

EFEITOS DE AGENTES CRIOPROTETORES NA CAPACIDADE DE RETENÇÃO DE ÁGUA EM PASTA DE PESCADO UTILIZANDO-SE A TÉCNICA DE ANÁLISE DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

ÂNGELA MORAES TEIXEIRA*
LUIZ HENRIQUE BEIRÃO**

Estudou-se o efeito de alguns agentes crioprotetores e sal em pasta de pescado após seu congelamento. Utilizou-se a metodologia de análise de superfície de resposta para otimizar a quantidade necessária a ser empregada destes agentes, visando obter maior retenção de água. Concluiu-se que a faixa de proporção de NaCl estudada não apresenta efeito significativo na capacidade de retenção de água da pasta de pescado. O polifosfato deve ser utilizado na concentração de 0,575% e o açúcar entre 0,75% e 0,902%.

1 INTRODUÇÃO

Um dos grandes problemas atuais, relacionados com o aproveitamento dos recursos pesqueiros, é a subutilização do produto da pesca e a falta da diversificação na indústria de pescado. No Brasil, cujo parque industrial foi montado principalmente em torno da indústria enlatadora e de congelamento, a questão é especialmente grave. Comparada com outras fontes de proteína animal, a carne de pescado é pouco consumida, seja por falta de tradição, falha da indústria processadora em oferecer produtos diversificados e de fácil preparo, ou devido ao sistema de distribuição ineficiente e oneroso (MACHADO, 1994).

Desenvolvida no Japão, a tecnologia da fabricação de pasta de pescado permite produção em larga escala, devido ao suprimento estável de matéria-prima e fontes abundantes de espécies de baixo valor comercial. A pasta de pescado vem despertando o interesse da indústria de alimentos e sendo introduzida em países latino-americanos por tratar-se de ingrediente altamente funcional e de boa qualidade nutricional, que apresenta longa

* Aluna do Curso de Pós-graduação em Ciências dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis (SC).

*** Professor do Curso de Tecnologia de Pescado, UFSC, Florianópolis (SC).

vida de prateleira sob congelamento (6 meses a 1 ano). Tal tecnologia pode ser utilizada no processamento de diversos produtos de alto valor comercial, possibilitando ainda a criação de novas indústrias integradas (LANIER & LEE, 1992; MACHADO, 1994).

Pasta de pescado é polpa submetida a lavagens sucessivas em água fria misturada com agente crioprotetor. A pasta é a proteína miofibrilar concentrada principalmente pela actomiosina, a qual apresenta propriedades funcionais de interesse tecnológico, tais como: capacidade de retenção de água, emulsificação de gordura ou azeite, fixação de corante, solubilização em sal, hidratação ou rehidratação, reticulação e geleificação. Estas propriedades se mantêm devido a estrutura tridimensional da actomiosina na carne natural da matéria-prima, que serve de base para a fabricação de produtos marinhos, imitando a textura elástica da carne de caranguejo, camarão, mexilhões, etc (RAMIREZ, 1996).

Os crioprotetores atuam aumentando a tensão superficial da água em torno da proteína, impedindo o seu congelamento, prevenindo a retirada da água ligada e estabilizando-a em sua forma original durante o período de estocagem sob congelamento. Entre os principais aditivos crioprotetores estão os carboidratos, fosfatos, aminoácidos, ácidos carboxílicos, carbonatos, citratos e sal (MACHADO, 1994).

A metodologia de análise de superfície de resposta, introduzida por G.E.P. Box na década de 1950, é uma técnica baseada no uso de planejamentos fatoriais que tem sido empregada com sucesso na otimização de operações de processamento de alimentos por muitos investigadores (SMITH *et al.*, 1977; LAH *et al.*, 1980; FLOROS AND CHINNAN, *apud* MUDAHAR *et al.*, 1989; BRUNS *et al.*, 1995). É constituída de duas etapas distintas, ou seja, modelagem e deslocamento. A modelagem normalmente é feita ajustando-se modelos lineares ou quadráticos a resultados experimentais obtidos a partir de planejamentos fatoriais. O deslocamento ocorre ao longo do caminho da máxima inclinação de determinado modelo, que é a trajetória na qual a resposta varia de forma mais pronunciada (BRUNS *et al.*, 1995).

