

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS E AGRÍCOLA

ESTUDOS DA RECUPERAÇÃO DAS PROTEÍNAS
DO PLASMA BOVINO POR COMPLEXAÇÃO
COM FOSFATOS E SUA UTILIZAÇÃO EM
PRODUTOS CÂRNEOS.

FLODOALDO ALVES DE ALENCAR
Médico - Veterinário

Orientador:
Prof. Dr. Olavo Rusig

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola
da Universidade Estadual de Campinas para a obtenção do grau de
Mestre em Ciência de Alimentos.

CAMPINAS
1983

UNICAMP

À minha esposa Maria Carmélia,
e aos meus filhos Sandra, Silvia,
Adriana e Júnior, pela compreensão
carinho e incentivo.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Olavo Rusig, pela orientação e amizade.

Ao Professor Benedito Dutra Pimenta, pela amizade e con
fiança.

Aos professores, técnicos e demais funcionários da Faculda
de de Engenharia de Alimentos e Agrícola, pelo apoio recebido.

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, pela permis
são do meu afastamento.

À CAPES (PICD), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Projeto SUBIN, pelo apoio financeiro.

Às Indústrias LOPESCO, pela cessão do plasma congelado.

ÍNDICE GERAL

	PÁGINA
Índice de tabelas	v
Índice de figuras	vii
Índice de apêndices	viii
Resumo	01
Summary	02
1. Introdução	03
2. Revisão Bibliográfica	
2.1. Sangue	
2.1.1. Definição e composição química	05
2.1.2. Coleta	07
2.1.3. Separação das fases	08
2.1.4. Estocagem	08
2.1.5. Utilização em alimentos	10
2.1.6. Qualidade Nutricional	13
2.1.7. Precipitação química das proteínas do plasma sanguíneo	16
2.1.8. Aspectos legais	19
2.2. Propriedades funcionais do plasma bovino.	
2.2.1. Solubilidade	20
2.2.2. Capacidade de emulsificação	22
2.2.3. Estabilidade da emulsão	26
2.2.4. Capacidade de geleificação	28
2.2.5. Propriedades de formação e estabilidade da espuma	30

3. Materiais e Métodos

3.1. Materiais

3.1.1. Plasma bovino	32
3.1.2. Carne e Gordura	32
3.1.3. Proteína Texturizada de Soja (PTS)	32
3.1.4. Fécula de Mandioca	32
3.1.5. Condimentos	32
3.1.6. Óleo de Soja	34
3.1.7. Reagentes	34
3.1.8. Aparelhos e Equipamentos	34

3.2. Métodos

3.2.1. Determinação do rendimento da recuperação das proteínas do plasma	35
3.2.2. Determinação de aminoácidos	35
3.2.3. Determinação da lisina disponível	36
3.2.4. Capacidade de geleificação	36
3.2.5. Capacidade de emulsificação	37
3.2.6. Estabilidade da emulsão	37
3.2.7. Estabilidade da emulsão ao calor	39
3.2.8. Capacidade de formação e estabilidade da espuma	39
3.2.9. Análises químicas	40
3.2.10. Preparo dos "hamburguers"	42
3.2.11. Preparo das salsichas	42
3.2.12. Determinação do encolhimento e perda de peso dos "hamburguers"	43
3.2.13. Análise Sensorial	43

4. Resultados e Discussão	
4.1. Precipitação química das proteínas do plasma bovino.	44
4.2. Qualidade Nutricional	50
4.3. Capacidade de Emulsificação.....	53
4.4. Estabilidade da emulsão.....	56
4.5. Capacidade de geleificação.....	57
4.6. Capacidade de formação e estabilidade da espuma....	60
4.7. Encolhimento e perda de peso dos "hamburguers" e salsichas	61
4.8. Análise sensorial	62
4.8.1. "Hamburguers"	62
4.8.2. Salsichas	63
5. Conclusões	68
6. Sugestões	69
7. Referências bibliográficas	70

ÍNDICE DE TABELAS

	PÁGINA
Tabela 2.1. Composição do sangue bovino e suas frações...	06
Tabela 2.2. Composição proteica do plasma bovino.....	06
Tabela 2.3. Composição em aminoácidos do plasma bovino...	15
Tabela 2.4. Composição vitamínica do sangue.....	16
Tabela 3.1. Composição da mistura de condimentos usada na formulação de "hamburguer".....	33
Tabela 3.2. Composição da mistura de condimentos usada na formulação de salsichas.....	33
Tabela 3.3. Formulação das misturas para o preparo dos "hamburguers".....	40
Tabela 3.4. Formulação das misturas para o preparo da sal sicha.....	41
Tabela 4.1. Peso molecular de alguns polifosfatos.....	50
Tabela 4.2. Conteúdo em aminoácidos, do plasma bovino, an tes e após complexação com HMFS.....	51
Tabela 4.3. Conteúdo de lisina disponível no plasma bovi no liofilizado.....	52
Tabela 4.4. Capacidade de emulsificação das proteínas do plasma bovino, com e sem a adição de HMFS e NaCl.....	53

Tabela 4.5.	Estabilidade da emulsão formada em diferentes concentrações proteicas.....	56
Tabela 4.6.	Geleificação das proteínas do plasma liofilizado, quando aquecido à ebulição, durante 15 minutos.....	59
Tabela 4.7.	Capacidade de formação e estabilidade da espuma do plasma bovino.....	60
Tabela 4.8.	Encolhimento e perda de peso de "hamburguers".	61
Tabela 4.9.	Efeito da substituição da carne bovina por proteínas do plasma precipitadas com HMFS, na avaliação sensorial de "hamburguers".....	66
Tabela 4.10.	Efeito da substituição da carne bovina por proteínas do plasma precipitadas com HMFS, na avaliação sensorial de salsichas.....	67

ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁGINA
Figura 3.1. Representação esquemática da precipitação das proteínas do plasma bovino.....	38
Figura 4.1. Solubilidade das proteínas do plasma bovino com a adição de Fosfato de Sódio Monobásico em várias concentrações molares, em função do pH.....	45
Figura 4.2. Solubilidade das proteínas do plasma bovino com a adição de Pirofosfato Tetrasódico em várias concentrações molares, em função do pH..	46
Figura 4.3. Solubilidade das proteínas do plasma bovino com a adição de Tripolifosfato de Sódio em várias concentrações molares, em função do pH..	47
Figura 4.4. Solubilidade das proteínas do plasma bovino com a adição de Hexametáfosfato de Sódio em várias concentrações molares, em função do pH.....	48
Figura 4.5. Capacidade de emulsificação das proteínas do plasma bovino, com e sem a adição de Hexametáfosfato de Sódio.....	54

ÍNDICE DE APÊNDICE

	PÁGINA
8.1. Determinação do triptofano pelo Método do DAB.....	79
8.2. Determinação de lisina disponível.....	81
8.3. Ficha utilizada na avaliação sensorial de "hambur guers" e salsichas.....	84

RESUMO

Com a finalidade de determinar-se o perfil de solubilidade das proteínas do plasma bovino, testaram-se 4 diferentes tipos de fosfato - Fosfato de Sódio Monobásico (FSM), Pirofosfato tetrassódico (PFTS), Tripolifosfato de Sódio (TPFS) e Hexametáfosfato de Sódio (HMFS). O HMFS na concentração de 0,005 M em pH 4,5 possibilita a precipitação de 100% das proteínas em uma solução a 1,2%.

A determinação quantitativa de aminoácidos demonstra que a complexação com HMFS não afeta nenhum dos aminoácidos essenciais, nem a disponibilidade de lisina das proteínas.

Em relação às propriedades funcionais, a complexação com HMFS melhora a capacidade de emulsificação e a estabilidade da emulsão, não alterando a capacidade de geleificação e de formação de espuma.

Avaliaram-se sensorialmente, "hamburguers" e salsichas, nos quais 5, 10, 15 e 20% da carne foram substituídos por plasma bovino precipitado com HMFS. Apenas o nível de substituição de 5% nos "hamburguers" não apresentou diferença significativa para aspecto, aroma, sabor, textura e suculência, sendo a diferença significativa apenas quanto a cor. Nos testes referentes às salsichas não houve diferença significativa para nenhuma destas características, neste nível de substituição.

SUMMARY

In order to determine the solubility profile of bovine plasma proteins, four different phosphate types were tested - Sodium Phosphate Monobasic, Sodium Hexametaphosphate, Tetrasodium Pyrophosphate and Sodium Tripolyphosphate. Sodium Hexametaphosphate in concentration of 0,005M at pH 4,5 makes possible the precipitation of total proteins in a solution at 1,2%.

The quantitative determination of amino acid shows that the complexation with Sodium Hexametaphosphate does not affect the essential amino acids level, or the lysine availability of the proteins.

With regard to the functional properties, the complexation with Sodium Hexametaphosphate improves the emulsification capacity and the emulsion stability, not changing the gelation and the foam capacity.

Sausages and hamburgers, in which 5, 10, 15 and 20% of meat, were replaced by bovine plasma precipitated with Sodium Hexametaphosphate, were submitted to a taste panel. Only the replacement level of 5% in hamburgers does not show significant difference for aspect, flavor, texture and juiciness, although the difference was significant for color. In the sausages taste have not significant differences for any of those characteristics, in this replacement level.

1. INTRODUÇÃO

O suprimento mundial de alimentos, particularmente o de proteínas, é atualmente precário, e deve-se esperar um agravamento da situação caso a população continue a crescer como o previsto. (AUTRET, 1970).

O desenvolvimento de novos alimentos de alto teor proteico - principalmente aqueles de fontes não convencionais - para minimizar os problemas da fome e da mal-nutrição das populações dos países em desenvolvimento, tem sido uma preocupação constante dos pesquisadores.

Vários novos tipos de proteínas tem sido lançados ao consumo, porém com pouca repercussão do ponto de vista comercial, devido, talvez, ao pouco cuidado dispensado à pesquisa no que se refere à análise de suas propriedades funcionais e sensoriais. Um exemplo disto são os produtos a base de soja, os quais apesar de possuírem alto valor nutricional, são rejeitados pelos consumidores devido as suas características organolépticas pouco desejáveis.

O valor nutricional é uma característica importante a considerar no desenvolvimento de novos produtos proteicos, porém outras características devem ser levadas em conta, tais como, as propriedades organolépticas e funcionais, a disponibilidade e o custo. Quando substituem proteínas tradicionais, as novas proteínas devem manter ou melhorar a qualidade e a aceitabilidade dos produtos nos quais é usada. (KINSELLA, 1976).

Segundo THOMAS et al. (1973), há um crescente interesse na adição de aditivos proteicos em produtos cárneos, tanto para melhorar a qualidade dos produtos, quanto para diminuir os custos de

produção. Já SCHUT (1969), citado por THOMAS et al. (1973) afirma que a adição destes aditivos às salsichas reduz a perda de gordura e melhora a aparência, a consistência e a digestibilidade do produto.

De acordo com RUSIG (1979), a utilização de proteínas do plasma em produtos cárneos deveria minimizar os problemas de poluição pelas indústrias de carne, através do desenvolvimento de novos métodos de aplicação destas proteínas, as quais são normalmente pouco utilizadas.

Atualmente no Brasil, a quase totalidade do sangue produzido nos abatedouros é utilizada na produção de farinha para a fabricação de ração animal e fertilizantes, ou são lançadas diretamente nos cursos d'água, causando graves problemas de poluição ambiental. A produção de farinha de sangue atualmente é deficitária, devido aos altos custos da energia empregada no processo.

Neste trabalho os objetivos aos quais nos propomos realizar são:

- a) Determinar as condições ótimas da recuperação das proteínas do plasma bovino através da complexação com 4 diferentes tipos de fosfato;
- b) Estudar as capacidades emulsificantes, geleificantes e de formação de espuma do plasma, em sistema modelo;
- c) Avaliar as qualidades nutricionais do plasma bovino, antes e após a complexação com fosfatos;
- d) Formular, processar e avaliar sensorialmente salsichas e "hamburguers" contendo diversos níveis de proteínas do plasma complexada com fosfatos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. SANGUE

2.1.1. Definição e composição química

VICKERY (1968) define o sangue como um fluido fisiológico que contém cerca de 20% de sólidos totais, dos quais 18% são representados por proteínas. A fase sólida é composta por elementos celulares, que são os eritrócitos, os leucócitos e as plaquetas. Cerca de 2/3 do peso do sangue é representado por um líquido amarelo brilhante que é o plasma. Segundo HALLIDAY (1975), citado por DELANEY (1976), a proporção entre o plasma e a fração celular é de 65:35, respectivamente.

WISMER-PEDERSEN (1979) refere-se ao sangue como "carne líquida", devido ao seu teor de proteínas (18%) ser aproximadamente o mesmo da carne magra. A composição do sangue bovino é dada na tabela 2.1.

Cerca de 10 a 12 litros de sangue podem ser coletados de um bovino médio. Se considerarmos um animal com 500 Kg de peso vivo e 170 Kg de carne, a utilização do seu sangue representaria um aumento no rendimento de 6 a 7%, em termos de proteína. A proteína mais abundante no plasma é a albumina. A tabela 2.2 apresenta a composição protéica do plasma bovino.

Tabela 2.1. Composição do sangue bovino e suas frações, em peso.

COMPONENTE	SANGUE	CÉLULAS	PLASMA
Água	80,9	60,5	91,3
Proteínas	17,3	37,2	7,1
Gordura	0,23	0,26	0,33
Carboidratos	0,07	0,11	-
Minerais	0,624	0,502	0,674

Tabela 2.2. Composição protéica do plasma bovino.

PROTEÍNA	PESO MOLECULAR	CONTEÚDO (%)
Albumina	68.000	50
Globulina	90.000 - 200.000	23 - 27
Fibrinogênio	340.000	17 - 23

2.1.2. Coleta

Segundo FRENZ & PERRON (1971), citados por BRIGTH (1977), somente animais descansados e sadios devem ser utilizados na coleta de sangue para uso na alimentação humana, pois o estado fisiológico do animal antes do abate influi no nível de contaminação bacteriana do sangue e da carcaça.

A manutenção de um alto padrão de higiene é vital em toda sequência das operações, desde a coleta até a sua utilização.

O método de coleta é um dos fatores que determinam o grau de contaminação, além do rendimento de obtenção do sangue. A coleta em recipientes abertos não deve ser utilizada quando o sangue se destinar ao uso humano, pois propicia um alto grau de contaminação bacteriana, proveniente tanto da pele do animal durante as convulsões pós-sangria, como da urina e do conteúdo do rúmen, quando o esôfago é atingido durante a degola. Contagens de 10^5 a 10^6 microrganismos por mililitro de sangue foram registradas em material coletado em sala de matança (INGRAN, citado por AKERS, 1973). De acordo com AKERS (1969), é possível a obtenção de sangue com baixas contagens microbianas se, tanto o local da sangria na carcaça quanto o equipamento, forem desinfetados antes da coleta.

Segundo AKERS (1973), uma coleta higiênica pode ser feita usando-se uma faca côncava e ôca, acoplada a uma mangueira flexível que transporta o sangue diretamente para recipiente fechados. Um anticoagulante é adicionado ao sangue através de um tubo plástico inserido logo abaixo da lâmina da faca. O anticoagulante mais usado é o citrato de sódio na concentração de 0,2%, mas podem também ser usados o oxalato de amônio, o fluoreto e o cloreto de sódio (SWINGLER, 1978).

Aplicando-se vácuo adequadamente ao sistema, o rendimento melhora de 30 a 40% em relação ao método aberto. Por outro lado, HALLIDAY (1973) assinala que o uso de vácuo em excesso pode provocar uma descoloração indesejável na carne.

2.1.3. Separação das fases

O processamento do sangue para usos em alimentos, geralmente envolve a separação das células sanguíneas do plasma. A centrifugação tem demonstrado ser um método de separação muito eficiente, sendo largamente utilizada. Os separadores podem ser de fluxo contínuo ou de pratos. Durante o processamento, todas as superfícies que entram em contacto com o sangue devem ser lisas, e as válvulas e bombas devem ser desenhadas de maneira a minimizarem o problema que representa a ruptura das células sanguíneas. O ideal seria a não utilização de bombas, pois essas causam sempre algum grau de hemólise, o que resulta na produção de plasma com uma coloração rósea devido ao extravazamento da hemoglobina, além de provocar o aparecimento de aroma e sabor indesejáveis.

Segundo PALS (1970), o rendimento em plasma varia de 50 a 55%, para o sangue bovino. Esse rendimento, no entanto, pode ser aumentado quando se resfria o sangue antes da centrifugação (AKERS, 1973 e DELANEY, 1976). AKERS (1973), afirma ainda que a forma do rotor e a velocidade de rotação tem importância crítica no grau de separação. O rotor utilizado nas centrífugas é usualmente cônico e a velocidade varia em torno de 6.000 rpm.

