

TALITA REIS TEIXEIRA E SILVA

**QUALIDADE TECNOLÓGICA DE PRESUNTOS ELABORADOS COM
TRANSGLUTAMINASE E DIFERENTES TEORES DE CLORETO DE SÓDIO**

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*.

Orientadora: Monique Renon Eller

**VIÇOSA – MINAS GERAIS
2020**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S586q
2020
Silva, Talita Reis Teixeira e, 1985-
Qualidade tecnológica de presuntos elaborados com
transglutaminase e diferentes teores de cloreto de sódio / Talita
Reis Teixeira e Silva. – Viçosa, MG, 2020.
57 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Monique Renon Eller.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Transglutaminase. 2. Alimentos - Teor de sódio.
3. Presunto. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Tecnologia de Alimentos. Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos. II. Título.

CDD 22. ed. 664.907

TALITA REIS TEIXEIRA E SILVA

**QUALIDADE TECNOLÓGICA DE PRESUNTOS ELABORADOS COM
TRANSGLUTAMINASE E DIFERENTES TEORES DE CLORETO DE SÓDIO**

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: 03 de novembro de 2020.

Assentimento:



Talita Reis Teixeira e Silva
Autora



Monique Renon Eller
Orientadora

A minha menina, Maria Eduarda,
que me ensinou que ser
mãe é o que me torna forte...
minha verdadeira essência...

AGRADECIMENTOS

Sinto o amor de Deus tocando meu coração quando as pessoas que mais amo e admiro estão perto de mim, me apoiando e me ajudando a ser uma pessoa melhor.

Agradeço a Deus por me proteger na fé e me manter firme no meu propósito, mesmo quando todas as circunstâncias mostravam o contrário.

Ao meu esposo, Luís, que segurou minha mão e me ajudou a andar nos caminhos mais difíceis. Te amo infinitamente.

A minha filha, Maria Eduarda, que, inúmeras vezes, abriu mão dos nossos momentos mãe e filha, para ver a mamãe feliz no trabalho.

A minha mãe, que acreditou que esse sonho seria possível e que sempre será fonte de inspiração divina para mim.

A minha linda orientadora, amiga de longa data, Prof.^a Monique, que confiou em minha capacidade, que chorou comigo nos momentos difíceis, motivando-me até o fim.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Tecnologia de Alimentos, pelo apoio e reconhecimento do meu trabalho. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

A minha coorientadora florida, Prof.^a Regina, que floriu meu jardim com os mais grandiosos conhecimentos, que serviram de base para execução desse trabalho.

A Prof.^a Márcia Vidigal, por contribuir com sua experiência no meu crescimento acadêmico e profissional.

Ao Frigorífico Industrial Vale do Piranga S/A (SAUDALI), por entender a importância da relação universidade/indústria. Agradeço o apoio à essa pesquisa no fornecimento dos recursos necessários para a execução deste trabalho.

Ao Célio, amigo de trabalho, que, juntamente comigo, se tornou especialista em produzir presuntos.

Ao Prof. Eduardo e a Prof.^a Jane, que não mediram esforços em me incentivar a executar e concluir esse trabalho. Obrigada por confiar que tudo daria certo.

Aos amigos do LOP/LEMA que souberam diferenciar com sabedoria, ora meus momentos técnica, ora meus momentos mestranda. A amizade e a troca de experiências fizeram a diferença.

Aos colegas do LAPROBQI que me recebem de braços abertos entendendo minhas limitações em não estar sempre presente.

A amiga Ana Lúcia, que entrou junto comigo nessa empreitada e me apoiou até o final.

A amiga Juliana, que esteve ao meu lado, mantendo meu senso de humor sempre em dia.

Ao Gabriel, mais que psicólogo, um verdadeiro amigo, por não desistir de mim, dando-me segurança e autoconfiança, sempre dizendo que eu seria capaz.

As meninas da Jornada Byebyeansiedade, que me viram quebrar as barreiras da ansiedade e do medo de não conseguir.

Aos amigos e familiares, que foram pacientes em ouvir de mim sempre o mesmo assunto, a conclusão da minha dissertação.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram nesse percurso, obrigada pelo carinho e amizade.

“Eu era um simples embrião, e Vossos olhos me viram e em Vosso livro foram todos escritos esses dias que me estavam destinados, quando nem um só deles existia. Como são profundos para mim Vossos pensamentos, quão grandes são as somas deles!”

Salmo 139:16-17

RESUMO

SILVA, Talita Reis Teixeira e, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, novembro de 2020. **Qualidade tecnológica de presuntos elaborados com transglutaminase e diferentes teores de cloreto de sódio.** Orientadora: Monique Renon Eller.

O NaCl é um importante ingrediente na formulação de produtos cárneos pois atua na solubilização das proteínas miofibrilares sendo essencial em garantir textura adequada por meio da manutenção da capacidade de retenção de água nesses produtos. Entretanto, o consumo excessivo desse mineral está associado ao desenvolvimento de hipertensão e doenças cardiovasculares. Uma alternativa consiste na utilização da enzima transglutaminase, a qual catalisa reações intra e intermoleculares entre as proteínas da carne, formando géis com maior força e retenção de água e, conseqüentemente, gerando produtos com maior maciez e suculência. Entretanto, a proporção entre as concentrações de enzima e de NaCl a serem utilizadas dependem da composição da matriz e do processo ao qual serão submetidos, devendo ser melhor compreendidos para a geração de produtos com maior qualidade. Logo, neste trabalho foram avaliados os efeitos conjuntos da concentração de transglutaminase (0,05, 0,10, 0,15) % m/m e redução de cloreto de sódio (NaCl) (15, 30 e 45) %, na formulação de presuntos cozidos. Os presuntos produzidos foram analisados quanto ao teor de cloreto de sódio, composição centesimal, pH, atividade de água, capacidade de retenção de água (CRA), cor instrumental, textura e estrutura da matriz, por microscopia eletrônica. A composição centesimal de todos os presuntos formulados estava de acordo com os parâmetros físico-químicos dispostos no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Presunto Cozido, e os presuntos com redução de (30 e 45) % de NaCl puderam ser considerados reduzidos em sódio. As perdas de água por cozimento (% PPC) foram as mais significativas para a CRA dos presuntos e a adição da transglutaminase não impediu as perdas de água 45 % em NaCl. Entretanto, reduções em até 30 % de NaCl e a adição de TG em até 0,10 % não prejudicaram a CRA do produto, gerando produtos com % PPC semelhantes ao

controle. A perda por exsudação (% PEX) e a sinérese não foram afetadas por esses fatores, assim como os atributos de cor. Por outro lado, a adição de transglutaminase e redução de sal influenciaram no cisalhamento do produto, de forma que, em concentrações apropriadas, a presença da transglutaminase compensou os efeitos negativos causados pela redução de NaCl. Adicionalmente, a redução do cloreto de sódio também afetou a dureza e a adição da transglutaminase foi significativa para a mastigabilidade nos presuntos elaborados. As micrografias comprovaram os efeitos estruturais negativos causados pelos menores teores de NaCl e a melhora na microestrutura do gel proteico resultante da adição da transglutaminase. Com isso, em menores concentrações, a transglutaminase pode compensar parcialmente os efeitos negativos relacionados à redução de NaCl, principalmente atributos relacionados à maciez desses produtos. Estudos futuros serão necessários para relacionar os resultados obtidos neste trabalho ao perfil sensorial de potenciais consumidores, obtendo produtos que mais se aproximem das características sensoriais exigidas pelo consumidor.

Palavras-chave: Transglutaminase. Redução de sódio. Presunto cozido.

ABSTRACT

SILVA, Talita Reis Teixeira e, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, November 2020. **Technological quality of hams made with transglutaminase and different levels of sodium chloride.** Adviser: Monique Renon Eller.

NaCl is an important ingredient in the formulation of meat products because it acts in the solubilization of myofibrillar proteins and is essential in guaranteeing adequate texture by maintaining the water retention capacity in these products. However, excessive consumption of this mineral is associated with the development of hypertension and cardiovascular diseases. An alternative is the use of the enzyme transglutaminase, which catalyzes intra and intermolecular reactions between meat proteins, forming gels with greater strength and water retention and, consequently, generating products with greater tenderness and juiciness. However, the proportion between the enzyme and NaCl concentrations to be used depends on the composition of the matrix and the process to which they will be submitted, and should be better understood for the generation of higher quality products. Therefore, in this work, the joint effects of the concentration of transglutaminase (0.05, 0.10, 0.15)% w / w and reduction of sodium chloride (NaCl) (15, 30 and 45)% were evaluated in the formulation of cooked hams. The hams produced were analyzed for sodium chloride content, chemical composition, pH, water activity, water retention capacity (WRC), instrumental color, texture and structure of the matrix, by electron microscopy. The proximate composition of all formulated hams was in accordance with the physical-chemical parameters set out in the Technical Regulation on the Identity and Quality of Cooked Ham, and hams with a reduction of (30 and 45)% NaCl could be considered reduced in sodium. The losses of water by cooking were the most significant for the CRA of the hams and the addition of transglutaminase did not prevent water losses 45% in NaCl. However, reductions of up to 30% NaCl and the addition of TG by up to 0.10% did not harm the product's CRA, generating products with% PPC similar to the control. Exudation loss (% PEX) and syneresis were not affected by these factors, as were color attributes. On the other hand, the

addition of transglutaminase and salt reduction influenced the shear of the product, so that, in appropriate concentrations, the presence of transglutaminase compensated for the negative effects caused by the reduction of NaCl. Additionally, the reduction of sodium chloride also affected the hardness and the addition of transglutaminase was significant for chewability in the elaborated hams. The micrographs confirmed the negative structural effects caused by the lower NaCl contents and the improvement in the microstructure of the protein gel resulting from the addition of transglutaminase. Thus, in lower concentrations, transglutaminase can partially offset the negative effects related to the reduction of NaCl, mainly attributes related to the softness of these products. Future studies will be necessary to relate the results obtained in this work to the sensory profile of potential consumers, obtaining products that are closer to the sensory characteristics required by the consumer.

Keywords: Transglutaminase. Sodium reduction. Cooked ham.

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Table 1 - Sodium content reduction targets for meat products by 2017.....	20
Table 2 - Main enzymes used in industrial food processing.	21
Table 3 - Main applications of transglutaminase in meat products reduced in salt..	23

Capítulo 2

Tabela 1 - Valores das variáveis independentes avaliadas na formulação de presunto cozido.	32
Tabela 2 - Valores de pH, Atividade de água (Aw), Umidade, teor (% em base seca) de proteínas, cinzas em presuntos cozidos.....	39
Tabela 3 - Teor % (m/m) de cloreto de sódio em presuntos cozidos.....	41
Tabela 4 - Capacidade de Retenção de Água (CRA) em presuntos cozidos com redução de cloreto de sódio e acrescidos de transglutaminase.	42
Tabela 5 - Parâmetros de Cor Instrumental em presuntos cozidos com redução de cloreto de sódio e acrescidos de transglutaminase.....	45
Tabela 6 - Diferença Total de Cor (ΔE^*) em presuntos cozidos elaborados com transglutaminase e redução de cloreto de sódio.....	47
Tabela 7 - Parâmetros de textura dos presuntos elaborados com reduzido teor de cloreto de sódio e acrescidos de transglutaminase.....	48

SUMÁRIO

JUSTIFICATIVA.....	14
OBJETIVOS	16
Objetivo Geral.....	16
Objetivos Específicos.....	16
Capítulo 1:	17
Review: Technological Implications Of Sodium Chloride Reduction And The Use Of Transglutaminase In Meat Products.	17
INTRODUCTION	19
SODIUM CHLORIDE.....	19
Consumption	19
Technological implications of sodium reduction in meat products	20
THE USE OF ENZYMES IN THE FOOD INDUSTRY.....	21
Transglutaminase (E.C. 2.3.2.13)	22
CONCLUSION.....	23
REFERENCES	24
Capítulo 2	27
Manuscrito: Uso de transglutaminase na melhoria da qualidade tecnológica de presuntos cozidos reduzidos em cloreto de sódio.	27
1 INTRODUÇÃO.....	30
2 MATERIAIS E MÉTODOS	31
2.1 Materiais	31
2.2 Delineamento Experimental	32
2.3 Produção dos Presuntos.....	33
2.4 Métodos Analíticos.....	33

2.4.1	Determinação de pH e atividade de água	34
2.4.2	Composição centesimal	34
2.4.4	Determinação do teor de cloreto de sódio (NaCl)	34
2.4.3	Análise objetiva da cor	35
2.4.5	Capacidade de retenção de água (CRA)	35
2.4.6	Avaliação instrumental da textura	36
2.4.6.1	Teste de cisalhamento	36
2.4.6.2	Análise do perfil de textura (TPA).....	37
2.4.7	Análise microestrutural.....	37
2.4.7.1	Análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV)	37
2.4.9.2	Microscopia confocal de varredura a laser	38
2.5	Análises Estatísticas	38
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
3.1	Parâmetros físico-químicos.....	39
3.2	Parâmetros Tecnológicos e Sensoriais: Capacidade de Retenção de Água (CRA) e Análise Instrumental de Cor.....	41
3.3	Avaliação Instrumental da Textura.....	46
3.4	Análise Microestrutural.....	50
4	CONCLUSÃO	54
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

JUSTIFICATIVA

A tecnologia na indústria de carnes evoluiu rapidamente à medida em que os consumidores se interessaram por alimentos mais seguros, saudáveis, práticos e com características sensoriais diferenciadas. O desenvolvimento de novos produtos, portanto, envolve a busca por novos ingredientes e formulações que proporcionem experiências sensoriais agradáveis e que atendam às demais tendências do mercado consumidor. Em carnes, as características de maior influência na aceitação de produtos cárneos incluem a maciez e a suculência. Essas características são influenciadas pelos ingredientes utilizados e o processamento ao qual são submetidos, assim como pela forma de armazenamento do produto final.