Para aplicar o método de análise de superfície de resposta é necessário primeiramente programar ensaios mediante planejamento fatorial. Este método consiste em selecionar número fixo de níveis para cada um dos fatores ou variáveis de entrada, executando-se experimentos com todas as possíveis combinações. Como primeira etapa é usual empregar planejamento fatorial com dois níveis (nível - 1 e + 1) para cada variável. Assim, para “g” variáveis envolvidas no estudo, o número de experimentos a serem realizados para investigar todas as combinações possíveis é igual a 2^g (KALLIL, 1997).

Com os resultados obtidos no planejamento é possível calcular os efeitos principais e de interação das variáveis sobre as respostas, determinar quais são os efeitos significativos e ajustar empiricamente um modelo linear ou de primeira ordem, correlacionando-se as variáveis e as respostas (KALLIL, 1997). Se o modelo de primeira ordem não apresentar boa correlação com os dados experimentais é possível complementar o planejamento fatorial inicial com mais 2 vezes “g” ensaios, segundo configuração “estrela” (KHURI e CORNELL, *apud* KALLIL, 1997), obtendo-se modelo quadrático ou de segunda ordem. Para fazer o planejamento em estrela simplesmente acrescenta-se ao já existente outro planejamento idêntico, porém girado de 45 graus em relação à orientação de partida (BRUNS et al., 1995).

Neste trabalho estudou-se o efeito de agentes crioprotetores em pasta de pescado após o descongelamento, usando a metodologia de análise de superfície de resposta. Pretendeu-se otimizar a quantidade necessária a ser utilizada de polifosfato de sódio, NaCl e açúcar para que se obtenha maior capacidade de retenção de água, propriedade desejada nos produtos de pescado por resultar em melhores características de textura, sucosidade, cor e sabor.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Para determinar a influência das variáveis na capacidade de retenção de água da pasta de pescado foi desenvolvido planejamento fatorial completo em estrela com três fatores e cinco níveis, isto é, cinco diferentes combinações de concentração de polifosfato de sódio, NaCl e açúcar. Assim, foram realizados 2^3 ensaios para verificação do modelo linear e mais 2 vezes “g” ensaios distribuídos rotacionalmente (pontos axiais) na distância α da condição do ponto central, sendo α definido pela equação $\alpha = (2^g)^{1/4}$, onde g é o número de variáveis independentes ou fatores.

Para o trabalho em questão tem-se $g = 3$, $\alpha = 1,68179$, portanto para o modelo quadrático foram incluídos os níveis - 1,68179 e + 1,68179.

A Tabela 1 mostra as variáveis estudadas e os valores de cada variável relativos aos níveis codificados (- α , -1, 0, +1 e + α). Como variável de resposta analisou-se a capacidade de retenção de água após o descongelamento da pasta de pescado.

TABELA 1 - DEFINIÇÃO DOS NÍVEIS DAS VARIÁVEIS INDEPENDENTES

Variáveis independentes	Níveis				
	- α	- 1	0	+ 1	+ α
Polifosfato de sódio - X_1	0,15	0,322	0,575	0,828	1,0
Açúcar - X_2	0,75	0,902	1,125	1,348	1,5
NaCl - X_3	0,75	0,902	1,125	1,348	1,5

Após definição das faixas das variáveis foram realizados oito ensaios correspondentes ao modelo linear (2^3), mais seis para completar o modelo quadrático e dois ensaios no ponto central. Visando avaliar a influência dos erros experimentais, de forma geral, foram efetuadas duplicatas dos experimentos para as três variáveis avaliadas.

2.2 PROCESSAMENTO DA PASTA DE PESCADO

Para os ensaios experimentais foram usados 17 kg de cação (*Sphyrna zygaene*), adquirido no mercado local, eviscerado e acondicionado em monobloco plástico com gelo. Após a retirada do couro, a carne foi cortada e lavada para ser colocada no *Meat - bonner separator* de maneira unilateral. A polpa obtida foi processada (Figura 1) para a obtenção da pasta de pescado (surimi), segundo LANNIER (1986).

