

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO**

**PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO ALBUME E
QUALIDADE DE OVOS DE GALINHA COBERTOS COM
CONCENTRADO PROTÉICO DE SORO DE LEITE BOVINO**

Ana Cláudia Carraro Alleoni

Economista Doméstico

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por **Ana Cláudia Carraro Alleoni**, aprovada pela Comissão Julgadora em 08 de agosto de 2003.

Campinas, 08 de agosto de 2003.

Prof. Dr. Aloísio José Antunes

Orientador


**Profa. Dra. Helena Maria André Bolini
Cardello**
Presidente da Banca

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia
de Alimentos da Universidade Estadual de
Campinas, para a obtenção do título de Doutor
em Alimentos e Nutrição

Campinas - SP
2003

**UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE**

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	T/Unicamp
	AL54p
V	EX
TOMBO BCI	55655
PROC.	16-124/03
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	17/9/03
Nº CPD	

CM00188942-5

Bib id 300074

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. - UNICAMP

AL54p Alleoni, Ana Cláudia Carraro
Propriedades funcionais do albume e qualidade de ovos de
galinha cobertos com concentrado protéico de soro de leite
bovino / Ana Cláudia Carraro Alleoni. – Campinas, SP: [s.n.],
2003.

Orientador: Aloísio José Antunes
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de
Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Ovos - Qualidades. 2.Soro de leite. 3.Coberturas.
4.Proteínas. I.Antunes, Aloísio José. II. Universidade Estadual
de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.Título.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Aloísio José Antunes
(Orientador)



Profa. Dra. Helena Maria A. B. Cardello
(Membro)



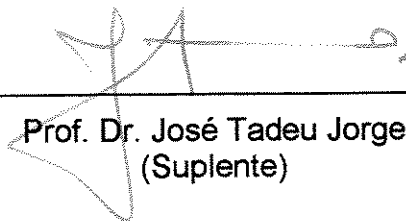
Profa. Dra. Hélia Harumi Sato
(Membro)



Prof. Dr. Cláudio Rosa Gallo
(Membro)



Prof. Dr. Carlos A. Gasparetto
(Membro)



Prof. Dr. José Tadeu Jorge
(Suplente)

Prof. Dr. Salvador Massaguer Roig
(Suplente)

Dedico

Ao meu marido Luís Reynaldo e à
nossa filha Giovana, pelo estímulo,
colaboração e compreensão, que
me permitiram finalizar este
trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Aloísio José Antunes, pela orientação desde o mestrado;

À Universidade Estadual de Campinas e ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, pela oportunidade;

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de estudo;

Ao Prof. Dr. Cláudio Rosa Gallo, do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), da Universidade de São Paulo (USP), por ceder as instalações para a realização das análises microbiológicas;

À Prof. Dra. Sônia Maria De Stefano Piedade e ao Prof. Dr. Décio Barbin, do Departamento de Ciências Exatas, da ESALQ/USP, pelo auxílio nas análises estatísticas deste trabalho;

À Granja Bandeirante, pela doação dos ovos, controle da ração e das galinhas poedeiras;

Às demais pessoas que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE TABELAS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
Resumo	xii
Summary	xv
1.Introdução	1
2.Revisão Bibliográfica	3
2.1. Coberturas para Conservar a Qualidade dos Alimentos	3
2.1.1. Filmes e Coberturas à Base de Proteína	4
2.2. Estrutura e Composição do Ovo de Galinha	6
2.3. Qualidade do Ovo	9
2.4. Proteínas da Clara do Ovo	11
2.4.1.Ovalbumina	11
2.4.2. Conalbumina ou Ovotransferrina	18
2.4.3. Ovomucóide	18
2.4.4. Ovomucina	19
2.4.5. Lisozima	21
2.4.6. Globulinas G ₂ e G ₃	22
2.4.7. Proteínas Menores	23
2.5. Principais Propriedades Funcionais das Proteínas da Clara do Ovo	24
2.5.1. Gelatinização	25
2.5.2. Espuma	34
3. ESTUDO 1. Qualidade Interna de Ovos de Galinha Cobertos com	
Concentrado Protéico de Soro de Leite Bovino	41
Introdução	41

Material e Métodos	43
Resultados e Discussão	46
4. ESTUDO 2. Estabilidade da Espuma do Albume e Teores de S-Ovalbumina de Ovos Cobertos com Concentrado Protéico de Soro de Leite	
Bovino	61
Introdução	61
Material e Métodos	63
Resultados e Discussão	66
5. ESTUDO 3. Perfil de Textura e Umidade Espremível de Géis de Clara de Ovos Cobertos com Concentrado Protéico de Soro de Leite	83
Introdução	83
Material e Métodos	85
Resultados e Discussão	88
6. Conclusões dos Estudos 1, 2 e 3.....	104
7. Referências Bibliográficas	106
8. Apêndice	125

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Composição e valor nutritivo de produtos de ovos.	6
Tabela 2. Classificação de ovos para o consumidor nos Estados Unidos.	7
Tabela 3. Classificação de ovos no Brasil.	8
Tabela 4. Características físico-químicas e funcionais das principais proteínas da clara do ovo.....	12
Tabela 5; 7; 9. Caracterização do concentrado protéico de soro de leite	44, 64, 86
Tabela 6. Resultados obtidos da perda de peso e unidade Haugh dos ovos e pH da clara de ovos com e sem cobertura armazenados a 3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias a temperatura de 25°C.	49
Tabela 8: Líquido drenado da espuma da clara de ovo, após 30 minutos de repouso e teores de s-ovalbumina na clara de ovos armazenados a 3, 7, 10,14, 21 e 28 dias a temperatura de 25°C, com e sem aplicação de cobertura.	67
Tabela 10: Resultados obtidos da análise do perfil de textura em géis de ovos armazenados a 3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias a temperatura de 25°C.	92

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Correlação linear entre os valores da perda de peso de ovos sem e com cobertura em função do período de armazenamento (3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias).	47
Figura 2. Correlação linear entre os valores da unidade Haugh de ovos sem e com cobertura em função do período de armazenamento (3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias).	53
Figura 3. Correlação linear entre os valores de pH do albume de ovos com e sem cobertura em função do período de armazenamento (3, 7, 10, 14, 21e 28 dias).	53
Figura 4. Correlação linear entre os valores da unidade Haugh de ovos com cobertura e a perda de peso de ovos durante o período de armazenamento (3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias).	59
Figura 5. Correlação linear entre os valores da unidade Haugh de ovos sem cobertura e a perda de peso de ovos durante o período de armazenamento (3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias).	59

Figura 6. Correlação linear entre os valores do volume de líquido drenado da espuma da clara de ovos sem e com cobertura com o período de armazenamento (3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias).	69
Figura 7. Correlação linear entre os teores de s-ovalbumina de ovos sem e com cobertura com o período de armazenamento (3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias). ...	75
Figura 8: Correlação linear entre os teores de s-ovalbumina de ovos com cobertura com o volume de líquido drenado, durante o período de armazenamento (0,3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias).	81
Figura 9: Correlação linear entre os teores de s-ovalbumina de ovos sem e com cobertura com o período de armazenamento (3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias).	81
Figura 10: Correlação linear entre os valores da dureza dos géis de clara de ovos com cobertura e o período de armazenamento (3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias).	89
Figura 11. Comparação do índice de elasticidade de géis de albume de ovos com e sem cobertura, durante o período de armazenamento(3, 7, 10, 14,21 e 28 dias).	95

Figura 12. Correlação linear entre os valores da coesividade dos géis de clara de ovos sem cobertura e o período de armazenamento (3, 7, 10, 14,21 e 28 dias)	99
---	----

Figura 13. Comparação do índice de mastigabilidade de géis de albume de ovos com e sem cobertura, durante o período de armazenamento(3, 7, 10, 14,21 e 28 dias).	101
---	-----

Figura 14: Correlação linear entre os valores da umidade expremível dos géis de clara de ovos sem cobertura e o período de armazenamento (3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias).	101
---	-----

RESUMO

As proteínas da clara do ovo de galinha têm sido extensivamente usadas como ingredientes em alimentos processados, devido a suas propriedades funcionais, tais como gelatinização e formação de espuma. Durante o armazenamento, podem ocorrer mudanças nas características físicas, microbiológicas, químicas e funcionais dos ovos, que dependem das condições de armazenamento. As vantagens de utilizar filmes e coberturas comestíveis podem ser justificadas pela manutenção das propriedades funcionais dos alimentos, através da diminuição da perda de umidade e da diminuição do transporte de gases (O_2 e CO_2). A aplicação de cobertura em ovos com casca reduz a perda de peso e mantém a qualidade interna do produto.

Os objetivos foram quantificar a perda de peso, os valores da unidade Haugh, o pH e os teores de s-ovalbumina do albume, além de determinar alterações na estabilidade da espuma da clara, no perfil de textura e na umidade espremível de géis da clara de ovos frescos e de ovos com e sem cobertura à base de concentrado protéico de soro de leite, armazenados a 25°C, por 3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias.

Durante todo o período de estocagem houve decréscimo dos valores de unidade Haugh e perda de peso, tanto para os ovos com cobertura como para os ovos sem cobertura. Já o pH do albume aumentou. A variação dos valores nos ovos com cobertura foi menor do que para os ovos sem cobertura. Os valores da unidade Haugh para ovos com cobertura foram semelhantes aos de ovos armazenados sob refrigeração, encontrados em referências bibliográficas, no mesmo período de armazenamento.

O volume de líquido drenado foi maior ($P < 0,01$) em ovos sem cobertura do que em ovos com cobertura armazenados a 25°C, em todos os períodos de armazenamento. A diferença no terceiro dia de armazenamento foi de 59% entre os ovos com cobertura e ovos sem cobertura, e no vigésimo oitavo dia foi 202%. Durante o período de armazenamento, ocorreu um aumento do pH e do volume do líquido drenado nos ovos sem cobertura.

O teor de s-ovalbumina foi maior em ovos sem cobertura, comparados aos ovos com cobertura, em todos os períodos de armazenamento ($P < 0,01$). Após três dias, os ovos sem cobertura apresentaram aumento de 33% em relação aos ovos com cobertura. Já com 28 dias de armazenamento essa diferença passou para 205%. Em ovos com cobertura armazenados a 25°C, o pH ficou na faixa de 8, e o teor de s-ovalbumina permaneceu na faixa de 20%. No vigésimo oitavo dia de armazenamento o teor chegou a 27%. Houve correlação positiva entre o teor de s-ovalbumina com o volume de líquido drenado ($R^2 = 0,92$ para ovos com cobertura e $R^2 = 0,94$ para ovos sem cobertura). Quando aumentou o teor de s-ovalbumina, aumenta o volume de líquido drenado, e diminuiu a estabilidade da espuma.

A dureza do gel do albume de ovos sem cobertura foi maior do que a de ovos com cobertura ($P < 0,01$), dentro de todos os períodos de armazenamento. Não houve efeito do tempo de armazenamento na dureza dos géis dos ovos sem cobertura. Em ovos cobertos, a regressão linear explicou 60% do comportamento da dureza em relação ao período de armazenamento. No caso da elasticidade, não houve interação entre período de armazenamento e a cobertura. Houve diferença entre as médias dentro de cada período, mas não durante o armazenamento. A maior elasticidade foi dos géis de ovos

sem cobertura, comparados com os géis de ovos com cobertura. O índice de coesividade e a mastigabilidade de géis de ovos sem cobertura foi maior que o de géis de ovos com cobertura, em todos os períodos de armazenamento.

A percentagem de umidade espremível (UE) de géis de clara de ovos com cobertura foi maior do que a de ovos sem cobertura em todo o período de estocagem.

SUMMARY

Egg white proteins are extensively used as processed food because of their functional properties, as gelation and foam formation. Depending on the storage conditions, some physical, microbiological, chemical and functional changes may occur. Functional food properties may be preserved when foods are coated by edible films, since both the loss of moisture and the transport of O₂ and CO₂ are reduced.

The objectives of this work were quantify the weight loss, the Haugh unit and the pH contents of s-ovalbumin in the albumen, determining changes in the stability of egg white foam, in the texture profile and in the expressible moisture of fresh egg white gels and eggs coated or not by whey protein concentrate (WPC), under six storage periods (3, 7, 10, 14, 21 and 28 days), at 25°C.

During the storage period, independently of the coating, values of Haugh unit, weight loss and albumen pH decreased, and the differences among the values from the first to the last period were lower in the coated eggs. The Haugh unit values for coated eggs were similar to those found in bibliographic references when the same storage period is considered.

For the six storage periods, the volumes of drained liquid in non-coated eggs were higher ($P < 0.01$). In the 3rd day the difference between the coated and the non-coated egg was 59%, and after 28 days that difference increased up to 202%. In the non-coated eggs, values of pH and volume of drained liquid increased during the storage.

The content of s-ovalbumin was higher in the non-coated than in the coated eggs, independently of the storage period ($P < 0.01$). After 3 days, the content of s-ovalbumin was 38% higher than in the coated eggs, and after 28 days the difference between the values was 205%. In the coated eggs, stored at 25°C, the pH was around 8, and the content of s-ovalbumin remained in 20%; after 28 days, the value increased to 27%. A positive correlation was found between the content of s-ovalbumin and the volume of drained liquid ($R^2 = 0.92$ for coated eggs, and $R^2 = 0.94$ for non-coated eggs). When the content of s-ovalbumin increased, the volume of drained liquid also increased, and the foam stability decreased.

Hardness of the albumen gel of non-coated eggs was higher than the coated eggs, during the whole storage period. For the non-coated eggs, the storage period did not affect the hardness of the gels, but for the coated eggs, a linear regression explained 60% of the behavior of the hardness as a function of the storage period. When considering the gel elasticity, no interaction was found between the storage period and the egg coating.

Non-coated eggs exhibited gels with higher springiness than coated eggs. The same was found for the cohesiveness index and the gel chewiness, independently of the storage periods. However, the opposite was observed for the percentage of expressible moisture, where the values for coated eggs were higher than for non-coated eggs.

1. INTRODUÇÃO

Os ovos são utilizados em vários produtos alimentícios, como ingredientes destes sistemas. Quando batidos, promovem formação de espuma capaz de incorporar ar em sistemas de bolos, merengues, suflês etc., fornecendo as características desejáveis de textura e ajudando na aparência desses alimentos. O ovo apresenta características polifuncionais, tais como poder de coagulação, capacidade de formação de espuma e propriedades de gelatinização e emulsificação. As proteínas da clara do ovo de galinha têm sido extensivamente usadas como ingredientes em alimentos processados, devido a suas propriedades funcionais únicas, tais como gelatinização e formação de espuma e, por possuir múltiplas propriedades, elas são ingredientes desejáveis em muitos alimentos, como produtos de padaria, merengues, biscoitos e derivados de carne (Mine, 1995).

Durante o armazenamento, podem ocorrer algumas mudanças nas características físicas, microbiológicas, químicas e funcionais dos ovos. Essas mudanças dependem das condições de armazenamento, podendo ocorrer diminuição na quantidade da proteína ovalbumina, devido a sua conversão para s-ovalbumina. Isso altera algumas propriedades funcionais, como a estabilidade da espuma e gelatinização. Uma das primeiras mudanças é o aumento do pH da clara, devido à perda de CO₂ pelos poros da casca. A faixa de variação é de 7,6 a 8,5 em ovos frescos, podendo atingir o máximo de 9,7 em ovos armazenados (Mine, 1995; Powrie e Nakai, 1985).

O envolvimento por óleo é uma prática aceita para manter a qualidade interna do ovo durante o período de armazenamento. As coberturas mantêm a qualidade interna do

ovo, adicionam força à casca e reduzem a carga microbiológica na sua superfície (Wong et al., 1996).

A utilização de filmes protéicos para conservação de alimentos vem sendo empregada há muito tempo. Os filmes são usados como barreiras para gases e vapor de água e podem ter uma infinidade de aplicações (Donhowe e Fennema, 1994). Considerando-se que novas alternativas para armazenamento de ovos são essenciais para manter as propriedades funcionais das proteínas da clara, que a ovalbumina é a proteína responsável pelo suporte da estrutura de merengues, mousses etc. e que o aumento da proporção de s-ovalbumina altera as propriedades de gelatinização e de espessamento em sistemas de alimentos, torna-se importante o estudo da aplicação de coberturas que possam preservar as características microbiológicas e funcionais desejáveis desse produto.

OBJETIVOS

Os objetivos foram quantificar a perda de peso, os valores da unidade Haugh, o pH e os teores de s-ovalbumina do albume, além de determinar alterações na estabilidade da espuma da clara, no perfil de textura e na umidade espremível de géis da clara de ovos frescos e de ovos com e sem cobertura à base de concentrado protéico de soro de leite, armazenados a 25°C, por 3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Coberturas para Conservar a Qualidade dos Alimentos

Os filmes e coberturas comestíveis são produzidos basicamente a partir de hidrocolóides e lipídeos, que são capazes de produzir matrizes contínuas (Donhowe e Fennema, 1994). As vantagens de utilizar filmes e coberturas comestíveis podem ser justificadas pela manutenção das propriedades funcionais dos alimentos, através da diminuição da perda de umidade, da diminuição do transporte de gases (O_2 e CO_2), do retardamento da volatilização de componentes aromáticos, além de funcionarem como veículo de aditivos (Kester e Fennema, 1986).

Na categoria de hidrocolóide estão as proteínas, os alginatos, os derivados de celuloses, as pectinas, o amido e outros polissacarídeos. Nos lipídeos estão as ceras, os acilgliceróis e os ácidos graxos. Os filmes chamados compostos são os que contêm lipídeos e hidrocolóides. Um filme composto pode ser de bicamadas, sendo uma camada de hidrocolóide e outra de lipídeos, ou como um conglomerado, em que o lipídeo e o hidrocolóide são espalhados por todo o filme (Donhowe e Fennema, 1994).

A aplicação de cobertura em ovos com casca reduz a perda de peso e mantém a qualidade interna medida por vários índices, como altura da célula de ar, unidade Haugh, índice gema e pH da clara (Imai, 1981).

Li et al. (1985) embalaram ovos com acrilonitrila e observaram que não houve diferença significativa na unidade Haugh. Sendo assim, concluíram que controlar a

atmosfera é um método mais eficiente na preservação da qualidade de ovos com casca a temperatura ambiente num período de sete semanas.

2.1.1. Filmes e Coberturas à Base de Proteína

Tanto as proteínas de origem animal como as de origem vegetal têm recebido atenção para a produção de filmes e coberturas, como por exemplo: a zeína do milho, o glútem do trigo, a proteína da soja, a proteína do amendoim, a queratina, a gelatina, a caseína e as proteínas do soro de leite. Existem outras proteínas que também são formadoras de filmes, porém não são muito utilizadas, tais como: albuminas do ovo, proteínas do algodão, albumina de soro bovino, proteínas do peixe, entre outras.

Proteínas do Soro de Leite: compreendem 20% do total de proteína do leite, e são caracterizadas pela sua alta solubilidade em ampla faixa de pH (Brunner, 1977). As cinco principais proteínas do soro são: β -lactoglobulina, α -lactalbumina, albumina do soro bovino, imunoglobulinas e proteose-peptonas (Kinsella e Whitehead, 1989). A β -lactoglobulina é a proteína que está presente em maior quantidade no soro, e constitui aproximadamente, 52%. A fração A possui peso molecular de 18.362 Daltons e a fração B 18.276 Daltons (Brunner, 1977). A α -lactalbumina representa 25% do total de proteína do soro, é uma proteína globular e possui peso molecular de 14.000 e quatro ligações dissulfídicas (Kinsella e Whitehead, 1989). Albumina de soro bovino é uma proteína grande com peso molecular de 66.000 Daltons. Contém dezessete ligações dissulfídicas e um grupo tiol livre (Kinsella e Whitehead, 1989). As imunoglobulinas e as frações proteoses-peptonas representam as proteínas remanescentes do soro. As proteínas do

soro, quando processadas apropriadamente, produzem filmes flexíveis, transparentes e sem odores que são semelhantes aos filmes de caseinatos (Gennadios et al., 1994).

Muitos estudos foram feitos para verificarem as propriedades termodinâmicas da β -lactoglobulina. Próximo ao seu ponto isoelétrico essa proteína existe como um dímero. A pH 3, os dímeros se dissociam formando um monômero. A dissociação também ocorre a pH 8. Entre o pH 3,8 – 5,1 a β -lactoglobulina associa-se dentro de um octômero a baixa temperatura, devido à ionização dos grupos carboxílicos (Brunner, 1977).

Segundo Wong et al. (1996), ovos de galinha cobertos com filmes a base de zeína apresentaram uma menor perda de umidade e mantiveram a unidade Haugh, durante o período de armazenamento, comparados com soluções à base de albumina do ovo, isolado protéico de soja, glútem do trigo ou óleo mineral. Além disso, essa cobertura também promoveu certa resistência à quebra da casca, originando uma barreira protetora. Ovos com coberturas a base de glútem de trigo e armazenados até 28 dias à temperatura ambiente não apresentaram diminuição drástica na unidade Haugh, perda de umidade, pH quando comparada com zeína do milho, albumina do ovo, isolado protéico de soja e ovos sem coberturas. De acordo com Herald et al. (1995), o valor da unidade Haugh não sofreu alteração nos ovos cobertos com filmes de glútem de trigo armazenados por 28 dias a temperatura ambiente.

2.2. Estrutura e Composição do Ovo de Galinha

O ovo possui uma forma esférica ovalada, e seu peso pode variar de 35 a 80 gramas. A sua estrutura de fora para dentro consiste de cutícula, casca, membranas, clara e gema. A composição do ovo inteiro, da clara e da gema nas formas líquida e desidratada está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Composição e Valor Nutritivo do Ovo e Derivados.

Nutrientes/100g	Líquido (%)			Desidratado (%)		
	Total	Clara	Gema	Total	Clara	Gema
Água (g)	74,57	88,07	55,04	4,14	8,54	4,65
Energia (Kcal)	158,00	49,0	323,0	594,0	3,76	6,87
Proteína(%Nx6,25)(g)	12,14	10,14	14,52	45,83	82,4	30,52
Total de Lipídios (g)	11,15	Traços	28,65	41,85	0,04	61,28
Carboidratos (g)	1,20	1,23	0,36	4,77	4,47	0,39
Cinzas (g)	0,94	0,56	1,43	3,45	4,55	3,16
Colesterol (mg)	548,00	0	1,03	1,92	0	2,93

Fonte: Posati e Orr, 1976.

Os ovos inférteis de galinha (Gallus domesticus) são exclusivamente usados para o consumo humano. O seu peso e sua forma dependem das características genéticas, da idade da galinha e da dieta da galinha. Os ovos são classificados de acordo com o seu peso (Tabela 2), nos Estados Unidos.

No Brasil, a classificação dos ovos baseia-se no peso (Tabela 3). Essa classificação é realizada automaticamente por meio de máquinas programadas, e os ovos que apresentam peso inferior à 45g, de acordo com o Decreto n.53.585, são considerados impróprios para consumo humano, sendo permitida sua utilização apenas para a indústria (Rodrigues, 1975).

Tabela 2. Classificação de Ovos nos Estados Unidos.

Grau	Peso(g)
Jumbo	71
Extra Grande	64
Grande	57
Médio	50
Pequeno	43
Muito Pequeno	36

Fonte: U.S.D.A., 1983, in Zabik, 1992.

Tabela 3. Classificação de ovos no Brasil.

Grau	Peso(g)
Tipo 1 (Extra)	mínimo 60 g
Tipo 2 (Grande)	mínimo 55 g
Tipo 3 (Médio)	mínimo 50 g
Tipo 4 (Pequeno)	mínimo 45 g

Fonte: Decreto n.56.585, de 20 de julho de 1965.

A clara do ovo é elástica e viscosa, possui materiais heterogêneos e constitui 60% do ovo. Possui quatro camadas distintas, que são camada externa, camada espessa, camada interna e a camada calazífera. A proporção das camadas é definida pela espécie do frango, pelas condições ambientais e pelo tamanho do ovo (Powrie e Nakai, 1985).

Os constituintes da clara são: - água, que está presente numa quantidade de 87 a 89% do total, e sua concentração depende da linhagem e da idade da galinha; - proteína, que dentre os sólidos está em maior quantidade, podendo variar de 9,7 a 12% (Mine, 1995; Vadehra e Nath, 1973), dependendo da idade do frango; - carboidratos, que estão na quantidade de 0,5 a 0,6% e estão nas suas formas livres ou combinados com as proteínas, a glicose (0,5%) está presente quase que exclusivamente na forma livre (em torno de 98%); - lipídeos, que estão em torno de 0,01%.

O pH da clara do ovo é um índice importante para indicar as mudanças da qualidade do albume em função do tempo de armazenamento (Hunton, 1985).

2.3. Qualidade do Ovo

Qualidade do Albume: o processo de transformação da qualidade interna do ovo inicia-se imediatamente após a postura, devido a fatores intrínsecos à estrutura do ovo, como, perda de peso, formação da câmara de ar, liquefação do albume, perda de CO₂ e água, movimentação de líquidos entre os compartimentos e distensão e flacidez da membrana vitelina da gema, que pode vir a romper (Protais, 1991).

A maneira mais usada para expressar a qualidade do albume é a unidade Haugh. Segundo Haugh (1937) a qualidade do ovo varia com o logaritmo da altura da clara espessa. Sendo assim, ele desenvolveu um fator de correção para o peso do ovo, que multiplicado pelo logaritmo da altura da clara espessa, corrigida por 100, resultou na unidade Haugh (Brant et al., 1951).

O uso da unidade Haugh tem sido, geralmente, aceito como uma medida da qualidade do albume nos estudos de qualidade de ovo (Eisen et al., 1962). Embora sujeita a críticas, é considerada uma medida padrão de qualidade e tem sido usada por toda indústria avícola (Williams, 1992).

A qualidade do ovo é medida para descrever as diferenças na produção de ovos frescos, devido a tratamentos genéticos, a diferentes dietas e aos fatores ambientais, aos quais as galinhas foram submetidas, ou também para descrever a deterioração na qualidade do ovo durante o tempo de armazenamento e as condições de armazenagem. De acordo com Silversides et al. (1993), a correção do peso do ovo na fórmula da unidade Haugh é inadequada. A inadequação ocorre, principalmente, se compararem ovos frescos

de diferentes grupos de poedeiras, como também, se comparar a qualidade do albume de ovos armazenados por vários períodos de tempo (Siversides e Villeneuve, 1994). Kidwell et al. (1964) sugeriram que a unidade Haugh seria válida para os ovos frescos, mas não para ovos armazenados.

