

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS E AGRÍCOLA

RECUPERAÇÃO E PROCESSAMENTO DAS
PROTEÍNAS DO PLASMA SANGUÍNEO DE
FRANGO.

Santiago Jaime Reyes Herrera
Engenheiro Químico

Orientador:
Prof.Dr. CHIN SHU CHEN

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrí-
cola da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do tí-
tulo de Mestre em Engenharia de Alimentos.

- 1976 -

UNICAMP
CENTRAL

Com Amor e Carinho:

À minha mãe, à meu pai, a todos meus
irmãos e, em especial à Matty e Ale-
jandro.

Especialmente para vocês:

Tere

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor CHIN SHU CHEN, pela orientação, pelos ensinamentos e pela amizade, oferecidos durante o curso e desenvolvimento da Tese.

Ao Professor Doutor HERBERT G. WIRTH pela sua colaboração e sugestões durante o desenvolvimento da Tese.

Ao Professor Doutor ANDRÉ TOSELLO, Diretor da FEA, pela sua amizade e apóio.

Ao Departamento de Operações Unitárias do Instituto de Tecnologia de Alimentos, nas pessoas do Dr. M. OKADA, e pela colaboração entusiástica de VERA e MAGALI.

Ao Departamento de Engenharia da FEA, especialmente ao Doutor C. VAZ e a técnica ISABEL.

Ao Diretor da "Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Veracruzana" M. S. RAFAEL MARIO ISLAS OJEDA.

Aos amigos HUMBERTO PITOLI, LÁZARO RIVERO e RAMON HINOJOSA pela valiosa colaboração.

À Direção da Indústria Frango Soberbo.

À Srta. TELMA pelo trabalho datilográfico.

Em especial a TERE que me ajudou em todos os momentos com seu amor e compreensão.

4.2.1. Parâmetros de operação na centrifugação	35
4.2.2. Propriedades do fluido que influenciam na separação	36
4.2.3. Análise do plasma	38
4.3. Concentração do plasma	39
4.3.1. Concentração por evaporação a vácuo	39
4.3.2. Concentração por membranas (osmose inversa)	42
4.3.3. Análises do plasma concentrado	45
4.4. Secagem do plasma	46
4.4.1. Efeito da temperatura na secagem do plasma	48
4.4.2. Análise do plasma seco	50
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
5.1. Coleta do sangue	53
5.2. Centrifugação do sangue	53
5.2.1. Determinação da interfase de separação plasma/massa celular	54
5.2.2. Fatores que influenciam na separação	57
5.2.3. Parâmetros de operação na centrifugação	64
5.2.4. Análises químicas do plasma	66
5.3. Concentração do plasma	67
5.3.1. Concentração por evaporação a vácuo	67

	página
5.3.2. Concentração por membranas	77
5.4. Secagem do plasma	86
5.4.1. Efeito da temperatura de secagem no plasma não concentrado	86
5.4.2. Efeito da temperatura de secagem no plasma concentrado	87
5.4.3. % de desnaturação térmica das proteínas do plasma seco por asperção	90
5.4.4. Densidade aparente do plasma seco	95
6. CONCLUSÕES	97
7. SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS	100
NOMENCLATURA	101
8. BIBLIOGRAFIA CITADA	103

ÍNDICE DE QUADROS

	página
QUADRO 1. Produção de aves: no mundo e os maiores produtores da América, durante os anos 1965-1974.	14
QUADRO 2. Condições de alimentação utilizadas na concentração do plasma, no evaporador "Centri-Therm".	42
QUADRO 3. Temperaturas do ar, na entrada e na saída do secador, utilizadas para a secagem do plasma previamente concentrado no evaporador "Centri-Therm" a 10,5 e 25,1% de sólidos.	49
QUADRO 4. Temperaturas do ar, na entrada e na saída do secador, utilizadas para a secagem do plasma previamente concentrado por osmose inversa, na concentração de 10 e 15% de sólidos, respectivamente.	50
QUADRO 5. Efeitos do disco de gravidade na composição porcentual do plasma e massa celular, nas descargas dos líquidos mais denso e menos denso no separador centrífugo LAPX 202.	56
QUADRO 6. Densidade do plasma e da massa celular à temperaturas de 5,10,20,30 e 40°C .	59
QUADRO 7. Análises Químicas do plasma líquido.	66
QUADRO 8. Comparação dos tempos de residência para diferentes tipos de evaporadores.	69