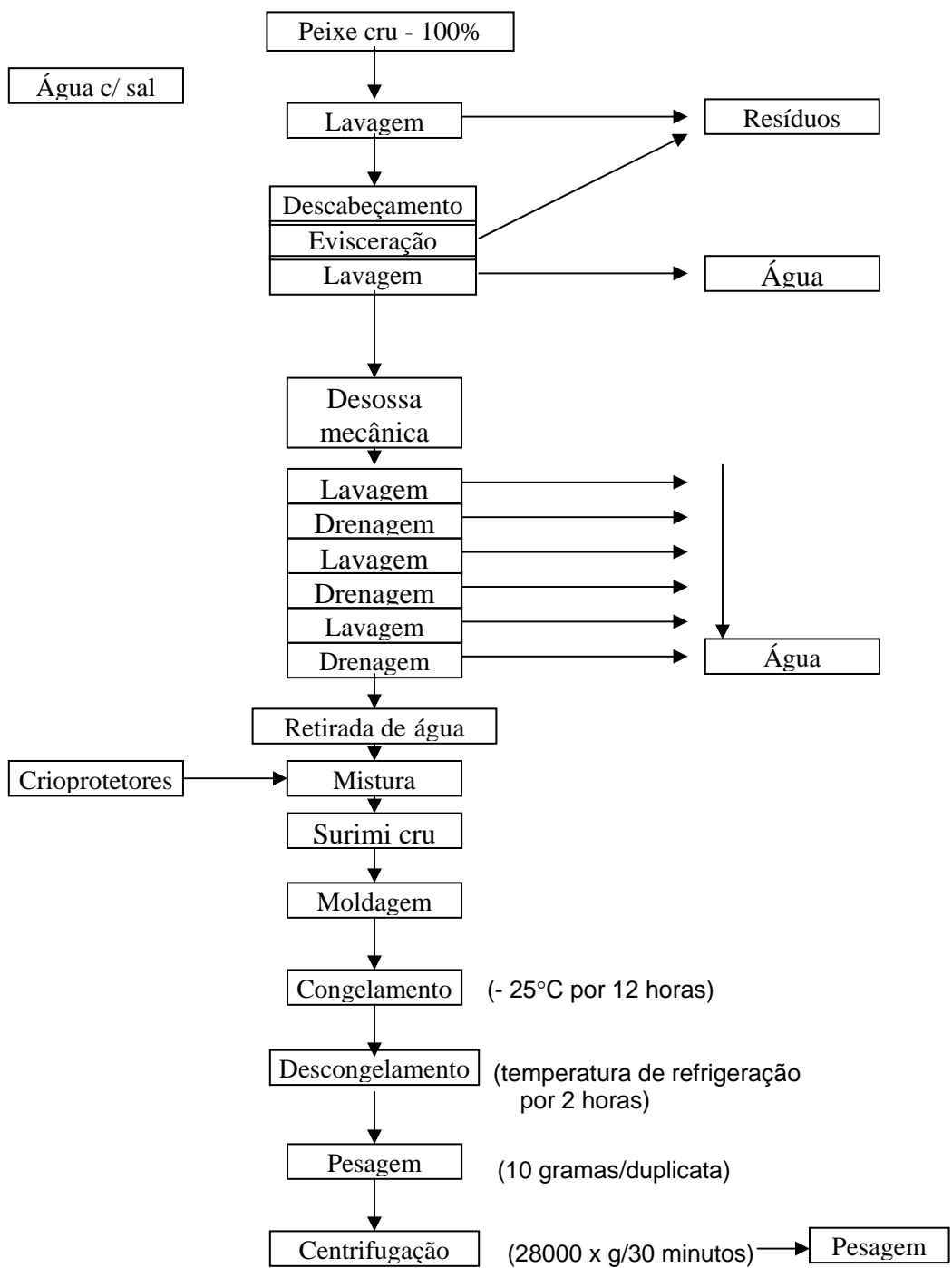
Para o ensaio da reestruturação da polpa com cloreto de sódio, açúcar e polifosfato de sódio, realizou-se mistura manual, envolvendo-se a massa com os ingredientes suavemente e evitando a excessiva solubilização de proteína em sal, em condições variadas de mistura (Tabela 1). A massa obtida foi embalada manualmente em saco de plástico de 30 mm de diâmetro, para ser congelada em câmara de congelamento a - 25 °C por 12 horas.

