

# UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Faculdade de Engenharia de Alimentos  
Departamento de Planejamento Alimentar e Nutrição

## ***ESTUDO DO EFEITO DA ADIÇÃO DE ÍONS METÁLICOS NA GELATINIZAÇÃO DE CONCENTRADO PROTÉICO DE SORO E SUA UTILIZAÇÃO EM UM SISTEMA CÁRNEO***

### PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por Márcia de Mello Luvielmo aprovada pela Comissão Julgadora em 13 de julho de 1999.

*Márcia de Mello Luvielmo*  
ENGENHEIRA DE ALIMENTOS

Campinas, 13 de julho de 1999

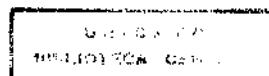
*m 1. m*  
Prof. Dr. Aloísio José Antunes  
Presidente da Banca

*Prof. Dr. Aloísio José Antunes*  
ORIENTADOR

Tese apresentada a Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para a obtenção do título de mestre em Ciências da Nutrição Aplicada a Tecnologia de Alimentos

Campinas, SP

1999



3916185

UNIDADE	BC
CHAMADA:	
Ex.	
TOV.	BC/38537
DATA	22/9/99
C	D
PREC.	R\$ 11,00
DATA	27/08/99
N.º CPD	

CM-00125666-1

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

L978e

Luvielmo, Márcia de Mello

Estudo do efeito da adição de íons metálicos na  
gelatinização de concentrado protéico de soro e sua utilização  
em um sistema cárneo / Márcia de Mello Luvielmo. —  
Campinas, SP:[s.n.], 1999.

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

I.Proteínas. 2.Soro do leite. 3.Gelatinização. 4.Cálcio.  
5.Magnésio. 6.Salsicha. I.Antunes, Aloísio José.  
II.Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de  
Engenharia de Alimentos. III.Título.

## BANCA EXAMINADORA

Tese defendida e aprovada em de 1999, pela banca  
examinadora constituída pelos professores

*L v. M.*  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Aloísio José Antunes  
Orientador

*Salvador Massaguer Roig*  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Salvador Massaguer Roig

*Vera Lúcia Pupo Ferreira*  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Vera Lúcia Pupo Ferreira

*Dedico este trabalho  
aos meus pais  
Mário Luvielmo e Elaine de Mello Luvielmo*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Centro Agro Pecuário HOLAMBRA pela doação de matéria-prima.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Prof. Dr. Aloísio José Antunes, pela orientação, compreensão, preocupação e sinceridade.

Aos meus pais, que tornaram este trabalho possível, pelo carinho, pelo amor, pela confiança, pela força tão importante em tantos momentos, pela segurança que todo porto seguro precisa ter e por terem me ensinado a ter coragem de encarar a vida de frente.

Aos meus irmãos Marisa, Angelo e Luciene pelo carinho e preocupação.

A Eliana pela acolhida, preocupação, ajuda e amizade.

Ao Francisco Carlos pelo apoio, amor e incentivo.

Aos técnicos de laboratório Francisco, José Roberto, Soely e Liana pela ajuda prestada.

Aos meus amigos Amélia, Cíntia, Alex, Ana Maria, Diego, Fernando, Érica, Nilo, Brod, Susana, Susana Ramos, Beatriz, Maria, Rosely, Julia, Márcia Cristina, Martinez, Tânia, Dona Clau, Ambina, Renato, Suse, Sandro, Liliane, Celis, Márcio, Ana Cláudia, Marília, Marta, Helenyta e Kity.

Ao João Carlos por sua valiosa presença.

Aos membros da banca examinadora, pela correção e sugestões valiosas.

À todos que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

E quero agradecer a mim por não ter desistido, como disse Morris Schwartz “que as lágrimas me fortaleçam”.

## ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE TABELAS .....	IV
ÍNDICE DE FIGURAS .....	V
RESUMO.....	VII
SUMMARY.....	VIII
INTRODUÇÃO .....	1
OBJETIVOS .....	4
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	5
1. CONCENTRADO PROTÉICO DE SORO DE LEITE BOVINO .....	5
2. GELATINIZAÇÃO DO CONCENTRADO PROTÉICO DE SORO DE LEITE BOVINO INDUZIDA PELO CALOR .....	7
3. FATORES QUE AFETAM A GELATINIZAÇÃO .....	10
3.1. INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DO CONCENTRADO PROTÉICO DE SORO DE LEITE BOVINO NA GELATINIZAÇÃO .....	10
3.2. INFLUÊNCIA DO pH NA GELATINIZAÇÃO DO CONCENTRADO PROTÉICO DE SORO DE LEITE BOVINO .....	11
3.2.1. <i>Influência da temperatura na gelatinização do Concentrado Protéico de Soro de Leite         Bovino .....</i>	14
3.3. INFLUÊNCIA DA FORÇA IÔNICA E ESPÉCIE IÔNICA NA GELATINIZAÇÃO DO CONCENTRADO PROTÉICO DE SORO DE LEITE BOVINO .....	14
3.4. INFLUÊNCIA DE OUTROS FATORES NA GELATINIZAÇÃO DO CONCENTRADO PROTÉICO DE SORO DE LEITE BOVINO .....	19

<b>4. AÇÃO DE PRODUTOS DE SORO DE LEITE BOVINO E SAIS EM PRODUTOS CÁRNEOS (SALSICHAS) .....</b>	<b>20</b>
4.1. PRODUTOS DE SORO DE LEITE.....	22
4.2. SAIS.....	25
4.2.1. <i>Fosfatos</i> .....	26
<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>29</b>
<b>1. MATÉRIA-PRIMA PARA PREPARAÇÃO DOS GÉIS.....</b>	<b>29</b>
1.1. PREPARAÇÃO DOS GÉIS.....	29
1.1.1. <i>Preparação da suspensão de proteínas do soro</i> .....	29
1.1.2. <i>Preparação dos géis</i> .....	30
1.1.3. <i>Medida das Propriedades Reológicas</i> .....	30
1.2. METODOLOGIA UTILIZADA PARA REALIZAÇÃO DA DIÁLISE .....	30
1.3. METODOLOGIA UTILIZADA PARA MEDIDA DE ÍONS CÁLCIO .....	31
1.3.1. <i>Construção da Curva Padrão</i> .....	31
1.3.2. <i>Preparação das amostras</i> .....	31
<b>2. METODOLOGIA UTILIZADAS PARA OS CPSS .....</b>	<b>32</b>
2.1. DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA .....	32
2.1.1. <i>Umidade</i> .....	32
2.1.2. <i>Proteínas</i> .....	32
2.1.3. <i>Gordura</i> .....	32
2.1.4. <i>Cinzas</i> .....	32
<b>3. METODOLOGIA EMPREGADA NO PROCESSAMENTO DE SALSICHAS DE FRANGO COM ADIÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CPS E CACL<sub>2</sub>...33</b>	<b>33</b>
3.1. PROCESSAMENTO DE SALSICHA .....	33
3.1.1. <i>Matéria-prima</i> .....	33
3.1.2. <i>Aditivos</i> .....	33
3.1.3. <i>Formulações e procedimentos</i> .....	34

<b>4. METODOLOGIA UTILIZADA PARA A CARNE DE FRANGO, TOUCINHO E SALSICHAS .....</b>	<b>39</b>
4.1 DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA .....	39
4.1.1. <i>Umidade</i> .....	39
4.1.2. <i>Proteínas</i> .....	39
4.1.3. <i>Lipídios Totais</i> .....	39
4.1.4. <i>Cinzas</i> .....	39
<b>5. METODOLOGIA UTILIZADA PARA AS SALSICHAS .....</b>	<b>40</b>
5.1. DETERMINAÇÃO DE %UE, PROPRIEDADES REOLÓGICAS E PARÂMETROS DE COR .....	40
5.1.1. <i>Avaliação de cor (superficie interna)</i> .....	40
5.1.2. <i>Umidade Espremível (%UE)</i> .....	40
5.1.3. <i>Medida da Dureza, Coesividade, Elasticidade e Mastigabilidade</i> .....	40
<b>6. ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS .....</b>	<b>41</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>42</b>
1. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS CONCENTRADOS PROTÉICOS DE SORO CPS80 E CPS8002 .....	42
2. UMIDADE E PROTEÍNA DAS FORMULAÇÕES DE SALSICHA OBTIDAS .....	43
3. VALORES DE DUREZA DOS GÉIS DE CPS80 COM E SEM ADIÇÃO DE SAIS .....	43
4. CURVA PADRÃO DE CÁTIONS CÁLCIO E VALORES DE CÁLCIO IÔNICO, LIGADO E TOTAL .....	49
5. GÉIS DE CPS80 DIALISADO COM ADIÇÃO DE CaCl <sub>2</sub> .....	50
6. VALORES DE DUREZA DOS GÉIS DE CPS8002 .....	52
7. COMPARAÇÃO ENTRE DOIS DIFERENTES TRATAMENTOS DE TEMPERATURA/TEMPO .....	59
8. RESULTADOS DE % UMIDADE ESPREMÍVEL, DUREZA, ELASTICIDADE, COESIVIDADE, MASTIGABILIDADE E PARÂMETROS DE COR L*, A* E B*, PARA AS FORMULAÇÕES DE SALSICHA .....	61
<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>86</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>89</b>

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Formulação Padrão do “batter” de salsicha padrão	34
<b>Tabela 2</b> - Formulação do “batter” de salsicha com 8% de CPS	35
<b>Tabela 3</b> - Formulação do “batter” de salsicha com 7% de CPS	35
<b>Tabela 4</b> – Umidade e proteína das formulações de salsicha	43
<b>Tabela 5:</b> Resultados de dureza dos géis de CPS80 para a adição de CaCl <sub>2</sub> sem NaCl	44
<b>Tabela 6:</b> Resultados de dureza dos géis de CPS80 para a adição de CaCl <sub>2</sub> com NaCl	45
<b>Tabela 7:</b> Resultados de dureza dos géis de CPS80 para a adição de MgCl <sub>2</sub>	46
<b>Tabela 8:</b> Médias e desvios dos valores de dureza dos géis com 6% de CPS	47
<b>Tabela 9:</b> Médias e desvios dos valores de dureza dos géis com 7% de CPS	47
<b>Tabela 10 :</b> Médias e desvios dos valores de dureza dos géis com 8% de CPS	47
<b>Tabela 11:</b> Resultados estatísticos do teste de Tukey para os géis	48
<b>Tabela 12:</b> Curva Padrão de Cátions Cálcio	49
<b>Tabela 13:</b> Resultados obtidos através do pHmetro de íons cálcio	49
<b>Tabela 14:</b> Resultados de dureza dos géis de CPS80 dialisado com adição de CaCl <sub>2</sub>	50
<b>Tabela 15:</b> Resultados de dureza dos géis de CPS8002	52
<b>Tabela 16:</b> Resultados de % Umidade Espremível, Dureza, Springiness, Coesividade, mastigabilidade e parâmetros de Cor L, a e b, das formulações de salsicha com 8 repetições cada formulação	61
<b>Tabela 17:</b> Resultados da análise estatística - Médias e Desvios padrão para as propriedades reológicas e % UE	64
<b>Tabela 18:</b> Resultados da análise estatística - Médias e Desvios padrão para as propriedades de Cor	64
<b>Tabela 19:</b> Resultados da análise estatística – Teste de Tukey (diferenças entre as amostras) para as propriedades reológicas e % UE	65
<b>Tabela 20:</b> Resultados da análise estatística – Método de Tukey (diferenças entre as amostras) para as propriedades de Cor	65

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Fluxograma de processamento das salsichas com ordem de adição de ingredientes	37
<b>Figura 2</b> - Fluxograma de Cocção das salsichas	38
<b>Figura 3</b> – Composição de CPS80	42
<b>Figura 4</b> – Composição de CPS8002	42
<b>Figura 5</b> – Curva padrão de cátions cálcio	49
<b>Figura 6:</b> Relação da dureza e concentração de CaCl <sub>2</sub> em géis com 8% de proteínas do CPS80 dialisado	50
<b>Figura 7:</b> Dureza dos CPS80 e CPS8002	52
<b>Figura 8:</b> Relação da dureza e concentração de CaCl <sub>2</sub> para 3 diferentes concentrações de proteína de CPS80 sem NaCl	53
<b>Figura 9:</b> Relação da dureza e concentração de CaCl <sub>2</sub> para 3 diferentes concentrações de proteína de CPS80 com NaCl	53
<b>Figura 10:</b> Relação da dureza e concentração de MgCl <sub>2</sub> para 3 diferentes concentrações de proteína de CPS80	54
<b>Figura 11:</b> Relação da dureza e concentração de sal para 6% de proteína de CPS80	57
<b>Figura 12:</b> Relação da dureza e concentração de sal para 7% de proteína de CPS80	57
<b>Figura 13:</b> Relação da dureza e concentração de sal para 8% de proteína de CPS80	58
<b>Figura 14:</b> Relação da dureza e concentração de CaCl <sub>2</sub> nos géis a 8% de proteína do CPS80 em dois diferentes tratamentos de temperatura/tempo	59
<b>Figura 15:</b> Valores de % Umidade Espremível para as formulações de salsicha padrão e com 7% de CPS	66
<b>Figura 16:</b> Valores de % Umidade Espremível para as formulações de salsicha padrão e com 8% de CPS	66
<b>Figura 17:</b> Valores de dureza para as formulações de salsicha padrão e com 7% de CPS	68
<b>Figura 18:</b> Valores de dureza para as formulações de salsicha padrão e com 8% de CPS	68

<b>Figura 19:</b> Influência da substituição de proteína de carne de frango por proteína de CPS80 S8002 e adição de CaCl <sub>2</sub> na dureza de salsichas	70
<b>Figura 20:</b> Valores de elasticidade para as formulações de salsicha padrão e com 7%CPS	71
<b>Figura 21:</b> Valores de elasticidade para as formulações de salsicha padrão e com 8%CPS	71
<b>Figura 22:</b> Influência da substituição de proteína de carne de frango por proteína de CPS80 ou CPS8002 e adição de CaCl <sub>2</sub> no springiness de salsichas	73
<b>Figura 23:</b> Valores de coesividade para formulações de salsicha padrão e com 7% de CPS	74
<b>Figura 24:</b> Valores de coesividade para formulações de salsicha padrão e com 8% de CPS	74
<b>Figura 25:</b> Influência da substituição de proteína de carne de frango por proteína de CPS80 ou CPS8002 e adição de CaCl <sub>2</sub> na coesividade salsichas	76
<b>Figura 26:</b> Valores de mastigabilidade para formulações de salsicha padrão e com 7% de CPS	77
<b>Figura 27:</b> Valores de mastigabilidade para formulações de salsicha padrão e com 8% de CPS	77
<b>Figura 28:</b> Influência da substituição de proteína de carne de frango por proteína de CPS80 ou CPS8002 e adição de CaCl <sub>2</sub> no mastigabilidade salsichas	79
<b>Figura 29:</b> Valores do parâmetro de cor L <sup>*</sup> para formulações de salsicha padrão e com 7% de CPS	80
<b>Figura 30:</b> Valores do parâmetro de cor L <sup>*</sup> para formulações de salsicha padrão e com 8% de CPS	80
<b>Figura 31:</b> Valores do parâmetro de cor a <sup>*</sup> para formulações de salsicha padrão e com 7% de CPS	82
<b>Figura 32:</b> Valores do parâmetro de cor a <sup>*</sup> para formulações de salsicha padrão e com 8% de CPS	82
<b>Figura 33:</b> Valores do parâmetro de cor b <sup>*</sup> para formulações de salsicha padrão e com % de de CPS	84
<b>Figura 34:</b> Valores do parâmetro de cor b <sup>*</sup> para formulações de salsicha padrão e com 8% de CPS	84

## RESUMO

No processo de fabricação de queijos e caseinatos são obtidas grandes quantidades de soro, resíduo poluidor que, no Brasil, é praticamente todo descartado. Em vários países o soro já vem sendo utilizado como concentrados (CPS) isolados (IPS) e frações protéicas. As propriedades funcionais desses produtos de soro são bem conhecidas e entre elas destaca-se a propriedade de formar géis que apresentam múltiplas aplicações em diversos sistemas alimentícios. A habilidade das proteínas em desempenhar esta função está relacionada com alguns fatores que são: pH, força iônica, concentração de cálcio e de outros íons polivalentes, açúcares, proteínas, temperatura e viscosidade.

O alto custo dos produtos cárneos e a grande variação na qualidade das proteínas é um importante estímulo para o uso das proteínas não cárneas em produtos de carne triturada. Nestes produtos, duas propriedades são particularmente importantes: a capacidade de reter água (CRA) e a capacidade de ligar gordura e/ou emulsificar. É difícil incorporar novos produtos de proteínas em alimentos sem mudar seu gosto e/ou textura. As proteínas do soro podem ser usadas para este propósito, por terem um sabor suave, alto valor nutricional e propriedades gelatinizantes.

O presente trabalho tem por objetivo, avaliar a influência da adição de íons  $\text{Ca}^{++}$  e  $\text{Mg}^{++}$  na dureza de géis de Concentrado Protéico de Soro de Leite Bovino (CPS), avaliar a substituição de parte da proteína cárnea por proteína do CPS e adição de  $\text{CaCl}_2$  em um sistema cárneo (salsicha) e verificar relações entre os sistema modelo e o sistema cárneo.

Foi concluído que adições crescentes de íons  $\text{Ca}^{++}$  ou  $\text{Mg}^{++}$  (0 a 75 mM) aumentam respectivamente a dureza dos géis obtidos de CPS80 (6, 7 e 8% de proteína), em pH 6,3, tratados a 75°C/45 min. Os géis com adição de  $\text{CaCl}_2$  atingem valores de dureza significativamente maiores que os géis com  $\text{MgCl}_2$  ao nível de 5% ( $p<0,05$ ). Em concentrações menores ou igual a 7,5 mM do sal adicionado ocorre o contrário.

No estudo do efeito da substituição de proteína da carne por proteína do CPS80 ou CPS8002, a formulação que mais difere do padrão foi a formulação com 8% de proteína do CPS8002 que diferiu significativamente nos valores de Dureza, Mastigabilidade e no parâmetro de Cor  $L^*$ .

As adições de  $\text{CaCl}_2$  (0,015%, 0,03%, 0,06% e 0,15% na massa de salsicha) nas formulações com 7% e 8% de CPS80 influenciou ( $p<0,05$ ) principalmente nas características de Dureza e Mastigabilidade e não influenciou ( $p<0,05$ ) nas características de %UE, Elasticidade e o parâmetros de Cor  $L^*$ .

## SUMMARY

In the process of making cheese and caseinates, great amounts of whey are obtained, a polluting remain that, in Brazil. Is practically all discarded. In several countries, the whey has been already used as isolated (WPI) concentrates (WPC) and fractions of proteins. The functional properties of these whey products are well known and, among them, the property of making gels that present multiple applications in several nourishing systems is the most detached one. The proteins ability to execute this function is related to some factors that are: pH, ionic strength, concentration of calcium and other polyvalent ions, sugar, proteins, temperature and viscosity.

The high cost of meat products and the large variation in the quality of proteins is an important stimulus to the use of non-meat proteins in batters meat. In these products, two properties are of particular importance, i.e. water-holding capacity and their fat-binding and/or emulsifying abilities. It is difficult to incorporate new products of protein in foods without changing its taste and/or texture and the whey proteins can be used for this purpose, for having a light flavor, high nutritional value and interesting gelling properties.

The present work has the purpose of evaluating the influence of the  $\text{Ca}^{++}$  and  $\text{Mg}^{++}$  ions addition in the hardness of Whey Protein Concentrate (WPC) gels, evaluating the substitution of the meat protein part for WPS protein and addition of  $\text{CaCl}_2$  in a meat system (sausage) and verify relationships between the model system and the meat system.

It was concluded that further additions of  $\text{Ca}^{++}$  ou  $\text{Mg}^{++}$  ions (0 to 75 mM) increased respectively the hardness of the obtained gels of WPS80 (6%, 7% e 8% of protein) in a pH 6,3, treated in 75°C/ 45 min. The gels with addition of  $\text{CaCl}_2$  reach hardness values significantly bigger than the gels with  $\text{MgCl}_2$  in the of 5% ( $p<0,05$ ). In smaller or equal to 7,5 mM concentrations of the added salt, the opposite happens.

In the study of the substitution effect of the meat protein by protein of WPS80 or WPC8002, formulation that most differs from the standard was the formulation with 8% of WPC8002 protein, which differed significantly in the values of Hardness, Chewiness and Color L\*.

The additions of  $\text{CaCl}_2$  (0,015%, 0,03%, 0,06% and 0,15% in the mass of the sausage) in the formulation with 7% and 8% of WPC80 influenced ( $p<0,05$ ) mainly the characteristics of hardness and Chewiness and didn't influence ( $p<0,05$ ) the %UE, Color L\* and Color a\* characteristics.

## **INTRODUÇÃO**

No processo de fabricação de queijos e caseinatos são obtidas grandes quantidades de soro, que na maioria das vezes é descartado pela indústria, sendo tratado como resíduo, o que resulta em um gasto da indústria com sistemas mais eficientes de tratamento, já que este subproduto possui grande potencial poluidor. Com a utilização do soro através de seu fracionamento e concentração dos seus componentes, elimina-se a necessidade de tratar este material como resíduo e surgem novos produtos, como os concentrados de proteínas do soro (CPS), isolados de proteínas do soro (IPS) e ainda as proteínas fracionadas do soro.

Segundo Delaney (1972), citado por Johns e Ennis (1981), o concentrado protéico de soro (CPS) raramente é usado só por razões nutricionais, são as propriedades funcionais que determinam a extensão de sua aplicação.

As proteínas do soro (PS) além de apresentarem propriedades funcionais diversas, são de excelente valor nutricional, possuindo um valor biológico maior que o das caseínas. Seu elevado conteúdo de lisina (11% na  $\beta$ -lactoglobulina e 10 a 11% na  $\alpha$ -Lactalbumina) o faz um complemento ideal para as rações de qualquer organismo em crescimento (Adrian, 1971). Existe uma tendência mundial de aproveitar as proteínas contidas no soro, devido à sua vasta aplicação na indústria de alimentos como ingrediente ou aditivo em produtos cárneos (reestruturados, presuntos, emulsionados, etc.), produtos de panificação (principalmente em bolos), bebidas, sobremesas, produtos lácteos (iogurte, queijos, etc.) e muitos outros. Os produtos de PS mostram-se livres de organismos estranhos e são razoavelmente resistentes à deterioração durante o processamento e estocagem destes produtos alimentícios (De Wit, 1989b).

Outras vantagens encontradas estão em serem produtos atóxicos, sem fatores antinutricionais e quando recém secos em “spray-drier” apresentam sabor suave e cor neutra, estas últimas propriedades são importantes para a aplicação em produtos alimentícios. Os concentrados protéicos de soro podem desempenhar em um alimento algumas propriedades funcionais importantes, como as de emulsificação, de formação de espuma, de gelatinização e a capacidade de reter água (De Wit, 1989b).

A habilidade das proteínas em desempenhar cada uma destas funções está relacionada com alguns fatores do meio, que são: pH, força iônica, concentração de cálcio e outros íons polivalentes, açúcares, concentração de proteínas, temperatura e viscosidade.

A substituição de alguns dos ingredientes cárneos por ingredientes não cárneos, é avaliada pela indústria cárnea. Estes ingredientes incluem proteínas lácteas (como o soro), proteínas vegetais (como a soja), gomas, amido, e proteínas de peixe na forma de surimi ou produtos a base de surimi, eles podem ajudar a melhorar a qualidade de produtos cárneos fragmentados e também reduzir perdas ocasionais devido a falta de produto (Gordon e Barbut, 1992).

O consumo per capita de aves tem aumentado na última década não somente porque as pessoas estão comendo mais aves diretamente, mas também porque a indústria de aves tem comercializado uma larga variedade de produtos feitos de carne de ave. Em muitos casos, estes produtos são similares aos produtos que convencionalmente são feitos de carne vermelha, incluindo "frankfurters", presuntos, salsichas, "bologna", salami e outros produtos a base de carne. Tais produtos rigorosamente se parecem com seus correspondentes de carne vermelha, usualmente custam menos e podem oferecer benefícios nutricionais (Potter e Hotchkiss, 1995)

O alto custo dos produtos cárneos e a grande variação na qualidade das proteínas cárneas é um importante estímulo para o uso das proteínas não cárneas em produtos de carne triturada. Muitas pesquisas têm sido realizadas no campo das proteínas funcionais e extensores de proteínas para produtos cárneos. Duas propriedades de proteínas cárneas são de particular importância, são elas: capacidade de reter água e a habilidade de ligar gordura e/ou emulsificar. A quantidade de água presente e a extensão que é ligada pelos componentes musculares são considerados influenciar na maciez, textura e suculência de todos os produtos cárneos. A principal função das proteínas em produtos cárneos, tais como presuntos, é prevenir o encolhimento, em particular durante a cocção, e conservar a suculência através de uma adequada capacidade de reter água (De Wit, 1989b).

A extensa faixa de produtos cárneos por toda parte no mundo e a grande diferenciação na legislação entre países, torna difícil estimar o real potencial para os produtos de leite em carnes. Em quase todos os países, os caseinatos são legalmente usados em produtos de carne, ave e produtos do mar (Hoven, 1987).

Os sistemas modelo utilizam condições bem definidas e cuidadosamente controladas para simplificar os complexos alimentícios e minimizar o efeito de numerosas variáveis de processamento (McWatters e Cherry, 1981 citados por Smith, 1988). Entretanto, cautela deve ser exercida quando se extrapolam resultados deste sistema para produtos cárneos, hoje são aplicados vários testes em sistemas modelo para obter uma relação com a funcionalidade de proteínas do soro em um sistema cárneo, mas poucas correlações são encontradas.

## **OBJETIVOS**

O presente trabalho tem por objetivos principais:

- 1.** avaliação da influência da adição de íons  $\text{Ca}^{++}$  e  $\text{Mg}^{++}$  na dureza de géis de Concentrado Protéico de Soro de Leite Bovino.
- 2.** avaliação da substituição de parte da proteína cárnea por proteína de Concentrado Protéico de Soro de Leite Bovino e adição de  $\text{CaCl}_2$  em um sistema cárneo (salsicha).
- 3.** verificar relações entre os sistemas modelo e cárneo.

# REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

## 1. Concentrado Protéico de Soro de Leite Bovino

O soro de leite é definido como a solução aquosa remanescente da remoção dos glóbulos de gordura, membranas dos glóbulos de gordura e micelas de caseína do leite (Morr e Ha, 1993). Os CPSs podem ser manufaturados de diferentes tipos de soro, o que leva a uma variação na composição química global, dependendo da fonte do soro e do método de manufatura usado. O principal soro usado é o soro doce, obtido por coagulação enzimática (Renina) como na produção de queijo Cheddar. O outro soro obtido é o soro ácido, obtido na produção de caseína ácida como por exemplo na produção de queijo Cottage (Bottomley et al. 1989).

As proteínas do leite podem ser distinguidas em duas grandes classes: as caseínas e as proteínas do soro. A caseína corresponde a 80% das proteínas presentes no leite e é a responsável pela formação do coágulo que dará origem aos diversos tipos de queijos. As proteínas do soro, são aquelas que permanecem em solução aquosa após a coagulação das caseínas. Essa fração é composta por várias proteínas, sendo as principais a  $\alpha$ -lactalbumina, a  $\beta$ -lactoglobulina, a albumina do soro bovina, imunoglobulinas e outras em menor quantidade. As proteínas do soro correspondem a 20% do total de proteína presente no leite, sendo que a maior parte desta proteína é composta por  $\alpha$ -lactalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina.

A  $\beta$ -lactoglobulina contém duas pontes dissulfídicas e um grupo tiol livre que é inacessível ao solvente em pH neutro ou abaixo deste (Kinsella e Whitehead, 1989). Este grupo tiol é capaz de interagir para formar novas pontes dissulfídicas, sendo que a reação se torna mais favorável em pH acima de 6,8 devido a uma mudança conformacional da molécula. Em particular durante tratamentos térmicos, isso resulta em formação de pontes dissulfídicas intra e inter moleculares entre moléculas de  $\beta$ -lactoglobulina ou com outras proteínas que possuam o grupo tiol livre, que podem afetar a solubilidade e funcionalidade destas proteínas. A  $\beta$ -lactoglobulina possui temperatura de desnaturação de 78°C, sendo

que algumas regiões da molécula são abertas apenas em temperatura de 140°C (De Wit e Klarenbeek, 1984).

A  $\alpha$ -lactalbumina representa quantitativamente a segunda proteína mais importante do soro. Ela foi considerada por muito tempo como a proteína do soro mais termo estável. Porém foi observado que a  $\alpha$ -lactalbumina também é susceptível à desnaturação térmica, o que ocorria era um alto grau de renaturação desta proteína durante o resfriamento (Dybing e Smith, 1991). Porém esta desnaturação reversível da  $\alpha$ -lactalbumina é perdida se a  $\beta$ -lactoglobulina estiver presente, ou se quantidades suficientes de cálcio iônico não estiverem disponíveis (De Wit e Klarenbeek, 1984). Segundo Kinsella e Whitehead (1989) esta proteína não demonstra o comportamento de reversibilidade da desnaturação no CPS devido a interações com  $\beta$ -lactoglobulina e albumina do soro bovina. A  $\alpha$ -lactalbumina liga  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Zn}^{+2}$  e outros íons metálicos. O cálcio é fortemente ligado pela proteína e estabiliza a sua conformação em uma estrutura complexa. A remoção do cálcio torna a  $\alpha$ -lactalbumina mais sensível à desnaturação induzida pelo calor e reduz a sua habilidade de renaturar durante o resfriamento (Morr e Ha, 1993). Esta proteína possui quatro pontes dissulfídicas e nenhum grupo tiol livre (Kinsella e Whitehead, 1989).

A albumina do soro bovino (BSA) é a maior proteína do soro em tamanho. Contém 17 resíduos sulfidrílicos e um grupo tiol livre por molécula. Este grupo tiol, assim como o da  $\beta$ -lactoglobulina, pode participar de interações intra ou inter-moleculares. A BSA pode se ligar a várias moléculas, aparentemente em diferentes sítios. Essas ligações possuem importância já que aumentam provavelmente a estabilidade molecular (Fox, 1989). A BSA possui temperatura de desnaturação de 64°C.

No soro de leite estão presentes quatro classes de imunoglobulinas: IgG, IgE, IgM, IgA. Das imunoglobulinas presentes no leite da vaca, 80% são IgG (Morr e Ha, 1993). Estas proteínas exibem uma temperatura de desnaturação, que é mais alta que a da  $\alpha$ -lactalbumina e da  $\beta$ -lactoglobulina, mas na presença de outras proteínas do soro elas se tornam extremamente termolábeis, o que pode ser devido a interações via ligação dissulfídica entre BSA e  $\beta$ -lactoglobulina (De Wit e Klarenbeek, 1984).