A unidade Haugh tem sido usada pela indústria desde a sua criação. Essa medida tem pouca relação com alguns padrões de consumo (Wells, 1968 *in* Hunton, 1985) ou parâmetros da qualidade nutricional (Sauver, 1988a *in* Siversides et al., 1993). Seu uso é universal, devido à facilidade da aplicação e à alta correlação com a aparência do ovo quando aberto numa superfície plana. A unidade Haugh é aceita como uma medida de preferência para a qualidade do ovo (Williams, 1992).

O valor da unidade Haugh de ovos frescos diminui com o aumento da idade da galinha poedeira (Cunningham et al., 1960; Fletcher et al., 1983), embora esse aumento possa ser explicado, parcialmente, por efeitos patológicos subclínicos (Spackmam, 1985). Ocorrendo aumento da idade da galinha, ocorre aumento no tamanho dos ovos (Eisen et al., 1962). A composição da ração e a raça da galinha podem afetar o escore da unidade Haugh. Outros fatores, como estação do ano (Cunningham et al., 1960), método de criação (Proudfoot, 1962) ou a produção (Siversides et al., 1993) não parecem afetar o escore da unidade Haugh, embora a demora para se fazer a coleta dos ovos, deixando-os em ambientes quentes, pode ocasionar declínio da qualidade do albume.

2.4. Proteínas da Clara do Ovo

A clara do ovo possui de 9,7 a 12% de proteínas (Mine, 1995; Vadehra e Nath, 1973), e pode ser considerada um sistema que consiste de numerosas proteínas globulares numa solução aquosa. A quantidade de ovomucina na camada espessa é quatro vezes maior do que na camada fina. As sete maiores frações são: ovalbumina A₁ e A₂, globulinas G₁, G₂ e G₃, ovomucóide e conalbumina. A Tabela 4 mostra as quantidades de várias proteínas da clara e algumas de suas propriedades.

2.4.1. Ovalbumina

A ovalbumina constitui 54% do total das proteínas da clara (Zabik, 1992), ou seja, mais da metade do total de proteínas. Vários autores citam a existência de três frações A₁, A₂ e A₃, verificadas através de técnicas eletroforéticas (Osuga e Feeney, 1977; Vadehra e Nath, 1973; Zabik, 1992). Essas frações se diferem pela quantidade de fósforo que possuem na molécula.

Tabela 4. Características físico-químicas das principais proteínas da clara do ovo.

Proteína	Albume (%) (matéria seca)	pl	Peso Molecular (Da)	T _d (°C)	Características
Ovalbumina	54,0	4,5	44.500	84,0	Fosfoglicoproteína
Conalbumina	12,0	6,1	77.700	61,0	Ligações c/ íons metálicos
Ovomucóide	11,0	4,1	28.000	77,0	Inibidor da tripsina
Ovomucina	3,5	4,5-5,0	5,5-8,3 x 10 ⁶	-	Sialoproteína
Lisozima	3,4	10,7	14.300	75,0	-
Globulina G ₂	4,0	5,5	49.000	92,5	-
Globulina G ₃	4,0	5,8	49.000	-	-
Avidina	0,05	10,0	68.300	-	Ligações c/ biotina

pl - ponto isoelétrico

T_d - Temperatura de desnaturação

Fonte: Powrie e Nakai (1985)

A ovalbumina A₁ possui dois grupos fosfatos por molécula, a A₂ possui um grupo e a A₃ não possui grupo fosfato. Alguns estudos indicam que as transformações genéticas ocorridas na proteína original levaram à formação inicial de A₃, em seguida A₂ e por último A₁. Essas divisões se baseiam na habilidade de desnaturação, isto é, a ovalbumina A₃ é mais susceptível a desnaturação, em seguida vem a A₂ e A₁ (Vadehra e Nath, 1973; Zabik, 1992). A fração A₁ se apresenta em maior quantidade. A relação de proporção entre esses componentes é aproximadamente 85A₁: 12A₂: 3A₃. Esta proteína é uma fosfoglicoproteína monomérica globular, com peso molecular de 44,5 kDa e ponto isoelétrico 4,5, e possui 385 resíduos de aminoácidos (Nisbet et al., 1981), sendo que metade desses resíduos são hidrofóbicos (Mine, 1995; Powrie e Nakai, 1985; Zabik, 1992). As forças covalentes são a chave para o início da formação de uma rede de proteína (Amftfield et al., 1989).

A ovalbumina contém 3,5% de carboidratos. Alguns pesquisadores têm descrito que a ovalbumina apresenta de três a quatro grupos sulfidrílicos livres e um grupo dissulfídico, porém estes dados precisam ser mais bem estudados (Vadehra e Nath, 1973; Zabik, 1992).

Kato e Takagi (1988), usando dicroísmo circular (CD), determinaram a estrutura secundária da ovalbumina em solução de 0,1% (tampão fosfato de sódio a 67mM, a pH 7,0 e NaCl a 0,1M) com 49% de α - hélice e 13% β - pregueada, e demonstraram que agregados de ovalbumina submetidos ao calor desenvolvem moléculas parcialmente abertas, com uma quantidade significativa de estrutura secundária e ligações cruzadas

com a estrutura intermolecular da β - pregueada, ocasionando a exposição de resíduos hidrofóbicos.

A ovalbumina possui uma menor superfície hidrofóbica e maior flexibilidade molecular na interface de óleo-água do que a lisozima (Acton et al., 1990). Ela pode ser desnaturada quando submetida ao calor, pela absorção superficial ou em filmes, através da agitação ou pela ação de vários agentes desnaturantes (Vadehra e Nath, 1973).

Durante a armazenagem, a ovalbumina (54g/100g de proteína) (Stevens, 1996), que é a principal proteína da clara do ovo, sofre uma alteração passando para uma forma mais estável ao calor, a s-ovalbumina. Uma espécie intermediária foi também detectada, possuindo temperatura de desnaturação de 88,5°C, comparada com 92,5°C da s-ovalbumina e 84,0°C da ovalbumina, pelo termograma do calorímetro diferencial de varredura (DSC) (Donovan e Mapes, 1976).

A s-ovalbumina é uma forma derivada da ovalbumina. Possui um peso molecular um pouco menor do que o da ovalbumina. Difere-se da placalbumina por estar presente na clara do ovo, porém as quantidades aumentam com o tempo de armazenamento, podendo variar de 5% no ovo fresco até 81% com seis meses de armazenamento refrigerado. O pH e a temperatura também influenciam a formação de s-ovalbumina (Vadehra e Nath, 1973). A dependência do pH para a formação da s-ovalbumina pode indicar uma etapa de ionização inicial envolvendo um grupo sulfidrílico ou um grupo amino, ou ainda uma dependência na concentração do íon hidroxila (por exemplo: como numa hidrólise alcalina) (Smith e Back, 1965). Os dados de dispersão de rotação óptica e viscosidade indicam que a conversão da ovalbumina para a forma mais estável (s-

ovalbumina) é devida às diferenças na estrutura da ligação covalente (Zabik, 1992). Quando os ovos são revestidos com óleo, ou armazenados a temperatura de refrigeração, esta conversão é retardada, devido à menor perda de dióxido de carbono pelos poros da casca do ovo (Vadehra e Nath, 1973).

A s-ovalbumina possui dois grupos carboxílicos reativos a mais do que a ovalbumina (Nakamura et al., 1980). Kato et al. (1986) reportaram que um dos grupos carboxílicos está envolvido nas ligações eletrostáticas com um resíduo de aminoácido carregado positivamente no interior da molécula, levando à formação da s-ovalbumina.

Smith e Back (1965) demonstraram que 95% da ovalbumina são convertidos a s-ovalbumina, em solução de ovalbumina a pH 10 e temperatura de 55°C por 20 horas. A máxima produção de s-ovalbumina ocorre a pH 9,2, e a mínima a pH 7,9 em temperatura de 20°C (Nguyen e Smith, 1984). A reação de transformação começa a ocorrer quando o pH está em torno de 8,5, o que normalmente leva três dias após a postura do ovo. Depois deste período, o pH atinge um valor estável entre 9,0 e 9,3. Nestas condições, a conversão irá depender somente da temperatura (Smith e Nguyen, 1984).

A s-ovalbumina é indistinguível da ovalbumina na maioria dos aspectos físicos, como peso molecular, mobilidade eletroforética, rotação específica, espectro ultravioleta, solubilidade e cristalização (Smith e Back, 1965). Nos aspectos químicos, as duas formas diferem pela resistência à desnaturação pelo calor, pela uréia e pelo hidrocloreto de guanidina, e também pelas mudanças de grupos sulfidrílicos para ligações dissulfídicas (Nguyen e Smith, 1984). As mudanças de grupos sulfidrílicos para ligações dissulfídicas foram sugeridas por Webster e Thompson (1980), como uma tentativa para explicar a

estrutura da s-ovalbumina. Para Nakamura et al. (1980), aparecem algumas diferenças na cromatografia de celulose-DEAE, no ponto isoelétrico (4,52 a 4,6 comparados com 4,62 da ovalbumina) e na titulação destas proteínas. Pequenas diferenças tem sido reportadas em relação à quantidade de α - hélice, medida pelo espectroscópio diferencial "Raman", que apresentou uma mudança de 3 a 4% de α -hélice para β -pregueada na conversão da ovalbumina para a s-ovalbumina (Kint e Tomimatsu, 1979).

A hidrofobicidade superficial da s-ovalbumina se apresenta de uma forma mais localizada do que a da ovalbumina (Nakamura e Ishimaru, 1981). Também têm sido citadas diferenças nos grupos carboxílicos tituláveis, considerando-se que a s-ovalbumina apresenta dois grupos carboxílicos a mais (Nakamura et al., 1981) e dois grupos amidas a menos (Kato et al., 1986), apesar de não se encontrarem diferenças eletroforéticas.

Kato et al. (1986) mostraram que ocorre 10% da desamidação da molécula de ovalbumina nos aminoácidos asparagina ou glutamina, resultando na produção de três grupos carboxílicos. Esta desamidação acontece durante o tratamento com álcali (soluções de ovalbumina a pH 9,9 por 16 horas a 55°C) ou durante armazenamento (2 semanas a 35°C). Os autores sugerem que dois resíduos carboxílicos podem corresponder com os dois grupos carboxílicos tituláveis reportados por Nakamura et al. (1980). O outro grupo carboxílico pode estar envolvido em ligações eletrostáticas com um resíduo de aminoácido carregado positivamente no interior da molécula, levando à formação da forma mais estável da ovalbumina.

A estabilidade da s-ovalbumina em relação à desnaturação pelo calor pode ter consequências nas propriedades de gelatinização da clara do ovo. Shitamori et al. (1984) reportaram que embora os perfis do pH para a formação de gel tenham sido semelhantes para ovalbumina e para s-ovalbumina, a resistência do gel induzido pelo calor da s-ovalbumina e da forma intermediária foi menor do que a resistência do gel da ovalbumina em várias temperaturas. Conclui-se, desta forma, que géis formados a partir da s-ovalbumina são menos resistentes do que os formados com soluções de ovalbumina.

Algumas diferenças têm sido mostradas no tamanho dos agregados solúveis formados pelo aquecimento das proteínas, sendo os agregados da s-ovalbumina menores do que os agregados da ovalbumina (Kato et al., 1985).

Essas diferenças citadas até o momento não fornecem uma completa explicação relacionada com as propriedades da s-ovalbumina. Entretanto, a ovalbumina é um bom exemplo de como pequenas mudanças em uma proteína podem ocasionar grandes efeitos nas suas propriedades.

Nakamura et al. (1980) prepararam outras proteínas além da ovalbumina, como a lisozima, conalbumina, β -lactoglobulina e albumina de soro bovino com um tratamento térmico que variou de 40° - 50°C em solução alcalina e observaram que não houve aumento da estabilidade ao calor por essas proteínas, com exceção da ovalbumina. O aumento da estabilidade ao calor é um fenômeno específico da ovalbumina.

2.4.2. Conalbumina ou Ovotransferrina

É uma glicoproteína, constituindo 13% da clara do ovo. Seu peso molecular varia de 60 a 95 kDa e seu ponto isoelétrico varia de 6,05 a 6,60. (Vadehra e Nath, 1973). Ela possui habilidade para se ligar com íon metal formando um complexo proteína-metal resistente à desnaturação pelo calor, pressão, enzimas proteolíticas e agentes desnaturantes (Azari e Feeney, 1958). A proteína se complexa com dois moles de íon metálico por molécula, com relativa estabilidade. A sua habilidade de se ligar com ferro está relacionada com a sua atividade antimicrobiana (Zabik, 1992). Essa proteína apresenta aproximadamente 15 ligações dissulfídicas e cerca de 55% de resíduos reativos (Zabik, 1992).

Conalbumina e ovalbumina podem ser gelatinizadas individualmente com tratamento alcali, já as outras proteínas da clara do ovo não possuem esta característica (Chang, 1979). A gelatinização destas proteínas depende, primeiramente, da abertura de suas moléculas. Seideman et al. (1963) e Cunningham e Lineweaver (1965) determinaram que a estabilidade da conalbumina ao calor foi mínima próxima ao pH 6,0. Em pH 9,0 a estabilidade ao calor desta proteína foi, marcadamente, maior. Por outro lado, a estabilidade da ovalbumina foi maior em pH neutro (Yang e Baldwin, 1995).

2.4.3. Ovomucóide

É uma glicoproteína que possui de 20 a 25% de carboidratos (Osuga e Feeney, 1977). É resistente a desnaturação ao calor em soluções ácidas e apresenta atividade

inibitória da tripsina (Stadelman e Cotterill, 1973). Osuga e Feeney (1977) observaram que a ovomucóide de ovo de galinha inibe a tripsina bovina, mas não inibe a tripsina humana.

Seu peso molecular está na faixa de 26100 a 28300 Daltons e seu ponto isoelétrico está entre 3,9 e 4,3 (Vadehra e Nath, 1973). Esta proteína é estabilizada por forças hidrofóbicas (Osuga e Feeney, 1977). A sua alta resistência ao calor é atribuída ao elevado conteúdo de cistina, e conseqüentemente, ao grande número de ligações dissulfídicas (8) (Vadehra e Nath, 1973). Apesar do alto grau dessas ligações, a molécula parece ser altamente hidratada e expandida, na presença de água. Um elevado conteúdo de carboidratos está envolvido neste tipo de comportamento hidrodinâmico (Vadehra e Nath, 1973).

Cinco tipos de ovomucóides foram separados de acordo com o seu ponto isoelétrico e referidos como O₁, O₂, O₃, O₄ e O₅ com os seus respectivos pontos isoelétricos, 4,41; 4,28; 4,17; 4,01 e 3,83. Embora todos os tipos de ovomucóide tenham em comum a atividade de inibição de tripsina, propriedades imunoquímicas e composição de aminoácidos, eles diferem-se na composição de carboidratos (Li-Chan e Nakai, 1989).

2.4.4. Ovomucina

A ovomucina é uma glicosulfoproteína que contribui para formar a estrutura de gel da camada espessa da clara (Vadehra e Nath, 1973). Existem dois tipos de ovomucina na clara do ovo; uma é insolúvel, caracterizando a alta viscosidade da camada fina da clara (Hayakawa e Sato, 1977; Kato et al., 1970).

Esta proteína representa de 1 a 2% do total de proteínas da clara (Vadehra e Nath, 1973), sendo diferente das demais proteínas porque sua molécula é extremamente grande, contendo ésteres de sulfato, grande quantidade de cistina que se interconecta através de ligações intermoleculares e possui 50% do total de ácido siálico da clara do ovo (Stadelman e Cotterill, 1973). O seu peso molecular varia de $5,5 - 8,3 \cdot 10^6$ Daltons. Ela possui uma quantidade relativamente alta de grupos dissulfídicos e alta quantidade de carboidratos que chega a 33% (Vadehra e Nath, 1973).

A maior concentração de ovomucina está na clara densa, porém nenhuma diferença foi constatada entre a camada densa e fina da clara do ovo (Parkinson, 1966). A quantidade de ovomucina é o maior fator responsável pelas diferenças entre as propriedades de coagulação das camadas densa e fina da clara do ovo (Yang e Baldwin, 1995).

A ovomucina e a lisozima em solução podem interagir e formar um complexo insolúvel em solução aquosa. As interações dessas proteínas diminuem com o aumento do pH. Na clara do ovo a quantidade do complexo formado diminui quando o pH se aproxima do ponto isoelétrico (10,7) da lisozima. O complexo ovomucina - lisozima, provavelmente, tem papel importante no aumento na fluidez da clara durante o armazenamento de ovos, mas há hipóteses contrárias na literatura (Stadelman e Cotterill, 1973).

Vários mecanismos são propostos para explicar a função da ovomucina na deterioração dos ovos, como por exemplo: as interações com a lisozima (pH alcalino), a

redução de pontes dissulfídicas, a perda de carboidratos, a interação da glicose com a proteína causando aumento na fluidez da clara (Osuga e Feeney, 1977).

2.4.5. Lisozima

A lisozima é uma glicoproteína e está presente na clara do ovo na quantidade de 3,5%. Possui um peso molecular relativamente baixo, que pode variar de 14300 a 14600 Daltons, e o seu ponto isoelétrico é 10,7 (Stadelman e Cotterill, 1973). Possui forma de esfera alongada e está na forma de dímero entre o pH 5 e 9 (Osuga e Feeney, 1977). Ela foi previamente referida como G₁, integrando o grupo das globulinas (Li-Chan e Nakai, 1989).

O interesse por essa proteína iniciou-se devido a sua ação enzimática em algumas bactérias e em alguns vírus, uma propriedade que elevou o potencial de aplicação como agente antimicrobiano em vários alimentos e também como um possível agente terapêutico (Vadehra e Nath, 1973).

A cadeia polipeptídica simples consiste de 129 resíduos de aminoácidos ligados por quatro pontes dissulfídicas. As cadeias laterais acídicas e básicas e os grupos terminais estão distribuídos na superfície da molécula. A localização da cadeia polar também parece estar na superfície, entretanto a maioria das cadeias não-polares (hidrofóbicas) está no interior da molécula. Um dos grupos hidrofóbicos está localizado na superfície, exatamente onde se encontra o sítio ativo da proteína (Li-Chan e Nakai, 1989).

A inativação térmica da lisozima como uma enzima depende da temperatura e do pH. Quando a lisozima é dissolvida em solução tampão de fosfato, não ocorre inativação a 63°C por 10 minutos a pH 9. Porém, a 65°C a atividade da lisozima em pH 9 é reduzida em 70% durante o mesmo período. A lisozima é 50 vezes mais sensível ao calor na clara do ovo do que em solução tampão fosfato. Na clara do ovo a 63°C por 10 minutos, a lisozima é inativada em grande proporção, quando o pH diminui para menos que 7 (Stadelman e Cotterill, 1973).

A lisozima possui características básicas e, devido a isto, tende a formar ligações eletrostáticas com outras moléculas. Algumas interações, particularmente, com a ovomucina, têm importância prática considerável no efeito espumante e em outras propriedades funcionais (Li-Chan e Nakai, 1989).

2.4.6. Globulinas G₂ e G₃

As globulinas juntas compreendem 0,4% do total de proteínas da clara do ovo. Seus pesos moleculares variam de 30000 a 45000 Daltons, e os pontos isoelétricos são 5,5 e 5,8 para G₂ e G₃, respectivamente (Vadehra e Nath, 1973). Possuem de 3,2 a 3,7% de hexoses e 2,4 a 2,5 % de hexosaminas. As globulinas não têm atividade inibitória contra a tripsina ou quimotripsina, mas têm capacidade de formar espuma e agregarem-se pela ação do calor (Johnson e Zabik, 1981). Feeney et al. (1963) caracterizaram as globulinas e encontraram quantidades insignificantes de grupos sulfidrílicos e ácidos nucleicos.

2.4.7. Proteínas Menores

Este grupo compreende as flavoproteína, ovoglicoproteína, ovoinibidor, cistatina e avidina.

A flavoproteína é uma fosfoglicoproteína que está ligada à riboflavina, sendo que essa vitamina dá cor amarelada na clara do ovo. Possui um peso molecular de 35000 Daltons e o seu ponto isoelétrico é 4,1 (Rhodes et al., 1958). A riboflavina se liga à região hidrofóbica da molécula (Farrell et al., 1970). A flavoproteína possui em torno de 15% de carboidratos.

Ovoglicoproteína possui peso molecular de 24000 Daltons e o seu ponto isoelétrico é de 5,9 (Ketterer, 1962). Representa 1% do total de proteína da clara, possui 13,6% de hexoses, 13,8% de glicosamina e 3% de ácido siálico (Vadehra e Nath, 1973).

Ovoinibidor é uma enzima proteolítica que se difere da ovomucóide. Possui peso molecular que varia de 44000 a 49000 Daltons e o seu ponto isoelétrico é 5,2 (Stadelman e Cotterill, 1973). Contém 3,5% de hexoses e 2,7% hexosamina. Sua composição de aminoácidos é totalmente diferente da do ovomucóide, exceto pelas características comuns de baixo conteúdo de triptofano e alto conteúdo de cistina (Li-Chan e Nakai, 1989).

A cistatina é uma proteína inibidora de ficina e papaína, e foi isolada e purificada por Fossun e Witaker em 1968. Possui um peso molecular de 12700 Daltons e não contém carboidratos (Li-Chan e Nakai, 1989).

A avidina possui peso molecular de 53000 Daltons e o seu ponto isoelétrico é 9,5, tendo sido identificada como a proteína que se liga à biotina (vitamina do complexo B). Após a complexação, a biotina torna-se não disponível para o organismo (Li-Chan e Nakai, 1989).

2.5. Principais Propriedades Funcionais das Proteínas da Clara do Ovo

As propriedades funcionais das proteínas são propriedades físico-químicas que contribuem com as características desejáveis de um alimento e seu comportamento físico durante a preparação, transformação e armazenamento. Muitas das propriedades funcionais dependem da exposição de grupos hidrofóbicos na superfície da molécula e as interações desses grupos com o óleo (emulsão), ar (espuma) ou outras moléculas protéicas (géis ou coágulos) (Li-Chan e Nakai, 1989).

Considerando-se que os resíduos de aminoácidos hidrofóbicos geralmente estão localizados no interior das moléculas das proteínas globulares, o desdobramento da estrutura nativa durante as etapas de processamento de alimentos, tais como homogeneização, liquidificação ou aquecimento, pode ser necessário para permitir a participação desses grupos hidrofóbicos nas interações intermoleculares (Kato et al., 1989; Li-Chan e Nakai, 1991).

A flexibilidade molecular de uma proteína pode ser restringida pela força das interações hidrofóbicas e eletrostáticas internas que mantêm a estrutura nativa, bem como pela presença de ligações covalentes dissulfídicas intramoleculares. A lisozima é um exemplo de proteína em que as estruturas terciárias, que incluem uma região

hidrofóbica posicionada no interior da molécula, são estabilizadas por quatro ligações dissulfídicas (Li-Chan e Nakai, 1991; Mine, 1995).

A desaminação das proteínas tem sido relatada como um método promissor para melhorar a solubilidade e as propriedades de superfície. O seu aumento na solubilidade e também a flexibilização da estrutura são devidos ao acréscimo nas cargas negativas das proteínas (Kato et al., 1987; Matsudomi et al., 1982).

2.5.1. Gelatinização

Gel é uma forma intermediária entre o sólido e o líquido. Consiste de ligações cruzadas entre moléculas poliméricas que formam um emaranhado, uma rede intermolecular imersa num meio líquido. Em sistemas de alimentos esse líquido é a água. A água, como solvente, influencia a natureza e a magnitude das forças intermoleculares que mantêm a integridade da rede de polímeros; a rede de polímeros, por sua vez, retém a água, prevenindo a sua perda (Oakenfull, 1987).

O processamento de alimentos e o desenvolvimento de novos produtos necessitam de ingredientes, como os agentes gelatinizantes, que formam uma matriz estrutural para segurar ingredientes como, por exemplo: a água e, fornecer uma textura desejável aos alimentos (Phillips et al., 1994).

Os géis podem ser descritos pela sua capacidade de imobilizarem líquidos, pela sua estrutura macromolecular, pela sua textura e suas propriedades reológicas (Phillips et

al., 1994). A formação de gel de proteína foi, primeiramente descrita, como um processo realizado em duas etapas:

1. A primeira etapa envolve mudança na conformação (usualmente induzida pelo calor) ou desnaturação parcial das moléculas protéicas. Com a desnaturação, a viscosidade da dispersão aumenta, devido ao aumento das dimensões moleculares ocasionada pela abertura da molécula protéica (Ferry, 1948). Nesta dispersão protéica surgem as primeiras características de um sólido elástico.

2. Numa segunda etapa, ocorre associação gradual ou agregação das moléculas de proteínas desnaturadas (Ferry, 1948). Durante esta etapa, há aumento exponencial na viscosidade e a formação de uma rede contínua. A formação desta etapa é mais lenta, em relação à primeira, e termina com o surgimento de uma rede organizada. Se a 2ª etapa ocorresse também, rapidamente, ocorreria a formação de uma rede desorganizada (um coágulo), e conseqüentemente, não conseguiria segurar a água, ocasionando a sinerese (Phillips et al., 1994).

A formação da rede de géis a temperatura de 85 e 90°C é atribuída à formação de ligações covalentes, mudanças de grupo tiol para ligações dissulfídicas e pelas interações hidrofóbicas (Phillips et al., 1994). Para ocorrerem essas interações hidrofóbicas entre segmentos apolares de polipeptídeos adjacentes, primeiro é necessário ocorrer abertura desses polipeptídeos induzida pelo calor. O resfriamento aumenta as pontes de hidrogênio (Phillips et al., 1994). A reação de troca do grupo tiol para ligação dissulfídica é importante na gelatinização térmica, por produzir ligações cruzadas covalentes envolvendo e estabilizando a matriz do gel. A propriedade de elasticidade do gel é

diretamente proporcional à densidade das ligações cruzadas da rede (Phillips et al., 1994).

A primeira etapa na coagulação térmica envolve a formação de ligações dissulfídicas e expõe os grupos hidrofóbicos (Shimada e Matsushita, 1980). Durante o aquecimento, a clara do ovo é polimerizada por ligações intermoleculares de troca dos grupos sulfidrílicos para ligações dissulfídicas, ocasionando a formação de uma rede. A termocoagulação requer um balanço das atrações eletrostáticas entre as moléculas de proteínas e interações hidrofóbicas durante a formação do gel (Ma e Holme, 1982).