O uso do ingrediente cloreto de sódio na formulação de produtos cárneos é importante não só para conferir gosto salgado ao produto, mas também para a solubilização das proteínas da carne em produtos homogeneizados. Características tecnológicas como a capacidade de retenção de água (CRA) são influenciadas pelo teor desse ingrediente na formulação, conferindo maior rendimento e melhor textura ao produto final. Entretanto, o consumo do sódio em excesso está diretamente relacionado ao desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis como hipertensão, doenças cardiovasculares e doenças renais.

Na tentativa de reduzir o teor de cloreto de sódio em alimentos sem prejudicar as suas características tecnológicas originais, algumas enzimas têm sido aplicadas, constituindo uma importante ferramenta na busca por novos ingredientes substituintes. Uma enzima já utilizada pela indústria de produtos cárneos é a transglutaminase (E.C. 2.3.2.13), uma transferase que atua catalisando reações de ligação covalente entre resíduos de lisina e glutamina nas proteínas, modificando a rede estrutural da matriz, sem prejudicar o conteúdo nutricional do alimento. Dentre os benefícios do uso dessa enzima destaca-se o aumento na firmeza e na elasticidade dos produtos cárneos, resultando em maior rendimento no cozimento, melhor fatiabilidade e maior suculência.

Apesar de já ser aplicada em grandes indústrias do ramo alimentício, o uso da transglutaminase ainda é limitado ou ausente em diversas indústrias devido a dificuldades nas pesquisas com novos produtos. Isso ocorre devido às especificidades existentes em cada formulação e processo, que demandam adaptações, não sendo muitas vezes possível simplesmente replicar fórmulas e recomendações dos fabricantes. Tendo isso em vista, uma parceria foi realizada entre a indústria de produtos cárneos suínos SAUDALI (Frigorífico Industrial Vale do Piranga S/A) e a Universidade Federal de Viçosa, visando promover a inovação nos produtos da empresa por meio da redução do teor de sódio nos presuntos produzidos pela empresa, com simultâneo emprego da transglutaminase para compensação tecnológica. Logo, o presente documento foi estruturado como segue:

- i. Um primeiro capítulo, na forma de artigo de revisão, apresentando as informações mais recentes sobre a elaboração de produtos cárneos com redução de cloreto de sódio e sobre o uso da enzima transglutaminase como adjuvante de tecnologia. Este capítulo fornece a base teórica para facilitar o entendimento do trabalho experimental realizado;
- ii. Um segundo capítulo, apresentado na forma de artigo científico. Nele são descritos os resultados dos experimentos relacionados ao uso da enzima transglutaminase na elaboração de presuntos cozidos com reduzido teor de sódio.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar os efeitos da utilização de transglutaminase e redução de cloreto de sódio na qualidade tecnológica dos presuntos da empresa Saudali.

Objetivos específicos

- Avaliar a composição centesimal, teor de sódio, pH e atividade de água de presuntos adicionados de transglutaminase e reduzidos em cloreto de sódio.
- Avaliar os parâmetros tecnológicos cor, capacidade de retenção de água e perfil de textura de presuntos adicionados de transglutaminase e reduzidos em cloreto de sódio.
- Avaliar a microestrutura da matriz alimentar dos presuntos adicionados de transglutaminase e reduzidos em cloreto de sódio.

Capítulo 1:
Review: Technological Implications Of
Sodium Chloride Reduction And The Use Of
Transglutaminase In Meat Products.

Abstract

Currently, the development of processed meat products reduced in sodium has been a challenge for the food industry, since sodium chloride is essential for the technological and sensory quality of those products. However, excessive consumption of this mineral is associated with hypertension and the development of chronic cardiovascular diseases. In the search for alternative ingredients, many studies have targeted solutions that minimize the negative effects of NaCl reduction over the technological characteristics of the products, including the use of the enzyme transglutaminase. Therefore, in this work the main technological problems associated to chloride reduction are highlighted, as well as strategies to reduce the use of sodium chloride for the development of meat products reduced in sodium. The feasibility of using the enzyme transglutaminase may be an option for obtaining processed functional meats that are similar to traditional commercial products. However, due to the specificity of the processes, there is a need for more information on how different concentrations of enzyme and salt, and process conditions affect the characteristics of the final products.

Keywords: low salt; enzyme; cooked ham

INTRODUCTION

Global pork production is constantly growing and is expected to increase by more than 9% in 2021. In Brazil, this production is in progressive development, occupying the third place in the world ranking [1] with a production of 4.1 million tons, while in 2021 the demand is expected to increase above 4% [1,2]. The country maintains this prominence as a result of its strict inspection and control of the production chain and the absence of serious epidemics that affect livestock farming on other continents [2].

The consumption of pork meat is still low in Brazil compared to other countries however, a favorable macroeconomic scenario is projected in 2020, which may benefit or at least sustain current levels of consumption [1] and a large part is consumed as meat derivatives, such as ham, for example. The preparation of these products includes ingredients such as sodium chloride, condiments, stabilizers (phosphates) and water [3]. Since excessive sodium consumption has been linked to the development of several chronic diseases, the food industry has made several efforts to reduce sodium chloride in processed products. However, sodium chloride and phosphates directly influence the interactions performed by proteins in meat, and the reduction or removal of NaCl from meat products causes a series of technological and sensory problems.

Meat proteins, especially myofibrillar proteins, are the main gelling agents responsible for the structural properties of meat products. The availability of meat proteins and their interaction with the ingredients NaCl and water are the elements that most influence the technological properties of meat products, as they are directly related to the protein gel formation process. The type of gel formed has a definitive influence on the appearance, yield and texture profile of these products [4]. The three-dimensional network structure formed by the interactions among these elements improve sensory characteristics such as sliceability, softness and succulence, perceived as better texture in meat products [5]. In addition, these ingredients act as stabilizers, facilitating protein-water-fat interactions [5].

The solubility of proteins in meat is related to the ionic interactions between proteins and salts in the matrix in which they are inserted. Salt molecules neutralize the charges of the side chains of amino acids and promote repulsion between the protein molecules, providing more space for the retention of water molecules in the matrix, increasing the water-protein interactions and, consequently, increasing the product's water holding capacity (WHC) [6,7].

The formation of protein gels in meat products is dependent on the above-mentioned factors, which interact with each other, although they do not always act additively. The correct conduction of production processes and the application of technology adjuvants, such as enzymes, could maintain or even improve the characteristics of the product.

SODIUM CHLORIDE

Consumption

Sodium is a mineral essential for the body homeostasis, and is absorbed through ingestion of food containing mostly salts as sodium chlorides and phosphates. Sodium chloride (NaCl), the main source of this mineral, is widely used by the industry due to the flavor and texture it provides to processed foods, besides helping to conserve these foods by reducing water activity. However, sodium intake has been far superior than recommended by the World Health Organization, which has established, since 2012, an Recommended Daily Intake (RDI) of $2000 \text{ mg}\cdot\text{day}^{-1}$ [8]. The consumption of processed foods may be the factor that most contributes to the high intake of this mineral in the

world. For example, in meat products sodium concentration can reach up to 3 % (m/m), exceeding more than twice the RDI, considering a consumption of only 150 g of this product [9].

Excessive sodium chloride ingestion can cause increased blood pressure and the risk of cardiovascular diseases, which are the main causes of death worldwide [8]. Therefore, the Brazilian Association of Food Industries (ABIA) signed with the Ministry of Health a commitment, setting biennial targets for sodium reduction in its products [10]. However, according to the monitoring report of the sodium reduction plan published by the Ministry of Health in 2018, many of the industries of processed meat products continue with sodium levels above the limits agreed [10] (Table 1).

Table 1 - Sodium content reduction targets (Brazil) for meat products by 2017.

Meat products	Targets by 2017 (mg·100 g ⁻¹)
Fresh sausage	1080
Bologna type sausage	1180
Sausage	1120
Cooked Ham	1160
Hamburger	740

Reference: [10].

In other countries, such as USA and UK, the Food Standards Agency (FSA) proposed targets to be achieved by 2017 that included a maximum of 1130 mg·100 g⁻¹ NaCl for sausages; 1630 mg·100 g⁻¹ NaCl for ham/cured meats; 680 mg·100 g⁻¹ NaCl for cooked uncured meats and 880 mg·100 g⁻¹ NaCl for burgers and grillsteaks [9].

The most industry's difficulties is in obtaining products of similar quality, considering the importance of NaCl for the technological and sensory properties of these products.

Technological implications of sodium reduction in meat products

The function of NaCl, in concentration of (1,5 – 2,5) % (w/w) in the preparation of meat products is mainly the partial solubilization of myofibrillar proteins (actin and myosin), promoting the ionic force necessary for the formation of a firm and stable three-dimensional gel structure [5–7]. In concentrations below 4 % (m/m), this salt increases the solubility of proteins due to the association of the chloride ions with myofibrils, stabilizing the attraction-repulsion forces between proteins and contributing to hold water molecules in the matrix (salting in) [11,12]. The increased interaction with water molecules and greater solubility of proteins generates a sticky exuded, increasing the WHC and improving the texture of meat products. Therefore, pieces of meat could even bind after cooking, as in the production of hams [5,6].

The reduction in sodium chloride negatively affects the technological characteristics of meat products, mainly their texture. Desmond & Vasilopoulos [5] developed a revisional study related to salt reduction in meat products and found that NaCl reduction results in lower stability and lower strength of the gels formed. The texture of cured meat products, such as bacon and cooked ham, can be significantly affected by the low concentration of sodium chloride, with negative changes in the hardness and chewability, indicative of high water loss [13].

In order to achieve the challenge of obtaining healthier products, maintaining the texture and softness desired by the consumers, new technological solutions have been sought by the meat industry to reformulate their products [14]. This topic was covered by Inguglia *et. al.* [7]. New ingredients considered by the meat industries include carbohydrates, fibers and non-meat proteins of animal and/or vegetable origin, and the combination of these ingredients can improve the texture of Bologna-type sausages, as concluded by Campagnol *et. al.* [15]. The use of mixed solutions containing NaCl/KCl also did not significantly alter the technological characteristics of meat products Neves *et. al.* [4], however it may affect the sensory perception of these products. However, some studies have shown that the substitution, even partial, of NaCl by KCl has negative consequences to the texture and promotes a bitter, astringent and metallic taste [12,16].

Despite the recent advances in the search for NaCl-substituting ingredients for sodium-reduced foods, to find suitable ingredients that maintain the sensory and technological characteristics of the products generated remains a challenge for the food industry.

THE USE OF ENZYMES IN THE FOOD INDUSTRY

Enzymes are highly specific catalysts and are able to act even at low concentrations and mild conditions, reproducing in the food matrix their natural function, accelerating processes and introducing new features to food products. This makes them high-tech adjuvants with different functionalities for the food industry [17].

Enzymes are used in the food industry for a variety of function, as improving the texture, increasing the yield and shelf life, promoting product clarification and for the processing of raw materials [18]. The substitution of traditional additives by enzymes is a very promising application, having great use in the bakery, dairy, beverages and meat sectors (Table 2). Enzymes obtained from plant, animal and microbial sources are traditionally used to modify the texture and softness of meat products, maintaining or improving their physicochemical and sensory characteristics [19].

Table 2 - Main enzymes used in industrial food processing.

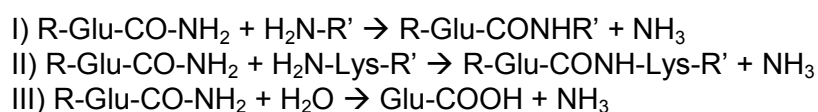
Industry	Enzyme	Application
Baking	Amylase, protease	Conversion of sugar into ethanol and CO ₂ to prepare bread.
Brewing	Amylase, protease	Conversion of sugar into ethanol and CO ₂ to prepare alcoholic drink.
Dairy industry	Lipase	Cheese flavor.
Coffee	Pectinase	Fermentation of coffee beans.
Fruit juices	Pectinase, glucose oxidase	Oxygen removal, clarification of wines and fruit juices.
Dairy industry	Protease, lactase	Preparation of protein hydrolysates, lactose hydrolysis.
Meat and fish industries	Proteinases, transglutaminase	Softness and succulence in meat products.

Reference: (LIU; KOKARE, 2017).

Enzymes have relevance in the development of industrial processes, with increasing demand in the improvement of technological and sensory characteristics of processed foods.

