Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

**Efeito da extrusão termoplástica nas características
físico-químicas e nutricionais do rúmen bovino e sua
aplicação na alimentação humana**

Ana Carolina Conti e Silva

**Tese apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Saúde Pública
para obtenção do título de Doutor em
Saúde Pública.**

Área de Concentração: Nutrição.

**Orientador: Prof. Dr. José Alfredo
Gomes Arêas**

São Paulo
2008

**Efeito da extrusão termoplástica nas características
físico-químicas e nutricionais do rúmen bovino e sua
aplicação na alimentação humana**

Ana Carolina Conti e Silva

**Tese apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Saúde Pública da
Faculdade de Saúde Pública da
Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em
Saúde Pública.**

Área de Concentração: Nutrição.

**Orientador: Prof. Dr. José Alfredo
Gomes Arêas**

São Paulo

2008

Dedicatória

*Aos grandes amores e homens da minha vida,
Anderson e Marco Antônio.*

*Ao primeiro, dedico pela compreensão e companhia,
podendo apenas me escutar e me consolar nos momentos mais difíceis.*

*Ao segundo, dedico por ter “aceitado” minhas necessidades
de ausência, mesmo com muito choro.*

Agradecimentos

Primeiramente agradeço a Deus, por ter me dado todo e qualquer tipo de oportunidade de alcançar meus objetivos e chegar até aqui.

Ao Prof. Arêas, que me acolheu durante a Graduação e confiou em mim ao me permitir cursar o Doutorado Direto. Ainda agradeço o conhecimento precioso fornecido e peço desculpas por ter lhe “pentelhado” tanto.

À minha família, principalmente minha mãe Dinamar e minhas irmãs Denise e Deborah, por sempre estarem perto de mim mesmo estando longe e por sempre torcerem por mim. Tenho certeza de que têm muito orgulho de quem sou.

À minha segunda família, que me acolheu com muito amor, principalmente, à D. Nice e Sheila, sem as quais seria muito mais difícil de trabalhar com a cabeça e o coração preocupados com Marco Antônio.

Ao Zé Pereira, pelas batalhas travadas contra a extrusora e por ter sempre me ajudado em todos os momentos que precisei.

À Rosana, por me ajudar muito com seus conhecimentos de Química e por agüentar tanto às minhas perguntas.

Aos grandes amigos de trabalho Aline, Ana Cristina, Ana Paula, Andréa, Áurea, Bruna, Carla Machado, Carol Moron, Catarina, Fernanda, Geni, Karen, Karina, Karol Frota, Lilian, Maria Clara, Maria Carol, Renée, Simone, Suzana, Thaís, Vanessa, Vítor e Yara (se me esqueci de alguém, peço mil perdões) por todas as contribuições e sinceras amizades durante o longo período do Doutorado.

À Profa. Deborah, que sempre considerei como co-orientadora de meu trabalho e que também me passou muitos conhecimentos.

Aos funcionários do Departamento de Nutrição, Alessandra, Beth Santos, Betinha, Cíntia, Regilene, Regina, Roseli e Zé Bezerra, que desde a Iniciação Científica me acompanharam e pelos quais sempre tive muito carinho.

Aos Professores do Departamento de Nutrição, por tantos anos de convívio.

Ao Robison, por ter me ajudado no ensaio biológico com os ratinhos, já que eu não tinha capacidade profissional para realizar sozinha.

Aos membros da banca pelas preciosas contribuições.

À FAPESP pelo apoio financeiro.

*“Só quando pudermos olhar desprendidos de idéias pré-concebidas
é que estaremos realmente enxergando os verdadeiros motivos”.*

João Anderson da Silva

Resumo

Conti-Silva AC. Efeito da extrusão termoplástica nas características físico-químicas e nutricionais do rúmen bovino e sua aplicação na alimentação humana [tese de doutorado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 2008.

Introdução. O rúmen bovino constitui um subproduto de abatedouro por ser rejeitado sensorialmente e culturalmente. Apesar disso, representa uma ótima fonte protéica, sendo desejável seu aproveitamento integral na alimentação humana.

Objetivo geral. Desenvolver um produto à base de rúmen bovino, avaliando suas características físico-químicas e nutritivas e sua aplicação em alimentos.

Metodologia. O rúmen bovino foi desengordurado a frio e extrusado em extrusora de rosca única. Utilizou-se a Metodologia de Superfície de Resposta para verificação dos efeitos da extrusão sobre as propriedades funcionais do rúmen: capacidade de retenção de água, capacidade de emulsificação, estabilidade da emulsão, solubilidade da proteína e hidrofobicidade da superfície protéica. Foi avaliada a composição nutritiva do rúmen (composição centesimal, colesterol, perfil de ácidos graxos e sua qualidade protéica através da composição de aminoácidos e digestibilidade real em ratos). Três produtos cárneos (lingüiça toscana, hambúrguer de frango e quibe) foram fabricados com extrusado ou com farinha de rúmen, analisados sensorialmente e comparados com produtos cárneos contendo extrusado de concentrado protéico de soja. **Resultados.** A capacidade de emulsificação, a solubilidade protéica e a hidrofobicidade da superfície protéica aumentaram após a extrusão, sendo que a capacidade de retenção de água e a estabilidade da emulsão foram reduzidas. A umidade mostrou ter influência sobre a variável resposta capacidade de retenção de água. As condições testadas de extrusão do rúmen foram fixadas em 35% de umidade (base seca) e 150°C de temperatura de processamento. A avaliação da composição centesimal mostrou que o rúmen é uma excelente fonte protéica, seu colesterol foi reduzido consideravelmente após o desengorduramento e os ácidos graxos saturados foram extraídos totalmente. O escore de aminoácidos corrigido pela digestibilidade real da proteína foi de 1 ou 100% antes e após a extrusão. As análises sensoriais mostraram que para a lingüiça, a adição de rúmen deve ser feita em sua

forma extrusada, sendo que no hambúrguer de frango e no quibe, a utilização de extrusado ou farinha de rúmen resultou em igual aceitação sensorial. **Conclusão.** A extrusão constitui uma forma de aproveitamento do rúmen bovino, mas não é essencial para sua aplicação em alimentos, já que dependendo do produto não se mostrou necessária. Por outro lado, a extrusão provocou mudanças nas propriedades funcionais do rúmen, favorecendo sua aplicação em determinados produtos embutidos e melhorando a aceitação sensorial. A qualidade nutritiva da proteína tanto da farinha como do extrusado foi alta e não foi afetada pela extrusão.

Descritores: Rúmen bovino; Extrusão termoplástica; Propriedades funcionais; Proteína; Análise sensorial.

Abstract

Conti-Silva AC. Efeito da extrusão termoplástica nas características físico-químicas e nutricionais do rúmen bovino e sua aplicação na alimentação humana./Thermoplastic extrusion effects on physical-chemical and nutritional properties of bovine rumen and its application in human feed [thesis]. São Paulo (BR): Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 2008.

Introduction. Bovine rumen is a slaughterhouse by-product rejected by sensorial and cultural reasons. Nevertheless, it is a great proteic source and its utilization in human feed is necessary. **Objective.** Development of a product made with bovine rumen, analyzing its physical-chemical and nutritive characteristics and its use in human feed. **Methodology.** Bovine rumen was deffated and extruded in a single screw extruder. The Response Surface Methodology was applied to verify extrusion effects on functional properties of rumen: water holding capacity, emulsifying capacity, emulsion stability, protein solubility and surface hydrophobicity of protein. The nutritive composition of rumen (composition per 100g, cholesterol and fatty acid profile) was evaluated and also its proteic quality through its amino acid composition and *in vivo* true digestibility. Three meat products (sausage, chicken hamburger and “quibe”) were produced with extruded or flour rumen and compared with extruded of soy protein concentrated through sensory analysis. **Results.** After extrusion, emulsifying capacity, protein solubility and surface hydrophobicity of protein were improved, while water holding capacity and emulsion stability were reduced. Moisture had influence on water holding capacity. Extrusion of bovine rumen was fixed at 35% of moisture (dry basis) and 150°C of processing temperature. The evaluation of composition per 100g showed that bovine rumen is a great proteic source. After deffating, cholesterol was reduced and saturated fatty acids were totally removed. Amino acid scores corrected by true protein digestibility were 1 or 100% before and after extrusion. Sensory analysis showed that extruded bovine rumen should be added at sausage instead of flour rumen, but both extruded or flour rumen can be added at chicken hamburger and at “quibe” with equal sensory acceptance. **Conclusion.** Extrusion is a way of bovine rumen utilization, but it is not essential for

its use in food, since it was not necessary in some cases. Nevertheless, extrusion changed functional properties of rumen, favoring its application in some sausage products and improving its sensory acceptance. Nutritive quality of protein, both raw and extruded rumen, was high and it was not affected by extrusion.

Descriptors: Bovine rumen; Thermoplastic extrusion; Functional properties; Protein; Sensorial evaluation.

Índice

<i>Capítulo 1 – Introdução geral</i>	18
<i>1.1 Rúmen Bovino</i>	18
<i>1.2 Extrusão termoplástica</i>	23
<i>1.3 Propriedades funcionais</i>	27
1.3.1 Capacidade de retenção de água	29
1.3.2 Propriedades emulsificantes	29
1.3.3 Solubilidade	31
1.3.4 Hidrofobicidade da superfície protéica	32
1.3.5 Metodologia de Superfície de Resposta	32
<i>1.4 Valor nutritivo da proteína</i>	34
<i>1.5 Aceitação sensorial</i>	34
<i>1.6 Referências bibliográficas</i>	36
 <i>Capítulo 2 – Efeito da extrusão termoplástica sobre as propriedades funcionais do rúmen bovino</i>	 43
<i>2.1 Introdução</i>	43
<i>2.2 Objetivo</i>	44
2.2.1 Objetivo geral	44
2.2.2 Objetivos específicos	44
<i>2.3 Metodologia</i>	45
2.3.1 Matérias-primas	45
2.3.2 Desengorduramento a frio do rúmen bovino	45
2.3.3 Extrusão dos materiais	46
2.3.4 Teste de reidratação	47
2.3.5 Moagem dos extrusados	47
2.3.6 Propriedades funcionais	48
2.3.7 Metodologia de Superfície de Resposta	54
2.3.8 Análises de umidade e proteína	54
<i>2.4 Resultados e discussão</i>	55
2.4.1 Delineamento experimental 1 (E ₁)	55
2.4.2 Caminho de máxima inclinação	60
2.4.3 Delineamento experimental 2 (E ₂)	63
2.4.4 Correlações entre as propriedades funcionais	83

2.4.5 Estabelecimento da melhor condição de extrusão do rúmen bovino	85
2.5 Conclusão	87
2.6 Referências bibliográficas	88
 <i>Capítulo 3 – Valor nutritivo do rúmen bovino</i>	 91
3.1 Introdução	91
3.2 Objetivo	92
3.2.1 Objetivo geral	92
3.2.2 Objetivos específicos	92
3.3 Metodologia	93
3.3.1 Rúmen bovino	93
3.3.2 Desengorduramento a frio do rúmen bovino	93
3.3.3 Análise da composição centesimal do rúmen bovino	93
3.3.4 Análise de colesterol e do perfil de ácidos graxos	94
3.3.5 Extrusão termoplástica	95
3.3.6 Avaliação da qualidade nutricional protéica	95
3.3.7 Aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa	100
3.3.8 Análise estatística	101
3.4 Resultados e discussão	102
3.4.1 Composição centesimal do rúmen bovino	102
3.4.2 Colesterol e perfil de ácidos graxos	103
3.4.3 Análise da qualidade nutricional protéica	105
3.5 Conclusão	110
3.6 Referências bibliográficas	111
 <i>Capítulo 4 – Avaliação sensorial de produtos cárneos contendo rúmen bovino</i>	 113
4.1 Introdução	113
4.2 Objetivo	114
4.2.1 Objetivo geral	114
4.2.2 Objetivos específicos	114
4.3 Metodologia	115
4.3.1 Matérias-primas	115
4.3.2 Desengorduramento a frio do rúmen bovino	115
4.3.3 Extrusão dos materiais	116
4.3.4 Aplicação do rúmen bovino em produtos cárneos	117

4.3.5 Aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa	130
4.4 Resultados e discussão	131
4.4.1 Análise do perfil de textura (TPA)	131
4.4.2 Análise sensorial da lingüiça toscana	131
4.4.3 Análise sensorial do hambúrguer de frango	139
4.4.4 Análise sensorial do quibe	145
4.5 Conclusão	151
4.6 Referências bibliográficas	152
 <i>Capítulo 5 – Viabilização, em termos de custo, na utilização do rúmen bovino como ingrediente alimentar</i>	 154
5.1 Referências Bibliográficas	158
 <i>Capítulo 6 – Conclusão geral</i>	 159
 <i>Anexos</i>	 160
<i>Anexo 1 – Estudo piloto com proteína concentrada de soja para estabelecimento de parâmetros para extrusão do rúmen bovino</i>	161
<i>Anexo 2 – Análise de aminoácidos realizada pela Empresa LabTec (Guabi, Campinas/SP)</i>	171
<i>Anexo 3 – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo</i>	174
<i>Anexo 4 – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública</i>	175
<i>Anexo 5 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido</i>	176

Lista de Tabelas

Tabela 2.1: Matriz do delineamento experimental 1 (E_1) para extrusão do rúmen bovino. _____	56
Tabela 2.2: Distribuição, em porcentagem, de material retido em função da granulometria* após a moagem dos extrusados do delineamento experimental 1 (E_1). _____	57
Tabela 2.3: Teor de proteína e capacidade de retenção de água (WHC) dos extrusados do delineamento experimental 1 (E_1). _____	58
Tabela 2.4: Valores de b_1 e b_2 de todos os modelos resultantes do delineamento experimental 1 (E_1). _____	61
Tabela 2.5: Caminho de máxima inclinação para extrusão do rúmen bovino. _____	62
Tabela 2.6: Teor de proteína e da capacidade de retenção de água (WHC) dos extrusados do caminho de máxima inclinação. _____	63
Tabela 2.7: Matriz do delineamento experimental 2 (E_2) para extrusão do rúmen bovino. _____	65
Tabela 2.8: Distribuição, em porcentagem, de material retido em função da granulometria* após a moagem dos extrusados do delineamento experimental 2 (E_2). _____	67
Tabela 2.9: Teor de proteína e capacidade de retenção de água (WHC) da farinha de rúmen bovino, dos extrusados do delineamento experimental 2 (E_2) e do concentrado protéico de soja (farinha e extrusado). _____	68
Tabela 2.10: Análise de regressão múltipla para o ajuste do modelo de primeira ordem da variável capacidade de retenção de água (mL água/g proteína). _____	70
Tabela 2.11: Análise de variância para o ajuste do modelo de primeira ordem da variável capacidade de retenção de água (mL água/g proteína). _____	70
Tabela 2.12: Capacidade de emulsificação (EC) da farinha de rúmen bovino (RB), dos extrusados do delineamento experimental 2 (E_2) e do concentrado protéico de soja (CPS) (farinha e extrusado). _____	74
Tabela 2.13: Estabilidade da emulsão (ES) da farinha de rúmen bovino (RB), dos extrusados do delineamento experimental 2 (E_2) e do concentrado protéico de soja (CPS) (farinha e extrusado). _____	77

Tabela 2.14: Solubilidade (s) da proteína da farinha de rúmen bovino (RB), dos extrusados do delineamento experimental 2 (E ₂) e do concentrado protéico de soja (CPS) (farinha e extrusado).	79
Tabela 2.15: Hidrofobicidade da superfície protéica da farinha de rúmen bovino (RB), dos extrusados do delineamento experimental 2 (E ₂) e do concentrado protéico de soja (CPS) (farinha e extrusado).	82
Tabela 2.16: Correlações entre as propriedades funcionais referentes ao delineamento experimental 2.	84
 Tabela 3.1: Formulação das rações aprotéica, farinha de rúmen bovino (FRB) e extrusado de rúmen bovino (ERB).	100
Tabela 3.2: Composição centesimal (%) do rúmen bovino.	102
Tabela 3.3: Colesterol (mg/100g de amostra) e perfil de ácidos graxos (%*) do rúmen bovino.	104
Tabela 3.4: Quantidade de aminoácidos (mg/g de proteína) na farinha de rúmen bovino (FRB) e no extrusado de rúmen bovino (ERB).	106
Tabela 3.5: Resultados do ensaio biológico para os grupos com farinha de rúmen bovino (FRB) e com extrusado de rúmen bovino (ERB).	107
 Tabela 4.1: Análise do Perfil de Textura (TPA) dos extrusados de rúmen bovino (ERB) e do concentrado protéico de soja (ECPS).	131
Tabela 4.2: Médias de aceitação para cada atributo das duas amostras de lingüiça toscana.	132
Tabela 4.3: Médias de aceitação para cada atributo das duas amostras de lingüiça toscana.	134
Tabela 4.4: Médias de aceitação para cada atributo das duas amostras de lingüiça toscana.	137
Tabela 4.5: Médias de aceitação para cada atributo das duas amostras de hambúrguer de frango.	139
Tabela 4.6: Médias de aceitação para cada atributo das duas amostras de hambúrguer de frango.	141

Tabela 4.7: Médias de aceitação para cada atributo das duas amostras de hambúrguer de frango.	143
Tabela 4.8: Médias de aceitação para cada atributo das duas amostras de quibe.	145
Tabela 4.9: Médias de aceitação para cada atributo das duas amostras de quibe.	147
Tabela 4.10: Médias de aceitação para cada atributo das duas amostras de quibe.	149

Lista de Figuras

Figura 1.1: O estômago dos ruminantes com suas quatro câmaras. _____	19
Figura 1.2: Desenho esquemático de uma extrusora de rosca única. _____	25
Figura 1.3: Extrusora INBRAMAQ, modelo RXPQ Labor 24. _____	26
Figura 2.1: Aparelhagem utilizada na determinação da capacidade de emulsificação. _____	50
Figura 2.2: Extrusados obtidos no delineamento experimental 2 (E ₂). _____	66
Figura 2.3: Superfície de Resposta descrita pela equação $y = 3,104 + 0,212x_1$. ____	71
Figura 3.1: Gaiola adaptada para coleta de fezes. _____	98
Figura 3.2: Evolução dos pesos médios dos animais dos grupos aprotéico, com farinha de rúmen bovino (FRB) e com extrusado de rúmen bovino (ERB). _____	109
Figura 4.1: Farinhas e extrusados de concentrado protéico de soja (CPS) e de rúmen bovino (RB). _____	118
Figura 4.2: Misturadeira. _____	121
Figura 4.3: Ensacadeira. _____	121
Figura 4.4: Embutimento da lingüiça. _____	121
Figura 4.5: Tripa de colágeno comestível. _____	121
Figura 4.6: Lingüiça em gomos. _____	121
Figura 4.7: Lingüiça embalada. _____	121
Figura 4.8: Lingüiça toscana. _____	122
Figura 4.9: Hamburgueira. _____	123
Figura 4.10: Hambúrguer embalado. _____	123
Figura 4.11: Hambúrguer de frango. _____	124
Figura 4.12: Quibe embalado. _____	125
Figura 4.13: Quibe. _____	126
Figura 4.14: Cabine para análise sensorial. _____	127
Figura 4.15: Ficha do teste triangular para lingüiça toscana. _____	128
Figura 4.16: Ficha do teste de aceitação para lingüiça toscana. _____	129

Figura 4.17: Distribuição dos provadores (%) segundo escala hedônica estruturada de 9 pontos para as duas amostras de lingüiça toscana.	133
Figura 4.18: Distribuição dos provadores (%) segundo escala hedônica estruturada de 9 pontos para as duas amostras de lingüiça toscana.	135
Figura 4.19: Distribuição dos provadores (%) segundo escala hedônica estruturada de 9 pontos para as duas amostras de lingüiça toscana.	138
Figura 4.20: Distribuição dos provadores (%) segundo escala hedônica estruturada de 9 pontos para as duas amostras de hambúrguer de frango.	140
Figura 4.21: Distribuição dos provadores (%) segundo escala hedônica estruturada de 9 pontos para as duas amostras de hambúrguer de frango.	142
Figura 4.22: Distribuição dos provadores (%) segundo escala hedônica estruturada de 9 pontos para as duas amostras de hambúrguer de frango.	144
Figura 4.23: Distribuição dos provadores (%) segundo escala hedônica estruturada de 9 pontos para as duas amostras de quibe.	146
Figura 4.24: Distribuição dos provadores (%) segundo escala hedônica estruturada de 9 pontos para as duas amostras de quibe.	148
Figura 4.25: Distribuição dos provadores (%) segundo escala hedônica estruturada de 9 pontos para as duas amostras de quibe.	150
 Figura 5.1: Fluxograma da produção de proteína do rúmen bovino.	 154
Figura 5.2: Fluxograma de produção da proteína de soja.	157

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO GERAL

Desde o início da raça humana o homem representa um consumidor assíduo de carne. Ao longo do tempo, o crescimento da demanda por carnes tem levado ao surgimento e desenvolvimento de abatedouros cada vez mais eficientes e, dessa forma, o abate de animais tem ocorrido em alta escala. No Brasil, sob inspeção federal, estadual ou municipal, o abate de animais aumenta anualmente. Em 2004, foram 26 milhões de cabeças bovinas abatidas (IBGE, 2005), 28 milhões em 2005 (IBGE, 2006) e cerca de 30,2 milhões em 2006 (IBGE, 2007).

Apesar dessa demanda crescente, nem todas as partes do animal são aproveitadas como alimento humano, havendo, portanto, um desperdício crescente por causa da subutilização ou não utilização de tais materiais.

Os fatores limitantes de consumo dessas carnes, denominadas de refugo ou subprodutos de abatedouro, são a rejeição sensorial, como sabor, aroma e textura (CAMPOS e ARÊAS, 1993), e a rejeição cultural, já que o consumo de certas partes do animal não faz parte do hábito das pessoas. Muitas vezes, apenas de se falar em vísceras, a primeira e única reação das pessoas é a aversão.

O rúmen bovino, apesar de ser consumido como dobradinha ou buchada e possuir elevado potencial nutritivo como qualquer carne, ainda representa um subproduto. Por isso, é interessante desenvolver formas de aproveitá-lo integralmente, sendo que a indústria e a tecnologia de alimentos possuem meios para converter qualquer matéria-prima alimentar, simples ou complexa, em produtos alimentícios contendo a maior parte possível das características nutritivas do produto original e também com maior aceitabilidade sensorial.

1.1 RÚMEN BOVINO

Ruminantes, como bovinos, eqüinos, ovinos, caprinos, são animais cujo estômago possui quatro câmaras ou compartimentos (Figura 1.1): rúmen, retículo, omaso e abomaso.

Figura 1.1: O estômago dos ruminantes com suas quatro câmaras.

As três primeiras câmaras, também chamadas de pré-estômago, têm a função de armazenar o material ingerido e parcialmente digerido, sendo que somente o abomaso, última câmara, tem a função de digestão dos alimentos, função essa equivalente ao estômago simples da maioria dos outros animais (DYCE et al., 2004).

No processo de ruminação, uma proporção do sólido digerido no abomaso é regurgitado e o bolo é misturado com saliva e mastigado pelo animal, sendo que esse processo pode ocupar até oito horas por dia. Durante a ruminação do sólido, a massa parcialmente digerida é misturada com saliva e comprimida. O líquido comprimido é engolido, com parte sendo arrastada do retículo para o rúmen e parte passando para o omaso e então indo para o intestino (CZERKAWSKI, 1986). Por isso, o rúmen funciona como um grande “depósito” no qual os alimentos semi-digeridos ficam armazenados e são fermentados. Alguns produtos simples provenientes da fermentação que ocorre no rúmen são absorvidos diretamente, enquanto outros precisam ser digeridos no abomaso (HOFMANN, 1993; DYCE et al., 2004).

A ruminação aumenta a digestibilidade de alimentos fibrosos e fornece as melhores condições para a população microbiana residente no rúmen, por manter o pH (devido à salivação) e as temperaturas ideais e por uma eficiente remoção dos produtos finais da atividade microbiana (CZERKAWSKI, 1986).

O rúmen, assim como os outros compartimentos, é composto principalmente por músculo liso e tecido conjuntivo de colágeno (SPOONCER, 1988).

A mucosa ruminal é revestida por um epitélio estratificado áspero, que tem a função de proteger o rúmen contra a abrasão da dieta áspera naturalmente ingerida pelos animais e também de absorver ácidos graxos de cadeia curta produzidos durante a fermentação microbiana. Já a metabolização desses ácidos graxos é feita nas camadas mais profundas da mucosa (DYCE et al., 2004). A estrutura da parede ruminal também é capaz de resistir às ações dos microrganismos presentes naturalmente no rúmen (CZERKAWSKI, 1986).

O rúmen contém uma das mais variadas e densas populações microbianas conhecidas na natureza. O ecossistema microbiano é amplamente diversificado, sendo constituído de bactérias, protozoários ciliados, fungos anaeróbicos e bacteriófagos, além de microrganismos não-culturáveis (KAMRA, 2005). Os protozoários podem ingerir pequenas partículas e bactérias presentes no rúmen, contribuindo para uma reciclagem microbiana (CZERKAWSKI, 1986).

Segundo KAMRA (2005), o ecossistema microbiano do rúmen é estável e ao mesmo tempo dinâmico. Estável porque é bem estabelecido e é capaz de transformar o alimento ingerido pelo animal em ácidos graxos voláteis, e dinâmico porque a população microbiana pode ser alterada com a mudança da alimentação animal, numa forma de se adaptar aos novos ingredientes alimentares.

Os principais componentes da dieta de ruminantes são as fibras, principalmente celulose e hemicelulose, estando também presentes carboidratos (amido), proteínas, ácidos nucléicos e lipídeos. Muitos desses nutrientes são metabolizados pelos microrganismos residentes no rúmen e algumas reações são sequenciais, nas quais um produto final do metabolismo de um microrganismo fornece substrato para o metabolismo de outro microrganismo. Entre os principais produtos finais da decomposição das hexoses no rúmen estão os ácidos graxos voláteis (ácidos acético, propiônico e butírico) (CZERKAWSKI, 1986).

Os microrganismos do rúmen degradam alimentos complexos, muitas vezes de baixa qualidade, e os converte em produtos finais obtendo, dessa forma, energia para seu próprio crescimento. Já o animal também utiliza os produtos do metabolismo microbiano como fonte de energia e a própria massa microbiana como fonte de proteína (CZERKAWSKI, 1986).

No rúmen ocorre o processo natural de formação de ácidos graxos trans, através da biohidrogenação. Os ácidos graxos ingeridos por ruminantes são parcialmente hidrogenados por sistemas enzimáticos da flora microbiana ruminal, formando os ácidos graxos trans que serão posteriormente absorvidos. Dessa forma, carne e leite provenientes de ruminantes possuem ácidos graxos trans em pequenas quantidades (MARTIN et al., 2004; RIBEIRO et al., 2007).

Outra particularidade do rúmen diz respeito ao CLA, ácido linoléico conjugado (conjugated linoleic acid), que é um termo que descreve os isômeros geométricos do ácido linoléico. O CLA é formado no rúmen através da isomerização dos ácidos linoléico e linolênico, sendo, portanto, um ácido graxo polinsaturado natural encontrado em leite e derivados, sendo estes as maiores fontes de CLA na alimentação humana. Este ácido graxo tem sido associado à redução de gordura corporal, aumento do metabolismo, ganho de massa muscular (JENSEN et al., 1991; LIN et al., 1999; WOOD et al., 2003).

O rúmen e o retículo são as partes mais comumente utilizadas do estômago de ruminantes, sendo geralmente processados no ponto de coleta (abatedouro) através de lavagem e escaldamento, e também branqueamento, resultando num produto estável e de fácil conservação. Em alguns países, podem ser utilizados no preparo de sopas, refogados, costurados para revestir ou serem recheados, e aproveitados na produção de carnes e embutidos (SPOONCER, 1988; TUNCEL, 1993). Além disso, seu uso em concentrações moderadas geralmente não afeta a qualidade sensorial de produtos embutidos (GORBATOV et al., 1984).

No Brasil, o rúmen, como alimento humano, é utilizado no preparo do prato conhecido como dobradinha ou buchada. Sabe-se que parte do rúmen obtido no abate dos animais é voltado ao mercado interno, parte voltada ao mercado externo e aqueles abatedouros que possuem tecnologia mais especializada são capazes de transformar o rúmen em ração para os próprios animais. Na Índia, foi realizado um trabalho com “snacks” de rúmen de búfalo com porcentagens diferentes de milho, resultando em boa aceitação sensorial (ANANDH et al., 2005).

Outras formas de aproveitamento do rúmen têm sido desenvolvidas. Foi feito um pedido de patente para utilização do rúmen bovino como adubo em substituição aos compostos orgânicos atualmente utilizados (INSTITUTO NACIONAL DA

PROPRIEDADE INDUSTRIAL, 2006). Além disso, micro e pequenas empresas da Paraíba têm produzido bolsas, sapatos e acessórios com bucho de boi e outras matérias-primas (TEMA DE CAPA, s/data). No sul de Minas Gerais também têm sido produzidas botas com couro obtido a partir do rúmen.

O rúmen tem sido utilizado de algumas formas, mas quanto à alimentação humana, sua aplicação ainda é limitada. Levando-se em consideração que o rúmen representa em torno de 0,6% do peso vivo do bovino, ou seja, cerca de 2,7kg por animal (OCKERMAN e HANSEN, 1994), e que o número de bovinos abatidos em 2006 foi de, aproximadamente, 30,2 milhões de cabeças (IBGE, 2007a), chega-se ao montante de 81,5 milhões de kilogramas de rúmen produzido. É importante, portanto, que outras formas de utilização do rúmen bovino, principalmente no tocante à alimentação humana, sejam desenvolvidas.

A proteína do rúmen apresenta digestibilidade de 97%, NPU (net protein utilization ou utilização protéica líquida - UPL) de 65% e valor biológico de 67% (para o ovo, os valores são, respectivamente, 95, 90 e 95%) (SWINGLER et al., 1978; LAWRIE e LEDWARD 1988). Após moído e liofilizado, o teor protéico desta matéria-prima chega a 85% em base seca (CONTI e AREÂS, 2001). Além disso, no trabalho de SWINGLER et al. (1978), a proteína do rúmen possuía quantidades superiores de todos os aminoácidos essenciais recomendados pela FAO/WHO (1991) para pré-escolares, não possuindo, portanto, nenhum aminoácido limitante.

De acordo com ABDEL-AZIZ et al. (1997), o rúmen bovino cru apresentou digestibilidade real de 90%, valor biológico real de 84% e NPU de 76%. Neste trabalho, os autores compararam os valores do rúmen com os da carne magra de vaca (91, 83 e 75% respectivamente) e com um concentrado protéico de soja comercial (84, 74 e 63%, respectivamente), chegando à conclusão de que o valor nutricional da proteína de rúmen era semelhante ao da carne de vaca, e superava, como esperado, o da soja. Essa comparação foi importante para mostrar que proteínas com melhor valor nutricional podem ser utilizadas como substitutas da soja em produtos industrializados. E ainda foi mostrado que o custo da proteína de soja superou em 150% o preço do rúmen bovino cru (ABDEL-AZIZ et al., 1997).

O alto custo na utilização de proteínas de origem vegetal ou de origem bacteriana na formulação de alimentos possibilita a reavaliação de viabilidade de

substituição dessas fontes protéicas por proteínas residuais de abates, já que grande parte dessas proteínas animais possui alto valor nutricional e baixo custo (LAWRIE, 1998).

Além dos fatores nutricionais e econômicos, LAWRIE (1998) relata que, apesar da menor capacidade dos animais em “produzir” proteína em relação aos vegetais, uma grande proporção da superfície terrestre é exclusivamente apta para pastagens e não para agricultura, mencionando também que os ruminantes são capazes de transformar porções das plantas não utilizadas pelo organismo humano, como a celulose, em proteínas de alta qualidade para o consumo humano. Ou seja, várias são as vantagens de utilização de proteínas de origem animal na formulação de alimentos.

Como visto, pouquíssimos trabalhos têm sido realizados com o rúmen bovino, havendo a necessidade de mais estudos na tentativa de viabilização dessa víscera como matéria-prima para a alimentação humana. Por isso, a forma testada de aproveitamento do rúmen bovino foi a extrusão termoplástica, um processo utilizado na indústria de alimentos para produção de uma ampla variedade de alimentos prontos para o consumo e ingredientes alimentares.