2.1.4. Estocagem

Após a separação, as frações do sangue - plasma e células

vermelhas - são usadas imediatamente por alguns fabricantes na produção de salsichas (plasma) e morcelas de sangue (células vermelhas). Quando as frações não são utilizadas imediatamente devem ser conservadas de alguma forma (DELANEY, 1976).

Segundo HALLYDAY (1973), as frações podem ser acondicionadas em sacos plásticos, congeladas e estocadas em câmaras frias a -25°C. No Brasil, esta é a forma mais comum de conservação do plasma. As frações podem ser desidratadas por vários métodos, como: secagem em rolos secadores ("drum dryer"), pulverizadores ("spray dryer") ou liofilizadores ("freeze dryer").

No método "drum dryer" o material é aspergido ou embebido em rolos de metal aquecidos através de vapor, permanece algum tempo aderido ao rolo e após a secagem é retirado através de facas. A principal desvantagem deste método é que o contacto prolongado do material com a superfície aquecida, necessário para a secagem, tende a reduzir o valor nutricional do produto final.

No "spray dryer", o material é introduzido numa câmara de secagem através de pulverizadores e entra em contacto com o ar aquecido por um tempo que varia de 1 a 10 segundos. Devido a baixa temperatura e ao tempo menor de exposição, as perdas nutricionais do alimento são mínimas.

A liofilização é um método ainda muito dispendioso para ser usado na produção de plasma para fins alimentícios. Atualmente é utilizado para a produção de plasma com fins farmacêuticos.

ERIKSSON & VON BOCKELMANN (1975), recomendam a utilização de ultrafiltração para concentrar o plasma antes da secagem com o uso de calor, tanto para diminuir o tempo de exposição do plasma ao calor, quanto para economizar energia. Através desse processo

pode-se passar de 9% para 20 a 25% de sólidos totais, no plasma. Segundo os autores, a ultrafiltração é possível porque cerca de 75% das proteínas do plasma possuem peso molecular acima de 70.000.

Segundo FERNANDO (1976), o termo osmose reversa tem sido usado indevidamente como sinônimo de ultrafiltração, já que a osmose reversa é essencialmente um processo de difusão que separa moléculas pequenas e íons, e requer a aplicação de altas pressões, enquanto a ultrafiltração separa macromoléculas de, aproximadamente, um micron de tamanho e constitui-se essencialmente, num processo de filtração baseado no tamanho e na forma da molécula, além de requerer pressão apenas moderada.

A preservação química do sangue só é utilizada quando o mesmo se destina à alimentação animal, AKERS (1973), sugere que, se a escolha do preservativo recair sobre um produto químico de uso permitido, não há razão para este processo não ser usado em sangue para o consumo humano. O equipamento básico consiste de um tanque no qual o sangue é recebido sem a adição de qualquer anti-coagulante, sendo continuamente agitado para não coagular. Adiciona-se metabissulfito de sódio até uma concentração final de 1%. A mistura é bombeada através de um tubo de aço inoxidável de 40 milímetros de diâmetro onde é misturada em contracorrente com uma solução de ácido clorídrico a 20% até pH 3,2 ($\pm 0,3$). O sangue pode ser então acondicionado em sacos de polietileno e ser armazenado sem refrigeração. Este processo permite a estabilização do sangue durante 28 dias a 2°C, 21 dias a 20°C e 10 dias a 30°C, sem que ocorra nenhuma alteração organoléptica ou microbiológica.

2.1.5. Utilização em alimentos

A utilização do sangue total em produtos destinados ao uso humano é limitada pela sua cor. Apenas na Inglaterra ele é utilizado na fabricação de morcelas, na sua forma natural ou na forma seca. Em outros países é largamente usado como ligante em emulsões de carne. Devido a sua alta digestibilidade e fácil assimilação o sangue co-precipitado com soro de leite tem sido largamente utilizado em produtos dietéticos com carne e peixe, em patês, sopas e purês. Na União Soviética, certos tipos de pão são preparados com farinha de centeio e sangue de boi desfibrinado. O valor nutricional das proteínas dos cereais é melhorado pelo alto conteúdo de lisina do sangue.

WISMER-PEDERSEN (1979) descreve um processo totalmente automatizado para a produção de uma pré-emulsão a partir de sangue e gordura suína. O autor afirma que as propriedades funcionais das proteínas do sangue não são diminuídas em relação à emulsão feita durante a fabricação do produto.

O plasma líquido, congelado ou seco tem maior versatilidade de aplicação que o sangue total, pois não causa problemas de cor e sabor quando corretamente processado, além de possuir melhores propriedades geleificantes e ligantes.

BERGSOE & FLAKSTORP (1950), na África do Sul, com o aparecimento do "spray dryer", faziam referência a três tipos de sangue comestível. O "sangue seco solúvel", que era o sangue desfibrinado; a "albumina de sangue" ou plasma e as "células sanguíneas". Os autores afirmavam que a "albumina de sangue" era usada na indústria de panificação como componente protéico.

Segundo HEINZ (1969), qualquer produto cárneo que receba tratamento térmico pode ser adicionado de até 10% de plasma na

sua formulação. Uma alternativa que poderia ser usada seria a substituição do gelo utilizado na formulação por plasma congelado em flocos, aumentando tanto o nível de proteínas quanto as propriedades ligantes do produto durante o cozimento. O autor afirma que uma mistura para hambúrguer adicionada de plasma em flocos pode ser frita imediatamente após a fabricação em gordura quente, sem qualquer dano, enquanto o hambúrguer previamente congelado tende a desintegrar-se.

GORDON (1971), refere-se a injeção de plasma em pedaços de carne a ser cozida e enlatada para melhorar sua maciez. No mesmo trabalho o autor sugere que o plasma deveria ser incluído em produtos de carne e análogos da carne derivados da soja para melhorar suas propriedades funcionais e o seu valor nutricional.

YOUNG & LAWRIE (1974), descrevem um método para a produção de análogos da carne através da texturização do plasma.

DILL (1975), preconiza a utilização de proteínas do sangue em carnes processadas e salsichas.

Segundo CONRAD & SIELLAF (1973), citados por BRIGTH (1977), até 3% de plasma seco, ou quantidades correspondentes de plasma líquido ou congelado, tem sido adicionado no processamento de salsichas, salames e outros produtos cárneos, com sensível diminuição nas perdas de peso durante o cozimento.

O plasma tem aplicação potencial em associação com cereais. DILL (1975), substituiu até 10% da farinha de trigo em massa de pão por isolado de plasma, com melhoria no volume, sabor e valor nutritivo. Em combinação com lecitina de soja, pode substituir ovos na fabricação de pães, bolos, biscoitos, sorvetes e meringues. Pode ainda emulsificar misturas óleo/água, para a produção

de creme artificial, como substituto do leite ou margarina.

BREER (1978), afirma que a adição de plasma em salsichas tipo frankfurt, salsicha de fígado, presunto cozido e linguiça, não causa problemas microbiológicos, tecnológicos ou organolépticos.

2.1.6. Qualidade nutricional

O valor nutritivo do sangue total é baixo devido à sua deficiência em isoleucina, um aminoácido essencial (MILLER & BENDER, 1955). Porém, esta deficiência não está presente no plasma bovino (DILL, 1975). Estes autores determinaram a composição em aminoácidos do plasma bovino concentrado, seco em "spray dryer", com a adição de lactose e concluíram que o plasma apresentava quantidades adequadas de todos os aminoácidos essenciais, com exceção da metionina.

Segundo DILL (1975), as proteínas do plasma têm um alto valor nutricional, exibindo um valor PER (Protein Efficiency Ratio) de 2,14; acima, portanto, do valor da caseína (1,94) que é considerada proteína padrão pela FAO.

DELANEY (1977), relatou que o plasma suíno contém quantidades adequadas ou excesso de treonina, leucina, tirosina e lisina e apresentava valores abaixo do padrão utilizado (albumina de ovo) para os aminoácidos valina, isoleucina, fenilalanina, triptofano e aminoácidos sulfurados. O índice químico apresentava um valor de 49,0, sendo a isoleucina o primeiro aminoácido limitante. No mesmo estudo, o autor comparou os valores de NPU (Net Protein Utilization) para ratos alimentados com uma dieta contendo plasma suíno concentrado e caseína. O valor médio para o plasma foi de

65,8 ($\pm 1,9$), enquanto o da caseína foi de 72,1 ($\pm 0,4$).

WISMER-PEDERSEN (1979) assinala que, apesar de ser uma boa fonte de aminoácidos essenciais, o sangue é deficiente em isoleucina e metionina. Consequentemente, deve ser utilizado juntamente com proteínas que suplementem estes aminoácidos. Segundo ainda o autor, a mistura comumente usada em emulsões (47% de sangue e 53% de caseinato) apresenta um índice químico de 94,0 em relação ao padrão FAO, sendo a metionina o primeiro aminoácido limitante. De acordo com YOUNG et al. (1973), o plasma bovino apresenta um valor PER de 2,15, contra 1,94 para a caseína, enquanto um isolado protéico obtido do concentrado de hemácias apresenta um valor de -1,93, o qual reflete a deficiência de isoleucina. Se este aminoácido for suplementado na dieta, o valor PER passa para 2,24.

TYBOR et al. (1975) afirmam que tanto o plasma quanto a globina são boas fontes de lisina e leucina. A tabela 2.3 apresenta a composição em aminoácidos do plasma.

Estudando a disponibilidade de lisina nas proteínas do plasma, tanto isolado como na forma de fibra texturizada, SWINGLER et al. (1973) encontraram uma ligeira redução na disponibilidade devido à formação de fibras, a qual não era suficiente para provocar uma redução no valor NPU. A digestibilidade das proteínas foi também determinada, encontrando-se um valor de 97,1%.

PELROY & SPINELLI (1972), avaliaram a disponibilidade de 4 aminoácidos essenciais - lisina, metionina, treonina e triptofano em proteínas de pescado complexada com hexametáfosfato de sódio. Verificou-se que sob diferentes condições de molaridade do fosfato e pH, não havia diferenças significativas para a disponibilidade de metionina, treonina, lisina e triptofano, nas condições nor

Tabela 2.3. Composição, em aminoácidos, (g de aa/16g N) do plasma bovino (SWINGLER, 1978).

AMINOÁCIDO	PLASMA BOVINO	RECOMENDAÇÕES FAO/OMS (1973)
Alanina	5,6	
Arginina	6,8	
Ácido aspártico	11,0	
Ácido glutâmico	11,0	
Glicina	4,0	
Histidina**	4,7	
Isoleucina*	3,3	4,0
Leucina*	9,8	7,0
Lisina*	11,0	5,5
Metionina*	1,24	3,5
Cisteína	0,79	
Fenilalanina*	6,2	6,0
Tirosina	6,1	
Treonina*	6,7	4,0
Triptofano*	2,36	1,0
Valina*	8,0	5,0

* Essencial para adultos e crianças

** Essencial somente para crianças

mais de processamento (secagem por "spray dryer"). Porém, quando as proteínas eram submetidas a um aquecimento drástico (100°C durante até 24 horas) a disponibilidade de lisina, metionina, triptofano e treonina era reduzida para 35, 22, 39 e 34%, respectivamente, do total antes do aquecimento.

Para LAYRISSE & MARTINEZ (1973) os produtos de origem animal são importantes fontes de ferro na alimentação. O ferro do grupo heme da hemoglobina é mais facilmente assimilável que o ferro contido nos sais de ferro.

O conteúdo de vitaminas do sangue é dado na tabela 2.4.

Tabêla 2.4. Composição vitamínica do sangue*.

VITAMINA	CONTEÚDO
Vitamina C (mg/100 ml)	2,0
Retinol (ug/100 ml)	25,0
Ácido fólico (ug/100 ml)	0,66
Ácido pantotênico (ug/100 ml)	3,5
Niacina (ug/100 ml)	0,47
Vitamina D (ug/100 ml)	0,25 - 0,3
Vitamina B ₂ (ng/100 ml)	3,0
Vitamina B ₁₂ (ng/100 ml)	1,0

* BENDER (1974).

2.1.7. Precipitação química das proteínas do plasma sanguíneo.

HAMM & GRAU (1955), relataram que o efeito sequestrante de alguns fosfatos resulta em um aumento da retenção de água, devido

ao sequestro dos íons cálcio e zinco da carne. Segundo VUJICIC et al. (1963) o aumento da alcalinidade da carne resulta em aumento na retenção de água. A retenção de água na carne é mínima no seu ponto isoelétrico (pH 5,3 - 5,5). Para SHERMAN (1961), citado por SHULTS et al. (1972) a retenção de fluidos é afetada pelo cloreto de sódio e outros sais neutros, dependendo do grau de absorção iônica das proteínas da carne. Os ânions são absorvidos preferencialmente, e estão diretamente relacionados com a retenção de fluidos. Com soluções de fosfato, a retenção de fluidos a 0°C mostra uma significativa correlação estatística com o pH. Pirofosfato e tripolifosfato de sódio tem uma atividade específica na retenção de água em carnes na faixa de pH de 6,0 a 6,5, enquanto os ortofosfatos e hexametáfosfato tem menor especificidade.

VUJICIC & DE MANN (1968) estudaram o efeito dos ortofosfatos e polifosfatos, nas proteínas dos alimentos e estabeleceram a evidência de que os polifosfatos reagem de maneira fundamentalmente diferente dos ortofosfatos. Vários aspectos destas reações foram estudados, como as alterações na viscosidade e na cor das proteínas. Através de elétron-microscopia confirmou-se tratar de alterações que ocorriam no tamanho das partículas. Os polifosfatos têm uma pronunciada afinidade pelas proteínas, o que ficou evidenciado pela ligação quantitativa dos polifosfatos à caseína.

SPINELLI & KOURY (1970), testaram a eficiência da recuperação de proteínas utilizando uma solução diluída (1%) de proteínas sarcoplasmáticas de pescado e 4 diferentes fosfatos em diferentes concentrações, numa faixa de pH variando de 2,0 a 7,0. Os fosfatos utilizados foram: ácido metáfosfórico, trimetáfosfato cíclico de sódio, tetrametáfosfato cíclico de sódio e hexametáfosfato de

sódio. Os resultados deste experimento demonstraram que a flocculação do complexo proteína-fosfato está relacionada com a forma molecular do fosfato. Em presença de hexametáfosfato, à uma concentração 0,01 molar a pH 4,0, ocorria precipitação quantitativa das proteínas. A utilização dos outros fosfatos somente permitiu a precipitação de iguais quantidades de proteína, quando a concentração molar era superior a 0,01 ou o pH era menor que 3,5.

SPINELLI et al. (1972), estudando a formação do complexo fosfato-proteína de pescado em várias temperaturas observaram que esta não tem qualquer efeito na sua formação, eliminando a necessidade do seu controle antes da adição de hexametáfosfato e ácido. (Tem sido aventada a hipótese de que o fosfato condensado forma uma ligação eletrostática com os grupos ionizados dos aminoácidos lisina e arginina).

DELANEY (1977) realizou estudos sobre a precipitação de proteínas do plasma usando Polietileno Glicol (PEG) de diferentes pesos moleculares, variando de 400 a 20.000, nas temperaturas de 4°C e 22°C e pH de 4,0; 6,0 e 8,0. A quantidade de proteínas precipitada aumentou com o aumento do peso molecular até 6.000. Em pH 4,0 e temperatura de 22°C, 96% da proteína era precipitada com PEG de peso molecular 6.000, enquanto que nas mesmas condições, PEG com peso molecular 20.000 precipitava 91% da proteína.

MATHUR & SRINIVASAN (1979) trabalhando com leite de búfala, estudaram a eficiência de dois processos, utilizando hexametáfosfato de sódio e ferripolifosfato na recuperação das proteínas, em escala piloto. O rendimento da recuperação foi de 61-63%, para o hexametáfosfato, e de 88-89% para o ferripolifosfato.

IMESON et al. (1978), trabalhando com soroalbumina bovina

e 3 diferentes tipos de polissacarídeos determinaram a eficiência da recuperação das proteínas em meio diluído (1%), sob condições apropriadas de pH e força iônica. Os polissacarídeos usados foram alginato, pectato e carboximetilcelulose (CMC).

Mais de 90% da proteína era recuperada por qualquer dos 3 polissacarídeos a uma força iônica de 0,001, pH 4,0 e a uma proporção proteínas: polissacarídeo de 5:1. Em baixas proporções de proteína: polissacarídeo, o alginato e CMC parecem ressolubilizar o complexo. Os resultados para a precipitação das proteínas do plasma eram idênticos àqueles obtidos com o soroalbumina bovina.

2.1.8. Aspectos legais

Com relação aos aspectos legais, o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (BRASIL), permite a utilização do sangue e suas frações na fabricação de embutidos desde que se satisfaçam algumas condições, as quais estão contidas nos seguintes artigos:

Artigo 417 - A Inspeção Federal só permitirá o preparo de embutidos de sangue, quando a matéria prima seja colhida isoladamente de cada animal e em recipiente separado rejeitando o sangue procedente dos que venham a ser considerados impróprios para o consumo.

