

DANIELA OLIVEIRA DOS SANTOS

**PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE PROTEÍNAS DA CLARA DO
OVO DE CODORNA**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos, para obtenção do título de
Magister Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2008

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

S237p
2008

Santos, Daniela Oliveira dos, 1981-
Propriedades funcionais de proteínas da clara do ovo
de codorna / Daniela Oliveira Santos. – Viçosa, MG, 2008.
xiv, 76f.: il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Jane Sélia dos Reis Coimbra.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Propriedades funcionais - Proteína. 2. Codorna -
Ovos - Análise. 3. Ovos - Codorna - Análise.
4. *Coturnix coturnix Japonica*. 5. Ovo de codorna.
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 636.594

DANIELA OLIVEIRA DOS SANTOS

**PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE PROTEÍNAS DA CLARA DO
OVO DE CODORNA**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos, para obtenção do título de
Magister Scientiae.

APROVADA: 29 de Julho de 2008.

Prof^ª. Maria do Carmo Hespanhol da
Silva
(Co-Orientador)

Prof. Sérgio Luiz de Toledo Barreto
(Co-Orientador)

Prof^ª. Nilda de Fátima Ferreira Soares

Prof^ª. Edimar Aparecida Filomeno Fontes

Prof^ª. Jane Sélia dos Reis Coimbra
(Orientadora)

A Deus.

Aos meus amáveis pais, José Jacinto e Nirce, pelo amor, carinho, incentivo, pelos votos de confiança e pelo exemplo de vida.

Às minhas queridas irmãs, Nívea, Márcia e Flávia, pelo amor, pelo carinho e amizade.

Ao meu querido e amado sobrinho, Iago, e ao cunhado mais querido, Ely Renato.

A leandro pelo amor, dedicação, respeito, carinho e pelo companheirismo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as coisas boas que tem me proporcionado a cada dia de minha vida e por ter me mostrado o caminho nos momentos difíceis.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA), pelo Programa de Pós-Graduação e pela oportunidade de realização deste trabalho.

À professora Jane Sélia dos Reis Coimbra, pela orientação, pelos ensinamentos, confiança, oportunidade de trabalho, incentivo e apoio durante todo o mestrado.

Ao professor Luiz Henrique Mendes da Silva, pelos ensinamentos acadêmicos, pela deslumbrante inteligência, pelo apoio recebido nos experimentos, pela co-orientação e pela determinação de vida.

À professora Maria do Carmo Hespanhol da Silva, pela co-orientação e por todo apoio no experimento de calorimetria, que embora no momento sua finalização esteja impossibilitada.

Ao professor e co-orientador Sérgio Luiz de Toledo Barreto, pela concessão do material experimental e incentivo oferecido.

Ao seu Chico, do laboratório de Mineralogia do Departamento de Solos, pela secagem do material experimental.

Ao professor Abraham Giraldo-Zuniga, pela amizade, aprendizado e pelo incentivo inicial para realização desse sonho.

Ao meu amor Leandro (Léo), pela amizade, carinho, amor, dedicação, paciência, respeito e companheirismo, agradeço a Deus por ter você na minha vida. Também pelos ensinamentos e por muitas vezes ter me levado a pensar de forma diferente sobre meu experimento.

À querida Carolzinha Reis, não só pela ajuda na realização do experimento, mais também pela amizade e companhia até altas horas no laboratório.

Aos meus amigos Rafael e Ingrid, pela amizade, confiança, momentos de descontração, companhia e pelo incentivo.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Processos de Separação: Fabíola, Rita, Rosana, Roney, Priscila, Janaína, Jaqueline, Toninho, Aline, Fernanda, Eliza (Kika).

Aos meus amigos Livia, Patricia Marlucci, Ellen Godinho, Márcia, Ceiliane, Marjories, Vanessa, Johnson, Geovanny, Alexandre, Rafael Miranda, Tonhão.

Aos funcionários do DTA-UFV pela prestatividade e dedicação.

A todos que contribuíram de alguma forma para realização desse trabalho e não foram aqui citados, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	x
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUÇÃO.....	1
OBJETIVO GERAL.....	3
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA.....	4
1. MERCADO DE OVO DE CODORNA.....	4
2. CARACTERÍSTICAS FÍSICO – QUÍMICAS DO OVO DE CODORNA.....	5
2.1. Características físicas.....	5
2.2. Características químicas.....	5
3. PROTEÍNAS DA CLARA DO OVO.....	7
3.1. Ovalbumina.....	7
3.2. Ovotransferrina (conalbumina).....	7
3.3. Ovomucóide.....	8
3.4. Ovoinibidor.....	8
3.5. Ovomucina.....	9
3.6. Lisozima.....	9
3.7. Ovoglicoproteína.....	9
3.8. Ovoflavoproteína.....	10
3.9. Ovomacroglobulina.....	10
3.10. Avidina.....	10
4. PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE PROTEÍNAS.....	11
4.1. Solubilidade.....	11
4.2. Capacidade de formação e estabilidade de espuma.....	14
4.3. Capacidade de gelificação.....	16
4.4. Emulsão.....	17

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18
CAPÍTULO 2 – EFEITO DO TEMPO DE AGITAÇÃO, VALOR DE pH E CONCENTRAÇÃO SALINA SOBRE A SOLUBILIDADE DAS PROTEÍNAS DA CLARA DO OVO DE CODORNA (<i>Coturnix coturnix japonica</i>)	24
RESUMO	24
1. INTRODUÇÃO	24
2. MATERIAL E MÉTODOS	26
2.1. Material	26
2.2 Métodos	27
2.2.1 Quantificação de proteína	27
2.2.2 Determinação da solubilidade	27
2.2.3 Análise Estatística	28
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4. CONCLUSÃO	34
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
CAPÍTULO 3 - EXPANSÃO E ESTABILIDADE DA ESPUMA DA CLARA DO OVO DE CODORNA (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) EM FUNÇÃO DO CONTEÚDO DE CLARA, pH E CONCENTRAÇÃO SALINA	37
RESUMO	37
1. INTRODUÇÃO	38
2. MATERIAL E MÉTODOS	39
2.1. Material	39
2.2 Métodos	40
2.2.1 Determinação da estabilidade e expansão da espuma	40
2.2.2 Análise Estatística	41
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
3.1 Estabilidade da espuma	41
3.2 Expansão da espuma	46
4. CONCLUSÃO	49
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
CAPÍTULO 4 - PERFIL DO GEL DA CLARA DO OVO DE CODORNA (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CLARA, pH E CONCENTRAÇÃO SALINA	53
RESUMO	53

1. INTRODUÇÃO	53
2. MATERIAL E MÉTODOS	55
2.1. Material	55
2.2 Métodos	55
2.2.1 Determinação da capacidade de formação de gel	55
2.2.2 Determinação da capacidade de retenção de água do gel	56
2.2.3 Análise Estatística	56
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
3.1 Elasticidade do gel	57
3.2 Força de compressão do gel	60
3.3 Quantidade de água exsudada do gel	63
4. CONCLUSÃO	66
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
APÊNDICES	71
APÊNDICE A – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO EFEITO DO TEMPO DE AGITAÇÃO, VALOR DE pH E CONCENTRAÇÃO SALINA SOBRE A SOLUBILIDADE DAS PROTEÍNAS DA CLARA DO OVO DE CODORNA (<i>Coturnix coturnix japonica</i>)	72
APÊNDICE B – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA EXPANSÃO E ESTABILIDADE DA ESPUMA DA CLARA DO OVO DE CODORNA (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) EM FUNÇÃO DO CONTEÚDO DE CLARA, pH E CONCENTRAÇÃO SALINA	73
APÊNDICE C – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA ELASTICIDADE (EL), FORÇA DE COMPRESSÃO (FC) E QUANTIDADE DE ÁGUA EXSUDADA (AE) DO GEL DA CLARA DO OVO DE CODORNA (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CLARA, pH E CONCENTRAÇÃO SALINA	75

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1. Esquema de espumas a base de proteínas. 14

CAPÍTULO 2 - EFEITO DO TEMPO DE AGITAÇÃO, VALOR DE pH E CONCENTRAÇÃO SALINA SOBRE A SOLUBILIDADE DAS PROTEÍNAS DA CLARA DO OVO DE CODORNA (*Coturnix coturnix japonica*)

Figura 1. Fluxograma da análise de solubilidade da clara do ovo de codorna. 28

Figura 2. Solubilidade da clara do ovo de codorna no pH 3,0 em função da concentração de NaCl e tempo de agitação. 30

Figura 3. Solubilidade da clara do ovo de codorna no pH 4,6 em função da concentração de NaCl e tempo de agitação. 30

Figura 4. Solubilidade da clara do ovo de codorna no pH 6,2 em função da concentração de NaCl e tempo de agitação. 31

Figura 5. Solubilidade da clara do ovo de codorna no pH 8,0 em função da concentração de NaCl e tempo de agitação. 31

Figura 6. Solubilidade da clara do ovo de codorna no pH 10,0 em função da concentração de NaCl e tempo de agitação. 31

Figura 7. Solubilidade da clara do ovo de codorna no tempo de agitação de 0,5 horas em função da concentração de NaCl e pH. 33

Figura 8. Solubilidade da clara do ovo de codorna no tempo de agitação de 1,0 horas em função da concentração de NaCl e pH. 33

Figura 9. Solubilidade da clara do ovo de codorna no tempo de agitação de 1,5 horas em função da concentração de NaCl e pH. 33

Figura 10. Solubilidade da clara do ovo de codorna no tempo de agitação de 2,0 horas em função da concentração de NaCl e pH. 33

CAPÍTULO 3 - EXPANSÃO E ESTABILIDADE DA ESPUMA DA CLARA DO OVO DE CODORNA (*Coturnix coturnix japonica*) EM FUNÇÃO DO CONTEÚDO DE CLARA, pH E CONCENTRAÇÃO SALINA

Figura 1. Estabilidade da espuma da clara do ovo de codorna no pH 3,0 em função da concentração de NaCl e clara.....	44
Figura 2. Estabilidade da espuma da clara do ovo de codorna no pH 6,2 em função da concentração de NaCl e clara.....	44
Figura 3. Estabilidade da espuma da clara do ovo de codorna no pH 10,0 em função da concentração de NaCl e clara.....	45
Figura 4. Estabilidade da espuma da clara do ovo de codorna a 0 mol/L de NaCl em função da concentração de clara e pH.	45
Figura 5. Estabilidade da espuma da clara do ovo de codorna a 0,6 mol/L de NaCl em função da concentração de clara e pH.	45
Figura 6. Expansão da espuma da clara do ovo de codorna no pH 3,0 em função do conteúdo de clara e NaCl.	47
Figura 7. Expansão da espuma da clara do ovo de codorna no pH 6,2 em função do conteúdo de clara e NaCl.	47
Figura 8. Expansão da espuma da clara do ovo de codorna no pH 10,0 em função do conteúdo de clara e NaCl.	47

CAPÍTULO 4 - PERFIL DO GEL DA CLARA DO OVO DE CODORNA (*Coturnix coturnix japonica*) EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CLARA, pH E CONCENTRAÇÃO SALINA

Figura 1. Elasticidade do gel da clara do ovo de codorna no pH 3,0 em função da concentração de clara e NaCl.....	59
Figura 2. Elasticidade do gel da clara do ovo de codorna no pH 6,2 em função da concentração de clara e NaCl.....	59
Figura 3. Elasticidade do gel da clara do ovo de codorna no pH 10,0 em função da concentração de clara e NaCl.....	59
Figura 4. Elasticidade do gel da clara do ovo de codorna na concentração de 7 % de clara em função do pH e concentração de NaCl.....	60
Figura 5. Elasticidade do gel da clara do ovo de codorna na concentração de 13 % de clara em função do pH e concentração de NaCl.....	60
Figura 6. Força de compressão do gel da clara do ovo de codorna no pH 3,0 em função da concentração de clara e NaCl.....	62

Figura 7. Força de compressão do gel da clara do ovo de codorna no pH 6,2 em função da concentração de clara e NaCl.....	62
Figura 8. Força de compressão do gel da clara do ovo de codorna no pH 10,0 em função da concentração de clara e NaCl.....	62
Figura 9. Força de compressão do gel da clara do ovo de codorna com 7 % de clara em função do pH e concentração de NaCl.....	63
Figura 10. Força de compressão do gel da clara do ovo de codorna com 13 % de clara em função do pH e concentração de NaCl.....	63
Figura 11. Água exsudada do gel da clara do ovo de codorna no pH 3,0 em função da concentração de clara e NaCl.....	64
Figura 12. Água exsudada do gel da clara do ovo de codorna no pH 6,2 em função da concentração de clara e NaCl.....	64
Figura 13. Água exsudada do gel da clara do ovo de codorna no pH 10,0 em função da concentração de clara e NaCl.....	65
Figura 14. Água exsudada do gel da clara do ovo de codorna a 7 % de clara em função do pH e concentração de NaCl.	65

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA

Tabela 1. Características físicas dos ovos de codorna e de galinha.....	5
Tabela 2. Composição química dos ovos de codorna e de galinha em 100 g (ovo inteiro).....	6
Tabela 3. Composição de sais minerais dos ovos de codorna.	6

CAPÍTULO 2 - EFEITO DO TEMPO DE AGITAÇÃO, VALOR DE pH E CONCENTRAÇÃO SALINA SOBRE A SOLUBILIDADE DAS PROTEÍNAS DA CLARA DO OVO DE CODORNA (*Coturnix coturnix japonica*)

Tabela 1. Solubilidade (g/100 g) das proteínas da clara do ovo de codorna em função do tempo de agitação, pH e da concentração salina.	30
Tabela 2. Coeficientes da Eq. (2).....	34

CAPÍTULO 3 - EXPANSÃO E ESTABILIDADE DA ESPUMA DA CLARA DO OVO DE CODORNA (*Coturnix coturnix japonica*) EM FUNÇÃO DO CONTEÚDO DE CLARA, pH E CONCENTRAÇÃO SALINA

Tabela 1. Estabilidade da espuma (%) da clara do ovo de codorna em função do pH, concentração de NaCl e clara de ovo.....	42
Tabela 2. Expansão da espuma (%) clara do ovo de codorna em função do pH, do conteúdo de clara e concentração salina.	46
Tabela 3. Coeficientes da Eq. (3) e Eq. (4).....	49

CAPÍTULO 4 - PERFIL DO GEL DA CLARA DO OVO DE CODORNA (*Coturnix coturnix japonica*) EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CLARA, pH E CONCENTRAÇÃO SALINA

Tabela 1. Elasticidade do gel (N/m^2) da clara do ovo de codorna em função do pH, concentração de clara e concentração salina.....	57
--	----

Tabela 2. Força de compressão (N) do gel da clara do ovo de codorna em função do pH, concentração de clara e NaCl.....	61
Tabela 3. Quantidade de água exsudada do gel (%) da clara do ovo de codorna em função do pH, concentração de clara e NaCl.....	64
Tabela 4. Estimativas dos coeficientes das equações 2, 3 e 4.	66

RESUMO

SANTOS, Daniela Oliveira dos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Julho de 2008.

Propriedades funcionais de proteínas da clara do ovo de codorna. Orientadora: Jane Sélia dos Reis Coimbra. Co-orientadores: Sérgio Luiz de Toledo Barreto, Maria do Carmo Hespagnol da Silva, e Luis Henrique Mendes da Silva.

Neste trabalho, estudaram-se as características funcionais de solubilidade, capacidade de formação de espuma e gelificação das proteínas da clara de ovo de codorna. Dados de solubilidade foram avaliados em função do tempo de agitação da solução protéica, do valor de pH e da concentração de sal (NaCl), à temperatura de 25 °C. As propriedades espumantes e gelificantes foram avaliadas em função da concentração de proteína, do valor de pH e da concentração do sal. O conteúdo protéico do sobrenadante das amostras para os testes de solubilidade foi quantificado por espectrofotometria pela a técnica de reação calorimétrica Biureto. Os testes para determinar a capacidade de formação de espuma foram feitos em uma coluna de vidro com insuflamento de ar que atravessa um disco poroso, localizado internamente na parte inferior da coluna. As características de textura do gel foram medidas no aparelho Universal de Teste Instron e a quantidade de água exsudada foi determinada por centrifugação. Os dados de solubilidade foram influenciados ($P < 0,05$) pelo tempo de agitação, pH e concentração salina. O maior valor de solubilidade foi o de 98,92 g/100 g de proteína, obtido no sistema contendo 0,05 mol/L de NaCl, em pH 10,0 e com uma hora de agitação. A concentração de proteína, pH e a concentração salina, tiveram impacto significativo ($P < 0,05$) sobre a expansão da espuma, exceto o pH para estabilidade da espuma. O maior valor de estabilidade, ± 41 %, foi apresentado na concentração de 2 % de clara tanto em pH 10,0 a 0,4 mol/L de NaCl, quanto no pH 3,0 a 0,6 mol/L de NaCl. O maior valor da expansão dos sistemas, 662,2 %, foi encontrado na concentração de 1 % de clara em pH 10,0 a 0,05 mol/L de NaCl. Por ser a clara um sistema complexo constituído de diferentes proteínas, as características de sua funcionalidade gelificante é resultado das interações de propriedades das várias proteínas que a constitui. A elasticidade, a força de compressão do gel e a capacidade de retenção de água do gel foram afetadas de forma diferenciada pela concentração de proteína, pH e concentração salina. O valor de pH 10,0 produziu géis com a melhor textura, com a maior força de compressão e elasticidade, e, a menor quantidade de água exsudada. Os dados das propriedades funcionais são importantes para desenvolvimento

de novos produtos, favorecendo uma maior aplicabilidade da clara do ovo de codorna e o pH de valor 10,0 apresentou os melhores resultados em todas as propriedades funcionais estudadas.

ABSTRACT

SANTOS, Daniela Oliveira dos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2008.

Functional properties of egg white proteins of quail egg. Adviser: Jane Sélia dos Reis Coimbra. Co-advisers: Sérgio Luiz de Toledo Barreto, Maria do Carmo Hespanhol da Silva, and Luis Henrique Mendes da Silva.

In this work, the functional characteristics of solubility, capacity of foam formation and gelation of the egg white proteins of quail egg were studied. Solubility data were evaluated in function of the stirring time of the proteic solution, the pH value and the salt concentration (NaCl), at 25 °C. The foam and gelation properties were analyzed as a function of the protein concentration, the pH value and the salt concentration. The proteic content of the samples of the supernadant was quantified by spectrophotometry using the reaction calorimetric technique of Biureto for the solubility tests. The tests to determine the foam formation capacity were made in a glass column with air insufflated through a porous disk, located internally in the upper part of the column. The gel texture characteristics were measured using an Instron's universal testing system, and the amount of exudated water was determined by centrifugation. The solubility data were influenced ($P < 0.05$) by stirring time, pH and saline concentration. The higher solubility value equal to 98.92 g/100 g of protein was obtained in the system containing 0.05 mol/L of NaCl, in a pH value of 10.0, and a stirring time of 1 hour. The protein concentration, pH value and saline concentration, had a significant impact ($P < 0.05$) on the foam expansion, except the pH value on foam stability. The largest stability value, $\pm 41\%$, was presented in the concentration of 2 % of egg white both in a pH value of 10.0 and 0.4 mol/L of NaCl, and in a pH value of 3.0 and 0.6 mol/L of NaCl. The largest value of the systems expansion was of 662.2 %, and was found in an egg white concentration of 1 % in pH 10.0 and 0.05 mol/L of NaCl. Since egg white is a complex system constituted of different proteins, the characteristics of gelation functionality resulted from the interactions of properties of several proteins constituents. The elasticity, gel compression force and water retention capacity of gel were affected in a different way by protein concentration, pH value and saline concentration. The pH value of 10.0 produced gels with the best texture, the largest compression force and elasticity, and, the smallest exudated water amount.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a coturnicultura tem despertado grande interesse de produtores, empresas e pesquisadores, por exigir baixos investimentos e menos mão-de-obra quando comparados com outras culturas. Em 2001, o plantel de codornas foi estimado em seis milhões de aves, com produção de ovos de 93.334 milhões de dúzias. Em 2006, a produção de ovos de codorna atingiu cerca de 123.706 milhões de dúzias (IBGE, 2006).

Os ovos de codornas apresentam sabor semelhante ao dos ovos de galinha. Do total de proteínas encontradas no ovo, 6,3 % são consideradas proteínas de alto valor biológico (Bressan e Rosa, 2002). A clara e suas proteínas são usadas principalmente na manufatura de produtos de baixa densidade e elevada expansibilidade, em virtude da capacidade que essas proteínas têm de incorporar ar e formar espumas (Sgarbieri, 1996).

Do ponto de vista prático, os dados sobre as propriedades funcionais são úteis para determinar as condições ótimas de extração e purificação de proteínas além de proporcionar índices para aplicações dos ingredientes protéicos em diferentes condições de processamento (Fennema, 2000). A maioria das propriedades funcionais influencia as características sensorial de um alimento, em especial a textura. Entre essas propriedades pode-se citar a capacidade para formação de espumas, gelificação, emulsificação, capacidade de retenção de água, solubilidade, viscosidade, dentre outras (Korhonen et al., 1998).

De acordo com Pollonio (1998), a avaliação de fontes protéicas com o objetivo de utilizar suas propriedades funcionais no processamento de alimentos pode ser justificado por razões de ordem econômica e tecnológica. Essas informações tendem a agregar valor ao produto dando-lhe uma maior aplicabilidade tecnológica.

Os estudos de separação e purificação de proteínas têm proposto novas técnicas de extração ou adaptações de técnicas já existentes, visando reduzir custos para viabilizar a produção em escala de proteínas ou enzimas de uso industrial. No entanto, dados sobre as características funcionais das proteínas são necessários para projetos e análise de desempenho de equipamentos. Assim nesse trabalho foram determinadas as características funcionais de solubilidade, capacidade espumante e gelificante das proteínas da clara de ovo de codorna em função da concentração de proteína, pH e

concentração de NaCl, posto que essas propriedades são determinantes na forma de utilização da clara do ovo de codorna. Deve-se ressaltar que estes tipos de dados são escassos na literatura.

OBJETIVO GERAL

- Avaliar as propriedades funcionais da clara de ovo de codorna para sua possível aplicação tecnológica em nível industrial.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar os dados de solubilidade das proteínas da clara do ovo de codorna em função do tempo de agitação da solução protéica, do valor de pH e da concentração de NaCl.
- Avaliar a capacidade de formação e estabilidade de espuma da clara do ovo de codorna em função do valor de pH, da concentração proteína e da concentração de NaCl.
- Avaliar a capacidade gelificante da clara do ovo de codorna em função da concentração de proteína, do pH de valor e da concentração de NaCl.

CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA

1. MERCADO DE OVO DE CODORNA

O ovo de codorna apresenta sabor semelhante ao do ovo de galinha. No entanto, o seu pequeno tamanho limita tanto a sua participação em substituição ao ovo de galinha, quanto dificulta as operações usualmente utilizadas na obtenção dos produtos derivados de ovos pasteurizados, tais como; ovo líquido, gema líquida, clara líquida, ovos e seus constituintes desidratados. A industrialização dos ovos de codorna tem como vantagem a redução das perdas econômicas causadas pelas quebras de ovos íntegros durante o transporte e a comercialização, bem como oferecer maior segurança a saúde pública devido à pasteurização (Albino e Barreto, 2003).

Nos últimos anos, a coturnicultura tem despertado grande interesse de produtores, empresas e pesquisadores, por exigir baixos investimentos e mão-de-obra reduzida quando comparados com outras culturas. A codorna doméstica (*Coturnix coturnix japonica*) apresenta ciclo reprodutivo curto, precocidade sexual, boa fertilidade e ótima taxa de postura. Mudanças nos hábitos alimentares da população favoreceram o aumento do consumo de ovos de codornas, presentes em restaurantes e churrascarias (Móri et al., 2005).

Entre 1999 e 2000, houve aumento significativo no plantel de codornas de aproximadamente 17 %, com aumento de 27 % na produção de ovos. Em 2001, o plantel de codornas foi estimado em seis milhões de aves, com produção de ovos de 93.334 milhões de dúzias. Em 2006, a produção de ovos de codorna atingiu certa de 123.706 milhões de dúzias (IBGE, 2006).