A quantidade de peptídeos derivados da caseína presentes no soro pode ter um efeito no comportamento funcional das demais proteínas e mais pesquisa é necessária para

monitorar essas quantidades e tipos presentes e os seus efeitos sobre funções específicas, principalmente padaria.

Na produção comercial de concentrados protéicos de soro de leite, o processo mais usado é a ultrafiltração (UF). Este processo consiste de uma membrana filtrante seletiva, no qual as proteínas do soro são concentradas e sais de baixo peso molecular e outras espécies moleculares como a lactose são removidos por estas membranas porosas sob condições controladas de pH, temperatura e pressão. Finalmente, o concentrado líquido pode ser submetido a evaporação e “spray drying” em um sistema convencional sob condições controladas, ou pode ser seco em um “spray drie” (Bottomley et al. 1989).

Certas informações sobre as propriedades físico-químicas inerentes as proteínas do CPS, isto é, sua estrutura primária com respeito a locação de grupos iônicos e sulfidrílicos-dissulfídicos, e estrutura secundária com respeito ao estado conformacional e a oportunidade para formação de ligações inter e intramoleculares através de mecanismo de intertroca de ligações iônicas e dissulfídicas, a influência de sua hidrofobicidade como influenciada por condições de processamento que promovam desnaturação das respectivas moléculas protéicas, são importantes para entender seu comportamento em um meio (Morr, 1985).

## **2. Gelatinização do Concentrado Protéico de Soro de Leite Bovino Induzida pelo Calor**

A gelatinização induzida pelo calor é um fenômeno de agregação protéica no qual interações polímero-polímero e polímero-solventes são mantidas por forças repulsivas e atrativas, perfeitamente balanceadas, de tal modo que proporcionam a formação e manutenção de uma matriz estável, capaz de reter grandes quantidades de água (De Wit, 1989a).

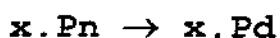
A capacidade das proteínas do soro para formar géis estáveis sob aquecimento a temperaturas de 70°C a 90°C, é uma importante propriedade funcional para a confecção de alguns produtos, tais como: produtos cárneos, de padaria, produtos texturizados e produtos

lácteos (De Wit, 1989b). Os géis são estruturas capazes de imobilizar grandes quantidades de água e outros componentes alimentícios (Kuhn e Foegeding, 1991b). O processo de gelatinização que tem sido descrito em detalhes, é suposto seguir 2 etapas (Morr e Ha, 1993; Mulvihill e Kinsella, 1987; Kilara, 1994).

### **Gelatinização induzida pelo calor**

#### **2 Fases:**

- a. Desnaturação ou dissociação
- b. Agregação ou associação



**P<sub>n</sub>** - Proteína nativa

**P<sub>d</sub>** - Proteína desnaturada

**x** - número de moléculas de proteína

A reação inicial no processo de gelatinização envolve fracionamento e quebra de pontes de hidrogênio e dissulfídicas, para interromper a estrutura conformacional da proteína nativa e dispersar a agregação protéica. A segunda reação envolve polimerização das moléculas dissociadas, para produzir um estrutura protéica tridimensional capaz de fisicamente imobilizar a maior parte do solvente através da formação de pontes intermoleculares dissulfídicas, hidrofóbicas e iônicas (Mangino, 1992). O passo de desnaturação protéica precede o passo de polimerização, esta seqüência de eventos permite a molécula protéica desenrolada sistematicamente orientar-se e formar uma estrutura bem organizada que favorece a gelatinização antes da coagulação. O processo de gelatinização é completado pelo resfriamento (Hermansson, 1979).

No trabalho de McClements e Keogh (1988) foram formados géis de Isolado Protéico de Soro (IPS) (pH7,0) chamados géis “cold-setting” que são géis onde a solução de IPS é submetida a uma agitação por 3 horas à temperatura ambiente e após estocada a 8°C por 12 horas, sendo usada no outro dia. Amostras desta solução foram colocadas em tubos e aquecidas a 90°C/30 min, sendo resfriadas a temperatura ambiente por 15 min. Isto produz uma solução viscosa transparente que contém moléculas protéicas desenroladas. O gel de PS “cold-setting” foi formado ao misturar a solução de proteínas pré-aquecida com 2 moles/Kg de cloreto de sódio (NaCl) em uma razão 9:1 v/v. Foi observado que quando a solução contendo proteínas desnaturadas pelo calor foi resfriada a temperatura ambiente e misturada com NaCl, as cargas eletrostáticas foram protegidas e um gel foi formado. A razão de formação do gel aumenta com o resfriamento, o que sugere que a maior força para agregação protéica e gelatinização é o efeito hidrofóbico. Uma vez formada, a rigidez do gel diminui com a diminuição da temperatura, o que sugere que forças não hidrofóbicas (como entropia configuracional, pontes de hidrogênio, forças de Van der Waals e formação de pontes dissulfídicas) sejam mais importantes em determinar a rigidez final do gel.

Segundo McClements e Keogh (1995) resumiram dizendo que as pontes hidrofóbicas são importantes no estágio inicial da formação do gel, já as interações não hidrofóbicas são mais importantes na estabilidade do gel uma vez que as agregações protéicas tenham ocorrido.

A reação de gelatinização requer balanço adequado entre repulsão e atração proteína-proteína e proteína-água. A concentração protéica, pH, composição iônica e temperatura podem ser controladas para proporcionar um gel semitransparente e elástico (Jost, 1993).

De Wit (1989a) nos fala que mudanças reversíveis na estrutura das proteínas ocorrem principalmente a temperaturas de aproximadamente 60°C e podem afetar as associações ou dissociações de  $\beta$ -Lg e BSA. Estas mudanças são freqüentemente atribuídas a pré-desnaturação, transações causadas por perda parcial da estrutura protéica e mudanças na hidratação protéica. Mudanças reversíveis podem afetar a solubilidade e as propriedades espumantes das PS. Mudanças irreversíveis na estrutura das proteínas podem ocorrer acima da sua temperatura de desnaturação e são influenciadas por algumas condições envolvidas tais como: pH, força iônica e concentração protéica.

A idéia do trabalho de Nakai e Li-Chan (1985) é relacionar à estrutura das proteínas do soro de leite bovino a sua atividade. Parâmetros elétricos, hidrofóbicos e estruturais são levados em consideração para melhor entender as propriedades funcionais. Mudanças nestes parâmetros refletem na propriedade de solubilidade protéica, causando modificação das proteínas do soro quando submetidas ao aquecimento.

A importância da ligações hidrofóbicas, sulfidrílicas (SH) e reduzidas ligações dissulfídicas (SS) para a gelatinização foram relatadas. Embora o tratamento com polifosfato não aumente apreciavelmente as ligações SH e SS, um aumento substancial é observado na hidrofobicidade exposta que pode explicar a melhora na força do gel. Polifosfatos podem ser capazes de dissociar moléculas protéicas, expondo os sítios hidrofóbicos. O tratamento com polifosfato no CPS também melhora a capacidade emulsificante de CPS, capacidade de ligar gordura, assim como a capacidade de reter água (Nakai e Li-Chan, 1985).

### **3. Fatores que afetam a gelatinização**

#### ***3.1. Influência da Concentração do Concentrado Protéico de Soro de Leite Bovino na gelatinização***

Deng et al. (1976) citado por Xiong (1992) introduz uma técnica espectrofotométrica para estudar a dinâmica de agregação protéica. Neste método, a agregação devido a interação proteína-proteína foi determinada por medidas na mudança da turbidez atribuídas ao espalhamento da luz nas partículas agregadas ou polímeros (Clark e Ross-Murphy, 1987). O método descrito por Deng et al. (1976) e delineado por Xiong e Brekke (1990) foi usado para determinar termicamente a interação proteína-proteína. A mudança diferencial na densidade ótica como uma função de temperatura ( $dA_{320}/dT$ ) foi calculada para determinar a temperatura de transição da associação proteína-proteína.

Uma concentração mínima é necessária para gelatinizar, e aumentando a concentração protéica acima deste valor reduz-se o tempo requerido para formar o gel. Uma concentração baixa de proteína favorece interações protéicas intramoleculares que falham para formar uma estrutura de gel. A concentração mínima requerida para formar um gel é a base do teste endpoint (LCE) procedimento que é basicamente usado para avaliar as propriedades gelatinizantes dos CPSs (Brandenberg et al., 1992). Este procedimento teste é simples e proporciona uma comparação útil das propriedades gelatinizantes de diferentes CPSs como uma função de pH, concentração de cálcio e outras variáveis de composição e processamento.

Segundo Brandenberg et al. (1992) géis elásticos, translúcidos e fracos são formados por aquecimento de uma solução protéica de CPS de 3 a 5% de proteína, isso ocorre devido aos baixos níveis de ligações protéicas intermoleculares que são formadas. O aquecimento das soluções com altas concentrações protéicas resulta em géis rígidos e opacos com uma alta freqüência de “cross-links” entre polímeros protéicos adjacentes. Aumentando a concentração protéica também amplia a faixa de pH para gelatinizar, as “cross-links” irreversíveis entre cadeias de proteína na rede gel tem sido atribuída as trocas dissulfídicas e ligações hidrofóbicas especialmente em altas concentrações (Morr e Ha, 1993). Sob resfriamento as interações proteína-hidrogênio são promovidas, fortalecendo a rede do gel e acentuando as interações proteína-solvente (Brandenberg et al., 1992).

### ***3.2. Influência do pH na gelatinização do Concentrado Protéico de Soro de Leite Bovino***

A aparência e resistência dos géis de CPS são dependentes do pH da solução (Brandenberg et al., 1992). O pH afeta a gelatinização do CPS por alterar a magnitude das cargas eletrostáticas na proteína (Morr e Ha, 1993). Aquecendo as soluções de CPS em valores de pH próximos do pI, que é 4,5-5,0, resulta na formação de um coágulo protéico turvo e pastoso que está sujeito a sinerese por causa da forte atração entre as moléculas protéicas. Soluções de CPS a pH  $\geq 6,0$  resultam em estruturas de gel normal e elástico por

causa da alta carga eletrostática negativa entre as moléculas. CPSs em pH 7,0 tem propriedades gelatinizantes térmicas excelentes, a pH  $\geq$  7,0 tem características gelatinizantes que se enfraquecem progressivamente conforme aumenta o pH. Os géis de CPS formados em soluções a baixos pHs parecem com um coágulo macio e opaco. Soluções em baixos pHs, na faixa de 4,0-5,5 favorecem a rápida e desordenada interação protéica melhor que a agregação proteína-cálcio. Uma concentração protéica mínima de 14% foi requerida para formar um gel de CPS a pH 3,0 e 4,5. Soluções de pHs intermediários entre 6,0 a 7,5 resultam em géis de CPS translúcidos, elásticos e de alta resistência. Esta última solução aparentemente está em condição que favorece a formação de uma estrutura protéica ordenada (Morr e Ha, 1993).

O efeito do pH durante o aquecimento de soluções de CPS ou  $\beta$ -lactoglobulina não somente afeta a temperatura de desnaturação como também a forma ou textura do produto (Pearce, 1995).

O efeito do pH nas interações entre proteínas tem sido demonstrado com géis de CPS e  $\beta$ -lg. Assim, Schmidt et al. (1979) relatam que os géis de proteínas do soro aquecidos a 100°C por 15 min a valores de pH 9,0 ou acima foram considerados mais fracos (23,4-57,4 g/cm<sup>2</sup>) que aqueles formados a pH 7,0 (100 g/cm<sup>2</sup>).

Dunderley e Hayer (1980) relatam que a força do gel decresce quando o pH das soluções protéicas do soro foi aumentado de 4,69 para 7,86.

A elasticidade e coesividade de géis de proteínas do soro aumentam com o pH. Os géis produzidos a altos valores de pH podem ter diferentes tipos de “cross-links” comparado com aqueles formados a pH 6,0. Perto do ponto isoelettrico, interações entre proteínas são principalmente hidrofóbicas (Harwalkar e Kalab, 1985). Neste estudo, as “cross-links” que existem no gel em pH 6,0 podem ter sido fracas e facilmente despedaçadas quando o gel foi comprimido. Dunhill e Green (1965) notaram um certo aumento na atividade tiol de  $\beta$ -lg perto do pH 6,8. Com o aumento do pH de 6,0 para 8,0, o gel neste estudo pode ter tido mais “cross-links” dissulfídicas, que ficaram intactas sob estresse, aumentando a elasticidade do gel. Beveridge et al. (1984) sugeriram que o aumento da elasticidade em géis de proteínas do soro seja devido a um aumento no número de pontes dissulfídicas.

A textura do gel (firmeza e elasticidade) não é exatamente relatada pelo número total de pontes dissulfídicas (SS). Em pHs neutros e alcalinos, a firmeza do gel e o total de grupos sulfidrílicos (SH) diminuem com o aumento do pH (6,5 - 9,5), enquanto a elasticidade dos géis, transmitância e solubilidade protéica aumentam. Interações hidrofóbicas e pontes S-S intermoleculares causadas por reações intertroca SH/SS predominam na rede gel de IPS e são provavelmente responsáveis pela firmeza da estrutura gel aumentando com a concentração protéica e o calor, resistência térmica em altas temperaturas (acima de 135°C). A alta elasticidade de géis em pHs neutros e alcalinos pode resultar de pontes intermoleculares S-S (Shimada e Cheftel, 1988).

Estes dados podem ser explicados pela seguinte hipótese: baixa reatividade SH em pHs ácidos impedem reações intertroca SH/S-S, resultando em géis com baixa elasticidade e alta solubilidade protéica. Nos pHs alcalinos, o processamento térmico causa um significativo decréscimo dos grupos SH (Shimada e Cheftel, 1988).

Na faixa de pHs de 2,5 - 9,5, na presença de 0,1 M de NaCl ocorre uma diminuição na CRA dos géis e os géis foram opacos. A firmeza dos géis aumenta em pHs neutros e alcalinos na presença de NaCl, enquanto a elasticidade diminui. Em baixas concentrações, NaCl é conhecido por afetar interações eletrostáticas entre moléculas protéicas e por neutralizar cargas elétricas, enquanto altas concentrações de NaCl também estabilizam interações hidrofóbicas (Shimada e Cheftel, 1988)

Em pHs ácidos, a firmeza não foi acentuada na presença de NaCl (géis a pH 3,5), interações hidrofóbicas não estabilizadas por pontes S-S parecem não contribuir muito para a firmeza do gel (Shimada e Cheftel, 1988).

O tratamento térmico em ambos os pHs, alcalino e ácido tem mostrado acentuar as características gelatinizantes. O tratamento térmico a pH ácido pode levar a uma melhor qualidade do gel, mas a aparente força do gel pode ser reduzida (Modler e Emmons, 1977).

Entre pHs 6,0 e 10,0, a força do gel de proteínas do soro foi inversamente relacionado ao pH (Hillier et al., 1980; Zirbel e Kinsella, 1988; Xiong e Kinsella, 1990). Este resultado foi consistente com a presente descoberta, em que a diminuição de interações intermoleculares foram associados com o alto pH (Xiong, 1992).

### **3.2.1. Influência da temperatura na gelatinização do Concentrado Protéico de Soro de Leite Bovino**

Tem sido estabelecido que a estrutura das proteínas do soro possa ser modificada, tal que interações entre as moléculas protéicas modificadas ocorra a temperaturas mais baixas do que entre as moléculas protéicas não modificadas. Estas modificações ocorrem se a proteína é mantida em uma temperatura elevada por um tempo suficiente, enquanto o pH do sistema é mantido em um nível que previne a precipitação, coagulação ou gelatinização das proteínas durante o tempo em que a proteína é mantida em temperatura elevada.

A firmeza do gel aumenta em um tratamento entre as temperaturas de 75°C - 125°C e diminui um pouco em 135°C. Enquanto a elasticidade permanece constante em toda a faixa de temperatura. O conteúdo de grupos SH diminui com o aumento da temperatura (Shimada e Cheftel, 1988).

### **3.3. Influência da força iônica e espécie iônica na gelatinização do Concentrado Protéico de Soro de Leite Bovino**

Em particular o efeito de mudar a força iônica, proporção relativa de espécies iônicas e/ou pH, antes ou após aquecimento, pode induzir profundas diferenças em interações proteína-proteína (De Wit, 1981 e Schmidt et al., 1978).

O efeito danoso da quelação por EGTA (ácido etilenoglicol-bis-(éter  $\beta$ -aminoetil éter) N,N,N',N', tretraacético) ou EDTA (ácido etilenodiamino- tetraacético) em todos os géis de CPS e IPS ilustra que o cálcio tem um papel chave na gelatinização, como em uma solução contendo 100 mM de NaCl. A distribuição relativa do cálcio entre iônico, coloidal e ligado a proteína, pode ter influência significativa sobre as propriedades gelatinizantes. O estado conformacional da proteína e a composição dos outros minerais e componentes não-protéicos não pode ser ignorada. O nível ótimo de cálcio para a formação do gel, é dependente do sistema (Kuhn e Foegeding, 1991b).

Um aumento na propriedade de dureza geralmente tem sido atribuída a um ótimo balanço entre interações proteína-proteína e proteína-solvente, para a mesma concentração de sais, os cátions bivalentes e trivalentes tem um efeito maior nas propriedades do gel que cátions monovalentes (Tang et al., 1994).

Outros íons como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cit}^{3-}$  e  $\text{PO}_4^{3-}$ , também influenciam na gelatinização de CPS por neutralizar cargas nas moléculas protéicas. A diálise exaustiva de soluções de CPS antes do aquecimento resulta em géis translúcidos e elásticos. A adição de íons minerais no CPS resulta na formação de géis rígidos e opacos (Morr e Ha, 1993).

Zirbel e Kinsella (1988) estudaram géis formados a partir de dispersões a 20% de proteína (pH 7,0) de IPS exaustivamente dialisadas (5% de umidade, 3% de cinzas e 91,4% de proteínas b.u.) submetidos a temperatura de 90°C/15 min. Eles concluem em seu trabalho, que a dureza, o elasticidade e a coesividade do gel, aumentam com o aumento da temperatura de aquecimento. A dureza de géis foi máxima em pH entre 6,0 - 6,4 na presença de 20 mM de  $\text{CaCl}_2$ . Os efeitos de temperatura de aquecimento e pH foram interdependentes. Os sais provam ser um fator que pode ser usado para alterar a firmeza e deformidade do gel de PS. A dureza foi afetada por cálcio com um valor máximo obtido em 20 mM de  $\text{CaCl}_2$ , acima a dureza diminui ligeiramente Elasticidade e coesividade aumentam com o pH. O elasticidade foi mínimo em 10 mM de  $\text{CaCl}_2$ , mas aumenta com a concentração de cálcio. A coesividade de géis de PS foi mais baixa em 10 mM de  $\text{CaCl}_2$ , mas foi restaurada acima de 20 mM de  $\text{CaCl}_2$ . Em pH 6,0, os géis foram brancos e opacos e perdem água quando comprimidos. Os géis formados em 80°C e 90°C tem uma dureza máxima em pH 6,0 e 6,4, respectivamente.

De Wit (1981) e Townend e Gyuricsek (1973) citados por Zirbel e Kinsella (1988) concluem que o cálcio tende a aumentar interações proteína-proteína sob aquecimento.

Mulvihill e Kinsella (1988) relatam que as soluções de  $\beta$ -Lg formam géis com máxima força de gel em 10 mM de  $\text{CaCl}_2$  e a força decresce com o aumento da concentração de  $\text{CaCl}_2$ . Eles observaram que acima do nível máximo de cálcio as ligações tornam-se excessivas, e a matriz entra em colapso, resultando em agregados não protéicos rodeados por meio aquoso.

Schmidt et al. (1979) relata que géis de PS preparados a partir de dispersões a 10% de CPS dialisado apresentaram dureza máxima em 11,1 mM de  $\text{CaCl}_2$  e esta dureza diminui

com o aumento dos níveis de  $\text{CaCl}_2$ . Eles sugerem que a diminuição da força do gel em altos níveis de  $\text{CaCl}_2$  poderia indicar ligação de cálcio intra cadeias. Relatam que a elasticidade de géis de CPS diminui ligeiramente com a adição de  $\text{CaCl}_2$  acima de 10 mM.

Kuhn e Foegeding (1991b) concluíram que o efeito da adição de baixos níveis de  $\text{NaCl}$  ( $< 75 \text{ mM}$ ) e  $\text{CaCl}_2$  ( $< 20 \text{ mM}$ ), foi muito similar nos valores de firmeza do gel de IPS, diferenciando muito nos valores de deformidade, indicando que a deformidade é muito dependente da carga do cátion do sal adicionado. Géis formados com sais de cátions com a mesma carga tem similares valores de firmeza e deformidade, géis formados com cátions monovalentes, de qualquer maneira, diferem significativamente dos géis formados com cátions divalentes. Os estudos com sais misturados revelam que  $\text{CaCl}_2$  (bivalente) tem um efeito dominante sobre o  $\text{KCl}$  (monovalente) na estrutura do gel. Alterações na concentração de  $\text{CaCl}_2$  mostraram-se efetivas nas modificações das propriedades reológicas do gel de IPS, especialmente na deformidade.

O objetivo de Barbut e Foegeding (1993) foi determinar se o tratamento de pré-aquecimento poderia formar um gel de IPS a temperatura ambiente após adição de  $\text{CaCl}_2$ , o resultado deste trabalho mostra que suspensões de IPS contendo  $\text{CaCl}_2$  começam a formar géis a  $66^\circ\text{C}$ , enquanto que o IPS aquecido sem  $\text{CaCl}_2$  (isto é o  $\text{CaCl}_2$  é adicionado após aquecer) não forma gel antes de  $72^\circ\text{C}$ . Assim uma alta temperatura (ou um tempo maior) foi requerida para completar a sensibilidade conferida pelo  $\text{CaCl}_2$  no pré-aquecimento das proteínas.

A segunda maior diferença entre os dois géis foi quanto a força de penetração requerida para romper o gel. O gel formado de suspensões contendo  $\text{CaCl}_2$  tem altos valores de força de penetração, aproximadamente 1,5 a 2,0 vezes maior que o gel induzido por cálcio (Barbut e Foegeding, 1993).

Suspensões de IPS pré-aquecidas podem formar géis a  $25^\circ\text{C}$  pela adição de  $\text{CaCl}_2$ . O gel induzido por cálcio foi muito diferente do gel de IPS induzido termicamente, formado por aquecimento de uma suspensão de IPS contendo  $\text{CaCl}_2$ . O gel induzido por cálcio formado por mistura de proteínas e soluções de  $\text{CaCl}_2$  tem baixos valores de força de penetração, similares ao gel induzido termicamente. Entretanto a resistência a fratura foi alta para o gel induzido por cálcio. Ambas gelatinizações induzidas por cálcio e

termicamente requerem que as proteínas atinjam um certo grau de desnaturação (Barbut e Foegeding, 1993).

Na ausência de sais ou a concentrações muito baixas, tais produtos de proteínas do soro podem apresentar-se no estado sol. Aumentando a concentração acima de 0,5M pode levar para um aumento da viscosidade ou firmeza do gel dependendo também da concentração protéica, mas em geral a capacidade de retenção de água diminui acima de 0,3M de sais (Schmidt et al., 1978).

Lupano et al. (1992) trabalhou com IPSs dialisados, este experimento mostrou um aumento da capacidade de retenção de água e elasticidade dos géis com diminuição da concentração de cálcio a pH 3,75 e 7,0. A firmeza do gel foi máxima a 10-20mM de cálcio.

A gelatinização acentuada pelo efeito de sais tem sido usada por Doi et al. (1993) através de um processo de gelatinização aquecida em duas etapas em que as proteínas, inclusive a  $\beta$ -lactoglobulina, são aquecidas acima de sua temperatura de desnaturação em uma primeira etapa a muito baixa força iônica, após resfriada, os sais são adicionados e a solução reaquecida para uma temperatura similar, no qual géis de força iônica superior são formados.

Schmidt et al. (1979) usaram dispersões de CPS a 10%, exaustivamente dialisadas contra água e aquecidas a 100°C/15min. Investigando o papel do cálcio e da cisteína sobre a propriedade de gelatinização induzida pelo calor, concluíram que a máxima dureza do gel foi obtida a uma concentração de 11 mM de cálcio e 9,7mM de cisteína, mas acima desta concentração de cisteína são produzidos géis flexíveis (pastosos) ou seja altos níveis de cisteína reduzem drasticamente dureza do gel. O gel induzido por calor exibe uma coesividade mínima a aproximadamente 13,8 mM de cálcio, existindo uma tendência a reduzir a coesividade e elasticidade com o aumento dos níveis de cálcio e cisteína. Estes resultados sugerem que as interações proteína-proteína sejam provavelmente devido a maior extensão na formação de pontes dissulfídicas irreversíveis, com o aumento da dificuldade de ligações hidrofóbicas e iônicas que são mediadas por cálcio.

Um gel mais rígido pode ser produzido pela adição de sais minerais, notavelmente fosfatos. Quando sais são adicionados para obter uma força iônica ótima e o pH é ajustado para quase 7,0, dependendo do tipo de sal pode ocorrer a formação de um gel muito rígido tipo-gelatina. Este tipo de gel é, de qualquer maneira muito suscetível a fratura e precisa

de controle cuidadoso do balanço iônico para produzir as propriedades requeridas (Bottomley et al., 1989).

Harwalkar e Kalab (1985 a,b,c) e McClements e Keogh (1988) sugerem que sem a adição de sais, forças repulsivas eletrostáticas, acentuadas por alto pH, previnem a gelatinização, mas essas forças foram diminuídas sob aumento da força iônica. Estas observações são consistentes com outros estudos de gelatinização induzida por calor de  $\beta$ -Lg a baixos pHs.

Os resultados dos trabalhos de Mulvihill e Kinsella (1988) e Kuhn e Foegeding (1991b) sugerem que o efeito do  $\text{CaCl}_2$  difere do  $\text{NaCl}$ , refletindo um diferença funcional entre os íons cálcio e sódio. Sendo um cátion bivalente, o cálcio é capaz de formar uma ponte iônica entre 2 grupos carboxílicos adjacentes de diferentes cadeias peptídicas, enquanto o sódio não pode. Xiong (1992) sugere que a conformação das proteínas do soro foi menos desestabilizada com o aumento da concentração de cálcio.

O  $\text{NaCl}$  altera os modelos de agregações protéica do soro, modifica as cargas protéicas provavelmente por mascarar alguns grupos iônicos expostos, facilitando favoráveis associações entre polipeptídios. Estes resultados podem ser importantes para definir adequadas condições para a utilização de proteínas do soro como ingredientes em produtos formulados. Por exemplo os produtos cárneos processados contém 0,6 M de  $\text{NaCl}$ , que pode ser desejado para formar estruturas ligadas (gel).

A concentrações muito altas de  $\text{NaCl}$  ( $> 400 \text{ mM}$ ), a rede continua colapsada por causa de forças atrativas seguidas de excessivas interações proteína-proteína. É também possível que a altos níveis de  $\text{NaCl}$ , a desnaturação de moléculas de  $\beta$ -Lg seja reduzida por isso diminui a força do gel. Grande desprendimento de água também foi observado em compressão de géis contendo altas concentrações de  $\text{NaCl}$ . Estes géis tinham uma natureza particular tipo esponja e apresentavam-se opacos (Mulvihill e Kinsella, 1988).

É possível que a baixas concentrações de  $\text{NaCl}$  (força iônica fraca) forças intermoleculares eletrostáticas sejam modificadas para facilitar a associação molecular entre componentes de IPS. Altas forças iônicas aparentemente aumentam a estabilidade protéica, provavelmente por aumentar a hidratação (solubilidade) das proteínas.

Itoh et al. (1976) citado por De Wit (1981) tem mostrado que sais tipo  $\text{NaCl}$  também exercem uma ação protetora na desnaturação das PSs. Assim a suscetibilidade das PS a

desnaturação térmica parece diminuir quando o conteúdo de matéria seca das soluções aumenta. Esta conclusão está agregada ao resultado de McKenna et al. (1971) citado por De Wit (1981) obtido por tratamento térmico de concentrado de leite desnatado. Eles relatam que a quantidade de desnaturação de PS, é mais dependente do conteúdo de sólidos do leite numa faixa de temperaturas entre 75-80°C.

O papel do fosfato ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) em agregação protéica obviamente difere do NaCl. O fosfato tem um marcado efeito na associação molecular, em contraste com o NaCl. Esta diferença pode ser descrita pelo ânion. Ânions fosfóricos podem ligar-se a grupos amino das proteínas, oportunistamente carregados e causar repulsão entre as cadeias peptídicas por aumentar a eletronegatividade das proteínas (Xiong, 1992).

Em particular, o fosfato causa, sob aquecimento, um aumento na quantidade de fosfato de cálcio com o aumento do pH. Em soro normal o fosfato obviamente compete com as proteínas do soro pelo cálcio, resultando em uma melhor solubilidade das proteínas do soro. Esta é uma informação importante para a aplicação funcional das proteínas do soro.

De Wit e Klarenbeek (1994) estudaram o efeito de íons cálcio em agregação de  $\beta$ -lactoglobulina após um tratamento térmico de 120°C/15 min., este estudo mostra que sob este tratamento térmico e na ausência de cálcio, a solubilidade da proteína aumenta em pHs mais altos.

### ***3.4. Influência de outros fatores na gelatinização do Concentrado Protéico de Soro de Leite Bovino***

Boye et al. (1997) estudaram o efeito do tempo de aquecimento (15 – 120 min), pH (3,0 – 9,0), concentração de NaCl (0 – 2 M), concentração de sacarose (0 – 30% p/v) e concentração de proteínas (10 – 30% p/v) na força, turbidez e CRA de CPS (75% de proteína) quando aquecido a temperatura na faixa de 65 a 90°C. Através deste trabalho eles concluíram que a força do gel e a CRA aumentam com a concentração de proteínas, temperatura de aquecimento e tempo. O aumento da concentração de sacarose diminui a

força do gel mas aumenta a CRA. Aumentando a concentração de NaCl aumenta a força do gel e a CRA sob pH 5,0, mas resulta em géis fracos em pHs mais altos (>7,0).

Várias pesquisas tem relatado uma correlação entre a hidrofobicidade protéica e a habilidade de formar géis induzidos pelo calor. Devido a um percentual de 5 a 6% de lipídio nos CPSs é que estes compostos apresentam hidrofobicidade. Ligações com heptano, são tomadas como um indicador de hidrofobicidade protéica efetiva. Os lipídios podem também inibir a gelatinização das proteínas de CPSs por interferirem na polimerização de proteínas via formação de ligações hidrofóbicas intermoleculares (Morr e Ha, 1993).

Sternberg et al. (1976) relatam que os lipídios aumentam o tempo de coagulação por interferirem na polimerização proteína-proteína.

