

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA AGROINDUSTRIAL



TESE

GELEIFICAÇÃO TERMO-INDUZIDA DO SURIMI DE JUNDIA (*Rhamdia quelen*)
COM USO DE INIBIDORES DE PROTEASE

CLÁUDIO RAFAEL KUHN
Engenheiro de Alimentos

Pelotas, 2006

CLÁUDIO RAFAEL KUHN
Engenheiro de Alimentos

**GELEIFICAÇÃO TERMO-INDUZIDA DO SURIMI DE JUNDIA (*Rhamdia quelen*)
COM USO DE INIBIDORES DE PROTEASE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, da Faculdade de Agronomia 'Eliseu Maciel', da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientador: Germano Jorge Dornelles Soares, Dr.
Co-orientador: Carlos Prentice-Hernández, Dr.

Pelotas, 2006.

Banca examinadora:

Carlos Prentice-Hernández, Dr.

Myriam de las Mercedes Sala Mellado, Dr^a.

Celso Medina Fagundes, Dr.

Jorge Adolfo Silva, Dr.

Pedro Luis Antunes, Dr.

Aos meus pais, Ilmo e Neuza.

Dedico.

Deus não escolhe os capacitados,
capacita os escolhidos. Fazer ou não
fazer algo só depende de nossa vontade e
perseverança.

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

Ao professor Germano Jorge Dornelles Soares, mestre e amigo, sempre uma referência como profissional.

Ao professor Carlos Prentice-Hernández, pela amizade, confiança e ensinamentos.

Ao professor João Luiz Silva Vendruscolo, pelo apoio e colaboração, sem nunca hesitar.

Aos professores do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial (DCTA), pelos valiosos ensinamentos, colaboração, precioso convívio e amizade.

À Prof^ª. Claire Tondo Vendruscolo, por sua disponibilidade e atenção.

Aos colegas e amigos: Renata Filgueras, Lisiane Torres, Alexandre Alfaro, Heloísa Antunes, Priscila Chiattoni, Cristina Costa, Ana Krolow, Luciano Lucchetta, Márcio Zanuzo, Fernando Zocche, Ricardo Toralles e Eliézer Gandra, pela amizade e disposição em cooperar para a realização deste trabalho.

Aos estagiários, laboratoristas e demais colegas de pós-graduação do DCTA, pela colaboração e convívio.

Ao CNPq, pelo financiamento do projeto de pesquisa.

À CAPES, pela bolsa de estudos.

À minha querida esposa Ana que, com amor, compreensão e dedicação, foi a incentivadora para o ingresso na pós-graduação.

Aos meus pais e irmãos, pelo exemplo de coragem e luta, alento para o estudo e esperança para o futuro. A realização desta conquista é tão vossa quanto minha.

A todos que, de uma forma ou de outra, contribuíram para a execução deste trabalho, aqui não mencionados, porém, não esquecidos.

À Deus, pelo dom da vida, refúgio nas horas difíceis, fonte de sabedoria para a elaboração desse trabalho e sempre presente em todos os momentos.

RESUMO

KUHN, Cláudio Rafael. **Geleificação Termo-Induzida do Surimi de Jundiá (*Rhamdia quelen*) com uso de Inibidores de Protease**. 2006. 95f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

Este trabalho avalia características texturais, físico-químicas e reológicas do gel de surimi de Jundiá (*Rhamdia quelen*), propondo uma melhor caracterização do mecanismo de geleificação termo-induzida do surimi de Jundiá com a utilização de inibidores de protease. O comportamento da proteína do surimi foi demonstrado a partir do estudo de quatro sistemas de aquecimento (três diferentes duplos estágios, a 60° C durante 30, 45 e 60min + 90° C, 15min e um aquecimento direto a 90° C, 15min) e da influência de diferentes aditivos protéicos (soroalbumina bovina – BSA e α_2 -Macroglobulina, além da clara de ovo – EW) nas características do gel. A utilização de aditivos protéicos em géis aquecidos a 90° C por 15min permitiu a obtenção de uma maior força de gel e coesividade ($p < 0,05$), em relação ao pré-aquecimento. Mesmo sob a temperatura de 60° C, durante 60min, géis com inibidores apresentam maior força de gel em relação àqueles sem inibidores, demonstrando a capacidade desses compostos em contribuir para a estabilidade térmica da proteína. As alterações no conteúdo sulfidrílico (SH) dos géis fortemente sugerem que o mecanismo de geleificação térmica do surimi de Jundiá está associado com o incremento na formação de pontes dissulfeto, uma vez que os tratamentos com menor conteúdo SH (aquecimento a 90° C, 15min) apresentaram maior força de gel, enquanto que amostras pré-aquecidas a 60° C apresentaram simultaneamente maior conteúdo de SH e menor força de gel, característica dos géis com o fenômeno *modori*. A

caracterização do mecanismo de geleificação termo-induzida do gel de surimi de Jundiá foi complementada através da análise de suas propriedades viscoelásticas. Nas amostras submetidas ao aquecimento direto, o módulo de elasticidade apresenta elevado incremento e, paralelamente, gradual decréscimo no ângulo de fase, caracterizando a formação do gel. Nas amostras pré-aquecidas 60° C, a maior oscilação nos parâmetros de elasticidade e ângulo de fase, correspondem à menor força de gel e maior conteúdo sulfidrílico (SH). Os níveis de peptídeos solúveis indicam a provável ocorrência do *modori*, de origem não-proteolítica, uma vez que os sistemas de pré-aquecimento não demonstraram diferença estatística ($p < 0,05$) quando comparados ao aquecimento direto e, mesmo com níveis similares aos de outras espécies, a força de gel do surimi de Jundiá foi superior, o que indica também uma maior estabilidade térmica da matriz protéica.

Palavras-chave: surimi, conteúdo sulfidrílico, geleificação térmica, inibidores.

ABSTRACT

KUHN, Cláudio Rafael. **Geleificação Termo-Induzida do Surimi de Jundiá (*Rhamdia quelen*) com uso de Inibidores de Protease**. 2006. 95f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

This work evaluates the textural, physicochemical and rheological characteristics of the surimi gel of Jundiá (*Rhamdia quelen*), proposing a better characterization of the heat-induced gelation mechanism with the use of protease inhibitors. The behavior of the surimi protein during thermal gelation was available through the four heating systems (three two-step heating at 60° C during 30, 45 and 60min + 90° C, 15min and a one-step heating at 90° C, 15min) and the influence of two protease inhibitors (bovine serum albumin -BSA plus α_2 -Macroglobulin and egg white) in the characteristics of the gel. The highest gel strength was reached by use of protein additives and single step heating (90° C, 15min) and a decrease ($p < 0,05$) in the sulfhydryl (SH) content in those treatments strongly suggest that the gelation mechanism was associated with the increase in the formation of disulfide bonds. Samples with pre-heating at 60° C have presented smaller SH content and gel strength, characteristic of the *modori* phenomenon. However, even less than two step heating at 60° C during 60min, gels with inhibitors reached larger gel force in relation to that without inhibitors, demonstrating its contribution for thermal stability of the protein. Dynamic rheological properties were also assessed to the characterization of surimi gelation by use of storage modulus (G') and phase angle. A notable increase in storage modulus simultaneously with a gradual decrease in phase angle in samples submitted to the one step heating and with protease inhibitors have confirmed the texture profiles, sulfhydryl content and

peptide soluble levels, indicating their influence upon thermal gelation. Gels obtained by two-step heating at 60°C have demonstrated a greater oscillation in both rheological properties corresponding to the smallest gel strength and higher SH content. The level of soluble peptides indicated a probably occurrence of the non-proteolytic *modori* once that the heating systems has not statistical difference ($p < 0,05$). Although with similar peptide content in comparison to other fish species with proteolysis, the gel strength of surimi from Jundia was better and indicated a larger thermal stability of the myofibril protein with a probably occurrence of a non-proteolytic *modori*.

Key words: surimi, sulfhydryl content, thermal gelation, and protease inhibitors.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Representação esquemática da molécula de miosina.	21
Figura 2	Representação esquemática da formação do complexo actomiosina.	22
Figura 3	Representação esquemática da formação de pontes dissulfeto (SS).	27
CAPÍTULO I		
Figura 1	Caracterização da força de compressão dos géis de surimi de Jundiá.	40
Figura 2	Efeito dos tratamentos na coesividade dos géis de surimi de Jundiá.	42
Figura 3	Quantificação de grupos sulfidrílicos de géis <i>kamaboko</i> e do surimi de Jundiá.	44
CAPÍTULO II		
Figura 1	Comportamento reológico de géis de surimi de Jundiá aquecidos a 90°C.	60
Figura 2	Comportamento reológico de géis de surimi de Jundiá pré-aquecidos a 60°C.	63

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1	Quantificação de grupos sulfidrílicos para surimi e géis <i>kamaboko</i>	43
----------	---	----

CAPÍTULO II

Tabela 1	Força de compressão em géis de surimi de Jundiá.....	64
Tabela 2	Quantificação de peptídeos solúveis para géis de surimi de Jundiá	65
Tabela 3	Valores de coesividade para géis de surimi de Jundiá.....	66

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	VI
RESUMO	VII
ABSTRACT	IX
LISTA DE FIGURAS	XI
LISTA DE TABELAS	XII
SUMÁRIO	XIII
1 INTRODUÇÃO GERAL	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1 MATÉRIA-PRIMA	18
3.2 SURIMI	18
3.3 PROTEÍNAS MIOFIBRILARES	19
3.4 GELEIFICAÇÃO PROTÉICA	22
3.5 PROTEÓLISE E INIBIDORES	28
CAPÍTULO I	
ARTIGO I - CARACTERIZAÇÃO TEXTURAL E FÍSICO-QUÍMICA DO GEL DE SURIMI	
DE JUNDIÁ (<i>Rhamdia quelen</i>)	32
RESUMO	33
ABSTRACT	34
1. INTRODUÇÃO	35
2. MATERIAL E MÉTODOS	37
2.1. MATÉRIA-PRIMA	37
2.2. PROCESSAMENTO DE SURIMI	37
2.3. PREPARAÇÃO DO GEL KAMABOKO	38
2.4. ANÁLISES DE TEXTURA	38
2.5. QUANTIFICAÇÃO DE GRUPAMENTOS SULFIDRÍLICOS (SH)	39
2.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA	39
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4. CONCLUSÃO	45
5. AGRADECIMENTOS	46
6. REFERENCIAS	47
CAPÍTULO II	
ARTIGO II – GELEIFICAÇÃO TERMO-INDUZIDA DO SURIMI DE JUNDIÁ (<i>Rhamdia</i>	
<i>quelen</i>)	52
RESUMO	53
ABSTRACT	54
1. INTRODUÇÃO	55
2. MATERIAL E MÉTODOS	57
2.1 MATÉRIA-PRIMA	57
2.2 PROCESSAMENTO DE SURIMI	57
2.3 PREPARAÇÃO DO GEL TERMOESTÁVEL (KAMABOKO)	58
2.4 ANÁLISES DE TEXTURA	58

2.5	PROPRIEDADES VISCOELÁSTICAS	59
2.6	DETERMINAÇÃO DE PEPTÍDEOS SOLÚVEIS EM TCA	59
2.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA	60
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
4.	CONCLUSÕES	67
5.	AGRADECIMENTOS	68
6.	REFERÊNCIAS	69
CAPÍTULO III		
3	CONCLUSÃO GERAL	75
CAPÍTULO IV		
4	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
APÊNDICES		82

1 INTRODUÇÃO GERAL

O surimi é uma base protéica miofibrilar úmida de pescado, de alta qualidade e funcionalidade, obtido a partir da carne de pescado mecanicamente separada (CPMS) e resultado de um processo tecnológico de lavagens e congelamento. É a matéria-prima empregada para produzir o que, durante séculos foi elaborado no Japão como produtos do tipo *kamaboko*, que são géis termoestáveis formados pelo aquecimento do surimi (KUHN e SOARES, 2002).

O aproveitamento do pescado utilizando a CPMS constitui uma técnica com maior flexibilidade de processamento e maior rendimento na obtenção de carne comestível do que pelo processo tradicional de filetagem. O processo permite um aproveitamento racional do pescado, como descartes da filetagem, até espécies subutilizadas ou com baixo valor comercial, gerando um aumento na disponibilidade de matéria-prima, sem aumentar a captura de pescado. Ainda, a produção de surimi permite agregar valor ao pescado, em função da diversidade de produtos que podem ser elaborados, atingindo determinados segmentos do mercado, ou mesmo produtos mais simples, que atendem à necessidade social de demanda por proteína de origem animal de primeira qualidade (KUHN e PRENTICE, 1999).

Sob cocção, a proteína do surimi tem a capacidade de formar um gel termoestável denominado *kamaboko*, tendo na sua textura o principal indicador de qualidade. Entretanto, a formação do gel pode ficar comprometida pela ação de proteases, principalmente as catepsinas e as peptidases alcalinas estáveis ao calor, não totalmente removidas durante o processamento de surimi e que podem ser ativadas no tratamento térmico. O principal efeito reflete-se sobre a textura,

pela degradação da estrutura protéica miofibrilar (especialmente a miosina) altamente organizada, caracterizando o fenômeno denominado *modori* (SUZUKI, 1987; BORDERÍAS e TEJADA, 1987; AN; PETERS; SEYMOUR, 1996; GARCIA-CARREÑO, 1996).

A preocupação dos pesquisadores centra-se num dos maiores problemas enfrentados na produção de surimi e derivados: controlar a ação proteolítica pelo uso de inibidores de protease que interfiram o mínimo possível nas propriedades sensoriais do produto e preservem a estrutura das miofibrilas, preservando sua funcionalidade e a capacidade de geleificação, destacando-se as proteínas do plasma bovino e da clara de ovo como os mais eficazes, conferindo maior proteção em baixos níveis de concentração (WEERASINGHE; MORRISSEY; CHUNG, 1996; KUHN e SOARES, 2002).

Para tanto, torna-se necessário uma investigação voltada para a caracterização do mecanismo de geleificação protéica, onde diversos estudos indicam a participação de grupamentos sulfidrílicos da proteína na manutenção da estabilidade do gel. Apesar dos avanços já alcançados, não existe ainda um consenso, uma vez que a atuação proteolítica e a resposta dos inibidores diferem entre as espécies utilizadas, interferindo, conseqüentemente, no mecanismo de geleificação (AN; WEERASINGHE; SEYMOUR; MORRISSEY, 1994; YONGSAWATDIGUL; PARK; KOLBE; DAGGA; MORRISSEY, 1995; YONGSAWATDIGUL; PARK; VIRULHAKUL; VIRATCHAKUL, 2000). Existem poucos estudos dessa natureza no Brasil, constituindo-se num campo aberto à investigação científica, tanto para o pescado de origem marinha como de água doce.

Assim, o trabalho teve como objetivos: I) caracterizar o mecanismo de geleificação termo-induzida e o efeito de inibidores de protease (clara de ovo – EW e a combinação de proteínas do plasma: Albumina do soro bovina – BSA e α_2 -Macroglobulina – α_2 -M) sobre a textura do gel de surimi de Jundiá (*Rhamdia quelen*), de modo a avaliar sua proteção sobre os grupamentos sulfidrílicos da proteína e constituindo-se no mecanismo para a geleificação protéica do surimi; II)

comparar a eficácia dos inibidores de proteases (clara de ovo – EW e a combinação de proteínas do plasma: Soro albumina bovina – BSA e α_2 -Macroglobulina – α_2 -M) no incremento da textura do gel do surimi de Jundiá (*Rhamdia quelen*); III) comprovar a ação protetora dos inibidores sobre os grupamentos sulfidrílicos das miofibrilas e IV) Comprovar o efeito do tratamento térmico no mecanismo de geleificação térmica das miofibrilas.

O Jundiá (*Rhamdia quelen*) constitui abundante fonte de matéria-prima na bacia hidrográfica na região Sul do Brasil, sendo uma espécie com ampla difusão na aquicultura. Portanto, estudos sobre o mecanismo de geleificação termo-induzida desse espécime se fazem necessários, a fim de potencializar sua futura utilização na manufatura de produtos à base de surimi, constituindo uma importante alternativa para agregar valor ao pescado de água doce da região e potencializar o agronegócio.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Matéria-Prima

O Jundiá (*Rhamdia quelen*) é uma espécie do gênero *Rhamdia*, família Siluridae, distribuindo-se em regiões de clima temperado, com algumas exceções, habitando desde o sudeste do México até a região central da Argentina. É facilmente encontrado em todo o Estado do Rio Grande do Sul, principalmente nas bacias hidrográficas da Lagoa dos Patos, Mirim e Mangueira, no Sul do Rio Grande do Sul (GUEDES, 1980).

Entre as espécies cultivadas no Rio Grande do Sul, o Jundiá se destaca na produção de peixes por apresentar um rápido crescimento, rusticidade, altas taxas de fecundação e manejo relativamente fácil, além de possuir uma grande aceitação pelo consumidor, apresentando uma carne sem espinhas, com pouca gordura e alta qualidade (LUCHINI e SALAS, 1985).

3.2 Surimi

O surimi é um produto obtido a partir do músculo de pescado, constituído por proteínas solúveis em soluções salinas, principalmente as miofibrilares e designa a carne de pescado mecanicamente separada (CPMS) na fase inicial do processo, formando, ao final, um concentrado miofibrilar úmido de alta qualidade nutritiva e excelente funcionalidade. A sua melhor utilização decorre, sobretudo, das propriedades funcionais dessas proteínas, constituindo-se na matéria-prima empregada para produzir o que durante séculos foi elaborado no Japão como produtos de tipo *kamaboko*, que são géis termoestáveis formados ao aquecer o

surimi previamente tratado com sal para solubilizar sua proteína (TEJADA, 1991; SUZUKI, 1987; BORDERÍAS e TEJADA, 1987).

Utilizado desde o século IX, no Japão, a produção ocidental teve início no fim dos anos 70 e começo da década de 80, com o surgimento dentro do mercado norte-americano de produtos conhecidos genericamente como análogos e que são, fundamentalmente, simulações de carne de mariscos, crustáceos e outros de igual importância (LEE, 1984; LANIER e LEE, 1992).

Segundo as estatísticas, países como França e Espanha destacam-se pela demanda de produtos à base de surimi, consumindo cerca de 20 e 18.000t.ano⁻¹, respectivamente (HOLMES, 1998; HEMPEL, 1999). Somente no período entre 1997 e 2000, a produção de surimi no Japão manteve uma média de 50.000t.ano⁻¹ (GLOBEFISH DATABANK – FAO, 2000). Na Tailândia, a produção média alcança 65.000 t.ano⁻¹, enquanto que nas Américas, a maior produção foi alcançada no ano de 1994, nos Estados Unidos, com 209.000t. Na América do Sul, os países que se destacam são a Argentina e o Chile, com produção de 26.000 e 4.500t, respectivamente (HEMPEL, 1999).

Atualmente, utiliza-se o surimi como ingrediente em vários alimentos a base de pescado, entre os quais destacam-se os escalopes e a fina culinária dos pratos à base de lagosta, caranguejo, siri, etc. A popularidade de produtos a base de surimi, especialmente os análogos a caranguejo, terminaram por estimular investimentos nas indústrias alimentícias do setor pesqueiro dos Estados Unidos e Europa (LEE, 1984; LANIER e LEE, 1992; HEMPEL, 1999).

3.3 Proteínas Miofibrilares

As proteínas miofibrilares são as que conferem às células musculares sua propriedade contrátil e tecnologicamente influem na qualidade dos produtos cárnicos, pois são responsáveis pela capacidade de retenção de água, propriedades emulsificantes e, no caso do surimi, pelas propriedades de geleificação. Além disso, representam 66-77% das proteínas totais no músculo de

pescado e contêm quantidades importantes de aminoácidos essenciais, contribuindo assim em mais de 70% do suporte protéico devido ao consumo de carne (CHEFTEL; CHEFTEL; BESANÇON, 1992).