1.2 EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA

A extrusão termoplástica constitui um processo HTST (High Temperature - Short Time), na qual a matéria-prima previamente hidratada (30 - 40% para materiais protéicos e 10 - 15% para os amiláceos) é introduzida em um funil de alimentação e conduzida em uma única direção e sentido ao longo do canhão. Durante esse caminho, temperatura (120 - 200°C) e força de cisalhamento elevadas são impostas ao material, promovendo a desnaturação da proteína e a gelatinização do amido. Após a desnaturação, as proteínas se orientam e se alinham imediatamente antes e durante a saída do equipamento. No momento da saída dessa massa da extrusora, a repentina queda da pressão interna (3-5MPa ou 40-60atm) para pressão atmosférica causa a evaporação da água superaquecida, formando vacúolos e expandindo o material. O vapor atua como um agente de crescimento, esticando o material ainda “plástico” e levando a sua expansão longitudinal e radial e a um endurecimento do mesmo em segundos à temperatura ambiente. Nesta fase final, há a produção de uma

rede tridimensional contínua do material polimérico, a qual confere ao produto a textura desejada (CAMIRE, 1991; ARÊAS, 1992; MACRAE et al., 1993; ARÊAS, 1996; SINGH et al., 2007).

Tal processo é utilizado na produção de cereais matinais, “snacks”, proteínas vegetais texturizadas, ração animal, massas, caramelos mastigáveis, chicletes, gelatinas, “puxa-puxa”, balas duras, chocolate, “croutons” para sopas e saladas, entre outros alimentos. Além disso, também é utilizada na indústria de confeitaria (ARÊAS, 1996; CAMIRE e BELBEZ, 1996; REIFSTECK e JEON, 2000; SINGH et al., 2007).

Uma extrusora é constituída de várias peças que podem ser montadas e trocadas a fim de se definir uma melhor configuração para a extrusão de uma matéria-prima específica. No caso da extrusora de rosca única INBRAMAQ (Indústria de Máquinas Ltda, Ribeirão Preto – SP), modelo RXPQ Labor 24, com capacidade de produção semi-industrial, pode-se trabalhar com as seguintes peças:

- três ou cinco zonas de aquecimento (canhões), sendo todas controladas através de um painel de controle. Cada zona de temperatura possui uma resistência elétrica responsável pelo seu aquecimento, sendo que o resfriamento das mesmas é feito por água;

- camisas, que encaixadas dentro dos canhões, podem ser de três tipos dependendo do material a ser extrusado: lisa, estriada ou helicoidal. O poder de cisalhamento que a rosca exerce sobre a camisa, e, conseqüentemente sobre o material, aumenta da lisa para a helicoidal. Quando a extrusora é configurada para três zonas de aquecimento, duas camisas eram utilizadas, e quando configurada para cinco zonas, três camisas;

- rosca, encaixada dentro das camisas e através da qual o material é conduzido do funil de alimentação até a saída do equipamento. As roscas também se diferenciam quanto a distância de seus segmentos, taxa de compressão e quantidade de saídas;

- sub-trafila e trafilas, através das quais o material sai da máquina. O material passa pela sub-trafila, que tem a função de diminuir o movimento circular do material extrusado, fazendo com que esse entre como um fluxo laminar na trafilas, e através desta o material sai da extrusora, expandindo-se devido à queda da pressão

interna para pressão atmosférica. A sub-trafila possui vários orifícios cujos diâmetros são específicos para cada peça, e a trafilagem pode ter um ou dois orifícios.

As extrusoras, no geral, também podem ser de rosca única, quando ela trabalha com apenas uma, ou de rosca dupla, quando trabalha com duas. A quantidade de roscas com que uma extrusora trabalha é determinante sobre a composição química da matéria-prima a ser extrusada. Por exemplo, extrusoras de rosca única apresentam limites com materiais com mais de 4% de lípides, 10% de açúcar e 30% de umidade (REIFSTECK e JEON, 2000).

A Figura 1.2 esquematiza uma extrusora de rosca única e a Figura 1.3 a extrusora Extrusora INBRAMAQ, modelo RXPQ Labor 24.

Figura 1.2: Desenho esquemático de uma extrusora de rosca única.

Figura 1.3: Extrusora INBRAMAQ, modelo RXPQ Labor 24.

A extrusão, apesar de bastante utilizada, não representa um processo simples. A temperatura geralmente é aumentada ao longo do canhão, da alimentação à saída. As dimensões e geometria do canhão, a taxa de compressão da rosca e os elementos da rosca, como seus segmentos, são variáveis que afetam o cisalhamento e a pressão dentro da extrusora. Além disso, a velocidade de rotação da rosca afeta o grau de cisalhamento e o tempo de residência dentro da extrusora, e a umidade do material e sua composição química também exercem influência no produto final (CAMIRE, 1991).

Entre algumas vantagens de tal processo estão: *alta produtividade*, pois é um processo contínuo com alta capacidade de produção; *versatilidade*, já que uma grande variedade de ingredientes crus e seleção adequada de condições de processamento permitem obter uma grande variedade de produtos com o mesmo tipo de equipamento; *alta qualidade dos produtos*, pois com o emprego de alta temperatura por um tempo curto, ocorre pequena degradação de nutrientes, inibição de fatores antinutricionais e destruição de enzimas indesejáveis; *proteção ambiental*, porque este processo não produz nenhum resíduo e não gera problemas de poluição do meio ambiente; e *baixo custo* (HARPER, 1981).

A extrusão termoplástica é capaz de reduzir a quantidade ou atividade de alguns fatores antinutricionais, como inibidores de tripsina. Ainda há algumas dúvidas quanto a outros compostos, pois não se sabe se eles são destruídos durante a extrusão ou se se ligam a outras moléculas, dificultando sua extração durante a análise (CAMIRE et al., 1990; CAMIRE, 1991; SINGH et al., 2007).

Uma das formas de recuperação de subprodutos é a extrusão termoplástica. Citando a soja como exemplo, o único produto inicialmente obtido através dela era seu óleo, e todo o restante do grão era considerado refugo. A partir da metade do século XX, pesquisas foram feitas na tentativa de utilização desse subproduto, sendo que uma dessas formas foi a extrusão, resultando, entre outros produtos, na carne de soja e proteína texturizada de soja.

Da mesma forma que para a soja, a extrusão termoplástica pode constituir um processo de recuperação de refugos de abatedouro, como o rúmen bovino. A texturização do rúmen bovino através da extrusão já foi demonstrada como sendo viável por MITTAL e LAWRIE (1984, 1986), sendo apenas necessário o seu desengorduramento, já que em extrusoras de rosca única a gordura não permite o cisalhamento do material por ocorrência de deslizamento.

Extrusando-se o rúmen isoladamente após seu desengorduramento, o teor protéico dos extrusados supera os 90% em base seca (CONTI e ARÊAS, 2001), constituindo uma nova proteína que pode ser usada na substituição de proteínas tradicionais, como a proteína de soja em produtos cárneos.

A indústria utiliza amplamente proteínas diversas na formulação de alimentos, sendo algumas as razões dessa utilização: propriedades funcionais e valor nutritivo da proteína, além de um menor custo desta em relação às proteínas dos próprios ingredientes alimentares, como a proteína da carne na produção de um hambúrguer, por exemplo.

Por isso, quando uma nova proteína é desenvolvida ou obtida, no caso a proteína do rúmen bovino, ela deve manter ou possuir maior qualidade e aceitabilidade no produto no qual será utilizada, ou seja, deve possuir determinadas características essenciais para sua aplicação como ingrediente alimentar, principalmente no que se diz respeito às suas propriedades funcionais, ao seu valor nutritivo e à sua aceitação sensorial.

1.3 PROPRIEDADES FUNCIONAIS

O termo “propriedade funcional” é definido como toda propriedade, que não seja nutricional, responsável pela aceitação e utilização de um alimento ou ingrediente alimentar (POMERANZ, 1991; SGARBIERI, 1996). Mais

especificamente, de acordo com KINSELLA (1976), qualquer propriedade físico-química que afeta o comportamento de proteínas e outras biomoléculas num alimento pode ser considerada uma propriedade funcional.

A maior parte das propriedades funcionais está relacionada com aspectos sensoriais dos alimentos (principalmente com a textura), além de influenciar o comportamento físico dos mesmos ou de ingredientes alimentares durante sua preparação, transformação, armazenamento ou consumo (KINSELLA, 1979; CHEFTEL et al., 1989; POMERANZ, 1991; SGARBIERI, 1996).

Alguns fatores são capazes de influenciar as propriedades funcionais, como o tipo de proteína (composição, seqüência de aminoácidos, conformação e estrutura), concentração protéica, métodos de isolamento e obtenção da proteína (precipitação, secagem/desidratação), tipo de extração empregada, condições ambientais como temperatura, pH e força iônica, interações com outros componentes do alimento (água, íons, lipídeos, carboidratos) e também secagem e estocagem da proteína isolada (DAMODARAN 1996; HALL 1996; HERMANSSON 1986).

Elas refletem a completa interação entre composição de aminoácidos, estrutura, conformação e propriedades físico-químicas das proteínas, além da interação destas com outros componentes do alimento, como lipídeos, carboidratos, sais, etc. (KINSELLA, 1976; FARFÁN, 1994; DAMODARAN, 1996). Por isso, não apenas as proteínas dependem as propriedades funcionais, mas também dos demais componentes presentes no alimento.

Proteínas são adicionadas aos alimentos tanto pela sua importância nutricional como também pela funcionalidade que elas exercem nos alimentos, ou seja, emulsificação, retenção de água ou gordura, formação de espumas ou géis, e ainda alteração de aroma, aparência e textura. O tipo de proteína, animal ou vegetal, e sua estrutura irão determinar suas propriedades funcionais (GIESE, 1994).

Dependendo do tipo de alimento ao qual a proteína é adicionada, determinadas propriedades funcionais são desejadas. Como exemplo, em produtos cárneos processados, deseja-se que a proteína tenha como funções emulsificar e reter gordura, reter água, realçar o sabor e reter o “suco” da carne, além de também atuar como substituta da carne em embutidos (GIESE, 1994). Pensando-se em uma

proteína de origem animal, ela pode ser utilizada em alimentos que tenham sabor de carne, como embutidos, assim como em molhos e sopas desidratadas.

1.3.1 CAPACIDADE DE RETENÇÃO DE ÁGUA

Na literatura, vários termos são utilizados para expressar quanto de água uma proteína é capaz de “puxar” e reter durante a formulação de um alimento: capacidade de retenção de água, capacidade de absorção de água, capacidade de ligar água (QUINN e PATON, 1979).

A capacidade de retenção de água (water holding capacity - WHC) representa a quantidade de água ligada por grama de proteína ou material seco (HERMANSSON, 1986). Também está relacionada com a quantidade de água que permanece na proteína após exposição a um excesso de água e aplicação de uma força de centrifugação ou pressão (SGARBIERI, 1996).

Esta propriedade funcional depende do número de cargas e grupos polares ao longo da cadeia protéica, pois como estes ficam voltados para a superfície aquosa, maior a solubilidade da proteína e sua capacidade de reter água (KINSELLA, 1976; VACLAVIK, 1998).

Proteínas que tenham muitos grupos polares, carregados ou não, são capazes de reter muita água, ao contrário daquelas com muitos grupos hidrofóbicos cuja capacidade de retenção de água é baixa. À medida que a proteína se aproxima de seu ponto isoelétrico, retém menos água porque reduz a quantidade de carga, que é a responsável pela ligação da mesma com a água (VACLAVIK, 1998).

A capacidade de uma proteína em reter água sem se dissolver é muito importante em alimentos como produtos cárneos e massas (PATEL e FRY, 1987). A textura, suculência e maciez dos produtos cárneos são diretamente influenciadas pela solubilidade e capacidade de retenção de água (SGARBIERI, 1996).

1.3.2 PROPRIEDADES EMULSIFICANTES

Uma emulsão é definida como uma dispersão ou suspensão de dois líquidos imiscíveis, sendo que um se apresenta na forma de gotículas dispersas (fase dispersa ou interna) e o outro na forma de uma fase contínua (fase externa) (DAMODARAN,

1996). A emulsão pode ser do tipo água em óleo, na qual o óleo é a fase contínua, como em margarinas e manteigas, ou do tipo óleo em água, sendo esta a fase contínua, como no creme de leite, maionese e molhos (HILL, 1996).

Emulsões são termodinamicamente instáveis por causa da alta tensão existente na interface entre o óleo e a água (KINSELLA, 1979; DAMODARAN, 1996). Para sua estabilização, é necessária a presença de um agente emulsificante responsável pela diminuição da tensão superficial existente entre as duas fases e que forme uma emulsão com nível menor de energia. Para tal, esse agente emulsificante deve possuir estrutura anfipática, ou seja, deve ter numa mesma molécula partes hidrofílicas e hidrofóbicas, permitindo, assim, a formação de uma camada entre as duas fases. Por isso, emulsificantes mais polares são mais utilizados em emulsões do tipo óleo em água, e os menos polares em água em óleo (DAMODARAN, 1996; SGARBIERI, 1996; HILL, 1998; McCLEMENTS, 1998).

As proteínas são as macromoléculas mais utilizadas como agentes emulsificantes, apesar de os carboidratos serem mais usados na melhoria da estabilização da emulsão (HILL, 1998). Elas agem como uma interface entre o óleo e a água para formar e solubilizar a emulsão, sendo mais eficientes em emulsões de óleo em água do que de água em óleo, pelo fato de a maioria das proteínas ser de natureza hidrofílica (GIESE, 1994; SGARBIERI, 1996).

O processo de emulsificação, pela proteína, ocorre em dois estágios:

⇒ formação da emulsão: nesta fase a proteína emulsificante facilita a separação do óleo em pequenos glóbulos homogeneamente distribuídos por toda a fase contínua aquosa;

⇒ estabilização da emulsão: a proteína reduz a velocidade de desestruturação da emulsão pois diminui a tensão interfacial entre água e óleo (KINSELLA, 1979; PATEL e FRY, 1987).

A capacidade protéica de se ligar à gordura é importante na produção de alimentos cárneos, pois melhora a fixação do aroma e a sensação gustativa (POMERANZ, 1991). Também é importante na produção de molhos para salada e salsichas (GIESE, 1994).

As propriedades emulsificantes de uma proteína são usualmente determinadas como: índice de atividade emulsificante (emulsifying activity index – EAI), índice de

estabilidade da emulsão (emulsion stability index – ESI), capacidade de emulsificação (emulsifying capacity – EC) e estabilidade da emulsão (emulsion stability - ES) (DAMODARAN, 1996).

Capacidade de emulsificação é a capacidade que uma proteína ou alimento protéico possui de formar uma mistura homogênea e estável com óleo ou gordura líquida (SGARBIERI, 1996). Esta capacidade é avaliada quanto ao volume de óleo emulsificado por uma dada quantidade de amostra até que o ponto de inversão de fase seja atingido, ou seja, até o ponto no qual uma emulsão de óleo em água inverta para emulsão de água em óleo. Este ponto representa a quantidade máxima de óleo/gordura que pode ser retida pela amostra sem que haja coalescência da emulsão e diminuição de sua viscosidade (CANTE, 1979).

Termodinamicamente, todas as emulsões são instáveis e quebram em diferentes extensões com o tempo, sendo que esse tempo pode ser de segundos até anos (CANTE, 1979). A estabilidade da emulsão (ES) pode ser aumentada pela adição de moléculas anfifílicas que se adsorvem na interface óleo-água e reduzem a tensão interfacial. A proteína, além de poder atuar dessa forma, pois é anfifílica, também forma um filme coesivo na interface, dando estabilidade mecânica à emulsão (DAMODARAN, 1996).

1.3.3 SOLUBILIDADE

A solubilidade, apesar de ser uma propriedade físico-química das proteínas, é também classificada como uma propriedade funcional pela sua influência sobre a funcionalidade das proteínas nos alimentos (SGARBIERI, 1996).

A conformação de uma proteína em solução depende, fundamentalmente, de suas interações com a água, ou seja, a solubilidade de uma proteína é influenciada pela maior ou menor afinidade desta pela água (CHEFTEL et al., 1989; SGARBIERI, 1996).

Durante o processo de extrusão, as proteínas são desnaturadas pela ação conjunta entre temperatura alta e compressão da rosca (CAMIRE, 1990). Essa desnaturação causa, significativamente, um desbalanceamento hidrofóbico/hidrofílico na superfície da molécula, levando a mudanças conformacionais que alteram sua solubilidade (DAMODARAN, 1996). Portanto, a

solubilidade funciona como um índice prático para avaliação da extensão de desnaturação protéica durante algum processamento (KINSELLA, 1976; CAMIRE et al., 1990).

Vários termos são utilizados para expressar a solubilidade de proteínas, como proteína solúvel em água (water-soluble protein – WSP), proteína dispersível em água (water-dispersible protein – WDP), índice de dispersibilidade da proteína (protein dispersibility index – PDI), índice de solubilidade de nitrogênio (nitrogen solubility index – NSI), solubilidade (solubility – s), entre outros (KINSELLA, 1976).

1.3.4 HIDROFOBICIDADE DA SUPERFÍCIE PROTÉICA

Embora muitos resíduos hidrofóbicos estejam localizados no interior das proteínas, alguns grupos hidrofóbicos podem estar expostos na superfície ou em “fendas” moleculares, especialmente em ligações de proteínas com ácidos graxos e em proteínas de membrana (KATO e NAKAI, 1980).

A hidrofobicidade da superfície protéica (S_o) representa o quanto a superfície de uma proteína é hidrofóbica, ou seja, o quanto seus resíduos hidrofóbicos estão expostos na superfície. Por conta disso, pode relacionar-se com outras propriedades funcionais, como a capacidade de emulsificação e solubilidade protéica.

1.3.5 METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

Uma nova proteína tem que possuir, entre outras características, propriedades funcionais adequadas para sua utilização em alimentos. A partir do momento em que essa proteína passa pelo processo de extrusão, toda a sua estrutura molecular é alterada, podendo influenciar essas propriedades. Por isso, aplica-se em extrusão uma metodologia através da qual é possível verificar os efeitos das variáveis independentes da extrusão em variáveis dependentes, como as propriedades funcionais.

Introduzida por Box na década de 50, a Metodologia de Superfície de Resposta (RSM – Response Surface Methodology) é um método de otimização que consiste em uma combinação de técnicas estatísticas, permitindo a construção de modelos

empíricos para a verificação do efeito de um conjunto de variáveis independentes numa ou mais variáveis dependentes (resposta). Pode ser aplicada para determinar condições ótimas de um sistema tornando-se uma ferramenta de grande valia, em tecnologia de alimentos, na obtenção de características desejáveis em um produto (BOX e DRAPER, 1987).

A RSM consta de duas etapas distintas: modelagem e deslocamento.

“A modelagem normalmente é feita ajustando-se modelos simples (em geral, lineares ou quadráticos) a respostas obtidas com planejamentos fatoriais ou com planejamentos fatoriais ampliados. O deslocamento se dá sempre ao longo do caminho de máxima inclinação de um determinado modelo, que é a trajetória na qual a resposta varia de forma mais pronunciada” (BARROS-NETO et al., 2003, p. 251).

Os delineamentos experimentais que correspondem à etapa de modelagem são delineamentos incompletos, já que a função da RSM é minimizar o número de ensaios necessários. No caso de haver, por exemplo, duas variáveis independentes e cinco níveis para cada fator, ou seja, cinco valores para cada variável, pode-se utilizar um delineamento composto central rotacional, que se divide em:

- quatro pontos $(-1, -1)$, $(1, -1)$, $(-1, 1)$, $(1, 1)$, que constituem um fatorial 2^2 ;
- quatro pontos axiais $(\sqrt{2}, 0)$, $(-\sqrt{2}, 0)$, $(0, \sqrt{2})$, $(0, -\sqrt{2})$, que são os pontos adicionais incluídos para formar um delineamento composto central rotacional;
- três pontos $(0, 0)$, que são acrescentados para aumentar a precisão em torno do ponto ótimo (BARROS-NETO et al., 2003).

Todos os ensaios acima são realizados e os resultados obtidos são submetidos à análise de regressão múltipla, para verificação da significância dos coeficientes de cada variável, e à análise de variância, para verificação da significância da regressão. Os coeficientes significativamente estatísticos são inseridos em uma equação, obtendo-se, dessa forma, a superfície de resposta relativa ao delineamento realizado (BARROS-NETO et al., 2003).

Em extrusão termoplástica são consideradas como variáveis independentes todas aquelas que podem ser manipuladas durante o processamento, tais como: umidade do material, temperatura de processamento, velocidade de rotação da rosca, tipo de camisa, tipo de rosca, diâmetro do orifício de saída. As variáveis dependentes são as verificadas no produto e que podem ser mensuradas, sendo as mais comuns

em produtos extrusados: razão de expansão, força de cisalhamento total, elasticidade, coesividade, dureza, propriedades funcionais, aceitabilidade sensorial, etc.

Nem sempre, através da RSM, é conseguido otimizar um processo, mas conseguindo-se investigar o efeito de suas variáveis independentes sobre as variáveis dependentes, pode-se dizer que a RSM representou uma ferramenta de grande valia.

1.4 VALOR NUTRITIVO DA PROTEÍNA

O conhecimento da composição de aminoácidos, da capacidade de fornecimento dos aminoácidos essenciais e da digestibilidade real são critérios fundamentais relacionados à qualidade protéica para seu uso na alimentação humana (FAO/WHO, 1991).

Aminoácidos essenciais são aqueles que devem estar presentes na dieta, pois não são produzidos em quantidade suficiente pelo organismo, e digestibilidade é a porcentagem de proteína ingerida que é digerida e absorvida pelo organismo (MARCHINI et al., 1993; SGARBIERI 1996).

A FAO/WHO (1991) recomenda que seja calculada a razão entre a quantidade de cada aminoácido presente na proteína testada e seu valor recomendado para crianças pré-escolares, padrão este usado porque ultrapassa os valores de necessidades de aminoácidos de crianças maiores e adultos. Isso constitui um procedimento de mensuração qualitativa da proteína, pois leva em consideração, diretamente, as necessidades de aminoácidos do ser humano. Desse cálculo é obtido o escore de aminoácidos, que deve ser corrigido pela digestibilidade real da proteína para se conhecer a real quantidade de cada aminoácido que será aproveitada pelo organismo.

Por isso, o escore de aminoácidos corrigido pela digestibilidade real da proteína constitui uma informação suficiente sobre a qualidade nutritiva de uma proteína.

1.5 ACEITAÇÃO SENSORIAL

As características sensoriais de um alimento são extremamente importantes na sua aceitação. Proteínas afetam as propriedades sensoriais de um alimento, como cor

(via reação de Maillard), aroma (via reações de Maillard e de eliminação de enxofre, proteólise) e textura (formação de espumas, emulsões, géis) (KINSELLA, 1976).

A adição de uma nova proteína a um alimento deve ser avaliada, pois não apenas atributos positivos uma proteína pode apresentar, mas também características indesejáveis, como alguns aromas e consequentemente sabores, podem influenciar na aceitação desse alimento. Durante o desenvolvimento de um novo produto ou de um ingrediente alimentar, não apenas suas características nutritivas e tecnológicas são importantes, mas sua aceitação sensorial é fundamental, pois de nada adianta esse produto apresentar as melhores características físico-químicas e nutritivas se não for bem aceito sensorialmente.

A farinha de rúmen bovino não apresenta praticamente nenhum aroma, o que é esperado já que carnes cruas são praticamente inodoras, sendo que o aroma desejável de carne resulta de processos químicos que ocorrem durante o processo de cocção (RAMARATHNAM et al., 1991). Já o extrusado de rúmen apresenta moderados aroma e sabor de víscera.

Quando uma nova proteína é desenvolvida como substituta de proteínas tradicionais, é desejado que o alimento ao qual ela será adicionada não seja sensorialmente diferente daquele que contém a proteína tradicional. Para isso, pode-se aplicar um teste triangular, pois através dele é possível determinar se as diferenças entre os produtos são resultados da mudança de ingredientes, processo, embalagem ou armazenamento (MEILGAARD et al., 1991).

Um outro teste que é amplamente realizado em análise sensorial é o teste de aceitação. Avalia-se, através dele, o quanto um produto é aceito ou não por uma amostra de provadores, sendo possível comparar diferentes produtos quanto a sua aceitação sensorial.

1.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdel-Aziz S, Hussein L, Esmail S, El-Awadi N. *In vivo* rat assay for true protein digestibility and protein quality of beef and meat products extended with soy protein. *Int J Food Sci Nut.* 1997;48:51-6.

Anandh MA, Lakshmanan V, Mendiratta SK, Anjaneyulu ASR, Bisht GS. Development and quality characteristics of extruded tripe snack food from buffalo rumen meat and corn flour. *J Food Sci Technol-Mysore.* 2005;42:263-7.

Arêas JAG. Extrusion of food proteins. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 1992;32:365-92.

Arêas JAG. Interações moleculares do amido durante o processo de extrusão. *Bol SBCTA.* 1996;30:28-30.

Barros-Neto B, Scarminio IS, Bruns RE. Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria. 2ª ed. Campinas: Ed. da UNICAMP; 2003.

Box GEP, Draper NR. Empirical model-building and response surfaces. New York: John Wiley & Sons; 1987.

Camire ME. Protein functionality modification by extrusion cooking. *J Am Oil Chemists' Soc.* 1991;68:200-5.

Camire ME, Belbez EO. Flavor formation during extrusion cooking. *Cereal Foods World.* 1996;41:734-6.

Camire ME, Camire A, Krumhar K. Chemical and nutritional changes in foods during extrusion. *Food Sci Nutr.* 1990;29:35-56.

Campos MA, Arêas JAG. Protein nutritional value of extrusion-cooking defatted lung flour. *Food Chem.* 1993;47:61-6.

Cante CJ, Franzen RW, Saleeb FZ. Protein as emulsifiers: methods for assessing the role. *J Am Oil Chemists' Soc.* 1979;56:71A-7A.

Cheftel JC, Cuq JL, Lorient D. *Proteínas alimentarias*. Zaragoza: Editorial Acribia, S.A.; 1989.

Conti AC, Arêas JAG. Aproveitamento do rúmen bovino na alimentação humana através de sua extrusão termoplástica. *Nutrire.* 2001;22:21-31.

Czerkawski JW. *An introduction to rumen studies*. Oxford: Pergamon Press; 1986.

Damodaran S. Functional properties. In: Nakai S, Modler HW. *Food proteins: properties and characterization*. New York: Wiley - VCH; 1996. p. 167-234.

Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. *Tratado de anatomia veterinária*. Rio de Janeiro: Elsevier; 2004.

[FAO/WHO] Food and Agriculture Organization/World Health Organization. Protein quality evaluation. Report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation. Roma; 1991. (Paper 51).

Farfán JA. *Química de proteínas aplicada à ciência e tecnologia dos alimentos*. 2ª edição. Campinas: Editora da UNICAMP; 1994.

Giese J. Proteins as ingredients: types, functions, applications. *Food Technol.* 1994; October:50-60.

Gorbatov VM, Salavatulina RM, Ovchinnikova LP, Riga TM. Use of sub-products in sausage manufacture. *Myasnaya Industriya SSSR.* 1984;nº5:21-3.

Harper JM. Extrusion of foods. Boca Raton: CRC Press; 1981.

Hall GM. Basic concepts. In: Hall GM. Methods of testing protein functionality. London: Blackie Academic & Professional; 1996. p. 1-10.

Hermansson AM. Water- and fatholding. In: Mitchell JR, Ledward DA. Functional properties of food macromolecules. London: Elsevier Applied Science Publishers; 1986. p. 273-314.

Hill SE. Emulsions. In: Hall GM. Methods of testing protein functionality. London: Blackie Academic & Professional; 1996. p. 153-85.

Hill SE. Emulsions and foams. In: Hill SE, Ledward DA, Mitchell JR. Functional properties of food macromolecules. Second edition. Gaithersburg: Aspen Publishers, Inc.; 1998. p. 302-34.

Hofmann RR. Anatomia del conducto gastro-intestinal. In: Church DC editor. El rumiante: fisiología digestiva y nutrición. Zaragoza: Editorial ACRIBIA, S.A.; 1993. p. 15-46.

[IBGE] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Animais abatidos e peso total das carcaças, segundo os meses - Brasil [homepage na internet]. Brasília; 2005 [acesso em 20 ago 2007]. Disponível em <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate04t200401.shtm>.

[IBGE] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Animais abatidos e peso total das carcaças, segundo os meses - Brasil [homepage na internet]. Brasília; 2006 [acesso em 20 ago 2007]. Disponível em <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate04t200501.shtm>.

[IBGE] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Animais abatidos e peso total das carcaças, segundo os meses - Brasil [homepage na internet]. Brasília; 2007 [acesso em 20 ago 2007]. Disponível em http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate_leite_couro_ovos_200604_1.shtm.

Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Patentes, desenhos industriais, contratos, programas de computador, indicações geográficas. Utilização de rúmen do aparelho digestivo de ruminantes no processo do hidrosemeadura [homepage na internet]. Brasília; 2006 [acesso em 31 out 2007]. Disponível em http://revista.inpi.gov.br/INPI_UPLOAD/Revistas/PATENTES1827.pdf.

Jensen RG, Ferris AM, Lammi-Keefe CJ. The composition of milk fat. *J Dairy Sci.* 1991;74:3228-43.

Kamra DN. Rumen microbial ecosystem. *Current Sci.* 2005;89:124-35.

Kato A, Nakai S. Hydrophobicity determined by a fluorescence probe method and its correlation with surface properties of proteins. *Biochim Biophys Acta.* 1980;624:13-20.

Kinsella JE. Functional properties of proteins in food: a survey. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 1976;7:219-80.

Kinsella JE. Functional properties of soy proteins. *J Am Oil Chemists' Soc.* 1979;56:242-58.

Lawrie RA. *Ciencia de la carne*. 3ª ed. Zaragoza: Editorial Acribia; 1998.

Lawrie RA, Ledward DA. Edible protein recovery and upgrading of meat packinghouse waste. In: Pearson AM, Dutson TR. *Edible meat by-products: advances in meat research*. v.5. London: Elsevier Applied Science; 1988. p. 231-60.

Lin TY, Lin CW, Lee CH. Conjugated linoleic acid concentration as affected by lactic cultures and added linoleic acid. Food Chem. 1999;67:1-5.

Macrae R, Robinson RK, Sadler MJ, editores. Encyclopedia of food science, food technology and nutrition. v.3. London: Academic Press; 1993. p. 1700-9.

Marchini SJ, Fausto MA, Rodrigues MMP, Dutra-de-Oliveira JE, Vanucchi H. Necessidades e recomendações de proteínas: revisão, avaliação e sugestões. Cad Nutr. 1993;6:1-21.

Martin CA, Matshushita M, Souza NE. Ácidos graxos *trans*: implicações nutricionais e fontes na dieta. Rev Nutr. 2004;17:361-8.

McClements DJ. Analysis of food emulsions. In: Nielsen SS. Food analysis. Second edition. Gaithersburg: Aspen Publishers, Inc. 1998. p. 571-85.

Meilgaard M, Civille GV, Carr BT. Sensory evaluation techniques. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, Inc.; 1991.

Mittal P, Lawrie RA. Extrusion studies of mixtures containig certain meat offals: Part 1 - Objective properties. Meat Sci. 1984;10:101-16.

Mittal P, Lawrie RA. Extrusion studies of mixtures containig certain meat offals: Part 2 - Textural properties. Meat Sci. 1986;16:143-60.

Ockerman HW, Hansen CL. Industrialización de subproductos de origen animal. Zaragoza: Editora Acribia; 1994.

Patel PD, Fry JC. The search for standardised methods for assessing protein functionality. In: Hudson BJF. Developments in food proteins - 5. London: Elsevier Applied Science; 1987. p. 299-333.

Pomeranz Y. Functional properties of food components. 2nd ed. San Diego: Academic Press; 1991.

Quinn JR, Paton D. A practical measurement of water hydration capacity of protein materials. Cereal Chem. 1979;56:38-9.