A lactose inibe a gelatinização induzida pelo calor de soluções de PS (Tang et al., 1994). O açúcar exerce um efeito protetor contra a desnaturação protéica (Mulvihill e Kinsella, 1987), ele pode proteger contra a perda de solubilidade durante o tratamento térmico (De Wit, 1981), a remoção de lactose das soluções de CPS por diálise, melhora as propriedades gelatinizantes induzidas pelo calor (Mulvihill e Kinsella, 1987). Processando o CPS pelos métodos de UF/DF (ultrafiltração e diafiltração), métodos estes que removem altos percentuais de lactose e íons, é possível produzir géis mais coesos, firmes e translúcidos (Schmidt et al., 1984).

#### **4. Ação de produtos de soro de leite bovino e sais em produtos cárneos (salsichas)**

Os sistemas cárneos triturados algumas vezes referenciados como “emulsões cárneas”, não são uma emulsão verdadeira, estes sistemas podem ser mais apropriadamente denominados de misturas cárneas ou “batters” cárneos (Ziegler e Acton, 1984).

Um “batter” cárneo pode ser descrito como uma mistura finamente fragmentada de proteínas musculares, partículas de gordura, água, sal e outros aditivos, que resultam em um produto cárneo completamente homogêneo após desnaturação térmica das proteínas.

Os produtos cárneos fragmentados são consumidos em lares e usados pelo serviço industrial, especialmente nos “fast food outlets”. Estes produtos são parte integral de nossa dieta e tem grande importância econômica (Gordon e Barbut, 1992).

A gelatinização das proteínas do “batter” cárneo pode ser manipulada para produzir uma estrutura ótima para ligar água e ter boa textura, para isto o pH, força iônica, temperatura do ponto final de trituração e o processamento são rigorosamente controlados (Gordon e Barbut, 1992).

Proteínas miofibrilares constituem de 50-55% do total de proteínas do músculo (Forrest et al., 1975 citados por Smith, 1988). Miosina (50-55%) e Actina (20-25%) são as proteínas miofibrilares majoritárias e suas funções são extensamente estudadas. Uma variedade de outras proteínas miofibrilares constituem 20-25% da fração solúvel, e ainda que o comportamento não seja primariamente responsável pela funcionalidade de produtos cárneos processados, elas podem influenciar a função da actina e miosina (Acton et al., 1983; Asghar et al., 1985; King e MacFarlane, 1987 citados por Smith, 1988). Proteínas sarcoplasmáticas e estromais também influenciam a funcionalidade, mas diferentemente das proteínas miofibrilares (Asghar e Henrickson, 1982; Gillett 1987a; 1987b; Sikorski et al., 1984 citados por Smith, 1988)

A maior parte dos “batters” cárneos são cozidos a aproximadamente 70°C. A esta temperatura mudanças conformacionais devem ocorrer na estrutura nativa de proteínas fazendo com que estas cerquem os glóbulos de gordura. A gelatinização do filme protéico interfacial resulta em uma estrutura semi-rígida que tem definidas propriedades viscoelásticas e funcionais para prever a saída de gordura líquideita durante o processamento térmico.

Alta capacidade de manter água resulta em maior suculência da carne após cocção. Além disto, maciez, cor, gosto e algumas outras características da carne estão relacionadas com a capacidade de manter água. Também para transporte, estocagem, enlatamento, congelamento e descongelamento a capacidade de manter água é de grande importância prática (Hamm, 1960).

Algumas mudanças na hidratação da carne não são só devido a trocas na carga da rede de proteínas. As cadeias de peptídios de proteínas nativas são conectadas por “cross-links” por exemplo por ligações com sais, metais bivalentes, ligações S-S ou pontes de

hidrogênio. Nesta rede molecular um número de grupos carregados não é avaliado pelas ligações com a água por causa de reações estéricas. Não há espaço para as moléculas de água. Por divisão de “cross-links”, as cadeias de peptídios ficam suficientemente mais flexíveis e a água pode atacar os grupos polares (Hamm, 1960).

É bem conhecido o fato de sais neutros terem um efeito na hidratação de proteínas. A adição de NaCl aumenta fortemente a capacidade de manter água, “cross-links” entre sais e cadeias de peptídios podem ser quebradas para fora ligando íons cloreto, aumentando a hidratação da carne (Hamm, 1960).

Como para os sais de ácidos fracos, existem alguns ânions que aumentam a hidratação do músculo. O fosfato e o citrato que são ambos usados na prática, pertencem a este grupo. O efeito destes sais não é somente devido a sua relativa força iônica alta e sua influência no pH da carne. Estes sais tem a habilidade de formar complexos fortes com metais alcalinos terrosos. Eles eliminam cátions bivalentes da carne (talvez principalmente o Magnésio) (Hamm, 1960).

Todos os procedimentos para a estocagem e processamento de carnes são influenciados pela capacidade de retenção de água (CRA) do tecido. É bem conhecido que a CRA é de particular importância na qualidade de salsichas e presuntos. Assim investigar a CRA de carnes é de considerável interesse econômico.

O pH em que a CRA é mínima (pH 5,0) corresponde ao ponto isoelétrico da actomiosina que constitui a estrutura do músculo protéico (Hamm, 1974).

Como foi observado em resultados anteriores, as propriedades do CPS em produtos cárneos parecem ser altamente variáveis. A influência de fatores intrínsecos e extrínsecos, nas propriedades funcionais de CPS em sistemas cárneos deve ser definida e estes fatores caracterizados para expandir o uso desta proteína para a indústria cárnea (Smith e Rose 1995).

#### **4.1. Produtos de soro de leite**

Em termos nutricionais as proteínas do soro são excelentes fontes de aminoácidos essenciais, particularmente lisina. O alto conteúdo de lisina pode ser benéfico pela

reposição da lisina perdida durante o processo de cocção em carnes processadas (Lee et al., 1980).

No trabalho de Lee et al. (1980) carnes processadas ("loaves") foram preparadas com soro seco e CPSs ultrafiltrados contendo 18,7% (CPS – 1520) e 32,5% (CPS – 3035) de proteínas e um controle contendo leite seco desengordurado (LSD). Força foi avaliada por meio de um Instron e maciez avaliada por um painel sensorial, com relação a estas características o LSD e os 3 tratamentos do soro não foram diferentes. No painel sensorial o sabor mais acentuado foi encontrado para o soro seco ( $p<0,05$ ), possivelmente resultante do alto nível de lactose deste (soro seco). A suculência desejada foi encontrada para a amostra contendo CPS – 3035, o que possivelmente pode ser atribuído a CRA pelo alto nível de PS.

Wiericki et al. (1957) estudaram o efeito da adição dos cloretos de sódio (NaCl), potássio (KCl), cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) e magnésio ( $\text{MgCl}_2$ ) em carnes. Quando os cloretos de sódio, potássio, cálcio e magnésio são adicionados a carne antes do aquecimento, aumentam a CRA das proteínas cárneas, quando estas são aquecidas a 70°C, exceto para concentrações muito altas. O suco espremido em aquecimento foi menor para os tratamentos com  $\text{CaCl}_2$  e  $\text{MgCl}_2$  do que para os com NaCl e KCl, o que demonstra que os cátions bivalentes diminuem o encolhimento em maior grau do que os cátions monovalentes. O  $\text{MgCl}_2$  mostrou um efeito mais pronunciado entre todos. A combinação destes cloretos foi estudada, mostrando que a combinação NaCl e  $\text{MgCl}_2$  promovem uma CRA maior em carnes cozidas.

No trabalho de Ensor et al. (1987) foi estudado o efeito de vários ligantes não cárneos no rendimento e nas propriedades de textura de "Knockwurst" (um tipo de salsicha). Três níveis de CPS, leite seco desengordurado reduzido de cálcio (LSDRC) e IPSj (Isolado protéico de soja), foram avaliados. O CPS prova ser um ligante alternativo viável para produtos cárneos específicos tipo emulsão por melhorar estabilidade, textura e atributos sensoriais em comparação a iguais níveis de IPSj e LSDRC.

No trabalho de Ellekjaer et al. (1996) foram utilizados como ingredientes da formulação de salsicha: carne bovina TRIM (14.8% de gordura, 18.9% de proteína e 65.6% de água) e gordura de porco (68.3% de gordura, 5.8% de proteína e 22.0% de água) e como aditivos: caseinato de sódio (1.5% de gordura, 88.0% de proteína e 5.0% de água), proteína de soro de leite (6.0% de gordura, 78.0% de proteína e 5.0% de água) e leite em pó

desnatado (0,7% de gordura, 35,3% de proteína e 3,5% de água), que foram adicionados só ou misturados em três níveis de concentrações, junto com 4% de amido de batata (0% de gordura, 17,0% de água). Cada formulação de salsicha contém 80% de água na fase livre de gordura e 15% na mistura. Nesta formulação foi utilizado 1,8% de sal. O modelo encontrado mostra que a perda por cocção foi maior para salsichas contendo só proteínas de soro ou leite desnatado comparando a adição de caseinato de sódio. A perda por cocção foi menor quando usamos uma mistura 1:1 de leite desnatado e proteínas do soro do que deveria ser esperado observando a perda por cocção de cada separadamente.

No trabalho de El-Magoli et al. (1996) empanados de carne bovina com baixo teor de gordura (10 – 11% de gordura), formulados com 1- 4% de CPS, foram avaliados pelas características de cocção e comparados a um controle com um teor mais alto de gordura. Uma redução no nível de gordura de 22% para 11% melhora todos os parâmetros de cocção com respeito a melhorar rendimento de cocção ( $p<0,01$ ) e a retenção de gordura ( $p<0,05$ ), aumenta o conteúdo de umidade do cozido ( $p<0,05$ ) assim como reduz o encolhimento ( $p<0,05$ ). A análise de perfil de textura (TPA) mostra um aumento na mastigabilidade para amostras com baixo teor de gordura comparado ao controle com mais alto teor de gordura, enquanto a dureza e a elasticidade não são afetadas. Adição de níveis mais altos de CPS com 10% de água para carnes com baixa gordura resulta no aumento linear ( $p<0,05$ ) do rendimento com uma diminuição no encolhimento ( $p<0,05$ ). O teor de 4% de CPS produz o mais alto rendimento e o mais baixo encolhimento. A análise sensorial mostra preferir a adição de 4% de CPS comparado a níveis mais baixos de CPS, com respeito a suculência e aceitabilidade geral. Adição de 0,3% de aditivos modificadores de textura mostra que o  $\text{CaCl}_2$  tem um efeito danoso no rendimento e encolhimento, enquanto o efeito do tripolifosfato (TPP) foi positivo ( $p<0,05$ ). As medidas de suculência e aceitação geral da formulação de produtos com baixo teor de gordura foi significativamente melhor ( $p<0,05$ ) com a adição de TPP (0,3%) e lactose (1,2%) para as formulações com CPS.

O mecanismo pelo qual produtos cárneos são estabilizados tem sido muito estudado, tradicionalmente, a teoria mais aceita é a do comportamento de uma emulsão clássica tipo óleo-em-água, muitos dos trabalhos pesquisados recentemente tem indicado que a habilidade de formar géis das proteínas cárneas é o fator de mais significativo (Gordon e Barbut, 1992).

De qualquer maneira, a adição de partículas gel pré-cozidas que podem manter umidade e imitar a sensação na boca provocada pela gordura é diferente da adição de proteínas não cárneas não cozidas que podem fisicamente participar na formação do FPI (Filme Protéico Interfacial) ou contribuir para a formação da matriz (Gordon e Barbut, 1992).

A qualidade microbiológica das salsichas não foi afetada adversamente por aditivos protéicos (Mann, 1985).

Testes organolépticos indicam pequeno efeito dos aditivos na aparência, aroma, sabor, consistência, suculência ou aceitabilidade geral. Entretanto, houve um efeito adverso na cor da superfície cortada. Ótimos resultados foram obtidos com a adição de 10-15% dos aditivos protéicos. As perdas durante cocção aumentam apreciavelmente em altos níveis de substituição (Mann, 1985).

Baseado em informações presentes no trabalho de Casella (1983) é evidente que o soro pode ser usado como ligante e extensor dos produtos cárneos. A equipe para a avaliação do gosto não indica discrepância comparado à produtos feitos com habitual uso de ligantes e extensores.

#### **4.2. Sais**

Na preparação de um “batter” cárneo, sais são adicionados para extrair as proteínas miofibrilares da carne. Água é adicionada e fragmentos criam uma proteína capaz de ligar água e gordura. Gomas e outras proteínas não cárneas também podem ser usadas com sais para aumentar as ligações e reduzir as perdas por cocção. As proteínas não cárneas podem ser adicionadas diretamente com todos os ingredientes ou podem ser picadas com a gordura e água para formar um sistema de gordura pré-emulsificado. Na cocção, a coagulação de proteínas toma lugar, imobilizando a gordura, água e outros componentes. Isto caracteriza a textura dos produtos cárneos fragmentados. Consequentemente, a estabilização de gorduras e água do sistema é importante na aceitabilidade sensorial do produto (Gordon e Barbut, 1992).

O NaCl melhora a habilidade de ligar as proteínas cárneas, por isso melhora a emulsificação da gordura e a textura, e consequentemente a qualidade geral e aceitabilidade do produto, ajudando no processamento de salsichas (Gordon e Barbut, 1992). A adição de sais acentua a capacidade de ligar água a miosina pelo aumento da carga negativa efetiva da rede e ligações iônicas quebradas, causando entumecimento molecular e ajudando a mantém a água (Acton et al., 1983; Wismer-Petersen, 1978 citado por Smith 1988).

Kijowski e Mast (1986) citados por Smith (1988) relatam que a adição acima de 4% de NaCl desestabiliza o músculo do peito de frango (actina e miosina), enquanto 0,25 e 0,50% de fosfato desestabilizam a actina e acentuam a estabilidade térmica da miosina.

O efeito do NaCl na CRA depende do pH do tecido. O NaCl aumenta a CRA em pH > IP (ponto isoelétrico) e diminui em pH < IP. Este efeito é predominantemente devido ao íon cloreto ( $\text{Cl}^-$ ) do NaCl, que causa um enfraquecimento da interação entre grupos carregados opostamente em pH > IP (Hamm, 1974).

#### 4.2.1. Fosfatos

Segundo Swift e Ellis (1957), os fosfatos diminuem a velocidade de elevação da temperatura no “cutter” (diferença de até 6,1°C entre amostras com e sem fosfato), o que permite maior tempo de trituração dos produtos com fosfato, embora afetem o desenvolvimento da cor, tornando necessária a adição de ascorbato à massa cárnea. Segundo Bendall, citado por Swift e Ellis (1956) o uso de orto e polifosfatos associados a um aumento de proteína, possivelmente causa a quebra do complexo de actomiosina, gerando actina e miosina. Também se atribui aos fosfatos a quelação do cálcio e do magnésio do meio, o que permitiria uma mudança (expansão) na estrutura protéica da massa cárnea, aumentando suas capacidades emulsificantes e de retenção de água. Um aumento na retenção de água pela massa cárnea, através do uso de fosfatos, diminui consideravelmente o encolhimento do produto quando submetido a altas temperaturas, o que permite o uso de temperaturas mais elevadas nas etapas de cozimento e defumação, acelerando esses processos (Satterlee e Levin, 1973).

O tripolifosfato de sódio (NaTPP) é permitido em produtos cárneos até 0,5% (p/p) da formulação. É usado para controlar o pH, melhorar a capacidade de retenção de água,

extração de proteínas e melhorar as propriedades de textura. Os polifosfatos são também usados durante preparação de alguns CPSs para alterar a composição mineral. Adição de quelantes de cálcio, tal como o NaTPP, são freqüentemente usados para o pré-tratamento do soro para o acúmulo de material em unidades de ultrafiltração e alterar as propriedades funcionais das proteínas do soro. O NaTPP precipita cálcio na forma de fosfato de cálcio.

O CPS freqüentemente contém cálcio em concentrações diferentes das necessárias para otimizar as propriedades gelatinizantes. Em estudos prévios foi encontrado que NaTPP e EDTA complexam o cálcio livre e melhoram as propriedades de géis de CPS (Smith e Rose, 1994).

O tripolifosfato de sódio (NaTPP) é usado para otimizar as propriedades funcionais de produtos de aves e concentrados protéicos de soro (CPS). O objetivo de Smith e Rose (1995) foi determinar se o NaTPP pode melhorar as propriedades de sistemas modelos gel compostos de concentrado protéico de soro e proteínas do peito de frango solúveis em sal (PSS) (Smith e Rose 1995).

A 65°C, a umidade espremível diminui com o aumento da concentração protética do soro no gel. Beuschel et al. (1992) citados por Smith e Rose (1995) observaram similares descobertas para umidade espremível em suas combinações de PSS e CPS em sistema gel. Eles sugerem que a 65°C, o CPS desempenha papel de um recheio para ligar água nos espaços intersticiais da rede das proteínas PSS. A adição de 0,25 e 0,5% de NaTPP diminui a umidade espremível de PSS e de combinações de géis aquecidos a 65°C quando comparado com seu respectivo controle. A umidade espremível de géis preparados em 0,25 e 0,5% de NaTPP não foi diferente.

A concentração de NaTPP aumenta e cálcio livre ou iônico diminui em PSS, CPS e combinações sol devido a complexação dos íons por NaTPP (Smith e Rose, 1995)

As proteínas extraídas de peito de frango contém 0,02 mM de íons cálcio. Com o aumento da concentração de CPS, a concentração de íons cálcio aumenta na combinação sol. Íons cálcio foram mais altos em 12% de CPS sol (2,91 mM) do que na combinação de 4% de PSS e 12% CPS sol (0,87 mM). Isto é provavelmente devido as ligações de íons cálcio pelas proteínas PSS. Portanto além das proteínas PSS não contribuírem com o cálcio para o sistema, sua presença reduz a concentração de íons cálcio (Smith e Rose, 1995)

Íons sódio competem com os íons cálcio para ligarem-se aos sítios da proteína e efetivamente aumentarem o cálcio livre observado no presente sistema.

Smith e Rose (1994) relatam que reduzindo cálcio livre para 5 e 10 mg/g (0,22 e 0,46 mM respectivamente) por complexação com NaTPP ou EDTA, melhora a dureza, deformabilidade e umidade espremível de géis preparados com 3 diferentes CPSs em pH 7,0.

Smith e Rose (1994) relatam que a adição de NaTPP decresce a deformabilidade de géis de CPS.

A maior parte das proteínas PSS e PS estão carregadas negativamente em pH 7,0. Assim, íons divalentes, tais como cálcio, podem formar pontes iônicas entre grupos carboxílicos adjacentes. Ainda que altas concentrações de sódio estejam presentes, é possível que em 65°C as PS estejam também altamente ligadas por íons divalentes, tais como cálcio (Smith e Rose, 1995).

Os resultados de Smith e Rose (1995) sugerem que a indústria cárnea selecione um ótimo balanço entre NaCl e NaTPP para maximizar as propriedades funcionais de CPSs adicionados aos sistemas cárneos. O NaTPP pode acentuar a funcionalidade de CPSs quando usados como um ligante não cárneo em produtos de aves processados.

# MATERIAL E MÉTODOS

## 1. Matéria-prima para preparação dos géis

Os Concentrados Protéicos de Soro de Leite Bovino (CPS) empregados foram os produtos comerciais CALPRO 80 e CALPRO 8002, produzido por CALPRO Ingredients Corona, CA. As amostras foram armazenadas em local seco e arejado.

O efeito dos sais na gelatinização do CPS foi testado apenas no CPS80.

### 1.1. Preparação dos géis

#### 1.1.1. Preparação da suspensão de proteínas do soro

Foram testadas 3 concentrações de CPS (6, 7 e 8% de proteínas), em 4 concentrações de íons cálcio na forma de cloreto de cálcio (7,5, 15, 30 e 75 mM) e em 4 concentrações de íons magnésio na forma de cloreto de magnésio (7,5, 15, 30 e 75 mM) em soluções com e sem 1,67% de NaCl. Foram preparadas dispersões protéicas a 6, 7 e 8% de CPS e 7,5, 15, 30 e 75 mM de CaCl<sub>2</sub> em água deionizada e em soluções de 1,67% NaCl. Após a mistura e agitação das soluções por 3 min com bastão de vidro, o pH foi ajustado para 6,30-6,35 com NaOH 3N e/ou HCl 3N. As soluções foram transferidas para balões volumétricos de 25 ml. Em seguida as soluções foram transferidas para novos bêqueres de 25 ml, onde foi colocado um volume correspondente a altura de 15 ml do volume do bêquer.

Este mesmo procedimento foi realizado para a preparação das dispersões protéicas a 6, 7 e 8% de CPS em água deionizada e 7,5, 15, 30 e 75 mM de MgCl<sub>2</sub>.

### **1.1.2. Preparação dos géis**

Os géis são obtidos por aquecimento das dispersões protéicas, preparadas no item anterior, num banho a 75°C por 45 min, seguido de resfriamento à 4°C, e mantidos em repouso por 12 horas; após este período os géis foram colocados por 30 min a temperatura ambiente (local do texturômetro) e então medidas suas propriedades reológicas.

Foi realizado um experimento cujas condições do banho foram 90°C por 15 min, apenas para dispersões protéicas com 8% de proteína de CPS e adição de  $\text{CaCl}_2$  (7,5, 15, 30 e 75 mM).

### **1.1.3. Medida das Propriedades Reológicas**

Um texturômetro TA-XT2 foi utilizado para medir as propriedades de textura dos géis de CPS. A medida foi realizada dentro do próprio bêquer onde se formou o gel. A amostra dentro do bêquer apresentou as seguintes dimensões: 3,2 cm de diâmetro e 1,8 cm de altura. Todas as amostras foram feitas em triplicatas.

As condições utilizadas para o teste foram: probe cilíndrico de acrílico com diâmetro de 20mm, velocidade do teste de 3mm/s, cada segmento foi comprimido a 50% da altura original com uma força de 20g (0,2N), usando duas compressões.

O perfil de textura foi registrado em um gráfico de força (g) Vs. tempo (sec.)

O conceito de dureza foi definido por Bourne (1978).

## **1.2. Metodologia utilizada para realização da diálise**

Foi utilizado um volume de 300 ml de uma solução de CPS a 8%, com azida de sódio, esta amostra foi colocada em um saco de diálise de 6000-8000 Da. Após fechar o saco este colocado em um banho de água deionizada com um volume correspondente a 6 vezes o volume de amostra utilizada. O sistema foi mantido à 4°C com agitação constante por 25 horas.

### **1.3. Metodologia utilizada para medida de íons cálcio**

Foi utilizado um Eletrodo de íons cálcio Modelo 93-20, onde foi obtido um resultado em mV correspondente a concentração de íons cálcio na solução a 8% de proteínas do CPS80 antes da diálise, após a diálise, na água de diálise e na solução das cinzas totais solubilizadas.

#### **1.3.1. Construção da Curva Padrão**

Foram preparadas soluções a 10-1, 10-2, 10-3 e 10-4 M de  $\text{CaCl}_2$  /100 ml de água deionizada, em todas as soluções foi adicionado 2 ml do ajustados de força iônica (4 M KCl) para cada 100 ml de solução, agitado e medido com o eletrodo o valor de mV correspondente a concentração da solução.

#### **1.3.2. Preparação das amostras**

A solução a 8% proteínas de CPS80 foi preparada como descreve o item 1.1.1., a qual foi dialisada. Foi utilizada uma amostra de 100 ml antes e 100 ml após a diálise, e uma amostra de 100ml da água de diálise.

A amostra de cinzas do CPS80 foi obtida como descreve o item 2.1.4., após a obtenção das cinzas elas foram dissolvidas em Ácido Clorídrico (1:1). Adicionadas 2 gotas de ácido nítrico e 20 ml de água. Filtrada e recebida em balão volumétrico de 100 ml. Foram feitas triplicatas.

## **2. Metodologia utilizadas para os CPSs**

### ***2.1. Determinação da Composição Química***

#### **2.1.1. Umidade**

Foi determinada em estufa a 100-105°C até peso constante, de acordo com método n° 16192 descrito pela AOAC (1980).

#### **2.1.2. Proteínas**

Nitrogênio total foi determinado pelo método semi-micro Kjeldahl, de acordo com método n° 16193 descrito pela AOAC (1980) e a proteína total expressa como %N x 6,38 (base úmida).

#### **2.1.3. Gordura**

A gordura presente nas amostras úmidas foi extraída com éter etílico e éter de petróleo em tubos com tampa com agitação vigorosa por 1 min e centrifugação a 600 rpms ou repouso até que a fase superior ficasse límpida. O teor de gordura foi determinado gravimétricamente, como descrito na metodologia da AOAC n° 16199 (1980).

#### **2.1.4. Cinzas**

O percentual de cinzas foi determinado em mufla a 525°C, segundo método n° 16196 da AOAC (1980).

Todas as determinações foram realizadas em triplicatas.

### **3. Metodologia empregada no processamento de salsichas de frango com adição de diferentes concentrações de CPS e CaCl<sub>2</sub>**

#### ***3.1. Processamento de salsicha***

##### **3.1.1. Matéria-prima**

A matéria-prima constituiu-se de carne de peito de frango desossada (manualmente), sem pele, obtida de empresa local (Cooperativa Agropecuária HOLAMBRA) após abate a carne foi congelada rapidamente a -18°C em sacos de 1,5 kg e retirada para um refrigerador (4°C) 15hs antes de ser processada.

O toucinho foi removido da porção costo lombar de suínos, obtido de mercado local, foi congelado rapidamente a -18°C em sacos de 500 g e retirado do congelamento para um refrigerador (4°C) uma hora antes de ser triturado.

##### **3.1.2. Aditivos**

Os ingredientes comerciais constituíram-se de sal (NaCl), tripolifosfato de sódio (NaTPP), nitrito de sódio, ascorbato de sódio, Concentrado Protético de Soro de Leite de Bovino (CPS), cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) e condimentos (condimento pronto, pimenta, noz moscada e orégano). As salsichas foram embutidas em triplas artificiais de celulose de calibre 22 mm.

### 3.1.3. Formulações e procedimentos

Os “batters” de salsicha foram preparados conforme as formulações das Tabelas 1, 2 e 3.

**Tabela 1 - Formulação do “batter” de salsicha padrão**

Formulação Padrão				
Matéria-prima	Quantidade g/%	Umidade g/%	Proteína g/%	Gordura g/%
Peito de Frango	1200/60	905,76/75,48±0,78	247,2/20,60±0,24	12,84/1,07±0,12
CPS - 80	0	5,86%±0,10	75,76%±0,96	7,04%±0,16
Toucinho	360/18	39,38/10,94±1,07	10,04/2,79±0,26	271,87/75,52±1,17
Sal	44/2,2	-	-	-
Fosfato	6,0/0,3	-	-	-
Água	382/19,08	-	-	-
Nitrito	0,4/0,02	-	-	-
Ascorbato	1,0/0,05	-	-	-
Condimentos	6,4/0,32	-	-	-
Água Total	1327,14/66,36	-	-	-

Relação Umidade:Proteína = 5,31

**Tabela 2** - Formulação do “batter” de salsicha com 8% de CPS

Formulação com 8,0% de CPS				
Matéria-prima	Quantidade g/%	Umidade g/%	Proteína g/%	Gordura g/%
Peito de Frango	1104,0	833,30/75,48±0,78	227,42/20,60±0,24	11,81/1,07±0,12
CPS - 80	26,10/8,0	1,53/5,86±0,10	19,77/75,76±0,96	1,84/7,04±0,16
Toucinho	360/18	39,38/10,94±1,07	10,04/2,79±0,26	271,87/75,52±1,17
Sal	44/2,2	-	-	-
Fosfato	6,0/0,3	-	-	-
Água	382/19,08	-	-	-
Nitrito	0,4/0,02	-	-	-
Ascorbato	1,0/0,05	-	-	-
Condimentos	6,4/0,32	-	-	-
Água Total	1256,21/62,81	-	-	-

Relação Umidade:Proteína = 5,02

**Tabela 3** - Formulação do “batter” de salsicha com 7% de CPS

Formulação com 7,0% de CPS				
Matéria-prima	Quantidade g/%	Umidade g/%	Proteína g/%	Gordura g/%
Peito de Frango	1116,0	842,36/75,48±0,78	229,90/20,60±0,24	11,94/1,07±0,24
CPS - 80	22,84/7,0	1,34/5,86±0,10	17,30/75,76±0,96	1,61/7,04±0,16
Toucinho	360/18	39,38/10,94±1,07	10,04/2,79±0,26	271,87/75,52±1,17
Sal	44/2,2	-	-	-
Fosfato	6,0/0,3	-	-	-
Água	382/19,08	-	-	-
Nitrito	0,4/0,02	-	-	-
Ascorbato	1,0/0,05	-	-	-
Condimentos	6,4/0,32	-	-	-
Água Total	1265,08/63,25	-	-	-

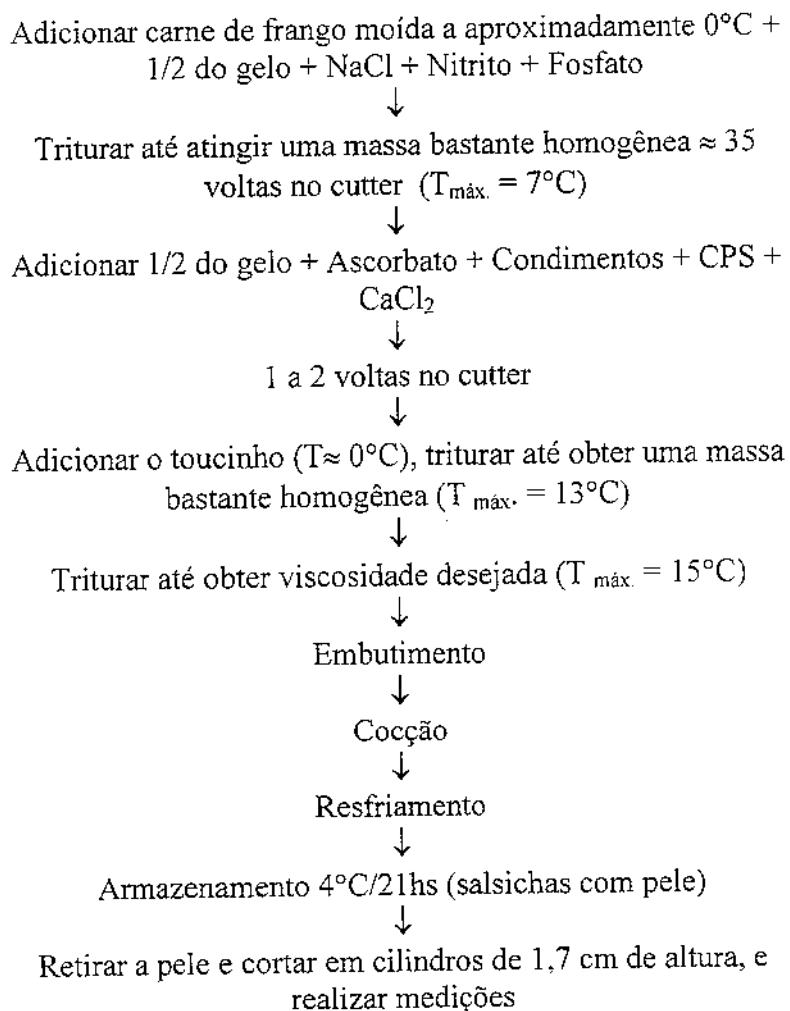
Relação Umidade:Proteína = 5,06

As formulações das Tabelas 2 e 3 foram processadas também para o CPS8002, considerando para o cálculo seu percentual de proteínas.