2.3 ANÁLISE FÍSICA

Determinou-se a capacidade de retenção de água da pasta de pescado, após o descongelamento, segundo BEIRÃO (1986). A pasta descongelada foi pesada (10 g em duplicata) e centrifugada a 28000 x g por 30 minutos. O fluído sobrenadante do gel, após a centrifugação foi descartado e a perda de peso foi expressa em porcentagem de peso da amostra inicial, sendo considerada a capacidade de retenção de água (CRA).

$$CRA = \frac{\text{peso da amostra inicial} - \text{peso da amostra após centrifugação}}{\text{peso da amostra inicial}} \times 100\%$$

FIGURA 1 - FLUXOGRAMA DE PROCESSAMENTO DA PASTA DE PESCAO E DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE DE RETENÇÃO DE ÁGUA (CRA)



2.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para análise estatística dos resultados utilizou-se o software “Statística” (versão 5.0), obtendo-se os efeitos das variáveis, o coeficiente de regressão do modelo quadrático, a análise de variância do modelo e as superfícies de resposta.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O planejamento resultante é mostrado na Tabela 2, sendo a variável de resposta Y₁ a capacidade de retenção de água após o descongelamento.

O seguinte modelo quadrático foi utilizado para descrever a variável de resposta em função das três variáveis independentes: $Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{33}x_3^2 + b_{12}x_1x_2 + b_{23}x_2x_3 + b_{13}x_1x_3$. Neste $y = f(x)$, em que as variáveis independentes são x₁ concentração de polifosfato de sódio; x₂ concentração de açúcar e x₃ concentração de NaCl. Os coeficientes de regressão são b₀, b₁, b₂ e b₃, relativos aos efeitos principais (x₁; x₂ e x₃) e as interações (x₁ x₂, x₂ x₃ e x₁x₃).

TABELA 2 - RESULTADO DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL FATORIAL 2³ COMPLETO COM DUPLICATAS PARA ESTUDAR A VARIAÇÃO DA CAPACIDADE DE RETENÇÃO DE ÁGUA NA PASTA DE PESCADO DESCONGELADA

Ensaio n° *	X1	X2	X3	Y1
1	-1,00000	-1,00000	-1,00000	4,72800
1'	-1,00000	-1,00000	-1,00000	4,19300
2	1,00000	-1,00000	-1,00000	4,83400
2'	1,00000	-1,00000	-1,00000	4,58500
3	-1,00000	1,00000	-1,00000	4,32900
3'	-1,00000	1,00000	-1,00000	4,19100
4	1,00000	1,00000	-1,00000	4,11900
4'	1,00000	1,00000	-1,00000	4,86400
5	-1,00000	-1,00000	1,00000	4,34800
5'	-1,00000	-1,00000	1,00000	4,15900
6	1,00000	-1,00000	1,00000	5,62700
6'	1,00000	-1,00000	1,00000	5,88300

continua...

continuação...

Ensaio n° *	X1	X2	X3	Y1
7	-1,00000	1,00000	1,00000	4,44400
7'	-1,00000	1,00000	1,00000	4,80300
8	1,00000	1,00000	1,00000	5,01300
8'	1,00000	1,00000	1,00000	4,54500
9	-1,68179	0,00000	0,00000	3,84200
9'	-1,68179	0,00000	0,00000	4,04000
10	1,68179	0,00000	0,00000	4,17400
10'	1,68179	0,00000	0,00000	4,23000
11	0,00000	-1,68179	0,00000	5,53300
11'	0,00000	-1,68179	0,00000	5,75400
12	0,00000	1,68179	0,00000	3,94200
12'	0,00000	1,68179	0,00000	4,55400
13	0,00000	0,00000	-1,68179	5,43000
13'	0,00000	0,00000	-1,68179	5,48000
14	0,00000	0,00000	1,68179	4,25300
14'	0,00000	0,00000	1,68179	4,44100
15	0,00000	0,00000	0,00000	4,69200
15'	0,00000	0,00000	0,00000	4,79600
16	0,00000	0,00000	0,00000	4,75300
16'	0,00000	0,00000	0,00000	4,68500

* Ensaios experimentais realizados em ordem aleatória.