O conjunto de miofibrilas é constituído de proteínas contrácteis, miosina e actina, além de proteínas reguladoras da contração (tropomiosina, troponinas, α e β actinina). Sua estrutura molecular representa esquematicamente, que as miofibrilas estão compostas de filamentos delgados e grossos enlaçados uns aos outros. Os filamentos grossos contêm basicamente miosina, enquanto que os delgados são constituídos de actina, troponina e β -actinina. Essa estrutura, altamente organizada no músculo *in vivo*, representa, tecnologicamente, um papel importante, pois cerca de 70-95% de água presente no músculo corresponde à água capturada nos espaços entre os filamentos protéicos da miofibrila (SUZUKI, 1987).

A molécula de miosina é constituída por duas cadeias polipeptídicas pesadas, com pesos moleculares idênticos (220.000Da) e 2 subunidades leves (20.000Da). As cadeias pesadas são responsáveis por grande parte da estrutura geral da molécula, dispostas sob a forma de α -hélices, enroladas umas em torno das outras, formando uma espiral fibrosa com giro para a esquerda. A molécula contém cerca de 40 grupos sulfidrílicos (SH), porém sem ligações dissulfeto, situadas na sua parte globular. Quando a miosina sofre um tratamento enzimático brando, por exemplo, pela protease tripsina, grande parte da cauda fibrosa é clivada (Fig 1), dividindo a proteína em dois componentes denominados meromiosina leve ou LMM – “light meromyosin” e meromiosina pesada ou HMM – “heavy meromyosin”(NELSON e COX, 2002).

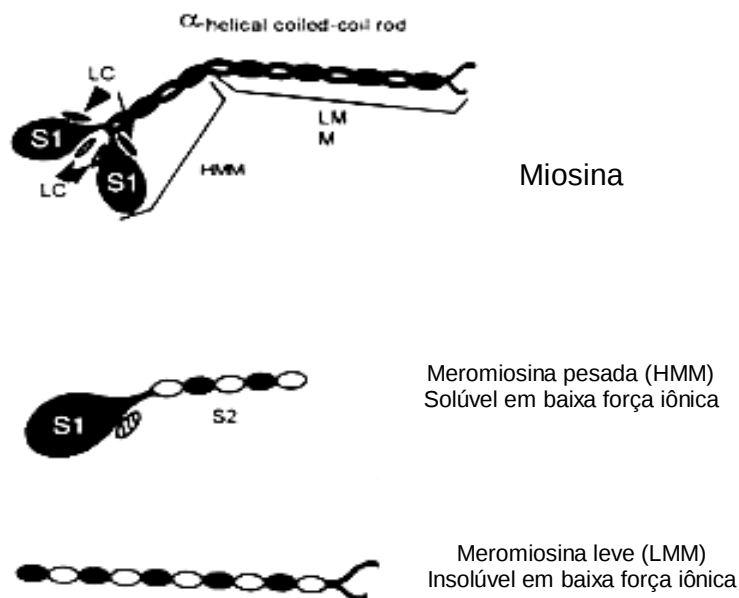


Figura 1 – Representação esquemática da molécula de miosina.

Fonte: Adaptado de WICK (1999)

A miosina de peixes em geral é instável e sua estabilidade está fortemente relacionada com a temperatura da água no ambiente em que o peixe vive (OGAWA e MAIA, 1999). Sua conformação nativa é fundamental para a formação do gel, dependendo fundamentalmente de interações apropriadas entre as moléculas de miosinas adjacentes (REPPOND e BABBITT, 1993).

No surimi, a miosina está presente formando um complexo com a actina, designado actomiosina (Fig 2), o qual pode formar um gel elástico. Como a actina não forma um gel no aquecimento, são atribuídas à miosina as características de geleificação. De acordo com pesquisas sobre alterações físico-químicas utilizando miosina e sub-fragmentos de várias espécies de pescado, é aceito que a geleificação termo-induzida da miosina sob condições salinas envolve dois processos, a desnaturação e a agregação (STONES e STANLEY, 1992; NELSON e COX, 2002).

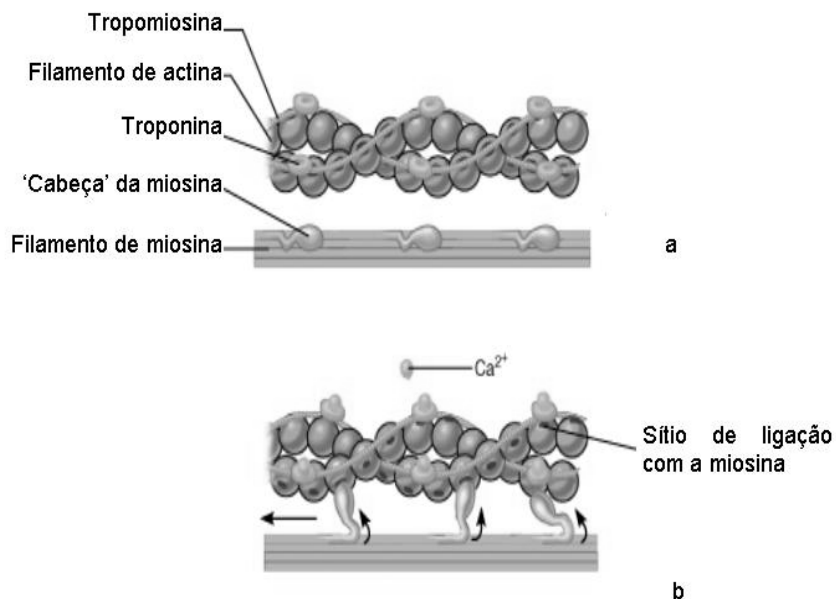


Figura 2 – Representação esquemática da formação do complexo actomiosina. (a) Antes e (b) no estado de contração.

Fonte: Adaptado de Nelson e Cox (2002)

3.4 Geleificação Protéica

A geleificação termo-induzida é um dos fenômenos mais importantes em ciência dos alimentos, principalmente por ser responsável pela sua estrutura final. Uma simples definição do fenômeno pode ser a de que se trata de uma agregação de moléculas desnaturadas com determinada ordenação, resultando na formação de uma rede tridimensional (CHEFTEL; CUQ; LORIENT, 1989; ZIEGLER e FOEGEDING, 1990; MONTERO e GOMEZ-GUILLEN, 1996).

O processamento de alimentos envolve freqüentemente altas temperaturas, extremos de pH e exposição a condições oxidantes e ação química não controlada de enzimas. Tais condições podem resultar na alteração da estrutura protéica com mudanças substanciais na estrutura das cadeias polipeptídicas e na suas propriedades nutricionais e funcionais (GERRARD, 2002; TOTOSAUS et al., 2002).

O principal objetivo da moderna tecnologia de alimentos está em gerar alimentos com estruturas que agradem ao consumidor, utilizando somente uma faixa limitada de ingredientes. As proteínas são uma das principais classes de moléculas disponíveis para conferir atributos texturais, com a agregação protéica e a formação de ligações cruzadas intermoleculares. Essas ligações podem influenciar muitas propriedades, incluindo a textura, viscosidade, solubilidade, emulsificação e geleificação (MOTOKI e KUMAZAWA, 2000).

O fenômeno da geleificação protéica difere de outros similares, nos quais o grau de dispersão de uma solução protéica também decresce, tal como ocorrem na associação, agregação, polimerização, precipitação, floculação e coagulação. Geralmente, as reações de associação de proteínas ocasionam modificações que alteram o nível de subunidades ou da molécula, enquanto que as reações de polimerização ou agregação, implicam na capacidade de formar complexos de grande tamanho. A precipitação inclui todas as reações de agregação conducente a uma perda total ou parcial de solubilidade. A floculação se refere a reações de agregação desordenada que se produzem em ausência de desnaturação e que geralmente originam como causa do desaparecimento de repulsões eletrostáticas entre cadeias. A coagulação pode ser definida como reações de agregação não ordenadas que se produzem com desnaturação e nas quais predominam as reações de agregação ou as interações proteína-solvente; isto conduz a formação de um grande coágulo (CHEFTEL; CUQ; LORIENT, 1989; CHEFTEL; CHEFTEL; BESANÇON, 1992).

A geleificação térmica do surimi é uma etapa fundamentalmente importante na obtenção de produtos análogos de frutos do mar, tais como os análogos a caranguejo, moluscos, etc. A formação de uma rede protéica nestes produtos contribui não somente para a textura elástica, mas também em outras propriedades funcionais importantes para simular a aparência e textura da carne (OGAWA e MAIA, 1999).

A formação do gel é um processo físico-químico complexo que envolve alterações estruturais e funcionais da proteína miofibrilar. A formação da cadeia

protéica pode ser representada por três estágios, que são a dissociação, desnaturação térmica e agregação. Na presença de sais, as fibras musculares e proteínas sofrem a principal alteração estrutural, levando à solubilização da miosina, actina e um número de outros constituintes miofibrilares (ROUSSEL e CHEFTEL, 1990).

Mais da metade dos aminoácidos que constituem a miosina são hidrofílicos e muitos estão expostos na sua superfície molecular, com cargas positivas e negativas. Assim, ligações intermoleculares são formadas e as miofibrilas apresentam-se associadas umas às outras, formando agregados que são insolúveis em água. Pela homogeneização do músculo de pescado com cloreto de sódio (NaCl), os íons salinos se unem aos grupos com carga oposta, facilitando a entrada de água e, conseqüentemente, aumentando a solubilidade protéica (NIWA, 1992).

Estudos demonstram que concentrações dentro da faixa de 1,7-3,5% de NaCl são necessárias para o surimi formar um gel adequado. Na prática comercial, uma concentração na ordem de 2,5% NaCl é comumente utilizada para solubilizar a proteína miofibrilar, particularmente a miosina. Dentro desse limite de concentrações, as moléculas de miosina estão dispersas na solução como monômeros e, sob aquecimento, uma ordenada rede tridimensional é formada (MONTERO e GOMEZ-GUILLÉN, 1996; LIN e PARK, 1998).

O desdobramento parcial ou dissociação das moléculas protéicas e de sua estrutura é acelerado por um aumento na temperatura, que enfraquece as ligações que mantêm as estruturas secundárias e terciárias. Com a ocorrência da desnaturação térmica, as moléculas protéicas começam a se desdobrar, aumentando a quantidade de água ligada à proteína. Na etapa seguinte, as reações de associação e agregação resultam num sistema de gel, resultado da agregação molecular para a formação de uma rede protéica tridimensional. O aumento da viscosidade nas redes tridimensionais mais fracas possibilitará uma fluidez na estrutura e o gel verdadeiro não se formará. Por outro lado, as fortes interações entre as moléculas da proteína produzem um colapso na rede e a água

será expelida da estrutura (VISSENSANGUAN et al, 2000; TOTOSAUS et al., 2002).

A formação da rede protéica é considerada como o resultado de um equilíbrio entre as interações proteína-proteína, proteína-solvente e forças atrativas (interações hidrófobas, eletrostáticas, pontes de hidrogênio e ligações dissulfeto) e repulsivas (sobretudo em pH deslocado do ponto isoelétrico) entre cadeias polipeptídicas próximas. Um balanço entre forças repulsivas e atrativas é, portanto, importante para a formação adequada da estrutura do gel, já que as repulsões eletrostáticas e interações proteína-água tendem a manter separadas as cadeias polipeptídicas, enquanto que as atrações protéicas intermoleculares se produzem mais rapidamente em concentrações protéicas elevadas, pela sua maior probabilidade de interação (ZIEGLER e ACTON, 1984; CHEFTEL; CUQ; LORIENT, 1989; ZIEGLER e FOEGEDING, 1990).

A temperatura é um dos principais fatores por se constituir na força motriz para o desdobramento da cadeia protéica. Quando a temperatura de geleificação é alta, o primeiro passo (desnaturação) é completado mais rapidamente do que o segundo passo (agregação). Para uma determinada taxa de desnaturação, a taxa de agregação é lenta se as forças atrativas entre as cadeias protéicas desnaturadas são pequenas, resultando em uma boa cadeia e um gel translúcido. Conseqüentemente, o aumento na temperatura desenvolverá uma boa rede, pois durante o resfriamento, os peptídeos se agregarão para formar o gel (TOTOSAUS et al., 2002).

A formação do gel de surimi tem sido caracterizada com respeito a mudanças na estrutura tridimensional, decorrente de três etapas atingidas durante o processo de aquecimento: *suwari*, *modori* e *kamaboko* (SUZUKI, 1987).

Na temperatura de 40°C e com adição de NaCl, o desdobramento das α -hélices presentes na cauda da miosina (meromiosina leve – LMM) leva à formação de um gel translúcido, *suwari*, pela solubilização das miofibrilas, as quais se hidratam e criam uma rede protéica. Isto tem sido associado também,

com a atividade da transglutaminase (TGase), uma enzima endógena na carne de pescado. As TGases podem tornar possível as ligações cruzadas de cadeias protéicas, melhorando a textura do *suwari* no processamento (KUMAZAWA et al., 1995; SAKAMOTO et al., 1995; MORALES et al., 2001.).

O gel é obtido a partir de monômeros de proteínas solúveis que se agregam de modo finito, formando o primeiro estágio, denominado pré-gel, o qual vai evoluir para um ponto de gel, acima dos 50°C, pelas interações entre as regiões hidrofóbicas, situadas próximas à cabeça da molécula de miosina (TOTOSAUS et al., 2002).

Entretanto, pode ocorrer com uma frequência maior o fenômeno denominado *modori*, isto é, a quebra da rede protéica, na faixa de temperatura entre 50-65° C, sendo associado com a ação de proteases endógenas termicamente ativadas, ocasionando perdas de textura (KUHN e SOARES, 2002). Uma outra explicação é baseada na coagulação térmica da proteína miofibrilar, pelo excessivo incremento de interações hidrofóbicas, pela exposição prolongada ao aquecimento, o que causaria intenso encolhimento das cadeias, resultando na liberação excessiva de água e a dispersão da cadeia de um modo heterogêneo (NIWA, 1992).

Em temperaturas acima de 70°C, ocorre a formação de um gel opaco e forte, denominado *kamaboko*, pelo incremento de interações proteína-proteína na porção globular das moléculas de miosina (REPPOND e BABBIT, 1993; MONTERO e GOMEZ-GUILLÉN, 1996; VISSENSANGUAN et al., 2000).

Neste caso, as ligações protéicas cruzadas se referem, possivelmente, à formação de ligações covalentes dissulfeto entre proteínas, tanto de modo intra como intermolecular. As ligações dissulfeto (SS) são formadas por grupos oxidativos de dois resíduos de cisteína (grupos tiol, SH) adjacentes dentro da matriz protéica (Fig 4). As ligações cruzadas *in vivo* são vitais para a manutenção correta da conformação de certas proteínas e podem controlar o grau de flexibilidade da cadeia polipeptídica (HAMSAKUTTY, 2003; GERRARD, 2002).

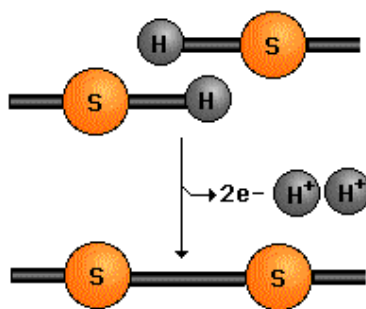


Figura 3 – Representação esquemática da formação de pontes dissulfeto.

Fonte: Adaptado de Hamsakutty (2003).

O resíduo de cisteína está presente na maioria das proteínas, sendo freqüentemente um componente integral da estrutura protéica terciária. Dentro das proteínas no meio extracelular, cisteínas estão freqüentemente envolvidas em ligações dissulfeto, estabilizando a estrutura protéica. No meio intracelular, sua cadeia lateral contendo enxofre é excelente para ligar metais, como o zinco, cobre e íons ferro, sendo também muito comuns em sítios de ligação de enzimas (HAMSAKUTTY, 2003).

A capacidade das proteínas para formar pontes dissulfeto intermoleculares durante o tratamento térmico é considerada vital para a geleificação de alimentos protéicos como o surimi. Com o desdobramento da cadeia polipeptídica devido à ação do calor, há uma exposição dos grupos reativos, que favorecem as interações hidrófobas proteína-proteína. Como as proteínas têm uma massa molecular elevada e uma forte porcentagem de aminoácidos hidrófobos, há a formação de uma rede compacta, pela exposição de grupos SH internos e formação de ligações dissulfeto, onde o estabelecimento dessas ligações conduz à formação de géis termicamente irreversíveis (CHEFTEL; CUQ; LORIENT, 1989; GERRARD, 2002).

3.5 Proteólise e Inibidores

Após a captura do peixe e, conseqüentemente a sua morte, o músculo do pescado se torna suscetível à autólise por proteinases endógenas, resultando na perda da textura característica do tecido muscular. A atividade proteolítica no músculo é alta em temperaturas acima de 50° C e causa a rápida e severa degradação da proteína miofibrilar, especialmente a miosina, sendo o fenômeno denominado *modori* (AN; WEERASINGHE; SEYMOUR; MORRISSEY, 1994; AN; PETERS; SEYMOUR, 1996; VISSENSANGUAN e AN, 2000).

As proteases termo-ativadas são de grande preocupação para a utilização de produtos a base de surimi, pois tem atividade em temperaturas de cozimento e pH neutro, alterando a textura protéica e reduzindo a força de gel, seu principal indicador de qualidade e, conseqüentemente, do preço final do produto, particularmente nas formas de aquecimento convencionais, utilizando forno a seco, onde as temperaturas de aquecimento ficam em torno de 50-70°C, propiciando a ocorrência do *modori* (KUHN e SOARES, 2002).

No processamento tecnológico para a obtenção de surimi, aproximadamente 60% das proteinases musculares são removidas na etapa de lavagens da CPMS, porém o restante é suficiente para provocar a degradação da miosina, causada principalmente por catepsinas e proteases alcalinas termoestáveis, em sua maioria com temperatura de ativação a 60° C (GARCIA-CARREÑO, 1996).

Dentre as numerosas proteinases presentes no músculo, as endoproteinasas cisteínicas apresentam os mais sérios efeitos sobre a textura, devido a sua termoestabilidade e capacidade de clivar ligações peptídicas internas (AN; PETERS; SEYMOUR, 1996). Outras proteases que implicam na deterioração da textura do pescado pós-captura incluem as catepsinas, proteases cálcio-dependentes, collagenases, proteases alcalinas e enzimas digestivas, como a tripsina, que podem ter contato direto com o músculo. Qual protease tem maior atividade varia de espécie para espécie, sendo, porém, genericamente

categorizadas em dois grupos: catepsinas e proteases alcalinas termoestáveis (MORRISSEY et al., 1993; AN; PETERS; SEYMOUR, 1996, ASHIE; SIMPSON; RAMASWAMY, 1996).

As proteases alcalinas isoladas do músculo do pescado são proteases de alto peso molecular, na faixa de 560 a 920kDa e demonstram ampla variação nas suas características (faixa de pH, próximo a 8,0 e temperatura, entre 50 e 70° C), de acordo com o músculo das espécies de pescado (BOYE e LANIER, 1988; WASSON, 1992; YONGSAWATDIGUL et al., 2000; VISSENSANGUAN et al., 2001). Diferenças na sensibilidade ao aquecimento podem refletir diferenças nas condições de habitat, tais como temperatura da água e salinidade. Espécies como Salmão do Atlântico e Truta Arco-Íris, pertencentes à família *Salmonidae*, adaptam-se à salinidade e temperatura da água (TOYOHARA et al., 1987).