A integridade física do gel depende do balanço entre as forças atrativas e repulsivas das moléculas protéicas no líquido que está envolvido no sistema (Clark e Ross-Murphy, 1987; Damodaran, 1989; Ferry, 1948; Hermansson, 1979; Kinsella, 1984; Mulvihill e Kinsella, 1987; Schmidt, 1981; Ziegler e Foegeding, 1990). Se as forças atrativas predominarem, ocorre formação de um coágulo, e a água é expulsa da matriz da rede. Se as forças repulsivas predominarem, não há formação da rede tridimensional (Kinsella, 1984).

Os tipos e as propriedades de géis são sensíveis a vários fatores, como a concentração de proteína, pH da solução, tipo e concentração de sal (Mulvihill e Kinsella, 1988). A gelatinização pode ocorrer durante o aquecimento ou durante o resfriamento, e depende da proteína e das condições do processo.

A formação da rede de géis translúcidos induzidos pelo calor envolve a associação ordenada das cadeias abertas de polipeptídeos, através de ligações não-covalentes (por

exemplo: pontes de hidrogênio, interações iônicas e hidrofóbicas) e em alguns casos ligações covalentes (ligações dissulfídicas) (Hermansson, 1979; Xiong e Kinsella, 1990).

As interações não-covalentes proteína-proteína ocorrem na formação de géis reversíveis e não-reversíveis. As ligações cruzadas intermoleculares entre cadeias de polipeptídeos desenvolvidas variam extensamente, e são essenciais para a formação do gel (Phillips et al., 1994).

O tipo e a extensão das interações não-covalentes, tais como interações hidrofóbicas e de van der Waals, pontes de hidrogênio e interações iônicas, estão relacionados com a natureza da proteína, com sua concentração, com o pH da solução, com a intensidade da desnaturação provocada pelo aquecimento e com o ambiente iônico (Schmidt, 1981). Sendo assim, interferem nas forças atrativas e repulsivas da rede tridimensional, e com isso o excesso de forças atrativas ocasiona a coagulação, como também, o excesso de forças repulsivas resulta na dissolução da estrutura da rede (Ferry, 1948).

Montejano et al. (1984) reportaram que a rigidez da clara do ovo foi iniciada a 71°C e aumentou a temperatura de 83°C, e a elasticidade foi desenvolvida entre a temperatura de 70-74°C. A desnaturação da ovalbumina ocorre na faixa de 79° a 84°C. Aumentando a temperatura e o tempo de aquecimento ocorre melhora nas ligações com as moléculas de água e um aumento nas ligações cruzadas da estrutura do gel (Yang e Baldwin, 1995). A dureza de tofu de ovo aumenta de acordo com o aumento da concentração de proteína, com aumento do tempo e da temperatura de aquecimento (Yang, 1994). Portanto, alimentos com grande quantidade de ovo podem requerer o mesmo período e a mesma temperatura para ocorrer o espessamento (Griswold, 1962). A composição do produto é

que determina qual a temperatura necessária para a coagulação. Por exemplo, Andross (1940) encontrou que cremes dependem somente da clara de ovo para ocorrer o espessamento. A clara de ovo é coagulada a uma temperatura menor que a necessária para produtos que utilizam a gema do ovo.

O sucesso para o cozimento do ovo depende apenas do tempo e da temperatura. A exposição à temperatura muito alta por muito tempo resulta numa supercoagulação. É possível obter bons resultados com altas temperaturas se o tempo for, apropriadamente, menor. O aquecimento é necessário para obter uma firmeza ótima, mas pode resultar numa sinerese indesejada (Lowe, 1955). A sinerese observada por Chen e Hsu (1981), quando o ovo inteiro e a clara foram cozidos no microondas, pode ter sido devida à supercoagulação, mas a velocidade de cozimento induzida pelo microondas e a tendência de como é conduzido o aquecimento dificultam prevenir a supercoagulação em alguns alimentos (Yang e Baldwin, 1995). Quando os pudins são cozidos em altas temperaturas, existe pouca diferença entre o ponto ótimo de espessamento e o ponto de desandamento do produto. Quando o cozimento é feito em banho-maria, a temperatura ótima de espessamento é de 87°C e a temperatura de desestruturação do produto é de 92°C (Yang e Baldwin, 1995).

As interações eletrostáticas balanceadas são determinantes na estrutura da rede do gel e influenciam as suas propriedades, como por exemplo: os efeitos do pH e os efeitos dos íons Ca^{2+} e Na^+ (Hermansson, 1979; Mulvihill e Kinsella, 1987). As redes de cargas das moléculas protéicas afetam as forças eletrostáticas atrativas e repulsivas, ocorrendo assim as interações nas moléculas protéicas com o solvente. As forças repulsivas entre as moléculas protéicas abertas promovem a desestabilização da rede

estrutural do gel e mudança na hidratação do interior da molécula. Com isso ocorre diminuição na força das ligações iônicas na rede do gel (Damodaran, 1989).

As formações de ligações com Ca^{2+} (ou outros íons divalentes) em polipeptídeos adjacentes são conhecidos por promoverem a estabilidade na estrutura do gel (Schmidt, 1981). Os sais ajudam a promover a coagulação (Lowe, 1955). Sulfato de cobre e cloreto de alumínio diminuem a firmeza (Beveridge et al., 1980). Vários sais diminuem a quantidade de água existente na clara do ovo (Bull e Breese, 1970), e sais de baixa concentração ajudam a solubilização das proteínas antes do aquecimento. Portanto, a adição de sal promove a agregação (Mulvihill e Kinsella, 1988). A adição de açúcar aumenta a temperatura de coagulação (Yang e Baldwin, 1995)..

As diferenças na capacidade de formação de géis observadas entre as proteínas globulares, geralmente, refletem a variedade do grau de interações proteína-proteína e o número e a extensão de sítios interativos disponíveis dentro das moléculas protéicas abertas (Phillips et al., 1994).

As ligações dissulfídicas intermoleculares aumentam a estabilidade da matriz do gel. Aumentando o tamanho da cadeia polipeptídica pode-se retardar a ruptura das interações não-covalentes, que também fornece estabilidade à rede do gel. Os grupos tióis inacessíveis tornam-se expostos e podem ser ativados pela abertura da molécula da proteína, durante o aquecimento ou pelas alterações nas condições dos solventes (Kella e Kinsella, 1988). Assim sendo, os grupos tióis reativos tornam-se expostos e podem formar ligações dissulfídicas intermoleculares (Schmidt et al., 1979). As reações de mudanças

intermoleculares de grupos tióis-dissulfídicas podem promover um aumento das ligações cruzadas dissulfídicas dentro da matriz do gel, de acordo com o esquema da reação:



A molécula de dímero formada por essa reação pode continuar reagindo com grupos sulfidrílicos em outras moléculas de proteína, produzindo as ligações cruzadas necessárias para gelatinização (Phillips et al., 1994).

Embora a formação de uma rede de proteínas seja descrita em dois estágios do processo (Ferry, 1948), a presença de agregados solúveis que antecedem a formação da rede tem sido reportada para várias proteínas (Ma e Holme, 1982; Mori et al., 1986; Nakamura et al., 1984). Entretanto, uma terceira etapa do mecanismo tem sido proposta, envolvendo a desnaturação, seguida pela agregação solúvel e em seguida as interações dos agregados dentro da rede. Dando suporte a esta explicação há análises de microscopia eletrônica (Beveridge et al., 1983).

Quando Ferry (1948) introduziu a idéia de que a gelatinização ocorre em dois estágios, ele ressaltou a importância da relação entre a desnaturação e a associação. Se as forças atrativas são quebradas pela desnaturação, esta deveria promover, com certa rapidez, a associação da cadeia. Isto resultaria num acúmulo de proteínas desnaturadas livres, como uma fase intermediária. Nestas condições, uma rede fina de gel deveria se formar. Um gel áspero e grosseiro deveria se formar quando um aumento nas forças

atrativas conduzi-se para uma gelatinização anterior à acumulação das muitas cadeias livres. Como as forças atrativas são aumentadas, somente um agregado deveria se formar. Tanto para o mecanismo de dois ou de três estágios, a relação entre a desnaturação e associação influencia o tipo de rede formada (Yang e Baldwin, 1995). A reação de coagulação é endotérmica, ou seja, o calor é absorvido. Sendo assim, a velocidade desta reação é influenciada pela temperatura (Lowe, 1955).

Feeney (1964) listou as proteínas de acordo com a quantidade percentual existente no albume sólido como: ovalbumina 54%; conalbumina 13%; ovomucóide 11%; lisozima 3,5%; ovomucina 1,5%; flavoproteína-apoproteína 0,8%; inibidor de proteinase 0,1%; avidina 0,05% e proteínas não identificadas 8%. Destas, a ovomucóide e a ovomucina não são coaguláveis pelo calor (Johnson e Zabik, 1981; Parkinson, 1966). A conalbumina é especialmente sensível ao calor, a menos que esteja complexada com ferro ou alumínio (Cunningham e Lineweaver, 1965). As temperaturas de desnaturação da conalbumina, globulinas, ovalbumina, e lisozima são de 57,3°, 72,0°, 71,5°, e 81,5°C, respectivamente (Yang e Baldwin, 1995).

O aparecimento e o desaparecimento das bandas de proteínas da clara do ovo, da gema e do ovo inteiro em eletroforese de gel de poliacrilamida, em diferentes condições de aquecimento, tem sido observados por vários pesquisadores (Yang e Baldwin, 1995).

O efeito da acidez e da alcalinidade no albume depende do pH e da sua relação com o ponto isoelétrico das proteínas. Seideman et al. (1963) estudaram a coagulação pelo calor da clara do ovo e encontraram a máxima absorbância quando o pH do albume foi ajustado a níveis próximos do ponto isoelétrico das proteínas do sistema.

Uma vantagem de se usar o texturômetro é que ele reproduz o movimento que a mastigação humana exerce no alimento. A análise do gráfico de força-tempo fornece sete parâmetros de textura, onde cinco, são medidos e dois calculados de medidas de outros parâmetros. Esses setes parâmetros foram denominados seguindo a nomenclatura determinada por Szczisniak (1975), citada em Bourne (1978):

1. Fraturabilidade: força da primeira ruptura significativa na primeira curva do gráfico;
2. Dureza: força máxima atingida no primeiro ciclo de compressão;
3. Coesividade: razão entre a área positiva da força durante o segundo ciclo de compressão sobre a área do primeiro ciclo de compressão ($A1/A2$);
4. Adesividade: área negativa da força do primeiro ciclo de compressão, representada pelo trabalho necessário para puxar a sonda compressora da amostra;
5. Elasticidade: altura que a amostra atinge após os dois ciclos da compressão;
6. Gomosidade: produto da dureza e da coesividade;
7. Mastigabilidade: produto da gomosidade e da elasticidade;

2.5.2. Espuma

Existem duas grandes classes de espumas, as espumas esféricas e as poliédricas (Adamson, 1982). As espumas a base de proteínas são compostas de bolhas de ar. Cada gotícula de ar é envolvida por um filme fino e contínuo de moléculas protéicas, sendo que cada bolha é separada por uma lamela. Quando as bolhas são inicialmente formadas, o seu formato é esférico (com alta pressão interna) e a lamela é densa (espessa), contendo grande quantidade de fluido. O líquido na espuma poliedral é distribuído entre os canais

da lamela, onde se encontram os filmes. A drenagem do fluído da lamela é a principal força desestabilizante, o qual ocasiona a aproximação das bolhas de ar (Adamson, 1982).

Durante a formação da espuma à base de proteína ocorre uma seqüência de reações. Elas precisam de uma aplicação de energia para começar o processo, com isso, as proteínas solúveis chegam à interface ar-água pela difusão, adsorção, concentração e tensão superficial crítica (German e Phillips, 1989; Phillips, 1981). O rearranjo dos polipeptídeos ocorre na interface pela orientação da mobilidade polar, a qual é direcionada para a água, e os segmentos apolares preferem se direcionar para as partículas de ar. Esse processo ocorre através das interações não covalentes dos polipeptídeos, formando as bases de um filme coeso e contínuo (Phillips, 1981). Os componentes estruturais e as forças que favorecem as associações intermoleculares melhoram as propriedades espumantes (interações eletrostáticas atrativas), ou excessivamente repulsivas podem diminuir a capacidade espumante. A extensão das interações moleculares das proteínas na interface ar-água e as propriedades do filme interfacial dependem do tipo de proteína e das condições dominantes da solução, as quais determinam grandemente a formação e a estabilização da espuma (Phillips et al., 1994).

As propriedades espumantes das proteínas são, basicamente, relatadas por suas propriedades de formação de filmes na interface água-ar (Phillips et al., 1994). As proteínas que são abertas e adsorvidas rapidamente apresentam melhores propriedades espumantes do que proteínas que são adsorvidas levemente e são mais difíceis de abrirem as suas estruturas na interface (Phillips et al., 1994).

As mesmas forças que determinam a estrutura e a flexibilidade de uma proteína, como as interações eletrostáticas e as hidrofóbicas, e as ligações dissulfídicas também determinam o comportamento interfacial e as propriedades de uma proteína (Phillips et al., 1994).

Durante o movimento na interface as proteínas parcialmente abertas formam novas associações intermoleculares com outras moléculas vizinhas para formar filmes coesos, que é essencial para a formação da espuma (Kinsella e Phillips, 1989). Em sistemas homogêneos, as forças atrativas predominantes entre as proteínas são as pontes de hidrogênio, as interações hidrofóbicas, eletrostáticas e de “van der Waals” (Kinsella, 1981). A magnitude das forças que mantêm a estrutura protéica nativa, tanto em solução como na interface, são importantes nas propriedades espumantes (German e Phillips, 1989).

Barnore (1934) citado em Halling (1981) mostrou que a queda na estabilidade da espuma no super batimento da clara de ovo e o aumento da drenagem se correlacionou com a queda da viscosidade do líquido drenado da espuma. Essas mudanças na viscosidade mostram ser um importante fator no super batimento. A queda na viscosidade não é suficiente para explicar o aumento da taxa de drenagem em longos períodos de batimento da clara de ovo. Assim sendo, talvez um componente protéico específico também desempenhe importante papel no super batimento da clara de ovo (Halling, 1981).

As forças que atuam nos diferentes estágios da estabilidade da espuma são:

1. Forças eletrostáticas atrativas: essenciais para a formação da rede de proteínas e coesão do filme, porém em excesso podem causar a coagulação dos polipeptídeos. Por outro lado, o papel da eletronegatividade para a estabilização da espuma tem sido atribuído à repulsão eletrostática em filmes adjacentes. Os fatores que são importantes para a formação de ótimos filmes, num sistema simples, podem retardar a formação do filme e causar a desestabilização da espuma. Por exemplo, algumas propriedades reológicas que melhoram a estabilidade do filme são máximas na faixa do ponto isoelétrico de muitas proteínas, no qual a solubilidade tende a ser mínima. Assim sendo, para determinar as propriedades espumantes de uma proteína é necessário conhecer o balanço entre os componentes hidrofóbicos e iônicos, apesar de a localização precisa destes componentes na forma tridimensional da molécula ser desconhecida (Phillips et al., 1994).

2. Os resíduos apolares contribuem fortemente com as forças interativas na interface hidrofóbica, e assim aumentam a atividade superficial no qual os resíduos hidrofílicos são associados com a diminuição da atividade superficial e podem melhorar a qualidade do filme e a estabilidade da espuma (Nakai e Li-Chan, 1985). A estabilidade da espuma deriva em parte da capacidade da atividade superficial das proteínas melhorar a elasticidade do filme. A estabilidade também reflete o balanço entre as forças dentro do filme e as forças entre as bolhas adjacentes (Kinsella e Phillips, 1989).

O processo de formação de espuma é relacionado com a velocidade do misturador, a geometria do batedor e as propriedades superficiais do material a ser espumado (Phillips et al., 1990).

Os níveis máximos de incorporação de ar durante o batimento refletem um melhor equilíbrio dinâmico real entre a força mecânica e a destruição das bolhas. Isso dá uma medida mais real da estabilidade da espuma. A estabilidade da espuma é medida pela quantidade de tempo necessária para uma quantidade específica de líquido drenar da espuma (Phillips et al., 1994).

A extensão da formação de filme protéico está relacionada com a habilidade da proteína em diminuir a tensão superficial entre a gotícula de ar e a solução protéica. A estabilidade da espuma é dependente da natureza do filme, que reflete a extensão das interações dentro da matriz do filme (Phillips et al., 1994).

As características estruturais de proteínas que levam para rápida formação de espuma são baixo peso molecular e moléculas anfipáticas. Para a formação de uma cápsula de proteína que segure uma bolha de ar é necessário que os componentes protéicos apresentem interações não-covalentes, como as forças eletrostáticas e hidrofóbicas, as pontes de hidrogênio e as ligações dissulfídicas. As características moleculares inerentes das proteínas influenciam a formação e a estabilidade da espuma à base de proteína (Kinsella e Phillips, 1989). Sendo assim, o balanço crítico das interações não-covalentes leva a formação de um filme coeso e viscoso que é necessário para estabilizar a espuma (Kinsella, 1981).

A repulsão eletrostática pode reduzir a estabilidade da espuma, como também, pode retardar a formação de um filme (Phillips e Kinsella, 1990). As ligações dissulfídicas reduzem a flexibilidade de uma proteína. A mudança de um grupo tiol livre para uma ligação dissulfídica tem muita importância para as propriedades funcionais. German e Phillips (1989) estabeleceram que as alterações moleculares induzidas pela redução das ligações dissulfídicas entre as moléculas de proteínas melhoram a formação de filme da espuma e a sua estabilização.

A formação de ligações dissulfídicas durante a formação da espuma e as propriedades espumantes da ovalbumina foram estudadas por Doi et al. (1989). Os autores concluíram que o fator essencial para a formação da espuma estável da ovalbumina não foi a formação de ligações dissulfídicas, mas a formação da rede por outras interações não-covalentes. Sendo assim, o balanço crítico das interações não-covalentes leva a formação de um filme coeso e viscoso que é necessário para estabilizar a espuma (Kinsella, 1981).

O papel crítico da ligação dissulfídica é estabilizar a estrutura da proteína, restringindo a abertura da molécula e prevenindo a exposição completa das regiões hidrofóbicas (Li-Chan e Nakai, 1989). A formação de ligações dissulfídicas na interface ar-água pode melhorar a estabilidade da espuma (Phillips et al., 1994). A concentração de proteína, a espessura do filme, a força iônica, pH, temperatura e a presença de outros componentes nos sistemas de alimentos em adição com as propriedades físico-químicas das proteínas afetam as propriedades espumantes. Por exemplo: com o aumento da concentração de proteína, geralmente ocorre a formação de um filme lamelar espesso, e isto resulta numa melhor estabilidade da espuma (Phillips et al., 1994).

Merengues e bolos de clara podem ser feitos de ovomucinas e globulinas sem os outros componentes da clara de ovo. Entretanto, quando a ovalbumina não está presente, a massa do bolo entra em colapso após o crescimento, durante o período de batimento (Yang e Baldwin, 1995). Macdonnell et al. (1955) observaram que quando a ovalbumina está sozinha numa mistura de “Angel cake”, é necessário um período maior de batimento para formar a espuma, e o produto fica com uma textura grosseira. As claras de ovos em que são removidas as globulinas e a ovomucina necessitam de um tempo maior de batimento, e quando essas misturas são usadas em bolos causam uma redução do volume. Retomando as globulinas na mistura de bolo, ocorre aumento no volume, porém o tempo de batimento continua longo.

Quando a ovomucina é colocada no lugar das globulinas, o tempo de batimento é diminuído, mas o volume de bolos feitos dessa mistura não é melhorado. Quando retornam as globulinas e a ovomucina, melhora a qualidade do bolo de clara de ovo. A adição de grande quantidade de ovomucina resulta num aumento da velocidade da formação de espuma e coagulação excessiva da proteína na superfície da bolha, juntos com a elasticidade reduzida do filme em volta da bolha. Portanto, o volume de bolos feitos dessa mistura é menor. Adicionando maior quantidade de globulinas na clara de ovo ocorre uma fraca propriedade espumante e aumenta o volume de bolos. A estabilidade nestes casos é obtida somente quando a quantidade de ovomucina for normal (Macdonnell et al., 1955).

O superbatimento da clara de ovo insolubiliza muito da ovomucina, ocasionando a perda da elasticidade do filme que envolve a bolha de ar (Macdonnell et al., 1955). De acordo com Macdonnell et al. (1955) e Cunningham (1976), cada batimento sucessivo do

líquido drenado de espuma necessita de um tempo maior de batimento e resulta numa perda do produto estável. A grande quantidade de ovomucina é removida com o primeiro batimento (Macdonnell et al., 1955). O líquido drenado que é coletado da espuma de clara de ovo é idêntico ao da clara fresca (Cunningham, 1976).

As globulinas contribuem para a alta viscosidade e diminuem a tendência do líquido drenar da espuma. Elas também diminuem as tensões superficiais, que são úteis especialmente no estágio inicial da espuma. A perda da tensão superficial promove a formação de pequenas bolhas de ar e ocasionam uma textura macia (Macdonnell et al., 1955).

O uso de misturas protéicas leva a formação de uma mistura de cargas opostas que podem melhorar a estabilização das espumas de alimentos, desde que sejam conhecidas as possíveis interações eletrostáticas que possam ocorrer (Phillips et al., 1994).

3. ESTUDO 1. QUALIDADE INTERNA DE OVOS DE GALINHA COBERTOS COM CONCENTRADO PROTÉICO DE SORO DE LEITE BOVINO.

Introdução

As vantagens de utilizar filmes e coberturas comestíveis podem ser justificadas pela manutenção das propriedades funcionais dos alimentos, através da diminuição da perda de umidade, da diminuição do transporte de gases (O_2 e CO_2), do retardamento da volatilização de componentes aromáticos, além de funcionarem como veículo de aditivos (Kester e Fennema, 1986).

Aplicação de cobertura em ovos com casca reduz a perda de peso e mantém a qualidade interna medida por vários índices, como altura da célula de ar, unidade Haugh, índice gema e pH da clara (Imai, 1981).

Wong et al. (1996) observaram que ovos de galinha cobertos com filmes a base de zeína apresentaram menor perda de umidade e mantiveram a unidade Haugh, durante o período de armazenamento, comparados com soluções à base de albumina do ovo, isolado protéico de soja, glúten do trigo e óleo mineral. Essa cobertura também promoveu certa resistência à quebra da casca, originando uma barreira protetora.

Li et al. (1985) revestiram ovos com acrilonitrila e observaram que não houve diferença significativa na unidade Haugh. Sendo assim, concluíram que controlar a atmosfera é um método eficiente na preservação da qualidade de ovos com casca a temperatura ambiente num período de 7 semanas.

Vários pesquisadores Cubis et al. (1980), Hill e Hall (1980), Imai (1981), Bacurau et al. (1994), Wong et al. (1996) testaram tratamentos em ovos frescos antes de sua distribuição e comercialização. Estes estudos incluem seleção por características de resistência da casca, tratamentos de lavagens, aplicação de sanitizadores e óleos minerais, bem como o uso da refrigeração.

As pesquisas existentes no Brasil sugerem que a qualidade de ovos não é boa (Gardner et al., 1980), a qual é extremamente agravada pelo longo período entre classificação e comercialização dos ovos, somada à elevada temperatura ambiente e ausência de fatores de preservação da qualidade, como refrigeração e tratamento da casca (Morais et al., 1997).

Considerando que novas alternativas para armazenamento de ovos são essenciais para manter a qualidade interna do ovo e que o soro de leite é um subproduto da indústria de laticínio, torna-se importante o estudo da aplicação deste tipo de cobertura como um meio de preservar as características desejáveis deste produto. O objetivo deste estudo foi observar o efeito da aplicação de cobertura de concentrado protéico de soro de leite em ovos frescos sobre a perda de peso, qualidade interna expressa em unidade Haugh e pH do albume durante a estocagem em temperatura ambiente por quatro semanas.

Material e Métodos

Foram utilizados ovos colhidos logo após a postura, na Granja Bandeirantes S/A, localizada na cidade Sumaré - SP. A raça da galinha ("Hy-line" variedade W-36) e a dieta (à base de milho) foram controladas. Os ovos foram higienizados, com solução de hipoclorito de sódio a 1%, por 30 segundos (Oliveira, 1997). Em seguida foram divididos em dois grupos: em um grupo foi aplicada uma cobertura à base de concentrado protéico de soro de leite, e no outro grupo de ovos não foi aplicada a cobertura. Para aplicação da cobertura, os ovos foram imersos na solução de CPSL por 1 minuto, sendo depois secos a temperatura ambiente por 24 h. A seguir, os ovos foram armazenados em grades de papelão, numa câmara BOD (Biological Oxygen Density) a 25°C. A umidade relativa variou de 70 a 78%, durante o experimento. As determinações foram feitas em triplicata para método e para análise, e os períodos foram 3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias.

Análise Estatística: o delineamento experimental foi fatorial 2x6, no qual os fatores foram cobertura e tempo. Foram realizadas comparações múltiplas das médias, envolvendo todos os tempos de armazenamento, inclusive o tempo zero (ovos frescos), aplicando a análise de um contraste ortogonal (tratamentos x ovos frescos). Com estes resultados, montou-se a Tabela de análise de variância (Apêndice 1). Os resultados foram analisados com o teste de Tukey através do programa estatístico SANEST.

Cobertura Protéica: a caracterização do concentrado protéico de soro de leite utilizado neste estudo está na Tabela 5. A solução de cobertura foi preparada seguindo a metodologia de Gennadios et al. (1993): 10,78g de concentrado protéico de soro de leite (8% de proteína), 3,5g de glicerol, completado para 100g de água (p/p). A solução foi homogeneizada até a completa dissolução e submersa em água a 90°C por 30 minutos.

Em seguida foi resfriada até atingir a temperatura de 25°C e o pH foi ajustado para 7,0, com solução de NaOH 1,0N.

Tabela 5: Caracterização do concentrado protéico de soro de leite.

Nome Comercial	Calpro 8002
Proteína (AOAC, 1980)	74,19 % ± 0,26
Gordura (AOAC, 1980)	5,94 % ± 0,11
Cinzas (AOAC, 1980)	5,19 % ± 0,04
Umidade (AOAC, 1980)	8,34 % ± 0,04

Perda de peso: foi calculada, subtraindo o peso final do peso inicial e dividindo pelo peso inicial. A percentagem foi obtida pela multiplicação dos valores por 100, ou seja:

$$(\%) PP = \frac{(P_i - P_f) \times 100}{P_i}$$

em que: P_i = peso inicial; P_f = peso final.