A Tabela 3 mostra a estimativa dos efeitos principais e secundários das variáveis independentes sobre a capacidade de retenção de água, quando estas últimas passam pelos níveis $-\alpha$ ao $+\alpha$. Por exemplo, se a concentração de polifosfato de sódio variar de 0,15% a 1%, a capacidade de retenção de água diminui em média 0,451. Esta mesma avaliação pode ser feita para as outras variáveis. O valor negativo do efeito indica influência contrária a variável de resposta. De acordo com a análise estatística deste planejamento, apenas a variável NaCl mostrou-se não significativa.

O modelo completo obtido pela regressão é dado por: $Y = 4,728 + 0,188 x_1 - 0,247 x_2 - 0,027 x_3 - 0,226 x_1^2 + 0,083 x_2^2 + 0,067 x_3^2 - 0,170 x_1x_2 + 0,147 x_2x_3 - 0,023 x_1x_3$. Levando-se em consideração apenas os termos significativos, o modelo final é: $Y = 4,728 + 0,188 x_1 - 0,247 x_2 - 0,226 x_1^2 - 0,170 x_1x_2 - 0,023 x_1x_3$.

O desempenho do modelo foi avaliado pelo teste F, cujo valor pode ser observado na Tabela 4.

TABELA 3 - ANÁLISE DOS EFEITOS DAS VARIÁVEIS INDEPENDENTES SOBRE A RESPOSTA EM CAPACIDADE DE RETENÇÃO DE ÁGUA

Variáveis do processo	Efeito	Nível p*	Coefficiente
(1) X ₁ (L)	0,377**	0,029**	0,188**
X ₁ (Q)	- 0,451**	0,032**	- 0,226**
(2) X ₂ (L)	- 0,494**	0,006**	- 0,247**
X ₂ (Q)	0,167	0,405	0,083
(3) X ₃ (L)	- 0,055	0,738	- 0,027
X ₃ (Q)	0,135	0,499	0,067
1L by 2L	- 0,341	0,121	- 0,170**
1 L by 3L	0,294	0,178	0,147**
2L by 3L	- 0,047	0,827	- 0,023

* Significância estatística.
** Efeito significativo, num intervalo de 5% de confiança.

TABELA 4 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA MOSTRANDO A SIGNIFICÂNCIA ESTATÍSTICA SOBRE A CAPACIDADE DE RETENSÃO DE ÁGUA DA PASTA DE PESCADO

Fonte de variação	SQ	GL	MQ	Teste de F	
				F _{calc}	F _{tab}
Regressão (R)	5,435	9	0,604	3,37	2,34
Resíduo (r)	3,939	22	0,179		
Falta de ajuste (fa)	2,993	6	0,499		
Erro puro (ep)	0,946	16	0,059	8,457	2,74
Total	9,374				
% Variação explicada (R ²)	57,98				
% máxima de variação explicável	89,91				

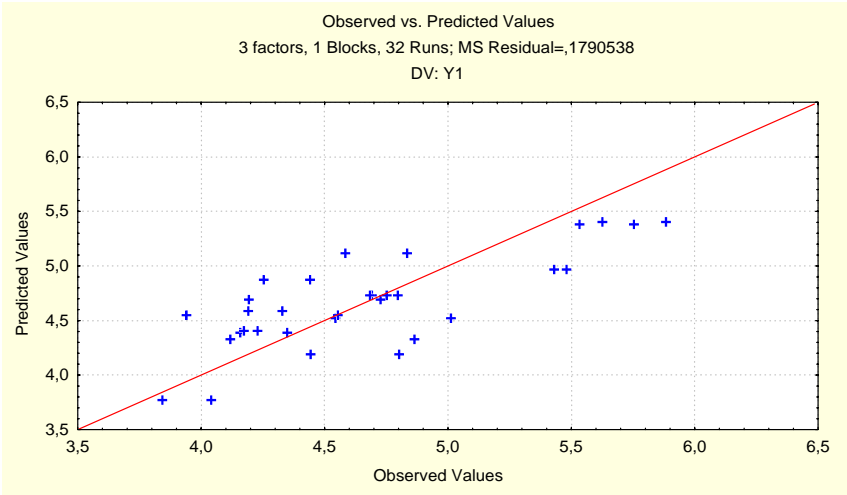
SQ = Soma dos Quadrados. GL = Graus de Liberdade.
MQ = Média Quadrática. Nível de significância de 5%.