A protease alcalina pode estar na forma latente ou precursora *in vivo*, sendo induzida a expor seu sítio ativo por ativação artificial, como no aquecimento para obtenção do gel de surimi (STOKNES; RUSTAD; MORR, 1993). A enzima, presente em espécies como a Corvina Branca (*Argyrosomus argentatus*), Salmão-cão (*Oncorhynchus keta*) e Arenque (*Clupea arengus*), atingiu uma atividade ótima na faixa de 65°C, com uma maior estabilidade no salmão. (LIN e LANIER, 1980; STOKNES e RUSTAD, 1995). No músculo de Alabote-dente-curvo (*Atheresthes stomias*) somente apresentou atividade catalítica em condições não fisiológicas, ou na degradação *post-mortem*, uma vez que a atividade da enzima foi detectada somente em temperaturas superiores a 50° C, elevação do pH (8,0) e adição de uréia (VISSENSANGUAN et al., 2001).

A protease neutra pode atuar sobre a proteína durante a preparação da CPMS, pois tem hemoglobina como substrato e maior atividade entre pH 6,5 e 7,0. Não se pode afirmar que a calpaína atue durante a preparação da CPMS, pois é relatada a diminuição na sua atividade à temperatura de 45° C e pela calpastatina, um inibidor específico para a calpaína, existente naturalmente no músculo de pescado (TOYOHARA et al., 1983; ASHIE; SIMPSON; RAMASWAMY, 1996).

A elevada atividade de proteases cisteínicas mediadas pelas catepsinas B, H e L é relatada em espécies como Merluza do Pacífico (*Merluccius productus*), Alabote-dente-curvo (*Athereses stomias*), Salmão-cão (*Oncorhynchus keta*), Carapau-do-Japão (*Trachurus japonicus*) e Tilápia (*Tilapia niloticus*). Nesses casos, a enzima apresenta-se tendo como substrato-alvo a molécula de miosina, caracterizando sua atividade ótima na temperatura de 50-60° C, tanto em pH ácido (5,5) como alcalino (8,0) (YONGSAWATDIGUL et al., 2000; VISSENSANGUAN et al., 2001).

Dentro do grupo das catepsinas, a catepsina S, é caracterizada como o único membro das catepsinas lisossomais que pode reter atividade proteolítica mesmo depois de prolongada exposição a um pH neutro. A enzima apresenta especificidade similar à catepsina L, de alta atividade contra proteínas, incluindo elastina e colágeno (VISESSANGUAN e AN, 2000), enquanto que as catepsinas B e H são removidas durante o ciclo de lavagens no processamento de surimi (AN; PETERS; SEYMOUR, 1996).

A funcionalidade das proteínas miofibrilares pode, contudo, ser protegida pelo emprego de baixas temperaturas e/ou por tratamento químico. Este último abrange o uso de aditivos protéicos para maximizar a força de gel do surimi, atuando no controle da atividade proteolítica, evitando a clivagem das proteínas do músculo e com a capacidade melhorar as propriedades físicas do gel de surimi (KUHN e SOARES, 2002; KUHN, 2003; KUHN et al., 2003; 2004; 2004a; 2006).

Os compostos protéicos como o plasma bovino e a clara de ovo são os mais utilizados como inibidores na produção de surimi e são geralmente misturados juntamente com os crioprotetores antes do congelamento (MORRISSEY et al., 1993; GARCIA-CARREÑO, 1996).

A lisozima da clara de ovo apresenta ligações dissulfeto intramoleculares na sua conformação nativa, acreditando-se que estas conferem estabilidade térmica à proteína, tendo influência em muitas das propriedades da clara de ovo observadas durante o aquecimento (GERRARD, 2002). As proteínas do plasma

bovino (PPB) contêm uma proteína de alto peso molecular (α_2 -Macroglobulina), caracterizada como um inibidor não competitivo sobre as proteases. Na clara de ovo, existe uma proteína homóloga, com comportamento idêntico (WEERASINGHE; MORRISSEY; CHUNG, 1996).

Contudo, as variações de resultados em termos de estabilidade e força de gel, revelam uma ação proteolítica distinta entre os músculos de pescado, segundo as diferentes espécies. Conseqüentemente, há diferença na intensidade e velocidade de autólise, com alterações no mecanismo inibidor e a possibilidade de obtenção de um gel de surimi sem a degradação miofibrilar, indicando a necessidade de pesquisas tanto nesses quanto à utilização de novos inibidores de proteases e em relação ao mecanismo de geleificação no surimi (AKAZAWA; MIYAUCHI; SAKURADA, 1993; YONGSAWATDIGUL et al., 2000).

CAPÍTULO I

ARTIGO I - CARACTERIZAÇÃO TEXTURAL E FÍSICO-QUÍMICA DO GEL DE SURIMI DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)

CARACTERIZAÇÃO TEXTURAL E FÍSICO-QUÍMICA DO GEL DE SURIMI DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)

KUHN, C.R., FILGUERAS, R.S., TORRES, L., VENDRUSCOLO, J.L.S.,
SOARES, G.J.D.

RESUMO

A estabilidade térmica do gel de surimi e sua aplicação como alimento vão depender de alterações estruturais e funcionais das proteínas miofibrilares do pescado de origem, através de mecanismos ainda não completamente elucidados. Este trabalho avalia as características texturais e físico-químicas do gel de surimi de Jundiá (*Rhamdia quelen*), propondo a elucidação do mecanismo termo-induzido da estrutura do gel formado. O comportamento da proteína do surimi foi demonstrado a partir do estudo de quatro sistemas de aquecimento (três pré-aquecimentos a 60° C durante 30, 45 e 60min + 90° C, 15min e um aquecimento direto a 90° C, 15min) e da influência de diferentes aditivos protéicos (soroalbumina bovina (BSA) 1% (p/p) + α_2 -Macroglobulina 0,1% (p/p) e clara de ovo 3% (p/p)) nas características do gel. A utilização de aditivos protéicos em géis submetidos a 90° C, 15min produziu géis com maior força e coesividade, em relação aos géis pré-aquecidos. O uso de inibidores promoveu o aumento na força de gel ($p < 0,05$) em relação ao controle, mesmo sob a temperatura de 60° C, durante 60min, demonstrando sua contribuição para a estabilidade térmica da proteína. As alterações no conteúdo sulfidrílico dos géis sugerem que o mecanismo de geleificação térmica do surimi de Jundiá está associado com o incremento na formação de pontes dissulfeto, uma vez que os tratamentos com menor conteúdo de grupos SH (aquecimento a 90° C, 15min) apresentaram maior força de gel, enquanto que amostras submetidas previamente a 60° C apresentaram maior conteúdo sulfidrílico e menor força de gel, característica dos géis com o fenômeno *modori*.

Palavras-chave: surimi, força de gel, conteúdo sulfidrílico, mecanismo de geleificação.

TEXTURAL AND PHYSICOCHEMICAL EVALUATION OF SURIMI GELATION FROM JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)

ABSTRACT

Textural and physicochemical properties of surimi gels from Jundiá were investigated to elucidate its heat-induced gelation mechanism. Protein additives (BSA + α 2-Macroglobulina and egg white) were added and the *kamaboko* gels were obtained under four heating (three double stage heatings at 60° C - 30, 45 and 60min + 90° C, 15min and one step heating at 90° C, 15min). Gels submitted to one step heating reached larger gel strength and cohesiveness in all treatments. Control samples (without inhibitors) decreased the texture in all two-steps heating, indicating the *modori* phenomenon. Treatments with inhibitors reached greater texture ($p<0,05$) and egg white was the best inhibitor. Although with smaller texture under 60° C, inhibitors have no presented progressive reduction in up to 60min, demonstrating its contribution for the protein thermal stability. The lower SH content (heating for 90° C, 15min) have presented larger gel strength while samples submitted previously for 60° C presented higher SH content and smaller gel force, suggesting the *modori* phenomenon. Changes in the sulfhydryl content associated with textural properties suggest that the mechanism of thermal gelation is associated with the formation of disulfide bonds.

Key words: surimi, gel strength, sulfhydryl groups, gelation mechanism.

1. INTRODUÇÃO

A formação do gel termoe estável no surimi é uma etapa crítica na obtenção de produtos análogos aos frutos do mar, os quais são geralmente comercializados na forma de pré-cozidos. A formação da rede protéica tridimensional torna-se fundamental na manutenção e incremento das propriedades funcionais desses produtos, a fim de propiciar uma adequada simulação da aparência e textura da carne (VISESSANGUAN et al., 2000; KUHN, 2003; KUHN et al., 2004).

A formação do gel termoe estável no surimi é um processo físico-químico complexo que envolve alterações estruturais e funcionais da proteína miofibrilar e pode ser representada por estágios envolvendo a dissociação, a desnaturação térmica e a agregação (ZIEGLER e FOEGEDING, 1990; MONTERO e GOMEZ-GUILLEN, 1996; TOTOSAUS et al., 2002).

O incremento na temperatura constitui a força motriz para o desdobramento da cadeia protéica, o que enfraquece as ligações que mantêm as estruturas secundárias e terciárias. Com a ocorrência da desnaturação térmica, as moléculas começam a se desdobrar, aumentando a quantidade de água ligada à proteína. Na etapa seguinte, as reações de associação e agregação resultam num sistema de gel, resultado da agregação molecular para a formação de uma rede protéica tridimensional (VISESSANGUAN et al., 2000; TOTOSAUS et al., 2002).

Na temperatura entre 50 e 65° C pode ocorrer o fenômeno denominado de *modori*, com perdas na textura do gel e associado à ação de proteases endógenas termicamente ativadas (catepsinas e proteases alcalinas). Uma outra hipótese é baseada na coagulação térmica da proteína miofibrilar, pelo excessivo incremento de interações hidrofóbicas, produzindo um intenso encolhimento das cadeias, liberação excessiva de água e a dispersão da cadeia de um modo heterogêneo (NIWA, 1992; AN, PETERS e SEYMOUR, 1996; GARCIA-CARRENO, 1996; VISESSANGUAN et al., 2001).

Acima de 70°C, ocorre um incremento de interações proteína-proteína, possivelmente na porção globular das moléculas de miosina, através de ligações cruzadas covalentes dissulfeto. As ligações dissulfeto (SS) são formadas pela oxidação de grupos sulfidrílicos (SH) adjacentes dentro da matriz protéica. Com o desdobramento da cadeia polipeptídica devido à ação do calor e a exposição dos grupos reativos, as interações hidrófobas proteína-proteína são favorecidas. A formação de uma rede compacta, pela oxidação de grupos SH internos que originando as ligações dissulfeto, conduz a formação de géis termicamente irreversíveis. (REPPOND e BABBIT, 1993; MONTERO e GOMEZ-GUILLEN, 1996; GERRARD, 2002; HAMSAKUTTY, 2003).

Contudo, as interações protéicas envolvidas na geleificação do surimi têm-se mostrado dependentes da espécie de pescado empregada, uma vez que diferenças na composição e estrutura da molécula de várias espécies podem ser responsáveis pelas diferenças na capacidade de geleificação e, conseqüentemente, de propriedades texturais do gel *kamaboko* (VISESSANGUAN et al., 2000; 2001; KUHN e SOARES, 2002).

O Jundiá é uma espécie do gênero *Rhamdia*, família Siluridae, encontrado facilmente no Estado do RS e com potencial para a aquicultura. A espécie apresenta rápido crescimento, rusticidade e com altas taxas de fecundação, tornando-a própria para aquicultura e exploração, sem alteração nos estoques nativos (LUCHINI e SALAS, 1985). O trabalho teve como objetivo, investigar as características da geleificação do surimi de Jundiá, sob diferentes condições de processamento, de modo a elucidar o mecanismo pelo qual o gel é formado, a fim de complementar as informações necessárias à futura utilização da espécie na produção do surimi.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Matéria-prima

O Jundiá (*Rhamdia quelen*) criado em cativeiro foi fornecido pelo Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Pelotas. O pescado foi processado e filetado manualmente (em até 6h pós-captura), embalado a vácuo em embalagens de polietileno e estocado a -30°C (freezer horizontal), até o momento de seu processamento, em escala laboratorial (Laboratório de Tecnologia de Alimentos – LTA, FURG).

2.2. Processamento de surimi

Os filés previamente descongelados foram submetidos ao processo de separação mecânica (Baader mod. 694, num cilindro com perfurações de 5mm de diâmetro, Indústria Pesqueira Furtado S.A.) para a obtenção da polpa de pescado. A polpa foi submetida a duas lavagens em tanques de polietileno ($t < 10^{\circ}\text{C}$, proporção 3:1 água:polpa), sob leve agitação durante 5min, com uma drenagem entre as lavagens (Laboratório de Tecnologia de Alimentos – LTA, FURG) (LIN e PARK, 1996). Após o ciclo de lavagens, realizou-se o refino da polpa por compressão (manualmente, utilizando sistema pistão/cilindro em aço inox com perfurações de 2mm de diâmetro) e a operação de drenagem por centrifugação (Hidroextrator YL 15, Ankofood Machine Co Ltd, Taiwan), retirando o excesso de água da polpa, para atingir níveis de umidade (AOAC, 1995) entre 70-75%. Os crioprotetores (4% sorbitol, 0,3% tripolifosfato de sódio – Synth Laboratórios) foram misturados à polpa, com a pasta dividida para a adição de dois inibidores: a mistura de BSA 1% (Soro albumina bovina, Sigma Chemical Co.) e globulinas ($\alpha_2\text{-M}$, 0,1%); e clara de ovo 3% (Fisher Scientific), além do controle (sem inibidores). O produto, surimi, foi congelado (-30°C , freezer horizontal) e estocado até o momento da preparação do gel (KUHN e PRENTICE, 1999).

2.3. Preparação do gel *kamaboko*

Amostras de surimi (200g) foram descongeladas, adicionando-se os ingredientes cloreto de sódio – NaCl (3%) e fécula de mandioca (5%), com a mistura realizada em cutter de bancada (METVISA, mod CUT-3) para a obtenção de uma pasta homogênea, durante 2min. A pasta assim obtida foi acondicionada em envoltórios de colágeno (20mm de diâmetro) e submetida aos diferentes tratamentos térmicos (KUHN, 2003):

- a. **Aquecimento direto** – as amostras foram submetidas a uma única etapa de aquecimento à temperatura de 90° C, durante 15 minutos. Esgotado o tempo de aquecimento, foram imediatamente resfriadas em água gelada, (30min) e mantidas sob refrigeração a 5,0°C (até 24h) para as determinações físico-químicas.
- b. **Pré-aquecimento** – as amostras foram incubadas à temperatura de 60° C, durante três diferentes tempos: 30, 45 e 60 minutos, sendo subsequente aquecidos a 90° C, 15min. Ao término do aquecimento, foram imediatamente resfriadas (30min) e mantidas sob refrigeração a 5,0°C (até 24h) para as determinações físico-químicas.

2.4. Análises de textura

As propriedades texturais (força de compressão e coesividade) foram avaliadas na Máquina Universal de Testes – Instron mod. 1130, (Laboratório de Análise de Alimentos da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, Clima Temperado), utilizando-se uma célula de carga de 50Kg, velocidades de carta e cabeça de 10cm.min⁻¹, com célula plana de pistão chato (35mm de diâmetro) (SOARES e ARÊAS, 1995; KUHN et al., 2004) com um mínimo de três repetições para cada tratamento, em dois ensaios:

- a. **Força de compressão** (sentido axial) – Foi obtida avaliando-se a força máxima (g) suportada pela amostra cilíndrica (2,0cm de altura e diâmetro) antes do seu rompimento, sem perda de sua estrutura.

- b. **Coesividade** – A mesma amostra foi submetida a uma segunda compressão de modo separado e consecutivo, registrando-se a força máxima (g) nesse momento. As razões entre as áreas ou picos de força obtidos foram transformadas em coesividade.

2.5. Quantificação de grupamentos sulfidrílicos (SH)

As amostras (0,1g) foram homogeneizadas em 20ml de solução de uréia 8M – SDS 2% - EDTA 10mM em tampão fosfato 0,1M (pH 6,8) utilizando um Homogeneizador Teflon. Uma alíquota de 4ml do homogeneizado foi misturada com 0,4ml de solução 0,1% de DTNB (5,5-dithio-bis-2-nitrobenzoic acid, Sigma Chemical Co) e incubado a 40° C durante 15min. A absorbância foi determinada utilizando-se um comprimento de onda de 412nm (espectrofotômetro Ultrospec 2000, Pharmacia). O conteúdo sulfidrílico foi calculado usando o coeficiente de extinção molar de $13.600\text{M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ (TUNHUN et al., 2002).

2.6. Análise estatística

O delineamento experimental constou de 36 amostras, decorrentes de um fatorial 4x3x3 (quatro aquecimentos, três formulações, três repetições, respectivamente), analisadas utilizando-se análise de variância (ANOVA) e a diferença de médias calculada através do teste de Tuckey (HSD, all pairwise comparisons), com nível de significância estabelecido a $p < 0,05$, utilizando o software Statistica for Windows, versão 8.0 (STATSOFT, 1998).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A força de gel do surimi sem inibidores (controle) na fase de duplo estágio de aquecimento mostrou ser dependente do tempo de aquecimento (Fig 1). À medida que o tempo de aquecimento a 60°C aumenta, diminui significativamente a força de gel. Esta diminuição decorre possivelmente de maior ação proteolítica. Com a utilização de aditivos protéicos (BSA/ α_2 -M, e EW) verificou-se um

aumento na força de compressão ($p < 0,05$), praticamente constante até o final do tempo de pré-aquecimento (60min), com a clara de ovo alcançando maiores valores em relação à combinação das proteínas do plasma, BSA/ α_2 -M, confirmando o aumento da resistência térmica dos géis *kamaboko*.

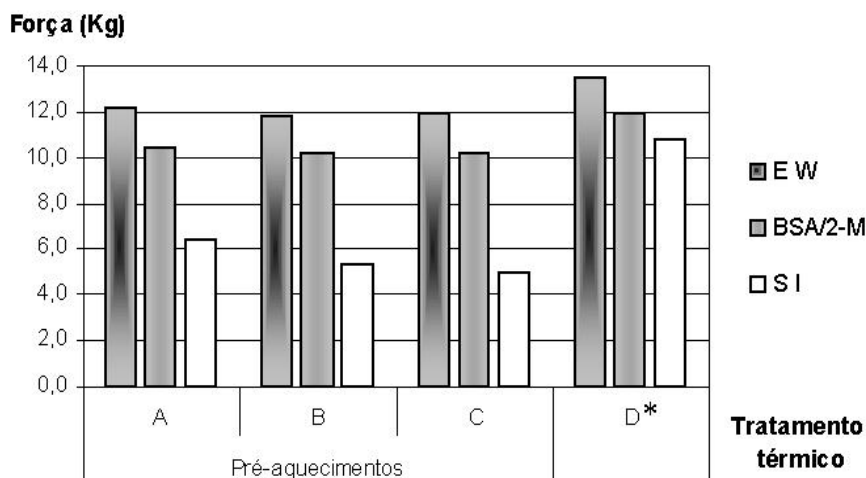


Figura 1 – Caracterização da força de compressão dos géis de surimi de Jundiá. Pré-aquecimentos a 60° C: A (30min), B (45min) e C(60min), todos seguidos de aquecimento final a 90° C, 15min; D, etapa única de aquecimento a 90° C, 15min (*controle, sem inibidores). EW: clara de ovo; BSA/2-M: combinação de albumina do soro bovina e α_2 -Macroglobulina; SI: sem inibidores.

Esse comportamento da força de gel do surimi de Jundiá também foi observado em outras espécies, como Tilápia (*Oreochromis* sp), Alabote-dente-curvo (*Atheresthes stomias*), e Merluza (*Merluccius* sp) (AN, PETERS e SEYMOUR, 1996; YONGSAWATDIGUL et al., 2000; VISESSANGUAN et al, 2001), tanto com a utilização de inibidores como no efeito do tratamento térmico a 60°C sobre amostras sem inibidores. No entanto, géis de Carapau-do-Japão (*Trachurus japonicus*) depois de mostrar um incremento inicial na força de gel, em presença de inibidores, esta propriedade diminuiu com o prolongamento do tempo de cocção e, nas amostras controle, a mesma não foi detectável após trinta minutos a 70°C, evidenciando uma elevada atividade proteolítica (CHEN, 2000).