Ramarathnam N, Rubin LJ, Diosady LL. Studies on meat flavor. 2. A quantitative investigation of the volatile carbonyls and hydrocarbons in uncured and cured beef and chicken. J Agric Food Chem. 1991;39:1839-47.

Reifsteck BM, Jeon IJ. Retention of volatile flavors in confections by extrusion processing. Food Rev Int. 2000;16:435-52.

Ribeiro APB, Moura JMLN, Grimaldi R, Gonçalves LAG. Interesterificação química: alternativa para obtenção de gorduras zero *trans*. Quím Nova. 2007;30:1295-1300.

Sgarbieri VC. Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações, modificações. São Paulo: Livraria Varela; 1996.

Singh S, Gamlath S, Wakeling L. Nutritional aspects of food extrusion: a review. Int J Food Sci Technol. 2007;42:916-29.

Spooncer WF. Organs and glands as human food. In: Pearson AM, Dutson TR. Edible meat by-products: advances in meat research. v.5. London: Elsevier Applied Science; 1988. p. 197-217.

Swingler GR, Neale RJ, Lawrie RA. The nutritive value of protein isolates and fibres from meat industry by-products. Meat Sci. 1978;2:31-9.

Tema de capa. Paraíba é couro e calçados, sim sinhô! [homepage na internet]. Brasília [acesso em 20 ago 2007]. Disponível em http://www.sebrae.com.br/revistasebrae/06/temadecapa_06.htm.

Tuncel G. The effect of freezing on the microflora of tripe. *Gida*. 1993;18:97-100.

Vaclavik VA. *Essentials of food science*. Gaithersburg: Aspen Publication; 1998.

Wood JD, Richardson RI, Nute GR, Fisher AV, Campo MM, Kasapidou E, Sheard PR, Enser M. Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Sci*. 2003;66:21-32.

CAPÍTULO 2 – EFEITO DA EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA SOBRE AS PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO RÚMEN BOVINO

2.1 INTRODUÇÃO

A utilização de proteínas na formulação de alimentos tem sido cada vez mais comum. A indústria adiciona proteínas a vários produtos não apenas pelo valor nutritivo protéico, mas principalmente por questões tecnológicas.

As propriedades funcionais de uma proteína são decisivas na sua escolha para adição em alimentos, sendo que novas proteínas precisam possuir propriedades funcionais semelhantes ou superiores às aquelas ditas tradicionais. O rúmen bovino, após processamento adequado, constitui uma excelente fonte protéica, sendo interessante sua utilização como ingrediente alimentar.

Uma das formas de aproveitamento do rúmen é a extrusão termoplástica, processo este que, por utilizar temperatura e cisalhamento elevados, pode mudar a estrutura e as interações protéicas, alterando, conseqüentemente, as propriedades funcionais. Por isso, é necessária a verificação do efeito da extrusão termoplástica nas propriedades funcionais do rúmen bovino para que este, seja na forma de farinha ou extrusado, apresente qualidade tecnológica adequada para sua aplicação como ingrediente alimentar.

2.2 OBJETIVO

2.2.1 OBJETIVO GERAL

Verificação dos efeitos da extrusão termoplástica sobre algumas propriedades funcionais do rúmen bovino.

2.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Análise de algumas propriedades funcionais do rúmen bovino antes e após sua extrusão, sendo elas capacidade de retenção de água, capacidade de emulsificação, estabilidade da emulsão, solubilidade da proteína e hidrofobicidade da superfície protéica.

Estabelecimento da melhor condição de extrusão do rúmen bovino através da Metodologia de Superfície de Resposta.

2.3 METODOLOGIA

2.3.1 MATÉRIAS-PRIMAS

2.3.1.1 Rúmen bovino (RB)

O rúmen bovino, fornecido pela Sadia S/A, foi retirado de animais saudáveis em condições próprias para consumo humano e inspecionado pelo SIF (Serviço de Inspeção Federal). Foi esvaziado, lavado, escaldado para remoção de sua mucosa negra, moído e congelado a -30°C imediatamente após o abate. Posteriormente, foi liofilizado em empresa tradicional de secagem de alimentos (Nutribrás S/A - SP).

2.3.1.2 Concentrado protéico de soja (CPS)

O concentrado protéico de soja (marca Arcon[®] SM, Decatur/IL/USA; lote 04112682), com 64% de proteína, foi fornecido por ADM Exportadora e Importadora S/A. Sua obtenção foi a partir de soja não modificada geneticamente.

O CPS foi utilizado como padrão de referência para todas as propriedades funcionais do rúmen bovino avaliadas.

2.3.2 DESENGORDURAMENTO A FRIO DO RÚMEN BOVINO

O rúmen bovino, após liofilização, foi desengordurado a frio com uma mistura de hexano:etanol (2:1). Para cada 1kg de rúmen utilizaram-se 6L dessa mistura de solventes (CARDOSO-SANTIAGO e ARÊAS, 2001).

O rúmen foi deixado em repouso com os solventes por dezessete horas em temperatura ambiente. Agitou-se essa mistura durante três horas com o auxílio de um agitador mecânico, com velocidade de rotação de, aproximadamente, 2.800rpm. Utilizando-se um pano como filtro, separou-se o solvente do rúmen e o processo foi repetido mais uma vez com solventes novos.

A farinha desengordurada foi deixada em estufa ventilada à 65°C por cerca de 22 horas para a evaporação completa dos solventes.

Foram desengordurados 20kg de rúmen e os solventes foram descartados.

2.3.3 EXTRUSÃO DOS MATERIAIS

Foi utilizada extrusora de rosca única com capacidade de produção semi-industrial (modelo RXPQ Labor 24, INBRAMAQ - Indústria de Máquinas Ltda, Ribeirão Preto - SP).

As condições de extrusão do rúmen bovino foram definidas através da Metodologia de Superfície de Resposta.

As condições de extrusão do concentrado protéico de soja, definidas após testes preliminares (Anexo 1), foram:

- três camisas helicoidais;
- rosca de passo largo, de uma saída, com taxa de compressão de 3,6:1 e relação comprimento/diâmetro (L/D) de 15,5:1;
- sub-trafila de orifícios de 5,5mm;
- trafilas de um orifício de 3,7mm;
- temperaturas (zona 1 a 5, respectivamente): 30, 60, 80, 115 e 130°C;
- velocidade de rotação da rosca: 263rpm (100%);
- velocidade de alimentação: 90g/min;
- umidade da amostra: 35% (base seca).

A velocidade de rotação da rosca, no painel de controle, é determinada em porcentagem, sendo que 100% equivalem a 263rpm e as demais porcentagens são diretamente proporcionais a este valor.

Os teores de umidade foram ajustados para os valores desejados utilizando-se água destilada e as farinhas foram armazenadas em sacos plásticos à temperatura de 5 a 8°C por 48 horas para garantia de homogeneidade da amostra. Foi feita análise de umidade em todas as farinhas para conferência e, quando distante em mais de 1,5% do valor desejado, a umidade foi novamente ajustada. Antes do início da extrusão, aguardou-se que as farinhas atingssem a temperatura ambiente.

No início de toda extrusão, sempre foi utilizado gritz de milho para estabilização da máquina. Além disso, quando a temperatura necessária para a extrusão ainda não havia sido atingida, também se utilizou gritz de milho como intercalo até a mesma atingir o valor desejado, evitando, assim, o gasto desnecessário de rúmen ou de concentrado protéico de soja.

2.3.4 TESTE DE REIDRATAÇÃO

Foi realizado um teste de reidratação nos extrusados de rúmen para verificar se houve uma adequada texturização dos mesmos. Extrusados altamente protéicos, após reidratação em água quente, apresentam textura firme e esponjosa devido à capacidade de reter água sem se desmancharem.

Para a reidratação, aqueceu-se água a 100°C e os extrusados permaneceram imersos na mesma durante cinco minutos (sem fervura). Após este tempo, retiraram-se os extrusados e visualmente foi verificada se houve reidratação adequada ou não dos mesmos.

2.3.5 MOAGEM DOS EXTRUSADOS

Todos os extrusados foram moídos para padronização da granulometria para realização de análises químicas e das propriedades funcionais.

Os extrusados de rúmen bovino e do concentrado protéico de soja foram primeiramente triturados em liquidificador e depois moídos em moinho de martelos fixos (Astecma, modelo MML.100), utilizando dois tamanhos de malhas: primeiro uma com orifícios maiores e depois outra com orifícios menores, facilitando assim a quebra dos materiais. A farinha de rúmen foi moída apenas no moinho e a do concentrado protéico de soja não foi moída, pois já era extremamente fina.

Os materiais foram padronizados quanto à granulometria em equipamento vibratório Erweka, no qual se colocou um conjunto de peneiras arredondadas e com abertura das malhas em ordem decrescente de tamanho (0,85 – 0,42 – 0,25 – 0,177 – 0,15mm). Todas as amostras foram peneiradas por dez minutos para separação das partículas, sendo selecionadas as que ficaram retidas nas peneiras de 0,177mm e de 0,15mm e as que ficaram no fundo (partículas que atravessaram todas as peneiras). Todos os materiais retidos em cada peneira foram pesados e expressos em porcentagem em relação ao total de amostra peneirada.

2.3.6 PROPRIEDADES FUNCIONAIS

2.3.6.1 Capacidade de retenção de água (WHC)

Foi utilizada a técnica descrita por QUINN e PATON (1979). O método constou de duas etapas:

1^a) em um tubo de centrífuga, 5g de amostra foram pesados e foi adicionada uma quantidade aleatória de água até formar uma pasta. O tubo foi centrifugado a 2.000g (aproximadamente 4.600rpm) a 20°C por 10 min, o sobrenadante descartado e a capacidade de retenção aproximada (WHC aprox.) calculada por diferença de peso. Essa etapa foi feita em triplicata;

2^a) em 4 tubos foi pesada a mesma quantidade de amostra em função da WHC aprox. obtida na primeira etapa e valores crescentes de água foram adicionados. Os tubos foram centrifugados nas mesmas condições anteriores e pelo menos um deles não apresentou sobrenadante e um outro adjacente a este sim (este sobrenadante foi pesado e armazenado em micro-tubo de 2mL à temperatura de 5 a 8°C para análise de proteína). Para a amostra que estava no tubo sem sobrenadante, foi calculada a WHC em mL água/g amostra e a WHC em mL água/g proteína em função do teor protéico analisado na amostra antes da centrifugação. Já para a amostra que estava no tubo com sobrenadante, foram feitos os mesmos cálculos, mas analisou-se a quantidade de proteína no sobrenadante e, por diferença (peso do sobrenadante menos a quantidade de proteína), obteve-se a quantidade de água no mesmo, descontando esses dois valores para obtenção da WHC por grama de amostra e por grama de proteína. Essa 2^a etapa foi realizada apenas uma vez, e o resultado, embora possa ser dado em intervalo (“WHC no tubo sem sobrenadante” – “WHC no tubo com sobrenadante”), foi dado como a “média desse intervalo $\pm$ a metade da amplitude do intervalo”.

Utilizou-se centrífuga ALC, modelo 4239R, com velocidade de centrifugação de 4.600rpm (aproximadamente 1.969g) e temperatura de 20°C.

2.3.6.2 Capacidade de emulsificação (EC)

A análise da capacidade de emulsificação das amostras foi realizada de acordo com WEBB et al. (1970).

Foram pesados 0,75g de amostra em um béquer, adicionados 3mL de NaCl 1M e agitados em Turrax da Tecnal (modelo TE 102), na velocidade de nº 8 por 60s (foram solicitadas à Tecnal as velocidades correspondentes a cada número, mas nenhuma informação foi obtida). A agitação foi interrompida, adicionaram-se 18,75mL de NaCl 1M e se iniciou novamente a agitação utilizando a velocidade de nº 9 por 60s. Todo esse extrato foi colocado em um liquidificador, Waring Commercial Blendor, e foram adicionados 10g de óleo de soja Liza (Cargill Foods). O liquidificador foi ligado em velocidade baixa por 15s e óleo foi adicionado numa velocidade de 1mL/s. Dentro do liquidificador, foram colocados dois eletrodos para medição da resistência da emulsão e, assim que houve um aumento abrupto da resistência, indicando a inversão da emulsão, a adição de óleo foi interrompida. A Figura 2.1 mostra a aparelhagem utilizada nessa análise.

Figura 2.1: Aparelhagem utilizada na determinação da capacidade de emulsificação.

Após a interrupção da adição de óleo, o funil de decantação e a mangueira, que haviam sido pesados no início da análise, foram novamente pesados para se obter, por diferença, a quantidade de óleo utilizada (somaram-se a essa quantidade os 10g iniciais de óleo). A densidade do óleo foi calculada pesando-se 1mL do óleo, obtendo o valor de 0,9g/mL. Com essa densidade, a EC foi expressa em mL de óleo/g de amostra e em mL de óleo/g de proteína.

Esta análise foi feita em duplicata.

2.3.6.3 Estabilidade da emulsão (ES)

A determinação da estabilidade da emulsão das amostras foi realizada conforme INKLAAR e FORTUIN (1969).

Foram pesados, precisamente, 0,5g de amostra, adicionados a esta 9mL de água destilada e feita agitação em agitador magnético por 15min. A agitação foi interrompida, foram adicionados 0,3g de NaCl e novamente feita agitação por 1min. A partir de uma bureta, foram adicionados 5,6mL de óleo de soja Liza (Cargill

Foods) durante 5min, agitando-se esse conteúdo a uma velocidade que foi mantida constante para todas as amostras. Após o término da adição do óleo, o conteúdo foi agitado por mais 1min. Este foi passado para um tubo de centrífuga de 50mL e aquecido em banho-maria a 85°C por 15min. O tubo foi retirado do banho, agitado bem lentamente, e resfriado em água fria corrente por 15min. Foi então centrifugado a 3.000rpm por 15 min, em centrífuga CELM (modelo LS-3). A quantidade de óleo separada foi marcada do lado de fora do tubo para certificar que essa quantidade se manteria constante após nova centrifugação nas mesmas condições descritas acima. Após a segunda centrifugação, passou-se esse óleo, com o auxílio de uma pipeta pasteur, para uma proveta para ser feita a leitura. A ES, dada em porcentagem, foi determinada de acordo com a fórmula abaixo:

$$ES = \frac{\text{volume de óleo separado}}{\text{volume de óleo adicionado}} \times 100$$

Quanto mais próximo de 100% estivesse o valor da ES, menos estável seria a emulsão, pois mais óleo teria sido separado após aplicação de calor e centrifugação.

Essa análise foi feita em duplicata devido à pequena variação da mesma.

2.3.6.4 Solubilidade da proteína

Dispersões protéicas de 1mg/mL foram preparadas em tampão fosfato 0,01M, pH 7,0 (com NaCl 1M), agitadas lentamente por duas horas em temperatura ambiente e centrifugadas a 4.929g por 20min a 20°C (Centrífuga Sigma, modelo 3-18K).

Os sobrenadantes foram coletados e a concentração protéica nos mesmos foi analisada por LOWRY et al. (1951). Foram pipetados 200µL do sobrenadante e adicionado 1mL do reagente C [50mL do reagente A (2% de Na₂CO₃ em NaOH 0,1N) + 1mL do reagente B (0,5% de CuSO₄•5H₂O em 1% de tartarato de sódio)]. Deixou-se em temperatura ambiente por 10min. Adicionou-se, então, 0,1mL do reagente de Folin-Ciocalteau 1N, deixando em temperatura ambiente por 45min. As amostras foram lidas em espectrofotômetro Shimadzu (modelo UV 1650 PC) a 660nm. Para o branco, pipetaram-se 200µL de água destilada e foram adicionados os

mesmos reagentes. Para construção da curva padrão, utilizou-se albumina de soro bovino com os mesmos reagentes.

A solubilidade foi expressa em porcentagem de acordo com a fórmula abaixo:

$$\text{solubilidade} = \frac{\text{concentração protéica no sobrenadante}}{\text{concentração protéica na amostra antes da centrifugação}} \times 100$$

A solubilidade de proteínas depende, dentre outros fatores, do pH no qual a análise é realizada. Como em outras análises de propriedades funcionais o pH esteve em torno de 7,0, principalmente na hidrofobicidade da superfície protéica, optou-se por analisar a proteína solúvel nesse valor de pH.

Essa análise foi feita em duplicata.

Anteriormente a essa análise e à de hidrofobicidade, os teores protéicos foram novamente analisados.

2.3.6.5 Hidrofobicidade da superfície protéica

A análise da hidrofobicidade foi realizada pelo método de fluorescência com ANS (ácido 8-anilino 1-naftalenossulfônico) segundo WAGNER et al. (2000) com algumas modificações.

Em micro-tubos de 2mL, foram pesadas quantidades crescentes de amostra: 10, 20, 30, 40, 50 e 100mg. Em cada tubo foram adicionados 1,5mL de tampão fosfato 0,01M, pH 7,0 (com NaCl 1M) e 20µL de ANS (8,0mM em tampão fosfato 0,1M, pH 7,0). Os tubos foram inteiramente revestidos com papel alumínio para impedir a penetração da luz, já que o ANS é fotossensível. Os tubos foram, então, agitados lentamente por duas horas em temperatura ambiente e centrifugados em centrífuga para microtubos (Eppendorf, modelo 5415C) a, aproximadamente, 7.800rpm por 20min.

Os sobrenadantes foram coletados e destinados a duas análises concomitantes.

A concentração protéica nos sobrenadantes foi analisada por LOWRY et al. (1951), da mesma forma que no item 2.3.6.4. As diferenças estiveram no preparo do branco e do padrão de albumina. Para o branco, pipetaram-se 200µL de água destilada + 1mL do reagente C + 100µL do reagente de Folin-Ciocalteau + 20µL de

ANS. Para a construção da curva padrão, utilizou-se albumina de soro bovino (200µL) + 1mL do reagente C + 100µL do reagente de Folin-Ciocalteu + 20µL de ANS. Essa adaptação do método de Lowry foi realizada por causa da adição de ANS nos micro-tubos com as amostras.

Também foi analisada no sobrenadante a hidrofobicidade da superfície protéica de cada amostra. A leitura foi feita por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em equipamento Shimadzu, com controlador SCL-10A vp, bomba quaternária, degaseificador, detector de fluorescência marca Merck Lachrom (modelo L7480), excitação de 365nm e emissão de 484nm e válvula de injeção manual Rheodyne. Não foi utilizada coluna e como fase móvel empregou-se o mesmo tampão utilizado para a dispersão protéica do começo da análise, com fluxo de 1mL/min. O software Class-VP foi usado para monitoramento da análise. Foram injetados 20µL da amostra e o tempo de corrida foi de três minutos.

Foi injetado um padrão de 15mL de ANS em 3mL de metanol (grau HPLC), mas devido a uma falha no trabalho de referência (WAGNER et al., 2000), a área obtida por este padrão teve de ser ajustada como sendo 15µL de ANS ao invés de 15mL. Após tal correção, a área obtida pelo padrão correspondeu a um valor de 80 e as áreas das amostras foram ajustadas em função do mesmo.

Foi realizada a análise de regressão linear das áreas obtidas *versus* a concentração protéica no sobrenadante (software Microsoft Office Excel 2003) e o coeficiente de inclinação da reta foi usado como índice da hidrofobicidade da superfície protéica.

A análise completa foi feita uma única vez.

2.3.6.6 Análise estatística

Foram realizados ANOVA seguida de teste de Tukey HSD ($p < 0,05$) para comparação das médias entre farinha e extrusados de rúmen e concentrado protéico de soja e análise de correlação linear entre as propriedades funcionais dos extrusados de rúmen.

Todas as análises estatísticas foram feitas no software SPSS 13.0 for Windows.

2.3.7 METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

Para verificação do efeito das condições de extrusão sobre as propriedades funcionais dos extrusados de rúmen bovino, foi utilizada a Metodologia de Superfície de Resposta (BARROS-NETO et al., 2003).

Na realização dos delineamentos, não houve uma seleção aleatória total dos ensaios, pois a extrusora leva certo tempo para estabilizar a temperatura e isso requer grande quantidade de material. No 1º delineamento, a ordem dos ensaios foi estabelecida em função do aumento de temperatura, ou seja, da menor temperatura para a maior, sendo que numa mesma temperatura os ensaios foram sorteados. Mas foi longa a demora para atingir as temperaturas desejadas, e, por isso, a partir do caminho da máxima inclinação, a ordem dos ensaios foi estabelecida da maior para a menor temperatura, com sorteios dos ensaios de mesma temperatura.

Para cada variável resposta, foram construídos três modelos através da análise de regressão múltipla e da análise de variância (ANOVA): ajuste linear com 7 ensaios, ajuste linear com 11 ensaios e ajuste quadrático com 11 ensaios. Fez-se isso para conhecer qual melhor modelo respondia às variáveis independentes.

As análises de regressão múltipla e de variância foram realizadas no software Origin, versão 6.0 (Microcal - USA 2001). Para verificação da falta de ajuste do modelo de regressão, foi utilizado o software Chemomatrix (Instituto de Química - UNICAMP). Para a realização das análises estatísticas, levou-se em consideração os valores reais (medidos e analisados) das variáveis independentes, ajustando-se, dessa forma, as variáveis codificadas em função desses valores.

Na análise de regressão múltipla, considerou-se influência de uma variável independente sobre uma variável resposta quando $p < 0,05$ e, na análise de variância, considerou-se regressão significativa e sem falta de ajuste também quando $p < 0,05$.

2.3.8 ANÁLISES DE UMIDADE E PROTEÍNA

A análise de umidade foi feita por evaporação a 105°C e a determinação de proteína pelo método de micro-Kjeldhal, usando fator de conversão 6,25 (AOAC, 1990).

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A extrusão do rúmen bovino não representou uma tarefa fácil, inúmeros testes foram feitos para se conseguir extrusá-lo da forma mais adequada possível. O rúmen apresentou muita turbulência durante a extrusão, sendo comuns as ocorrências de expulsão descontrolada dos extrusados da máquina. Em outros testes, também foi comum o cozimento ineficiente do material, acarretando em uma texturização inadequada. Além disso, sempre houve uma grande irregularidade nos extrusados, sendo difícil a avaliação de razão de expansão e análise de textura.

Mesmo com todas as dificuldades encontradas, conseguiu-se obter extrusados com boa texturização. Esta texturização adequada pôde ser percebida visualmente, devido aos vacúolos característicos de materiais extrusados, e também avaliada no teste de reidratação, embora os extrusados ainda apresentassem certa irregularidade na sua estrutura para alguns tipos de análise.

2.4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL 1 (E₁)

Após testes preliminares, chegou-se ao delineamento experimental 1 abaixo.

Variáveis independentes fixadas após testes preliminares:

- três camisas helicoidais;
- rosca longa de passo largo, com taxa de compressão de 3,6:1 e L/D de 15,5:1;
- sub-trafila de orifícios de 5,3mm;
- trafilas de um orifício de 5mm;
- temperaturas (zona 1 a 3, respectivamente): 30, 60 e 80°C;
- velocidade de rotação da rosca: 263rpm (100%);
- velocidade de alimentação: 90g/min.

Variáveis independentes com módulos de variação:

- umidade: ponto central de 30% e módulo de variação de 5%;
- temperatura da zona 5: ponto central de 140°C e módulo de variação de 10°C (as temperaturas da zona 4 estiveram sempre 20°C abaixo das da zona 5).

Variável dependente: capacidade de retenção de água.

A Tabela 2.1 mostra a matriz do delineamento experimental 1.

Tabela 2.1: Matriz do delineamento experimental 1 (E₁) para extrusão do rúmen bovino.

Ensaio	Ordem do ensaio	Variáveis codificadas teóricas		Variáveis decodificadas teóricas		Variáveis codificadas reais*		Variáveis decodificadas reais*	
		X ₁	X ₂	X ₁ **	X ₂ **	X ₁	X ₂	X ₁	X ₂
				(%)	(°C)			(%)	(°C)
1	2°	-1	-1	25	130	-0,646	-1	26,77	130
2	10°	-1	1	25	150	-0,646	1	26,77	150
3	3°	1	-1	35	130	+1,62	-1	38,10	130
4	9°	1	1	35	150	+1,62	1	38,10	150
5	5°	0	0	30	140	+0,24	0	31,20	140
6	4°	0	0	30	140	+0,24	0	31,20	140
7	6°	0	0	30	140	+0,24	0	31,20	140
8	7°	1,414	0	37,07	140	+1,39	0	36,95	140
9	8°	-1,414	0	22,93	140	-1,174	0	24,13	140
10	11°	0	1,414	30	154,14	+0,24	1,4	31,20	154
11	1°	0	-1,414	30	125,86	+0,24	-1,4	31,20	126

* Valores reais das variáveis. As unidades das farinhas foram determinadas logo após a extrusão das mesmas.

** x₁ = umidade; x₂ = temperatura de processamento.

No teste de reidratação, apenas os extrusados dos ensaios 1, 3 e 11 despedaçaram e não foram reidratados, sendo que os demais apresentaram reidratação adequada.

Os ensaios 3 e 11 foram obtidos em temperaturas menores, indicando que o cozimento não foi suficiente. O ensaio 1 foi obtido em temperatura igual ao do ensaio 3, mas tinha umidade menor (25%) do que este ensaio (35%), chegando a ser reidratado. Isso indica que em umidades maiores há a necessidade de uma maior

temperatura ou maior tempo para que haja a evaporação necessária da maior quantidade de água, permitindo o cozimento do material.

A Tabela 2.2 mostra a porcentagem de material retido em cada uma das peneiras após a moagem dos extrusados.

Tabela 2.2: Distribuição, em porcentagem, de material retido em função da granulometria* após a moagem dos extrusados do delineamento experimental 1 (E₁).

Ensaio	0,42mm	0,25mm	0,177mm	0,15mm	fundo	% utilizada**
1	0,0	4,3	26,1	8,7	60,9	95,7
2	1,0	8,2	37,1	11,3	42,3	90,7
3	0,0	23,0	35,1	9,5	32,4	77,0
4	0,3	8,5	45,6	12,7	33,0	91,3
5	0,7	9,0	40,3	15,3	34,7	90,3
6	1,2	13,3	39,8	10,2	35,5	85,5
7	0,4	11,2	37,9	13,6	36,9	88,4
8	0,0	14,7	42,6	10,3	32,4	85,3
9	0,0	3,6	40,5	16,7	39,3	96,4
10	0,2	5,8	40,4	14,8	38,8	94,0
11	1,6	15,6	43,0	14,1	25,8	82,8

* Não houve material retido na primeira peneira (0,85mm), não sendo, dessa forma, indicado na tabela.

** Rendimento relativo aos materiais retidos nas peneiras de 0,177 e 0,15mm e no fundo.

Para todos os ensaios houve um rendimento de, pelo menos, 77% de extrusado moído para a realização das análises.

A Tabela 2.3 apresenta os teores protéicos das amostras e os resultados da análise da capacidade de retenção de água.

Tabela 2.3: Teor de proteína e capacidade de retenção de água (WHC) dos extrusados do delineamento experimental 1 (E₁).

Ensaio	Teor protéico* na amostra (dp)	WHC em mL água/g amostra (metade da amplitude do intervalo)	WHC em mL água/g proteína (metade da amplitude do intervalo)
1	83,39 (0,54) ^{bc}	2,67 (±0,12)	3,21 (±0,14)
2	89,25 (0,62) ^c	2,97 (±0,11)	3,34 (±0,12)
3	85,62 (0,54) ^{cd}	2,58 (±0,12)	3,02 (±0,14)
4	80,37 (0,68) ^a	3,12 (±0,10)	3,89 (±0,13)
5	82,98 (0,80) ^{abc}	2,67 (±0,06)	3,25 (±0,08)
6	81,64 (0,53) ^{ab}	2,70 (±0,12)	3,31 (±0,14)
7	84,68 (0,55) ^{cd}	3,04 (±0,11)	3,60 (±0,13)
8	83,74 (1,01) ^{bc}	2,90 (±0,10)	3,47 (±0,12)
9	87,27 (0,67) ^{de}	2,65 (±0,13)	3,04 (±0,15)
10	85,42 (1,06) ^{cd}	3,06 (±0,06)	3,62 (±0,07)
11	81,91 (1,83) ^{ab}	2,96 (±0,04)	3,64 (±0,05)

* Análise feita em triplicata; letras iguais na mesma coluna indicam médias estatisticamente iguais entre si ($p < 0,05$).

Obs. Não foram feitas análises estatísticas comparando os resultados de WHC, pois a 2ª etapa dessa análise foi realizada uma única vez.

A tabela acima mostra que houve diferenças significativas entre os teores protéicos das amostras (em base seca também). Provavelmente essa diferença é devido ao milho utilizado como intercalo entre os ensaios durante a extrusão (item 2.3.3), que foi usado até a extrusora atingir as temperaturas necessárias. Após a temperatura ter sido atingida, foi iniciada a extrusão do rúmen e parte do extrusado foi descartado pois era possível notar a presença de milho, mas mesmo após um tempo de extrusão, pode ter ficado um pouco de milho misturado que visivelmente não foi observado. Realmente, no final de toda extrusão, quando se tirava a rosca para limpá-la, sempre havia ainda um pouco de milho aderido à mesma. Como intercalo também podia ter sido usado o concentrado protéico de soja, mas como esse

material serviu de comparação para o rúmen, sua utilização poderia comprometer todos os resultados deste trabalho. O ideal seria utilizar o próprio rúmen como intercalo, mas isso demandaria enormes quantidades de material, o que seria inviável.

Foram construídos três modelos para as duas apresentações da variável resposta (mL água/g amostra e mL água/g proteína): ajuste linear com 7 ensaios, ajuste linear com 11 ensaios e ajuste quadrático.

WHC em mL água/g amostra

- ajuste linear com 7 ensaios: houve uma tendência de influência da temperatura sobre a variável resposta ($p=0,057$), mas a regressão não foi significativa ($F_{\text{calc}} < F_{2;4;0,05}$) e não houve falta de ajuste ($F_{\text{calc}} < F_{2;2;0,05}$);
- ajuste linear com 11 ensaios: houve uma tendência de influência da temperatura sobre a variável resposta ($p=0,081$), mas a regressão não foi significativa ($F_{\text{calc}} < F_{2;8;0,05}$) e não houve falta de ajuste ($F_{\text{calc}} < F_{6;2;0,05}$);
- ajuste quadrático: não houve influência das variáveis independentes sobre a variável resposta, a regressão não foi significativa ($F_{\text{calc}} < F_{5;5;0,05}$) e não houve falta de ajuste ($F_{\text{calc}} < F_{3;2;0,05}$).

WHC em mL água/g proteína

- ajuste linear com 7 ensaios: houve uma tendência de influência da temperatura sobre a variável resposta ($p=0,094$), mas a regressão não foi significativa ($F_{\text{calc}} < F_{2;4;0,05}$) e não houve falta de ajuste ($F_{\text{calc}} < F_{2;2;0,05}$);
- ajuste linear com 11 ensaios: não houve influência das variáveis independentes sobre a variável resposta, a regressão não foi significativa ($F_{\text{calc}} < F_{2;8;0,05}$) e não houve falta de ajuste ($F_{\text{calc}} < F_{6;2;0,05}$);
- ajuste quadrático: houve tendência de influência do termo linear da umidade ($p=0,077$) e da interação das duas variáveis independentes ($p=0,072$) sobre a variável resposta, mas a regressão não foi significativa ($F_{\text{calc}} < F_{5;5;0,05}$) e não houve falta de ajuste ($F_{\text{calc}} < F_{3;2;0,05}$).

O delineamento experimental 1, embora tenha resultado em tendências de influência das variáveis independentes sobre a variável resposta capacidade de retenção de água, não apresentou regressões significativas nem falta de ajuste dos modelos. Por isso, o passo seguinte foi deslocar a região experimental a fim de obter melhores resultados da variável resposta.

2.4.2 CAMINHO DE MÁXIMA INCLINAÇÃO

Na Metodologia de Superfície de Resposta, para se chegar à resposta ótima para uma determinada variável dependente, constrói-se um caminho de máxima inclinação de deslocamento das variáveis independentes, ou seja, utilizam-se poucos experimentos deslocando, ao mesmo tempo, os valores de todas as variáveis independentes.