Observando a Tabela 4 percebe-se que a soma dos quadrados referente ao erro puro é cerca de três vezes menor que a falta de ajuste, significando que o modelo usado não está bem ajustado as observações. A variabilidade do modelo em relação aos resultados é explicada em 57,98%. A comparação do valor estimado F a partir dos dados experimentais fornecidos evidencia que, o valor $F_{R, r\,calc} = 3,373$ é pouco maior que o valor tabelado $F_{R, r\,tab} = 2,34$. Segundo BOX e WETZ, citados por BRUNS et al. (2), para que regressão seja não apenas estatisticamente significativa mas também útil para fins preditivos, o valor da razão MQ_R/MQ_r deve ser no mínimo quatro a cinco vezes o valor de $F_{R, r\,tab}$. Logo, a variação devido ao

modelo não é significativamente maior que a variação não explicada, e o modelo não pode ser considerado válido. Para o erro, $F_{fa, ep\ calc} = 8,457$ é cerca de três vezes maior que o valor tabelado $F_{fa, ep\ tab} = 2,25$, evidenciando que o modelo não se ajusta bem aos resultados experimentais.

A precisão adequada do modelo pode ser visualizada na Figura 2, que apresenta os valores observados experimentalmente versos valores previstos pelo modelo. O modelo foi utilizado para gerar as superfícies de respostas das combinações possíveis das diferentes variáveis, as quais serão usadas para otimização da capacidade de retenção de água em pasta de pescado.

FIGURA 2 - GRÁFICO DOS VALORES OBSERVADOS EXPERIMENTALMENTE VERSOS VALORES PREVISTOS PELO MODELO



Segundo estudo realizado por RAMIREZ et al. (8) o melhor tratamento para polpa de pescado seria a mistura de 0,2% de polifosfato de sódio, 1% a 1,5% de cloreto de sódio e 1% a 1,5% de açúcar, devido ao melhor desempenho no aumento da capacidade de retenção de água da proteína miofibrilar reticulada. Deste modo, definiu-se arbitrariamente como satisfatória a capacidade de retenção de água de 5,300, na qual as concentrações dos crioprotetores variam de forma semelhante ao mencionado acima.

As Figuras 3 a 5 mostram as curvas de nível referentes às superfícies de respostas geradas. Delimitando-se a região que engloba a faixa de 5,300 de capacidade de retenção de água pode-se observar, pelos gráficos, que para entrar na região de maior capacidade de retenção de água, são

necessários de 0,575% a 1% de polifosfato de sódio e 0,75% a 0,902% de açúcar, podendo-se usar concentração de NaCl de 0,75% a 1,5%.

FIGURA 3 - GRÁFICO RELATIVO AS VARIÁVEIS INDEPENDENTES NA_{CL} (X₃), POLIFOSFATO DE SÓDIO (X₁) E RESPOSTA EM CAPACIDADE DE RETENÇÃO DE ÁGUA