O Estado de São Paulo é o principal criador de codornas no Brasil, com 14,4% do plantel nacional, seguido de Paraná e Santa Catarina. Minas Gerais é o quinto produtor nacional, com 114 milhões de cabeças e representando 9,3% do plantel do país (IBGE, 2004).

De 1990 a 2004 a criação de codornas teve um crescimento de 153,37% e o plantel atinge o quantitativo de 6,2 milhões de cabeças. Minas Gerais é responsável por 8,9% da produção nacional, com um plantel de 558,3 mil cabeças. No período citado o crescimento da criação de codornas no Estado foi de 493,76%. Em Minas, a região Sul, representa 78,7% do plantel avícola, seguida pela Centro-Oeste com 8,6% e a Central

com 6,6%. Os restantes 6,1% estão distribuídos pelas sete regiões de planejamento do Estado (IBGE, 2004).

2. CARACTERÍSTICAS FÍSICO – QUÍMICAS DO OVO DE CODORNA

2. 1. Características físicas

O ovo de codorna normalmente possui forma oval-arredondada, mas podem-se encontrar ovos redondos e alongados, os quais são considerados anormais. As dimensões do ovo são de aproximadamente 3 cm de comprimento e 2,5 cm de largura. A casca apresenta espessura de 0,183 mm, enquanto a casca do ovo de galinha chega a ter quase o dobro, alcançando 0,311 mm. O peso varia de 9 a 13 g, dependendo da idade e da espécie de codorna a ser criada. De modo geral, o ovo da codorna representa 6% do peso corporal, enquanto o da galinha corresponde a 3 %, indicando que a codorna se mostra mais eficiente na produção de ovos (Albino e Barreto, 2003).

Os ovos de codorna apresentam características estruturais e biofísicas diferentes das do ovo de galinha em certos aspectos, como pode ser observado nas Tabelas 1.

Tabela 1. Características físicas dos ovos de codorna e de galinha

Características	Codorna	Galinha
Peso dos ovos (g)	10,05	56,74
Albúmen (%)	55,74	57,06
Gema (%)	31,58	31,06
Casca (%)	12,66	10,74
Espessura da casca (mm)	0,183	0,311

Fonte: Albino e Neme (1998).

2.2. Características químicas

Os componentes químicos do ovo são água, proteínas, carboidratos, lipídeos, minerais e vitaminas. As tabelas 2 e 3 citam composição química e de sais minerais dos ovos de codorna e de galinha.

Tabela 2. Composição química dos ovos de codorna e de galinha em 100 g (ovo inteiro).

Espécie e produto	Umidade (g)	Proteína (g)	Lipídeos (g)	Carboidratos (g)	Cinzas (g)	Energia (kcal)
Codorna						
Clara/Gema	74	13,7	12,7	0,8	1,2	177
Galinha						
Clara/Gema	75,6	13,0	8,9	1,6	0,8	143

Fonte: TACO - Unicamp (2007).

Tabela 3. Composição de sais minerais dos ovos de codorna.

Composição (mg)	Codorna
Cálcio	79
Fósforo	279
Potássio	79
Sódio	129
Ferro	1,2
Manganês	279
Cobre	79
Zinco	129
Magnésio	11

Fonte: TACO - Unicamp (2007).

A quantidade de colesterol nos ovos de codorna é maior, cerca de 72,70 mg/g de gordura, que nos ovos de galinha, que apresenta 63,00 mg/g de gordura.

O ovo de codorna tem vitaminas A, D, E, K, vitaminas do complexo B, e é rico em ácido ascórbico, presente no ovo fresco e inexistente no ovo de galinha.

Um ovo de codorna equivale em calorias, vitaminas e proteínas a 100 gramas de leite bovino, e, ainda, com maior concentração de ferro.

Do total, 13,7 g de proteínas encontradas no ovo, 6,3 g são consideradas proteínas de alto valor biológico. Essas proteínas do ovo são consideradas pelos nutricionistas “proteína padrão”, cujo valor de utilização de proteína final (NPU-net protein utilization) é igual a 100, enquanto o NPU de outros alimentos com o peixe, o leite de vaca, o arroz, a farinha de trigo, o feijão alcançam valores de 83, 75, 57, 52 e 47, respectivamente (Bressan e Rosa, 2002).

O ovo na dieta humana fornece proteínas como a lecitina, que atua no metabolismo humano reduzindo o colesterol considerado prejudicial à saúde, LDL, e aumentando o colesterol considerado benéfico à saúde, HDL, além de ser fonte excelente de minerais, vitaminas e ácidos graxos essenciais (Bressan e Rosa, 2002).

3. PROTEÍNAS DA CLARA DO OVO

Devido à falta de informações sobre composição protéica da clara do ovo de codorna serão citados sobre as proteínas da clara do ovo de galinha. Acredita-se que sua composição protéica não seja tão diferente da clara do ovo de galinha.

A clara pode ser considerada um sistema protéico composto de fibras de ovomucina e de uma solução coloidal de várias proteínas globulares. A composição protéica da camada delgada e grossa da clara se diferencia unicamente pelo conteúdo de ovomucina (Fennema, 2000; Sgarbieri, 1996).

3.1. Ovalbumina

As proteínas predominantes na clara de ovo foram obtidas na forma cristalina pela primeira vez em 1889 por Hofmeister. A ovalbumina é classificada como uma fosfoglicoproteína por possuir carboidrato e fostatos ligados ao polipeptídeo. A ovalbumina representa 54 % das proteínas da clara e possui ponto isoelétrico (pI) de 4,5. Cerca de 50 % dos aminoácidos da ovalbumina são hidrofóbicos. Possui uma glicina acetilada no terminal N e uma prolina no terminal carboxílico. Contém uma única cadeia lateral de carboidrato formada de D-manose (2 %) e N-acetilglicosamina (1,2 %). A ovalbumina em solução é facilmente desnaturada por exposição de sua superfície (por exemplo, na agitação) e é relativamente estável ao tratamento térmico (Fennema, 2000; Stadelman e Cotterill, 1995; Vojdani, 1996; Sgarbieri, 1996). Possui uma menor superfície hidrofóbica e maior flexibilidade molecular na interface óleo-água do que a lisozima (Acton et al., 1990).

3.2. Ovotransferrina (conalbumina)

É uma glicoproteína facilmente isolada por precipitação fracionada com sulfato de amônio. Representa 12 % das proteínas da clara, tem massa molar de 77,7 kDa, é formada de um único polipeptídeo, contém 0,8 % de hexose, 1,4 % de hexosamina e não possui grupo sulfidrílico livre. Seu ponto isoelétrico é igual a 6,0 (Vadehra e Nath, 1973).

Todas as transferrinas conhecidas ligam-se ao ferro dando uma coloração vermelha. Os sítios de complexação de ferro pelas diferentes transferrinas aparentemente são similares e os ligantes são, em geral, cadeias laterais dos mesmos aminoácidos (Fennema, 2000; Sgarbieri, 1996).

A forte tendência de ligação do ferro à ovotransferrina confere a esta proteína, como à transferrina em geral, propriedade bacteriostática. Quando não ligada ao ferro a ovotransferrina é mais sensível ao tratamento térmico do que a ovalbumina, porém menos susceptível à desnaturação de sua superfície (Fennema, 2000; Zabik, 1992; Sgarbieri, 1996; Alleoni, 2003).

Conalbumina e ovalbumina podem ser gelificadas individualmente através de tratamento com álcali, já as outras proteínas da clara de ovo não possuem esta característica (Chang, 1979).

3.3. Ovomucóide

É uma glicoproteína que possui de 20 a 25 % de carboidratos sendo estabilizada por forças hidrofóbicas. É termo-resistente pode ser isolada da clara após a precipitação das outras proteínas, com ácido tricloracético em pH 3,5, seguida de uma segunda precipitação da ovomucóide com acetona; representa 11 % das proteínas da clara, é formada de uma única cadeia polipeptídica de massa molar 28 kDa e pI 4,1 (Osuga e Feeney, 1977; Fennema, 2000; Sgarbieri, 1996;).

Em solução ácida a ovomucóide é resistente à desnaturação térmica, mas na região alcalina (pH 9,0) se desnatura rapidamente (Sgarbieri, 1996; Fennema, 2000). A sua resistência ao calor é atribuída ao elevado conteúdo de cistina, e consequentemente, ao grande número de ligações dissulfídicas (Vadehra e Nath, 1973).

3.4. Ovoinibidor

Da mesma forma que a ovomucóide, a ovoinibidor é uma protease. Representa apenas 1,5 % das proteínas da clara, com massa molar 49 kDa e pI 5,1. Além da tripsina e da quimotripsina, a ovoinibidor inibe também proteases de fungos e de bactérias (Sgarbieri, 1996; Linden e Lorient, 1996; Beliz e Grosch, 1997).

3.5. Ovomucina

É uma glicosulfoproteína que contribui para formar a estrutura de gel da camada espessa da clara (Vadehra e Nath, 1973). Representa 3,5 % do total de proteínas da clara com massa molar entre 5,5 a 8,3 kDa e pI 3,5. Difere das demais proteínas da clara de ovo por apresentar estrutura fibrilar, contém ésteres sulfúricos, galactosamina, grande quantidade de cistina que une as sub-unidades por ligações intermoleculares e por conter cerca de 50 % de todo o ácido siálico da clara (Stadelman e Cotterill, 1973; Sgarbieri, 1996; Linden e Lorient, 1996).

A ovomucina e a lisozima em solução podem interagir e formar um complexo insolúvel em solução aquosa. As interações eletrostáticas dessas proteínas diminuem com o aumento do pH. Na clara do ovo, a quantidade do complexo formado é reduzida quando o pH se aproxima do ponto isoelétrico da lisozima (10,7) (Stadelman e Cotterill, 1973).

3.6. Lisozima

Representa 3,4 % das proteínas da clara do ovo com massa molar que varia de 14,3 a 18,8 kDa e pI 10,7. Sua ação enzimática inclui a clivagem de polissacarídeos, ligação glicosídica β -1,4 entre N-acetilglicosamina e ácido murâmico, em parede celular de bactérias. Além da atividade glicosídica possui também atividade de transglicosidase e de esterase, exercendo uma ação antimicrobiana (Sgarbieri, 1996). Apresenta elevada estabilidade, que é atribuída à estrutura compacta da molécula, com quatro ligações dissulfeto intramolecular. A lisozima possui carga líquida superficial positivas que conferi características alcalinas e, devido a isso, tende a formar ligações eletrostáticas com outras moléculas. Algumas interações, particularmente, com a ovomucina, têm importância considerável no efeito espumante e em outras propriedades funcionais (Li-Chan e Nakai, 1989; Fennema, 2000).

3.7. Ovoglicoproteína

Representa cerca de 1 % das proteínas da clara. É uma glicoproteína de carga líquida superficial negativa (ácida), pI 3,9, de massa molar 24,4 kDa, com a seguinte composição de carboidratos: monose/galactose, 13,6 %; glicosamina, 13,8 %; ácido siálico, 3 %. Contém 11,6 % de nitrogênio e treonina como aminoácido N-terminal da cadeia (Sgarbieri, 1996).

3.8. Ovoflavoproteína

É uma fosfoglicoproteína que está ligada à riboflavina. Possui um massa molar de 35 kDa e pI 4,1 (Sgarbieri, 1996). A riboflavina se liga à região hidrofóbica da molécula, possui em torno de 15% de carboidratos e tem propriedades antimicrobianas (Farrell et al., 1970). A clara de ovo de galinha contém aproximadamente quantidades iguais de flavoproteína e de apoproteína (proteínas livres de riboflavina). A principal função da apoproteína é provavelmente assegurar a transferência de riboflavina do soro sanguíneo para a clara. (Beliz e Grosch, 1997).

3.9. Ovomacroglobulina

É uma glicoproteína de elevada massa molar, 900 kDa, que representa 0,5 % das proteínas da clara e apresenta ponto isoelétrico em pH 4,5. É uma proteína praticamente esférica e sofre desnaturação em solução 6,0 mol/L de hidrócloro de guanidina. Sofre desnaturação térmica em temperatura entre (62-64) °C em pH 7,0 e apresenta baixo teor de α -hélice de molécula (Linden e Lorient, 1996; Sgarbieri, 1996).

3.10. Avidina

É uma glicoproteína de carga líquida superficial positivas (alcalina), representa 0,05 % das proteínas da clara de ovo, possui massa molar de 68,3 kDa e pI de 9,5. A seqüência de aminoácidos é totalmente conhecida. Contém muito pouco ou nenhuma estrutura em α -hélice, é composta de quatro sub-unidades (polipeptídios), cada uma

delas podendo ligar uma molécula de biotina, de maneira irreversível. Também possui atividade antimicrobiana (Beliz e Grosch, 1997).

4. PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE PROTEÍNAS

O termo propriedade funcional de alimentos tem sido definido como qualquer propriedade de um alimento ou componente de um alimento, excetuando-se as propriedades nutricionais, que afeta a sua utilização como ingrediente em um produto, principalmente sobre o aspecto sensorial (Hall, 1996). As propriedades funcionais das proteínas são as propriedades físico-químicas que influem no seu comportamento nos sistemas alimentícios durante a preparação, o processamento, o armazenamento e o consumo (Sgarbieri, 1996; Li-Chan e Nakai, 1989).

A funcionalidade de uma proteína é resultado das complexas interações entre os seus aminoácidos, com outros componentes alimentares e do meio no qual ela está inserida bem como da sua conformação estrutural (Kilara e Sharkasi, 1986). Muitas das propriedades funcionais dependem da exposição de grupos hidrofóbicos na superfície da molécula, e as interações desses grupos com óleo, ar, água e outras moléculas protéicas ou não protéicas (Li-Chan e Nakai, 1989).

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

4.1. Solubilidade

A solubilidade de uma proteína é uma manifestação termodinâmica no equilíbrio entre as interações proteína-proteína e proteína-água (Fennema, 2000). Termodinamicamente é a concentração da proteína no solvente em um sistema simples ou multifásico, em estado de equilíbrio (Vojdani, 1996). Matematicamente, o grau de solubilidade de uma proteína é a quantidade de proteína presente na fase líquida em relação à quantidade total de proteína nas fases em equilíbrio. Operacionalmente, a solubilidade da proteína é um parâmetro determinado pela retenção da proteína no

sobrenadante após centrifugação da solução por um dado tempo e sob determinada força centrífuga (Morrisey, Mulvihill, e O'Neill, 1982; Vojdani, 1996).

Esta propriedade é de importância primária devido a sua influência sobre as outras propriedades funcionais das proteínas (Pelegri e Gasparetto, 2005). Em geral, quando usadas para funcionalidade, requer-se que as proteínas tenham alta solubilidade para promover emulsão, espuma, gelificação entre outras propriedades. Assim o decréscimo na solubilidade da proteína pode afetar desfavoravelmente a sua funcionalidade (Vojdani, 1996; Nakai e Chan, 1985; Wit, 1989). Adicionalmente, os dados de solubilidade são empregados na determinação das condições ótimas de extração e purificação de proteínas (Machado et al., 2007).

A solubilidade de proteína depende de vários fatores como: massa molar e conformação das moléculas; densidade, presença de substâncias não-proteicas e natureza do meio como pH; concentração salina, temperatura e interações com outros componentes do alimento (Vojdani, 1996; Wong, 1995).

Assim as interações moleculares que influenciam as características de solubilidade das proteínas são de natureza hidrofóbica e iônica. As interações hidrofóbicas favorecem as ligações proteína-proteína, que resultam em um decréscimo na solubilidade, enquanto as interações iônicas favorecem as ligações proteína-água (hidrofílica) e resultam em aumento de solubilidade (Fennema, 2000).

A solubilidade das proteínas é influenciada pelo pH da solução, pois o mesmo afeta a distribuição das cargas líquidas na superfície da proteína. A mudança de pH altera a distribuição de sítios catiônicos, aniônicos e não-iônicos na molécula de proteína, que por sua vez afetam as interações água-proteína e proteína-proteína. Geralmente, as proteínas são mais solúveis em valores de pH baixos (ácidos) e altos (alcalinos) porque o excesso de cargas do mesmo sinal produz repulsão entre as moléculas aumentando a interação água-proteína e conseqüentemente, aumentando a solubilidade (Pelegri e Gasparetto, 2005).

Segundo diversos autores (Kakalis e Regenstein, 1986; Wit, 1989; Mann e Malik, 1996; Vojdani, 1996) as proteínas geralmente apresentam menor solubilidade no ponto isoelétrico, isto é, a interação proteína-proteína aumenta porque as forças eletrostáticas das moléculas são mínimas e há uma menor interação da água com as moléculas da proteína e, assim ocorre agregação e precipitação. A precipitação da proteína não ocorre, necessariamente, no pI, sendo dependente também de outras perturbações nas propriedades do solvente, como a adição de um sal.

A concentração salina tem influência marcante na solubilidade das proteínas. Em baixas concentrações de sais a solubilidade em geral aumenta, porque os íons salinos tendem a se associar às proteínas contribuindo para uma maior hidratação e/ou repulsão das moléculas protéicas, portanto, há uma maior solubilidade da proteína conhecida como efeito “salting in”. Ao contrário, em elevada concentração salina, os íons salinos formam uma camada de hidratação e assim competem com a proteína pelas moléculas de água presentes no meio, ocasionando a perda de água de hidratação das moléculas protéicas, que leva à uma maior atração entre as moléculas protéicas e à formação de precipitado, conhecido como efeito “salting out” (Sgarbieri, 1996). O efeito de “salting-out” é dependente da natureza dos íons e geralmente segue a série de Hofmeister. Para os ânions está a série $SO_4^{2-} > HPO_4^{2-} > CH_3COO^- > Cl^- > Br^- > NO_3^- > I^- > ClO_4^- > SCN^-$, e para cátions é dada por $NH_4^+ > K^+ > Na^+ > Li^+ > Mg^{2+} > Ca^{+2} > Ba^{2+}$ (Vojdani, 1996).

Sais neutros em uma concentração de (0,1 a 1,0 mol/L) podem aumentar a solubilidade das proteínas dependendo da carga da proteína, do tipo de sal presente, do pH e da temperatura do sistema. Os íons salinos interagem com grupos de cargas opostas na proteína para formar uma dupla camada de grupos iônicos o que diminui as interações eletrostáticas entre as moléculas causando maior solvatação das proteínas e então, aumentando a solubilidade. Em concentrações maiores que 1 mol/L, os íons à esquerda da série de Hofmeister diminuem a solubilidade das proteínas (salting-out) aumentando as interações hidrofóbicas e as agregações e competem com a proteína pelas moléculas de água. Em altas concentrações de íons salinos, a maior parte das moléculas de água está fortemente ligada aos íons salinos, enquanto há alguma reorganização das moléculas de água ao redor da molécula de proteína. Isto poderia resultar em interação proteína-proteína (principalmente via ligação hidrofóbica) mais forte que a interação proteína-água, resultando em associação seguida de precipitação (Vojdani, 1996).

Diversos parâmetros físicos podem afetar a solubilidade das proteínas como o tratamento mecânico, pressão hidrostática, irradiação e adsorção em interfaces ar-água. É recomendável estar atento com a agitação e outras condições físicas que possam desnaturar as proteínas (Vojdani, 1996). O aumento excessivo do tempo de agitação pode provocar modificações na conformação da proteína (secundária, terciária ou quaternária), diminuindo a solubilidade.

A análise de solubilidade protéica pode ser efetuada por diferentes métodos entre eles o que determina o teor de nitrogênio solúvel em água; o teor de proteína solúvel em água; o índice de solubilidade de proteína; o índice de solubilidade de nitrogênio; o índice de dispersibilidade de proteína; dentre outros (Cândido, 1998).

4.2. Capacidade de formação e estabilidade de espuma

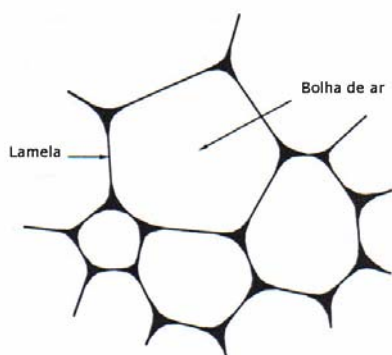


Figura 1. Esquema de espumas a base de proteínas.

As espumas a base de proteínas são compostas de bolhas de ar. Cada gotícula de ar é envolvida por um filme fino e contínuo de moléculas protéicas, sendo que cada bolha é separada por uma lamela (Figura 1). A drenagem do fluido da lamela é a principal força desestabilizante, o qual ocasiona a aproximação das bolhas de ar e sua conseqüente coalescência (Adamson, 1982).

A espuma é uma propriedade funcional de interfase que depende da natureza, da solubilidade e do estado de desnaturação da proteína, da presença de sais e de outros aditivos utilizados no processamento dos alimentos. A espuma da clara é uma suspensão coloidal formada por bolhas de ar cercadas por proteína, o qual sofreu alguma desnaturação na interface líquido-ar. Contribui, assim, para o esponjamento de alguns alimentos como suflês e produtos de padaria (Penfield e Campbell, 1990).

A capacidade de formação de espuma da clara é uma propriedade decorrente da presença da ovomucina, globulinas e ovalbumina em sua constituição. Essas proteínas hidrossolúveis são tensoativas e situam-se nas interfaces ar-água, onde orientam seus grupos hidrofóbicos para o ar e os hidrofílicos para a fase aquosa (Powrie e Nakai, 1993). As mesmas forças que regem a estrutura e a flexibilidade de uma proteína, como as interações eletrostáticas, hidrofóbicas, e as ligações dissulfídicas também determinam

o comportamento interfacial e as propriedades funcionais de uma proteína (Phillips et al., 1994).

Durante a formação de espuma a base de proteína ocorre uma seqüência de reações, que necessitam da aplicação de energia para o início do processo. Com isso, as proteínas chegam à interface ar-água por difusão, e adsorção (German e Phillips, 1989; Phillips, 1981). As proteínas que são abertas e adsorvidas rapidamente apresentam melhores propriedades espumantes do que as proteínas que são adsorvidas levemente e que são mais difíceis de abrirem a sua estrutura na interface (Phillips et al., 1994).

A estabilidade da espuma diz respeito à retenção do volume máximo de espuma formada em função do tempo de repouso sendo geralmente medida pela liberação de fluido da espuma (Linden e Lorient, 1996). A extensão da formação de filme protéico está relacionada com a habilidade da proteína de reduzir a tensão superficial entre a gotícula de ar e a suspensão protéica. A estabilidade da espuma é dependente da natureza do filme protéico, que reflete a extensão das interações dentro da matriz desse filme (Phillips et al., 1994), assim o uso de agentes espumantes visa aumentar a estabilidade da espuma. A forma de atuação destes agentes é semelhante à de um agente emulsificantes, reduzindo o excesso de energia livre nas interfaces, ou seja, a tensão interfacial do sistema (Shaw, 1975).

As propriedades espumantes do albume são afetadas por fatores, como a concentração e a composição da proteína, o valor do pH, concentração salina, as interações intermoleculares do meio, o grau de aquecimento, tipo de sais presente no meio e a composição da fase líquida, os quais podem alterar a configuração e estabilidade das moléculas protéicas (Kinsella, 1984; Du et al., 2002). Essas mudanças podem afetar a formação do filme e suas propriedades na interface, e assim mudarem as propriedades espumantes (Du et al., 2002).

As espumas são mais estáveis na região do ponto isoelétrico das proteínas, em razão da repulsão eletrostática mínima, que promove uma interação mais favorável entre proteína-proteína, formando um filme viscoso na interface (Fennema, 2000, Ordóñez *et al.*, 2005). Segundo Cheftel *et al.*, (1989), embora muitos estudos ressaltem a importância de uma alta solubilidade de proteína para que se manifestem elevadas capacidade e estabilidade espumante, é aceito que as partículas protéicas insolúveis possam ter um papel benéfico na estabilidade da espuma. A alta estabilidade da espuma de muitas proteínas no pH isoelétrico pode ser explicada pelo fato de que as atrações

eletrostáticas intermoleculares, que se produzem no ponto isoelétrico, aumentam a espessura e a rigidez das proteínas adsorvidas na interface ar-água.