Para a obtenção de uma maior capacidade de retenção de água, deve-se deslocar a região experimental ao longo de uma trajetória perpendicular às curvas de nível, isto é, construir um caminho de máxima inclinação da superfície ajustada (BARROS-NETO et al., 2003). O objetivo dessa etapa é identificar o ponto de melhor resposta para, dessa forma, construir um novo delineamento.

O caminho de máxima inclinação pode ser determinado algebricamente a partir dos coeficientes dos termos lineares (b_1 e b_2) das variáveis independentes (x_1 e x_2), nesse caso, da umidade e temperatura do modelo (BARROS-NETO et al., 2003).

Como nenhuma das regressões foi significativa, teve-se de escolher um dos modelos para construção do caminho de máxima inclinação. Analisando os valores de b_1 e b_2 de todos os modelos obtidos no delineamento 1 (Tabela 2.4), foram escolhidos os referentes ao “ajuste linear com 11 ensaios” para a variável resposta “mL água/g proteína”, pois resultavam em valores de variáveis independentes possíveis de serem atingidos e utilizáveis no processo de extrusão.

Tabela 2.4: Valores de b_1 e b_2 de todos os modelos resultantes do delineamento experimental 1 (E_1).

		b_1	b_2	b_2/b_1
mL de água/g de amostra	ajuste linear com 7 ensaios	0,016	0,210	+13,522
	ajuste linear com 11 ensaios	0,046	0,124	+2,708
	ajuste quadrático	0,078	0,099	+1,264
mL de água/g de proteína	ajuste linear com 7 ensaios	0,076	0,250	+3,285
	ajuste linear com 11 ensaios	0,111	0,123	+1,108
	ajuste quadrático	0,180	0,056	+0,309

O valor **+1,108** indica que a cada aumento de 1 unidade da umidade, deve-se aumentar 1,108 de unidade da temperatura, tendo como pontos de partida os mesmos pontos centrais e módulos de variação do delineamento experimental 1 (E_1) (Tabela 2.5). Por isso, os valores de +13,522, +2,708 e +3,285 resultariam em temperaturas muito altas para a extrusão, e o valor +0,309 resultaria em temperaturas não tão altas o suficiente para extrusar um material protéico com alta umidade como o rúmen bovino. E o valor +1,264 esteve bem próximo de +1,108, sendo que qualquer um dos dois valores poderia ter sido escolhido.

Tabela 2.5: Caminho de máxima inclinação para extrusão do rúmen bovino.

Etapa	x_1	x_2	x_1 teórico (%)	x_1 real*	x_2 teórico (°C)	x_2 real*
Centro + Δ	+1	+1,108	35	34,86	151,08	146
Centro + 2Δ	+2	+2,216	40	34,54	162,16	162
Centro + 3Δ	+3	+3,324	45	42,61	173,24	167

* Valores reais das variáveis. As umidades das farinhas foram determinadas logo após a extrusão das mesmas e a temperatura foi medida quando se iniciava a alimentação da extrusora com a farinha.

** x_1 = umidade; x_2 = temperatura de processamento (zona 5).

Obs. As temperaturas da zona 4 estiveram sempre 20°C abaixo das da zona 5.

O ideal é que tivessem mais duas etapas (50% de umidade e 184,32°C; 55% de umidade e 195,40°C), mas isso tornaria a extrusão complicada, pois extrusoras de rosca única não trabalham adequadamente com materiais com umidade tão elevada.

Variáveis independentes fixadas após testes preliminares:

- três camisas helicoidais;
- rosca longa de passo largo, com taxa de compressão de 3,6:1 e L/D de 15,5:1;
- sub-trafila de orifícios de 5,3mm;
- trafilas de um orifício de 5mm;
- temperaturas (zona 1 a 3, respectivamente): 30, 60 e 80°C;
- velocidade de rotação da rosca: 263rpm (100%);
- velocidade de alimentação: 90g/min.

Variável dependente: capacidade de retenção de água.

Na etapa “Centro + 2Δ ” o valor real da umidade esteve muito longe do teórico. Ajustar a umidade da farinha de rúmen foi complicado, pois não era possível fazer esse processo várias vezes (adicionar mais água ou secar o material se necessário). A farinha de rúmen era muito rica em proteína e alta umidade foi necessária para a extrusão, por isso havia grande risco de fermentação durante os ajustes da umidade. Em outros testes chegou a ocorrer fermentação desse material e também do concentrado protéico de soja.

Duas temperaturas de extrusão também estiveram um pouco abaixo das desejadas, pois a própria extrusora estava com dificuldade de atingir as temperaturas programadas.

A Tabela 2.6 apresenta os teores protéicos das amostras e os resultados da análise da capacidade de retenção de água.

Tabela 2.6: Teor de proteína e da capacidade de retenção de água (WHC) dos extrusados do caminho de máxima inclinação.

Etapa	Teor protéico* na amostra (dp)	WHC em mL água/g amostra (metade da amplitude do intervalo)	WHC em mL água/g proteína (metade da amplitude do intervalo)
Centro + Δ	82,16 (0,11) ^b	2,85 ($\pm 0,05$)	3,49 ($\pm 0,06$)
Centro + 2Δ	75,91 (0,33) ^a	2,35 ($\pm 0,10$)	3,11 ($\pm 0,13$)
Centro + 3Δ	75,74 (0,12) ^a	2,50 ($\pm 0,11$)	3,30 ($\pm 0,15$)

* Análise feita em triplicata; letras iguais na mesma coluna indicam médias estatisticamente iguais entre si ($p < 0,05$).

Obs. Não foram feitas análises estatísticas comparando os resultados de WHC, pois a 2ª etapa dessa análise foi realizada uma única vez.

Como as condições da etapa “Centro + Δ ” são as mesmas do ensaio 4 do delineamento experimental 1 (Tabela 2.1) e os seus valores de WHC foram maiores do que as outras etapas (mesmo não sendo possível verificar diferenças estatísticas), este passou a ser o ponto central do novo delineamento experimental.

2.4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL 2 (E₂)

Nesse novo delineamento, optou-se por aumentar o módulo de variação da temperatura para que uma maior faixa dessa variável fosse estudada. O módulo da umidade continuou o mesmo, pois a extrusão em extrusoras de rosca única é dificultada quando valores muito altos ou muito baixos de umidade são utilizados.

Variáveis independentes fixadas após testes preliminares:

- três camisas helicoidais;
- rosca de passo largo, de uma saída, com taxa de compressão de 3,6:1 e relação comprimento/diâmetro (L/D) de 15,5:1;
- sub-trafila de orifícios de 5,3mm;
- trafilas de um orifício de 5mm;
- temperaturas (zona 1 a 3, respectivamente): 30, 60 e 80°C;
- velocidade de rotação da rosca: 263rpm (100% da rotação máxima);
- velocidade de alimentação: 90g/min.

Variáveis independentes com módulos de variação:

- umidade: ponto central de 35% e módulo de variação de 5% (base seca);
- temperatura da zona 5: ponto central de 150°C e módulo de variação de 20°C (as temperaturas da zona 4 estiveram sempre 20°C abaixo das da zona 5).

Variável dependente: capacidade de retenção de água.

A Tabela 2.7 mostra a matriz do delineamento experimental 2.

Tabela 2.7: Matriz do delineamento experimental 2 (E₂) para extrusão do rúmen bovino.

Ensaio	Ordem do ensaio	Variáveis codificadas teóricas		Variáveis decodificadas teóricas		Variáveis codificadas reais*		Variáveis decodificadas reais*	
		X ₁	X ₂	X ₁ ** (%)	X ₂ ** (°C)	X ₁	X ₂	X ₁ (%)	X ₂ (°C)
1	9°	-1	-1	30	130	-0,124	-0,95	34,38	131
2	3°	-1	1	30	170	-0,124	0,85	34,38	167
3	10°	1	-1	40	130	1,482	-0,80	42,41	134
4	2°	1	1	40	170	1,482	1	42,41	170
5	7°	0	0	35	150	0,556	0	37,78	150
6	8°	0	0	35	150	0,556	0	37,78	150
7	5°	0	0	35	150	0,556	0	37,78	150
8	4°	1,414	0	42,07	150	1,484	-0,05	42,42	149
9	6°	-1,414	0	27,93	150	-1,35	-0,05	28,25	149
10	1°	0	1,414	35	178,28	0,556	1,4	37,78	178
11	11°	0	-1,414	35	121,72	0,556	-1,35	37,78	123

* Valores reais das variáveis. As umidades das farinhas foram determinadas logo após a extrusão das mesmas e a temperatura foi medida quando se iniciava a alimentação da extrusora com a farinha.

** x₁ = umidade; x₂ = temperatura de processamento.

A Figura 2.2 mostra os extrusados obtidos nas condições de extrusão do delineamento experimental 2.

Figura 2.2: Extrusados obtidos no delineamento experimental 2 (E_2).

Obs.: Os números circulados correspondem aos números dos ensaios do delineamento experimental 2, sendo que os pontos centrais 5, 6 e 7 estão representados pelos extrusados do ensaio 6.

Os extrusados ficaram muito semelhantes quanto à aparência e expansão. Em relação à dificuldade de extrusão, observou-se que as amostras saíram de forma mais estável, sendo que apenas os extrusados relativos ao ensaio 9 (-1,414, 0) quebraram um pouco.

No teste de reidratação, os extrusados dos ensaios 1, 2 e 3 apresentaram reidratação inadequada. Nos demais ensaios houve reidratação adequada, sendo que os pontos centrais (5, 6 e 7) e os pontos 9 e 10 foram os melhores reidratados.

A Tabela 2.8 mostra a porcentagem de material retido em cada uma das peneiras após a moagem dos extrusados.

Tabela 2.8: Distribuição, em porcentagem, de material retido em função da granulometria* após a moagem dos extrusados do delineamento experimental 2 (E₂).

Ensaio	0,42mm	0,25mm	0,177mm	0,15mm	fundo	% utilizada**
1	1,7	15,5	31	12,1	39,7	82,8
2	1,8	17,1	32,4	12,6	36,0	81,1
3	6,8	22,0	28,8	11,9	30,5	71,2
4	1,7	16,9	32,2	11,9	37,3	81,4
5	3,8	21,2	32,7	9,6	32,7	75,0
6	3,2	27,4	29,0	9,7	30,6	69,4
7	2,9	23,5	32,4	11,8	29,4	73,5
8	1,6	22,2	31,7	11,1	33,3	76,2
9	1,6	16,3	35,7	10,9	35,7	82,2
10	0,9	18,3	31,3	10,4	39,1	80,9
11	2,0	22,8	30,7	10,9	33,7	75,2

* Não houve material retido na primeira peneira (0,85mm), não sendo, dessa forma, indicado na tabela.

** Rendimento relativo aos materiais retidos nas peneiras de 0,177 e 0,15mm e no fundo.

Para todos os ensaios houve um rendimento de, pelo menos, 69% de extrusado moído para a realização das análises.

A Tabela 2.9 apresenta os teores protéicos das amostras e os resultados da análise da capacidade de retenção de água.

Tabela 2.9: Teor de proteína e capacidade de retenção de água (WHC) da farinha de rúmen bovino, dos extrusados do delineamento experimental 2 (E₂) e do concentrado protéico de soja (farinha e extrusado).

	Teor protéico ^{**} na amostra (dp)	WHC em mL água/g amostra (metade da amplitude do intervalo)	WHC em mL água/g proteína (metade da amplitude do intervalo)
FRB*	86,89 (0,34) ^{gh}	3,18 (0,09)	3,66 (0,11)
Ensaio			
1	78,37 (1,48) ^{de}	2,40 (0,10)	3,06 (0,13)
2	79,57 (0,72) ^{def}	2,38 (0,11)	2,99 (0,14)
3	78,29 (0,28) ^d	2,64 (0,03)	3,39 (0,04)
4	77,84 (1,23) ^d	2,59 (0,04)	3,36 (0,05)
5	80,98 (0,88) ^{ef}	2,67 (0,07)	3,32 (0,09)
6	81,99 (0,30) ^f	2,71 (0,07)	3,33 (0,08)
7	80,40 (0,42) ^{def}	2,56 (0,07)	3,20 (0,09)
8	74,02 (0,70) ^c	2,23 (0,10)	3,03 (0,13)
9	88,19 (0,66) ^h	2,68 (0,07)	3,05 (0,08)
10	85,16 (1,67) ^g	2,33 (0,07)	2,77 (0,08)
11	88,21 (1,10) ^h	2,39 (0,10)	2,72 (0,11)
FCPS*	63,72 (0,12) ^b	4,37 (0,14)	6,94 (0,22)
ECPS*	55,46 (0,29) ^a	2,58 (0,06)	4,67 (0,11)

* FRB = farinha de rúmen bovino; FCPS = farinha de concentrado protéico de soja; ECPS = extrusado de concentrado protéico de soja.

** Análise feita em triplicata; letras iguais na mesma coluna indicam médias estatisticamente iguais entre si ($p < 0,05$).

Obs. Não foram feitas análises estatísticas comparando os resultados de WHC, pois a 2ª etapa dessa análise foi realizada uma única vez.

Novamente houve diferenças nos teores protéicos das amostras (em base seca também), provavelmente pela utilização de griz de milho como intercalo entre os ensaios.

Foram construídos os três modelos para as duas apresentações da variável resposta (mL água/g amostra e mL água/g proteína): ajuste linear com 7 ensaios, ajuste linear com 11 ensaios e ajuste quadrático.

WHC em mL água/g amostra

- ajuste linear com 7 ensaios: não houve influência das variáveis independentes sobre a variável resposta, a regressão não foi significativa ($F_{\text{calc}} < F_{2;4;0,05}$) e não houve falta de ajuste ($F_{\text{calc}} < F_{2;2;0,05}$);
- ajuste linear com 11 ensaios: não houve influência das variáveis independentes sobre a variável resposta, a regressão não foi significativa ($F_{\text{calc}} < F_{2;8;0,05}$) e não houve falta de ajuste ($F_{\text{calc}} < F_{6;2;0,05}$);
- ajuste quadrático: não houve influência das variáveis independentes sobre a variável resposta, a regressão não foi significativa ($F_{\text{calc}} < F_{5;5;0,05}$) e não houve falta de ajuste ($F_{\text{calc}} < F_{3;2;0,05}$).

WHC em mL água/g proteína

- **ajuste linear com 7 ensaios**: houve influência da umidade sobre a variável resposta ($p=0,018$), a regressão foi significativa ($F_{\text{calc}} > F_{2;4;0,05}$) e não houve falta de ajuste ($F_{\text{calc}} < F_{2;2;0,05}$). Os resultados completos das análises estão dispostos nas Tabelas 2.10 e 2.11;
- ajuste linear com 11 ensaios: não houve influência das variáveis independentes sobre a variável resposta, a regressão não foi significativa ($F_{\text{calc}} < F_{2;8;0,05}$) e não houve falta de ajuste ($F_{\text{calc}} < F_{6;2;0,05}$);
- ajuste quadrático: houve tendência de influência do termo quadrático da temperatura ($p=0,069$) sobre a variável resposta, mas a regressão não foi significativa ($F_{\text{calc}} < F_{5;5;0,05}$) e não houve falta de ajuste ($F_{\text{calc}} < F_{3;2;0,05}$).

Tabela 2.10: Análise de regressão múltipla para o ajuste do modelo de primeira ordem da variável capacidade de retenção de água (mL água/g proteína).

fonte de variação	coeficiente	erro	t-estimativa	ns
constante	3,104	0,048	64,688	<0,0001
x₁ (umidade)	0,212	0,055	3,848	0,018
x₂ (temperatura)	-0,029	0,049	-0,581	0,592

Tabela 2.11: Análise de variância para o ajuste do modelo de primeira ordem da variável capacidade de retenção de água (mL água/g proteína).

	soma de quadrados	grau de liberdade	média quadrática	F _{calc}	p-valor
modelo	0,116	2	0,058	7,438	0,045
erro	0,031	4	0,008		
falta de ajuste	0,021	2	0,010	1,990	
erro puro	0,011	2	0,005		
total	0,147	6			

% variação explicada (R^2) = 0,788

% máxima de variação explicável = 0,929

$F_{2;4;0,05} = 6,94$

$F_{2;2;0,05} = 19,00$

Para a construção da equação de regressão, leva-se em consideração apenas os coeficientes das variáveis independentes que influenciaram a variável resposta. Portanto:

$$y = 3,104 + 0,212x_1.$$

A superfície de resposta referente à equação acima está representada pela Figura 2.3.

Figura 2.3: Superfície de Resposta descrita pela equação $y = 3,104 + 0,212x_1$.

O gráfico acima mostra que a maior resposta para a variável WHC em mL água/g proteína esteve acima do ponto central, na região do ponto +1 para umidade (40% de umidade). Em umidade baixa e elevada, o trabalho mecânico de uma extrusora é maior, sendo esse o principal motivo da limitação de extrusoras de rosca única em trabalharem com umidades extremas. O aumento da WHC em função do aumento da umidade pode ter ocorrido devido a esse maior trabalho mecânico da extrusora, resultando em extrusados com maior porosidade, com mais espaços internos em sua estrutura, levando a uma maior retenção de água.

Um novo delineamento tendo umidade de 40% como ponto central não foi construído devido à dificuldade em se extrusar materiais protéicos com umidades tão altas. Esse fato já é bem descrito na literatura (CAMIRE, 1991; REIFSTECK e JEON, 2000) e a extrusora INBRAMAQ, modelo RXPQ Labor 24, não opera de maneira diferente. Por isso, optou-se por analisar outras propriedades funcionais como variáveis dependentes para o delineamento experimental 2, como capacidade

de emulsificação, estabilidade da emulsão, solubilidade da proteína e hidrofobicidade da superfície protéica.

Aparentemente, houve queda na WHC do rúmen e do concentrado protéico de soja após a extrusão, embora não tenha sido possível verificar diferenças estatísticas. Esta propriedade funcional depende do número de cargas e grupos polares ao longo da cadeia protéica, pois como estes ficam voltados para a superfície aquosa, maior a solubilidade da proteína e sua capacidade de reter água (KINSELLA, 1976; VACLAVIK, 1998). A desnaturação protéica causada durante a extrusão pode ter levado à exposição de aminoácidos hidrofóbicos, resultando em uma redução da interação da proteína com a água, levando a uma menor retenção da mesma (CAMIRE et al., 1990).

De um modo geral, após todas as etapas da Metodologia de Superfície de Resposta (delineamento 1, caminho de máxima inclinação e delineamento 2), observou-se uma piora dos valores de WHC das amostras. Mas todas essas etapas foram feitas da melhor forma e de maneira correta, seguindo os passos descritos por BARROS NETO (2003).

Comparando-se os valores de WHC para um ponto em comum nos dois delineamentos e no caminho de máxima inclinação (35% de umidade e 150°C de temperatura), tem-se o seguinte:

- $E_1 = 3,12\text{mL água/g amostra e } 3,89\text{mL água/g proteína}$ (Tabela 2.3);
- caminho de máxima inclinação = $2,85\text{mL água/g amostra e } 3,49\text{mL água/g proteína}$ (Tabela 2.6);
- $E_2 = 2,71\text{mL água/g amostra e } 3,33\text{mL água/g proteína}$ (ponto 6 da triplicata do ponto central; Tabela 2.9).

Essa queda nos resultados pode ser devido às umidades reais das farinhas antes de serem extrusadas: 38,10% em E_1 ; 34,86% no caminho de máxima inclinação; e 37,78% em E_2 . Mas mesmo assim, as umidades em E_1 e E_2 estiveram muito próximas e os resultados de WHC foram bem diferentes. Isso mostra o quanto pode ser instável o processo de extrusão, talvez mais na extrusora utilizada neste trabalho, dificultando um caráter preditivo nesse tipo de processo. Também pode ser que aqueles resultados de WHC não sejam estatisticamente diferentes entre si, mas como não pôde ser feito o teste-t para se verificar isso, fica uma lacuna nessa discussão.

Comparando o rúmen bovino com o concentrado protéico de soja, conclui-se que, antes da extrusão, o CPS retinha mais água que o RB. Mas a WHC do extrusado de RB, em mL água/g amostra, mostrou-se similar à WHC do extrusado de CPS dependendo das condições de extrusão (Tabela 2.9). Isso aconteceu porque o CPS apresentou menor teor protéico que o rúmen, aproximando os valores quando a WHC foi expressa em mL água/g amostra. É importante mencionar que o CPS ainda possui fibras em sua composição, compostos estes que também podem ter retido água durante a análise. Por isso, seus valores de WHC, em mL água/g proteína, podem estar superestimados, já que não apenas a proteína pode ter retido água, mas as fibras também.

A farinha de RB também apresentou maior WHC em comparação com o extrusado de CPS para “mL água/g amostra”, mas não em base protéica.

Portanto, considerando o extrusado de rúmen bovino, ou até sua farinha, um substituto do extrusado de concentrado protéico de soja na formulação de alimentos, pode-se concluir que os dois materiais serão igualmente eficientes no tocante à capacidade de retenção de água, não havendo “perda” na qualidade do produto final em função dessa substituição.

2.4.3.1 Capacidade de emulsificação (EC)

Na Tabela 2.12 são apresentados os resultados da capacidade de emulsificação da farinha de rúmen, de cada ensaio do delineamento experimental 2 e do concentrado protéico de soja (farinha e extrusado).

Tabela 2.12: Capacidade de emulsificação (EC) da farinha de rúmen bovino (RB), dos extrusados do delineamento experimental 2 (E₂) e do concentrado protéico de soja (CPS) (farinha e extrusado).

	EC em mL óleo/g amostra (dp)*	EC em mL óleo/g proteína (dp)*
Farinha de RB	30,20 (1,30) ^a	37,46 (1,61) ^a
Ensaio		
1	38,09 (2,50) ^{ab}	48,61 (3,19) ^a
2	39,09 (0,93) ^{ab}	49,13 (1,16) ^a
3	60,35 (2,42) ^c	77,08 (3,09) ^c
4	38,55 (2,98) ^{ab}	49,53 (3,83) ^{ab}
5	108,69 (9,43) ^{ef}	134,22 (11,65) ^e
6	87,64 (6,18) ^d	106,89 (7,53) ^d
7	89,63 (6,67) ^d	111,48 (8,29) ^{de}
8	94,13 (5,04) ^{de}	127,17 (6,81) ^{de}
9	65,93 (3,58) ^c	74,76 (4,06) ^{bc}
10	113,26 (3,99) ^f	133,00 (4,68) ^e
11	108,43 (4,13) ^{ef}	122,92 (4,68) ^{de}
Farinha de CPS	50,83 (1,07) ^{bc}	79,77 (1,68) ^c
Extrusado de CPS	112,43 (6,79) ^f	202,72 (12,24) ^f

* Letras iguais na mesma coluna indicam médias estatisticamente iguais entre si ($p < 0,05$).

Foram construídos os três modelos para as duas apresentações da variável resposta (mL óleo/g amostra e mL óleo/g proteína): ajuste linear com 7 ensaios, ajuste linear com 11 ensaios e ajuste quadrático.

EC em mL óleo/g amostra

▪ ajuste linear com 7 ensaios: não houve influência das variáveis independentes sobre a variável resposta, a regressão não foi significativa ($F_{\text{calc}} < F_{2;4;0,05}$) e não houve falta de ajuste ($F_{\text{calc}} < F_{2;2;0,05}$);

- ajuste linear com 11 ensaios: não houve influência das variáveis independentes sobre a variável resposta, a regressão não foi significativa ($F_{\text{calc}} < F_{2;8;0,05}$) e não houve falta de ajuste ($F_{\text{calc}} < F_{6;2;0,05}$);

- ajuste quadrático: não houve influência das variáveis independentes sobre a variável resposta, a regressão não foi significativa ($F_{\text{calc}} < F_{5;5;0,05}$) e não houve falta de ajuste ($F_{\text{calc}} < F_{3;2;0,05}$).

EC em mL óleo/g proteína

- ajuste linear com 7 ensaios: não houve influência das variáveis independentes sobre a variável resposta, a regressão não foi significativa ($F_{\text{calc}} < F_{2;4;0,05}$) e não houve falta de ajuste ($F_{\text{calc}} < F_{2;2;0,05}$);

- ajuste linear com 11 ensaios: não houve influência das variáveis independentes sobre a variável resposta, a regressão não foi significativa ($F_{\text{calc}} < F_{2;8;0,05}$) e não houve falta de ajuste ($F_{\text{calc}} < F_{6;2;0,05}$);

- ajuste quadrático: não houve influência das variáveis independentes sobre a variável resposta, a regressão não foi significativa ($F_{\text{calc}} < F_{5;5;0,05}$) e não houve falta de ajuste ($F_{\text{calc}} < F_{3;2;0,05}$).

Nenhuma das regressões foi significativa, embora tenha havido uma grande variação de resultado entre os ensaios.

A extrusão aumentou a capacidade de emulsificação do rúmen, exceto nas condições 1, 2 e 4, e também do concentrado protéico de soja. Era de se esperar que após a extrusão ocorresse um aumento da EC. Durante esse processo, os aumentos da temperatura e cisalhamento são responsáveis pelo enfraquecimento das estruturas terciária e quaternária das proteínas, e as moléculas desdobradas se alinham com o fluxo em direção à saída da extrusora (CAMIRE, 1991). A habilidade da proteína em perder sua estrutura terciária é normalmente vista como um atributo positivo para um emulsificante, pois é esperado que ela ocupe um maior volume na interface, emulsificando, dessa forma, mais gordura (HILL, 1998).

As sulfidrila livres de uma proteína são oxidadas durante um processo térmico para formar pontes dissulfeto inter e intramoleculares, ocorrendo também reações de troca sulfidril-dissulfeto entre proteínas, causando um “cross-linking” protéico.

Essas reações sucessivas de desdobramento/polimerização aumentam significativamente o tamanho das proteínas, aumentando também suas propriedades reológicas (DAMODARAN, 1996).

Em relação aos extrusados do delineamento 2, as maiores capacidades de emulsificação, com exceção do ensaio 8, estiveram relacionadas com a umidade central de 35%.

Antes da extrusão dos materiais, o CPS emulsificou bem mais óleo que o RB. Mas a EC do extrusado de RB, em mL óleo/g amostra, foi igual em algumas condições de extrusão (ensaios 5, 10 e 11) à EC do extrusado de CPS, sendo a explicação a mesma dada para a capacidade de retenção de água: o CPS apresentou menor teor protéico que o rúmen, aproximando os valores quando a EC foi expressa em mL óleo/g amostra. Portanto, pode-se concluir, em relação à capacidade de emulsificação, que não haverá “perda” na qualidade do produto final em função da substituição do extrusado de concentrado protéico de soja pelo extrusado de rúmen bovino na formulação de produtos cárneos.

2.4.3.2 Estabilidade da emulsão (ES)

A Tabela 2.13 apresenta os valores de estabilidade de emulsão da farinha de rúmen, de cada ensaio do delineamento experimental 2 e do concentrado protéico de soja (farinha e extrusado).

Tabela 2.13: Estabilidade da emulsão (ES) da farinha de rúmen bovino (RB), dos extrusados do delineamento experimental 2 (E₂) e do concentrado protéico de soja (CPS) (farinha e extrusado).

	ES em % (dp)*
Farinha de RB	80,36 (0,00) ^{bcd}
Ensaio	
1	77,68 (1,26) ^b
2	83,04 (1,26) ^{cde}
3	88,39 (1,26) ^f
4	87,95 (0,63) ^f
5	89,29 (2,53) ^f
6	88,39 (1,26) ^f
7	86,61 (1,26) ^{ef}
8	82,14 (0,00) ^{bcde}
9	79,46 (1,26) ^{bc}
10	80,36 (0,00) ^{bcd}
11	78,57 (0,00) ^{bc}
Farinha de CPS	62,50 (0,00) ^a
Extrusado de CPS	84,82 (1,26) ^{def}

* Letras iguais na mesma coluna indicam médias estatisticamente iguais entre si ($p < 0,05$).

Foram construídos os três modelos para a variável resposta estabilidade da emulsão:

- ajuste linear com 7 ensaios: não houve influência das variáveis independentes sobre a variável resposta, a regressão não foi significativa ($F_{\text{calc}} < F_{2;4;0,05}$) e não houve falta de ajuste ($F_{\text{calc}} < F_{2;2;0,05}$);
- ajuste linear com 11 ensaios: não houve influência das variáveis independentes sobre a variável resposta, a regressão não foi significativa ($F_{\text{calc}} < F_{2;8;0,05}$) e não houve falta de ajuste ($F_{\text{calc}} < F_{6;2;0,05}$);

▪ ajuste quadrático: houve tendência de influência do termo linear da umidade ($p=0,079$) e do termo quadrático da temperatura ($p=0,088$) sobre a variável resposta, mas a regressão não foi significativa ($F_{\text{calc}} < F_{5;5;0,05}$) e não houve falta de ajuste ($F_{\text{calc}} < F_{3;2;0,05}$).

Nenhuma das regressões foi significativa, não havendo influência das condições de extrusão sobre a estabilidade da emulsão dos extrusados.

A extrusão reduziu a estabilidade da emulsão nas condições de 3 a 7, sendo que as demais apresentaram estabilidade estatisticamente igual à farinha. Também houve perda na estabilidade da emulsão por parte do concentrado protéico de soja após a extrusão.

Para uma melhor estabilidade da proteína na interface óleo-água de uma emulsão, é necessário um balanço hidrofílico-hidrofóbico ótimo para justamente manter a proteína em condições necessárias para uma melhor capacidade emulsificante (DAMODARAN, 1996). No caso do rúmen e da soja, houve mudanças deletérias na relação hidrofiliicidade-hidrofobicidade, resultando em menor estabilidade da emulsão.

Apesar da melhor estabilidade da emulsão para a farinha de CPS, tanto a farinha e extrusados de rúmen quanto o extrusado de soja apresentaram semelhanças quanto a essa propriedade funcional.

2.4.3.3 Solubilidade da proteína (s)

A Tabela 2.14 apresenta os valores da solubilidade protéica da farinha de rúmen, de cada ensaio do delineamento experimental 2 e do concentrado protéico de soja (farinha e extrusado).

Tabela 2.14: Solubilidade (s) da proteína da farinha de rúmen bovino (RB), dos extrusados do delineamento experimental 2 (E₂) e do concentrado protéico de soja (CPS) (farinha e extrusado).

	s (%) (dp)*
Farinha de RB	1,99 (0,10) ^a
Ensaio	
1	5,63 (0,17) ^{cd}
2	8,26 (0,31) ^{ef}
3	8,02 (0,41) ^{ef}
4	5,19 (0,25) ^{bcd}
5	4,71 (0,17) ^{bc}
6	4,49 (0,20) ^{bc}
7	6,74 (0,25) ^{de}
8	4,99 (0,03) ^{bc}
9	5,92 (0,10) ^{cd}
10	5,97 (0,11) ^{cd}
11	4,05 (0,21) ^b
Farinha de CPS	21,12 (0,85) ^g
Extrusado de CPS	9,34 (0,92) ^f

* Letras iguais na mesma coluna indicam médias estatisticamente iguais entre si ($p < 0,05$).

Foram construídos os três modelos para a variável resposta solubilidade da proteína:

- ajuste linear com 7 ensaios: não houve influência das variáveis independentes sobre a variável resposta, a regressão não foi significativa ($F_{\text{calc}} < F_{2;4;0,05}$) e não houve falta de ajuste ($F_{\text{calc}} < F_{2;2;0,05}$);
- ajuste linear com 11 ensaios: não houve influência das variáveis independentes sobre a variável resposta, a regressão não foi significativa ($F_{\text{calc}} < F_{2;8;0,05}$) e não houve falta de ajuste ($F_{\text{calc}} < F_{6;2;0,05}$);

▪ ajuste quadrático: não houve influência das variáveis independentes sobre a variável resposta, a regressão não foi significativa ($F_{\text{calc}} < F_{5;5;0,05}$) e não houve falta de ajuste ($F_{\text{calc}} < F_{3;2;0,05}$).

Nenhuma das regressões foi significativa, não havendo influência das condições de extrusão sobre a solubilidade da proteína nos extrusados.

Observou-se um aumento na solubilidade da proteína do rúmen após a extrusão, ao contrário do extrusado de concentrado protéico de soja que teve sua solubilidade diminuída.

