

UFRRJ

**INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

DISSERTAÇÃO

**APLICAÇÃO DE TRANSGLUTAMINASE MICROBIANA E ALTA-
PRESSÃO HIDROSTÁTICA (APH) EM PRODUTO CÁRNEO
REESTRUTURADO BOVINO**

ROSIANE COSTA BONFIM

2013



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTO

**APLICAÇÃO DE TRANSGLUTAMINASE MICROBIANA E ALTA-
PRESSÃO HIDROSTÁTICA (APH) EM PRODUTO CÁRNEO
REESTRUTURADO BOVINO**

ROSIANE COSTA BONFIM

Sob orientação do Dr.

Amauri Rosenthal

e Co-orientação da Dra.

Simone Pereira Mathias

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de concentração em Tecnologia de Alimentos

Seropédica, RJ
Julho, 2013

664

B713a

T

Bonfim, Rosiane Costa, 1981-

Aplicação de transglutaminase
microbiana e alta-pressão hidrostática
(APH) em produto cárneo reestruturado
bovino / Rosiane Costa Bonfim - 2013.

66 f.: il.

Orientador: Amauri Rosenthal.

Dissertação (mestrado) - Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de
Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos.

Bibliografia: f. 40-54.

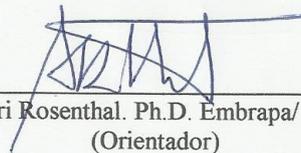
1. Tecnologia de alimentos - Teses. 2.
Alimentos - Preços - Teses. 3. Carne -
Corte - Teses. 4. Carne bovina - Indústria
- Teses. 5. Carne bovina - Consumo -
Teses. I. Rosenthal, Amauri, 1960-. II.
Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciência
e Tecnologia de Alimentos. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS**

ROSIANE COSTA BONFIM

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de Concentração em Tecnologia de Alimentos.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 31/ 07/ 2013



Amauri Rosenthal. Ph.D. Embrapa/ CTAA
(Orientador)



Daniela de Grandi Castro Freitas. Dra. Embrapa/ CTAA
(Membro Interno)



Edmar das Mercês Penha. Dr. Embrapa/ CTAA
(Membro Externo)

Dedico...

A Deus pelo amor incondicional e cuidado sempre.

Por me conceder sabedoria para escolher o melhor caminho.

A minha mãe querida Edyr Catarina por me ensinar a ser guerreira e

sempre lutar pelos meus objetivos e principalmente

por estar sempre ao meu lado sem questionar.

Ao meu marido Eduardo pelo amor, cuidado e apoio em todos os momentos.

E, a minha filha Maria Eduarda por tornar meus dias mais coloridos.

AGRADECIMENTOS

A realização desta Dissertação marca o fim de uma etapa muito importante na minha vida. Etapa da qual eu guardei grandes ensinamentos e experiência de vida.

Primeiramente agradeço a Deus por me sustentar nos momentos difíceis e me mostrar o caminho sempre.

À minha querida e amada mãe Edyr Catarina pela dedicação incansável e amor incondicional. A você mãe minha eterna gratidão.

Ao meu marido e companheiro Eduardo pelo apoio e paciência nos momentos de inquietação e cansaço.

À minha queridinha Maria Eduarda por ser meu “motivo” pra continuar, quando a vontade era desistir.

Aos meus orientadores, Pesquisador Dr^o Amauri Rosenthal e Professora Dr^a Simone, pela orientação e por contribuírem para meu crescimento profissional.

À Pesquisadora Dr^a Rosires Deliza por toda ajuda, orientação e esclarecimentos.

Às Pesquisadoras, Dr^a Marília Stephan e Dr^a Caroline Mellinger, e a Analista Tatiana Azevedo, do Laboratório de bioquímica da Embrapa – CTAA pela ajuda nas análises de perfil de proteína por eletroforese.

Ao Pesquisador Dr^o Calor Piller e a Analista Adriana Minguita do Laboratório de Cereais da Embrapa – CTAA pela ajuda na realização e entendimento das análises de Calorimetria.

Ao Analista do Laboratório de Análise Sensorial e Instrumental da Embrapa - CTAA José Carlos Sá Ferreira pela realização das análises de Textura e Cor Instrumental.

Ao Analista da Planta Piloto II – Embrapa – CTAA Willian Leal pela ajuda na pressurização das amostras.

Ao Técnico da Planta Piloto II- Embrapa – CTAA Sergio (“Filé”) pela grande ajuda e paciência na fabricação dos produtos;

À Professora Dr^a Rosa Luchese, a Técnica Edilene e a Técnica Dina do Laboratório de Microbiologia pela ajuda nas análises microbiológicas.

Aos amigos, Rozana Moreira, Jéssica Machado, Felipe Reis e Thalita Gomes pela ajuda na Análise Sensorial, sem vocês eu não conseguiria. Muito obrigada!

À amiga Laís Fontoura por aturar meus resmungos... Obrigada pela companhia!

À Minha Universidade querida, UFRRJ, e ao Departamento de Tecnologia (DTA) pela oportunidade.

À Embrapa Agroindústria de Alimentos por permitir a realização da minha pesquisa.

Às Duas Rodas Industrial® pela doação dos aditivos.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

À FAPERJ pelo apoio financeiro.

E por fim, a todos aqueles que por um lapso não mencionei, mas que colaboraram para esta pesquisa.

Muito Obrigada!

RESUMO

BONFIM, Rosiane Costa. **Aplicação de transglutaminase microbiana e alta-pressão hidrostática em produto cárneo reestruturado bovino**. 2013. 54p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

Nos últimos anos é crescente o interesse dos consumidores por produtos de fácil preparo, os chamados produtos de conveniência. Diante desse mercado a indústria cárnea vem desenvolvendo carnes reestruturadas, onde são empregados cortes cárneos de menor valor comercial, como a paleta bovina. Assim, o objetivo do presente estudo foi desenvolver um produto reestruturado proveniente dos músculos da paleta bovina, buscando maior valorização desse corte, através da aplicação da tecnologia de alta pressão hidrostática (APH) e/ou utilização da enzima transglutaminase microbiana (ACTIVA GS®). Na elaboração do produto reestruturado bovino foram utilizados os três músculos da paleta bovina, o *tríceps braquial*, *supraespinhoso* e o *infraespinhoso*, três níveis de enzima (0,5%, 0,7% e 1,0% de MTGase) com um tempo de hidrólise de 5 horas sob refrigeração e 200 MPa por 1 minuto, utilizando um delineamento em blocos estendidos ao acaso. Os tratamentos foram submetidos às análises de composição centesimal, pH, perfil proteico por eletroforese (SDS-PAGE), análise instrumental de textura (TPA), perda de peso pelo cozimento (PPC%), grau de retração (GR%), análise instrumental de cor, calorimetria diferencial de varredura (DSC), análise microbiológica (RDC nº 12 - ANVISA) e análise sensorial (aceitação global e textura; CATA: *Check All That Apply*). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância com comparação entre médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Através das análises acima citadas pode-se concluir que a composição centesimal do produto estudado não foi afetada pelos tratamentos com APH e MTGase, e o aumento apresentado no pH das amostras se deu pela adição de polifosfatos. O perfil de proteínas não foi alterado pela aplicação da APH, mas a MTGase provocou diminuição das bandas de peso molecular de 24,6, 22,23 e 17,55 KDa.. A aplicação da APH diminuiu os parâmetros de dureza e coesividade de textura instrumental; a elasticidade foi aumentada tanto pela atuação da APH como pela ação da enzima; o parâmetro mastigabilidade não foi influenciado pela APH e enzima. Em relação aos parâmetros relacionados com a cor, a APH como a MTGase aumentaram a Luminosidade (*L) e diminuíram os parâmetros *a, *b e *C. O DSC mostrou que a APH diminuiu a entalpia do sistema e a MTGase agiu ao contrário, aumentando a entalpia do evento térmico. As análises microbiológicas comprovaram a adequação do produto ao padrão de exigência da legislação brasileira para consumo. Na análise sensorial, através do teste de aceitação observou-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos em relação à preferência global, porém a amostra T3, com 0,7% de MTGase, foi a mais aceita em relação à textura. O estudo CATA mostrou que os atributos que levaram os provadores a preferirem tal amostra estavam relacionados com os termos suculência, deliciosa e sabor bom. E a combinação da APH (200MPa/1min) com a MTGase (0,7%) não apresentou resultado favorável em relação a aceitação do produto.

Palavras-chave: Transglutaminase microbiana. Alta Pressão Hidrostática. Paleta bovina.

ABSTRACT

BONFIM, Rosiane Costa. **Application of microbial transglutaminase and high hydrostatic pressure on bovine restructured meat product**. 2013. 54p. (Master in Science and Technology of Foods). Institute of Technology. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

In recent years, there has been a growing interest of consumers for easy preparation food the so-called convenience products. Aiming achieving such a market the meat industry has been developing restructured meats, in which lower commercial value meat cuts are employed. The objective of this study was to develop a restructured product from bovine muscle palette seeking greater appreciation of this cut through the application of high hydrostatic pressure technology (HHP) and/or the use of microbial transglutaminase (ACTIVA® GS). In the elaboration of restructured beef the following materials and conditions were used: three types of bovine palette muscles (*triceps*, *supraspinatus* and *infraspinatus*), three levels of enzyme (0.5%, 0.7% and 1.0% MTGase) a hydrolysis time of 5 hours under refrigeration and a fixed high pressure processing condition (200 MPa for 1 minute), employing a random extended block design. The treatments were analysed for proximate composition, pH, electrophoresis (SDS-PAGE) protein profile, instrumental texture analysis (TPA), weight loss by cooking (WLC%), degree of shrinkage (%DS), instrumental colour, differential scanning calorimetry (DSC) profile, microbiology (RDC No. 12 - ANVISA) and sensory analysis (texture and overall acceptability; CATA). Statistical analysis of analysis of variance followed by comparison of means by Tukey test at 5% significance level was applied to the data. It Both HHP and MTGase did not affect the chemical composition of the product, being the pH increase observed attributed to the addition of polyphosphate. The protein profile was not altered by the application of HHP, but MTGase resulted in lower molecular weight bands of 24.6, 22.23 and 17.55 kDa. Application of HHP decreased texture instrumental parameters of hardness and cohesiveness, while the elasticity was increased either by the action of HHP or the enzyme; chewiness was not influenced by neither HHP nor the enzyme. Regarding the parameters related to colour, both HHP and MTGase increased the lightness (L*) and decreased the parameters *a, *b and *C. The DSC showed that the HHP decreased the system enthalpy and MTGase acted in the opposite sense by increasing the enthalpy of the thermal event. Microbiological analyses confirmed the suitability of the product to the standard required by Brazilian law for consumption. In sensory analysis, the acceptance test showed that there was no significant difference between treatments in relation to overall preference, but the sample with 0.7% of MTGase was the most accepted in relation to texture. The CATA study showed that the attributes that led the panellists to prefer such a sample were related to the terms juiciness, delicious and good flavour. And the combination of APH (200MPa/1min) with MTGase (0.7%) had no favorable outcome of product acceptance.

Key words: Microbial transglutaminas, High hydrostatic pressure, Bovine palette.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Formulação básica do produto cárneo reestuturado bovino.	17
Tabela 2. Tratamentos e formulações (%).	17
Tabela 3. Média e desvios-padrão dos resultados da análise centesimal e pH de produto cárneo reestuturado bovino.	25
Tabela 4. Médias e desvios-padrão dos resultados dos parâmetros de textura de produto cárneo reestuturado bovino avaliado através de TPA.	28
Tabela 5. Média e desvios-padrão dos resultados da análise de perda por cozimento e grau de retração.	31
Tabela 6. Médias e desvios-padrão dos resultados do perfil colorimétrico instrumental de produto cárneo reestuturado bovino.	32
Tabela 7. Resultados da avaliação microbiológica dos oito tratamentos, em comparação aos limites da legislação.	35
Tabela 8. Média das notas de aceitação global e textura considerando todos os consumidores (n=100).	36
Tabela 9. Frequência em que cada atributo foi mencionado para as amostras de produto cárneo reestuturado bovino analisadas por 100 consumidores utilizando a metodologia CATA (“Check-all-that-apply”).	37

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Reações catalisadas por transglutaminase (a) entre resíduos de glutamina e aminas livres, (b) entre resíduos de glutamina e lisina e (c) entre resíduos de glutamina e água.	4
Figura 2. Mecanismo de ação da transglutaminase.	5
Figura 3. Diagrama esquemático do equipamento de alta pressão hidrostática.	8
Figura 4. Gráfico de força x tempo para determinação dos parâmetros do perfil de textura.	15
Figura 5. Aparelho de Alta Pressão Hidrostática - Marca <i>Stansted Fluid Power</i> e modelo <i>S-FL-850-9-w</i> .	18
Figura 6. Fluxograma de processamento das amostras.	19
Figura 7. Cortador (a) e Texturômetro (b).	21
Figura 8. Aparelho Color Quest XE.	23
Figura 9. Perfil eletroforético das proteínas de produto cárneo reestuturado bovino.	27
Figura 10. Termogramas (DSC): (a) carne “in natura”; (b) Tratamento controle; (c) 0,7% MTGase; (d) 200MPa/1min e (e) 200MPa/1min + 0,7%MTGase.	34
Figura11. MFA das respostas geradas no CATA. (a) Representação dos	39

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVO	2
2.1 Objetivo Geral	2
2.2 Objetivos específicos	2
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
3.1 Produtos cárneos reestruturados	3
3.2 Transglutaminase Microbiana (MTGase)	4
3.3 Tecnologia de Alta- Pressão Hidrostática (APH)	7
3.4 Efeitos da APH sobre as proteínas miofibrilares	9
3.5 Matéria-prima	10
3.5.1 Paleta Bovina	10
3.6 Aditivos	11
3.6.1 Cloreto de sódio (NaCl)	11
3.6.2 Polifosfatos	12
3.7 Análise Sensorial	13
3.8 Textura	14
4 MATERIAL E MÉTODOS	16
4.1 Material	16
4.2 Métodos	16
4.2.1 Delineamento experimental	16
4.2.2 Tratamentos	16
4.2.3 Processamento Tecnológico	17
4.3 Análises físico-químicas	19
4.3.1 Composição Centesimal	19
4.3.2 pH (método potenciométrico)	20
4.3.3 Eletroforese SDS-PAGE	20
4.4 Análises Físicas	21
4.4.1 Análise Instrumental de Textura (TPA)	21

4.4.2 Perda de Peso pelo Cozimento (PPC)	22
4.4.3 Grau de Retração	22
4.4.4 Análise Instrumental de cor	22
4.4.5 Análise de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)	23
4.5 Análises Microbiológicas	23
4.5.1 Legislação da ANVISA - RDC nº 12	23
4.6 Análise sensorial	24
4.7 Análise estatística	25
5 RESULTADOS E DICUSSÃO	25
5.1 Análise físico-química	25
5.1.1 Composição centesimal e pH	25
5.1.2 Eletroforese SDS-PAGE	26
5.2 Análises Físicas	28
5.2.1 Análise Instrumental de Textura (TPA)	28
5.2.2 Perda de peso por cozimento (PPC%) e Grau de retração (GR%)	30
5.2.3 Análise Instrumental de Cor	32
5.2.4 Calorimetria Diferencial de varredura (DSC)	33
5.3 Análise Microbiológica	35
5.3.1 Legislação da ANVISA – RDC N°12	35
5.4 Análise Sensorial	36
6 CONCLUSÕES	40
7 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	40
8 ANEXOS	52

1 INTRODUÇÃO

Atualmente o mercado procura desenvolver produtos que atendam a demanda dos consumidores que buscam produtos de conveniência e de fácil preparo, uma vez que o perfil do consumidor foi completamente alterado nessas últimas décadas devido à inserção da figura feminina no mercado de trabalho, com carga horária cada vez maior e conseqüente redução no tempo dedicado ao preparo de alimentos. Nesse universo, os produtos reestruturados são uma boa alternativa, sendo produtos de fácil manipulação e que contribuem para agregar valor aos cortes ou recortes cárneos de menor valor comercial.

O termo “reestruturação” denomina produtos elaborados a partir de fragmentos de carne através da solubilização de proteínas e posterior moldagem. São incluídos nessa classificação os hambúrgueres, nuggets, almondegas, bifês reconstituídos, entre outros.

Na indústria de carnes, os elevados custos de produção estimulam o estudo e o desenvolvimento de novas tecnologias visando à utilização de todas as partes do animal com objetivo de minimizar as perdas e maximizar o lucro das empresas. Isso inclui o desenvolvimento de novos métodos de reestruturação de carnes, com utilização de aparas e cortes de baixo valor comercial para melhorar a aparência e textura do novo produto, aumentando com isso o valor de mercado e buscando alternativas que possam competir com músculos íntegros em relação às características sensoriais como aparência, odor, sabor e textura, importantes para aceitação pelo consumidor.

Para alcançar a ligação entre as aparas, proteínas na superfície dos fragmentos cárneos devem ser solubilizadas e, posteriormente, esses fragmentos serem moldados por compressão na forma desejada e unidos em uma só peça.

Tradicionalmente, o cloreto de sódio e os polifosfatos com a ajuda do calor são os meios mais utilizados para agregar os pedaços de carnes. A maioria dos produtos reestruturados são submetidos ao congelamento, ou exige um processo de aquecimento para produzir a força de ligação aceitável.

O cloreto de sódio desempenha um papel-chave na solubilidade de proteínas miofibrilares e para a subsequente agregação das mesmas, influenciando na capacidade retenção de água e de propriedades texturais aceitáveis. Fosfatos agem em proteínas musculares aumentando o pH e a força iônica e, desta forma, aumentam a solubilidade de proteínas miofibrilares através de dissociação da actomiosina e da despolimerização dos filamentos finos e grossos. A substituição parcial de NaCl por fosfatos em formulações de baixo teor de sódio tem sido usada na indústria da carne de forma eficaz, reduzindo o efeito negativo de níveis mais baixos de sal e de melhoria sensorial e propriedades tecnológicas. Porém os fosfatos têm uso limitado por legislação a um limite de 0,5g/100g de produto, descontando o fosfato presente naturalmente na matéria prima (BRASIL, 1998).

Considerando os baixos níveis de NaCl e polifosfatos adotados na formulação desses produtos, conseqüentemente há pouca solubilização de proteínas miofibrilares e isso reflete numa dificuldade na agregação das partes e na formação de uma estrutura íntegra.

Nos últimos anos, a tecnologia da alta pressão hidrostática (APH), tem sido cada vez mais investigada como um método de alterar as propriedades funcionais de macromoléculas sendo uma ferramenta poderosa para o estudo de proteínas.

A APH é considerada uma tecnologia não térmica e consiste em submeter alimentos líquidos ou sólidos a pressões que podem variar de 100 a 1000 MPa, dependendo das características de cada alimentos. Sendo capaz de atuar na conformação de proteínas musculares e modificar a textura de carnes, atuando no amaciamento de carnes e substituindo parcialmente o cloreto de sódio na solubilização de proteínas e desta forma tornando possível a obtenção de produtos análogos aos já existentes, porém mais saudáveis, com efeitos mínimos sobre cor, sabor e valor nutricional.

Por outro lado, os métodos biotecnológicos, como o uso da transglutaminase microbiana (MTGase) tem sido uma alternativa para obtenção de produtos reestruturados crus por promover maior adesão das partículas de carne, facilitando a elaboração de bifes reestruturados crus que podem ser oferecidos a temperatura de refrigeração.

A adição de MTGase aumenta a força de gel de carnes e proteínas cárneas em diversos produtos. Este mecanismo pode ser explicado pela capacidade da enzima de introduzir ligações cruzadas entre resíduos dos aminoácidos glutamina e lisina, proporcionando melhora na textura, elasticidade, capacidade de retenção de água, emulsificação, formação de géis, reestruturação, aumento da viscosidade, resistência física e estabilidade térmica, além de elevar o valor nutricional.

Desta forma, o uso em conjunto da APH e da MTGase tem um grande potencial de aplicação na indústria cárnea na elaboração de bifes reestruturados, agregando valor a cortes de maciez intermediária e tornando esse produto competitivos aos cortes íntegros, por tornar possível a produção de um produto mais saudável e de textura mais aceitável.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral do presente estudo foi desenvolver um produto cárneo reestruturado bovino com aplicação de alta-pressão hidrostática e da enzima Activa GS[®].

2.2 Objetivos específicos

- Desenvolver produto cárneo reestruturado bovino a partir da paleta com aplicação de 200MPa por 1 minuto de pressão e três níveis da enzima transglutaminase (Activa GS[®]) - 0,5; 0,7 e 1,0 % com tempo de hidrólise de 5 horas em temperatura de refrigeração;
- Determinar se há alteração na composição centesimal e pH do produto cárneo reestruturado bovino.
- Avaliar a textura do produto através da análise instrumental de textura (TPA), observando parâmetros sensoriais, como dureza, elasticidade, coesividade e mastigabilidade, diante da APHe da MTGase;
- Avaliar a influência da APH e/ou MTGase na cor instrumental;
- Avaliar o efeito da combinação entre APH e/ou MTGase sobre a perda de peso por cozimento e grau de retração;
- Avaliar a atuação da APH e/ou MTGase sobre o perfil proteico através da análise de eletroforese (SDS-PAGE);
- Avaliar o efeito térmico diante da APH e da MTGase;
- Avaliar a aceitação sensorial e correlacionar com os dados obtidos na análise “Check all that Apply”.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Produtos cárneos reestruturados

O termo *carne reestruturada* começou a ser utilizada no início da década de 1970 para incluir uma série de produtos elaborados a partir de porções cárneas magras e gordas, cortadas em pedaços mais ou menos grossos, e mesmo trituradas e reduzidas a pasta fina, comercializados como produtos crus (refrigerados ou congelados) ou como pré-cozidos ou cozidos. Hoje, esse termo engloba produtos cárneos que tentam imitar o aspecto da carne integral (SEIDMAN, 1982; ORDÓÑEZ et al., 2005).

A importância da tecnologia de reestruturação está em tornar possível produzir derivados de carne com valor agregado e vantagens consideráveis (MANDIGO, 1988).

Segundo Seidman (1982) vários métodos para redução do tamanho dos fragmentos de carne podem ser adotados na fabricação de reestruturados cárneos. Os mais comumente usados são os de moagem, fina ou grosseira e o de fatiamento. No entanto, Raharjo et al. (1995) em seus estudos sobre diferentes técnicas de cominuição para produção de carne reestruturada utilizando sal e fosfato, não obtiveram diferenças significativas entre os processos quanto à força de ligação e textura, contudo os reestruturados elaborados com pedaços maiores de carne, apresentaram aparência mais próxima aos músculos intactos. Uma possível explicação é que embora ao moer finamente a carne aumente a quantidade de proteína extraída, o processo não necessariamente conduz a uma maior tensão e rendimento no cozimento (TROUT; SCHIMIDT, 1984).

A ligação entre os fragmentos cárneos é frequentemente alcançada pela solubilização das proteínas da superfície, obtida pelo efeito combinado do NaCl, fosfatos e da ação mecânica. Sendo posteriormente moldados por compressão na forma desejada e assim unidos em uma só peça (SMITH, 1982).

