalTexture Stud**, v.41, n.6, p. 842-62, 2010.

MENEZES, M.F.S.C.; SIMEONI, C.P.; POLETTO, G.; BARIN,J.S.; CICHOSKI, A.J.; MENEZES, C.R. Radiação micro-ondas: Aplicações em alimentos e impactos microbiológicos na carne. **Revista do Centro do Ciências Naturais e Exatas**, v. 18, p. 90-100, 2014.

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- hydroxyprloline. **Meat Science**, v.80, p.401-409, 2008.

MEULLENET, J. F., CHANG, H. C., CARPENTER, J. A.; RESSURRECCION, A. V. A. Textural properties of chicken Frankfurters with added collagen fibers. **Journal of Food Science**, v. 59, n. 4, p. 729–733, 1994.

MICHELINI, R.P.; NADAI, A.C.; KAMER, C.A.K.; SANTANA, J.; YAMADA, E.A.; ANDRADE, J.C.de; LEMOS, A.L.S.C. Elaboração de hambúrguer bovino com baixo

teor de gordura adicionado de colágeno. **Revista Nacional da Carne**, v.32, n.374, p.116-119, 2008.

MIELE, M.; WAQUIL, P.D. Cadeia produtiva da carne suína no Brasil. **Revista de política agrícola**, n.3, p.75-87, Jan./Fev./Mar. 2007.

MIKHAIL, W.Z.A.; SOBHAY, H.M.; KHALLAF, M.F.; ALI, H.M.Z.; EL-ASKALANY, S.; EL-DIN, M.M. Suggested treatments for processing high nutritive value chicken burger. **Annals of Agricultural Science**, v.59, n.1, p.41-45, 2014

MOREIRA, C. D. F. **Avaliação da adição de colágeno tipo I e nanopartículas de vidro bioativo a hidrogéis termossensíveis de quitosana para uso na engenharia de tecido**. 91f. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

MOTZER, E. A.; CARPENTER, J. A.; LYON, C. E. Quality of restructured hams manufactured with PSE pork as affected by water binders. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 63, n. 6, p. 1007-101, 1998.

NASCIMENTO, M. G. F.; OLIVEIRA, C. Z. F.; NASCIMENTO, E. R. Hambúrguer: evolução comercial e padrões microbiológicos. **CEPPA**, v. 23, n. 1, p. 59-74, 2005.

NICOLEI, J.F.; TELIS, V.R.N. Viscoelastic and Thermal Properties of Collagen–Xanthan Gum and Collagen–Maltodextrin Suspensions During Heating and Cooling. **Food Biophysics**, v.4, p. 135–146, 2009.

OECHSLE, A. M.; AKGÜN, D.; KRAUSE, F.; MAIER, C.; GIBIS, M.; KOHLUS, R.; WEISS, J. Microstructure and physical–chemical properties of chicken collagen. **Food Structure** v.7, p.29–37, 2016.

OECHSLEA, A.M.; AKGÜN, D.; KRAUSE, F.; MAIER, C.; GIBIS, M.; KOHLUS, R.; WEISS, J. Microstructure and physical–chemical properties of chicken collagen. **Food Structure**, v. 7, p.29–37, 2016.

OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. **Carnes: No Caminho da Pesquisa**. Cocal do Sul: Imprint, 2001.

ORDOÑEZ, J. A.; RODRIGUE, M. I. C.; ALVAREZ, L. F. **Tecnologia de Alimentos de Origem Animal**. v. 2. Porto Alegre: Artmed, 2000.

OSAWA, C. C.; FELÍCIO, P. E.; GONÇALVES, L. G. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**, São Paulo, v.28, n.4, p.655-663, 2005.

PARDI, M.C.; SANTOS, I.F.; SOUZA, E.R.; PARDI, H.S. **Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne**. v.2. Goiânia: UFG, 1996.

PARDI, M.C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E.R.; PARDI, H. S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. 2. ed. rev. e ampl. Goiânia: UFG, 2006.