Qualidade interna do ovo: foi medida através do sistema de análise da qualidade do ovo

- Sistema de Análise de Ovos (tecnologia da Embrapa) – é um micrômetro de alta precisão que mede a altura do albume. Este sistema utiliza a fórmula da unidade Haugh:

$$UH = 100 \log \left[H - \frac{\sqrt{G(30W^{0,37} - 100)}}{100} + 1,9 \right]$$

em que: H = altura da clara espessa (milímetros); G = constante gravitacional de valor 32;

W = peso do ovo (gramas) (Brant et al.; 1951).

pH: o pH do albume foi obtido com o auxílio de um potenciômetro Micronal B374.

Resultados e Discussão

Houve interação entre o fator tempo e o fator cobertura para perda de peso do ovo, qualidade interna e pH do albume. Com isso, os resultados foram analisados dentro de cada período de armazenamento. A perda de peso foi afetada pelo tratamento de aplicação da cobertura de concentrado protéico de soro de leite e pelo tempo de armazenamento. Os ovos com e sem cobertura perderam peso no decorrer do período de estocagem.

As perdas de peso nos ovos com cobertura foram menores do que em ovos sem cobertura (Figura 1). As maiores perdas de peso para os ovos com e sem cobertura ocorreram na quarta semana de armazenamento, alcançando valores de 4,8% e 5,96%, respectivamente (Tabela 6). Wong et al. (1996) obtiveram perda de peso de 4,2%, 6,5% e 9,2% de ovos com cobertura a base de glúten de trigo, ovos com cobertura a base de isolado protéico de soja e ovos com cobertura a base de óleo mineral, respectivamente, após 28 dias de armazenamento. Os valores obtidos para a cobertura de CPSL foram 0,6% maior que os apresentados pela cobertura de glúten, 1,7% e 4,4% menores que os resultados de isolado protéico de soja e óleo mineral, respectivamente.

No terceiro dia a diferença entre os grupos de ovos foi de 200% (ovos com cobertura = 0,37% e ovos sem cobertura = 0,74%). Porém, do sétimo ao vigésimo primeiro dia a diferença ficou em torno de 50%. Já no vigésimo oitavo dia essa diferença caiu ainda mais, chegando a 23,14%. A perda de peso dos ovos com cobertura está relacionada com o concentrado utilizado. A proteína de soro de leite possui resíduos de aminoácidos hidrofílicos que permitem a passagem de moléculas de água. O glicerol (utilizado para proporcionar uma uniformidade na cobertura) ocasiona quebra de pontes

de hidrogênio presente nesta cobertura, acarretando a perda de água durante o armazenamento (Mchugh e Krochta, 1994).

De maneira geral, houve decréscimo da qualidade interna dos ovos, tanto para os ovos sem cobertura como para os ovos com cobertura (Figura 2). Porém a variação dos ovos com cobertura (de 85,2 para 67,1 UH) foi menor do que para os ovos sem cobertura (de 85,2 para 14,2 UH) (Tabela 6), até o final do período de estocagem. Alleoni e Antunes (2001) armazenaram ovos a temperatura de 8°C e obtiveram valores da unidade Haugh em torno de 60, num período de 21 dias. Comparando-os com os resultados obtidos em ovos cobertos com CPSL, nota-se que há uma diferença de 10 UH, pois ovos cobertos apresentaram 70 UH, no mesmo período de armazenamento.

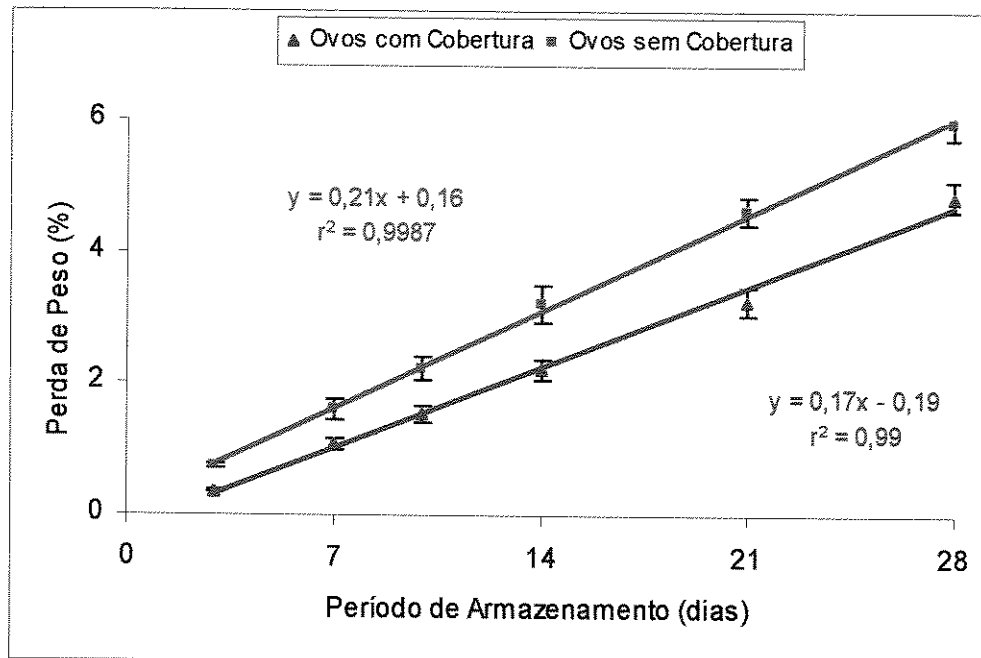


Figura 1. Correlação linear entre os valores da perda de peso de ovos sem e com cobertura em função do período de armazenamento (3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias).

Tabela 6: Perda de peso e unidade Haugh dos ovos e pH da clara de ovos com e sem cobertura armazenados a 3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias a temperatura de 25°C.

Período de Armazenamento	Cobertura (CPSL)	Perda de Peso (%)	pH	Unidade Haugh
Ovos frescos	-	-	7,93 ± 0,16	85,2 ± 5,50
3 dias	Com	0,37 ± 0,03	8,01 ± 0,13	78,7 ± 3,93
	Sem	0,74 ± 0,05	9,09 ± 0,17	61,9 ± 1,94
7 dias	Com	1,08 ± 0,10	8,03 ± 0,10	77,5 ± 2,53
	Sem	1,62 ± 0,16	9,24 ± 0,06	52,1 ± 2,52
10 dias	Com	1,54 ± 0,13	8,07 ± 0,15	73,8 ± 2,51
	Sem	2,22 ± 0,19	9,35 ± 0,06	45,1 ± 2,51
14 dias	Com	2,21 ± 0,17	8,21 ± 0,10	72,8 ± 3,18
	Sem	3,21 ± 0,27	9,47 ± 0,10	19,7 ± 1,65
21 dias	Com	3,25 ± 0,22	8,23 ± 0,14	67,1 ± 2,63
	Sem	4,61 ± 0,21	9,46 ± 0,08	19,6 ± 1,46
28 dias	Com	4,84 ± 0,23	8,33 ± 0,17	66,8 ± 2,90
	Sem	5,96 ± 0,25	9,44 ± 0,08	14,4 ± 1,26

Com 3 dias a unidade Haugh de ovos com cobertura foi 78,8 UH e para os ovos sem cobertura foi 61,9 UH (Tabela 6). Wong et al. (1996) obtiveram valores de 69,5 UH para ovos com cobertura a base de glúten, 73,3 UH para ovos com cobertura á base de isolado protéico de soja e 69,2 UH para ovos com óleo mineral. Herald et al. (1995) obtiveram valores de 70 UH para ovos com cobertura a base de glúten no mesmo período de armazenamento. Os valores da UH de ovos sem cobertura foram 21,44% menor e quando comparados aos valores da UH de ovos com cobertura. Com o decorrer do período de estocagem, essa diferença foi aumentando. Após uma semana a diferença foi 32,7%.

A UH dos ovos sem cobertura armazenados por 7 dias foi de 52,1 e nos ovos com cobertura ela foi igual a 77,4, no mesmo período de armazenamento. Moraes et al. (1997) observaram uma UH de 77,2, para ovos recém-postos. Com 5 dias de armazenamento a 23°C, houve queda nesse valor para 58,4 e com 7 dias o valor foi 53,5.

Com 10 dias de armazenamento, a UH dos ovos sem cobertura foi 39% maior do que a dos ovos com cobertura. Com duas semanas, essa diferença passou a 73%; com três semanas ela foi de 71%, e finalmente com quatro semanas a diferença foi 79%. Do décimo ao décimo quarto dia, a diferença entre os dois grupos aumentou, e novamente foi observado certa estabilização nesta diferença, variando de 70 a 80%. A diminuição nos valores da unidade Haugh mostra uma deterioração na qualidade do ovo. Alleoni e Antunes (2001) também observaram que o escore da unidade Haugh diminuiu consideravelmente com o tempo de armazenamento a temperatura ambiente (25°C).

No vigésimo oitavo dia o valor da unidade Haugh foi 66,8 %, para os ovos com cobertura. No mesmo período de armazenamento Wong et al. (1996) obtiveram 52,3; 51,1

e 34,6 UH para os ovos com cobertura a base de glúten, isolado protéico de soja e óleo mineral, repectivamente.

Segundo Oliveira (1992) citado por Moraes et al. (1997) um ovo de excelente qualidade, no padrão norte-americano, possui uma unidade Haugh de 72. Portanto, a unidade Haugh, deste experimento, para os ovos frescos (85 UH), ovos cobertos com três (79 UH), sete (77 UH), dez (74 UH) e catorze (73 UH) dias são de excelente qualidade. Ovos sem cobertura, já no terceiro dia de armazenamento, não se incluem nesta categoria.

Bacurau et al. (1994) observaram que a cobertura de sorbato de potássio + óleo mineral, aos 28 dias a temperatura de 28°C, apresentou uma unidade Haugh de valor 65, porém não foi diferente da cobertura de óleo mineral. Esse resultado está próximo ao obtido para os ovos com cobertura de CPSL, que com 28 dias a temperatura de 25°C, apresentaram uma unidade Haugh de 67. Li et al. (1985) obtiveram para ovos cobertos com óleo mineral e estocados à temperatura de refrigeração, 60 UH, no mesmo período de armazenamento.

Cherian et al. (1996) estudaram ovos de galinhas alimentadas com dietas enriquecidas com ácidos graxos insaturados e com a adição de tocoferóis. Armazenaram os ovos coletados por até 40 dias a temperatura de 4°C. De modo geral observaram queda na unidade Haugh em todos os tratamentos durante o período de armazenamento. Nos 10 primeiros dias ovos de galinhas alimentadas com óleo de girassol+tocoferóis apresentaram unidade Haugh mais alta (91,1) que a de dietas com óleo de girassol (83,4UH). Com 40 dias de armazenamento a UH de todos os tratamentos aplicados variaram de 71 a 75UH.

Ovos com coberturas a base de glúten de trigo e armazenados por até 28 dias a temperatura ambiente não apresentaram diminuição drástica na unidade Haugh, perda de peso, pH quando comparada com zeína do milho, albumina do ovo, isolado protéico de soja e ovos sem coberturas (Wong et al., 1996). O valor da unidade Haugh não sofreu alteração nos ovos cobertos com filmes de glúten de trigo armazenados por 28 dias a temperatura ambiente (Herald et al., 1995). Lan e Lien (1999) reportaram que a cobertura de óleo mineral apresentou os melhores resultados na perda de peso e na unidade Haugh.

Cobertura a base de proteína, especialmente, cobertura de isolado protéico de soro de leite (comparado a isolado protéico de soja e glúten de trigo) tem potencial de uso por aumentar a redução de quebra da casca e retardar a deterioração da qualidade interna de ovos, dificultando a penetração bacteriana (Xie et al., 2002).

Em todos os estudos relacionados com a unidade Haugh, há declínio nos valores mesmo sendo os ovos armazenados a temperatura de refrigeração, que é considerada uma das melhores formas de armazenamento.

O pH do albume de ovos com cobertura foi menor comparado ao pH do albume de ovos sem cobertura, para todos períodos de estocagem (Figura 3 e 4). A diferença entre os valores de pH de albume destes dois grupos ficou em torno de 15,4%, para os períodos de 7, 10, 14 e 21 dias, já com 3 e 28 dias a diferença foi de 13,5%.

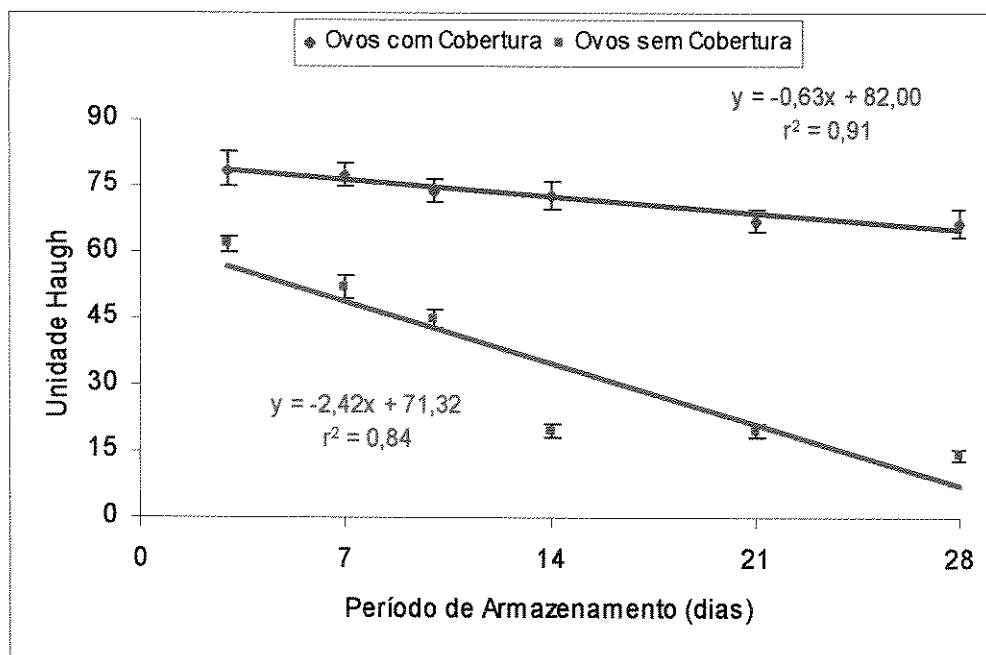


Figura 2. Correlação linear entre os valores da unidade Haugh de ovos sem e com cobertura em função do período de armazenamento (3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias).

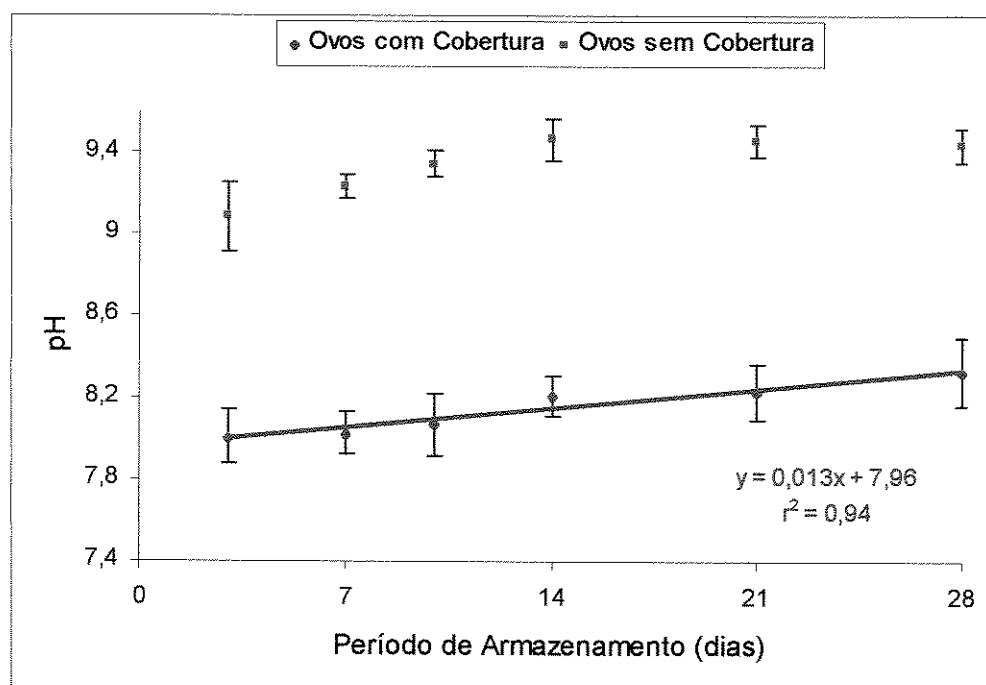


Figura 3. Correlação linear entre os valores de pH do albúme de ovos com e sem cobertura em função do período de armazenamento (3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias).

O resultados de pH do albume para os ovos sem cobertura variou de 7,93 (ovos frescos) a 9,44 (ovos com 28 dias) (Tabela 6; Figura 3). Walsh et al. (1995) encontraram pH de ovos frescos em torno de 7,5 e ovos armazenados a 14 dias em torno de 9,5, a temperatura de 23,9°C. Concluíram que a aplicação de CO₂ na casca do ovo pode ser benéfica na manutenção da qualidade do albume, durante o armazenamento de 14 dias. Na temperatura de 23,9°C e com 14 dias de armazenagem, o pH da clara de ovos com aplicação de CO₂ foi de 8,2, mesmo resultado obtido para os ovos com cobertura de CPSL, no mesmo período de armazenamento. Ahn et al. (1999) trabalharam com dietas contendo ácido linoleico, e observaram que o pH do albume aumentou após 7 dias (pH 9,36) de armazenamento, em relação ao ovo fresco (pH 9,05), mas permaneceu sem mudança até 21 dias (pH 9,24) de armazenamento, na temperatura de refrigeração.

Para ovos com cobertura o pH do albume variou de 7,93 a 8,33, em quatro semanas de armazenamento (Tabela 6). Considerando os ovos com cobertura, durante todo o período de armazenamento, ocorreu aumento do pH de 5,0 %, e para os ovos sem cobertura esse aumento foi de 19,0 %. O pH do albume para os ovos com cobertura com 28 dias de armazenamento foi de 8,33. Alleoni e Antunes (2001) obtiveram resultados semelhantes em ovos armazenados à temperatura de 8°C, no mesmo período de estocagem.

O pH do albume aumenta com a perda de CO₂ do ovo (Burley e Vadehra, 1989) e também quando aumenta a temperatura de armazenagem (Goodrum et al., 1989). A camada fina do albume pode ser uma barreira primária para a difusão gasosa durante a incubação tardia e manter a qualidade do albume podendo prevenir a difusão livre do CO₂ em longos períodos de armazenamento. Mesmo mantendo o pH do albume ocorre declínio na altura do albume (Walsh et al., 1995). Silversides e Scott (2001) concluíram

que o pH do albume aumenta com o tempo de estocagem, mas não aumenta com a idade do animal.

Bacurau et al. (1994) trabalharam com cobertura de sorbato de potássio a 18%, óleo mineral, sorbato de potássio mais óleo mineral e ovos sem cobertura. Os ovos foram armazenados nas temperaturas de 2°C e 28°C, por 28 dias. A temperatura de refrigeração foi mais eficiente para o controle do peso do ovo e aumento do pH, mantendo uma qualidade satisfatória dos ovos até o período final de armazenagem. Todas as coberturas utilizadas neste estudo mantiveram os valores do pH da clara de 8,5 a 8,6 à temperatura de 2°C, comparando-se ao valor de pH 8,4 em ovos frescos.

A estabilidade do pH do albume dos ovos, no presente trabalho, esteve de acordo com os resultados obtidos por Pardi (1977), que afirma que a velocidade da perda de CO₂ é grande logo após a postura, decrescendo e depois mantendo o pH estável.

A cobertura de concentrado protéico de soro de leite (CPSL) teve um efeito importante para controlar o pH dos ovos com cobertura, ou seja, funcionou como uma barreira dificultando a perda de CO₂, durante o armazenamento. Bacurau et al. (1994) aplicaram sorbato de potássio, que foi eficiente para controlar o pH do albume dos ovos, principalmente na fase final de estocagem (28 dias). O pH do albume chegou a 8,5, o óleo mineral também manteve o pH a 8,4 a temperatura de 28°C, no mesmo período.

Ouattara e Simard (1998) analisaram ovos em embalagem plástica e ovos com cobertura de óleo de algodão comercial armazenados a 28°C até 45 dias. A cobertura de óleo de algodão foi a mais eficaz na redução da perda de peso e na maior unidade Haugh. Embalagens plásticas inibem a perda de CO₂ e podem prevenir o aumento do pH

da clara (Walsh et al., 1995), mas para Ouattara e Simard (1998) a embalagem plástica somente previne a perda de peso.

Considerando que a qualidade do albume está relacionada com a sua funcionalidade, Li-Chan e Nakai (1989) realizaram uma revisão das características químicas do albume. Não está claro se as diferenças moderadas na altura do albume estão associadas com as alterações nas características funcionais do ovo (Silversides e Scott, 2001).

Silversides e Scott (2001) reportaram que medidas de qualidade do ovo são baseadas na altura do albume de ovos frescos, e são determinadas parcialmente pela linhagem e idade da galinha. Eles sugerem que o pH do albume deveria ser considerado uma medida de qualidade, pois não é afetado pela idade e nem pela linhagem da galinha.

Se o pH do albume for considerado um índice de qualidade, pode-se concluir que a cobertura de concentrado protéico de soro de leite consegue manter as características de ovos frescos durante os 28 dias de armazenamento a 25°C. Porém, se a unidade Haugh for considerada um índice de qualidade, essa cobertura não seria tão eficaz, devido à variação dessa unidade entre ovos frescos (85,2 UH) e ovos com 28 dias (67,8 UH), mesmo sendo considerado um ovo de boa qualidade. Se, ainda, for considerado o peso do ovo em 28 dias, a diferença entre os grupos de ovos com cobertura e sem cobertura diminuem. A cobertura de concentrado protéico de soro de leite não é uma barreira eficaz contra o vapor d'água, devido as suas proteínas possuírem características hidrofílicas. A perda de peso do ovo durante o armazenamento não interfere nas propriedades funcionais das proteínas da clara. Isso não ocorre com o pH. Existe

correlação entre a unidade Haugh e a perda de peso dos ovos com e sem cobertura (Figuras 4 e 5).

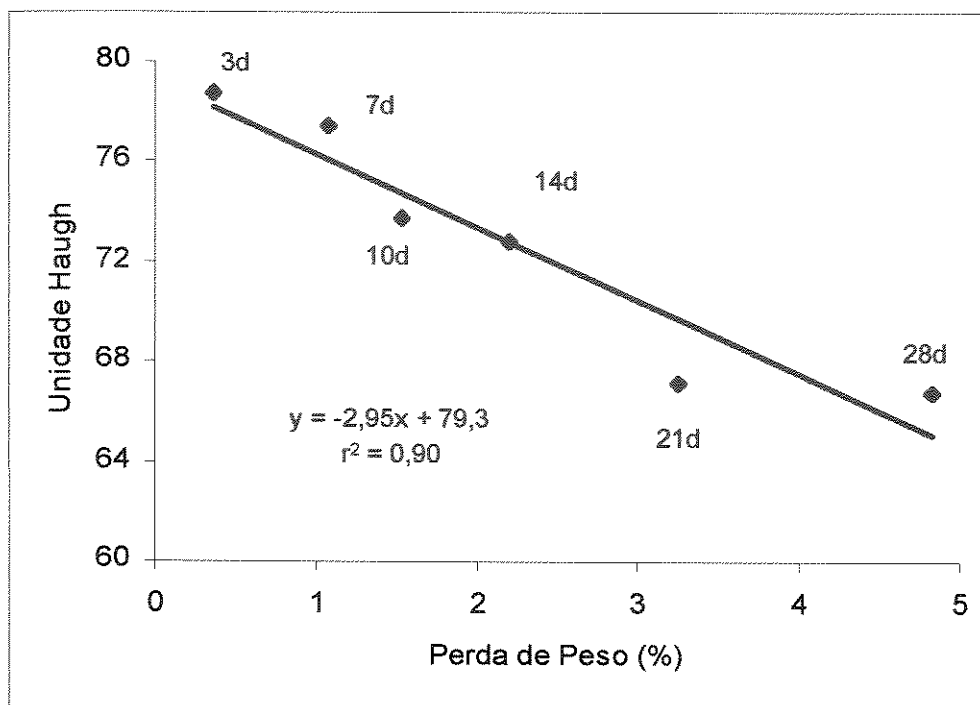


Figura 4. Correlação linear entre os valores da unidade Haugh de ovos com cobertura e a perda de peso de ovos durante o período de armazenamento (3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias).

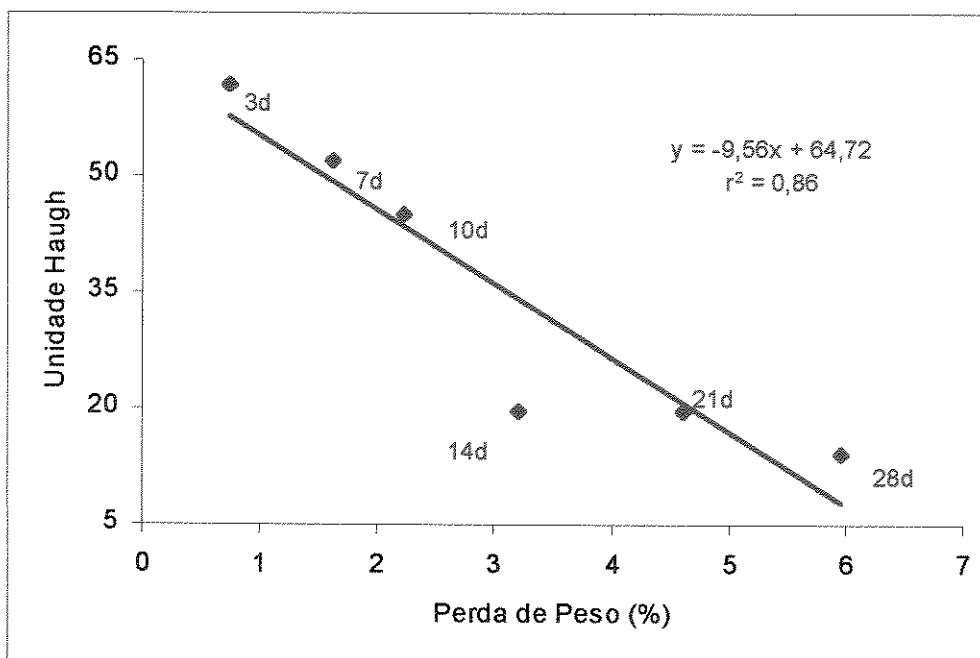


Figura 5. Correlação linear entre os valores da unidade Haugh de ovos sem cobertura e a perda de peso de ovos durante o período de armazenamento (3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias).