O resultado para o CPS é coerente com a literatura que mostra uma redução da solubilidade protéica após a extrusão, pois com a desnaturação protéica causada durante este processo, grupos hidrofóbicos são expostos, resultando em uma diminuição da solubilidade em soluções aquosas (KINSELLA, 1976; HAGER, 1984; HORVÁTH et al., 1989; CAMIRE et al., 1990). Além disso, interações proteína-proteína também são formadas durante a extrusão, levando à redução da solubilidade protéica (CAMIRE, 1991; ARÊAS, 1992).

Já para o rúmen, não está claro porque houve aumento na solubilidade. Não se pode dizer que durante a extrusão ocorreu uma reestruturação protéica com a interiorização de aminoácidos hidrofóbicos, reduzindo assim a solubilidade, porque aparentemente houve aumento na hidrofobicidade da superfície protéica após esse processo (item 2.4.3.4). Por sua vez, DAMODARAN (1996) relatou que a solubilidade de uma proteína está mais relacionada à natureza de sua superfície e à termodinâmica de suas interações com o meio no qual ela está solubilizada do que com a hidrofobicidade média e a frequência de carga da molécula inteira.

Talvez o comportamento diferenciado para o rúmen seja o fato desse material ser de origem animal, já que BASTOS e ARÊAS (1990) também relataram aumento da solubilidade da proteína após extrusão de pulmão bovino.

Comparando o rúmen com a soja em relação à solubilidade protéica, a soja apresenta mais proteína solúvel do que o rúmen, mesmo com a redução da solubilidade na soja e aumento no rúmen após a extrusão. Apesar disso, parece que essa diferença na solubilidade não afetou as demais propriedades funcionais do rúmen, como capacidade de retenção de água e capacidade de emulsificação, já que

quando comparados os extrusados de rúmen com o de soja, essas propriedades se mostraram semelhantes.

2.4.3.4. Hidrofobicidade da superfície protéica (So)

Esta propriedade funcional, representada como um índice da hidrofobicidade da superfície protéica, é obtida através do coeficiente de inclinação da reta resultante de uma análise de regressão linear.

A Tabela 2.15 apresenta os valores da hidrofobicidade da superfície protéica da farinha de rúmen, de cada ensaio do delineamento experimental 2 e do concentrado protéico de soja (farinha e extrusado).

Tabela 2.15: Hidrofobicidade da superfície protéica da farinha de rúmen bovino (RB), dos extrusados do delineamento experimental 2 (E₂) e do concentrado protéico de soja (CPS) (farinha e extrusado).

	Equação da regressão	R²
Farinha de RB	1.049,2x + 461,09	0,9851
Ensaio		
1	3.229,6x + 785,54	0,9571
2	2.738,1x + 675,49	0,9361
3	1.307,7x + 881,74	0,9984
4	3.270,3x + 612,46	0,9776
5	2.459x + 625,42	0,9557
6	1.881,7x + 633,71	0,9279
7	2.766,5x + 621,6	0,9762
8	3.148,1x + 822,14	0,9726
9	2.607,8x + 546,98	0,931
10	3.533,9x + 619,81	0,9063
11	2.839,2x + 472,95	0,9592
Farinha de CPS	3.271,8x + 557,45	0,913
Extrusado de CPS	3.405,7x + 598,07	0,9077

Obs. Não foi feita análise estatística comparando os resultados essa análise foi realizada uma única vez.

Foram construídos os três modelos para a variável resposta hidrofobicidade da superfície protéica:

- ajuste linear com 7 ensaios: não houve influência das variáveis independentes sobre a variável resposta, a regressão não foi significativa ($F_{\text{calc}} < F_{2;4;0,05}$) e não houve falta de ajuste ($F_{\text{calc}} < F_{2;2;0,05}$);
- ajuste linear com 11 ensaios: não houve influência das variáveis independentes sobre a variável resposta, a regressão não foi significativa ($F_{\text{calc}} < F_{2;8;0,05}$) e não houve falta de ajuste ($F_{\text{calc}} < F_{6;2;0,05}$);

▪ ajuste quadrático: não houve influência das variáveis independentes sobre a variável resposta, a regressão não foi significativa ($F_{\text{calc}} < F_{5;5;0,05}$) e não houve falta de ajuste ($F_{\text{calc}} < F_{3;2;0,05}$).

Nenhuma das regressões foi significativa, não havendo influência das condições de extrusão sobre a hidrofobicidade da superfície protéica nos extrusados.

Aparentemente houve aumento da hidrofobicidade após a extrusão para o rúmen, embora não tenha sido possível verificar diferenças significativas. Embora muitos resíduos hidrofóbicos estejam localizados no interior das proteínas, alguns grupos hidrofóbicos podem estar expostos na superfície ou em “fendas” moleculares, especialmente em ligações de proteínas com ácidos graxos e em proteínas de membrana. Além disso, grupos hidrofóbicos podem ficar expostos na superfície da proteína após sua desnaturação (KATO e NAKAI, 1980; DAMODARAN, 1996).

Em relação ao concentrado protéico de soja, o aumento observado após a extrusão provavelmente não foi estatisticamente significativo.

2.4.4 CORRELAÇÕES ENTRE AS PROPRIEDADES FUNCIONAIS

As propriedades funcionais não devem ser vistas isoladamente, já que uma pode ser influenciada por outra. A Tabela 2.16 mostra as correlações entre todas as propriedades funcionais analisadas no delineamento experimental 2.

Tabela 2.16: Correlações entre as propriedades funcionais referentes ao delineamento experimental 2.

	EC (mL óleo/g amostra)	EC (mL óleo/g proteína)	ES	s	So
WHC (mL água/g amostra)	-0,106* 0,756**	-0,140* 0,682**	0,628* 0,038**	-0,010* 0,976**	-0,657* 0,028**
WHC (mL água/g proteína)	-0,336* 0,313**	-0,264* 0,433**	0,852* 0,001**	0,136* 0,691**	-0,580* 0,061**
EC (mL óleo/g amostra)	-	-	0,015* 0,965**	-0,495* 0,122**	0,037* 0,915**
EC (mL óleo/g proteína)	-	-	0,079* 0,818**	-0,479* 0,136**	0,029* 0,933**
ES	-	-	-	0,113* 0,742**	-0,562* 0,072**
s	-	-	-	-	-0,282* 0,401**

* correlação de Pearson; ** n.s. (bicaudal)

Obs.: WHC = capacidade de retenção de água; EC = capacidade de emulsificação; ES = estabilidade da emulsão; s = solubilidade da proteína;

So = hidrofobicidade da superfície protéica.

A correlação positiva entre a capacidade de retenção de água e a estabilidade da emulsão pode ser devido a uma maior interação da proteína com a água, levando a maior retenção desse solvente em sua molécula e também a uma maior adsorção da proteína na interface óleo-água, reduzindo a tensão interfacial da emulsão e aumentando sua estabilidade.

É coerente uma correlação negativa entre a capacidade de retenção de água e a hidrofobicidade da superfície protéica, pois quando aminoácidos hidrofóbicos estão mais interiorizados na molécula protéica, os hidrofílicos ficam mais expostos na superfície, aumentando a capacidade de retenção de água pela proteína.

É bem documentada na literatura a correlação positiva entre solubilidade da proteína e sua capacidade de emulsificação. Geralmente, proteínas altamente solúveis são ótimos agentes emulsificantes e proteínas com solubilidade baixa possuem propriedades funcionais limitadas e, conseqüentemente, usos limitados (KINSELLA, 1979; DAMODARAN, 1996; HALL, 1996). Para o rúmen bovino, não houve correlação entre essas duas propriedades funcionais, embora ambas tenham aumentado significativamente após a extrusão. Segundo DAMODARAN (1996), havendo um controle de temperatura durante a desnaturação protéica que não resulte em insolubilização da proteína, como foi o caso do rúmen, pode ocorrer um aumento das propriedades emulsificantes dessa proteína. Esse resultado tem sido atribuído a um aumento da superfície hidrofóbica da proteína, o que foi observado neste trabalho, já que proteínas hidrofóbicas diminuem a tensão interfacial da emulsão, melhorando as propriedades emulsificantes.

2.4.5 ESTABELECIMENTO DA MELHOR CONDIÇÃO DE EXTRUSÃO DO RÚMEN BOVINO

Objetivou-se estabelecer as melhores condições de extrusão do rúmen bovino para obtenção de um extrusado com adequadas propriedades funcionais. A aplicação da Metodologia de Superfície de Resposta mostrou que a capacidade de retenção de água (mL água/g proteína) aumentou com o aumento da variável independente umidade, embora não tenha sido possível construir outro delineamento experimental devido às novas condições de umidade dificultarem o processo de extrusão. Além disso, a avaliação das outras propriedades funcionais mostrou inconstância entre as

condições testadas, ou seja, nenhuma condição de extrusão apresentou sempre o melhor resultado para as variáveis dependentes. Por conta disso, decidiu-se manter o ponto central do delineamento experimental 2 para extrusão do rúmen, já que nessa umidade e temperatura, os extrusados apresentaram boas propriedades funcionais.

Portanto, foram estabelecidas as seguintes condições de extrusão do rúmen bovino:

- ⇒ três camisas helicoidais;
- ⇒ rosca de passo largo, de uma saída, com taxa de compressão de 3,6:1 e relação comprimento/diâmetro (L/D) de 15,5:1;
- ⇒ sub-trafila de orifícios de 5,3mm;
- ⇒ trafilas de um orifício de 5mm;
- ⇒ temperaturas (zona 1 a 5, respectivamente): 30, 60, 80, 130 e 150°C;
- ⇒ velocidade de rotação da rosca: 263rpm (100% da rotação máxima);
- ⇒ velocidade de alimentação: 90g/min;
- ⇒ umidade: 35% (base seca).

2.5 CONCLUSÃO

A capacidade de emulsificação, a solubilidade protéica e a hidrofobicidade da superfície protéica do rúmen bovino aumentaram após a extrusão, sendo que a capacidade de retenção de água e a estabilidade da emulsão foram reduzidas. Os efeitos da extrusão sobre as propriedades funcionais do rúmen e do concentrado protéico de soja foram semelhantes, com exceção da solubilidade que teve aumento para o rúmen e redução para a soja.

A umidade mostrou ter influência sobre a variável resposta capacidade de retenção de água quando expressa em mL de água por grama de proteína. Já para as demais propriedades funcionais, não houve influência das condições de extrusão sobre as mesmas.

Dentre as propriedades funcionais do rúmen extrusado, houve correlação positiva entre a capacidade de retenção de água (mL de água/g de amostra e mL de água/g de proteína) e estabilidade da emulsão, e correlação negativa entre a capacidade de retenção de água (mL de água/g de amostra) e a hidrofobicidade da superfície protéica.

Dentre as variáveis independentes testadas para a extrusão do rúmen bovino, estabeleceram-se 35% de umidade (base seca) e 150°C de temperatura de processamento como a melhor condição para obtenção de um extrusado com boas propriedades funcionais.

2.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[AOAC] Association Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. Washington; 1990. p. 1098-9.

Arêas JAG. Extrusion of food proteins. Crit Rev Food Sci Nutr. 1992;32:365-92.

Barros-Neto B, Scarminio IS, Bruns RE. Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria. 2ª ed. Campinas: Ed. da UNICAMP; 2003.

Bastos DHM, Arêas JAG. Lung proteins: effect of defatting with several solvents and extrusion cooking on some functional properties. Meat Sci. 1990;28:223-35.

Camire ME. Protein functionality modification by extrusion cooking. J Am Oil Chemists' Soc. 1991;68:200-5.

Camire ME, Camire A, Krumhar K. Chemical and nutritional changes in foods during extrusion. Food Sci Nutr. 1990;29:35-56.

Damodaran S. Functional properties. In: Nakai S, Modler HW. Food proteins: properties and characterization. New York: Wiley – VCH; 1996. p. 167-234.

Hager DF. Effects of extrusion upon soy concentrate solubility. J Agric Food Chem. 1984;32:293-6.

Hall GM. Basic concepts. In: Hall GM. Methods of testing protein functionality. London: Blackie Academic & Professional; 1996. p. 1-10.

Hill SE. Emulsions and foams. In: Hill SE, Ledward DA, Mitchell JR. Functional properties of food macromolecules. Second edition. Gaithersburg: Aspen Publishers, Inc.; 1998. p. 302-34.

Horváth E, Petres J, Gelencsér É, Czukor B. Effect of extrusion temperature on physico-chemical properties and biological value of soybean-protein. *Acta Alimentaria*. 1989;18:299-311.

Inklaar PA, Fortuin J. Determining the emulsifying and emulsion stabilizing capacity of protein meat additives. *Food Technol*. 1969;23:103-7.

Kato A, Nakai S. Hydrophobicity determined by a fluorescence probe method and its correlation with surface properties of proteins. *Biochim Biophys Acta*. 1980;624:13-20.

Kinsella JE. Functional properties of proteins in food: a survey. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*. 1976;7:219-80.

Kinsella JE. Functional properties of soy proteins. *J Am Oil Chemists' Soc*. 1979;56:242-58.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Lewis Farr A, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951;193:265-75.

Quinn JR, Paton D. A practical measurement of water hydration capacity of protein materials. *Cereal Chem*. 1979;56:38-9.

Reifsteck BM, Jeon IJ. Retention of volatile flavors in confections by extrusion processing. *Food Rev Int*. 2000;16:435-52.

Vaclavik VA. *Essentials of food science*. Gaithersburg: Aspen Publication; 1998.

Wagner JR, Sorgentini DA, Añón MC. Relation between solubility and surface hydrophobicity as an indicator of modifications during preparation processes of commercial and laboratory-prepared soy protein isolates. *J Agric Food Chem*. 2000;48:3159-65.

Webb NB, Ivey FJ, Craig HB, Jones VA, Monroe RJ. The measurement of emulsifying capacity by electrical resistance. *J Food Sci.* 1970;35:501-14.

CAPÍTULO 3 – VALOR NUTRITIVO DO RÚMEN BOVINO

3.1 INTRODUÇÃO

A indústria de alimentos utiliza proteínas como ingredientes alimentares devido ao seu valor nutritivo, dentre outros motivos. Por isso, além de adequadas propriedades funcionais, a qualidade nutritiva de uma proteína se faz necessária quando o objetivo é sua aplicação em alimentos.

A qualidade nutritiva de uma proteína pode ser avaliada a partir de seu escore de aminoácidos corrigido pela sua digestibilidade real. Esse parâmetro constitui uma informação suficiente sobre a qualidade nutritiva de uma proteína, pois leva em consideração, diretamente, as necessidades de aminoácidos do ser humano e a real quantidade de cada aminoácido que será aproveitada pelo organismo.

O rúmen bovino, após moído e liofilizado, apresenta teor protéico em torno de 85% em base seca (CONTI e ARÊAS, 2001), representando uma proteína em potencial a ser aplicada em alimentos. Além disso, o rúmen possui certa quantidade de lipídeos que devem ser extraídos principalmente por uma questão tecnológica, mas também para resultar em um produto de melhor valor nutritivo. Por isso, sua composição centesimal e sua qualidade lipídica são parâmetros importantes a serem analisados.

3.2 OBJETIVO

3.2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliação da composição nutricional do rúmen bovino.

3.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Análise da composição centesimal, colesterol e perfil de ácidos graxos do rúmen bovino.

Análise da qualidade nutritiva da proteína de rúmen bovino, por meio do perfil de aminoácidos e da digestibilidade real.

3.3 METODOLOGIA

3.3.1 RÚMEN BOVINO

O rúmen bovino, fornecido pela Sadia S/A, foi retirado de animais saudáveis em condições próprias para consumo humano e inspecionado pelo SIF (Serviço de Inspeção Federal). Foi esvaziado, lavado, escaldado para remoção de sua mucosa negra, moído e congelado a -30°C imediatamente após o abate. Posteriormente, foi liofilizado em empresa tradicional de secagem de alimentos (Nutribrás S/A - SP).

3.3.2 DESENGORDURAMENTO A FRIO DO RÚMEN BOVINO

O rúmen bovino, após liofilização, foi desengordurado a frio com uma mistura de hexano:etanol (2:1). Para cada 1kg de rúmen utilizaram-se 6L dessa mistura de solventes.

O rúmen foi deixado em repouso com os solventes por dezessete horas em temperatura ambiente. Agitou-se essa mistura durante três horas com o auxílio de um agitador mecânico, com velocidade de rotação de, aproximadamente, 2.800rpm. Utilizando-se um pano como filtro, separou-se o solvente do rúmen e o processo foi repetido mais uma vez com solventes novos.

A farinha desengordurada foi deixada em estufa ventilada à 65°C por cerca de 22 horas para a evaporação completa dos solventes.

Foram desengordurados 20kg de rúmen e os solventes foram descartados.

3.3.3 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DO RÚMEN BOVINO

Foi determinada a composição centesimal do rúmen antes e após o desengorduramento e após a extrusão utilizando os métodos abaixo:

- umidade por secagem a 105°C (AOAC, 1990);
- proteína por micro-Kjeldhal, com fator de conversão 6,25 (AOAC, 1990);
- lípides através do método de BLIGH e DYER (1959);
- cinzas através de incineração em mufla a 550°C (AOAC, 1990);
- carboidratos por diferença.

3.3.4 ANÁLISE DE COLESTEROL E DO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS

Foram analisados colesterol e perfil de ácidos graxos antes e após o desengorduramento para avaliar a eficácia do mesmo.

Para a análise de colesterol (feita em triplicata), primeiramente foi feita uma extração de lipídeos através do método de BLIGH e DYER (1959), com saponificação prévia das amostras e extração do colesterol por hexano de acordo com BOHAC et al. (1988). A leitura do colesterol foi obtida por CLAE em equipamento Shimadzu, com controlador SCL-10A vp, bomba quaternária, degaseificador, detector UV/visível com varredura da marca SPD-M10A, válvula de injeção manual Rheodyne, comprimento de onda de 206nm e coluna cromatográfica de fase normal Varian, marca Microsorb-MUSI (25cm de comprimento e 4,6mm de diâmetro). Utilizou-se o software Class-VP para monitoramento da análise. A fase móvel empregada constituiu-se de hexano e isopropanol (97:3), com fluxo de 1mL/min. Foram injetados 20µL da amostra. Os pontos da curva-padrão foram de 1,86 a 14,40µg/20µL.

Para a análise do perfil de ácidos graxos (feita uma única vez), foi feita a extração dos lipídeos em coluna seca (MAXWELL et al., 1980; MARMER e MAXWELL, 1981), utilizando-se, como solventes, diclorometano e metanol na proporção de 9:1. Os lípides no extrato, após coluna seca, foram saponificados previamente e esterificados com o uso de BF₃ (MORRISON e SMITH, 1964). Posteriormente, os ácidos graxos foram separados por cromatografia gasosa, em equipamento “Chrompack” CP9002, acoplado a um computador equipado com o software Maestro I (versão 2.3), com coluna capilar de sílica fundida “CP-SIL 88” (50m de comprimento, 0,25mm de diâmetro interno e espessura do filme de 0,2µm; marca Varian), hidrogênio como gás de arraste a 1,50mL/min, injetor “splitter” a 270°C, com razão de “split” de 1:67, detector FID a 300°C e programação de temperatura tal que a temperatura inicial foi de 100°C, com elevação de 5°C/min até 240°C. O volume injetado foi de 2µL.

Foi utilizado o Lipid Standard SIGMA® – Fatty acid methyl ester mixtures # 189-19 e a identificação dos ácidos graxos foi feita por comparação entre o tempo de

retenção corrigido de ésteres metílicos dos ácidos graxos do padrão com os das amostras.

3.3.5 EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA

Foi utilizada extrusora de rosca única com capacidade de produção semi-industrial (modelo RXPQ Labor 24, INBRAMAQ - Indústria de Máquinas Ltda, Ribeirão Preto - SP).

As condições de extrusão do rúmen bovino foram:

- três camisas helicoidais;
- rosca de passo largo, de uma saída, com taxa de compressão de 3,6:1 e relação comprimento/diâmetro (L/D) de 15,5:1;
- sub-trafila de orifícios de 5,3mm;
- trafilas de um orifício de 5mm;
- temperaturas (zona 1 a 5, respectivamente): 30, 60, 80, 130 e 150°C;
- velocidade de rotação da rosca: 263rpm (100% da rotação máxima);
- velocidade de alimentação: 90g/min;
- umidade da amostra: 35% (base seca).

A umidade foi ajustada para o valor desejado utilizando-se água destilada. A farinha a ser extrusada foi armazenada em saco plástico à temperatura de 5 a 8°C por 48 horas para garantia de homogeneidade da amostra. Antes do início da extrusão, aguardou-se que a farinha atingisse a temperatura ambiente e seu teor de umidade foi analisado após a extrusão.

No início da extrusão foi utilizado griz de milho (milho moído) para estabilização da máquina.

3.3.6 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE NUTRICIONAL PROTÉICA

3.3.6.1 Análise de aminoácidos

As amostras de farinha e extrusado de rúmen foram enviadas à empresa LabTec (Guabi, Campinas/SP).

Primeiramente as amostras foram hidrolisadas com HCl 6N e a separação e quantificação dos aminoácidos foram realizadas por cromatografia de troca iônica

com derivatização por ninidrina em um analisador de aminoácido (Hitachi, modelo L8500A) (SPACKMAN et al., 1958). Cistina e metionina foram determinadas através de oxidação prévia com ácido perbórmico e hidrólise com HCl 6N (SPINDLER et al., 1984); o triptofano foi determinado após hidrólise com hidróxido de lítio 4N. A análise completa, enviada pela empresa acima, consta como Anexo 2.

A quantidade obtida de cada aminoácido foi dividida pelo seu valor recomendado para pré-escolares, obtendo-se, assim, a razão de cada um e, conseqüentemente, o escore de aminoácidos (FAO/WHO, 1991).

3.3.6.2 Ensaio biológico

Para avaliação da digestibilidade real da proteína do rúmen bovino (farinha e extrusado), foi realizado ensaio biológico de acordo com MCDONOUGH et al. (1990), trabalho este recomendado pela FAO/WHO (1991). Foram utilizados ratos por apresentarem similaridades aos seres humanos na capacidade de digestão dos alimentos.

Localização do experimento

O estudo foi desenvolvido nas instalações do Biotério do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo.

A sala de experimentação foi climatizada em 22 a 24°C e período noturno de 12 horas.

Animais

Foram utilizados trinta ratos machos da linhagem *Wistar* (*Rattus norvegicus*, variedade albinus, rodentia, mammalia), recém desmamados (20 dias), com peso médio de 40g, provenientes do Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica/UNICAMP.

Alimentação

Todas as rações experimentais foram elaboradas de acordo com MCDONOUGH et al. (1990), contendo, com exceção da aprotéica, aproximadamente 10% de proteína em base seca. Essa proteína foi proveniente exclusivamente do rúmen bovino (farinha ou extrusado), e na ração aprotéica, a proteína foi substituída por amido de milho.

Água foi fornecida *ad libitum* e as dietas experimentais foram restringidas a 15g por dia.

Experimento

Os animais, ao chegarem ao local do experimento, foram pesados em balança semi-analítica. Foram então acondicionados em gaiolas individuais, com maravalha, e alimentados durante três dias com ração comercial Nuvilab CR-1 autoclavável (Nuvital), para adaptação às gaiolas e condições ambientais. As rações foram restringidas a 15g por dia.

No 4º dia de experimento (1º dia de ração experimental), os animais foram pesados novamente, pois foi dado início às rações experimentais. Eles foram divididos randomicamente em três grupos de dez, sendo que a diferença entre as médias de peso entre os grupos não superasse 5g. A partir desse dia até o final do experimento, os animais foram alimentados com as rações experimentais (15g por dia), sendo que a cada grupo foi oferecida uma das três rações seguintes: aprotéica, farinha de rúmen bovino e extrusado de rúmen bovino. O grupo alimentado com ração aprotéica foi utilizado como controle para descontar o nitrogênio intrínseco metabolizado pelo organismo.

A partir do 6º dia de experimento, as gaiolas foram adaptadas para coleta das fezes (Figura 3.1), sendo que os animais ficaram no primeiro piso, e o segundo piso permitia a passagem da urina e retenção das fezes. Nesse período a maravalha foi retirada.

Figura 3.1: Gaiola adaptada para coleta de fezes.

No 7º dia (4º dia de ração experimental), os animais foram pesados para se avaliar o efeito das rações experimentais nos mesmos e, a partir deste dia, foram coletadas as sobras de rações e as fezes, totalizando cinco dias de coleta e doze de experimento.

Em cada um dos cinco dias de coleta, a ração foi pesada em torno de 15g antes de ser oferecida ao animal. No dia seguinte, a sobra de ração e alguns pedaços caídos dentro da gaiola foram coletados e armazenados em saco plástico. No final dos cinco dias, a ração foi seca durante três dias em estufa a 35°C. Após a secagem, a ração foi pesada e descontada do total oferecida (cinco dias) para cálculo do consumido por cada animal.

Já em relação às fezes, a cada dia de coleta elas foram secas durante 24 horas em estufa a 100°C. No final dos cinco dias, as fezes foram pesadas, moídas e armazenadas a -20°C para análise de nitrogênio através do método de micro-Kjeldhal com fator de conversão 6,25 (AOAC, 1990).

A digestibilidade real da proteína foi calculada segundo a fórmula abaixo:

$$TD = \frac{I - (F - Fk)}{I} \times 100 \quad ,$$

na qual I é a ingestão de nitrogênio, F é o nitrogênio fecal e Fk é o nitrogênio fecal do grupo alimentado com a ração aprotéica.

Eutanásia

No 12º dia de experimento (9º dia de ração experimental), os animais foram novamente pesados e a eutanásia dos mesmos foi realizada por exsanguinação sob anestesia, tendo como anestésicos 1mg/kg de peso de cloridrato de xilazina (Rompun®) e 10mg/kg de peso de cloridrato de ketamina (Dopalen®) (KIM e SHIN, 1998).

Foram coletados fígado, intestinos, rins e cérebro e acondicionados a -80°C para eventuais análises futuras.

3.3.6.2.1 Rações

Após análise de umidade, proteína e lipídeo na farinha e extrusado de rúmen, essas amostras foram enviadas à Rhoster Indústria e Comércio Ltda. para produção de rações peletizadas.

Para a formulação de cada ração, com exceção da aprotéica, foram consideradas quantidades de farinha e extrusado suficientes para fornecerem 10% de proteína em base seca. A partir dessas quantidades, foram descontadas, do valor total de óleo de milho adicionado, as quantidades de lipídeo (base seca) existentes nas amostras. Dessa forma, a ração deveria fornecer 10% de lipídeo em base seca. Celulose, mix de minerais, mix de vitaminas e bitartarato de colina foram adicionados em iguais quantidades a todas as rações. O restante para completar 100g de ração foi amido de milho. As formulações das rações são apresentadas na Tabela 3.1.

Tabela 3.1: Formulação das rações aprotéica, farinha de rúmen bovino (FRB) e extrusado de rúmen bovino (ERB).

gramas	Ração Aprotéica	Ração de FRB	Ração de ERB
Rúmen bovino	-	10,20 ¹	10,40 ²
Amido de milho	80,30	70,47	70,35
Óleo de milho	10,00	9,63	9,55
Celulose	5,00	5,00	5,00
Mix de minerais	3,50	3,50	3,50
Mix de vitaminas	1,00	1,00	1,00
Bitartarato de colina	0,20	0,20	0,20
Total	100,00	100,00	100,00

¹ proteína proveniente exclusivamente da farinha de rúmen bovino.

² proteína proveniente exclusivamente do extrusado de rúmen bovino.

Os mix de minerais e de vitaminas foram elaborados conforme o American Institute of Nutrition (AIN-93) (REEVES et al., 1993).

Foram feitas análises também nas rações prontas para certificar se os teores protéicos e lipídicos estavam corretos.

As análises acima foram realizadas segundo AOAC (1990): umidade por evaporação a 105°C, determinação de proteína pelo método micro-Kjeldhal (fator de conversão 6,25) e lípidos por extração em Soxhlet. Na análise de lípidos do rúmen bovino (farinha e extrusado) foi utilizado álcool etílico como solvente e para as rações foi utilizado éter etílico.

3.3.7 APROVAÇÃO DO PROJETO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo (Anexo 3).

3.3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi aplicado teste-t ($p < 0,05$) para comparação de médias, utilizando o software Microsoft Office Excel 2003.

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.4.1 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DO RÚMEN BOVINO

A Tabela 3.2 mostra a composição centesimal do rúmen bovino liofilizado (anterior ao desengorduramento), desengordurado e extrusado.

Tabela 3.2: Composição centesimal (%) do rúmen bovino.

	Liofilizado (anterior ao desengorduramento)	Desengordurado	Extrusado*
Proteína (dp)	90,8 (2,5) ^a	98,1 (0,7) ^{b;c}	96,1 (0,8) ^c
Lípídeo (dp)	13,1 (0,3) ^a	2,6 (0,2) ^{b;c}	1,2 (0,1) ^{c;d}
Cinzas (dp)	1,7 (0,01) ^a	1,8 (0,04) ^{b;c}	1,8 (0,02) ^c
Carboidrato (por diferença)	0	0	0
Total	105,6	102,5	99,1

^{a,b} Teste-t entre o rúmen liofilizado e desengordurado, sendo que letras diferentes na mesma linha indicam médias estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,05$).

^{c,d} Teste-t entre o rúmen desengordurado e extrusado, sendo que letras diferentes na mesma linha indicam médias estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,05$).

* O extrusado foi obtido a partir da extrusão do rúmen bovino desengordurado.

Houve um aumento relativo no teor protéico e de cinzas após o desengorduramento do rúmen devido à extração de lipídeos, sendo que para todos os nutrientes a diferença foi estatisticamente significativa (n.s. 0,05). A redução de lipídeos foi de, aproximadamente, 80%, o que viabilizou a extrusão do rúmen bovino.

Não houve modificação dos teores de proteína e cinzas antes e após a extrusão, mas houve uma queda na quantidade de lipídeos. Essa redução pode ser devido à dificuldade de extração de lipídeos a partir de produtos extrusados, já que durante a extrusão, as moléculas lipídicas podem se ligar a outros componentes do alimento,

como proteínas e carboidratos, dificultando a extração (CAMIRE et al., 1990; CAMIRE, 1991).

A somatória de proteína, lipídeo e cinzas do extrusado mostra que, por diferença, haveria uma pequena quantidade de carboidratos, mas estes foram considerados inexistentes por conta da baixa extração lipídica durante a análise do extrusado.

3.4.2 COLESTEROL E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS

A Tabela 3.3 apresenta os resultados da análise de colesterol e perfil de ácidos graxos do rúmen antes e após seu desengorduramento.

Tabela 3.3: Colesterol (mg/100g de amostra) e perfil de ácidos graxos (%*) do rúmen bovino.

	Antes do desengorduramento	Após o desengorduramento
Colesterol		
<i>Base úmida (dp)</i>	381,2 (6,15) ^a	85,6 (1,63) ^b
<i>Base seca</i>	424,6	94,1
Ácido graxo		
<i>Mirístico (C14:0)</i>	6,4	-
<i>Pentadenóico (C15:0)</i>	4,2	-
<i>Palmítico (C16:0)</i>	2,9	-
<i>Estearico (C18:0)</i>	17,0	-
<i>Oléico (C18:1 n9)</i>	21,6	14,6
<i>Linoléico (C18:2 n6)</i>	8,6	9,1
<i>Linolelaídico (C18:2 n6)</i>	11,5	-
<i>Araquidônico (C20:0)</i>	12,5	-
<i>Eicosenóico (C20:1 n9)</i>	3,3	-
<i>Eicosapentanóico (C20:5 n3)</i>	2,8	6,0
<i>Heneicosanóico (C21:0)</i>	2,2	-
<i>Docosahexaenóico (C22:6 n3)</i>	5,0	7,1
<i>Nervônico (C24:1 n9)</i>	2,1	63,2

^{a,b} Médias estatisticamente diferentes entre si (p < 0,05).

* Porcentagem relativa entre os ácidos graxos.

O desengorduramento foi eficiente na extração do colesterol do rúmen, pois sua redução foi de 78%, aproximadamente.