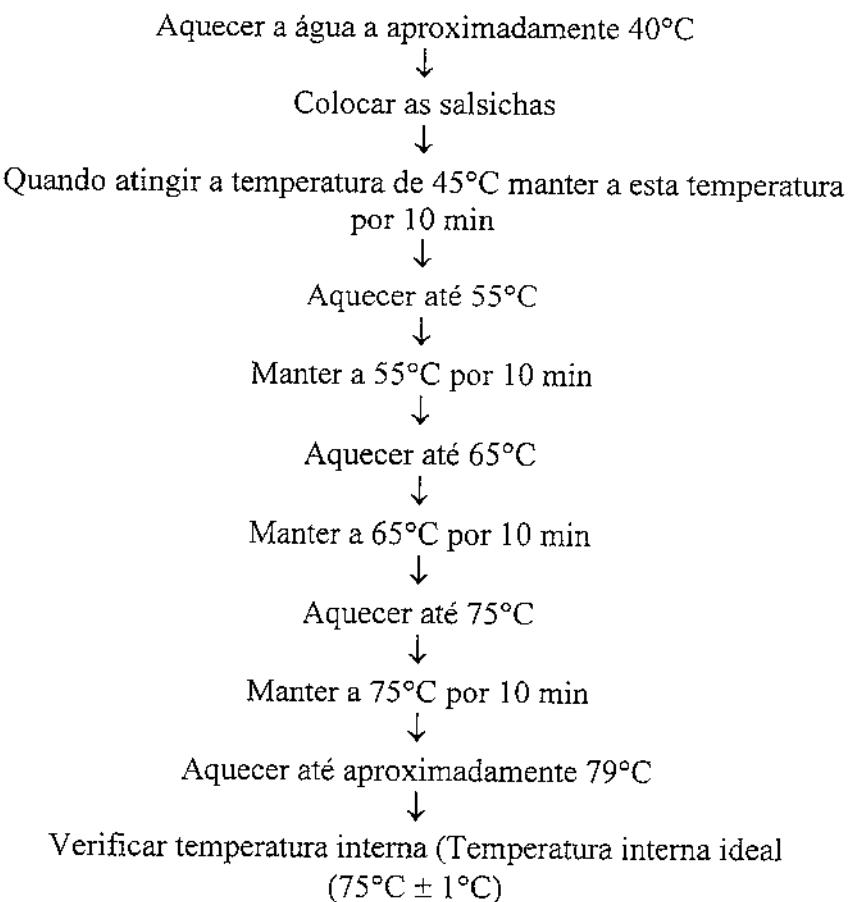
As formulações com 7 e 8% de CPS tiveram também a adição de 7,5, 15, 30 e 75 mM de CaCl<sub>2</sub> (correspondente a 0,015%, 0,03, 0,06 e 0,15% da formulação).

A ordem de adição dos ingredientes está descrita na Figura 1 e foi rigorosamente obedecida em todos os processamentos. A temperatura final de coagulação no “cutter” em nenhum processamento ultrapassou 15°C. A massa foi transferida para embutideira de pistão descontínua e por extrusão as salsichas foram formadas em tripas artificiais de celulose 22 mm. A cada 9 cm aproximadamente, foram amarradas manualmente, formando gomos de salsicha, procedendo-se então a cocção, cujo processo de cozimento está descrito no fluxograma da Figura 2.

**Figura 1 - Fluxograma de processamento das salsichas com ordem de adição de ingredientes**



## **Figura 2 - Fluxograma de Cocção das salsichas**



## **4. Metodologia utilizada para a carne de frango, toucinho e salsichas**

### ***4.1 Determinação da composição química***

#### **4.1.1. Umidade**

Foi determinada em estufa a 100-105°C até peso constante, de acordo com método nº 16192 descrito pela AOAC (1980).

#### **4.1.2. Proteínas**

Nitrogênio total foi determinado pelo método semi-micro Kjeldahl, de acordo com método nº 16193 da AOAC (1980) e a proteína total expressa como %N x 6,25.

#### **4.1.3. Lipídios Totais**

A gordura presente nas amostras secas de frango e toucinho foi extraída pelo método de Bligh e Dyer (1980), com metanol e clorofórmio, em tubos com tampa agitadas em agitador rotatório por 30 min, as camadas foram separadas por centrifugação a 1000 rpm / 2 min ou repouso até que a camada superior ficasse limpida, e seu teor determinado gravimétricamente como descrito na metodologia da AOAC (1980).

#### **4.1.4. Cinzas**

O percentual de cinzas foi determinado em mufla a 525°C, segundo método nº 16196 da AOAC (1980). Todas as determinações foram realizadas em triplicatas.

## **5. Metodologia utilizada para as salsichas**

### **5.1. Determinação de %UE, propriedades reológicas e parâmetros de Cor**

#### **5.1.1. Avaliação de cor (superfície interna)**

Foram escolhidas aleatoriamente 8 salsichas por formulação, retirando-se de cada uma destas salsichas um cilindro de altura igual a 1,7 cm. As leituras de cor foram realizadas através de colorímetro Minolta modelo CR 200b, previamente calibrado, obtendo-se parâmetros L\* (luminosidade), a\* (intensidade de vermelho) e b\* (intensidade de amarelo).

#### **5.1.2. Umidade Espremível (%UE)**

De cada uma das 8 salsichas inicialmente escolhidas foi retirada uma amostra com aproximadamente  $1g \pm 0,20g$  cada, pesadas em papel Whatman nº 02, centrifugadas a 16000 rpms/15 min a 6°C. Foi então calculada a %UE, pela diferença de pesos do papel (antes e após centrifugação) em relação ao peso inicial de amostra (Jauregui et al. 1981).

#### **5.1.3. Medida da Dureza, Coesividade, Elasticidade e Mastigabilidade**

Das mesmas amostras em que foi medida cor, foram medidas as propriedades reológicas: dureza, coesividade, elasticidade e mastigabilidade em um texturômetro TA-XT2.

As condições utilizadas para o teste foram: probe cilíndrico de acrílico com diâmetro de 20mm, velocidade do teste de 3mm/s, cada segmento foi comprimido a 50% da altura original com uma força de 20g (0,2N), usando duas compressões.

O perfil de textura foi registrado em um gráfico de força (g) Vs. tempo (sec.)

Os conceitos de dureza, coesividade, elasticidade e mastigabilidade foram definidos por Bourne (1978).

## 6. Análise estatística dos resultados

Os resultados de dureza encontrados para os géis com 6, 7 e 8% de CPS80 com 0, 7,5, 15, 30 e 75 mM de CaCl<sub>2</sub> com e sem 1,67% de NaCl e com 7,5, 15, 30 e 75 mM de MgCl<sub>2</sub> sem NaCl foram avaliados juntos estatisticamente pela média dos tratamentos, análise de variância e teste de Tukey a um nível de significância de 5% (p<0,05), através do programa estatístico Statistical Analysis System - SAS.

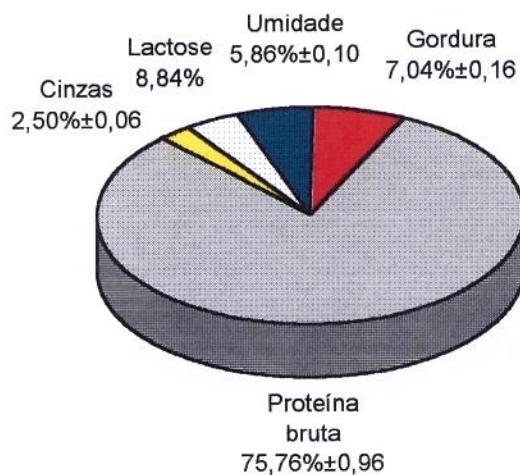
Os resultados de %umidade espremível, dureza, elasticidade, coesividade, mastigabilidade, cor L\*,a\* e b\* encontrados para as formulações de salsicha padrão, salsichas com 7 e 8% de CPS80 e CPS8002 sem CaCl<sub>2</sub> e com 7 e 8% de CPC80 com 7,5, 15, 30 e 75 mM de CaCl<sub>2</sub>, foram avaliados juntos estatisticamente pela média dos tratamentos, análise de variância e teste de Tukey a um nível de significância de 5% (p<0,05), através do programa estatístico Statistical Analysis System - SAS.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

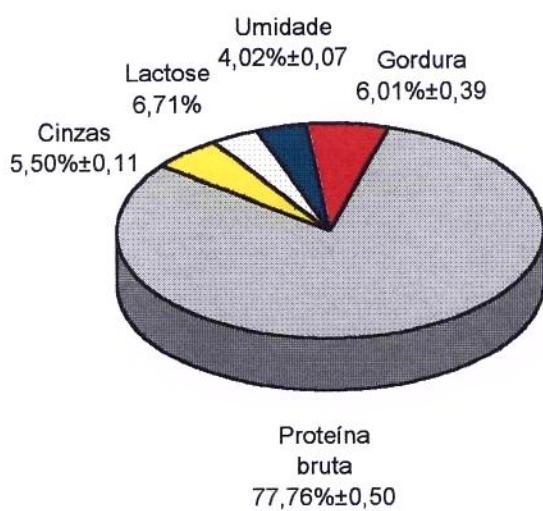
### 1. Composição química dos concentrados protéicos de soro CPS80 e CPS8002

A composição química dos concentrados protéicos de soro está apresentada nos gráficos abaixo, o percentual mostrado para lactose foi determinado por diferença.

**Figura 3 - Composição do CPS80**



**Figura 4 - Composição de CPS8002**



## **2. Umidade e proteína das formulações de salsicha obtidas**

**Tabela 4 - Umidade e proteína das formulações de salsicha obtidas**

<b>Formulação</b>	<b>% umidade</b>	<b>% proteína</b>
<b>Padrão</b>	62.15±0.91	17.94±0.10
<b>7%CPS80</b>	66.21±0.84	17.53±0.16
<b>8%CPS80</b>	64.28±0.97	16.79±0.29
<b>7%CPS80+7.5</b>	66.24±0.22	17.94±0.36
<b>8%CPS80+7.5</b>	65.55±0.90	16.97±0.22
<b>7%CPS80+15</b>	64.85±0.65	16.94±0.14
<b>8%CPS80+15</b>	65.48±0.59	16.67±0.31
<b>7%CPS80+30</b>	65.86±0.14	16.35±0.52
<b>8%CPS80+30</b>	66.01±0.54	17.22±0.01
<b>7%CPS80+75</b>	65.11±0.51	17.65±0.23
<b>8%CPS80+75</b>	64.38±0.47	17.82±0.12
<b>7%CPS8002</b>	65.88±0.35	16.40±0.43
<b>8%CPS8002</b>	64.88±0.61	16.98±0.16

## **3. Valores de dureza dos géis de CPS80 com e sem adição de sais**

**Tabela 5:** Resultados de dureza dos géis de CPS80 para a adição de CaCl<sub>2</sub> sem NaCl

Grupo	% Prot. do CPS80	[CaCl <sub>2</sub> ] (mM)	Dureza (g)	[NaCl] (%)	Resultado Estatístico (A mesma letra indica que não há diferença significativa entre os géis pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade)
1	6	0	0	0	R
1	6	0	0	0	
1	6	0	0	0	
2	6	7,5	36.011	0	RPQ
2	6	7,5	34.272	0	
2	6	7,5	35.380	0	
3	6	15	158.363	0	HIGJ
3	6	15	161.798	0	
3	6	15	174.935	0	
4	6	30	180.429	0	HIG
4	6	30	155.187	0	
4	6	30	174.233	0	
5	6	75	163.541	0	HFEG
5	6	75	178.971	0	
5	6	75	199.542	0	
6	7	0	0	0	R
6	7	0	0	0	
6	7	0	0	0	
7	7	7,5	45.452	0	ORPQ
7	7	7,5	44.961	0	
7	7	7,5	45.944	0	
8	7	15	252.513	0	DC
8	7	15	247.700	0	
8	7	15	257.327	0	
9	7	30	237.445	0	DC
9	7	30	277.887	0	
9	7	30	219.833	0	
10	7	75	208.451	0	DC
10	7	75	275.485	0	
10	7	75	264.890	0	
11	8	0	62.955	0	NORPQ
11	8	0	58.004	0	
11	8	0	52.014	0	
12	8	7,5	73.855	0	NOPQM
12	8	7,5	90.403	0	
12	8	7,5	77.698	0	
13	8	15	368.987	0	BC
13	8	15	270.593	0	
13	8	15	250.461	0	
14	8	30	333.671	0	BA
14	8	30	390.891	0	
14	8	30	299.546	0	
15	8	75	389.177	0	A
15	8	75	398.474	0	
15	8	75	406.200	0	

**Tabela 6:** Resultados de dureza dos géis de CPS80 para a adição de CaCl<sub>2</sub> com NaCl

Grupo	% Prot. do CPS80	[CaCl <sub>2</sub> ] (mM)	Dureza (g)	[NaCl] (%)	Resultado Estatístico (A mesma letra indica que não há diferença significativa entre os géis pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade)
16	6	0	0	1,67	R
16	6	0	0	1,67	
16	6	0	0	1,67	
17	6	7,5	41,866	1,67	ORPQ
17	6	7,5	51,854	1,67	
17	6	7,5	48,61	1,67	
18	6	15	93,306	1,67	NOLJKM
18	6	15	104,052	1,67	
18	6	15	117,762	1,67	
19	6	30	149,842	1,67	HILKJM
19	6	30	129,557	1,67	
19	6	30	139,699	1,67	
20	6	75	153,974	1,67	HILKJ
20	6	75	125,502	1,67	
20	6	75	149,571	1,67	
21	7	0	26,79	1,67	RQ
21	7	0	21,712	1,67	
21	7	0	26,44	1,67	
22	7	7,5	92,131	1,67	NOLKM
22	7	7,5	106,733	1,67	
22	7	7,5	99,432	1,67	
23	7	15	183,619	1,67	HIGJ
23	7	15	170,381	1,67	
23	7	15	146,646	1,67	
24	7	30	210,576	1,67	DFEG
24	7	30	230,252	1,67	
24	7	30	196,429	1,67	
25	7	75	205,018	1,67	DCE
25	7	75	258,12	1,67	
25	7	75	245,161	1,67	
26	8	0	30,272	1,67	RPQ
26	8	0	39,259	1,67	
26	8	0	31,47	1,67	
27	8	7,5	99,231	1,67	NILKJM
27	8	7,5	123,579	1,67	
27	8	7,5	131,002	1,67	
28	8	15	243,132	1,67	DFE
28	8	15	226,267	1,67	
28	8	15	231,089	1,67	
29	8	30	357,802	1,67	B
29	8	30	309,45	1,67	
29	8	30	309,789	1,67	
30	8	75	364,568	1,67	B
30	8	75	299,136	1,67	
30	8	75	331,852	1,67	

**Tabela 7:** Resultados de dureza dos géis de CPS80 para a adição de MgCl<sub>2</sub>

Grupo	% Prot. do CPS80	[MgCl <sub>2</sub> ] (mM)	Dureza (g)	Resultado Estatístico (A mesma letra indica que não há diferença significativa entre os géis pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade)
31	6	0	0	R
31	6	0	0	
31	6	0	0	
32	6	7,5	50.512	ORPQ
32	6	7,5	51.882	
32	6	7,5	54.396	
33	6	15	76.821	NOPQ
33	6	15	77.136	
33	6	15	76.032	
34	6	30	83.681	NOLPKM
34	6	30	87.785	
34	6	30	93.078	
35	6	75	115.363	NILKJM
35	6	75	116.339	
35	6	75	117.061	
36	7	0	0	R
36	7	0	0	
36	7	0	0	
37	7	7,5	76.399	NOLPQM
37	7	7,5	89.270	
37	7	7,5	80.706	
38	7	15	100.556	NOLKM
38	7	15	100.078	
38	7	15	99.895	
39	7	30	139.558	HIKJ
39	7	30	154.129	
39	7	30	152.219	
40	7	75	161.997	HIFG
40	7	75	176.813	
40	7	75	177.308	
41	8	0	62.955	NORPQ
41	8	0	58.004	
41	8	0	52.014	
42	8	7,5	138.927	HILKJ
42	8	7,5	147.716	
42	8	7,5	141.488	
43	8	15	168.221	HIFEG
43	8	15	176.463	
43	8	15	188.261	
44	8	30	211.109	HDFEG
44	8	30	200.103	
44	8	30	175.735	
45	8	75	249.925	DC
45	8	75	249.365	
45	8	75	250.777	

**Tabela 8:** Médias e desvios dos valores de dureza dos géis com 6% de CPS

[CaCl <sub>2</sub> ou MgCl <sub>2</sub> ] mM	6% CPS		
	CaCl <sub>2</sub> c/ NaCl	CaCl <sub>2</sub> s/ NaCl	MgCl <sub>2</sub> s/ NaCl
0	0±0	0±0	0±0
7,5	47,443±5,095	35,221±0,880	52,263±1,970
15	105,040±12,258	165,032±8,746	76,663±0,569
30	139,699±10,142	169,950±13,155	88,181±4,711
75	143,016±15,326	180,685±18,062	116,254±0,852

**Tabela 9:** Médias e desvios dos valores de dureza dos géis com 7% de CPS

[CaCl <sub>2</sub> ou MgCl <sub>2</sub> ] mM	7% CPS		
	CaCl <sub>2</sub> c/ NaCl	CaCl <sub>2</sub> s/ NaCl	MgCl <sub>2</sub> s/ NaCl
0	24,981±2,836	0±0	0±0
7,5	99,432±7,301	45,452±0,491	82,125±6,552
15	166,882±18,733	219,714±4,813	100,176±0,341
30	212,419±16,987	245,055±29,766	148,635±7,919
75	236,100±27,686	249,609±36,035	172,039±8,700

**Tabela 10:** Médias e desvios dos valores de dureza dos géis com 8% de CPS

[CaCl <sub>2</sub> ou MgCl <sub>2</sub> ] mM	8% CPS		
	CaCl <sub>2</sub> c/ NaCl	CaCl <sub>2</sub> s/ NaCl	MgCl <sub>2</sub> s/ NaCl
0	33,667±4,880	57,658±5,479	57,658±5,479
7,5	117,937±16,620	80,652±8,660	142,710±4,520
15	233,496±8,686	260,527±14,235	177,648±10,072
30	325,680±27,820	341,369±46,156	195,649±18,103
75	331,852±32,716	397,950±8,524	250,22±0,711

**Tabela 11:** Resultados estatísticos do teste de Tukey para os géis

[saís] mM	Dureza (g)									
	6%CPS			7%CPS			8% CPS			
	CaCl <sub>2</sub> c/ NaCl	CaCl <sub>2</sub> s/ NaCl	MgCl <sub>2</sub> s/ NaCl	CaCl <sub>2</sub> c/ NaCl	CaCl <sub>2</sub> s/ NaCl	MgCl <sub>2</sub> s/ NaCl	CaCl <sub>2</sub> c/ NaCl	CaCl <sub>2</sub> s/ NaCl	MgCl <sub>2</sub> s/NaCl	
0	R	R	R	RQ	R	R	RPQ	NORPQ	NORPQ	
7,5	ORPQ	RPQ	ORPQ	NOLKM	ORPQ	NOLPQM	NILKJM	NOPQM	HILKJ	
15	NOLJKM	HIGJ	NOPQ	HIGJ	DC	NOLKM	DFE	BC	HIFEG	
30	HILKJM	HIG	NOLPKM	DFEG	DC	HIKJ	B	BA	HDFEG	
75	HILKJ	HFEG	NILKJM	DCE	DC	HIFG	B	A	DC	

A mesma letra indica que não há diferença significativa entre os géis pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

#### 4. Curva padrão de cátions cálcio e valores de cálcio iônico, ligado e total

Tabela 12: Curva Padrão de Cátions Cálcio

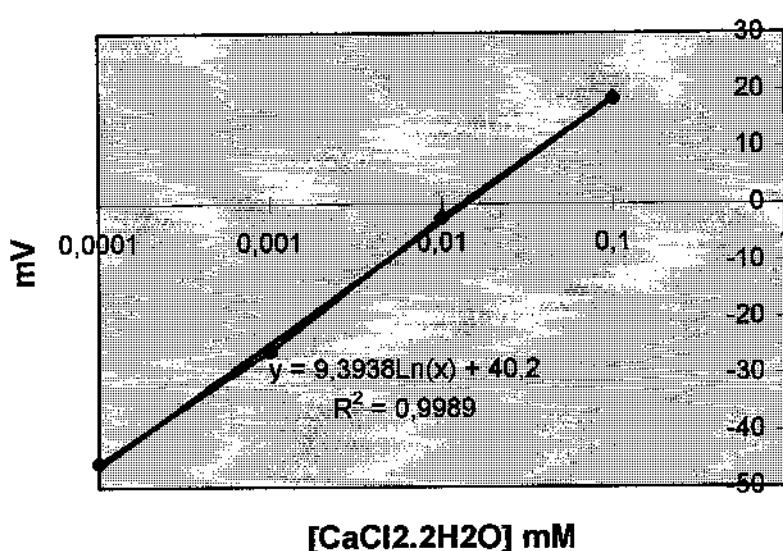
[CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O] mM	mV
0,1	18,5
0,01	-2,3
0,001	-26
0,0001	-45,7

Tabela 13: Resultados obtidos através do pHmetro de íons cálcio

Amostra	[CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O] M	mV	g Ca <sup>++</sup> /100 ml	g/100g de CPS
8% de proteínas do CPS80 dialisado	0,0016	-20,3	0,00642	-
8% de proteínas do CPS80 não dialisado	0,0026	-15,8	0,01043	0,093±0,02
Água de diálise	0,00000534	-73,8	-	-
Cinzas Totais do CPS8002	0,0070	-6,4	-	0,27±0,03
Cinzas Totais do CPS80	0,0087	-4,4	-	0,31±0,01

**Cálcio Iônico do CPS80 - 0,093%** **Cálcio Total do CPS80 - 0,31%** **Cálcio Ligado do CPS80 - 0,271%**

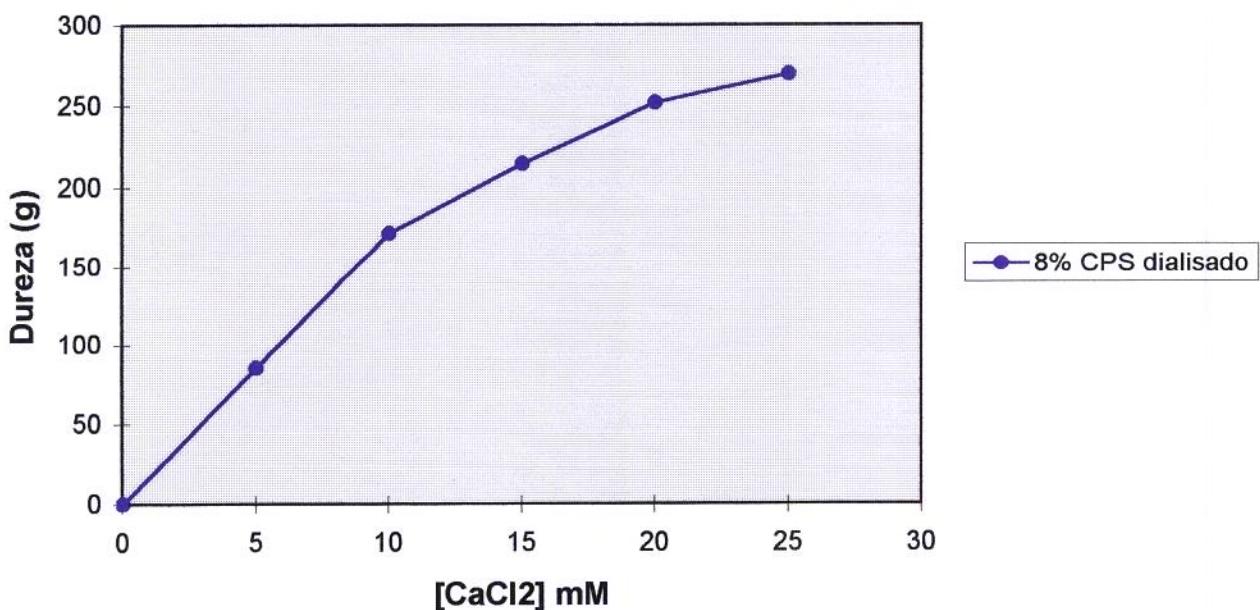
Figura 5: Curva padrão de cátions cálcio



## 5. Géis de CPS80 dialisado com adição de $\text{CaCl}_2$

**Tabela 14:** Resultados de dureza dos géis de CPS80 dialisado com adição de  $\text{CaCl}_2$

[ $\text{CaCl}_2$ ] mM	Dureza (g) dos géis com 8% de prot. de CPS80 dialisado
0	0±2,56
5	85,633±3,41
10	171,572±8,01
15	214,556±12,89
20	251,408±12,86
25	269,498±14,45



**Figura 6:** Relação da dureza e concentração de  $\text{CaCl}_2$  em géis com 8% de proteínas do CPS80 dialisado

Através dos resultados anteriores verificou-se que a solução com 8% de proteína do CPS80 sem a adição de  $\text{CaCl}_2$  formou gel. Após dialisar uma solução com 8% de proteínas do CPS80 não há formação de gel. O processo de diálise retirou 65% do cálcio iônico da

amostra de CPS80. Com adição de  $\text{CaCl}_2$  na solução dialisada verificou-se que a dureza é recuperada ficando próxima a dureza dos géis de CPS80 não dialisados. O que mostra que o cálcio livre ou iônico é importante na formação de gel da proteína do CPS80.

Podemos observar na Tabela 13, que o CPS80 contém 0,093% de cálcio iônico e 0,31% de cálcio total.

No trabalho de Smith e Rose (1994) foram utilizados 3 CPS com percentuais de proteína em torno de 75%, o cálcio total encontrado ficou na faixa de 0,22–0,41g/ 100g CPS e cálcio iônico na faixa de 2,98–47,25mg/ 100g de proteína. Os valores encontrados neste trabalho estão dentro desta faixa.

Kuhn e Foegeding (1991) também investigaram o papel de íons dialisáveis nas propriedades gelatinizantes de solução de CPS comercial. Eles usaram diálise convencional para remover de 10 a 60% do  $\text{Ca}^{++}$ , percentuais desconhecidos dos outros íons e lactose dialisáveis. O que resulta em géis mais fortes com maiores valores de firmeza, o que Brandenberg et al. (1992) discorda, a reposição de 0,8 a 13,4 mM de  $\text{Ca}^{++}$  que foi removido por diálise, acentuou as propriedades gelatinizantes de 2 das 4 soluções. Diálise contra um buffer contendo EGTA para remover 73% a 85% do  $\text{Ca}^{++}$  enfraquece as propriedades gelatinizantes das soluções de CPS, resultando em géis com valores mais baixos de firmeza comparado aos que foram obtidos para solução de CPS dialisados convencionalmente.

O efeito de concentrações de  $\text{Ca}^{++}$  e outros íons na gelatinização de soluções de CPS tem sido investigado (Kuhn e Foegeding, 1991, Schmidt et al. 1979, Schmidt et al. 1984 e Branderberg et al. 1992). Adições de 0,1 M (100mM) de íons de  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{PO}_4^{3-}$  acentuam as propriedades gelatinizantes de soluções de CPS desmineralizadas e deslactosadas preparadas em água destilada. A concentração ótima de íons adicionados, é algo menos que 0,2 M (200mM) (Branderberg et al. 1992).

Resultados encontrados por Jost (1993) sugerem que uma quantidade específica de  $[\text{Ca}^{++}]$  foi necessária para otimizar a dureza e %UE de géis. Este efeito foi independente da concentração total de cálcio. Existe uma forte hipótese de que o cálcio iônico influencia as cross-links eletrostáticas entre moléculas protéicas e, subsequentemente, a força iônica. Em  $[\text{Ca}^{++}]$  abaixo do ideal, “cross-links” eletrostáticas são fracas resultando em géis fracos, ao passo que se excessivas  $[\text{Ca}^{++}]$  estiverem presentes, atrações entre moléculas protéicas forçam a rede gel a entrar em colapso.