Boles et al (1998) observaram em seus estudos, que adicionar um sistema ligante a frio permite a fabricação de reestruturados elaborados com fragmentos de carne maiores.

O cloreto de sódio, os fosfatos e os polifosfatos são substâncias usuais nesses produtos cárneos, utilizados para aumentar a força iônica do meio e a solubilidade. Além de uma pequena quantidade de água, a fim de compensar as perdas ocorridas durante o processamento, uma vez que a água é necessária como solvente dos componentes do sabor e ao mesmo tempo confere ao produto a adequada suculência (ORDÓÑEZ et al., 2005).

Considerando que carnes reestruturadas são preparadas utilizando baixo teor de sal e fosfatos, há pouca extração proteica e conseqüentemente menor poder de ligação. Para melhorar a ligação entre os fragmentos e possibilitar a comercialização destes produtos na forma resfriada podem-se utilizar diferentes sistemas ligantes (SEIDMAN e DURLAND, 1983).

A transglutaminase microbiana (MTGase) é uma potencial alternativa para obtenção de produtos cárneos reestruturados crus com melhor textura e força de gel (FERREIRA et al., 2012).

Desta forma, carnes reestruturadas se tornam cada vez mais populares e possuem inúmeras vantagens importantes para indústria cárnea (SERRANO et al., 2004). A demanda por alta qualidade, produtos de carne com preços moderados tem sido a força motriz para desenvolver métodos de reestruturação de corte de baixo valor e pior qualidade para melhorar seu valor de mercado fazendo bifes palatáveis semelhantes a músculo intacto e também para maximizar a eficiência da carcaça utilizada (BUCHERT et al., 2010; CESTARI, 2007).

3.2 Transglutaminase Microbiana (MTGase)

A transglutaminase (TGase; EC 2.3.2.13) é uma enzima capaz de melhorar as características funcionais das proteínas por catalisar reações de transferência de acil entre grupos α -carboxâmida de peptídeos ligados a resíduos de glutamina e várias aminas primárias, incluindo poliamidas. Ela forma ligações de isopeptídeos entre glutamina e resíduos de lisina em proteínas, introduzindo assim ligações covalentes cruzadas intra e intermoleculares (NONAKA et al., 1989; KURAISHI et al., 2001).

A TGase apresenta-se distribuída em todas as matérias-primas de origem animal, sendo geralmente encontrada no sangue e no fígado de mamíferos, peixes, plantas e microrganismos (FOLK, 1980; ANDO et al., 1989; KANAJI et al., 1993; YASUEDA et al., 1994). Está envolvida em vários processos biológicos, incluindo cicatrização, coagulação de sangue, queratinização epidérmica, e enrijecimento da membrana do eritrócito (AESCHLIMANN; AULSSON, 1994).

De acordo com Bagagli (2009), a MTGase pode atuar de três formas distintas em proteínas (Figura 1): a) entre resíduos de glutamina e aminas livres; b) entre resíduos de glutamina e lisina e c) entre resíduos de glutamina e água. Sendo a reação mais importante desta enzima, a ligação cruzada entre proteínas que resultam na formação de ϵ -(g-Glutamil) lisina (NONAKA et al., 1989; KURAISHI et al., 2001).

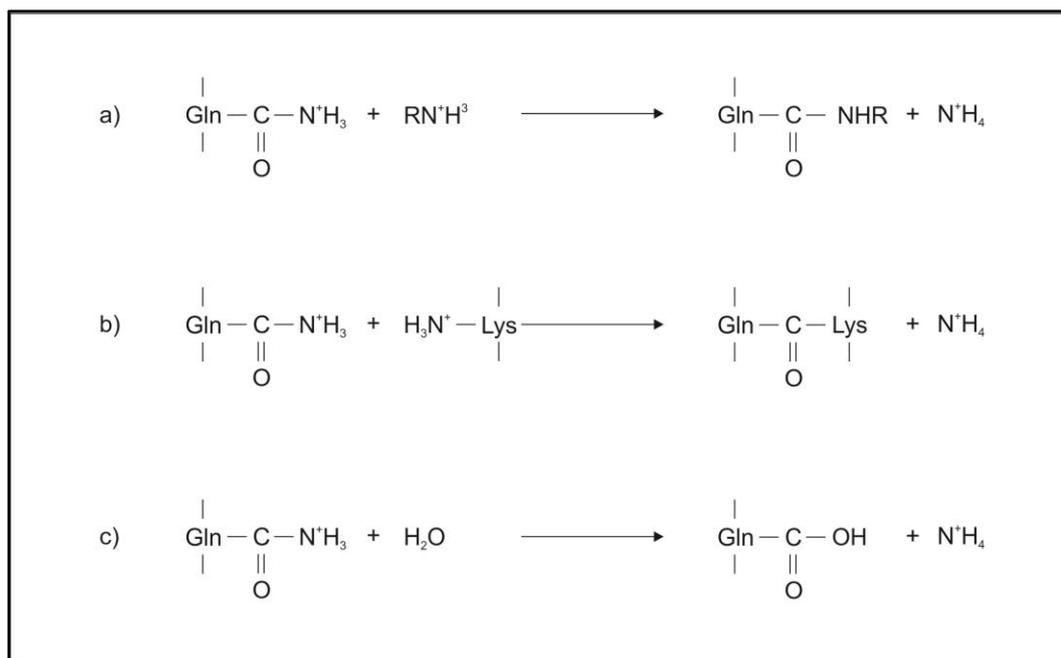


Figura 1: Reações catalisadas por transglutaminase (a) entre resíduos de glutamina e aminas livres, (b) entre resíduos de glutamina e lisina e (c) entre resíduos de glutamina e água (BAGAGLI, 2009).

O mecanismo de ação da transglutaminase é muito semelhante ao de proteases (PLACIDO et al., 2008), consistindo basicamente em duas etapas (Figura 2). Na primeira etapa o grupo tiol da cisteína presente no sítio ativo ataca a cadeia lateral de um resíduo de glutamina disponível no substrato proteico, formando um complexo acil-enzima e liberando amônia. Em seguida, uma amina primária substitui a enzima, gerando uma glutamina carboxiamida modificada (NEGUS, 2001).

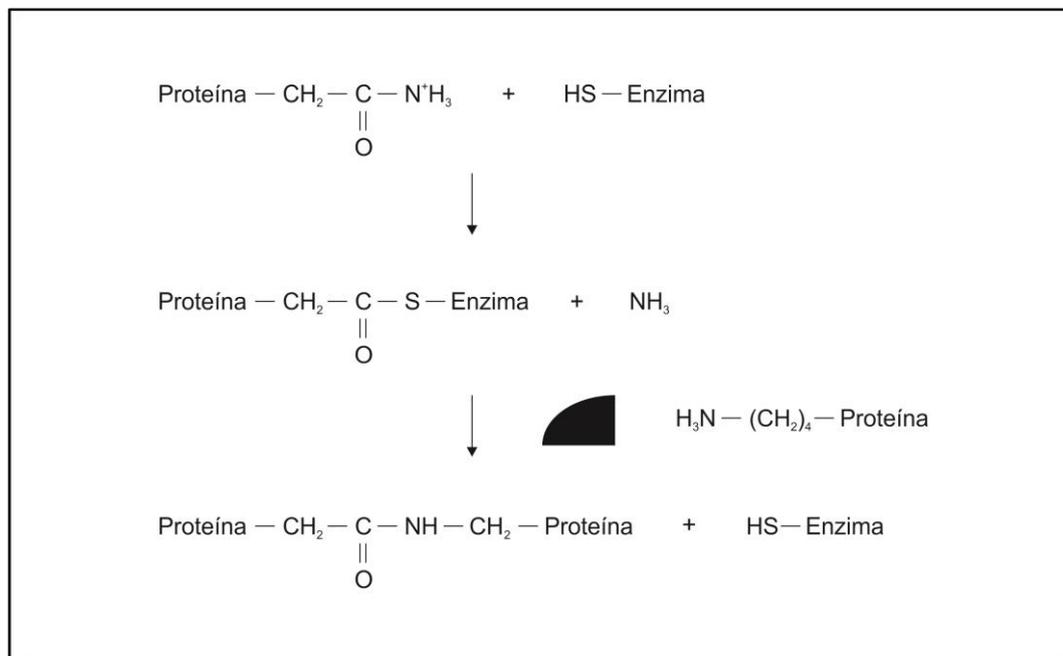


Figura 2: Mecanismo de ação da transglutaminase (BAGAGLI, 2009).

Em relação aos valores de pH e temperatura, não há um consenso na literatura, porém, de acordo com Motoki & Seguro (1998) a enzima é muito versátil, reagindo em uma faixa ampla de pH e de temperatura. Desta forma, observa-se que o pH ótimo de atuação da enzima se encontra numa faixa entre 5,0 e 8,0, porém entre 4,0 a 9,0 ainda expresse atividade enzimática.

Já o ponto isoelétrico (pI) da transglutaminase microbiana, segundo estudo realizado por Ando et al. (1989), fica aproximadamente entre 8,9 e 9,0. E a temperatura ótima de atividade enzimática se apresenta entre 0 a 75 °C. Mas, de acordo com Bursey (1996), existem relatos que temperaturas acima de 50°C diminuem atividade da enzima.

A propriedade de catalisar reações entre aminoácidos da TGase, tem sido muito utilizada para modificar as propriedades funcionais das proteínas alimentares. As ligações cruzadas são estabelecidas em uma série de proteínas, tais como soro de leite, proteína de soja, glúten, miosina e actomiosina, melhorando a textura, a elasticidade, capacidade de retenção de água, protegendo a lisina presente nas proteínas dos alimentos e encapsulando lipídeos e ou materiais solúveis em lipídeos (ZHU et al., 1995).

Por anos, a única fonte comercial de transglutaminase foi o fígado de cobaias, mas a fonte escassa, e a dificuldade na separação e purificação resultavam em um preço muito elevado da enzima, inviabilizando o uso da mesma de fonte tecidual em escala industrial de alimentos. A partir daí, aumentaram as pesquisas sobre produção de transglutaminase de origem microbiana (MTGase) (ZHU et al., 1995).

Desde em 1989, há pesquisas a respeito da produção de TGase de origem microbiana (MTGase) e recentemente a enzima adquiriu grande importância devido às inúmeras aplicações na indústria de alimentos (ANDO et al., 1989; KURAISHI, et al.2001).

Estudos baseados na seleção de milhares de microrganismos mostraram que linhagens do gênero *Streptovercillium* têm grande capacidade de produzir TGase em grandes proporções devido ao seu tipo de crescimento micelial no meio de cultura, que é uma característica do gênero (YAN et al., 2005).

Além da sua capacidade de produzir a enzima em grande quantidade, esse gênero se destaca por produzir enzimas cálcio independente e de peso molecular relativamente baixo, favorecendo sua utilização pela indústria (YOKOYAMA et al., 2004).

O uso da enzima Transglutaminase de origem microbiana, é considerado seguro, mundialmente e no Brasil o seu uso é regulamentado pela RDC nº26 de 26/05/2009, onde são citadas as espécies *Streptovercillium mobaraense* e *Streptomyces mobaraense* (BRASIL, 2009).

Na indústria cárnea, a MTGase se mostra de grande aplicabilidade uma vez que participa formando pontes-cruzadas entre proteínas e desta forma promove uma estrutura de rede de proteínas mais forte, viabilizando a produção de reestruturados e emulsionados cárneos com melhor textura e conseqüentemente maior aceitação dos produtos e benefícios econômicos consideráveis (YOKOYAMA et al., 2004; AHHMED et al., 2009).

Segundo Ahhmed et. al. (2009), o potencial catalítico da MTGase, é capaz de promover interação entre as cadeias laterais de glutamina (C-terminal) com as cadeias laterais de lisina (N-terminal). Assim sendo, a MTGase catalisa as interconexões de miofibrilas e assim polímeros gigantes podem ser criados. Logo, melhora a elasticidade do gel de carne e forma uma rede proteica (a partir de ligações proteína-proteína).

Desta forma, a geleificação induzida pela adição de MTGase em produtos à base de carne tem sido investigada, onde observa-se que a força do gel é reforçada pelo calor no tratamento subsequente à ação de MTGase, aprimorando a resistência do gel de proteínas e a textura de carne e seus derivados (AHHMED et al., 2009).

Ahhmed et al. (2009) pesquisaram a atuação da MTGase em carne de frango e bovina e concluíram que os músculo branco e vermelho responderam de forma diferente e diante dos resultados, levantaram quatro fatores possíveis relacionados: (a) variação da fisiologia muscular e morfogênese, (b) a identidade de aminoácidos livres, especialmente aqueles com a capacidade de reagir com o MTGase, (c) a quantidade e a distância transferíveis entre aminoácidos e (d) o valor de inibidores da MTGase.

A reestruturação auxiliada pela MTGase que tem se tornado uma ferramenta de grande importância no setor de carnes sendo utilizada para melhorar a textura de proteínas de carne reestruturada, com ou sem adição de sal e fosfatos (LEE & PARK 2003; SERRANO et al., 2004).

Dimitrakopoulou et al (2005) estudaram a utilização da MTGase (Activa® WM) em reestruturado cozido a base de carne suína, e puderam observar que um nível de 0,15% de enzima foi o suficiente para formular um produto livre de fosfatos e com teor reduzido de sal (1%), resultando num produto mais saudável e sensorialmente aceitável.

No mesmo sentido, Ávila et al. (2010), desenvolveram um estudo sobre a aplicação de MTGase (Activa®) na reestruturação de pernil suíno desossado para fabricação de presunto seco curado com nível reduzido de sal, e puderam concluir que a enzima pode ser utilizada numa escala prática na reestruturação de pernil suíno por estabelecer ligações cruzadas estáveis durante os processos de salga e secagem.

Killic (2003) estudou o efeito da adição da enzima MTGase em *döner kebab* de frango e verificou que houve uma reação de ligação cruzada entre as proteínas da carne, sendo a enzima uma fonte de substituição potencial para o cloreto de sódio.

Em reestruturado de carne de aves com níveis de sal reduzido elaborados com algas e aplicação de MTGase e caseinato, a MTGase em conjunto com o caseinato, se mostrou Psensorialmente aceitável e estável no armazenamento (CONFRADES et al., 2011).

Cestari (2007) estudou a valorização de músculos provenientes da paleta bovina, pela ação da MTGase (Activa® TG-B) através de injeção de salmoura e posterior massageamento. Concluindo que a MTGase é efetiva no processo de ligação entre os fragmentos de carne, sendo essa propriedade essencial para a textura do produto, independentemente do processo de incorporação da enzima ao produto, apresentando bifes reestruturados de boa qualidade sensorial.

Ferreira et al. (2012), comparando as características físico-químicas e sensoriais de hambúrguer bovino elaborado com cloreto de sódio, polifosfato e MTGase, reconheceram a vantagem em se utilizar a MTGase em detrimento dos outros aditivos comumente empregados para unir os pedaços cárneos, cloreto de sódio e polifosfatos. A enzima foi capaz de promover a junção dos pedaços de carne, aumentando o rendimento e mantendo a suculência, mostrando ser uma alternativa para a obtenção de reestruturados crus sobre refrigeração, resultando em produtos saudáveis com teores menores de sais como os polifosfatos e cloreto de sódio.

Desta forma, observa-se a eficiência e aplicabilidade da MTGase em inúmeros produtos de origem cárnea.

3.3 Tecnologia de Alta- Pressão Hidrostática (APH)

A Alta Pressão Hidrostática (APH) embora seja considerada pela literatura como uma técnica nova, é conhecida desde o século XIX como método para processar e conservar alimentos. Porém somente na década de 80 foram intensificados os estudos sobre APH (ARROYO; PRESTMO, 1996; COSTA et al., 1999; GAVA et al., 2008).

Esta técnica já tinha sua utilização na produção de cerâmicas, materiais compostos, diamantes artificiais e plásticos, o que aumentou a possibilidade de sua utilização na área de alimentos, e foi adaptada para sua aplicação na indústria alimentícia (SANGRONIS et al, 1997; CAMPOS et al., 2003).

O processamento de alta pressão hidrostática consiste em submeter o alimento sólido ou líquido, embalado ou não, a níveis de pressão bastante altas, variando de 50 a 1000 MPa (ZIMMERMAN; BERGMAN, 1993). Já nos sistemas comerciais, as pressões utilizadas variam de 300 MPa e 700 MPa (CHEFTEL; CULIOLI, 1997; EARNSHAW et al, 1995; FARKAS; HOOVER, 2000; GRANT et al, 2000; SAN MARTÍN et al, 2002). E o tempo de exposição pode variar de um milissegundo a mais de 20 minutos (FARKAS e HOOVER, 2000).

Os efeitos da APH se baseiam em dois princípios: o princípio de *Lê Chatelier* e o princípio da pressão isostática. O primeiro é aquele no qual, qualquer fenômeno, transição de fase, mudança de conformação molecular ou reação química vem acompanhada por uma redução de volume e é favorecida pelo aumento de pressão e vice-versa (CHEFTEL; CULIOLI, 1997). Já o segundo princípio diz que a pressão é transmitida de forma uniforme e quase instantânea (BARBOSA-CÁNOVAS; RODRIGUEZ, 2002).

A pressurização é realizada em espaço confinado contendo fluido, geralmente água, que atua como o meio de transferência da pressão. A pressão é aplicada igualmente em toda às direções o que permite aos sólidos reterem o seu formato original. Uma das vantagens deste processo sobre os processos térmicos e outros processos convencionais é que, ao contrário destes, a pressão isostática independe do tamanho e geometria do produto, assim como do tamanho do equipamento (CHEFTEL; CULIOLI, 1997; FARKAS; HOOVER, 2000). Estes fatores facilitaram a transferência de tecnologia da escala laboratorial para a escala industrial (TORRES; VELAZQUEZ, 2005).

Um sistema de APH consiste basicamente de um recipiente de alta pressão, um sistema para geração de pressão, um sistema para controle da temperatura e da pressão e um sistema de manipulação do material. A Figura 03 representa um diagrama esquemático do equipamento de alta pressão hidrostática, segundo Buzrul et al, 2007.

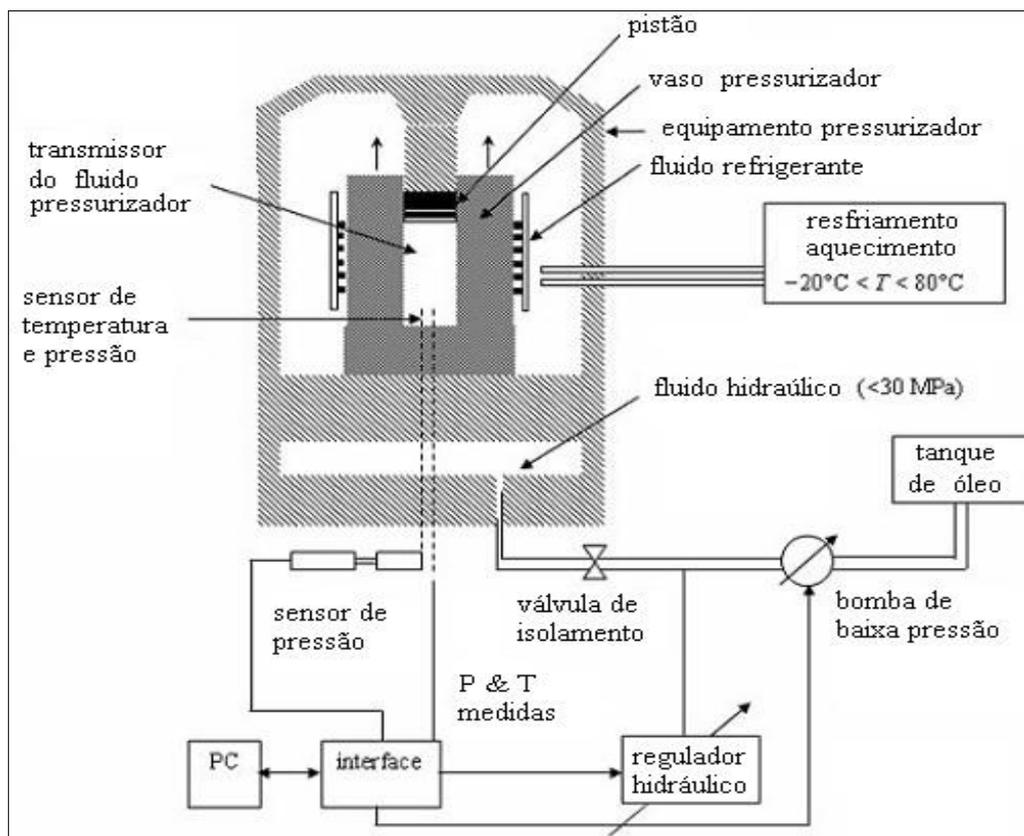


Figura 03 – Diagrama esquemático do equipamento de alta pressão hidrostática (BUZRUL et al. 2007).

Um período de tempo inicial é necessário para que a pressão desejada seja alcançada, este período de tempo é chamado de *come up time*. Em seguida, a pressão é mantida pelo tempo que foi programada e ao final do processo é equalizada à pressão ambiente, em apenas alguns segundos, a partir dos quais o alimento pode ser retirado (BARBOZA- CANOVAS; RODRÍGUEZ, 2002).

A aplicação da alta pressão hidrostática para alimentos resulta em transmissão instantânea e uniforme da pressão a todo o produto independente do volume, assim a pressão é dita “isostática” (GALAZKA; LEDWARD, 1995).

O alimento é acondicionado em embalagens flexíveis, depois são inseridos na câmara de pressão. A câmara é fechada e preenchida com o meio transmissor da pressão, eliminando todo o ar. O processo de pressurização é iniciado e, ao final do ciclo, a câmara é despressurizada e a água (meio transmissor de pressão) é recolhida ao tanque de armazenamento (ZIMMERMAN; BERGMAN, 1993; FARKAS; HOOVER, 2000).

Com a pressurização o alimento tem seu tamanho reduzido cerca de 15%, porém com a despressurização ocorre expansão equivalente. Por isso as embalagens utilizadas devem ser adequadas flexíveis o suficiente para suportar a essa retração e posterior expansão ao final do processo e sem perda da integridade do material e da selagem utilizada (FARKAS; HOOVER, 2000).

Quando a pressão é aplicada ocorre um correspondente aumento de temperatura no fluido de compressão que é transmitida ao alimento. Essa elevação da temperatura é chamada de calor adiabático, onde a cada 100 MPa de pressão, aumenta de 3 a 6°C dentro do recipiente, dependendo do sistema, pois pode variar conforme a natureza do produto, composição química do alimento, a temperatura do processo (FARKAS e HOOVER, 2000; BUTZ e TAUSCHER, 2000; ANSTINE, 2003). Porém a temperatura é restabelecida com a

despressurização (TEWARI et al, 1999). No entanto o processo é considerado não térmico, pois envolve pequeno aumento da temperatura (BARBOSA- CÁNOVAS; RODRÍGUEZ, 2002).