Patino et al. (1995), ao estudarem as propriedades espumantes da ovalbumina e da caseína, observaram que as interações proteína-proteína são maiores no ponto isoelétrico e que a difusão dos agregados para a interface e os seus desenovelamentos são mais lentos. Perto do pH isoelétrico, a maioria das interações intermoleculares, devido à diminuição da repulsão eletrostática, facilita a formação de uma estrutura de rede no filme de proteína que aumenta as propriedades reológicas do filme (Huang e Kinsella, 1987; Franzen e Kinsella, 1976; Huang e Kinsella, 1986). No entanto, a maioria das proteínas tende a precipitar em valores de pH próximo do pI e, conseqüentemente, há uma redução da estabilidade. O resultado final destes efeitos opostos é também dependente do tipo de proteína.

Oshodi e Ojokan (1997) observaram que a capacidade espumante depende do tipo de sal analisado. Para os sais NaCl, KCl e Na₂SO₄, houve um aumento na capacidade espumante, com a elevação da concentração de sal de (0,005 a 0,15) m/m, seguida da redução da capacidade espumante com 0,2 m/m de sal.

Normalmente os sais reduzem a viscosidade e a rigidez dos filmes protéicos, pelo o enfraquecimento das interações peptídicas, o que aumenta a taxa de expansão do volume da espuma de certas proteínas. Sais em concentrações adequadas ajudam na capacidade espumante, ao prevenir e auxiliar a difusão e expansão da interface, mas em elevado conteúdo de sal pode diminuir o volume da espuma (Altschul e Wilcks, 1985).

Ragab *et al.*, (2004), verificaram que nas proteínas do feijão a adição de NaCl ao sistema, na concentração de até 4,0 mol/L, melhorou gradualmente a capacidade de formação espumante da proteína. Isso pode ser atribuído ao fato que a adição de NaCl na concentração de até 4,0 mol/L aumenta a solubilidade da proteína e diminui suas interações hidrofóbicas.

4.3. Capacidade de gelificação

A formação de gel ou gelificação de proteínas é uma propriedade funcional térmica de ampla utilização em alimentos formulados. A gelificação ocorre quando as moléculas desnaturadas pelo calor se agregam para formar uma rede protéica orientada (Matsumura e Mori, 1996).

A reação inicial do processo de gelificação envolve o enfraquecimento e quebra das ligações de hidrogênio e dissulfídicas, desestabilizando a estrutura conformacional das proteínas. Posteriormente, ocorre polimerização das moléculas de proteína produzindo uma estrutura tridimensional capaz de imobilizar fisicamente grande parte do solvente, através de ligações dissulfídicas intermoleculares, interações hidrofóbicas e iônicas (Mangino, 1992). A integridade física do gel é mantida pelo contrabalanceamento das forças de atração e repulsão entre as moléculas de proteína e destas com o solvente circundante (Ziegler e Foegeding, 1990).

O grau de desenovelamento da proteína durante o processo de desnaturação está associado com o tempo de aquecimento, com a temperatura do sistema e com tipo de proteína. Proteínas que são de forma compacta e possuem muitas ligações dissulfídicas apresentam maior resistência à desnaturação térmica (Osuga, 1977). Na seqüência do desenovelamento, as moléculas desnaturadas são capazes de interagir com as outras moléculas vizinhas. Essas interações formam agregados de alta massa molar. Outras interações entre os agregados resultam na formação de uma rede imobilizada e capaz de reter grande quantidade de água (Ma e Holme, 1982; Nakamura *et al.*, 1984).

Por ação do calor, as proteínas perdem parte de suas estruturas terciária e quaternária, com conseqüente aumento da hidrofobicidade superficial, por exposição dos grupos hidrofóbicos. Contudo, o tratamento térmico severo conduz à agregação das proteínas e diminuição da solubilidade. Após o aquecimento, as proteínas podem interagir através das ligações hidrofóbicas e sulfidrílicas (Pomenaz, 1991).

Agregação seguida da formação do gel é um processo complexo que depende de vários fatores, tais como concentração de proteínas, concentração salina, pH e interação com outros componentes (Hermansson, 1982; Yasuda *et al.*, 1986). O pH, assim como a concentração salina, pode alterar a distribuição das cargas entre as cadeias laterais das proteínas causando elevação ou redução das interações proteína-proteína (Gossett *et al.*, 1984). Com o aumento da concentração protéica ocorre modificação na textura dos géis, resultando no aumento da firmeza e na intensificação da retenção de água pela matriz (Mangino, 1984; Schmidt *et al.*, 1978).

4.4. Emulsão

As proteínas também apresentam interesse industrial na produção de alimentos emulsificados, pois contribuem para a firmeza das emulsões, aumentam sua estabilidade e conferem aos produtos maior valor nutritivo, por serem fontes de aminoácidos (Hekken e Strange, 1993; Kinsella, 1984).

A emulsão é um sistema composto por dois líquidos imiscíveis, tendo uma fase dispersante como fase contínua e uma fase dispersa na forma de gotículas. Em geral, as emulsões alimentares são do tipo óleo em água (O/A) ou água em óleo (A/O) onde o termo óleo, designa um líquido hidrófobo (Pearce e Kinsella, 1976; Ornellas et al., 2000).

As proteínas se adsorvem na interface entre as gotículas de óleo dispersas e a fase aquosa contínua, alterando propriedades de espessamento, viscosidade, elasticidade e rigidez, que determinam a resistência das gotículas à coalescência (Elizalde et al., 1988). Segundo Cheftel et al. (1985), a formação de gotículas emulsificadas ocorre com a criação de superfície interfacial entre as duas fases líquidas imiscíveis. A formação da emulsão é facilitada com a redução da tensão interfacial entre água e óleo (Elizalde et al., 1988).

A propriedade emulsificante da proteína é importante para vários produtos alimentícios, tais como creme de leite, glacês, manteiga, queijo fundido, maionese, carne finamente moída do tipo utilizada em salsichas e outros embutidos, além de que os constituintes protéicos exercem função importante na estabilização do sistema coloidal (Cheftel et al., 1985).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acton, J. C.; Kropp, P. S.; Rick, R. L. Properties of ovalbumin, conalbumina and Lysozyme at an oil-water interface and in an emulsion system. **Poultry Sci.**, v. 69, n. 4, p. 694-701, 1990.
- Adamson, G. K. **Physical chemistry of surface**. 4. ed. New York: John Wiley e Sons. p. 64, 1982.
- Albino, L. F. T.; Barreto, S. L. T. **Criação de codorna para produção de ovos e carnes**. 1.ed. Viçosa: Aprenda Fácil. p. 289, 2003.
- Albino, L. F. T.; Neme, R. **Codornas: manual prático de criação**. 1.ed. Viçosa: Aprenda Fácil. p. 56, 1998.

- Alleoni, A. C. C. **Propriedades Funcionais do Albúmen e Qualidade de Ovos de Galinha Cobertos com concentrado Protéico de soro de Leite Bovino**. Tese de Doutorado. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, 2003.
- Altschul, A. M.; Wilcks, H. L. **New Protein Foods: Food Science and Technology**. Academic Press, Orlando, Florida, 1985.
- Belitz, H. D; Grosch, W. **Química de los alimentos**. 2º ed. Zaragoza: E. Acribia. p. 1087, 1997.
- Bressan, M. C.; Rosa, F. C. Processamento e industrialização de ovos de codorna. In: **I Simpósio Internacional de Coturnicultura** – Novos conceitos aplicados à produção de codornas, 2002. Lavras, Anais, p. 1-10, 2002.
- Britten, M.; Lavoie, L. Foaming properties of proteins as affected by concentration. **J. of Food Sci.**, v. 57, p.1219-1222, 1992.
- Cândido, L. M. B. **Obtenção de concentrado e hidrolisado protéico de Tilápia do Nilo (*Oreochromus niloticus*): composição, propriedades nutritivas e funcionais**. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. p. 207, 1998.
- Chang, H. S. Studies on the alkaline gelation of ovalbumin and conalbumina. **J. Chin. Soc. Anim. Sci.** v. 8, p. 35-50, 1979.
- Cheftel, J. C.; Cuq, J. L.; Lorient, D. **Proteínas alimentarias**. Zaragoza: Editorial Acribia. p. 346, 1989.
- Du, L.; Prokop, A.; Tanner, R. D. Effect of denaturation by preheating on the foam fractionation behavior of ovalbumin. **J. of Colloid and Interface Sci.**, v. 248, p. 487-492, 2002.
- Elizalde, B. E.; Kanterewics, R. J.; Pilosof, A. M. R.; Bartholomai, G. B. Physicochemical properties of food proteins related to their ability to stabilize oil-in-water emulsions. **J. Food Sci.**, v. 53, n. 3, p. 845-848, 1988.
- Farrell, H. M.; Bress, E. G.; Claget, C. O. The nature of the biochemical lesion in avian renal riboflavin. V. Elucidation of riboflavin transport in the laying hen. **International Journal of Biochemistry**, v. 1, p. 168-189. 1970.
- Fennema, O. R. **Química de los Alimentos**. 1.ed. Zaragoza: Acribia. p. 1280, 2000.
- Franzen, K.L.; Kinsella, J.E. Functional Properties of Succinylated and Acetylated Soy Protein. **J. Agric. Food Chem.**, v. 24, p. 788, 1976.

- German, J. B.; Phillips, L. G. **Molecular properties of proteins important in foams.**
In: Kinsella, J. E.; Soucie, W. G. **Food Proteins.** 1.ed. Champaign: AOCS. p.132-143, 1989.
- Gosset, P. W.; Rizvi, S. S. H.; Baker, R. C. Qualitative analysis of gelation in egg protein systems. **Food Technol.**, v. 38, n. 5, p. 67-74, 1984.
- Hall, G. M. **Methods of testing protein functionality.** 1. ed. London: Chapman e Hall. p.1-10, 1996.
- Hekken, V. D. L.; Strange, E. D. Functional properties of dephosphorylated bovine whole casein. **J. Dairy Sci.**, v. 76, n. 5, p. 3384-3391, 1993.
- Hermansson, A.-M. (1982). Gel characteristics—structure as related to texture and water binding of blood plasma gels. **J. of Food Sci.**, v. 47, n. 6, 1965-1972.
- Huang, Y.T.; Kinsella, J.E. Effects of Phosphorylation on Emulsifying and Foaming Properties and Digestibility of Yeast Protein. **J. Food Sci.**, v. 52, p. 1684, 1987.
- Huang, Y.T.; Kinsella, J.E. Functional properties of phosphorylated yeast protein: solubility, water-holding capacity, and viscosity. **J. Agric. Food Chem.**, v. 34, p. 670, 1986.
- IBGE –Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: www.ibge.gov.br.
- Kakalis, L. T.; Regenstein, J. M. Effect of pH and Salts on the Solubility of Egg White Protein. **J. of Food Sci.** v. 51, n. 6, 1445-1447, 1986.
- Kato, A.; Ibrahim, H. R.; Watanabe, H.; Honna, K.; Kobayashi, K. New approach to improve the gelling and surface functional properties of dried egg white by heating in dry state. **J. of agricultural and Food Chem.**, v. 37, n. 2, p 433-437, 1989.
- Kilara, A.; Sharkasi, T. Y. Effects of temperature on food protein and its implications on functional properties. **Crit. Rev. Food Sci. and Nutr.**, v. 23, n. 4, p. 323-395, 1986.
- Kinsella, J. E. Milk proteins: physicochemical and functional properties. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 21, n. 4, p. 197-262, 1984.
- Kinsella, J. E. Relationships between structure and functional properties of food proteins. In: Fox, P. F.; Condon, J. J. (Eds). **Food Proteins.** London: Applied Science Publishers. p. 51-103, 1982.
- Korhonen, H.; Leppala, A. P.; Rantamaki, p.; Tupasela, T. Impact of processing on bioactive proteins and peptides. **J. Food Science**, p.307-319, 1998.
- Li-Chan, E.; Nakai, S. Biochemical basis for properties of egg white. **Crit. Rev. Poultry Biology.** v. 2, n. 1, p. 21-57, 1989.

- Linden, G.; Lorient, D. **Bioquímica agroindustrial**. 1.ed., Zaragoza: Editorial Acribia, S.A. p. 428, 1996.
- Ma, C.; Holme, J. Effect of chemical modifications on some physicochemical properties and heat coagulation of egg albumen. **J. Food Sci.** v. 47, p. 1454, 1982.
- Machado, F.F., Coimbra, J.S.R., Rojas, E.E.G., Minim, L.A., Oliveira, F.C. and Sousa, R.C.S. Solubility and density of egg white proteins: Effect of pH and saline concentration. **LWT-Food Sci. Technol.** v. 40, n. 7, p. 1304-1307, 2007.
- Mangino, M. E. Gelation of whey protein concentrates. **Food Technology.** v. 46, n. 1, p. 114-117, 1992.
- Mangino, M. E. Physicochemical aspects of whey protein functionality. **J. Dairy Sci.**, v. 67, n. 11, 2711-2722, 1984.
- Mann, B.; Malik, R. C. Studies on some functional characteristics of whey protein-polysaccharide complex. **J. Food Sci. and Technology**, v. 33, 202-206, 1996.
- Matsumura, Y.; Mori, T. Gelation. In: HALL, G.M. **Methods of testing protein functionality**. 1. ed. London: Chapman e Hall. p. 76-109, 1996.
- Móri, C.; Garcia, E. A.; Pavan, A. C.; Miriani, A. P.; Scherer, R.; Pizzolante, C. C. Desempenho e Qualidade dos Ovos de Codornas de Quatro Grupos Genéticos. **R. Bras. Zootec.**, v.34, n.3, p.864-869, 2005.
- Morrissey, P. A.; Mulvihill, D. M.; O'Neill, M. O. Functional properties of muscle proteins. In: B. J. F. Hudson (Ed.), **Developments in food proteins**, v. 5, p. 195-256, 1982.
- Nakai, S.; Chan, L. Structure modification and functionality of whey proteins: Quantitative structure – activity relationship approach. **J. Dairy Sci.**, v. 68, n. 10, 2763-2772, 1985.
- Nakamura, T.; Utsumi, S.; Mori, T. Network structure formation in thermally induced gelation of glycinin. **J. Agricultural and Food Chem.**, v. 32, n. 2, 349-352, 1984.
- Ordóñez, J. A.; Rodríguez, M. S. C.; Álvarez, L. F.; Sanz, M. L. G.; Miguillón, G. D. G. F.; Perales, L. H.; Cortecero, M. D. S. **Tecnologia de alimentos: componentes dos alimentos e processos**. Tradução de Fátima Murad, v.1. Porto Alegre: Editora Artmed. p. 294, 2005.
- Ornellas, C. B. D.; Junqueira, R. G.; Silvestre, M. P. C. Efeito da Adição de NaCl sobre as propriedades funcionais do plasma bovino e de seus hidrolisados trípticos. **Cienc. Tecnol. Alim.**, v. 20, n. 3, p. 391-397, 2000.

- Oshodi, Aladesanmi A.; Ojokan, Ebun-Oluwa. Effect of salts on some of the functional properties of bovine plasma protein concentrate. **Food Chem.**, v. 59, n. 3. p. 333-338, 1997.
- Osuga, R. T.; Feeney, R. E. Eggs Proteins. In: Whitaker, J. R.; Tannenbaum, S. R. **Food Proteins**, 2 Ed. Westport: Avi Publishing. p. 209-266, 1977.
- Patino, J.M.R.; Delgado, M.D.N.; Fernández, J.A.L. Stability and mechanical strength of aqueous foams containing food proteins. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Eng. Aspects**, v. 99 p. 65-78, 1995.
- Pearce, K. N.; Kinsella, J. E. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. **J. Agric. Food. Chem.**, v. 26, n. 3, p. 716-723, 1976.
- Pelegri, D.H.G.; Gasparetto C.A. Whey proteins solubility as function of temperature and pH. **LWT Food Sci. Technology**, v. 38, p. 77-80, 2005.
- Penfield, M. P.; Campbell, A. M. **Experimental Food Science**. 3.ed. Califórnia: Academic Press. p. 386, 1990.
- Phillips, L. G. Protein conformation at liquid interfaces and its role in stabilizing emulsions and foams. **Food Technology**, v.35, p. 50-57, 1981.
- Phillips, L. G.; Whitehead, D. M.; Kinsella, J. **Structurefunction properties of food proteins**. 1.ed. San Diego: Academic Press, 1994.
- Pollonio, M. A. R. **Estudo das propriedades funcionais do isolado protéico obtido do resíduo industrial do processamento de tomate**. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. 1998. 169p.
- Powrie, D. W.; Nakai, S. Características de los alimentos líquidos de origen animal: huevos. In Fennema O. R. (ed) **Química de los alimentos**, 2 ed. Zaragoza: Editorial Acribia S. A. p 931-958, 2000.
- Ragab, D.D. M.; Babiker, E. E.; Eltinay, A. H. Fractionation, solubility and functional properties of cowpea (*Vigna unguiculata*) proteins as affected by pH and/or salt concentration. **Food Chem.**, v. 84, p. 207-212, 2004.
- Schmidt, R. H.; Illingworth, B. L.; Ahmed, E. M. “The Effect of Dialysis on Heat-Induced Gelation of Peanut Protein/ Whey Protein Blends”. **J. Food Sci.**, v. 43, p. 613-615, 621, 1978.
- Sgarbieri, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos**. 1.ed. São Paulo: Varela, p 517, 1996.

- Shaw, D. J. **Introdução à Química dos Colóides e de Superfícies**. Trad. Maar, J. H.; São Paulo: Ed. Edgard Blücher Ltda - Editora da Universidade de São Paulo, 1975.
- Stadelman, W. J.; Cotterill, O. J. **Egg Science and Technology**. 3 ed. Wesport: AVI Publischer company. p. 449, 1995.
- TACO – Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. NEPA, Unicamp, 2007.
- Vadehra, D. V. and Nath, K. R. **Eggs as a source of protein**. **Crit. Rev. Food Technology**, v. 4, p. 193-308, 1973.
- Vojdani, F. Solubility. In G. M. Hall (Ed.), **Methods of testing protein functionality**. London: Blackie Academic e Professional. p. 265, 1996.
- Wit, J. N. Functional properties of whey proteins. In P. F. Fox. **Developments in dairy chemistry**, vol. 4. London: Elsevier Applied Science. p. 285-321, 1989.
- Wong, D. W. S. **Química de los alimentos. Mecanismos y teoria**. Zaragoza: Acribia S. A. 1995.
- Yasuda, K.; Nakamura, R.; Hayakawa, S. Factors affecting heat-induced gel formation of bovine serum albumin. **J. Food Sci.**, v. 51, n. 5, p.1289-1292, 1986.
- Zabik, M. Eggs; Products. Bowers, J. (Ed). In: **Food Theory and Applications**. 2 ed., Macmilian Publishing Co. chap. 6, p. 359-424, 1992.
- Ziegler, G. R.; Foegeding, E. A. The gelation of proteins. **Adv. Food Nutr. Res.**, v. 34, p. 203 – 298, 1990.

CAPÍTULO 2 – EFEITO DO TEMPO DE AGITAÇÃO, VALOR DE pH E CONCENTRAÇÃO SALINA SOBRE A SOLUBILIDADE DAS PROTEÍNAS DA CLARA DO OVO DE CODORNA (*Coturnix coturnix japonica*)

RESUMO

Nesse trabalho foi avaliada a solubilidade das proteínas da clara do ovo de codorna (*Coturnix coturnix japonica*) sob influência do tempo de agitação, pH e concentração de sal (NaCl), à temperatura de 25 °C. O experimento fatorial foi realizado em quatro tempos de agitação (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 horas), com cinco níveis de pH (3,0; 4,6; 6,2; 8,0; 10,0) e seis níveis de concentração salina (0; 0,05; 0,3; 0,5; 0,8; 1,0 mol/L), no delineamento inteiramente casualizado, com duas repetições. As variações no tempo de agitação, pH e concentração salina das amostras afetaram ($P < 0,05$) a solubilidade das proteínas. Um modelo polinomial foi ajustado aos dados de solubilidade com valor de R^2 superior a 0,82. O valor de solubilidade mais elevado (98,92 g/100 g) foi obtido no sistema contendo 0,05 mol/L (NaCl), em pH 10,0 e com uma hora de agitação. O tempo de agitação que proporcionou maior solubilização das proteínas foi o de 1 hora. O menor valor de solubilidade (68,35 g/100 g) foi obtido no sistema contendo 1,0 mol/L (NaCl), em pH 3,0 e com duas horas de agitação. Nas condições testadas, as soluções aquosas a 1,0 mol/L de NaCl, pH 3,0 e duas horas de agitação, podem favorecer um maior índice de extração das proteínas da clara do ovo de codorna.

Palavras-chave: proteínas, ovo de codorna, clara, solubilidade, *Coturnix coturnix japonica*.

1. INTRODUÇÃO

A clara do ovo é um ingrediente essencial, que tem sido usado por muitos anos na indústria de alimentos devido às suas excelentes propriedades tecnológicas (Stadelman e Cotterill, 1995). Do total, 13,7 g de proteínas encontradas no ovo, 6,3 g são consideradas proteínas de alto valor biológico, considerado um alimento de

excelência na composição da dieta humana, contendo praticamente todos os nutrientes essenciais e indispensáveis a vida humana (Stadelman e Cotterill, 1995; Albino e Barreto, 2003).

As proteínas são macromoléculas que cumprem um papel importante na funcionalidade de alimentos e por esta razão tem crescido a demanda por proteínas com propriedades funcionais específicas e consistentes (Vojdani, 1996). A clara e suas proteínas são usadas principalmente na fabricação de produtos de baixa densidade e elevada expansibilidade, em virtude da capacidade que têm essas proteínas de incorporar ar e formar espumas (Sgarbieri, 1996).

Entre as propriedades funcionais das proteínas, a solubilidade é decisiva na escolha do ingrediente protéico a ser usado em bebidas, alimentos fluidos e emulsões, em diferentes condições de processamento, pois esta propriedade influencia outras características funcionais de proteínas como emulsificação, gelificação e formação de espuma, entre outras. Adicionalmente, dados de solubilidade são empregados na determinação das condições ótimas de extração e purificação de proteínas (Kinsella, 1982; Fennema, 2000; Pelegrine e Gasparetto, 2005; Sousa et al., 2006). Deve-se ressaltar o alto valor comercial agregado às proteínas purificadas, que são utilizadas, por exemplo, na alimentação de atletas, lactentes, pacientes que necessitam de alimentação por via enteral ou parenteral ou ainda com baixa resistência imunológica.

As maneiras como as proteínas interagem com solvente é uma manifestação das propriedades físico-químicas das proteínas em uma dada condição. Um vasto leque de interações proteína-proteína (hidrofóbicas) e proteína-solvente (hidrofilicas) estão envolvidas. (Kakalis e Regenstein, 1986). Vários fatores influenciam a solubilidade protéica, tais como: composição de aminoácido, estrutura protéica (nativa ou desnaturada), pH, concentração de sal, temperatura, tipo de solvente e composição do alimento (Kinsella, 1982; Vojdani, 1996). Alguns parâmetros físicos podem afetar a solubilidade protéica, como agitação mecânica, causando a desnaturação das proteínas (Vojdani, 1996).

O valor do pH da solução afeta a distribuição das cargas líquidas na superfície da proteína e conseqüentemente sua solubilidade. No geral, as proteínas são mais solúveis em valores de pH baixos (ácidos) ou altos (alcalinos) devido ao excesso de cargas do mesmo sinal que produzem repulsão entre as moléculas, aumentando a interação água-proteína e, conseqüentemente, a solubilidade. O menor valor de solubilidade é encontrado no seu ponto isoelétrico (pI) onde, em sistema aquoso, a

proteína apresenta carga líquida igual a zero. Entretanto, a precipitação não ocorre, necessariamente, no pI, sendo dependente também de outras perturbações nas propriedades do solvente, como a adição de um sal (Pelegri e Gasparetto, 2005; Kinsella, 1982; Fennema, 2000; Vojdani, 1996; Machado et al., 2006).