Transglutaminase (E.C. 2.3.2.13)

The enzyme transglutaminase (protein-glutamine γ -glutamyltransferase) is a technology adjuvant used to, among other applications, improve the physical properties of meat products by modifying the proteins in the matrix. It catalyzes acyl transferase reactions between peptide bonds of the amino acid glutamine and amine groups of lysine residues, forming covalent and stable cross-links, intra and intermolecularly [19]. Transglutaminase can act in three different ways: I) between glutamine residues and free amines; II) between glutamine and lysine residues of proteins; III) between glutamine and water residues [21]:



The interconnection between myofibrillar proteins increases the degree of polymerization of the matrix. Thus, transglutaminase-mediated cross-links improve gel formation and strength, beyond the viscosity, thermal stability, emulsification and WHC of formulated meat products, allowing the reduction of the use of ingredients such as salt and phosphates [15,22,23].

Commercial transglutaminases are of microbial origin, mostly obtained from the microorganism *Streptomyces mobaraense* [24]. This enzyme is active in a pH range between 4 and 9 and temperatures from 45 to 55 °C [17]. Enzymatic preparations can be added *quantum satis* (q.s.) and it can be inactivated during meat processing [24,25].

The restructured of meat products is one of the main applications of transglutaminase. Beefs steaks, are prepared from meat pieces and without the need for heat treatment. The use of this enzyme does not modify the chemical and nutritional composition of the product [26,27]. Due to the polymerization of proteins, the use of transglutaminase promotes the improvement of texture, firmness and elasticity of meat products such as cooked ham, due to the greater strength of the gel formed [28].

Some studies have demonstrated the positive effects of transglutaminase on the sensory properties of meat products with reduced sodium content, mainly greater softness and better sliceability [29], which is mainly associated with the improvement in the gel formation [15,22,26]. Table 3 indicates the main applications of transglutaminase in low salt meat products.

Table 3 – Main applications of transglutaminase in meat products reduced in salt.

Meat Product	Effect of TG	Reference
Cooked ground beef	Maintaining textural properties and no adverse effect on cooking loss.	[30]
Restructured Beef Steaks	Developing steaks with a suitable texture.	[23], [26]
Dry-cured formed ham	Enhancing the solubility of myofibrillar proteins for cross-linking.	[29]
Bologna-type sausages	Improving the processing yield, increasing the water retention capacity and emulsion stability.	[15]

However, there are still many doubts regarding the addition of transglutaminase and how it influences water-protein interactions in meat products. For example, we still don't fully understand how different concentrations of this enzyme, or how the different processing conditions and the different matrices influence the properties of products with different levels of salt content. For meat products, this information is essential to increase the use of this enzyme by industries, since each product has very particular process characteristics in each factory.

Therefore, studies are needed on how the different conditions to which the enzyme is subjected, such as temperature and the presence of other ingredients, in addition to their concentration in the formulation, influence the final product [27,29,30]. This is especially true for the development of reduced sodium chloride products, and how these factors together cause possible changes in the palatability, stability and conservation of these products [15,27,30].

CONCLUSION

Reducing sodium in processed products is essential for improving consumer health, but it causes a number of technological implications that need to be overcome by the industry. Despite the various advances in the search for substitute ingredients, sensory and texture changes are still very common, which has limited the development of products with reduced levels of this mineral. In the industry of meat products, the main challenges are related to maintaining the water holding capacity of gels formed by myofibrillar proteins. The use of transglutaminase in meat products with reduced sodium chloride content could be a viable alternative to obtain products that are healthier and with the desired technological parameters. However, for a wider use of this enzyme by the industry, more information is needed on how factors such as enzyme and salt concentration, ingredients and processing conditions influence the interactions between protein, salt and water molecules in the matrix, and how it influences the macromolecular parameters and the properties of the final product.

Funding: This research received no external funding.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

- AMIRDIVANI, S. et al. Effects of transglutaminase on health properties of food products. **Current Opinion in Food Science**, v. 22, p. 74–80, 2018.
- ATILGAN, E.; KILIC, B. Effects of microbial transglutaminase, fibrinex and alginate on physicochemical properties of cooked ground meat with reduced salt level. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 2, p. 303–312, 2017.
- BASCUAS, S. et al. Structural and sensory studies on chocolate spreads with hydrocolloid-based oleogels as a fat alternative. **Lwt**, v. 135, n. September 2020, p. 110228, 2021.
- BAUGREET, S. et al. Physicochemical characteristics of protein-enriched restructured beef steaks with phosphates, transglutaminase, and elasticised package forming. **Journal of Food Quality**, v. 2018, 2018.
- BRASIL. **Instrução Normativa nº 20 de 31 de julho de 2000. Aprova os Regulamentos Técnicos de Intencidade e Qualidade de Almôndega, de Apresuntado, de Fiambre, de Hamburger, de Kibe, de Presunto Cozido e de Presunto.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2000.
- BRASIL. **Resolução RDC nº 54 - Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar** Agência Nacional de Vigilância Sanitária Brasil, 2012. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2012/rdc0054_12_11_2012.html>
- BRASIL. **Resolução RDC nº 53, de 07 de outubro de 2014. Dispõe sobre a lista de enzimas, aditivos alimentares e veículos autorizados em preparações enzimáticas para uso na produção de alimentos em geral,** Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), 2014.
- CAMPAGNOL, P. C. B. et al. A combined approach to decrease the technological and sensory defects caused by fat and sodium reduction in Bologna-type sausages. **Food Science and Technology International**, v. 23, n. 6, p. 471–479, 2017.
- CAO, H. et al. Catalytic effect of transglutaminase mediated by myofibrillar protein crosslinking under microwave irradiation. **Food Chemistry**, v. 284, n. September 2018, p. 45–52, 2019.
- COFRADES, S. et al. Quality characteristics of low-salt restructured poultry with microbial transglutaminase and seaweed. **Meat Science**, v. 87, n. 4, p. 373–380, 2011.
- DELGADO-PANDO, G. et al. Salt content and minimum acceptable levels in whole-muscle cured meat products. **Meat Science**, v. 139, n. January, p. 179–186, 2018.
- DESMOND, E. Reducing salt: A challenge for the meat industry. **Meat Science**, v. 74, n. 1, p. 188–196, 2006.
- DESMOND, E.; VASILOPOULOS, C. **Reducing salt in meat and poultry products.** Second Edi ed. [s.l.] Elsevier Ltd., 2019.
- E. M. RAMOS; GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da qualidade de carnes: fundamentos e metodologias. 2.ed.** [s.l: s.n.]. v. 2
- FDA. Voluntary sodium reduction goals: Target mean and upper bound concentrations for sodium in commercially processed, packaged and prepared foods: Guidance for industry. n. June 2016, p. Docket No. FDA-2014-D-0055, 2016.
- FENG, J. et al. Effects of partial substitution of NaCl on gel properties of fish myofibrillar protein during heating treatment mediated by microbial transglutaminase. **LWT - Food**

Science and Technology, v. 93, p. 1–8, 2018.

GHARIBZAHEDI, S. M. T. et al. Innovative food processing technologies on the transglutaminase functionality in protein-based food products: Trends, opportunities and drawbacks. **Trends in Food Science and Technology**, v. 75, n. March, p. 194–205, 2018.

GOMIDE, L. A. DE M.; RAMOS, E. M.; FONTES, P. R. **Ciência e Qualidade da Carne**. 1. ed. Viçosa: [s.n.].

HADDAD, G. DE B. S. et al. The effects of sodium chloride and PSE meat on restructured cured-smoked pork loin quality: A response surface methodology study. **Meat Science**, v. 137, n. June 2017, p. 191–200, 2018.

HONG, G. P.; XIONG, Y. L. Microbial transglutaminase-induced structural and rheological changes of cationic and anionic myofibrillar proteins. **Meat Science**, v. 91, n. 1, p. 36–42, 2012.

HORITA, C. N. et al. Textural, microstructural and sensory properties of reduced sodium frankfurter sausages containing mechanically deboned poultry meat and blends of chloride salts. **Food Research International**, v. 66, p. 29–35, 2014.

IBGE. **Indicadores IBG: Estatística da Produção Pecuária**. Brasília: [s.n.]. Disponível em: <biblioteca.ibge.gov.br > periodicos > epp_2019_3tri>.

INGUGLIA, E. S. et al. Salt reduction strategies in processed meat products – A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 59, p. 70–78, 2017.

ITAL. **Brasil Food Trends 2020**. 2010.

JIRA, W. et al. Production of dry-cured formed ham with different concentrations of microbial transglutaminase: Mass spectrometric analysis and sensory evaluation. **Meat Science**, v. 129, p. 81–87, 2017.

LESIOW, T.; RENTFROW, G. K.; XIONG, Y. L. Polyphosphate and myofibrillar protein extract promote transglutaminase-mediated enhancements of rheological and textural properties of PSE pork meat batters. **Meat Science**, v. 128, p. 40–46, 2017.

LIU, X.; KOKARE, C. **Microbial Enzymes of Use in Industry**. [s.l.] Elsevier Inc., 2017.

MARTELO-VIDAL, M. J. et al. Reduced-salt restructured European hake (*Merluccius merluccius*) obtained using microbial transglutaminase. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 38, p. 182–188, 2016a.

MARTELO-VIDAL, M. J. et al. Obtaining reduced-salt restructured white tuna (*Thunnus alalunga*) mediated by microbial transglutaminase. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 341–348, 2016b.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Termo de Compromisso**, 2013. Disponível em: <http://189.28.128.100/dab/docs/portaldab/documentos/termo_nov_2013.pdf>

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Monitoramento do Plano de Redução de Sódio em Alimentos Processados - Produtos lácteos, refeições prontas (sopas) e produtos cárneos**. 2018.

MIWA, N. Innovation in the food industry using microbial transglutaminase: Keys to success and future prospects. **Analytical Biochemistry**, v. 597, n. November 2019, 2020.

NEVES, M. P. et al. Effect of pork quality and salt replacer KCl on technological and sensorial characteristics of restructured cooked hams. **Food Science and Technology International**, v. 0, p. 1–9, 2020.

PAULA, M. M. DE O. et al. Effects of PSE meat and salt concentration on the

technological and sensory characteristics of restructured cooked hams. **Meat Science**, v. 152, n. September 2018, p. 96–103, 2019.

RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. DE M. **Avaliação da Qualidade de Carnes**. 2. ed. Viçosa: [s.n.].

RIBEIRO, K. V. G. et al. Bacteriophage isolated from sewage eliminates and prevents the establishment of *Escherichia coli* biofilm. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, v. 8, n. 1, p. 85–95, 2018.

ROMERO DE ÁVILA, M. D. et al. Microbial transglutaminase for cold-set binding of unsalted/salted pork models and restructured dry ham. **Meat Science**, v. 84, n. 4, p. 747–754, 2010.

RUUSUNEN, M.; PUOLANNE, E. Reducing sodium intake from meat products. **Meat Science**, v. 70, n. 3 SPEC. ISS., p. 531–541, 2005.

SANTHI, D. et al. Application of microbial transglutaminase in meat foods: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 10, p. 2071–2076, 2017.

SINDHU, R. et al. Enzyme Technology in Food Processing: Recent Developments and Future Prospects. In: **Innovative Food processing Technologies: A Comprehensive Review**. [s.l.] Elsevier, 2020. v. 3p. 191–215.

USDA. Livestock and poultry: world markets and trade. **United States Department of Agriculture and Foreign Agricultural Service**, p. 31, 2020.

VIDAL, V. A. S. et al. Reducing 50% sodium chloride in healthier jerked beef: An efficient design to ensure suitable stability, technological and sensory properties. **Meat Science**, v. 152, n. October 2018, p. 49–57, 2019.

WHO. Guideline: Sodium intake for adults and children. **World Health Organization**, p. 1–56, 2012.

YANG, X.; ZHANG, Y. Expression of recombinant transglutaminase gene in *Pichia pastoris* and its uses in restructured meat products. **Food Chemistry**, v. 291, n. November 2018, p. 245–252, 2019.