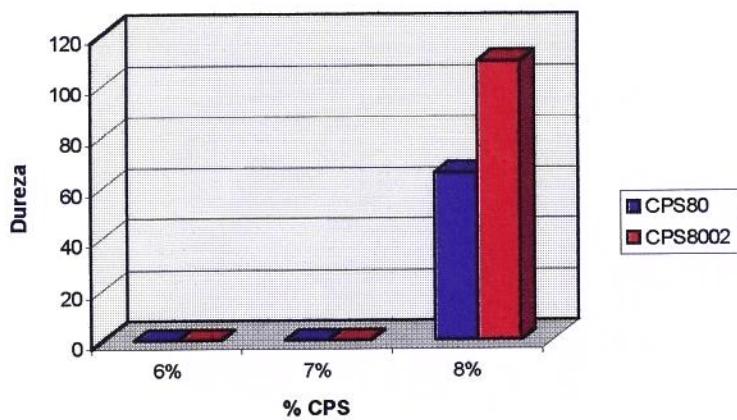
## **6. Valores de dureza dos géis de CPS8002**

**Tabela 15:** Resultados de dureza dos géis de CPS8002

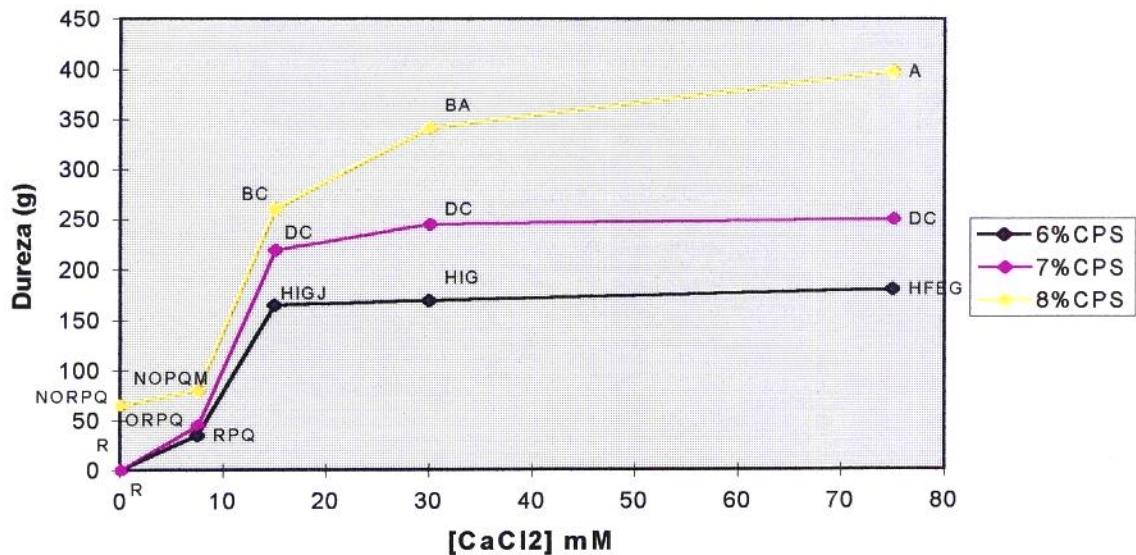
Grupo	% Prot. do CPS8002	[CaCl <sub>2</sub> ] (mM)	Dureza (g)
1	6	0	0
1	6	0	0
1	6	0	0
2	7	0	0
2	7	0	0
2	7	0	0
3	8	0	114,010
3	8	0	104,937
3	8	0	157,413

*média = 109,473 ± 6,415*

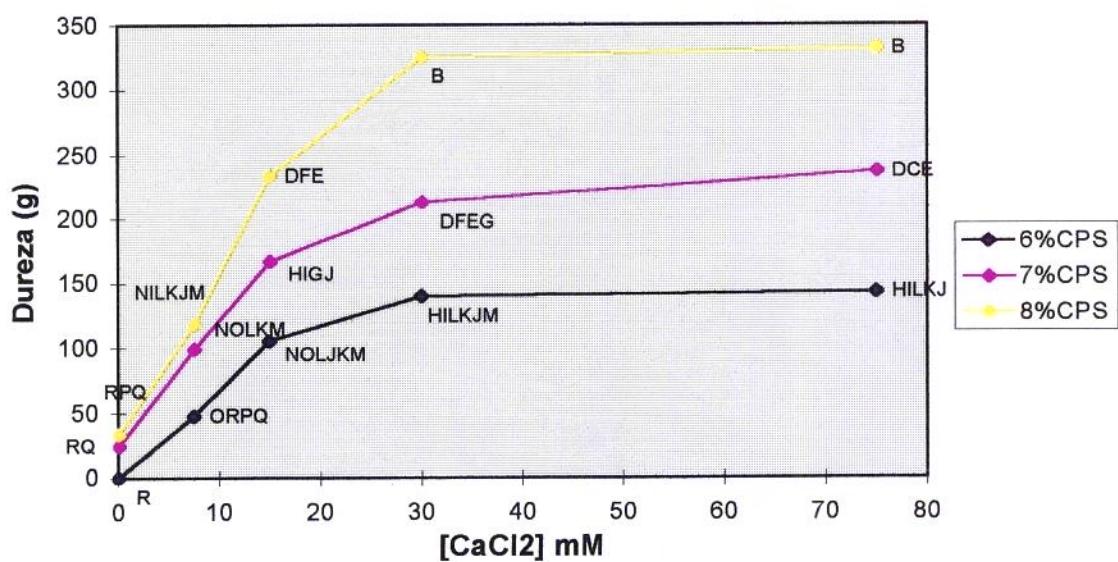
**Figura 7:** Dureza dos CPS80 e CPS8002



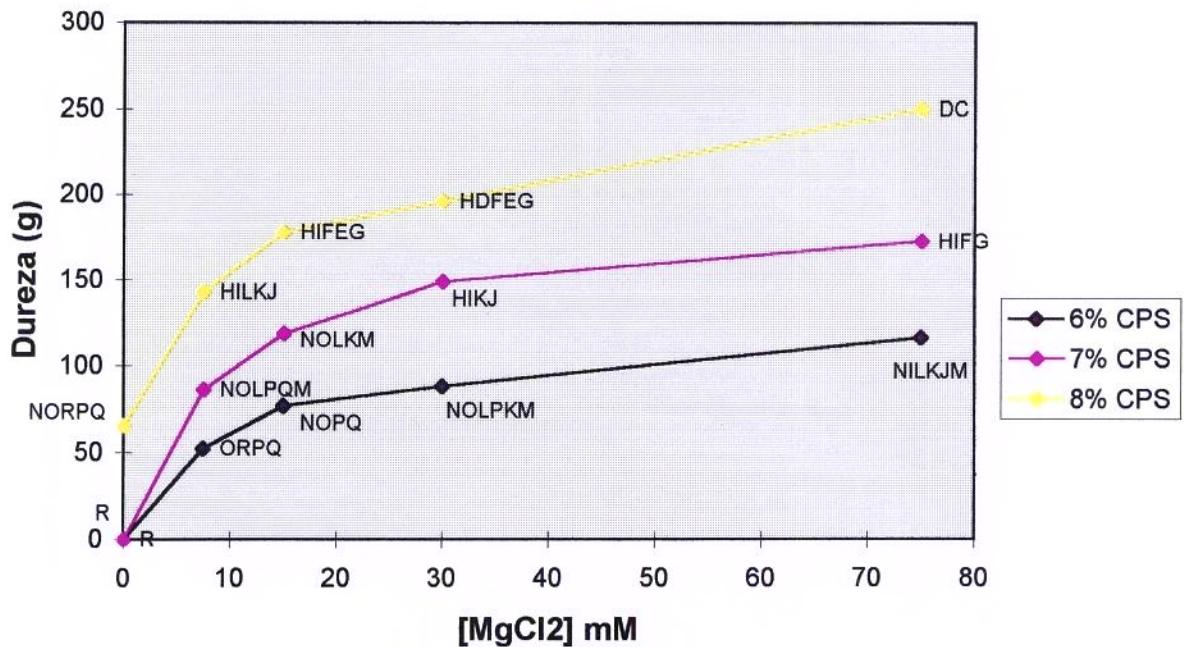
**Figura 8:** Relação da dureza e concentração de  $\text{CaCl}_2$  para 3 diferentes concentrações de proteína de CPS80 sem NaCl



**Figura 9:** Relação da dureza e concentração de  $\text{CaCl}_2$  para 3 diferentes concentrações de proteína de CPS80 com 1,67% de NaCl



**Figura 10:** Relação da dureza e concentração de MgCl<sub>2</sub> para 3 diferentes concentrações de proteína de CPS80



Observando as Figuras 8, 9 e 10 acima, podemos dizer que a adição de CaCl<sub>2</sub> e MgCl<sub>2</sub> modifica a dureza dos géis.

Segundo De Wit (1981) e Schmidt et al. (1978) o efeito de mudar a força iônica ou proporção relativa de espécies iônicas antes ou após aquecimento pode induzir profundas diferenças nas interações proteína-proteína.

Através das Figuras 8, 9 e 10 de Dureza X [CaCl<sub>2</sub>] com e sem NaCl e Dureza X [MgCl<sub>2</sub>], verificou-se que o comportamento deles é bastante semelhante. Em todos os 3 tratamentos quanto maior a concentração do sal adicionado (CaCl<sub>2</sub> ou MgCl<sub>2</sub>), maior a dureza dos géis obtidos. Os maiores valores de dureza para cada uma das respectivas concentrações do sal adicionado, foram para a maior concentração de proteínas de CPS (8%).

Segundo Shimada e Cheftel (1988), Brandenberg et al. (1992) e Morr e Ha (1993) a dureza do gel aumenta com a concentração de proteínas , isto ocorre devido aos altos níveis

de ligações protéicas intermoleculares que são formadas, as ligações “cross-links” irreversíveis entre cadeias de proteína na rede gel tem sido atribuídas as ligações dissulfídicas e hidrofóbicas.

Foi observado que sem a adição de  $\text{CaCl}_2$  ou de  $\text{MgCl}_2$ , não há diferença significativa a um nível de 5% ( $p<0,05$ ) entre os valores de dureza obtidos, para as 3 concentrações de proteína do CPS utilizado.

Na concentração de 7% de CPS sem a adição de NaCl não houve formação de gel, já com a adição de NaCl gel é formado. Podemos atribuir esta formação de gel a presença do NaCl. Os cátions de  $\text{Na}^+$  adicionados irão ligar-se ao sítios negativos, provenientes dos resíduos de aminoácidos ácidos e grupos sulfidrílicos, mudando assim a estrutura da proteína e propiciando a formação de gel.

A concentração utilizada de NaCl neste estudo foi de 1,67% o equivalente a 287 mM de NaCl, de acordo com o trabalho de Kuhn e Foegeding (1991b) a partir de 50-75 mM de NaCl a firmeza do gel começa a cair, isto sugere que a concentração usada de NaCl foi muito alta. O NaCl em baixas concentrações causa um aumento da quantidade de água ligada pela proteína, mas em altas concentrações a hidratação protéica diminui porque nesta concentração os íons competem com os grupos pelos sítios ligantes de água.

O trabalho de Shimada e Cheftel (1988) mostra que a firmeza dos géis aumenta em pHs neutros e alcalinos na presença de NaCl. Em baixas concentrações o NaCl é conhecido por afetar interações eletrostáticas entre moléculas protéicas e por neutralizar cargas elétricas, enquanto altas concentrações de NaCl estabilizam interações hidrofóbicas.

Kuhn e Foegeding (1991b) estudaram o efeito de combinar KCl com  $\text{CaCl}_2$ . Os valores de firmeza dos géis formados com sais misturados dentro da faixa estudada, revelou que  $\text{CaCl}_2$  tem um efeito dominante sobre o KCl na estrutura gel. Foi mostrado neste trabalho que alterar a concentração de  $\text{CaCl}_2$  pode ser um efetivo caminho para modificar as propriedades reológicas.

Um aumento na dureza geralmente tem sido atribuída a um ótimo balanço entre interações proteína-proteína e proteína-solvente, para a mesma concentração de sais, os cátions bivalentes e trivalentes tem um efeito maior nas propriedades do gel, que os cátions monovalentes (Tang et al., 1994).

De acordo com os resultados obtidos, sem a adição de CaCl<sub>2</sub> ou com uma baixa concentração (<7,5 mM), o NaCl tem o efeito de acentuar a dureza. Porém com a adição de concentrações um pouco maiores de CaCl<sub>2</sub> (>10mM) com a adição de NaCl, diminui a dureza dos géis obtidos. Ocorreu possivelmente uma competição entre os cátion Na<sup>+</sup> e Ca<sup>++</sup> pelas cargas negativas da proteína.

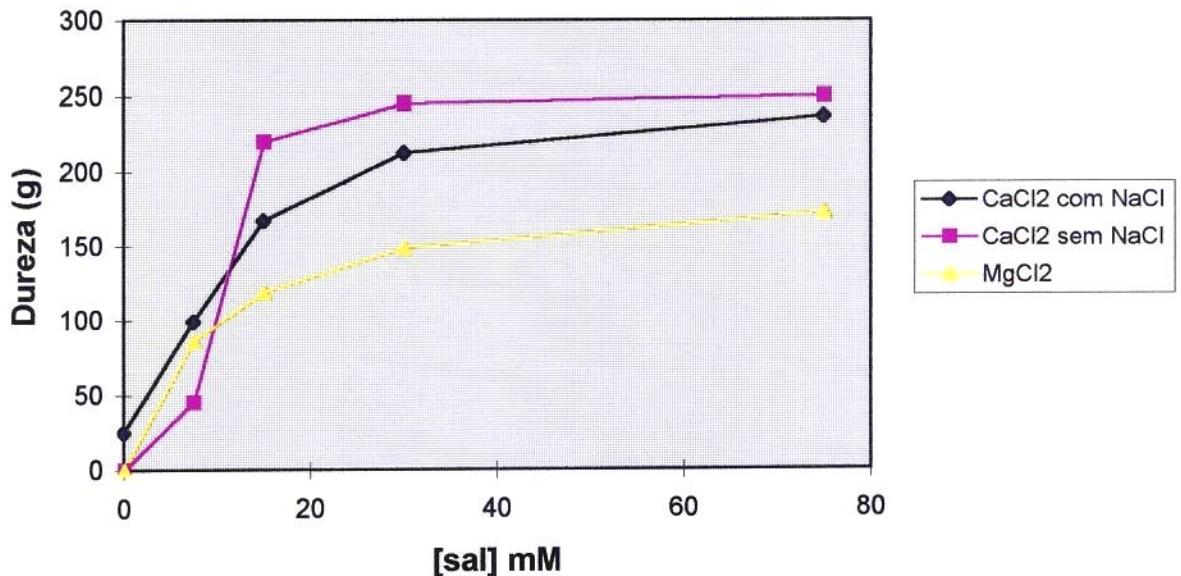
Observou-se que os géis com adição de CaCl<sub>2</sub> atingiram valores de dureza significativamente ( $p<0,05$ ) maiores comparado aos géis com adição de MgCl<sub>2</sub>. Isto foi verificado nas concentrações de 15, 30 e 75 mM do sal adicionado, para as 3 concentrações de proteína do CPS80 testadas. Na concentração de 7,5 mM de sal ocorreu o contrário, o valor da dureza do gel com MgCl<sub>2</sub> é significativamente maior ( $p<0,05$ ) que o valor de dureza do gel com CaCl<sub>2</sub>.

Kuhn e Foegeding (1991b) afirmaram que o nível ótimo de cálcio para a formação do gel, é dependente do sistema.

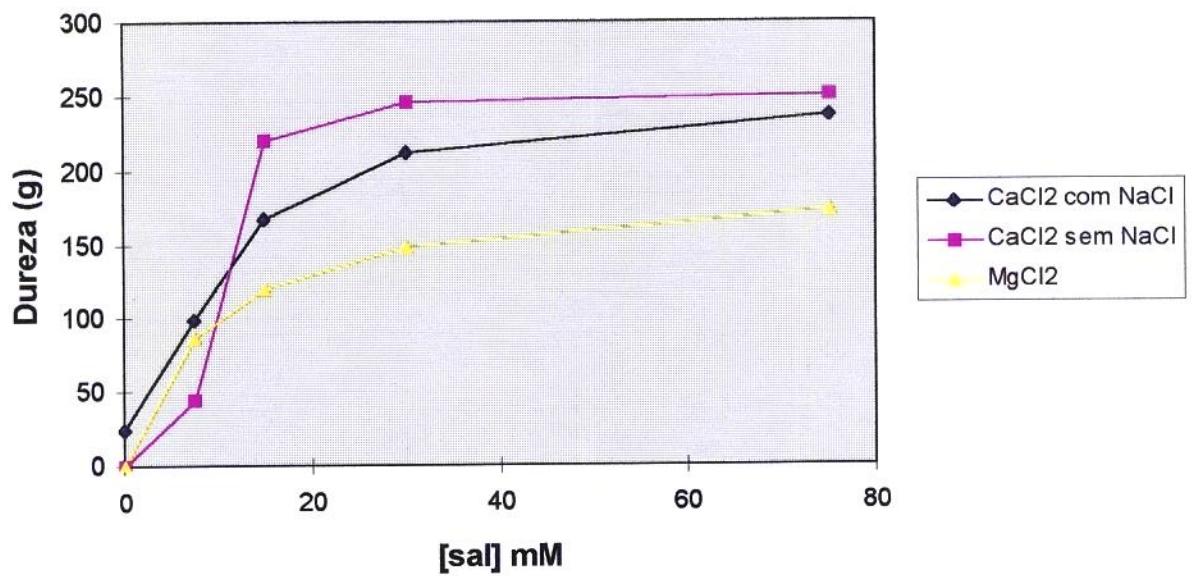
Dentro do tratamento com CaCl<sub>2</sub> sem NaCl verificou-se que para as concentrações de proteínas de 6 e 7% de CPS80, o maior valor de dureza foi obtido em 15 mM de CaCl<sub>2</sub> não diferindo significativamente ( $p<0,05$ ) das concentrações de 30 e 75 mM de CaCl<sub>2</sub>. Para a concentração de 8% de CPS o maior valor de dureza é obtido em 30 mM de CaCl<sub>2</sub> não diferindo significativamente ( $p<0,05$ ) do valor obtido em 75 mM de CaCl<sub>2</sub>. As soluções protéicas com maiores concentrações apresentam mais sítios ligantes de cátions, possibilitando a ocorrência de mais ligações, influenciando na formação da rede gel e consequentemente na dureza do gel obtido.

Dentro dos tratamentos com CaCl<sub>2</sub> com NaCl e MgCl<sub>2</sub>, verifica-se que nas concentrações de proteína de 7 e 8% de CPS o maior valor de dureza é obtido em 30 mM de CaCl<sub>2</sub> não diferindo significativamente ( $p<0,05$ ) da concentração de 75 mM de CaCl<sub>2</sub>.

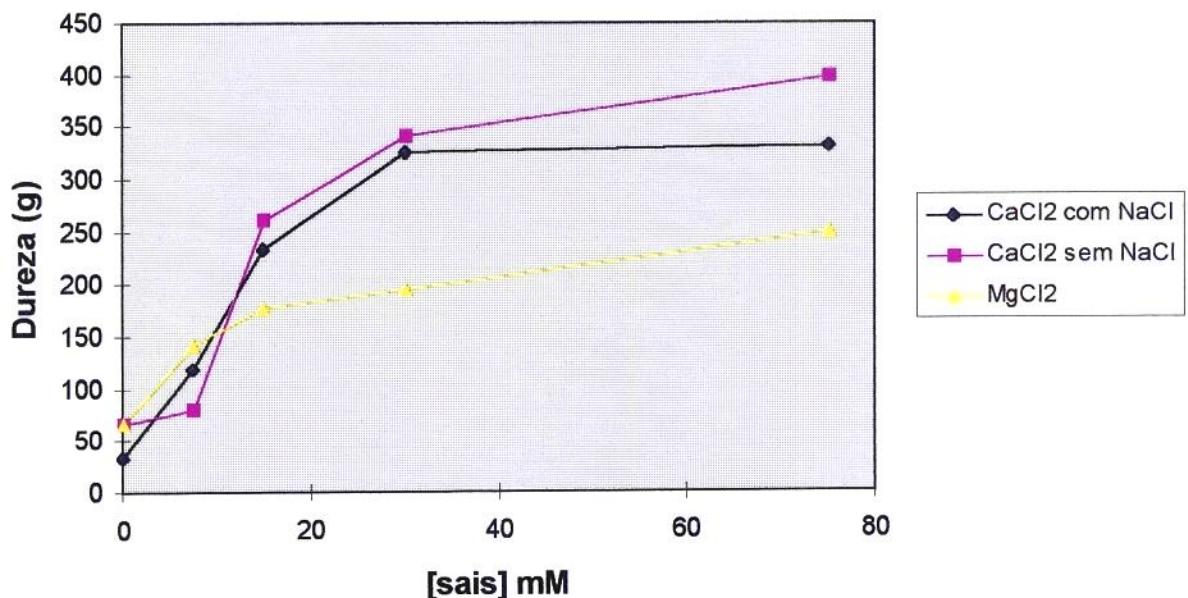
**Figura 11:** Relação da dureza e concentração de sal para 6% de proteína de CPS80



**Figura 12:** Relação da dureza e concentração de sal para 7% de proteína de CPS80



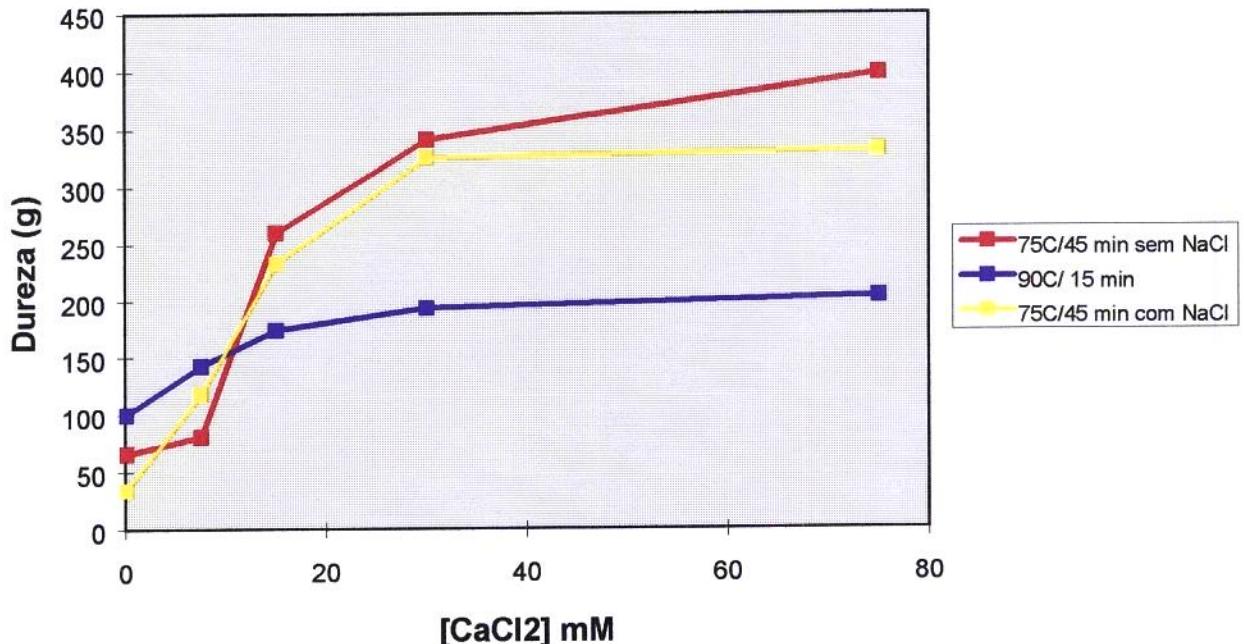
**Figura 13:** Relação da dureza e concentração de sal para 8% de proteína de CPS80



As Figuras 11, 12 e 13 ilustram o fato de que para as 3 concentrações de proteína de CPS80 verificou-se que abaixo de 10 mM de sal adicionado o tratamento com CaCl<sub>2</sub> sem NaCl apresenta as menores durezas e acima de 10 mM este comportamento é invertido, ficando este tratamento com as maiores durezas.

## **7. Comparação entre dois diferentes tratamentos de temperatura/tempo**

**Figura 14:** Relação da dureza e concentração de CaCl<sub>2</sub> nos géis a 8% de proteína do CPS80 em dois diferentes tratamentos de temperatura/tempo



Observando a Figura 14, verifica-se que o tratamento térmico para formação dos géis realizado a 75°C/45 min atingiu um valor de dureza 2 vezes maior, na concentração de 75 mM de CaCl<sub>2</sub>, do que o tratamento térmico a 90°/15 min. De acordo com os resultados, um tratamento térmico de 90°/15 min, forma géis com dureza maior quando a concentração de CaCl<sub>2</sub> foi menor 11 mM, porém acima de 11 mM de CaCl<sub>2</sub> o tratamento térmico a 75°C/45 min forma géis com dureza muito maiores.

A desnaturação induzida por calor e a agregação térmica das PS são suscetíveis a força iônica.

A desnaturação de  $\beta$ -Lg resulta na formação de grupos tiol livres que reagem para formar pontes dissulfídicas intermoleculares com  $\beta$ -Lg adjacentes e outras moléculas proteícas.

A desnaturação térmica de  $\beta$ -Lg entre 65° e 70°C em pH 6,75 tem mostrado seguir uma cinética de 1<sup>a</sup> ordem, se bem que acima de 70° o mecanismo desvia-se de um processo cinético de 1<sup>a</sup> ordem. A taxa de desnaturação térmica de  $\beta$ -Lg depende do pH da solução e foi calculada como adequa principalmente de uma reação de 2<sup>a</sup> ordem, entre pH 6,0 e 9,0 (Park e Lund, 1984).

Acima de 90°C, uma quebra (inclinação côncava) no gráfico linear de Arrhenius atribui uma queda na taxa de desnaturação protéica e implica em uma proteína mais estável em temperatura acima de 90°C (Manji e Kakuda, 1986).

A temperatura de desnaturação obtida para CPS sem a adição de algum sal foi 75°C. Este valor é comparado com o de  $\beta$ -lactoglobulina, perto de 80°C. Na presença de  $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{MgCl}_2$  a temperatura de desnaturação do CPS, foi quase 2-4°C mais baixa que aquela de CPS sem algum sal. Na presença de  $\text{NaCl}$ , a temperatura de desnaturação do CPS é ligeiramente aumentada. Este resultado coincide bem com a propriedade geral deste sal de atuar contra a desnaturação de proteínas. A presença de  $\text{Ca}^{++}$  ou  $\text{Mg}^{++}$  claramente promove a desnaturação do CPS. Entretanto, a entalpia do CPS quando  $\text{CaCl}_2$  foi adicionado foi muito menor, do que com a adição de  $\text{MgCl}_2$  ou  $\text{NaCl}$ , assim o papel do  $\text{Ca}^{++}$  na desnaturação térmica de PS pode diferir no mínimo um pouco do papel dos outros sais (Varunsatian et al. 1993).

**8. Resultados de % Umidade Espremível, Dureza, Elasticidade, Coesividade, Mastigabilidade e parâmetros de Cor L\*, a\* e b\*, para as formulações de salsicha**

**Tabela 16:** Resultados de % Umidade Espremível, Dureza, Elasticidade, Coesividade, mastigabilidade e parâmetros de Cor L\*, a\* e b\*, das formulações de salsicha com 8 repetições cada formulação

	[CaCl2] (mM)	Tipo CPS	[CPS] (%)	%UE	DUR (g)	SPG	COS	MAS	COR L	COR a	COR b
<b>Padrão</b>	0	0	0	33,244	3074,791	0,947	0,729	2123,181	75,31	1,62	9,32
	0	0	0	31,350	2925,470	0,897	0,729	1915,321	77,41	1,79	9,60
	0	0	0	36,904	3107,556	0,891	0,719	1992,601	75,91	1,50	9,27
	0	0	0	34,844	2912,707	0,901	0,724	1897,858	75,09	1,33	9,24
	0	0	0	35,907	2984,533	0,943	0,733	2062,049	75,10	1,81	9,26
	0	0	0	32,339	3063,337	0,930	0,737	2098,848	75,63	1,60	9,23
	0	0	0	31,925	2850,207	0,926	0,715	1886,671	77,70	1,77	9,80
	0	0	0	33,889	2849,774	0,894	0,719	1832,167	74,79	1,87	9,18
<b>7%CPS80</b>	0	80	7	34,381	2419,269	0,923	0,700	1563,110	76,23	1,38	9,23
	0	80	7	37,322	2416,157	0,929	0,726	1629,153	76,01	1,40	9,19
	0	80	7	35,273	2328,206	0,894	0,697	1451,236	75,96	1,49	8,87
	0	80	7	35,983	2203,946	0,904	0,708	1411,613	76,52	1,49	9,45
	0	80	7	36,891	2325,831	0,920	0,719	1539,033	76,02	1,58	8,51
	0	80	7	34,426	2321,757	0,961	0,711	1586,665	76,21	1,64	8,77
	0	80	7	32,014	2212,292	0,920	0,702	1428,358	76,12	1,39	9,11
	0	80	7	33,420	2238,631	0,917	0,690	1417,040	76,18	1,26	8,88
<b>8%CPS80</b>	0	80	8	39,032	2746,390	0,901	0,712	1760,047	76,60	0,92	9,56
	0	80	8	39,088	2906,984	0,856	0,710	1766,669	79,17	1,28	10,03
	0	80	8	36,468	2447,541	0,884	0,697	1507,400	76,61	1,04	9,33
	0	80	8	33,452	2451,194	0,902	0,688	1520,901	76,64	1,12	9,80
	0	80	8	34,751	2809,153	0,907	0,707	1803,071	76,76	0,94	9,26
	0	80	8	31,561	2495,335	0,895	0,729	1629,468	76,86	1,02	9,26
	0	80	8	32,998	2925,598	0,915	0,717	1918,301	76,82	1,00	9,09
	0	80	8	32,318	2922,240	0,929	0,688	1866,688	75,65	1,04	9,18
<b>7%CPS+7,5</b>	7,5	80	7	31,337	2034,504	0,933	0,737	1397,916	75,82	1,76	8,85
	7,5	80	7	30,311	2388,191	0,913	0,705	1536,765	74,62	2,24	9,29
	7,5	80	7	30,650	2231,452	0,922	0,730	1501,574	76,54	1,95	9,28
	7,5	80	7	35,500	2304,242	0,938	0,732	1582,773	77,11	2,06	9,34
	7,5	80	7	34,683	2197,157	0,937	0,728	1499,263	75,72	1,81	8,88
	7,5	80	7	32,038	2098,810	0,921	0,709	1369,805	73,13	1,86	8,96
	7,5	80	7	33,841	2261,477	0,925	0,742	1551,662	74,89	2,13	8,96
	7,5	80	7	32,952	2055,162	0,941	0,718	1388,366	75,18	1,80	9,08
	7,5	80	8	30,637	2673,724	0,923	0,688	1698,590	76,86	1,88	8,51
	7,5	80	8	38,794	2956,756	0,939	0,716	1987,894	79,43	1,62	9,08
	7,5	80	8	32,435	3173,670	0,920	0,733	2140,417	77,57	1,23	8,36