Parágrafo único - É proibido desfibrinar o sangue à mão, quando destinado à alimentação humana.

Artigo 418 - Permite-se o aproveitamento do plasma sanguíneo no preparo de embutidos, desde que obtido em condições adequadas.

2.2. PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO PLASMA BOVINO

2.2.1. Solubilidade

De acordo com MATTIL (1971), a investigação das propriedades funcionais de uma determinada proteína pode ser feita mais eficientemente se, um estudo sistemático for inicialmente feito em relação à solubilidade da proteína em vários meios iônicos. As características de solubilidade devem ser usadas na seleção das condições ótimas para a recuperação da proteína de sua fonte natural. Uma boa solubilidade pode expandir o potencial de aplicação de uma proteína, sendo ainda o índice mais prático para se determinar a extensão da sua desnaturação.

Os passos básicos na determinação da solubilidade de uma proteína foram descritos por LAWHON & CATER (1971), e BETSCHART (1974). Eles envolvem a dispersão da proteína em água, o ajuste do pH com HCl ou NaOH até o pH desejado, centrifugação da solução ou dispersão e determinação do conteúdo de nitrogênio no sobrenadante. Os resultados podem ser expressos com PDI (Protein Dispersibility Index) ou NSI (Nitrogen Solubility Index). As condições de determinação variam em diferentes estudos. Concentrações de proteína de 0,2%; 0,5% e 1% têm sido usadas por vários autores, sendo 1% a mais usada.

BETSCHART (1974), avaliou a influência do pH, força iônica, concentração protéica e temperatura na solubilidade das proteínas de folhas de alfafa. O autor observou que a solubilidade diminuiu com o aumento da concentração protéica. Significativamente, ele concluiu ainda que são válidas as comparações de dados determinados por diferentes métodos, e indicou que perfis de solubilidade obtidos em laboratório, usando 100 mg de proteínas, poderiam ser

extrapolados para quantidades maiores.

DILL (1975) determinou a solubilidade das proteínas do plasma na faixa de pH de 3,0 a 10,0 e encontrou que as mesmas eram essencialmente solúveis em toda a faixa, com ligeira diminuição a pH 4,0.

TYBOR et al. (1975), concluíram que o método de preparação afeta o perfil de solubilidade das proteínas do sangue. Os autores estudaram os efeitos da secagem por "spray drying" à temperaturas de 160°C e 190°C em comparação com o método de liofilização, em presença e ausência de lactose, e encontraram que as temperaturas mais altas diminuíam a solubilidade em até 20% em relação ao produto liofilizado. Indiferente aos efeitos da temperatura, a incorporação de lactose antes da secagem demonstrou ter um efeito protetor da solubilidade da proteína. Este efeito deve-se à polimerização dissulfídica das proteínas.

LU & KINSELLA (1972) e BETSCHART (1974) verificaram que a solubilidade das proteínas vegetais podem ser aumentadas pela produção de proteinato de sódio, ou seja, o ajuste do pH para 7 a 8, com NaOH antes da desidratação.

ETHERIDGE et al. (1981) trabalhando com plasma bovino encontraram que as proteínas do plasma fosfatado são completamente solúveis em toda a faixa de pH acima do ponto isoelétrico (pH 4,8), e insolúveis abaixo deste ponto. Evidentemente, a presença do fofato interfere significativamente com a ionização dos aminoácidos em pH baixo e/ou produz uma agregação isoelétrica que é irreversível nestas condições.

2.2.2. Capacidade de emulsificação

As propriedades emulsificantes das proteínas, principalmente daquelas que possuem potencial de aplicação em alimentos, tem sido estudadas ultimamente.

A capacidade de emulsificação é definida por NILSSON et al. (1961) como a quantidade de óleo ou gordura que uma determinada proteína é capaz de emulsificar. Os valores da capacidade de emulsificação podem ser expressos como mililitros de óleo emulsificado, mililitros de óleo por unidade de peso da amostra ou ainda, mililitros de óleo por unidade de proteína ou nitrogênio na amostra.

ACTON & SAFFLE (1972), verificaram que o "volume da fase óleo", ou seja, a percentagem em volume, de óleo na emulsão das proteínas musculares estava dentro de uma faixa estreita para uma larga faixa de concentrações protéicas. Os autores sugeriram que, se a capacidade de emulsificação fôsse expressa em "Volume da fase óleo" poderia minimizar as variações causadas pela variação na concentração protéica. Entretanto, TYBOR et al. (1975) encontraram que as proteínas do sangue apresentavam substanciais diferenças no "volume da fase óleo" em diferentes concentrações.

As emulsões de carnes são similares às emulsões clássicas, consistindo de glóbulos de gordura de tamanho entre 10 e 50 micra envoltos por uma matriz protéica.

HANSEN (1960) examinando microscopicamente emulsões de carne verificou que os glóbulos de gordura possuíam uma membrana estabilizante formada por proteínas hidrossolúveis e solúveis em sal. As proteínas solúveis em sal formavam uma membrana mais espessa, enquanto as hidrossolúveis apresentavam crifícios claros.

No trabalho de SWIFT (1965), foram discutidas as razões para a variação no comportamento das proteínas em relação à interface água/óleo, que depende das características químicas e físicas dessas proteínas. Como as proteínas são macromoléculas, as diferenças nos aminoácidos se refletem ao longo da cadeia peptídica nos diferentes grupos ligados aos átomos de carbono alfa. Mudanças no comportamento desses grupos, quando expostos à água, óleo ou gordura, concorrem para o comportamento da molécula protéica na interface óleo/água. Os grupos não polares ligam-se à fase óleo, enquanto os grupos imino, amino, amido, imidazol e carboxílicos ligam-se à fase aquosa. As diferentes proteínas da carne exibem comportamento diverso, primeiramente devido à sua composição em aminoácidos e em segundo lugar devido à sua estrutura.

SWIFT et al. (1961) desenvolveram um sistema modelo que é o método mais usado para medir a capacidade emulsificante das proteínas. Essencialmente, ele envolve a adição contínua de óleo ou gordura à uma dispersão de proteínas durante agitação, medindo-se o volume de óleo ou gordura adicionado até o ponto de inversão ou quebra da emulsão, o qual é reconhecido pela diminuição da sua viscosidade. Existem várias maneiras para se determinar o ponto de inversão ou colapso da emulsão. A brusca diminuição da viscosidade pode ser percebida visualmente ou por alteração no ruído durante a agitação.

WEEB et al. (1970) desenvolveram um método bem mais preciso para a determinação do ponto de colapso da emulsão, através da medida da resistência elétrica a uma corrente que passa através da emulsão. O método baseia-se no princípio segundo o qual os óleos e as gorduras não são bons condutores de eletricidade, en

quanto que a solução de proteína em água tem boa condutividade. Em uma emulsão a fase proteína/água é contínua e a resistência permanece relativamente baixa. Porém, quando os glóbulos de gordura se agregam, quebrando a emulsão, a resistência aumenta bruscamente, sendo detectada por um medidor de resistência elétrica.

CRENWELGE et al. (1974) descreveram um sistema elétrico, no qual uma queda brusca no pico da amperagem requerida para movimentar o agitador, coincida com o ponto de quebra da emulsão determinado visualmente. A maioria das condições utilizadas na determinação da capacidade de emulsificação das proteínas tem sido escolhidas arbitrariamente pelos pesquisadores. É geralmente aceito que a comparação de dados obtidos pelos pesquisadores da área é muito difícil, devido a não padronização das condições de determinação.

SWIFT et al. (1961) e SWIFT & SULZBACHER (1963), determinaram a influência do pH, sais e proteínas hidrossolúveis na efetividade das proteínas da carne como emulsificantes. Em toda a faixa de pH, de 4,0 a 7,8 a capacidade de emulsificação das proteínas hidrossolúveis aumentava com o aumento da concentração de NaCl de 0,5M a 2,0M. O NaCl nestas concentrações exerce um efeito "salting-in", tornando as proteínas mais solúveis em água.

Segundo CARPENTER & SAFFLE (1964), existem alguns fatores que afetam a capacidade de emulsificação de vários tipos de carne utilizadas na produção de salsichas, como: quantidade de proteína total e solúveis, velocidade de agitação, temperatura, taxa de adição e tipo de óleo.

Para SAFFLE (1968), outros fatores também afetam a capacidade de emulsificação das proteínas, como: o desenho do equipamento, a forma do copo do homogeneizador, pH, fonte protéica, tipo

do óleo usado, sais (tipos e concentração), açúcares e conteúdo de água.

INKLAAR & FORTUIN (1969) detalharam vários parâmetro que influem na capacidade de emulsificação de salsichas, utilizando-se isolado protéico de soja e caseinato de sódio. Essas variáveis incluíam o tempo de dispersão; as quantidades de óleo, proteína e água; a temperatura; a velocidade de homogeneização e o pH do sistema.

NILSSON et al. (1961) estudaram a capacidade emulsificante das proteínas do plasma bovino, músculo esquelético, coração de suíno, caseinato, farinha de soja texturizada e isolado protéico de soja, tanto separadamente como misturadas e em várias concetrações de proteína. Observaram que o caseinato possuía a melhor capacidade emulsificante entre as proteínas estudadas, seguido pelo plasma bovino, músculo do coração, isolado protéico de soja e músculo esquelético, enquanto a proteína texturizada de soja não apresentava nenhuma capacidade emulsificante. Outra conclusão importante que os autores tiraram deste experimento foi que o efeito emulsificante de um aditivo protéico depende muito do tipo de carne usado na emulsão. Carnes com boas propriedades emulsificantes foram altamente melhoradas pela adição de plasma ou caseinato; porém, as carnes inferiores foram muito pouco melhoradas pela adição de uma proteína com ótima capacidade emulsificante.

HEGARTY et al. (1963) isolaram as proteínas do músculo bovino e estudaram individualmente suas capacidades emulsificantes e classificaram-nas na seguinte ordem decrescente de capacidade emulsificante: actina na ausência de sais, miosina, actomiosina, proteínas sarcoplasmáticas e actina com 0,3M de sais. Contraria

mente, NEELAKANTAN (1971) mostrou que a miosina apresenta melhor capacidade emulsificante que a actina. Segundo o autor, a razão para isso pode ser a diferença na metodologia de investigação. Por sua vez, TSAI et al. (1972) mostraram que a miosina era superior à actina e às proteínas sarcoplasmáticas, quanto à capacidade emulsificante. Entretanto, questionaram o valor dos dados obtidos em sistemas modelos, devido à grande diferença existente na concentração protéica destes em comparação com a concentração encontrada em uma emulsão de carne.

SATTERLEE et al. (1973) classificaram a capacidade emulsificante de concentrados protéicos produzidos a partir de órgãos, sangue e carne magra de bovino e encontraram que o sangue total tem excelentes qualidades emulsificantes, sendo superior a todos os órgãos estudados e à carne magra, e que a classificação coincide com a ordem de solubilidade de suas proteínas.

TYBOR et al. (1973), estudaram a capacidade emulsificante das proteínas do sangue e concluíram que a mesma depende, primariamente, da concentração protéica e do processamento. A melhor concentração encontra-se próximo a um grama de proteína por 100 mililitros de solução. O processo de descoloração das células sanguíneas, por sua vez, causa uma diminuição na capacidade de emulsificação de suas proteínas. Portanto, a produção de um emulsificante funcionalmente aceitável requer a separação das frações sanguíneas.

2.2.3. Estabilidade da emulsão

Diferentes métodos tem sido usados na avaliação da estabilidade da emulsão porém, o princípio básico de todos é fundamen

talmente o mesmo. Esses métodos envolvem a suspensão da proteína em água, adição do óleo e agitação. Alguns métodos preconizam que a separação do óleo deve ocorrer à temperatura ambiente, enquanto outros utilizam-se de aquecimento e centrifugação para essa separação.

PEARSON et al. (1965) utilizaram outro método para avaliar a estabilidade da emulsão de proteína de soja, caseinato e leite em pó desnatado. A emulsão foi mantida à temperatura ambiente até que a separação se tornasse evidente. O tempo entre a formação e a quebra da emulsão foi usado como índice da estabilidade da emulsão. Os autores verificaram que a emulsão da proteína de soja era instável em pH entre 5,3 e 5,6 e concluíram que a soja não poderia produzir emulsões estáveis na produção de salsichas.

INKLAAR & FORTUIN (1969) utilizaram o seguinte método para a determinação da estabilidade da emulsão de proteínas de soja e caseinato. Foi obtida uma emulsão com 5 gramas de amostra, 90 mililitros de água, 3 gramas de NaCl e 50 gramas de óleo de soja. A emulsão foi aquecida a 80°C durante 15 minutos. Os autores observaram que as quantidades de óleo separado para cada proteína correlacionava-se com suas qualidades como estabilizadores de gordura na fabricação de salsichas.

PLIMPTON et al. (1972) avaliaram a estabilidade da emulsão das proteínas da carne, proteínas do soro do leite e isolado proteico de soja, em salsichas tipo bologna, com diferentes tipos de gordura, e diferentes valores de pH. As mais estáveis emulsões foram obtidas com proteínas de carne bovina e suína que, aparentemente, refletiam a maior quantidade de proteínas miofibrilares, que são solúveis em sais.

NILSSON, et al. (1961) mediram a estabilidade da emulsão e a capacidade de emulsificação das proteínas do plasma bovino, do músculo esquelético e cardíaco de suíno, caseinato de sódio, e farinha de soja texturizada. Os autores concluíram que as duas propriedades dependem de mecanismos diferentes e são independentes entre si. A capacidade de emulsionar gordura é determinada pela quantidade de proteína solúvel, enquanto a estabilidade da emulsão depende da força e da conformação da matriz protéica formada durante o tratamento térmico. Essa diferença era claramente mostrada pela comparação entre as propriedades emulsificantes dos músculos esquelético e cardíaco de suíno. O primeiro tinha uma capacidade de emulsificação mais baixa que o último, porém, dava uma emulsão muito mais estável ao calor.

MEYER et al. (1964), relataram que o tipo de gordura altera a estabilidade da emulsão, enquanto TOWNSEND et al. (1968) postularam que as gorduras com ponto de fusão mais altos, eram mais estáveis nas emulsões.

2.2.4. Capacidade de geleificação

A capacidade de formar gel é uma importante propriedade funcional das proteínas alimentícias. Os géis de proteínas são constituídos por uma matriz tri-dimensional de polipeptídeos entrelaçados na qual a água permanece presa. A formação do gel protéico requer um aquecimento inicial afim de causar uma desnaturação parcial, ou desenrolamento da cadeia polipeptídica da proteína (KINSELLA, 1976).

FERRY (1948), afirmou que os géis de proteínas só podem ser formados quando o balanço de forças atrativas e repulsivas a

tingir o equilíbrio. Para o autor a geleificação é um processo que ocorre em dois estágios. Inicialmente, a proteína nativa é desnaturada parcialmente, abrindo suas cadeias polipeptídicas, que a seguir vão se associando gradualmente para formar a matriz do gel, desde que as forças atrativas e repulsivas, e as condições termodinâmicas permitam.

CIRCLE & SMITH (1972) citados por KINSELLA (1976), demonstraram que a geleificação de dispersões de globulinas de soja é influenciada pela concentração protéica, tempo e temperatura de aquecimento e pH.

TSAI et al. (1972) descreveram que, entre as proteínas musculares, a miosina apresentava a melhor capacidade geleificante.

Como a capacidade geleificante é muito importante na fabricação de produtos cárneos, devido a sua ação na diminuição da perda de peso durante o cozimento, o uso de aditivos protéicos em carnes processadas depende não somente da sua compatibilidade com as proteínas da carne mas, principalmente, com a sua capacidade de formar géis estáveis, em condições normais de processamento.

As proteínas do plasma e globina possuem propriedades geleificantes consideravelmente diferentes. Enquanto o plasma forma géis firmes em concentrações de 10% (p/v) em peso seco, a globina, na mesma concentração, quando aquecida, adquire uma consistência cremosa, sem apresentar uma verdadeira geleificação (HERMANSSON & TORNBERG, 1976).

A medida da força do gel pode ser feita por métodos objetivos (físicos), através do cálculo do trabalho empregado por uma determinada força, para fazer penetrar um estilete de um determinado diâmetro, através do gel, ou ainda através de métodos subje

tivo, a força do gel é relacionada a um padrão ao qual se atribuíam valores arbitrários para a firmeza do gel. SMIDTH et al. (1978) atribuíram os seguintes valores para a firmeza dos géis formados com proteínas do soro do leite e amendoim:

- 0 (zero) - nenhum gel.
- 1 - gel muito fraco
- 2 - gel fraco
- 3 - gel médio
- 4 - gel bom
- 5 - gel forte

2.2.5. Propriedades de formação e estabilidade da espuma

A capacidade de formação de espuma e a estabilidade da espuma são importantes propriedades funcionais das proteínas em alguns alimentos. Essas propriedades são medidas como a "capacidade de formação da espuma" e a "estabilidade da espuma". A primeira refere-se ao aumento máximo do volume de uma dispersão protéica, após a incorporação de ar por agitação ou aeração, enquanto a última se refere à habilidade de uma espuma já formada em reter seu volume máximo durante algum tempo. Os métodos utilizados na determinação dessas propriedades envolvem, essencialmente, a medida do volume da espuma obtida em um volume conhecido de uma dispersão protéica após a agitação ou o borbulhamento de ar através da dispersão.