Capítulo 2

**Manuscrito: Uso de transglutaminase na
melhoria da qualidade tecnológica de
presuntos cozidos reduzidos em cloreto de
sódio.**

RESUMO

O consumo de produtos cárneos é influenciado por suas características sensoriais e nutricionais e a elaboração de produtos reduzidos em sódio é importante para o consumidor. Por isso, os efeitos de diferentes concentrações de transglutaminase (TG) e cloreto de sódio (NaCl) na qualidade tecnológica de presuntos cozidos foram avaliados. Formulações foram elaboradas com concentrações de TG (0,05, 0,10 e 0,15)% e redução de (15, 30 e 45) % de NaCl, além da formulação controle. Os presuntos produzidos foram avaliados quanto à sua composição (umidade, cinzas, proteínas e cloretos), pH, atividade de água (A_w), parâmetros tecnológicos e sensoriais (capacidade de retenção de água e cor), perfil de textura e microestrutura. A composição centesimal de todos os presuntos formulados estava de acordo com os parâmetros físico-químicos dispostos no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Presunto Cozido, e os presuntos com redução de (30 e 45) % de NaCl puderam ser considerados reduzidos em sódio. As perdas de água por cozimento (% PPC) foram as mais significativas para a CRA dos presuntos e a adição da transglutaminase não impediu as perdas de água 45 % em NaCl. Entretanto, reduções em até 30 % de NaCl e a adição de TG em até 0,10 % não prejudicaram a CRA do produto, gerando produtos com % PPC semelhantes ao controle. A perda por exsudação (% PEX) e a sinérese não foram afetadas por esses fatores, assim como os atributos de cor. Por outro lado, a adição de transglutaminase e redução de sal influenciaram no cisalhamento do produto, de forma que, em concentrações apropriadas, a presença da transglutaminase compensou os efeitos negativos causados pela redução de NaCl. Adicionalmente, a redução do cloreto de sódio também afetou a dureza e a adição da transglutaminase foi significativa para a mastigabilidade nos presuntos elaborados. As micrografias comprovaram os efeitos estruturais negativos causados pelos menores teores de NaCl e a melhora na microestrutura do gel proteico resultante da adição da transglutaminase. O uso de transglutaminase na elaboração de presuntos cozidos reduzidos em sódio mostrou ser uma alternativa para manter as propriedades tecnológicas e de textura semelhantes aos produtos tradicionais. Contudo,

estudos relacionados ao perfil sensorial de potenciais consumidores serão necessários para relacionar os resultados obtidos nesse trabalho com as características sensoriais que são importantes para o consumidor.

1 INTRODUÇÃO

A produção de carne suína mundial está em crescente desenvolvimento e têm se mostrado consistente com o Brasil ocupando a quarta posição no ranking mundial de produção e exportação tanto de carne *in natura* quanto de produtos processados (ABPA, 2020; USDA, 2020). Entretanto, a maior parte da produção brasileira ainda destina-se ao mercado interno, e o consumo de produtos suínos processados, em destaque os de presuntaria, ainda é pouco significativo, com consumo médio per capita de 0,4 g/dia (IBGE, 2020). Por isso, o desenvolvimento de produtos cárneos suínos com sabor e textura diferenciados, mantendo a saudabilidade e segurança desses produtos, deve ser prioridade para a indústria cárnea, consolidando o consumo de produtos processados pela população.

Dessa forma, o cloreto de sódio possui um importante papel na elaboração de produtos cárneos processados, pois, além de conferir sabor salgado aos produtos, o NaCl é também responsável pelo desenvolvimento de propriedades funcionais, tais como estabilidade e conservação desses produtos (NEVES et. al., 2020).

Entretanto, o consumo excessivo de sódio está relacionado ao desenvolvimento de hipertensão, doenças crônicas do coração e aumento do risco de acidentes vasculares cerebrais. No Brasil, o consumo médio de sódio excede em mais de duas vezes a ingestão máxima recomendada pela OMS (2 g/dia) (WHO, 2012). Apesar de o consumo excessivo de sódio ser proveniente principalmente do sal de cozinha, o consumo de produtos cárneos industrializados tem contribuído para o aumento dessa ingestão. Por isso, o Ministério da Saúde implementou em 2013 um plano de redução do consumo de sal por meio da redução voluntária dos níveis de sódio nos alimentos processados pela indústria alimentícia, incluindo a de produtos cárneos processados (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

Do ponto de vista tecnológico, a função do NaCl na elaboração de presuntos cozidos é, principalmente, a solubilização parcial das proteínas miofibrilares (actina e miosina), promovendo a força iônica necessária para formação de um gel tridimensional firme e estável (DESMOND; VASILOPOULOS,

2019). Isso gera um problema tecnológico na obtenção de produtos cárneos reduzidos em NaCl, os quais passam a ter comprometida a sua Capacidade de Retenção de Água (CRA) o que influencia diretamente na textura desses alimentos (CAMPAGNOL et al., 2017). Estudos verificaram que a concentração de NaCl em diferentes produtos pode ser reduzida (DELGADO-PANDO et al., 2018; INGUGLIA et al., 2017; NEVES et al., 2020) e os efeitos negativos em suas propriedades tecnológicas, decorrentes desta redução, poderiam ser minimizados pela adição da enzima transglutaminase (ATILGAN; KILIC, 2017; FENG et al., 2018; MARTELO-VIDAL et al., 2016a; ROMERO DE ÁVILA et al., 2010).

A transglutaminase (protein-glutamine γ -glutamyltransferase) catalisa reações acil transferase entre ligações peptídicas de resíduos de glutamina e grupamentos amina de resíduos de lisina, formando ligações cruzadas covalentes e estáveis, intra e intermoleculares (GHARIBZAHEDI et al., 2018; MIWA, 2020). A polimerização das proteínas na carne leva à formação de géis com maior força e CRA e, conseqüentemente, gera produtos com maior maciez e suculência (CAO et al., 2019; LESIOW; RENTFROW; XIONG, 2017; YANG; ZHANG, 2019).

Ainda existem muitas dúvidas com relação à adição de transglutaminase e como ela influencia nas interações água-proteína em produtos cárneos reduzidos em NaCl. Além disso, para diferentes formulações deve-se encontrar concentrações ideais de enzima que levem à manutenção ou melhoria das características do produto final. Por isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da utilização de diferentes concentrações de transglutaminase e cloreto de sódio na qualidade tecnológica de presuntos cozidos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Processos Bioquímicos e Fermentativos e os presuntos foram produzidos no Laboratório de Processamento de Carnes e Derivados, ambos do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFV. A elaboração dos presuntos foi conduzida em parceria com

a empresa SAUDALI (Frigorífico Industrial Vale do Piranga S/A) que forneceu todo o material necessário, incluindo a matéria-prima principal - pernil suíno fresco (48 h *post mortem*) - e demais ingredientes utilizados no processo. A formulação utilizada e etapas do processamento para elaboração dos produtos foram os usualmente adotados pela empresa e, em decorrência desse fato, não foram descritos e permanecem sob sigilo industrial. A enzima utilizada foi o coadjuvante tecnológico ACTIVA®GS (Ajinomoto, Brasil), cujo princípio ativo é a enzima transglutaminase.

2.2 Delineamento experimental

Os tratamentos com reduzido teor de sódio foram processados adotando-se o teor de sal no produto baseado em percentual do teor usado na formulação controle (formulação original da Saudali). Foram avaliados os efeitos conjuntos de dois fatores em dois níveis cada: concentração de transglutaminase (0,05 e 0,15) % (m/m) e concentração de cloreto de sódio (55 e 85) % do teor de sal usado formulação controle. Um delineamento composto de primeira ordem, com arranjo fatorial ($2^k + 1$), aplicando três repetições no ponto central, foi utilizado para obter cinco formulações (Tabela 1), além da formulação controle (C), totalizando oito unidades experimentais.

Tabela 1 – Valores das variáveis independentes avaliadas na formulação de presunto cozido.

Tratamento	% Transglutaminase (TG)	% Redução de NaCl (LS)***
TG5LS15	0,05	15
TG5LS45	0,05	45
TG10LS30*	0,10	30
TG15LS15	0,15	15
TG15LS45	0,15	45
C**	0,00	0

*Ponto central.

** Formulação original Saudali.

***Percentual de redução do teor de sal relativo à formulação controle.

Os presuntos foram processados sob acompanhamento de uma colaboradora especializada. Os produtos resultantes foram analisados quanto ao teor de cloreto de sódio, composição centesimal, parâmetros físico-químicos (pH, atividade de água, capacidade de retenção de água (CRA e cor), textura e estrutura da matriz, por microscopia eletrônica. As análises foram realizadas em triplicata.

2.3 Produção dos presuntos

A base da formulação dos presuntos foi fornecida pela empresa Saudali (Frigorífico Industrial Vale do Piranga S/A) e foi mantida sob sigilo industrial.

Brevemente, os presuntos foram elaborados com pernis suínos desossados em pedaços e misturados à salmoura em misturadeira industrial por 5 min. Os ingredientes da salmoura foram misturados em liquidificador industrial, em temperatura inferior a 12 °C, e adicionados aos poucos durante o processo de mistura. A enzima transglutaminase foi o último ingrediente adicionado durante a elaboração da salmoura. A massa obtida foi embalada à vácuo e mantida sob refrigeração por 24 h. Em seguida, as misturas embaladas foram colocadas manualmente em formas de aço inox de capacidade aproximada de 800 g.

O cozimento foi realizado em tacho a vapor, encamisado, em etapas, sendo: 60 min a 65 °C e 30 min a 80 °C. O cozimento escalonado foi realizado para garantir que as peças atingissem temperatura interna de 72 °C e que o processo de gelificação das proteínas ocorresse de forma adequada. Em seguida, foi feito resfriamento em banho de gelo por aproximadamente 40 min. Os presuntos foram mantidos sob refrigeração entre (4 a 8) °C até o momento das análises.

2.4 Métodos analíticos

Para a determinação de pH, atividade de água, composição centesimal e teor de cloreto de sódio, cerca de 50 g dos presuntos foram triturados para garantir a uniformidade das amostras durante as análises, armazenadas em sacos plásticos e mantidas sob refrigeração para manter a integridade das

amostras. As análises dos parâmetros tecnológicos – cor, CRA e textura – foram realizadas imediatamente após a abertura das embalagens para garantir a confiabilidade das medições.

2.4.1 Determinação de pH e atividade de água

Para determinação do pH, 10 g de amostra previamente homogeneizada foram transferidos para um béquer e adicionados 50 mL de água destilada, agitando com bastão de vidro até a formação de uma suspensão uniforme. As leituras foram realizadas utilizando um pHmetro de bancada (Metrohm, Suíça). A atividade de água foi determinada utilizando o equipamento Aqualab (Decagon, Pullman-WA).

2.4.2 Composição centesimal

A composição centesimal dos presuntos foi determinada conforme métodos oficiais da AOAC (AOAC, 2002), sendo avaliados: umidade, pelo método em estufa 105 °C; cinzas (resíduo mineral fixo) pelo uso de mufla a 550 °C e proteínas totais pelo método de micro Kjeldahl modificado utilizando fator de 6,25.

2.4.4 Determinação do teor de cloreto de sódio (NaCl)

O teor de sódio nos presuntos foi determinado pelo método titulométrico de Mohr, como descrito em Delgado-Pando et al., (2018). Aproximadamente 5,0 g de cada unidade experimental foi incinerada em mufla a 550 °C e as cinzas obtidas foram dissolvidas completamente em 1 mL de solução de ácido nítrico a 65 % ($v \cdot v^{-1}$). Essa solução foi neutralizada com carbonato de cálcio P. A. e o conteúdo foi transferido para balões volumétricos de 25 mL. Dessas soluções, alíquotas de 10 mL foram retiradas e tituladas com solução de nitrato de prata 0,1 N até o aparecimento de coloração vermelho-tijolo. Os resultados foram expressos em $g \cdot 100 g^{-1}$ de cloretos em NaCl.

2.4.3 Análise objetiva da cor

As análises foram conduzidas conforme descrito em Ramos e Gomide, (2017). Os presuntos foram fatiados em porções de 2 mm de espessura (quatro fatias para cada ensaio) e cada leitura foi a média dos resultados obtidos de três pontos distintos na mesma fatia. O equipamento utilizado foi um colorímetro portátil (Marca: Minolta, modelo CR-10, condições de medida: CIE, ângulo do observador 10°, iluminante D65; ângulo de iluminação 8° visão difusa), com sistema de análise de cor CIELAB, no qual L^* representa luminosidade, a^* representa o eixo vermelho-verde e b^* representa o eixo azul-amarelo. Na área de carnes e derivados, os eixos a^* e b^* são referidos como índice de vermelho e índice de amarelo, respectivamente.

Os dados foram utilizados para cálculo da saturação (C^*) e do ângulo de tonalidade (h^*) utilizando as equações 1 e 2:

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (1)$$

$$h^* = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (2)$$

A saturação está ligada à concentração do elemento corante e descreve a intensidade de uma cor. Por meio do ângulo de tonalidade, foi possível saber se as amostras possuíam ou não o mesmo tom.

A impressão de cores também foi calculada pela diferença de cor (ΔE^*) pela equação 3:

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (3)$$

que determina a diferença total de cor entre um padrão (nesse caso, a formulação original da Saudali) e os tratamentos.

2.4.5 Capacidade de retenção de água (CRA)

Para avaliação da capacidade de retenção de água dos produtos, foram determinadas a perda de peso por cozimento (PPC), a sinérese e a perda de peso por exsudação (PEX), conforme descrito em Neves et al. (2020). Para a avaliação da PPC, os produtos obtidos após a etapa de mistura foram pesados e

seu peso inicial foi comparado àqueles dos presuntos após o cozimento, sendo calculado o percentual de água perdida em relação ao peso inicial (% PPC). Para avaliação da sinérese, um conjunto de 10 fatias de 10 mm de espessura foi pesado, embalado a vácuo em sacos de náilon-polietileno e armazenados sob refrigeração (4 a 8) °C por sete dias. A cada dois dias a embalagem foi exposta à temperatura ambiente por 2 h para simular condições de estresse do produto e, após esse tempo, foi retornada à refrigeração. Após sete dias de armazenamento, as fatias foram retiradas da embalagem, secas com papel absorvente e novamente pesadas. O percentual de água perdida foi calculado em relação ao peso inicial do conjunto.