A maior força de compressão ($p < 0,05$) nos géis obtidos no tratamento térmico direto (90° C, 15min) em relação aos géis submetidos aos pré

aquecimentos a 60°C indicou uma geleificação protéica miofibrilar mais adequada em altas temperaturas e um efeito térmico inibitório sobre uma possível proteólise. A adição de compostos inibidores aumentou ($p < 0,05$) a força de gel, em relação à amostra controle, com efeitos similares também observados em outras espécies de pescado (TABILO-MUNIZAGA e BARBOSA-CANOVAS, 2005; GARCIA-CARRENO, 1996; RAEKER e JOHNSON, 1995) utilizando os mesmos compostos protéicos como inibidores.

A força de compressão média do gel de Jundiá (12,0Kg) foi superior aos observados para géis de Pescada-foguete (*Macrodon ancylodon*) (3,0Kg) (KUHN et al., 2004; 2003) e na Castanha (*Umbrina canosa*) (3,4Kg) (LEMPEK et al., 2004) sem uso de inibidores. Constatou-se ainda maior diferença para géis de Tilápia (*Oreochromis* sp), espécie de água doce amplamente utilizada na aquicultura, que apresentaram um perfil textural, para o mesmo ensaio instrumental, com valores de mais de três vezes menor, mesmo sob a utilização de diferentes hidrocolóides (BARRETO e BEIRÃO, 1999).

Os dados do experimento confirmaram a contribuição da clara de ovo (EW) para o acréscimo da força de gel, atribuído às propriedades do conjunto de suas proteínas, sem alterar a rede protéica, visto que em concentrações superiores à utilizada pode ocorrer a formação de um gel brando interferindo negativamente na textura dos produtos à base de surimi (LEE, WU e OKADA, 1992).

A atuação do complexo inibidor EW no gel de Jundiá não encontrou limitações devido ao tamanho da molécula. Isso indica que o processo de elaboração do surimi facilitou a penetração e difusão do inibidor no tecido muscular, confirmando observações anteriores em géis de Merluza do Pacífico (MORRISSEY et al., 1993; RAEKER e JOHNSON, 1995; ASHIE, SIMPSON e RAMASWAMY, 1996), Pescada (KUHN e SOARES, 2002), e Carapau-do-Japão (CHEN, 2000).

A combinação de proteínas do plasma (soro albumina bovina (BSA) e α_2 -Macroglobulina (α_2 -M), contribuiu para melhorar a textura do gel de surimi de

Jundiá, embora em nível inferior ($p < 0,05$) ao gel tratado com EW (Fig 1). A criação desse efeito sinérgico propiciou uma textura de gel superior comparado ao de pescada, no qual utilizou-se somente BSA como inibidor (KUHN et al., 2003) ou similar, quando se utiliza BSA em concentrações acima de 3% (SEYMOUR et al., 1997). Na ampliação desse efeito sinérgico já foi utilizado o conjunto de proteínas do plasma bovino (PPB) onde, devido à presença de moléculas de fibrinogênio, ocorre uma interação entre a BSA, α_2 -M e a miosina, resultando em maior força de gel (MORRISSEY et al., 1993; SEYMOUR et al., 1997; CHEN, 2000).

A coesividade dos géis diminuiu (Fig 2) nos tratamentos térmicos com duplo estágio de aquecimento, principalmente após os 45min de aquecimento. O decréscimo pode ser atribuído à desnaturação protéica, que altera as interações intermoleculares das cadeias protéicas pelo longo período de exposição ao aquecimento (LANIER, 1986) associada ainda a uma possível ação proteolítica (AN, PETERS e SEYMOUR, 1996).

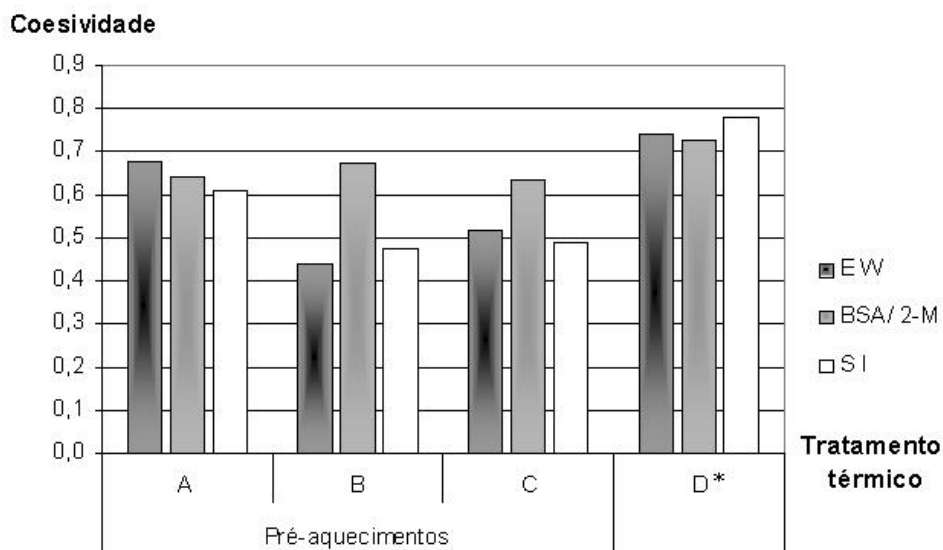


Figura 2 – Efeito dos tratamentos na coesividade dos géis de surimi de Jundiá. Pré-aquecimentos a 60° C: A (30min), B (45min) e C(60min), todos seguidos de aquecimento final a 90° C, 15min; D, etapa única de aquecimento a 90° C, 15min (*controle, sem inibidores). EW: clara de ovo; BSA/2-M: combinação de albumina do soro bovina e α_2 -Macroglobulina; SI: sem inibidores.

O efeito de uma ação proteolítica foi mais bem controlada a partir dos 45min de aquecimento, onde constatou-se uma melhor resposta da combinação das proteínas do plasma (BSA e α_2 -M), em relação à EW, atribuída à presença da fração γ -globulina presente na BSA, que confere ao inibidor estabilidade térmica, exigindo assim uma maior temperatura de desnaturação (RAEKER e JOHNSON, 1995).

Os valores de coesividade no aquecimento direto não diferem entre os tratamentos (Fig 2), indicando a integridade da matriz protéica e, conseqüentemente, a manutenção da textura elástica (*ashi*) do gel *kamaboko*. Géis de surimi de Merluza do Atlântico (*Merluccius spp*) apresentaram o mesmo comportamento, em condições similares de aquecimento (MURPHY et al., 2005), corroborando os resultados apresentados. Além disso, a estabilidade térmica da miosina, um fator dependente da espécie e condições de habitat, influi nas propriedades do gel, onde a proteína proveniente de espécies de águas frias utilizadas na elaboração do gel se apresenta mais instável quando submetida ao tratamento térmico (MORALES et al., 2001).

A quantificação dos grupamentos sulfidrílicos (SH) nos géis de surimi de Jundiá revelou um decréscimo desses grupos após os tratamentos térmicos (tab 1), especialmente no sistema de aquecimento direto ($p < 0,05$).

Tabela 1 – Quantificação de grupos sulfidrílicos para surimi e géis *kamaboko*.

Tratamento térmico	SH (mol/10 ⁵ g proteína)		
	EW	BSA/ α_2 -M	SI
60° C	30min + 90° C, 15min	4,3021 Ba	4,4105 Aa
	45min + 90° C, 15min	5,1538 Cb	4,6120 Aa
	60min + 90° C, 15min	5,4423 Cb	4,4615 Aa
90° C, 15min (*)	3,7433 Aa	4,2859 Ab	4,4065 Ab
Surimi	6,7678 Da	6,5707 Bb	6,4966 Db

Géis com inibidores: EW: clara de ovo, BSA/ α_2 -M: soro albumina bovina e α_2 – Macroglobulina; SI, sem inibidores; *Controle. Valores assinalados com letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas diferem entre si pelo teste de Tuckey ($p < 0,05$)

O conteúdo sulfidrílico de $6,49\text{mol}/10^5\text{g}$ de proteína do surimi de Jundiá, sem adição de inibidores (Tab 1), foi semelhante aos obtidos em outras espécies de pescados, como o Salmão (*Oncorhynchus tshawytscha*) (LIN e PARK, 1998) e Carapau-do-Japão (VISESSANGUAN et al, 2000). Enquanto que géis de Carpa (*Cyprinus carpio*) e Peixe-voador do Japão (*Cypselurus hiraii*) os teores de grupos SH são maiores, atingindo valores da ordem de $8,0$ e $7,0\text{mol}/10^5\text{g}$ da proteína, respectivamente (RUNGLERDKRIANGKRAI et al., 1999).

As diferenças no conteúdo sulfidrílico dos géis de Jundiá mostraram-se dependentes dos sistemas de aquecimento (Fig 3). O sistema de aquecimento por duplo estágio apresentou níveis maiores ($p<0,05$) de sulfidrilas, correspondendo aos menores valores de força de gel, observados no ensaio de compressão (Fig 1). Portanto, no aquecimento direto houve um decréscimo ($p<0,05$) de grupamentos sulfidrílicos do gel *kamaboko* de Jundiá que, através da sua oxidação, proporcionam a formação de ligações cruzadas intermoleculares dissulfeto (SS), aumentando assim a força de gel (GERRARD, 2002; BENJAKUL et al., 2001; BENJAKUL, VISESSANGUAN e CHANTARASUWAN, 2004).

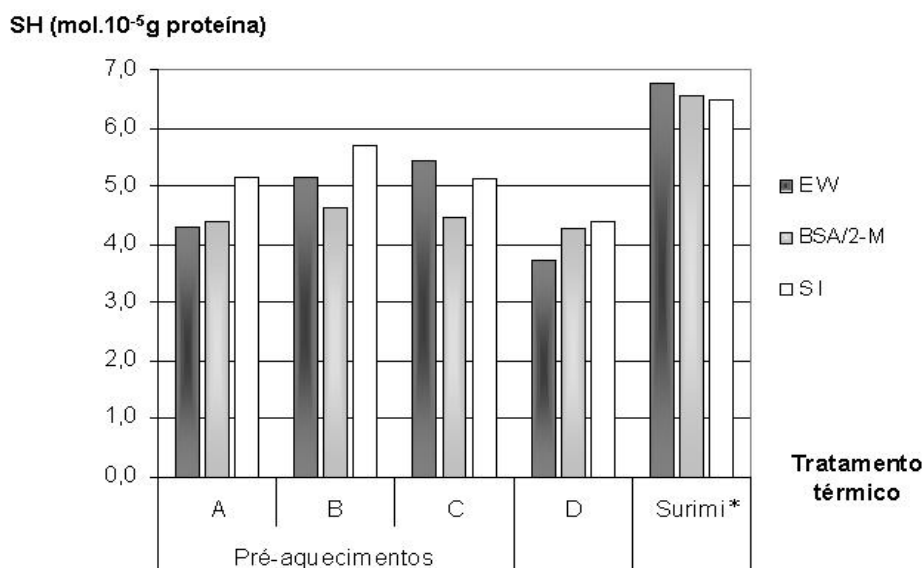


Figura 3 – Quantificação de grupos sulfidrílicos de géis *kamaboko* e do surimi de Jundiá. Pré-aquecimentos a 60°C : A (30min), B (45min) e C(60min), todos seguidos de aquecimento a 90°C , 15min; D, etapa única de aquecimento a 90°C , 15min. EW: clara de ovo; BSA/2-M: combinação de albumina do soro bovina e α_2 -Macroglobulina; SI: sem inibidores, (*) Controle, sem inibidores.

O decréscimo significativo de grupos SH observado no gel de Jundiá no aquecimento direto é similar ao observado em outras espécies, como o Escamudo-do-Alasca, (*Theragra chalcogramma*.) (HOSSAIN et al., 2001), Carpa e Peixe-voador do Japão (RUNGLERDKRIANGKRAI et al., 1999; TUNHUN et al., 2002), nas quais os géis também apresentaram diminuição em temperaturas superiores a 80° C. Algumas espécies, como a Catalufa pintada (*Priacanthus* spp) demonstraram decréscimo efetivo no conteúdo sulfidrílico em um intervalo de temperatura menor, entre 50-70° C, sendo termicamente mais suscetíveis à formação de pontes dissulfeto (BENJAKUL et al., 2001).

O fenômeno ocorre principalmente na porção globular da molécula de miosina, onde se encontra a maior parte dos grupos SH (VISESSANGUAN et al., 2000), em decorrência do seu desdobramento e a formação do polímero responsável pela rede protéica tridimensional característica do gel *kamaboko* (MONTERO e GOMEZ-GUILLÉN, 1996).

Os géis *kamaboko* de Jundiá expostos a 60° C apresentaram maior conteúdo sulfidrílico e decréscimo na força de gel, possivelmente pela não formação das ligações dissulfeto intermoleculares. Perdas na textura, nestas condições, indicam a ocorrência do *modori*, devido à presença de proteases termoestáveis ativadas na faixa de temperatura a entre 50-70° C (KUHN e SOARES, 2002). Além da ação proteolítica, uma excessiva interação hidrofóbica provocada pela associação da temperatura e prolongamento do tempo de aquecimento, pode levar à formação inadequada do gel, caracterizando o “*modori* não-proteolítico” (LEE, WU e OKADA, 1992), um fenômeno que conduz ao encolhimento na estrutura, perda de água e dispersão das cadeias protéicas de forma heterogênea (MONTERO e GOMEZ-GUILLÉN, 1996).

4. CONCLUSÃO

A melhor textura do gel de jundiá (força de compressão e coesividade) ocorre com o decréscimo do conteúdo sulfidrílico da proteína, comprovando a sua influência no mecanismo de formação do gel de surimi de Jundiá. O duplo estágio

de aquecimento mantém os maiores níveis de sulfidrilas em relação ao sistema de aquecimento direto, com perdas na textura, o que caracteriza o fenômeno *modori*. A presença de aditivos protéicos também contribui para a redução dos grupos SH, melhorando significativamente a textura do gel de surimi de Jundiá.

5. AGRADECIMENTOS

Ao Depto de Zootecnia da Universidade Federal de Pelotas, pelo fornecimento de matéria-prima;

Ao Laboratório de Tecnologia de Alimentos – LTA, da Fundação Universidade Federal do Rio Grande, FURG;

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, Clima Temperado;

À Comissão de Apoio a Pesquisa e Ensino Superior – CAPES e ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento – CNPq, pelo suporte financeiro e bolsa de estudo.

6. REFERENCIAS

AN, H.; PETERS, M.Y.; SEYMOUR, T.A. Roles of endogenous enzymes in surimi gelation. **Trends in Food Science and Technology**, v.7, p.321–326, 1996.

AOAC. **Official methods of analysis of the association of official analytical chemists**. 16th Ed., Arlington, 1995.

ASHIE, I. N.A.; SIMPSON, B.K.; RAMASWAMY, H.S. Control of endogenous enzyme activity in fish muscle by inhibitors and hydrostatic pressure using RSM. **Journal of Food Science**, v61, p.350-356, 1996.

BARRETO, P.L.M.; BEIRÃO, L.H. Influência do amido e carragena nas propriedades texturais do surimi de Tilápia (*Oreochomis sp.*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, p.183-188, 1999.

BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; CHANTARASUWAN, C. Effect of high temperature setting on gelling characteristic of surimi from some tropical fish. **International Journal of Food Science and Technology**, v.39, p.671-680, 2004.

BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; ISHIZAKI, S.; TANAKA, M. Differences in gelation characteristics of natural actomyosin from two species of Bigeye snapper, *Priacanthus tayenus* and *Priacanthus macracanthus*. **Journal of Food Science**, v.66, p.1311-1318, 2001.

CHEN, H.H. Effect of non-muscle protein on the thermogelation of horse mackerel surimi and the resultant cooking tolerance of *kamaboko*. **Fisheries Science**, v.66, p.783-788, 2000.

GARCÍA-CARREÑO, F.L. Proteinase inhibitors. **Trends in Food Science and Technology**, v.7, p.197-204, 1996.

GERRARD, J.A. Protein-protein crosslinking in food: methods, consequences, applications. **Trends in Food Science and Technology**, v. 13, p. 391-399, 2002.

HAMSAKUTTY, H. **Cysteine**. Free Radical and Radiation Biology. University of Iowa, Iowa City, USA, 10 p., 2003.

HOSSAIN, M.I.; ITOH, Y.; MORIOKA, K.; OBATAKE, A. Contribution of the polymerization of protein by disulfide bonding to increased gel strength of walleye Pollack surimi gel with preheating time. **Fisheries Science**, v.67, p.710-717, 2001.

KUHN, C.R. **Inibidores de proteases na qualidade do gel de surimi de subprodutos do processamento de pescada-foguete (*Macrodon ancylodon*)**. 2003, 69p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial). Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS.

KUHN, C.R.; PRENTICE, C. Estudo tecnológico para obtenção de surimi utilizando resíduos do processamento de Pescada-foguete (*Macrodon ancylodon*), Cap. 06, In: **Prêmio Jovem Cientista: Oceanos, Fonte de Alimentos**. Publicação dos trabalhos vencedores. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Rio de Janeiro, 1999, p.181-211.

KUHN, C.R.; SOARES, G.J.D. Proteases e inibidores no processamento de surimi. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.8, n.1, p.5-11, 2002.

KUHN, C.R.; FILGUERAS, R.S.; VENDRUSCOLO, J.L.; PRENTICE, C.; SOARES, G.J.D. Efecto de inhibidores de proteasa y de transglutaminasa en el gel de surimi de pescada-foguete (*Macrodon ancylodon*). **Alimentaria**, Madrid, España, p.53-60, noviembre, 2004.

KUHN, C.R.; SOARES, G.J.D.; PRENTICE, C.; VENDRUSCOLO, J.L. Avaliação da força de gel de surimi de resíduos de pescada-foguete (*Macrodon ancylodon*) enriquecido com aditivos protéicos. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v.21, n.2, p.239-248, jul./dez, 2003.

LANIER, T.C. Functional properties of surimi. **Food Technology**, v.40, p.107, 1986.

LEE, C.M.; WU, M.C.; OKADA, M. Ingredient and formulation technology for surimi-based products. In: Lanier, T.C.; Lee, C.M. (eds). **Surimi Technology**. Marcel Decker Inc., New York, 1992. p.273-302.

LEMPEK, T.S.; PRENTICE, C.H.; SILVA, A.G.; SILVA, R. Avaliação do gel de surimi de castanha (*Umbrina canosa*). In: XIX Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos – CBCTA. **Anais do XIX CBCTA**. Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Recife, PE, 2004.

LIN, T.M.; PARK, J.W. Extraction of proteins from Pacific whiting mince at various washing conditions. **Journal of Food Science**, v.61: p.432-438, 1996.

LUCHINI, L., SALAS, T. Primer alevinaje del bagre sudamericano (*Rhamdia sapo*) en condiciones controladas. **Revista de la Asociación de Ciencias Naturales del Litoral**, v. 16, p. 137-147, 1985.

MONTERO, P.; GOMEZ-GUILLÉN, C. Thermal aggregation of sardine muscle proteins during processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.44, p.3625-3630, 1996.

MORALES, O.G., RAMÍREZ, J.A., VIVANCO, D.I., VÁZQUEZ, M. Surimi of fish species from the Gulf of Mexico: evaluation of the setting phenomenon. **Food Chemistry**, v.75, p.43-48, 2001.