PARENTEAU-BAREIL, R.; GAUVIN, R.; BERTHOD, F. Collagen-based biomaterials for tissue engineering applications. **Materials**, v. 3, p. 1863-1887, 2010.

POTTER, N. N.; HOTCHKISS, J. H. **Ciência de los alimentos**. 5. ed. Zaragoza: Acribia, 667 p., 1995.

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.

PRESTES R.C. Colágeno e seus derivados: Características e aplicações em produtos cárneos. **Unopar Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v.15:1, p. 65-74, 2013a.

PRESTES, R. C. **Efeitos da adição de colágeno na qualidade de presunto de frango**. Tese de doutorado de Engenharia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI), 2011.

PRESTES, R. C.; CARNEIRO, E. B.B.; DEMIATE, I. Hydrolyzed collagen, modified starch and guar gum addition in turkey ham. **Ciência Rural**, v.42, n.7, p.1307-1313, 2012.

PRESTES, R. C.; LEITE, C. V. G.; KUBOTA, E. H.; ROSA, C. S.; KEMPKA, A. P. Development of low fat chicken mortadella using collagen as a fat substitute. **International Food Research Journal**, v. 21, n.4, p.1651-1657, 2014.

PRESTES, R.C. **Efeitos da adição de colágeno na qualidade de presunto de frango**. 2011, 188f. Tese de Doutorado (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Erechim, 2011.

PRESTES, R.C.; GOLUNSKI, S.M.; TONIAZZO, G.; KEMPKA, A.P.; LUCCIO, M.D. Caracterização da fibra de colágeno, gelatina e colágeno hidrolisado. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.15, n.4, p.375-382, 2013b.

PRESTES, R.C.; GRABOSKI, A.; ROMAN, S.S.; KEMPKA, A.P.; TONIAZZO, G., DEMIATE, I.; DI LUCCIO, M. Effects of the addition of collagen and degree of comminution in the quality of chicken ham. **Journal Applied Poultry Research**, v.22. n.4, p. 885-903, 2013c.

QUEIROZ, Y. U.; DAUD, K. O. ; SOARES, R. A. M.; SAMPAIO, G. R.; CAPRILES, V. D.; TORRES, E. A. F. S. Desenvolvimento e avaliação das propriedades físico-químicas de hambúrgueres com reduzidos teores de gordura e de colesterol. **Revista Nacional da Carne**, v. 338, p. 84-89, 2005.

QUEIROZ, M. I.; TREPTOW, R. O. **Análise Sensorial para avaliação da Qualidade dos Alimentos**. Rio Grande: Ed. FURG, 2006, 268p.

RAIMUNDO, L. M. B.; BATALHA, M. O. Mercado de carne suína na cidade de São Paulo: segmentos e estratégias. **Gestão & Produção**, v22, n.2, p. 391-403, 2015.

RODRÍGUEZ-CARPENA, J. G.; MORCUENDE, D.; ESTÉVEZ, M. Avocado, sunflower and olive oils as replacers of pork back-fat in burger patties: Effect on lipid composition, oxidative stability and quality traits. **Meat Science**, v. 90, p. 106-115, 2012.

ROSA, F.C.; BRESSAN, M.C.; BERTECHINI, A.G.; FASSANI, E.J.; VIEIRA, J.O.; FARIA, P.B.; SAVIAN, T.V. Efeito de métodos de cocção sobre a composição química e colesterol em peito e coxa de frangos de corte. **Revista Ciência Agrotécnica**, v.30, N.4, P.707-714, 2006.

SALVINO, E.M.; SILVA, J.S.; NOBREGA, E. S.; NASCIMENTO, M. J. C.; COSTA, M. J. C.; MACIEL, J. F. Caracterização microbiológica, físico-química e sensorial de hambúrgueres de carne de avestruz (*Struthio camellus*), elaborados com substituto de gordura. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 68, 1, 34-41, 2009.