<b>8%CPS+7,5</b>	7,5	80	8	30,087	2380,805	0,897	0,623	1331,100	76,88	1,20	9,06
	7,5	80	8	31,875	3016,666	0,913	0,663	1825,320	77,28	1,34	9,08
	7,5	80	8	34,184	2715,716	0,921	0,709	1772,323	77,49	1,36	8,71
	7,5	80	8	33,942	2567,823	0,919	0,619	1459,832	76,70	1,32	9,17
	7,5	80	8	30,919	2794,138	0,913	0,604	1542,425	76,80	1,45	8,76
<hr/>											
<b>7%CPS+15</b>	15	80	7	37,416	2759,625	0,919	0,736	1867,969	76,07	2,05	9,13
	15	80	7	35,995	2496,519	0,915	0,730	1667,354	75,73	1,84	9,22
	15	80	7	34,050	2577,123	0,939	0,724	1752,070	76,28	1,99	9,40
	15	80	7	32,734	2879,960	0,925	0,731	1949,305	75,90	1,95	9,60
	15	80	7	34,606	2702,832	0,928	0,726	1822,210	75,30	1,94	8,95
	15	80	7	33,521	2644,233	0,908	0,716	1719,146	75,22	1,35	8,88
	15	80	7	35,131	2706,675	0,953	0,716	1846,589	75,43	1,97	9,23
	15	80	7	32,991	2756,800	0,943	0,727	1890,615	75,53	1,83	9,04
	15	80	8	34,731	2683,864	0,921	0,731	1806,558	76,69	1,18	9,02
	15	80	8	32,690	2601,339	0,919	0,718	1716,895	77,02	1,23	9,05
<b>8%CPS+15</b>	15	80	8	36,080	2611,688	0,922	0,604	1453,557	75,52	1,60	9,21
	15	80	8	36,404	2201,674	0,915	0,584	1176,412	76,49	1,51	9,43
	15	80	8	33,142	2723,306	0,926	0,729	1837,964	76,15	1,35	8,84
	15	80	8	38,304	2255,110	0,925	0,676	1409,346	77,14	1,21	9,03
	15	80	8	33,509	2202,207	0,933	0,706	1449,891	76,85	1,20	9,12
	15	80	8	36,884	2857,432	0,916	0,690	1803,835	74,07	1,47	8,47
	30	80	7	34,144	2641,618	0,894	0,708	1671,924	75,65	1,68	9,67
	30	80	7	42,647	2362,985	0,916	0,704	1522,925	75,89	1,83	9,80
	30	80	7	34,313	2498,100	0,942	0,723	1699,450	75,83	1,64	9,42
	30	80	7	36,127	2588,537	0,929	0,725	1744,189	75,80	1,80	9,65
<b>7%CPS+30</b>	30	80	7	32,421	2563,721	0,932	0,703	1680,765	75,39	1,73	9,25
	30	80	7	34,017	2623,492	0,942	0,725	1792,136	75,91	1,72	9,50
	30	80	7	31,266	2591,691	0,919	0,690	1644,420	75,77	1,62	9,39
	30	80	7	37,704	2558,740	0,917	0,674	1581,514	76,14	1,63	9,55
	30	80	8	34,611	2726,202	0,918	0,687	1717,295	76,17	1,64	9,28
	30	80	8	37,377	2634,455	0,949	0,658	1644,910	77,89	1,94	9,20
	30	80	8	39,644	2569,568	0,942	0,701	1697,180	78,18	2,18	9,10
	30	80	8	28,561	2438,907	0,921	0,709	1594,246	74,58	1,93	8,74
	30	80	8	37,371	2572,431	0,947	0,617	1503,620	75,38	1,95	8,61
	30	80	8	33,161	2466,864	0,916	0,667	1505,734	75,05	1,71	8,94
<b>8%CPS+30</b>	30	80	8	33,057	2388,548	0,924	0,722	1592,179	75,31	1,80	8,74
	30	80	8	32,177	2475,937	0,817	0,543	1099,022	77,36	1,99	9,30
	75	80	7	33,220	2310,507	0,901	0,519	1080,775	76,39	1,17	9,97
	75	80	7	32,335	2894,910	0,897	0,584	1515,642	75,24	1,61	9,76
	75	80	7	34,216	2629,926	0,933	0,582	1427,690	75,39	1,46	10,15
	75	80	7	32,343	2203,769	0,921	0,480	975,076	75,27	1,28	10,15
	75	80	7	28,773	1943,995	0,920	0,468	837,279	77,16	1,39	10,08
	75	80	7	36,431	2555,416	0,907	0,529	1227,140	75,30	1,46	10,24
	75	80	7	30,807	2567,837	0,907	0,584	1360,146	76,17	1,34	9,66
	75	80	7	33,859	2746,330	0,943	0,538	1394,011	74,55	1,72	9,58
<b>7%CPS+75</b>	75	80	8	35,808	2825,003	0,911	0,624	1606,029	72,95	1,86	9,23
	75	80	8	36,218	2319,193	0,917	0,560	1191,101	73,29	1,76	8,91
	75	80	8	31,370	2396,582	0,909	0,614	1336,823	75,11	1,96	9,59
	75	80	8	37,455	2483,232	0,904	0,699	1568,010	76,04	1,60	8,38
	75	80	8	38,179	2825,415	0,920	0,628	1632,304	73,85	1,74	9,10
	75	80	8	33,586	2237,892	0,925	0,680	1407,442	76,05	1,58	8,80

	75	80	8	37,354	2202,342	0,943	0,680	1412,798	76,34	1,79	8,74
	75	80	8	31,701	2462,819	0,911	0,694	1557,574	76,12	1,62	8,69
7%CPS8002	0	8002	7	25,265	2675,143	0,928	0,727	1806,510	79,60	2,02	9,67
	0	8002	7	22,400	2793,061	0,919	0,732	1879,096	76,17	1,61	8,84
	0	8002	7	24,272	2447,656	0,933	0,730	1665,575	77,10	1,56	8,90
	0	8002	7	26,525	2396,699	0,957	0,726	1665,421	76,05	2,37	9,01
	0	8002	7	26,093	2679,630	0,942	0,722	1823,879	79,09	1,97	9,51
	0	8002	7	27,466	2891,227	0,907	0,723	1897,507	76,27	1,70	9,21
	0	8002	7	23,920	2544,423	0,916	0,729	1698,480	77,60	1,81	9,34
	0	8002	7	29,621	2767,271	0,918	0,726	1843,033	77,01	1,63	8,98
	0	8002	8	31,670	2375,428	0,936	0,734	1631,925	76,36	1,56	9,28
	0	8002	8	29,533	2366,258	0,942	0,746	1662,678	80,65	1,62	9,46
8%CPS8002	0	8002	8	28,659	2331,645	0,912	0,743	1579,867	77,67	1,31	9,10
	0	8002	8	28,461	2173,301	0,942	0,744	1522,453	77,56	1,32	9,10
	0	8002	8	30,991	2356,493	0,953	0,738	1658,065	77,92	1,43	9,28
	0	8002	8	29,593	2114,726	0,916	0,741	1434,636	77,49	1,36	9,16
	0	8002	8	32,753	2281,071	0,947	0,745	1610,271	77,28	1,34	8,95
	0	8002	8	32,737	2361,433	0,929	0,743	1629,512	78,03	1,24	9,16

**Tabela 17:** Resultados da análise estatística - Médias e Desvios padrão para as propriedades reológicas e % UE

Formulações	Propriedades Reológicas				
	%UE	Dureza	Elasticidade	Coesividade	Mastigabilidade
Padrão	33,800±1,97	2971,05±102,04	0,916±0,023	0,726±0,008	1976,09±108,82
7%CPS80	34,964±1,78	2308,26±84,34	0,921±0,020	0,707±0,012	1503,28±86,04
8%CPS80	34,959±2,94	2713,05±214,93	0,898±0,022	0,706±0,014	1721,57±153,32
7%CPS8002	25,695±2,25	2649,39±173,27	0,927±0,016	0,727±0,003	1784,94±94,79
8%CPS8002	30,550±1,73	2295,04±98,99	0,935±0,015	0,742±0,003	1591,18±77,86
7%CPS80+7,5	32,664±1,90	2196,37±125,10	0,929±0,010	0,725±0,013	1478,52±81,95
8%CPS80+7,5	32,859±2,82	2784,91±256,92	0,918±0,012	0,669±0,049	1719,74±270,78
7%CPS80+15	34,556±1,59	2690,47±118,39	0,929±0,015	0,726±0,007	1814,41±94,53
8%CPS80+15	35,218±2,01	2517,08±258,98	0,922±0,006	0,680±0,056	1581,81±242,49
7%CPS80+30	35,330±3,56	2553,61±88,52	0,924±0,016	0,706±0,018	1667,17±85,74
8%CPS80+30	34,495±3,54	2534,11±112,03	0,917±0,042	0,663±0,059	1544,27±196,26
7%CPS80+75	32,748±2,30	2481,59±309,67	0,916±0,016	0,535±0,046	1227,22±240,81
8%CPS80+75	35,209±2,66	2469,06±240,89	0,917±0,012	0,647±0,048	1467,01±153,32

Os valores apresentados nas tabelas acima são a média de 8 valores.

**Tabela 18:** Resultados da análise estatística - Médias e Desvios padrão para as propriedades de Cor

Formulações	Propriedades de Cor		
	Cor L	Cor a	Cor b
Padrão	75,868±1,099	1,661±0,183	9,363±0,219
7%CPS80	76,156±0,178	1,454±0,121	9,001±0,299
8%CPS80	76,889±0,999	1,045±0,113	9,439±0,329
7%CPS8002	77,361±1,340	1,834±0,274	9,182±0,302
8%CPS8002	77,870±1,234	1,397±0,131	9,186±0,153
7%CPS80+7,5	75,376±1,229	1,951±0,175	9,080±0,198
8%CPS80+7,5	77,376±0,893	1,425±0,226	8,841±0,301
7%CPS80+15	75,683±0,379	1,865±0,221	9,181±0,237
8%CPS80+15	76,241±1,020	1,344±0,164	9,021±0,280
7%CPS80+30	75,798±0,216	1,706±0,078	9,529±0,176
8%CPS80+30	76,240±1,340	1,892±0,171	8,989±0,270
7%CPS80+75	75,684±0,828	1,429±0,176	9,949±0,250
8%CPS80+75	74,969±1,398	1,739±0,134	8,930±0,372

Os valores apresentados nas tabelas acima são a média de 8 valores.

**Tabela 19:** Resultados da análise estatística – Teste de Tukey (diferenças entre as amostras) para as propriedades reológicas e % UE

Formulações	Propriedades Reológicas				
	%UE	Dureza	Elasticidade	Coesividade	Mastigabilidade
Padrão	ABC	A	AB	ABC	A
7%CPS80	AB	DE	AB	ABCD	C
8%CPS80	AB	ABC	B	ABCD	ABC
7%CPS8002	BC	BC	A	AB	AB
8%CPS8002	C	DE	A	A	BC
7%CPS80+7,5	ABC	E	A	ABC	CD
8%CPS80+7,5	ABC	AB	AB	CDE	ABC
7%CPS80+15	ABC	ABC	A	ABC	AB
8%CPS80+15	A	BCD	AB	BCDE	BC
7%CPS80+30	A	BCD	AB	ABCD	BC
8%CPS80+30	ABC	BCD	A	ED	BC
7%CPS80+75	ABC	BCDE	AB	F	D
8%CPS80+75	A	CDE	AB	E	CD

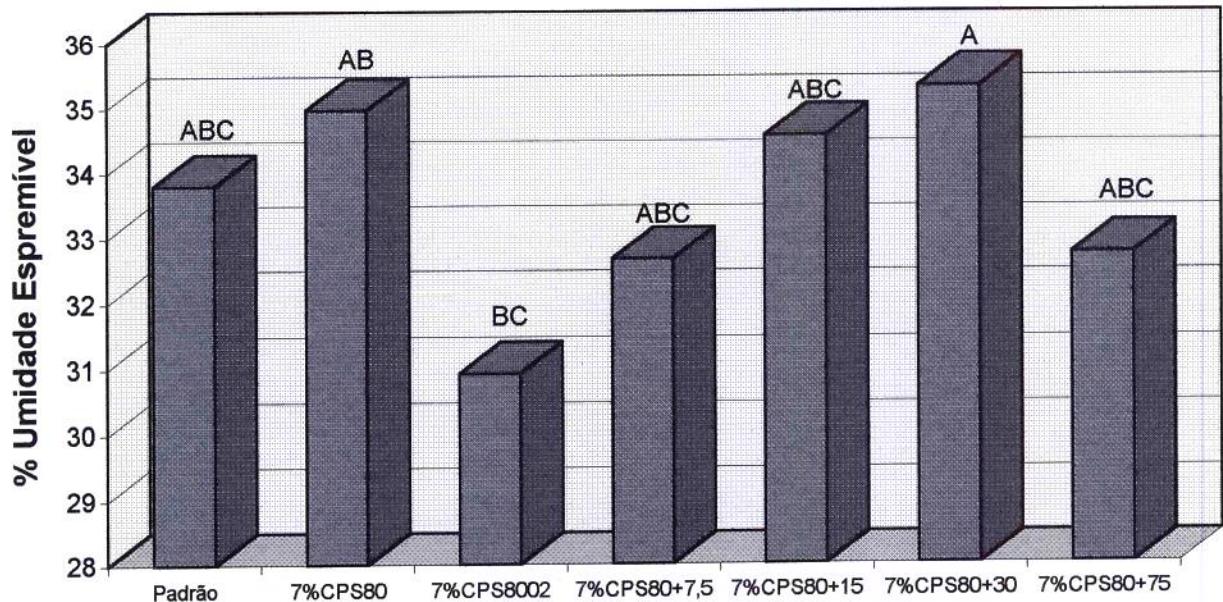
A mesma letra indica que não há diferença significativa entre os géis pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

**Tabela 20:** Resultados da análise estatística – Método de Tukey (diferenças entre as amostras) para as propriedades de Cor

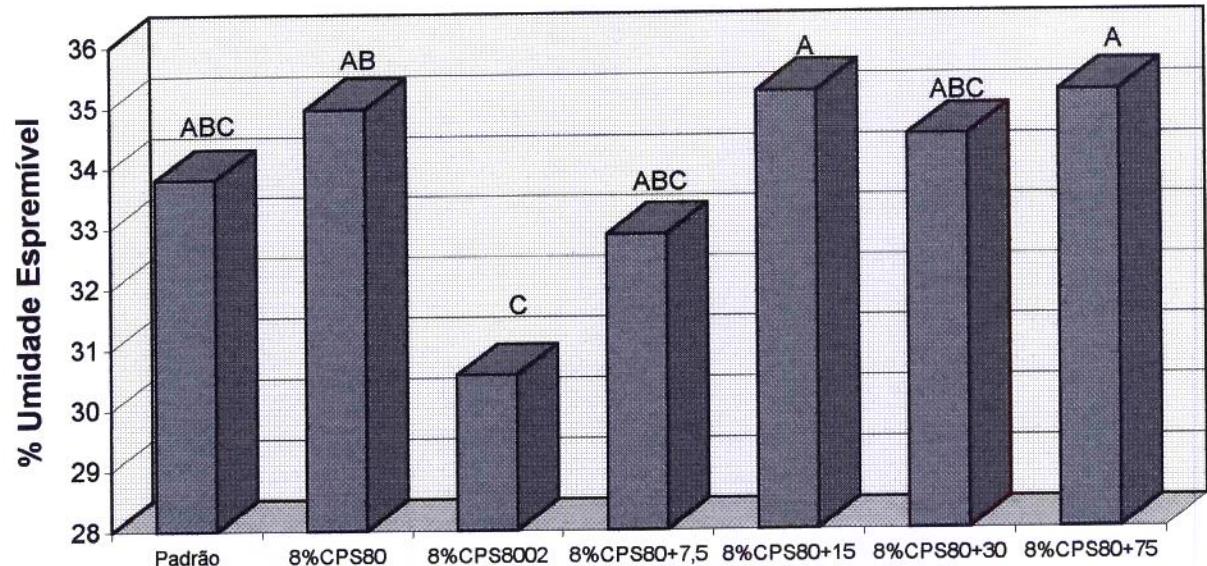
Formulações	Propriedades de Cor		
	Cor L	Cor a	Cor b
Padrão	BCD	ABC	BCD
7%CPS80	ABCD	BC	CDE
8%CPS80	ABC	D	BC
7%CPS8002	AB	A	BCDE
8%CPS8002	A	BCD	BCDE
7%CPS80+7,5	CD	A	BCDE
8%CPS80+7,5	AB	BC	E
7%CPS80+15	BCD	A	BCDE
8%CPS80+15	ABCD	CD	CDE
7%CPS80+30	BCD	AB	AB
8%CPS80+30	ABCD	A	CDE
7%CPS80+75	BCD	BC	A
8%CPS80+75	D	AB	DE

A mesma letra indica que não há diferença significativa entre os géis pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

**Figura 15: Valores de % Umidade Espremível para as formulações de salsicha padrão e com 7% de CPS**



**Figura 16: Valores de % Umidade Espremível para as formulações de salsicha padrão e com 8% de CPS**

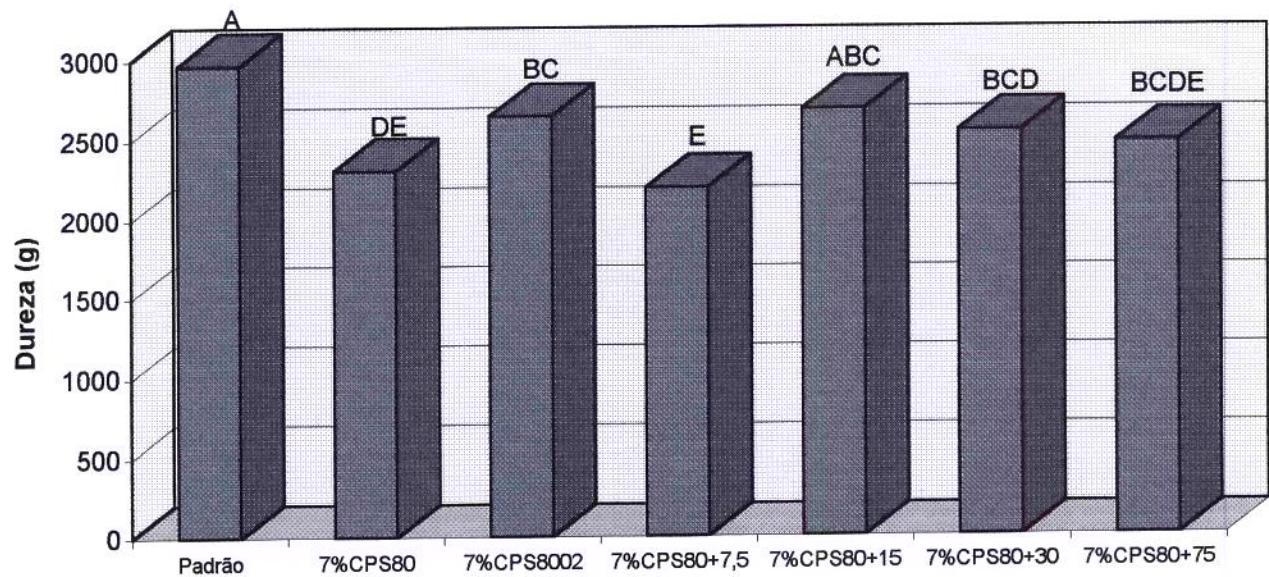


As Figuras 15 e 16 mostram que as %UE das formulações com adição de CPS80 e CPS80 + CaCl<sub>2</sub> não diferem significativamente a nível de 5% (p<0,05) da formulação padrão.

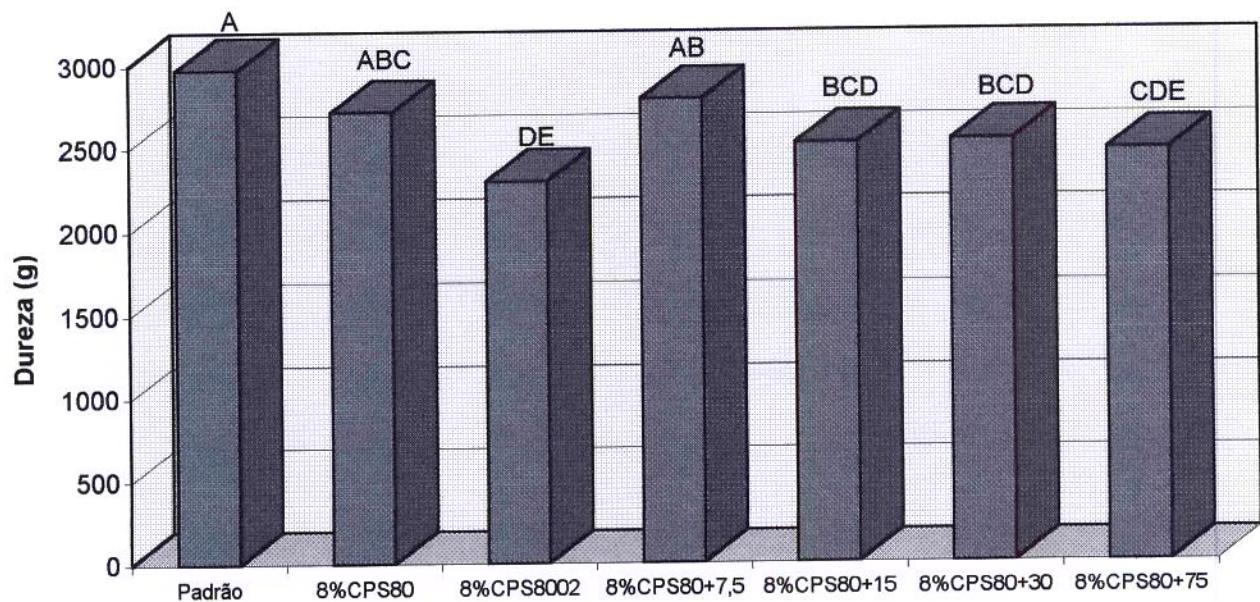
As formulações com CPS8002 apresentaram os menores valores de %UE.

O menor valor de %UE obtido foi para a formulação com 8% de proteína do CPS8002, esta portanto foi a formulação que mais ligou água em sua estrutura. Esta formulação não difere significativamente a um nível de 5% (p<0,05) da formulação com 7%CPS8002, nem do padrão. Mesmo não diferindo significativamente o CPS8002 mostra uma tendência a apresentar uma %UE menor.

**Figura 17: Valores de dureza para as formulações de salsicha padrão e com 7% de CPS**



**Figura 18: Valores de dureza para as formulações de salsicha padrão e com 8% de CPS**



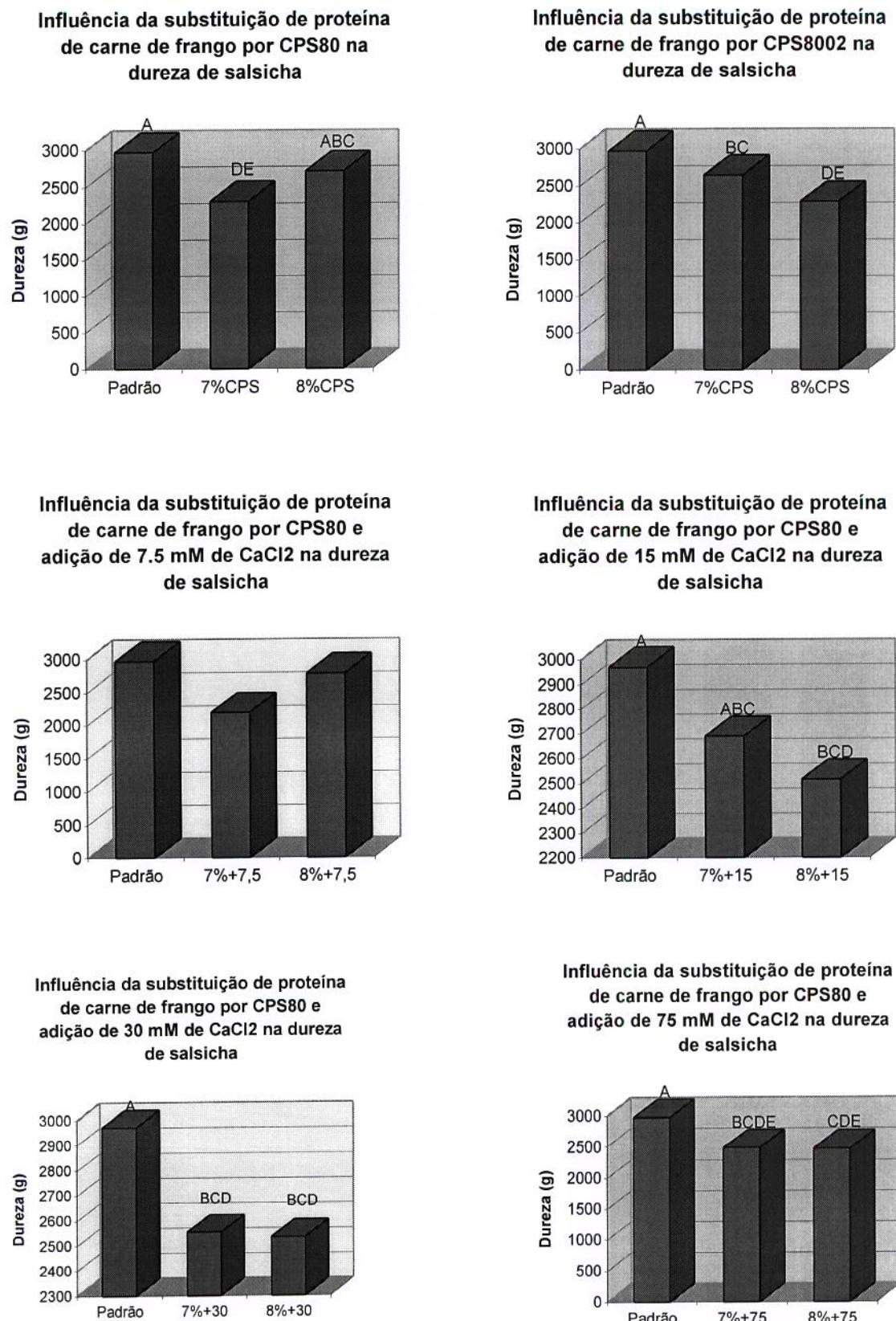
O maior valor de dureza observado foi para a formulação padrão, diferindo significativamente ( $p<0,05$ ) de 9 das 12 formulações.

Foi observado na Figura 18 que a adição de 8% de proteína do CPS8002 apresentou um valor de dureza significativamente menor comparado ao padrão e ao CPS80.

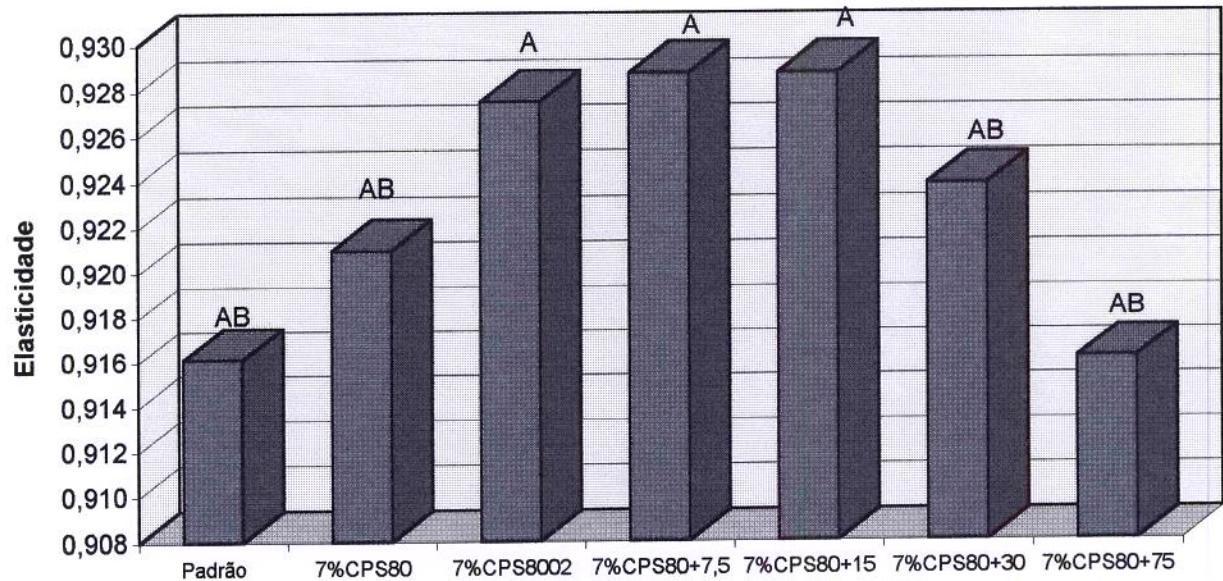
Olhando para a Figura 19 podemos notar que no gráfico sem a adição de  $\text{CaCl}_2$ , a medida que aumentamos a concentração de proteínas do CPS80 aumentamos também o valor da dureza, o contrário ocorre com o CPS8002, que aumentando a concentração do CPS diminui a dureza. Foi observado também que a medida que adicionamos  $\text{CaCl}_2$ , o comportamento do CPS80 muda, e com a adição de 75 mM de  $\text{CaCl}_2$  o comportamento da dureza é muito semelhante a do CPS8002. Os valores de cálcio total encontrados para os dois são praticamente iguais, considerando os valores dos desvios, porém o percentual de cinzas muda de 5,5% do CPS8002 para 2,5% do CPS80, isto é, a quantidade de sais totais no CPS8002 é o dobro.

Morr e Foegeding (1990) utilizando produtos de soro e de leite, realizaram um levantamento de várias propriedades químicas, físicas e funcionais destes produtos para determinar o progresso na qualidade da Indústria Láctea. Foi observado que um dos CPSs utilizados, apresentou o mais alto nível de cálcio (3 vezes maior que o segundo maior valor), magnésio (8 vezes maior que o segundo maior valor) e cobre (praticamente 2 vezes maior que o segundo maior valor), este mesmo CPS exibiu a melhor propriedade gelatinizante dos produtos estudados, requerendo somente 4% de concentração protéica em todos os 3 valores de pHs testados (pHs 4,5, 6,0, 7,5).

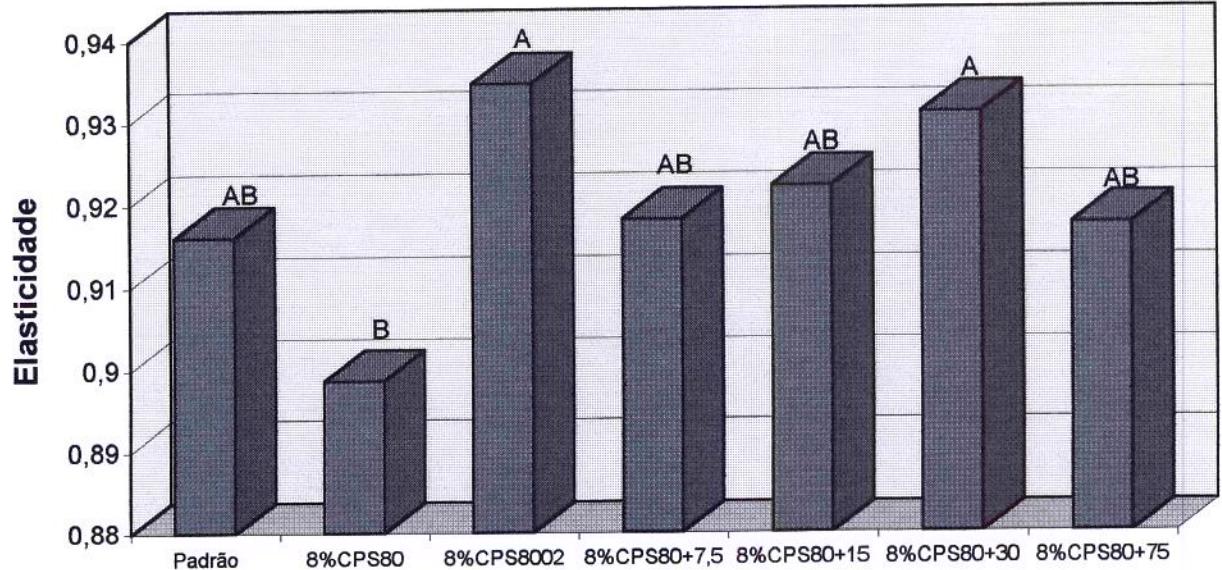
**Figura 19:** Influência da substituição de proteína de carne de frango por proteína do CPS80 ou CPS8002 e adição de CaCl<sub>2</sub> na dureza de salsichas



**Figura 20: Valores de elasticidade para as formulações de salsicha padrão e com 7% de CPS**



**Figura 21: Valores de Elasticidade para as formulações de salsicha padrão e com 8% de CPS**



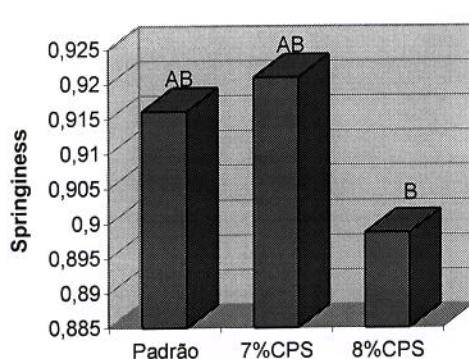
Observou-se nas Figuras 20 e 21 que a adição de CPSs e de CaCl<sub>2</sub> não alterou significativamente os valor de elasticidade, quando comparado a formulação padrão. Parece que a adição de CPS8002 tende a aumentar o valor elasticidade, apesar de não haver diferença significativa para estas concentrações utilizadas.