LAWHON & CATER (1971), utilizaram uma solução com 1,2% de proteínas e descreveram o volume da espuma formada aos 30 segundos após a cessação da agitação como a "capacidade de espuma" e o volume da espuma aos 10 minutos e 2 horas como a "estabilidade da

espuma", para os respectivos períodos de tempo.

Nos alimentos, a espuma consiste de bolhas de ar dispersas e encapsuladas por um líquido que contenha um agente surfactante. Esse agente tem a função de abaixar a tensão superficial do líquido, permitindo a expansão da sua área superficial total. Uma proteína com propriedades de formação de espuma ideais deveria ter a habilidade para formar um filme ao redor da bolha de ar, e alguma tendência à desnaturação espontânea a qual estabilizaria a estrutura da espuma.

Segundo DE VILBISS et al. (1974), durante a formação da espuma a proteína da interface sofre algumas mudanças de conformação que resulta em desnaturação.

Vários fatores influem nas propriedades de formação da espuma das proteínas. Entre elas podemos citar: fonte da proteína, método de preparação, composição, solubilidade, concentração, pH, temperatura, presença e concentração de sais e açúcares e lipídeos, além do método de medida.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. MATERIAIS

3.1.1. Plasma bovino - foi utilizado plasma bovino separado industrialmente por centrifugação e congelado em sacos plásticos, fornecido pela Lopesco - Indústria de Sub-produtos de Origem Animal. O produto é normalmente comercializado para fábricas de embutidos da região da Grande São Paulo.

3.1.2. Carne e gordura - para a elaboração dos "hamburguers" e salsichas foi utilizado carne bovina (dianteiro) e toucinho suíno, obtidos de uma fábrica de embutidos da região de Campinas, SP. Estas matérias primas são normalmente empregadas na fabricação de salsicha, linguiça, mortadela, salame, etc.

3.1.3. Proteína Texturizada de Soja (P.T.S.) - foi utilizado um produto comercial, obtido junto à Sanbra.

3.1.4. Fécula de mandioca - produto de grau alimentício, obtido junto à Refinações de Milho Brasil, S.A.

3.1.5. Condimentos - os condimentos foram utilizados desidratados na forma de uma mistura com sal (NaCl), tanto para "hamburguers" como para salsichas. A composição das misturas são apresentadas nas tabelas 3.1 e 3.2.

Tabela 3.1. Composição da mistura de condimentos usada na formulação de "hamburguer".

Sal comum (NaCl)	87,0 g
Cebola em pó	5,0 g
Coentro em pó	4,0 g
Pimenta do reino moída	1,5 g
Pimenta branca moída	1,0 g
Alho em pó	1,0 g
Cominho em pó	0,5 g

Tabela 3.2. Composição da mistura de condimentos usada na formulação de salsichas.

Sal comum (NaCl)	915,0 g
Nitrito de sódio (NaNO ₂)	30,0 g
Pimenta branca moída	27,0 g
Açúcar	23,0 g
Cravo da Índia moído	4,6 g
Noz moscada moída	0,4 g

3.1.6. Óleo de soja - foi utilizado óleo de soja refinado, comercial, marca "Nosso" fabricado pela Centralsul (RS).

3.1.7. Reagentes

Fosfatos - para os testes de precipitação das proteínas do plasma foram utilizados os seguintes fosfatos:

<u>FOSFATO</u>	<u>GRAU</u>	<u>P.M.</u>	<u>PROCEDÊNCIA</u>
Fosfato de sódio monobásico	p.a.	138,0	ECIBRA
Pirofosfato tetrassódico	alimentar	266,0	Monsanto
Tripolifosfato de sódio	p.a.	368,0	Fisher
Hexametáfosfato de sódio	alimentar	612,0	J.T. Backer

Todos os outros reagentes usados neste estudo foram de grau p.a., de diferentes procedências.

3.1.8. Aparelhos e equipamentos

Além dos aparelhos e utensílios de uso comum em laboratório, foram utilizados também os seguintes:

<u>EQUIPAMENTO</u>	<u>MARCA, MODELO</u>
Liofilizador	Virtis - Modelo 10-146 MR
Moedor de carne	Filizola
Cortador de carne ("cutter")	Hermann
Embutideira	Hermann
Moinho Coloidal	Meteor - Modelo REX-1-AL
Estufa	Koch - Modelo 1400 S
Analizador automático de aminoácidos	Beckman - Modelo 119
Espectrofotômetro	Busch e Lomb - Spectronic 20
Centrífuga	Damon/IEC

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Determinação do rendimento da recuperação das proteínas do plasma

Foram utilizados quatro diferentes fosfatos nesta determinação - Fosfato de Sódio monobásico, Pirofosfato de Sódio, Triplofosfato de Sódio e Hexametáfosfato de Sódio. De cada fosfato foi preparada uma solução estoque de molaridade igual a 0,1M. Foram testadas soluções com as seguintes concentrações finais de cada fosfato: 0,005M; 0,01M; 0,02M e 0,05M. O plasma foi descongelado em geladeira (4°C), diluído com água deionizada até uma concentração de aproximadamente 1,2% de proteína, o fosfato foi adicionado e o pH ajustado com HCl ou NaOH para valores de 2,5 até 7,0, com intervalos de 0,5. A solução foi centrifugada a 2.500g durante 20 minutos. A quantidade de proteína no sobrenadante foi determinada pelo método do biureto (TORTEN & WITAKER, 1974) e expressa como porcentagem da proteína existente inicialmente na solução. A figura 3.1 mostra um esquema da precipitação.

3.2.2. Determinação de aminoácidos

Foi determinada a composição de aminoácidos do plasma bovino, antes e depois da precipitação com Hexametáfosfato de Sódio. Amostras de aproximadamente 1,5 mililitros de plasma líquido ou 0,5 gramas de precipitado foram analisadas. As amostras foram hidrolisadas com HCl 6N à temperatura de 110°C, durante 22 horas, analisadas em um Analizador Automático Beckman, modelo 119.

As áreas dos aminogramas foram integradas e correlacionadas com padrões, para os picos característicos de cada aminoácido.

A determinação do triptofano foi feita pelo método do DAB

(p-dimetilaminobenzaldeído), com algumas modificações. A descrição deste método é apresentada no apêndice 1. É necessária a dosagem do triptofano separadamente pois o mesmo é destruído pela hidrólise ácida. No método do DAB utiliza-se hidrólise alcalina.

3.2.3. Determinação da lisina disponível

A lisina disponível foi determinada antes e depois da complexação com fosfato. Foi utilizado o método de KAKADE & LIENER (1969). A descrição do método é apresentada no apêndice 2.

3.2.4. Capacidade de geleificação

Foi determinada conforme SCHMIDT et al. (1978), com algumas modificações. Foram preparadas dispersões de plasma bovino liofilizado, com e sem adição de hexametáfosfato de sódio, contendo 5, 10, 15 e 20% de proteína (p/v), na ausência e na presença de 2% de NaCl. As dispersões foram transferidas para tripas sintéticas e estas levadas ao banho de água em ebulição por 15 minutos, em seguida resfriadas em banho de gelo e colocadas em geladeira ($\pm 4^{\circ}\text{C}$) até o momento da avaliação, que foi feita em termos da força do gel, tendo como referência a seguinte escala (SCHMIDT et al. 1978):

- 0 - nenhum gel era formado
- 1 - gel muito fraco
- 2 - gel fraco
- 3 - gel médio
- 4 - bom gel
- 5 - gel forte

3.2.5. Capacidade de emulsificação

Foi determinada pelo método de SWIFT et al. (1961) com algumas modificações. Foram preparadas soluções de plasma bovino contendo 11 miligramas por mililitros de proteína, hexametáfosfato de sódio na concentração de 0,005M e 0; 1; 2 e 3% (p/v), respectivamente de NaCl. O pH foi acertado para 6,5. Aos controles não foi adicionado hexametáfosfato de sódio. Em um copo de liquidificador (ARNO) foi colocado 50 mililitros da solução e 50 mililitros de óleo de soja e homogeneizado inicialmente durante 30 segundos à velocidade máxima do liquidificador (cerca de 2.500 rpm). Após esse tempo foi iniciada a adição de mais óleo à taxa de 0,7 mililitros por segundo até a quebra da emulsão. O ponto de quebra da emulsão foi determinado pela redução brusca da resistência elétrica que era monitorada através de um medidor de resistência elétrica (marca. INGRO), através de eletrodos de cobre colocados no fundo do copo do liquidificador (WEBB et al., 1970).

3.2.6. Estabilidade da emulsão

A estabilidade da emulsão foi determinada segundo o método de PEARSON et al. (1965) com modificações. Foram preparadas soluções de plasma contendo 11 miligramas por mililitro; 5,5mg/ml e 2,75mg/ml de proteína e 0,0 e 2,0% (p/v) de NaCl para cada concentração protéica e 0,005M de hexametáfosfato de sódio. Aos controles não foi adicionado o hexametáfosfato de sódio. A emulsão foi formada como descrito em 3.2.5 com as seguintes diferenças: foi adicionado somente 100 mililitros de óleo - 75% da capacidade de emulsificação previamente determinada - e a agitação continuou por mais um minuto após o término da adição do óleo. A emulsão

Figura 3.1. Representação esquemática da precipitação das proteínas do plasma bovino:



Solução contendo 2,7 ml de plasma + 5; 10; 14 ou 15 ml de água destilada (aprox. 1,2% proteína)



Adicionar 1,0; 2,0; 4,0 ou 10,0 ml de uma solução estoque (0,1M) de fosfato.



Homogeneizar com HCl 5% ou NaOH 5% até pH 2,5 a 7,0. Completar o volume com água até 20 ml.



Centrifugar a 2.500 x g durante 20 minutos.

foi transferida para proveta graduada (200 ml) e deixada em reposo à temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) até a separação das fases. O período de tempo entre a formação e a quebra da emulsão foi anotado.

3.2.7. Estabilidade da emulsão ao calor

Foi determinada pelo método de INKLAAR & FORTUIN (1969), com modificações. As emulsões foram preparadas como descrito em 3.2.6 com a seguinte diferença: a emulsão foi transferida para tubos de centrífuga aquecida a 85°C durante 15 minutos, resfriada em banho de gelo e centrifugada a 1.200 rpm durante 15 minutos. Foi determinado o volume de óleo separado e calculado como porcentagem do total de óleo adicionado.

3.2.8. Capacidade de formação e estabilidade da espuma

Foram determinadas segundo DASS et al. (1979), com modificações. Foram preparadas soluções contendo 10 miligramas por mili litro de proteína, 0,005M de hexametáfosfato de sódio e 0,0 e 2,0% de NaCl (p/v). O pH foi acertado para 6,5. Aos controles não foi adicionado o hexametáfosfato de sódio. Amostras de 100 mililitros de cada solução foi agitada em liquidificador por 15 minutos à velocidade de 2.500 rpm. Os volumes do líquido e da espuma foram determinados em uma proveta graduada (300 ml) nos intervalos de tempo: 0; 30; 60 e 120 minutos.

A formação da espuma foi expressa como volume de espuma no final do período de agitação e a estabilidade pela porcentagem de redução da espuma em relação ao volume inicial.

3.2.9. Análises químicas

Todas as análises químicas foram realizadas em duplicata.

Proteínas - Método de Kjeldahl, A.O.A.C. (1980)

(N x 6,25).

Gordura - Método de extração com éter de petróleo em aparelho Soxhlet. A.O.A.C. (1980).

Umidade - secagem em estufa a 105°C, até peso constante A.O.A.C. (1980).

Cinzas - incineração em mufla a 575°C por 5 horas A.O.A.C. (1980).

Tabela 3.3. Formulação das misturas para o preparo dos "hamburguers".

INGREDIENTES	AMOSTRAS			
	A	B	C	D
Carne bovina (dianteiro)	% 88,0	83,0	78,0	73,0
Proteína texturizada (hidratada 2:1)	% 6,0	6,0	6,0	6,0
Gordura suína	% 4,0	4,0	4,0	4,0
Plasma bovino precipitado com IMFS (úmido)	% 0,0	5,0	10,0	15,0
Mistura sal + condimentos*	% 2,0	2,0	2,0	2,0

* ver formulação na tabela 3.1.

Tabela 3.4. Formulação das misturas para o preparo da salsicha.

INGREDIENTES	AMOSTRAS				
	A	B	C	D	E
Carne bovina "dianteiro" %	60,0	55,0	50,0	45,0	40,0
Gordura suina %	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0
Gelo picado %	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0
Plasma bovino precipitado com HMF (úmido)	0,0	5,0	10,0	15,0	20,0
Proteína texturizada de soja (hidratada 2:1) %	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Fécula de mandioca %	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Mistura de sal + condimentos* %	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0

* ver tabela 3.2.

3.2.10. Preparo dos "hamburguers"

As formulações das misturas para o preparo dos "hamburguers" são mostradas na tabela 3.3. A carne bovina, a gordura suína e a proteína texturizada de soja previamente hidratada na proporção de 1:2 soja:água, foram picadas em um cortador de carne. Os ingredientes e os condimentos foram misturados manualmente até a obtenção de uma massa homogênea. Os "hamburguers" foram moldados a partir de porções da mistura pesando 75 g cada. A seguir foram embrulhados em papel alumínio e congelados a -15°C/-18°C até o momento da avaliação sensorial e das análises químicas.

3.2.11. Preparo das salsichas

As formulações das misturas para o preparo das salsichas são mostradas na tabela 3.4. A carne, a gordura e a proteína texturizada de soja hidratada foram picadas em um picador de carne. A seguir os ingredientes e os condimentos foram colocados no "cutter" na seguinte ordem: carne, gelo e condimentos e foram homogeneizados durante 2 minutos; gordura suína e homogeneizou-se mais 1 minuto; proteína texturizada de soja, plasma bovino precipitado, fécula e homogeneizou-se durante mais 1 minuto. A seguir a emulsão foi passada em moinho coloidal e embutida em tripas sintéticas através de uma embutideira manual. As salsichas foram pesadas e colocadas em estufa a 80°C, durante 15 minutos com defumação, e mais 75 minutos sem defumação, com a chaminê aberta. Após esse tempo as salsichas foram retiradas da estufa, pesadas e cozidas em água a 80°C durante 20 minutos. Após o cozimento foram resfriadas em chuveiro de água fria, depiladas, embaladas em sacos plásticos e colocadas em geladeira (\pm 4°C) até o momento da avali

ação sensorial e das análises químicas.

3.2.12. Determinação do encolhimento e perda de peso dos "hamburguers"

A superfície e o peso dos "hamburguers" foram determinados antes e após a fritura. O contorno de cada "hamburguer" foi desenhado sobre uma folha de papel e a área determinada com um planímetro.

3.2.13. Análise sensorial

Os "hamburguers" foram fritos em frigideira de teflon sem óleo, durante 2,5 minutos de cada lado e a seguir cortados em pedaços regulares de aproximadamente 10 g, embrulhados em papel alumínio e mantidos no forno a $\pm 40^{\circ}\text{C}$ até o momento da prova.

As salsichas foram cozidas em água durante 2 minutos, contados a partir da ebulição e servidas aos provadores a temperatura ambiente.

Os "hamburguers" e as salsichas foram avaliados por uma equipe de 8 provadores em duas sessões de testes, para 6 características - aparência, cor, aroma, sabor, textura e suculência - usando o sistema de escala descrito por THOMAS et al. (1973). A ficha usada na avaliação sensorial é apresentada no apêndice 3.

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente por análise de variância.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Precipitação química das proteínas do plasma bovino.

Os resultados da determinação do perfil de solubilidade das proteínas do plasma bovino através da utilização de quatro diferentes tipos de fosfato, em quatro diferentes concentrações e variação do pH de 2,5 a 7,0, são apresentados a seguir. A figura 4.1 apresenta a variação na solubilidade das proteínas do plasma quando se utilizou Fosfato de Sódio Monobásico (FSM) nas concentrações molares de 0,005, 0,01, 0,02 e 0,05. O FSM apresenta um efeito ressolubilizante nas proteínas do plasma, pois somente com o abaixamento do pH, 70% das mesmas permanecem solúveis na faixa de pH entre 5,0 e 5,5, enquanto que após a adição de FSM as solubilidades foram, respectivamente, de 75%, 77,5%, 91% e 100% para as concentrações molares de 0,005, 0,01, 0,02 e 0,05.

A figura 4.2 mostra a solubilidade das proteínas do plasma quando utilizou-se Pirofosfato Tetrasódico (PFTS). Nas concentrações molares de 0,005, 0,01 e 0,02, permaneciam em solução, respectivamente, 95%, 96% e 83% das proteínas.