4. ESTUDO 2. ESTABILIDADE DA ESPUMA DO ALBUME E TEORES DE S-OVALBUMINA DE OVOS COBERTOS COM CONCENTRADO PROTÉICO DE SORO DE LEITE BOVINO.

Introdução

As espumas estão presentes na indústria de alimentos na forma de pães, bolos, bolachas, merengues, sorvetes e vários produtos de padaria (Pernell et al., 2002). Esses produtos alimentícios dependem da incorporação de ar para manter a textura e as suas estruturas durante ou após o processamento. As proteínas são utilizadas na indústria porque melhoram os atributos texturais desejáveis, através da sua capacidade de encapsular e reter o ar (Phillips et al., 1994). A habilidade das proteínas de formarem e estabilizarem espumas é muito importante na indústria de alimentos, porque elas possuem um comportamento anfifílico (polar/apolar) (Du et al., 2002).

As propriedades espumantes do albume são afetadas por vários fatores, por exemplo: concentração de proteína (Britten e Lavoie, 1992); composição da proteína (Johnson e Zabik, 1981); pH (Hammershøj et al., 1999); força iônica (Kato et al., 1983), interações intermoleculares (Kinsella, 1984), aquecimento, presença de sais e composição da fase líquida (Du et al., 2002), os quais podem alterar a configuração e estabilidade das moléculas protéicas. Essas mudanças podem afetar a formação do filme e suas propriedades na interface, e assim mudarem as propriedades espumantes (Du et al., 2002).

A ovalbumina é a maior proteína da clara do ovo e contribui para as propriedades de formação de espuma em sistemas de alimentos, nos quais o ovo é utilizado como ingrediente. Essa proteína é uma fosfoglicoproteína que representa 54% do total de peso do albume.

A s-ovalbumina é uma proteína derivada da ovalbumina. Sua formação se dá durante o período de armazenamento de ovos em cascas e em soluções de ovalbumina, sendo primeiramente reportada por Smith (1964) e Smith e Back (1965). Nenhuma diferença foi observada na composição dos aminoácidos entre a ovalbumina e a s-ovalbumina. A desamidação da ovalbumina pode ocorrer com o tratamento alcali ou através do armazenamento da clara do ovo (Kato et al., 1986). Na maioria dos casos, a transformação da ovalbumina para a s-ovalbumina se dá com o aumento do pH e da temperatura.

Em sistemas protéicos heterogêneos, como a clara de ovo, seus constituintes protéicos têm diferentes pontos isoelétricos e transportam diferentes cargas. Na clara de ovo, as interações eletrostáticas contribuem para a formação de excelente espuma que possui estabilidade ao calor (Johnson e Zabik, 1981).

O objetivo deste trabalho foi avaliar as mudanças no pH do albume, na estabilidade da espuma através do líquido drenado e nos teores de s-ovalbumina na clara de ovos de galinha submetidos à aplicação de cobertura de concentrado protéico de soro de leite e de ovos sem aplicação da cobertura, em função do armazenamento.

Material e Métodos

Foram utilizados ovos colhidos logo após a postura, da Granja Bandeirantes S/A, localizada na cidade Sumaré - SP. A raça da galinha ("Hy-line", variedade W-36) e a dieta (à base de milho) foram controladas. Os ovos foram higienizados, com solução de hipoclorito de sódio a 1%, por 30 segundos. Em seguida foram divididos em dois grupos: em um grupo foi aplicada cobertura à base de concentrado protéico de soro de leite (CPSL), e em outro grupo de ovos não foi aplicada a cobertura. Para aplicação da cobertura, os ovos foram imersos na solução de CPSL por 1 minuto, sendo depois secos a temperatura ambiente. A seguir, os ovos foram armazenados em grades de papelão, numa câmara BOD (Biological Oxygen Density) a 25°C.

Análise Estatística: as determinações foram feitas em triplicata para método e para análise, e os períodos foram 3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias. O delineamento experimental foi fatorial 2x6, no qual os fatores foram cobertura e tempo. Foram realizadas comparações múltiplas das médias, envolvendo todos os tempos de armazenamento, inclusive o tempo zero (ovos frescos), aplicando um contraste ortogonal (tratamentos x ovos frescos). Com estes resultados, montou-se a Tabela de análise de variância (Apêndice 1). Os resultados foram analisados com o teste de Tukey do programa estatístico SANEST.

Cobertura Protéica: a caracterização do concentrado protéico de soro de leite utilizado neste estudo está na Tabela 7. A solução de cobertura foi preparada seguindo a metodologia de Gennadios et al. (1993): 10,78g de concentrado protéico de soro de leite (CPSL) (8% de proteína), 3,5g de glicerol, completado para 100g de água (p/p). A solução foi homogeneizada até a completa dissolução e submersa em água a 90°C por 30

minutos. Em seguida foi resfriada até atingir a temperatura de 25°C e o pH foi ajustado para 7,0, com solução de NaOH 1,0N.

Tabela 7: Caracterização do concentrado protéico de soro de leite.

Nome Comercial	Calpro 8002
Proteína (AOAC, 1980)	74,19 % $\pm$ 0,26
Gordura (AOAC, 1980)	5,94 % $\pm$ 0,11
Cinzas (AOAC, 1980)	5,19 % $\pm$ 0,04
Umidade (AOAC, 1980)	8,34 % $\pm$ 0,04

pH: o pH do albume foi obtido com o auxílio de um potenciômetro Micronal B374.

Estabilidade da Espuma: foi medida através do método de Mckellar e Stadelman (1955). Vinte e oito gramas de clara foram colocados num béquer de plástico de 250mL, permanecendo em banho-maria até que a temperatura da clara atingisse 30°C. A clara foi batida por 120 segundos (este valor está na faixa recomendada por Trziszka (1993)) a 2200 rpm com multimixer "Walita". Após 30 minutos de descanso da espuma, a quantidade de líquido drenado foi medida com uma proveta.

Teor de s-ovalbumina: foi utilizado o método Smith e Nguyen (1984). Cinco gramas de clara de ovo foram colocados num béquer de 100mL, onde foram adicionados 25mL de solução tampão de fosfato 0,5M a pH 7,5 e a amostra foi agitada por 5 minutos com agitador magnético. Amostras de 5mL da suspensão foram transferidas para dois tubos com tampa rosqueada, aquecendo-se um deles a 75°C por 30 minutos. Após o resfriamento, foi acrescentado 5mL de solução precipitante e essa solução foi transferida para tubos de centrifuga, adicionando-se mais 5mL de solução precipitante. Após um repouso de 10 minutos, as amostras foram centrifugadas a 10000 rpm por 5 minutos e o sobrenadante foi filtrado em papel filtro Whatman n. 2. Aliquotas de 2mL do sobrenadante foram transferidas para tubos de ensaio contendo 4mL de solução de Biureto. Após 30 minutos de repouso a absorbância foi medida a 540nm em espectrofotômetro Beckman DU - 70.

Resultados e Discussão

Nas análises estatísticas do volume de líquido drenado e do teor de s-ovalbumina houve interações entre os fatores cobertura e tempo de armazenamento. Sendo assim, foi necessário aplicar regressão no modelo estatístico, nos dois casos. Portanto, os resultados foram interpretados dentro de cada período de armazenamento. Os resultados para ovos frescos (dia 0) foram utilizados apenas como referência.

Estabilidade da Espuma (expressa em líquido drenado): o volume de líquido drenado foi maior em ovos sem cobertura do que em ovos com cobertura armazenados a 25°C (Tabela 8), a 1%, em todos os períodos de armazenamento (Figura 6). Com o passar do tempo, os filmes começam progressivamente a afinar e a se romper. Nesse caso, fluido é perdido através da drenagem, resultando num colapso da espuma (Phillips, 1981). A drenagem da água lamelar é a causa do colapso da espuma. Durante a drenagem, as forças de “van der Waals” aumentam entre os filmes das bolhas adjacentes (Phillips et al., 1994).

A diferença de líquido drenado no terceiro dia de armazenamento foi 58,67% entre os ovos com cobertura e ovos sem cobertura, e no vigésimo oitavo dia foi 201,82%, ou seja, três vezes mais o valor obtido para os ovos com cobertura. Os resultados obtidos para o volume de líquido drenado de ovos sem cobertura foram explicados pela regressão linear com $R^2 = 0,86$, e $R^2 = 0,84$ para ovos com cobertura, isso mostra que houve interação entre os fatores de tempo e cobertura (Figura 6).

Tabela 8: Líquido drenado da espuma da clara de ovo e teores de s-ovalbumina na clara de ovos armazenados a 3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias a 25°C, com e sem aplicação de cobertura.

Período de Armazenamento	Cobertura (CPSL)	pH	Líquido Drenado (mL)	S-ovalbumina (%)
Ovos frescos	-	$7,93 \pm 0,16$	$1,08 \pm 0,04$	$18,15 \pm 0,13$
3 dias	Com	$8,01 \pm 0,13$	$1,50 \pm 0,03$	$18,52 \pm 0,06$
	Sem	$9,09 \pm 0,17$	$2,38 \pm 0,04$	$24,68 \pm 0,31$
7 dias	Com	$8,03 \pm 0,10$	$2,36 \pm 0,16$	$23,33 \pm 0,32$
	Sem	$9,24 \pm 0,06$	$5,04 \pm 0,15$	$55,02 \pm 0,56$
10 dias	Com	$8,07 \pm 0,15$	$2,59 \pm 0,19$	$23,21 \pm 0,13$
	Sem	$9,35 \pm 0,06$	$6,28 \pm 0,08$	$61,99 \pm 0,27$
14 dias	Com	$8,21 \pm 0,10$	$2,89 \pm 0,05$	$22,95 \pm 0,25$
	Sem	$9,47 \pm 0,10$	$8,52 \pm 0,23$	$65,34 \pm 0,44$
21 dias	Com	$8,23 \pm 0,14$	$2,89 \pm 0,17$	$23,86 \pm 0,55$
	Sem	$9,46 \pm 0,08$	$9,86 \pm 0,12$	$72,75 \pm 0,77$
28 dias	Com	$8,33 \pm 0,17$	$3,30 \pm 0,12$	$26,71 \pm 0,07$
	Sem	$9,44 \pm 0,08$	$9,96 \pm 0,08$	$81,46 \pm 0,58$

Nos ovos com cobertura os valores do pH da clara foram menores, quando comparados com os valores de pH das claras de ovos sem cobertura (Tabela 8). O pH da fase aquosa afeta a espuma porque determina a magnitude e natureza da carga da proteína (Kinsella e Phillips, 1989). O desenvolvimento da pressão superficial, das interações proteína-proteína, da espessura do filme e das propriedades viscoelásticas são afetadas pela carga da proteína (Phillips et al., 1994).

Os resultados de pH e do volume de líquido drenado, no terceiro dia de armazenamento, em ovos com cobertura foram de 8,01 e 1,50 mL, respectivamente. Geralmente, as espumas são formadas em pH próximo ao ponto isoelétrico, quando a concentração da proteína não é limitante (Dickinson, 1986). Já em ovos sem cobertura o pH foi de 9,09 e o volume foi de 2,38 mL, no mesmo período. Quando observamos os ovos com 28 dias de armazenamento nota-se uma diferença maior entre os ovos com e sem cobertura (Tabela 8), ou seja, houve aumento de 13,3% entre os valores de pH de ovos com e sem cobertura, mas um aumento de 201,8% nos valores de líquido drenado. Dessa forma, a quantidade de líquido drenado da espuma da clara de ovos sem cobertura foi três vezes maior do que em ovos com cobertura, nesta faixa de pH.

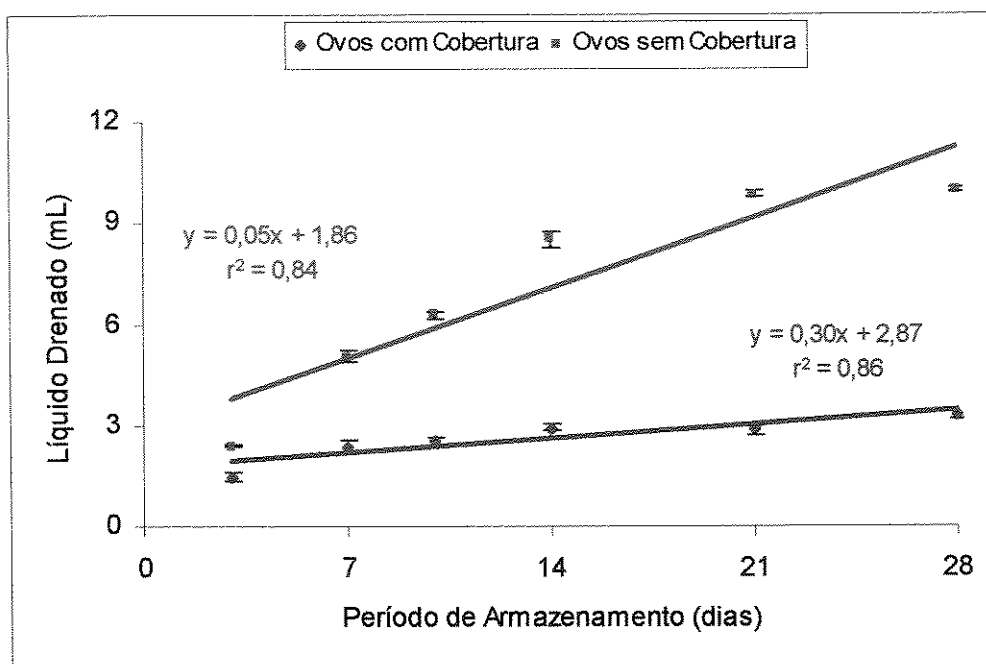


Figura 6: Correlação linear entre os valores do volume de líquido drenado da espuma da clara de ovos sem e com cobertura com o período de armazenamento (3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias).

O pH do albume de ovos com cobertura permaneceu em torno de 8, e a variação do volume de líquido drenado ficou entre 1,69 mL com três dias e 3,30 mL no final do período. Este comportamento da estabilidade da espuma pode estar relacionado com os pontos isoelétricos (pI) da maioria das proteínas da clara que estão entre 4,0 e 6,0, o que significa que no albume elas estão carregadas negativamente. Por exemplo: o pI da ovalbumina é 4,5, da conalbumina é 6,1; da ovomucóide é 4,1; da ovomucina é 3,5 e das globulinas são 4,0, com exceção da lisozima que é 10,7. Essas proteínas compreendem 88,5% do total de proteínas da clara do ovo. Proteínas básicas, como a lisozima, podem alterar a estrutura flexível de proteínas ácidas no pH próximo ao ponto isoelétrico das proteínas (Poole et al., 1987).

Geralmente, os filmes mais fortes que atuam na interface ar-água são obtidos a valores de pH próximos ao ponto isoelétrico da maioria das proteínas (Halling, 1981). O aumento da estabilidade da espuma de muitas proteínas está na faixa do ponto isoelétrico (Phillips et al., 1990).

Ao aquecer uma solução protéica antes de aplicar o batimento, para a formação de espuma, ocorreu aumento na viscosidade da solução, ocasionando uma diminuição do líquido drenado (Richert et al., 1974). No caso da clara de ovo, aumentando a viscosidade e, considerando-se que a lisozima comporta-se como uma proteína ácida, devido à clara estar com pH na faixa entre 7 e 8, ocorre uma maior estabilidade da espuma, ou seja, diminui o líquido drenado. A clara de ovo não é uma simples solução protéica, mas é uma solução que contém estruturas biológicas naturais (Halling, 1981).

No décimo quarto dia de armazenamento o valor do líquido drenado da espuma de ovos com cobertura foi de 2,89 mL e pH da clara 8,21. As propriedades espumantes da clara do ovo estão relacionadas com as características das cargas das proteínas (Poole et al., 1984). A lisozima carregada positivamente, devido o seu pI igual a 10,7, desempenha papel vital na formação e estabilidade da espuma do albume do ovo (Poole et al., 1984). Durante a formação da espuma, acredita-se que a lisozima e outras proteínas carregadas negativamente migram para a interface ar-líquido. Nesta interface, a lisozima interage eletrostaticamente com outras proteínas carregadas negativamente, ocasionando redução nas interações eletrostáticas repulsivas no filme protéico, e assim ocorre a estabilização da espuma do albume (Clark et al., 1988; Damodaran et al., 1998; Poole et al., 1984).

Damodaran et al. (1998) comprovaram a participação da lisozima na formação do filme protéico da clara do ovo na interface ar-líquido numa baixa força iônica. Comprovaram também a participação da ovalbumina, ovotransferrina, ovomucóide e ovoglobulinas na interface ar-água, somente em baixa força iônica. Numa força iônica de 0,1, ocorre apenas a adsorção da ovalbumina e ovotransferrina, sendo que as outras proteínas são totalmente excluídas da interface.

Considerando apenas os ovos sem cobertura observou-se que durante o período de armazenamento ocorreu um aumento do pH e do volume do líquido drenado. Este alto valor do líquido drenado está relacionado com o aumento do pH da clara, o qual está relacionado com a diminuição da viscosidade do albume, e conseqüentemente interfere na viscosidade do fluído lamelar, que ocasiona uma aproximação entre os filmes das bolhas adjacentes, acarretando a ruptura e a coalescência dessas bolhas de ar, originando a drenagem do líquido e a desestabilização da espuma (Phillips et al., 1994).

A estrutura densa da clara do ovo é responsável pela altura do albume, a qual é dependente da idade da galinha (Rossi e Pompei, 1995) e da armazenagem (Alleoni e Antunes, 2001; Hammershøj et al., 1999). Estes fatores podem afetar as propriedades espumantes.

Hammershøj e Qvist (2001) estudaram as propriedades espumantes da fração densa do albume e da fração fina do albume, e reportaram que a estabilidade da espuma da fração densa foi 25% maior que a da fração fina. Ambas as frações mostraram uma estabilidade maior com o aumento da idade da galinha. Aproximadamente de 80 a 90% do total de ovomucina está presente na clara densa (Toussant e Latshaw, 1999),

principalmente na forma insolúvel, entretanto a camada fina contém somente ovomucina solúvel (Burley e Vadehra, 1989). Hammershøj e Qvist (2001) sugerem que durante a liquidez da camada densa, onde a estrutura da fração densa é quebrada, é desfeita uma parte do complexo ovomucina-lisozima. Segundo Hayakawa e Sato (1977) a α -ovomucina pode ser ligada com a lisozima por uma ligação covalente (ligação dissulfídica), e esse complexo é protegido por uma cobertura de β -ovomucina. As diferenças observadas nas propriedades espumantes entre as duas frações provavelmente não devem ser devidas à quantidade de proteína, mas sim na diferença da composição da ovomucina (Hammershøj e Qvist, 2001).

As proteínas que exibem ótimas interações intermoleculares na interface ar-água conseguem formar um filme coeso contínuo com alta resistência, conseqüentemente, melhoram a estabilidade na espuma (Yang e Baldwin, 1995). As interações na interface envolvem pontes de hidrogênio, interações eletrostáticas e hidrofóbicas (Damodaran, 1989). É observada diminuição significativa da estabilidade da espuma quando os grupos são excessivamente carregados negativamente e são incorporados nas proteínas seguidas de modificações químicas (Phillips e Kinsella, 1990).

A clara de ovo é uma mistura de proteínas que possui excelente propriedade espumante. As globulinas facilitam a formação de espuma, o complexo ovomucina-lisozima (Cotterill e Winter, 1955) confere estabilidade à espuma e a ovalbumina e a conalbumina estão relacionadas com o calor (Yang e Baldwin, 1995). A ovomucina é o componente da clara de ovo que forma um filme de material insolúvel, o qual estabiliza a espuma (Macdonnell et al., 1955). As conalbumina, lisozima, ovomucina e ovomucóide

sozinhas têm pouca ou nenhuma capacidade espumante, mas a interação entre a lisozima e a globulina é importante no processo de formação de espuma (Johnson e Zabik, 1981).

Hagolle et al. (2000) obtiveram as melhores propriedades espumantes à temperatura de 85°C para a ovalbumina e à 75°C para a lisozima, sendo que estas temperaturas estão próximas a temperatura de desnaturação destas duas proteínas. Com o aquecimento as estruturas terciárias e secundárias da molécula de ovalbumina mudam (desnaturam), causando fortes interações hidrofóbicas entre as proteínas, levando a agregação (Du et al., 2002). Relkin et al. (1999) mostraram que é possível estabilizar espumas com ovalbumina desnaturada. A ovalbumina em condições ácidas, possui uma maior flexibilidade e hidrofobicidade superficial maior.

Embora o efeito positivo da lisozima nas propriedades de várias proteínas ácidas seja experimentalmente observado, não há evidência experimental direta mostrando a formação de um complexo eletrostático entre a lisozima e as proteínas ácidas no filme absorvido na interface ar-água (Damodaran et al., 1998). Entretanto, várias proteínas ácidas formam complexos eletrostáticos insolúveis com a lisozima (Damodaran e Kinsella, 1986; Poole et al., 1984), e os complexos insolúveis não são, geralmente, bons agentes espumantes (Damodaran et al., 1998).

S-Ovalbumina: o teor de s-ovalbumina foi maior em ovos sem cobertura comparados aos ovos com cobertura (Figura 7), em todos os períodos de armazenamento (Tabela 8). Com 3 dias, os ovos sem cobertura apresentaram um aumento de 32,98% em relação aos ovos com cobertura. Já com 28 dias de armazenamento essa diferença

passou para 204,98%, ou seja, o teor de s-ovalbumina em ovos sem cobertura foi três vezes maior do que em ovos com cobertura.

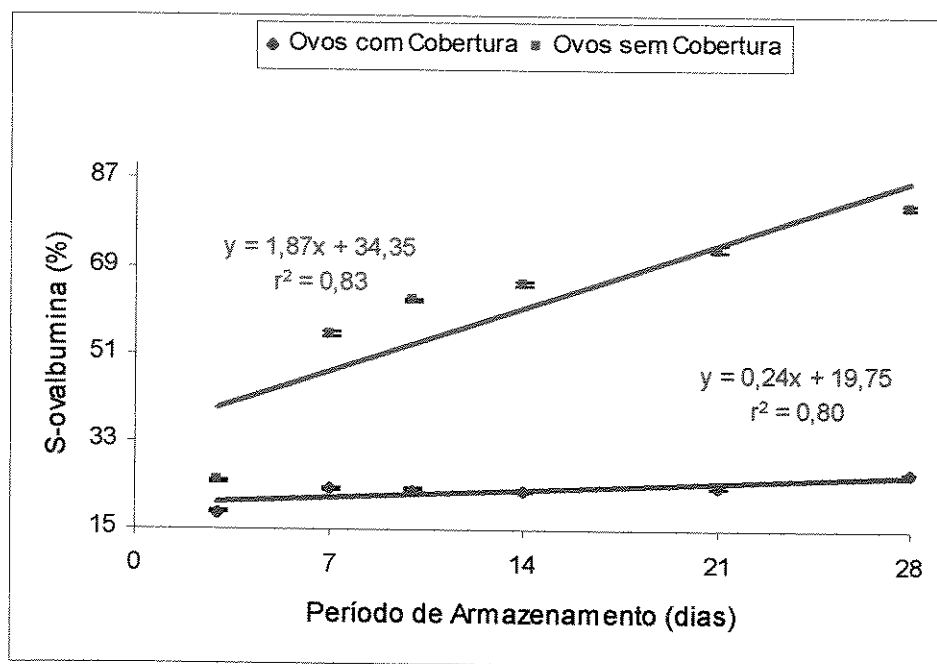


Figura 7: Correlação linear entre os teores de s-ovalbumina de ovos sem e com cobertura com o período de armazenamento (3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias)

Relacionando os resultados dos teores de s-ovalbumina com os resultados de pH da clara, observa-se que em ovos com cobertura armazenados a temperatura de 25°C, onde o pH ficou na faixa de 8, o teor de s-ovalbumina permaneceu na faixa de 20%, somente no vigésimo oitavo dia a diferença, entre os grupos, chegou a 26,71%.

Alleoni (1997) estudou ovos de galinha armazenados em duas temperaturas e diferentes períodos e obteve valores de s-ovalbumina de ovos mantidos em refrigeração, semelhantes aos valores obtidos em ovos com cobertura. A autora obteve respectivamente, teores de 18,36%, 26,17% e 24,31% de s-ovalbumina em ovos armazenados após 7, 14, 21 dias a 8°C. Na presente tese, os valores de s-ovalbumina em ovos com cobertura foram de 23,33%, 22,95% e 23,86%, para os mesmos períodos de armazenamento. Quando a autora armazenou a temperatura de 25°C obteve 55,75%, e 69,35%, para 7 e 14 dias, respectivamente, enquanto que no presente trabalho, os teores foram 55,02% e 65,34% no mesmo período de armazenamento. Sendo assim, a cobertura de concentrado protéico de soro de leite fez o mesmo efeito que a temperatura de refrigeração.

A ovalbumina pode ser adsorvida em soluções aquosas na interface ar-água e agir como um surfactante, reduzindo a tensão superficial e formando filme coeso. O comportamento das proteínas nas interfaces ar-água influencia a formação e estabilidade da espuma (Du et al., 2002). Sabe-se que uma certa quantidade de ovalbumina da clara é transformada em s-ovalbumina, com o aumento do pH. Com isso, diminui a quantidade de ovalbumina na clara do ovo, e pode ser que isso interfira na formação de um filme coeso na interface ar-água, ocasionando a diminuição da estabilidade da espuma.

A s-ovalbumina é menos hidrofóbica do que a ovalbumina (Schäfer et al., 1999). Isto está de acordo com Nakamura et al. (1980), que observaram redução na hidrofobicidade superficial da s-ovalbumina.

A estabilidade da espuma pode ser melhorada pelo pré-aquecimento (80°C) de soluções de ovalbumina, onde é mais estável. A desnaturação, por aquecimento, das moléculas de ovalbumina numa solução pode resultar numa abertura parcial das moléculas, e melhorar as interações proteína-proteína, ocasionando uma agregação que forma uma espuma mais estável (Du et al., 2002). Soluções de ovalbumina pré-aquecidas formam estruturas moleculares levemente desnaturadas, podendo ser utilizadas para melhorar as propriedades espumantes de proteínas globulares, que possuem uma conformação rígida (Relkin et al., 1999).