MORRISSEY, M.T.; WU, J.W.; LIN, D., AN, H. Protease inhibitor effects on torsion measurements and autolysis of Pacific whiting surimi. **Journal of Food Science**, v.58, p.1050-1054, 1993.

MURPHY, S.C.; GILROY, D.; KERRY, J.F.; KERRY, J.P. Assessment of added protein/starch on the functional properties on surimi gels manufactured from Atlantic whiting. **Journal of Food Science**, v.70, p.21-24, 2005.

NIWA, E. Chemistry of surimi gelation. In: LANIER, T. C. & LEE, C. M. (Eds): **Surimi Technology**. Marcel Dekker, Inc., New York, 1992, p.289-328.

RAEKER, M.Ö., JOHNSON, L.A. Thermal and functional properties of bovine blood plasma and egg white proteins. **Journal of Food Science**, v.60, p.685-690, 706, 1995.

REPPOND, K.D.; BABBITT, J.K. Protease inhibitors affect physical properties of arrowtooth flounder and Walleye Pollock surimi. **Journal of Food Science**, v.58, p.96-98, 1993.

RUNGLERDKRIANGKRAI, J.; ITOH, Y.; KISHI, A.; OBATAKE, A. Polymerization behavior of various actomyosin through disulfide bonding upon heating. **Fisheries Science**, v.65, p.304-309, 1999.

SEYMOUR, T.A.; PETERS, M.Y.; MORRISSEY, M.T., AN, H. Surimi gel enhancement by bovine plasma proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.45, p.2919-2923, 1997.

SOARES, G.J.D.; ARÊAS, J.A.G. Effect of Electrical Stimulation on *Post mortem* Biochemical Characteristics and Quality of *Longissimus dorsi thoracis* Muscle from Buffalo (*Bubalus bubalis*). **Meat Science**, v.41, n.3, p.369-379, 1995.

STATSOFT **Statistica for windows** (Computer program manual, Analytical Software), Tulsa, OK, USA, 1998.

TABILO-MUNIZAGA, G.; BARBOSA-CANOVAS, G.V. Pressurized and heat-treated surimi gels as affected by potato starch and egg white: microstructure and water-holding capacity. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, v.38, p.47-57, 2005.

TOTOSAUS, A., MONTEJANO, J.G., SALAZAR, J.A., GUERRERO, I. A review of physical and chemical protein-gel induction. **International Journal of Food Science and Technology**, v.37, p.589-601, 2002.

TUNHUN, D.; ITOH, Y.; MORIOKA, K.; KUBOTA, S.; OBATAKE, A. Gel forming ability of fish meat oxidized during washing. **Fisheries science**, v.68, p.662-671, 2002.

VIENSSANGUAN, W.; MENINO, A.; KIM, S.M.; AN, H. Cathepsin L: A predominant heat-activated proteinase in Arrowtooth flounder muscle. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.2633-2640, 2001.

VIENSSANGUAN, W.; OGAWA, M.; NAKAI, S.; AN, H. Physicochemical changes and mechanism of heat-induced gelation of Arrowtooth flounder myosin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.1016-1023, 2000.

YONGSAWATDIGUL, J.; PARK, J.W.; VIRULHAKUL, P.; VIRATCHAKUL, S. Proteolytic degradation of tropical tilapia surimi. **Journal of Food Science**, v.65, p.129-133, 2000.

ZIEGLER, G.R.; FOEGEDING, E.A. The gelation of proteins. **Advances in Food and Nutrition Research**, v.34, p.203-298, 1990.

CAPÍTULO II

ARTIGO II – GELEIFICAÇÃO TERMO-INDUZIDA DO SURIMI DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)

GELEIFICAÇÃO TERMO-INDUZIDA DO SURIMI DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)

KUHN, C.R., TORRES, L., ALFARO, A.; VENDRUSCOLO, J.L.S., PRENTICE, C.,
SOARES, G.J.D.

RESUMO

A caracterização do fenômeno de geleificação termo-induzida do gel de *surimi* de Jundiá (*Rhamdia quelen*) foi realizada através da análise de propriedades reológicas e físico-químicas, através de quatro tratamentos térmicos (pré-aquecimento a 60° C durante 30, 45 e 60min + 90° C, 15min e aquecimento direto a 90° C, 15min) e três formulações: Duas com inibidores de protease (soroalbumina bovina (BSA) + α_2 -Macroglobulina e clara de ovo) e uma sem inibidores. A utilização de aditivos protéicos em géis submetidos a 90° C, 15min possibilita uma maior força de gel, maior coesividade ($p < 0,05$) e um melhor perfil reológico demonstrando um incremento no módulo de elasticidade. Em amostras submetidas a pré-aquecimento, foi obtida uma menor força de gel, menor coesividade e maior oscilação dos parâmetros de elasticidade e ângulo de fase. Todos os sistemas de aquecimento testados não apresentaram diferença ($p < 0,05$) quanto aos níveis de peptídeos solúveis. Contudo, a menor textura (força de gel e coesividade) e o perfil reológico indicam a provável ocorrência do *modori* de origem não-proteolítica.

Palavras-chave: surimi, força de gel, geleificação térmica.

HEAT-INDUCED GELATION OF SURIMI FROM JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)

ABSTRACT

Thermal gelation of surimi from Jundiá (*Rhamdia quelen*) it was carry out through the evaluation of rheology and physicochemical properties by using four heating systems (three pre-heating at 60° C during 30, 45 and 60min + 90° C, 15min and a one-step heating at 90° C, 15min) and three formulations which two with protease inhibitors (bovine serum albumin (BSA) + α_2 -Macroglobulina and egg white) and one formulation without inhibitors. Samples with inhibitors and one-step heating reached higher ($p < 0,05$) gel force, cohesiveness and have presented an increase in the storage modulus (G'). The behavior of two-step heating includes smaller texture and a larger oscillation in the storage modulus and phase angle. The heating systems were not significant ($p < 0,05$) to the soluble peptides levels. However, the lowest texture and rheological profile have indicated a probably occurrence of the non-proteolytic *modori* at 60°C (two-step heating).

Key words: surimi, gel strength, thermal gelation.

1. INTRODUÇÃO

A geleificação termo-induzida é um dos fenômenos mais interessantes na ciência dos alimentos e que pode ser definido como uma agregação de moléculas desnaturadas com determinada ordenação, resultando na formação de uma cadeia contínua (CHEFTEL; CUQ; LORIENT, 1989; ZIEGLER e FOEGEDING, 1990).

Na moderna Tecnologia de Alimentos, o desafio está em gerar produtos atrativos ao consumidor utilizando somente uma faixa limitada de ingredientes. As proteínas são uma das principais classes de moléculas disponíveis para essa finalidade, através da agregação protéica e da formação de ligações cruzadas intermoleculares (MOTOKI e KUMAZAWA, 2000).

O processamento de alimentos envolve freqüentemente altas temperaturas, extremos de pH, exposição a condições oxidantes e ação química não controlada de enzimas. Tais condições resultam na alteração da estrutura protéica com mudanças substanciais na estrutura das cadeias polipeptídicas e na suas propriedades nutricionais e funcionais (GERRARD, 2002; TOTOSAUS et al., 2002).

A geleificação térmica do surimi é uma etapa fundamentalmente importante na manufatura de uma variedade de produtos análogos a frutos do mar. A elevação da temperatura promove alterações que levam à formação de uma estrutura protéica tridimensional, decorrente de três etapas atingidas durante o processo: *suwari*, *modori* e *kamaboko*. Essa rede protéica contribui não somente para a textura elástica, mas também com outras propriedades funcionais importantes para simular a aparência e textura da carne (VISESSANGUAN et al., 2000).

O gel é obtido a partir de monômeros de proteínas solúveis que se agregam de modo finito, formando o primeiro estágio, denominado pré-gel (*suwari*), o qual vai evoluir para um ponto de gel, acima dos 50°C, pelas

interações entre as regiões hidrofóbicas, situadas próximas à cabeça da molécula de miosina. Entretanto, na faixa de temperatura entre 50-70° C, pode ocorrer a quebra da rede protéica (*modori*) pré-estabelecida no *suwari*, sendo associado com a ação de proteinases endógenas termicamente ativadas e/ou comportamento térmico da proteína miofibrilar. À temperatura de 80-90°C ocorre a formação de um gel opaco e forte, denominado *kamaboko*. Nesse gel, a actomiosina induzida por efeito do calor, aprisiona moléculas de água, através de ligações cruzadas, as quais são vitais para a manutenção correta da conformação das proteínas e podem controlar o grau de flexibilidade da cadeia polipeptídica, inclusive *in vivo* (NIWA, 1992; REPPOND e BABBIT, 1993; VISSENSANGUAN e AN, 2000; HAMSAKUTTY, 2003).

A capacidade da miosina para formar ligações cruzadas, tanto de modo intra como intermolecular durante o tratamento térmico, é considerada vital para a geleificação de alimentos protéicos como o surimi. As ligações dissulfeto (SS) são formadas por grupos oxidativos de resíduos de cisteína (grupos tiol, SH) adjacentes dentro da matriz protéica. O desdobramento da cadeia polipeptídica pela ação do calor conduz à exposição dos grupos reativos, favorecendo as interações hidrófobas proteína-proteína. A elevada massa protéica molecular e uma grande quantidade de aminoácidos hidrófobos possibilitam a formação de uma rede compacta, pela exposição de grupos SH internos e formação de ligações dissulfeto, conduzindo à formação de géis termicamente irreversíveis (CHEFTEL; CUQ; LORIENT, 1989; GERRARD, 2002).

Contudo, a capacidade de geleificação da miosina é altamente relacionada com a espécie utilizada (até mesmo variação na própria espécie) e condições de preparo do surimi. Diferentes capacidades de geleificação do músculo entre espécies são atribuídas às diferenças nas ligações cruzadas entre as moléculas de miosina, particularmente na sua porção globular, em função de sua conformação nativa (VISESSANGUAN et al., 2000; 2001).

O presente trabalho teve como objetivo verificar o mecanismo de geleificação térmica do surimi de Jundiá (*Rhamdia quelen*) e suas alterações

físico-químicas decorrentes do tratamento térmico e da adição de inibidores de protease normalmente utilizados na obtenção de produtos geleificados à base de surimi.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Matéria-prima

O Jundiá (*Rhamdia quelen*), criado em cativeiro e fornecido pelo Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Pelotas, foi processado e filetado manualmente (em até 6h pós-captura), embalado a vácuo em embalagens de polietileno e estocado a -30°C (freezer horizontal) até o momento de seu processamento, constituindo assim a matéria-prima para o processamento de surimi (KUHN et al., 2006).

2.2 Processamento de surimi

Os filés previamente descongelados foram submetidos ao processo de separação mecânica (Baader mod. 694, num cilindro com perfurações de 5mm de diâmetro, Indústria Pesqueira Furtado S.A.) para a obtenção da polpa de pescado. A polpa foi submetida a duas lavagens em tanques de polietileno (água fria a $t < 10^{\circ}\text{C}$, razão 3:1 água/polpa), sob leve agitação durante 5min, com uma drenagem entre as lavagens (LIN e PARK, 1998). Após o ciclo de lavagens, realizou-se o refino da polpa por compressão (manualmente, utilizando sistema pistão/cilindro em aço inox com perfurações de 2mm de diâmetro) e a operação de drenagem por centrifugação (Hidroextrator YL 15, Ankofood Machine Co Ltd., Taiwan), retirando-se o excesso de água da polpa, para atingir níveis de umidade (AOAC, 1995) entre 70-75%. Os crioprotetores (4% (p/p) sorbitol, 0,3%(p/p) tripolifosfato de sódio – Synth Laboratórios) foram misturados à polpa, com a pasta dividida para a adição de dois inibidores: a mistura de BSA 1% (Soro albumina bovina, Sigma Chemical Co) e globulinas (α_2 -M, 0,1%); e clara de ovo 3% (Fisher Scientific), além do controle (sem inibidores). O produto, surimi, foi congelado (-30°C , freezer horizontal) e estocado (Laboratório de Tecnologia de

Alimentos, LTA – FURG) até o momento da preparação do gel (KUHN e PRENTICE, 1999).

2.3 Preparação do gel termoe estável (*kamaboko*)

Amostras de surimi (200g) foram descongeladas, adicionando-se os ingredientes cloreto de sódio – NaCl (3%) e fécula de mandioca (5%), com a mistura realizada em cutter de bancada (METVISA, mod CUT-3) para a obtenção de uma pasta homogênea, durante 2min. A pasta assim obtida foi acondicionada em envoltórios de colágeno (20mm de diâmetro) e submetida aos diferentes tratamentos térmicos (KUHN, 2003):

- a. **Aquecimento direto** – as amostras foram submetidas a uma única etapa de aquecimento à temperatura de 90° C, durante 15 minutos. Esgotado o tempo de aquecimento, foram imediatamente resfriadas em água gelada, durante 30min e mantidas sob refrigeração a 5,0°C (máx 24h) para as determinações físico-químicas.
- b. **Pré-aquecimento** – as amostras foram incubadas à temperatura de 60° C, durante três diferentes tempos: 30, 45 e 60 minutos e, após, submetidos ao aquecimento a 90° C, 15min, sendo imediatamente resfriadas em água gelada, durante 30min e mantidas sob refrigeração a 5,0°C (máx 24h) para as determinações físico-químicas.

2.4 Análises de textura

As propriedades texturais (força de compressão e coesividade) foram avaliadas na Máquina Universal de Testes – Instron, mod. 1130 (Laboratório de Análise de Alimentos da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, Clima Temperado), utilizando-se uma célula de carga de 50Kg, velocidades de carta e cabeça de 10cm.min⁻¹, com célula plana de pistão chato (35mm de diâmetro) com um mínimo de três repetições para cada tratamento.

Para a força de compressão, a força máxima (g) suportada pela amostra cilíndrica (2,0cm de altura e diâmetro, sentido axial) foi obtida antes do seu rompimento, sem perda de sua estrutura. A seguir, utilizando-se da mesma amostra, foi realizada uma segunda compressão de modo separado e consecutivo, registrando-se a força máxima (g) nesse momento. As razões entre as áreas ou picos de força obtidos foram transformadas em coesividade (SOARES e ARÊAS, 1995; KUHN et al., 2003).

2.5 Propriedades viscoelásticas

As amostras de surimi (8g) previamente preparadas foram homogeneizadas em uma solução de NaCl 0,6M a uma razão 1:1 (p/p), para avaliação do módulo de elasticidade (G') e ângulo de fase (AF) utilizando-se o reômetro Haake Rheostress RS-150 (EKO Instruments Trading Co. Ltd., Tokyo, Japan), com o software Rheowin Job Manager, no Laboratório de Biopolímeros da Universidade Federal de Pelotas (LEE et al., 1997; YONGSAWATDIGUL et al., 2000).

As determinações foram conduzidas configurando-se o equipamento para ensaio no modo oscilatório, em placas paralelas de 20mm de diâmetro, fenda de 1,0mm (GAP), frequência de 2,1Hz, tensão de 0,05 μ N.m e taxa de aquecimento de 2° C.min⁻¹ ('rampas de temperatura'). As amostras (pastas de surimi) foram submetidas ao aquecimento contínuo de 10 até 90° C para o aquecimento direto e 10 até 60° C para o duplo estágio de aquecimento; mantendo-se esta última temperatura durante 1 hora (BENJAKUL et al., 2001; ALFARO, 2004).

2.6 Determinação de peptídeos solúveis em TCA

Amostras do gel *kamaboko* (3g) foram homogeneizadas numa solução (27ml) de ácido tricloroacético – TCA (5%), incubadas (4° C, 1h) e centrifugadas (5000xg, 5min). As proteínas recuperadas do sobrenadante foram quantificadas (BRADFORD, 1976) e expressas como μ mol tirosina.g⁻¹ músculo (BENJAKUL; VISESSANGUAN; CHANTARASUWAN, 2004).

2.7 Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando-se análise de variância (ANOVA), com a diferença de médias calculada através do teste de Tukey (HSD, all pairwise comparisons), com nível de significância estabelecido a $p < 0,05$, utilizando o software Statistica for Windows, versão 8.0 (STATSOFT, 1998).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As alterações visualizadas no módulo de elasticidade (G') para as amostras submetidas ao aquecimento direto revelam diferenças no processo de geleificação térmica, devido à participação dos inibidores (Fig 1).

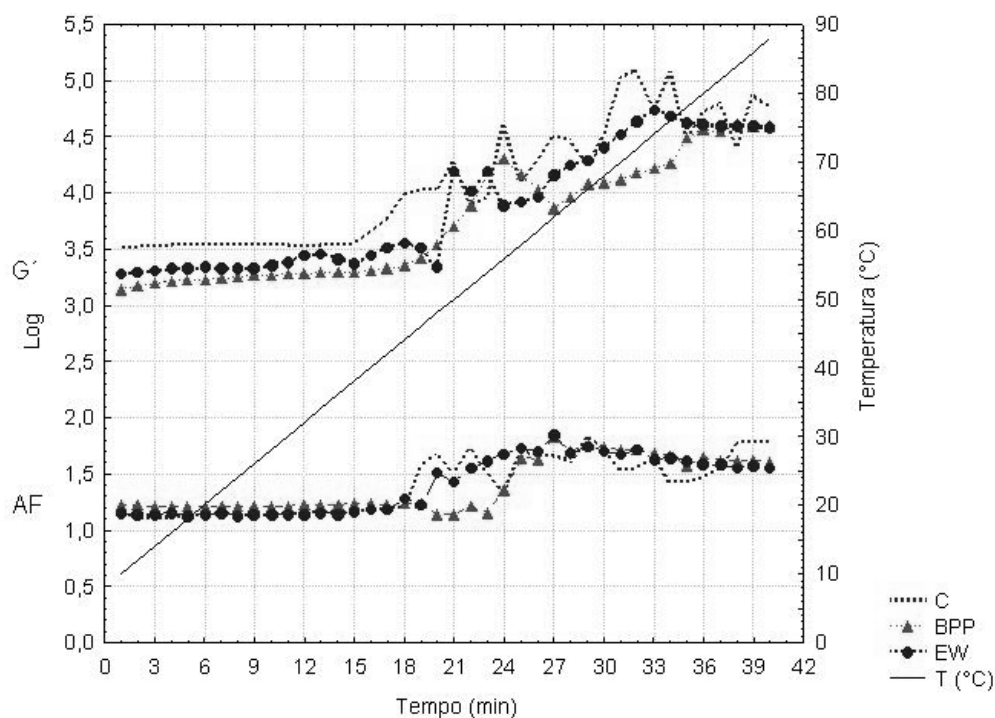


Figura 1 – Comportamento reológico de géis de surimi de Jundiá aquecidos a 90°C (etapa única de aquecimento). Propriedades viscoelásticas: G' , módulo de elasticidade; AF, ângulo de fase. Géis: C, controle; EW, clara de ovo; BPP, combinação de albumina do soro bovino (BSA) e α_2 -Macroglobulina (α_2 -M).

Na amostra controle, sem inibidores (C), um acréscimo nos valores do módulo de elasticidade é verificado a partir dos 15min de aquecimento,

correspondendo a uma temperatura de 38° C, aproximadamente. As amostras com os inibidores apresentam comportamento diferenciado, particularmente após 18min de aquecimento (temperatura de 45-50° C), notando-se ainda, notadas modificações no ângulo de fase no intervalo de tempo entre 18-28min.

As variações mais intensas nos módulos de elasticidade (G') e do ângulo de fase indicam o início do processo de geleificação térmica do surimi de Jundiá e a transição sol-gel, estando em conformidade com perfis de géis de surimi de Escamudo-do-Alasca (*Theragar chalcogramma*) e Alabote-dente-curvo (*Atheresthes stomias*), nos quais foram observadas modificações nos parâmetros viscoelásticos a partir de 30° C (YOO e LEE, 1994; VISESSANGUAN et al, 2000).