Portanto os pontos críticos de controle do processamento de alimentos por alta pressão incluem, de acordo com Farkas e Hoover (2000) e Meyer et al. (2000): temperatura interna do recipiente anteriormente à alimentação do produto; temperatura do produto e uniformidade de temperatura em diferentes pontos do produto; relação produto/fluído de pressurização no recipiente; integridade e hermeticidade da embalagem; pressão; tempo de pressurização; pressão máxima em cada pulso ou ciclo; número de pulsos ou ciclos; frequência e formato dos pulsos ou ciclos; tempo de despressurização; propriedades físico-químicas do produto (pH, Composição centesimal, atividade de água, matriz do alimento).

3.4 Efeitos da APH sobre as proteínas miofibrilares

O processamento de APH tem sido utilizado como um possível meio de melhorar as propriedades funcionais de proteínas musculares, tal como foi mostrado por Macfarlane (1974) e Macfarlane e Mckenzie (1976), aumentando a solubilidade das proteínas miofibrilares.

Vários estudos bioquímicos sugerem que pressões acima de 200MPa geralmente causam, em temperatura ambiente, a dissociação de estruturas oligoméricas (estrutura quaternária) em suas subunidades com a abertura parcial e estruturas monoméricas, sendo em muitos casos irreversíveis. Podendo também induzir a gelatinização e agregação das proteínas, sempre que a pressão e a concentração de proteínas sejam suficientes (CHEFTEL, 1995; HEREMANS; SMELLER, 1997).

As modificações físicas do tecido muscular sob altas pressões incluem diminuição do volume na fase aquosa e queda de pH. Tais modificações são reversíveis quando a pressão é liberada. Porém, mesmo pequenas exposições a essas modificações podem alterar de forma permanente a estrutura das proteínas e sua associação com compostos não proteicos. Pressões acima de 100 MPa podem causar dissociação da estrutura quaternária das proteínas em subunidades, desdobramento de proteínas monoméricas podendo, ainda, induzir a agregação e a gelificação de proteínas (CHEFTEL; CURIOLI, 1997; HEREMANS; SMELLER, 1997).

Segundo Yamamoto et. al. (1992) os tratamentos com APH separam as cadeias pesadas de miosina em monômeros de uma cabeça, seguidos de uma interação cabeça-cabeça, formando assim agregados.

As proteínas cárneas quando expostas a condições de alta temperatura, pH extremo e APH, podem se desenovelar-se e perder parcialmente sua estrutura a conseqüentemente a sua função. A APH age ao forçar a entrada de água no cerne proteico, o que resulta na quebra de interações fracas e, conseqüentemente, o desenovelamento proteico (CREIGHTON, 1987; apud PALMIERI, 2005).

Estudos realizados por Sikes et al. (2009) através de exames das proteínas por SDS-PAGE indicou que a APH contribuiu com o aumento da ligação através da solubilização de proteínas e gelificação através do desdobramento parcial, sendo esse aumento da capacidade de solubilização, uma contribuição para o sucesso na fabricação de salsichas com redução de sal, obtendo produtos com menores perdas pelo cozimento e de textura melhorada.

Grant et al. (2000) afirmaram que diferentes níveis de pressão, assim como diferentes níveis de temperatura e tempos de aplicação de pressão, irão proporcionar diferentes mudanças dependendo do alimento que está exposto à pressão e a composição deste. Em pesquisas realizadas com carne de porco, Scheibenzuber et al. (2002), usaram a eletroforese SDS-PAGE para verificar alterações nas proteínas miofibrilares deste produto após tratamento a diferentes pressões, e verificaram que componentes de filamentos finos foram

solubilizados facilmente com aplicação de pressão, no entanto a solubilização da miosina dependeu da magnitude e da duração do tratamento sob pressão aplicada.

Através de estudos cristalográficos, pesquisadores mostraram que embora as proteínas sejam altamente enoveladas, em seu interior existem “espaços vazios”, os quais são formados pela impossibilidade de se estabelecer uma distância mínima entre os átomos (RICHARD, 1979; apud SLONGO, 2008). Explicando porque a forma nativa das proteínas ocupa um volume maior do que seu estado desenovelado. Dessa forma, pelo princípio de *Le Chatelier*, a aplicação de pressão desloca o equilíbrio no sentido da diminuição do volume, ou seja, passa ao estado dissociado.

Então, a hipótese mais aceita para explicar porque as altas pressões favorecem a dissociação de proteínas pressupõe também a existência de espaços “mortos” no interior das mesmas, que se originam da impossibilidade de que todos os resíduos de aminoácidos assumam os mínimos de distância intermoleculares possíveis (FOGUEL, 1993).

Portanto, quando a proteína se desenovela, o sistema proteína-solvente sofre contração de volume devido ao empacotamento dos resíduos de aminoácidos pela molécula do solvente. Dessa forma, o que se supõe é que, sob pressão a água infiltra na proteína, onde as ligações fracas são desestabilizadas (FOGUEL, 1993).

Segundo Boaoquina (2006) o efeito da APH na estrutura das proteínas depende de fatores extrínsecos, como o pH, a temperatura e o meio iônico, mas também são dependentes das propriedades intrínsecas da proteína, como exemplo, as pontes de dissulfeto que são responsáveis pela flexibilidade e estabilidade molecular.

MacFarlane (1974) relatou que a pressão é capaz de solubilizar as proteínas, apresentando como consequência o aumento das interações entre proteína e água, apresentando menor perda por gotejamento após cozimento de carnes e produtos cárneos, e maior firmeza e coesão nos produtos prontos.

Porém, segundo Smelt (1998), de um modo geral, pressões acima de 300 MPa causam desnaturação proteica irreversível à temperatura ambiente, enquanto que abaixo desse valor, as alterações são reversíveis.

Já a desnaturação é decorrente do desdobramento da sua estrutura conformacional, que resulta de uma redução do volume molar e ocorre principalmente devido ao rompimento de interações hidrofóbicas e eletrostáticas, sendo que as ligações covalentes e as pontes de hidrogênio, não são afetadas pela pressão (NEEDS et al., 2000; BOUAQUINA et al., 2006). Significando que a pressão é capaz de romper as ligações que mantêm as estruturas terciárias e quaternárias das proteínas globulares, porém possui pouca influência na estrutura primária e secundária (BOUAQUINA et al., 2006).

3.5 Matéria-prima

3.5.1 Paleta Bovina

O valor dos cortes cárneos está intimamente ligado a sua maciez e suculência. Historicamente observa-se uma diferença significativa nos preços de venda entre os cortes de carne provenientes do quarto traseiro e do quarto dianteiro, sendo este último o de menor valor. Nesta última década observou-se um aumento no consumo de cortes cárneos tradicionalmente macios, como o filé mignon, e um declínio no consumo de cortes de textura mais firme, como a paleta (VON SEGGERN et al., 2005).

Os cortes dianteiros bovino são considerados como “de segunda”, são praticamente ignorados pelo consumidor e pela gastronomia, por não apresentarem a maciez dos cortes considerados como “de primeira” (GOMIDE et al., 2006).

Existe uma tendência crescente nesta última década no desenvolvimento de pesquisas visando agregar valor à carne de músculos subutilizados nos serviços de alimentação, principalmente àquela proveniente dos músculos: *Tríceps braquial*, *Supraespinhoso* e *Infraespinhoso*, que apresentam maior potencial para produzir carne de palatabilidade aceitável para o consumidor, pois possuem os menores valores de força de cisalhamento dentro de sua categoria (VON SEGGERN et al., 2005).

As estratégias mais utilizadas para o aumento da qualidade sensorial da carne podem minimizar as diferenças de maciez entre os diversos músculos de uma carcaça, permitindo a valorização dos cortes comercialmente menos solicitados (VON SEGGERN et al., 2005).

Cestari (2010) avaliou em seus estudos a viabilidade da valorização de músculos provenientes da paleta bovina, na fabricação de reestruturado com adição de transglutaminase microbiana através de dois processamentos de fabricação diferentes, injeção e massagem com tripolifosfato e cloreto de sódio, e pode concluir que tanto o massagem quanto a injeção foram eficientes em melhorar a textura do corte cárneo, mostrando a eficiência da enzima na agregação dos retalhos cárneos e a viabilidade em transformar cortes de pouco valor comercial em um produto cárneo prático e de qualidade.

3.6 Aditivos

3.6.1 Cloreto de sódio (NaCl)

O sal de cozinha (cloreto de sódio) é composto por aproximadamente 40% de sódio e 60% de cloreto (RUUSUNEN et al., 2005).

O seu uso antecede o uso da refrigeração tendo início na culinária como conservador devido ao seu potencial sanitário na diminuição da multiplicação de microrganismos. Na antiguidade havia períodos de escassez de alimentos e necessitavam de armazená-los por mais tempo, e o uso do sal proporcionava maior durabilidade as carnes (KURLANSKY, 2002).

O sal contribui com atributos funcionais aos alimentos, tais como textura, sabor e segurança microbiológica os quais são difíceis de obter com outros ingredientes. Sendo usado em carnes preparadas por razões importantes de liga, *flavour* e preservação (HORITA, 2010).

De acordo com Ghavimi et. al. (1987) umas das funções do NaCl é extrair as proteínas miofibrilares, induzindo a solubilização dessas proteínas, e esse formando um exsudado que atua como agente de ligação entre os pedaços de carne.

A extração e solubilização dessas proteínas musculares contribuem para ligação da partícula da carne para a emulsificação da gordura e para o aumento da capacidade de retenção de água. Assim, ele reduz as perdas por cozimento e melhora a qualidade e textura do produto. Quando o produto é cozido, a gordura, a água e os outros constituintes são atraídos para dentro da matriz de proteína cárnea coagulada para formar produtos aceitáveis em relação a rendimento, maciez, umidade, textura e qualidade global (PARDI et. al., 1996).

O aumento da solubilidade das proteínas musculares ocorre através do aumento da força iônica, favorecendo assim a manifestação das suas propriedades tecnológicas (poder emulsificante, ligante e outros). Desta forma, quando a miosina, a actina e actomiosina são submetidas a aquecimento, em um meio de uma força iônica elevada, formam uma estrutura firme. Enquanto que na ausência de sal, produz-se uma estrutura esponjosa de pouca resistência (ORDÓÑEZ et al., 2005).

O sal também desempenha um papel fundamental no desenvolvimento das propriedades sensoriais, contudo, o seu uso isolado resulta em produtos secos, de textura inadequada e de baixa palatabilidade, apenas com sabor salgado. É também responsável pela oxidação do pigmento mioglobina, produzindo cor escura (metamioglobina), o que causa uma rejeição nos consumidores (ORDÓÑEZ et al., 2005).

Desta forma, a adição de sal ou cloreto de sódio à carne para aumentar a vida de prateleira e realçar sabor é uma prática antiga. Ele também é usado para aumentar a capacidade de retenção e água (CRA) em função da extração das proteínas miofibrilares, proporcionando uma melhoria subsequente da perda por gotejamento e rendimentos após cocção. Esse ingrediente não cárneo convencional atua sem alterar o pH da carne. As proteínas da carne têm a habilidade de entumescer, podendo até dobrar de volume quando em presença das concentrações de sal empregadas no processamento de carne (PUOLANNE et al., 2001). O íon cloreto liga-se aos filamentos das proteínas miofibrilares e aumenta a força de repulsão eletrostática entre elas, fazendo com que a matriz protéica se abra, permitindo o entumescimento, o qual fornece um número maior de cadeias laterais de proteína que podem se ligar à água, aliado ao aumento da CRA (OFFER e RINICK, 1983).

3.6.2 Polifosfatos

O polifosfato, de acordo com a FAO (1995), é considerado um aditivo intencional, classificado como estabilizante, cuja principal função é estabilizar uma mistura e não permitir que ocorram modificações físicas e químicas no produto.

Os polifosfatos são substâncias que aumentam a capacidade de ligação da água em carnes cozidas. O mais comum é o tripolifosfato de sódio. A água fica imobilizada na rede formada por proteínas e fosfatos. Esta rede é estabilizada pela coagulação das proteínas durante o tratamento térmico dos produtos (MARBA, 2004). De acordo com Sofos (1985), são compostos que apresentam a propriedade de quelar alguns íons como o Ca^{+2} , Mg^{+2} , Fe^{+2} e Fe^{+3} , prevenindo o desenvolvimento da rancidez oxidativa e ajudando a estabilizar a cor e o sabor.

As duas classes de fosfatos são os ortofosfatos, que contêm um único átomo de fósforo, e os polifosfatos, que contêm dois ou mais átomos de fósforo. Fosfatos são largamente utilizados em um grande número de alimentos processados, incluindo carne vermelha, frango, frutos do mar e produtos lácteos (JURIATTO, 2003).

De acordo com Young et al. (1987), os fosfatos são, geralmente, usados em produtos cárneos para aumentar a capacidade de retenção de água, melhorar a ligação e rendimento no cozimento. Também aumentam a estabilidade da cor em produtos curados; reduzem perdas de suco no cozimento; melhoram suculência e maciez; melhoram sabor; reduzem tempo de cozimento e perdas no descongelamento (“drip”), entretanto, podem alterar a textura, aumentando a elasticidade e a aderência.

Os fosfatos são amplamente utilizados para aumentar a força de ligação, a capacidade de retenção de água e o rendimento após cozimento em produtos reestruturados de carne (SIEGEL; SCHMIDT, 1979). Sua ação é atribuível ao aumento dos valores de pH e força iônica em produtos cárneos (SCHMIDT; TROUT, 1982).

No Brasil, de acordo com a legislação (BRASIL, 1998), a qual aprova o Regulamento Técnico “Atribuição de Função de Aditivos, Aditivos e seus Limites Máximos de uso para a Categoria 8 – Carne e Produtos Cárneos” preconiza limite máximo de 0,5% para os fosfatos de sódio (quantidade adicionada, descontada a quantidade de fosfatos naturalmente presente na carne).

A interação de polifosfatos com o tecido muscular e o mecanismo de hidratação e amaciamento da carne não estão completamente elucidados, apesar de muito estudados. Alguns fatores sugeridos por pesquisadores têm sido o aumento do pH, aumento da força iônica, seqüestro dos íons metálicos e dissociação do complexo actomiosina. No entanto, o aumento do pH e da força iônica são as hipóteses mais largamente aceitas (DETIENNE; WICKER, 1999).

3.7 Análise Sensorial

A análise sensorial é uma ciência que objetiva, principalmente, estudar as percepções, sensações e reações do consumidor sobre as características dos produtos, incluindo sua aceitação ou rejeição (MINIM et al., 2010).

É definida pela NBR 12806 como uma técnica científica utilizada para evocar, medir, analisar e interpretar as características dos alimentos e materiais, como são percebidos pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição (ABNT, 1993a).

Os testes de aceitação são usados quando o objetivo é avaliar se os consumidores gostam ou desgostam do produto (MINIM et al., 2010).

A escala hedônica comumente com nove pontos é, provavelmente, o método sensorial mais usado para a medida da aceitação e preferência dos produtos. Desde o seu desenvolvimento esta tem sido usada em uma larga variedade de produtos e com considerável sucesso (STONE; SIDEL, 1993)

O método avalia, através de reações dos consumidores, o grau de gostar ou desgostar de um determinado produto dado em certas condições (LAWLESS; HEYMANN, 1999). A escala é facilmente entendida pelos consumidores, necessitando de mínima instrução, e é reprodutível com diferentes grupos de julgadores (STONE; SIDEL, 1993).

Outra técnica bastante interessante é a técnica “marque tudo que se aplica” (Check All That Apply - CATA) consiste de uma lista de palavras ou frases que considere adequadas para descrever um produto. Este tipo de técnica tem sido utilizada em estudos de mercado para determinar quais os atributos sensoriais os consumidores esperam encontrar no alimento em teste (ADAMS et al., 2007; MEULLENET et al., 2008).

A geração de termos para CATA pode ser feita de várias maneiras. Segundo Dooley et. al. (2010), os termos podem ser gerado por avaliadores de painéis treinados, ou pelos consumidores que irão testar o produto, como por exemplo, um grupo focal.

Desta forma, a livre escolha de atributos permite ao consumidor usar a quantidade de palavras necessárias para descrever o produto e avaliar a intensidade dos atributos escolhidos, resultando numa visão mais precisa da percepção do consumidor e aceitação do produto testado (DELIZA et. al., 2005; GONZÁLES-TOMÁS; COSTELL, 2006; WILLIAMS et. al., 1984).

O método CATA requer instrução mínima, é de relativamente fácil execução e é concluído rapidamente (LANCASTER et. al., 2007). E, portanto, como as respostas CATA estão diretamente ligadas à percepção das características do produto pelos consumidores, estas respostas poderiam ser utilizadas como dados adicionais para maximizar a aceitação do produto pelos consumidores (DOOLEY et al., 2010).

Dooley et. al. (2010) relata que este tipo de metodologia tem a vantagem de recolher as informações percebidas sobre os atributos dos produtos sem escalas, permitindo uma descrição um pouco menos artificial das propriedades sensoriais dos produtos testados, dependendo de como os termos forem criados.

Pois, embora a utilização de perguntas CATA seja uma técnica segura para obtenção de caracterização sensorial de produtos pelos consumidores a um menor custo do que normalmente seria associado a um painel sensorial treinado, pouco se sabe sobre como as decisões tomadas no que diz respeito à coleta de dados e análise CATA influenciar os resultados obtidos (ARES; JAEGER, 2013).

Um dos problemas identificados é o formato das perguntas que não desperta o interesse nos entrevistados de se envolver profundamente na análise (SUDMAN; BRADBURN, 1992; KROSNICK, 1999). Fazendo com que escolham os primeiros termos, aqueles que estão no topo da lista, sem dar atenção ao restante dos termos (RASINSKI et al., 1994; SMYTH et al., 2006).

Castura (2009) relata que, em seus estudos com suco de laranja, a posição dos termos na lista avaliada pelos entrevistados, afetou a frequência dos termos escolhidos. Este autor verificou um aumento na frequência de 10-20% quando os termos foram localizados na primeira linha e primeira coluna, sugerindo que a ordem fixa dos termos CATA poderia atrapalhar os resultados.

3.8 Textura

Segundo a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), a textura é definida como todas as propriedades reológicas e estruturais (geométricas e de superfície) de um alimento, perceptíveis pelos receptores mecânicos, táteis e eventualmente pelos receptores visuais e auditivos (ABNT, 1993a).

Lawless e Heymann (1999) definem a textura de um alimento como sendo: "todos os atributos reológico e estrutural do produto perceptível por meio de receptores mecânicos, táteis, visuais e auditivos".

A textura é citada como um dos atributos sensorial mais importante na avaliação da qualidade da carne e seus derivados (BARTON- GADE, 1988). Sendo influenciada por uma gama de fatores, dentre eles as características zootécnicas, como a raça do animal, sexo, a quantidade de colágeno (QUALI, 1990; HUFF; RISH, 1993; DENOYELLE e LEBIHAN, 2003) e características anatômicas, como tipo de músculo (ZAMORA, 1997).

Além desses fatores, grande importância tem os fatores externos como manejo e alimentação. Assim como método de abate e maturação da carne (AALHUS et al., 1992; PANEA et al, 2003).

A textura não é vista como um atributo isoladamente, mas formada por um conjunto de características que pode apresentar um alimento e que se expressam sob o termo de textura (QUEIROZ; TREPTOW, 2006). Esse conjunto de características foi definido por Szczesniak (1965) em três grupos, que englobam as características mecânicas e geométricas e aquelas características que não dependem diretamente da aplicação de uma força, nem do tamanho, forma ou distribuição da partícula no alimento, mas são percebidas oralmente por receptores somáticos.

Em 1963, a General Foods Corporation desenvolveu a análise de perfil de textura (TPA), um método que aplica duas compressões simultâneas e desta forma simulando a mastigação humana (FRIEDMAN et al, 1963). Após cinco anos da invenção do método, Bourne (1968) fez algumas adaptações no protocolo instrumental superando algumas limitações da análise.

O método da TPA envolve a compressão da amostra por um corpo de prova (*probe*) que após penetrar ou comprimir o alimento, retorna ao ponto de origem, simulando os movimentos mecânicos da mordida ou mastigação (PONS; FISZMAN, 1996; TUNICK, 2000). Essa simulação é convertida em um gráfico de tensão, dessa forma podem-se obter os parâmetros que representam as propriedades físicas do material (KULMYRZAEV et al., 2005).

BOURNE (1978) define algumas propriedades mecânicas a partir do gráfico força x tempo (Figura 04), resultando em sete parâmetros (cinco medidos – fraturabilidade, dureza, coesividade, adesividade e elasticidade; e dois calculados a partir dos parâmetros medidos – gomosidade e mastigabilidade) expressos em unidade de massa ou força.

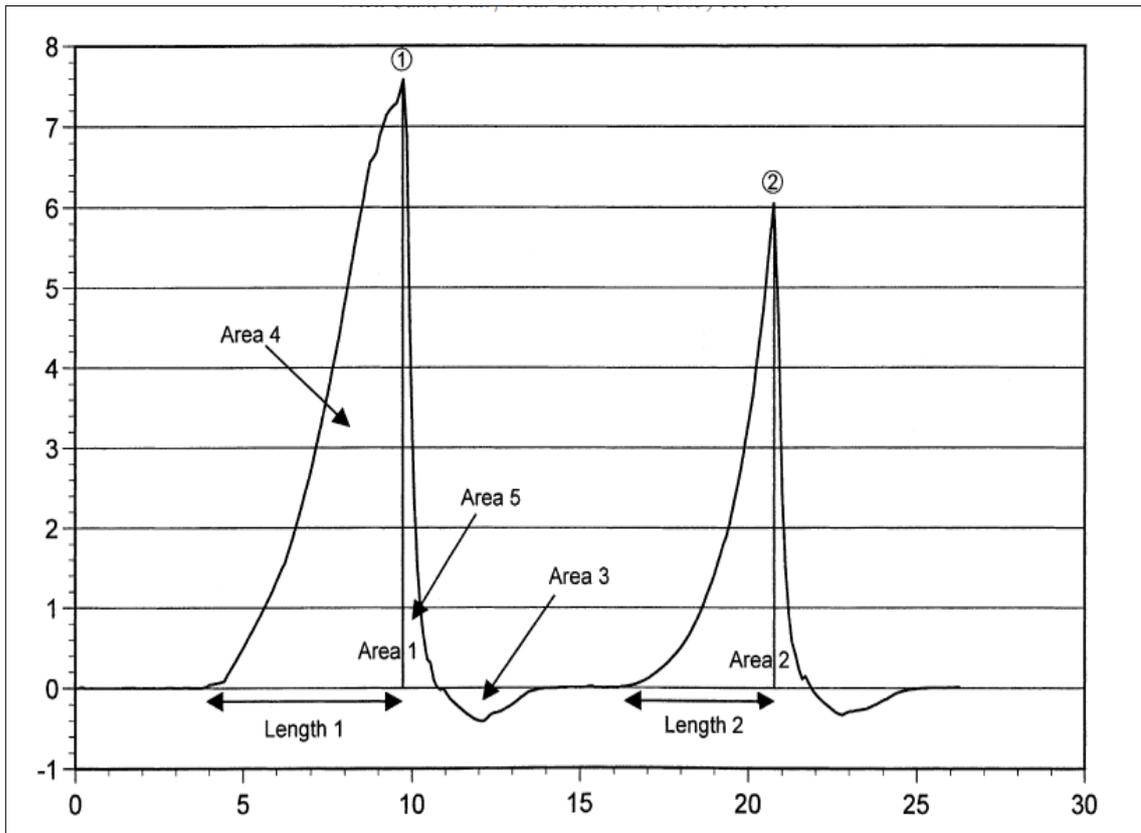


Figura 04: Gráfico de força x tempo para determinação dos parâmetros do perfil de textura. Dureza: primeiro pico (medida de força); Coesividade: área 2/área 1 (medida adimensional); Elasticidade: comprimento 1/comprimento 2 (medida distância); Mastigabilidade: dureza x coesividade x elasticidade (medida de trabalho). Fonte: CAINE et. al. (2003).