A substituição da proteína de soja pela de rúmen em produtos cárneos pode ser desvantajosa por causa do colesterol presente neste. Por isso, baseado no valor de colesterol encontrado no rúmen desengordurado (Tabela 3.3), simulou-se a quantidade existente deste nutriente quando da adição de rúmen em alguns alimentos:

- lingüiça toscana com 1,5% de rúmen $\Rightarrow$ 0,64mg de colesterol em uma porção de 50g;
- hambúrguer de frango com 2% de rúmen $\Rightarrow$ 0,96mg de colesterol em uma porção de 56g;
- quibe com 1,5% de rúmen $\Rightarrow$ 0,64mg de colesterol em uma porção de 50g.

Os valores de colesterol em uma porção dos alimentos são insignificantes em relação à recomendação de ingestão máxima de colesterol para indivíduos sadios (300mg/dia; DRI, 2002). Por isso, pode-se dizer que a adição de rúmen em produtos alimentícios não representa um fator negativo quando este for utilizado como substituto da soja.

Os ácidos graxos saturados foram totalmente extraídos no desengorduramento, ou seja, estes, assim como o colesterol, não representam um fator negativo na utilização do rúmen como ingrediente alimentar. Também houve uma redução relativa na quantidade de polinsaturados, ocorrendo um aumento dos monoinsaturados.

3.4.3 ANÁLISE DA QUALIDADE NUTRICIONAL PROTÉICA

3.4.3.1 Análise de aminoácidos

A Tabela 3.4 apresenta o perfil de aminoácidos da farinha e do extrusado de rúmen.

Tabela 3.4: Quantidade de aminoácidos (mg/g de proteína) na farinha de rúmen bovino (FRB) e no extrusado de rúmen bovino (ERB).

aminoácido	FRB	ERB	FAO/ WHO¹	razão FRB e FAO/WHO²	razão ERB e FAO/WHO²
<i>histidina</i>	26,8	26,8	19	1,41	1,41
<i>isoleucina</i>	47,5	49,8	28	1,70	1,78
<i>leucina</i>	84,8	84,9	66	<u>1,28</u>	1,29
<i>lisina</i>	83,5	88,2	58	1,44	1,52
<i>fenilalanina</i> + <i>tirosina</i>	85,4	88,2	63	1,36	1,40
<i>metionina</i> + <i>cistina</i>	34,0	31,3	25	1,36	<u>1,25</u>
<i>treonina</i>	47,8	45,8	34	1,41	1,35
<i>triptofano</i>	16,8	16,0	11	1,53	1,46
<i>valina</i>	48,8	50,3	35	1,39	1,44
alanina	63,6	59,4			
arginina	95,0	83,6			
ácido aspártico	96,2	88,0			
glicina	34,0	45,0			
ácido glutâmico	147,4	153,3			
prolina	48,8	50,7			
serina	39,6	38,8			

¹ a FAO/WHO (1991) considera a recomendação dos aminoácidos essenciais (mg/g de proteína) de todas as faixas etárias, com exceção dos lactentes, como sendo a mesma para crianças pré-escolares;

² razão entre o aminoácido da proteína de estudo e a recomendação da FAO/WHO (1991).

Obs.: Aminoácidos em *itálico* representam os aminoácidos essenciais.

As quantidades dos aminoácidos, tanto dos essenciais quanto dos não essenciais, não sofreram alterações em função da extrusão.

Os escores de aminoácidos da FRB e do ERB foram, respectivamente, 1,28 (referente à leucina) e 1,25 (referente à metionina + cistina). A princípio, houve uma leve queda no valor nutritivo da proteína após a extrusão, pois o escore de

aminoácidos foi reduzido de 1,28 para 1,25, mas esses valores ainda precisam ser corrigidos pela digestibilidade real da proteína.

Os escores nas duas amostras foram superiores a um, portanto, o rúmen não apresentou nenhum aminoácido limitante.

3.4.3.2 Digestibilidade real da proteína

A Tabela 3.5 mostra os resultados obtidos no ensaio biológico.

Tabela 3.5: Resultados do ensaio biológico para os grupos com farinha de rúmen bovino (FRB) e com extrusado de rúmen bovino (ERB).

Animal	Ração consumida (g)	Peso das fezes (g)	Teor de nitrogênio nas fezes (%)*	Digestibilidade real (%)
FRB				
F1	46,84	2,71	1,64	98,71
F2	40,28	2,30	1,78	98,31
F3	39,56	2,37	2,18	96,56
F4	53,25	3,62	1,87	96,78
F5	33,03	1,61	1,98	98,60
F6	39,27	2,28	1,75	98,29
F7	34,13	1,95	1,91	97,84
F8	49,59	3,02	1,61	98,52
F9	66,60	4,58	1,79	97,02
F10	48,83	3,69	1,82	96,14
MÉDIA DA DIGESTIBILIDADE (dp) = 97,68 (0,96)^a				
ERB				
E1	22,03	1,26	3,75	91,48
E2	41,20	2,71	2,52	94,41
E3	48,14	3,58	2,37	93,78
E4	52,18	3,72	2,63	93,08
E5	43,53	3,08	2,65	93,10
E6	54,80	3,99	2,52	93,32
E7	49,64	3,81	2,85	91,21
E8	47,21	3,69	2,45	92,84
E9	63,76	4,85	2,22	94,22
E10	47,42	3,63	2,41	93,26
MÉDIA DA DIGESTIBILIDADE (dp) = 93,07 (1,04)^b				

* N fecal médio do grupo aprotéico = 1,35%

^{a,b} Médias estatisticamente diferentes entre si (p < 0,05).

No geral, a extrusão aumenta a digestibilidade protéica devido à inativação de inibidores de enzimas e também pela desnaturação protéica, o que a deixa mais acessível ao ataque de enzimas digestivas (CAMIRE et al., 1990; CAMIRE, 1991; SINGH et al., 2007). No caso do rúmen, o extrusado apresentou digestibilidade real menor do que a farinha, provavelmente por mudanças na estrutura protéica durante a extrusão. As proteínas são desnaturadas no início da extrusão e, à medida que o material é conduzido ao longo do canhão, novas interações proteína-proteína ocorrem, levando à orientação e alinhamento das mesmas para a saída da extrusora (CAMIRE, 1991; ARÊAS, 1992). Essas novas interações podem ter sido responsáveis por um menor acesso das enzimas digestivas dos animais às proteínas do extrusado de rúmen, reduzindo sua digestibilidade.

Em um trabalho de Iniciação Científica realizado no Laboratório de Bioquímica e Propriedades Funcionais dos Alimentos/FSP/USP, foram analisados os teores de fibras em várias matérias-primas e em seus extrusados, dentre eles o pulmão bovino com griz de milho. Houve um aumento no teor de fibras desta mistura após a extrusão, principalmente fibra insolúvel, aumento este atribuído ao pulmão. Apesar de não existirem fibras em produtos de origem animal, algum composto não digerido pelas enzimas utilizadas no método de Prosky foi detectado como fibra. Acredita-se que as interações proteína-proteína ocorridas durante a extrusão tenham sido as responsáveis pela resistência às enzimas durante a análise.

Apesar da queda da digestibilidade real ter sido significativa, tanto a farinha quanto o extrusado apresentaram proteína com alta digestibilidade.

A Figura 3.2 apresenta a evolução dos pesos dos animais durante o ensaio biológico.

Figura 3.2: Evolução dos pesos médios dos animais dos grupos aprotéico, com farinha de rúmen bovino (FRB) e com extrusado de rúmen bovino (ERB).

RE = ração experimental.

O grupo aprotéico perdeu peso após a introdução da ração experimental, o que era esperado devido à ausência da proteína.

Antes da introdução da ração experimental (momento da chegada dos animais e 1º dia de RE), não houve diferença estatística entre os pesos médios dos grupos alimentados com farinha e extrusado de rúmen ($p < 0,05$). Já durante o fornecimento da RE (4º e 9º dias), houve ganho de peso pelos animais dos dois grupos, sendo que o grupo alimentado com a farinha de rúmen teve um maior incremento ($p < 0,05$), provavelmente devido a maior digestibilidade da farinha (Tabela 3.5).

3.4.3.3 Escore de aminoácidos corrigido pela digestibilidade real

Os escores de aminoácidos da farinha e do extrusado de rúmen bovino foram, respectivamente, 1,28 e 1,25 e as digestibilidades reais foram, respectivamente, 97,68 e 93,07%, portanto:

- farinha $\Rightarrow 1,28 \times 97,68 = 100\%$;
- extrusado $\Rightarrow 1,25 \times 93,07 = 100\%$.

Apesar de ter havido queda tanto no escore de aminoácidos quanto na digestibilidade após a extrusão, a qualidade nutritiva da proteína se manteve, sendo máxima tanto na farinha quanto no extrusado.

3.5 CONCLUSÃO

A análise da composição centesimal do rúmen bovino mostrou que este constituiu uma matéria-prima muito rica em proteína, já que os teores protéicos ultrapassaram os 90% (base seca).

Em relação ao perfil lipídico do rúmen bovino, o seu desengorduramento promoveu grande redução de lipídeos (80%) e de colesterol (78%), além da melhoria no perfil de ácidos graxos com a retirada dos saturados.

A análise de aminoácidos da proteína do rúmen bovino e a avaliação da digestibilidade real em ratos mostraram que o escore de aminoácidos corrigido pela digestibilidade real foi de 1 ou 100% tanto para a farinha quanto para o extrusado, ou seja, ambas amostras possuem a qualidade máxima atribuída a uma proteína.

A utilização do rúmen bovino (farinha ou extrusado) na formulação de alimentos é viável do ponto de vista nutritivo, pois além de não agregar fatores negativos aos produtos, como alto teor de lipídeo, colesterol e ácidos graxos saturados, fornece proteínas em grande quantidade e de alto valor biológico.

3.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[AOAC] Association Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. Washington; 1990. p. 1098-9.

Arêas JAG. Extrusion of food proteins. Crit Rev Food Sci Nutr. 1992;32:365-92.

Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can J Biochem Physiol. 1959;37:911-7.

Bohac CE, Rhee KS, Cross HR, Ono K. Assessment of methodologies for colorimetric cholesterol assay of meats. J Food Sci. 1988;53:1642-4,1693.

Camire ME. Protein functionality modification by extrusion cooking. J Am Oil Chemists' Soc. 1991;68:200-5.

Camire ME, Camire A, Krumhar K. Chemical and nutritional changes in foods during extrusion. Food Sci Nutr. 1990;29:35-56.

Conti AC, Arêas JAG. Aproveitamento do rúmen bovino na alimentação humana através de sua extrusão termoplástica. Nutrire. 2001;22:21-31.

[DRI] The National Academies Press. Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids (macronutrients) [homepage na internet]. Washington; 2002 [acesso em 23 jun 2004]. Disponível em <http://www.nap.edu/catalog/10490.html>.

[FAO/WHO] Food and Agriculture Organization/World Health Organization. Protein quality evaluation. Report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation. Roma; 1991. (Paper 51).

Kim M, Shin HK. The water-soluble extract of chicory influences serum and liver lipid concentrations, cecal short-chain fatty acid concentrations and fecal lipid excretion in rats. *J Nutr.* 1998;128:1731-6.

Marmer WN, Maxwell RJ. Dry column method for the quantitative extraction and simultaneous class separation of lipids from muscle tissue. *Lipids.* 1981;5:365-71.

Maxwell RJ, Marmer WN, Zubillaga MP, Dalickas GA. Determination of total fat in meat products by a rapid, dry column method. *J Assoc Off Anal Chem.* 1980;3:600-3.

McDonough FE, Steinke FH, Sarwar G, Eggum BO, Bressani R, Huth PJ et al. In vivo rat assay for true protein digestibility: collaborative study. *J Assoc Off Anal Chem.* 1990;73:801-5.

Morrison WR, Smith LM. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. *J Lipid Res.* 1964;5:600-8.

Reeves GP, Nielsen FH, Fahey Jr. GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr.* 1993;123:1939-51.

Singh S, Gamlath S, Wakeling L. Nutritional aspects of food extrusion: a review. *Int J Food Sci Technol.* 2007;42:916-29.

Spackman DH, Stein WH, Moore S. Automatic recording apparatus for use in chromatography of aminoacids. *Anal Chem.* 1958;30:1190-206.

Spindler M, Stadler R, Tanner H. Amino acid analysis of feedstuffs: determination of methionine and cystine after oxidation with performic acid and hydrolysis. *J Agric Food Chem.* 1984;32:1366-71.

CAPÍTULO 4 – AVALIAÇÃO SENSORIAL DE PRODUTOS CÁRNEOS CONTENDO RÚMEN BOVINO

4.1 INTRODUÇÃO

A aceitação de um alimento pelo consumidor está intimamente relacionada às suas características sensoriais, como aparência, aroma, textura e sabor. Por melhor que seja um alimento nutricionalmente e viável tecnologicamente, se não for bem aceito sensorialmente, nada poderá ser feito para que seja consumido.

Durante o desenvolvimento de uma proteína como ingrediente alimentar, as mesmas condições sensoriais são essenciais, pois proteínas afetam as propriedades sensoriais de um alimento, como cor (via reação de Maillard), aroma (via reações de Maillard e de eliminação de enxofre, proteólise) e textura (formação de espumas, emulsões, géis) (KINSELLA, 1976).

O aroma da farinha de rúmen bovino é muito sutil, pois carnes cruas são praticamente inodoras e o aroma desejável de carne resulta de processos químicos que ocorrem durante o processo de cocção (RAMARATHNAM et al., 1991). Já o extrusado de rúmen apresenta moderados aroma e sabor de víscera.

Por isso, avaliar a qualidade sensorial de produtos cárneos contendo rúmen bovino, seja em sua forma extrusada ou não, é importante para a viabilidade de utilização de sua proteína na alimentação humana.

4.2 OBJETIVO

4.2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliação da aplicabilidade do rúmen bovino, farinha e extrusado, como ingrediente alimentar na alimentação humana.

4.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Desenvolvimento e análise sensorial de lingüiça toscana contendo rúmen bovino.

Desenvolvimento e análise sensorial de hambúrguer de frango contendo rúmen bovino.

Desenvolvimento e análise sensorial de quibe contendo rúmen bovino.

4.3 METODOLOGIA

4.3.1 MATÉRIAS-PRIMAS

4.3.1.1 Rúmen bovino

O rúmen bovino, fornecido pela Sadia S/A, foi retirado de animais saudáveis em condições próprias para consumo humano e inspecionado pelo SIF (Serviço de Inspeção Federal). Foi esvaziado, lavado, escaldado para remoção de sua mucosa negra, moído e congelado a -30°C imediatamente após o abate. Posteriormente, foi liofilizado em empresa tradicional de secagem de alimentos (Nutribrás S/A - SP).

4.3.1.2 Concentrado protéico de soja

O concentrado protéico de soja (marca Arcon[®] SM, Decatur/IL/USA; lote 04112682), com 64% de proteína, foi fornecido por ADM Exportadora e Importadora S/A. Sua obtenção foi a partir de soja não modificada geneticamente.

O CPS foi utilizado na formulação de produtos cárneos para comparação com o rúmen bovino.

4.3.2 DESENGORDURAMENTO A FRIO DO RÚMEN BOVINO

O rúmen bovino, após liofilização, foi desengordurado a frio com uma mistura de hexano:etanol (2:1). Para cada 1kg de rúmen utilizaram-se 6L dessa mistura de solventes.

O rúmen foi deixado em repouso com os solventes por dezessete horas em temperatura ambiente. Agitou-se essa mistura durante três horas com o auxílio de um agitador mecânico, com velocidade de rotação de, aproximadamente, 2.800rpm. Utilizando-se um pano como filtro, separou-se o solvente do rúmen e o processo foi repetido mais uma vez com solventes novos.

A farinha desengordurada foi deixada em estufa ventilada à 65°C por cerca de 22 horas para a evaporação completa dos solventes.

Foram desengordurados 20kg de rúmen e os solventes foram descartados.

4.3.3 EXTRUSÃO DOS MATERIAIS

Foi utilizada extrusora de rosca única com capacidade de produção semi-industrial (modelo RXPQ Labor 24, INBRAMAQ - Indústria de Máquinas Ltda, Ribeirão Preto - SP).

As condições de extrusão do rúmen bovino foram:

- três camisas helicoidais;
- rosca de passo largo, de uma saída, com taxa de compressão de 3,6:1 e relação comprimento/diâmetro (L/D) de 15,5:1;
- sub-trafila de orifícios de 5,3mm;
- trafilas de um orifício de 5mm;
- temperaturas (zona 1 a 5, respectivamente): 30, 60, 80, 130 e 150°C;
- velocidade de rotação da rosca: 263rpm (100% da rotação máxima);
- velocidade de alimentação: 90g/min;
- umidade da amostra: 35% (base seca).

As condições de extrusão do concentrado protéico de soja, definidas após testes preliminares (Anexo 1), foram:

- três camisas helicoidais;
- rosca de passo largo, de uma saída, com taxa de compressão de 3,6:1 e relação comprimento/diâmetro (L/D) de 15,5:1;
- sub-trafila de orifícios de 5,5mm;
- trafilas de um orifício de 3,7mm;
- temperaturas (zona 1 a 5, respectivamente): 30, 60, 80, 115 e 130°C;
- velocidades de rotação da rosca: 263rpm (100%);
- velocidade de alimentação: 90g/min;
- umidade da amostra: 35% (base seca).

A umidade foi ajustada para o valor desejado utilizando-se água destilada. A farinha a ser extrusada foi armazenada em saco plástico à temperatura de 5 a 8°C por 48 horas para garantia de homogeneidade da amostra. Antes do início da extrusão, aguardou-se que a farinha atingisse a temperatura ambiente e seu teor de umidade foi analisado após a extrusão.

No início da extrusão foi utilizado griz de milho (milho moído) para estabilização da máquina.

4.3.4 APLICAÇÃO DO RÚMEN BOVINO EM PRODUTOS CÁRNEOS

Antes da escolha de quais alimentos seriam utilizados para aplicação do rúmen, foi realizada uma consulta a todas as embalagens de produtos cárneos de várias empresas alimentícias existentes no mercado. Observou-se que, na grande maioria, as empresas utilizam proteína de soja na formulação desses produtos, seja na sua forma texturizada (extrusada) ou isolada, sendo que outras empresas especificam a proteína de soja apenas como “proteína vegetal”, não sendo possível saber se é extrusada ou não.

Além disso, também foram enviadas perguntas para três grandes empresas sobre o formato de utilização da proteína de soja (em grânulos ou moída) em alguns produtos e também a sua finalidade. As respostas foram as seguintes:

Empresa 1

Formato de utilização: moída (em pó)

Finalidade: consistência e homogeneização

Empresa 2

Formato de utilização: não respondeu

Finalidade: agregar valor nutricional

Empresa 3

Formato de utilização: moída

Finalidades: enriquecimento protéico; não contém colesterol e tem propriedades que combatem o colesterol; melhor crocância nos produtos pós-preparados.

Vê-se que tanto o valor nutricional quanto as propriedades funcionais da proteína de soja são importantes para a formulação dos produtos.

Apesar das três empresas responderem que a proteína de soja usada é moída, uma outra empresa que produz e vende este produto apresenta a proteína de soja texturizada em vários formatos e granulometrias para uso em produtos cárneos, podendo, portanto, também ser utilizada em grânulos.

A aplicação do rúmen bovino em produtos cárneos teve como objetivo verificar a viabilidade de sua utilização como ingrediente alimentar, principalmente

do ponto de vista sensorial. Não foram feitos testes quanto à quantidade de rúmen incorporada nem quanto ao formato do extrusado (pó ou grânulos) a ser utilizado.

O rúmen foi testado como farinha e como extrusado e também foram fabricados produtos cárneos contendo extrusado de concentrado protéico de soja para comparação com os de rúmen. A farinha de rúmen e os extrusados de rúmen e soja, moídos em liquidificador caseiro com velocidade média, foram utilizados para fabricação de lingüiça toscana, hambúrguer de frango e quibe. Escolheram-se produtos com diferentes tipos de carnes (suína, de frango e bovina) justamente para avaliar o efeito da adição do rúmen em carnes diferenciadas.

Apenas como ilustração, a Figura 4.1 mostra as farinhas e extrusados do concentrado protéico e de rúmen.

Figura 4.1: Farinhas e extrusados de concentrado protéico de soja (CPS) e de rúmen bovino (RB).

4.3.4.1 Análise do perfil de textura (TPA) dos extrusados

Apesar de os extrusados de rúmen bovino (RB) e de concentrado protéico de soja (CPS) terem sido moídos para aplicação nos alimentos, é possível a utilização da proteína de soja na forma de grânulos, como explicado no item anterior. Por isso, foi realizada TPA em ambos os extrusados, já que a textura constitui uma característica importante na utilização da proteína de soja em produtos cárneos.

Os extrusados foram cortados obtendo-se um comprimento aproximado de 15mm e reidratados por cinco minutos em água após fervura.

A análise do perfil de textura foi realizada em texturômetro TAXT2i e software “Texture Expert” (Stable Systems 1999). Os parâmetros de análise foram os seguintes:

- probe 75mm Compression Platen (P75);
- altura de calibração do probe: 10,7mm para o extrusado de CPS e 7,8mm para o de RB (larguras médias dos extrusados após reidratação);
- velocidade no pré-teste: 2,0 mm/s;
- velocidade no teste: 1,0 mm/s;
- velocidade no pós-teste: 5,0 mm/s;
- distância de percurso: 7,5mm para o extrusado de CPS e 5,5mm para o de RB (compressão de 70% da largura original do extrusado);
- tempo entre as duas compressões: 5s.

A compressão foi feita perpendicularmente ao comprimento da amostra e foram feitas 10 medições.

Nesta análise foram medidos os parâmetros primários dureza, coesividade e elasticidade e calculado o parâmetro secundário mastigabilidade segundo FRIEDMAN et al. (1963) e SZCZESNIAK (1963), com as modificações sugeridas por BOURNE (1968).

Foi realizado teste-t ($p < 0,05$) entre as médias de cada parâmetro para comparação entre as amostras de extrusados, utilizando o software Microsoft Office Excel 2003.

4.3.4.2 Lingüiça toscana

De acordo com MA/SDA (2006a), é permitida a adição de proteínas não cárnicas como proteína agregada no teor máximo de 2,5%, não sendo permitida a sua adição nas lingüiças toscana, calabresa, portuguesa, blumenau e colonial. Como o rúmen trata-se de proteína cárnica e o objetivo da análise sensorial é verificar a viabilidade de aplicação do seu extrusado na alimentação humana, foi desenvolvida receita de lingüiça toscana com concentrado protéico de soja para comparação entre as amostras mesmo havendo essa proibição para a indústria alimentícia.

A receita original de lingüiça toscana foi obtida no site da BKG ADICON (2006), empresa que forneceu os aditivos e condimentos utilizados no preparo de

todas as receitas. Essa receita foi adaptada para adição da proteína de soja ou de rúmen.

Receita de lingüiça toscana

Ingredientes para 1kg de lingüiça toscana

Pernil = 744g

Toucinho = 185g

Sal refinado = 17g

Curalin = 2,5g (mistura de sais de cura para lingüiças (BKG ADICON, 2006))

Temperex "LP M5" 200 = 4g (linha completa de condimentação contendo especiarias, óleos essenciais, óleos resinas para produtos de salsicharia (BKG ADICON, 2006))

Água filtrada = 30g

Adinox = 2,5g (mistura antioxidante para lingüiças (BKG ADICON, 2006))

Proteína de soja ou de rúmen bovino (1,5%) = 15g

Modo de preparo

Moer o pernil e o toucinho utilizando, no moedor, disco com furos de 12mm de diâmetro.

Colocar as carnes na misturadeira (Figura 4.2).

Adicionar o sal refinado, o Curalin e o Temperex "LP M5" 200 dissolvidos em parte da água filtrada e misturar até obter uma completa e homogênea absorção dos ingredientes pela massa.

Adicionar o Adinox (dissolvido no restante da água filtrada) e a proteína e misturar até obter uma boa e homogênea mistura.

Deixar a massa em geladeira entre 5 e 8°C por 12 horas para ocorrer a reação de cura.

Colocar a massa na ensacadeira (Figura 4.3) e embutir (Figura 4.4) em tripa de 18 a 30mm de diâmetro (Figura 4.5).

Amarrar em forma de gomos de 8 a 12cm de comprimento (Figura 4.6), embalar em sacos plásticos (Figura 4.7) e conservar armazenada em freezer (-20°C).

Figura 4.2: Misturadeira. **Figura 4.3:** Ensacadeira. **Figura 4.4:** Embutimento da lingüiça. **Figura 4.5:** Tripa de colágeno comestível. **Figura 4.6:** Lingüiça em gomos. **Figura 4.7:** Lingüiça embalada.

A única diferença entre a lingüiça contendo proteína de rúmen e a com proteína de soja foi justamente esse ingrediente, sendo que todos os ingredientes foram pesados na mesma balança e adicionados em quantidades idênticas.

A moagem das carnes foi feita em moedor Skymssen, modelo PSE-10, e para a mistura dos ingredientes foi utilizada batedeira da Lieme Equipamentos para Alimentação, com batedor espiral (formato de gancho) e velocidades 1 e 2. A empresa Viscofan do Brasil forneceu a tripa de colágeno comestível, tipo Colfan F, com 18 a 30mm de diâmetro.

Na 1ª análise sensorial (extrusado de rúmen *versus* extrusado de concentrado protéico de soja) foram produzidos 3kg de cada tipo de lingüiça toscana. Na 2ª análise sensorial (farinha de rúmen *versus* extrusado de concentrado protéico de soja) foram produzidos 2,2kg de cada.

Para a análise sensorial, as lingüiças foram retiradas do freezer com 24h de antecedência e mantidas em geladeira entre 5 e 8°C. Anteriormente à análise, as lingüiças foram fervidas por 20 minutos, fatiadas e fritas em pequena quantidade de óleo de soja. Os dois processos de cocção garantiram que a temperatura no centro geométrico do alimento superasse os 74°C durante 2min, critério esse utilizado para assegurar as condições higiênico-sanitárias do alimento (SILVA JUNIOR, 2002). A Figura 4.8 apresenta a lingüiça pronta para consumo.

Figura 4.8: Lingüiça toscana.

4.3.4.3 Hambúrguer de frango

De acordo com MA/SDA (2006b), na fabricação de hambúrguer é permitida a adição de proteína não cárnica na forma agregada em, no máximo, 4%.

A receita original de hambúrguer foi obtida no site da BKG ADICON (2006), sendo que essa receita foi adaptada para hambúrguer de frango.

Receita de hambúrguer de frango

Ingredientes para 1kg de hambúrguer de frango

Coxa e sobrecoxa com pele = 852g

Sal refinado = 15g

Glutamato monossódico = 0,8g

Temperex H 200 = 4g (linha completa de condimentação contendo especiarias, óleos essenciais, óleos resinas para produtos de salsicharia (BKG ADICON, 2006))

Água filtrada = 105,7g

Adinox = 2,5g (mistura antioxidante para lingüiças (BKG ADICON, 2006))

Proteína de soja ou de rúmen bovino (2%) = 20g

Modo de preparo

Moer o frango utilizando, no moedor, disco com furos de 12mm de diâmetro.

Colocar a carne na misturadeira.

Adicionar o sal refinado, o glutamato monossódico e o Temperex H 200 (todos dissolvidos na água/gelo) sobre a massa e misturar.

Adicionar o Adinox e a proteína sobre a massa e misturar até obter uma completa e homogênea absorção dos ingredientes pela massa.

Pesar 56g de massa (peso de um hambúrguer padrão do mercado), colocar em saco plástico e dar o formato de hambúrguer em hamburgueira (Figuras 4.9 e 4.10).

Conservar armazenado em freezer (-20°C).

Figura 4.9: Hamburgueira.

Figura 4.10: Hambúrguer embalado.

A única diferença entre o hambúrguer contendo proteína de rúmen e o com proteína de soja foi justamente esse ingrediente, sendo que todos os ingredientes foram pesados na mesma balança e adicionados em quantidades idênticas.

A moagem do frango foi feita em moedor Skymesen, modelo PSE-10, mas mesmo usando disco com furos de 12mm de diâmetro, a moagem da pele foi bastante dificultada, não resultando em total homogeneidade da gordura moída. Para a mistura

dos ingredientes foi utilizada batedeira da Lieme Equipamentos para Alimentação, com batedor espiral (formato de gancho) e velocidades 1 e 2.

Foram produzidos 2,2kg de cada tipo de hambúrguer de frango.

No momento da análise sensorial, os hambúrgueres foram retirados do freezer e fritos em pequena quantidade de óleo de soja. Esse processo de cocção garantiu que a temperatura no centro geométrico do alimento superasse os 74°C durante 2min, critério esse utilizado para assegurar as condições higiênico-sanitárias do alimento (SILVA JUNIOR, 2002). A Figura 4.11 apresenta o hambúrguer pronto para consumo.

Figura 4.11: Hambúrguer de frango.

4.3.4.4 Quibe

De acordo com MA/SDA (2006c), na fabricação de quibe é permitida a adição de proteína não cárnica na forma agregada em, no máximo, 4%.

A receita original de quibe foi obtida no site da BKG ADICON (2006), sendo que essa receita foi adaptada, ajustando-se a proporção entre carne e trigo para quibe e adicionando-se hortelã.

Receita de quibe

Ingredientes para 1kg de quibe

Contra-filé moído = 550g

Trigo para quibe = 275g

Sal refinado = 16,4g

Glutamato monossódico = 0,8g

Temperex H 200 = 2g (linha completa de condimentação contendo especiarias, óleos essenciais, óleos resinas para produtos de salsicharia (BKG ADICON, 2006))

Água filtrada = 96g

Hortelã = 40g

Adifós S = 2,4g (estabilizante de gorduras: mistura de polifosfatos (BKG ADICON, 2006))

Adinox = 2,4g (mistura antioxidante para lingüiças (BKG ADICON, 2006))

Proteína de soja ou de rúmen bovino (1,5%) = 15g

Modo de preparo

Deixar o trigo para quibe 1 hora de molho em água fria para hidratação.

Colocar a carne já moída na misturadeira.

Adicionar o trigo para quibe e misturar.

Adicionar o sal refinado, o glutamato monossódico, o Temperex H 200 (todos dissolvidos na água/gelo) e a hortelã e misturar até obter uma completa e homogênea absorção dos ingredientes pela massa.

Adicionar e distribuir uniformemente o Adifós S sobre a massa.

Adicionar o Adinox e a proteína sobre a massa e misturar até que sejam totalmente misturados à massa.

Pesar 25g de massa, manualmente dar o formato de quibe, colocar em assadeira e levar ao freezer (-20°C) para um congelamento rápido. Após seu congelamento, colocar em saco plástico, embalar (Figura 4.12) e conservar armazenado em freezer (-20°C).

Figura 4.12: Quibe embalado.

Foram pesados 25g de massa para facilitar no momento da análise sensorial, sendo que o peso de um quibe padrão do mercado é de 50g.

A única diferença entre o quibe contendo proteína de rúmen e o com proteína de soja foi justamente esse ingrediente, sendo que todos os ingredientes foram pesados na mesma balança e adicionados em quantidades idênticas.

Para a mistura dos ingredientes foi utilizada batedeira da Lieme Equipamentos para Alimentação, com batedor espiral (formato de gancho) e velocidades 1 e 2.

Na 1ª análise sensorial (extrusado de rúmen *versus* extrusado de concentrado protéico de soja) foram produzidos 2,2kg de cada tipo de quibe. Na 2ª análise sensorial (farinha de rúmen *versus* extrusado de concentrado protéico de soja) foram produzidos 1,8kg de cada.

No momento da análise sensorial, os quibes foram retirados do freezer e fritos em imersão, utilizando-se óleo de soja. Esse processo de cocção garantiu que a temperatura no centro geométrico do alimento superasse os 74°C durante 2min, critério esse utilizado para assegurar as condições higiênico-sanitárias do alimento (SILVA JUNIOR, 2002). A Figura 4.13 apresenta o quibe pronto para consumo.

Figura 4.13: Quibe.

4.3.4.5 Análise sensorial

As análises sensoriais foram feitas no Laboratório de Técnica Dietética da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, utilizando-se cabines individuais com luz branca (Figura 4.14).