Schäfer et al. (1999) armazenaram ovos por 6 semanas a 30°C e observaram a composição das proteínas da clara do ovo. Não houve mudança na atividade da lisozima nem na quantidade de conalbumina, durante o armazenamento. Porém houve queda no valor do ponto isoelétrico da ovalbumina. Essa mudança está relacionada com a formação da s-ovalbumina durante a estocagem. As mudanças foram influenciadas mais pela temperatura do que pelo período de armazenamento. Com base nos resultados de Schäfer et al. (1999), em que a lisozima não perde a sua atividade durante o armazenamento e a quantidade de conalbumina não se altera, e observando-se os resultados dessa tese, em que os teores de s-ovalbumina aumentaram na mesma proporção do volume de líquido drenado, pode-se concluir que o aumento no teor de s-ovalbumina na clara do ovo promove diminuição na estabilidade da espuma.

Nos ovos com cobertura, o pH esteve na faixa de 8, que está próximo do valor 8,5, no qual ocorre a menor taxa de conversão da ovalbumina para s-ovalbumina (Smith e Nguyen, 1984). Nos ovos sem cobertura, o pH foi mais alto em todos os períodos de armazenamento, com variação de 9,09 a 9,44, o que se refletiu num aumento nos teores

de s-ovalbumina, que variaram de 24,7 a 81,5 % (Tabela 8). Com isso, houve diminuição na estabilidade da espuma, como mostram os valores de volume de líquido drenado, com variação de 2,38 a 9,96 mL.

Correlacionando o teor de s-ovalbumina com o volume de líquido drenado, obtiveram-se valores de R^2 iguais a 0,92 para ovos com cobertura e 0,94 para ovos sem cobertura (Figuras 8 e 9). Portanto, quando aumentou o teor de s-ovalbumina, aumentou o volume de líquido drenado, ou seja, diminuiu a estabilidade da espuma. Com esses resultados, conclui-se que tanto o teor de s-ovalbumina como a estabilidade da espuma são dependentes do pH da clara do ovo.

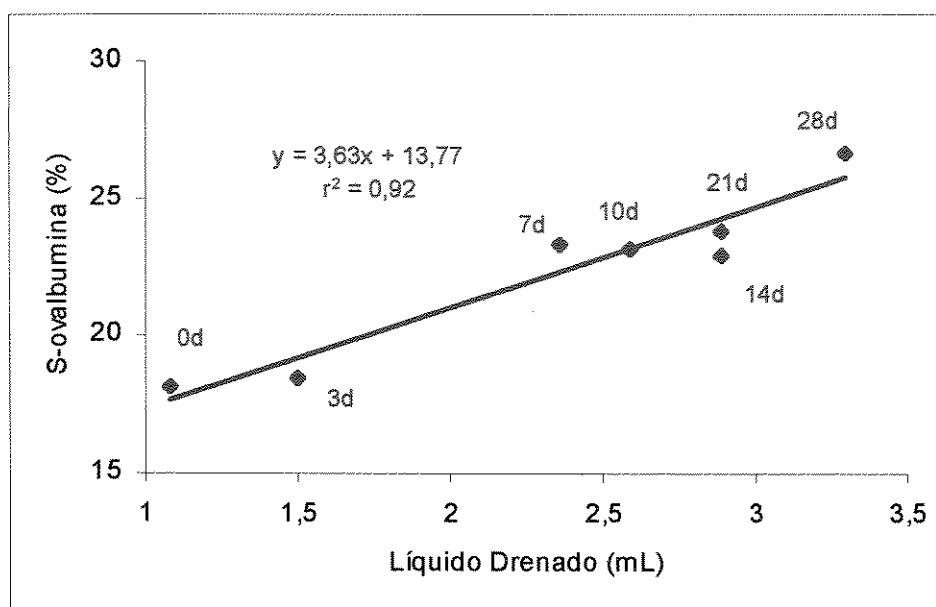


Figura 8: Correlação linear entre os teores de s-ovalbumina e volume de líquido drenado de ovos com cobertura, durante o período de armazenamento (0, 3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias).

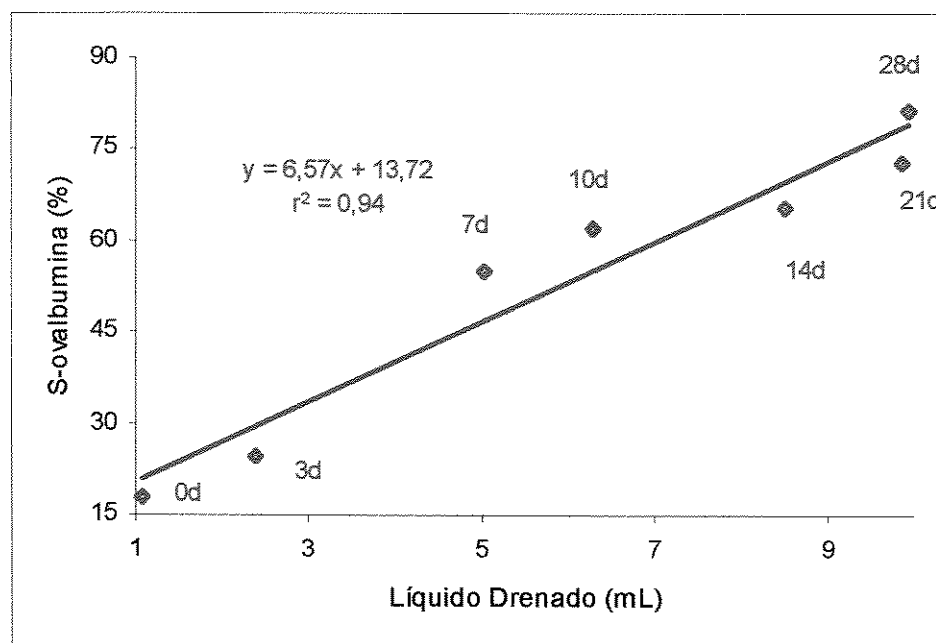


Figura 9: Correlação linear entre os teores de s-ovalbumina e volume de líquido drenado de ovos sem cobertura, durante o período de armazenamento (0, 3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias).

5. ESTUDO 3. PERFIL DE TEXTURA E UMIDADE ESPREMÍVEL DE GÉIS DE CLARA DE OVOS COBERTOS COM CONCENTRADO PROTÉICO DE SORO DE LEITE.

Introdução

A gelatinização é uma importante propriedade funcional das proteínas alimentares, devido ao seu grande potencial de uso nos alimentos estruturados (Kinsella, 1984). A importância desta propriedade é evidente devido ao número de produtos que estão disponíveis para o consumidor, como gelatinas, produtos cozidos de ovos, produtos de carnes reformulados, tofu e surimi (Phillips et al., 1994).

A coagulação é um termo utilizado para descrever as mudanças de um estado líquido para um estado semi-sólido ou sólido. O sucesso de muitos alimentos cozidos está relacionado com a coagulação das proteínas, especialmente a coagulação das proteínas do ovo. A clara e a gema são utilizadas devido às suas habilidades de se coagularem e funcionarem como uma espécie de ligação entre outros ingredientes (Yang e Baldwin, 1995). As proteínas formam géis através da polimerização ordenada das moléculas, resultando numa rede tri-dimensional, sendo que esse processo ocorre através da transformação do líquido viscoso em uma matriz viscoelástica (Hermanssom, 1979).

A coagulação da clara não ocorre instantaneamente a uma dada temperatura, mas faz parte de um processo, que está relacionado com o tempo de aquecimento, sendo o calor um acelerador. A média da velocidade da coagulação da clara do ovo é aumentada 191 vezes a cada 1°C de elevação da temperatura e, aproximadamente, 635 vezes a

cada 10°C. Nas altas temperaturas a coagulação acontece quase que instantaneamente (Lowe, 1955). A clara do ovo começa a coagular-se a 62°C (Beveridge et al., 1980; Romanoff e Romanoff, 1949). A firmeza do gel de clara de ovo aumenta com o tempo de aquecimento de 7 a 60 minutos e com a temperatura de 77 a 90°C (Beveridge et al., 1980). A temperatura é o fator mais importante para o controle das propriedades reológicas dos géis de clara de ovo.

Considerando-se que novas alternativas para armazenamento de ovos são essenciais para manter as propriedades funcionais das proteínas da clara, principalmente as propriedades de gelatinização e de espessamento em sistemas de alimentos, torna-se importante o estudo da aplicação de coberturas que possam preservar as características funcionais desejáveis desse produto.

O objetivo deste trabalho foi avaliar as mudanças no pH, no perfil de textura e na umidade espremível de géis de clara de ovos de galinha submetidos à aplicação de cobertura de concentrado protéico de soro de leite e de ovos sem aplicação da cobertura, em função do armazenamento.

Material e Métodos

Foram utilizados ovos colhidos logo após a postura, na Granja Bandeirantes S/A, localizada na cidade de Sumaré - SP. Foram controladas a raça da galinha ("Hy-line" variedade W-36) e a dieta (à base de milho). Os ovos foram higienizados, com solução de hipoclorito de sódio a 1%, por 30 segundos. Em seguida foram divididos em dois grupos: em um grupo foi aplicada uma cobertura à base de concentrado protéico de soro de leite, e em outro grupo de ovos não foi aplicada cobertura. Para aplicação da cobertura, os ovos foram imersos na solução de CPSL por 1 minuto, sendo depois secos a temperatura ambiente. A seguir, os ovos foram armazenados em grades de papelão, numa câmara BOD (Biological Oxygen Density) a 25°C.

Análises Estatísticas: as determinações foram feitas em triplicata para método e para análise, e os períodos foram 3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias. O delineamento experimental foi fatorial 2x6, no qual os fatores foram cobertura e tempo. Foram realizadas comparações múltiplas das médias, envolvendo todos os tempos de armazenamento, inclusive o tempo zero (ovos frescos), aplicando a análise de um contraste ortogonal (tratamentos x ovos frescos). Com estes resultados, montou-se a Tabela de análise de variância (Apêndice 1). Os resultados foram analisados com o teste de Tukey do programa estatístico SANEST.

Cobertura Protéica: a caracterização do concentrado protéico de soro de leite utilizado neste estudo está na Tabela 9. A solução de cobertura foi preparada seguindo a metodologia de Gennadios et al. (1993): 10,78g de concentrado protéico de soro de leite (CPSL) (8% de proteína), 3,5g de glicerol, completado para 100g de água (p/p). A solução foi homogeneizada até a completa dissolução e submersa em água a 90°C por 30

minutos, em seguida foi resfriada até atingir a temperatura de 25°C, o pH foi ajustado para 7,0, com solução de NaOH 1,0N.

Tabela 9: Caracterização do concentrado protéico de soro de leite.

Nome Comercial	Calpro 8002
Proteína (AOAC, 1980)	74,19 % $\pm$ 0,26
Gordura (AOAC, 1980)	5,94 % $\pm$ 0,11
Cinzas (AOAC, 1980)	5,19 % $\pm$ 0,04
Umidade (AOAC, 1980)	8,34 % $\pm$ 0,04

pH: o pH do albume foi obtido com o auxílio de um potenciômetro Micronal B374.

Análise do perfil de textura: a preparação das amostras seguiu o procedimento de Montejano et al. (1984). Após ser homogeneizada, a clara do ovo foi colocada em tubos de vidro vazados, com diâmetro interno de 2,6cm e comprimento 6cm, possuindo uma tampa de borracha em cada extremidade. Os tubos foram submersos verticalmente em água a temperatura de 90°C por 15 minutos, e em seguida foram resfriados numa cuba de gelo, sendo os géis removidos com agulha de seringa. As amostras foram cortadas com estilete, formando cilindros com 1cm de altura e submetidas à análise do perfil de

textura (dureza, elasticidade, coesividade e mastigabilidade), com texturômetro TA - XT2, que foi calibrado para uma força de compressão de 50% (em relação ao tamanho do gel), e uma velocidade do probe de 1,5mm/seg.

Umidade Espremível (UE): as amostras seguiram o procedimento de Jauregui et al. (1981). Amostras de 1 a 2 gramas do gel (cortado em forma de cilindro) foram pesadas e colocadas em papel filtro Whatman n. 2, previamente pesado, juntamente com o tubo de centrífuga. As amostras foram centrifugadas a 2500 rpm por 10 minutos a 5°C. Após a centrifugação, os géis foram removidos e pesados novamente, o papel mais o tubo. Para a obtenção da UE utilizou-se a fórmula a seguir:

$$\%UE = \frac{[(\text{Peso final do tubo} + \text{Papel}) - (\text{Peso inicial do Papel} + \text{Tubo})] \times 100}{\text{Peso do Gel}}$$

Resultados e Discussão

Houve interação entre os fatores cobertura e tempo de armazenamento para os atributos dureza, coesividade e umidade espremível. Sendo assim, foi necessário fazer o desdobramento e analisar os resultados dentro de cada período de armazenamento.

De maneira geral a dureza dos géis da clara aumentaram, independentemente da cobertura, durante o período de armazenamento (Figura 10). A dureza do gel do albume de ovos sem cobertura foi maior do que a dureza do albume de ovos com cobertura ($P<0,01$), dentro de todos os períodos de armazenamento. O pH da clara de ovos sem cobertura variou de 9,12 a 9,43, do terceiro ao vigésimo oitavo dia, respectivamente (Tabela 10). Chang e Chen (2000) estudaram o efeito do pH nos géis de albume preparados a 100°C por 30 minutos e observaram aumento na força do gel após aumento do pH de 7,5 a 10.

Não houve efeito do tempo de armazenamento na dureza dos géis dos ovos sem cobertura. Em ovos cobertos houve aumento linear na dureza com o tempo, sendo que a regressão linear explicou 60% do comportamento da dureza em relação ao período de armazenamento (Figura 10). Nos ovos com cobertura, o pH variou de 8,01, no terceiro dia, a 8,33, no vigésimo oitavo dia de armazenamento.

Com três dias de armazenamento a dureza de géis de clara de ovos sem cobertura foi 94,6 % mais alta, comparado a dureza de géis de clara de ovos com cobertura (Tabela 10, Figura 10). Já com 21 dias de armazenamento essa diferença caiu

para 65% e com 28 dias foi de 58%. Um dos fatores que influenciaram a dureza do gel do albume foi o pH da clara, que aumenta com o período de armazenamento.

Durante o armazenamento, considerando do terceiro dia em diante, não houve diferença significativa entre os resultados de dureza dos géis de ovos sem cobertura, variando de 512,6 g a 654,09 g. Para Handa et al. (1998) o maior valor obtido para a dureza foi no pH 11, e o menor valor foi no pH 3 e no pH 7.

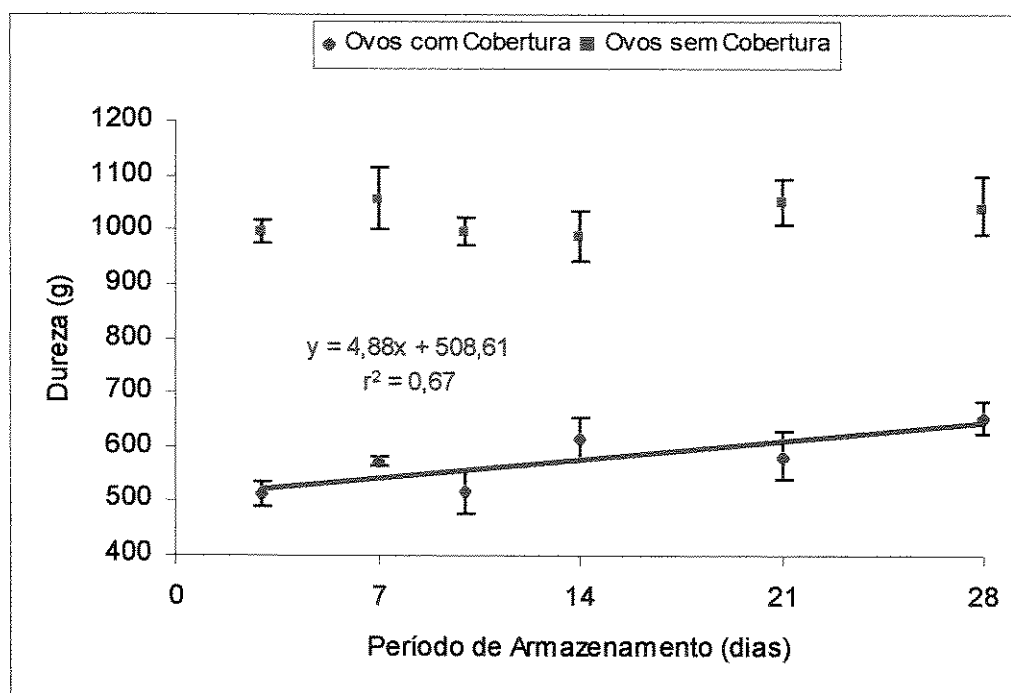


Figura 10: Correlação linear entre os valores da dureza dos géis de clara de ovos com cobertura e o período de armazenamento (3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias).

A cobertura de concentrado protéico de soro de leite retarda o aumento do pH durante o armazenamento, funcionando como uma barreira que impede a perda de CO₂ pela casca. Ela mantém as características dos géis de ovos frescos, sendo que esse tipo de gel possui aparência não uniforme, como se possuísse bolhas de ar no seu interior. A aparência dos géis de albume de ovos frescos é frágil e granulada, com uma perda de água durante a compressão, a qual pode ser causada pela alta concentração de CO₂ na clara de ovo fresca (Hammershøj et al., 2002). Com o aquecimento que ocorre durante o preparo do gel, bolhas de CO₂ são criadas devido à diminuição de solubilidade, ocasionando a formação de um coágulo aerado (Beveridge et al., 1980).

No pH 7 ocorre repulsão eletrostática entre as moléculas de proteínas, porém esta repulsão é menor do que a pH 9, sendo que no pH 7 as áreas de proteínas desnaturadas são limitadas a uma pequena região superficial da molécula (Croguennec et al., 2002). Além disso, as ligações cruzadas intermoleculares das proteínas e mudanças do grupo tiol para ligações dissulfídicas aumentam no pH mais alto, na faixa alcalina (Handa et al., 1998). A formação das ligações dissulfídicas na clara do ovo contribui com a estrutura do gel formado e aumentam sua força (Mine, 1997). No pH 6 a dureza e a coesividade de géis da clara de ovo foram as menores já obtidas por Beveridge et al. (1980) e Woodward e Cotterill (1987). A clara de ovo, em condições alcalinas (pH 11,9), forma géis translúcidos (Cunningham e Cotterill, 1962).

Tabela 10: Análise do perfil de textura e umidade espremível de géis da clara de ovos armazenados a 3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias a 25°C.

Período de Armazena-mento	Cober-tura (CPSL)	pH	Dureza (g)	Elastici-dade	Coesivi-dade	Mastiga-bilidade	Umidade Espremível (%)
Ovos frescos	-	7,93 ± 0,16	492,0 ± 24,6	0,85 ± 0,05	0,69 ± 0,01	288,6 ± 11,2	50,06 ± 0,06
3 dias	Com Sem	8,01 ± 0,13	512,6 ± 8,8	0,91 ± 0,01	0,62 ± 0,01	293,7 ± 10,1	52,65 ± 0
		9,09 ± 0,17	997,6 ± 21,5	0,94 ± 0,01	0,73 ± 0,01	690,1 ± 22,8	29,06 ± 0,01
7 dias	Com Sem	8,03 ± 0,10	571,8 ± 40,9	0,89 ± 0,01	0,64 ± 0,01	317,3 ± 12,3	51,07 ± 0,27
		9,24 ± 0,06	1058,1 ± 58,1	0,94 ± 0,01	0,74 ± 0,01	735,4 ± 33,7	31,45 ± 0,76
10 dias	Com Sem	8,07 ± 0,15	517,6 ± 37,7	0,90 ± 0,01	0,65 ± 0,02	302,4 ± 14,6	50,74 ± 0,17
		9,35 ± 0,06	997,0 ± 26,1	0,95 ± 0,01	0,73 ± 0,01	686,1 ± 29,5	31,81 ± 0,72
14 dias	Com Sem	8,21 ± 0,10	617,4 ± 44,9	0,91 ± 0,01	0,62 ± 0,02	362,7 ± 12,8	50,80 ± 0,59
		9,47 ± 0,10	988,3 ± 46,5	0,95 ± 0,01	0,77 ± 0,01	729,5 ± 28,7	29,62 ± 0,80
21 dias	Com Sem	8,23 ± 0,14	636,2 ± 28,8	0,91 ± 0,01	0,65 ± 0,01	338,2 ± 15,3	50,20 ± 0,08
		9,46 ± 0,08	1052,2 ± 43,5	0,95 ± 0,01	0,77 ± 0,01	766,7 ± 18,3	28,15 ± 1,60
28 dias	Com Sem	8,33 ± 0,17	654,1 ± 26,2	0,91 ± 0,02	0,65 ± 0,02	384,8 ± 18,6	51,00 ± 0,72
		9,44 ± 0,08	1037,1 ± 59,8	0,95 ± 0,01	0,78 ± 0,01	771,7 ± 42,3	25,91 ± 0,49

Gosset et al. (1983) determinaram a viscosidade aparente e a força produzida de géis de clara de ovo em diversos valores de pH e temperaturas de aquecimento. Os autores encontraram que a dureza do gel aumentou com o aumento do pH e com o aumento da temperatura de aquecimento. A carga da rede de proteínas na solução está relacionada com o pH, com a ligação com água e com a microestrutura dos géis, que afetam sua textura (Hermanssom, 1982). As proteínas tendem a se agregar quando aquecidas nos seus pontos isoelétricos, formando uma rede com poros grandes, o que diminui a força do gel, ocorrendo a mínima ligação com a água. Isso explica a menor dureza dos géis de ovos com cobertura, quando comparados com a dos géis de ovos sem cobertura, durante todo o período de armazenamento. A influência do pH está relacionada com a ação na carga das proteínas e na reatividade dos grupos sulfidrílicos (Croguennec et al., 2002).

Na faixa alcalina de pH são formadas matrizes uniformes, finas e fortes; os poros são menores, e a ligação com água é mais forte. A chave para a formação de um gel de estrutura fina e com ótimas propriedades de ligação com água é o balanço das forças atrativas e repulsivas (Ferry, 1948). Quando o balanço de cargas tende a zero, as forças atrativas aumentam e as proteínas se agregam. Com aumento do pH, a carga aumenta, e ocorre o equilíbrio entre as forças atrativas e as repulsivas, o que ocasiona a formação de um gel com excelentes propriedades. Além disto, as forças repulsivas podem promover interações de proteínas menores (Egenlandsdal, 1980). A dependência do pH dos géis de clara de ovo foi reportada, similarmente, por Beveridge et al. (1980), Holt et al. (1984), Woodward e Cotterill (1987).

Nos géis de clara de ovos com cobertura, ocorreu aumento de 27,6 % na dureza dos géis, entre 3 e 28 dias de armazenamento, passando de 512,6 g para 654,1 g (Tabela 10).

Hammershøj et al (2002) reportaram que os menores valores de pressão e a tensão de géis de albume foram obtidos em ovos frescos, como consequência do baixo pH e da alta concentração de CO₂ na clara de ovo fresca. Para Beveridge et al. (1980), a dureza e a coesividade foram mínimas quando o pH era 6, mas foram maiores tanto em pH 5 como em pH 9. Os autores atribuíram o aumento da dureza com o aumento do pH à mudança de grupo tiol para ligação dissulfídica, a qual foi acelerada a pH 9. Já o aumento da dureza a pH 5 foi atribuída ao aumento da precipitação da proteína.

A ovalbumina e a conalbumina representam, quantitativamente, em torno de 70% do total de proteínas da clara de ovo, e estão altamente relacionadas com as propriedades de gelatinização. A ovalbumina possui grupos sulfidrílicos livres que desempenham papel importante na formação de gel induzido pelo calor (Croguennec et al., 2002). A conalbumina, por sua vez, é a proteína mais facilmente desnaturada pelo calor e atua na coagulação, devido a sua conformação estável (sem a presença de ferro) (Croguennec, et al., 2002). Ela é uma proteína mais estável ao pH 9 do que ao pH 7 (Donovan e Mapes, 1976). Na clara de ovo a sua temperatura de desnaturação passa de 65°C a pH 7 para 69,5°C a pH 9 (Li-Chan e Nakai, 1989). Quando comparada a conalbumina, a ovalbumina demora mais tempo para que suas moléculas se abram e exponham seus grupos reativos na superfície antes de ocorrer a agregação (Croguennec et al., 2002).

Ovalbumina e conalbumina podem ser gelatinizadas individualmente com tratamento alcali, já as outras proteínas da clara do ovo não possuem esta característica (Chang, 1979). A gelatinização destas proteínas depende, primeiramente, da abertura de suas moléculas. Seideman et al. (1963), Cunningham e Lineweaver (1965) determinaram que a estabilidade da conalbumina ao calor foi mínima próxima ao pH 6,0. No pH 9,0 a estabilidade ao calor desta proteína foi, marcadamente, maior. Por outro lado, a estabilidade da ovalbumina foi maior em pH neutro (Yang e Baldwin, 1995).

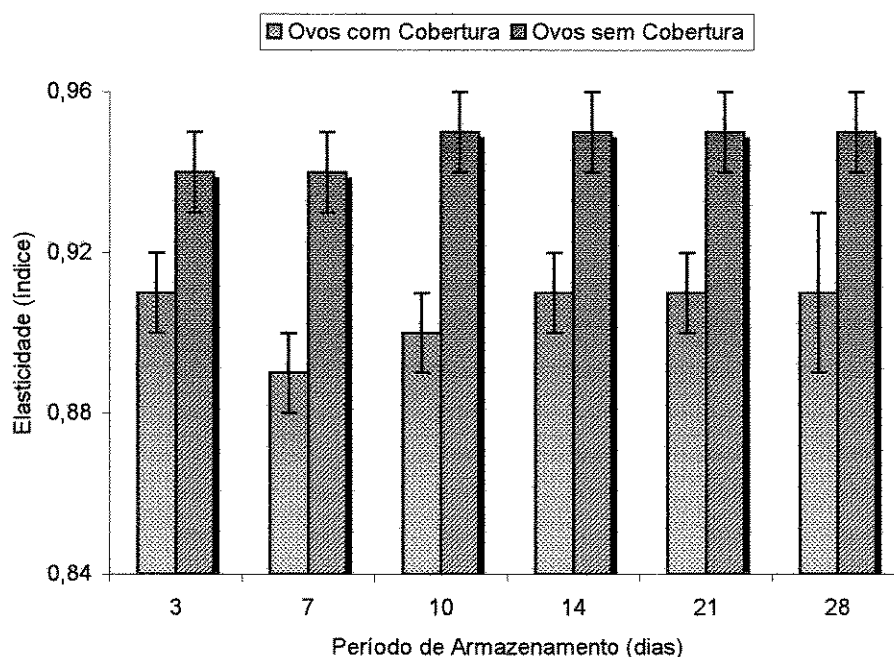


Figura 11. Índice de elasticidade de géis de albuma de ovos com e sem cobertura, durante o período de armazenamento (3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias).