Os sais podem também afetar as interações eletrostáticas entre as macromoléculas e aumentar a solubilidade das proteínas em concentrações de 0,1 a 1,0 mol/L. No entanto, este comportamento vai depender da concentração e tipo de sal presente no meio, da estrutura da proteína, pH e temperatura (Fennema, 2000). Os íons salinos interagem com grupos de cargas opostas na proteína para formar uma dupla camada de grupos iônicos o que diminui as interações eletrostáticas entre as moléculas causando maior solvatação das proteínas e então, aumentando a solubilidade. A solubilidade diminui quando há maior competição entre proteínas e íons salinos pela água. De acordo com a série de Hofmeister, pode-se ordenar os íons da seguinte forma, de acordo com sua efetividade de promover o efeito “salting-out”: $\text{SO}_4^{2-} < \text{F}^- < \text{CH}_3\text{COO}^- < \text{Cl}^- < \text{Br}^- < \text{NO}_3^- < \text{I}^- < \text{ClO}_4^- < \text{SCN}^-$, $\text{NH}_4^+ < \text{K}^+ < \text{Na}^+ < \text{Li}^+ < \text{Mg}^+ < \text{Ca}^{+2}$ (Fennema, 2000; Vojdani, 1996).

Em virtude da escassez de dados referente à solubilidade da clara de ovo de codorna, nesse trabalho foi avaliada a solubilidade das proteínas da clara do ovo de codorna sob influência do tempo de agitação, pH e concentração de sal (NaCl), à temperatura de 25 °C.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

Os ovos utilizados no experimento foram obtidos do Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa - MG (UFV), da criação de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*). Para obtenção da clara do ovo, esta foi separada manualmente, congelada e liofilizada (Edwards L5KR, USA). Os experimentos foram realizados empregando água deionizada (Milli-Q device, Millipore Inc., USA) e reagentes de grau analítico. Para construção da curva analítica, foi utilizado um padrão de ovoalbumina com 98 % de pureza (Sigma Chemicals, St. Louis, USA).

2.2 Métodos

2.2.1 Quantificação de proteína

O conteúdo protéico foi quantificado pela reação de Biureto (Gornall et al., 1949), utilizando uma curva analítica construída com ovoalbumina (Sigma Chemicals, USA) nas concentrações aquosas de (1,0 até 10,0) mg/mL. A leitura da absorbância foi realizada a 540 nm (espectrofotômetro Cary 50, Varian, Austrália), sendo então a quantidade de proteínas (mg) de cada amostra determinada usando a referida curva analítica.

2.2.2 Determinação da solubilidade

Os dados de solubilidade foram obtidos de acordo com a metodologia proposta por Kakalis e Regenstein (1986) com algumas modificações, foi adicionado 120 mg da amostra de clara em 20 mL de solução tampão (6 mg de proteína/mL), no pH pré-definido (3,0; 4,6; 6,2; 8,0; 10,0) contendo o sal a ser avaliado (NaCl) nas concentrações de (0; 0,05; 0,3; 0,5; 0,8; 1,0) mol/L e em diferentes tempos de agitação (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 horas) . Os tampões utilizados foram Glicina – HCl (pH 3,0), Citrato – Acido Cítrico (pH 4,6 e 6,2), Fosfato (pH 8,0) e Carbonato-Bicarbonato (pH 10,0), segundo Mohan, (1995). As amostras foram agitadas em um dispositivo que simula um tanque agitador MASTERFLEX L/S TM (Cole-Parmer Instrument Company) com rotação de 14 rpm, a 25 °C. Logo após a homogeneização as amostras foram centrifugadas a 20000 x g por 20 min a aproximadamente 4 °C (Centrifuga Beckman, modelo J2-MC, USA). Após a centrifugação, uma alíquota de 1 mL foi retirada do sobrenadante para análise de proteína. A análise de proteína solúvel do sobrenadante foi determinada segundo a reação de Biureto (Gornall et al. 1949) com leitura da absorbância a 540 nm (espectrofotômetro Cary 50, Varian, Austrália). A solubilidade protéica, *P.S* (g/100 g), foi calculada de acordo com a fórmula proposta por Morr et al (1985), conforme a equação (1):

$$P.S = \left[\frac{A * 20}{W * S / 100} \right] . 100 \quad (1)$$

Onde $P.S$ (%) é o teor de proteína solúvel presente na amostra, A é a concentração protéica no sobrenadante (mg/mL), W é a massa da amostra (mg) e S é a concentração de proteína da amostra (%).

A Figura 1 apresenta o fluxograma da análise de solubilidade da clara do ovo de codorna.

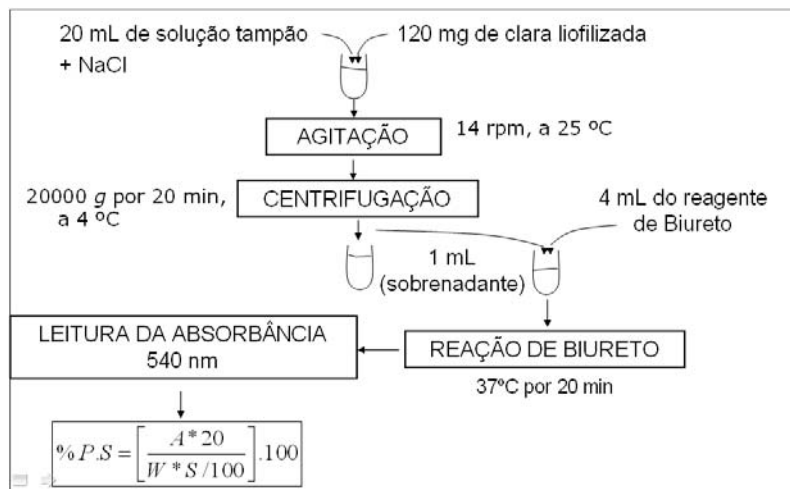


Figura 1. Fluxograma da análise de solubilidade da clara do ovo de codorna.

2.2.3 Análise Estatística

Os experimentos foram realizados segundo um delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial com três valores de pH, cinco concentrações de sal e quatro tempos de agitação, constituído de 60 tratamentos e duas repetições. Cada unidade experimental foi representada por 120 mg de clara liofilizada. Os dados experimentais foram analisados usando o procedimento PROC GLM do software estatístico SAS (SAS versão 9,0, Cary, NC, SAS Institute, Inc., 1999). A confiabilidade da equação do modelo polinomial obtido foi avaliada utilizando o coeficiente de determinação R^2 , o resultado das análises de variância (ANOVA) e o nível de significância pelo teste de Fisher (F , $P < 0,05$). Os níveis de significância dos coeficientes da regressão foram obtidos pelo teste t de Student ($P < 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor protéico nas amostras da clara do ovo de codorna liofilizada foi de 98,5 % de proteínas totais. Os dados de solubilidade da clara do ovo de codorna, em função do tempo de agitação, pH e concentração de NaCl estão apresentados na Tabela 1 e nas Figuras 2 a 10. Os dados de solubilidade variaram ($P < 0,05$) em função dos tempos de agitação, níveis de pH e concentração salina estudados e foi observado interação tripla ($P < 0,05$), que evidencia a interdependência entre os fatores estudados. Nos valores de pH 3,0, 4,6 e 8,0, a solubilidade das proteínas diminuiu com o aumento do tempo de agitação (Figuras 2, 3 e 4). Esse fenômeno pode ter sido originado em decorrência de alterações na conformação nativa da proteína (secundária, terciária ou quaternária) com a elevação do tempo de agitação do meio. A quebra na estrutura da proteína pode liberar resíduos de aminoácidos hidrofóbicos, localizados geralmente no interior das moléculas de proteínas. Esse desenovelamento da estrutura nativa da proteína pode ocorrer durante a etapa de homogeneização no processamento de alimentos (Kato et al., 1989; Li-Chan e Nakai, 1989). A exposição desses grupos hidrofóbicos aumenta as interações proteína-proteína, diminuindo a solubilidade.

Nos valores de pH 6,2 a solubilidade foi máxima no tempo de agitação de 1,5 horas (Figura 4) e no pH 10,0 a solubilidade foi máxima no do tempo de agitação de 1 hora (Figura 6). Após esse tempo de agitação, para os dois valores de pH, houve redução na solubilidade das proteínas. Neste caso, o comportamento da solubilidade pode ser explicado pela combinação das condições do meio e do tempo de agitação. A solubilidade das proteínas é influenciada pelo pH da solução, o qual altera a distribuição das cargas líquidas na superfície da proteína e, assim, afeta as interações água-proteína e proteína-proteína (Fennema, 2000). Diversos parâmetros físicos podem influenciar a solubilidade das proteínas, como as condições operacionais. No entanto, deve-se estar atento para com a agitação e com outras condições físicas que desnaturam as proteínas (Vojdani, 1996).

Nos valores de pH 3,0 a 10,0, para todos os tempos de agitação analisados, o aumento da concentração salina diminuiu a solubilidade das proteínas, devido ao efeito “salting-out” (Figuras 2 a 6). Neste caso, verifica-se a competição entre a proteína e os íons salinos pela molécula de água, levando à remoção da água de hidratação da proteína, o que ocasiona um maior número de interações hidrofóbicas (proteína-proteína) do que interações proteína-água, levando, então, à agregação das moléculas protéicas, seguida de precipitação (PHARMACIA BIOTECH, 1993; Fennema, 2000).

Tabela 1. Solubilidade (g/100 g) das proteínas da clara do ovo de codorna em função do tempo de agitação, pH e da concentração salina.

Tempo 0,5 h		pH				
NaCl (mol/L)		3,0	4,6	6,2	8,0	10,0
0		96,39 ±0,41	97,79 ±0,18	97,68 ±0,03	97,26 ±0,57	97,39 ±0,18
0,05		97,78 ±0,62	97,01 ±0,10	81,69 ±0,17	87,82 ±0,39	88,49 ±0,26
0,3		95,99 ±0,02	97,21 ±0,03	88,69 ±0,92	90,90 ±0,60	88,34 ±0,52
0,5		90,03 ±0,18	97,45 ±0,16	88,51 ±0,61	92,18 ±0,10	88,21 ±0,05
0,8		82,60 ±0,42	97,69 ±0,18	87,79 ±0,45	91,14 ±0,07	87,31 ±0,47
1		79,88 ±1,15	97,38 ±0,88	87,34 ±0,38	84,39 ±1,61	87,24 ±0,05
Tempo 1,0 h		pH				
NaCl (mol/L)		3,0	4,6	6,2	8,0	10,0
0		96,70 ±0,49	92,56 ±1,26	96,68 ±0,51	96,34 ±0,59	97,43 ±0,03
0,05		95,59 ±0,13	94,78 ±1,43	88,40 ±1,28	90,25 ±0,07	98,92 ±0,16
0,3		90,19 ±1,20	96,75 ±0,10	93,83 ±0,49	90,64 ±0,05	97,67 ±0,05
0,5		81,77 ±0,76	95,92 ±0,44	92,93 ±0,46	91,20 ±0,22	97,27 ±0,26
0,8		79,32 ±0,68	95,42 ±0,21	88,85 ±0,08	89,50 ±0,26	96,42 ±0,05
1		76,93 ±0,78	93,65 ±0,36	86,50 ±0,13	85,76 ±0,36	95,64 ±0,10
Tempo 1,5 h		pH				
NaCl (mol/L)		3,0	4,6	6,2	8,0	10,0
0		95,74 ±0,57	92,88 ±1,21	96,79 ±1,59	95,17 ±0,03	96,94 ±0,46
0,05		89,51 ±0,14	85,43 ±0,24	95,75 ±0,62	89,88 ±0,79	97,85 ±0,21
0,3		84,92 ±0,87	86,59 ±0,14	96,38 ±0,10	89,01 ±0,77	97,01 ±0,36
0,5		82,79 ±0,21	85,91 ±1,20	95,46 ±0,31	88,84 ±0,67	95,53 ±0,42
0,8		74,48 ±0,21	85,96 ±0,12	95,07 ±0,49	88,11 ±0,19	95,39 ±0,10
1		72,27 ±0,80	85,64 ±0,14	94,43 ±0,62	85,09 ±0,39	94,83 ±0,10
Tempo 2,0 h		pH				
NaCl (mol/L)		3,0	4,6	6,2	8,0	10,0
0		95,44 ±1,39	90,46 ±0,57	95,39 ±0,28	92,79 ±0,67	96,74 ±0,64
0,05		88,51 ±0,19	81,65 ±0,00	84,07 ±0,00	89,68 ±0,60	87,04 ±0,33
0,3		84,44 ±0,05	84,56 ±0,12	86,56 ±0,07	89,26 ±0,26	86,49 ±0,07
0,5		80,55 ±0,35	84,16 ±0,07	85,96 ±0,59	88,28 ±0,07	86,01 ±0,09
0,8		71,95 ±1,20	83,27 ±0,31	84,54 ±0,14	87,70 ±0,17	85,81 ±0,14
1		68,35 ±0,40	81,64 ±0,02	83,72 ±0,21	84,53 ±0,12	85,52 ±0,31

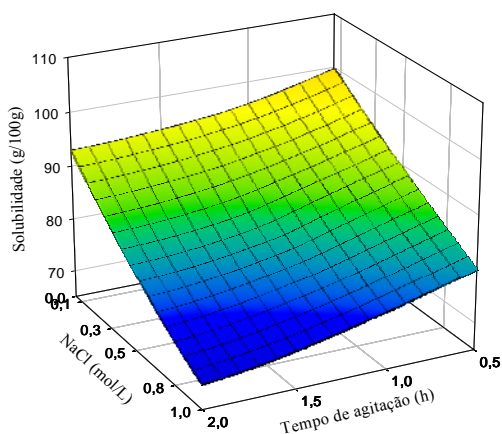


Figura 2. Solubilidade da clara do ovo de codorna no pH 3,0 em função da concentração de NaCl e tempo de agitação.

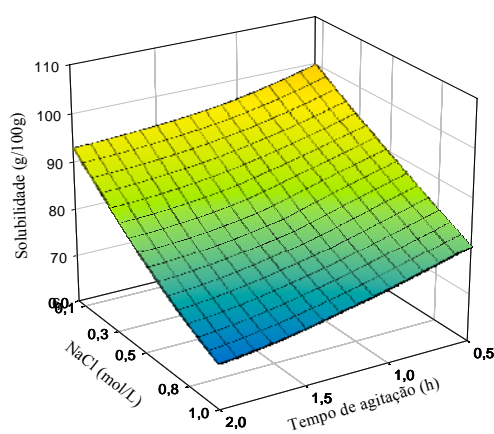


Figura 3. Solubilidade da clara do ovo de codorna no pH 4,6 em função da concentração de NaCl e tempo de agitação.

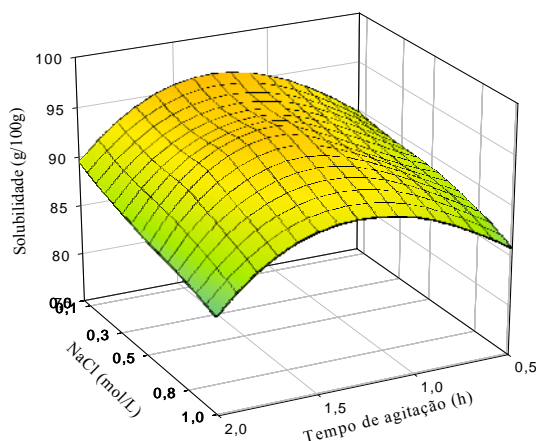


Figura 4. Solubilidade da clara do ovo de codorna no pH 6,2 em função da concentração de NaCl e tempo de agitação.

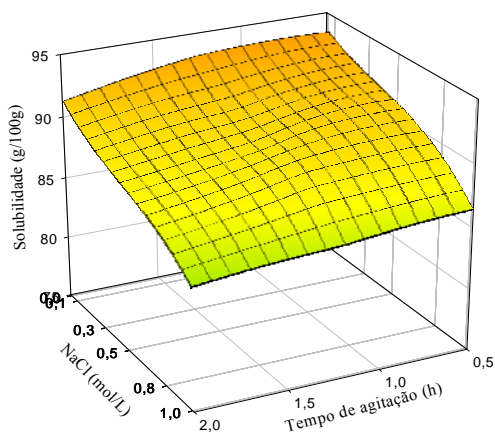


Figura 5. Solubilidade da clara do ovo de codorna no pH 8,0 em função da concentração de NaCl e tempo de agitação.

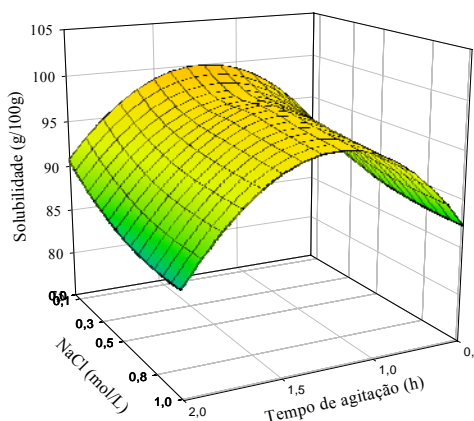


Figura 6. Solubilidade da clara do ovo de codorna no pH 10,0 em função da concentração de NaCl e tempo de agitação.

No valor de pH 4,6 para os tempos de agitação de (1 a 2) horas, na faixa de concentração salina entre (0,05 até 0,3) mol/L, a solubilidade das proteínas aumentou devido ao efeito “salting-in” (Tabela 1). Neste fenômeno, os íons salinos interagem com grupos de cargas opostas na proteína para formar uma dupla camada de grupos iônicos o que diminui as interações eletrostáticas entre as moléculas causando maior solvatação das proteínas e então, aumento da solubilidade (Vojdani, 1996; Kinsella, 1982). Em teores de sal superiores a 0,3 mol/L, ou seja, entre (0,5 e 1,0) mol/L, foi observado redução da solubilidade (Tabela 1). Em altas concentrações de íons salinos, a maior parte das moléculas de água está fortemente ligada aos íons salinos, enquanto há alguma reorganização das moléculas de água ao redor da molécula de proteína, aumentando as interações hidrofóbicas e as agregações proteína-proteína (Vojdani,

1996). Nesse mesmo pH, para o tempo de agitação de 0,5 hora, observou-se que o aumento da concentração salina reduziu a solubilidade em decorrência do comportamento “salting-out”.

No pH 6,2, para todos os tempos de agitação avaliados, a elevação da concentração salina até 0,3 mol/L aumentou a solubilidade das proteínas, devido ao efeito “salting-in” (Tabela 1). Nessa condição, as interações proteína-água aumentam porque as forças eletrostáticas entre as moléculas são maiores, ou seja, as forças repulsivas entre as moléculas aumentam, e uma maior quantidade de água interage com as moléculas de proteínas. Em concentrações de sal acima de 0,5 mol/L, a solubilidade das proteínas diminuiu, efeito “salting-out”. Segundo Collins (2004) citado por Curtis e Lue (2006), uma explicação para esse fenômeno, é que os íons de sal seqüestram as moléculas de água que solvavam a superfície da proteína. Conseqüentemente, surgem forças atrativas (hidrofóbicas) entre as moléculas de proteínas, aumentando as interações proteína-proteína e as agregações seguidas de precipitação.

No pH 8,0, nos tempos de agitação de (0,5 e 1) hora, a solubilidade aumentou com a elevação da concentração de NaCl de 0,05 até 0,5 mol/L (Tabela 1). Acima da concentração salina de 0,8 mol/L houve um decréscimo na solubilidade. Para os tempos de agitação de (1,5 e 2) horas, a solubilidade diminuiu com o aumento da concentração salina. Em baixas concentrações de sais a solubilidade em geral aumenta, por que os íons salinos em baixas concentrações tendem a se associar às proteínas contribuindo para uma maior hidratação e/ou repulsão das moléculas de proteína, provocando o efeito “salting-in”. Ao contrário, em elevadas concentrações de sais, os íons salinos, formam sua própria camada de hidratação e competem com a proteína pela água ocasionando perda de água de hidratação pelas moléculas protéicas, fenômeno “salting-out” (Sgarbieri, 1996).

Os perfis de solubilidade para cada tempo de agitação, em função do pH e da concentração salina estão apresentados nas Figuras 7 a 10. No tempo de agitação de 0,5 hora, observa-se que em pH alcalino ainda não se tem a total solubilização das proteínas, quando comparado com o perfil da solubilidade em 1 hora. Em 1 hora de agitação, observam-se pontos máximos de solubilidade, representados por valores de pH em torno de 10,0 e 4,2. As demais curvas de solubilidade adquiriram formas mais planas, o que é um indício de desnaturação das proteínas, ou seja, o tempo de agitação provoca modificações na conformação da proteína. O desenovelamento das moléculas de proteínas pode liberar resíduos de aminoácidos hidrofóbicos, que aumentam as

interações proteína-proteína, diminuindo a solubilidade. Os níveis de desnaturação estão diretamente relacionados com as propriedades físico-químicas e funcionais das proteínas, pois a dissociação destas estruturas interfere nestas propriedades (Nunes, 2003).

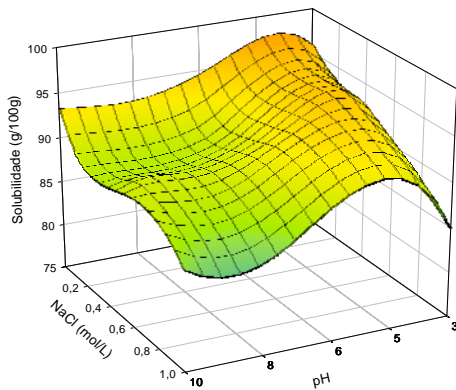


Figura 7. Solubilidade da clara do ovo de codorna no tempo de agitação de 0,5 horas em função da concentração de NaCl e pH.

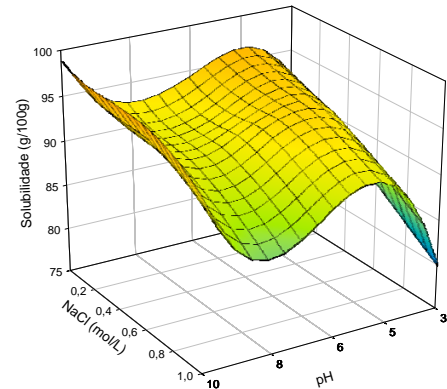


Figura 8. Solubilidade da clara do ovo de codorna no tempo de agitação de 1,0 horas em função da concentração de NaCl e pH.

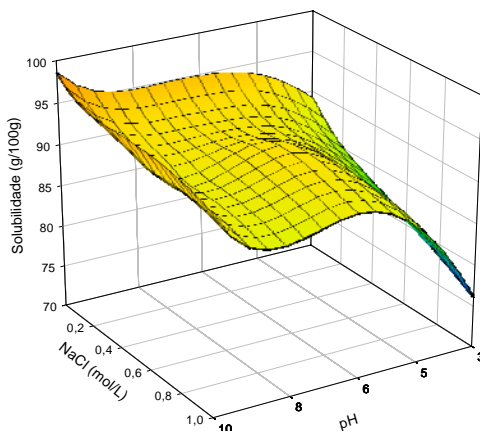


Figura 9. Solubilidade da clara do ovo de codorna no tempo de agitação de 1,5 horas em função da concentração de NaCl e pH.

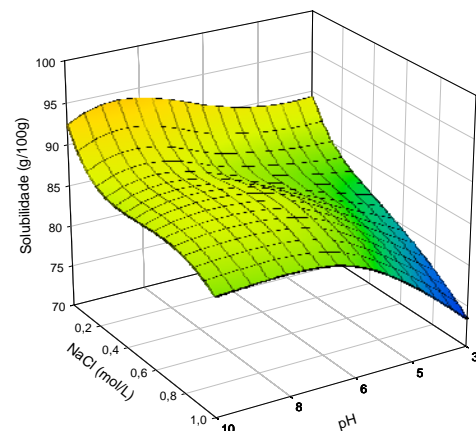


Figura 20. Solubilidade da clara do ovo de codorna no tempo de agitação de 2,0 horas em função da concentração de NaCl e pH.

O tempo de agitação de 1 hora pode ser considerado o melhor tempo para solubilizar as proteínas, por não apresentar indícios de desnaturação protéica no seu perfil de solubilidade, quando comparado como os demais tempos.

Um modelo polinomial, Eq. (2), foi usado para ajuste dos dados de solubilidade da clara do ovo de codorna:

$$S = a - b Cs - ct^2 - dt pH + eCs pH \quad (2)$$

Onde, t é o tempo de agitação (horas), Cs é a concentração de NaCl (mol/L), pH é o valor de pH e $a-e$ as constantes da equação estimada.