QUADRO 9.	Concentração do plasma no evaporador "Centri-Therm".	70
QUADRO 10.	Concentração máxima do plasma animal para diferentes tipos de membranas.	82
QUADRO 11.	Análises químicas do plasma concentrado por osmose inversa e por evaporação a vácuo.	84
QUADRO 12.	Análises químicas do plasma seco sem concentrar, a temperaturas de 150 °C e 200°C, na entrada de ar do secador.	86
QUADRO 13.	Análises químicas dos plasmas concentrados por evaporação a vácuo e por osmose inversa e secos por asperção.	89
QUADRO 14.	Porcentagem de desnaturação térmica das proteínas do plasma seco.	92
QUADRO 15.	Densidade aparente do plasma seco, no secador por asperção.	95

ÍNDICE DE FIGURAS

	página
FIGURA 1. Seção transversal do corpo do separador centrífugo.	33
FIGURA 2. Esquema da centrifugação.	34
FIGURA 3. Esquema da posição da interfase em um separador centrífugo do tipo de câmara e disco.	37
FIGURA 4. Esquema da concentração do plasma por evaporação à vácuo.	40
FIGURA 5. Diagrama de fluxo da concentração do plasma por osmose inversa.	43
FIGURA 6. Diagrama do secador por asperção de fluxo descendente em paralelo.	47
FIGURA 7. Efeito da temperatura na viscosidade do plasma à temperaturas entre 5° e 40°C.	61
FIGURA 8. Efeito da temperatura na velocidade terminal de sedimentação à temperaturas entre 5° e 40°C.	63
FIGURA 9. Efeito da força rotacional na eficiência de separação à diferentes vazões de alimentação.	65
FIGURA 10. Efeito da concentração nos conteúdos de proteína e cinzas do plasma concentrado.	72
FIGURA 11. Efeito da concentração no índice de refração das soluções de plasma na temperatura de 20°C.	74
FIGURA 12. Efeito da concentração na densidade do plasma na temperatura de 20°C.	75

	página
FIGURA 13. Efeito da concentração na viscosidade do plasma na temperatura de 20°C.	76
FIGURA 14. Efeito da pressão no fluxo do permeado para as vazões de alimentação de 800, 600, 400 e 200 ml/min.	80
FIGURA 15. Efeito da vazão de alimentação no fluxo do permeado para as pressões de 14, 21, 28, 35 e 42 kg/cm ² .	81
FIGURA 16. Efeito da concentração no fluxo do permeado, nas condições de: pressão 28kg/cm ² e vazão de alimentação 800 ml/min.	83
FIGURA 17. Porcentagem da solubilidade à diferentes pHs das proteínas do plasma não concentrado e seco por asperção à temperatura de entrada do ar de 150° e 200°C.	88
FIGURA 18. Porcentagem de solubilidade à diferentes pHs, das proteínas dos plasmas concentrados por evaporação à vácuo e por osmose inversa e secos por asperção.	91
FIGURA 19. Efeito da temperatura na porcentagem de desnaturação das proteínas do plasma, nos tempos de aquecimento de 5, 10, 20 e 30 minutos.	94

RESUMO

O presente estudo tem como objetivo o desenvolvimento de um processo de recuperação das proteínas do plasma sanguíneo de frangos, visando a obtenção de um concentrado proteico para utilização na alimentação humana. O processo compreende, fundamentalmente, as seguintes operações: coleta, centrifugação, concentração e secagem. Para cada uma destas etapas, estudaram-se os efeitos das operações e suas variáveis mais importantes, em função da qualidade, características e propriedades do produto final, com a finalidade de se estabelecer as condições ótimas de processamento.

Na primeira etapa do processo, foi utilizada solução de citrato de sódio como anticoagulante, na concentração final de 0,5%. O sangue, coletado durante a sangria dos animais, foi misturado, de forma contínua, com o anticoagulante, obtendo-se o sangue líquido. Dentro das primeiras 3 horas, após a coleta, o sangue líquido foi centrifugado para se separar a massa celular do plasma.