Para determinação da % PEX, cubos de (20 x 20 x 20) mm foram cortados, pesados e colocados entre dois papéis filtro. Com o auxílio de um texturômetro (Stable MicroSystems Texture Analyser, Reino Unido) e aplicando um teste de compressão uniaxial, os cubos foram pressionados a uma velocidade de $100 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$, até 40 % de sua altura original. Quando a deformação foi atingida, a pressão foi mantida por 15 s. Depois da prensagem, as amostras foram retiradas do papel filtro e novamente pesadas, sendo calculado o percentual de água perdida em relação ao peso inicial.

2.4.6 Avaliação instrumental da textura

2.4.6.1 Teste de cisalhamento

O método utilizado para o teste de cisalhamento foi a Warner-Bratzler Shear Force (WBSF), conforme descrito em Ramos e Gomide (2017). Uma lâmina WB (em aço inoxidável, espessura de 1,016 mm, com fenda triangular com ângulo de 60°) foi acoplada ao texturômetro (Stable MicroSystems Texture Analyser, Reino Unido) para avaliar a força de cisalhamento dos presuntos, relacionando-a a maciez. Pelo menos vinte amostras cúbicas de (20 x 20 x 20) mm foram submetidas ao cisalhamento completo, em um único ciclo, com velocidade de $200 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$ ($3,3 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$) e uma *trigger force* de 40 g. As amostras foram cisalhadas no seu centro longitudinal para evitar erros devido ao maior endurecimento que ocorre nas superfícies externas do corte.

Os valores da força de cisalhamento máxima obtidos, em unidade de força (N), foram usados para o cálculo do valor médio representativo dos presuntos.

2.4.6.2 *Análise do perfil de textura (TPA)*

A avaliação instrumental da textura dos produtos foi conduzida segundo metodologia descrita por Neves et al. (2020), consistindo em dois ciclos completos de compressão e descompressão, avaliando a força necessária para comprimir as amostras durante os dois ciclos. Pelo menos vinte amostras cúbicas de (20 x 20 x 20) mm foram comprimidas uniaxialmente, utilizando uma sonda de compressão, em dois ciclos no texturômetro (Stable MicroSystems Texture Analyser, Reino Unido), até 40 % de seu tamanho original. Não houve tempo de descanso entre os ciclos de compressão. A curva de deformação com o tempo foi obtida a uma velocidade de compressão de $200 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$ ($3,3 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$), sendo obtidas quatro características de textura (RAMOS; GOMIDE, 2017): dureza (N), mastigabilidade ($\text{N} \cdot \text{mm}^{-1}$), coesividade e elasticidade (mm).

2.4.7 *Análise microestrutural*

As análises foram realizadas no Núcleo de Microscopia e Microanálise da UFV.

2.4.7.1 *Análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV)*

Amostras de presuntos foram cortadas em cubos (0,5 x 0,5 x 0,5) cm e fixadas em solução 2,5 % ($\text{v} \cdot \text{v}^{-1}$) de glutaraldeído em tampão cacodilato de sódio ($0,05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ e pH 7,2) por 2 h, e então, tratadas com solução tetróxido de ósmio 1 % ($\text{m} \cdot \text{v}^{-1}$) em tampão cacodilato de sódio ($0,05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ e pH 7,2) à temperatura ambiente durante 2 h. As amostras foram em seguida lavadas três vezes em tampão cacodilato ($0,05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ e pH 7,2), desidratadas em uma série de etanol graduado (70, 80, 90 e 95) % ($\text{v} \cdot \text{v}^{-1}$) e três vezes em etanol anidro. As amostras desidratadas foram secas em secador de ponto crítico (CPD Bal-tec 030) com CO_2 líquido e cobertas com ouro (aproximadamente 15 nm de espessura) em metalizador (Quorum, Q150RS.) (RIBEIRO et al., 2018).

Finalizadas as etapas de preparo, foi então examinado em um microscópio eletrônico de varredura (Leo 1430VP, Carl Zeiss, Alemanha) com uma tensão de aceleração de 20 kV e em uma magnitude de 600 vezes.

2.4.9.2 Microscopia confocal de varredura a laser

Os procedimentos para microscopia confocal foram conduzidos conforme descrito em Bascuas et al., (2021) com algumas modificações. Fragmentos das amostras de presunto foram incubadas em uma mistura de Vermelho do Nilo $2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ em metanol e isotiocianato de fluoresceína (FITC) $2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ em PBS ($0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ e pH 7,2) por 15 min no escuro. Em seguida as amostras foram examinadas em microscópio confocal de varredura a laser (Zeiss LSM 510 Meta). O Vermelho do Nilo foi usado para marcar gordura e foi excitado com laser Hélio/Neônio 543 e detectado acima de 585 nm. O FITC, para identificação de proteínas, foi excitado com laser Argônio 488 e detectado entre (505 e 550) nm.

2.5 Análises estatísticas

As unidades experimentais corresponderam às diferentes formulações avaliadas, ou seja, os tratamentos (Tabela 1), além do controle experimental (formulação original). Os dados relativos aos efeitos estudados foram apresentados como as médias e desvio padrão e os tratamentos foram comparados entre si por meio de uma Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey, considerando um nível de significância de 10 %. Posteriormente, os tratamentos foram comparados ao controle pelo teste de Dunnett a um nível de significância de 10 %.

Finalmente, para descrever se há influência de cada fator (% TG e % LS) sobre os efeitos cor, CRA e perfil de textura, utilizou-se o Diagrama de Pareto e a significância dos parâmetros para cada nível de resposta foi confirmada pela Análise de Variância (ANOVA), avaliando-se o ajuste da regressão um nível de significância de 10 %.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o pacote estatístico Minitab, versão 17.1.0 (LEAD Technologies, Inc, USA).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Parâmetros físico-químicos

Todos os presuntos formulados apresentaram valores semelhantes de pH, atividade de água, umidade e proteínas (Tabela 2), ou seja, a redução de NaCl e adição de transglutaminase não influenciaram esses parâmetros. A relação umidade/proteína para todas as formulações foi de, em média, $(3,7 \pm 0,2)$, o que está de acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2000), que determina um valor máximo de 5,35, além de um teor mínimo de proteínas de 14 % em base seca. Portanto, todos os produtos elaborados estavam de acordo com o Padrão de Identidade e Qualidade para presuntos cozidos (BRASIL, 2000).

Tabela 2 – Valores de pH, atividade de água (Aw), umidade, teor (% em base seca) de proteínas e cinzas em presuntos cozidos.

Tratamento	pH	Aw	Umidade	Proteínas	Cinzas
TG5LS15	6,24 ± 0,1	0,98 ± 0,00	75,6 ± 0,9	19,6 ± 1,2	2,9 ± 0,1
TG5LS45	6,26 ± 0,03	0,98 ± 0,00	74,5 ± 0,8	21,5 ± 0,5	2,3 ± 0,1
TG10LS30	6,34 ± 0,06	0,98 ± 0,00	74,7 ± 0,9	20,6 ± 0,5	2,6 ± 0,1
TG15LS15	6,31 ± 0,04	0,98 ± 0,00	75,6 ± 0,3	20,1 ± 0,7	3,0 ± 0,1
TG15LS45	6,32 ± 0,02	0,98 ± 0,00	74,5 ± 0,6	20,6 ± 1,1	2,4 ± 0,1
C	6,33 ± 0,02	0,98 ± 0,00	75,8 ± 0,3	18,6 ± 0,2	3,2 ± 0,0

O pH do produto cárneo pode prognosticar a qualidade tecnológica e sensorial da matéria prima. Delgado-Pando *et al.* (2018) também concluíram que o pH de presuntos cozidos não é afetado pela redução da concentração de NaCl.

O cloreto de sódio é o sal mais comumente utilizado no processamento de carnes por, entre outros motivos, sua capacidade de reduzir a atividade de água, contribuindo para a conservação e estabilidade microbiológica dos produtos (INGUGLIA *et al.*, 2017; RUUSUNEN; PUOLANNE, 2005; VIDAL *et al.*, 2019). Esse comportamento foi observado por Delgado-Pando *et al.* (2018) em presuntos cozidos formulados com 1,2 % m/m de NaCl, os quais possuíam maior Aw quando que os produtos com concentração de NaCl de 2,0 %. Entretanto,

neste trabalho a redução de NaCl nas formulações não afetou a Aw dos presuntos.

O teor de cinzas está diretamente relacionado à presença de sais inorgânicos, incluindo cloretos, e por isso esse parâmetro diminuiu gradativamente com a redução da concentração de cloreto de sódio das formulações, conforme era esperado. Mesmo comportamento foi observado por Delgado-Pando *et al.* (2018), Campagnol *et al.* (2017) e Atilgan & Kilic (2017).

A redução no conteúdo de NaCl foi também confirmada pela quantificação desse sal ($\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) nos presuntos (Tabela 3). Considerando que o produto original possui 1,9 % (m/m) de NaCl, as concentrações (1,5; 1,3; 1,0) % (m/m) equivalem a uma redução de (15, 30, 45) % em relação ao produto original, respectivamente.

Tabela 3 – Teor % (m/m) de cloreto de sódio nos presuntos cozidos formulados.

Tratamento	Cloreto de sódio
TG5LS15	1,5 ± 0,1 ^{a, B}
TG5LS45	1,0 ± 0,1 ^{c, C}
TG10LS30	1,3 ± 0,1 ^{b, D}
TG15LS15	1,5 ± 0,1 ^{a, E}
TG15LS45	1,0 ± 0,1 ^{c, F}
C	1,9 ± 0,0 ^A

Médias com mesma letra minúscula são significativamente iguais pelo teste Tukey ($p < 0,10$).

Médias com mesma letra maiúscula são significativamente iguais em relação ao controle (C) pelo teste de Dunnett ($p < 0,10$).

Produtos alimentícios com redução mínima de 25 % no conteúdo de sódio quando comparados a um alimento de referência podem ser considerados reduzidos em sódio, conforme previsto na RDC nº 54 da ANVISA (BRASIL, 2012). Portanto, os presuntos elaborados conforme as formulações dos tratamentos TG10LS30, TG5LS45 e TG15LS45, com redução de (30, 45 e 45) % de NaCl, respectivamente, podem ser considerados produtos reduzidos em sódio em relação à formulação original da Saudali. O teor de sódio nesses produtos está também próximo das metas estipuladas pela Associação Brasileira das Indústrias

de Alimentação (ABIA) juntamente com o Ministério da Saúde. No documento, foi estabelecido que as indústrias cárneas deveriam formular produtos com teor máximo de sódio de 1,16 g/100 g até o ano de 2017, metas que, até o momento, não foram atingidas pela maioria das indústrias processadoras de produtos cárneos no país (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

3.2 Parâmetros tecnológicos e sensoriais: Capacidade de Retenção de Água (CRA) e Análise Instrumental de Cor

A Capacidade de Retenção de Água (CRA) consiste na capacidade da carne de reter água mediante a aplicação de forças externas, como aquelas decorrentes do cozimento, corte e prensagem (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013). A baixa retenção de água em presuntos cozidos implica em perdas econômicas, uma vez que compromete o rendimento, suculência e consistência dos produtos. A CRA dos produtos é inversamente proporcional às perdas de água ocorridas durante o processamento as quais, neste trabalho, foram avaliadas por meio da perda de peso por cozimento (% PPC), perda por exsudação (% PEX) e sinérese (Tabela 4).

Tabela 4 – Perda de peso por cozimento (% PPC), perda por exsudação (% PEX) e sinérese em presuntos cozidos formulados com reduzido teor de cloreto de sódio e acrescidos de transglutaminase.

Parâmetro	PPC (%)	PEX (%)	Sinérese (%)
TG5LS15	6,69±0,21 ^{b, A}	0,98±0,23 ^{a, A}	11,14±0,63 ^{a,b, A}
TG5LS45	7,46±1,10 ^{a,b, B}	0,89±0,14 ^{a, A}	11,85±0,29 ^{a, B}
TG10LS30	6,85±1,46 ^{b, A}	1,10±0,29 ^{a, A}	9,04±1,54 ^{b, A}
TG15LS15	7,68±0,81 ^{a,b, D}	1,02±0,23 ^{a, A}	10,99±1,66 ^{a,b, A}
TG15LS45	8,42±0,43 ^{a, E}	0,86±0,17 ^{a, A}	10,89±3,16 ^{a,b, A}
C	5,87±0,69 ^A	0,98±0,18 ^A	9,41±1,22 ^A

Médias com mesma letra minúscula são significativamente iguais pelo teste Tukey ($p < 0,10$). Médias com mesma letra maiúscula são significativamente iguais em relação ao controle (C) pelo teste de Dunnett ($p < 0,10$).