O modelo proposto pela Equação (2) foi significativo ($P < 0,05$) para explicar a variação da solubilidade da clara do ovo de codorna em função do valor de pH; concentração de sal e tempo de agitação, apresentando um valor de R^2 acima de 0,82. A Tabela 2 apresenta a estimativa dos coeficientes da Equação (2)

Tabela 2. Coeficientes da Eq. (2)

<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>e</i>	R²	Pr
95,96	18,29	5,07	0,10	1,67	0.82	< 0,0001

4. CONCLUSÃO

A determinação dos dados de solubilidade das proteínas apresenta relevância por serem necessários, por exemplo, na definição de condições de processamento de alimentos que contenham diferentes fontes protéicas, na obtenção de concentrados protéicos e na extração e purificação de proteínas com alto valor agregado. A solubilidade das proteínas da clara do ovo de codorna foi influenciada pela variação do tempo de agitação, pH e concentrações de sal, com um comportamento diferenciado exibido em cada condição. O valor de solubilidade mais elevado (98,92 g/100 g) foi obtido na amostra contendo 0,05 mol/L de NaCl, em pH 10,0 e com uma hora de agitação. O tempo de agitação de 1 hora pode ser considerado o melhor tempo para solubilizar as proteínas. O menor valor de solubilidade (68,35 g/100 g) foi obtido na amostra contendo 1,0 mol/L de NaCl, em pH 3,0 e com duas horas de agitação. Nas condições testadas, as soluções aquosas a 1,0 mol/L de NaCl, pH 3,0 e duas horas de agitação, pode levar a um maior índice de separação das proteínas da clara do ovo de codorna.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albino, L.F.T.; Barreto, S.L.T. **Criação de codorna para produção de ovos e carnes**. 1.ed. Aprenda Fácil, Viçosa, Brazil, p. 23-24, 2003.
- Collins, K.D. Ions from the Hofmeister series and osmolytes: effects on proteins in solution and in the crystallization process. **Methods**, v. 34, p. 300, 2004.
- Curtis, R. A.; Lue, L. A molecular approach to bioseparations: Protein–protein and protein–salt interactions. **Chem. Engineering Sci.**, v. 61, p. 907-923, 2006.
- Fennema, O. R. **Química de los Alimentos**. 1.ed. Zaragoza: Acribia. p. 1280, 2000.
- Gornall, A.G., Bardawill, C.J.; David, M.M. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. **J. Biol. Chem.** v. 177, n. 751. 1949.
- Kakalis, L.T. and Regenstein, J.M. Effect of pH and salts on the solubility of egg white protein. **J. Food Sci.** v. 51, n. 6, p. 1445-1447. 1986.
- Kato, A.; Ibrahim, H. R.; Watanabe, H.; Honna, K.; Kobayashi, K. New approach to improve the gelling and surface functional properties of dried egg white by heating in dry state. **J. agricultural and Food Chem.**, v. 37, n. 2, p. 1433-437, 1989.
- Kinsella, J. E. **Relationships between structure and functional properties of food proteins**. In: Fox, P. F.; Condon, J. J. (Eds). *Food Proteins*. 1.ed. London: Applied Science Publishers. p. 51-103, 1982.
- Li-Chan, E. and Nakai, S. Biochemical basis for properties of egg white. **Crit. Rev. Poultry Biology**. v. 2, n. 1, p. 21-57, 1989.
- Machado, F.F., Coimbra, J.S.R., Rojas, E.E.G., Minim, L.A., Oliveira, F.C. and Sousa, R.C.S. Solubility and density of egg white proteins: Effect of pH and saline concentration. **LWT-Food Sci. Technol.** v. 40, n. 7, p. 1304-1307, 2007.
- Mohan, C. **Buffers: A Guide for the Preparation and Use of Buffers in Biological Systems**. Calbiochem - EMD, San Diego, CA. p. 38, 1995.
- Morr, C. V.; German, B.; Kinsella, J. E.; Regenstein, J. E.; Van Buren, J. P.; Kilara, A.; Lewis, B. A.; Mangino, M. E. A collaborative study to develop a standardised food protein solubility procedure. **J. Food Sci.**, v. 50, n. 6, p.1715-1718, 1985.
- Nunes, M. C. **Propriedades Funcionais das proteínas**. In: *A Química e a Reologia no Processamento dos alimentos* (A. G. Castro, ed.) Instituto PIAGET, Ciência e Técnica, Mirandela. p. 119-143, 2003.
- Pelegrine, D.H.G.; Gasparetto, C.A. Whey proteins solubility as function of temperature and pH. **LWT-Food Sci. Technol.** v. 38, p.77-80, 2005.

- Pharmacia biotech. **Hydrophobic Interaction Chromatography: Principles and Methods**, Uppsala, Sweden. p. 108, 1993.
- SAS INSTITUTE, INC. 1999. *SAS/STAT User's Guide Release 6.03*, Cary, NC.
- Sgarbieri, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos**. 1.ed. São Paulo: Varela, p 517, 1996.
- Sousa, R.C.S.; Coimbra, J.S.R.; Rojas, E.E.G.; Minim, L.A.; Oliveira, F.C.; Minim, V.P.R. Effect of pH and salt concentration on the solubility and density of egg yolk and plasma. **LWT-Food Sci. Technol.** v. 40, n. 7, 1253-1258, 2007.
- Stadelman, W.J.; Cotterill, O.J. **Egg Science and Technology**, 4th Ed., Publisher Company, Westport, CT, AVI, p. 449, 1995.
- Vojdani, F. **Solubility**. In *Methods of Testing Protein Functionality* (G.M. Hall, ed.), 1.ed. Blackie Academic and Professional, London, U.K. p. 11-46, 1996.

CAPÍTULO 3 - EXPANSÃO E ESTABILIDADE DA ESPUMA DA CLARA DO OVO DE CODORNA (*Coturnix coturnix japonica*) EM FUNÇÃO DO CONTEÚDO DE CLARA, pH E CONCENTRAÇÃO SALINA

RESUMO

As proteínas da clara do ovo são amplamente utilizadas na indústria de alimentos. Uma série de fatores, isolados ou combinados, podem influenciar nas características espumante do albúmen. Objetivou-se nesse trabalho avaliar a capacidade de expansão e estabilidade de espuma da clara do ovo de codorna (*Coturnix coturnix japonica*) em função da concentração de clara, pH e da concentração de NaCl, à temperatura ambiente 25 °C (± 1 °C). O experimento fatorial foi realizado em três níveis de pH (3,0; 6,2; 10,0), três níveis de concentração de clara (1; 2; 3 % m/v), e seis níveis de concentração salina (0; 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,6 mol/L), no delineamento inteiramente casualizado, com duas repetições. Um modelo polinomial foi estimado para avaliar a estabilidade e expansão da espuma apresentando valor de R^2 superior a 0,50 e 0,61, respectivamente. Todos os fatores envolvidos no estudo (concentração de clara, pH, concentração salina) tiveram impacto ($p < 0,05$) sobre a estabilidade e expansão da espuma, exceto o pH para estabilidade. O maior valor de estabilidade da espuma, 41 % ,foi apresentada na concentração de 2 % de clara em pH 10,0 a 0,4 mol/L de NaCl e no pH 3,0 a 0,6 mol/L de NaCl. O maior valor da expansão da espuma foi encontrado na concentração de clara de 1 % em pH 10,0 a 0,05 mol/L de NaCl. A expansão da espuma foi prejudicada pelo aumento excessivo tanto da concentração de clara quanto da concentração salina. A estabilidade da espuma aumentou com elevação do teor de clara e apresentou comportamentos diferentes com o aumento da concentração salina em todos os valores de pH estudados.

Palavras-chave: proteínas da clara do ovo, espumabilidade, NaCl, *Coturnix coturnix japonica*.

1. INTRODUÇÃO

As espumas possuem uma grande variedade de aplicações na indústria alimentícia e de cosméticos, sendo também usados no combate aos incêndios (Wilde e Clark, 1996). Na indústria de alimentos as espumas estão distribuídas na forma de bolos, biscoitos, merengues, mousses, suspiros, suflês, coberturas de bolos, sorvetes e bebidas como as cervejas (Campbell e Mougeot, 1999; Wilde e Clark, 1996). A estabilidade da espuma influencia no estabelecimento do tempo de vida de prateleira e a aparência de produtos alimentícios, onde deve ser estável quando sujeita a uma variedade de processos, como o aquecimento, mistura e corte (Foegeding, et al., 2006). Muitos produtos que necessitam de espumas protéicas de clara em sua formulação têm sua vida de prateleira reduzida em função da estabilidade da espuma (Wilde e Clark, 1996).

Espumas são sistemas dispersos de duas fases distintas, onde a líquida circunda uma fase dispersa constituída de bolhas de ar. As proteínas podem agir como estabilizantes desse sistema, adsorvendo-se na interface ar-água, alterando as propriedades de superfícies. As bolhas de ar são separadas por uma fina camada de líquido, denominada lamela, formando uma interface gás-líquido de elevada proporção, resultando em um filme que previne a coalescência das bolhas de ar (Halling, 1981). Para ser um bom formador de espuma, a proteína deve adsorver rapidamente na interface ar-água durante o batimento; sofrer rápido arranjo e rearranjo na interface; formar um filme coesivo e viscoelástico (Cândido, 1998).

Sistemas protéicos heterogêneos, como a clara do ovo, são constituídos de várias proteínas com diferentes cargas líquidas e pontos isoelétricos. As interações eletrostáticas das proteínas da clara do ovo contribuem para formação e estabilidade da espuma (Johnson e Zabik, 1981).

A formação de espuma requer a difusão das proteínas solúveis até a interface ar-água, onde será adsorvida para diminuir a tensão interfacial. Para estabilizar a espuma, as propriedades requeridas das proteínas são diferentes das necessárias à sua formação. Para isto, é necessária obter uma película protéica impermeável ao ar, espessa, elástica, coesa e contínua em torno da bolha (Kinsella, 1976; Borderías e Montero, 1988). Durante a formação da espuma, a proteína na interface ar-água, sofre mudanças conformacionais que resultam em desnaturação. Esse fenômeno deverá contribuir para o aumento de viscosidade observado com a formação de espuma. Portanto, a proteína

como surfactante, deve desempenhar duas funções fundamentais na formação de espuma: reduzir a tensão interfacial do líquido e formar um filme de estrutura contínua e coesa envolvendo as bolhas de gás (Sgarbiere, 1996).

As propriedades das proteínas à base de espumas são comumente medidas por dois parâmetros fundamentais, a espumabilidade e a estabilidade da espuma (Raymundo, et al., 1998; Wright e Hemmant, 1987). A espumabilidade diz respeito à capacidade da fase contínua incluir ar ou outro gás e a estabilidade da espuma diz respeito à estabilidade das lamelas e a capacidade de reter o gás por um determinado tempo (Prins, 1988). Estabilidade da espuma é um reflexo das características espumante do filme, tais como a impermeabilidade ao gás, características viscoelásticas e de resistência mecânica do filme (Kinsella, 1984).

Inúmeros fatores influenciam as propriedades espumantes das proteínas, como a natureza da proteína, método de preparo, solubilidade, concentração, pH, concentração salina, temperatura, presença de sais, açúcares, lipídios e método de medida. Os mecanismos de desestabilização de espuma têm sido descritos como drenagem, quebra ou escoamento do líquido da lamela com decorrer do tempo após a formação da espuma, devido à gravidade e às diferenças de pressão (Kinsella, 1976).

Como uma série de fatores, isolados ou combinados, afetam as características espumante da clara, o presente estudo teve como objetivo determinar a capacidade de expansão e estabilidade de espuma da clara do ovo de codorna em função da concentração de clara, pH e concentração de NaCl.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

Os ovos utilizados no experimento foram obtidos do Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa - MG (UFV), da criação de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*). Para obtenção da clara do ovo, está foi separada manualmente, congelada e liofilizada (Edwards L5KR, USA). Os experimentos foram realizados empregando água deionizada (Milli-Q device, Millipore Inc., USA) e reagentes de grau analítico.

2.2 Métodos

2.2.1 Determinação da estabilidade e expansão da espuma

As características espumantes das amostras foram avaliadas baseadas no método desenvolvido por Wanniska e Kinsella (1979) com algumas modificações. O principal componente foi um aparato utilizado para a produção de espuma, constituído de uma coluna de vidro (130 cm de altura x 2,00 cm de diâmetro interno), graduada em milímetros. O ar utilizado na produção da espuma foi procedente de uma bomba, que penetra na coluna de vidro por meio de um disco poroso, localizado internamente na parte inferior da coluna.

As amostras foram preparadas em diferentes concentrações de clara (1; 2; e 3 % m/v), no pH pré-definido (3,0; 6,2 e 10,0) e nas concentrações salinas (0; 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; e 0,6 mol/L) de NaCl. Os tampões utilizados foram Glicina – HCl (pH 3,0), Citrato – Acido Cítrico (pH 6,2) e Carbonato-Bicarbonato (pH 10,0), segundo Mohan (1995). As amostras foram agitadas durante 1 hora, em um dispositivo que simula um tanque agitador MASTERFLEX L/S™ (Cole-Parmer Instrument Company) com rotação de 14 rpm, a 25 °C. Um volume de 20 mL da amostra foi colocado na coluna a temperatura ambiente (25 ± 1 °C). O ar foi insuflado por 1 minuto em um fluxo contínuo de 7,4 mL/min. O volume de espuma formado no final do período (1 minuto) de insuflamento de ar representou a expansão da espuma. A estabilidade e expansão da espuma foi determinada no tempo de meia vida da espuma de 5 minutos. A estabilidade da espuma foi calculada de acordo segundo a equação (1).

$$\text{Estabilidade da espuma (\%)} = \frac{Vl_i - Vl_t}{Vl_i - Vl_0} \times 100 \quad (1)$$

Onde, Vl_i é o volume de líquido inicial, Vl_t é o volume do líquido no tempo final de drenagem e Vl_0 é o volume de líquido no tempo inicial de drenagem.

A expansão da espuma foi calculada de acordo com a equação (2) sugerida por Britten e Lavoie (1992):

$$\text{Expansão da espuma (\%)} = \frac{Vf_0 - Vl_t}{Vl_0} \times 100 \quad (2)$$

Onde, Vf_0 é o volume da espuma inicial, no tempo zero de drenagem, Vl_t é o volume do líquido no tempo final de drenagem e Vl_0 é o volume de líquido no tempo inicial de drenagem.

2.2.2 Análise Estatística

Os experimentos foram dispostos no delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial com três valores de pH, seis concentrações de sal e três concentrações de clara, constituído de 54 tratamentos e duas repetições, totalizando 108 unidades experimentais. Os dados experimentais foram analisados usando o procedimento PROC GLM do software estatístico SAS (SAS versão 9,0, Cary, NC, SAS Institute, Inc., 1999). A confiabilidade da equação do modelo polinomial obtido foi avaliada utilizando o coeficiente de determinação R^2 , o resultado das análises de variância (ANOVA) e o nível de significância estatístico pelo teste de Fisher (F, $p < 0,05$). Os níveis de significância dos coeficientes da regressão foram obtidos pelo teste t de Student ($p < 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Estabilidade da espuma

Os dados de estabilidade da espuma da clara do ovo de codorna, em função da concentração de clara, pH e concentração de NaCl estão apresentados na Tabela 1 e nas Figuras de 1 a 5.

Os dados de estabilidade da espuma variaram ($P < 0,05$) em função da concentração de clara e sal, com interação significativa entre os níveis de pH e concentração de sal; concentração de clara e pH; e concentração de clara e sal. Fatores, como pH, concentração de clara e de sal, afetam as propriedades físicas e as interações entre as proteínas e, por sua vez, alteram as propriedades funcionais (Kinsella, 1979; Mwasaru, et al., 2000; Philips, et al., 1991; Lawal, 2004). Cherry e McWatters (1981) relataram que a carga da proteína influencia na sua adsorção na interfase ar-água, e Townsend (1983) verificou que a densidade de carga, a hidrofobicidade e a viscosidade são os principais fatores que afetam a estabilidade das espumas.

Tabela 1. Estabilidade da espuma (%) da clara do ovo de codorna em função do pH, concentração de NaCl e clara de ovo.

1 % Clara		pH		
NaCl (mol/L)	3,0	6,2	10,0	
0	17,8 ± 2,2	26,3 ± 1,7	25,0 ± 3,8	
0,05	10,4 ± 2,7	19,8 ± 3,7	13,3 ± 1,9	
0,1	17,5 ± 3,1	18,7 ± 3,3	20,6 ± 1,1	
0,2	33,0 ± 3,2	25,6 ± 5,1	29,5 ± 2,8	
0,4	36,4 ± 1,6	25,8 ± 2,9	38,0 ± 1,7	
0,6	36,9 ± 3,6	24,4 ± 2,5	34,9 ± 1,5	
2 % Clara		pH		
NaCl (mol/L)	3,0	6,2	10,0	
0	23,1 ± 1,8	38,8 ± 0,7	29,8 ± 1,3	
0,05	23,8 ± 0,8	34,3 ± 2,3	18,2 ± 2,4	
0,1	26,4 ± 2,1	28,6 ± 2,1	24,9 ± 3,9	
0,2	33,4 ± 1,4	34,9 ± 1,8	32,4 ± 5,5	
0,4	40,7 ± 2,3	33,9 ± 1,2	41,1 ± 3,9	
0,6	41,5 ± 3,7	27,8 ± 3,5	40,2 ± 3,0	
3 % Clara		pH		
NaCl (mol/L)	3,0	6,2	10,0	
0	37,1 ± 1,5	36,7 ± 2,1	33,0 ± 1,3	
0,05	35,5 ± 1,4	32,6 ± 1,1	20,2 ± 5,9	
0,1	39,3 ± 5,7	29,5 ± 0,5	25,7 ± 0,7	
0,2	40,5 ± 4,3	35,6 ± 2,8	34,4 ± 3,3	
0,4	37,2 ± 1,8	34,3 ± 1,9	38,9 ± 1,5	
0,6	29,6 ± 2,2	33,0 ± 0,6	38,9 ± 3,7	

De forma geral, para todos os valores de pH analisados a estabilidade da espuma aumentou com a elevação da concentração de clara (Tabela 1). Uma tendência semelhante foi observada por Britten e Lavoie (1992), ao avaliar o efeito da concentração de proteínas (caseína, isolado protéico do soro e ovalbumina) sob a propriedade espumante. Estudos feitos com isolado protéico de feijão também relataram o mesmo comportamento (Adebowale e Lawal, 2003; Lawal, 2004; Lawal et al., 2005). O aumento da estabilidade da espuma com a elevação da concentração de proteína é resultado da formação de espuma mais forte. Espumas rígidas desenvolvem bolhas de pequenas dimensões e de alta viscosidade. A estabilidade da espuma é melhorada com a elevação do conteúdo de proteínas, porque estas aumentam a viscosidade e intensificam as ligações protéicas nas interfaces dos filmes (Lawal, 2004; Lawal et al., 2005).

Segundo Cheftel, et al., (1989), embora muitos estudos ressaltem a importância de uma alta solubilidade de proteína para que se manifeste uma boa capacidade e estabilidade espumante, é aceito que as partículas protéicas insolúveis tenham um papel benéfico na estabilidade da espuma.

De acordo com Patino et al. (1995), a elevação da estabilidade da espuma de ovalbumina com a concentração da proteína, foi devido ao aumento da densidade e viscosidade das lamelas ou das características da interface dos filmes (Huang e Kinsella, 1987 e 1986). A espuma retém uma maior quantidade de líquidos quando a concentração de proteína aumenta (Elizalde et al., 1991; Patino et al., 1995).

No pH 3,0 a elevação da concentração salina, de (0,0 a 0,05) mol/L, reduziu a estabilidade da espuma, porém com um posterior aumento na concentração salina, de (0,1 a 0,6) mol/L, a estabilidade da espuma aumentou. Entretanto, na concentração de 3 % de clara, houve diminuição da estabilidade da espuma na concentração salina de 0,6 mol/L (Tabela 1 e Figura 1). Nesse caso, a adição de sal aumentou a solvatação dos desenrolamentos das moléculas de proteínas adsorvidas na interface ar/água, aumentando as forças repulsivas entre as moléculas adsorvidas, o que reduziu a resistência dos filmes. Em concentrações elevadas de sal, esse efeito pode ser adverso devido à diminuição da solvatação das moléculas de proteínas, deixando os filmes mais resistentes. A adição de NaCl aumenta significativamente a capacidade espumante das proteínas da clara do ovo (Raikos, et al., 2007).

Zhang, et al., (2004), observaram que a espumabilidade do isolado protéico do soro aumentou quando a concentração de NaCl passou de (0 a 0,1) mol/L, e diminuiu com o aumento da concentração de (0,1 a 0,8) mol/L. Adebowale e Lawal (2004), observaram para as propriedades espumantes de isolado protéico de feijão, uma melhoria na estabilidade e na capacidade de formação da espuma em soluções de concentração salina de (0,1 a 0,4) mol/L de NaCl. Com aumentos posteriores da concentração salina essas propriedades foram reduzidas.

No pH 6,2 o aumento da concentração salina, de (0,0 a 0,1) mol/L, diminuiu a estabilidade da espuma. Na concentração salina de 0,2 mol/L a estabilidade da espuma aumentou. Após essa concentração de sal, ou seja, de (0,4 a 0,6) mol/L, a estabilidade da espuma continuou diminuindo (Tabela 1 e Figura 2). A adição de sais em suspensões protéicas afeta a densidade da carga da molécula, e conseqüentemente provoca modificações na estabilidade da espuma (Townsend, 1983). Estudos feitos por Lawal (2004), com isolado protéico de feijão, verificaram que o aumento da concentração salina de (0,0 a 0,2) mol/L de NaCl, aumentou a estabilidade da espuma; e, para maiores valores de concentração salina, de (0,4 a 1,0) mol/L, houve redução da estabilidade da espuma.

Em pH 10,0, o aumento da concentração salina de (0,0 a 0,05) mol/L, diminuiu a estabilidade da espuma; já com a elevação do teor de sal, de (0,1 a 0,4) mol/L, a estabilidade da espuma aumentou gradualmente (Tabela 1 e Figura 3). Esse comportamento pode ser atribuído ao fato que a adição de NaCl, em uma concentração de (0,1 até 0,4) mol/L, diminui a interação proteína-água e aumenta as interações hidrofóbicas entre as proteínas. Nessas condições, os íons salinos capturam as moléculas de água que solvatam as moléculas de proteínas, diminuindo a quantidade de água de hidratação das proteínas e aumentando as interações entre as moléculas de proteínas adsorvidas na interface ar-água. A formação de filmes interfaciais envolve a difusão das moléculas protéicas na solução, a sua posterior adsorção e, por último, o seu desenovelamento e rearranjo na interface ar-água. A fração que ocupa a fase aquosa forma voltas e caudas organizadas tridimensionalmente, que em contato com as moléculas vizinhas dão origem a formação de filmes contínuos e coesos (Nunes, 2003). Na maior concentração de NaCl estudada, 0,6 mol/L, a estabilidade da espuma diminuiu, provavelmente, devido à desnaturação das proteínas em alta concentração de sal. A desnaturação é causada por todos os agentes que rompem as ligações de hidrogênio, ligações iônicas ou hidrofóbicas e ligações de enxofre, ou seja, pela alteração de pH, pelo aumento da tensão interfacial, pela adição de sal, pelo calor, dentre outros fatores (Beliz e Grosch, 1997).

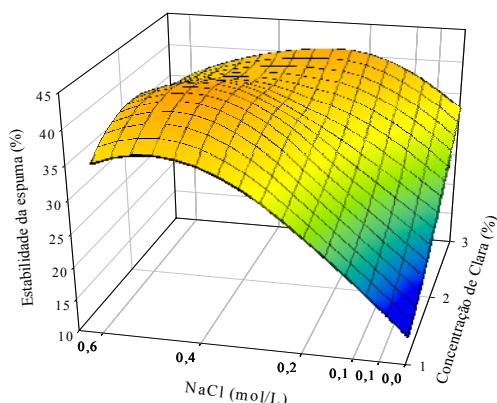


Figura 1. Estabilidade da espuma da clara do ovo de codorna no pH 3,0 em função da concentração de NaCl e clara.