A figura 4.3 mostra a solubilidade das proteínas em presença do Tripolifosfato de Sódio (TPFS). A solubilidade mínima (10%) ocorre na concentração de 0,01 M, na faixa de pH de 2,5 a 3,0. Nas concentrações de 0,02 M e 0,05 M, aproximadamente 50% das proteínas permanecem em solução, sendo que isto ocorre na faixa de pH de 2,5 a 4,0 para o primeiro e de 2,5 a 3,0 para o último. Já na concentração de 0,001 M o mesmo fato ocorre, porém na faixa de pH de 3,0 a 6,5.

Como pode ser visto no gráfico da figura 4.4, em presença

Fig. 4.1 - Solubilidade das proteínas do plasma bovino com a adição de Fosfato de Sódio Monobásico em várias concentrações molares, em função do pH.

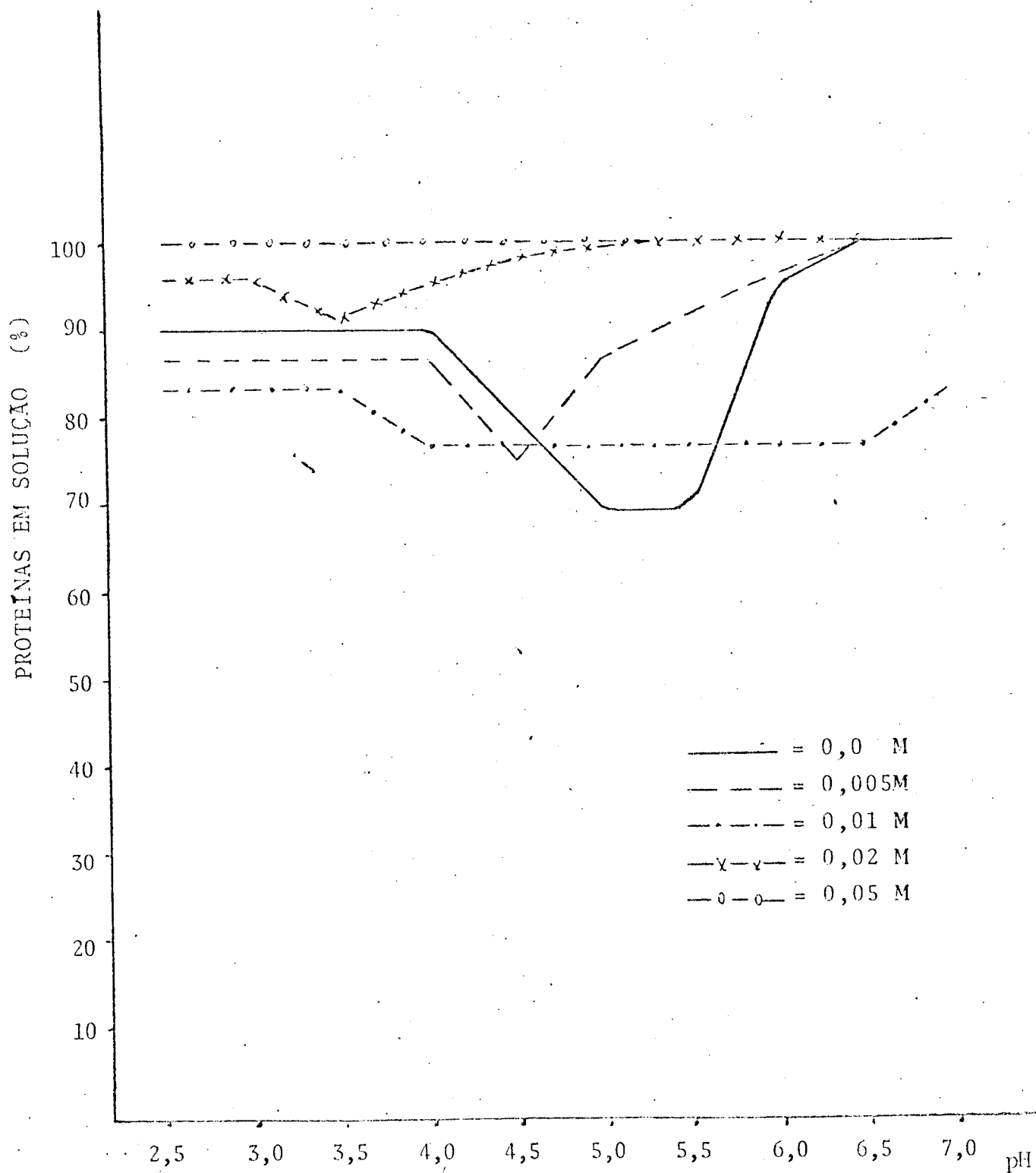


Fig. 4.2 - Solubilidade das proteínas do plasma bovino com a adição de Pirofosfato Tetrasódico em várias concentrações molares, em função do pH.

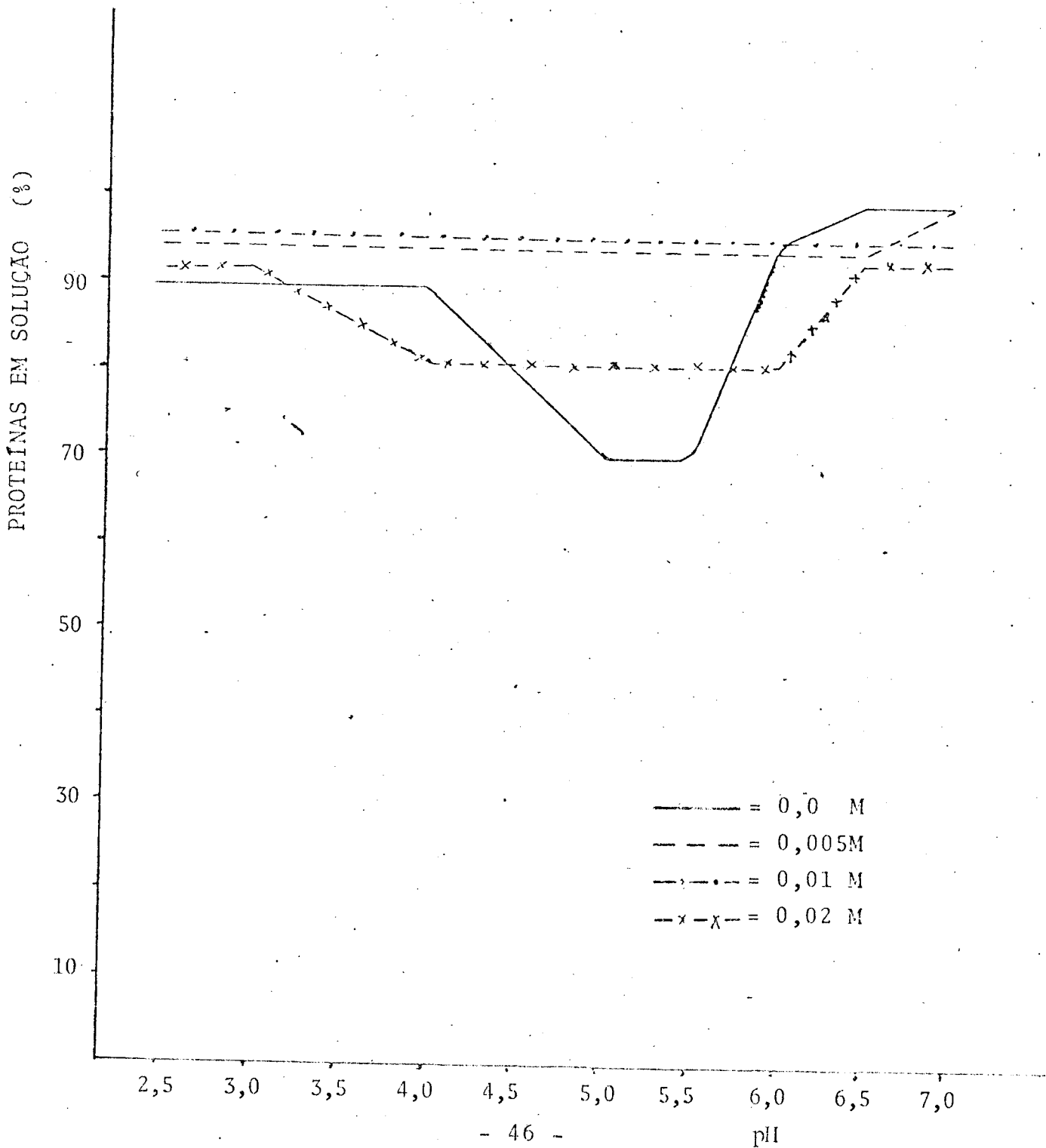


Fig. 4.5 - Solubilidade das proteínas do plasma bovino com a adição de Tripolifosfato de Sódio em várias concentrações molares, em função do pH.

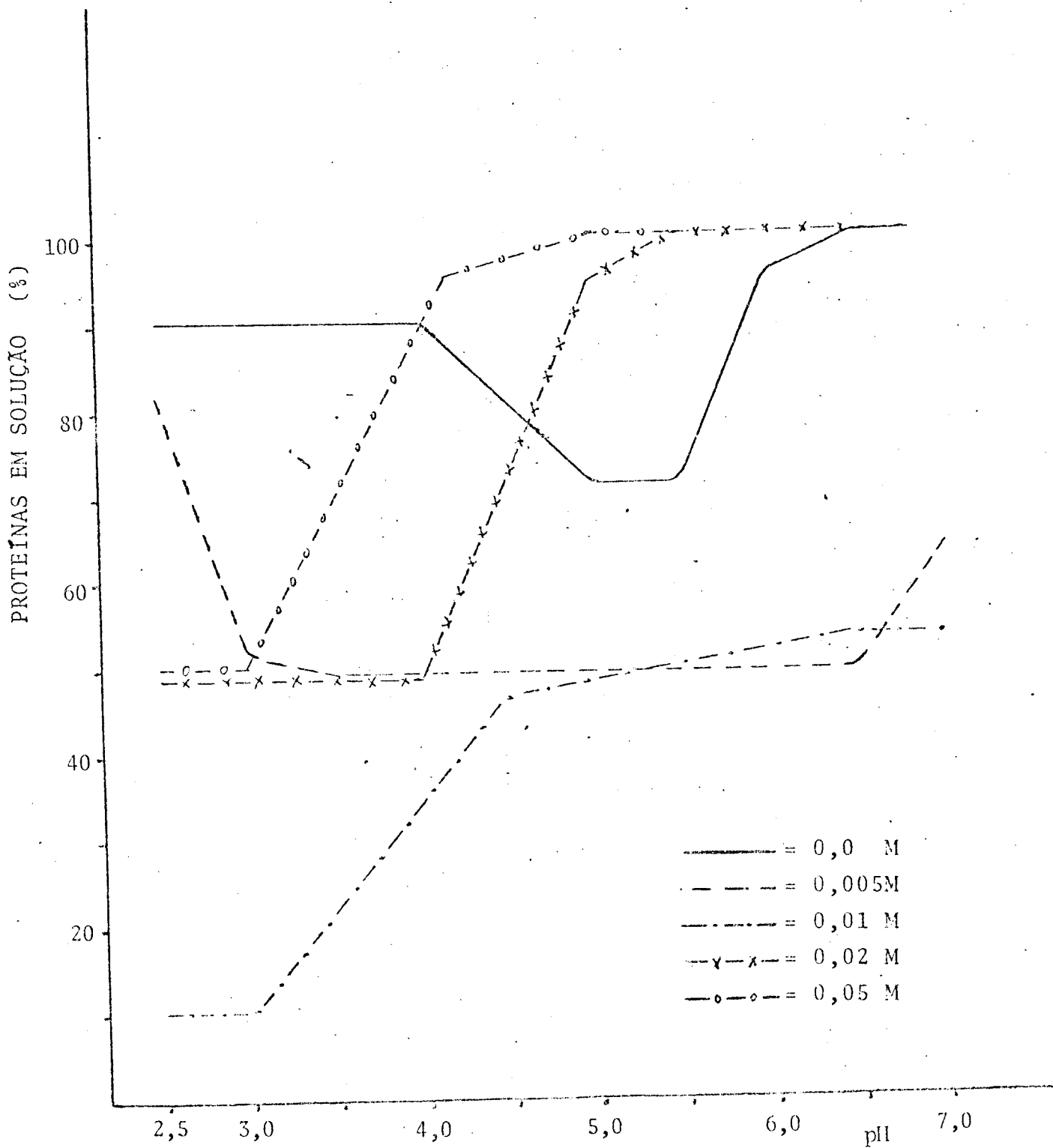
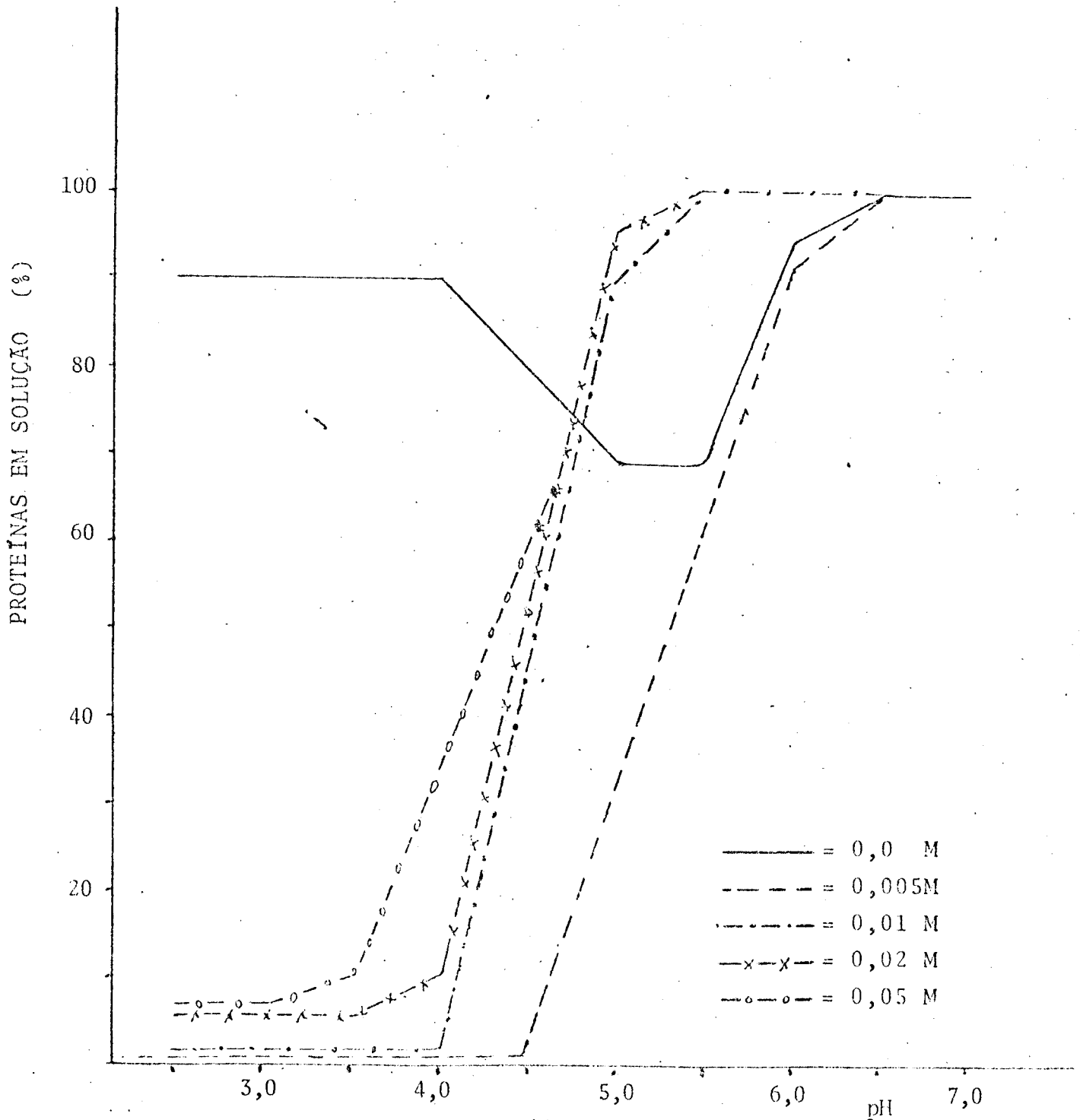


Fig. 4.4 - Solubilidade das proteínas do plasma bovino com a adição de hexametáfosfato de Sódio em várias concentrações molares; em função do pH.



de Hexametáfosfato de Sódio (HMFS), ocorre a precipitação do total das proteínas do plasma bovino na concentração de 0,005 M, na faixa de pH de 2,5 a 4,5 e na concentração de 0,01 M na faixa de pH de 2,5 a 4,0. Nas concentrações de 0,02 M e 0,05 M a solubilidade é de 5% e 10%, respectivamente, na faixa de pH de 2,5 a 4,0 e 2,5 a 3,0.