No entanto, pequenas variações foram constatadas no início da transição sol-gel em géis de *surimi* de Baga de Lagoa (*Nemipterus bleekeri*) e da actomiosina do músculo de Vieira (*Patinopecten yessoensis*), em faixas de temperaturas de 40,0° C e 22,0° C, respectivamente (YONGSAWATDIGUL e PARK, 2003; YOSHIDA et al., 2003).

O uso do ângulo de fase para a avaliação das características de formação da rede protéica tem a vantagem de incorporar o efeito da contribuição do módulo de viscosidade (G''), através da razão G''/G' . Assim, a formação da rede protéica é caracterizada pelo predomínio da fase elástica sobre a viscosa, refletindo-se no decréscimo do ângulo de fase (VISESSANGUAN et al., 2000).

As oscilações iniciais no módulo de elasticidade podem ser atribuídas ao desdobramento da molécula de miosina, o que conduz a um aumento na fluidez do semigel e pode separar algumas redes protéicas já formadas. O processo caracteriza uma desnaturação, com a exposição de grupamentos sulfidrílicos, subseqüentemente envolvidos na formação de ligações intermoleculares no processo de agregação, formando pontes dissulfeto, movidos pelo incremento da temperatura (KUHN et al., 2006). O desenvolvimento da rede protéica tridimensional é confirmado pelo significativo incremento no módulo de elasticidade e decréscimo do angulo de fase, à medida que a temperatura atinge

valores superiores a 60°C (STONE e STANLEY, 1992; VISESSANGUAN et al., 2000).

Nos géis de surimi de Jundiá foi possível verificar esse comportamento a partir de 27min de aquecimento, a uma temperatura de 65°C. O fenômeno, descrito igualmente em géis de Polaca-do-Alasca (*Theragra chalcogramma*), não foi verificado em géis de Carpa comum (*Cyprinus carpio*) (SANO et al., 1988). As diferenças entre as espécies são atribuídas às características da molécula de miosina, tais como sua conformação nativa, facilidade de interação, tamanho e comprimento da molécula, que por sua vez, são influenciadas por fatores inerentes ao espécime e ao habitat (MORRISSEY et al., 1993; YONGSAWATDIGUL et al., 1995; 2000; KUHN e SOARES, 2002).

É possível verificar ainda, na amostra controle, oscilações maiores no ângulo de fase e no módulo de elasticidade à medida que aumentam o tempo e a temperatura de aquecimento. Isto indica a não formação de um gel adequado, confirmada também em ensaios de textura, onde se alcançaram valores inferiores às amostras contendo inibidores, comprovando a contribuição destes compostos para uma adequada formação de gel.

Contudo, quando submetidos ao aquecimento em duplo estágio (60°C), os géis de surimi de Jundiá apresentaram visíveis alterações no perfil do módulo de elasticidade e no ângulo de fase, revelando assim o efeito da temperatura sobre o mecanismo geleificação térmica (Fig 2).

As oscilações verificadas no módulo de elasticidade durante uma exposição a 60° C, condiz com uma geleificação inadequada, possivelmente pela ocorrência do *modori*. Da mesma forma, o ângulo de fase não demonstra tendência decrescente, mas oscilações que persistem durante todo o período de pré-aquecimento. Isto indica variações também no módulo de viscosidade, interferindo assim na relação G''/G' com o módulo de elasticidade, refletida na diminuição da capacidade de geleificação dessas amostras.

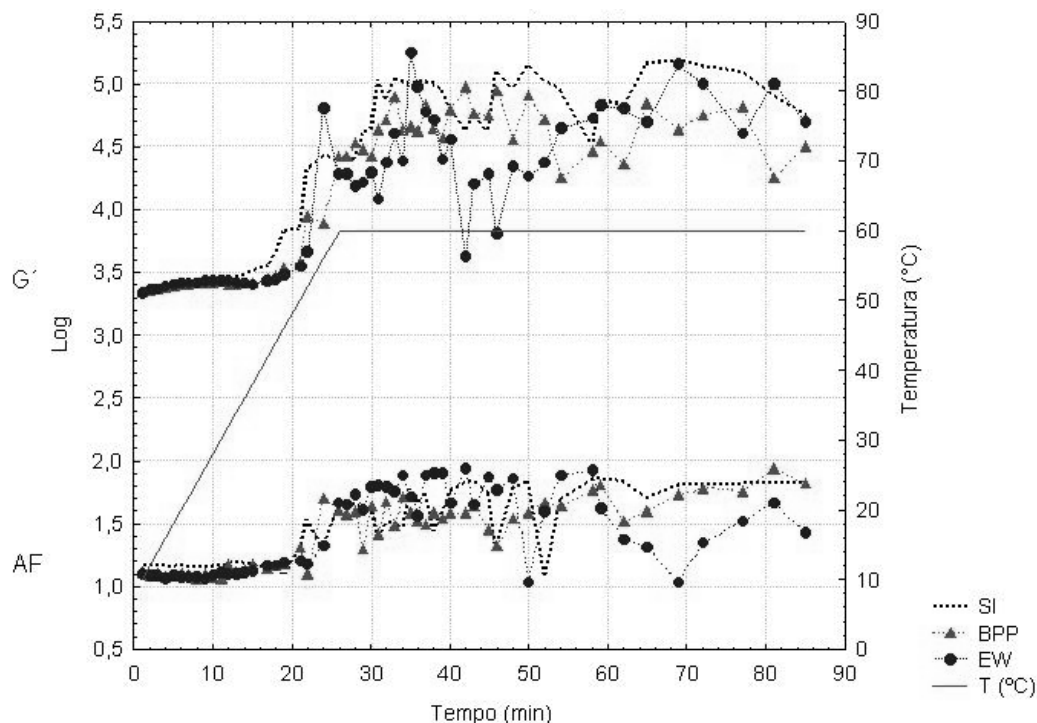


Figura 2 – Comportamento reológico de géis de surimi de Jundiá pré-aquecidos a 60°C (duplo estágio de aquecimento). Propriedades reológicas: G' , módulo de elasticidade; AF, ângulo de fase. Géis: SI, sem inibidores; EW, clara de ovo; BPP, combinação de soro albumina bovina (BSA) e α_2 -Macroglobulina (α_2 -M).

A ocorrência de *modori* e seu efeito sobre a geleificação térmica também foram relatados, similarmente ao gel de *surimi* de Jundiá, em géis de Alabote-dente-curvo (*Atheresthes stomias*), nos quais o módulo de elasticidade nas amostras sem inibidores resultou numa magnitude inferior e o ângulo de fase permanece constante ao longo do tempo (VISESSANGUAN e AN, 2000).

A força de gel do *surimi* sem inibidores (controle) na fase de duplo estágio de aquecimento mostrou ser dependente do tempo (tab 1), com diminuição significativa na força de gel, provavelmente pela indução ao *modori*. Ambos os inibidores (BSA/ α_2 -M, e EW) promoveram acréscimo na força de compressão ($p < 0,05$), que se manteve praticamente constante até o final do tempo de pré-aquecimento (60min), indicando um aumento da resistência térmica dos géis *kamaboko*, embora com magnitudes distintas para cada composto.

Tabela 1 – Força de compressão em géis de surimi de Jundiá.

Tratamento térmico		Força de compressão (g)		
		EW	BSA/ α_2 -M	SI
60° C	30min + 90° C, 15min	12.211 ABa	10.450 ABb	6.400 Bc
	45min + 90° C, 15min	11.767 Ba	10.139 Bb	5.306 Cc
	60min + 90° C, 15min	11.911 Ba	10.167 Bb	4.972 Cc
90° C, 15min		13.463 Aa	11.884 Ab	10.825 Ab (*)

Géis com inibidores: EW: clara de ovo, BSA/ α_2 -M: soro albumina bovina e α_2 – Macroglobulina; SI, sem inibidores; (*) Controle Valores assinalados com letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas diferem entre si pelo teste de Tuckey ($p < 0,05$)

A maior força de gel ($p < 0,05$) atingida no aquecimento (90° C, 15min) evidencia um efeito térmico inibitório sobre uma possível proteólise e o conseqüente favorecimento da geleificação protéica miofibrilar em altas temperaturas. Efeito similar também foi observado em espécies como Tilápia (*Oreochromis* sp), Alabote-dente-curvo (*Atheresthes stomias*), e Merluza (*Merluccius* sp) (AN, PETERS; SEYMOUR, 1996; YONGSAWATDIGUL et al., 2000; VISESSANGUAN et al., 2001). No entanto, géis de Carapau-do-Japão (*Trachurus japonicus*) após um incremento inicial na força de gel na presença de inibidores, demonstram uma perda de textura com o prolongamento do tempo de cocção a 70°C e, nas amostras controle, a força de gel não foi mensurável após trinta minutos, contrariamente ao observado neste experimento (CHEN, 2000).

O emprego de inibidores e seu efeito no incremento na textura do gel de surimi de Jundiá supera também resultados obtidos para a Pescada (*Macrodon ancylodon*), em condições similares de processamento (KUHN e PRENTICE, 1999; KUHN et al., 2004). O decréscimo de grupamentos sulfidrílicos (SH) que se oxidam para a formação de pontes dissulfeto (SS), ocorre com maior intensidade para a formação do gel termoestável em amostras contendo inibidores e/ou submetidas a um aquecimento direto em altas temperaturas, podendo ainda contribuir no melhor perfil reológico apresentado na geleificação termo-induzida do surimi de Jundiá (KUHN et al., 2006).

A quantificação de peptídeos solúveis (tab 2) em géis de surimi de Jundiá revela o efeito dos inibidores ($p < 0,05$) frente aos tratamentos térmicos utilizados no experimento, comprovando a influência dos compostos empregados sobre a integridade da matriz protéica.

Tabela 2 – Quantificação de peptídeos solúveis para géis de surimi de Jundiá

Peptídeos solúveis (μmol tirosina/g músculo)	
Formulação ¹	Tratamento térmico ²
C* 3.5844 a	A 3.0749 a
SI 3.4414 a	D* 3.0353 a
EW 2.6981 b	B 2.9425 a
BSA/ α_2 -M 2.2083 c	C 2.8795 a

Valores assinalados com letras minúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste de Tuckey ($p < 0,05$). 1 – Géis com inibidores: EW: clara de ovo, BSA/ α_2 -M: soro albumina bovina e α_2 – Macroglobulina; C: controle. 2 – Tratamentos térmicos: A (60° C, 30min + 90° C, 15min), B (60° C, 45min + 90° C, 15min), C (60° C, 60min + 90° C, 15min) e D (90° C, 15min); * Controle.

A determinação de peptídeos solúveis tem sido utilizada na indicação da ocorrência do *modori* por ação proteolítica, com as diferenças entre espécies atribuídas a diferenças na proteólise, no tipo de enzimas no surimi e da suscetibilidade da miosina à hidrólise (MORRISSEY et al., 1993). De modo semelhante aos resultados das determinações texturais e reológicas, as amostras contendo inibidores apresentaram menor quantidade de peptídeos solúveis em relação ao controle, sem inibidores.

Os resultados do gel de Jundiá revelam níveis de degradação similares aos relatados para Baga da lagoa e Corvina olhuda (*Pennahia macrophthalmus*), porém com uma força de gel superior, possivelmente pela maior estabilidade térmica da miosina, citada como um fator dependente da espécie e condições de habitat, com influência nas propriedades do gel (MORALES et al., 2001; BENJAKUL; VISESSANGUAN; CHANTARASUWAN, 2003).

O tratamento térmico constitui tanto a força motriz para a geleificação termo-induzida, como para a ocorrência do fenômeno *modori*. Na temperatura de pré-aquecimento utilizada no experimento, caracterizada como ótima para ativação de proteases (MORRISSEY et al., 1993; YONGSAWATDIGUL et al., 2000), o seu efeito não foi significativo ($p < 0,05$), comprovada pela determinação de peptídeos solúveis, o que corrobora para hipótese da estabilidade térmica acima mencionada e de uma baixa atividade proteolítica no gel de *surimi* de Jundiá.

O prolongamento do tempo de pré-aquecimento nas amostras submetidas ao duplo estágio pôde induzir o colapso da estrutura, provavelmente pela excessiva interação intermolecular das cadeias protéicas, aliada a uma desnaturação térmica, caracterizando assim, um *modori* não-proteolítico (NIWA, 1992; AN, PETERS e SEYMOUR, 1996).

Os valores de coesividade (tab 3) em géis de surimi de Jundiá contribuem para a possível confirmação da hipótese daquela desestruturação da matriz protéica miofibrilar, pois as diferenças foram significativas somente após os 45min de pré-aquecimento nas amostras controle (sem inibidores), num tempo que excede a faixa ótima para a atuação proteolítica (MORRISSEY et al., 1993; YONGSAWATDIGUL et al., 2000).

Tabela 3 – Valores de coesividade para géis de surimi de Jundiá.

Tratamento térmico		Coesividade dos géis		
		EW	BSA/ α_2 -M	SI
60° C	30min + 90° C, 15min	0,6778 Aa	0,6408 Aa	0,6077 Ba
	45min + 90° C, 15min	0,4385 Bb	0,6726 Aa	0,4728 Cb
	60min + 90° C, 15min	0,5169 Bb	0,6307 Aa	0,4896 BCb
90° C, 15min		0,7408 Aa	0,7277 Aa	0,7826 Aa (*)

Géis com inibidores: EW: clara de ovo, BSA/ α_2 -M: soro albumina bovina e α_2 – Macroglobulina; SI: sem inibidores; (*) Controle. Valores assinalados com letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas diferem entre si pelo teste de Tuckey ($p < 0,05$)

O controle sobre o efeito de uma provável ação proteolítica ou colapso da estrutura pela ação térmica, ocorreu novamente pelo uso de inibidores, com uma melhor resposta na combinação das proteínas do plasma (BSA e α_2 -M) em relação à EW, atribuída à presença da fração γ -globulina presente na BSA, a qual confere ao inibidor estabilidade térmica, exigindo assim uma maior temperatura de desnaturação (RAEKER e JOHNSON, 1995). Géis de surimi de Merluza do Atlântico (*Merluccius spp*) e Pescada (*Macrodon ancylodon*) apresentaram o mesmo comportamento, em condições similares de aquecimento (MURPHY et al., 2005; KUHN et al., 2003).

4. CONCLUSÕES

A geleificação termo-induzida do *surimi* de Jundiá ocorreu efetivamente no aquecimento direto, pelo significativo incremento no módulo de elasticidade e gradativo decréscimo do ângulo de fase, enquanto que no duplo estágio de aquecimento, evidencia-se uma oscilação nos parâmetros avaliados, refletindo no mecanismo de geleificação. Os valores de textura confirmaram as informações dos perfis reológicos, onde os melhores resultados também foram atingidos no aquecimento direto. Os valores da quantificação de peptídeos solúveis revelaram uma provável ocorrência do *modori* não-proteolítico nos tratamentos em duplo estágio, causado pela excessiva interação protéica devido à desnaturação térmica. Os inibidores demonstraram efetiva participação na geleificação térmica do *surimi* de Jundiá através de todos os parâmetros estudados, contribuindo para o incremento na textura e estabilidade térmica da matriz protéica miofibrilar.

5. AGRADECIMENTOS

Ao Depto de Zootecnia da Universidade Federal de Pelotas, pelo fornecimento de matéria-prima;

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, Clima Temperado;

Ao Laboratório de Biopolímeros – Universidade Federal de Pelotas, RS;

Ao Laboratório de Tecnologia de Alimentos – LTA, Universidade Federal do Rio Grande, FURG;

À Comissão de Apoio a Pesquisa e Ensino Superior – CAPES e ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento – CNPq, pelo suporte financeiro e bolsa de estudo.

6. REFERÊNCIAS

ALFARO, A.T. **Otimização do processo e determinação das propriedades funcionais da gelatina de ossos de pescado**. Rio Grande, 2004, 105p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Departamento de Química, Universidade Federal de Rio Grande, FURG, 2004.

AN, H.; PETERS, M. Y.; SEYMOUR, T. A. Roles of endogenous enzymes in surimi gelation. **Trends in Food Science and Technology**, v.7,p.321–326, 1996.

AOAC. **Official methods of analysis of the association of official analytical chemists**. 16th Edition. Arlington, 1995.

BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; CHANTARASUWAN, C. Effect of high temperature setting on gelling characteristic of surimi from some tropical fish. **International Journal of Food Science and Technology**, v.39, p.671-680, 2004.

BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; CHANTARASUWAN, C. Effect of medium temperature setting on gelling characteristic of surimi from some tropical fish. **Food Chemistry**, v.82, p.567-574, 2003.

BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; ISHIZAKI, S.; TANAKA, M. Differences in gelation characteristics of natural actomyosin from two species of Bigeye snapper, *Priacanthus tayenus* and *Priacanthus macracanthus*. **Journal of Food Science**, v.66, p.1311-1318, 2001.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.

CHEFTEL, J.C.; CUQ, J.L.; LORIENT, D. **Proteínas Alimentarias**. Editorial Acribia, Zaragoza, Espanha, 1989, p.62.

GERRARD, J. A. Protein-protein crosslinking in food: methods, consequences, applications. **Trends in Food Science and Technology**, 13, p.391-399, 2002.

HAMSAKUTTY, H. **Cysteine**. Free Radical and Radiation Biology. University of Iowa, Iowa City, USA, 10 p., 2003.

KUHN, C.R. **Inibidores de proteases na qualidade do gel de surimi de subprodutos do processamento de pescada-foguete (*Macrodon ancylodon*)**. Pelotas, 2003, 69p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial). Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas.

KUHN, C.R., FILGUERAS, R.S., TORRES, L., VENDRUSCOLO, J.L.S., SOARES, G.J.D. Caracterização textural e físico-química do gel de surimi de Jundiá (*Rhamdia quelen*). **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, PR, (no prelo), 2006.

KUHN, C.R.; FILGUERAS, R.S.; VENDRUSCOLO, J.L.; PRENTICE, C.; SOARES, G.J.D. Efecto de inhibidores de proteasa y de transglutaminasa en el gel de surimi de pescada-foguete (*Macrodon ancylodon*). **Alimentaria**, Madrid, España, p.53-60, noviembre, 2004.

KUHN, C.R.; PRENTICE, C. Estudo tecnológico para obtenção de surimi utilizando resíduos do processamento de Pescada-foguete (*Macrodon ancylodon*), Cap. 06, In: **Prêmio Jovem Cientista: Oceanos, Fonte de Alimentos**. Publicação dos trabalhos vencedores. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Rio de Janeiro, p.181-211, 1999.

KUHN, C.R.; SOARES, G.J.D. Proteases e inibidores no processamento de surimi. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.8, n.1, p.5-11, 2002.

KUHN, C.R.; SOARES, G.J.D.; PRENTICE, C.; VENDRUSCOLO, J.L. Avaliação da força de gel de surimi de resíduos de pescada-foguete (*Macrodon ancylodon*) enriquecido com aditivos protéicos. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v.21, n.2, p.239-248, jul./dez, 2003.

LEE, H. G.; LANIER, T. C., Y HAMANN, D. D. Covalent cross-linking effects on thermo-rheological profiles of fish protein gels. **Journal of Food Science**, v.62, p.25-28, 32, 1997.

LIN, T. M.; PARK, J. W. Extraction of proteins from Pacific whiting mince at various washing conditions. **Journal of Food Science**, v. 61: p. 432-438, 1996.

MORALES, O. G., RAMÍREZ, J. A., VIVANCO, D. I., VÁZQUEZ, M. Surimi of fish species from the Gulf of Mexico: evaluation of the setting phenomenon. **Food Chemistry**, v.75, p.43-48, 2001.

MORRISSEY, M. T.; WU, J. W.; LIN, D.; AN, H. Protease inhibitor effects on torsion measurements and autolysis of Pacific whiting surimi. **Journal of Food Science**, v. 58, p. 1050-1054, 1993.