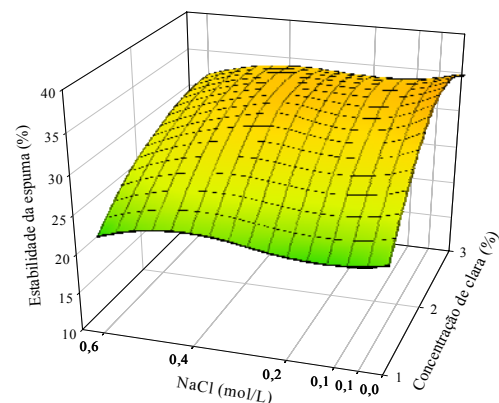


Figura 2. Estabilidade da espuma da clara do ovo de codorna no pH 6,2 em função da concentração de NaCl e clara.

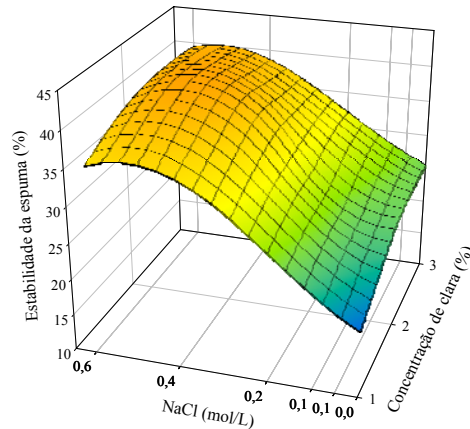


Figura 3. Estabilidade da espuma da clara do ovo de codorna no pH 10,0 em função da concentração de NaCl e clara.

As Figuras 4 e 5 apresentam os resultados da influência de NaCl sobre a estabilidade da espuma. O comportamento da estabilidade da espuma na presença de NaCl foi diferente da estabilidade na ausência de sal, e ambos foram dependentes do pH. As propriedades espumantes do albúmen são afetadas por vários fatores, como concentração de proteína, composição da proteína, pH, concentração salina, interações intermoleculares, os quais podem alterar a configuração e estabilidade das moléculas protéicas (Kinsella, 1984; Du et al., 2002). Essas mudanças podem afetar a formação do filme e suas propriedades na interface, e assim alterar as propriedades espumantes (Du et al., 2002).

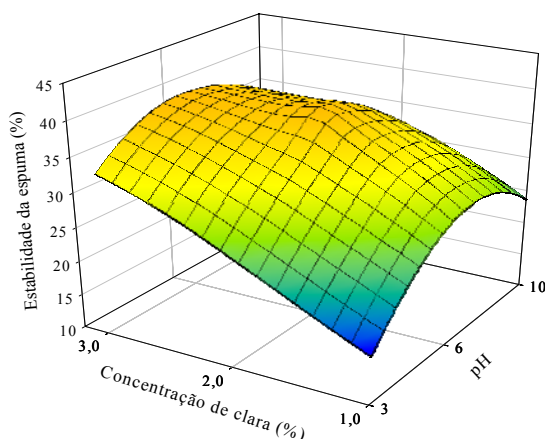


Figura 4. Estabilidade da espuma da clara do ovo de codorna a 0 mol/L de NaCl em função da concentração de clara e pH.

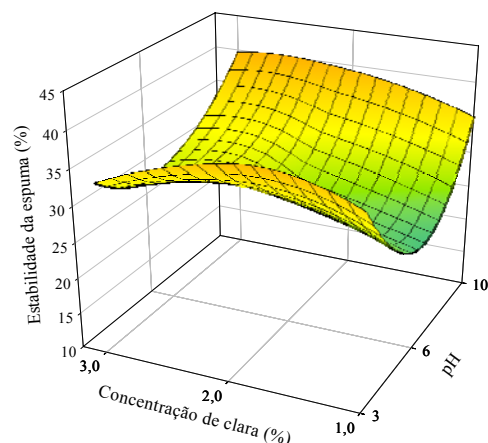


Figura 5. Estabilidade da espuma da clara do ovo de codorna a 0,6 mol/L de NaCl em função da concentração de clara e pH.

Na ausência de sal, os menores valores de estabilidade foram observados no pH 3,0 e 10,0; e, na presença de sal, esses valores de pH levaram a maior estabilidade (Figuras 4 e 5). Esse fenômeno deve-se à influência do pH sobre cargas líquidas da proteína. A mudança de pH altera a distribuição de sítios polares catiônicos, aniônicos e não-iônicos na molécula de proteína, os quais afetam as interações água-proteína e proteína-proteína (Araújo, 2004).

3.2 Expansão da espuma

Os dados de expansão da espuma da clara do ovo de codorna, em função do conteúdo de clara, pH e concentração de NaCl estão apresentados na Tabela 2 e nas Figuras de 6 a 8.

Tabela 2. Expansão da espuma (%) clara do ovo de codorna em função do pH, do conteúdo de clara e concentração salina.

1 %Clara NaCl (mol/L)	pH		
	3,0	6,2	10,0
0	542,7 ± 18,2	523,5 ± 12,2	419,4 ± 21,4
0,05	592,4 ± 12,1	546,0 ± 17,0	662,2 ± 13,3
0,1	540,3 ± 15,3	557,5 ± 16,9	646,7 ± 14,9
0,2	494,6 ± 6,60	429,2 ± 10,6	431,0 ± 5,70
0,4	385,0 ± 10,5	405,7 ± 13,6	430,6 ± 15,5
0,6	296,9 ± 9,10	379,0 ± 15,3	400,1 ± 19,0
2 %Clara NaCl (mol/L)	pH		
	3,0	6,2	10,0
0	273,3 ± 25,7	493,6 ± 13,5	435,0 ± 29,7
0,05	391,5 ± 15,6	536,9 ± 7,20	596,1 ± 18,8
0,1	364,5 ± 20,4	524,4 ± 14,7	564,6 ± 12,2
0,2	268,3 ± 11,3	419,6 ± 28,5	437,4 ± 9,80
0,4	253,3 ± 8,90	363,4 ± 12,3	355,0 ± 10,4
0,6	276,1 ± 10,1	339,7 ± 6,20	335,7 ± 11,4
3 % Clara NaCl (mol/L)	pH		
	3,0	6,2	10,0
0	271,1 ± 18,1	371,4 ± 14,8	514,1 ± 13,6
0,05	389,0 ± 20,5	390,2 ± 9,70	543,6 ± 14,7
0,1	334,8 ± 14,5	362,5 ± 11,2	517,7 ± 7,30
0,2	248,6 ± 12,7	342,6 ± 21,6	506,8 ± 6,30
0,4	231,2 ± 9,80	336,7 ± 19,4	467,8 ± 15,4
0,6	227,1 ± 13,4	311,5 ± 7,60	422,4 ± 17,1

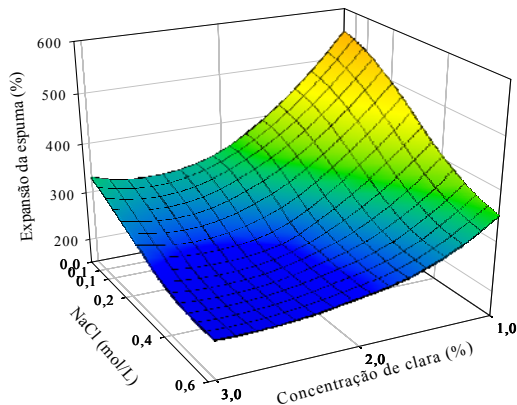


Figura 6. Expansão da espuma da clara do ovo de codorna no pH 3,0 em função do conteúdo de clara e NaCl.

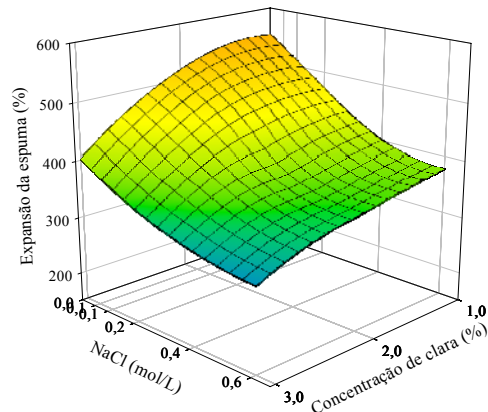


Figura 7. Expansão da espuma da clara do ovo de codorna no pH 6,2 em função do conteúdo de clara e NaCl.

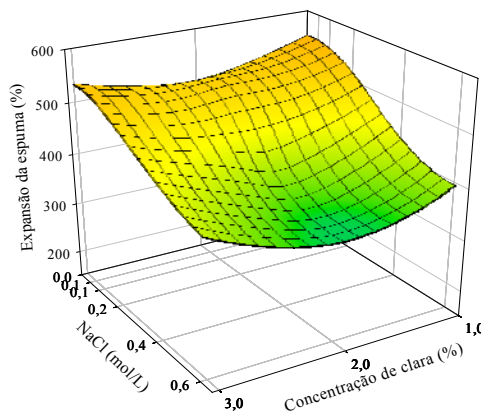


Figura 3. Expansão da espuma da clara do ovo de codorna no pH 10,0 em função do conteúdo de clara e NaCl.

Os dados de expansão da espuma variaram ($P < 0,05$) em função dos níveis de pH, concentração de clara e sal, com interação significativa entre os níveis de pH e concentração de clara; e, pH e concentração de sal. Em pH 3,0 e 6,2 a expansão da espuma diminuiu com a elevação da concentração de clara (Tabela 2). Lawal (2004) estudando a capacidade espumante de isolado protéico de feijão, observou um comportamento diferente, onde a capacidade espumante aumentou com a elevação da concentração de proteína da suspensão protéica. Britten e Lavoie (1992) constataram que a expansão da espuma aumenta com a elevação da concentração de clara até um valor crítico, acima desse ponto a expansão da espuma diminuiu para as três proteínas estudadas (caseína, isolado protéico do soro e ovalbumina), devido à diminuição da solubilidade protéica. Este comportamento é atribuído ao aumento da viscosidade do meio, permitindo uma menor incorporação de ar (Raikos, et al., 2007).

Em todos os valores de pH, a elevação da concentração salina, de (0,0 a 0,05) mol/L, aumentou a expansão da espuma. Um aumento posterior na concentração salina, de (0,1 a 0,6) mol/L, levou à redução da expansão (Tabela 2). A adição de sal até 0,05 mol/L aumenta a solvatação dos segmentos desenovelados das moléculas de proteínas adsorvidas na interface ar/água, aumentando as interações água-proteína. Assim, as forças repulsivas entre as moléculas de proteínas adsorvidas são aumentadas, o que diminui a resistência dos filmes e facilita a incorporação de ar. Normalmente os sais reduzem a viscosidade da superfície e a rigidez dos filmes protéicos, devido ao enfraquecimento das interações peptídicas. Assim, aumenta a taxa de expansão do volume da espuma de certas proteínas (Altschul e Wilcks, 1985). A adição de NaCl na concentração de 0,1 mol/L é suficiente para diminuir a carga líquida das proteínas, o que intensifica as interações hidrofóbicas e reduz a flexibilidade das proteínas do filme. Isto dificulta a rápida difusão das proteínas na interface ar-água, diminuindo a encapsulação das partículas do ar na dispersão protéica e levando à redução da formação de espuma. A presença de NaCl diminui a carga da proteína, afeta as ligações de hidrogênio e aumenta as interações hidrofóbicas (Linden e Lorient, 1996). Sais em concentrações adequadas ajudam na capacidade espumante, presumivelmente por auxiliar a difusão e expansão da interface, mas o elevado nível de sal pode reduzir o volume da espuma (Altschul e Wilcks, 1985).

Um modelo polinomial, Eq. (3), foi usado para ajuste dos dados de Estabilidade da espuma (ES) da clara do ovo de codorna:

$$ES = a + b Cc + c Cs - d Cc pH + e Cs pH - f Cc Cs \quad (3)$$

Onde, Cc é o conteúdo protéico da clara (%), Cs é a concentração de NaCl (mol/L), pH e o valor de pH e $a - f$ são os coeficientes da equação estimada.

Outro modelo polinomial, Eq. (4), foi usado para ajuste dos dados de Expansão da espuma (E) da clara do ovo de codorna:

$$E = a - b Cc - c Cs + d pH Cc \quad (4)$$

Onde, Cc é o conteúdo protéico da clara (%), Cs é a concentração de NaCl (mol/L), pH e o valor de pH e $a-d$ são os parâmetros da regressão ajustada.

A Tabela 3 apresenta as estimativas dos coeficientes para equações 3 e 4, respectivamente.

Os modelos propostos pelas Equações 3 e 4 foram significativos ($P < 0,0001$) para explicar a estabilidade e expansão da clara do ovo de codorna em função do valor de pH; conteúdo de clara e concentração de sal, apresentando um valor de R^2 acima de 0,5 e 0,6, respectivamente.

Tabela 3. Coeficientes da Eq. (3) e Eq. (4)

Equação	a	b	c	d	e	f	R²	Pr
Eq. (3)	12,16	9,17	29,38	0,32	1,67	11,95	0,50	< 0,0001
Eq. (4)	527,39	103,84	201,01	9,83	–	–	0,61	< 0,0001

4. CONCLUSÃO

A capacidade das proteínas em formar e estabilizar espumas é importante para muitas aplicações em alimentos. As proteínas da clara do ovo são amplamente utilizadas na indústria de alimentos. Uma série de fatores, isolados ou combinados, podem influenciar nas características espumante do albúmen. Todos os fatores envolvidos no estudo (concentração de clara, pH, concentração salina) tiveram um impacto significativo sobre a expansão da espuma, exceto o pH para estabilidade da espuma. O maior valor de estabilidade (41 %) foi apresentada na concentração de 2 % de clara em pH 10,0 a 0,4 mol/L de NaCl e no pH 3,0 a 0,6 mol/L de NaCl. O maior valor da expansão (662,2 %) da clara foi encontrado na concentração de clara de 1 % em pH 10,0 a 0,05 mol/L de NaCl. A expansão da espuma foi prejudicada pelo aumento excessivo de clara e sal. A estabilidade da espuma aumentou com a elevação do conteúdo protéico da clara e apresentou comportamentos diferentes com aumento da concentração salina em todos os valores de pH estudados.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adebowale, K. O.; Lawal, O. S. Foaming, gelation and electrophoretic characteristics of mucuna bean (*Mucuna pruriens*) protein concentrates. **Food Chem.**, v. 83, p. 237-246, 2003.

- Altschul, A. M.; Wilke, H. L. New Protein Foods. **Food Sci. and Technology**. Orlando, FL: Academic Press. 1985.
- Aluko, R.; Yada, R. Y. Structure-function relationships of cowpea (*Vigna unguiculata*) globulin isolate: influence of pH and NaCl on physicochemical and functional properties. **Food Chem.**, v. 53, p. 259-265, 1995.
- Araújo, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 3.ed. Viçosa: UFV. p. 478, 2004.
- Belitz, H. D; Grosch, W. **Química de los alimentos**. 2º ed. Zaragoza: E. Acribia. 1087, 1997.
- Borderías, A. J.; Montero, P. Fundamentos de la funcionalidad de las proteínas en alimentos. **Rev. Agroquímica y Tecnol. Alim.**, Valencia, v. 28, n. 2, p. 159-169. 1988.
- Britten, M.; Lavoie, L. Foaming properties of proteins as affected by concentration. **J. Food Sci.**, v. 57, p. 1219-1222, 1992.
- Campbell, G. M.; Mougeot, E. Creation and characterisation of aerated food products. **Trends Food Sci. Technol.** v. 10, p. 283-286, 1999.
- Cândido, L. M. B. **Obtenção de concentrados e hidrolisados protéicos de Tilápia do Nilo (*Oreochromus niloticus*): Composição, propriedades nutritivas e funcionais**. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. p. 207, 1998.
- Cheftel, J. C.; Cuq, J. L.; Lorient, D. **Proteínas alimentarias**. Zaragoza: Editorial Acribia. p. 346, 1989.
- Cherry. J. P.; McWaaers, K. H. **Whippability and aeration. Protein Functionality in Foods**. J. P. Cherry. ed. Am. Chem. Soc. Washington, Dc, 1981.
- Du, L.; Prokop, A.; Tanner, R. D. Effect of denaturation by preheating on the foam fractionation behavior of ovalbumin. **J. of Colloid and Interface Sci.**, v. 248, p. 487-492, 2002.
- Elizalde, B.E.; Giaccaglia, G.; Pilosof, A.M.R. and Bartholamai, G.B. Kinetics of Liquid Drainage from Protein-Stabilized Foams. **J. Food Sci.**, v. 56, p. 24, 1991.
- Foegeding, E. A.; Luck, P. J.; Davis, J. P. Factors determining the physical properties of protein foams. **Food Hydrocolloids**, v. 20, n. 2-3, p. 284-292, 2006.
- Halling, P. J. Protein-stabilized foams and emulsions. **Crit. Rev. in Food Sci. and Nutr.**, Boca Raton: CRC Press, v. 157, n. 2, p. 155-203, 1981.

- Huang, Y.T.; Kinsella, J.E. Effects of Phosphorylation on Emulsifying and Foaming Properties and Digestibility of Yeast Protein. **J. Food Sci.**, v. 52, p. 1684, 1987.
- Huang, Y.T.; Kinsella, J.E. Functional properties of phosphorylated yeast protein: solubility, water-holding capacity, and viscosity. **J. Agric. Food Chem.**, v. 34, p. 670, 1986.
- Johnson, T.; Zabik, M. Egg albumen proteins interactions in angel food cake system. **J. Food Sci.** v. 46, p. 1231, 1981.
- Kinsella, J. E. (1984). Milk proteins: Physicochemical and functional properties. **Crit. Rev. in Food Sci. and Nutr.**, v. 21, p. 197-262, 1984.
- Kinsella, J. E. Funcional properties in foods: a survey. **Crit. Rev. in Food Sci. and Nutr.**, v.7, n. 3, p.219-280, 1976.
- Kinsella, J. E. Functional properties of soy proteins. **J. of American Oil Chemists' Society**, v. 56, p. 242-258, 1979.
- Lawal, O. S. Functionality of African locust bean (*Parkia biglobossa*) protein isolate: effects of pH, ionic strength and various protein concentrations. **Food Chem.**, v. 86, p. 345-355, 2004.
- Lawal, O.S.; Adebawale, K.O.; Ogunsanwo, B.M.; Sosanwo, O.A.; Bankole, S.A. On the functional properties of globulin and albumin protein fractions and flours of African locust bean (*Parkia biglobossa*). **Food Chem.**, v. 92, p. 681-691, 2005.
- Linden, G.; Lorient, D. Bioquímica agroindustrial. 1.ed. Zaragoza: Editorial Acribia, S.A. 1996.
- Mohan, C. **Buffers: A Guide for the Preparation and Use of Buffers in Biological Systems**. Calbiochem - EMD, San Diego, CA. p. 38, 1995.
- Mwasaru, M. A.; Muhammed, K.; Bakar, F.; CheMan, Y. B. Influence of altered solvent environment on the functionality of pigeon pea (*Cajanus cajan*) and cowpea (*Vigna unguiculata*) protein isolates. **Food Chem.**, v. 71, p. 157-165, 2000.
- Nunes, M. C. Propriedades Funcionais das proteínas. In: Castro, A. G. **A química e a reologia no processamento dos alimentos**. Lisboa: Ciência e Técnica. p. 295, 2003.
- Patino, J.M.R.; Delgado, M.D.N.; Fernández, J.A.L. Stability and mechanical strength of aqueous foams containing food proteins. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Eng. Aspects**, v. 99 p. 65-78, 1995.
- Philips, L. G.; Yang, S. T.; Kinsella, J. E. Neutral salts effect on stability of whey protein isolate foams. **J. of Food Sci.**, v. 56, p. 588-589, 1991.

- Prins, A. Principles of foam stability. In: Dickinson, E.; Stainsby, G. (Eds.), **Advances in food emulsions and foams**. New York: Elsevier Science Publishing Co. Inc., p. 91–222, 1988.
- Raikos, V.; Campbell, L.; Euston, S. R. Effects of sucrose and sodium chloride on foaming properties of egg white proteins. **Food Res. Intern.**, v. 40 p.347-355, 2007.
- Raymundo, A.; Empia, J.; Sousa, I. Method to evaluate foaming performance. **J. of Food Eng.**, v. 36, p. 445-452, 1998.
- SAS INSTITUTE, INC. 1999. *SAS/STAT User's Guide Release 6.03*, Cary, NC.
- Sgarbieri, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos**. 1.ed. São Paulo: Varela, p 517, 1996.
- Townsend, A. A.; Nakai, S. Relationships between hydrophobicity and foaming characteristics of food proteins. **J. Food Sci.**, v. 48, p. 588-594, 1983.
- Wanniska, R.D.; Kinsella, J.E. Foaming properties of proteins: evaluation of a column aeration apparatus using ovalbumin. **J. Food Sci.**, v. 44, p. 1398-1411, 1979.
- Wilde, P. J.; Clark, D. C. Foam formation and stability. In: HALL, G.M. **Methods of testing protein functionality**. 1. ed. London: Chapman e Hall. p.76-109, 1996
- Wright, D. J.; Hemmant, J. W. Foaming properties of protein solutions: Comparison of large-scale whipping and conductimetric methods. **J. of the Sci. of Food and Agriculture**, v.41, p.361-371, 1987.
- Zhang, Z.; Dalgleish, D.G.; Goff, H.D. Effect of pH and ionic strength on competitive protein adsorption to air/water interfaces in aqueous foams made with mixed milk proteins. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 34, p. 113-121, 2004.

CAPÍTULO 4 - PERFIL DO GEL DA CLARA DO OVO DE CODORNA (*Coturnix coturnix japonica*) EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CLARA, pH E CONCENTRAÇÃO SALINA

RESUMO

A formação de gel ou gelificação de proteínas é uma propriedade funcional térmica de ampla utilização em alimentos formulados, por conferir-lhes estrutura e estabilidade. O presente trabalho objetivou-se estudar a influência da concentração de clara, pH, e concentração de NaCl sob as propriedades de gelificação da clara do ovo de codorna (*Coturnix coturnix japonica*). O experimento fatorial foi realizado em três níveis de concentração de clara (7, 10, 13 %), três níveis de pH (3,0; 6,2; 10,0), e quatro níveis de concentração salina (0; 0,2; 0,4; 0,6 mol/L), no delineamento inteiramente casualizado, com duas repetições. Modelos polinomiais foram ajustados para explicar a variância da elasticidade, força de compressão e quantidade de água exsudada do gel em função dos efeitos de pH, concentração de clara e NaCl, apresentando valor de R^2 de 0,85; 0,90 e 0,94, respectivamente. Devido à clara ser um sistema complexo constituído de várias proteínas, as características dessa funcionalidade são os resultados das interações de propriedades das várias proteínas que a constituem. A elasticidade, força de compressão e quantidade de água exsudada do gel foram influenciadas ($P < 0,05$) pela concentração de clara, pH e concentração salina. O pH 10,0 apresentou a melhor textura, com a maior força de compressão, elasticidade e a menor quantidade de água exsudada. A adição de sal desestabiliza a estrutura da matriz do gel e o aumento da concentração de clara intensifica as interações, fortalecendo a sua estrutura.

Palavras-chave: proteínas da clara, textura, elasticidade, retenção de água, *Coturnix coturnix japonica*.

1. INTRODUÇÃO

A gelificação das proteínas do ovo, induzida pelo calor, desempenha um papel fundamental na determinação da textura e propriedades reológicas de produtos como

bolos, cremes a base de ovo, pudins, salsichas, etc. (Clark et al., 2001). A gelificação ocorre quando as moléculas desnaturadas pelo calor se agregam para formar uma rede protéica orientada. Géis de proteína são considerados um sistema bifásico, constituído por uma rede tridimensional sólida, retendo na sua malha uma fase líquida (Matsumura e Mori, 1996). Esta propriedade funcional é importante no desenvolvimento de novos produtos alimentícios que utilizam exclusivamente a clara do ovo (Holt et al., 1984, Hargett et al., 1982).