No caso de Análise de Perfil de Textura (TPA) em carne, os parâmetros aplicáveis foram descritos por Szczesniak e Torgesen (1965) e definidos por BOURNE (1982), como segue:

- ✓ Dureza: representada pela altura do primeiro pico, é a força máxima alcançada na primeira compressão para produzir uma deformação. Relaciona-se a força dentro da boca requerida para comprimir uma substância entre os dois dentes molares ou entre a língua e o palato. É expressa em Newton.
- ✓ Elasticidade: grau com o qual um produto volta a sua forma original, depois da primeira compressão e antes da segunda, ou a velocidade em que um material deformado volta à condição não deformada, depois que a força de deformação é removida.
- ✓ Coesividade: densidade que persiste quando se mastiga para transformar um alimento semi-sólido a um estado pronto para ser deglutido. Grau com o qual uma substância é comprimida entre os dentes antes de romper.
- ✓ Mastigabilidade: espaço de tempo requerido para mastigar uma amostra, a uma velocidade constante de aplicação de força, para reduzi-la a consistência adequada para deglutição.

Em carne reestruturada, a textura pode ser muito variada devido à variedade da matéria-prima utilizada e dos diferentes processos de fabricação (PEARSON; DUTSON, 1987). No entanto, a principal vantagem do TPA é que se consegue avaliar muitas variáveis com uma compressão dupla.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O produto em estudo foi desenvolvido na Planta Piloto II da Embrapa Agroindústria de Alimentos. As provas microbiológicas e avaliações físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Análises de Alimentos e Bebidas (LAAB) na UFRRJ, com exceção da análise de lipídeos que foi realizada no Laboratório de físico-química da Embrapa Agroindústria de Alimentos. As análises instrumentais de textura e cor foram realizadas no Laboratório de Análise Sensorial e as análises de eletroforese SDS-PAGE foram feitas no Laboratório de Bioquímica da Embrapa Agroindústria de Alimentos e a análise calorimétrica foi realizada no Laboratório de Cereais I na ASA III da Embrapa Agroindústria de Alimentos.

4.1 Material

Foram utilizados os três músculos da paleta bovina (*Infrapinatus*, *Suprapinatus* e *triceps brachii*) adquiridos em supermercado localizado no Estado do Rio de Janeiro. Os cortes possuem Inspeção Sanitária Federal (SIF) e foram adquiridos de acordo com os requisitos básicos de higiene e conservação.

A enzima Transglutaminase Microbiana Comercial (MTGase) Activa® GS foi doada pela Empresa Ajinomoto Biolatina e Com. Ltda.

Os aditivos, estabilizante a base de polifosfatos e o realçador de sabor a base de glutamato monossódico foram doados pela Empresa Duas Rodas Industrial®, a qual possui certificação ISO 9001/2000 e ISO 14001 para fabricação de todos os seus produtos.

4.2 Métodos

4.2.1 Delineamento experimental

O presente estudo utilizou um delineamento em blocos estendidos ao acaso, conduzidos com um nível de pressão, 200 MPa por 1 minuto e três níveis de transglutaminase microbiana (MTGase): 0,5%, 0,7% e 1%, além do controle, com tempo de hidrólise de 5 horas em temperatura de refrigeração (aproximadamente 5°C) . Apresenta oito tratamentos: T1 (controle), T2 (0,5%MTGase), T3 (0,7% MTGase), T4 (1% MTGase). T5 (200MPa), T6 (0,5%MTGase + 200MPa), T7 (0,7% MTGase + 200MPa), T8 (1% MTGase + 200MPa).

4.2.2 Tratamentos

O produto cárneo reestruturado de bovino foi elaborado com paleta bovina seguindo uma formulação básica, composta por carne, água, polifosfatos, sal e glutamato monossódico conforme Tabela 1.

Tabela 1. Formulação Básica do produto cárneo reestruturado bovino.

Ingredientes	Quantidade (%)
--------------	----------------

Carne	95,1
Água	3,0
NaCl	1,5
Polifosfato de sódio	0,25
Glutamato monossódico	0,15
Total	100

A Tabela 2 apresenta as concentrações dos aditivos e nível de pressão aplicada nos tratamentos de produto cárneo reestruturado bovino.

Tabela 2. Tratamentos e formulações usadas nas formulações do produto cárneo reestruturado bovino (g).

Ingredientes	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Carne	95,1	94,6	94,4	94,1	95,1	94,6	94,4	94,1
Água	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Sal	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Polifosfato	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Glutamato	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
MTGase	0	0,5	0,7	1,0	0	0,5	0,7	1,0
Total	100							
Pressão (MPa)	-	-	-	-	200	200	200	200

4.2.3 Processamento Tecnológico

Para a elaboração do produto cárneo reestruturado bovino foi realizado o *toalete* no corte com a finalidade de retirar o excesso de tecido conjuntivo e gordura. Após a limpeza dos cortes a carne foi cortada na forma de retalhos.

Para os tratamentos pressurizados, a carne após ser limpa e cortada, foi acondicionada a vácuo (marca SELOVAC, modelo 200B) em embalagem de polietileno e submetida ao tratamento de alta pressão hidrostática. O equipamento utilizado é um modelo experimental de marca *Stansted Fluid Power* e modelo *S-FL-850-9-w* (Figura 5), está localizado na Planta Piloto II da Embrapa Agroindústria de Alimentos e este aparelho possui capacidade para operar em uma faixa de pressão de 100 a 900 MPa, em temperaturas variando de 0 a 80°C, e intervalos de tempos variados. O equipamento é controlado através de um painel para ajuste da pressão, tempo e temperatura desejada.



Figura 5: Aparelho de Alta Pressão Hidrostática - Marca *Stansted Fluid Power* e modelo *S-FL-850-9-w*.

As amostras foram colocadas em cilindro localizado dentro do vaso de pressão, de aço inoxidável, com espaço útil de aproximadamente 7,0 cm de diâmetro e 20,0 cm de comprimento, e possuindo vários orifícios na parede, por onde circula o líquido pressurizador, neste caso álcool 70%.

A câmara de pressurização, contendo o cilindro, foi hermeticamente fechada e vedada para evitar vazamentos. Primeiramente, uma bomba pneumática foi acionada na câmara, injetando uma pré-carga até que os selos da mesma se fechassem. Posteriormente, foi acionada automaticamente, uma segunda bomba hidráulica que deslocou um pistão e elevou a pressão até a condição de trabalho desejada caracterizando, assim, dois estágios de pressurização.

O equipamento operou a uma taxa de pressurização de 7 MPa/s até a pressão desejada. No decorrer do processo, pequenas elevações de temperatura podem ocorrer devido a temperatura ser diretamente proporcional à pressão, havendo um aumento em torno de 3°C a cada 100 MPa. Por isso, as amostras pressurizadas entraram com a temperatura de aproximadamente 5°C, evitando um possível pré-cozimento indesejável da carne, visto que trabalhou-se com carne *in natura*. Ao término do ciclo, após a despressurização, a câmara foi aberta e as amostras pressurizadas foram retiradas do cilindro.

As carnes foram colocadas em recipiente plástico, onde foram adicionadas dos aditivos e massageados por três minutos (CESTARI, 2010). Após o massageamento, as carnes foram embutidas em tripa plástica e as mesmas foram armazenadas em câmara de refrigeração à 5°C por 5 horas, para atuação da enzima, e após efetuou-se os cortes em tamanhos de 2,0 cm altura conforme fluxograma abaixo (Figura 6):

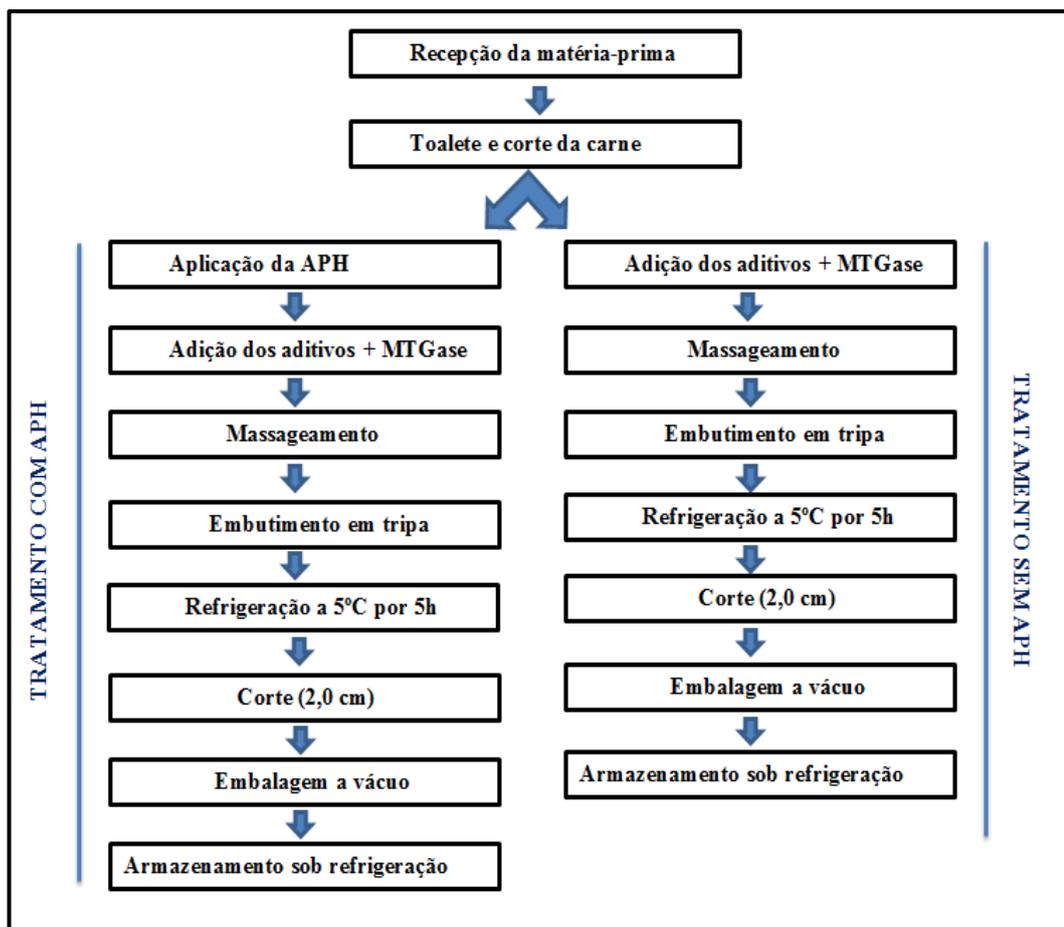


Figura 6: Fluxograma de processamento das amostras.

4.3 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas seguiram a metodologia descrita pela Instrução Normativa n. 20 de 21/07/2001 do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (BRASIL, 1999), que oficializa os métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e ingredientes. Essa metodologia consiste fundamentalmente nos procedimentos de análises publicados pela *Association of Analytical Chemists* (AOAC, 1998).

4.3.1 Composição Centesimal

4.3.1.1 Umidade

O teor de umidade foi obtido através do método gravimétrico, utilizando estufa de ventilação à 105°C. Foi pesado 10g de amostra moída e colocado em placa de petri devidamente tarada e de peso conhecido. Colocou-se em estufa a 105°C por 24h e após a secagem efetuou-se pesagem da amostra seca. Os teores de umidade foram obtidos através da fórmula abaixo:

$$\% \text{ Umidade} = \frac{(100 \times N)}{P}$$

Onde: N= perda de peso em gramas (água evaporada).

P=massa inicial da amostra em gramas

4.3.1.2 Cinzas

O teor de cinzas foi obtido pela incineração da amostra em mufla a 550°C. Foi pesado 2g de amostra moída e colocado em cadinho de porcelana tarado e de peso conhecido. A amostra foi colocada em chapa elétrica para calcinar e após a calcinação foi colocada em mufla até a obtenção de cinzas claras. O teor de cinzas foi obtido através da fórmula abaixo:

$$\% \text{ Cinzas} = \frac{\text{CCZ} - \text{Cad}}{m} \times 100$$

Onde:

CCZ = massa do cadinho mais cinza (após mufla) (g)

Cad = massa do cadinho (g)

m = massa da amostra (g)

4.3.1.3. Proteína

O teor de proteína das amostras foi obtido através da obtenção do teor de Nitrogênio proteico pelo método MicroKjeldahl, e multiplicado pelo fator de conversão para carne de 6,25.

4.3.1.4. Lipídeos

O teor de lipídeo foi obtido através do método 922.06, AOAC – Association of Official Analytical Chemists, 18 ed., 3ª rev, 2010.

4.3.2 pH (método potenciométrico)

O valor de pH foi obtido pelo método potenciométrico, onde misturou-se em um béquer de 50 mL, 30g de amostra homogeneizada com 10 mL de água destilada, para possibilitar a penetração do eletrodo e faz-se a leitura no pHmetro previamente calibrado.

4.3.3 Eletroforese SDS-PAGE

Para extração de proteínas foi utilizada 5g de amostra previamente microprocessada. Posteriormente, a amostra foi homogeneizada em blender com 30mL de solução extratora (Tampão Fosfato KCl 0,45 M, pH7,5), a qual permite extração de proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas. Após homogeneização em blender, o material foi filtrado e o permeado transferido para tubos Falcon, que foram mantidos sob refrigeração por 1 hora e após esse tempo foram centrifugadas à 6000rpm por 20 minutos à 4°C.

Foi coletada uma alíquota de 200 µL do extrato juntamente com 10 µL de tampão de amostra, para posterior aplicação em gel de eletroforese.

A eletroforese de proteínas em gel de poli(acrilamida) utilizou o sistema de eletroforese vertical PROTEAN II xi Cell da BIORAD, conforme metodologia proposta por Laemmli (1970). Foi utilizada acrilamida na concentração de 12% no gel de corrida e de 4% no gel de aplicação. A corrida eletroforética foi realizada durante um período de sete horas e sob uma tensão de 100V. As proteínas dos géis foram coradas com ácido acético 10% (v/v), álcool metílico 40% (v/v) e Coomassie Brilliant Blue R250 1% (v/v), durante uma noite. O gel foi descorado em solução contendo 10% (v/v) de ácido acético e 40% (v/v) de álcool metílico, renovando-se a solução a cada 30 minutos, até obtenção de revelação nítida. O cálculo da

massa molecular das frações proteicas foi efetuado mediante a construção das curvas padrão, com massas moleculares dos marcadores contra as respectivas distâncias percorridas no gel.

Os marcadores de massa molecular foram os da marca BIO-RAD LABORATORIES (Richmond, EUA), sendo os de alto peso molecular: miosina (205,003 kDa), ovalbumina (47,82 kDa), e os de baixo peso molecular: fosforilase B (101,36 kDa), albumina sérica bovina (72,89 kDa), ovalbumina (47,82 kDa), anidrase carbônica (33,98 kDa), inibidor de tripsina de soja (26,84 kDa) e lisozima (17,62 kDa).

4.4 Análises Físicas

4.4.1 Análise Instrumental de Textura (TPA)

As amostras foram assadas em forno elétrico a $235^{\circ} \pm 5^{\circ}\text{C}$ por 50 minutos e resfriadas à temperatura ambiente. Em seguida foram cortadas com cortador de 3,0 cm de diâmetro (Figura 7a).

A textura da carne reestruturada assada foi avaliada através da técnica denominada Análise do Perfil de Textura – TPA em texturômetro modelo TA-Hdi (Texture Analyser, Stable Micro System). Os parâmetros adotados para a análise foram: compressão de 50 % da altura original, em dois ciclos; velocidade de pré-teste: 2,00mm/s; velocidade-teste: 1mm/s; velocidade pós-teste: 2,00mm/s; compressão de 50% da altura original, utilizando o probe P50 (Figura 7b). Cilindros de 3,0 cm de diâmetro por 2,0 cm de espessura de cada tratamento foram analisados em triplicata e os parâmetros de textura, dureza, elasticidade, coesividade, e mastigabilidade foram calculados (BORNE, 1978).

Os dados foram processados em computador equipado com o programa Texture Expert for Windows (R, Stable Micro System).

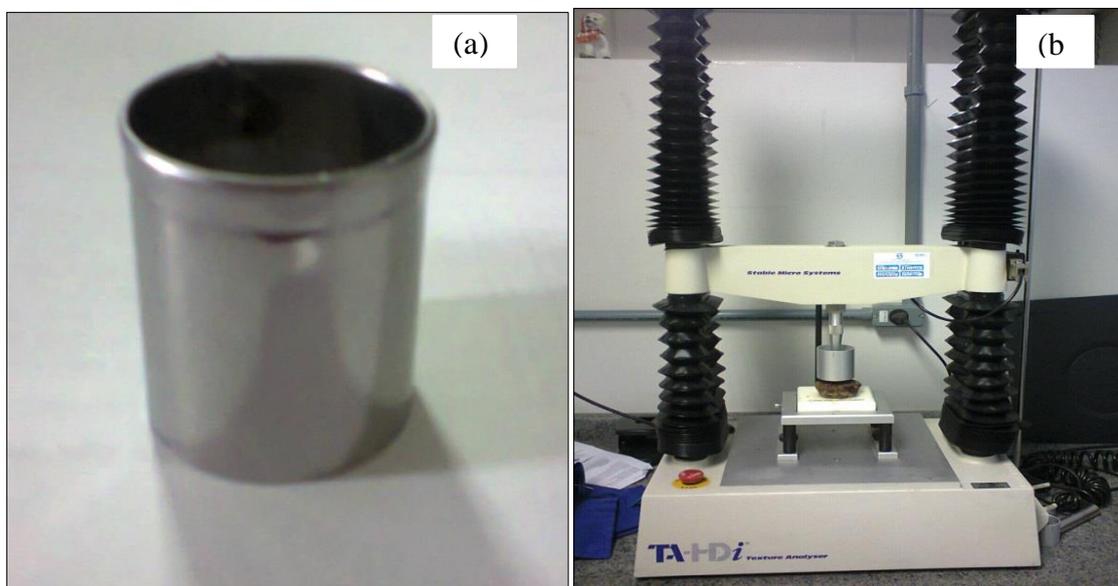


Figura 7: Cortador (a) e Texturômetro (b).

4.4.2 Perda de Peso pelo Cozimento (PPC)

O percentual de rendimento das amostras foi calculado pela diferença entre o peso da amostra crua e da cozida, de acordo com (DIMITRAKOPOULOU; AMBROSIADIS et al., 2005).

$$PPC (\%) = \frac{\text{Peso da amostra crua} - \text{Peso da amostra cozida}}{\text{Peso da amostra crua}} \times 100$$

4.4.3 Grau de Retração

A porcentagem de encolhimento dos reestruturados bovinos foi mensurada com auxílio do paquímetro, utilizando-se três amostras, através da mensuração antes e após o cozimento, seguindo metodologia descrita por Seabra et. al. (2002). Os valores médios de retração foram obtidos através da seguinte relação:

$$GR (\%) = \frac{(\text{Diâmetro da amostra crua} - \text{Diâmetro da amostra cozida})}{\text{Diâmetro da amostra crua}} \times 100$$

4.4.4 Análise Instrumental de cor

A análise instrumental de cor foi realizada por reflectância no aparelho Color Quest XE (Figura 8), escala CIELAB e CIELCh, com abertura de 0,375mm de diâmetro, com iluminante D65/10.

Os parâmetros de cor medidos foram:

- **L*** = luminosidade (0 = preto e 100 = branco)
- **a*** (-80 até zero = verde, do zero ao +100 = vermelho)
- **b*** (-100 até zero = azul, do zero ao +70 = amarelo)
- **C*** chroma= $(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ em um sistema de coordenadas polares
- **h°** ângulo hue = $\arctan(b^*/a^*)$ em um sistema de coordenadas polares

A análise foi realizada diretamente no produto cru, sendo realizadas quatro repetições em cada amostra.



Figura 8. Aparelho Color Quest XE

4.4.5 Análise de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

A análise térmica por calorimetria diferencial de varredura foi realizada em um Calorímetro Diferencial de Varredura DSC da Marca TA Instruments DSC modelo Q200 (TA Instruments), com controlador operando com fluxo de 50 mL/min de N₂ e taxa de aquecimento de 10°C/min entre 0 e 100°C e com uma “panelinha” vazia como referência. Foi pesada uma alíquota de 10mg de amostra em “panelinhas” de alumínio, utilizando uma balança microanalítica da marca METTLER TOLEDO Modelo MX5, e fechada hermeticamente. A temperatura de desnaturação (Td) e entalpia de desnaturação (Hd), foram calculados a partir de termogramas usando um Programa de Análise Universal Universal V4.5A TA Instruments. A calibração de temperatura foi feito com índio como um padrão (T= 158,4°C e ΔH= 26,68J/g). Foi realizada essa análise nos tratamentos T1, T3, T5, T7 e também carne “in natura” em duplicata.

4.5 Análises microbiológicas

4.5.1 Legislação da ANVISA - RDC nº 12

As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com o estabelecido na RDC Nº12 – ANVISA (BRASIL, 2001), que estabelece os padrões microbiológicos para alimentos em geral. Para produtos cárneos resfriados ou congelados e/ou pré-cozidos e congelados utilizando como matéria-prima a carne bovina são exigidas análises de pesquisa de *Salmonella* sp, análises de Coliformes a 45°C/g, *Staphylococcus* coagulase positiva/g e

Clostridium sulfito redutor a 46 °C/g, na matéria-prima são exigidas análises de pesquisa de *Salmonella* sp.

As análises foram realizadas em triplicata, onde a contagem de Coliformes a 45°C foi realizada seguindo-se a metodologia analítica do Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods - APHA (2001).

Inicialmente as amostras foram preparadas e semeadas em caldo LST (Caldo Lauril Sulfato Triptose), técnica de NMP (número mais provável).

Para contagem de *Estafilococcus* coagulase positiva utilizou-se a metodologia recomendada pela APHA (2001).

Na detecção de *Salmonella spp* empregou-se a metodologia segundo APHA (2001). A detecção envolveu as etapas de pré-enriquecimento objetivando a recuperação das células de microrganismos injuriados durante o processamento, ou ainda para aumentar o número de células de enterobactérias, de maneira não seletiva. Posteriormente, utilizou-se enriquecimento seletivo: esta etapa teve como objetivo, favorecer a multiplicação das salmonelas, inibindo ou restringindo o desenvolvimento de outros microrganismos presentes.