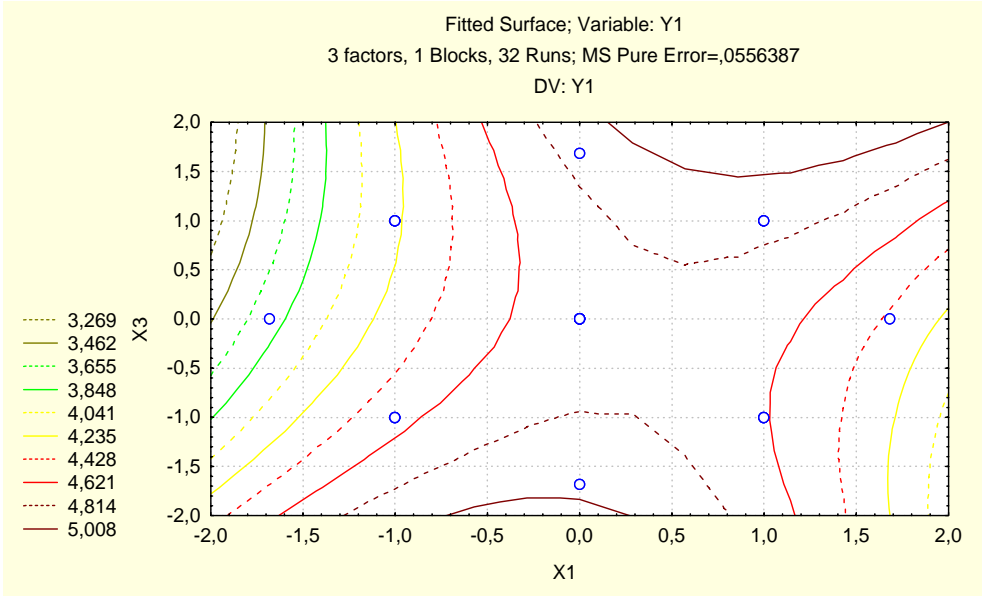


FIGURA 4 - GRÁFICO RELATIVO AS VARIÁVEIS INDEPENDENTES NA_{CL} (X₃), AÇÚCAR (X₂) E RESPOSTA EM CAPACIDADE DE RETENÇÃO DE ÁGUA

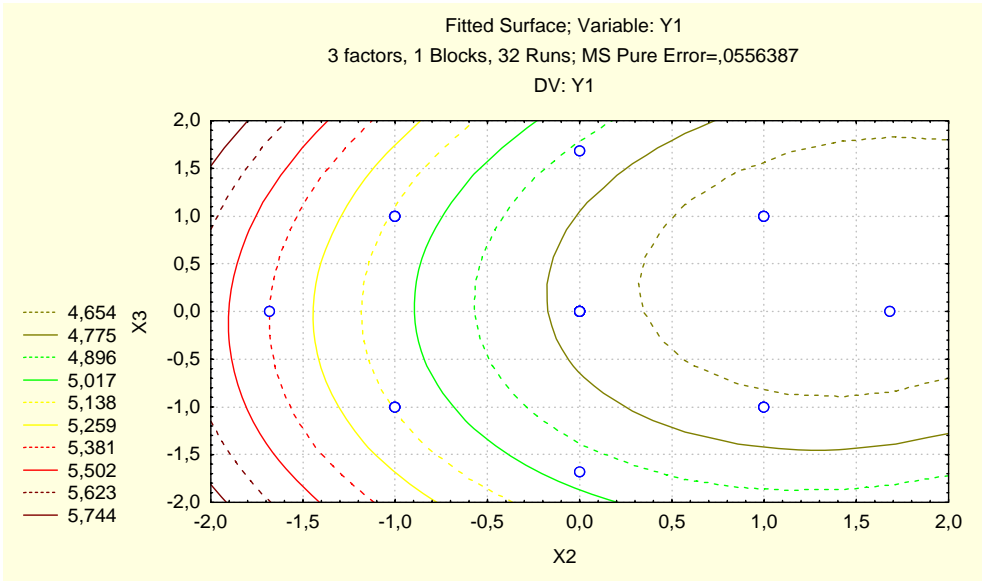
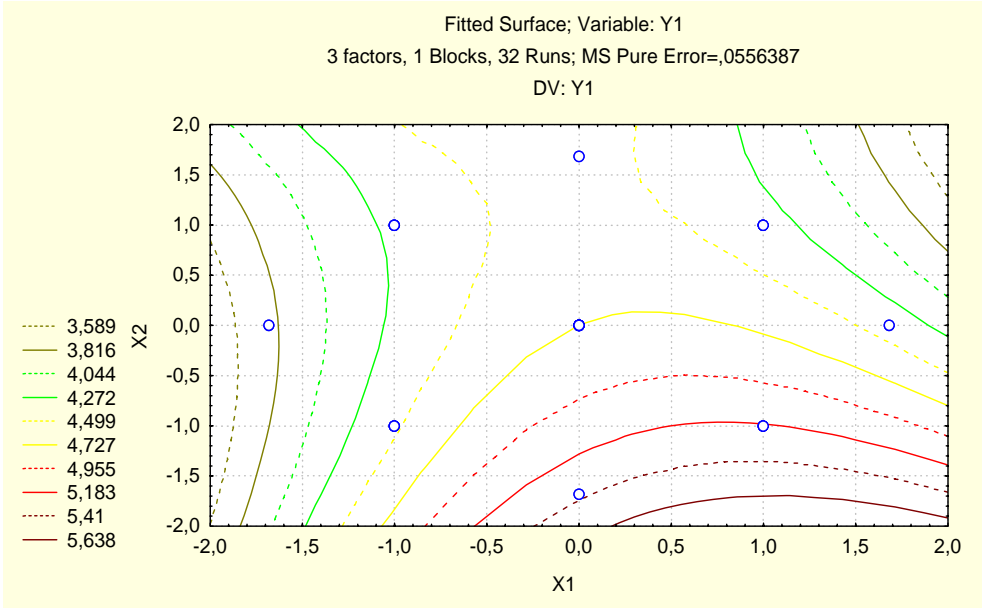