Através da Figura 22 notou-se que a adição de 30 mM de CaCl<sub>2</sub> no CPS80 faz com que este fique com comportamento semelhante ao CPS8002. Os valores obtidos de elasticidade para o CPS80 são menores do que para o CPS8002.

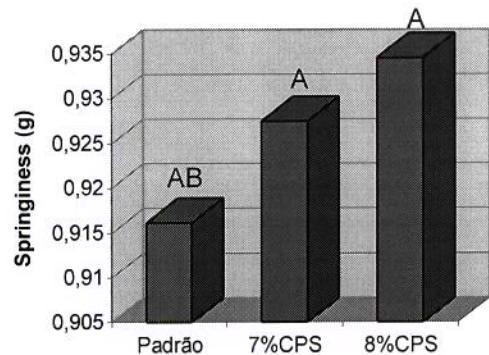
A adição de CaCl<sub>2</sub> para a formulação com 8% de proteínas do CPS80, parece aproximar o valor da elasticidade para um valor próximo ao valor de elasticidade da formulação padrão, o que pode ser traduzido como: a adição de pequenas concentrações de CaCl<sub>2</sub> (7,5 mM), causa um leve aumento no valor de elasticidade, para a formulação com adição do CPS80.

**Figura 22:** Influência da substituição de proteína de carne de frango por proteína do CPS80 ou CPS8002 e adição de CaCl<sub>2</sub> no springiness de salsichas

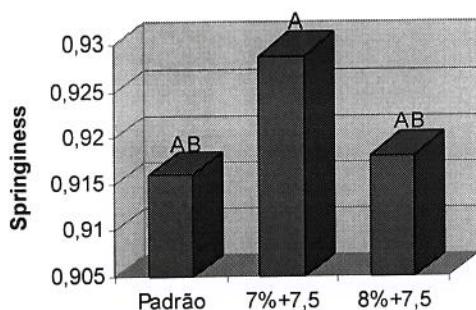
**Influência da substituição de proteína de carne de frango por CPS80 no springiness de salsicha**



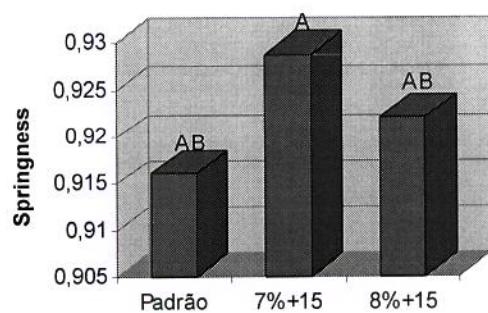
**Influência da substituição de proteína de carne de frango por CPS8002 no springiness de salsicha**



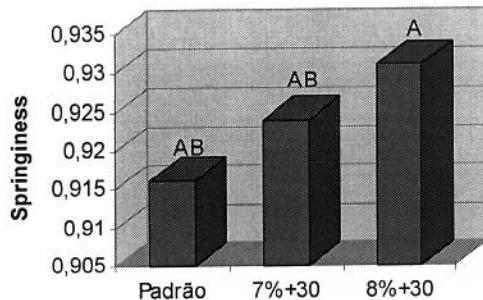
**Influência da substituição de proteína de carne de frango por CPS80 e adição de 7,5 mM de CaCl<sub>2</sub> no springiness de salsicha**



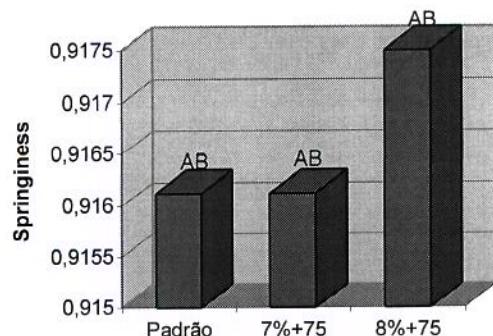
**Influência da substituição de proteína de carne de frango por CPS80 e adição de 15 mM de CaCl<sub>2</sub> no springiness de salsicha**



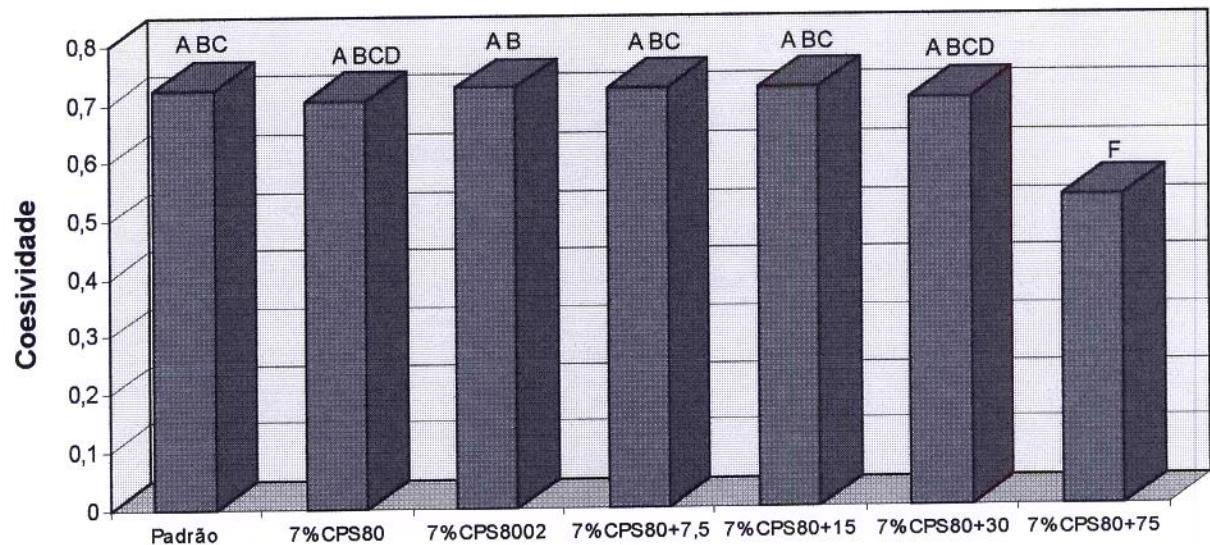
**Influência da substituição de proteína de carne de frango por CPS80 e adição de 30 mM de CaCl<sub>2</sub> no springiness de salsichas**



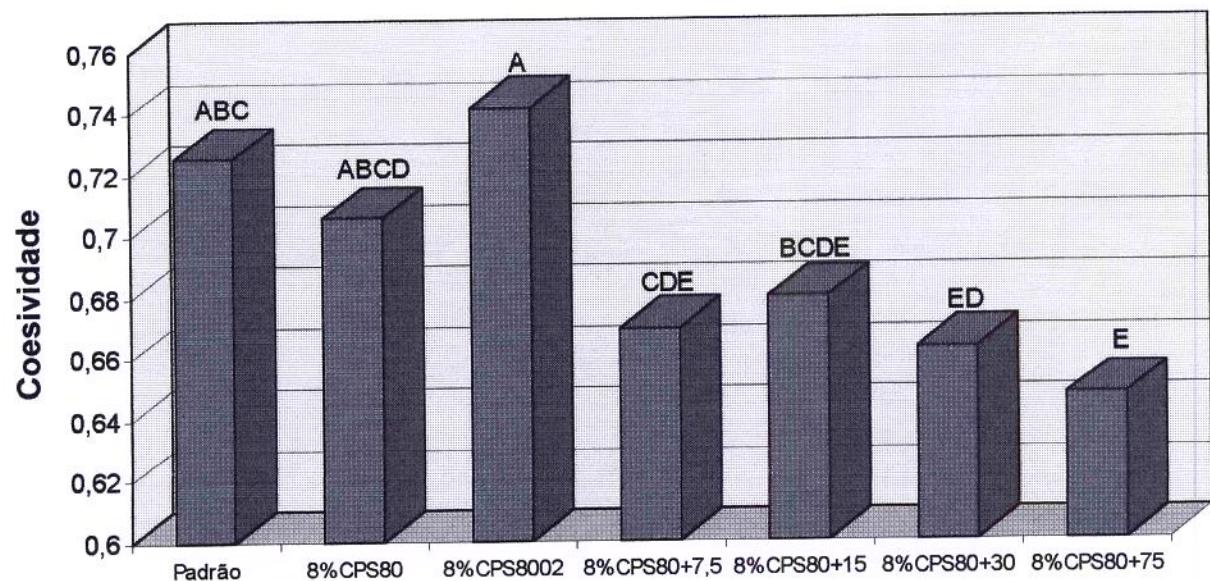
**Influência da substituição de proteína de carne de frango por CPS80 e adição de 75 mM de CaCl<sub>2</sub> no springiness**



**Figura 23: Valores de coesividade para formulações de salsicha padrão e com 7% de CPS**



**Figura 24: Valores de coesividade para formulações de salsicha padrão e com 8% de CPS**

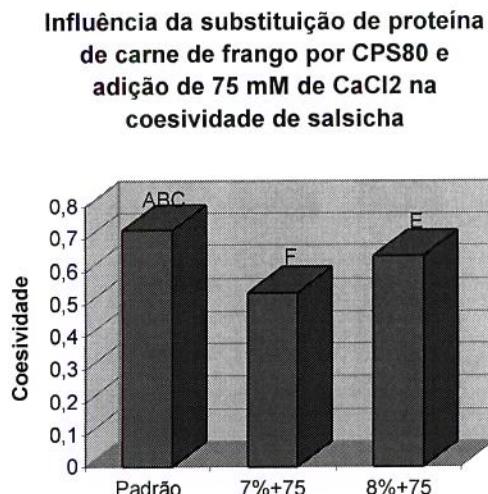
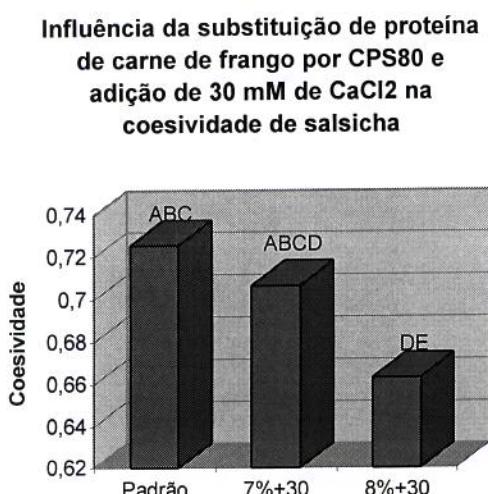
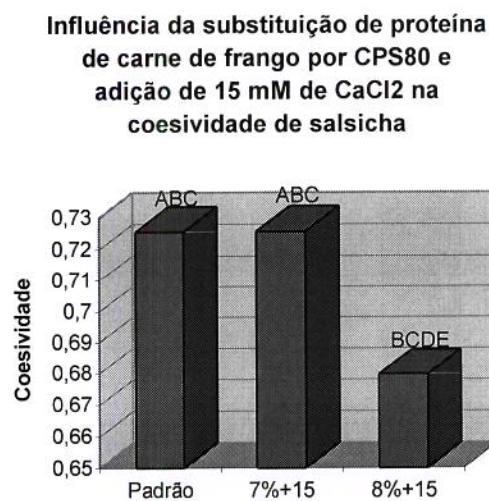
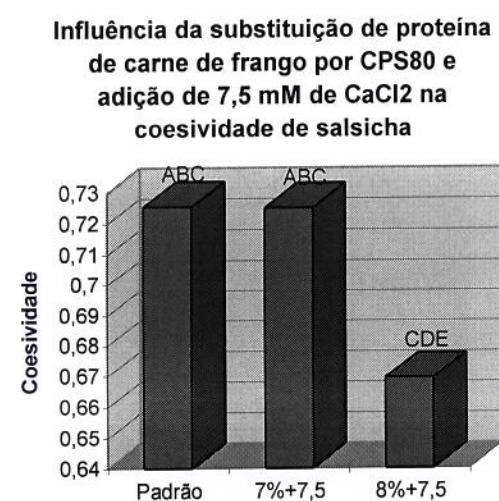
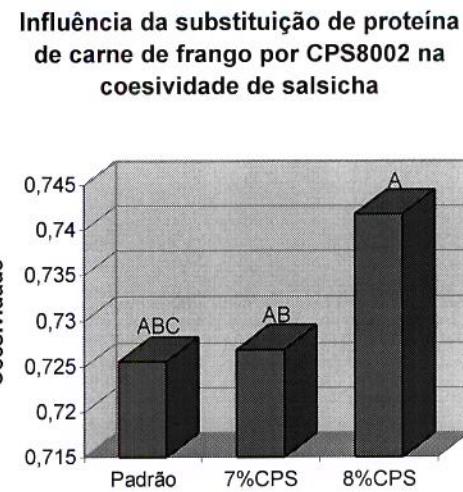
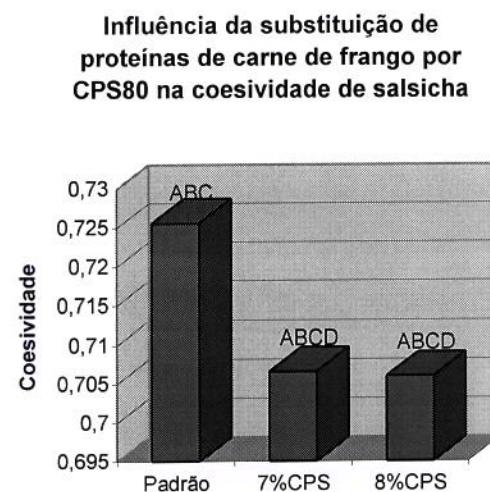


A adição de CPS80 e CPS8002 sem a adição de CaCl<sub>2</sub> não altera significativamente ( $p<0,05$ ) a coesividade quando comparado ao padrão. Mesmo não diferindo significativamente ( $p<0,05$ ) do padrão as formulações com CPS8002 (7 e 8%) apresentam valores maiores de coesividade do que o padrão.

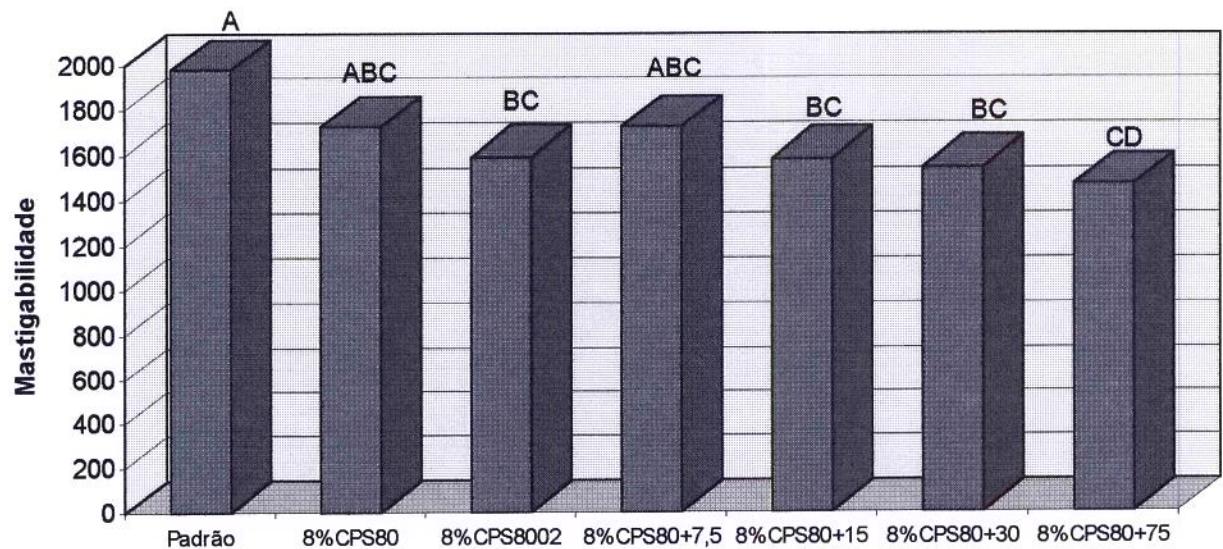
As formulações com 75 mM de CaCl<sub>2</sub> mostraram valores de coesividade significativamente menores comparado a formulação padrão e as formulações sem adição de CaCl<sub>2</sub>.

Através de observação a olho nu foi verificado que a adição de altas concentrações de CaCl<sub>2</sub> resultou em produtos mais quebradiços.

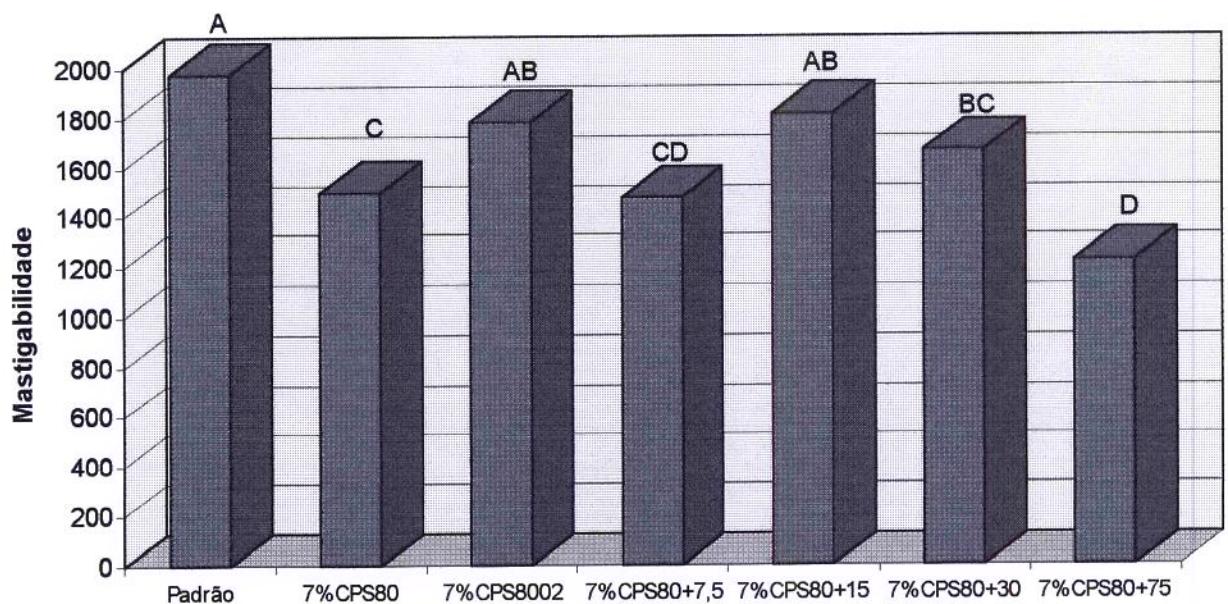
**Figura 25:** Influência da substituição de proteína de carne de frango por proteína do CPS80 ou CPS8002 e adição de CaCl<sub>2</sub> na coesividade de salsichas



**Figura 26: Valores de mastigabilidade para formulações de salsicha padrão e com 7% de CPS**



**Figura 27: Valores de mastigabilidade para formulações de salsicha padrão e com 8% de CPS**

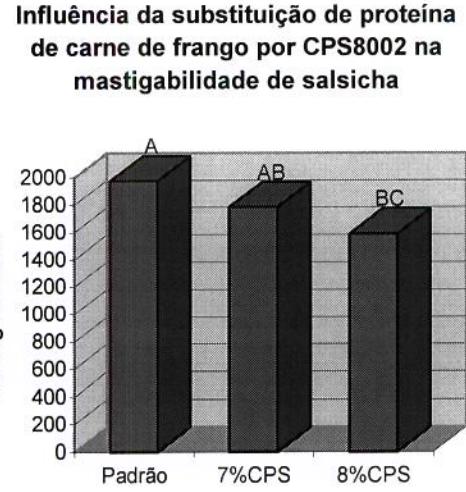
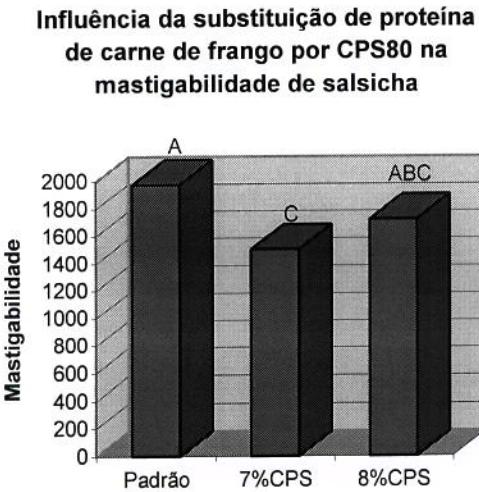


A substituição de proteína da carne por proteína do CPS80 ou CPS8002 com ou sem adição de CaCl<sub>2</sub> causou diminuição do valor de mastigabilidade comparado ao valor de mastigabilidade da formulação padrão.

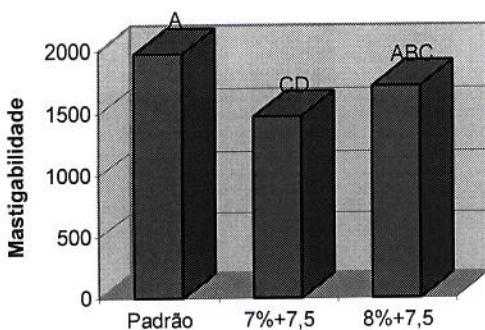
Podemos observar na Figura 27 que a substituição de 8% de proteína da carne por proteína do CPS80 causou uma diminuição do valor de mastigabilidade que não é significativamente menor ao nível de 5% do padrão. Para a substituição com CPS8002 ocorre o contrário a adição de 7% de proteína do CPS8002 tem uma diminuição não significativa comparada ao padrão, enquanto que a 8% de proteína do CPS8002 a diminuição é significativa ( $p<0,05$ ).

As adições de CaCl<sub>2</sub> causam diminuição do valor de mastigabilidade significativamente ao nível um 5%, comparado ao padrão, com exceção das formulações com 7% de proteínas do CPS80 com 15 mM de CaCl<sub>2</sub> e 8% de proteínas do CPS80 com 7,5 mM de CaCl<sub>2</sub> que também apresentam valores de mastigabilidade mais baixos que o padrão mas não diferem significativamente do padrão ao nível de 5%.

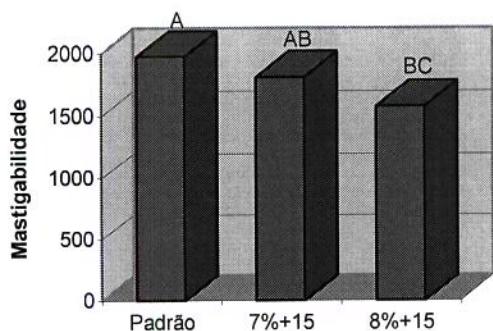
**Figura 28:** Influência da substituição de proteína de carne de frango por proteína de CPS80 ou CPS8002 e adição de CaCl<sub>2</sub> na mastigabilidade de salsichas



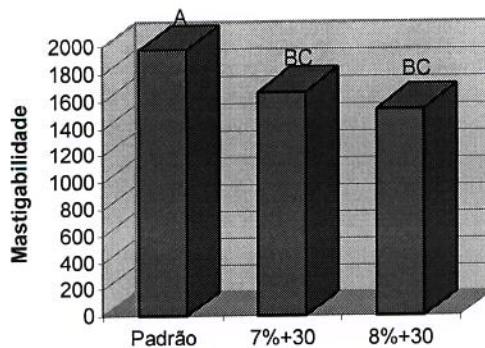
**Influência da substituição de proteína de carne de frango por CPS80 e adição de 7,5 mM de CaCl<sub>2</sub> na mastigabilidade de salsicha**



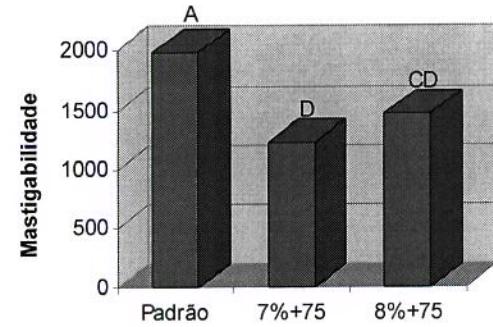
**Influência da substituição de proteína de carne de frango por CPS80 e adição de 15 mM de CaCl<sub>2</sub> na mastigabilidade de salsicha**



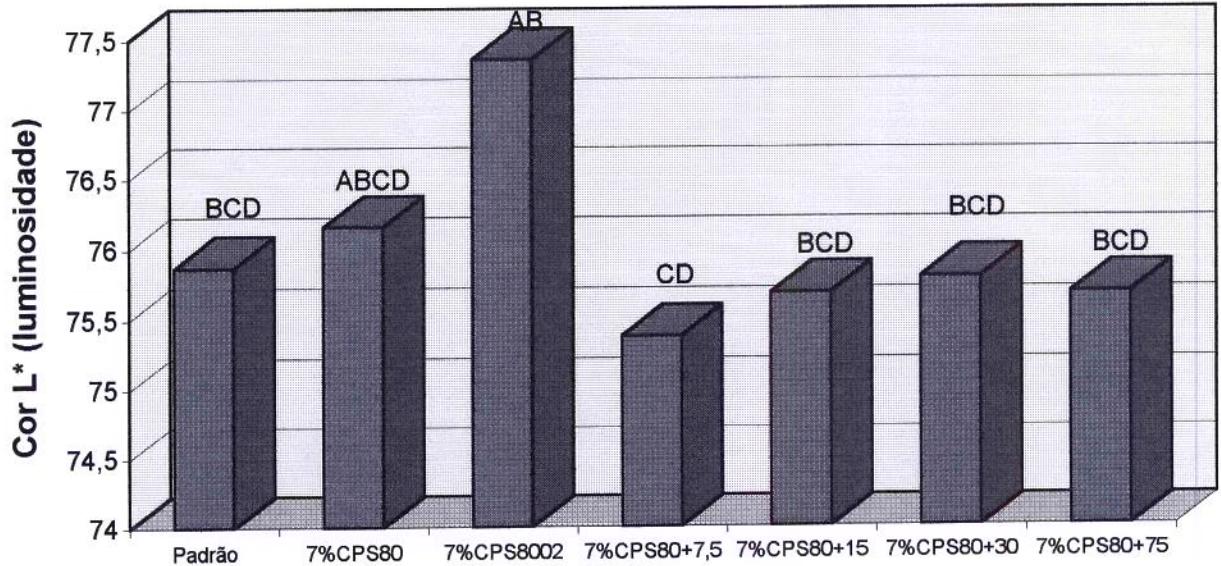
**Influência da substituição de proteínas de carne de frango por CPS80 e adição de 30 mM de CaCl<sub>2</sub> na mastigabilidade de salsicha**



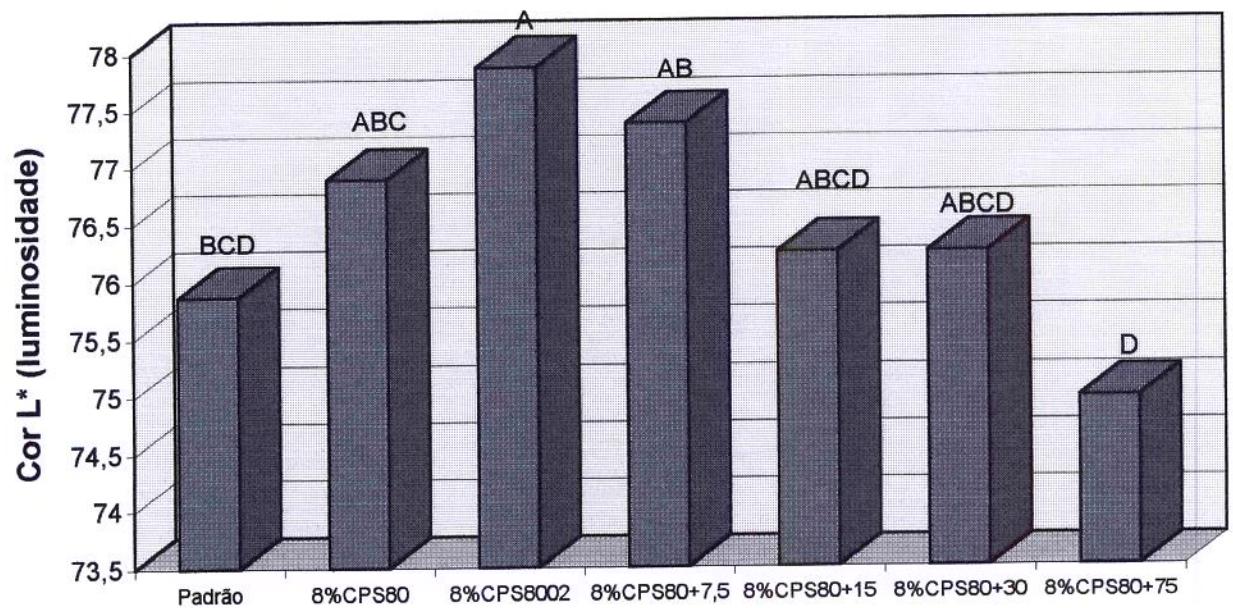
**Influência da substituição de proteína de carne de frango por CPS80 e adição de 75 mM de CaCl<sub>2</sub> na mastigabilidade de salsicha**



**Figura 29: Valores do parâmetro de cor L\* para formulações de salsicha padrão e com 7% de CPS**



**Figura 30: Valores do parâmetro de cor L\* para formulações de salsicha padrão e com 8% de CPS**

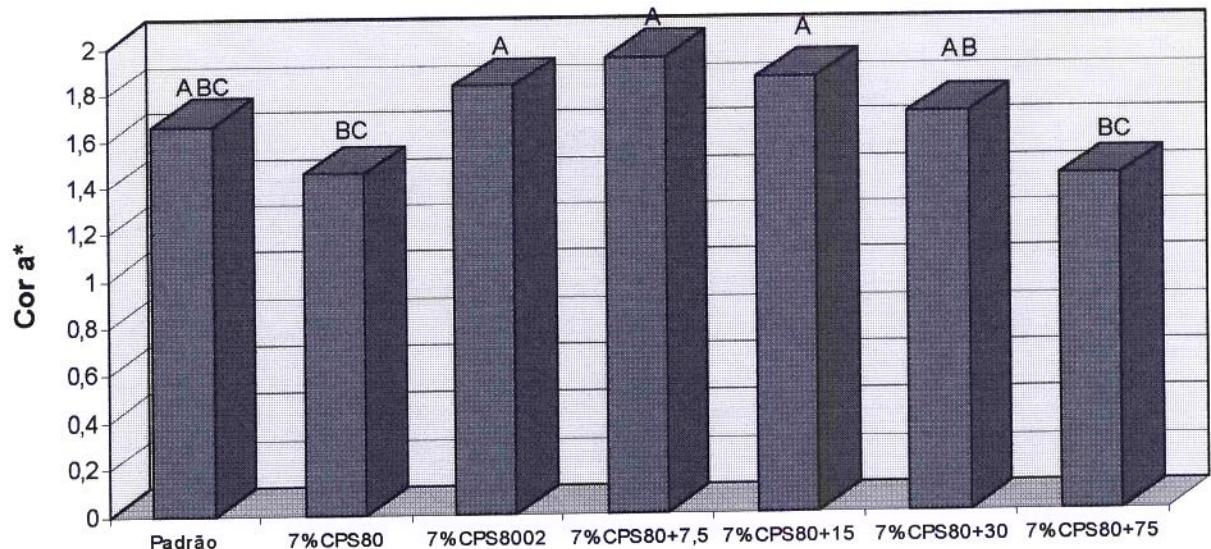


A adição de CPS80 com e sem a adição CaCl<sub>2</sub> não altera significativamente o valor do parâmetro de cor L\*, em comparação ao padrão, ou seja a adição destes aditivos não altera a luminosidade das formulações.