O cozimento é o processo mais determinante em relação à perda de água em produtos cárneos (RAMOS; GOMIDE, 2017). Em um estudo conduzido por Lesiow et. al. (2017) foi verificado que esta enzima (0,1 % m/m) não foi capaz de impedir as perdas de água por cozimento em salsichas comuns. No presente trabalho, a redução em 45 % de NaCl associada à adição de maior concentração de enzima (tratamento TG15LS45) levou a maiores perdas de água nesse processo comparado ao observado nos presuntos formulados com menores reduções de NaCl e menores concentrações de enzima (tratamentos TG5LS15 e TG10LS30). Estes, inclusive, perderam quantidades de água semelhantes à formulação original durante o cozimento. Nesse caso, a adição de maiores quantidades de transglutaminase (0,15 %) poderia ter induzido a formação de um gel mais rígido, dificultando as interações água-proteína na matriz alimentar (LESIOW et. al., 2017; SANTHI et al., 2017). Entretanto, pelo teste de Pareto a concentração da enzima não influenciou de forma significativa este efeito. Por outro lado, Em um estudo conduzido por Lesiow et. al. (2017) foi avaliada a perda por cozimento em salsichas adicionadas de transglutaminase (0,1 % m/m) e os autores também verificaram que esta enzima não foi capaz de impedir as perdas de água nos produtos elaborados.

Esse fato é confirmado pelo aumento da % PPC dos tratamentos quando comparados ao controle (exceto para TG5LS15). A diminuição da concentração de NaCl em 45 %, nos tratamentos TG5LS45 e TG15S45 levou a um aumento da perda por cozimento em relação ao controle, mesmo com o aumento da concentração de transglutaminase. Além disso, verificou-se que no tratamento TG15LS15 houve perda significativa de água no cozimento, mesmo com redução de somente 15 % de NaCl. Em contrapartida, reduções de NaCl entre (15 e 30) % e concentrações de transglutaminase entre (0,05 e 0,10) %, no caso dos tratamentos TG5LS15 e TG10LS30, tiveram perdas de água no cozimento semelhantes ao produto controle. Por isso, pode ser possível obter formulações para os presuntos reduzidos em sódio com características tecnológicas semelhantes ao produto original, nessas concentrações de TG e NaCl. Atilgan e Kilic (2017) observaram um efeito negativo da adição de transglutaminase em relação à perda de água em produtos cárneos reestruturados reduzidos em NaCl.

A perda de água nos presuntos com teor reduzido de sódio evidencia a importância do sal para a manutenção da CRA nesses produtos, mesmo que essa associação, pelo teste de Pareto, não seja significativa. O sal aumenta a solubilidade das proteínas da carne pelo aumento da força iônica do meio (*salting in*), otimizando as interações água-proteína e influenciando positivamente na CRA dos presuntos cozidos (FENG et al., 2018; GOMIDE et al., 2013). A solubilização das proteínas da carne leva à maior formação de exsudato, aumentando a exposição dos substratos das reações de ligação cruzada catalisadas pela transglutaminase (JIRA et al., 2017; ROMERO DE ÁVILA et al., 2010). A ação da TG, em menores concentrações, manteve a CRA devido à retenção das moléculas de água entre as ligações cruzadas proteína-proteína (FENG et al., 2018; ROMERO DE ÁVILA et al., 2010).

A perda por exsudação (% PEX) e sinérese são parâmetros importantes para a indústria de carnes do ponto de vista tecnológico, sensorial e econômico, pois se referem à perda de água dos produtos durante o armazenamento, fatiamento e embalagem, situações em que o produto está exposto ao consumidor. A perda de água pós-cozimento pode gerar diminuição no rendimento durante o fatiamento e causar má impressão ao consumidor (PAULA et al., 2019; RAMOS; GOMIDE, 2017). Neste trabalho, a redução do teor de NaCl nas formulações, ou a adição de transglutaminase, não causaram alteração na % PEX, sendo este parâmetro semelhante entre os tratamentos e em relação ao controle. Da mesma forma, Delgado-Pando et al. (2018), ao elaborar presuntos com concentrações reduzidas de NaCl (abaixo de 2,0 %), também concluíram que a maior parte da perda de água nesses produtos é proveniente do cozimento e, por isso, a perda por exsudação não é significativa. Segundo os mesmos autores, a perda de água influencia negativamente na suculência dos presuntos.

Campagnol et al. (2017) observaram perda de água por exsudação em mortadelas tipo Bologna com 50 % de redução de NaCl. Nesse caso, a adição de 1 % m/m de transglutaminase auxiliou na manutenção da água nos produtos. O mesmo foi concluído por Martelo-Vidal et al. (2016a) em produtos reestruturados de pescados reduzidos em 30 % de NaCl e reforçaram a função da ação da

transglutaminase na estabilização da CRA em produtos cárneos em geral, mesmo durante o armazenamento.

A quantificação da sinérese dos produtos permitiu avaliar a estabilidade do gel formado durante o fatiamento e embalagem. Nesse caso, os presuntos elaborados com menor teor de sódio e de transglutaminase (TG5LS45) tiveram maior perda de água que aqueles reduzidos em 30 % e adicionados de 0,1 % da enzima (TG10LS30), e também que o controle. Esses dados, porém, não foram suficientes para confirmar a existência de efeito positivo significativo da presença do NaCl e da enzima na estabilidade dos presuntos no pós-processamento. Da mesma forma, Haddad *et. al.* (2018) concluíram que diferentes níveis de NaCl (0; 0,3; 1,0; 1,7; 2,0) % não afetam a sinérese em produtos cárneos suínos reestruturados.

Outro importante efeito considerado pelo mercado consumidor na compra de produtos cárneos é a cor, essencial para a aceitação inicial do produto. A análise objetiva da cor confere evidências imparciais do efeito dos tratamentos sobre este parâmetro (RAMOS; GOMIDE, 2017). Neste trabalho, a redução de NaCl e a adição de transglutaminase não tiveram efeito significativo ($p < 0,10$) no índice de de cromaticidade a^* (vermelho) dos produtos (Tabela 5), embora os presuntos elaborados com menor teor de sódio e de enzima tenham apresentado índice superior ao dos presuntos originais (controle). Esse mesmo tratamento gerou produtos com índice b^* (amarelo) semelhante ao do presunto controle, diferentemente dos demais, os quais apresentaram valores superiores desse índice, ou seja, eram mais amarelados (Tabela 5). Dessa forma, verificou-se associação negativa da adição de transglutaminase com os valores de b^* , assim como na interação entre ambos os fatores.

Tabela 5 – Parâmetros instrumentais de cor em presuntos cozidos com redução de cloreto de sódio e acrescidos de transglutaminase.

Tratamento	Cor Instrumental				
	a*	b*	L*	C*	h*
TG5LS15	10,0 ± 0,2 ^{a,A}	8,2 ± 0,4 ^{a,b,B}	67,0 ± 11,0 ^{a,A}	12,9 ± 0,1 ^{a,A}	39,5 ± 1,8 ^{a,b, A}
TG5LS45	10,8 ± 0,7 ^{a,B}	7,6 ± 0,1 ^{c,A}	63,0 ± 1,5 ^{a,A}	13,2 ± 0,5 ^{a,B}	35,0 ± 1,8 ^{c, A}
TG10LS30	9,9 ± 0,7 ^{a,A}	8,5 ± 0,3 ^{a,C}	62,3 ± 1,4 ^{a,A}	13,1 ± 0,6 ^{a,C}	40,7 ± 1,7 ^{a, A}
TG15LS15	10,5 ± 0,4 ^{a,A}	7,9 ± 0,1 ^{b,c,D}	60,9 ± 0,5 ^{a,A}	13,1 ± 0,2 ^{a,D}	37,0 ± 1,4 ^{b,c, A}
TG15LS45	10,4 ± 1,1 ^{a,A}	8,6 ± 0,1 ^{a,E}	61,8 ± 0,4 ^{a,A}	13,5 ± 0,8 ^{a,E}	39,8 ± 3,1 ^{a,b, A}
C	9,3 ± 0,3 ^A	7,4 ± 0,2 ^A	60,6 ± 1,9 ^A	11,9 ± 0,2 ^A	38,5 ± 1,5 ^A

Médias com mesma letra minúscula são significativamente iguais pelo teste Tukey ($p < 0,10$).

Médias com mesma letra maiúscula são significativamente iguais em relação ao controle (C) pelo teste de Dunnett ($p < 0,10$).

É importante salientar que a cor é um atributo tridimensional influenciado pela luminosidade (L*), saturação (C*) e tonalidade (h*) e, por isso, variações nos valores de a* e b* não descrevem isoladamente as diferenças de cor dos produtos (RAMOS; GOMIDE, 2017). As diferentes formulações não apresentaram diferenças na luminosidade (L*), e houve um aumento no índice de saturação C*, portanto a cor tornou-se mais intensa (RAMOS; GOMIDE, 2017) nos presuntos formulados em relação ao controle, exceto para o tratamento com menor redução de sódio e menor concentração de enzima (TG5LS15). Isso significa que alterações nas concentrações de NaCl e de transglutaminase teriam tornado a cor dos presuntos mais intensa, o que foi confirmado pelo teste de Pareto. De forma geral, a redução de NaCl levou a um aumento do índice de saturação, assim como a presença da enzima, mas não houve associação entre esses fatores. Haddad et al. (2018) e Paula et al. (2019) também observaram maiores valores de C* em lombo canadense e apresuntados, respectivamente, com menores teores de sal, confirmando o efeito significativo do NaCl neste parâmetro.

O ângulo de tonalidade (h*), por sua vez, está relacionado à presença do elemento corante. Embora tenha sido observada certa heterogeneidade entre os presuntos dos diferentes tratamentos (Tabela 5), não houve diferença relevante entre eles e o produto controle. Isso significa que os presuntos com teor reduzido

de sódio elaborados neste trabalho possuem tonalidade semelhante ao produto original, sendo este um fator positivo para sua imediata aceitação pelo consumidor. É importante salientar que efeito significativo da interação entre os fatores (ou seja, ambos os fatores em conjunto podem alterar o atributo h^* dos presuntos) foi encontrado ao realizar teste de Pareto, entretanto não há acordo desses resultados com outros estudos encontrados (HADDAD et al., 2018; NEVES et al., 2020; PAULA et al., 2019).

A impressão global de cores pode ser obtida por meio da diferença total de cor (ΔE^*), índice que correlaciona os parâmetros objetivos de cor (a^* , b^* e L^*) para auxiliar na compreensão sobre a percepção sensorial da cor dos produtos pelo consumidor, quando comparados a um produto controle (RAMOS; GOMIDE, 2017). Neste trabalho, o índice dos presuntos produzidos com baixo teor de sódio e com adição de transglutaminase variaram de 2,5 a 3,9 (Tabela 6), indicando que as diferenças quantificadas não necessariamente serão evidentes ao consumidor (RAMOS; GOMIDE, 2017). Análises sensoriais serão importantes para comprovar a aceitação do produto no mercado em relação ao produto original.

Tabela 6 – Diferença total de cor (ΔE^*) em presuntos cozidos elaborados com transglutaminase e redução de cloreto de sódio.

Tratamento	ΔE^*
TG5LS15	2,5 ± 0,4
TG5LS45	3,9 ± 1,4
TG10LS30	2,7 ± 1,6
TG15LS15	2,8 ± 0,9
TG15LS45	2,7 ± 2,0

3.3 Avaliação Instrumental da Textura

Em geral, a elasticidade (relacionado ao grau em que o produto deformado pela compressão entre os dentes consegue retornar à sua condição inicial) (RAMOS; GOMIDE, 2017) dos presuntos não foi influenciada pelas alterações nas formulações, ao contrário do cisalhamento, dureza e

mastigabilidade (Tabela 7), os quais foram diretamente influenciados pela concentração de transglutaminase.

Tabela 7 - Parâmetros de textura dos presuntos elaborados com reduzido teor de cloreto de sódio e acrescidos de transglutaminase.

Tratamento	Elasticidade	Cisalhamento (N)	Dureza (N)	Mastigabilidade (N·mm ⁻¹)
TG5LS15	0,86 ± 0,03 ^{a, A}	20,8 ± 1,1 ^{b, c, A}	46,7 ± 3,5 ^{a, b, B}	23,3 ± 1,4 ^{b, A}
TG5LS45	0,85 ± 0,01 ^{a, A}	18,8 ± 2,0 ^{c, A}	43,1 ± 1,1 ^{b, C}	23,3 ± 0,9 ^{b, A}
TG10LS30	0,86 ± 0,01 ^{a, A}	25,8 ± 4,0 ^{a, b, B}	45,2 ± 2,6 ^{a, b, D}	26,3 ± 2,7 ^{a, b, B}
TG15LS15	0,87 ± 0,01 ^{a, A}	19,7 ± 0,9 ^{b, c, A}	49,2 ± 1,6 ^{a, E}	28,4 ± 2,3 ^{a, C}
TG15LS45	0,87 ± 0,02 ^{a, A}	29,7 ± 5,0 ^{a, C}	42,8 ± 1,6 ^{b, F}	25,1 ± 2,3 ^{a, b, A}
C	0,86 ± 0,01 ^A	20,2 ± 1,2 ^A	36,7 ± 4,2 ^A	21,4 ± 2,2 ^A

Médias com mesma letra minúscula são significativamente iguais pelo teste Tukey ($p < 0,10$). Médias com mesma letra maiúscula são significativamente iguais em relação ao controle (C) pelo teste de Dunnett ($p < 0,10$).