Foi realizado plaqueamento em meio seletivo-indicador, utilizando-se dois meios sólidos, sendo um de pequeno efeito inibidor e o outro de efeito maior, favorecendo o reconhecimento de colônias suspeitas de *Salmonella*. Após triagem, as colônias suspeitas foram testadas em meios que forneciam indicações sobre as características bioquímicas dos microrganismos, como os meios ágar três açúcares-ferro (ágar TSI) e ágar lisina-ferro (LIA). Posteriormente, foram realizadas provas bioquímicas e sorológicas complementares para comprovação do gênero *Samonella*.

Para a contagem de *Clostridium* sulfito redutor a 46°C seguiu-se a metodologia do APHA (2001). As amostras inoculadas em ágar SPS foram mantidas em meio de anaeróbios (sistema GASPAC), com papel indicador de anaerobiose incubadas em estufa a 35-37°C por 72 horas.

4.6 Análise sensorial

As amostras referentes aos tratamentos T1, T3, T5 e T7 foram selecionadas entre os oito tratamentos, por ser o nível intermediário indicado pelo fornecedor da enzima. Foram avaliadas por 100 consumidores de carne bovina em relação à aceitação global e textura. Para tais medidas foi utilizada escala hedônica estruturadas de 9 pontos variando de 1: “desgostei extremamente” a 9: “gostei extremamente”. Em seguida foram avaliadas as características sensoriais das amostras utilizando a metodologia denominada CATA – “Check All That Apply” (ADAMS et al., 2007; MEULLENET et al., 2008). Os atributos avaliados foram baseados em Cabral (2010) e também identificados a partir de discussão aberta com consumidores de carne bovina. A ficha com os atributos utilizados estão no Anexo C. Dados demográficos e atitudinais também foram coletados (Anexo B).

Os reestruturados foram assados em forno à 235° ± 5°C por 55 minutos. Em seguida, cortados em cubos e, para a apresentação das amostras aos participantes, foram aquecidas em forno microondas por 10 segundos. Os consumidores receberam as amostras monadicamente e a ordem de apresentação foi balanceada (MacFIE et al., 1989). Foi utilizada água e biscoito “cream craker” para a limpeza do palato entre as amostras.

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética (COMEP-UFRRJ) e o termo de aprovação encontra-se no Anexo A. As amostras foram submetidas às análises microbiológicas exigidas pela RDC nº12 (ANVISA) anteriormente ao teste com consumidores para garantir a

integridade dos participantes. Os dados foram coletados na sala de aula no Instituto de Tecnologia da UFRRJ (IT).

4.7 Análise estatística

Os dados obtidos nas análises físicas e químicas foram submetidos à Análise de Variância e teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os dados do teste de aceitação (global e em relação à textura) foram analisados por ANOVA. Os dados do CATA foram analisados primeiramente pela frequência, ou seja, foi determinada a frequência de cada termo contando o número de consumidores que usaram o respectivo termo para descrever a amostra. A Análise Múltipla de Fatores (MFA) foi utilizada nos dados da frequência para investigar a relação entre as respostas para as diferentes amostras de carne. A MFA refere-se a análise de fator quando os dados são compostos tanto por variáveis quantitativas quanto por tabelas de frequência (PAGÉS, 2005).

Todas as análises acima descritas foram realizadas no software XLSTAT 2012 (Addinsoft, Paris, França).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.2 Análises físico-químicas

5.2.1 Composição centesimal e pH

Tabela 3: Média[§] e desvios-padrão dos resultados da análise centesimal e pH de reestruturado bovino.

	Umidade g/100g	Cinzas g/100g	Proteínas g/100g	Lipídeos g/100g	pH
Carne	-	-	-	-	6,04 ^d ±0,00
T1	76,37 ^a ±0,03	2,73 ^a ± 0,18	18,64 ^c ±0,01	1,97 ^{ab} ±0,06	6,26 ^{bcd} ±0,00
T2	75,86 ^{a,b} ±0,12	2,80 ^a ± 0,05	18,95 ^{bc} ±0,06	1,50 ^{b,c,d} ±0,09	6,29 ^{bc} ±0,01
T3	76,19 ^a ±0,04	2,80 ^a ± 0,10	18,64 ^c ±0,01	2,19 ^a ±0,03	6,37 ^{abc} ±0,05
T4	75,55 ^{bc} ±0,00	2,90 ^a ±0,13	18,95 ^{bc} ±0,01	1,80 ^{abc} ±0,09	6,45 ^{ab} ±0,03
T5	75,30 ^c ± 0,23	2,72 ^a ± 0,00	18,09 ^d ±0,00	2,00 ^{ab} ±0,10	6,26 ^{cd} ±0,05
T6	75,64 ^{bc} ±0,01	2,76 ^a ±0,01	19,30 ^b ±0,07	1,10 ^d ±0,03	6,33 ^{abc} ±0,04
T7	75,34 ^c ±0,02	2,91 ^a ±0,01	19,80 ^a ±0,24	2,22 ^a ±0,25	6,46 ^a ±0,01
T8	75,39 ^c ±0,02	2,91 ^a ±0,01	18,93 ^{bc} ±0,00	1,37 ^{cd} ±0,04	6,38 ^{abc} ±0,05

[§] Média de duas repetições. Médias na mesma coluna seguidas de letras iguais não diferem ($p > 0,05$). T1: Controle, T2: 0,5% MTGase; T3: 0,7% MTGase; T4: 1% MTGase; T5: 200 MPa; T6: 200 MPa + 0,5% MTGase; T7: 200 MPa + 0,7% MTGase; T8: 200 MPa + 1% MTGase.

Analisando-se os dados obtidos na análise de umidade, podemos observar um teor de aproximadamente 75% de umidade no produto, havendo diferença significativa no teor de umidade entre os tratamentos.

O sal (NaCl) e o polifosfato adicionados na formulação possivelmente contribuíram para o elevado teor de umidade por melhorar a capacidade de retenção de água, isto devido aos íons cloro penetrarem nos miofilamentos causando o entumescimento e, conseqüentemente, aumentando a capacidade de retenção de água (OFFER; TRINICK, 1983). Além da adição de 3% de água na formulação do produto.

De acordo com Dimitrakopoulou et al. (2005), o nível da enzima (MTGase) não afetaria a composição dos produtos, mas contribui no aumento do teor de umidade, resultando em um produto mais suculento.

O teor de cinzas não foi afetado pelos tratamentos, mostrando que a enzima MTGase e a APH não influenciaram no seu conteúdo, no entanto o valor alto de cinzas deve-se a adição de cloreto de sódio (1,5%) na formulação do produto.

O teor de lipídeos apresentou grande variação apresentando diferença significativa, possivelmente pela distribuição irregular da gordura na carne e deficiência na homogeneização da amostra para análise.

As amostras apresentaram teor proteico próximo a 19%, não havendo diferença entre os tratamentos com somente adição da enzima (T2, T3 e T4) em relação ao controle (T1). Já nos tratamentos com aplicação da APH e adição da enzima MTGase (T6, T7 e T8) em relação ao tratamento T5 (somente pressão), pôde-se observar que o conjunto da APH e MTGase promoveu uma aumento do teor proteico.

Segundo Dondero et. al. (2006), a MTgase promove aumento do teor proteico por aumentar o valor agregado. Já a APH, segundo Trespalácios et. al. (2007), atua expondo o núcleo hidrófobo da proteína e assim tornando-as mais disponíveis para combinar-se com a enzima. Desta forma resultou em um pequeno aumento do nível de proteína no produto.

O pH dos tratamentos demonstraram um aumento em relação ao pH da carne “in natura”, isso se deve provavelmente a adição de polifosfatos na formulação do produto.

Comparando os tratamentos T1 e T5, pode-se observar que a pressão não promoveu nenhuma alteração, mantendo o pH igual ao tratamento sem pressão. No entanto, comparando os tratamentos com níveis iguais de MTGase, com e sem a aplicação da pressão, observou-se que nos tratamentos com as duas variáveis, houve um leve aumento do pH. Mostrando um possível efeito sinérgico da pressão com a enzima em relação ao pH das amostras avaliadas.

5.2.2 Eletroforese SDS-PAGE

O estudo comparativo do efeito da aplicação da alta pressão hidrostática e a adição de MTGase em produto cárneo reestruturado bovino foi avaliado através do perfil eletroforético principalmente em relação às proteínas miofibrilares, actina e miosina, por constituírem a maior parte da estrutura proteica da carne.

Na Figura 9, pode-se observar o gel de poliacrilamida contendo as cadeias polipeptídicas provenientes dos diferentes tratamentos, incluindo o padrão de alta densidade e enzima MTGase.

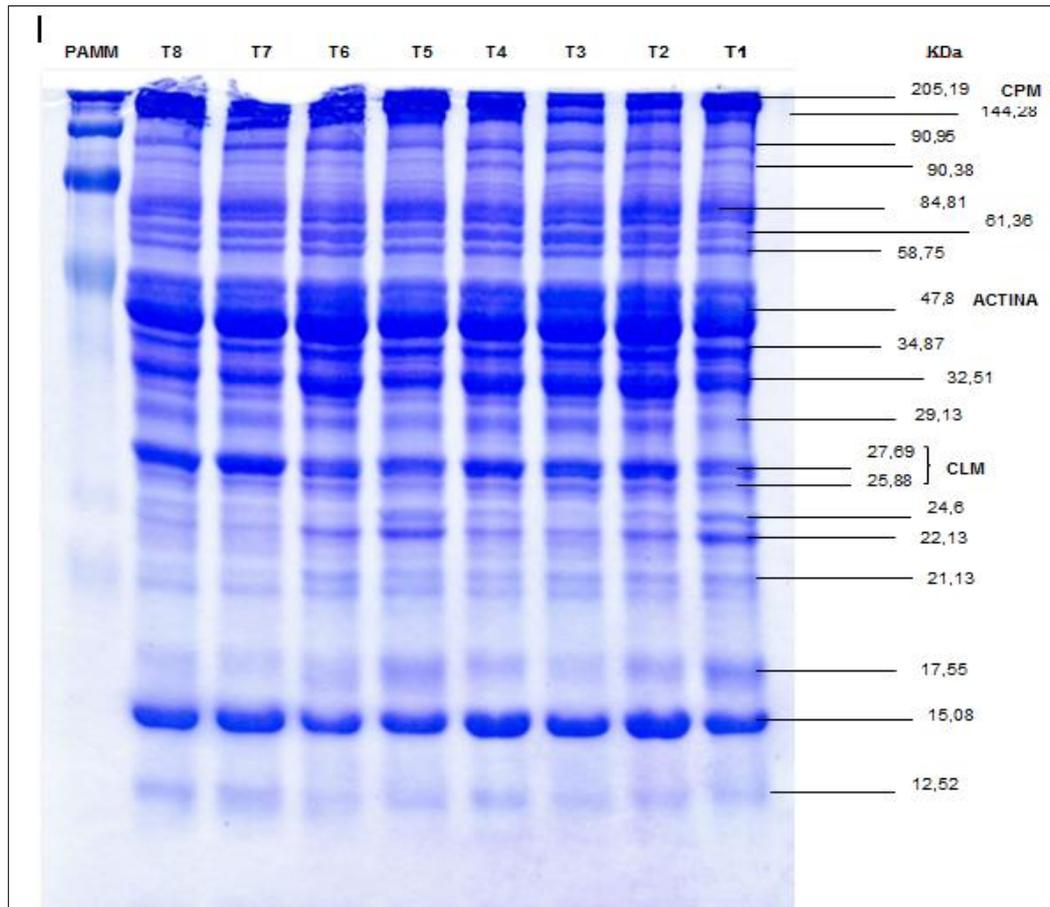


Figura 9: Perfil eletroforético das proteínas de carne bovina reestruturada. T1 - Controle; T2 – 0,5% MTGase; T3 – 0,7% MTGase; T4 – 1,0% MTGase; T5 – 200MPa; T6 – 200MPa + 0,5% MTGase; T7 - 200MPa + 0,7% MTGase; T8 - 200MPa + 1,0% MTGase; PAMM – Padrão de alta massa molecular; CPM – Cadeia Pesada da Miosina; CLM – Cadeia Leve da Miosina.

As proteínas miofibrilares, componentes estruturais responsáveis pela contração muscular e diretamente relacionada com a maciez da carne, mostraram-se presentes nos extratos em estudo, na seguinte forma (Figura 7): a) uma banda fortemente corada de 205,19 KDa, que representa a cadeia pesada da miosina; b) duas bandas de 27,69 e 25,88 KDa, que representam as cadeias leve da miosina; c) e uma cadeia intensamente corada de 47,8 KDa que representa a actina.

Foram observadas 19 bandas em cada tratamento, porém nenhuma desapareceu completamente. No entanto, foi possível observar pequenas diferenças de coloração em algumas bandas com peso molecular de 24,6, 22,23 e 17,55 KDa e a modificação está relacionada com os níveis de MTGase (0,5%, 0,7% e 1%). Possivelmente, houve atuação da enzima nesses polipeptídeos promovendo uma reticulação, pois as bandas vão diminuindo de intensidade conforme o aumento da concentração da enzima aplicada ao produto.

Comparando os poços A e E, tratamento controle e 200MPa respectivamente, podemos concluir que a pressão provocou uma leve alteração no perfil proteico da carne reestruturada, onde foi possível observar uma ligeira modificação na proteína de peso molecular 90,38 KDa. Marcos et. al. (2010) também observaram essa mudança, porém no referido trabalho a banda referente à proteína com 90KDa perdeu a cor mais intensamente e isso deve-se ao tempo sob pressão, que em seu trabalho foi de 20 minutos. Este dado mostra

que não só nível de pressão, mas também os tempos de exposição à dada pressão podem promover níveis diferentes de mudança na estrutura proteica.

Outra pequena modificação foi observada na proteína de peso molecular 17,55 KDa, que de acordo com a literatura, pode representar a troponina C (CHAPLEAU et. al. 2003).

Em pesquisas realizadas com carne de porco, Scheibenzuber et al. (2002), usaram a eletroforese SDS-PAGE para verificar alterações nas proteínas miofibrilares deste produto após tratamento a diferentes pressões. E verificaram que componentes de filamentos finos foram solubilizados facilmente com aplicação de pressão, no entanto a solubilização da miosina dependeu da magnitude e da duração do tratamento de alta pressão aplicada.

Segundo Aktas et al. (2005), alguns autores observaram no gel de poliacrilamida a formação de polímeros de alto peso molecular, formado no topo do gel. Esses polímeros aumentam conforme a diminuição da intensidade da coloração de bandas como a cadeia leve da miosina ou de acordo com Ahhmed et al. (2009) devido a diminuição da cadeia pesada da miosina, ambos por adição da enzima MTGase em carne bovina. No presente estudo não foi possível observar tal efeito, possivelmente devido a características do gel utilizado.

Dondero et al. (2006) em seus estudos sobre os efeitos da MTGase na capacidade de gelificação termicamente induzida em géis de proteínas da carne, puderam observar a diminuição da cadeia pesada da miosina conforme aumento da concentração da enzima. Verificou também, que não houve participação da actina na formação de pontes cruzadas.

5.3 Análises Físicas

5.3.1 Análise Instrumental de Textura (TPA)

Os resultados dos parâmetros de textura (dureza, coesividade, mastigabilidade e elasticidade) são mostrados na Tabela 4. Os valores médios e desvio padrão estão apresentados na tabela 4.

Tabela 4: Médias[§] e desvios-padrão dos resultados dos parâmetros de textura da carne reestruturada avaliada através de TPA.

	Dureza	Coesividade	Mastigabilidade	Elasticidade
	N		N.cm	cm
T1	25,31 ^{bc} ±0,42	0,58 ^b ±0,002	71,0 ^b ±0,007	0,47 ^g ±0,008
T2	28,57 ^{ab} ±0,21	0,59 ^b ±0,004	125,0 ^a ±0,05	0,76 ^{bc} ±0,019
T3	28,27 ^{ab} ±0,89	0,63 ^a ±0,004	107,0 ^{ab} ±0,04	0,58 ^f ±0,0005
T4	29,40 ^a ±0,67	0,55 ^c ±0,001	96,0 ^{ab} ±0,32	0,74 ^{cd} ±0,003
T5	23,49 ^c ±2,11	0,55 ^c ±0,001	89,0 ^{ab} ±0,09	0,67 ^e ±0,008
T6	22,60 ^c ±0,50	0,62 ^a ±0,009	92,0 ^{ab} ±0,03	0,72 ^d ±0,005
T7	31,05 ^a ±2,17	0,59 ^b ±0,006	122,0 ^a ±0,22	0,81 ^a ±0,01
T8	23,57 ^c ±0,50	0,59 ^b ±0,003	108,0 ^{ab} ±0,12	0,78 ^{ab} ±0,01

[§] Média de três repetições. Médias na mesma coluna seguidas de letras iguais não diferem (p> 0,05). T1: Controle, T2: 0,5% MTGase; T3: 0,7%MTGase; T4: 1% MTGase; T5: 200 MPa; T6: 200 Mpa + 0,5% MTGase; T7: 200 MPa + 0,7% MTGase; T8: 200 MPa + 1% MTGase.

Comparando os resultados entre o tratamento controle (T1), onde não houve aplicação de pressão e nem de enzima, e o tratamento T5, onde somente foi aplicada a pressão, pode-se observar que a pressão atuou diminuindo o parâmetro de dureza, não apresentando diferença significativa entre os resultados. Já a adição da MTGase promoveu um aumento na dureza conforme o aumento do nível de enzima (T2, T3 e T4), não apresentando diferença significativa.

A combinação entre APH e a MTGase, num nível de 0,5% de MTGase (T2 e T6) e 1% MTGase (T4 e T8), apresentou diminuição do valor do parâmetro dureza com nível de significância de 5%. Já a combinação da APH com a MTGase num nível de 07% (T3 e T7) apresentou um aumento da dureza da amostra, porém sem efeito significativo.

Nielsen et. al.(1995) relataram que a transglutaminase aumentou a força de ligação e coesividade entre os fragmentos de carne suína reestruturada e que essas características influenciaram a dureza e suculência da carne devido às interações entre enzima e o NaCl.

A ação sinérgica da APH e da MTGase em carne de frango e gel de ovo sem adição de fosfato foi investigado por Trespalácios et. al. (2007). Foram utilizadas pressões de 500,700 e 900 MPa a 40C° por 30 minutos e 0,3% de MTGase e o aumento da dureza e mastigabilidade foram observados com o aumento da pressão.

Os valores de coesividade das amostras T1 (controle) e T5 (200MPa) apresentaram diferença significativa, mostrando que a APH atuou diminuindo esse parâmetro.

Em relação ao parâmetro mastigabilidade, o menor valor do atributo foi observado no controle (T1). Tanto a APH como a MTGase interferiram aumentando esse valor, apresentando diferença significativa entre os tratamentos em relação ao controle. Já para o atributo elasticidade, esta foi aumentada após a aplicação da APH e da enzima MTGase e os tratamentos apresentaram diferença significativa entre si.

Resultados semelhantes foram relatados por outros autores, que indicaram que a transglutaminase tem o potencial de aumentar a firmeza e elasticidade, entre outras propriedades (CARBALLO et. al., 2006; KURAIISHI et. al., 2001).

Os resultados de textura de produtos cárneos reestruturados podem apresentar valores bem variados devido à matéria prima. Berry (1987), alerta em seu trabalho a dificuldade em se avaliar a textura de produtos reestruturados devido ao fato desse tipo de produto normalmente possuir grande variabilidade.

Herrero et. al. (2008) através de estudos com espectroscopia de Raman avaliaram o efeito da MTGase em sistemas a base de carne suína na estrutura proteica e correlacionou com as características texturais. Para isso, usaram três níveis da enzima: 0% de MTGase (ME00), 0,05% de MTGase (MET05) e 0,10% de MTGase (MET10). E os resultados do TPA indicaram que a dureza, elasticidade e coesividade foram superiores ($p < 0,05$) nos sistemas à base de carne suplementadas com MTGase (MET05 e MET10) do que no sistema de ME00 (sem adição de enzima).

O aumento ($p < 0,05$) na dureza, elasticidade e coesividade observada em sistemas à base de carne com MTGase poderia ser explicado pela atuação da enzima em promover cross-linking entre as proteínas. Isto resulta na formação de grandes moléculas de proteína polimérica e uma estrutura de gel entre as partículas à base de carne, bem como a reticulação de gel com estas proteínas na superfície da carne (DE JONG; KOPPELMAN, 2002).

Herrero et. al. (2008) também correlacionou as modificações na estrutura das proteínas com as modificações estruturais e concluiu que houve diferença significativa entre estas alterações estruturais secundárias das proteínas da carne e as propriedades texturais (dureza, adesividade, elasticidade e coesividade) dos sistemas à base de carne, possivelmente por diminuição no teor de α -hélice, acompanhado por um aumento significativo em β -folhas, devido à adição de enzima para sistemas à base de carne.

Cestari (2007) em seu estudo com os músculos da paleta bovina (raquete, miolo da paleta e peixinho) usando MTGase a um nível de 1%, avaliou a valorização do corte bovino através dos tipos de processamento, injeção e massageamento. Concluiu por testes sensoriais que a enzima atua efetivamente na ligação entre os fragmentos e que contribui para a melhora na textura do reestruturado.

O efeito da alta pressão e da temperatura no músculo *Longissimus dorsi* de bovino foi estudado por Ma e Ladward (2004), onde observaram que carnes bovinas processadas a 200 MPa apresentaram melhoria na maciez ocorrendo, porém, diminuição da maciez em músculos *pós-rigor* pressurizado acima de 400 MPa (MA; LEDWARD, 2004; SUN; HOLLEY, 2010; SIKES et al., 2010).

Segundo Sun & Holley (2010) os efeitos da alta pressão na maciez ou maturação de carnes é dependente da fase de *rigor mortis*, pressão, temperatura e sua combinação. Estes autores sugerem que tratamentos com pressões mais baixas (<200 MPa) podem amaciar carnes em fase de *pré-rigor mortis*, enquanto carnes em fase de *pós-rigor mortis* o amaciamento com alta pressão só pode ser alcançado em temperaturas mais elevadas (40 a 80°C). Isso ocorre, principalmente, pela desnaturação, por alta pressão, das estruturas miofibrilares na fase pré-rigor e da necessidade de temperaturas elevadas na fase pós-rigor, para que ocorra a gelatinização das estruturas de tecido conjuntivo.

Estudos recentes de Villamonte et. al. (2013) avaliaram a influência do cloreto de sódio e do fosfato no tratamento da alta pressão em emulsão de carne suína. Foi utilizado pressão de 350 MPa e níveis de cloreto de sódio variando até 3%, assim como o fosfato com nível de 0,25 e 0,5%. O estudo está de acordo com inúmeros autores que observaram um aumento na dureza após tratamento de alta pressão. No entanto, a adição de cloreto de sódio e fosfato diminuiu o efeito endurecedor da alta pressão, mostrando que esses aditivos atuam neutralizando parcialmente esse efeito.