Foram distribuídos cartazes na faculdade convidando as pessoas a participarem da avaliação, sendo necessários cinquenta e um provadores. O painel sensorial foi

composto por provadores não treinados, dentre eles alunos/funcionários/docentes da faculdade, e consumidores do produto em teste. Intolerância a algum dos ingredientes (pimenta, por exemplo) e não aceite do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido constituíram critérios de exclusão.

Anteriormente à análise sensorial, cada provador recebeu o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 5).

Figura 4.14: Cabine para análise sensorial.

Em um dia de análise sensorial, foram testados, por exemplo, quibe contendo farinha de rúmen *versus* quibe contendo proteína de soja extrusada. Em um outro dia, foram testados quibe contendo extrusado de rúmen *versus* quibe contendo proteína de soja extrusada. Sempre um alimento com o concentrado protéico de soja extrusado foi utilizado como receita padrão.

Foram oferecidos nas análises sensoriais um pedaço de lingüiça, um quarto ($\frac{1}{4}$) do hambúrguer de frango e metade de um quibe como sendo uma amostra.

O primeiro teste aplicado foi um teste triangular para verificar se o provador conseguiria diferenciar as amostras. Quando o objetivo do teste triangular é determinar que não há diferença perceptível entre dois produtos, é chamado de teste de similaridade. A apresentação do teste ao provador é a mesma se o objetivo fosse a diferença entre as amostras, mas o tratamento estatístico é diferente (MEILGAARD et al., 1991). Foram, então, fornecidas três amostras, sendo solicitado ao provador que circulasse a amostra diferente. A ficha utilizada nesse teste é apresentada na Figura 4.15.

Figura 4.15: Ficha do teste triangular para lingüiça toscana.

Nome: _____ Data: _____		
Você está recebendo três amostras de lingüiça toscana, sendo duas iguais e uma diferente. Prove as amostras da esquerda para a direita e circule o código da amostra diferente das demais. Você <u>precisa</u> escolher uma amostra.		
523	831	470
Comentários: _____ _____		

As amostras foram apresentadas de forma balanceada, garantindo todas as combinações possíveis (MEILGAARD et al., 1991; STONE e SIDEL, 1993).

As condições de especificação do teste foram:

- erro do Tipo II (β) = 0,05;
- proporção aceita de provadores que conseguem diferenciar as amostras (P_d) = 30%;
- erro do Tipo I (α) = 0,20 (probabilidade de risco).

Pelas condições acima, seriam necessários 39 julgamentos (MEILGAARD et al., 1999, p.368).

A verificação da significância estatística do teste triangular foi analisada conforme MEILGAARD et al. (1999, p.369).

Logo após o teste triangular, foi aplicado um teste afetivo de aceitação, com escala hedônica estruturada verbal de nove pontos. Neste teste, o provador expressa o grau com que gosta ou desgosta das amostras, utilizando uma escala (Figura 4.16) na qual expressões verbais hedônicas são valores numéricos para a análise estatística dos resultados (MORAES, 1990; MEILGARD et al., 1991).

A escala de valores na ficha de avaliação variou de 1 para “desgostei extremamente” até 9 para “gostei extremamente”. Os produtos foram considerados

aceitos quando 50% dos degustadores atribuíram nota de, pelo menos, “gostei levemente” (nota 6), considerado, portanto, o ponto de corte mínimo de aceitabilidade (MORAES, 1990; STONE e SIDEL, 1993).

Figura 4.16: Ficha do teste de aceitação para lingüiça toscana.

Nome: _____ Data: _____

Você está recebendo duas amostras de lingüiça toscana. Por favor, prove-as e avalie cada item segundo a escala abaixo.

9 – gostei extremamente	Item	266	435
8 – gostei muitíssimo	Aparência		
7 – gostei moderadamente	Aroma		
6 – gostei levemente	Textura		
5 – não gostei nem desgostei	Sabor		
4 – desgostei levemente	Avaliação global		
3 – desgostei moderadamente			
2 – desgostei muitíssimo			
1 – desgostei extremamente			

Comentários: _____

As amostras foram apresentadas de forma balanceada, garantindo todas as combinações possíveis (MEILGAARD et al., 1991; STONE e SIDEL, 1993).

Foi realizado teste-t ($p < 0,05$) entre as médias de cada atributo para comparação entre os produtos, utilizando o software Microsoft Office Excel 2003.

4.3.5 APROVAÇÃO DO PROJETO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da USP, de acordo com a Resolução CNS/196/96, através do protocolo de nº 1525 (Anexo 4). O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido consta como Anexo 5.

4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.4.1 ANÁLISE DO PERFIL DE TEXTURA (TPA)

A Tabela 4.1 mostra os valores de parâmetros importantes em TPA de extrusados.

Tabela 4.1: Análise do Perfil de Textura (TPA) dos extrusados de rúmen bovino (ERB) e do concentrado protéico de soja (ECPS).

	Dureza em newtons (dp)	Coesividade adimensional (dp)	Elasticidade adimensional (dp)	Mastigabilidade em newtons (dp)
ERB	7,66 (3,53) ^a	0,48 (0,09) ^a	0,60 (0,06) ^a	2,15 (0,95) ^a
ECPS	21,63 (11,81) ^b	0,59 (0,03) ^b	0,77 (0,06) ^b	9,60 (4,80) ^b

^{a,b} Letras diferentes na mesma coluna indicam médias estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,05$).

O ERB apresentou estrutura mais frágil em comparação ao ECPS, visto que sua dureza foi menor. Aquele extrusado também teve menor coesividade, indicando uma menor resistência das ligações internas do material, e menor elasticidade. Conseqüentemente, a mastigabilidade também foi menor.

Realmente, durante a reidratação, o extrusado de rúmen bovino mostrou-se mais frágil, com risco de se desmanchar, mas mesmo assim sua estrutura foi mantida, sendo possível obter uma análise do seu perfil de textura. Testes precisariam ser feitos avaliando-se o extrusado de rúmen bovino na forma de grânulos, verificando sua capacidade de simular a estrutura da carne como a proteína texturizada de soja.

4.4.2 ANÁLISE SENSORIAL DA LINGÜIÇA TOSCANA

4.4.2.1 Extrusado de RB X Extrusado de CPS

No teste triangular, vinte foram as respostas corretas entre cinquenta e um provadores. Por isso, conclui-se com 95% de confiança que não mais que 30% da população será capaz de diferenciar as amostras.

A Tabela 4.2 apresenta as médias obtidas por cada amostra de lingüiça toscana.

Tabela 4.2: Médias de aceitação para cada atributo das duas amostras de lingüiça toscana.

	Extrusado de RB (dp)	Extrusado de CPS (dp)
Aparência	6,98 (1,39) ^a	7,12 (1,47) ^a
Aroma	7,30 (0,97) ^a	7,22 (1,02) ^a
Textura	7,22 (1,39) ^a	7,16 (1,39) ^a
Sabor	7,44 (1,09) ^a	7,04 (1,28) ^b
Avaliação global	7,50 (1,04) ^a	7,28 (1,14) ^a

^a Letras iguais na mesma linha indicam médias estatisticamente iguais entre si ($p < 0,05$).

Com exceção do sabor, que apresentou maior nota para o extrusado de rúmen, todos os atributos da lingüiça foram estatisticamente iguais. As menores notas para aparência da lingüiça (6,98) com rúmen e para o sabor da contendo soja (7,04) não influenciaram na média da avaliação global.

A substituição do extrusado de concentrado protéico de soja pelo do de rúmen bovino, além de não ter alterado aparência, aroma e textura da lingüiça toscana, melhorou seu sabor.

A Figura 4.17 mostra a distribuição da aceitação dos provadores para cada atributo das duas amostras.

Figura 4.17: Distribuição dos provadores (%) segundo escala hedônica estruturada de 9 pontos para as duas amostras de lingüiça toscana.

A distribuição das notas para as duas lingüiças foi similar para todos os atributos, com exceção da avaliação global, para a qual houve maior frequência de nota 7 para a lingüiça contendo rúmen e maior frequência de nota 8 para a contendo soja. Praticamente não houve recusa dos dois produtos (notas menor que 5), apesar de baixas frequências semelhantes para aparência, textura e avaliação global.

A distribuição das notas apresentou maior concentração acima de seis para todos os atributos, sendo que os dois produtos foram bem aceitos pelos provadores, já que houve, no mínimo, 88% dessa nota para todos os atributos.

No geral, houve comentários sobre sabor picante/suave/acentuado, gosto salgado, amostra gordurosa e textura dura/macia tanto para a lingüiça com rúmen quanto para a com soja.

A principal diferença comentada por aqueles provadores que acertaram a amostra diferente no teste triangular foi quanto ao sabor picante e condimentado, mas não houve consenso entre qual lingüiça estava mais apimentada, se a com rúmen ou a com soja. Também não houve consenso no teste de aceitação, pois dependendo da intensidade da pimenta e do condimento, isso resultou em notas maiores ou menores dependendo do provador.

4.4.2.2 Farinha de RB X Extrusado de CPS

No teste triangular, vinte e duas foram as respostas corretas entre cinquenta e um provadores. Por isso, conclui-se com 95% de confiança que há diferenças perceptíveis entre as amostras.

A Tabela 4.3 apresenta as médias obtidas por cada amostra de lingüiça toscana.

Tabela 4.3: Médias de aceitação para cada atributo das duas amostras de lingüiça toscana.

	Farinha de RB (dp)	Extrusado de CPS (dp)
Aparência	7,00 (1,52) ^a	7,31 (1,66) ^a
Aroma	6,88 (1,37) ^a	7,12 (1,49) ^b
Textura	6,94 (1,63) ^a	7,35 (1,69) ^a
Sabor	6,67 (1,67) ^a	7,22 (1,68) ^b
Avaliação global	6,86 (1,81) ^a	7,27 (1,74) ^a

^a Letras iguais na mesma linha indicam médias estatisticamente iguais entre si ($p < 0,05$).

Os atributos aroma e sabor foram estatisticamente diferentes, com maior nota para a lingüiça com proteína de soja, sendo que essa diferença não teve influência sobre a avaliação global. Já os atributos aparência e textura não foram prejudicados com a substituição do extrusado de concentrado protéico de soja pela farinha de rúmen bovino.

É interessante notar que os atributos prejudicados com a adição de rúmen, o aroma e sabor, estão interligados entre si, já que o aroma de um alimento é um dos determinantes de seu sabor.

A Figura 4.18 mostra a distribuição da aceitação para cada atributo das duas amostras.

Figura 4.18: Distribuição dos provadores (%) segundo escala hedônica estruturada de 9 pontos para as duas amostras de lingüiça toscana.

Houve muita divergência entre a distribuição das notas para todos os atributos. Para aparência, aroma, sabor e avaliação global, observou-se comportamento semelhante, com aumento nas frequências das notas 7 e 8 para a lingüiça com soja e decréscimo nas frequências de 7 a 9 para a lingüiça com rúmen.

Observou-se bastante recusa, sendo essa semelhante para todos os atributos dos dois produtos (cerca de 10%). Já em relação à indiferença (nota 5), houve maior frequência para a textura do rúmen (18%).

A distribuição das notas apresentou maior concentração acima de seis para todos os atributos, sendo que os dois produtos foram bem aceitos pelos provadores, já que houve, no mínimo, 78% dessa nota para todos os atributos.

No geral, houve comentários sobre sabor picante/acentuado, amostra gordurosa e textura macia tanto para a lingüiça com rúmen quanto para a com soja. Cinco provadores comentaram não notarem diferença entre as amostras.

A principal diferença comentada por aqueles provadores que acertaram a amostra diferente no teste triangular foi novamente quanto ao sabor picante e condimentado, e também não houve consenso entre qual lingüiça estava mais apimentada, se a com rúmen ou a com soja. Houve dois comentários sobre a textura da lingüiça com rúmen não ser firme. Não houve consenso no teste de aceitação, pois dependendo da intensidade da pimenta e do condimento, isso resultou em notas maiores ou menores dependendo do provador.

4.4.1.3 Farinha de RB X Extrusado de RB

A Tabela 4.4 apresenta as médias obtidas por cada amostra de lingüiça toscana.

Tabela 4.4: Médias de aceitação para cada atributo das duas amostras de lingüiça toscana.

	Farinha de RB	Extrusado de RB
Aparência	7,00 ^a	6,98 ^a
Aroma	6,88 ^a	7,30 ^b
Textura	6,94 ^a	7,22 ^a
Sabor	6,67 ^a	7,44 ^b
Avaliação global	6,86 ^a	7,50 ^b

^a Letras iguais na mesma linha indicam médias estatisticamente iguais entre si ($p < 0,05$).

Obs.: As médias e desvios-padrão dos atributos são os mesmos das Tabelas 4.2 e 4.3, sendo que os desvios-padrão não estão aqui dispostos.

Houve diferenças para os atributos aroma, sabor e avaliação global, com maior nota para a lingüiça contendo extrusado de rúmen bovino. A farinha não passou por nenhum processo de cocção, sendo que o extrusado sim, o que já levou à formação de compostos voláteis neste. Provavelmente, os compostos voláteis originados a partir da farinha durante a cocção da lingüiça foram percebidos pelos provadores, causando menores notas. Observando as comparações entre farinha e extrusado de rúmen para os outros dois produtos (itens 4.4.3.3 e 4.4.4.3), não houve diferenças estatísticas entre esses mesmos atributos. A cocção do hambúrguer de frango e do quibe foi diretamente a fritura, enquanto a da lingüiça toscana foi através de fervura e posteriormente fritura. Acredita-se que a utilização da fervura pode ter sido responsável pela formação dos compostos voláteis que prejudicaram a aceitação da lingüiça contendo farinha de rúmen.

A Figura 4.19 mostra a distribuição da aceitação para cada atributo das duas amostras.

Figura 4.19: Distribuição dos provadores (%) segundo escala hedônica estruturada de 9 pontos para as duas amostras de lingüiça toscana.

Observou-se divergência na distribuição das notas para aroma, sabor e avaliação global. Para o aroma, houve maiores frequências de nota 5 para a farinha e de nota 6 para o extrusado; para o sabor, a frequência de nota 7 foi maior para a farinha contra uma maior frequência de nota 8 para o extrusado; quanto à avaliação global, a diferença esteve entre as notas 5 e 6, sendo que aquela esteve mais frequente para a farinha e esta para o extrusado. Todas essas diferenças entre as frequências das notas foram as responsáveis pelas maiores médias para a lingüiça com extrusado de rúmen.

Houve recusa para os dois produtos, mas principalmente para a lingüiça com farinha.

4.4.3 ANÁLISE SENSORIAL DO HAMBÚRGUER DE FRANGO

4.4.3.1 Extrusado de RB X Extrusado de CPS

No teste triangular, dezoito foram as respostas corretas entre cinquenta e um provadores. Por isso, conclui-se com 95% de confiança que não mais que 30% da população será capaz de diferenciar as amostras.

A Tabela 4.5 apresenta as médias obtidas por cada amostra de hambúrguer de frango.

Tabela 4.5: Médias de aceitação para cada atributo das duas amostras de hambúrguer de frango.

	Extrusado de RB (dp)	Extrusado de CPS (dp)
Aparência	7,45 (0,94) ^a	7,45 (1,40) ^a
Aroma	7,47 (1,10) ^a	7,29 (1,40) ^a
Textura	6,78 (1,19) ^a	7,25 (1,31) ^b
Sabor	7,06 (1,53) ^a	7,00 (1,56) ^a
Avaliação global	7,25 (1,13) ^a	7,25 (1,31) ^a

^a Letras iguais na mesma linha indicam médias estatisticamente iguais entre si ($p < 0,05$).

Todos os atributos do hambúrguer foram estatisticamente iguais, com exceção da textura que apresentou menor nota para o extrusado de rúmen. Mesmo assim, a avaliação global desse hambúrguer não foi afetada.

A Figura 4.20 mostra a distribuição da aceitação para cada atributo das duas amostras.

Figura 4.20: Distribuição dos provadores (%) segundo escala hedônica estruturada de 9 pontos para as duas amostras de hambúrguer de frango.

A distribuição das notas para as duas amostras foi divergente para todos os atributos, com menor intensidade para a aparência. Apesar disso, não houve diferenças estatísticas entre as médias, com exceção da textura. Para este atributo, observou-se uma queda na frequência das notas a partir de 6 para o hambúrguer com extrusado de rúmen, o que justifica sua menor média.

Verificou-se baixa recusa dos dois produtos, sendo mais frequente para o hambúrguer contendo extrusado de concentrado protéico de soja.

A distribuição das notas apresentou maior concentração acima de seis para todos os atributos, sendo que os dois produtos foram bem aceitos pelos provadores, já que houve, no mínimo, 88% dessa nota para todos os atributos.

Houve comentários sobre amostra salgada, sabor suave, problemas com a textura e amostra gordurosa. É interessante mencionar que, embora a média para

textura tenha sido menor para a amostra com rúmen bovino, foram seis comentários reclamando da textura para a amostra com soja contra duas reclamações da amostra com rúmen.

Dentre os provadores que acertaram a amostra diferente no teste triangular, dois alegaram que o hambúrguer contendo rúmen pareceu mais salgado, mas este comentário não resultou em menor aceitação para o sabor desta amostra, pois as duas obtiveram mesma nota. Outros degustadores comentaram sobre a textura do hambúrguer, mas isso também não influenciou nas notas atribuídas pelo provador para a textura das amostras no teste de aceitação.

4.4.3.2 Farinha de RB X Extrusado de CPS

No teste triangular, vinte e seis foram as respostas corretas entre cinquenta e um provadores. Por isso, conclui-se com 95% de confiança que existem diferenças perceptíveis entre as duas amostras.

A Tabela 4.6 apresenta as médias obtidas por cada amostra de hambúrguer de frango.

Tabela 4.6: Médias de aceitação para cada atributo das duas amostras de hambúrguer de frango.

	Farinha de RB (dp)	Extrusado de CPS (dp)
Aparência	7,36 (1,31) ^a	7,24 (1,17) ^a
Aroma	7,22 (1,39) ^a	7,14 (1,32) ^a
Textura	6,64 (1,68) ^a	6,76 (1,76) ^a
Sabor	6,66 (1,64) ^a	6,82 (1,60) ^a
Avaliação global	6,94 (1,45) ^a	7,00 (1,40) ^a

^a Letras iguais na mesma linha indicam médias estatisticamente iguais entre si ($p < 0,05$).

Não houve diferenças, para nenhum atributo, entre as duas amostras. Isso mostra que a substituição do extrusado de concentrado protéico de soja pela farinha de rúmen bovino não alterou as características sensoriais do hambúrguer.

A Figura 4.21 mostra a distribuição da aceitação para cada atributo das duas amostras.

Figura 4.21: Distribuição dos provadores (%) segundo escala hedônica estruturada de 9 pontos para as duas amostras de hambúrguer de frango.

Observou-se bastante divergência entre as distribuições das notas para os atributos das duas amostras, com exceção da avaliação global. Apesar disso, não houve diferenças estatísticas entre as médias dos dois hambúrgueres.

Houve recusas, principalmente em relação à textura e sabor, sendo predominante para o hambúrguer contendo farinha de rúmen.

A distribuição das notas apresentou maior concentração acima de seis para todos os atributos, sendo que os dois produtos foram bem aceitos pelos provadores, já que houve, no mínimo, 78% dessa nota para todos os atributos.

Houve comentários sobre amostra salgada, sabor suave, textura macia/consistente, amostra gordurosa e sabor agradável. Três provadores comentaram não notarem diferença entre as amostras.

Alguns provadores que acertaram a amostra diferente no teste triangular alegaram que o hambúrguer contendo rúmen apresentou sabor mais forte, mas nem sempre as notas atribuídas no teste de aceitação foram coerentes com o relatado no triangular. Outros degustadores comentaram que o hambúrguer com rúmen esteve mais gorduroso, e isso refletiu em menor nota por provador para textura dessa amostra no teste de aceitação.

4.4.3.3 Farinha de RB X Extrusado de RB

A Tabela 4.7 apresenta as médias obtidas por cada amostra de hambúrguer de frango.

Tabela 4.7: Médias de aceitação para cada atributo das duas amostras de hambúrguer de frango.

	Farinha de RB	Extrusado de RB
Aparência	7,36 ^a	7,45 ^a
Aroma	7,22 ^a	7,47 ^a
Textura	6,64 ^a	6,78 ^a
Sabor	6,66 ^a	7,06 ^a
Avaliação global	6,94 ^a	7,25 ^a

^a Letras iguais na mesma linha indicam médias estatisticamente iguais entre si ($p < 0,05$).

Obs.: As médias e desvios-padrão dos atributos são os mesmos das Tabelas 4.5 e 4.6, sendo que os desvios-padrão não estão aqui dispostos.

Não houve diferenças, para nenhum atributo, entre as duas amostras. Isso mostra que em relação às características sensoriais do hambúrguer de frango, pode ser utilizada tanto a farinha quanto o extrusado de rúmen, já que a aceitação foi a mesma.

A Figura 4.22 mostra a distribuição da aceitação para cada atributo das duas amostras.

Figura 4.22: Distribuição dos provadores (%) segundo escala hedônica estruturada de 9 pontos para as duas amostras de hambúrguer de frango.

Observou-se divergência na distribuição das notas para todos os atributos, embora isso não tenha resultado em diferenças significativas entre as médias.

Houve recusa para os dois produtos, sendo maior em aparência, textura e sabor e predominante para o hambúrguer contendo farinha de rúmen.

4.4.4 ANÁLISE SENSORIAL DO QUIBE

4.4.4.1 Extrusado de RB X Extrusado de CPS

No teste triangular, vinte e sete foram as respostas corretas entre cinquenta e um provadores. Por isso, conclui-se com 95% de confiança que existem diferenças perceptíveis entre as duas amostras.

A Tabela 4.8 apresenta as médias obtidas por cada amostra de quibe.

Tabela 4.8: Médias de aceitação para cada atributo das duas amostras de quibe.

	Extrusado de RB (dp)	Extrusado de CPS (dp)
Aparência	8,04 (0,89) ^a	7,98 (0,91) ^a
Aroma	7,24 (1,37) ^a	7,25 (1,37) ^a
Textura	7,80 (1,04) ^a	7,69 (1,05) ^a
Sabor	7,59 (1,19) ^a	7,45 (1,39) ^a
Avaliação global	7,71 (0,97) ^a	7,76 (0,95) ^a

^a Letras iguais na mesma linha indicam médias estatisticamente iguais entre si ($p < 0,05$).

Não houve diferenças, para nenhum atributo, entre as duas amostras. Isso mostra que a substituição do extrusado de concentrado protéico de soja pelo do de rúmen bovino não alterou as características sensoriais do quibe.

A Figura 4.23 mostra a distribuição da aceitação para cada atributo das duas amostras.

Figura 4.23: Distribuição dos provadores (%) segundo escala hedônica estruturada de 9 pontos para as duas amostras de quibe.

A distribuição das notas foi bastante similar para os dois produtos, exceto para os atributos sabor e avaliação global, o que não resultou em médias diferentes estatisticamente. Praticamente não houve recusas para nenhum dos dois quibes.

A distribuição das notas apresentou maior concentração acima de seis para todos os atributos, sendo que os dois produtos foram bem aceitos pelos provadores, já que houve, no mínimo, 84% dessa nota para todos os atributos.

Houve comentários sobre sabor suave, diferença na textura e sabor forte de hortelã. Oito provadores comentaram não notarem diferença entre as amostras.

Alguns dos provadores que acertaram a amostra diferente no teste triangular relataram diferença na intensidade do sabor, mas não houve consenso entre qual quibe estava mais condimentado, e a amostra com sabor mais suave teve maior nota no teste de aceitação. Outros degustadores comentaram que o quibe com rúmen

esteve mais crocante e atribuíram nota maior para a textura dessa amostra. É interessante mencionar que um provador comentou que a amostra diferente no teste triangular, no caso o quibe com rúmen, parecia conter peixe, e o mesmo comentário foi feito no teste de aceitação.

4.4.4.2 Farinha de RB X Extrusado de CPS

Nessa análise sensorial, participaram 42 provadores.

No teste triangular, dezoito foram as respostas corretas entre quarenta e dois provadores. Por isso, conclui-se com 95% de confiança que existem diferenças perceptíveis entre as duas amostras.

A Tabela 4.9 apresenta as médias obtidas por cada amostra de quibe.

Tabela 4.9: Médias de aceitação para cada atributo das duas amostras de quibe.

	Farinha de RB (dp)	Extrusado de CPS (dp)
Aparência	7,60 (1,34) ^a	7,29 (1,38) ^b
Aroma	7,36 (1,38) ^a	7,36 (1,25) ^a
Textura	7,62 (1,13) ^a	7,07 (1,22) ^b
Sabor	7,64 (1,19) ^a	7,31 (1,20) ^a
Avaliação global	7,60 (1,25) ^a	7,26 (1,15) ^b

^a Letras iguais na mesma linha indicam médias estatisticamente iguais entre si ($p < 0,05$).

Houve diferenças para os atributos aparência, textura e avaliação global, sendo que as médias para o quibe contendo farinha de rúmen foram maiores do que para a soja. Isso mostra que a substituição do extrusado de concentrado protéico de soja pela farinha de rúmen bovino melhorou a aceitação do quibe.

A Figura 4.24 mostra a distribuição da aceitação para cada atributo das duas amostras.

Figura 4.24: Distribuição dos provadores (%) segundo escala hedônica estruturada de 9 pontos para as duas amostras de quibe.

A distribuição das notas foi divergente para todos os atributos e praticamente não houve recusas para nenhum dos dois quibes.

A distribuição das notas apresentou maior concentração acima de seis para todos os atributos, sendo que os dois produtos foram bem aceitos pelos provadores, já que houve, no mínimo, 86% dessa nota para todos os atributos.

Houve comentários sobre o agradável sabor das amostras e sobre diferenças quanto à suavidade das amostras. Nove provadores comentaram não notarem diferença entre as amostras.

Alguns dos provadores que acertaram a amostra diferente no teste triangular comentaram sobre diferenças nas texturas das duas amostras, mas nem todos atribuíram notas coerentes no teste de aceitação.

4.4.4.3 Farinha de RB X Extrusado de RB

A Tabela 4.10 apresenta as médias obtidas por cada amostra de quibe.

Tabela 4.10: Médias de aceitação para cada atributo das duas amostras de quibe.

	Farinha de RB	Extrusado de RB
Aparência	7,60 ^a	8,04 ^b
Aroma	7,36 ^a	7,24 ^a
Textura	7,62 ^a	7,80 ^a
Sabor	7,64 ^a	7,59 ^a
Avaliação global	7,60 ^a	7,71 ^a

^a Letras iguais na mesma linha indicam médias estatisticamente iguais entre si ($p < 0,05$).

Obs.: As médias e desvios-padrão dos atributos são os mesmos das Tabelas 4.8 e 4.9, sendo que os desvios-padrão não estão aqui dispostos.

Não houve diferença, para nenhum atributo, entre as duas amostras, com exceção da aparência, que apresentou maior nota para o quibe contendo extrusado de rúmen. Isso mostra que em relação às características sensoriais do quibe, pode ser utilizada tanto a farinha quanto o extrusado de rúmen por não apresentar diferença na aceitação.

A Figura 4.25 mostra a distribuição da aceitação para cada atributo das duas amostras.

Figura 4.25: Distribuição dos provadores (%) segundo escala hedônica estruturada de 9 pontos para as duas amostras de quibe.

Observou-se certa similaridade na distribuição das notas para os atributos, com exceção da aparência e aroma. As freqüências relacionadas à aparência resultaram em diferença estatística entre as médias, enquanto que para o aroma as médias foram estatisticamente iguais.

Praticamente não houve recusas para nenhum dos dois quibes.

4.5 CONCLUSÃO

A avaliação sensorial de lingüiça toscana contendo 1,5% de proteína de soja ou de rúmen mostrou que parte da população consegue distinguir a amostra contendo extrusado de rúmen da contendo concentrado protéico de soja, mas há diferenças perceptíveis entre a lingüiça com farinha de rúmen e a com proteína concentrada de soja texturizada. Todas as amostras de lingüiça foram bem aceitas, com, no mínimo, 78% de notas acima de seis. A substituição da proteína de soja pelo extrusado de rúmen melhorou o sabor da lingüiça, mas a utilização da farinha de rúmen prejudicou o aroma e sabor deste alimento. Por isso, a utilização do rúmen bovino como ingrediente alimentar em lingüiça toscana deve ser feita em sua forma extrusada.

A avaliação sensorial de hambúrguer de frango contendo 2% de proteína de soja ou de rúmen mostrou que há diferenças perceptíveis entre a amostra contendo farinha de rúmen bovino e a contendo proteína concentrada de soja extrusada, mas apenas parte da população consegue distinguir o hambúrguer contendo extrusado de rúmen de outro contendo extrusado de soja. Além disso, a substituição da proteína de soja pelo extrusado de rúmen prejudicou a textura do hambúrguer, mas tanto a utilização da farinha de rúmen quanto a de seu extrusado resultaram em igual aceitação. Todas as amostras de hambúrguer de frango foram bem aceitas, com, no mínimo, 78% de notas acima de seis.

A avaliação sensorial de quibe contendo 1,5% de proteína de soja ou de rúmen mostrou que há diferenças perceptíveis entre a amostra contendo rúmen bovino (farinha ou extrusado) e a contendo proteína concentrada de soja extrusada. Além disso, a substituição da proteína de soja pelo rúmen melhorou a aceitação do quibe no geral, sendo que tanto a utilização da farinha de rúmen quanto a de seu extrusado resultaram em igual aceitação. Todas as amostras de quibe foram bem aceitas, com, no mínimo, 84% de notas acima de seis.

No geral, a substituição do extrusado de concentrado protéico de soja pelo rúmen bovino, seja na sua forma extrusada ou farinha, foi totalmente viável do ponto de vista sensorial.

4.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bourne MC. Texture profile of ripening pears. J Food Sci. 1968;33:223-6.

BKG adicon [homepage na internet]. São Bernardo do Campo; 2006. [acesso em 13 jul 2006]. Disponível em <http://www.adicon.com.br/dicas.htm>.

Friedman HH, Whitney JE, Szczesniak AS. The texturometer: a new instrument for objective texture measurements. J Food Sci. 1963;28:390-6.

Kinsella JE. Functional properties of proteins in food: a survey. Crit Rev Food Sci Nutr. 1976;7:219-80.

[MA/SDA] Ministério da Agricultura e do Abastecimento/ Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa n.º 4, de 31 de Março de 2000 [homepage na internet]. Brasília; 2000. [acesso em 13 jul 2006a]. Disponível em http://www.engetecno.com.br/legislacao/carnes_linguica.htm.

[MA/SDA] Ministério da Agricultura e do Abastecimento/ Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa n.º 20, de 31 de Julho de 2000 [homepage na internet]. Brasília; 2000. [acesso em 13 jul 2006b]. Disponível em http://www.engetecno.com.br/legislacao/carnes_hamburguer.htm.

[MA/SDA] Ministério da Agricultura e do Abastecimento/ Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa n.º 20, de 31 de Julho de 2000 [homepage na internet]. Brasília; 2000. [acesso em 13 jul 2006c]. Disponível em http://www.engetecno.com.br/legislacao/carnes_kibe.htm.

Meilgaard M, Civille GV, Carr BT. Sensory evaluation techniques. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, Inc.; 1991.

Meilgaard M, Civille GV, Carr BT. Sensory evaluation techniques. 3rd ed. Boca Raton: CRC Press; 1999.

Moraes MAC. Métodos para avaliação sensorial dos alimentos. 6^a ed. Campinas: UNICAMP; 1990.

Ramarathnam N, Rubin LJ, Diosady LL. Studies on meat flavor. 2. A quantitative investigation of the volatile carbonyls and hydrocarbons in uncured and cured beef and chicken. J Agric Food Chem. 1991;39:1839-47.

Silva Junior EA. Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos. 5^a edição. São Paulo: Livraria Varela; 2002.

Stone H, Sidel JL. Sensory evaluation practices. 2nd ed. San Diego: Academic Press; 1993.

Szczesniak, AS. Classification of textural characteristics. J Food Sci. 1963;28:385-9.