O efeito ressolubilizante dos ortofosfatos nas proteínas foi demonstrado por VUJICIC & de MANN (1968), trabalhando com caseína e por SPINELLI & KOURY (1970) em proteína de pescado. Os resultados encontrados neste trabalho sugerem que as proteínas do plasma bovino também são ressolubilizadas pelos ortofosfatos, neste caso o Fosfato de Sódio Monobásico.

VUJICIC & de MAN (1968), demonstraram através de cromatografia em papel e ultrafiltração, que a caseína liga-se quantitativamente aos fosfatos do grupo dos polifosfatos (Pirofosfato, Tripolifosfato, Tetrafosfatos e Hexametáfosfatos) e VUJICIC et al. (1968) sugeriram que as proteínas comportam-se como cátions multivalentes quando se ligam aos polifosfatos e mostraram ainda que o cálcio faz parte do complexo proteína-polifosfato.

As mudanças na viscosidade e na cor da solução após a complexação com vários fosfatos foram estudadas por VUJICIC & de MANN (1968), os quais encontraram que as mesmas deviam-se à alterações no tamanho das partículas. Os resultados encontrados neste trabalho estão de acordo com estas observações, já que a cor da solução altera-se tão logo é atingido o pH no qual a reação se processa, com um aumento da viscosidade aparente.

As diferentes solubilidades, em iguais concentrações, para os três diferentes polifosfatos usados - PFPS, TPFS e HMFS - podem

ser explicadas pelo tamanho das partículas, o que pode ser verificado pela diferença entre os pesos moleculares dos polifosfatos utilizados. (Tabela 4.1).

Tabela 4.1 - Peso molecular de alguns polifosfatos.

POLIFOSFATO	PM
Pirofosfato tetrasodico	266,0
Tripolifosfato de Sódio	368,0
Hexametafosfato de Sódio	611,8

A precipitação parcial do complexo proteína - TPFS (Fig. 4.3) demonstra que houve complexação, mas o tamanho da partícula formada não era suficiente para provocar a precipitação total das mesmas.

Ainda em relação à solubilidade, observamos uma insolubilização irreversível das proteínas do plasma após liofilização em presença de HMFS, fato que não ocorre quando o plasma é liofilizado sem HMFS. Este mesmo fenômeno foi relatado por ETHERIDGE et al. (1981), os quais sugeriram que a presença de fosfato interfere significativamente na ionização dos aminoácidos em pH baixo.

4.2. Qualidade Nutricional

A análise de aminoácidos do plasma bovino, antes e após a complexação com HMFS (Tabela 4.2) não mostra nenhum decréscimo significativo na quantidade dos aminoácidos essenciais devido a complexação com o fosfato. Tanto o plasma fosfatado quanto o sem fos

Tabela 4.2 - Conteúdo em aminoácidos (g/10g N), do plasma bovino, antes e após complexação com Hexametáfosfato de Sódio (HMFS).

AMINOÁCIDO	PLASMA BOVINO	PLASMA + HMFS	RECOMENSAÇÕES FAO/OMS (1973)
Alanina	4,94	5,00	-
Arginina	5,56	5,06	-
Ácido aspártico	10,00	9,35	-
Ácido glutâmico	14,07	13,38	-
Glicina	3,33	3,14	-
Histidina**	3,37	3,01	-
Isoleucina*	2,24	2,17	4,0
Leucina*	9,50	9,72	7,0
Lisina*	8,89	8,87	5,5
Metionina*	1,16	0,94	
Cisteína	2,81	3,32	3,5
Serina	6,91	6,73	
Fenilalanina*	5,36	5,06	
Tirosina	5,21	4,53	6,0
Treonina*	6,82	6,66	4,0
Triptofano*	0,88	0,88	1,0
Valina*	7,06	6,89	5,0
Prolina	4,97	4,66	-
Índice químico	56,0	54,3	

** Essencial somente para crianças.

* Essenciais para adultos e crianças.

fato, apresentam deficiência de isoleucina e triptofano, quando comparados com o padrão FAO/OMS (1973). O índice químico do plasma foi de 54, sendo a isoleucina o primeiro aminoácido limitante e o triptofano o segundo.

Os nossos resultados estão de acordo com as observações de YOUNG et al. (1974), de que o primeiro aminoácido limitante no plasma bovino é a isoleucina. A deficiência de metionina determinada por DILL (1975) em plasma bovino seco por "spray dryer" não foi encontrada em nossa análise. Provavelmente o aquecimento durante a fase de secagem seja o responsável por este decréscimo.

O decréscimo de triptofano encontrado por ETHERIDGE et al. (1981) somente no plasma fosfatado (0,08 g/16 g N), mas não no plasma obtido por ultrafiltração (1,14g/16 g N), sugere um possível efeito da complexação com o HMFS, porém pode ter sido devido ao processo de secagem (spray dryer) ao qual apenas o plasma fosfatado foi submetido. Neste trabalho, tanto o plasma fosfatado quanto o controle, foram analisados sem ser submetidos a qualquer tipo de secagem e nenhum decréscimo foi encontrado (Tabela 4.2), reforçando a hipótese de que a causa do decréscimo seja o calor e não a complexação com o HMFS.

Tabela 4.3 - Conteúdo de lisina disponível no plasma bovino liofilizado.

TRATAMENTO	CONTEÚDO DE LISINA(g/16g N)
Plasma sem fosfato	9,80
Plasma complexado com HMFS	9,22

A tabela 4.3 mostra a disponibilidade da lisina no plasma bovino liofilizado, antes e após complexação com HMFS na concentração de 0,01 M em pH 4,0. Estes resultados estão de acordo com aqueles obtidos por PELROY & SPINELLI (1972) com proteína de pe_{sc}ado complexada com HMFS, que não encontraram nenhuma perda significativa da disponibilidade de lisina, nem mesmo quando era utilizada uma concentração dez vezes maior, em pH 3,5.

Diante destes resultados, podemos afirmar que, nas condições utilizadas neste trabalho, a complexação com HMFS não afetou a disponibilidade de lisina, das proteínas do plasma bovino.

4.3. Capacidade de Emulsificação

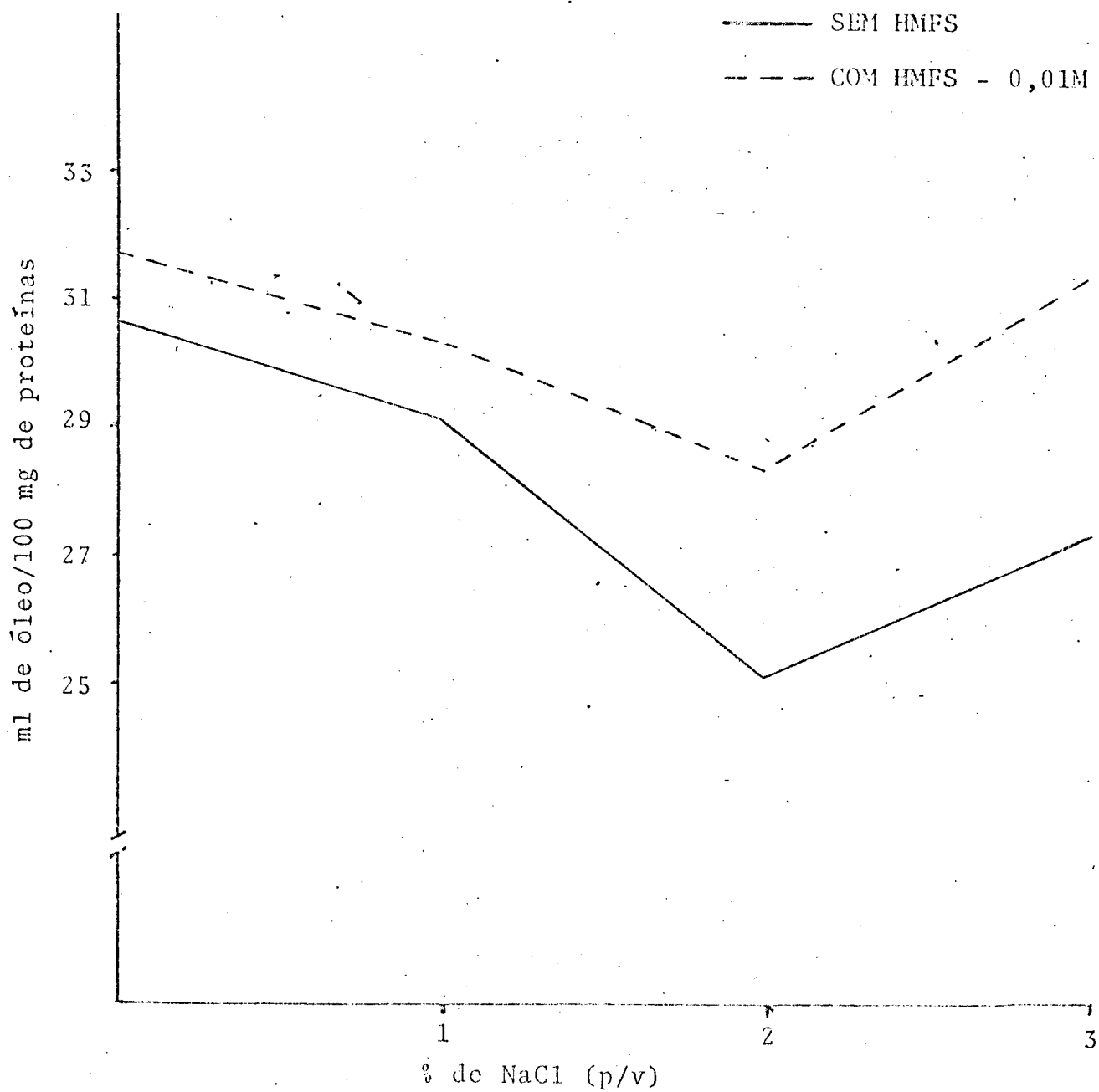
A tabela 4.4 mostra os resultados da capacidade de emulsificação das proteínas do plasma bovino com e sem a adição de HMFS e NaCl.

Tabela 4.4 - Capacidade de emulsificação⁽¹⁾ das proteínas do plasma bovino, com e sem a adição de HMFS e NaCl.

% de NaCl (p/v)	sem HMFS	com HMFS 0,005M
0	30,36	31,72
1	29,10	30,36
2	25,10	28,36
3	27,27	31,27

(1) ml de óleo por 100 mg de proteínas.

Fig. 4.5 - Capacidade de emulsificação das proteínas do plasma bovino, com e sem a adição de Hexametáfosfato de Sódio (HMFS).



Os resultados aqui obtidos sugerem que a presença do HMFS, nas condições de determinação empregadas, melhoram ligeiramente a capacidade de emulsificar gorduras, do plasma bovino, enquanto que o aumento da concentração de sal até 2% (p/v) diminui esta capacidade, a qual volta a aumentar (Fig.4,5) quando é alcançada a concentração de 3% de NaCl, tanto na presença quanto na ausência de HMFS.

A escolha das condições de determinação da capacidade de emulsificação, tais como: concentração proteica, quantidade inicial da solução, quantidade inicial de óleo, pH, taxa de adição do óleo, temperatura do óleo e da solução e velocidade de agitação, foi feita arbitrariamente, como ocorre com a maioria dos trabalhos nesta área. A ausência de padronização dessas condições de determinação torna muito difícil a comparação dos dados obtidos por diferentes pesquisadores, mesmo trabalhando em sistema modelo. A extrapolação dos dados obtidos em sistema modelo para as condições reais de fabricação de produtos cárneos emulsionados, também é muito difícil, devido à complexidade verificada nestes sistemas, em função da interação entre os seus componentes, além da diferença na concentração proteica.

A validade da determinação da capacidade de emulsificação em sistema modelo, deve-se à determinação da capacidade relativa entre diferentes proteínas ou diferentes tratamentos.

A concentração proteica selecionada para a realização deste trabalho (11 mg/ml) foi baseada nos resultados de TYBOR et al. (1973), os quais encontraram uma resposta mais efetiva da capacidade de emulsificação das proteínas da soja em relação aos tratamentos, em concentrações próximas a 10 mg/ml, sendo portanto, a

faixa de concentração mais utilizada em sistema modelo.

A quantidade inicial, tanto da solução proteica quanto de óleo, influi na determinação da capacidade de emulsificação devido à diminuição no tempo de agitação, e em consequência diminui a temperatura final da emulsão. Como este trabalho foi conduzido em temperatura ambiente (aproximadamente 28°C), a utilização inicial de 50 ml de solução proteica e 50 ml de óleo permitiu diminuir a temperatura final de emulsão de 34,5°C sem o uso de óleo, para 32°C.

4.4. Estabilidade da emulsão

A estabilidade da emulsão à temperatura ambiente é apresentada na tabela 4.5. As emulsões do plasma bovino são muito estáveis, não havendo influência da adição de HMFS nas concentrações proteicas de 11 mg/ml, 5,5 mg/ml e 2,75 mg/ml, em pH 6,5 e força iônica (μ) 0,34. Em todas estas concentrações as emulsões permanecem inalteradas por tempo superior a 120 horas.

Tabela 4.5 - Estabilidade da emulsão formada em diferentes concentrações proteicas⁽¹⁾.

CONCENTRAÇÃO PROTEICA (mg/ml)	PLASMA BOVINO COM HMFS (hr)	PLASMA BOVINO (hr)
11,0	120	120
11,0	120	120
5,5	120	120
5,5	120	120
2,75	120	120
2,75	120	120

(1) pH:6,5. força iônica: 0,34.

Estes resultados demonstram que a emulsão formada pelo plasma bovino, nas condições deste trabalho, são mais estáveis do que aquelas formadas pelo caseinato de Potássio e leite em pó desnatado com valores de pH variando de 5,3 a 10,7 e em valores de força iônica de 0,05 e 0,3, sendo inferior apenas ao proteinato de soja na faixa de pH de 10,4 a 10,7 e força iônica de 0,05 (168 h.). PEARSON et al. (1965) encontraram valores para a estabilidade da emulsão que variavam de menos de uma hora (pH : 5,3; μ : 0,05 e 0,3) até 168 horas (pH : 10,7; μ : 0,05) para o proteinato de soja; de 48 horas (pH : 10,7; μ : 0,05) até 108 horas (nos demais valores de pH e força iônica) para o caseinato de Potássio; e de 0,25 horas (pH : 10,7; μ : 0,3) até 96 horas (pH : 5,3 a 7,0; μ : 0,3) para o leite em pó desnatado. Pelos dados de PEARSON et al. (1965), pode-se verificar que para um mesmo sistema proteico os valores de estabilidade da emulsão, em sistema modelo, variam muito em função da variação no pH e na força iônica do meio, para uma mesma concentração proteica.

INKLAAR & FORTUIN (1969), demonstraram que a estabilidade da emulsão é diretamente proporcional à concentração proteica, para o caseinato de sódio e o isolado proteico de soja. O plasma bovino produz emulsões estáveis em concentrações de até 2,75 mg/ml, quando deixados à temperatura ambiente, porém quando aquecidas a 85°C, durante 15 minutos e em seguida centrifugadas a 1.200 rpm por 15 minutos apresenta separação de aproximadamente 3% do óleo emulsificado.

4.5. Capacidade de geleificação

O efeito da variação da concentração proteica na capacidade

de de geleificação do plasma bovino, de 0 a 20%, com aquecimento à ebulição, durante 15 minutos é apresentado na tabela 4.6. Na concentração de 5% não houve formação de gel, e nas concentrações de 10, 15 e 20%, formou-se, respectivamente, gel fraco, médio e forte.

Os resultados aqui encontrados não coincidem com aqueles de HERMANSSON & TORNBERG (1976), que descreveram a obtenção de um gel muito firme em uma concentração proteica de 10%, baseado no seu peso seco. Como o método de avaliação da força do gel, empregado neste trabalho é essencialmente subjetivo e os autores se referem textualmente que "os géis eram tão firmes que podiam ser medidos com um viscosímetro ou um penetrômetro", podemos estar considerando gel fraco, o que os autores citados consideravam gel firme. Fica claro desta afirmação que a força do gel somente podia ser medida objetivamente, através de instrumentos de precisão, a partir da concentração de 10% de proteína.

A tabela 4.6 apresenta as médias de geleificação, quando foram adicionados 2% (p/v) de cloreto de sódio (NaCl) e/ou 0,01 M de Hexametáfosfato de Sódio (HMFS). A adição de NaCl aumenta a capacidade de geleificação do plasma nas concentrações de 5 e 10%, não apresentando nenhuma melhora nas concentrações de 15 e 20%. Estes resultados estão de acordo com aqueles de HERMANSSON & AKERSON (1975) e SMIDTH et al. (1978), que descreveram o aumento da geleificação em proteínas do soro do leite quando era aumentada a concentração de NaCl de 0,1 até 0,5 M. Segundo os autores a presença do sal aumentava a associação proteína-proteína no soro do leite, aumentando conseqüentemente a geleificação, quando a dispersão era aquecida. Provavelmente o mesmo ocorre com as proteínas

do plasma bovino.