Hammershøj et al. (2002) estudaram duas temperaturas de preparação do gel (85 e 90°C) para determinar se as diferenças nos parâmetros de textura variavam em função da forma de ovalbumina presente no albume. Teoricamente, os géis preparados a 90°C representariam géis com as três formas de ovalbumina presentes no albume, e géis preparados a 85°C representariam géis com apenas uma forma de ovalbumina. Baseado nisso, o ganho relativo da dureza do gel estaria relacionado com a presença da s-ovalbumina.

No caso da elasticidade, não houve interação entre o período de armazenamento e a cobertura. Porém houve diferença entre as médias de dentro de cada período (Figura 11), mas não entre os períodos de armazenamento (Tabela 10). Não houve efeito do tempo de armazenamento no índice da elasticidade do gel. A maior elasticidade foi dos géis de ovos sem cobertura (Tabela 10), comparados com os géis de ovos com cobertura. O índice de elasticidade de géis de albume de ovos frescos foi 0,91; para géis de albume de ovos com cobertura variou de 0,85 para 0,90, para géis de albume de ovos sem cobertura variou de 0,93 para 0,94 (Figura 11). Nota-se que o índice de elasticidade dos géis de ovos com cobertura mantém o mesmo índice dos ovos frescos, o que mostra o mesmo comportamento que a dureza dos géis apresentou, em relação às características dos géis de ovos frescos.

O índice de coesividade de géis de ovos sem cobertura variou de 0,74 a 0,77. Já para géis de ovos com cobertura o índice de coesividade variou de 0,64 a 0,69 (Figura 12). A coesividade indica o quanto a estrutura do gel permaneceu intacta após a primeira compressão (Handa et al., 1998). Sendo assim, a estrutura de géis de ovos sem cobertura alcançou uma coesividade maior do que a estrutura de géis de ovos com

cobertura. O índice de coesividade teve o mesmo comportamento do índice de elasticidade, ou seja, na faixa alcalina de pH a estrutura dos géis de ovos sem cobertura foi menos danificada do que a estrutura dos géis de ovos com cobertura.

Comparando os resultados obtidos dentro do período de 7 dias de armazenamento, os ovos com cobertura obtiveram um índice de $0,64 \pm 0,01$, enquanto os géis de ovos sem cobertura obtiveram 0,74 (Tabela 10). Com 28 dias de armazenamento ovos com cobertura obtiveram um índice de 0,65, e os ovos sem cobertura obtiveram 0,78. Observa-se que em todos os períodos de armazenamento, a diferença entre o índice de ovos com cobertura e de ovos sem cobertura foi de 14,49%, aproximadamente.

O índice de mastigabilidade apresentou o mesmo comportamento da dureza dos géis (Figura 13; Tabela 10). A mastigabilidade dos géis de ovos sem cobertura foi maior do que a dos géis da clara de ovos com cobertura, independentemente do período de armazenamento (Tabela 10). Neste caso, analisou-se apenas a cobertura, pois não ocorreu interação com o tempo de armazenamento. Géis formados a pH 11 exibem um valor extremamente alto de mastigabilidade (Handa et al., 1998).

Do terceiro ao vigésimo oitavo dia de armazenamento, não houve diferença significativa para os géis de ovos com cobertura. Já para os ovos sem cobertura o índice de mastigabilidade apresentou-se com diferença significativa entre o terceiro e o vigésimo primeiro dia em diante.

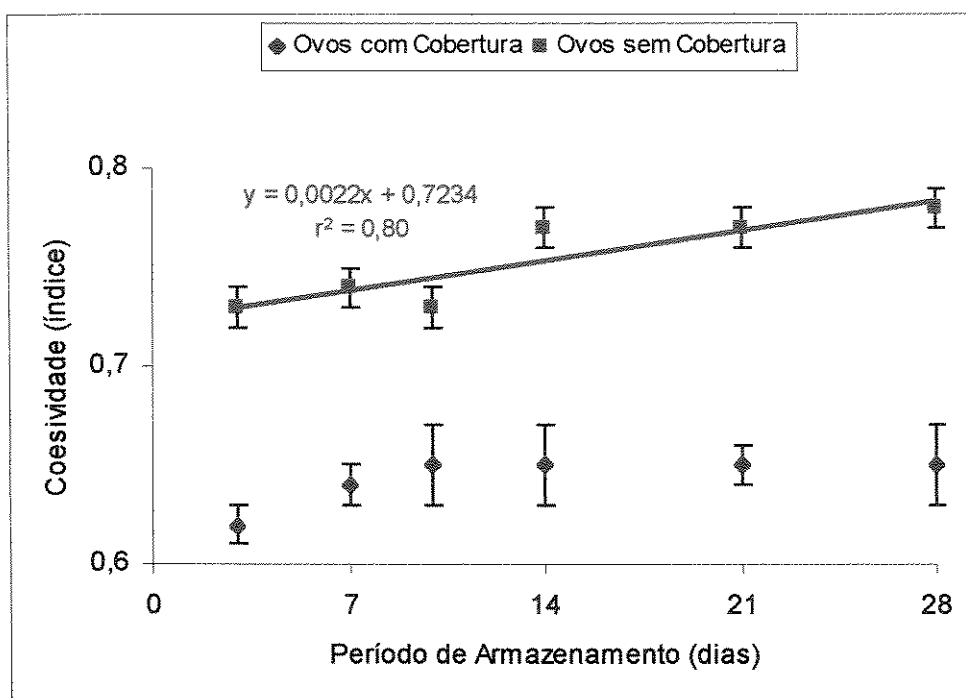


Figura 12. Correlação linear entre os valores da coesividade dos géis de clara de ovos sem cobertura e o período de armazenamento (3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias).

A umidade espremível (UE) de géis de clara de ovos frescos foi de 50,06 %. Com três dias de armazenamento a UE para géis da clara de ovo com cobertura foi de 52,65%, e para géis da clara de ovos sem cobertura foi de 29,06 % (Tabela 10). Portanto a umidade espremível dos géis de ovos sem cobertura foi 81% menor que a umidade espremível dos géis de clara de ovos com cobertura. Para 7, 10, e 14 dias essa diferença percentual caiu para 63,05%. Já com 21 dias essa diferença volta a subir para 78,33% e com 28 dias passou a 96,83%.

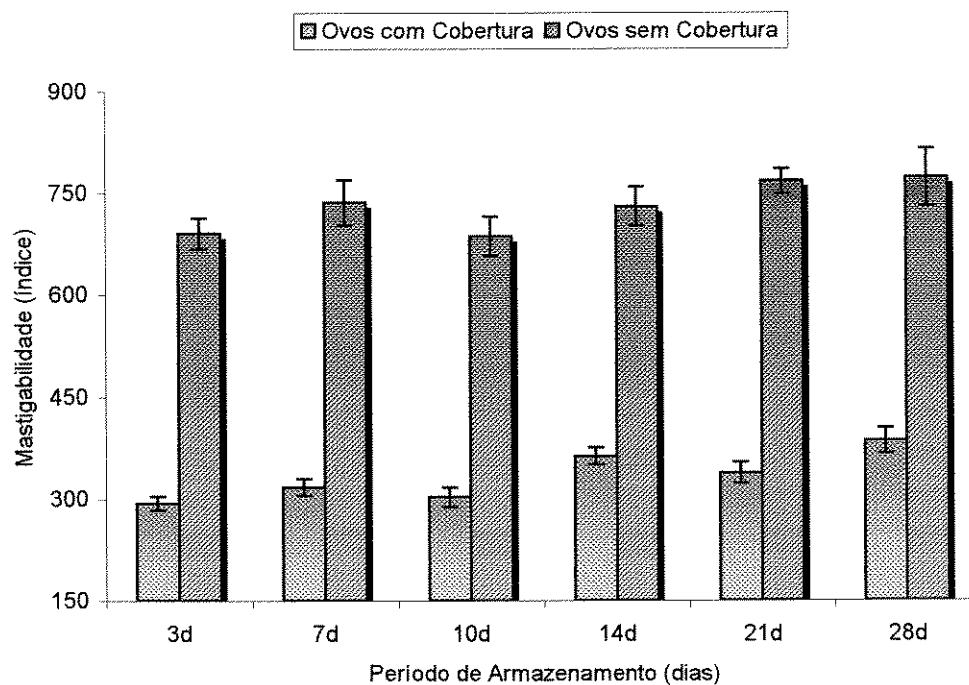


Figura 13. Índice de mastigabilidade de géis de albúme de ovos com e sem cobertura, durante o período de armazenamento (3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias).

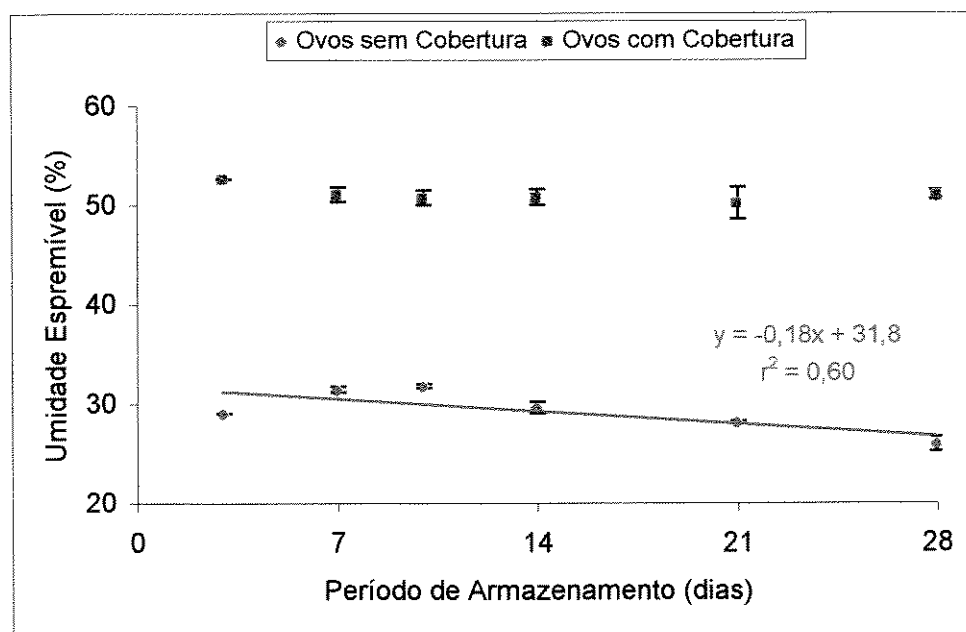


Figura 14: Correlação linear entre os valores da umidade espremível dos géis de clara de ovos sem cobertura e o período de armazenamento (3, 7, 10, 14, 21 e 28 dias).

Géis da clara de ovo frescos são caracterizados pela sua pobre capacidade de retenção de água. Conseqüentemente, no pH mais alto, na faixa alcalina, a maioria das proteínas carregadas negativamente terá uma maior capacidade de se ligar com a molécula de água, devido à ocorrência dominante das forças repulsivas (Hammershøj et al., 2002).

Para a umidade espremível (UE) houve interação entre os fatores (cobertura e tempo). Com isto, foi necessário fazer análise de regressão, e os resultados foram analisados dentro de cada período de tempo. Para cada tempo de armazenamento houve diferença a 1% entre os ovos com e sem cobertura (Figura 14).

Quanto maior a dureza, maiores os índices de elasticidade, de coesidade, de mastigabilidade e menor a umidade espremível dos géis, em pH na faixa alcalina.

6. CONCLUSÕES DOS ESTUDOS 1, 2 E 3

- Houve decréscimo dos valores de unidade Haugh e perda de peso, tanto para os ovos com cobertura como para os ovos sem cobertura. Já o pH do albume aumentou durante o armazenamento.
- A 25°C, o volume de líquido drenado da espuma de clara de ovos foi maior ($P < 0,01$) em ovos sem cobertura do que em ovos com cobertura, em todos os períodos de armazenamento. A diferença do volume de líquido drenado de espuma de clara de ovos foi de 59 % entre os ovos com cobertura e ovos sem cobertura, após 3 dias de armazenamento. Já no vigésimo oitavo dia a diferença foi de 202 %, ou seja, três vezes mais os valores obtidos para os ovos com cobertura.
- Em todos os períodos de armazenamento, o teor de s-ovalbumina foi maior em ovos sem cobertura comparados aos ovos com cobertura. A conversão da ovalbumina para s-ovalbumina está relacionada com o pH da clara de ovo. Se o pH da clara for mantido na faixa de 7 a 8, mesmo em ovos armazenado a 25°C, a conversão é retardada.
- Houve correlação positiva entre o teor de s-ovalbumina e o volume de líquido drenado de espuma da clara de ovos ($R^2 = 0,92$ para ovos com cobertura e $R^2 = 0,94$ para ovos sem cobertura). Portanto, quando aumenta o teor de s-ovalbumina aumenta o volume de líquido drenado, e conseqüentemente é diminuída a estabilidade da espuma.

- Em todos os períodos de armazenamento, a dureza do gel do albume de ovos sem cobertura foi maior ($P < 0,01$) do que a dureza do albume de ovos com cobertura.
- Não houve correlação entre o tempo de armazenamento e a dureza dos géis dos ovos sem cobertura.
- Em ovos com cobertura, a regressão linear explicou 60% do comportamento da dureza em relação ao período de armazenamento.
- Os géis de ovos sem cobertura apresentaram maior elasticidade do que os géis de ovos com cobertura. O índice de coesividade de géis de ovos sem cobertura foi maior que em géis de ovos com cobertura, em todos os períodos de armazenamento.
- A mastigabilidade dos géis de ovos sem cobertura foi maior que a dos géis da clara de ovos com cobertura, independentemente do período de armazenamento.
- A percentagem de umidade espremível de géis de clara de ovos com cobertura foi superior a dos géis de clara sem cobertura, em todo o período de estocagem.
- A cobertura manteve o pH da clara de ovo na faixa de 8, durante quatro semanas de armazenamento e, desse modo, conseguiu manter as características necessárias para boa conservação do produto.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACTON, J.C.; KROPP, P.S.; RICK, R.L. Properties of ovalbumin, conalbumin and lysozyme at an oil-water interface and in an emulsion system. **Poultry Science**, v.69, n.4, p.694-701, 1990.
- ADAMSON, G.K.. **Physical chemistry of surface**. 4.ed. New York: John Wiley & Sons, 1982. 664p..
- AHN, D.U.; SELL, J.L.; CHARMRUSPOLLERT, M.; JEFFREY, M. Effect of dietary conjugated linoleic acid in the quality characteristics of chicken eggs during refrigerated storage. **Journal of Food Science**, v.78, n.5, p.922-928, 1999.
- ALLEONI, A.C.C. Efeito da temperatura e do período de armazenamento na qualidade do ovo, nos teores de s-ovalbumina e nas propriedades funcionais das proteínas da clara do ovo. Campinas, 1997. p.104. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- ALLEONI, A.C.C.; ANTUNES, A.J. Unidade Haugh como medida da qualidade de ovos de galinha sob refrigeração. **Scientia Agricola**, v.58, n.4, p. 681-685, 2001.
- ANDROSS, M. Effect of cooking on eggs. **Chemistry Industry**, v.59, p.449-454, 1940.
- AOAC. **Official methods of analysis**. 13^a.ed. Washington: Association of Official Analytical Chemistry, 1980.
- ARNTFIELD, S.D.; MURRAY, E.D.; ISMOND, M.A.A.; BERNATSKY, A.M. Role of disulfide bonds in determining the rheological and microstructural properties of heat-induced protein network from ovalbumin and vicilin. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.39, n.8, p.1378-138, 1989.

- AZARI, P.R.; FEENEY, R.E. Resistance of metal complexes of conalbumin and transferring to proteolysis and to thermal denaturation. **Journal of Biological Chemistry**, v.232, p.292-302, 1958.
- BACURAU, L.G.; ZAPATA, J.F.F.; FUENTES, M.D.F.; BARROSO, M.A.T.; SALES, M.G. Treatment of the shell as a way to preserve chicken eggs. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.29, n.4, p.643-651, 1994.
- BEVERIDGE, T.; ARNTFIELD, S.; KO, S.; CHUNG, J.K.L. Firmness of heat induced albumen coagulum. **Poultry Science**, v.59, p.1229-1236, 1980.
- BEVERIDGE, T.; JONES, L.; TUNG, M.A. Stranded structure development in thermally produced whey protein concentrate gel. **Food Microstructure**, v.2, p.161-163, 1983.
- BOURNE, M.C. Texture Profile Analysis. **Food Technology**, v.32, n.2, p.62-66, 72, 1978.
- BRANT, A. W.; OTTE, A. W.; NORRIS, K. H. Recommend standards for scoring and measuring opened egg quality. **Food Technology**, v.5, p.356 - 361, 1951.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Decreto n.56.585, de 20 de julho de 1965. Aprova as novas especificações para a classificação e fiscalização do ovo. **Diário Oficial**, 22 de jul. 1965.
- BRITTEN, M.; LAVOIE, L. Foaming properties of proteins as affected by concentration. **Journal of Food Science**, v.57, p.1219-1222, 1992.
- BRUNNER, J.R. Milk proteins. In: WHITAKER, J.R.; TANNENBAUM, S.R. (Ed.) **Food proteins**. Westport: AVI Publishers, 1977. p.175-208.
- BULL, H.B.; BREESE, K. Water and solute binding by proteins. **Archives of the Biochemical and Biophysical**, v.137, p.299-303, 1970.

- BURLEY, R.W.; VADEHRA, D.V. **The avian chemistry and biology**. New York: John Wiley & Sons, 1989. 472p.
- CHANG, H.S. Studies on the alkaline gelation of ovalbumin and conalbumin. **J. Chin. Soc. Anim. Sci.**, v.8, p.35-50, 1979.
- CHANG, Y.I.; CHEN, T.C. Functional and gel characteristics of liquid whole egg as affected by pH alteration. **Journal of Food Engineering**, v.45, p. 237-241, 2000.
- CHEN, T.C.; HSU, S.Y. Quality attributes of whole egg and albumen mixtures cooked by different methods. **Journal of Food Science**, v.46, p.984-986, 1981.
- CHERIAN, G.; WOLFE, F.H.; SIM, J.S. Feeding dietary oils with tocopherols: effects on internal qualities of eggs during storage. **Journal of Food Science**, v.61, n.1, p.15-18, 1996.
- CLARK, A.H.; ROSS-MURPHY, S.B. Structural and mechanical properties of biopolymer gels. **Advances in Polymer Science**, v.83, p.57-192, 1987.
- CLARK, D.C.; MACKEL, A.R.; Smith, L.J.; WILSON, D. The interaction of bovine serum albumin and lysozyme and its effect on foam composition. **Food Hydrocolloids**, v.2, p.209-223, 1988.
- COTTERILL, O.J.; WINTER, A.R. Egg white lysozyme. 3. The effect of pH on the lysozyme-ovomucin interaction. **Poultry Science**, v.34, p.679-686, 1955.
- CROGUENNEC, T.; NAU, F.; BRULÉ, G. Influence of pH and salts on egg white gelation. **Journal of Food Science**, v.67, n.2, p.608-614, 2002.
- CUBIS, P.A.; GARDNER, F.A.; MELLOR, D.B. A comparison of selected quality and compositional characteristics of brown and white eggs: I. Shell quality. **Poultry Science**, v.59, p.1612-1617, 1980.

- CUNNINGHAM, F.E. Properties of egg white foam drainage. **Poultry Science**, v.56, p.1819-1821,1976.
- CUNNINGHAM, F.E.; COTTERILL, O.J. Factors affecting alkaline coagulation of egg white. **Poultry Science**, v.42, p.1453-1461,1962.
- CUNNINGHAM, F.E.; LINEWEAVER, H. Stabilization of egg-white proteins to pasteurizing temperatures above 60° C. **Food Technology**, v.19, p.1142-1447,1965.
- CUNNINGHAM, F.E.; COTTERIL, O.J.; FUNK, E.M. The effect of season and age of bird.
1. On egg size, quality and yield. **Poultry Science**, v.39, p. 289-299, 1960.
- DAMODARAN, S. Interrelationship of molecular and functional properties of food proteins.
In: KINSELLA, J.E.; SOUCI, W.G. (Ed.). **Food proteins**. Champaign: AOCS, 1989.
p.21-51.
- DAMODARAN, S.; KINSELLA, J.E. Role of electrostatic forces in the interaction of soy proteins with lysozyme. **Cereal Chemistry**, v.6, p.381-383,1986.
- DAMODARAN, S.; ANAND, K.; RAZUMOVSKY, L. Competitive adsorption of egg white at the air-water interface: Direct evidence for electrostatic complex formation between lysozyme and other egg proteins at the interface. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.46, n.3, p.872-876, 1998.
- DICKINSON, E. Mixed proteinaceous emulsifiers: review of competitive protein adsorption and the relationship to food colloid stabilization. **Food Hydrocolloids**, v.1, n.1, p.3-23, 1986.
- DOI, E.; KITABATAKE, N.; HATTA, H.; KOSEKI, T. Relationship of SH groups to functionality of ovalbumin. In: KINSELLA, J.E. & SOUCIE, W. (Ed.) **Food proteins**. Champaign: AOCS, 1989. p.252-266.

- DONHOWE, G.; FENNEMA, O. Edible films and coatings: characteristics, formation, definitions, and testing methods. In: KROCHTA, J.M.; BALDWIN, E.A.; NISPEROS-CARRIEDO, M.O. (Ed.) **Edible coatings and films to improve food quality**. Lancaster: Technomic Publishing, 1994. p.1-24.
- DONOVAN, J. W.; MAPES, C. J. A differential scanning calorimetric study of conversion of ovalbumin to s-ovalbumin. **Journal of Science Food and Agricultural**, v.27, n.2, p.197-204, 1976.
- DU, L.; PROKOP, A.; TANNER, R.D. Effect of denaturation by preheating on the foam fractionation behavior of ovalbumin. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.248, p.487-492, 2002.
- EISEN, E.J.; BOHRE, B.B.; MCKEAN, H. E. The Haugh unit as a measure of egg albumen quality. **Poultry Science**, v.41, p.1461-1468, 1962.
- ENGELANDSDAL, B. Heat-induced gelling in solutions of ovalbumin. **Journal of Food Science**, v.45, p.570-573, 1980.
- FARRELL, H.M.; BRESS, E.G.; CLAGET, C.O.. The nature of the biochemical lesion in avian renal riboflavin. V. Elucidation of riboflavin transport in the laying ren. **International Journal of Biochemistry**, v.1, p.168-189, 1970.
- FEENEY, R.E. Egg proteins. In: SCHULTZ, H.W.; ANGLEMIER, A.F. (Ed.) **Symposium on foods: proteins and their reactions**. Wetsport: AVI Publishing, 1964.
- FEENEY, R.E.; ABPLANALP, H.; CLARY, J.J.; EDWARDS, D.L.; CLARK, J.R. A genetically varying minor protein constituent of chicken egg white. **Journal of Biological Chemistry**, v.238, p.1732-1739, 1963.
- FERRY, J. D. Protein Gels. **Advanced in Protein Chemistry**, v.4, p.1-78, 1948.

- FLETCHER, D. L.; BRITTON, W. M.; PESTI, G. M.; RAHN, A. P. The relationship of layer flock age and egg weight on egg component yields and solids content. **Poultry Science**, v.62, p.1800-1805, 1983.
- FOSSUM, K.; WHITAKER, J.R. Ficin and papain inhibitor from chicken egg white. **Archives of the Biochemical and Biophysical**, v.125, p.367-, 1968.
- GARDNER, F.A.; MELLOR, D.B.; DENTON, J.H.; RUNYON, L.R. Shell treating as a potential alternative to refrigerated storage of shell eggs. SPSS Abstracts. **Poultry Science**, v.59, p.1612, 1980.
- GENNADIOS, A.; BRANDENBURG, C. L.; WELLER, C. L.; TESTIN, R. F. Effect of pH on properties of wheat gluten and soy protein isolate films. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.41, n.11, p.1835-1839, 1993.
- GENNADIOS, A.; MCHUGH, T. H.; WELLER, C. L.; KROCHTA, J. M. Edible coatings and films based on proteins. **Edible Coatings and Films to Improve Food Quality**. In: KROCHTA, J.M.; BALDWIN, E.A.; NISPEROS-CARRIEDO, M.O. (Ed.) Lancaster: Technomic Publishing, 1994. p. 201-277.
- GERMAN, J.B.; PHILLIPS, L.G. Molecular properties of proteins important in foams. **Food Proteins**. In: KINSELLA, J.E. & SOUCIE, W.G. (Ed.), AOCS, Champaign, IL. 1989. p.132-143.
- GOODRUM, J.W.; BRITTON, W.M.; DAVIS, J.B. Effect of storage conditions on albumen pH and subsequent hard-cooked eggs peelability and albumen sheer strength. **Poultry Science**, v.68, p.1226-1231, 1989.
- GOSSET, P.W.; RIZVI, S.S. H.; BAKER, R.C. Selected rheological properties of pH adjusted or succinylated egg albumen. **Journal of Food Science**, v.49, p.137-140, 1983.

- GRISWOLD, R.M. **The experimental study of foods**. Boston: Houghton Mifflin, 1962. 577p.
- HAGOLLE, N.; RELKIN, P. POPINEAU, Y.; BERTRAND D. Study of the stability of egg white protein-based foams: effect of heating protein solution. **Journal of Science of Food Agricultural**, v.80, n.8, p.1245-1252, 2000.
- HALLING, P. J. Protein: stabilized foams and emulsions. **CRC Food Sci. and Nutrit.**, v.15, n.2, p.155-203, 1981.
- HAMMERSHØJ, M.; QVIST, K.B. Importance of hen age and egg storage time for egg albumen foaming. **Lebensm. Wissens. und Technol.**, v.34, p.118-120, 2001.
- HAMMERSHØJ, M.; PRINS, A.; QVIST, K.B. Influence of pH on surface properties of egg albumen solutions in relation to foaming behaviour. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.79, p.859-868, 1999.
- HAMMERSHØJ, M.; LARSEN, L.B.; ANDERSEN, A.B.; QVIST, K.B. Storage of shell eggs influence the gelling properties. **Lebensm. Wissens. und Technol.**, v.35, p.62-69, 2002.
- HANDA, A.; TAKAHASHI, N.K.; FRONING, G.W. Heat-induced egg white gels as affected by pH. **Journal of Food Science**, v.63, n.3, p.403-407, 1998.
- HAUGH, R. R. The Haugh unit for measuring egg quality. **U. S. Egg Poult. Mag.**, v.43, p.552-555, 1937.
- HAYAKAWA, S.; SATO, Y. Physicochemical identity of α -ovomucins or β -ovomucins obtained from the sonicated insoluble and soluble ovomucins. **Agricultural Biological Chemical**, v.41, p.1185-1191, 1977.