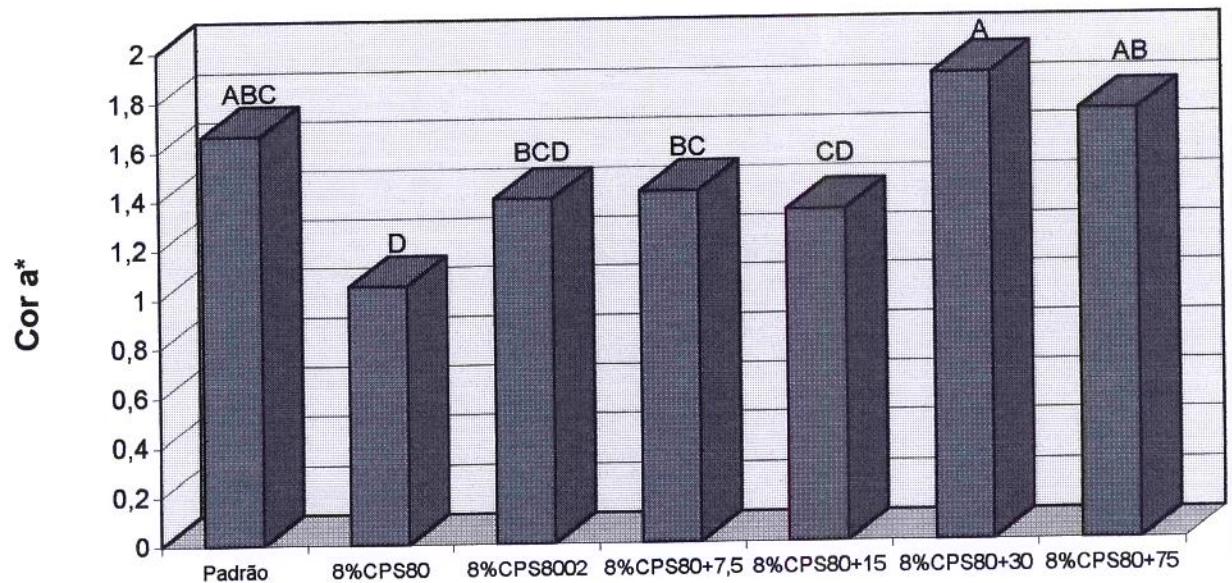
Já a adição de CPS8002 aumenta o valor do parâmetro L\*, tornando as amostras mais claras, sendo o valor de cor L\* da formulação com 8% de proteína do CPS8002 significativamente ( $p<0,05$ ) maior que o valor de cor L\* do padrão.

Observando a figura 30 notou-se que aumentando a concentração de CaCl<sub>2</sub> diminui valor do parâmetro de cor L\*, o que não foi observado para as formulações com 7%CPS, onde o parâmetro L\* praticamente se manteve constante com a adição de CaCl<sub>2</sub> ( $p<0,05$ ).

**Figura 31: Valores do parâmetro de cor  $a^*$  (intensidade de vermelho) para formulações de salsicha padrão e com 7% de CPS**



**Figura 32: Valores do parâmetro de cor  $a^*$  (intensidade de vermelho) para formulações de salsicha padrão e com 8% de CPS**

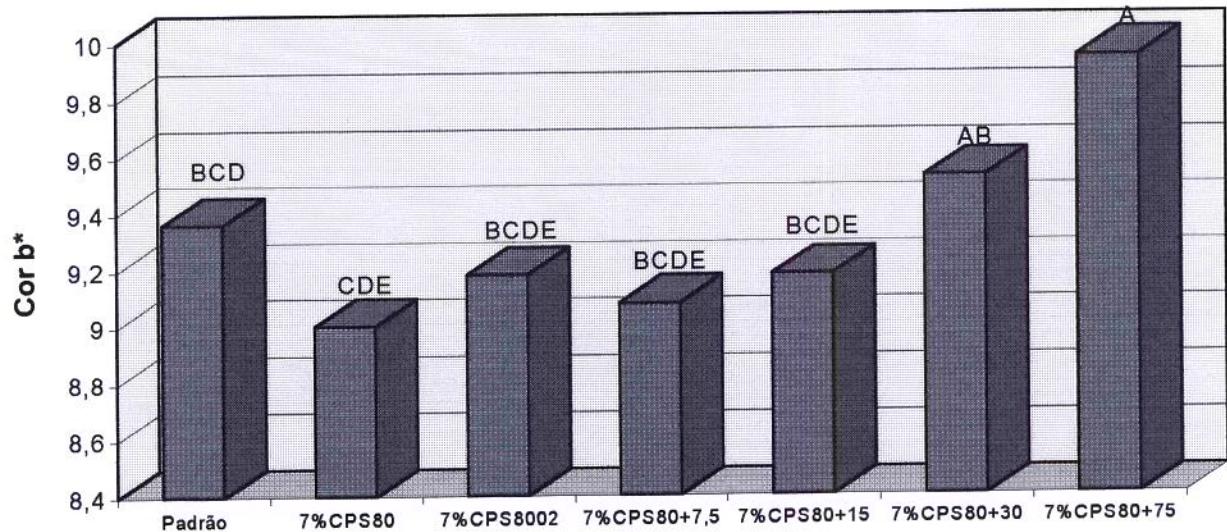


É bom salientar que os coeficientes de variação para o parâmetro de cor  $a^*$ , que é o índice de intensidade de cor vermelha, foram bem maiores que para os parâmetros  $L^*$  e  $b^*$ , isto pode ter ocorrido pela adição nas formulações de um condimento que tinha cor alaranjada e não era completamente homogêneo.

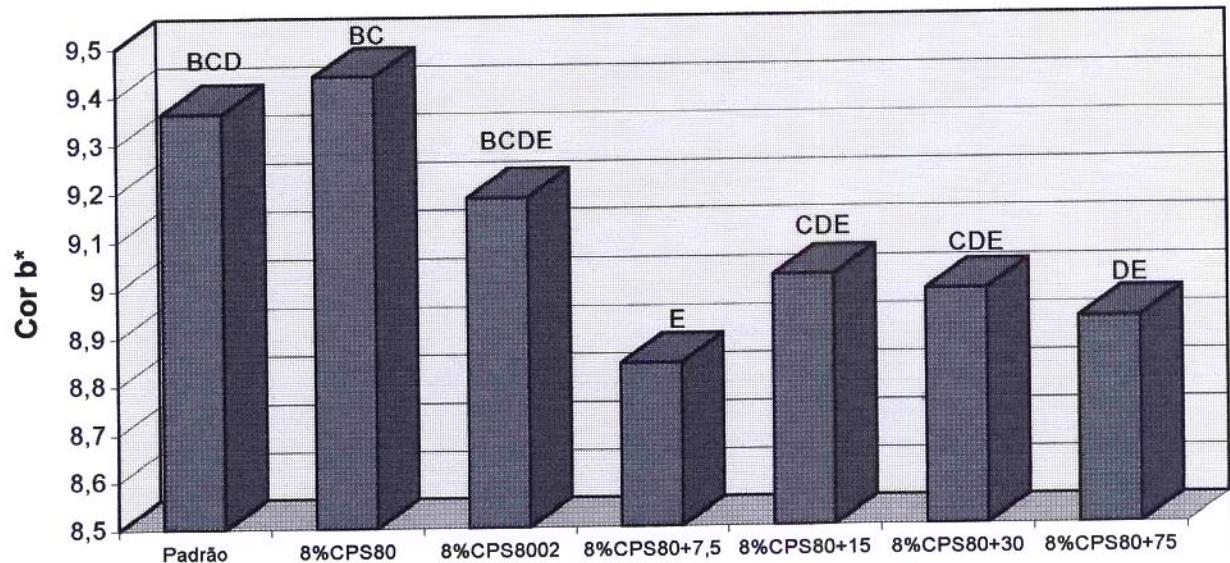
De acordo com a Figura 31 a adição de CPS80, CPS80 com  $\text{CaCl}_2$  e CPS8002 não altera significativamente a um nível de 5% o valor do parâmetro de cor  $a^*$  comparando a formulação padrão.

Os valores do parâmetro de Cor  $a^*$  são bastante baixos e essas variações não chegam a representar na prática, grandes mudanças de Cor. No caso da amostra 7%CPS80+75 os parâmetros de Cor  $L^*$  e  $b^*$  parecem melhores para avaliar esta amostra.

**Figura 33: Valores do parâmetro de cor  $b^*$  para formulações de salsicha padrão e com 7% de CPS**



**Figura 34: Valores do parâmetro de cor  $b^*$  para formulações de salsicha padrão e com 8% de CPS**



As adições de CPS80 e CPS8002 não causaram alteração significativa ( $p<0,05$ ) ao parâmetro de cor  $b^*$ .

As adições de  $\text{CaCl}_2$  para 7% de proteína do CPS80 causou um aumento progressivo do parâmetro de cor  $b^*$ , tendo a formulação com 7% de proteínas do CPS80+75 mM de  $\text{CaCl}_2$  diferença significativa ( $p<0,05$ ) da formulação padrão. Já a 8% de proteína do CPS80 a adição de  $\text{CaCl}_2$  causou diminuição do valor do parâmetro de cor  $b^*$ .

Testes organolépticos indicam pequeno efeito dos aditivos na aparência, aroma, sabor, consistência, suculência ou aceitabilidade geral. Entretanto, houve um efeito adverso na cor da superfície cortada. Ótimos resultados foram obtidos com a adição de 10-15% dos aditivos protéicos (Mann, 1985).

O CPS prova ser um ligante alternativo viável para produtos cárneos específicos tipo-emulsão com as condições de estabilidade e atributos de textura sensorial similares a igual concentração de IPS (Isolado Protéico de Soro) e LPSGRC (leite em pó desengordurado e reduzido de cálcio) (Ensor et al., 1987).

No estudo de relações entre o sistema modelo e o sistema cárneo, foi observado uma semelhança no comportamento da dureza, onde maiores valores de dureza são obtidos para maiores valores de concentração de proteína do CPS80, isto ocorreu tanto no gel como na formulação de salsicha.

Estudos com sistemas modelo prevêem o comportamento físico-químico das proteínas, mas não podem refletir com precisão sua atuação no alimento. Isto ocorre devido a presença de outros componentes e aditivos, assim como os procedimentos de processamento podem induzir a complexas interações entre proteínas e esses aditivos.

## CONCLUSÕES

No estudo do efeito da adição de íons  $\text{Ca}^{++}$  e  $\text{Mg}^{++}$  na dureza de géis de concentrado protéico de soro de leite bovino, pode-se chegar as seguintes conclusões:

1. quanto maior a concentração do sal ( $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{MgCl}_2$ ) adicionado, num intervalo de concentrações de 0 a 75 mM, maior a dureza dos géis obtidos de soluções a 6%, 7% e 8% de proteína do CPS80.
2. os géis com adição de  $\text{CaCl}_2$  atingem valores de dureza significativamente maiores ( $p<0,05$ ) do que os géis com adição de  $\text{MgCl}_2$ , nas concentrações de 15, 30 e 75 mM do sal adicionado, para as 3 concentrações de proteína do CPS80 testadas.
3. o gel com adição de  $\text{MgCl}_2$  atinge valor de dureza significativamente maior ( $p<0,05$ ) do que o gel com a adição de  $\text{CaCl}_2$ , na concentração de 7,5 mM do sal adicionado para 8% de proteína de CPS80.
4. no tratamento com  $\text{CaCl}_2$  sem  $\text{NaCl}$  o maior valor de dureza a um nível de 5% de significância ( $p<0,05$ ) foi obtido em 15 mM  $\text{CaCl}_2$  para 6% e 7% de proteína do CPS80.
5. no tratamento com  $\text{CaCl}_2$  com  $\text{NaCl}$  e  $\text{MgCl}_2$  o maior valor de dureza a um nível de 5% de significância ( $p<0,05$ ) foi obtido em 30 mM de  $\text{CaCl}_2$  para 7% e 8% de proteínas do CPS80.
6. géis formados com 8% de proteínas do CPS com adição de pelo menos 10 mM de  $\text{CaCl}_2$  atingem dureza maior quando tratado com 75°C/45 min comparado ao tratamento com 90°C/15 min. Em concentrações menores que 10 mM de  $\text{CaCl}_2$  um tratamento com 90°C/15 min atinge maiores durezas.
7. o cálcio livre ou iônico é importante na formação do gel de proteína do CPS80.

No estudo do efeito da substituição de proteínas de carne de frango por proteínas do CPS80 e do CPS8002 em um sistema cárneo (salsicha), pode-se chegar as seguintes conclusões:

1. a formulação com substituição de 7% de proteína da carne por proteína do CPS80 diferil significativamente a um nível de 5% ( $p<0,05$ ) da formulação padrão apenas nas características de Dureza e Mastigabilidade, não difere significativamente para as características de % Umidade Espremível, Springiness, Coesividade e parâmetros de cor  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ .
2. a formulação com substituição de 8% de proteína da carne por proteína do CPS80 não diferil significativamente a um nível de 5% ( $p<0,05$ ) da formulação padrão para as características de % Umidade Espremível, Dureza, Elasticidade, Mastigabilidade, Coesividade e parâmetros de cor  $L^*$  e  $b^*$ .
3. a formulação com substituição de 7% de proteína da carne por proteínas do CPS8002 diferil significativamente a um nível de 5% ( $p<0,05$ ) da formulação padrão apenas na característica Dureza.
4. a formulação com substituição de 8% de proteína da carne por proteínas do CPS8002 diferil significativamente a um nível de 5% ( $p<0,05$ ) da formulação padrão para as características Dureza, Mastigabilidade e Cor  $L^*$ .

No estudo do efeito da adição de CaCl<sub>2</sub> em formulações com substituição de proteína de carne de frango por proteína do CPS80, em um sistema cárneo (salsicha), pode-se chegar as seguintes conclusões:

1. as adições de 7,5, 15, 30 e 75 mM de CaCl<sub>2</sub> (o correspondente a 0,015%, 0,03%, 0,06% e 0,15% de massa de salsicha) nas formulações com 7% e 8% de proteína do CPS80 não modificam significativamente a um nível de 5% a % Umidade Espremível, a Elasticidade e parâmetros de cor L\* e a\* comparado a formulação padrão.
2. a adição de CaCl<sub>2</sub> diminui significativamente ( $p<0,05$ ) a Dureza e Mastigabilidade das formulações com 7% e 8% de proteínas do CPS80 com exceção das formulações com 7% de proteínas do CPS80 adicionado de 15 mM de CaCl<sub>2</sub> e 8% de proteínas do CPS80 adicionado de 7,5 mM de CaCl<sub>2</sub> onde não diferença significativa comparado ao padrão.
3. a adição de 75 mM de CaCl<sub>2</sub> nas formulações com 7% e 8% de proteínas do CPS80 e adição de 30 mM na formulação com 8% de proteína do CPS80 diminui significativamente a Coesividade das formulação comparada a formulação padrão.
4. no estudo de relações entre o sistema modelo e o sistema cárneo, foi observado uma semelhança no comportamento da dureza, onde maiores valores de dureza são obtidos para maiores valores de concentração de proteína do CPS80, isto ocorreu tanto no gel como na formulação de salsicha.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A. O. A. C. 1980. Official Methods of Analysis, 14th ed. Association Of Official Analytical Chemists. Washington. D. C.
- Adrian, J. 1971. A propos des poudres de lait et des lacto protéines levurées. Ind. Alim. Agric. 88: 1607.
- Barbut, S. e Foegeding, E. A. 1993.  $\text{Ca}^{+2}$  - Induced gelation of pre-heated whey protein isolate. J. Food Sci.. 58(4): 867.
- Beuschel, B. C. Partridge, J. A. e Smith, D. M. 1992. Insolubilized whey protein concentrate and/or chicken salt-soluble protein gel properties. J. Food Sci. 57(4): 852.
- Bourne, M. C. 1978. Texture profile analysis. Food Technol. Julho: 62.
- Bottomley, R. C. Evans, M. T. A. e Parkinson, C. J. 1990. Whey Proteins. In: Food Gels. P. Harris (Ed.), p. 435. London and New York, Elsevier Applied Food Sci. Series.
- Boye, J. I. Alli, I. Ramaswamy, H. Raghavan, V. G. S. 1997. Interactive effects of factors affecting gelation of whey proteins. J. Food Sci.. 62(1): 57.
- Brandenberg, A. H., Morr, C. V. e Weller, C. L. 1992. Gelation of commercial whey protein concentrates: Effect of removal of low-molecular-weight components. J. Food Sci. 57(2): 427.
- Casella, L. J. 1983. Whey use in meat products. Meat Processing. 22(7): 76.
- De Wit, J. N. 1981. Structure and functional behaviour of whey proteins. Neth. Milk. Dairy J. 35: 47.

- De Wit, J. N. 1984. Functional properties of whey proteins in food systems. *Neth. Milk Dairy J.* 38: 71.
- De Wit, J. N e Klarenbeek, G. 1984. Effects of various heat treatments on structure and solubility of whey proteins. *J. Dairy Sci.* 67: 2701.
- De Wit, J. N. 1989a. Functional properties of whey proteins. In: *Development in Dairy Chemistry - 4*. P. F. Fox (Ed.), p. 285. New York, Elsevier Applied Science.
- De Wit, J. N. 1989b. The use whey protein product. In: *Development in Dairy Chemistry - 4*. P. F. Fox (Ed.), p. 323. New York, Elsevier Applied Science.
- Doi, E. 1993. Gels and gelling of globular proteins. *Treds Food Sci. Technol.* 4: 1.
- Dunhill, P. e Green, D. W. 1965. *J. Mol. Biol.* 15: 147.
- Dunkerley, J. A. e Hayes, J. F. 1980. Characterization of whey protein gels using a temperature gradient block. *New Zealand J. Dairy Sci. Technol.* 15: 191.
- Dybing, S.T. e Smith, D.E. 1991. Relation of Chemistry and Processing Procedures to Whey Protein Functionality: A Review. *Cultured Dairy Products Journal.* 26(1): 4.
- El-Magoli, S. B. Laroia, S. e Hansen, P. M. T. 1996. Flavor and texture characteristics of low fat ground beef patties formulated with whey protein concentrate. *Meat Sci.* 42(2): 179.
- Ellekjaer, M. R. Naes, T. e Baardseth, P. 1996. Milk proteins affect yield and sensory quality of cooked sausages. *J. Food Sci.* 61(3): 660.

- Ensor, S. A. Mandigo, R. W. Calkins, C. R. e Quint, L. N. 1987. Comparative evaluation of whey protein concentrate, soy protein isolate and calcium-reduced nonfat dry milk as binders in an emulsion-type sausage. *J. Food Sci.*. 52(5): 1155.
- Gindler, E. M. e King, J. D. 1972. Rapid colorimetric determination of calcium in biological fluids with methylthymol blue. *Am. J. Clin. Pathol.* 58: 376.
- Gordon, A. e Barbut, S. 1992. Mechanisms of meat batter stabilization: A Review. *Crit. Rev. Food Nut.* 32(4): 299.
- Hamm, R. 1960. III - Biochemistry of meat hydration. In: Proceedings of the eleventh Res. Conference. A.M.I.F, p. 17.
- Hamm, R. 1974. Water-holding capacity of meat. In: Proceedings of the twenty-first Easter. D. J. A. Cole e R. A. Lawrie. (Ed.), p. 321.
- Harwalkar, V. R. e Kalab, M. 1985a. Thermal denaturation and aggregation of  $\beta$ -lactoglobulin at pH 2,5. Effect of ionic strength and protein concentration. *Milchwissenschaft*. 40(1): 31.
- Harwalkar, V. R. e Kalab, M. 1985b. Thermal denaturation and aggregation of  $\beta$ -lactoglobulin in solution electron microscopic study. *Milchwissenschaft*. 40(2): 65.
- Harwalkar, V. R. e Kalab, M. 1985c. Microstructure of isolectric precipitates from  $\beta$ -lactoglobulin solutions heated at various pH values. *Milchwissenschaft*. 40(11): 665.
- Hermansson, A. M. 1979. Aggregation and denaturation involved in gel formation, in functionality and protein structure. *Pour-El. Am. Chem. Soc.. Washington, D. C.* 81.
- Hillier, R. M., Lyster, R. L. J. e Cheeseman, G. C. 1980. Gelation of reconstituted whey powders by heat. *J. Sci. Food Agric.* 31: 1152.

- Hoven, M. V. D. 1987. Functionality of dairy ingredients in meat products. *Food Technol.* October(72): 103.
- Johns, J. E. M. e Ennis, B. M. 1981. The effect of the replacement of calcium with sodium ions in acid whey on the functional properties of whey protein concentrates. *New Zealand J. Dairy Sci. Technol.* 15: 79.
- Jones, K. W. 1984. Protein lipid interactions in processed meats. *American Meat Sci. Association.* 37: 52.
- Jost, R. 1993. Functional characteristics of dairy proteins. *Trend in Food Sci. & Technol.* 4: 283.
- Kilara, A. 1994. Whey protein functionality. In: *Protein Functionality in Food Systems*. N. S. Hettiarachchy e G. R. Ziegler (Ed.), p. 325 New York, Basel, Hong Kong. Published by Marcel Dekker, Inc.
- Kinsella, J. E. e Whitehead, D. M. 1989. Proteins in whey. In: *Chemical, physical and functional properties*. *Adv. Food Nutr. Res.* 33: 343.
- Kuhn, P. R. e Foegeding, E. A. 1991a. Factors Influencing whey protein gel rheology: Dialysis and calcium chelation. *J. Food Sci.*, 56(3): 789.
- Kuhn, P. R. e Foegeding E. A.. 1991b. Mineral salt effects on whey protein gelation. . *J. Agric. Food Chem.* 39(60): 1013.
- Lee, A., Cannon, R. Y. e Huffman, D. L. 1980. Whey protein concentrates in a processed meat loaf. *J. Food Sci.* 45: 1278.

- Lupano, C. E., Dumay, E. e Cheftel, J. C. 1992. Gelling properties of whey protein isolate: influence of calcium removal by dialysis or diafiltration at acid or neutral pH. *Int. J. Food Sci. Technol.* 27: 615.
- Mann, E. J. 1985. Dairy ingredients in meat products. *Dairy Industries International*. 50(9): 11.
- Mangino, M. E. 1992. Gelation of whey protein concentrate. *Food Technol.* 46: 114.
- Manji, B. e Kakuda, Y. 1986. Thermal denaturation of whey proteins in skim milk. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* 19(4) 163.
- Mann, B. e Malik, R. C. 1996. Studies on some functional characteristics of whey protein-polysaccharide complex. *J. Food Sci. Technol.* 33(3): 202.
- McClements, D. J. e Keogh, M. K. 1995. Physical properties of cold-setting gels formed from heat-desnatured whey protein isolate. *J. Sci. Food Agric.* 69: 7.
- Modler, H. W. e Emmons, D. B. 1977. Properties of whey protein concentrate prepared by heating under acidic conditions. *J. Dairy Sci.* 60: 177.
- Monejano, J. G., Hamann, D. D. e Ball, H. R. 1984. Mechanical failure characteristics of native and modified egg white gels. *Poultry Sci.* 63: 1969.
- Morr, C. V. 1985. Composition, physicochemical and functional properties of reference whey protein concentrates. *J. Food Sci.* 50: 1406.
- Morr, C. V. 1990. Composition and functionality of commercial whey and milk protein concentrates and isolates: A status report. *Food Technol.* april: 100.
- Morr, C. V. e Ha, E. Y. W. 1993. Whey protein concentrates and isolates: processing and functional properties. *Crit. Rev. Food Sci. and Nutr.* 33(6): 431.

Muir, D. D. 1985. Control of calcium ion and the development of new dairy foods. *Dairy Ind. Intern.* 50(9): 19.

Mulvihill, D. M. e Kinsella J. E. 1987. Gelation characteristics of whey proteins and  $\beta$ -Lactoglobulin. *Food Technol.* 41: 102.

Mullen, K. e Ennis, D. 1985. Fractional factorials in product development. *Food Technol.* 90.

Mulvihill, D. M.e Kinsella, J. E. 1988. Gelation de  $\beta$  - Lactoglobulin: effect of sodium chloride and calcium chloride on the rheological and structural properties of gels. *J. Food Sci.* 53: 231.

Nakai, S. e Li-Chan, E. 1985. Structure modification and functionality of whey proteins: Quantitative structure-activity relationship approach. *J. Dairy Sci.* 68: 2763.

Park, K. H. e Lund, D. B. 1984. Calorimetric study of thermal denaturation of  $\beta$ -Lactoglobulin. *J. Dairy Sci.* 67: 1699.

Patocha, G. e Jelen, P. 1991. Effects of pH and calcium on thermal behavior of isolated whey proteins. *J. Food Sci.* 56: 1119.

Pearce, R. J. 1995. Food Functionality: success or failure for dairy based ingredients. *The Australian J. Dairy Technol.* 50: 15.

Potter, N. N. e Hotchkiss, J. H. 1995. Meat, Poultry and Eggs. In: *Food Science.* (5<sup>a</sup> Ed.), p. 337. Cap. 14.

Satterlee, L. D. e Levin, E. 1973. Utilization of high protein tissue powders as a binder/extender in meat emulsions. *J. Food Sci.* 38(1): 306.

Schmidt, R. H., Illingworth, B. L., Ahmed, E. M. e Richter, R. L. 1978. The effect of dialysis on heat-induced gelation of whey protein concentrates. *J. Food Process. Preserv.* 2: 111.

Schmidt, R. H., Illingworth, B. L., Deng, J. C. e Cornell J. A. 1979. Multiple regression and response surface analysis of the effects of calcium chloride and cysteine on heat-induced whey protein gelation. *J. Agric. Food Chem.* 27(3): 529.

Schmidt, R. H., Packard, V. S. e Morris, H. A. 1984. Effects of processing on whey protein functionality. *J. Dairy Sci.* 67: 2723.

Shimada, K. e Cheftel, J. C. 1988. Texture characteristics, protein solubility, and sulfhydryl group/disulfide bond contents of heat-induced gels of whey protein isolate. *J. Agric. Food Chem.* 36: 1018.

Smith, D. M. 1988. Meat Proteins: Functional properties in comminuted meat products. *Food Technol.* 42(4): 116.

Smith, D. M. e Rose, A. J. 1994. Gel Properties of whey protein concentrates as influenced by ionized calcium. *J. Food Sci.* 59(5): 1115.

Smith, D. M. e Rose, A. J. 1995. Properties of chicken salt-soluble protein and whey protein concentrate gels as influenced by sodium tripolyphosphate. *Poultry Sci.* 74: 169.

Sternberg, M., Chiang, J. P. e Ebert, N. J. 1976. Cheese whey protein isolated with polyacrylic acid. *J. Dairy Sci.* 59: 1042.

Swift, C. E. e Ellis, R. 1956. The action of phosphates in sausage products. I – Factors affecting the water retention of phosphates-treated ground meat. *Food Technol.* 10(11): 546.

Swift, C. E. e Ellis, R. 1957. The action of phosphates in sausage products. II - Pilot plant studies of the effect of some phosphates on binding and color. *Food Technol.* 11(8): 450.

Varunsat, S., Watanabe, K., Hayakawa, S. e Nakamura, R. 1983. Effects of  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$  and  $\text{Na}^+$  on heat aggregation of whey protein concentrates. *J. Food Sci.*, 48: 42.

Tang, Q., McCarthy O. J. e Munro P. A. 1994. Oscillatory rheological comparison of the characteristics of egg white, whey protein concentrates, whey protein isolate, and  $\beta$  - Lactoglobulin. *J. Agric. Food Chem.*, 42: 2126.

Xiong, Y. L. e Kinsella, J. E. 1990. Mechanism of urea induced whey protein gelation. *J. Agric. Food Chem.* 38: 1887.

Xiong, Y. L. 1992. Influence of pH and ionic environment on thermal aggregation of whey proteins. *J. Agric. Food Chem.* 40: 380.

Xiong, Y. L. 1994. Myofibrillar protein from different muscle fiber types: Implications of biochemical and functional properties in meat processing. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 34(3): 293.

Ziegler, G. R. e Acton, J. C. 1984. Mechanisms of gel formation by proteins of muscle tissue. *Food Technol.* 38: 77.

Zilbel, F. e Kinsella, J. E. 1988. Factors affecting the rheological properties of gels made from whey protein isolate. *Milchwissenschaft*. 43: 691.