MOTOKI, M.; KUMAZAWA, Y. Covalent crosslinking in heated protein systems. **Journal of Food Science**, v.65, p.221-226, 2000.

MURPHY, S.C.; GILROY, D.; KERRY, J.F.; KERRY, J.P. Assessment of added protein/starch on the functional properties on surimi gels manufactured from Atlantic whiting. **Journal of Food Science**, v.70, p.21-24, 2005.

NIWA, E. Chemistry of surimi gelation. In: LANIER, T. C. & LEE, C. M. (Eds): **Surimi Technology**. Marcel Dekker, Inc., New York, 1992, p.289-328.

RAEKER, M.Ö., JOHNSON, L.A. Thermal and functional properties of bovine blood plasma and egg white proteins. **Journal of Food Science**, v.60, p.685-690, 706, 1995.

REPPOND, K.D.; BABBITT, J.K. Protease inhibitors affect physical properties of arrowtooth flounder and Walleye Pollock surimi. **Journal of Food Science**, v.58, p.96-98, 1993.

SANO, T.; NOGUCHI, S.F.; TSUCHIYA, T.; MATSUMOTO, J. Dynamic viscoelastic behavior of natural actomyosin and myosin during thermal gelation. **Journal of Food Science**, v.53, p. 924-928, 1988.

SOARES, G. J. D.; ARÊAS, J. A. G. Effect of Electrical Stimulation on *Post mortem* Biochemical Characteristics and Quality of *Longissimus dosrsi thoracis* Muscle from Buffalo (*Bubalus bubalis*). **Meat Science**, v.41, n.3, p.369-379, 1995.

STATSOFT **Statistica for windows** (Computer program manual, Analytical Software), Tulsa, OK, USA, 1998.

STONES, A.P.; STANLEY, D.W. Mechanisms of fish muscle gelation. **Food Resource International**, v.25, p.381-388, 1992.

TOTOSAUS, A., MONTEJANO, J.G., SALAZAR, J.A., GUERRERO, IA review of physical and chemical protein-gel induction. **International Journal of Food Science and Technology**, v.37, p.589-601, 2002.

VISESSANGUAN, W.; AN, H. Effects of proteolysis and mechanism of gel weakening in heat-induced gelation of fish myosin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.1024-1032, 2000.

VISESSANGUAN, W.; MENINO, A.; KIM, S.M.; AN, H. Cathepsin L: A predominant heat-activated proteinase in Arrowtooth flounder muscle. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.2633-2640, 2001.

VISESSANGUAN, W.; OGAWA, M.; NAKAI, S.; AN, H. Physicochemical changes and mechanism of heat-induced gelation of arrowtooth flounder myosin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.1016-1023, 2000.

YONGSAWATDIGUL, J.; PARK, J.W. Thermal denaturation and aggregation of threadfin bream actomyosin. **Food Chemistry**, v.83, p.409-416, 2003.

YONGSAWATDIGUL, J.; PARK, J. W.; KOLBE, E.; DAGGA, A.; MORRISSEY, M. T. Ohmic heating maximizes gel functionality of Pacific whiting surimi. **Journal of Food Science**, v.60, p.10-14, 1995.

YONGSAWATDIGUL, J.; PARK, J. W.; VIRULHAKUL, P.; VIRATCHAKUL, S. Proteolytic degradation of tropical tilapia surimi. **Journal of Food Science**, v.65, p.129-133, 2000.

YOO, B.; LEE, C.M. Thermal gelation characteristics of composite surimi sol. **Lebens Wiss u Technol** , v.27, p.533-537, 1994.

YOSHIDA, W.; KUNIMI, O.; FUJIURA, M.; KIMURA, M.; NOZAWA, H.; SEKI, N. Thermal gelation of salted paste from scallop striated adductor muscle. **Fisheries Science**, v.69, p.1017-1025, 2003.

ZIEGLER, G.R.; FOEGEDING, E.A. The gelation of proteins. **Advances in Food and Nutrition Research**, n.34, p.203-298, 1990.

CAPÍTULO III

CONCLUSÃO GERAL

3 CONCLUSÃO GERAL

Os géis de surimi de Jundiá apresentaram incremento na sua textura pelo emprego dos inibidores de protease clara de ovo (EW) e pela combinação de proteínas do plasma (Soro Albumina Bovina (BSA) e α_2 -Macroglobulina (α_2 -M)), obtendo-se melhor desempenho com a clara de ovo.

O efeito térmico teve influência na geleificação protéica, observando-se melhor textura nas amostras submetidas ao aquecimento direto, enquanto que os tratamentos com duplo estágio tiveram força de gel inferior, ainda que superior ao observado nas amostras controle (sem inibidores).

A maior textura (força de gel e coesividade) correspondeu a menor quantidade de sulfidrilas. A ação dos inibidores sobre estes grupamentos também foi comprovada, pelo seu incremento na pasta (surimi) e significativo decréscimo no gel, em relação ao controle (sem inibidores).

Os perfis reológicos confirmaram as determinações físico-químicas, pelo significativo incremento no módulo de elasticidade e gradual decréscimo do ângulo de fase no sistema de aquecimento direto e, neste, com uma magnitude maior para as amostras com inibidores.

Não foi verificada diferença ($p < 0,05$) nos níveis de peptídeos solúveis observados para os tratamentos térmicos empregados. Contudo, a menor força de gel nos tratamentos em duplo estágio, indicou uma provável ocorrência de *modori* não-proteolítico com uma intensa interação protéica devido ao excessivo tempo de aquecimento.

CAPÍTULO IV

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKAZAWA, H.; MIYAUCH, Y.; SAKURADA, K. Evaluation of proteinase inhibitors in Pacific whiting surimi. **Journal Aquatic of Food Products Technology**, v.2, n.3, p.79-95, 1993.

AN, H.; PETERS, M. Y.; SEYMOUR, T. A. Roles of endogenous enzymes in surimi gelation. **Trends in Food Science and Technology**, v.7, p.321–326, 1996.

AN, H.; WEERASINGHE, V.; SEYMOUR, T.S.; MORRISSEY, M. T. Cathepsin degradation of Pacific whiting surimi proteins. **Journal of Food Science**, v.59, p.1013-1017, 1994.

ASHIE, I. N. A.; SIMPSON, B. K.; RAMASWAMY, H. S. Control of endogenous enzyme activity in fish muscle by inhibitors and hydrostatic pressure using RSM. **Journal of Food Science**, v.61, p.350-356, 1996.

BORDERÍAS, A. J.; TEJADA, M. El surimi. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, v.27, n.1, p.1-14, 1987.

BOYE, S. W.; LANIER, T. C. Effects of heat-stable alkaline protease activity of Atlantic menhaden (*Brevoorti tyrannus*) on surimi gels. **Journal of Food Science**, v.53, p.1340-1342, 1988.

CHEFTEL, J.C.; CHEFTEL, H.; BESANÇON, P. **Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos**. V.I, Editorial Acribia, Zaragoza, Espanha, 1992, 404p.

CHEFTEL, J.C.; CUQ, J.L.; LORIENT, D. **Proteínas Alimentarias**. Editorial Acribia, Zaragoza, Espanha, 1989, p. 62.

GARCÍA-CARREÑO, F. L. Proteinase inhibitors. **Trends in Food Science and Technology**, v.7, p.197-204, 1996.

GERRARD, J. A. Protein-protein crosslinking in food: methods, consequences, applications. **Trends in Food Science and Technology**, v.13, p.391-399, 2002.

GLOBEFISH DATABANK – FAO. Market Trends. **Infofish International**, n.3, p.41-44, 2000.

GUEDES, D. S. Contribuição ao estudo sistemático e alimentação de Jundiá (*Rhamdia spp.*) na região central do Rio Grande do Sul (Pisces, Pimelodidae). 1980. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). **Universidade Federal de Santa Maria, UFSM**, Santa Maria, RS, Brasil.

HAMSAKUTTY, H. **Cysteine**. Free Radical and Radiation Biology. University of Iowa, Iowa City, USA, 10 p., 2003.

HEMPEL, E. Surimi in south East Asia. **Seafood International**, p.25-27, February 1999.

HOLMES, K. Surimi suffers from a yen for extremes. **Seafood International**, p.27-29, September 1998.

KUHN, C.R. **Inibidores de proteases na qualidade do gel de surimi de subprodutos do processamento de pescada-foguete (*Macrodon ancylodon*)**. Pelotas, 2003, 69p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial). Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas.

KUHN, C.R., FILGUERAS, R.S., TORRES, L., VENDRUSCOLO, J.L.S., SOARES, G.J.D. Caracterização textural e físico-química do gel de surimi de Jundiá (*Rhamdia quelen*). **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, sob revisão, 2006.

KUHN, C.R.; FILGUERAS, R.S.; VENDRUSCOLO, J.L.; PRENTICE, C.; SOARES, G.J.D. Efecto de inhibidores de proteasa y de transglutaminasa en el gel de surimi de pescada-foguete (*Macrodon ancylodon*). **Alimentaria**, Madrid, España, p.53-60, noviembre, 2004.

KUHN, C.R.; PRENTICE, C. Estudo tecnológico para obtenção de surimi utilizando resíduos do processamento de Pescada-foguete (*Macrodon ancylodon*), Cap. 06, In: **Prêmio Jovem Cientista: Oceanos, Fonte de Alimentos**. Publicação dos trabalhos vencedores. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Rio de Janeiro, p.181-211, 1999.

KUHN, C.R.; PRENTICE, C.; VENDRUSCOLO, J.L.; SOARES, G.J.D. Surimi of King Weakfish (*Macrodon ancylodon*) Wastes: Texture Gel Evaluation with Protease Inhibitors and Transglutaminase. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.47, p.895-901, 2004a

KUHN, C.R.; SOARES, G.J.D. Proteases e inibidores no processamento de surimi. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.8, n.1, p.5-11, 2002.

KUHN, C.R.; SOARES, G.J.D.; PRENTICE, C.; VENDRUSCOLO, J.L. Avaliação da força de gel de surimi de resíduos de pescada-foguete (*Macrodon ancylodon*) enriquecido com aditivos protéicos. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v.1, n.2, p.239-248, jul./dez, 2003.

KUMAZAWA, Y.; NUMAZAWA, K.; SEGURO, K.; MOTOKI, M. Suppression of surimi gel setting by transglutaminase inhibitors. **Journal of Food Science**, v.60, p.715-717, 726, 1995.

LANIER, T.; LEE, C.M. **Surimi technology**. New York, Marcel Dekker, Inc., 1992, 530p.

LEE, C.M. Surimi process technology. **Food technology**, v.38, n.11, p.69-80, 1984.

LIN, T. S.; LANIER, T. C. Properties of an alkaline protease from the skeletal muscle of Atlantic croaker. **Journal of Food Biochemistry**, v.4, p.17. 1980.

LIN, T. M.; PARK, J. W. Extraction of proteins from Pacific whiting mince at various washing conditions. **Journal of Food Science**, v.61, p.432-438, 1998.

LUCHINI, L., SALAS, T. Primer alevinaje del bagre sudamericano (*Rhamdia sapo*) en condiciones controladas. **Revista de la Asociación de Ciencias Naturales del Litoral**, v.16, n.2, p.137-147, 1985.

MONTERO, P.; GOMEZ-GUILLÉN, C. Thermal aggregation of sardine muscle proteins during processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.44, p.3625-3630, 1996.

MORALES, O. G., RAMÍREZ, J. A., VIVANCO, D. I., VÁZQUEZ, M. Surimi of fish species from the Gulf of Mexico: evaluation of the setting phenomenon. **Food Chemistry**, v.75, p.43-48, 2001.

MORRISSEY, M. T.; WU, J. W.; LIN, D.; AN, H. Protease inhibitor effects on torsion measurements and autolysis of Pacific whiting surimi. **Journal of Food Science**, v.58, p.1050-1054, 1993.

MOTOKI, M.; KUMAZAWA, Y. Covalent crosslinking in heated protein systems. **Journal of Food Science**, v.65, p.221-226, 2000.

NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger: Princípios de Bioquímica**. Terceira Edição, São Paulo, Editora Sarvier, 2002, 976p.

NIWA, E. Chemistry of surimi gelation. In: LANIER, T. C. & LEE, C. M. (Eds): **Surimi Technology**. Marcel Dekker, Inc., New York, 1992, p.289-328.

OGAWA, M.; MAIA, E.L. **Manual de Pesca: Ciência e Tecnologia do Pescado**, v.1, São Paulo:Livraria Varela, 1999, 431p.

REPPOND, K.D.; BABBITT, J.K. Protease inhibitors affect physical properties of arrowtooth flounder and Walleye Pollock surimi. **Journal of Food Science**, v.58, p.96-98, 1993.

ROUSSEL, H.; CHEFTEL, J.C. Mechanisms of gelation of sardine proteins – Influence of thermal processing and of various additives and texture and protein solubility of *kamaboko* gels. **International Journal of Food Science and Technology**, v.25, p.260-280, 1990.

SAKAMOTO, H.; KUMAZAWA, Y.; TOIGUCHI, S.; SEGURO, K.; SOEDA, T.; MOTOKI, M. Gel strenght enhancement by addition of microbial transglutaminase during Onshore Surimi Manufacture. **Journal of Food Science**, v.60, p.300-304, 1995.

STOKNES, I.; RUSTAD, T. Proteolytic activity in muscle from Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Journal of Food Science**, v.60, n.4, p.711-714. 1995.

STOKNES, I.; RUSTAD, T.; MORR, V. Comparative studies of the proteolytic activity of tissue extracts from cod (*Gadus morhua*) and herring (*Clupea arengus*). **Compendium of Biochemical Physiology**, v. 106B, p. 613-619. 1993.

STONES, A.P.; STANLEY, D.W. Mechanisms of fish muscle gelation. **Food Resource International**, v.25, p.381-388, 1992.

SUZUKI, T. **Tecnología de las proteínas de pescado y krill**. Zaragoza, España: Ed. Acríbia, 1987.

TEJADA, M. Tendências actuais em la utilización de surimi. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, v.31, n.3, p.310-318, 1991.

TOTOSAUS, A., MONTEJANO, J.G., SALAZAR, J.A., GUERRERO, I. A review of physical and chemical protein-gel induction. **International Journal of Food Science and Technology**, v.37, p.589-601, 2002.

TOYOHARA, H.; MAKINODAN, Y., TANAKA, K. IKEDA, S. Detection of calpastatin and trypsin inhibitor in carp muscle. **Agriculture Biology Chemistry**, v.47, p.1151. 1983.

TOYOHARA, H.; NOMATA, H; MAKINODAN, Y.; SHIMIIZU, Y. High molecular weight heat-stable alkaline proteinase from white croacker and chum salmon muscle: comparison of the activating effects by heating and urea. **Compendium of Biochemical Physiology**, v.86B, p.99-102, 1987.

VISSANGUAN, W.; AN, H. Effects of proteolysis and mechanism of gel weakening in heat-induced gelation of fish myosin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.1024-1032, 2000.

VISSANGUAN, W.; MENINO, A.; KIM, S.M.; AN, H. Cathepsin L: A predominant heat-activated proteinase in Arrowtooth flounder muscle. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.2633-2640, 2001.

VISSANGUAN, W.; OGAWA, M.; NAKAI, S.; AN, H. Physicochemical changes and mechanism of heat-induced gelation of arrowtooth flounder myosin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.1016-1023, 2000.

WASSON, D. H. Fish muscle proteases and heat-induced myofibril degradation: A review. **Journal of Aquatic Food Products Technology**, v.1, p.23-41. 1992.

WEERASINGHE, V. C., MORRISSEY, M. T., CHUNG, Y. Whey protein concentrate as a proteinase inhibitor in Pacific whiting surimi. **Journal of Food Science**, v.61, p.367-371, 1996.

WICK, M. Filament assembly properties of the sarcomeric myosin heavy chain. **Research and Reviews: Meat**. The Ohio State University Department of Animal Sciences. Special Circular, n. 172, 1999.

YONGSAWATDIGUL, J.; PARK, J. W.; KOLBE, E.; DAGGA, A.; MORRISSEY, M. T. Ohmic heating maximizes gel functionality of Pacific whiting surimi. **Journal of Food Science**, v.60, p.10-14, 1995.

YONGSAWATDIGUL, J.; PARK, J. W.; VIRULHAKUL, P.; VIRATCHAKUL, S. Proteolytic degradation of tropical tilapia surimi. **Journal of Food Science**, v.65, p.129-133, 2000.

ZIEGLER, G.R.; ACTON, J.C. Mechanisms of gel formation by proteins of muscle tissue. **Food Technology**, v.38, n.05, p.77-82, 1984.

ZIEGLER, G.R.; FOEGEDING, E.A. The gelation of proteins. **Advances in Food and Nutrition Research**, n.34, p.203-298, 1990.

APÊNDICES

APÊNDICE A

ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA): Efeito de inibidores de protease

Valores de análise de variância (ANOVA) para géis de surimi contendo proteínas do plasma bovino (albumina do soro bovino – BSA e α_2 -Macroglobulina) como inibidor.

Tabela 1 – Efeito do tratamento térmico sobre o conteúdo sulfidrílico.

Source	DF	SS	MS	F	P
Aquecimento	3	0.39311	0.13104	1.99	0.1443
Error	23	1.51799	0.06600		
Total	26				
Grand Mean 4.4425 CV 5.78					

Tabela 2 - Efeito do tratamento térmico sobre a força de compressão.

Source	DF	SS	MS	F	P
Aquecimento	3	1.852E+07	6174896	4.21	0.0128
Error	32	4.691E+07	1465791		
Total	35	6.543E+07			
Grand Mean 10660 CV 11.36					

Tabela 3 - Efeito do tratamento térmico sobre a coesividade.

Source	DF	SS	MS	F	P
Aquecimento	3	0.05000	0.01667	1.82	0.1642
Error	30	0.27421	0.00914		
Total	33				
Grand Mean 0.6679 CV 14.31					

Tabela 4 - Efeito do tratamento térmico sobre peptídeos solúveis.

Source	DF	SS	MS	F	P
Aquecimento	3	0.28808	0.09603	0.40	0.7576
Error	26	6.31939	0.24305		
Total	29				
Grand Mean 2.2076 CV 22.33					

Valores de análise de variância (ANOVA) para géis de surimi contendo clara de ovo – EW como inibidor.

Tabela 1 – Efeito do tratamento térmico sobre o conteúdo sulfidrílico.

Source	DF	SS	MS	F	P
Aquecimento	3	15.2969	5.09896	32.41	0.0000
Error	28	4.4046	0.15731		
Total	31				
Grand Mean 4.6604 CV 8.51					

Tabela 2 - Efeito do tratamento térmico sobre a força de compressão.

Source	DF	SS	MS	F	P
Aquecimento	3	1.480E+07	4934110	3.87	0.0184
Error	31	3.948E+07	1273436		
Total	34				
Grand Mean 12338 CV 9.15					

Tabela 3 - Efeito do tratamento térmico sobre a coesividade.

Source	DF	SS	MS	F	P
Aquecimento	3	0.49056	0.16352	13.30	0.0000
Error	29	0.35654	0.01229		
Total	32				
Grand Mean 0.5935 CV 18.68					

Tabela 4 - Efeito do tratamento térmico sobre peptídeos solúveis.

Source	DF	SS	MS	F	P
Aquecimento	3	0.3725	0.12418	0.40	0.7525
Error	32	9.8839	0.30887		
Total	35	10.2564			
Grand Mean 2.6981 CV 20.60					

Valores de análise de variância (ANOVA) para géis de surimi sem inibidores.

Tabela 1 – Efeito do tratamento térmico sobre o conteúdo sulfidrílico.

Source	DF	SS	MS	F	P
Aquecimento	3	7.45000	2.48333	18.87	0.0000
Error	30	3.94858	0.13162		
Total	33				
Grand Mean 5.0967 CV 7.12					

Tabela 2 - Efeito do tratamento térmico sobre a força de compressão.