- HERALD, T. J.; GNANASAMBANDAM, R.; MCGUIRE, B. H.; HACHMEISTER, K. A. Degradable wheat gluten films: Preparation, Properties and Applications. **Journal of Food Science**, v.60, n.5, p.1147-1150,1156, 1995.
- HERMANSSOM, A.M. Agregation and denaturation involved in gel formation. In: SHERMAN, P. (Ed.) **Food texture and rheology**. New York: Academic Press, 1979. p.265.
- HERMANSSOM, A.M. Gel characteristics-structure as related to texture and water binding of blood plasma gels. **Journal of Food Science**, v.47, p.1965-1972,1982.
- HILL, A.T.; HALL, J.W. Effect of various combinations of oil spraying, washing, sanitizing, storage time, strain and age of layer upon albumen quality changes in storage and minimum sample sizes required for their measurement. **Poultry Science**, v.59, p.2237-2242, 1980.
- HOLT, D. L. ; WATSON, M. A.; DILL, C. W.; ALFORD, E. S.; EDWARDS, R. R.; DIEHL, K. C.; GARDNER, F. A. Correlation of the rheological behavior of egg albumen to temperature, pH and NaCl concentration. **Journal of Food Science**, v.49, p.137-141, 1984.
- HUNTON, P. Laboratory evaluations of egg quality. In: WELLS, R.G.; BELYAVIN, C.G. (Ed.) **Egg quality-current problems and recent advances**. London: Butterworths, 1985. p.87-102.
- IMAI, C. Effect of coatings eggs on storage stability. **Poultry Science**, v.60, n.9, p.2053-2061, 1981.
- JAUREGUI, C. A.; REGENSTEIN, J.M.; BAKER, R.R. A simple centrifugal method for measuring expressible moisture, a water-binding property of muscle foods. **Journal of Food Science**, v.46, p.1271-1273, 1981.

- JOHNSON, T.M.; ZABIK, M.E. Egg albumen proteins interactions in an angel food cake system. **Journal of Food Science**, v.46, p.2071-2083, 1981.
- KATO, A.; TAKAGI, T. Formation of intermolecular β -sheet structure during heat denaturation of ovalbumin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.36, n.6, p.1156-1159, 1988.
- KATO, A.; NAKAMURA, R.; SATO, Y. Studies on changes in stored Shell. VI. Changes in the composition of ovomucin. **Agricultural Biological Chemical**, v.34, p.1009-1014, 1970.
- KATO, A.; TAKAHASHI, A.; MATSUDOMI, N.; KOBAYASHI, K. Determination of foaming properties of proteins by conductivity measurements. **Journal of Food Science**, v.8, p.62-65, 1983.
- KATO, A.; MATSUDA, T.; MATSUDOMI, N.; KOBAYASHI, K. Difference in the molecular weight of soluble aggregates during heat denaturation between ovalbumin and s-ovalbumin. **Agricultural Biological Chemical**, v.49, n.7, p.2197-2198, 1985.
- KATO, A.; TANAKA, A.; MATSUDOMI, N.; KOBAYASHI, K. Deamidation of ovalbumin during s-ovalbumin conversion. **Agricultural Biological Chemical**, v.50, n.9, p.2375-2380, 1986.
- KATO, A.; TANAKA, A.; MATSUDOMI, N.; KOBAYASHI, K. Effects of deamidation with chymotrypsin at pH 10 on the functional properties of proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.35, n.2, p.285-288, 1987.
- KATO, A.; IBRAHIM, H. R.; WATANABE, H.; HONNA, K. & KOBAYASHI, K. New approach to improve the gelling and surface functional properties of dried egg white by heating in dry state. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.37, n.2, p.433-437, 1989.

- KELLA, N.K.D.; KINSELLA, J.E. Enhance thermodynamic stability of β -lactoglobulin at low pH. **Biochemical Journal**, v.255, p.113-118, 1988.
- KESTER, J.J.; FENNEMA, O.R. Edible films and coatings: a review. **Food Technology**, v.40, n.12, p.47-59, 1986.
- KETTERER, B. A glycoprotein component of the hen egg white. **Life Science**, v.1, p.163-168, 1962.
- KIDWELL, M. G.; NORDSKOG, A. W.; FORSYTHE, R. H. On the problem of correcting albumen quality measures for egg weight. **Poultry Science**, v.43, p.42 - 49, 1964.
- KINSELLA, J.E. Functional properties of proteins: possible relation-ships between structure and foams. **Food Chemistry**, v.7, p. 273-288, 1981.
- KINSELLA, J.E. Milk proteins: physicochemical and functional properties. **CRC Crit. Rev. Food Science and Nutrition**, v.21, n.2, p.197-262, 1984.
- KINSELLA, J.E.; PHILLIPS, L.G. Structure function relationships in food proteins: films and foaming behavior. **Food Proteins**. In: KINSELLA, J.E. & SOUNCIE, W.G. (Ed.). AOCS, Champaign, IL. 1989. p.52-77.
- KINSELLA, J. E.; WHITEHEAD, D. M.. Proteins in Whey: Chemical, Physical and Functional Properties, KINSELLA, J. E. (Ed.). In: **Advanced in Food Nutrition Research**, London: Academic Press, 1989. v.33, p.343-438.
- KINT, S.; TOMINATSU, Y. A raman difference spectroscopic investigation of ovalbumin and s-ovalbumin. **Biopolymers**, v.18, p.1073-1078, 1979.
- LAN, P.P.; LIEN, N.X. Fresh chicken eggs preservation under tropical conditions. **Indian Journal of Animal Sciences**, v.69, n.11, p.976-978, 1999.
- LI, L. Y.; LAI, C. C.; GILBERT, S. G. Keeping quality of packaged in acrylonitrile pouches. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.9, n.3, p.179-187, 1985.

- LI-CHAN, E.; NAKAI, S. Biochemical basis for the properties of egg white. **Critical Review Poultry Biology**, v.2, n.1, p.21-57, 1989.
- LI-CHAN, E.; NAKAI, S. Raman spectroscopy study of thermally and/or dithiothreitol induced gelation of lysozyme. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.39, n. 7, p.1238-1245, 1991.
- LOWE, B. **Experimental cookery**. 4.ed. New York: John Wiley & Sons, 1955. 573p.
- MA, C.Y.; HOLME, J. Effect of chemical modification of some physical properties and heat coagulation of egg albumen. **Journal of Food Science**, v.47, n.5, p.1454-1459, 1982.
- MACDONNELL, L.R.; FEENEY, R.E.; HANSON, H.L.; CAMPBELL, A.; SUGIHARA, R.F. The functional properties of the egg white proteins. **Food Technology**, v.9, p.49-53, 1955.
- MATSUDOMI, N.; KATO, A.; KOBAYASHI, K. Conformation and surface properties of deamidated gluten. **Agricultural Biological Chemistry**, v.46, n.6, p.1583-1587, 1982.
- MCHUGH, T.H.; KROCHTA, J.M. Milk-protein-based edible films and coatings. **Food Technology**, v.4, n.1, p.97-103, 1994.
- MCKELLAR, M. B.; STADELMAN, W.J. A method for measuring volume and drainage of egg white foams. **Poultry Science**, v.34, p.455-458, 1955.
- MINE, Y. Effect of dry heat and mild alkaline treatment on functional properties of egg white proteins. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.45, p.2924-2928, 1997.

- MINE, Y. Recent advances in the understanding of egg white protein functionally. **Trends in Food Science and Technology**, v.6, n.7, p.225-231, 1995.
- MONTEJANO, J.G.; HAMANN, D.D.; LANIER, T.C. Thermally induced gelation of selected comminuted muscle systems-rheological changes during processing, final strengths and microstructure. **Journal of Food Science**, v.49, p.1496-1501, 1984.
- MORAIS, C.F.A.; CAMPOS, E.J.; SILVA, T.J.P. Qualidade interna de ovos comercializados em diferentes supermercados na cidade de Uberlândia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.49, n.3, p.365-373, 1997.
- MORI, T.; NAKAMURA, T.; UTSUMI, S. Behavior of intermolecule bond formation in the late stage of heat-induced gelation of glycinin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.34, p.33-37, 1986.
- MULVIHILL, D.M.; KINSELLA, J.E. Gelation characteristics of whey proteins and β -lactoglobulin. **Food Technology**, v.41, n.9, p. 102-111, 1987.
- MULVIHILL, D.M.; KINSELLA, J.E. Gelation of β -lactoglobulin: Effects of sodium chloride and calcium chloride on the rheological and structural properties of gels. **Journal of Food Science**, v. 53, n.1, p. 231-235, 1988.
- NAKAI, S.; LI-CHAN, E. Structure modification and functionality of whey proteins: quantitative structure-activity relationship approach. **Journal Dairy Science**, v.68, p.2763-2772, 1985.
- NAKAMURA, R.; ISHIMARU, M. Changes in the shape and surface hydrophobicity of ovalbumin during its transformation to s-ovalbumin. **Agricultural Biological Chemical**, v.45, n.12, p.2775-2780, 1981.

- NAKAMURA, R.; TAKEMORI, Y.; SHITAMORI, S. Liberation of carboxyl groups on conversion of ovalbumin to s-ovalbumin. **Agricultural Biological Chemical**, v.45, n.7, p.1653-1659, 1981.
- NAKAMURA, T.; UTSUMI, S.; MORI, T. Network structure formation in thermally induced gelation of glycinin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.32, n.2, p.349-352, 1984.
- NAKAMURA, R.; TAKAYAMA, M.; NAKAMURA, K.; UMEMURA, O. Constituent proteins of globulin fraction obtained from egg white. **Agricultural Biological Chemical**, v.44, p.2357-2360, 1980.
- NGUYEN, T. H.; SMITH, M. B. S-ovalbumin in eggs - a review. **CSIRO Food Res. Q.**, v.44, n.2, p.44-48, 1984.
- NISBET, A. D.; SAUNDY, R. H.; MOIR, A. J. G.; FOTHERGILL, L. A.; FOTHERGILL, J. E.. The complete amino-acid sequence of hen ovalbumin. **European Journal Biochemistry**, v.115, p.335-345, 1981.
- OAKENFULL, D. Gelling agents. **CRC Crit. Reviews Food Sci. and Nutrition**, v.26, p.1-25, 1987.
- OLIVEIRA, B.L. Pontos críticos no manejo de poedeiras. In: CONFERÊNCIA 92 APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, Santos, 1992. p.137-144.
- OLIVEIRA, J.V. Avaliação da sanitização da casca de ovos comerciais por agentes químicos. Campinas, 1997. p.140. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- OSUGA, D.T.; FEENEY, R.E. Eggs proteins. In: WHITAKER, J.R.; TANNENBAUM, S.R. **Food proteins**. 2.ed. Westport: Avi Publishing, 1977. p.209-266.

- OUATTARA, B.; SIMARD, R.E. Alternatives to refrigeration for egg preservation in tropical conditions. **Sciences des Aliments**, v.18, n.2, p.233-240, 1998.
- PARDI, H.S. Influência da comercialização na qualidade dos ovos de consumo. Rio de Janeiro, 1977. p.73. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Fluminense.
- PARKINSON, T.L. The chemical composition of eggs. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.17, p.101-111, 1966.
- PERNELL, C.W.; FOEGEDING, E.A.; LUCK, P.J.; DAVIS, J.P. Properties of whey and egg white foams. **Colloids and Surfaces**, v.204, p.9-21, 2002.
- PHILLIPS, L.G. Protein conformation at liquid interfaces and its role in stabilizing emulsions and foams. **Food Technology**, v.35, p.50-51,54-57, 1981.
- PHILLIPS, L.G.; KINSELLA, J.E. Effect of succinylation on b-lactoglobulin foaming properties. **Journal of Food Science**, v.55, n.6, p.1735-1739,1990.
- PHILLIPS, L.G.; WHITEHEAD, D.M.; KINSELLA, J.E. **Structure-function properties of food proteins**. San Diego: Academic Press, 1994. 271p. (Food Science and Technology International Series).
- PHILLIPS, L.G.; GERMAN, J.B.; O'NEILL, T.E.; FOEGEDING, E.A.; HARWALKAR, V.R.; KILARA, A.; LEWIS, B.A.; MANGINO, M.E.; MORR,C.V.; KINSELLA, J.E. Standardized procedure for measuring foaming properties of three proteins, a collaborative study. **Journal of Food Science**, v.55, n.5, p.1441-1444,1453, 1990.
- POOLE, S.; WEST, S.I.; FRY, J. Effects of basic proteins on the denaturation and heat-gelation of acidic proteins. **Food Hydrocolloids**, v.1, p.301-316.1987.
- POOLE, S.; WEST, S.I.; WALTERS, C.L. Protein-protein interactions: Their importance in the foaming of heterogeneous protein systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.35, p.701-711, 1984.

- POSATI, L.P.; ORR, M.L. **Composition of foods: dairy and egg products raw-processed-prepared**. Washington: USDA Research Service, 1976. (Handbook 8-1)
- POWRIE, W.D.; NAKAI, S. Characteristics of edible and fluids of animal origin: egg. In: FENNEMA, O. (Ed.) **Food chemistry**. New York: Marcel Dekker, 1985. cap.14., p.829-855.
- PROTAIS, J. Qualità dell'uovo da consume: caratteristiche ed alcuni fattori di variazione. **Riv. Avicol.**, v.60, p.27-32, 1991.
- PROUDFOOT, F. G. The decline of internal egg quality during storage at 30°F and 70°F among six strains of Leghorns reared in confinement and on range. **Poultry Science**, v.41, p.98-103, 1962.
- RELKIN, P.; HAGOLLE, N.; DALGLEISH, D.G.; LAUNAY, B. Foam formation and stabilisation by pre-denatured ovalbumin. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.12, p.409-416, 1999.
- RHODES, M.B.; AZARI, P.R.; FENEY, R.E. Analysis fractionation and purification of egg white proteins with cellulose cation exchanger. **Journal of Biological Chemistry**, v.230, p.399-405, 1958.
- RICHERT, S.H.; MORR, C.V.; COONEY, C.M. Effect of heat and other factors upon foaming properties of whey protein concentrate. **Journal of Food Science**, v.39, p.42-49, 1974.
- RODRIGUES, P.C. Contribuição ao estudo da conversão de ovos de casca branca e vermelha. Piracicaba, 1975. 57p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- ROMANOFF, A.L.; ROMANOFF, A.J. **The avian egg**. New York: John Wiley & Sons, 1949. 918p.

- ROSSI, M.; POMPEI, C. Changes in some egg components and analytical values due to hen age. **Poultry Science**, v.74, p.152-160, 1995.
- SCHÄFER, A.; DREWES, W.; SCHWÄGELE, F. Effect of storage temperature and time on egg white protein. **Nahrung**, v.43, n.2, p.86-89, 1999.
- SCHMIDT, R. H. Gelation and coagulation. In: CHERRY, J.P. (Ed.) **Protein functionality in foods**. Washington: ACS, 1981. p.131-147.
- SCHMIDT, R.H.; CORNELL, J.; ILLINGWORTH, B. Multiple regression and response surface analysis of the effects of calcium chloride and cysteine on heat-induced whey protein gelation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.27, n.3, p.529-532, 1979.
- SEIDEMAN, W.E.; COTTERILL, O.J.; FUNK, E.M. Factors affecting heat coagulation of egg white. **Poultry Science**, v.42, p.406-417, 1963.
- SHIMADA, K.; MATSUSHITA, S. Relationship between thermo coagulation of proteins and amino acid compositions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.28, p.413-417, 1980.
- SHITAMORI, S.; KOJIMA, E.; NAKAMURA, R. Changes in heat-induced gelling properties of ovalbumin during its conversion to s-ovalbumin. **Agricultural Biological Chemical**, v.46, n.6, p.1539-1541, 1984.
- SILVERSIDES, F.G.; VILLENEUVE, P. Is the Haugh unit correction for egg weight valid for eggs stored at room temperature? **Poultry Science**, v.73, p.50-55, 1994.
- SILVERSIDES, F.G.; SCOTT, T.A.. Effect of storage and layer age on quality of eggs from two lines of hens. **Poultry Science**, v.80, n.8, p.1240-1245, 2001.

- SILVERSIDES, F.G.; TWIZEYIMANA, F.; VILLENEUVE, P. Research note: a study relating to the validity of the Haugh unit correction for egg weight in fresh eggs. **Poultry Science**, v.72, p.760-764, 1993.
- SMITH, M.B. I-Denaturation by heat, and the heterogeneity of ovalbumin. **Australian Journal Biological Science**, v.17, p.261-670, 1964.
- SMITH, M. B.; BACK, J. F. Studies on ovalbumin: II-The formation and properties of the s-ovalbumin, a more stable form of ovalbumin. **Australian Journal Biological Science**, v.18, p.365-377, 1965.
- SMITH, M. B.; NGUYEN, L. Measuring the age of stored eggs. **CSIRO Food Research Quality**, v.44, n.4, p.94-96, 1984.
- SPACKMAM, D. The effect of disease on egg quality. In: WELLS, R.G.; BELYAVIN, C.G. (Ed.) **Egg quality-current problems and recent advances**. London: Butterworths, 1985. p.255-282.
- STADELMAN, W.J.; COTTERILL, O.J. **Egg science and technology**. Westport: Avi Publishing, 1973. 314p.
- STEVENS, L. Egg proteins: what are their functions? **Science Progress**, v.79, p.65-87, 1996.
- TOUSSANT, M.J.; LATSHAW, J.D. Ovomucin content and composition in chicken eggs with different interior quality. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.79, p.1666-1670, 1999.
- TRZISZKA, T. Protein aggregation whipping of egg white and its effect an the structure and mechanical properties of foams. **Archiv fur Geflugelkunde**, v.57, n.1, p.24-28, 1993.

- VADEHRA, D.V.; NATH, K.R. Eggs as a source of protein. **Critical Review Food Technology**, v.4, p.193-308, 1973.
- WALSH, T.J.; RIZK, R.E.; BRAKE, J. Effects of temperature and carbon dioxide on albumen characteristics, weight loss and early embryonic mortality of long stored hatching eggs. **Poultry Science**, v.74, n.9, p.1403-1410, 1995.
- WEBSTER, D. M.; THOMPSON, E. O. P. Position of the disulfide bond in ovalbumin of differing heat stability elimination of thiol-disulfide interchange as a mechanism for the formation of the ovabumins. **Australian Journal Biological Science**, v.33, p.269-278, 1980.
- WILLIAMS, K.C. Some factors affecting albumen quality with particular reference to Haugh unit score. **World's Poultry Science Journal**, v.48, p.5 -16, 1992.
- WONG, Y. C.; HERALD, T. J.; HACHMEISTER, K.A . Evaluation of mechanical and barrier properties of protein coatings on shell eggs. **Poultry Science**, v.75, n.3, p.417-422, 1996.
- WOODWARD, S.A.; COTTERILL, O.J. Texture and microstructure of cooked whole eggs yolks and heat-formed gels of stirred egg yolk. **Journal of Food Science**, v.52, p.63-67, 1987.
- XIE, L.; HETTIARACHCHY, N.S.; JU, Z.Y.; MEULLENET, J.; WANG, H.; SLAVIK, M.F.; JANES, M.E. Edible film coating to minimize eggshell breakage and reduce post-wash bacterial contamination measured by dye penetration in eggs. **Journal of Food Science**, v.67, n.1, p.280-284, 2002.
- XIONG, Y.L.; KINSELLA, J.E. Evidence of a urea-induced sulfhydryl oxidation reaction in proteins. **Agricultural Biological Chemical**, v.54, p.2157-2159, 1990.
- YANG, S.C. Texture and microstructure of egg tofu as affected by protein concentration and heating conditions. **Food Science (Taiwan)**, v.2D, n.1, p.1-13, 1994.

- YANG, S.C.; BALDWIN, R.E. Functional properties of eggs in foods. In: STADELMAN, W.J.; COTTERILL, O.J. (Ed.). **Egg science and technology**. 4.ed. Binghamton: Food Products Press; Haworth Press, 1995. Chap.16, p.405-463.
- ZABIK, M. Eggs and products. Bowers,J. (Ed). In: **Food Theory and Applications**. 2 ed., Macmillian Publishing Co. 1992. Chap. 6, p.359-424.
- ZIEGLER, G.R.; FOEGEDING, E.A. The gelation of proteins. **Adv. Food Nutrition & Research**, v.34, p.204-286, 1990.

8. Apêndice 1.

No apêndice 1 são apresentados os quadros de análise de variância de todos os resultados obtidos neste trabalho.

Tabela 1A. Quadro de análise de variância da perda de peso de ovos.

Causa de Variação	Grau de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	Valor F	Prob.>F
Cobertura	1	88,90	88,90	909,39	0,00001
Tempo	5	1273,43	254,68	2605,34	0,00001
Cob.*Tempo	5	18,31	3,66	37,46	0,00001
Resíduo	468	45,75	0,098		
Total	479	1426,38			

Média Geral = 2.62.

Coeficiente de Variação = 11.925 %.

Tabela 2A. Quadro de análise de variância dos valores da unidade Haugh.

Causa de Variação	Grau de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	Valor de F	Prob.>F
Test.x outros	1	13.254,84	13.254,84	1.479,33	0,00001
Cobertura	1	62.996,94	62.996,94	7.030,91	0,00001
Tempo	5	22.889,58	4.577,91	510,93	0,00001
Cob. X Temp.	5	9.255,42	1.851,08	206,59	0,00001
Resíduo	182	1.631,10	8,96		
Total	194	107.914,15			

Média Geral = 4,52.

Coefficiente de Variação = 3,02 %.

Tabela 3A. Quadro de análise de variância do pH do albume.

Causa de Variação	Grau de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	Valor de F	Prob.>F
Test.x outros	1	23,99	23,99	1713,57	0,00001
Cobertura	1	169,43	169,43	12102,14	0,00001
Tempo	5	7,26	1,45	103,57	0,00001
Cob. x Temp.	5	0,41	0,08	5,71	0,00001
Resíduo	507	7,10	0,014		
Total	519	208,19			

Média Geral = 8,69.

Coefficiente de Variação = 1,36 %.

Tabela 4A. Quadro de análise de variância dos teores de s-ovalbumina.

Causa de Variação	Grau de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	Prob.>F
Test.x outros	1	1109,11	1109,11	13.863,87	0,00001
Cobertura	1	8262,54	8262,54	103.281,75	0,00001
Tempo	5	2456,65	491,33	6.141,62	0,00001
Cob. x Temp.	5	1467,83	293,57	3.669,62	0,00001
Resíduo	26	2,03	0,08		
Total	25	13208,46			

Média Geral = 36,59.

Coefficiente de Variação = 0,76%.

Tabela 5A. Quadro de análise de variância dos valores do volume do líquido drenado da espuma da clara de ovo.

Causa de Variação	Grau de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	Valor de F	Prob.>F
Test.x outros	1	38,65	38,65	1.932,5	0,00001
Cobertura	1	173,23	173,23	8661,5	0,00001
Tempo	5	93,80	18,76	936,00	0,00001
Cob. x Temp.	5	45,65	9,13	456,50	0,00001
Resíduo	26	0,48	0,02		
Total	38	351,81			

Média Geral = 4,54.

Coefficiente de Variação = 3,02 %.

Tabela 6A. Quadro de análise de variância da dureza de géis da clara de ovo.

Causa de Variação	Grau de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	Valor de F	Prob.>F
Test. x outros	1	324.317,16	324.317,16	209,96	0,00001
Cobertura	1	1.721.885,56	1.721.885,56	1.114,76	0,00001
Tempo	5	58.238,73	11.647,74	7,54	0,00001
Cob. x Temp.	5	41.991,75	8.398,39	5,44	0,00001
Resíduo	26	40.160,20	1.544,62		
Total	38	2.186.593,61			

Média Geral = 807,88.

Coeficiente de Variação = 4,86 %.

Tabela 7A. Quadro de análise de variância da elasticidade de géis da clara de ovo.

Causa de Variação	Grau de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	Valor de F	Prob.>F
Test. x outros	1	0,015	0,015	50,00	0,00001
Cobertura	1	0,014	0,014	46,67	0,00001
Tempo	5	0,0013	0,0002	1,00	
Cob. x Temp.	5	0,0009	0,0002	0,67	
Resíduo	26	0,007	0,0003		
Total	38	0,04			

Média Geral = 0,92.

Coeficiente de Variação = 1,79 %.

Tabela 8A. Quadro de análise de variância da coesividade de géis da clara de ovo.

Causa de Variação	Grau de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	Valor de F	Prob.>F
Test. x outros	1	0,006	0,006	30	0,00001
Cobertura	1	0,11	0,11	550	0,00001
Tempo	5	0,006	0,0013	6,5	0,001
Cob. x Temp.	5	0,004	0,0008	4	0,01
Resíduo	26	0,006	0,0002		
Total	38	0,132			

Média Geral =0,7.

Coefficiente de Variação = 2,12 %.

Tabela 9A. Quadro de análise de variância da mastigabilidade de géis da clara de ovo.

Causa de Variação	Grau de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	Valor de F	Prob.>F
Test. x outros	1	112.586,10	112.586,10	179,48	0,00001
Cobertura	1	1.416.485,19	1.416.485,19	22.258,1	0,00001
Tempo	5	35.039,63	7.007,93	11,17	0,00002
Cob. x Temp.	5	3.901,49	780,3	1,24	
Resíduo	26	16.309,59	627,29		
Total	38				

Média Geral = 511,27.

Coefficiente de Variação = 4,9 %.

Tabela 10A. Quadro de análise de variância da umidade espremível de géis de clara de ovo.

Causa de Variação	Grau de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	Valor de F	Prob.>F
Test. x outros	1	313,22	313,22	745,76	0,00001
Cobertura	1	2.836,63	2.836,63	6753,88	0,00001
Tempo	5	27,24	5,45	12,98	0,00047
Cob. x Temp.	5	27,45	5,49	13,07	0,00046
Resíduo	13	5,52	0,42		
Total	25	3.210,06			

Média Geral = 40,96.

Coefficiente de Variação = 1,59 %.