O teste de cisalhamento é o método utilizado para medir a maciez da carne, requisito de escolha dos consumidores. A força de cisalhamento representa a força necessária no ato de mastigar, sendo que menores valores de cisalhamento indicam produtos cárneos com textura mais macia (RAMOS; GOMIDE, 2017). Esse parâmetro está diretamente relacionado à CRA desses produtos. Neste trabalho, a adição de transglutaminase em concentrações superiores a 0,10 %, assim como reduções de NaCl na ordem de 45 %, parecem prejudicar a maciez dos presuntos. Entre os tratamentos, o maior cisalhamento foi observado nos presuntos formulados com maior redução de NaCl (45 %) e maior concentração de transglutaminase (0,15 %) (TG15LS45), estatisticamente semelhante aos presuntos do tratamento do ponto central (TG10LS30) e superiores ao do produto controle. Essa mesma redução em 45 % implicou no aumento da força de cisalhamento de TG15LS45 em relação à TG15LS15, quando há 0,15 % de TG. Além disso, também houve aumento dessa força com o aumento da concentração de TG entre os tratamentos TG5LS45 e TG15LS45, reduzidos em 45 % de NaCl. É importante notar que, houve um aumento do cisalhamento para o tratamento TG10LS30 em relação à TG5LS45, mesmo com

menor redução de NaCl (30 %), mas com maior concentração da enzima (0,10 %). Com isso, entende-se que a adição de transglutaminase em maiores concentrações (acima de 0,10 %), assim como reduções de NaCl na ordem de 45 %, podem interferir na maciez dos presuntos e comprometer a aceitação pelo consumidor.

O cisalhamento nos produtos cárneos é comprometido com a redução de NaCl nas formulações (DESMOND; VASILOPOULOS, 2019; INGUGLIA et. al., 2017), o que foi confirmado neste estudo pelo teste de Pareto. A redução de NaCl em 45 % tornou os presuntos menos macios, prejudicando a sua qualidade tecnológica. Como já comentado, o NaCl tem relevante papel na CRA dos produtos cárneos e as perdas significativas de água durante o cozimento dos presuntos afetou a maciez e comprometeu a qualidade tecnológica desses produtos.

Do mesmo modo, a adição de transglutaminase foi relevante e comprometeu negativamente a maciez dos presuntos. Todavia, a interação entre os fatores foi significativa, ou seja, a adição da transglutaminase em menores concentrações compensou os efeitos negativos causados pela redução desse sal, levando a presuntos com características de textura semelhantes ao produto original. Assim, os presuntos elaborados com 45 % menos NaCl, mas com menor concentração da enzima (tratamento TG5LS45) apresentaram maciez semelhante ao presunto original. O mesmo comportamento foi verificado para os presuntos reduzidos em apenas 15 % de NaCl (tratamentos TG5LS15 e TG15LS15). A transglutaminase, ao catalisar as ligações cruzadas entre as proteínas da carne, gera uma rede tridimensional proteica capaz de interagir com as moléculas de água, retendo-as e estabilizando o sistema, mesmo quando há redução significativa de NaCl. Logo, é possível inferir que a transglutaminase, em concentrações próximas a 0,05 %, foi capaz de manter a força do gel proteico formado, obtendo-se produtos mais estáveis e com maciez semelhante ao produto controle. Martelo-Vidal et al. (2016a) verificaram que as propriedades de textura em produtos cárneos reestruturados são afetadas positivamente pela adição de transglutaminase, e reiteraram sobre a relevância em determinar concentrações ótimas de enzima para produtos cárneos com teor reduzido de

NaCl, para que tenham características tecnológicas e sensoriais semelhantes aos dos produtos originais.

Com relação à dureza, entendida como a força necessária para comprimir uma substância entre os dentes, todos os presuntos formulados tiveram maior dureza que o produto original. A relevância do NaCl em manter a maciez dos presuntos cozidos foi confirmada pelo teste de Pareto, verificando uma associação negativa significativa da redução desse sal com a dureza dos produtos. Delgado-Pando *et. al.* (2018) também observaram que a redução de NaCl a 1,2 e 0,8 % aumentou significativamente a dureza de presuntos cozidos, em relação aos formulados com 2 % de sal. Em produtos cárneos cozidos reduzidos em NaCl, o aumento da dureza é diretamente atribuído à menor CRA dos produtos (DELGADO-PANDO *et al.*, 2018; HORITA *et al.*, 2014). A redução do teor de NaCl diminui a solubilidade das proteínas da carne, levando a maiores perdas de água no processamento, obtendo produtos com maior dureza, ou seja, com textura menos macia (DESMOND; VASILOPOULOS, 2019; RUUSUNEN; PUOLANNE, 2005).

Entretanto, constatou-se uma menor dureza nos presuntos elaborados com maior redução de sal (tratamentos TG5LS45 e TG15LS45) em relação ao tratamento com menor redução de sal e maior concentração de enzima (TG15LS15). A maior dureza dos presuntos do tratamento TG15LS15 pode ser devido à formação de géis muito rígidos pela enzima, os quais dificultam a interação das proteínas com as moléculas de água, tornando os produtos menos macios, não equiparáveis à qualidade tecnológica do produto original. Campagnol *et. al.* (2017) observaram redução na dureza de mortadelas tipo Bologna produzidas com redução de 50 % de NaCl e na presença da transglutaminase a 1 % m/m.

Apesar de diversos estudos demonstrarem que a transglutaminase interfere positivamente na dureza de produtos cárneos (AMIRDIVANI *et. al.*, 2018; LESIOW *et. al.*, 2017; MARTELO-VIDAL *et. al.*, 2016b; ROMERO DE ÁVILA *et. al.*, 2010), os resultados desse trabalho concluíram que esta enzima não foi capaz de melhorar esse atributo de textura, mas, em alguns casos, sua presença foi importante para não comprometer esse atributo com a redução do sal. A

interferência não significativa da transglutaminase, nesse caso, pode estar relacionada à baixa CRA dos presuntos reduzidos em NaCl, que pode atrapalhar a estabilização da rede de ligação cruzada proteína-proteína, catalisada pela enzima, já que há menor interação água-proteína (LESIOW *et. al.* , 2017).

Por fim, a mastigabilidade é um atributo secundário da textura e representa, em termos sensoriais, o número de mastigadas necessário para deixar o alimento em condições de ser deglutida, sendo o produto da dureza e elasticidade, com alta correlação positiva com a maciez (RAMOS; GOMIDE, 2017). Neste caso, os presuntos elaborados com menor concentração da enzima (tratamentos TG5LS15 e TG5LS45) tiveram valores de mastigabilidade inferiores àqueles presuntos elaborados pelos tratamentos do ponto central (TG10LS30) e de TG15LS15. Estes últimos, inclusive, tiveram mastigabilidade também superior ao presunto original. Isso se refletiu na influência positiva significativa da transglutaminase na mastigabilidade dos presuntos pelo teste de Pareto, indicando que a adição de maiores concentrações da enzima aumenta a mastigabilidade dos presuntos.

Portanto, a textura de presuntos cozidos é influenciada tanto pela presença da transglutaminase quanto do NaCl, de diferentes formas. As relações negativas encontradas em relação à adição da enzima e redução de NaCl na maciez desses produtos devem ser levadas em consideração para não comprometer a qualidade tecnológica dos presuntos. Menores concentrações de transglutaminase (na ordem de 0,05 %) e reduções de NaCl abaixo de 45 % parecem não prejudicar os atributos de textura relacionados à maciez, com relação ao produto original. Embora a comparação de dados instrumentais seja essencial do ponto de vista tecnológico, ainda há de se verificar se essas alterações serão percebidas do ponto de vista do consumidor, o que deve ser realizado por um painel de análise sensorial comparativo.

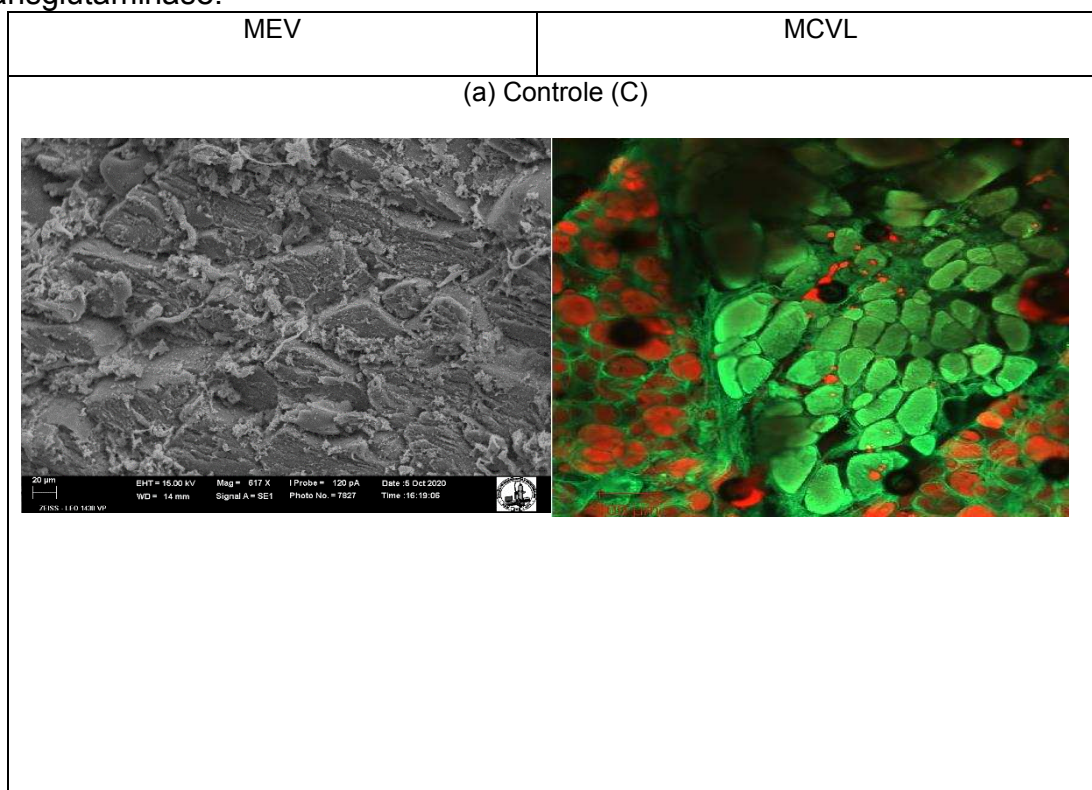
3.4 Análise Microestrutural

Da mesma forma que a análise das propriedades tecnológicas dos presuntos cozidos é importante para definição de novas formulações, é

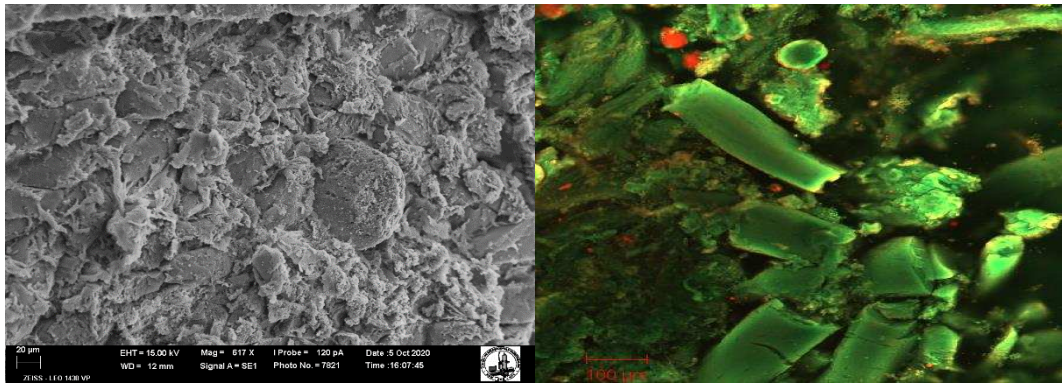
fundamental considerar a microestrutura da matriz alimentar ao se trabalhar com esses alimentos, uma vez que as interações água-proteína e proteína-gordura interferem nos atributos de textura relacionados à maciez dos produtos cárneos (E. M. RAMOS; GOMIDE, 2017).

Neste trabalho, os presuntos elaborados com as menores concentrações de transglutaminase (tratamentos TG5LS15 e TG5LS45) apresentaram menor integridade estrutural observada ao MEV, o que pode estar associada a uma menor interação entre as proteínas miofibrilares, com desprendimento das estruturas proteicas que aparecem dispersas em toda a superfície da matriz alimentar (Figura 1). Isso pode ser percebido também pela MCVL. A dispersão das estruturas nas cores vermelho e verde por toda a estrutura indica a baixa interação proteína-gordura, já que o gel proteico formado é instável. As micrografias de TG5LS15 e TG5LS45 assemelham-se às do controle, comprovando que a presença da transglutaminase minimiza os efeitos estruturais negativos causados pelos menores teores de NaCl.