Source	DF	SS	MS	F	P
Aquecimento	3	1.812E+08	6.039E+07	169.83	0.0000
Error	31	1.102E+07	355573		
Total	34				
Grand Mean 6875.7 CV 8.67					

Tabela 3 - Efeito do tratamento térmico sobre a coesividade.

Source	DF	SS	MS	F	P
Aquecimento	3	0.55038	0.18346	20.95	0.0000
Error	31	0.27142	0.00876		
Total	34				
Grand Mean 0.5882 CV 15.91					

Tabela 4 - Efeito do tratamento térmico sobre peptídeos solúveis.

Source	DF	SS	MS	F	P
Aquecimento	3	1.8000	0.59999	1.37	0.2714
Error	31	13.6155	0.43921		
Total	34				
Grand Mean 3.4751 CV 19.07					

APÊNDICE B

ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA): Efeito dos tratamentos térmicos

Aquecimento direto 'D' (90° C, 15min).

Tabela 1 – Efeito do aquecimento 'D' sobre o conteúdo sulfidrílico.

Source	DF	SS	MS	F	P
Inibidor	2	2.24617	1.12308	19.01	0.0000
Error	24	1.41754	0.05906		
Total	26	3.66371			
Grand Mean 4.1453 CV 5.86					

Tabela 2 – Efeito do aquecimento 'D' sobre a força de compressão.

Source	DF	SS	MS	F	P
Inibidor	2	2.821E+07	1.410E+07	9.89	0.0009
Error	22	3.138E+07	1426144		
Total	24				
Grand Mean 12057 CV 9.90					

Tabela 3– Efeito do aquecimento 'D' sobre a coesividade.

Source	DF	SS	MS	F	P
Inibidor	2	0.01479	0.00739	0.53	0.5964
Error	24	0.33597	0.01400		
Total	26	0.35076			
Grand Mean 0.7504 CV 15.77					

Tabela 4 – Efeito do aquecimento 'D' sobre peptídeos solúveis.

Source	DF	SS	MS	F	P
Inibidor	2	8.57041	4.28521	13.55	0.0001
Error	23	7.27306	0.31622		
Total	25				
Grand Mean 2.8815 CV 19.52					

Pré-aquecimento 'A' (60° C, 30min + 90° C, 15min)

Tabela 1 – Efeito do pré-aquecimento 'A' sobre o conteúdo sulfidrílico.

Source	DF	SS	MS	F	P
Inibidor	2	3.23294	1.61647	5.55	0.0133
Error	18	5.24718	0.29151		
Total	20				
Grand Mean 4.6227 CV 11.68					

Tabela 2 – Efeito do pré-aquecimento 'A' sobre a força de compressão.

Source	DF	SS	MS	F	P
Inibidor	2	1.598E+08	7.991E+07	57.21	0.0000
Error	24	3.352E+07	1396829		
Total	26	1.933E+08			
Grand Mean 9687.0 CV 12.20					

Tabela 3– Efeito do pré-aquecimento 'A' sobre a coesividade.

Source	DF	SS	MS	F	P
Inibidor	2	0.01966	0.00983	0.69	0.5126
Error	22	0.31382	0.01426		
Total	24				
Grand Mean 0.6421 CV 18.60					

Tabela 4 – Efeito do pré-aquecimento 'A' sobre peptídeos solúveis.

Source	DF	SS	MS	F	P
Inibidor	2	10.0943	5.04717	9.22	0.0012
Error	23	12.5971	0.54770		
Total	25				
Grand Mean 2.8761 CV 25.73					

Pré-aquecimento 'B' (60° C, 45min + 90° C, 15min)

Tabela 1 – Efeito do pré-aquecimento 'B' sobre o conteúdo sulfidrílico.

Source	DF	SS	MS	F	P
Inibidor	2	4.20408	2.10204	38.93	0.0000
Error	20	1.07993	0.05400		
Total	22				
Grand Mean 5.1505 CV 4.51					

Tabela 2 – Efeito do pré-aquecimento 'B' sobre a força de compressão.

Source	DF	SS	MS	F	P
Inibidor	2	2.033E+08	1.016E+08	100.54	0.0000
Error	24	2.426E+07	1010880		
Total	26	2.275E+08			
Grand Mean 9070.4 CV 11.08					

Tabela 3– Efeito do pré-aquecimento 'B' sobre a coesividade.

Source	DF	SS	MS	F	P
Inibidor	2	0.25864	0.12932	32.99	0.0000
Error	22	0.08625	0.00392		
Total	24				
Grand Mean 0.5280 CV 11.86					

Tabela 4 – Efeito do pré-aquecimento 'B' sobre peptídeos solúveis.

Source	DF	SS	MS	F	P
Inibidor	2	5.89399	2.94699	11.08	0.0005
Error	21	5.58393	0.26590		
Total	23				
Grand Mean 2.7323 CV 18.87					

Pré-aquecimento 'C' (60° C, 60min + 90° C, 15min)

Tabela 1 – Efeito do pré-aquecimento 'C' sobre o conteúdo sulfidrílico.

Source	DF	SS	MS	F	P
Inibidor	2	3.36823	1.68412	15.05	0.0001
Error	19	2.12651	0.11192		
Total	21				
Grand Mean 5.0143 CV 6.67					

Tabela 2 – Efeito do pré-aquecimento 'C' sobre a força de compressão.

Source	DF	SS	MS	F	P
Inibidor	2	2.345E+08	1.172E+08	341.35	0.0000
Error	24	8244444	343519		
Total	26	2.428E+08			
Grand Mean 9016.7 CV 6.50					

Tabela 3– Efeito do pré-aquecimento 'C' sobre a coesividade.

Source	DF	SS	MS	F	P
Inibidor	2	0.09266	0.04633	6.14	0.0076
Error	22	0.16613	0.00755		
Total	24				
Grand Mean 0.5457 CV 15.92					

Tabela 4 – Efeito do pré-aquecimento 'C' sobre peptídeos solúveis.

Source	DF	SS	MS	F	P
Inibidor	2	4.05155	2.02578	10.21	0.0007
Error	22	4.36469	0.19839		
Total	24				
Grand Mean 2.6846 CV 16.59					

APÊNDICE C

ANÁLISE ESTATÍSTICA: Teste de Tukey – Efeito de inibidores

Tabela 1 - Géis de surimi contendo proteínas do plasma bovino (albumina do soro bovino – BSA e α_2 -Macroglobulina) como inibidores.

Aquecimentos	Compressão	Coesividade	SH	Pep solúveis
A	10450 AB	0.6408 A	4,4105 A	2.3445 A
B	10139 B	0.6726 A	4,6120 A	2.0726 A
C	10163 B	0.6307 A	4,4615 A	2.1789 A
D	11884 A	0.7283 A	4,2859 A	2.2344 A

Tabela 02 - Géis de surimi contendo clara de ovo – EW como inibidor.

Aquecimentos	Compressão	Coesividade	SH	Pep solúveis
A	12211 AB	0.6778 A	4.3021 B	2.5376 A
B	11767 B	0.4385 B	5.1538 A	2.7969 A
C	11911 B	0.5169 B	5.4423 A	2.6844 A
D	13463 A	0.7408 A	3.7433 C	2.7735 A

Tabela 3 –Géis de surimi sem inibidores.

Aquecimentos	Compressão	Coesividade	SH	Pep solúveis
A	6400 B	0.6077 B	5.1553 B	3.7462 A
B	5306 C	0.4728 C	5.6856 A	3.3273 A
C	4972 C	0.4896 BC	5.1392 B	3.1904 A
D	10825 A	0.7826 A	4.4065 C	3.6366 A

APÊNDICE D

ANÁLISE ESTATÍSTICA: Teste de Tukey – Efeito dos aquecimentos

Tabela 1 – Efeito do aquecimento direto 'D' (90° C, 15min).

Inibidor	Compressão	Coesividade	SH	Pep solúveis
C	10825 B	0.7825 A	4.2859 A	3.6366 A
BPP	11884 B	0.7283 A	4.2215 A	2.2344 B
EW	13463 A	0.7409 A	3.7192 B	2.7735 B

Tabela 02 – Efeito do pré-aquecimento 'A' (60° C, 30min + 90° C, 15min).

Inibidor	Compressão	Coesividade	SH	Pep solúveis
SI	6400 C	0.6078 A	5.1553 A	3.7462 A
BPP	10450 B	0.6408 A	4.4105 B	2.3445 B
EW	12211 A	0.6778 A	4.3021 B	2.5376 B

Tabela 3 – Efeito do pré-aquecimento 'B' (60° C, 45min + 90° C, 15min).

Inibidor	Compressão	Coesividade	SH	Pep solúveis
SI	5306 C	0.4728 B	5.6856 A	3.3273 A
BPP	10139 B	0.6726 A	4.6120 C	2.0726 B
EW	11767 A	0.4385 B	5.1538 B	2.7969 A

Tabela 4 – Efeito do pré-aquecimento 'C' (60° C, 60min + 90° C, 15min).

Inibidor	Compressão	Coesividade	SH	Pep solúveis
SI	4975 C	0.4896 B	5.1392 A	3.1904 A
BPP	10163 B	0.6307 A	4.4615 B	2.1789 B
EW	11912 A	0.5169 B	5.4423 A	2.6844 AB

APÊNDICE E

SEQUENCIA DE OPERAÇÕES PARA A OBTENÇÃO DE SURIMI

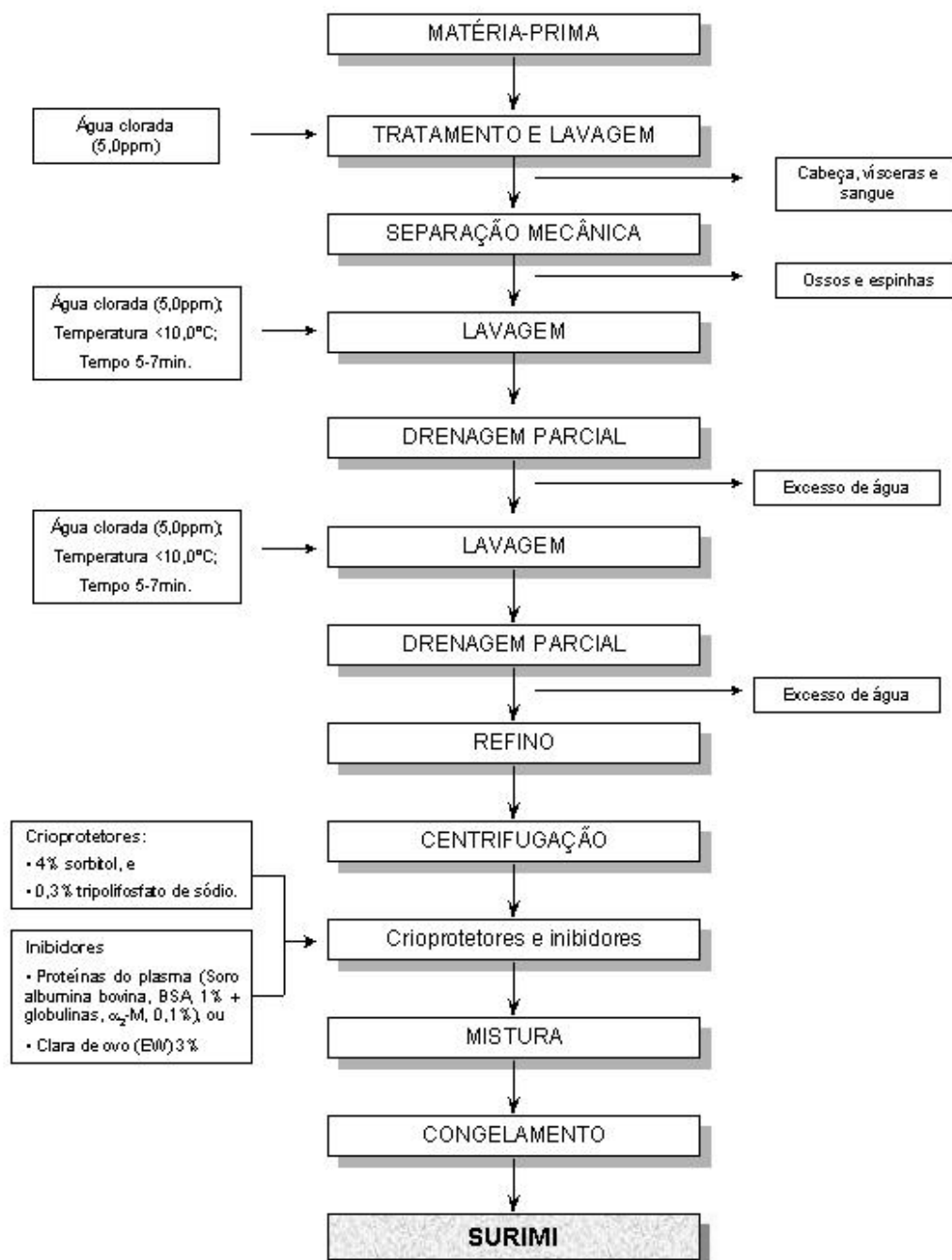


Figura 01: Seqüência de operações para o processamento tecnológico de surimi de Jundiá (*Rhamdia quelen*).

APÊNDICE F

SEQUENCIA DE OPERAÇÕES PARA A OBTENÇÃO DE GEL KAMABOKO

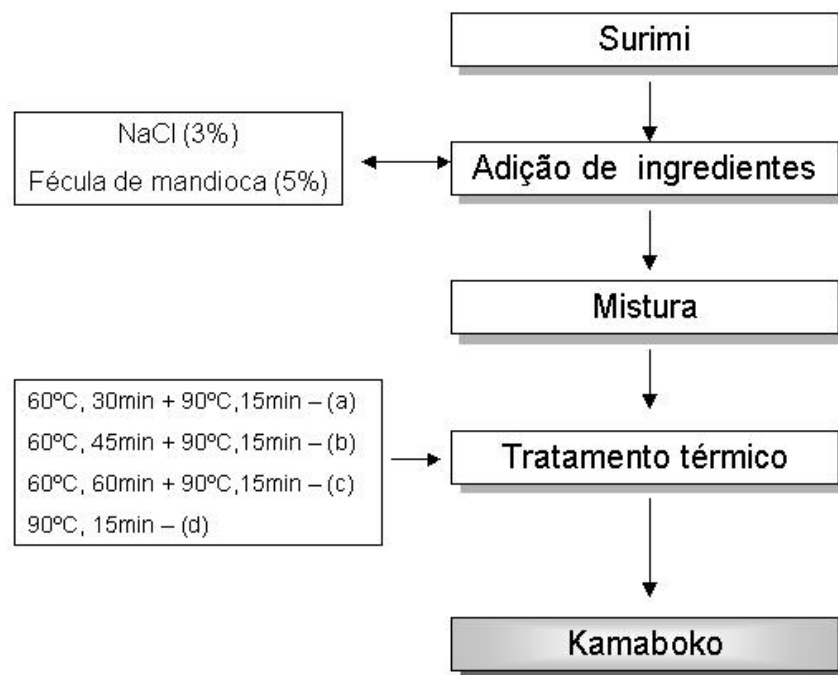


Figura 1: Seqüência de operações para a obtenção do gel kamaboko.

APÊNDICE G

RENDIMENTO NO PROCESSAMENTO TECNOLÓGICO DE SURIMI DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*).

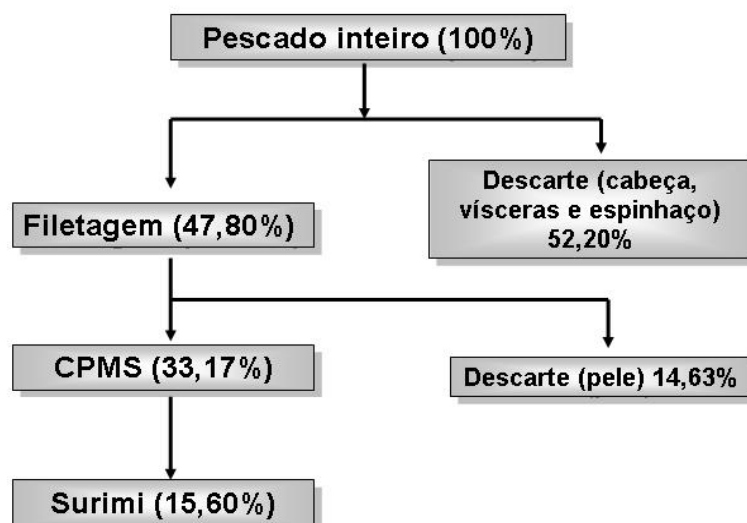


Figura 01: Rendimento no processamento de surimi a partir de filés.

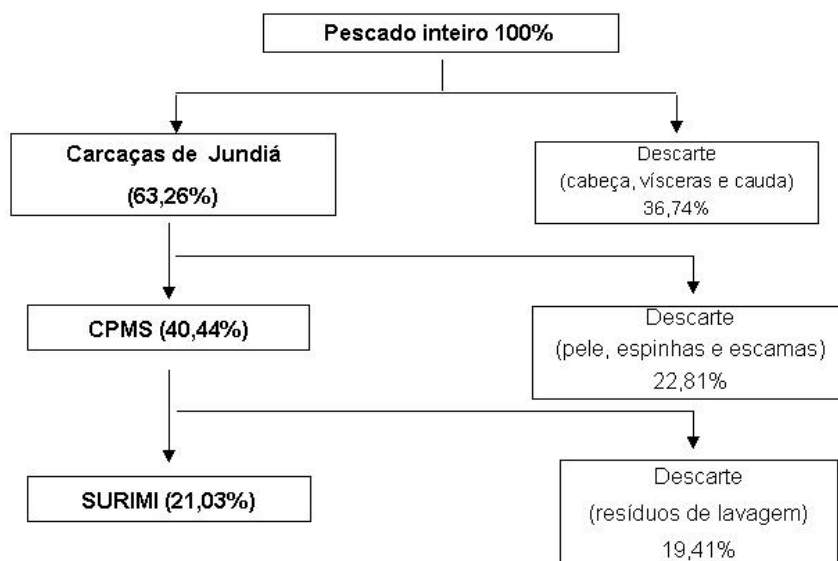


Figura 02: Rendimento no processamento de surimi a partir de carcaças provenientes da filetagem.

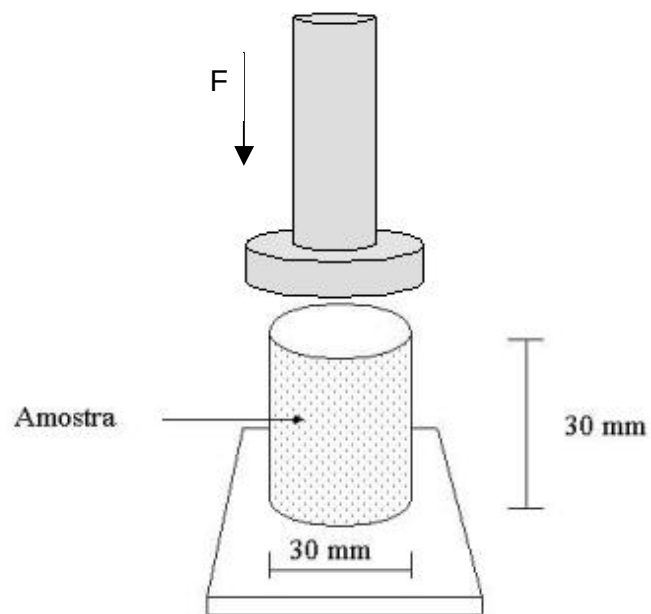
APÊNDICE H**REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO ENSAIO INSTRUMENTAL DE
TEXTURA**

Figura 1: Representação esquemática do ensaio de compressão. F : força (Kg).
Adaptado de KUHN (2003)