Tabela 4.6 - Geleificação das proteínas do plasma bovino liofilizado, quando aquecido à ebulição, durante 15 minutos.

% PROTEÍNA	NaCl 2%	HMFS-0,01M	GELEIFICAÇÃO ⁽¹⁾
5	-	-	0,0 a
	+	-	1,0 b
	-	+	0,0 a
	+	+	0,8 b
10	-	-	2,0 c
	+	-	2,6 d
	-	+	1,8 c
	+	+	2,6 d
15	-	-	3,4 e
	+	-	3,8 e
	-	+	3,4 e
	+	+	3,4 e
20	-	-	4,8 f
	+	-	4,6 f
	-	+	4,6 f
	+	+	4,6 f

(1) Médias seguidas de uma mesma letra, não diferem entre si, de acordo com o teste de Tuckey ($P < 0,01$).

A geleificação aparente das proteínas do amendoim tendem a diminuir com o aumento da concentração de NaCl. Como as proteínas do amendoim são altamente complexas, admite-se que a combinação de sal e aquecimento cause uma dissociação na estrutura quaternária das mesmas, diminuindo a sua capacidade de geleificação (SMIDTH et al., 1978).

Tabela 4.7 - Capacidade de formação e estabilidade da espuma do plasma bovino⁽¹⁾.

TRATAMENTO	NaCl %	Volume inicial da espuma (ml)	Redução do volume da espuma(ml) após..		
			0,5h.	1h.	2h.
Plasma sem HMFS	0,0	220	100	32	12
	2,0	290	215	175	67
Plasma com HMFS 0,01 M	0,0	230	100	30	12
	2,0	260	175	135	65

(1) pH : 6,5.

4.6. Capacidade de formação e estabilidade da espuma

A capacidade de formação e a estabilidade da espuma formada pelo plasma bovino são apresentadas na tabela 4.7.

A utilização de HMFS na concentração e pH empregado, não alterou significativamente a capacidade de formação e a estabilidade da espuma formada pelo plasma bovino, porém o uso de NaCl na concentração de 2% (p/v) aumentou não só a capacidade de formação, como a estabilidade da mesma.

O Cloreto de Sódio aparentemente exerce efeito variável na capacidade de formação de espuma das proteínas (KINSELLA, 1976). Ele aumenta a capacidade das proteínas da soja na concentração de 2%, e das proteínas do peixe na concentração de 0,5 M (HERMANSSON et al, 1972) e diminui a capacidade das proteínas do ovo e do trigo (Mc DONALD & PENCE, 1961). O sal, dependendo da concentração usada, provavelmente afeta a capacidade de formação de espuma, pelas alterações causadas na solubilidade inicial, enquanto que a estabilidade da espuma é influenciada principalmente pela superfície e grau de desnaturação da membrana proteica que forma as bolhas de ar da espuma.

4.7. Encolhimento e perda de peso dos "hamburguers" e salsichas

As porcentagens de encolhimento e perda de peso dos "hamburguers" formulados com e sem a adição de plasma bovino complexo com HMFS, são apresentadas na tabela 4.8.

Tabela 4.8 - Encolhimento e perda de peso de "hamburguers".

Nº DA AMOSTRA	PLASMA BOVINO (%)	ENCOLHIMENTO (%)	PERDA DE PESO (%)		
			NO DESCONGELAMENTO	NA FRITURA	TOTAL
1	0 (CONTROLE)	27,7	3,3	23,6	26,2
2	5	27,2	3,3	24,2	26,6
3	10	27,8	4,5	23,6	27,0
4	15	28,9	6,5	25,6	30,5

A porcentagem de encolhimento dos "hamburguers" contendo plasma após a fritura em frigideiras de teflon (sem óleo), encontrada neste trabalho foi muito pequena, em relação aos controles. Apesar dos dados não terem sido submetidos à análise de variância pode-se perceber que até o nível de substituição de 10% não ocorreu diferença, porém com 15% o encolhimento foi ligeiramente maior (28,9%) que o do controle (27,7%).

MOLINA (1977), trabalhando com "hamburguers" formulados com Proteína Texturizada de Soja (PTS), em substituição à carne bovina, encontrou porcentagens de encolhimento de 44,08; 41,06; 36,8; 23,68 e 16,15, respectivamente para os níveis de substituição de 6, 12, 18, 24 e 30%.

Estes dados demonstram que as proteínas do plasma bovino, ao contrário das proteínas da soja, não influem no encolhimento dos "hamburguers". O mesmo fato ocorre com a perda de peso durante a fritura, quando uma perda maior (25,6%) ocorre no nível de substituição de 15%, enquanto que os controles perdem 23,6% do seu peso. Durante o descongelamento a perda foi de quase o dobro no nível de substituição de 15% (6,5%) em relação aos controles (3,3%).

4.8. Análise Sensorial

4.8.1. "Hamburguers"

Os resultados da análise sensorial dos "hamburguers" são apresentados na tabela 4.9.

Quanto ao aspecto, a análise de variância mostrou que a substituição da carne por proteínas do plasma complexadas com HMFS, ao nível de 5% não apresentou diferença significativa em relação ao controle. Já com 10% e 15% de substituição os "hamburguers"

apresentaram aspecto inferior ao do controle ($P < 0,01$).

Em relação à cor, todas as amostras são mais claras e diferem significativamente em relação aos controles. As amostras com 5% de substituição são diferentes ao nível de ($P < 0,05$) e aquelas com 10% e 15% diferem ao nível de ($P < 0,01$).

O sabor dos "hamburguers" contendo 5 e 10% de substituição não apresentaram diferença significativa em relação ao controle, entretanto o sabor daqueles com 15% de substituição é estatisticamente diferente ($P < 0,05$).

O aroma, a textura e a suculência não apresentam nenhuma diferença significativa em qualquer dos níveis de substituição utilizados neste trabalho.

4.8.2. Salsichas

Os resultados da análise sensorial das salsichas são apresentados na tabela 4.10.

A análise de variância mostrou que dentre as características estudadas, a textura diferiu significativamente ($P < 0,01$) quando o nível de substituição foi superior a 15%.

Quanto ao aspecto, a cor e o aroma os resultados foram semelhantes. Quando a carne bovina foi substituída por proteínas do plasma bovino precipitadas com HMFS, a níveis de 5, 10 e 15%, não ocorreu diferença significativa, já com 20% de substituição ocorreu diferença significativa ($P < 0,01$) em relação a todas as outras amostras. O aspecto e o aroma são inferiores, e a cor é mais escura que a do controle.

Em relação ao sabor, apenas as salsichas com 5% de substituição não apresentam diferença significativa, sendo que as demais

amostras diferem significativamente ($P < 0,01$), e apresentam sabor inferior aos do controle.

A suculência das salsichas com 5% de substituição não apresenta diferença significativa em relação ao controle. As demais amostras diferem significativamente a nível de ($P < 0,01$), tanto em relação ao controle quanto entre si, com exceção das amostras com 5 e 10% que diferem ao nível de ($P < 0,05$).

THOMAS et al. (1973), substituíram as proteínas da carne por proteínas da soja, Caseinato de Sódio e co-precipitado de leite com vários teores de Cálcio, em salsichas e encontraram efeitos deletérios em relação às características sensoriais das salsichas. A textura era mais branda, a cor era mais clara e o sabor e o aroma eram inferiores, nas salsichas com aqueles aditivos.

RUSIG (1979), testou salsichas nas quais a proteína da carne era substituída por isolado proteico de plasma ou por fibras texturizada produzidas com plasma e alginato. O autor encontrou que a textura era mais firme a cor era mais clara e o sabor e o aroma eram inferiores aos do controle.

No presente trabalho, as salsichas com 5% de substituição da carne por proteínas do plasma precipitadas com HMFS, não apresentam diferença significativa em relação aos controles para nenhuma das 6 características organolépticas estudadas. Com nível de substituição de 10%, apenas o sabor e a suculência são inferiores aos controles, com níveis de significância de ($P < 0,01$). RUSIG (1979) afirma que a medida da suculência por avaliação sensorial apresenta pequena correlação com o método de aplicação de pressão, e GOLTRY et al. (1976), citado por RUSIG (1979), lembra que o teste sensorial não mede a "quantidade" de suculência, mas

a preferência por suculência. Como o sabor é o principal fator que influi na aceitabilidade de qualquer alimento, pode-se recomendar o uso de proteínas do plasma precipitadas com HMFS, até o nível de 5% em substituição à carne bovina.

Tabela 4.9 - Efeito da substituição da carne bovina por proteínas do plasma precipitadas com INFS, na avaliação sensorial de "hamburguers".

Nº DA AMOSTRA	NÍVEL DE SUBSTITUIÇÃO DA CARNE (%)	M E D I A S							
		ASPECTO	COR	AROMA	TEXTURA	SABOR	SUCULÊNCIA		
1	0 (Controle)	6,75 ^a	5,31 ^a	6,94	5,31	7,56 ^a	4,12		
2	5	6,31 ^a	4,12 ^b	6,88	4,12	7,06 ^{a b}	4,62		
3	10	5,62 ^b	3,31 ^b	6,00	3,31	7,06 ^{a b}	4,87		
4	15	4,94 ^c	3,44 ^b	5,31	3,44	6,12 ^b	4,25		

Médias seguidas de uma mesma letra, na coluna, não diferem entre si, de acordo com o teste de Tuckey ($P < 0,05$).

Tabela 4.10 - Efeito da substituição da carne bovina por proteínas do plasma precipitadas com HMFS, na avaliação sensorial de salsichas.

Nº DA AMOSTRA	NÍVEL DE SUBSTITUIÇÃO DA CARNE (%)	M E D I A					S
		ASPECTO	COR	AROMA	TEXTURA	SABOR	
1	0 (Controle)	6,19 ^a	4,50 ^a	6,19 ^a	4,88 ^a	7,44 ^a	4,81 ^a
2	5	6,25 ^a	4,19 ^a	6,00 ^a	5,25 ^a	6,62 ^a b	4,94 ^a
3	10	6,38 ^a	5,06 ^a	6,40 ^a	4,00 ^a	5,31 ^c b	5,69 ^b
4	15	6,06 ^a	5,25 ^a	5,19 ^a	3,31 ^b	4,62 ^c d	6,25 ^b c
5	20	4,88 ^b	6,63 ^b	3,75 ^b	3,37 ^b	3,31 ^d	6,75 ^c

Médias seguidas de uma mesma letra, na coluna, não diferem entre si, de acordo com o teste de Tuckey ($P < 0,05$).

5. CONCLUSÕES

1 - Dentre os 4 tipos de fosfato pesquisados, o Hexametáfosfato de Sódio (HMFS) na concentração de 0,005 M, na faixa de pH de 2,5 a 4,5, é o que permite a precipitação total das proteínas do plasma bovino, em soluções contendo 1,2% de proteína.

2 - A complexação com HMFS melhora ligeiramente a capacidade de emulsificação e a estabilidade da emulsão, não alterando a capacidade de geleificação e de formação de espuma, das proteínas do plasma bovino.

3 - A quantidade de aminoácidos essenciais, assim como a disponibilidade da lisina não são afetados pela complexação das proteínas com o HMFS.

4 - A análise sensorial demonstra que a substituição de 5% da carne por plasma bovino é viável, pois não afeta o aspecto, o aroma, o sabor, a textura e a suculência de "hamburguers" e salsichas.

6. SUGESTÕES

Faz-se necessário continuar as pesquisas visando a separação das proteínas precipitadas através de um sistema contínuo, e também um estudo dos aspectos microbiológicos do processamento do plasma.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - ACTON, J.C. & SAFFLE, R.L. Emulsifying capacity of muscle protein: Phase volumes at emulsion collapse. J. Food Sci. 37: 904-6, 1972.
- 2 - AKERS, J.M. Utilization of blood. Food Manufacture, 31-32, April 1975.
- 3 - ASSOCIATION OF ANALYTICAL CHEMISTS. "Official methods of analysis". 13 th. ed. Washington, D.C., 1980.
- 4 - AUTRET, M. Word protein supply and needs. In: Lawrie, R.A., Proteins as Human Food, Westport, Connecticut, ed. AVI, 1970.
- 5 - BERGSOE, C. & FAKSTORP, J. Progress in Spray - drying. Food Industries of South Africa, 29-47, May 1950.
- 6 - BETSCHART, A.A. Nitrogen solubility of alfafa protein concentrate as influenced by various factors. J. Food Sci., 39 : 1.110, 1974.
- 7 - BRASIL. Leis, decretos, etc. Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. (aprovado pelo decreto nº 30.691 de 29-03-52, alterado pelo decreto nº 1.255 de 26-06-62). Brasília, Ministério da Agricultura, s.d.
- 8 - BREER, C. Hygienic production and use of blood plasma in the manufacture of meat products. Die fleischwirtschaft, 10:1649-51, 1978.
- 9 - BRIGTH, A.M. & RANKEN, M.D. Blood. Part 1. A survey of recent developments in collection processing and utilization. Food R.A. Scientific and Technical Surveys nº 97, 1977.

- 10 - CARPENTER, J.A. & SAFFLE, R.L. A simple method of estimating the emulsifying capacity of various sausage meats. J. Food Sci., 29 (6):774-81, 1964.
- 11 - CRENWELGE, D.D., DILL, C.W., TYBOR, P.T. & LANDMAN, W. A. A comparison of the emulsification capacities of some proteins concentrate. J. Food Sci. 39:175-77, 1974.
- 12 - DAS, K., SHUKRI, N.A. & AL-NASIRI, S.K. Protein concentrate from waste catfish and its quality improvement by enzyme. Journal of Food Science and Technology 16:59-61, March / April 1979.
- 13 - DELANEY, R.A.M. Protein concentrates from slaughter animal blood. I. Preparation and purification of red blood cell concentrates. J. Fd. Technol. 12 (4):339-54, 1977.
- 14 - _____, DONNELLY, J.K. & BENDER, L.D. Concentration and characterization of porcine blood plasma. Lebensm-Wiss, und Technol. 8 (1):20-3, 1976.
- 15 - De VILBISS, E.D., HOLSINGER, V.M., POSATI, L., & PALLANSCH, M.J. Whey protein concentrated foams. Food Technology (Chicago) 28 : 40-49, 1974.
- 16 - DILL, C.M. Use of blood protein in processed meats and sausage. The National Provisioner, 173 (26): 14-17, December, 1975.
- 17 - ERIKSSON, G & VON BOCKELMAN, I. Ultrafiltration of animal blood serum: Technology and Microbiology. Process Biochemistry, 11-14, September, 1975.

- 18 - ETHERIDGE, P.A., HICKSON, D.W., YOUNG, C.R., LANDMANN, W.A. & DILL, C.W. Functional and chemical characteristics of bovine plasma proteins isolated as a Metaphosphate complex. J. Food Sci. 46 : 1782-4, 1981.
- 19 - FAO/WHO. World Health Organization, Tech. Rep. Series, 522, 1973.
- 20 - FERNANDO, M.E.T. Ultrafiltration of blood. Eighteenth Meat Industry Research Conference. 24 : 30, 1976.
- 21 - FERRY, J.D., Protein gels. Adv. Protein Chem. 4 : 1, 1948.
- 22 - GORDON, A. Application of spray dried blood plasma and erythrocytes in meat products. Food Trade Rev. 4:29-31, 1971.
- 23 - HALLIDAY, D.A. Blood - A source of proteins. Process Biochemistry, 8 (12):15-17, 1973.
- 24 - HAMM, R. & GRAU, R. The effect of phosphates on the bound water of meat. Dtch. Lebernsmitt, 51 : 106-9, 1955.
- 25 - HANSEN, L.F., Emulsion formations in a finely comminuted sausage, Fd. Technol. (Chicago); 14 : 565-7, 1960.
- 26 - HEGARTY, G.R., BRATZLER, L.J. & PEARSON, A.M. Studies on emulsifying properties of some intracellular beef muscle proteins, J. Food Sci., 28 : 663-6, 1963.
- 27 - HERMANSSON, A.M. & AKESSON, C. Functional properties of added proteins correlated with properties of meat systems: Effect of salt on water-binding properties of model meat systems. J. Food Sci., 40 : 603-10, 1975.
- 28 - _____ & TORNBERG, E., Functional properties of some protein preparations from blood. In: European Meeting of Meat

Research Workers, 22 th, Sweden, 1976. Proceedings..Technical Secretarial Swedsh Meat Research Center, Kavlinge, Sweden. p. 1:3 - 1:6.