Esse efeito de endurecimento está relacionado possivelmente com a desnaturação parcial das proteínas miofibrilares e também com a maneira pela qual as proteínas são desnaturadas, sendo assim o fator que mais afeta a textura da massa. (VILLAMONTE et. al., 2013).

Sendo assim, os resultados obtidos por Trespalácios et. al.(2007) sugerem que os níveis de pressão mais elevados aplicado em proteínas da carne e do ovo, na presença de MTGase induziu um maior número de ligações intra e inter moleculares, pois a pressão faz com que o núcleo hidrófobo da proteína se torne mais exposta e, portanto, mais facilmente disponíveis para a ação MTGase.

5.3.2 Perda de peso por cozimento (PPC%) e Grau de retração (GR%)

Na Tabela 5 estão apresentados os resultados de perda de peso por cozimento (PPC%) e grau de retração (GR%).

Tabela 5: Média e desvios-padrão dos resultados da análise de Perda por Cozimento e Grau de Retração.

Tratamentos	PPC (%)	GR (%)
T1	34,23 ^b ± 0,74	17,88 ^a ± 0,23
T2	24,55 ^d ± 0,07	12,05 ^b ± 0,88
T3	19,76 ^e ± 0,08	7,89 ^c ± 0,65
T4	17,76 ^e ± 0,45	1,50 ^e ± 0,00
T5	38,14 ^a ± 0,20	16,83 ^a ± 0,70
T6	30,63 ^c ± 0,25	13,23 ^b ± 0,27
T7	28,74 ^c ± 1,50	4,19 ^d ± 0,04
T8	29,13 ^c ± 0,15	5,80 ^d ± 0,24

§ Média de duas repetições. Médias na mesma coluna seguidas de letras iguais não diferem ($p > 0,05$). T1: Controle; T2: 0,5% MTGase; T3: 0,7% MTGase; T4: 1% MTGase; T5: 200 MPa; T6: 200 MPa + 0,5% MTGase; T7: 200 MPa + 0,7% MTGase; T8: 200 MPa + 1% MTGase.

Os resultados obtidos apresentaram diferença significativa nas perdas de peso e retração durante o cozimento.

Comparando os tratamentos com e sem aplicação de pressão sem adição de enzima (T1 e T5), pode-se observar que a pressão promoveu um aumento na PPC (%), no entanto o efeito no GR (%) foi mais leve, não havendo diferença significativa.

Pode-se observar que os maiores valores de PPC (%) foram encontrados nos tratamentos que foram submetidos à aplicação de pressão. Já no parâmetro GR (%) pouca diferença pode ser observada.

O aumento da PPC (%) no tratamento com aplicação de pressão de 200 MPa por 1 minuto, estava de acordo com estudos realizados por Cabral Neto (2011), que comparou vários níveis de pressão com a maturação comercial de carne bovina. Segundo dados obtidos pelo autor, a pressão de 200 MPa por 1 minuto apresentou um valor maior que a carne em natura, porém não foi suficiente para apresentar diferença significativa.

Alterações nas proteínas sarcoplasmáticas, onde já se sabe que desempenham um papel importante nas propriedades de ligação da água no músculo de carne fresca (JOO et al., 1999) podem estar relacionadas a diminuição da perda por cozimento, devido a APH.

Neste sentido, Marcos et. al. (2010) encontraram uma correlação negativa entre a solubilidade da proteína sarcoplasmática e a umidade exprimível em músculo bovino (*Longissimus dorsi*), sugerindo que a desnaturação da proteína sarcoplasmática induzida pela pressão pode influenciar negativamente em algumas características de ligação de água em carnes pressurizadas.

Um efeito pôde ser observado, tanto na PPC (%) como no GR (%), nos tratamentos onde houve a combinação da pressão e enzima, nos T7 e T8. Em comparação com os tratamentos com iguais níveis da MTGase porém sem pressão pode-se observar que, conforme o nível de enzima foi aumentado, menor foi a PPC(%) e o GR(%), no entanto nos tratamentos com aplicação de pressão, o tratamento T8 apresentou maiores valores que o tratamento T7, embora estatisticamente esse efeito não tenha sido significativo.

A enzima MTGase segundo autores Ahhmed et. al. (2009) e Aktas et. al. (2005), influencia na estabilidade térmica das amostras. Conforme aumenta o teor da MTGase, aumenta o nível de polímeros de alto peso molecular, que influenciam na estabilidade térmica da amostra. Isso poderia explicar o efeito ocorrido nos tratamentos T7 e T8 no presente estudo.

Tseng et. al. (2000) verificaram o efeito de diferentes concentrações de TGM na qualidade de almôndegas de frango com baixo teor de sal e observaram que as amostras

tratadas com 0,4 e 1% de TGM apresentaram rendimento significativamente maior que a amostra controle.

Em um estudo comparando a atuação do cloreto de sódio, polifosfato e MTGase em hambúrguer bovino, Ferreira et. al.(2012) observaram que o rendimento dos hambúrgueres após fritura foi maior nas amostras tratadas com a MTGase, concluindo em seus estudos a vantagem do uso da TGM devido aos valores de rendimento serem maiores nas amostras em que a enzima foi utilizada.

Desta maneira, a TGM se apresenta como uma alternativa para obtenção de produtos reestruturados crus que podem ser oferecidos sob refrigeração pois é crescente a procura por produtos mais saudáveis e que contenham menos sais como o polifosfato de sódio.

5.3.3 Análise Instrumental de Cor

Os valores médios e desvios padrão de L*, a*, b*, C* e h° do controle e das amostras pressurizadas, com os diferentes níveis de MTGase observados em amostras de reestruturado bovino cru estão representados na Tabela 6.

Tabela 6: Médias[§] e desvios-padrão dos resultados do perfil colorimétrico instrumental da carne reestruturada.

	L*	a*	b*	C*	h°
T1	10,30 ^c ± 0,53	11,33 ^a ± 0,06	11,66 ^{ab} ± 0,48	16,26 ^a ± 0,39	45,80 ^b ± 1,01
T2	17,61 ^d ± 1,63	7,65 ^{ab} ± 1,69	12,80 ^a ± 0,15	14,70 ^{ab} ± 1,10	46,65 ^b ± 2,71
T3	29,26 ^c ± 1,69	7,73 ^{ab} ± 1,44	9,76 ^b ± 1,40	12,40 ^{bc} ± 0,32	38,70 ^{cd} ± 0,05
T4	34,90 ^b ± 2,18	4,97 ^{bc} ± 0,71	9,87 ^b ± 0,00	11,99 ^c ± 0,99	52,1 ^a ± 1,55
T5	50,35 ^a ± 0,30	3,60 ^c ± 0,09	3,60 ^c ± 0,17	4,87 ^d ± 0,14	43,0 ^b ± 1,87
T6	48,92 ^a ± 0,70	3,24 ^c ± 0,36	2,30 ^c ± 0,18	4,87 ^d ± 0,22	44,1 ^b ± 1,18
T7	50,07 ^a ± 0,24	3,97 ^{bc} ± 0,47	2,86 ^c ± 0,14	4,90 ^d ± 0,45	37,01 ^d ± 1,17
T8	48,68 ^a ± 0,18	2,48 ^c ± 0,34	2,59 ^c ± 0,19	3,59 ^d ± 0,37	44,31 ^b ± 1,60

[§] Média de três repetições. T1: Controle; T2: 0,5% MTGase; T3: 0,7% MTGase; T4: 1% MTGase; T5: 200 MPa; T6: 200 MPa + 0,5% MTGase; T7: 200 MPa + 0,7% MTGase; T8: 200 MPa + 1% MTGase. Médias na mesma coluna seguidas de letras iguais não diferem (p > 0,05). L = luminosidade (0 = preto e 100 = branco) ⁴ a= intensidade de verde/vermelho (-80 até zero = verde, do zero ao +100 = vermelho) ⁵ b= intensidade de azul/amarelo (-100 até zero = azul, do zero ao +70 = amarelo).

Comparando os tratamentos T1 (controle) e os T2,T3 e T4, que receberam níveis 0,5%, 0,7% e 1,0% de MTgase com os tratamentos T5 (200MPa) e T6, T7 e T8, os quais foi combinado a enzima nos níveis de 0,5%, 0,7% e 1,0% de MTGase com 200MPa, pode-se observar que a APH atuou aumentando o valor do parâmetro L* e diminuição do valor a*, b* e C*. A percepção da cor vermelha foi diminuída, observando um produto com um tom de vermelho menos intenso. Porém os valores do parâmetro h* não sofreram grandes modificações com a aplicação da pressão, não apresentando diferença significativa, com exceção do tratamento T7 que apresentou diferença significativa. E isso mostra que apesar da

alta pressão de 200MPa por 1min diminuir a intensidade do vermelho, esse nível de pressão não foi suficiente para modificar a cor do produto.

Outra observação a respeito da APH, foi em relação a sua aplicação em conjunto com a enzima MTGase, onde pode-se observar que houve interação entre as duas variáveis, e que a APH provocou uma estabilização nos valores dos parâmetros estudados em relação ao nível de enzima adicionado.

A intensidade de vermelho está diretamente ligada à quantidade e ao estado da mioglobina presente na carne e a descoloração provocada pelo processo de APH. Podendo ser explicada como resultado da oxidação da mioglobina, e assim a oxidação do ferro (Fe) que passa da forma ferrosa para férrica, com conseqüente declínio dos valores de a^* , com um aumento na proporção de metamioglobina em relação à oximioglobina e desta forma resultando numa coloração marrom da carne (CARLEZ et. al., 1995). O aumento da luminosidade pode ser proveniente da desnaturação da globina e do deslocamento ou liberação (desprendimento) do grupo heme, assim como, por modificações nas proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas com conseqüentes alterações na superfície da carne (JUNG et. al., 2003).

No entanto tais observações são mais comuns a uma pressão de 350 MPa a 400 MPa (Carlez, et. al, 1995; Jung et. al, 2003).

Os resultados obtidos nos tratamentos com aplicação da alta pressão estão de acordo com estudos realizados por Marcos et al.(2010), que avaliaram os parâmetros de cor em carne bovina (músculo *Longissimo dorsi*) em relação a variação de pressão e temperatura, e concluiu que pressões ade 200MPa podem provocar leves mudanças na estrutura da mioglobina, mas que não são suficientes para influenciar negativamente a qualidade sensorial do produto, sendo necessário pressões mais elevadas para provocar maiores mudanças.

Os níveis da MTGase também influenciaram nos parâmetros de cor, onde conforme o aumento do nível de MTGase (T2, T3 e T4), aumentou o L^* , apresentando diferença significativa entre os tratamentos . O parâmetro a^* apresentou diminuição conforme o aumento do nível de MTGase, porém somente houve diferença significativa entre o nível de 1% de MTGase (T4) e o controle (T1). Já para o parâmetro b^* as amostras não apresentaram diferença significativa.

Os parâmetros C^* e h^* apresentaram diferença significativa nos tratamentos T3 e T4 em relação ao T1 e T2.

Tais resultados não estão de acordo com a literatura. Pietrasik e Li-Chan (2002), Téllez-Luis et al.(2002) e Ramírez et al. (2002) concluíram em seus estudos que o nível de MTGase não exerce influência significativa nos parâmetros de cor de produtos cárneos.

Assim como Cestari (2007), que estudou a atuação da MTGase em reestruturados utilizando músculos da paleta bovina através dos métodos de massagem e injeção, e concluiu que a enzima não afetou a cor do reestruturado bovino.

5.3.4 Calorimetria Diferencial de varredura (DSC)

Curvas típicas obtidas por calorimetria diferencial de varredura, também chamadas de termogramas, dos tratamentos T0 (“in natura”), T1 (controle), T3 (0,7% MTGase), T5 (200MPa/1min) e T7 (200MPa/1min + 0,7% MTGase), estão apresentadas na Figura 10, assim como as temperaturas de desnaturação (T_d) e entalpia de desnaturação (ΔH).

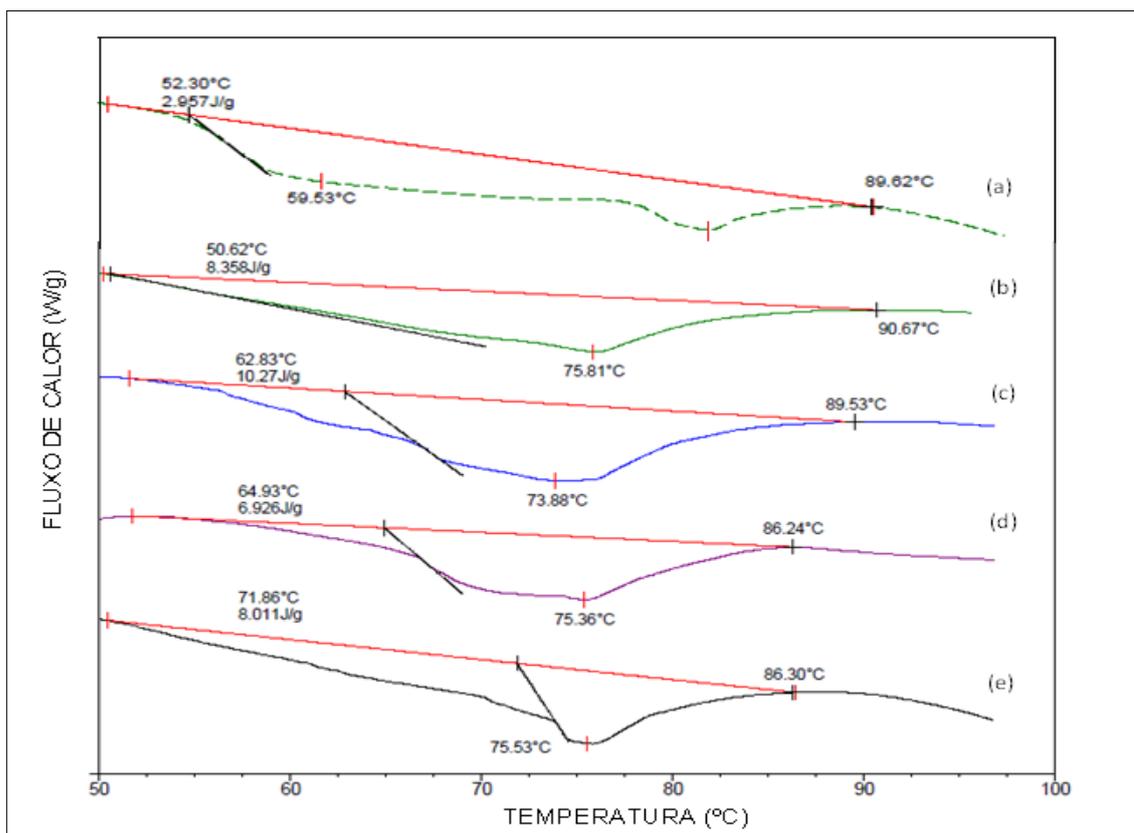


Figura 10. Termogramas (DSC): (a) carne "in natura"; (b) Tratamento controle; (c) 0,7% MTGase; (d) 200MPa/1min e (e) 200MPa/1min + 0,7% MTGase.

Os termogramas indicam transições endotérmicas atribuída a modificações ocorridas na estrutura das proteínas miofibrilares da carne devido a aplicação da APH e adição de MTGase e permite avaliar a estabilidade térmica das proteínas de reestruturado bovino.

Segundo Martens et. al.(1982) e Ma e Ledward (2004), o termograma de carne bovina apresentam três transições endotérmicas que são atribuídos à miosina (~54°C), colágeno (~67°C) e actina (~77°C).

No presente estudo, o termograma da carne "in natura" apresentou dois picos bem visíveis. O primeiro próximo de 60°C e o segundo próximo a 80°C, possivelmente se tratando da miosina no primeiro pico e a actina no segundo. A entalpia do evento térmico ocorrido na carne "in natura" foi muito baixa, próximo a 3J/g.

No termograma do tratamento controle (Figura 10a) observou-se que o pico de desnaturação da miosina desapareceu, possivelmente pela atuação do NaCl (1,5%) na solubilização das proteínas miofibrilares, com um aumento na entalpia do sistema para 8,358J/g.

Foi possível observar também que a adição da MTGase, ao nível de 0,7%, promoveu um aumento na entalpia do sistema (Figura 10c). Tal efeito está de acordo com estudos realizados por Aktas et. al. (2005) e Ahmed et. al. (2009b), que sustentam que a MTGase tem a capacidade de aumentar a entalpia do sistema pois ao promover a interação entre os aminoácidos, formam polímeros de alto peso molecular, os quais possuem essa característica de maior estabilidade térmica em relação as proteínas não associadas.

Os polipéptidos de alto peso molecular ou formação de agregados reforçada por transglutaminase poderia estar relacionada com alterações na estrutura secundária, em termos de um aumento em β -folhas, observada por espectroscopia de Raman, em sistemas à base de carne causada pela adição de MTGase (SIU et al., 2002; HERRERO et al., 2008).

A pressão de 200 MPa por 1 minuto provocou diminuição da entalpia do sistema comparando com o controle (Figura 10 b e c). Este resultado pode ser atribuído à desagregação do complexo actomiosina através do provocado pela alta pressão.

Chapleau et. al. (2003) em seus estudos sobre o efeito da APH na estrutura miofibrilar de carne bovina, concluiu que a alta pressão entre os níveis de 100 a 200 MPa, provocou desagregação do complexo actomiosina, e através dos resultados de DSC destacou a diminuição na entalpia total após a pressurização, refletindo a modificação da conformação das proteínas e consequentemente, a modificação da estrutura proteica.

Segundo Ma et. al. (2004) a uma pressão de 200 MPa por 20 minutos ocorre a fusão dos picos da miosina e do colágeno, tornando um pico mais largo.

No tratamento T7 (Figura 10e) observou-se o aparecimento somente de um pico a 75°C e entalpia de 8,011J/g, dados parecidos com o tratamento controle.

No entanto, de acordo com a literatura, a alta pressão promove alterações na conformação nas cadeias proteicas expondo os sítios hidrófobos e assim favorece a interação proteína-proteína (CARBALLO et. al., 2001).

5.4 Análise Microbiológica

5.4.1 Legislação da ANVISA – RDC N°12

A Tabela 8 apresenta os resultados da avaliação microbiológica dos produtos, onde pode-se observar que estão em concordância com os limites estabelecidos pela legislação.

Tabela 7. Resultados da avaliação microbiológica dos tratamentos, em comparação aos limites da legislação.

Amostras	Coliformes Totais NMP/g	Coliformes Termotolerantes NMP/g	<i>Staphylococcus</i> coag. positiva UFC/g	<i>Clostridium</i> sulfito redutor UFC/g	<i>Salmonella</i> sp.*
T1	< 3,0	< 3,0	<1,0x10 ²	<10	Ausente
T2	11	< 3,0	<1,0x10 ²	<10	Ausente
T3	20	< 3,0	<1,0x10 ²	<10	Ausente
T4	43	< 3,0	<1,0x10 ²	<10	Ausente
T5	15	< 3,0	<1,0x10 ²	<10	Ausente
T6	2,1x10 ²	< 3,0	<1,0x10 ²	<10	Ausente
T7	28	< 3,0	<1,0x10 ²	<10	Ausente
T8	11	< 3,0	<1,0x10 ²	<10	Ausente
Parâmetros Legislação	Não ref.	5,0x10 ³	5,0x10 ³	3X10 ³	Ausência em 25g

UFC/g: Unidade formadora de colônia por grama de produto.*P/A: presença/ausência.

Portanto, diante dos dados da tabela acima, as amostras são consideradas apropriadas ao consumo.

Os resultados das provas microbiológicas foram avaliados pela Comissão de Ética na Pesquisa (COMEPE- UFRRJ) E, somente após a liberação do parecer do COMEPE (Anexo A) é que as amostras foram conduzidas para avaliação sensorial.

5.5 Análise Sensorial

As médias de “aceitação global” e “aceitação da textura” são mostradas na Tabela 9. Não houve diferença significativa na aceitação global dos tratamentos, porém os consumidores preferiram a textura da amostra T3, a qual alcançou a maior média, embora não tenha diferido da T5 e T7. A textura do tratamento T1 foi a menos apreciada pelos participantes.

Tabela 8. Média das notas de aceitação global e textura considerando todos os consumidores (n=100).

TRATAMENTOS	ACEITAÇÃO GLOBAL	TEXTURA
T1	6,0 ^a ± 2,02	5,6 ^b ± 2,26
T3	6,7 ^a ± 2,00	6,5 ^a ± 2,12
T5	6,1 ^a ± 1,94	6,0 ^{ab} ± 1,99
T7	6,0 ^a ± 2,08	5,8 ^{ab} ± 2,17

Avaliada em escala hedônica estruturada de 9-pontos variando de 1: desgostei extremamente a 9: gostei extremamente. Letras diferentes na mesma coluna indicam em diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. T1: Controle; T3: 0,7%MTGase; T5: 200 MPa; T7: 200 MPa + 0,7% MTGase.

A Tabela 9 mostra a frequência de cada um dos termos avaliados no método CATA, utilizados para descrever os produtos submetidos aos diferentes tratamentos considerando todos os 100 consumidores. Os mais frequentes foram: sabor bom, fibrosa, macia, saborosa, aroma característico, suculenta e pálida.

Cabral (2010) em seu estudo sobre a atuação da alta pressão hidrostática na maturação de carne bovina e avaliando os mesmos termos na metodologia CATA e encontrou maior evidência nos mesmos atributos, com exceção do termo “dura”.

Tabela 9. Frequência em que cada atributo foi mencionado para as amostras de reestruturado bovino analisadas por 100 consumidores utilizando a metodologia CATA (“Check-all-that-apply”).

Atributo Sensorial	T1	T3	T5	T7
Macia	51	57	61	42
Suculenta	32	40	22	27
Saborosa	44	49	41	48
Fibrosa	28	26	26	37
Sabor estranho	7	10	13	12
Dura	12	6	7	15
Aroma característico	31	34	40	32
Borrachenta	19	19	17	29
Sabor bom	52	60	52	53
Deliciosa	12	15	11	11
Salgada	17	34	11	33
Pálida	39	29	33	33
Ressecada	7	9	12	11
Sabor ruim	3	1	4	3
Cor atrativa	12	19	18	13
Difícil de deglutir	15	10	4	13
Aroma estranho	9	11	6	5

T1: Controle; T3: 0,7%MTGase; T5: 200 MPa; T7: 200 MPa + 0,7%MTGase

Os resultados da análise CATA para todos os participantes são mostrados na Figura 11, a qual nos permite concluir que amostra T3 foi considerada a preferida, pois está localizada próxima ao vetor da preferência, sendo descrita com os seguintes atributos: suculenta, deliciosa, sabor bom e também aroma estranho, embora tenha sido citado por apenas nove consumidores.

A Figura 11c nos mostra pelo comprimento dos vetores que as opiniões dos provadores divergiram em relação aos atributos de sabor e aparência, no entanto em relação aos atributos de textura e aroma foram mais coesos.