FIGURA 5 - GRÁFICO RELATIVO AS VARIÁVEIS INDEPENDENTES AÇÚCAR (X₂), POLIFOSFATO DE SÓDIO (X₁) E RESPOSTA EM CAPACIDADE DE RETENÇÃO DE ÁGUA



4 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados concluiu-se que a proporção de NaCl não apresenta efeito significativo na capacidade de retenção de água na pasta de pescado, para a faixa experimental estudada, podendo ser usado entre 0,75% e 1,50%.

O polifosfato deve ser empregado na concentração de 0,575%, que apresenta efeito na redução da capacidade de retenção de água e o açúcar pode ser usado na faixa de 0,75% a 0,902%.

Abstract

The effect of cryoprotectant agents was analyzed in fish paste after its defrosting. The methodology of surface response analysis was used to optimize the necessary amount of these agents to be used, so that a larger retention of water is obtained. It is ended that the studied proportion of NaCl presents no significant effect in the capacity of water retention in the fish paste. The polyphosphate might be used in the percentage of 0.575% and the sugar between 0.75% and 0.92% for better results.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 BEIRÃO, L.H. **Proteolytic digestion of fish flesh during processing with particular reference to minced fish.** Aberdeen, Scotland, 1986. 218 p. Thesis, Ph. D., Strathelyde University.
- 2 BRUNS, R.E., SCARMINIO, I. S., NETO, B.B. **Planejamento e otimização de experimentos.** Campinas : Ed. UNICAMP, 1995. 299 p.
- 3 KALLIL, S.J. **Modelagem, simulação e otimização de um processo de fermentação alcoólica contínua, com reciclo de células, em reator cascata.** Campinas, 1997. 183 p. Dissertação (Mestrado), Engenharia de Alimentos (FEA), UNICAMP.
- 4 LANIER, T.C. Functional properties of surimi. **J. Food Thechnology**, v. 40, p. 107-114, 1986.
- 5 MACHADO, I. **Carne de pescado separada mecanicamente: obtenção e utilização.** Campinas : ITAL, 1994. 98 p.
- 6 MUDAHAR, G.S., TOLEDO, J.D., JEN, J.J. Optimization of carrot dehydration process using response surface methodology. **J. Food Thechnology**, v. 19, p. 45-63, 1989.
- 7 RAMIREZ, S.M. Productos congelados y pasta de pescado. In: CURSO INTERNACIONAL TECNOLOGIA DE PROCESAMIENTO DE PRODUCTOS PESQUEROS, 12., Callao, Peru, 1996. **Productos congelados y pasta de pescado.** Callao, 1996. p. 35-36
- 8 RAMIREZ, S.M., PEREZ, R., SILVA, L. Milanesa de pescado. **B. Inv. Inst. Tec. Pes.**, v. 4, n. 1, p. 105-110, 1994.