- 29 - _____, SIVIK, B., & SKJOLDEBRAND, C. Factors affecting solubility, foaming, and swelling of fish protein concentrate, Lebensm. Wiss. Technolol., 4 : 201-4, 1971.
- 30 - IMESON, A.P., WATSON, P.R., MITCHELL, J.R. & LEDWARD, D. A. Protein recovery from blood plasma by precipitation with polyuronates. J. Food Technol. (London), 13 : 329-38, 1978.
- 31 - INKLAAR, P.A. & FORTUIN, J. Determining the emulsifying and emulsion stabilizing capacity of protein meat additives. Food Technology (Chicago), 23 : 103-6, Jan. 1969.
- 32 - KAKADE, M.L. & LIENER, I. E., Determination of available lysine in proteins. Analytical Biochemistry, 27 : 273-80, 1969.
- 33 - KINSELLA, J.E. Functional properties of proteins in foods: a survey. In: Critical Reviews in Food Science and Nutrition, april, 1976. p. 219-81.
- 34 - LAYRISSE, M. & MARTINEZ - TORRES, C. Food iron absorption: iron supplementations of food. Progress in hematology, 7:137-60,1971.
- 35 - LAWHON, J.T. & CATER, C.M. Effect of processing method and pH of precipitation on the yields and functional properties of protein isolates from glandless cottonseed. J. Food Sci., 36: 372-7, 1971.
- 36 - LU, P.S. & KINSELLA, J.E. Extractability and properties of protein from alfafa leaf meal. J. Food Sci., 37:94-7, 1972.

- 37 - Mc DONALD, C.E. & PENCE, J.W. Wheat gliadin in foams for food products. Food Technology (Chicago), 15:141-5, 1961.
- 38 - MATHUR, B.N. & SRINIVASAN, M.R. Isolation and utilization of proteins from whey systems of buffalo milk on pilot scale. I. Application of Sodium Hexametaphosphate complex for isolation. J. of Food Sci. and Technol. 16(2) : 43-47, March-April, 1979.
- 39 - MATTIL, K.F. The functional requirements of proteins for foods. Journal of the American Oil Chemists Society, 48:477-80, 1971.
- 40 - MEYER, J.A., BROWN, W.L., GILTNER, N.E. & GUINN, J.R. Effect of emulsifiers on the stability of sausage emulsions. Food Technology (Chicago) 18 : 1796-98, 1964.
- 41 - MILLER, D.S. & BENDER, A.E. The determination of the net utilization of protein by a shortened method. British Journal of Nutrition, 9 : 382-8, 1955.
- 42 - MOLINA, R.C. Contribuição ao estudo de substituição parcial de carne por proteínas texturizada de soja na elaboração de "hamburguer". Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola da UNICAMP, 1977. [Tese de Mestrado].
- 43 - NEELAKANTAN, S. & FRONING, G.W. Studies on the emulsifying characteristics of some intracellular turkey muscle proteins. J. Food Sci. 36 : 613-15, 1971.
- 44 - NILSSON, R., PERSSON, K.A., NILSSON, B. & SCHAFF, L. The effect of non meat proteins on the emulsion capacity of meat proteins. In: European Meeting of Meat Research Workers, 17th, Bristol, 1961. Proceedings... Technical Secretarial Swedish Meat Research Center, Kavlinge, Sweden. p. 781-86.

- 45 - PALS, C.H. The practical aspects of blood component procure_{ment}. In: Meat Ind. Res. Conf., 1970.
Proceedings... American Meat Institute, Chicago. p. 17-22.
- 46 - PEARSON, A.M., SPOONER, M.E., HEGARTY, G.R. & BRATZLER, L.J. The emulsifying capacity and stability of soy Sodium protei_{nate}, Potassium caseinate, and nonfat dry milk. Food Technol. (Chicago), 19 : 1841-45, December 1965.
- 47 - PELROY, G. & SPINELLI, J. Availability of amino acids in sarcoplasmic fish proteins complexed with Sodium Hexametaphos_{phate}. J. Food Sci. 37 (6) : 860-4, 1972.
- 48 - PLIMPTON, R.F., OCKERMAN, H.W., CAHILL, V.R., POTTER, J.C. & NEER, K., Emulsion characteristics and processing feasibility of sausage products incorporating unconventional proteins. In: European Meeting of Meat Research Workers, 18 th, Canada, 1972. Proceedings... The All Union Res. Inst. of the Meat Industry, URSS. p. 448-55.
- 49 - RUSIG, O. Evaluation of plasma and plasma - alginate fibres for use in sausages. Meat Science 3 : 295-307, 1979.
- 50 - SAFFLE, R.L. Meat emulsions. Adv. Food Res. 16:105-7, 1968.
- 51 - SATTERLEE, L.D., FREE, B. & LEVIN, E. Utilization of high protein tissue powders as a binder/extender in meat emulsions. J. Food Sci. 38 : 306-8, 1973.
- 52 - SCHMIDT, R.H., ILLINGWORTH, B.L. & AHMED, E.M. Heat - induced gelation of peanut protein/whey protein blends. J. Food Sci. 43 : 613-21, 1978.
- 53 - SHULTS, G.W., RUSSEL, D.R. & WIERBICKI, E. Effect of condensed

- phosphates on pH, swelling and water-holding capacity of beef. J. Food Sci. 37 (6) : 860-4, 1972.
- 54 - SPINELLI, J. & KOURY, B. Phosphate complexes of soluble fish proteins. Their formation and possible uses. J. Agr. Food Chem. 18 (2) : 284-8, 1970.
- 55 - _____, _____ & MILLER, R. Approaches to the utilization of fish for the preparation of protein isolates. J. Food Sci. 37 : 604-7, 1972.
- 56 - SWIFT, C.E., The emulsifying properties of meat proteins. In: Meat Ind. Res. Conf., 1965. Preceedings... - American Meat Institute, Chicago. p. 78-98.
- 57 - _____, LOCKETT, C. & FRYAR, A.J., Comminuted meat emulsions - The capacity of meats for emulsifying fat. Food Technol. (Chicago), 15 : 468-73, 1961.
- 58 - _____, SULZBACHER, W.L. Factors affecting meat proteins as emulsion stabilizers. Food Technol. (Chicago), 17 : 106-10, 1963.
- 59 - SWINGLER, G.R. Improved utilization of meat industry by-products and waste. University of Nottingham, 1978. [Ph. D. Thesis].
- 60 - _____, NEALE, R.J. & LAWRIE, R.A., The nutritive value of protein isolates and fibres from meat industry by-products. Meat Science. 2 (1):31-9, 1973.
- 61 - THOMAS, M.A., BAUMGARTNER, P.A., BOARD, P.W. & GIPPS, P. G. Evaluation of some non - meat proteins for use in sausage. J. Food Technol. 8 : 175-84, 1973.

- 62 - TORTEN, J.E. & WITAKER, J.R., Evaluation of the biuret and dye-binding methods for protein determination in meat. J. Food Sci. 29 : 168-74, 1974.
- 63 - TOWNSEND, W.E., WITNAUER, L.P., RILOFF, J.A. & SWIFT, C. D. Differential thermal analysis of fat transitions. Food Technol. (Chicago) 22 : 319-21, 1968.
- 64 - TSAI, R., CASSENS, R.G. & BRISKEY, E.J. The emulsifying properties of purified muscle proteins. J. Food Sci. 37 : 286-8, 1972.
- 65 - TYBOR, P.T., DILL, C.W. & LANDMANN, W.A., Effect decolorization and lactose incorporation on the emulsification capacity of spray-dried blood protein concentrates. J. Food Sci. 38:4-6, 1973.
- 66 - _____, _____, _____, Functional properties of proteins isolated from bovine blood by a continuous pilot process. J. Food Sci. 40 : 155-9, 1975.
- 67 - VICKERY, J.R. Meat Industry Bulletin (Australia), January, 1968. p. 31.
- 68 - VUJICIC, I. & de MANN, J.M. Binding of Polyphosphates to casein. J. Can. Inst. Food Technol. 1 (4) : 171-2, 1968.
- 69 - _____, _____, & WOODROW, I.L. Interaction of Polyphosphates and citrate with skimmilk proteins. I. Can. Inst. Food Technol. 1 (4) : 17-19, 1968.
- 70 - WEEB, N.B., IVEY, F.J., CRAIG, H.B., JONES, V.A. & MONROE, R. J. The measurement of emulsifying capacity by electrical resistance. J. Food Sci. 35 : 501-4, 1970.

- 71 - WISMER-PEDERSEN, J. Utilization of animal blood in meat products. Food Technol. 53 : 76-80, 1979.
- 72 - YOUNG, R.H. & LAWRIE, R.A., Utilization of edible protein from meat industry by-products and waste: The spinning of blood plasma proteins. J. Food Technol. 9 : 171-7, 1974.

8. APÊNDICE

8.1. DETERMINAÇÃO DO TRIPTOFANO PELO MÉTODO DO DAB

I. Objetivo:

Determinação de triptofano pelo método do p-dimetilaminobenzaldeído (DAB). Necessita-se geralmente dosar este aminoácido separadamente devido a sua essencialidade nutricional, a seu nível limitante nas fontes proteicas e ao fato de ele não ser recuperável nos hidrolisados ácidos das proteínas.

II. Fundamento do método:

A reação do DAB com o triptofano não está ainda bem esclarecida, mas acredita-se que há uma interação entre os dois compostos onde o carbono da carbonila do DAB liga-se a um carbono do triptofano.

O processo hidrolítico prévio é necessário para eliminar diferentes graus de hipercromicidade do triptofano peptídico. Esse processo (hidrólise alcalina) libera os resíduos triptofil deixando-os totalmente acessíveis ao reagente. O efeito hipercromico é devido a resíduos interferentes próximos ao triptofano.

III. Procedimento:

Reagentes:

- a. H_2SO_4 19N: Num becker com 234 ml de água adicionar cuidadosamente 266 ml de H_2SO_4 . Misturar bem.
- b. DAB: Dissolver 1,5g de p-dimetilaminobenzaldeído em 50 ml de H_2SO_4 19N num balão volumétrico. Misturar bem. Se o ácido estiver ainda morno, a dissolução será mais fácil.

- c. Nitrito de sódio 0,04%: Dissolver 0,2g de NaNO_2 em 500 ml de água.
- d. Padrão: Dissolver 100 mg de triptofano em 100 ml de água. (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Misturar bem.
- e. KOH 5N: 165,0g de KOH de 85% de pureza. Dissolver em água até 500 ml.
- f. HCl 6N: Diluir HCl concentrado 1:1 com água.
1. Pesar 200mg de uma amostra desengordurada e colocar em tubo de polipropileno de 10 ml de capacidade.
 2. Acrescentar 8,0 ml de KOH 5N e homogenizar. Tampar bem.
 3. Hidrolizar em panela de pressão por 4 horas. Esfriar a panela devagar e tirar.
 4. Depois de esfriar abaixo de 30°C, transferir quantitativamente para um becker de 100 ml e neutralizar com 6,7 ml de HCl 6N. Verificar o pH.
 5. Transferir para balão volumétrico ou proveta de 25 ml. Aferir o volume.
 6. Filtrar para retirar o resíduo insolúvel.
 7. Pipetar 1,0 ml de hidrolisado em tubos de ensaio de 30 ml de capacidade.
 8. Preparar diluições da solução padrão contendo 0, 10, 20, 40 e 60 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Pipetar 1,0 ml de cada diluição em tubos respectivos.
 9. Acrescentar em cada tubo 0,5 ml de solução DAB e 4,5 ml de H_2SO_4 19N.
 10. Guardar os tubos dentro de uma câmara (balcão), fora do alcance da luz por uma hora.
 11. Acrescentar em cada tubo 0,1 ml de NaNO_2 . Misturar bem e deixar

reagir por 20 minutos.

12. Ler a 600 nm contra o tubo de 0 ug/ml como branco.
13. Fazer um gráfico da densidade ótica Vs. a quantidade de g tripofano.

8.2. DETERMINAÇÃO DE LISINA DISPONÍVEL

1. Generalidades:

O aminoácido essencial lisina existe em quantidade elevada na soja, servindo como indicativo de seu valor biológico. Assim sendo há necessidade, para melhor interpretação dos resultados do PER, de determinar-se seu valor nas amostras utilizadas para ração. Também é interessante verificar o comportamento da lisina disponível na soja em função do tratamento térmico. A lisina possui dois grupos $-NH_2$, sendo que na proteína o $-NH_2$ alfa está comprometido na ligação peptídica e o $-NH_2$ épsilon fica livre, possibilitando a reação de Maillard ou outras reações, durante o tratamento térmico, diminuindo a lisina disponível. Por outro lado, a soja possui quantidades muito reduzidas de açúcares ($\pm 6\%$ de carboidratos), e sendo o tratamento térmico pouco severo, não há grande comprometimento do grupo $-NH_2$ épsilon da lisina.

O grupo $-NH_2$ épsilon da lisina, quando livre, reage com TNBS (ácido trinitrobenzenosulfônico), formando o composto ϵ -TNP-L-Lisina, que pode ser determinado pela leitura em D.O. a 346 nm, relacionado com uma curva padrão.

Este método tem as vantagens de ser simples, fácil de manusear e rápido. Pode ser aplicado com considerável precisão na determinação de lisina em proteínas de baixo peso molecular com relativamente poucos resíduos de lisina, tais como insulina, onde o

número total de aminogrupos N-terminais excede o número de grupos e aminas livres. Este método poderia portanto ser particularmente útil para a determinação de resíduos de lisina em peptídeos assim como proteínas compostas de várias cadeias peptídicas ou subunidades.

2. Fundamentos:

A especificidade da técnica aqui descrita para os grupos épsilon aminas de proteínas reside no fato que, subsequente à hidrólise ácida da proteína-TNP, os α -TNP aminoácidos podem ser extraídos com éter ao passo que E-TNP-lisina permanece na fase aquosa onde ele pode ser determinado espectrofotometricamente. Um estudo da influência das condições hidrolíticas na recuperação de E-TNP-lisina de TNP de soroalbumina bovina revelou que um período de hidrólise de 6 horas a 120°C com HCl 6N era suficiente para recuperação quantitativa. A hidrólise completa da proteína não é necessária uma vez que pequenos TNP-peptídeos possuem essencialmente a mesma solubilidade e propriedades espectrofotométricas aos aminoácidos-TNP livres.

Extrai-se tres vezes com aproximadamente 10 ml de éter etílico a fim de remover os aminoácidos TNP-N-terminais ou peptídeos bem como ácido pícrico que também é produzido durante o curso da reação.

O TNBS em meio ácido não tem absorção apreciável a um comprimento de onda maior que 300 nm. Entretanto se o branco é preparado como amostra, mas não contendo proteína, então o branco TNBS tem uma absorção apreciável a 346 nm devido a seu produto hidrolítico, o ácido pícrico. A introdução de um passo de extração eterea

no procedimento remove tanto ácido pícrico como o excesso de TNBS e assim elimina qualquer diferença em densidade óptica do branco preparado em ácido ou base.

3. Procedimento:

Reagentes:

- a. NaHCO_3 a 4%; pH 8,5.
 - b. TNBS a 2% (Picryl sulfonic acid- ou 2,4,6 trinitrobenzene sul fonic acid).
 - c. HCl concentrado e a 30%.
 - d. Éter etílico.
1. Em Erlenmeyer de 125 ml colocar:
 - a. 0,05g de amostra desengordurada com granulometria de 100 mesh;
 - b. 5 ml de NaHCO_3 4% pH 8,5 (serve para dissolver a proteína).
 2. Agitar 10 minutos em banho-maria a 40°C.
 3. Adicionar 5 ml de TNBS 2% e continuar no banho por 2 horas.
 4. Adicionar 15 ml de HCl concentrado (interrompe a reação do TNBS que só reage em meio alcalino).
 5. Autoclavar o frasco fechado por uma hora a 121°C.
 6. Resfriar, filtrar, lavar o filtrado com 5 ml de HCl concentrado e completar 50 ml com água destilada.
 7. Tomar 10 ml de filtrado e lavar 3 vezes com 10 ml de éter etíli co.
 8. Remover o éter residual agitando-o 5 minutos em banho-maria a 40°C.
 9. Ler a 346 nm diluindo, se necessário, com HCl 30% (normalmente 1:10), contra branco em que o HCl concentrado foi adicionado ao erlenmeyer, antes do TNBS.

8.3. Ficha utilizada na avaliação sensorial de "hamburguer" e sal
sichas.

NOME _____

DATA ____/____/____

PRODUTO:

INSTRUÇÕES

A amostra deverá ser julgada baseando-se nas seguintes ca
racterísticas:

Aspecto	1 Pêssimo	5 Regular	9 Ótimo
Cor	1 Muito clara	5 Ótima	9 Muito escura
Aroma	1 Pêssimo	5 Regular	9 Ótimo
Textura	1 Muito mole	5 Ótima	9 Muito dura
Sabor	1 Pêssimo	5 Regular	9 Ótimo
Suculência	1 Muito seca	5 Ótima	9 Muito úmida

A M O S T R A S

1 2 3 4 5

Aspecto.....

Cor.....

Aroma.....

Textura.....

Sabor.....

Suculência.....