Como visto no item 5.2.2., a análise de PPC% mostrou que a MTGase influencia na retenção de água no produto, tornando o produto mais suculento. A amostra T3 apresentou diminuição da PPC% (19,76%, $p < 0,05$) em relação ao controle (34,23%). Esses dados reforçam as informações obtidas na análise CATA, pois a diminuição da PPC (%) devido à atuação da enzima MTGase tornou o produto mais suculento.

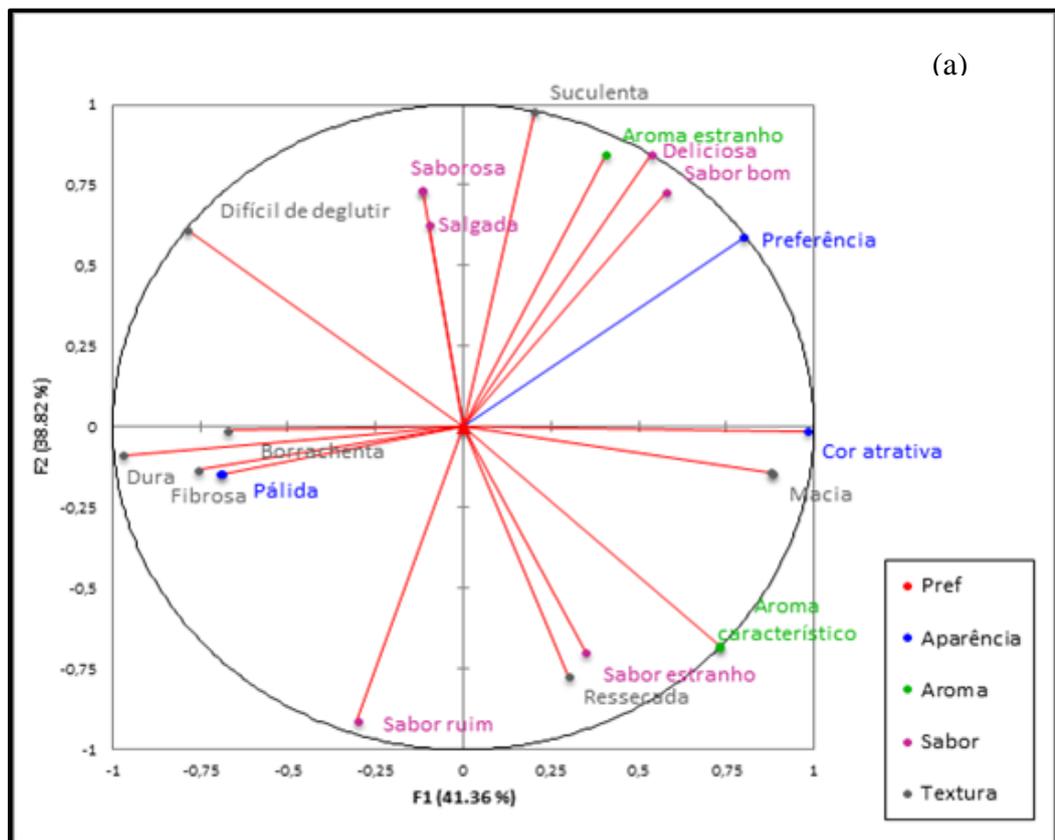
O tratamento T1 (controle) foi caracterizado na análise como difícil de deglutir, borrachenta, dura e fibrosa por estarem bem próximos (Figura 9a). Observando a Figura 9c, podemos sugerir que houve concordância entre as informações dos participantes do estudo em relação ao parâmetro textura, o que é esperado por se tratar de um corte dianteiro bovino (paleta), considerado carne de “segunda”.

Já o tratamento T5 (pressurizado), foi descrito com os atributos, aroma característico, sabor estranho e ressecada. De acordo com a textura instrumental (TPA), discutida no item 5.2.1. (Tabela 4), não observamos concordância entre as análises, pois a análise de TPA apresentou valores menores no parâmetro “dureza” para o tratamento T5 em comparação ao controle (T1), no entanto tal efeito não foi significativo ($p>0,05$).

T5 também foi caracterizado como “ressecado”, dado que concorda com a análise de PPC% que mostrou que a pressão promoveu aumento na PPC% em relação ao controle, significativamente (Tabela 5).

A Figura 11c em relação ao tratamento T5, nos mostra que os atributos relacionados à “textura” obtiveram maior consenso entre os participantes, mas o contrário pode-se observar em relação à “aparência”.

O tratamento T7, onde foi combinada alta pressão e enzima, foi descrito pelos atributos: borrachenta, dura, fibrosa, pálida. Figura 11c revela a concordância entre os participantes para este produto para todos os parâmetros analisados, indicando que a combinação da APH (200MPa por 1 min.) com a MTGase a um nível de 0,7% da enzima não foi favorável do ponto de vista sensorial.



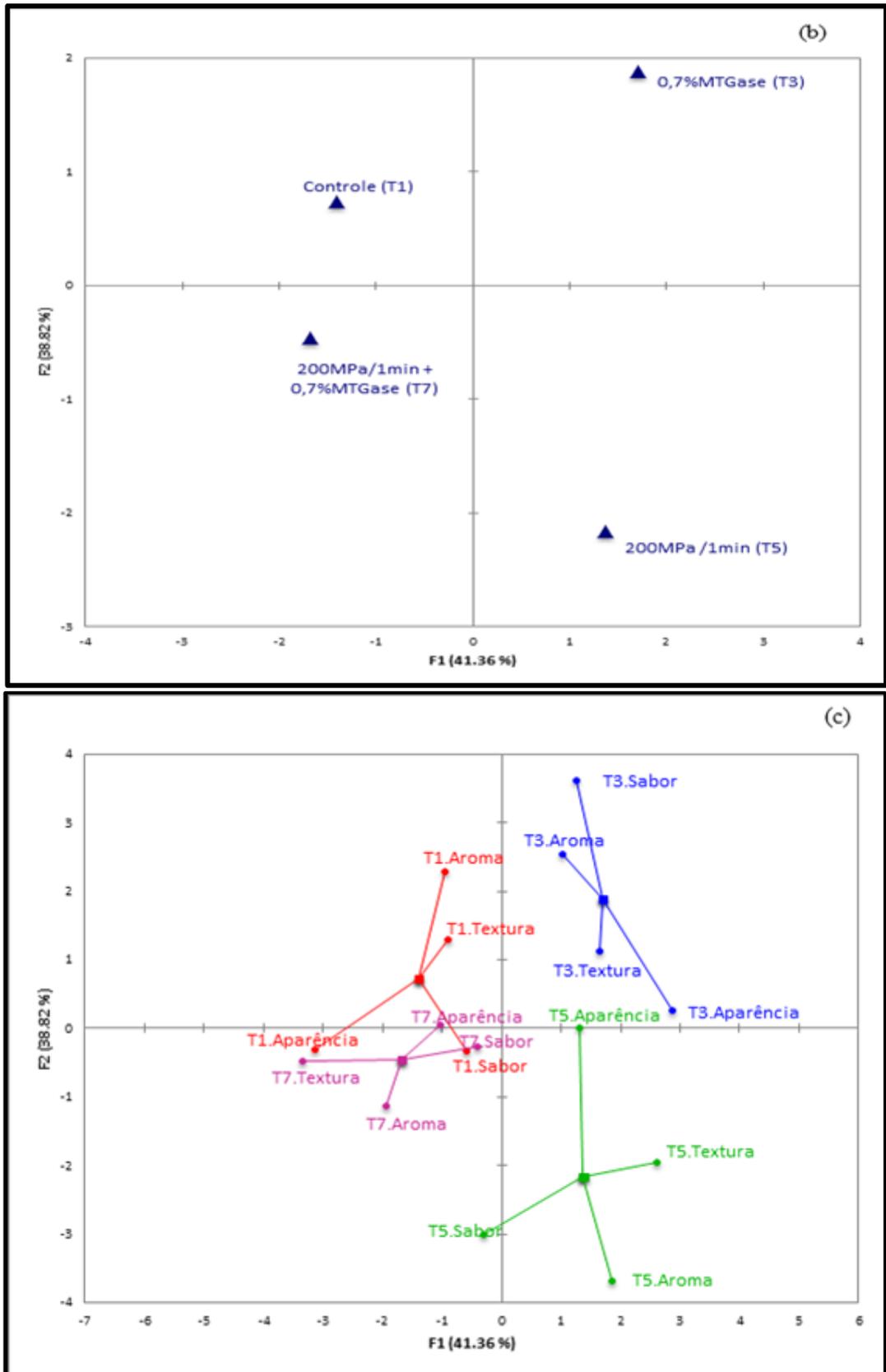


Figura 11. MFA das respostas geradas no CATA. (a) Representação dos termos CATA, (b) Representação da amostra, (c) Correlação entre parâmetros e tratamentos.

6 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, pode-se concluir que:

- A composição centesimal do produto estudado não foi afetada pelos tratamentos com APH e MTGase;
- Os tratamentos com MTgase e APH não apresentaram interferência no pH e o aumento apresentado no pH das amostras se deu pela adição de polifosfatos;
- O perfil de proteínas não foi alterado pela aplicação da APH. No entanto pode-se observar mudanças ocorridas no gel de poliacrilamida provocado pela atuação da enzima MTgase nas proteínas conforme o aumento de sua concentração;
- A aplicação da APH diminuiu os parâmetros de dureza e coesividade;
- A elasticidade foi aumentada tanto pela atuação da APH como pela ação da enzima;
- O parâmetro mastigabilidade não foi influenciado nem pela APH e nem pela enzima MTGase;
- A MTGase atuou promovendo a diminuição da PPC (%) e também o GR (%), compensando a atuação da APH no aumento da PPC (%). Já no GR (%) a APH não apresentou atuação;
- Tanto a APH como a MTgase aumentaram a Luminosidade (*L) e diminuíram os parâmetros *a, *b e *C. Porém o Ângulo °h mostrou que tais modificações nos parâmetros citados não foram suficientes para modificar a cor do produto.;
- Os termogramas mostraram que a APH atuou diminuindo a entalpia do sistema, devido a desnaturação parcial de proteínas miofibrilares. Já a enzima MTGase atuou contrariamente formando pontes cruzadas entre resíduos de aminoácidos e desta forma aumentou a entalpia do evento térmico;
- As análises microbiológicas comprovaram a adequação do produto para consumo de acordo com as exigências da legislação brasileira;
- Na análise sensorial, através do teste de aceitação pôde-se concluir que não houve preferência entre os tratamentos em relação a aceitação global. E a aceitação em relação à textura a amostra preferida foi o tratamento T3 (0,7% MTGase);
- Os resultados da metodologia CATA sugerem que os atributos, suculenta, deliciosa, sabor bom e aroma estranho dirigiram a preferência dos consumidores e apontaram a amostra com 0,7% de enzima como a preferida., sugerindo que a atuação conjunta da APH e da enzima MTgase não foi favorável em relação à aceitação do produto.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AALHUS, J. L., JONES, S. D. M., TONG, A. K. W., JEREMIAH, L. E., ROBERTSON, W. M., & GIBSON, L. L.. The combined effects of time on feed, electrical stimulation and aging on beef quality. **Canadian Journal of Animal Science**, v.72, p. 525–535, 1992.
- ABNT. **ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS**. NBR 12806: análise sensorial de alimentos e bebidas – terminologia. Rio de Janeiro, 1993a.
- ADAMS, J., WILLIAMS, A., LANCASTER, B. FOLEY, M. Advantages and uses of Check All That Apply response compared to traditional scaling of attributes for salty snacks. 7th PANGBORN SENSORY SCIENCE SYMPOSIUM, 12-16 AUGUST 2007.

AESCHLIMANN, D.; PAULSSON, M. Transglutaminases: protein cross-linking enzymes in tissues and body fluids. **Throm. Haemost.**, v.71, p.402-415, 1994.

AHHMED, M. A., KAWAHARA, S., OHTA, K., NAKADE, K., SOEDA, T., & MUGURUMA, M.. Differentiation in improvements of gel strength in chicken and beef sausages induced by transglutaminase. **Meat Science**, 76, 455–462, 2007^a.

AHHMED, M. A., KURODA, R., KAWAHARA, S., OHTA, K., NAKADE, K., AOKI, T., et al.. Dependence of microbial transglutaminase on meat type in myofibrillar proteins cross-linking. **Food Chemistry**, 112, 354–361, 2009.

AKTAS, N.; KILIÇ, B. Effect of microbial transglutaminase on thermal and electrophoretic properties of ground beef. **Food Science and Technology/LWT**, v.38, p.815-819, 2005.

ANDO, H., ADACHI, M., UMEDA, K., MATSUURA, A., NONAKA, M., UCHIO, R., et al.. Purification and characteristics of a novel transglutaminase derived from microorganisms. **Agricultural and Biological Chemistry**, v.53, n°10, p. 2613–2617, 1989.

ANGSUPANICH, K. AND LEDWARD, D. A.. High pressure treatment effects on cod (*Gadus morhua*) muscle. **Food Chemistry**, 63, 39-50, 1998.

AOAC – ASSOCIATION OF OFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis. 16° Ed. GAITHERSBURG, 1998.

AOAC – ASSOCIATION OF OFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Método: 922:06. 18° Ed., 3^a ver, 2010.

ANSTINE, T.T. High pressure processing for safe. Quality Foods. **Cereal Food World**, v.48, p.5-8, 2003.

APHA – COMPENDIUM OF METHODS FOR THE MICROBIOLOGICAL EXAMINATION OF FOODS, 2001. 4^ªED. EDITED BY: FRANCES POUCH.

ARES, G.; JAEGER, S.R.. Check-all-that-apply questions: Influence of attribute order on sensory product characterization. **Food Quality and Preference**, v.28, p.141-153, 2013.

ARROYO, G.; PRESTAMO, G. Respuesta de los microorganismos contaminantes de productos vegetales a la acción de las altas presiones. **Alimentaria**, v. 273, p.103-107, 1996.

BARBOZA-CÁNOVAS, G. V.; RODRÍGUEZ, J. J. Update on nonthermal food processing technologies, irradiation and ultrasound. **Food Australia**, v.54, n.11, 2002.

BARTON-GADE, P. A., CROSS, H. R., JONES, J. M., & WINGER, R. J. IN H. R. CROSS & A. J. OVERBY (EDS.), **Meat Science, Milk Science and Technology**. AMSTERDAM: ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V. PP. 141–171, 1988.

BERRY, B. W.. Texture in Reestructured meats. In: PEARSON, A.M. & DUTSON, T.R. **Advences in Meat Research**. Reestructured meat and Poultry Products. Avi Book, v. 3, p 271-302, 1987.

BOLES, J. A.; SHAND, P. J. Effect of Comminution Method and Raw Binder System in Restructured Beef. **Meat Science**, v. 49, n. 3, p.297-301, 1998.

BOUAOUINA, H.; DESRUMAUX, A.; LOISEL, C.; LEGRAND, J. Functional properties of whey proteins as affected by dynamic high pressure treatment. **International Dairy Journal**, Oxford, v. 16, n. 4, p. 275-284, 2006.

BOURNE, M. C. Texture profile of pears. **Journal Food Science**, v.33, p.223-6, 1968.

BOURNE, M. C. Texture profile analysis. **Food Technology**, Chicago, v.32, n. 2, p.62-66, 72, 1978.

BOURNE, M. C. Food texture and viscosity: concept and measurement. New York: Academic Press, 1982. 325p.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Atribuição de Função de Aditivos, Aditivos e seus Limites Máximos de uso para a Categoria 8 - Carne e Produtos Carnêos. Aprovado pela Portaria n.º 1.004 de 11 de dezembro de 1998, Brasília, DF.

BRASIL, Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Instrução Resolução RDC n.º12 de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n.º26 de 27/05/2009. Aprova a lista de enzimas permitidas para uso em alimentos destinados ao consumo humano conforme a sua origem, em substituição ao Anexo I da Resolução RDC n.º 205 de 14 de novembro de 2006. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF.

BUCHERT, J., CURA, E. D., MA, H., GASPARETTI, C., MONOGIOUDI, E., FACCIO, G., MATTINEN, M., BOER, PARTANEN, R.H., SELINHEIMO, E., LANTTO, R. AND KRUIUS, K. Crosslinking Food Proteins for Improved Functionality. **Annual Review of Food Science and Technology**. v. 1, p.113-138, 2010. Disponível em: <http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.food.080708.100841>. Doi: 10.1146/annurev.food.080708.100841.

BUTZ, P.; TAUCHER, B. Emerging Technologies: chemical aspects. **Food Research International**, v. 35, n. 2-3, p.279-284, 2002.

BUZRUL, S.; ALPAS, H. LARGETEAU, A. et al. Compression heating of selected pressure transmitting fluids and liquid foods during high hydrostatic pressure treatment. **Journal of Food Engineering**, v.85, p. 466-472, 2007.

CABRAL NETO, O. **Amaciamento da carne bovina de nelore por alta pressão hidrostática e maturação**. Tese de Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011. 87p.

CAINE, W. R.; AALHUS, J. L.; BEST, D. R.; DUGAN, M. E. R.; JEREMIAH, L. E. Relationship of texture profile analysis and Warner-Bratzler shear force with sensory characteristics of beef rib steaks. **Meat Science**, v.64, p.333-339, 2003.

CAMPOS, F.P.; DOUSUALDO, G.L.; CRISTIANINI, M. Utilização da tecnologia de alta pressão no processamento de alimentos. **Brazilian Journal of Food and Technology**, v.6, n.2, p.351-357, 2003.

CARLEZ A., CHEFEL J.C., VECIANA N.T. Changes in colour and myoglobin of minced beef due to high pressure processing. **LWT Food Science Technology**. v.28; p.528-538, 1995.

CASTURA, J. C. (2009). Do panellists donkey vote in sensory choose-all-that-apply questions? In: 8th Pangborn sensory science symposium, July 26–30. Florence, Italy.

CASTRO-BRIONES M., CALDERÓN G.N., VELAZQUEZ G., RUBIO M.S., VÁZQUEZ M. & RAMÍREZ J.A. Mechanical and functional properties of beef products obtained using microbial transglutaminase with treatments of pre-heating followed by cold binding. **Meat Science**, v.83, p.229-238, 2009.

CESTARI A.L. **Carne bovina reestruturada com transglutaminase: desenvolvimento e determinações de cor e textura**. Dissertação de mestrado em Engenharia de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2007. 88p. (Disponível em: <<http://www.fea.unicamp.br/alimentarium>>).

CHAPLEAU, N., MANGAVEL, C., COMPOINT, J. P., LAMBALLERIE-ANTON, M. Effect of high-pressure processing on myofibrillar protein structure. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.84, p.66–74, 2003.

CHEFTEL, J. C. High pressure, microbial inactivation and food preservation. **Food Science and Technology International**, v. 1, p.75-90, 1995.

CHEFTEL, J. C., CULIOLI, J.. Effects of high pressure on meat: a review. **Meat Science**, v.46, n.3, p.211–236, 1997.

COSTA, M. C.; DELIZA, R.; ROSENTHAL, A. Revisão: Tecnologias não convencionais e o impacto no comportamento do consumidor. **Boletim do CEPPA**, v.17, n.2, p.187-210, 1999.

DE JONG, G. A. H., & KOPPELMAN, S. J.. Transglutaminase catalyzed reactions: Impact on food applications. **Journal of Food Science**, v.67, nº8, p.2798–2806, 2002.

DELIZA, R.; ROSENTHAL, A.; ABADIO, F. B. D.; SILVA, C. H. O. & CASTILHO, C. Application of high pressure technology in the fruit juice processing: benefits perceived by consumers. **Journal of Food Engineering**, v. 67, p.241-246, 2005.

DENOYELLE, C.; LEBIHAN, B. Intramuscular variation in beef tenderness. **Meat Science**. v.66, n. 1, p. 241-247, 2003.

DETIENNE, N. A.; WICKER, L. SODIUM CHLORIDE AND TRIPOLYPHOSPHATE EFFECTS ON PHYSICAL and quality characteristics of injected pork loins. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 64, n. 6, p. 1042-1047, 1999.

DIMITRAKOPOULOU, M. A.; AMBROSIADIS, J. A.; ZETOU, F. K.; BLOUKAS, J. G. Effect of Salt and Transglutaminase (TG) level and processing conditions on quality characteristics of phosphate-free, cooked, restructured pork shoulder. **Meat Science**, v.70, p.743-749, 2005.

DONDERO, M., FIGUEROA, V., MORALES, X., CUROTTO, E.. Transglutaminase effects on gelation capacity of thermally induced beef protein gels. **Food Chemistry**. v.99, p.546-554, 2006.

DOOLEY, L., LEE, Y. S.; MEULLENET, J. F. The application of check-all-that-apply (CATA) consumer profiling to preference mapping of vanilla ice cream and its comparison to classical external preference mapping. **Food Quality and Preference**, v.21, n.4, p. 394-401, 2010.

EARNSHAW, R.G. Kinetics of high pressure inactivation of microorganism. In: LEDWARD, D. A.; JOHNSTON, D. E.; EARNSHAW, R. G.; HASTING, A. M. P. (Org.) **High pressure processing of foods**. Leicestershire: Nottingham University Press, p.37-46, 1995.

FAO. **Aditivos que podem ser utilizados em gêneros alimentícios**. Food and Agriculture Organization on the United Nations. DIRECTIVA 95/2/CE DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO, de 20 de fevereiro de 1995.

FARKAS, D. F.; HOOVER, D. G. High Pressure Processing. **Journal of Food Science**, v. 65, n.4, p.47-64, 2000.

FERNÁNDEZ-MARTÍN, F., COFRADES, S., CARBALLO, J., JIMÉNEZ-COLMENERO, F.. Salt and phosphate effects on the gelling process of pressure/heat treated pork batters. **Meat Science**. v. 61, n°1, p.15–23, 2002.

FERREIRA, M. S., MÁRSICO, E. T., MEDEIROS, R. J., POMBO, C. R., FREITAS, M. Q., São Clemente, S. C. e JUNIOR, C.A. C.. Comparação das características físico-químicas e sensoriais de hambúrgueres de carne bovina elaborados com cloreto de sódio, polifosfato e transglutaminase. **Rev. Bras. Med. Vet.**, 34(1):52-60, jan/mar 2012.

FOGUEL, D. **Efeito da alta pressão hidrostática e baixas temperaturas em organismos e estruturas fotossintéticas**. UFRJ, 1993. Tese: Doutorado em Bioquímica. UFRJ, 1993.

FOLK, J. E.. Transglutaminases. **Annual Review of Biochemistry**, v.49, p.517–531, 1980.

FRIEDMAN, H. H., WHITNEY, J. E. & SZCZESNIAK, A. S.. The texturometer - a new instrument for objective texture measurement. **Journal Food Science**, v.28, p.390-6, 1963.

GALAZKA, V. B., LEDWARD D. A.. Developments in high pressure food processing. **Food Technology International**. Europe, p.123-125, 1995.

GARRICA, M.; GREBOL, N.; AYMERICH, M. T.; MONTFORT, J. M.; HUGAS, M. Microbial inactivation after high-pressure processing at 600 MPa in commercial meat products over its shelf life. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 5 p. 451-457, 2004.

GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B., FRIAS, J. R. G. (2009). **Tecnologia de alimentos – Princípios e aplicação**. Editora: NBL, 511 p.

GHAVIMI, B.; ALTHEN, T. G.; ROGERS, R. W. Effects of tumbling at various speeds on some characteristics of restructured cured beef. **Journal of Food Science**, v.52, n° 3, p.543-544, 553, 1987.

GOMIDE, L.A.M.; RAMOS, E.M.; FONTES, P.R. **Tecnologia de abate e tipificação de carcaças**. 1.ed. Viçosa: Editora UFV, 2006. 370p.

GONZÁLES-TOMÁS, L., & COSTELL, E. . Sensory evaluation of vanilla-dairy desserts by repertory grid method and free choice profile. **Journal of Sensory Studies**, v.21, p.20–33, 2006.

GRANT, S.; PATTERSON, M.; LEDWAD, D. Food processing gets freshly squeezed. **Chemistry & Industry**, n. 2, p 55-58, 2000.

HEREMANS, K., SMELLER, L. Review: Protein structure and dynamic at high pressure. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1386, n. 2, p. 353-370, 1997.

HERRERO, A.M.; CAMBERO, M.I.; ORDÓÑEZ, J.A.; HOZ, L. DE LA; CARMONA, P.. Raman spectroscopy study of the structural effect of microbial transglutaminase on meat systems and its relationship with textural characteristics. **Food Chemistry**, v 109, p. 25–32, 2008.

HORITA, C. N. **Redução de cloreto de sódio em produto emulsionado tipo mortadela: influência sobre a qualidade global**. 2010. 89 f. Dissertação (mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas- UNICAMP- São Paulo.

HUFF, E. J., & PARRISH, F. C. JR.. Bovine longissimus muscle tenderness as affected by postmortem ageing time, animal age and sex. **Journal of Food Science**, v.58, n. 4, p. 713–716, 1993.

JOO, S.T.; KAUFFMAN, R.G.; KIM, B.C.; PARK, G.B.. The relationship of sarcoplasmic and myofibrillar protein solubility to colour and water-holding capacity in porcine longissimus muscle. **Meat Science**, v. 52. n.3, p. 291–297, 1999.

JUNG, S., GHOUL, M., & DE LAMBALLERIE-ANTON, M.. Influence of high pressure on the color and microbial quality of beef meat. *Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie - Food Science and Technology*, v.36, n.6, p. 625–631, 2003.

JURIATTO, V. L. Uso de fosfatos em frutos do mar. **Revista Nacional da Carne**. São Paulo, n. 320, p.110-111, outubro, 2003.

KANAJI, T. et al. Primary structure of microbial transglutaminase from *Streptoverticillium* sp. Strain s- 8112. **J. Biol. Chem.**, v. 268, p.11565-11572, 1993.

KULMYRZAEV, A.; DUFOUR, É.; NOE, Y; HANAFI, M; KAROUI, R. QANNARI, E. M.; MAZEROLLES, G. Investigation at the molecular level of soft cheese quality and ripening by

infrared and fluorescence spectroscopies and chemometrics relationships with rheology properties. **International Dairy Journal**, v.15, p.669-678, 2005.

KURAIISHI C., SAKAMOTO J., YAMAZAKI K., SUSU Y., KUHARA C. & SOEDA T. Production of restructured meat using microbial transglutaminase without salt or cooking. **J. Food Sci.**, 62:488-491, 1997.

KURAIISHI, C.; YAMAZAKI, K.; SUSU, Y. Transglutaminase: Its utilization in the food industry. **Food Reviews International**, v.17, n. 2, p. 221-246, 2001.

KURLANSKI, M. *Salt. A Word History*, London: Random House, 2002.

KROSNICK, J. A.. Survey research. *Annual Review of Psychology*, 50, 537–567, 1999.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, London, v.227. p680-685, 1970.

LEDWARD, D. A.. High pressure processing of meat and fish. In *Symposium on fresh novel foods by high pressure*, 1998.

LANCASTER, B., & FOLEY, M. (2007). Determining statistical significance for choose-allthat- apply question responses. Seventh pangborn sensory science symposium, Minneapolis, USA.

LAWLESS, H. T.; HEYMANN, H. *Sensory evaluation of Food – Principles and practices*. USA : **Aspen Publication**, 817 p. ; 1999.

MA, H. J.; LEDWARD, D. A. High pressure/thermal treatment effects on the texture of beef muscle. *Meat Science*, v. 68, p. 347-355, 2004.

MACFARLANE, J. J.. Pressure - induced solubilization of meat proteins in saline solution. **Journal of Food Science**, v.39, p.542-547, 1974.

MACFARLANE JJ, MCKENZIE IJ.. Pressure-induced solubilization of myofibrillar proteins. **Journal of Food Science**, v.41, p.1442–6, 1976.

MANDIGO, RW (1988) Restructured meats. In Lawrie R (ed) *Developments in meat science-4*. Elsevier, New York, pp 297– 315.

MARBA. **O que é polifosfato?** Disponível em: <http://www.marba.com.br/html/034html>. Acesso em: 25/10/2012.

MARCOS B., KERRY J.P., MULLEN A.M.. High pressure induced changes on sarcoplasmic protein fraction and quality indicators. **Meat Science**. v. 85, p.115–20, 2010.

MÁRQUEZ E., ARÉVALO E., BARBOZA Y., BENÍTES B., RANGEL L. & ARCHILE A. Efecto de la concentración de transglutaminasa y tiempo de reacción en la estabilidad de productos reestructurados. *Rev. Cent.*, FCV-LUZ, 16:662-667, 2006.

MARTENS, H., STABURSVIK, E. AND MARTENS, M.. During cooking related to thermal denaturation of muscle proteins. **Journal of Texture Studies**, v.13, p.291-309, 1982.

MEYER, R.S.; COOPER, K.L.; KNORR, D.; LELIEVELD, H.L.M. High pressure sterilization of foods. **Food Technology**, v. 54, n. 11, p.67-72, 2000.

MESSENS, W., VAN CAMP, J., HUYGHEBAERT, A.. The use of high pressure to modify the functionality of food proteins. **Trends Food Sci Tech** v.8, p.107–12, 1997.

MEULLENET, J. F.; LEE, Y.; DOOLEY, L. The application of check-all-that-apply consumer profiling to preference mapping of vanilla ice cream and its comparison to classical external preference mapping. **The 9th Sensometric Meeting**. The Sensometrics Society, St. Catharines, Ontario, Canada. 2008.

MININ, Valéria Paula Rodrigues. **Análise sensorial: estudo com consumidores**. 2 ed. rev. ampl. Viçosa: UFV, 2010.

MOTOKI. M.; SEGURO, K. Transglutaminase and its use for food processing. **Trends in Food Science and Technology**, v.9, p.204-210, 1998.

NEEDS, S. G., CAPELLAS, K., BLAND, A. P., MANJO, P., MACDOUGAL, D., & PAUL, G.. Comparison of heat and pressure treatments of skim milk, fortified with whey protein concentrate, for set yoghurt preparation: Effects on milk proteins and gel structure. **Journal of Dairy Research**, v.67, p.329–348, 2000.

NIELSEN, G. S.; PETERSEN, B. R.; MOLLER, A. J. Impact of Salt, Phosphate, and temperature on the Effect of Tansglutaminase (F XIIIa) on the Texture of Restructured Meat. **Meat Science**, v. 41, n° 3, p. 293-299, 1995.

NONAKA, M., TANAKA, H., OKIYAMA, A., MOTOKI, M., ANDO, H., UMEDA, K., et al.. Polymerization of several proteins by Ca-2+ independent transglutaminase derived from microorganisms. **Agricultural and Biological Chemistry**, v.53, n.10, p.2619–2623, 1989.

OFFER, Gerald; TRINICK, John. On the mechanism of water holding in meat: the swelling and shrinking of myofibrils. **Meat Science**, Inglaterra, v. 8, n. 4, p. 245- 281, 1983.

ORDÓÑEZ, J.A.P., ÁLVAREZ, L.F., SANZ, M.L.G., MINGUILLÓN, G.D.G.F., PERALES, L. de LA HOZ, & CORTECERO, M.D.S. (2005). **Tecnologia de Alimentos. Alimentos de origem animal**, v1. Editora: Artmed, Porto Alegre.

ORDÓÑEZ, J.A.P., ÁLVAREZ, L.F., SANZ, M.L.G., MINGUILLÓN, G.D.G.F., PERALES, L. de LA HOZ, & CORTECERO, M.D.S. (2005). **Tecnologia de Alimentos. Alimentos de origem animal**, v2. Editora: Artmed, Porto Alegre.

PAGÈS, J. Collection and analysis of perceived product inter-distances using multiple factor analysis: Application to the study of 10 white wines from the Loire Valley. **Food Quality and Preference**, v.16, n. 7, p. 642-649, 2005.

PALMIERI, L. C. **Estudo do envelopamento e agregação do monômero da proteína amilodogênica transtirretina (M-TTR)**. UFRJ, 2005. Dissertação (Mestrado em química Biológica), Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005.

PANEA, B., MONSÓN, F., OLLETA, J. L., MARTÍNEZ-CEREZO, S., PARDOS, J. J. & SAÑUDO, C.. Estudio textural de la carne de vacuno. II. Análisis sensorial. (A texture study of bovine meat. II. Sensory Analysis). *Información Técnico-Económica Agraria*, Vol. extra n. 24, p. 31–33, 2003.

PARDI, M. C. et al. **Ciência e Higiene e Tecnologia da Carne**. V. 1, Editora UFG, Goiânia, 623p. 2001.

PEARSON, A.M.; DUTSON, T.R. Restructured Meat and Poultry Products. **Advances in Meat Research V.3**. Westport, Connecticut: AVI Publishing Co., 1987, 519p.

PIETRASIK Z., LI-CHAN, E.C.Y.. Response surface methodology study on the effects of salt, microbial transglutaminase and heating temperature on pork batter gel properties. **Food Res Intl**. v.35, p.387–96, 2002.

PONS, M.; FISZMAN, S.M. Instrumental texture profile analysis with particular reference to gelled systems. **Journal of Texture Studies**, v. 27, p.597-624, 1996.

PUOLANNE, EERO J.; RUUSUNEN, MARITA H.; VAINIONPÄÄ, JUKKA I. Combined effects of NaCl and raw meat pH on water-holding in cooked sausage with and without added phosphate. **Meat Science**, Inglaterra, v. 58, n. 1, p. 1-7, 2001.

QUALI, A. La maturation des viandes: facteurs biologiques et technologiques de variation. (Meat ageing: biological and techno technological factors of variation). *Viandes et produits carnés*, 11(6, 6 bis, 6 ter), p. 281–290, 1990.

QUEIROZ, M. I.; TREPTOW, R. O. **Análise sensorial para a avaliação da qualidade dos alimentos**. Rio Grande: Editora da Furg, 2006.

RAHARJO, S.; DEXTER, D. R.; WORFEL, R. C.; SOFOS, J. N.; SOLOMON, M. B.; SHULTS, G. W.; SCHMIDT, G. R. Quality characteristics of restructured beef steaks manufactured by various techniques. **Journal of Food Science**, v.60, n° 1, p.68-71, 1995.

RAMIREZ-SUAREZ, J. C., & XIONG, Y. L.. Transglutaminase crosslinking of whey/myofibrillar proteins and the effect on protein gelation. **Journal of Food Science**, v.67, p. 2885–2891, 2002.

RASINSKI, K. A., MINGAY, D., & BRADBURN, N. M.. Do respondents really “mark all that apply” on self-administered questions? **Public Opinion Quarterly**, v.58, p.400–408, 1994.

RUUSUMEN, M.; VAINIONPÄÄ, J.; LYLTY, M.; LAHTEENMAKI, L.; NIEMISTO, M.; AHVENAINEN, R.; POULANNE, E.. Reducing the sodium content in meat products: The effect of the formulation in low-sodium ground meat patties. **Meat Science**, v.69, p.53-60, 2005.

SANGRONIS, E.; POTHAKAMURY, U.; RAMOS, A. M.; IBARZ, A.; BARBOSA CÁNOVAS, G. V.; SWANSON, B. G. La alta presión hidrostática: una alternativa en el procesamiento no térmico de alimentos. **Alimentaria**, v. 283, p.33-43, 1997.

SAN MARTÍN, M.F.; BARBOSA-CÁNOVAS; G.V.; SWANSON, B.G. Food processing by hydrostatic pressure. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.42, n.6, p.627-645, 2002.

SCHEIBENZUBER, M.; RUB, W.; GORG, A.; MEYER-PITTRUFF, R. Scanning electron microscopic study of high pressure induced microstructural changes of proteins in turkey and pork meat. **High Pressure Bioscience and Biotechnology**, p. 490, 2002.

SEABRA, L.M.J., et al. Fécula de mandioca e farinha de aveia como substitutos de gordura na formulação de hambúrguer de carne ovina. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.22, n.3, p. 245-248, 2002.

SEIDEMAN, S. C. Utilization of Meat and Non-Meat Replacements in Restructured Products. In: **Proceedings International Symposium of Meat Science and Technology**, Nebraska, p.245-254, 1982.

SEIDEMAN, S. C.; DURLAND, P. R. Restructured red meat products: in review. **Journal of Food Quality**, Westport, v. 6, p. 81-101, 1983.

SERRANO, A., COFRADES, S., & JIMÉNEZ COLMENERO, F.. Transglutaminase as binding agent in fresh restructured beef steak with added walnuts. **Food Chemistry**, v.85(3), p.423-429, 2004.

SCHMIDT, G. R. AND TROUT, G. R. (1982) Chemistry of meat binding. In **Meat Science and Technology International Symposium Proceedings**. Lincoln, NE. 14 Nov p. 265. National Live Stock and Meat Board, Chicago, IL.

SIEGEL, D.G. AND G.R. SCHMIDT, **Journal Food Science.**, v.44, p. 1686-1689, 1979.

SIKES, A. L.; TOBIN, A. B.; TUME, R. K.; Use of high pressure to reduce loss and improve texture of low-salt beef sausage batters. **Inovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 10, p. 405-412, 2009.

SIU, N. C., MA, C. Y., & MINE, Y.. Physicochemical and structural properties of oat globulin polymers formed by a microbial transglutaminase. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.2660-2665, 2002

SMELT, J.P.P.M. Recent advances in the microbiology of high pressure processing. **Trends Food Science and Technology**, v.9, p.152-158, 1998.

SMITH, J. J. Functionality of Ingredients in Restructured Products. In: **Proceedings International Symposium of Meat Science and Technology**, Nebraska, p.255-264, 1982.

SMYTH, J. D., DILLMAN, D. A., MELANI CHRISTIAN, L., & STERN, M. J.. Comparing check-all and forced-choice question formats in web surveys. **Public Opinion Quarterly**, v.70, p.66–77, 2006.

SOFOS, J. N. Influence of sodium tripolyphosphate on the binding and antimicrobial properties of reduced NaCl. **Journal of Food Science**, v. 50, p. 1379-1383, 1985.

SLONGO, A.P. **Determinação da Vida de Prateleira e Análise Sensorial de Presunto Suíno Submetido ao Tratamento de Alta Pressão Hidrostática**. Tese (doutorado), Univesidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2008.

SUDMAN, S., & BRADBURN, N. M. (1992). Asking questions. San Francisco, CA: Jossey-Bass.

STONE, H., SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. New York: Academic Press, 1993. 2ed., 338p.

SZCZESNIAKI, A. S.; TORGESON, K.W. Methods of meat texture measurement viewed from background of factors affecting tenderness. In C.O. Chichester, E. M. Mrak, & G. F. Stewart (eds.), *Advances in food research* v.14. New York and London: Academic press, p. 33-165, 1965.

TÉLLEZ-LUIS S., URESTIS R.M., RAMÍREZ J.A. & VÁZQUEZ M. Low-salt restructured fish products using microbial transglutaminase as binding agent. **J. Sci. Food Agri.**, v.82, p. 953- 959, 2002.

TEWARI, G.; JAYAS, D.S.; Holley, R.A. High pressure processing of foods: an overview. **Science des Aliments**, v.19, p.619-661, 1999.

TRESPALACIOS, P., & PLA, R.. Simultaneous application of transglutaminase and high pressure to improve functional properties of chicken meat gels. **Food Chemistry**, v.100, nº1, p.–272, 2007.

TROUT, G. R.; SCHIMIDT, G. R. Effect of phosphate type and concentration, salt level and method of preparation on binding in restructured beef rolls. **Journal of Food Science**, v.49, p.687-694, 1984.

TORRES, A.; VELASQUEZ, G. Comercial opportunities and research challenges in the high pressure processing of foods. **Journal of Food Engineering**, v.67, n. 1-2, p. 95-112. 2005.

TUNICK, M.H. Rheology of dairy foods that gel, stretch, and fracture. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1892-1898, 2000.

VARDAG T, KORNER P.. High pressure: a real alternative in food processing. **Food Market Technol**.v.9, p.42–7, 1995.

VILLAMONTE, G., SIMONIN, H., DURANTON, F., CHÉRET, R., LAMBALLERIE, M.. Functionality of pork meat proteins: Impact of sodium chloride and phosphates under high-pressure processing. **Innovative Food Science and Emerging Technologies** . v.18, p.15–23, 2013.

VON SEGGERN, D. D.; CALKINS, C. R.; JOHNSON, D. D.; BRICKLER, J. E.; GWARTNEY, B. L. Muscle profiling: Characterization the muscles of the beef chuck and round. **Meat Science**, v.71, p.39-51, 2005.

WESTPHALEN A.D., BRIGGS J.L. & LONERGAN S.M. Influence of pH on rheological properties of porcine myofibrillar protein during heat induced gelation. **Meat Science**, v.70, p.293-299, 2005.

WILLIAMS, A. New Technologies in Food Preservation and Processing: Part II. **Nutrition & Food Science**, v.1, p.20-23, 1994. Schmidt, G. R. & Trout, G. R. (1982). In *Proceedings International Symposium Meat Science and Technology*, eds K. R. Franklin & H. R. Cross. National Live Stock and Meat Board, Chicago, IL, p. 265.

YAMAMOTO, K., S. HAYASHI, T. YASUI (1992). Hydrostatic pressure- induce aggregation of myosin molecules in 0,5 M KCl at pH 6,0. In High Pressure and Biotechnology (C. BALNY, R. HAYASSHI, K. HEREMANS, O. MASSON, eds), John Libbey Eurotext, Ltd Montrouge, pp. 229-233.

YAN, G., DUA, G., LI,Y., CHENA, J., ZHONGC, J. Enhancement of microbial transglutaminase production by *Streptovercillium mobaraense*: application of a two-stage agitation speed control strategy. **Process Biochemistry**. v.40, p.963–968, 2005.

YASUEDA, H., KUMAZAWA, Y., & MOTOKI, M. (1994). Purification and characterization of a tissue-type transglutaminase from red sea bream (*Pargus major*). **Bioscience Biotechnology Biochemistry**, v.58, p. 2041–2045, 1994.

YOKOYAMA, K.; NIO, N.; KIKUCHI, Y. Properties and application of microbial transglutaminase. **Appl. Microbial Biotechnol.**, v. 64, p.447-454, 2004.

YOUNG, L. L.; LYON, C. E.; SEARCY, G. K.; WILSON, R. L. Influence of sodium tripolyphosphate and sodium chloride on moisture-retention and textural characteristics of chicken breast meat patties. **Journal of Food Science**, v. 52, n. 3, p. 571-574, 1987.

ZAMORA, F.. Variabilité biologique de l'attendrissage de la viande bovine. – Prédiction en fonction du facteur animal et du facteur type de muscle (Biological variation of bovine meat tenderisation. Prediction depending on animal or muscle-type factors). Doctoral Thesis: Docteur d'Université, Spécialité Sciences des Aliments (Biochimie). Université d' Auvergne, p. 44–45, 1997.

ZIMMERMAN, F.; BERGMAN, C. Isostatic high-pressure equipment for food preservation. **Food Technology**, v.47, n.6, p.162-163, 1993.

ZHU, Y., RINZEMA, A., TRAMPER, J., BOL, J. Microbial transglutaminase – a review of its production and application in food processing. v.44, p.277-282, 1995.

1 ANEXOS

Anexo A. Parecer da Comissão de Ética na Pesquisa - COMEP-UFRRJ.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NA PESQUISA DA UFRRJ / COMEP

Protocolo Nº 340/2013

PARECER

O Projeto de Pesquisa intitulado "*Aplicação de transglutaminase microbiana e alta-pressão hidrostática em reestruturado de carne bovina*", sob a responsabilidade do Prof. Amauri Rosenthal, da Embrapa Agroindústria de Alimentos, processo 23083.002029/2013-81, atende os princípios éticos e está de acordo com a Resolução 196/96 que regulamenta os procedimentos de pesquisa envolvendo seres humanos.

UFRRJ, 22/04/2013

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Roberto Lelis'.

Prof. Dr. Roberto Carlos Costa Lelis
Pró-reitor de Pesquisa e Pós-graduação

Anexo B. **Ficha para coleta dos dados demográficos e consumo de reestruturados bovino.**

ESTUDO SOBRE CARNE BOVINA

Consumidor: _____ Data: _____

Sexo: feminino masculino

Idade:

- 18-25
- 26-35
- 36-45
- 46-55
- 56-65
- > 66

Grau de escolaridade:

- fundamental incompleto
- fundamental
- médio incompleto
- médio
- superior incompleto
- superior
- pós-graduação

Renda familiar mensal: (SM = Salário mínimo)

- 1 a 5 SM
- >5 a 10 SM
- >10 a 20 SM
- >20 a 30 SM
- >30 SM

Qual tipo de carne você mais consome? Por favor, especifique usando 1 para a mais consumida, 2 para a segunda mais consumida, etc.

bovina de frango pescados suína

Qual a frequência com que você consome **carne bovina**?

- nunca
- de vez em quando
- 1 vez por semana
- 2-4 vezes por semana
- mais que 5 vezes por semana

Anexo C. **Ficha para coleta dos dados de preferência e dados CATA.**

FICHA DE AVALIAÇÃO – ESTUDO SOBRE CARNE BOVINA

Consumidor: _____

Data: _____

Você vai receber quatro amostras de **carne BOVINA assada**. Por favor, prove cada amostra e responda as perguntas solicitadas. Quando terminar, tome um pouco de água e depois avalie a amostra seguinte.

Amostra N° _____

Quanto **gostou** dessa carne?

Desgostei muito **Nem gostei e nem desgostei** **Gostei muito**

Quanto **gostou** da **TEXTURA** dessa carne?

Desgostei muito **Nem gostei e nem desgostei** **Gostei muito**

Marque todas as palavras que considera adequada para descrever essa carne:

Macia ()	Deliciosa ()
Suculenta ()	Salgada ()
Saborosa ()	Pálida ()
Fibrosa ()	Ressecada ()
Sabor estranho ()	Sabor ruim ()
Dura ()	Cor atrativa ()
Aroma característico ()	Difícil de deglutir ()
Borrachenta ()	Aroma estranho ()
Sabor bom ()	

Obrigada por participar!