SANTANA, R.C.; PERRECHIL, F.A.; SATO, A.C.K.; CUNHA R.L. Emulsifying properties of collagen fibers: Effect of pH, protein concentration and homogenization pressure. **Food Hydrocoll**, v.25, n.4, p.604- 612, 2011.

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.

SARCINELLI, M. F.; VENTURINI, K. S.; SILVA, L. C. **Características da carne suína.- Boletim Técnico**. Vitória: UFES, n. 00907, 2007.

SAVIO, N.F.; SASSANO, C.E.N. Efeito do processamento térmico no valor calórico do hambúrguer de carne bovina. **Revista Educação**, v.8, n.2, p.48, 2013.

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.

SEIFERT, J. Collagen hydrolysate and its biological value. In: ADAM, M. (Org.). **Collagen hydrolysate and its relationship to joint walt: a scientific compendium**. Eberbach: GELITA Health Initiative, 2004. chap. 3, p. 44.

SHEEDER M. R. L.; CASUTT, M.M.; ROULIN, M.; ESCHER, F.; DUFEY, P.A.; KREUZER, M. Fat acid composition cooking loss and texture of beef patties from meat of bulls fed different fats. **Meat Science**, v.58, p.321-328, 2001.

SILVA, T.F. e PENNA, A.L.B. Colágeno: Características químicas e propriedades funcionais. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.71, n.3. p. 530-539, 2012.

SIONKOWSKA, A. Modification of collagen films by ultraviolet irradiation. **Polymer Degradation and Stability**, v. 68, p.147-151, 2000.

SWAN, J. E; TORLEY, P. J. **Collagen: structure, functions and uses**. Mirinz Meat Industry Research New Zealand Report, 1991.

TAVARES, T. M; SERAFINI, A B. Carnes de hambúrgueres prontas para consumo: aspectos legais e riscos bacterianos. **Revista de patologia tropical**, v.35, n.1, p.1-21, 2006.

TEIXIDOR, M.X. **Metalquimia**, v.22, 2006, 120p.

TORLEY, P.J.; D'ARCY, B.R.; TROUT, G.R. The effect of ionic strenght, 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 structures and quality of meat products. **Meat Science**, v.70, n.3, p.493-508, 2005.

UFSP. Relatório básico: Frango, carne branca, so carne, cru. **Departamento de informática em Saúde**. Disponível em: <<http://www.dis.epm.br/servicos/nutri/public/alimento/05117/frango-carne-branca-so-carne-cru>>. Acesso em: 19 mar 2016.

VARGAS, D. M.; AUDÍ, L.; CARRASCOSA, A. Peptídeos derivados do colágeno: novos marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo. **Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 4, p. 367-370, 1997.

VENTURINI, K. S.; SARCINELLI, M. F.; SILVA, L. C. **Características da carne de frango. Boletim Técnico.** Vitória: UFES, n.01307, 2007.

VIDAL, A. R.; GUBERT, G; ROMAN, S. S.; PRESTES, R. C. Structural Observations of Beef Burger containing Wheat Fiber of Different Sizes. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde.** v.16, n.2, 93-8, 2014.

VIEIRA J.O., BRESSAN M.C., FARIA P.B., FERREIRA M.W., FERRÃO S.P.B.; SOUZA X.R. Efeito dos métodos de cocção na composição centesimal e colesterol do peito de frangos de diferentes linhagens. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.1, p.164-170, 2007.

WOLF, K.L.; SOBRAL,P.J.A.; TELIS,V.R.N. Caracterização físico-química das fibras de colágeno e pó de colágeno para a auto-produção de filmes composta. **Food Hydrocolloids** v. 23, n.7, p. 1886-1894, 2009.

ZEOLA, N. M. B. L.; SILVA SOBRINHO A.G.; BORBA, H.; MANZI, G.M.; NONATO, A.; ALMEIDA, F.A. Avaliação do modelo de produção e da inclusão de gordura nos parâmetros qualitativos e sensoriais do hambúrguer ovino. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.64, n.3, p. 727-734, 2012.