A formação de gel, ou gelificação de proteínas, é uma propriedade funcional térmica de ampla utilização em alimentos formulados. Na gelificação a interação proteína-proteína, interação proteína-água e as forças de atração-repulsão cruzadas estabelecidas entre as cadeias polipeptídicas desnaturadas, devem estar balanceadas de maneira a permitir a formação de uma rede ou matriz protéica tridimensional contínua, capaz de reter grande quantidade de água (Lourenço, 2000; Zayas, 1997).

A integridade física do gel é mantida pelo contrabalanceamento das forças de atração e repulsão entre as moléculas de proteína e destas com o solvente circundante (Ziegler e Foegeding, 1990). O balanço é dependente do pH e das forças atrativas que podem envolver associações hidrofóbicas, atrações eletrostáticas, ligações de hidrogênio e ligações dissulfídricas (Kinsella, 1976).

Os tipos e as propriedades de géis são sensíveis a vários fatores, como concentração de proteína, tipo de proteína, temperatura de aquecimento, pH da solução, tipo de sal, concentração salina e interação com outros componentes (Mulvihill e Kinsella, 1988; Hermansson, 1982; Yasuda et al., 1986). Por exemplo, o pH e a concentração salina da solução de proteína podem alterar a distribuição de cargas das cadeias laterais dos aminoácidos, diminuindo ou aumentando a interação proteína-proteína (Raikos et al., 2007).

É comum a adição de sal em produtos na indústria alimentícia, no entanto, é necessário conhecer seus efeitos na gelificação de proteínas. As interações do sal com as proteínas afetam a textura do produto final (Donovan, 1977).

Estudos reológicos e texturais de proteínas de ovo de galinha (Watanabe et al., 1986; Hickson et al., 1982; Raikos et al., 2007; Kalkani et al., 2007) e géis das proteínas da clara de ovo de galinha (Choi et al., 2000; Croguennec et al., 2002; Handa et al., 1998; Mine, 1996; Weijers et al., 2002; Holt et al., 1984) têm descrito a influência do pH e da concentração de sal sobre o processo de gelificação. No entanto, não foram encontradas referências de investigações dos efeitos combinados do pH, concentração

protéica de clara e de sal nas propriedades de gelificação da clara do ovo de codorna. Assim, o objetivou-se neste trabalho avaliar a influência do pH, concentração de clara e de sal sobre as propriedades de gelificação da clara do ovo de codorna.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

Os ovos utilizados no experimento foram obtidos do Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa - MG (UFV), da criação de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*). Para obtenção da clara do ovo, esta foi separada manualmente, congelada e liofilizada (Edwards L5KR, USA). Os experimentos foram realizados empregando água deionizada (Milli-Q, Millipore Inc., USA) e reagentes de grau analítico.

2.2 Métodos

2.2.1 Determinação da capacidade de formação de gel

A capacidade de formação de gel foi avaliada segundo a metodologia estabelecida por Paraskevopoulou et al. (2003) com algumas modificações. Os dados foram obtidos em função da concentração de clara (7, 10 e 13 % m/v), em diferentes valores de pH (3,0; 6,2 e 10,0) nas concentrações salinas de NaCl (0; 0,2; 0,4 e 0,6 mol/L). Os tampões utilizados foram Glicina – HCl (pH 3,0), Citrato – Acido Cítrico (pH 6,2) e Carbonato-Bicarbonato (pH 10,0), segundo Mohan (1995).

O gel foi obtido pela adição de clara ao tampão, já contendo o sal nas concentrações definidas. As amostras foram agitadas durante 1 hora, em um dispositivo que simula um tanque agitador MASTERFLEX L/S™ (Cole-Parmer Instrument Company) com rotação de 14 rpm, a 25 °C e levadas ao Ultra-som (Branson, modelo 1510R-MT, USA) por 10 minutos para desaeração das amostras. As amostras foram transferidas para tubos de 2 cm de diâmetro com ausência de espuma. Em seguida, foram aquecidas em banho-maria a 80 °C por 1 hora e resfriadas até 25 °C. A medida da capacidade de formação de gel foi conduzida em função da elasticidade e força de

compressão do gel, obtidas no aparelho Universal de Teste Instron, modelo 3367 (Instron Corporation, MA). Foi utilizado uma êmbolo de 7 mm de diâmetro com uma velocidade de penetração no gel de 100 mm/min e com uma distância de penetração de 20 mm no gel.

2.2.2 Determinação da capacidade de retenção de água do gel

A capacidade de retenção de água do gel, que consiste na quantidade de líquido expelido de um sistema protéico pela aplicação de uma força centrífuga, foi avaliada pela quantidade de água exsudada, segundo a metodologia proposta por Jauregui et al., (1981) com algumas modificações. As amostras de gel ($1g \pm 0,5 g$) foram pesadas em papel filtro e centrifugadas (centrífuga 5804, EPPENDORF, Alemanha) a 120 g por 5 minutos a temperatura ambiente. A porcentagem de água exsudada foi calculada através da diferença entre a massa do papel de filtro seco e úmido. A quantidade de água exsudada dos géis foi calculada pela equação (1):

$$\% \text{ Água exsudada} = \frac{(AL \times 100)}{PG} \quad (1)$$

Onde, AL é a massa (g) de água liberada do gel e PG é a massa (G) do gel.

2.2.3 Análise Estatística

Os experimentos foram conduzidos partindo de um delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial com três valores de pH, quatro concentrações de sal e três concentrações de clara, constituído de 36 tratamentos e duas repetições, totalizando 72 unidades experimentais. Os dados experimentais foram analisados usando o procedimento PROC GLM do software estatístico SAS (SAS versão 9,0, Cary, NC, SAS Institute, Inc., 1999). A confiabilidade da equação do modelo polinomial obtido foi avaliada utilizando o coeficiente de determinação R^2 , o resultado das análises de variância (ANOVA) e o nível de significância estatístico pelo

teste de Fisher (F, $p < 0,05$). Os níveis de significância dos coeficientes da regressão foram obtidos pelo teste t de Student ($p < 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Elasticidade do gel

Os dados de elasticidade do gel da clara do ovo de codorna, em função da concentração de clara, pH e concentração de NaCl estão apresentados na Tabela 1 e nas Figuras de 1 a 5. Os valores de estabilidade variaram ($P < 0,05$) em função da concentração de clara, dos níveis de pH e da concentração salina estudados, com interação tripla significativa ($P < 0,05$), que evidencia a interdependência entre os fatores estudados.

Tabela 1. Elasticidade do gel (N/m^2) da clara do ovo de codorna em função do pH, concentração de clara e concentração salina

7 % Clara		pH			
NaCl (mol/L)		3,0	6,2	10,0	
0	1,18	$\pm 0,20$	1,28	$\pm 0,67$	5,31 $\pm 0,05$
0,2	2,81	$\pm 0,03$	0,64	$\pm 0,01$	13,89 $\pm 0,71$
0,4	2,81	$\pm 1,02$	0,67	$\pm 0,05$	9,26 $\pm 0,99$
0,6	1,55	$\pm 0,21$	0,55	$\pm 0,01$	6,07 $\pm 1,69$
10 % Clara		pH			
NaCl (mol/L)		3,0	6,2	10,0	
0	5,07	$\pm 0,98$	3,72	$\pm 1,72$	32,35 $\pm 2,48$
0,2	3,99	$\pm 0,36$	3,92	$\pm 3,01$	34,77 $\pm 3,58$
0,4	4,42	$\pm 0,45$	1,52	$\pm 0,05$	18,49 $\pm 0,15$
0,6	3,58	$\pm 0,71$	1,42	$\pm 0,07$	15,78 $\pm 0,05$
13 % Clara		pH			
NaCl (mol/L)		3,0	6,2	10,0	
0	7,99	$\pm 1,84$	4,81	$\pm 0,77$	65,43 $\pm 0,98$
0,2	7,33	$\pm 0,87$	3,63	$\pm 0,19$	47,41 $\pm 3,01$
0,4	7,82	$\pm 1,76$	3,67	$\pm 0,38$	37,00 $\pm 1,43$
0,6	7,49	$\pm 0,13$	3,44	$\pm 0,10$	16,19 $\pm 1,34$

As Figuras de 1 a 3, apresentam os perfis da elasticidade dos géis para todos os valores de pH estudados. Observou que para todos os pH um comportamento diferenciado na elasticidade do gel com o aumento da concentração de NaCl. O pH e a

concentração salina podem alterar a distribuição das cargas entre as cadeias laterais das proteínas causando aumento ou diminuição das interações proteína-proteína. A grandeza dessas interações afeta as propriedades do gel (Gosset et al., 1984; Raikos et al., 2007).

Em pH 3,0, com a elevação da concentração de sal para 0,2 mol/L a elasticidade diminuiu de 7% a 13 % de clara; e, aumentou na concentração salina de 0,4 mol/L. Após o incremento acima da concentração salina de 0,4 mol/L a elasticidade reduziu novamente (Tabela 1). As propriedades de gelificação também dependem da concentração e do tipo de sal em estudo (Oshodi e Ojokan, 1997). A funcionalidade da proteína é resultante das interações entre proteína-proteína e proteínas-solvente (água), sais (íons), e de outros componentes presentes nos alimentos (Xiong, 1992). Presumivelmente, as estruturas de proteínas desenoveladas (desnaturação) causam a exposição de grupos reativos, procede da associação proteína-proteína para formar grandes agregados protéicos (Schmidt, 1981).

No pH 6,2, na concentração de clara de 10 %, com o incremento da concentração de NaCl até 0,2 mol/L a elasticidade do gel da clara aumentou. Em concentrações salinas acima de 0,4 mol/L a elasticidade reduziu. Nas concentrações de clara de (7 e 13 % m/v), em geral a elasticidade diminuiu com a elevação da concentração de NaCl, exceto na concentração de 0,4 mol/L, cuja elasticidade teve um pequeno aumento (Tabela 1). O incremento inicial da concentração salina, até o limite de 0,2 mol/L, facilita o surgimento do efeito de blindagem sobre as cargas da superfície; essa blindagem reduz as forças de repulsão entre as moléculas protéicas, criando uma situação idêntica à da região isoelétrica, na qual um posterior aumento na concentração salina do gel provoca uma diminuição no processo de desenovelamento da proteína. Observação semelhante foi feita para as proteínas do soro de leite (Boye et al., 1995; Lawal, 2004)

Em pH 10,0, nas concentrações de (7 e 10 % m/v) de clara, a elevação na concentração de NaCl em 0,2 mol/L aumentou a elasticidade do gel. Em concentrações superiores a 0,2 mol/L, ou seja, entre (0,4 e 0,6 mol/L) de NaCl, a elasticidade diminuiu. Nesse valor de pH, na concentração de 13 % (m/v) de clara, a elasticidade do gel decresceu com o incremento da concentração salina (Tabela 1).

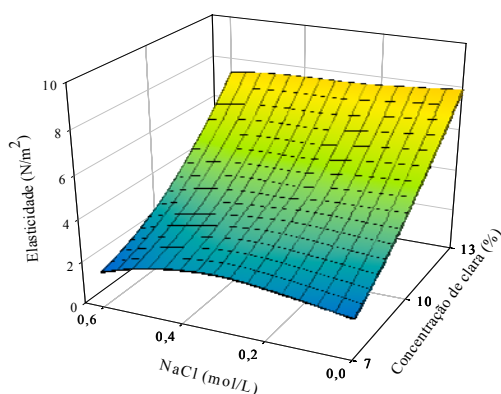


Figura 4. Elasticidade do gel da clara do ovo de codorna no pH 3,0 em função da concentração de clara e NaCl.

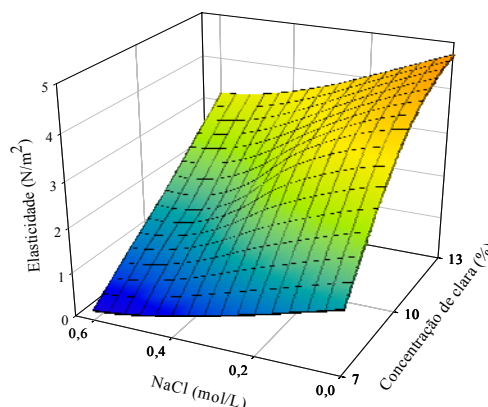


Figura 5. Elasticidade do gel da clara do ovo de codorna no pH 6,2 em função da concentração de clara e NaCl.

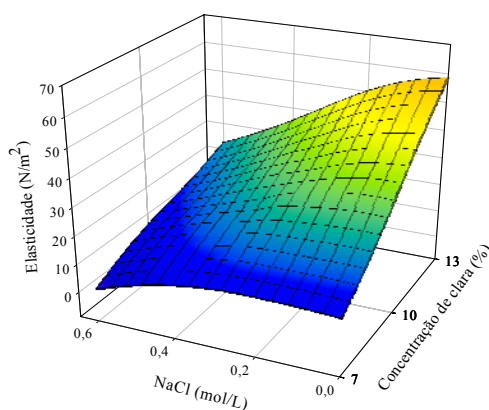


Figura 6. Elasticidade do gel da clara do ovo de codorna no pH 10,0 em função da concentração de clara e NaCl.

As Figuras 4 e 5 apresentam os perfis da elasticidade dos géis para as concentrações de clara (7 e 10 % m/v). Em todos os valores de pH avaliados a elevação da concentração de clara aumentou a elasticidade do gel, indicando que houve um aumento do número de ligações intermoleculares cruzadas na rede do gel (Comfort e Howell, 2002). Comfort e Howell (2002) encontraram resultados semelhantes na gelificação de isolado protéico de soja.

A elasticidade do gel aumentou no pH de valor 10,0, sendo que os maiores valores foram observados nesse pH (Figuras 4 e 5). O incremento da elasticidade é devido à alta solubilidade das proteínas da clara do ovo de codorna nesse pH. De acordo com Lourenço (2000), Zayas (1997) e Damodaran e Paraf (1997), a solubilidade de proteínas é a propriedade funcional que deriva da interação proteína-água, por isso, é

um indicador do potencial de utilização funcional de proteínas, em especial na formação de gel. De acordo com Clark et al. (2001), o pH afeta a natureza das cargas dos aminoácidos da proteína, alterando sua solubilidade e influenciando diretamente a capacidade de formação de gel.

Os menores valores de elasticidade foram encontrados no pH de valor 6,2 (Figuras 4 e 5). A elasticidade dos géis está fortemente relacionada com a formação de ligações de hidrogênio, ligações dissulfídicas, interações hidrofóbicas e eletrostáticas que predominam na rede dos géis, provavelmente nesse pH algumas dessas interações são relativamente inertes, não contribuindo para manutenção da estrutura do gel (Shimada e Cheftel, 1989). Nessa condição, as forças que regem as de interações proteína-proteína são mais fracas. Isto é, o pH, assim como a concentração salina, pode alterar a distribuição das cargas entre as cadeias laterais das proteínas aumentando ou diminuindo as interações proteína-proteína (Gosset et al., 1984).

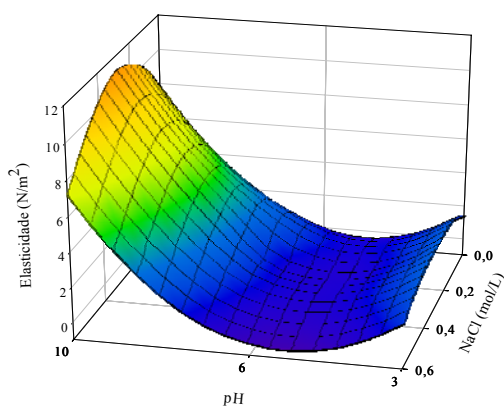


Figura 7. Elasticidade do gel da clara do ovo de codorna na concentração de 7 % de clara em função do pH e concentração de NaCl.

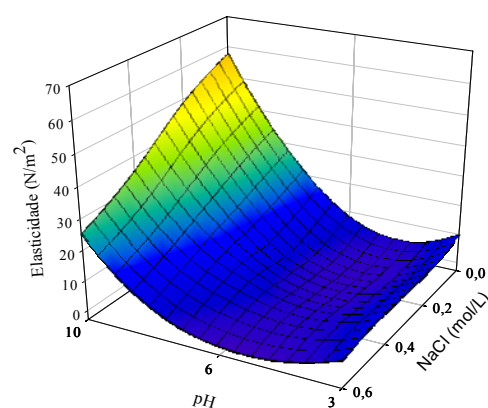


Figura 8. Elasticidade do gel da clara do ovo de codorna na concentração de 13 % de clara em função do pH e concentração de NaCl.

3.2 Força de compressão do gel

Os dados de força de compressão do gel da clara do ovo de codorna, em função da concentração de clara, pH e concentração de NaCl estão apresentados na Tabela 2 e nas Figuras de 6 a 10. Os valores de força de compressão variaram ($P < 0,05$) em função da concentração de clara, dos níveis de pH e das concentrações salinas estudados, com interação tripla ($P < 0,05$), que evidencia a interdependência entre os fatores estudados.

Em geral, nos valores de pH avaliados a força de compressão do gel aumentou progressivamente com elevação da concentração de clara (Figuras de 6 a 8). Nessa condição, provavelmente o maior número de proteínas na fase dispersa levou uma maior formação de agregados intensificando as ligações tridimensionais do gel conferindo-lhe maior resistência. Isto indica aumento do número de ligações intermoleculares cruzadas na rede do gel (Comfort e Howell, 2002). As elevadas concentrações de proteínas facilitam as atrações intermoleculares (proteína-proteína) e a gelificação, devido ao aumento do contato entre as moléculas de proteínas (Fennema, 2000).

Tabela 2. Força de compressão (N) do gel da clara do ovo de codorna em função do pH, concentração de clara e NaCl.

7 % Clara		pH					
NaCl (mol/L)		3,0		6,2		10,0	
0		0,32	±0,07	0,10	±0,02	0,44	±0,03
0,2		0,28	±0,01	0,08	±0,00	0,90	±0,03
0,4		0,21	±0,01	0,07	±0,01	0,58	±0,07
0,6		0,19	±0,02	0,07	±0,01	0,43	±0,02
10 % Clara		pH					
NaCl (mol/L)		3,0		6,2		10,0	
0		0,62	±0,07	0,31	±0,02	2,24	±0,30
0,2		0,51	±0,03	0,30	±0,11	2,22	±0,48
0,4		0,47	±0,01	0,18	±0,02	1,16	±0,09
0,6		0,45	±0,06	0,18	±0,00	1,07	±0,06
13 % Clara		pH					
NaCl (mol/L)		3,0		6,2		10,0	
0		1,11	±0,07	0,62	±0,10	4,25	±0,07
0,2		0,91	±0,09	0,47	±0,03	2,94	±0,71
0,4		0,82	±0,06	0,45	±0,05	2,11	±0,26
0,6		0,96	±0,05	0,43	±0,02	1,97	±0,27

A elevação da concentração de sal diminuiu a força de compressão do gel em todos os pH (Tabela 2). A presença de NaCl diminuiu a hidrofobicidade dos agregados aumentando as forças repulsivas entre as proteínas que passam a interagir menos. Assim, o aumento da concentração de sal reduz as forças de interação entre os agregados de proteínas deixando a matriz do gel menos rígida. Otte et al., (1999) relataram uma redução na firmeza do gel do isolado protéico do soro, com o incremento do teor de NaCl na mistura. Castimpoolas e Meyer (1970) verificaram uma redução nas

propriedades de gelificação da globulina de soja em soluções com alta concentração salina.

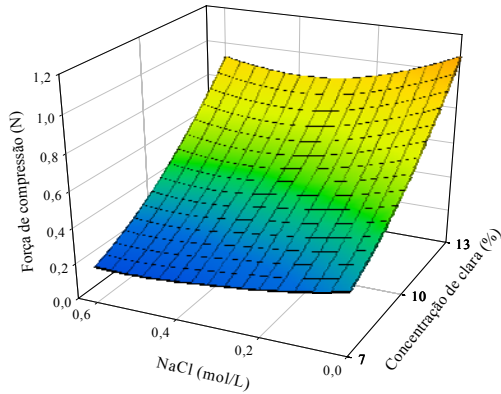


Figura 9. Força de compressão do gel da clara do ovo de codorna no pH 3,0 em função da concentração de clara e NaCl.

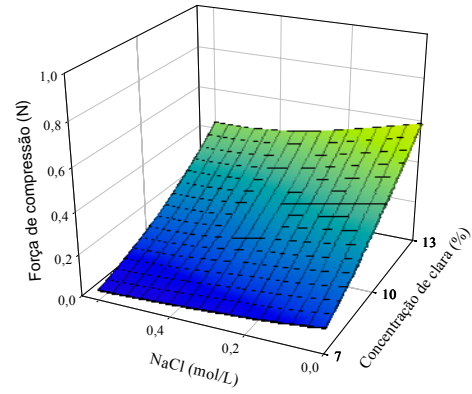


Figura 10. Força de compressão do gel da clara do ovo de codorna no pH 6,2 em função da concentração de clara e NaCl.

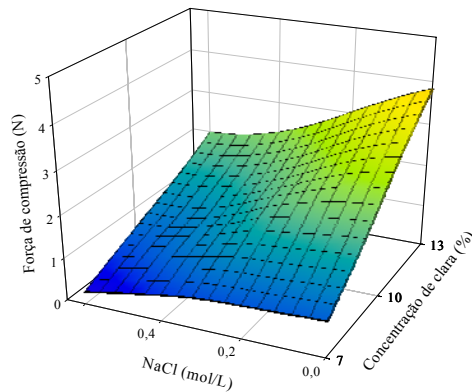


Figura 11. Força de compressão do gel da clara do ovo de codorna no pH 10,0 em função da concentração de clara e NaCl.

Em todos os níveis de concentrações de clara avaliadas, as maiores forças de compressão do gel foram observadas em pH 10, e, as menores em pH 6,2 (Figuras 9 e 10). Em pH 10, as proteínas da clara estão mais solúveis em relação aos valores de pH 3,0 e 6,2. Essa alta solubilidade favorece a formação de um gel mais coeso e resistente, devido à maior interação entre as moléculas de proteínas coaguladas. De acordo com Clark et al. (2001), o pH afeta a natureza das cargas dos aminoácidos da proteína, alterando sua solubilidade e conseqüentemente a capacidade de formação de gel. Diferenças na capacidade de gelificação em valores de pH diversos são resultantes das

prevalências de cargas da superfície das proteínas (Lawal, 2004). De acordo com Lourenço (2000), Zayas (1997) e Damodaran e Paraf (1997), a solubilidade de proteínas é a propriedade funcional que deriva da interação proteína-água, por isso, é um indicador do potencial de utilização funcional de proteínas, em especial na formação de gel.

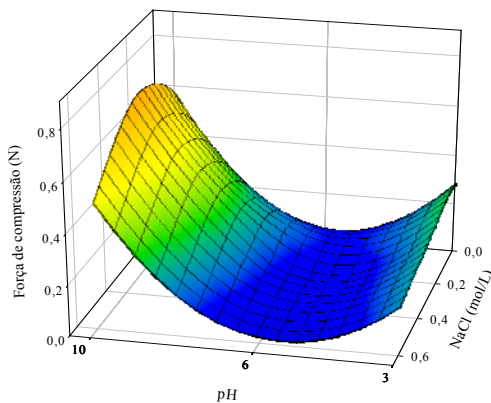


Figura 12. Força de compressão do gel da clara do ovo de codorna com 7 % de clara em função do pH e concentração de NaCl.

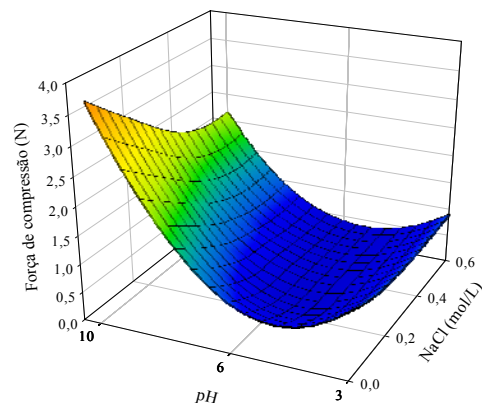


Figura 13. Força de compressão do gel da clara do ovo de codorna com 13 % de clara em função do pH e concentração de NaCl.