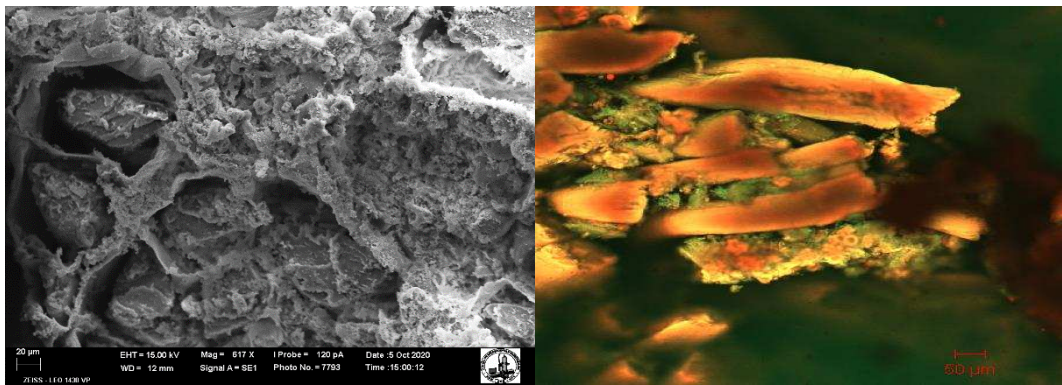
Figura 1 – Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e de microscopia confocal de varredura à laser (MCVL) dos presuntos cozidos elaborados com teores reduzidos de cloreto de sódio e acrescidos de transglutaminase.



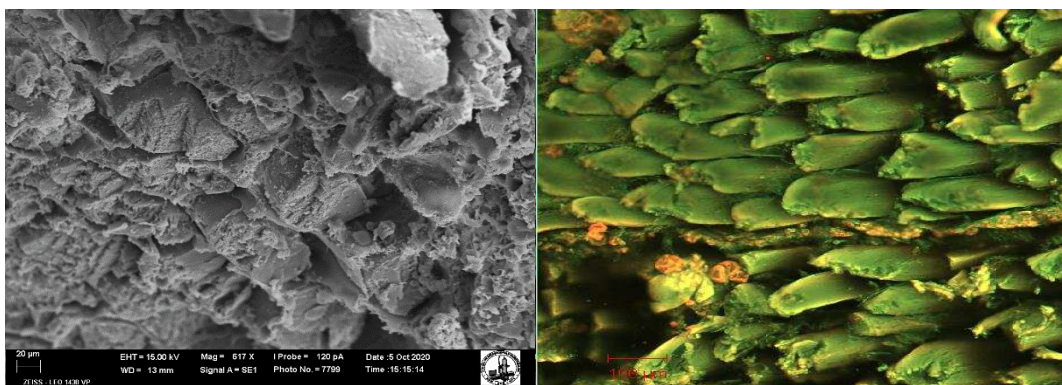
(b) TG5LS15



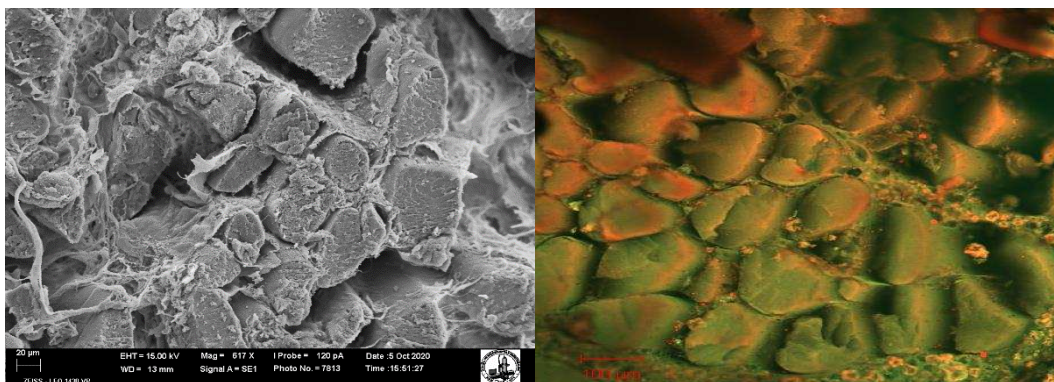
(c) TG5LS45



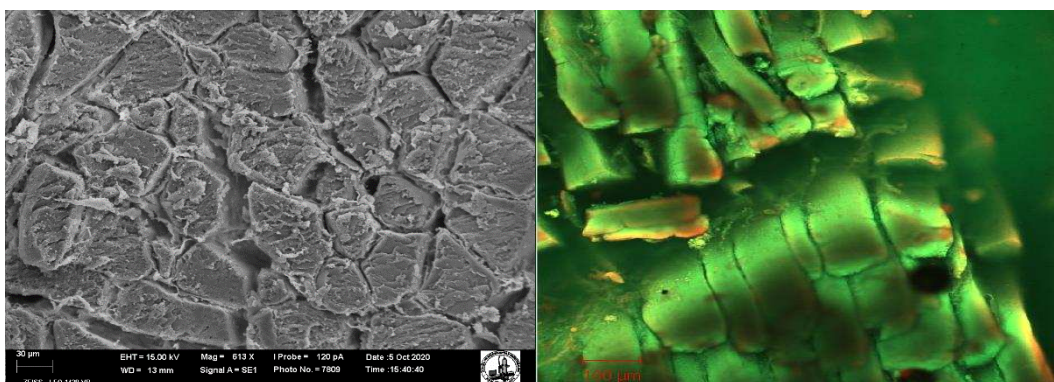
(d) TG10LS30



(d) TG15LS15



(f) TG15LS45



Em contrapartida, os presuntos elaborados com maiores concentrações de transglutaminase (tratamentos TG15LS15 e TG15LS45) apresentaram um gel proteico mais articulado e organizado (MEV) e com intensificação das interações proteína-gordura (MCVL) na matriz do alimento. Esses resultados decorrem do maior número de ligações covalentes cruzadas realizadas pela enzima, formando uma rede tridimensional sólida e uniforme. Essa estrutura organizada foi também observada a partir dos presuntos elaborados com as concentrações medianas de enzima e sal (tratamento TG10LS30), para a qual infere-se também que haja melhor interação proteína-água, primordial para estabilização da estrutura e manutenção do perfil de textura dos presuntos cozidos.

4 CONCLUSÃO

O uso da enzima transglutaminase, nas menores concentrações testadas neste trabalho (0,05 % m/m), compensou parcialmente os problemas tecnológicos causados pela redução de NaCl na fabricação de presuntos cozidos. Concentrações mais altas dessa enzima (acima de 0,10 %), assim como reduções de NaCl na ordem de 45 %, podem comprometer negativamente a CRA e conseqüentemente os atributos de textura relacionados à maciez dos presuntos. Estudos futuros deverão relacionar essas alterações ao perfil sensorial dos presuntos por meio da avaliação por consumidores, o que é essencial ao entendimento sobre os limites de detecção e sobre a aceitação da maciez desses produtos.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMIRDIVANI, S. *et al.* Effects of transglutaminase on health properties of food products. **Current Opinion in Food Science**, v. 22, p. 74–80, 2018.

ATILGAN, E.; KILIC, B. Effects of microbial transglutaminase, fibrinex and alginate on physicochemical properties of cooked ground meat with reduced salt level. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 2, p. 303–312, 2017.

BASCUAS, S. *et al.* Structural and sensory studies on chocolate spreads with hydrocolloid-based oleogels as a fat alternative. **Lwt**, v. 135, n. September 2020, p. 110228, 2021.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 20 de 31 de julho de 2000. Aprova os Regulamentos Técnicos de Intencidade e Qualidade de Almôndega, de Apresuntado, de Fiambre, de Hamburger, de Kibe, de Presunto Cozido e de Presunto.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2000.

BRASIL. **Resolução RDC nº 54 - Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar** Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasil, 2012. Disponível em:
<https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2012/rdc0054_12_11_2012.html>

CAMPAGNOL, P. C. B. *et al.* A combined approach to decrease the technological and sensory defects caused by fat and sodium reduction in Bologna-type sausages. **Food Science and Technology International**, v. 23, n. 6, p. 471–479, 2017.

CAO, H. *et al.* Catalytic effect of transglutaminase mediated by myofibrillar protein crosslinking under microwave irradiation. **Food Chemistry**, v. 284, n. September 2018, p. 45–52, 2019.

DELGADO-PANDO, G. *et al.* Salt content and minimum acceptable levels in whole-muscle cured meat products. **Meat Science**, v. 139, n. January, p. 179–186, 2018.

DESMOND, E.; VASILOPOULOS, C. **Reducing salt in meat and poultry products**. Second Edi ed. [s.l.] Elsevier Ltd., 2019.

E. M. RAMOS; GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da qualidade de carnes: fundamentos e metodologias**. 2.ed. [s.l.: s.n.]. v. 2

FENG, J. *et al.* Effects of partial substitution of NaCl on gel properties of fish myofibrillar protein during heating treatment mediated by microbial transglutaminase. **LWT - Food Science and Technology**, v. 93, p. 1–8, 2018.

GHARIBZAHEDI, S. M. T. *et al.* Innovative food processing technologies on the transglutaminase functionality in protein-based food products: Trends, opportunities and drawbacks. **Trends in Food Science and Technology**, v. 75, p. 194–205, 2018.

GOMIDE, L. A. DE M.; RAMOS, E. M.; FONTES, P. R. **Ciência e Qualidade da Carne**. 1. ed. Viçosa: [s.n.].

HADDAD, G. DE B. S. *et al.* The effects of sodium chloride and PSE meat on restructured cured-smoked pork loin quality: A response surface methodology study. **Meat Science**, v. 137, n. June 2017, p. 191–200, 2018.

HORITA, C. N. *et al.* Textural, microstructural and sensory properties of reduced sodium frankfurter sausages containing mechanically deboned poultry meat and blends of chloride salts. **Food Research International**, v. 66, p. 29–35, 2014.

INGUGLIA, E. S. *et al.* Salt reduction strategies in processed meat products – A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 59, p. 70–78, 2017.

JIRA, W. *et al.* Production of dry-cured formed ham with different concentrations of microbial transglutaminase: Mass spectrometric analysis and sensory evaluation. **Meat Science**, v. 129, p. 81–87, 2017.

LESIOW, T.; RENTFROW, G. K.; XIONG, Y. L. Polyphosphate and myofibrillar protein extract promote transglutaminase-mediated enhancements of rheological and textural properties of PSE pork meat batters. **Meat Science**, v. 128, p. 40–46, 2017.

MARTELO-VIDAL, M. J. *et al.* Reduced-salt restructured European hake (*Merluccius merluccius*) obtained using microbial transglutaminase. **Innovative**

Food Science and Emerging Technologies, v. 38, p. 182–188, 2016a.

MARTELO-VIDAL, M. J. *et al.* Obtaining reduced-salt restructured white tuna (*Thunnus alalunga*) mediated by microbial transglutaminase. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 341–348, 2016b.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Termo de Compromisso**, 2013. Disponível em: <http://189.28.128.100/dab/docs/portaldab/documentos/termo_nov_2013.pdf>

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Monitoramento do Plano de Redução de Sódio em Alimentos Processados - Produtos lácteos, refeições prontas (sopas) e produtos cárneos. 2018.

MIWA, N. Innovation in the food industry using microbial transglutaminase: Keys to success and future prospects. **Analytical Biochemistry**, v. 597, n. November 2019, 2020.

NEVES, M. P. *et al.* Effect of pork quality and salt replacer KCl on technological and sensorial characteristics of restructured cooked hams. **Food Science and Technology International**, v. 0, p. 1–9, 2020.

PAULA, M. M. DE O. *et al.* Effects of PSE meat and salt concentration on the technological and sensory characteristics of restructured cooked hams. **Meat Science**, v. 152, n. September 2018, p. 96–103, 2019.

RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. DE M. **Avaliação da Qualidade de Carnes**. 2. ed. Viçosa, 2017.

RIBEIRO, K. V. G. *et al.* Bacteriophage isolated from sewage eliminates and prevents the establishment of *Escherichia coli* biofilm. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, v. 8, n. 1, p. 85–95, 2018.

ROMERO DE ÁVILA, M. D. *et al.* Microbial transglutaminase for cold-set binding of unsalted/salted pork models and restructured dry ham. **Meat Science**, v. 84, n. 4, p. 747–754, 2010.

RUUSUNEN, M.; PUOLANNE, E. Reducing sodium intake from meat products. **Meat Science**, v. 70, n. 3 SPEC. ISS., p. 531–541, 2005.

SANTHI, D. *et al.* Application of microbial transglutaminase in meat foods: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 10, p. 2071–2076, 2017.

VIDAL, V. A. S. *et al.* Reducing 50% sodium chloride in healthier jerked beef: An efficient design to ensure suitable stability, technological and sensory properties. **Meat Science**, v. 152, n. October 2018, p. 49–57, 2019.

WHO. Guideline: Sodium intake for adults and children. **World Health Organization**, p. 1–56, 2012.

YANG, X.; ZHANG, Y. Expression of recombinant transglutaminase gene in *Pichia pastoris* and its uses in restructured meat products. **Food Chemistry**, v. 291, n. November 2018, p. 245–252, 2019.