CAPÍTULO 5 – VIABILIZAÇÃO, EM TERMOS DE CUSTO, NA UTILIZAÇÃO DO RÚMEN BOVINO COMO INGREDIENTE ALIMENTAR

É importante avaliar o custo de produção da proteína de rúmen bovino. Entretanto, não foi feito nenhum estudo econômico para isso, mas sim uma pesquisa sobre o processo de produção da proteína de soja, contrapondo com o processo de produção da proteína do rúmen, visando, dessa forma, comparar os dois produtos.

Inicialmente, é preciso mencionar que todo o trabalho realizado na produção da proteína do rúmen foi feito em escala laboratorial, e só por esse motivo, consequentemente, o seu custo já é maior em relação a um processo industrial.

A Figura 5.1 mostra o fluxograma de produção da proteína de rúmen bovino.

Figura 5.1: Fluxograma da produção de proteína do rúmen bovino.

Duas etapas do fluxograma de produção da proteína do rúmen são consideradas “problemáticas” do ponto de vista industrial, já que a princípio resultariam em custo elevado: a liofilização e o desengorduramento.

O processo de secagem do rúmen foi fundamental por causa da grande perecibilidade desse material. A melhor possibilidade de secar o rúmen no laboratório seria em estufa ventilada, necessitando de mais de uma estufa, já que foi utilizada grande quantidade desse material. Por isso, optou-se pela liofilização, mesmo sabendo-se sobre seu alto custo. Acredita-se que, a partir do momento em que o rúmen for tratado em escala industrial, outras formas de secagem mais econômicas poderão ser utilizadas, inclusive uma secagem por ventilação.

A etapa de desengorduramento do rúmen também foi essencial, já que um material a ser extrusado precisa possuir baixo teor lipídico, principalmente em extrusoras de rosca única. Havia a possibilidade de desengordurar o rúmen por extração a quente com solventes, mas o rendimento era muito pequeno e, como também já explicado, grandes quantidades do material foram utilizadas. Optou-se, portanto, por uma extração a frio. Sabe-se que a extração a frio é menos eficiente para retirada de lipídeos de um material quando comparada à extração a quente. Por conta disso, utilizou-se uma proporção de 6:1 de solvente em relação a massa do material, sendo de 2:1 a relação de hexano para álcool etílico dentre as 6 proporções do solvente. Sem dúvida a extração de lipídeos feita gerou um alto custo e grandes quantidades de resíduos, mas foi a melhor opção a ser feita em escala laboratorial.

Acredita-se que o custo e os resíduos gerados pelo desengorduramento a frio do rúmen poderão ser minimizados se este for tratado em escala industrial. Tomando-se como exemplo a extração do óleo de soja, vê-se que tranquilamente essa etapa seria melhor realizada.

A extração do óleo de soja é feita ou por prensagem ou por extração com solvente (Figura 5.2), geralmente hexano. Recomenda-se que em alimentos com teor lipídico acima de 30% seja feita a prensagem, e em alimentos com menor teor lipídico seja feita a extração com solvente. Por isso, o óleo de soja (20% de lipídeos) geralmente é extraído com solvente e o óleo de girassol (35% de lipídeos) primeiro passa por uma prensagem, para redução do teor lipídico para 20%, e depois por uma extração com solvente (PINTRO, 2007).

Após e-mails enviados para vários produtores brasileiros de óleo de soja, obtiveram-se as seguintes informações: a proporção entre solvente e soja utilizada pelas indústrias é, em torno, de 1:1 ou de 1,2:1. Além disso, utilizam uma temperatura de extração em torno de 55°C, sendo que durante a etapa de condicionamento da soja (Figura 5.2), esta é submetida a uma temperatura de 70°C. A alta temperatura facilita a remoção de lipídeos sem a necessidade de grandes quantidades de solventes. Isso não ocorreu no desgorduramento do rúmen por ele ter sido desgordurado a frio. Por isso, acredita-se que um tratamento industrial, com aquecimento do rúmen bovino, reduziria a quantidade de solventes utilizados, gerando, dessa forma, menor custo e menos resíduos.

Figura 5.2: Fluxograma de produção da proteína de soja.

Fontes: ENGETECNO (2007); PINTRO (2007).

Após a extração de lipídeos do rúmen, este já pode ser extrusado ou prontamente utilizado na formulação de alimentos. Quanto à soja, após a extração de seu óleo, é obtido o farelo ou farinha desengordurada de soja, que pode ser diretamente extrusado ou submetido a outros processos, resultando em proteína concentrada ou proteína isolada de soja, podendo ser extrusada ou não. Os processos

para concentração e isolamento da proteína de soja geram custos, sendo que o rúmen, com mais de 90% de proteína (em base seca), já não precisa passar por mais nenhum processamento.

Também é importante lembrar que o rúmen trata-se de proteína cárnica, não havendo restrição de sua utilização em alimentos cárneos, e essa proteína possui alta qualidade nutritiva e está presente em grande quantidade.

Quanto ao custo de obtenção do rúmen ainda no abatedouro, vários e-mails foram enviados a frigoríficos questionando esse valor, que deveria ser voltado principalmente à indústria de alimentos, já que quanto maior a quantidade comprada, menor o preço. Mas nenhuma resposta foi obtida. Se se considerar que o preço do bucho bovino em açougues é de, aproximadamente, R\$ 3,90 o quilograma, o custo para a indústria poderia ser reduzido consideravelmente por causa da quantidade utilizada. Talvez também seja interessante comparar o preço do bucho, ou rúmen, com o das carnes utilizadas na produção dos alimentos cárneos (quibe, hambúrguer, etc.), pois como o rúmen se trata de carne e sua proteína constitui, portanto, proteína cárnica, a substituição da própria carne pelo rúmen poderia reduzir o custo do produto cárneo sem limite de adição da proteína de rúmen, como é o caso da proteína de soja.

Com todos os pontos discutidos em relação à produção da proteína de rúmen, é importante sua análise econômica, já que tanto tecnologicamente quanto sensorialmente a utilização do rúmen bovino em produtos cárneos é viável.

5.1 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Engetecno Online. Resolução CNNPA nº 14 , de 28 de junho de 1978 [homepage na internet]. Brasília; 1978 [acesso em 05 jul 2007]. Disponível em http://www.engetecno.com.br/legislacao/geral_deriv_soja.htm.

Pintro PTM. Soja – Pronaf [material na internet]. Maringá; 2007 [acesso em 05 jul 2007]. Disponível em <http://www.dag.uem.br/prof/ptmpintro/material/3b/soja.pdf>.

CAPÍTULO 6 – CONCLUSÃO GERAL

A aplicação do rúmen bovino como ingrediente alimentar mostrou-se viável do ponto de vista nutricional, já que o mesmo representou uma matéria-prima muito rica em proteína e, quando desengordurado, grande parte de seu colesterol e todos ácidos graxos saturados foram extraídos. A qualidade nutritiva da proteína tanto da farinha como do extrusado foi alta e não foi afetada pela extrusão.

A extrusão termoplástica constitui uma forma de aproveitamento do rúmen bovino, mas não é essencial para sua aplicação em alimentos, pois dependendo do produto não se mostrou necessária (hambúrguer de frango e quibe). Embora com propriedades funcionais diferentes, principalmente quanto à capacidade de emulsificação, as aplicações da farinha e do extrusado resultaram em ótima aceitação sensorial dos produtos cárneos, sendo que apenas para a lingüiça toscana a utilização do extrusado de rúmen apresentou melhor resultado.

ANEXOS

ANEXO 1 – ESTUDO PILOTO COM PROTEÍNA CONCENTRADA DE SOJA PARA ESTABELECIMENTO DE PARÂMETROS PARA EXTRUSÃO DO RÚMEN BOVINO

A1.1 INTRODUÇÃO

Quando se tem um novo material a ser estudado e extrusado, o ideal é se basear na literatura científica, que fornece trabalhos realizados com materiais semelhantes ao que será estudado, e também são necessários testes prévios com este material.

No caso do rúmen bovino, nenhum trabalho sobre extrusão havia sido feito. Durante a Iniciação Científica, foi realizado um trabalho de extrusão com o rúmen, mas foi utilizada outra extrusora, sendo que a antiga e a atual extrusora eram completamente diferentes em termos de estrutura. Existiam alguns trabalhos do laboratório feitos com o pulmão bovino, mas também foram realizados na antiga extrusora.

Foram feitos inúmeros testes de extrusão com o rúmen bovino. Mas se observou uma grande dificuldade em estabilizar o fluxo do rúmen na saída do equipamento, além de uma texturização inadequada do material.

Estavam sendo gastas grandes quantidades de rúmen nesses testes prévios. Por isso, optou-se por se fazer um piloto com outro material que serviu de comparação para toda a Tese: o concentrado protéico de soja.

A princípio teve-se como objetivo trabalhar com o isolado protéico de soja devido ao seu teor protéico aproximado ao do rúmen bovino (90%). À Solae - BUNGE Alimentos foi solicitada uma amostra do isolado protéico de soja, pois a venda deste material deveria ser, no mínimo, de 400kg. Com isso, foi aguardada a doação da amostra. Mas esta não chegou, mesmo após vários contatos com um dos responsáveis técnicos por essa doação.

Entrou-se em contato com a ADM Exportadora e Importadora S/A e foi solicitada uma amostra de concentrado protéico de soja, pois eles não possuíam o isolado protéico de soja. Optou-se pelo concentrado protéico porque, após discussão

com responsáveis técnicos das empresas Solae - BUNGE Alimentos e da própria ADM, foi sabido que o isolado protéico de soja é menos utilizado na formulação de alimentos no Brasil devido ao seu alto custo, sendo que são mais usados o concentrado protéico de soja e até o farelo desengordurado de soja, que contém cerca de 50% de proteína.

Decidiu-se, portanto, utilizar o concentrado protéico de soja como teste-piloto para a extrusão do rúmen bovino, sendo que o mesmo representou o “padrão” de comparação para todas as análises feitas nessa Tese.

A1.2 METODOLOGIA

A1.2.1 CONCENTRADO PROTÉICO DE SOJA

O concentrado protéico de soja foi fornecido por ADM Exportadora e Importadora S/A.

Este material não sofreu nenhum tipo de processamento até o momento da extrusão.

A1.2.2 TESTES DE EXTRUSÃO COM O CONCENTRADO PROTÉICO DE SOJA (CPS)

Foram realizados **2 GRUPOS** de testes:

- grupo 1: variando-se a configuração do equipamento e a velocidade de rotação da rosca;
- grupo 2: variando-se a temperatura, após definição da melhor configuração da máquina e também a velocidade de rotação da rosca.

GRUPO 1

Foram feitos quatro testes variando os tipos de camisa (helicoidal e estriada) e os tamanhos da rosca (conseqüentemente também houve variação na taxa de compressão). Em cada teste, a velocidade de rotação da rosca foi reduzida para

verificar o efeito dessa condição de extrusão sobre o material. Com esses testes o objetivo foi definir a melhor combinação das peças. Os testes foram assim divididos:

1º teste

- **duas camisas helicoidais;**
- rosca curta de passo largo, com taxa de compressão de 3:1 e relação comprimento/diâmetro (L/D) de 10,3:1;
- sub-trafila de orifícios de 5,5mm;
- trafilas de um orifício de 3,7mm;
- umidade do CPS: 35% (base seca);
- temperaturas (zona 1 a 3, respectivamente): 30, 80 e 110°C;
- velocidade de alimentação: 90g/min;
- velocidades de rotação da rosca: 263 - 236,7 - 210,4 - 184,1 - 157,8 - 131,5rpm (de 100 a 50%, respectivamente).

2º teste

- **duas camisas estriadas;**
- rosca curta de passo largo, com taxa de compressão de 3:1 e L/D de 10,3:1;
- sub-trafila de orifícios de 5,5mm;
- trafilas de um orifício de 3,7mm;
- umidade do CPS: 35% (base seca);
- temperaturas (zona 1 a 3, respectivamente): 30, 80 e 110°C;
- velocidade de alimentação: 90g/min;
- velocidades de rotação da rosca: 263 - 236,7 - 210,4 - 184,1 - 157,8 - 131,5rpm (de 100 a 50%, respectivamente).

3º teste

- **três camisas helicoidais;**
- rosca longa de passo largo, com taxa de compressão de 3,6:1 e L/D de 15,5:1;
- sub-trafila de orifícios de 5,5mm;
- trafilas de um orifício de 3,7mm;
- umidade do CPS: 35% (base seca);

- temperaturas (zona 1 a 5, respectivamente): 30, 60, 80, 100 e 120°C;
- velocidade de alimentação: 90g/min;
- velocidades de rotação da rosca: 263 - 236,7 - 210,4 - 184,1 - 157,8 - 131,5rpm (de 100 a 50%, respectivamente).

4º teste

- **três camisas estriadas;**
- rosca longa de passo largo, com taxa de compressão de 3,6:1 e L/D de 15,5:1;
- sub-trafila de orifícios de 5,5mm;
- trafilas de um orifício de 3,7mm;
- umidade do CPS: 35% (base seca);
- temperaturas (zona 1 a 5, respectivamente): 30, 60, 80, 100 e 120°C;
- velocidade de alimentação: 90g/min;
- velocidades de rotação da rosca: 263 - 236,7 - 210,4 - 184,1 - 157,8 - 131,5rpm (de 100 a 50%, respectivamente).

Foram mantidos constantes para todos os testes: sub-trafila, trafilas, umidade do material e velocidade de alimentação.

Para se definir as condições de extrusão para os testes, baseou-se na literatura científica, na qual a extrusão de materiais protéicos de soja já é bem documentada, além de testes prévios com o material na própria extrusora.

GRUPO 2

Após os testes acima, foi decidido variar a temperatura e novamente a velocidade de rotação da rosca utilizando a configuração do 3º teste (melhor configuração, item 3).

5º teste

- três camisas helicoidais;
- rosca longa de passo largo, com taxa de compressão de 3,6:1 e L/D de 15,5:1;
- sub-trafila de orifícios de 5,5mm;

- trafilado de um orifício de 3,7mm;
- umidade do CPS: 35% (base seca);
- temperaturas (zona 1 a 3, respectivamente): 30, 60 e 80°C;
- temperaturas (zona 4 e 5, respectivamente): 100 e 120°C (1ª variação)
115 e 130°C (2ª variação)
130 e 150°C (3ª variação);
- velocidade de alimentação: 90g/min;
- velocidades de rotação da rosca: 263 - 236,7 - 210,4 - 184,1 - 157,8 - 131,5rpm (de 100 a 50%, respectivamente).

Nos extrusados obtidos em todos os testes, foi medida a razão de expansão e feito teste de reidratação, pois ambos são indicativos da adequada texturização de materiais protéicos extrusados.

A1.2.3 RAZÃO DE EXPANSÃO

Os extrusados tiveram seus diâmetros medidos e, a partir disso, calculada a razão de expansão segundo a fórmula abaixo.

$$\text{razão de expansão} = \frac{\text{média dos diâmetros dos extrusados}}{\text{diâmetro do orifício de saída}}$$

Para a mensuração dos diâmetros foi utilizado um paquímetro Mitutoyo e feitas 30 medidas aleatórias.

A1.2.4 TESTE DE REIDRATAÇÃO

Foi realizado um teste de reidratação nos extrusados para verificar se houve uma adequada texturização dos mesmos.

Para a reidratação, aqueceu-se água a 100°C e os extrusados permaneceram imersos na mesma durante cinco minutos (sem fervura). Após este tempo, retiraram-se os extrusados e visualmente foi verificada se houve reidratação adequada ou não dos mesmos.

A1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nos quatro primeiros testes estão na Tabela A1.1.

Tabela A1.1: Razão de expansão, aparência e reidratação dos extrusados nos quatro testes com o concentrado protéico de soja.

	Velocidade de rotação da rosca					
	100 %	90 %	80 %	70 %	60 %	50 %
1º teste						
Razão de expansão (dp)	2,09 (0,14)	2,25 (0,13)	2,15 (0,14)	2,20 (0,18)	2,07 (0,12)	2,15 (0,15)
Aparência	pouco irregular	pouco irregular	pouco irregular	pouco irregular	pouco irregular	pouco irregular
Reidratação	extrusado resistente	extrusado resistente	extrusado resistente	extrusado resistente	extrusado resistente	extrusado resistente
2º teste						
Razão de expansão (dp)	1,96 (0,11)	1,89 (0,10)	1,91 (0,15)	1,86 (0,14)	--*	--*
Aparência	muito irregular e compacto	muito irregular e compacto	muito irregular e compacto	muito irregular e compacto	--*	--*
Reidratação	ruim; extrusado duro	ruim; extrusado duro	ruim; extrusado duro	ruim; extrusado duro	--*	--*
3º teste						
Razão de expansão (dp)	2,48 (0,12)	2,48 (0,14)	2,29 (0,16)	2,40 (0,11)	2,25 (0,14)	2,17 (0,12)
Aparência	regular	regular	regular	regular	regular	regular
Reidratação	extrusado resistente	extrusado resistente	extrusado resistente	extrusado resistente	extrusado resistente	extrusado resistente

“continua”

Tabela A1.1: Razão de expansão, aparência e reidratação dos extrusados nos quatro testes com o concentrado protéico de soja.

“continuação”

	Velocidade de rotação da rosca					
	100 %	90 %	80 %	70 %	60 %	50 %
4º teste						
Razão de expansão (dp)	1,82 (0,08)	1,80 (0,15)	1,78 (0,13)	1,84 (0,11)	1,76 (0,15)	1,81 (0,12)
Aparência	muito irregular e compacto	muito irregular e compacto	muito irregular e compacto	muito irregular e compacto	muito irregular e compacto	muito irregular e compacto
Reidratação	ruim; extrusado duro	ruim; extrusado duro	ruim; extrusado duro	ruim; extrusado duro	ruim; extrusado duro	ruim; extrusado duro

* O material não passou na rotação de 60%, não sendo possível continuar a extrusão.

Os dados apresentados mostram que a utilização da rosca longa com camisas helicoidais (3º teste) promoveu extrusados com maior razão de expansão, além de melhor regularidade e melhor capacidade de reidratação. E comparando-se as razões de expansão nas diferentes velocidades de rotação no 3º teste, em rotações maiores houve maior razão de expansão do que nas menores.

O resultado do 5º teste, feito com as configurações do 3º teste, mas variando as temperaturas e velocidade de rotação, são mostrados na Tabela A1.2.

Tabela A1.2: Razão de expansão, aparência e reidratação dos extrusados no quinto teste com o concentrado protéico de soja.

	Velocidade de rotação da rosca					
	100%	90%	80%	70%	60%	50%
1ª variação						
Razão de expansão (dp)	2,10 (0,14)	2,16 (0,10)	2,00 (0,10)	2,10 (0,10)	1,96 (0,10)	2,01 (0,07)
Aparência	irregular	pouco irregular	irregular	irregular	mais irregular	mais irregular
Reidratação	extrusado resistente	extrusado resistente	extrusado resistente	extrusado resistente	extrusado pouco compacto	extrusado pouco compacto
2ª variação						
Razão de expansão (dp)	2,24 (0,14)	2,11 (0,12)	1,97 (0,11)	2,02 (0,06)	2,15 (0,12)	2,12 (0,11)
Aparência	menos irregular	irregular	irregular	irregular	irregular	irregular
Reidratação	extrusado resistente	extrusado resistente	extrusado pouco compacto	extrusado pouco compacto	extrusado resistente	extrusado resistente
3ª variação						
Razão de expansão (dp)	2,07 (0,14)	2,10 (0,08)	1,95 (0,09)	1,95 (0,13)	1,88 (0,10)	1,70 (0,11)
Aparência	irregular	irregular	irregular	irregular	irregular	irregular
Reidratação	extrusado resistente	extrusado resistente	extrusado pouco compacto	extrusado pouco compacto	extrusado resistente	extrusado pouco compacto

Notou-se, de um modo geral, uma maior razão de expansão na 2ª variação, seguida pela 1ª variação. E, novamente, em velocidades de rotação maiores houve também maior expansão dos extrusados.

No teste acima, os extrusados saíram menos regulares do que os obtidos no 3º teste, motivo pelo qual tiveram sua aparência classificada como irregular.

Após todos os testes realizados, pôde-se chegar à conclusão de que os resultados obtidos foram bem próximos do que se é conhecido sobre extrusão de proteína concentrada ou isolada de soja, ou seja, umidade acima de 30% e altas temperaturas (ARÊAS 1992; HUY 1992; PRUDÊNCIO-FERREIRA e ARÊAS 1993; LIN et al. 2000; LIN et al. 2002).

Por isso, o teste-piloto com o concentrado protéico de soja foi finalizado com as seguintes condições de extrusão:

- três camisas helicoidais;
- rosca de passo largo, de uma saída, com taxa de compressão de 3,6:1 e relação comprimento/diâmetro (L/D) de 15,5:1;
- sub-trafila de orifícios de 5,5mm;
- trafilas de um orifício de 3,7mm;
- temperaturas (zona 1 a 5, respectivamente): 30, 60, 80, 115 e 130°C;
- velocidades de rotação da rosca: 263rpm (100%);
- velocidade de alimentação: 90g/min;
- umidade da amostra: 35% (base seca).

Nos testes seguintes com o rúmen bovino, a configuração acima foi testada, mas, como esperado, alguns ajustes ainda tiveram de ser feitos para se obter extrusados melhor texturizados. Apenas no delineamento experimental 2 houve uma real melhora na estabilidade do rúmen à saída do equipamento.

A1.4 CONCLUSÃO

O teste-piloto feito com o concentrado protéico de soja foi de grande valia, pois foi possível estabelecer parâmetros para a extrusão do rúmen bovino, principalmente quanto à configuração da extrusora.

A1.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arêas JAG. Extrusion of food proteins. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 1992;32:365-92.

Huy YH ed. *Encyclopedia of food science and technology.* vol. 2. New York: John Wiley & Sons Inc. 1992. p. 800-14.

Lin S, Huff HE, Hsieh F. Texture and chemical characteristics of soy protein meat analog extruded at high moisture. *J Food Sci.* 2000;65:264-69.

Lin S, Huff HE, Hsieh F. Extrusion process parameters, sensory characteristics, and structural properties of a high moisture soy protein meat analog. *J Food Sci.* 2002;67:1066-72.

Prudêncio-Ferreira SH, Arêas JAG. Protein-protein interactions in the extrusion of soya at various temperatures and moisture contents. *J Food Sci.* 1993;58:378-81,384.

ANEXO 2 – ANÁLISE DE AMINOÁCIDOS REALIZADA PELA EMPRESA LABTEC (GUABI, CAMPINAS/SP)

Método de Ensaio	N.º:	Pg. 1 de 3
	Determinação de Amino -Ácidos	Revisão: 00	Data :
		Emitido por: Alethea Godoy	Em: 03/07/06

1 – Resultado Esperado

Obter o valor de amino-ácidos na amostra.

2 – Abrangência

Aplicação em proteínas , misturas de amino-ácidos e drogas puras..

3 – Responsabilidade

Analista de laboratório .

4 – Condições necessárias

4.1. Materiais e Equipamentos utilizados :

- Analizador de amino ácidos - modelo Hitachi L8500A
- Padrão amino-ácidos (Pickering catalog. 012506H) concentração de 0,25 µg deAA.
- balão volumétrico de 25 ml;
- filtro Millex 0.45 µm.

4.2. Reagentes e soluções :

- HCl 0.02N : Medir 1,65 ml de ácido clorídrico 37% e completar o volume para 1000 ml com água
- HCl 6.0 N : Medir 248,3 ml de ácido clorídrico 37% e completar o volume para 500 ml com água.
- Hidróxido de lítio 4N: Pesar 83,92 gramas Hidróxido de lítio e dissolver em água no ultrassom para o volume de 500 ml .
- Tampão de Fase móvel (PH1 até PH4) , reagente de ninidrina e acetato de Lítio.(tabela 2).

5 – Atividades

5.1 System Suitability:

- Realizar o procedimento system suitability do laboratório para checagem da estabilidade do equipamento e condicionamento da metodologia.
- Parâmetros do System Suitability: RSD < 2.0% para Área
RSD < 1,0% para Tempo

Elaborado por: Hiro	Aprovado por: Edson Brito	Consenso: Edson marcos / Daniela
---------------------	---------------------------	----------------------------------

ESTA NORMA SÓ É VÁLIDA SE CARIMBADA NA COR VERDE PELO ESCRITÓRIO DA QUALIDADE COMO
"CÓPIA CONTROLADA".

Método de Ensaio	N.º:	Pg. 2 de 3
	Determinação de Amino -Ácidos	Revisão: 00	Data :
		Emitido por: Alethea Godoy	Em: 03/07/06

5.2 Modo de análise

A) Procedimento de preparação do padrão :

- padrão standart: Filtrar padrão pickering para um vial injetar 20 microlitros (5.0 nmol).
- Padrão de ácido cisteico e metionina sulfona : pesar 45,3 mg $\pm$ 1 de L-metionina Sulfona e 45,3 mg $\pm$ 1 de L-ácido cisteico em balão volumétrico de 100 ml e dissolver em HCl 0,02 N .
- pipetar aliquota de 1ml em balão de 10 ml e completar volume com HCl 0,02N. filtrar em millex.

B) Procedimento de preparação do amostra : Hidrolização via ácido clorídrico 6N.

- Pesar amostra conforme tabela 1 em frasco de penicilina.
- Pesar 120 mg de lisozima referência em outro frasco de penicilina.
- Adicionar 5 ml volumetrico de HCl 6N.
- Lacrar o frasco e fazer vácuo conforme esquema de bomba de vácuo.
- Colocar na estufa 110o.C durante 24 horas.
- Após resfriamento , filtrar em papel de filtro.
- Pipetar aliquota de 0,5 ml em balão volumetrico de 25 ml.
- Deixar em dessecador á vacuo até a secagem do completa do ácido.
- Redissolver com HCl 0,02N e completar o volume.
- Filtrar em millex 0,45 .
- Colocar vial no analisador de amino-ácidos para proceder a análise.

C) Procedimento de preparação do amostra : Hidrolização via Hidroxido de lítio 4N

nesta hidrolise o triptofano não sofre degradação.

- Pesar amostra conforme tabela 1 em frasco de penicilina.
- Adicionar 5 ml volumetrico de Hidroxido de Litio 4N.
- Lacrar o frasco e fazer vácuo conforme esquema de bomba de vácuo.
- Colocar na estufa 110o.C durante 22 horas.
- Após resfriamento.
- Adicionar 1 ml de ácido fosfórico 85%.
- Agitar e retirar o gás formado.
- Transferir para um balão volumétrico de 25 ml e completar o volume com água.
- Filtrar em papel de filtro millex 0.45.
- Colocar vial no analisador de amino-ácidos para proceder a análise.

Elaborado por: Hiro	Aprovado por: Edson Brito	Consenso: Edson marcos / Daniela
---------------------	---------------------------	----------------------------------

ESTA NORMA SÓ É VÁLIDA SE CARIMBADA NA COR VERDE PELO ESCRITÓRIO DA QUALIDADE COMO
"CÓPIA CONTROLADA"

Método de Ensaio	N.º:	Pg. 3 de 3
	Determinação de Amino -Ácidos	Revisão: 00	Data :
		Elaborado por: Alethea Godoy	Em: 03/07/06

D . Procedimento de preparação do amostra : Oxidação com ácido perbórmico.

nesta oxidação e hidrólise para cistina e metionina..

- Pesar 500 mg em frasco de penicilina.
- Adicionar 2 ml de solução de ácido performico.
- Deixar em banho de gelo(0 o.C) por 20 horas
- Adicionar 0,3 ml de ácido bromídrico (secar em fluxo de argônio)
- Adicionar 5 ml volumetrico de HCl 6N.
- Lacrar o frasco e fazer vácuo conforme esquema de bomba de vácuo.
- Colocar na estufa 110o.C durante 24 horas.
- Após resfriamento , filtrar em papel de filtro.
- Pipetar aliquota de 0,5 ml em balão volumetrico de 25 ml.
- Deixar em dessecador á vacuo até a secagem do completa do ácido.
- Redissolver com HCl 0,02N e completar o volume.
- Filtrar em millex 0,45 .
- Colocar vial no analisador de amino-ácidos para proceder a análise.

ANEXO 3 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO
Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 470
CEP 05403-000 - São Paulo - Brasil
Telefone: (55-11) 3066-7066 e 3064-5132 FAX: (55-11) 3064-5132
e 3062-2174

São Paulo, 07 de julho de 2006.

Ilmo. Sr.
Prof. Dr. José Alfredo Gomes Áreas
Faculdade de Saúde Pública U.S.P.

Prezado Senhor:

Na presente data o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo analisou e **aprovou**, no que diz respeito a aspectos de natureza ética, o projeto de pesquisa "**Avaliação físico-química e nutricional do extrusado de rúmen bovino e sua aplicação na alimentação humana**", referente ao trabalho de Doutorado de **Ana Carolina Conti e Silva** e encaminhado por Vossa Senhoria.

Prof. Dr. Pedro Paulo Chieffi
Coordenador do CEP/IMT

ANEXO 4 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA FACULDADE DE SAÚDE PÚBLICA

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – COEP/FSP

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE SAÚDE PÚBLICA

Of. COEP/ 225 / 06

Protocolo 1525
Projeto de Pesquisa Avaliação físico química e nutricional de extrusado de rúmen bovino e sua aplicação na alimentação humana
Pesquisador(a) Ana Carolina Conti e Silva

12 de julho de 2006.

Prezado(a) Orientador(a),

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo - COEP, analisou, em sua 10ª/06 Sessão Extraordinária, realizada nesta data, de acordo com os requisitos da Resolução CNS/196/96 e suas complementares, o protocolo de pesquisa acima intitulado e o considerou **APROVADO**.

Lembramos que, conforme Resolução CNS/196/96 são deveres do(a) pesquisador(a):

1. Comunicar, de imediato, qualquer alteração no projeto e aguardar manifestação deste CEP (Comitê de Ética em Pesquisa), para dar continuidade à pesquisa;
2. Manter em local seguro pelo prazo de 5 anos os dados individuais de todas as etapas da pesquisa para eventual auditoria.

Atenciosamente,

Eunice Aparecida Bianchi Galati
Professora Doutora
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa

Ilm.º (a) Sr.º (a)
Prof.º (a) Tit. José Alfredo Gomes Arêas
Departamento de Nutrição

ANEXO 5 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE SAÚDE PÚBLICA
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO
Laboratório de Bioquímica e Propriedades
Funcionais dos Alimentos

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Participação na Análise Sensorial

Investigadores: Ana Carolina Conti e Silva, Prof. Dr. José Alfredo Gomes Arêas.
Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. Av. Dr. Arnaldo, 715. CEP 01246-904. São Paulo, SP.

Objetivo desta pesquisa: Avaliar a aceitabilidade sensorial de produtos cárneos e comparar produtos cárneos com diferentes formulações.

Benefícios: Ao final da pesquisa, os pesquisadores tentarão transferir a tecnologia desenvolvida para empresas que fabricam produtos cárneos.

Riscos: Os produtos a serem experimentados, que são de consumo comum, foram fabricados sob rígidos controles de higiene, não oferecendo riscos à saúde.

Compensações: Os provadores receberão um brinde como forma de agradecimento pela participação no estudo.

Confiabilidade: Será garantido total sigilo a respeito da participação dos provadores nesta pesquisa. Os resultados do grupo como um todo serão divulgados em eventos e periódicos científicos das áreas de nutrição e ciência e tecnologia de alimentos.

Direito de recusa ou desistência: O provador pode desistir de participar desta pesquisa a qualquer momento, sem que isso ocasione quaisquer prejuízos. A desistência não acarretará qualquer problema no relacionamento com os pesquisadores e órgãos envolvidos no projeto.

Questões: Ana Carolina Conti e Silva, pesquisadora responsável por este estudo, discutiu estas informações comigo, oferecendo-se para responder minhas dúvidas. Caso tenha perguntas adicionais, poderei contatá-la pelo telefone (11) 3061 7765 ou e-mail: contisil@usp.br.

Participação na pesquisa: Se eu concordar em participar deste estudo, irei provar os produtos cárneos e responder à ficha de avaliação.

Consentimento: Eu, _____, concordo em participar desta pesquisa na qualidade de provador dos produtos. Recebi uma cópia do presente termo de consentimento e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer dúvidas.

São Paulo, ____ de _____ de 2006.

Assinatura:

Assinatura dos responsáveis: Ana Carolina Conti e Silva

Prof. Dr. José Alfredo Gomes Arêas