3.3 Quantidade de água exsudada do gel

Os dados da quantidade de água exsudada do gel da clara do ovo de codorna, em função do pH, concentração de clara e NaCl estão apresentados na Tabela 3 e nas Figuras 11–14. Os valores da quantidade de água exsudada do variaram ($P < 0,05$) em função da concentração de clara, dos níveis de pH e da concentração salina estudados, com interação dupla ($P < 0,05$) entre os valores de pH e a concentração salina, que evidencia a interdependência entre esse dois fatores.

A quantidade de água exsudada do gel reduziu com o incremento da concentração de clara. Neste caso, a elevação da concentração de proteínas na dispersão aumentou a formação de agregados e as forças intermoleculares foram intensificadas, devido ao maior contato intermolecular. O aumento da concentração de proteínas indica uma elevação do número de ligações intermoleculares cruzadas na rede do gel (Comfort e Howell, 2002).

Em todos os valores de pH estudados a quantidade de água exsudada aumentou com a elevação da concentração de NaCl (Figuras 11 a 13). Nessa condição, a presença de NaCl diminuiu a hidrofobicidade dos agregados aumentando as forças repulsivas entre as proteínas que passam a interagir menos. No entanto, o incremento da concentração de sal reduziu as forças de interação entre os agregados de proteínas deixando a matriz do gel menos rígida e as moléculas de água mais livre.

Tabela 3. Quantidade de água exsudada do gel (%) da clara do ovo de codorna em função do pH, concentração de clara e NaCl.

7 % Clara		pH		
NaCl (mol/L)	3,0	6,2	10,0	
0	43,23 ±3,36	54,97 ±2,89	38,30 ±5,62	
0,2	63,82 ±4,96	64,08 ±0,30	45,10 ±1,95	
0,4	67,51 ±1,74	62,51 ±1,40	51,05 ±1,25	
0,6	69,86 ±5,67	67,80 ±0,08	55,59 ±1,09	
10 % Clara		pH		
NaCl (mol/L)	3,0	6,2	10,0	
0	36,61 ±1,94	39,16 ±0,33	11,13 ±1,10	
0,2	49,53 ±1,27	47,72 ±2,40	25,65 ±5,13	
0,4	56,51 ±2,69	48,42 ±0,69	37,27 ±5,84	
0,6	55,86 ±3,82	53,59 ±0,38	45,06 ±1,88	
13 % Clara		pH		
NaCl (mol/L)	3,0	6,2	10,0	
0	25,59 ±5,54	26,75 ±1,21	7,67 ±1,36	
0,2	31,24 ±4,92	36,47 ±0,10	14,63 ±1,28	
0,4	37,41 ±2,68	40,62 ±0,91	24,62 ±2,34	
0,6	44,29 ±1,21	39,34 ±5,53	26,26 ±0,60	

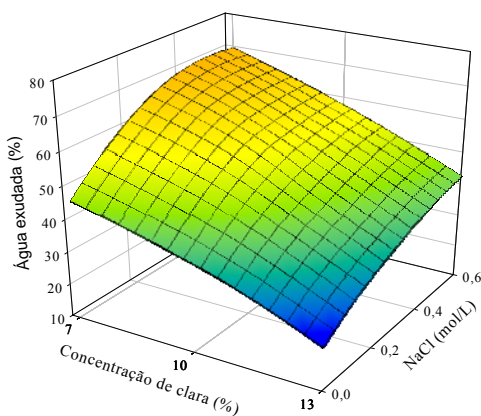


Figura 14. Água exsudada do gel da clara do ovo de codorna no pH 3,0 em função da concentração de clara e NaCl.

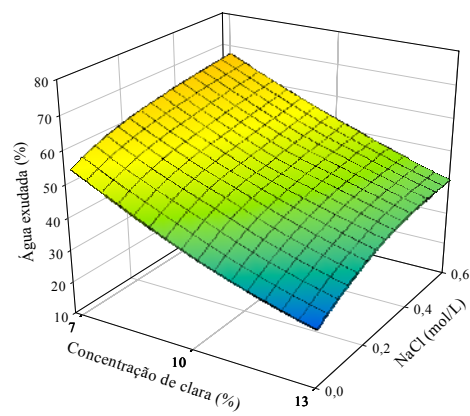


Figura 15. Água exsudada do gel da clara do ovo de codorna no pH 6,2 em função da concentração de clara e NaCl.

Em todas as concentrações de clara avaliadas as menores quantidades de água exsudada do gel foram observadas no pH 10,0 e as maiores no pH 6,2 (Figura 14). Esse comportamento é semelhante ao comportamento da força de compressão do gel. Indicando que o gel formado pelas proteínas da clara do ovo de codorna possui uma maior resistência em pH 10,0 e uma menor resistência no pH 6,2. A mudança de pH altera a distribuição de sítios polares catiônicos, aniônicos e não-iônicos na molécula de proteína, o que afeta as interações água-proteína e proteína-proteína (Fennema, 2000).

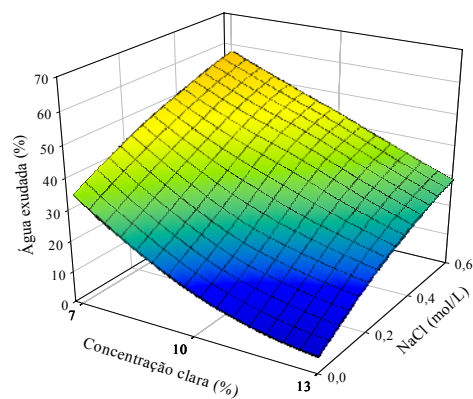


Figura 16. Água exsudada do gel da clara do ovo de codorna no pH 10,0 em função da concentração de clara e NaCl.

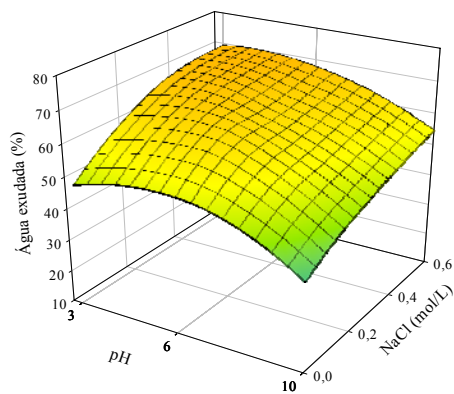


Figura 17. Água exsudada do gel da clara do ovo de codorna a 7 % de clara em função do pH e concentração de NaCl.

Modelos polinomiais foram usados para verificar o efeito combinado do pH, concentração de clara e sal na Elasticidade (EL), Força de compressão (FC) e Quantidade de água exsudada (AE) do gel da clara do ovo de codorna; conforme as equações 2, 3 e 4, respectivamente.

$$EL = a - b Cc - c pH + d Cs + e pH^2 + f pH Cc - g pH Cs \quad (2)$$

$$FC = a - b pH + c Cs + d pH^2 + e pH Cc - f Cc Cs - g pH Cs \quad (3)$$

$$AE = a - b Cc + c pH + d Cs - e pH^2 \quad (4)$$

Onde, Cc é a concentração de clara (%), Cs é a concentração de NaCl (mol/L), pH é o valor de pH e $a - g$ são os coeficientes das regressões ajustadas.

A Tabela 4 apresenta as estimativas dos coeficientes dos modelos propostos.

Tabela 4. Estimativas dos coeficientes das equações 2, 3 e 4.

Equação	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>e</i>	<i>f</i>	<i>g</i>	R ²	Pr
2	38,01	1,98	14,55	21,03	0,95	0,67	5,42	0,85	< 0,0001
3	1,83	1,01	2,99	0,06	0,04	0,21	0,27	0,90	< 0,0001
4	73,04	4,56	5,73	31,68	0,62	–	–	0,94	< 0,0001

Os modelos propostos pelas equações 2, 3 e 4 foram significativo ($P < 0,0001$) para explicar a EL, FC e AE do gel da clara do ovo de codorna em função dos efeitos combinados de pH, concentração de clara e sal, apresentando valores de R² acima de 0,85, 0,85 e 0,94, respectivamente.

4. CONCLUSÃO

A formação de gel ou gelificação de proteínas é uma propriedade funcional térmica de ampla utilização em alimentos formulados, por conferir-lhes estrutura e estabilidade. Devido à clara ser um sistema complexo constituído de várias proteínas, as características dessa funcionalidade é resultado das interações de propriedades das diferentes proteínas que a constitui. A elasticidade, força de compressão e quantidade de água exsudada do gel foram influenciadas pela concentração de clara, pH e concentração salina. O pH 10,0 foi o que apresentou a melhor textura, com a maior força de compressão, elasticidade e a menor quantidade de água exsudada. A adição de sal desestabilizou a estrutura da matriz do gel. E o aumento da concentração de clara intensificou as interações fortalecendo a sua estrutura.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Boye, J. T.; Alli, I.; Ismail, A. A.; Gibbs, B. F.; Konishi, Y. Factors affecting molecular characteristics of whey protein gelation. **International Dairy Journal**, v. 5, p. 337-353, 1995.
- Castimpoalas, N. e Meyer, C. Gelation phenomenon of soy-bean globulins I protein–protein interaction. **Cereal Chemistry**. v. 47, p. 559-570, 1970.
- Choi, Y. J.; Cho, M. S.; Park, J. W. Effect of hydration time and salt addition on gelation properties of major protein additives. **J. of Food Sci.**, v. 65, n. 8, p. 1338-1342, 2000.
- Clark, A. H.; Kavanagh, G. M.; Ross-Murphy, S. B. Globular protein gelation—theory and experiment. **Food Hydrocolloids**, v. 15, p. 383-400, 2001.
- Comfort, S.; Howell, N. K. Gelation properties of soya and whey protein isolate mixtures. **Food Hydrocolloids**, v. 16, p. 661-672, 2002.
- Croguennec, T.; Nau, F.; Brule', G. Influence of pH and salts on egg white gelation. **J. of Food Sci.**, v.67, n.2, p.608-614, 2002.
- Damodaran, S.; Paraf, A. **Food proteins and their applications**. New York: Marcel Dekker, 1997.
- Donovan, J. W. A study of the baking process by differential scanning calorimetry. **J. of the Sci. of Food and Agric.**, v. 28, p. 571-578, 1977.
- Fennema, O. R. **Química de los Alimentos**. 1.ed. Zaragoza: Acribia. p. 1280, 2000.
- Gosset, P. W.; Rizvi, S. S. H.; Baker, R. C. Qualitative analysis of gelation in egg protein systems. **Food Technol.**, v. 38, n. 5, p. 67-74, 1984.
- Handa, A., Takahashi, K., Kuroda, N., e Froning, G. W. Heatinduced egg white gels as affected by pH. **J. of Food Sci.**, v. 63, n. 3, p. 403-407, 1998.
- Hargett, C. A.; Nelson, A. I.; Weingartner, K. E.; Erdman, J. W. Development, utilization and protein quality of potatoe: soy: egg flakes. **J. Food Sci.** v. 47, p. 461, 1982.
- Hermansson, A. M. Gel characteristics structure as related to texture and water binding of blood plasma gels. **J. of Food Sci.**, v. 47, n. 6, p. 1965-1972, 1982.
- Hickson, D. W.; Dill, C. W.; Morgan, R. G.; Sweat, V. E.; Suter, D. A.; Carpenter, Z. L. Rheological properties of two heat-induced protein gels. **J. Food Sci.** v. 47, p. 783, 1982.

- Holt, D. L.; Watson, M. A.; Dill, C. W.; Alford, E. S.; Edwards, R. L.; Diehl, K. C.; Gardner, F. A. Correlation of the rheological behavior of egg albumen to temperature, pH, and NaCl concentration. **J. Food Sci.** v. 49, p. 137, 1984.
- Juaregui, C. A.; Regenstein, J. M.; Baker, R. R. A. Simple centrifugal method for measuring expressible moisture, a water-binding property of muscle foods. **J. food Sci.**, v. 46, n. 4, p. 1271-1273, 1981.
- Kalkani, A.; Paraskevopoulou, A.; Kiosseoglou, V. Protein interactions and filler effects in heat-set gels based on egg. **Food Hydrocolloids.**, v. 21, p. 191-197, 2007.
- Kinsella, J. E. Functional properties in foods: a survey. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 7, n. 3, p. 219-280, 1976.
- Kuhn, P. R.; Foegeding, E. A. Factors influencing whey protein gel rheology: Dialysis and calcium chelation. **J. Food Sci.**, v. 56, p. 789-791, 1991.
- Lawal, O. S. Functionality of African locust bean (*Parkia biglobosa*) protein isolate: effects of pH, ionic strength and various protein concentrations. **Food Chem.**, v. 86, p. 345-355, 2004.
- Lourenço, E. J. **Tópicos de proteínas de Alimentos**. Jaboticabal: Ed. Funep. p. 240-243, 2000.
- Matsumura, Y.; Mori, T. Gelation. In: HALL, G.M. **Methods of testing protein functionality**. 1. ed. London: Chapman e Hall. p. 76-109, 1996.
- Mine, Y. Effect of pH during the dry heating on the gelling properties of egg white proteins. **Food Res. Intern.**, v. 29, p. 155-161, 1996.
- Mohan, C. **Buffers: A Guide for the Preparation and Use of Buffers in Biological Systems**. Calbiochem - EMD, San Diego, CA. p. 38, 1995.
- Mulvihill, D. M.; Kinsella, J. E. Gelation of β -lactoglobulin: Effects of sodium chloride and calcium chloride on the rheological and structural properties of gels. **J. Food Sci.**, v. 53, n. 1, p. 231-235, 1988.
- Oshodi, A. A., Ojokan, E. Effect of salts on some of the functional properties of bovine plasma protein concentrate. **Food Chem.**, v. 59, p. 333-338, 1997.
- Otte, J.; Schumacher, E.; Ipsen, R.; Ju, Z. Y.; Qvist, K. B. Protease induced gelation of unheated and heated whey proteins. Effects of pH, temperature and concentration of proteins, enzyme and salts. **Intern. Dairy Journal**, v. 9, p. 801-812, 1999.
- Paraskevopoulou, A.; Athanasiadis, I.; Kanellaki, M.; Bekatorou, A.; Blekas, G.; Kiosseoglou, V. Functional properties of single cell protein produced by kefir microflora. **Food Res. Intern.**, v. 36, p. 431-438, 2003.

- Raikos, V.; Campbell, L.; Euston, S. R. Rheology and texture of hen's egg protein heat-set gel as affected by pH and the addition of sugar and/or salt. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 237-244, 2007.
- SAS INSTITUTE, INC. 1999. **SAS/STAT User's Guide Release 6.03**, Cary, NC.
- Schmidt, R. H. Gelation and coagulation. In: **Protein Functionality in Foods**; Cherry, J. P., Ed.; American Chemical Society: Washington DC. p.131-147, 1981.
- Shimada, K.; Cheftel, J. C. Sulfhydryl group/disulfide bond interchange reaction during heat-induced gelation of whey protein isolate. **J. Agric. Food and Chem.**, v. 37, n. 1, p. 161-168, 1989.
- Watanabe, K.; Hayakawa, S.; Matsuda, T.; Nakamura, R. Combined effect of pH and sodium chloride on the heat-induced aggregation of whole egg proteins. **J. Food Sci.**, v. 51, n. 5, p. 1112-1114, 1986.
- Weijers, M.; Sagis, L. C. M.; Veerman, C.; Sperber, B.; Linden, van der E. Rheology and structure of ovalbumin gels at low pH and low ionic strength. **Food Hydrocolloids**, v. 16, p. 269-276, 2002.
- Xiong, Y. L. Influence of pH and Ionic Environment on Thermal Aggregation of Whey Proteins. **J. Agric. Food Chem.**, v. 40, p. 380-384, 1992.
- Yasuda, K.; Nakamura, R.; Hayakawa, S. Factors affecting heat-induced gel formation of bovine serum albumin. **J. Food Sci.**, v. 51, n. 5, p. 1289-1292, 1986.
- Zayas, J.F. **Functionality of proteins in food. Heidelberg: Springer**. 1. ed. p.6-75, 1997.
- Ziegler, G. R.; Foegeding, E. A. The gelation of proteins. **Adv. Food Nutr. Res.**, v. 34, p. 203-298, 1990.

CONCLUSÃO GERAL

Segundo as condições experimentais observadas e os resultados obtidos podem ser estabelecidas as seguintes conclusões:

- O pH de valor 10,0 apresentou os melhores resultados em todas as propriedades funcionais estudadas.
- O valor de solubilidade mais elevado (98,92 g/100 g) foi obtido na amostra contendo 0,05 mol/L de NaCl, em pH 10,0 e com uma hora de agitação. O menor valor de solubilidade (68,35 g/100 g) foi obtido na amostra contendo 1,0 mol/L de NaCl, em pH 3,0 e com duas horas de agitação.
- Nas condições testadas, as soluções aquosas a 1,0 mol/L de NaCl, pH 3,0 e duas horas de agitação, pode levar a um maior índice de separação das proteínas da clara do ovo de codorna.
- O aumento da estabilidade pode ser obtido com 2 % de clara em pH 10,0 a 0,4 mol/L de NaCl e no pH 3,0 a 0,6 mol/L de NaCl. E a maior expansão na concentração de clara de 1 % em pH 10,0 a 0,05 mol/L de NaCl.
- A melhor textura, proveniente de maior força de compressão e elasticidade, e menor quantidade de água exsudada pode ser obtido com a clara do ovo de codorna em pH 10,0, com concentração de clara de 13% e na ausência de concentração salina.
- Os dados das propriedades funcionais são importantes para desenvolvimento de novos produtos, favorecendo uma maior aplicabilidade da clara do ovo de codorna.
- Torna-se necessário um estudo termodinâmico para determinar a contribuição dos fatores aqui estudados sob as suas propriedades funcionais.

APÊNDICES

APÊNDICE A – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO EFEITO DO TEMPO DE AGITAÇÃO, VALOR DE pH E CONCENTRAÇÃO SALINA SOBRE A SOLUBILIDADE DAS PROTEÍNAS DA CLARA DO OVO DE CODORNA (*Coturnix coturnix japonica*).

Quadro 1A. Resumo da análise de variância do efeito do tempo de agitação, valor de pH e concentração salina (Cs) sobre a solubilidade das proteínas da clara do ovo de codorna (*Coturnix coturnix japonica*).

Fontes de Variação	GL	Q.M
pH	3	450,07 *
Cs	4	332,88 *
Tempo	5	482,34 *
Tempo x pH	12	158,09 *
Tempo x Cs	15	14,20 *
pH x Cs	20	91,81 *
Tempo x pH x Cs	60	7,81 *
Resíduo	120	0,30

(*) significativo a 5 % de probabilidade, pelo teste F.

Quadro 2A. Resumo da análise de variância da regressão do efeito do tempo de agitação, valor de pH e concentração salina (Cs) sobre a solubilidade das proteínas da clara do ovo de codorna (*Coturnix coturnix japonica*).

Fontes de Variação	GL	Q.M
Regressão	6	855,60 *
Falta de Ajustamento	1	0,07 ns
Resíduo	232	19,10
Tratamentos	7	733,38
Resíduo da Regressão	233	19,01

(*) significativo e (ns) não significativo a 5 % de probabilidade, pelo teste F.

APÊNDICE B – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA EXPANSÃO E ESTABILIDADE DA ESPUMA DA CLARA DO OVO DE CODORNA (*Coturnix coturnix japonica*) EM FUNÇÃO DO CONTEÚDO DE CLARA, pH E CONCENTRAÇÃO SALINA

Quadro 1B. Resumo da análise de variância da expansão e estabilidade da espuma da clara do ovo de codorna (*Coturnix coturnix japonica*) em função do conteúdo de clara (Cc), pH e concentração salina (Cs).

Fontes de Variação	GL	Q.M	
		Expansão	Estabilidade
pH	2	276008,73 *	43,16 ns
Cc	2	116862,64 *	1060,58 *
Cs	5	63080,77 *	753,66 *
pH x Cc	4	27602,96 *	87,43 *
pH x Cs	10	30548,77 *	180,86 *
Cc x Cs	10	3395,69 ns	90,37 *
pH x Cc x Cs	20	12141,12 ns	55,81 *
Resíduo	110	7316,71	31,14

(*) significativo e (ns) não significativo a 5 % de probabilidade, pelo teste F.

Quadro 2B. Resumo da análise de variância da regressão da expansão da espuma da clara do ovo de codorna (*Coturnix coturnix japonica*) em função do conteúdo de clara (Cc), pH e concentração salina (Cs).

Fontes de Variação	GL	Q.M
Regressão	3	368449,48 *
Falta de Ajustamento	2	10059,62 ns
Resíduo	158	9514,94
Tratamentos	5	225093,53
Resíduo da Regressão	160	9521,75

(*) significativo e (ns) não significativo a 5 % de probabilidade, pelo teste F.

Quadro 3B. Resumo da análise de variância da regressão da estabilidade da espuma da clara do ovo de codorna (*Coturnix coturnix japonica*) em função do conteúdo de clara (Cc), pH e concentração salina (Cs).

Fontes de Variação	GL	Q.M
Regressão	5	1029,34 *
Falta de Ajustamento	2	11,74 ns
Resíduo	156	55,01
Tratamentos	7	738,60
Resíduo da Regressão	158	54,46

(*) significativo e (ns) não significativo a 5 % de probabilidade, pelo teste F.

APÊNDICE C – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA ELASTICIDADE (EL), FORÇA DE COMPRESSÃO (FC) E QUANTIDADE DE ÁGUA EXSUDADA (AE) DO GEL DA CLARA DO OVO DE CODORNA (*Coturnix coturnix japonica*) EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CLARA, pH E CONCENTRAÇÃO SALINA

Quadro 1C. Resumo da análise de variância da elasticidade (EL), força de compressão (FC) e quantidade de água exsudada (AE) do gel da clara do ovo de codorna (*Coturnix coturnix japonica*) em função da concentração de clara (Cc), pH e concentração salina (Cs).

Fontes de Variação	GL	Q.M		
		EL	FC	AE
pH	2	3764,40 *	13,42 *	2203,15 *
Cc	2	1150,86 *	7,51 *	4517,28 *
Cs	3	234,59 *	0,92 *	1282,20 *
pH x Cc	4	546,66 *	1,89 *	21,96 ns
pH x Cs	6	184,68 *	0,49 *	48,92 *
Cc x Cs	6	82,23 *	0,25 *	15,50 ns
pH x Cc x Cs	12	74,69 *	0,18 *	23,82 ns
Resíduo	36	4,59	0,028	13,11

(*) significativo e (ns) não significativo a 5 % de probabilidade, pelo teste F.

Quadro 2C. Resumo da análise de variância da regressão da elasticidade (EL) do gel da clara do ovo de codorna (*Coturnix coturnix japonica*) em função da concentração de clara (Cc), pH e concentração salina (Cs).

Fontes de Variação	GL	Q.M
Regressão	6	2159,44 *
Falta de Ajustamento	1	0,000584 ns
Resíduo	64	37,92
Tratamentos	7	1850,95
Resíduo da Regressão	65	37,34

(*) significativo e (ns) não significativo a 5 % de probabilidade, pelo teste F.

Quadro 3C. Resumo da análise de variância da regressão da força de compressão (FC) do gel da clara do ovo de codorna (*Coturnix coturnix japonica*) em função da concentração de clara (Cc), pH e concentração salina (Cs).

Fontes de Variação	GL	Q.M
Regressão	6	8,77 *
Falta de Ajustamento	2	0,02 ns
Resíduo	63	0,116
Tratamentos	8	6,58
Resíduo da Regressão	65	0,114

(*) significativo e (ns) não significativo a 5 % de probabilidade, pelo teste F.

Quadro 4C. Resumo da análise de variância da regressão da quantidade de água exsudada (AE) do gel da clara do ovo de codorna (*Coturnix coturnix japonica*) em função da concentração de clara (Cc), pH e concentração salina (Cs).

Fontes de Variação	GL	Q.M
Regressão	4	4259,26 *
Falta de Ajustamento	1	18,31 ns
Resíduo	66	22,19
Tratamentos	5	3411,07
Resíduo da Regressão	67	22,13

(*) significativo e (ns) não significativo a 5 % de probabilidade, pelo teste F.