Na centrifugação do sangue, utilizou-se uma centrífuga contínua de câmara e disco, determinando-se para este equipamento, a posição da interfase de separação plasma/massa celular. Foram estudados, também, alguns dos fatores que influenciam na sedimentação, tais como: densidade, diâmetro da partícula, viscosidade e temperatura. Como parâmetros de operação estudados na centrifugação, incluíram-se: vazão de alimentação e força rotacional. Resultando que, para o equipamento utilizado, com valores de força rotacional maiores do que 4000 x G e vazão de alimentação menor do que 150 kg/h, obtém-se plasma puro ,

com um rendimento de recuperação de aproximadamente 82%.

A concentração do plasma foi realizada, para efeito de comparação, através de duas operações unitárias diferentes (evaporação a vácuo e osmose inversa). Na evaporação a vácuo, utilizou-se o evaporador "Centri-Therm", concentrando o plasma até 25% de sólidos, funcionando a uma temperatura de evaporação de 45°C. As proteínas do plasma concentrado por esta operação - apresentaram uma porcentagem de desnaturação de aproximadamente 7%.

Pelas equações desenvolvidas para a determinação dos efeitos da concentração sobre as propriedades físicas e químicas do plasma, verificou-se que: proteína, cinzas, índice de refração e densidade apresentam-se como uma função linear de concentração, enquanto que a viscosidade, como uma função logarítmica.

Na osmose inversa, estudaram-se os efeitos da pressão, da vazão de alimentação e da concentração no fluxo do permeado, observando-se que este aumenta com a vazão e a pressão até um ponto no qual tende a ser independente devido aos efeitos de polarização por concentração. Encontrou-se que o fluxo do permeado é inversamente proporcional ao logaritmo da concentração, obtendo-se uma concentração máxima de 18% de sólidos. A membrana - apresentou parcial permeabilidade nos sais enquanto que, às proteínas, apresentou rejeição total.

Na secagem, amostras de plasma sem concentrar e plasma concentrado por evaporação e por osmose inversa, foram levados ao secador "spray", utilizando-se condições similares durante a secagem dos diferentes lotes. Nesta operação, verificou-se que a solubilidade das proteínas diminui à medida em que aumenta a temperatura de secagem.

Verificou-se também, que a porcentagem de desnaturação térmica

das proteínas do plasma é mais uma função da temperatura que do tempo , e que a temperatura máxima que se pode utilizar, na saída do ar do secador, para que não ocorra a desnaturação durante a secagem, é de 58°C.

As análises referentes a porcentagens de proteína, sua desnaturação e solubilidade, cinzas e densidade aparente mostraram que os melhores resultados são obtidos utilizando-se o plasma pré-concentrado por osmose inversa.

O processo foi desenvolvido em escala piloto, utilizando-se cerca de 1.200 kg de sangue de frango. Os resultados encontrados - nas diferentes experiências realizadas em cada etapa poderão , certamente, ser utilizados visando à sua aplicação em escala industrial, não somente para o aproveitamento do sangue de frango como também do sangue de outros animais.

O aproveitamento deste subproduto, caracterizado pela sua riqueza proteica , seria uma contribuição para a resolução do grave problema de sub-alimentação popular.

SUMMARY

The objective of the present study was to develop a process for the recovery of proteins from chicken blood plasma in the form of a protein concentrate amenable to human consumption. The process includes four basic operations: collection, centrifugation, concentration and drying. Optimization of the conditions for the over-all process was done by studying the effects of the most important parameters on the characteristics of the final product at each stage.

For the first stage of the process, blood collected from bleeding animals was continuously mixed with a sodium citrate solution (0,5 % final concentration) in order to prevent coagulation.

The blood was separated into plasma and red blood cell fractions by centrifugation within three hours of collection. This operation was accomplished in a continuous disk-bowl separator. The plasma/cellular mass interface position was determined for this equipment. Some of the factors influencing the sedimentation, such as: particle diameter, density, viscosity and temperature, were also studied. Feed rate and centrifugal force were the two parameters studied in this operation. Pure plasma was obtained (about 82% recovery) utilizing centrifugal forces greater than 4000 x g, and a feed rate lower than 150 kg/h.

Plasma concentration was accomplished by two different methods: vacuum evaporation and reverse osmosis. A centrifugal film evaporator ("Centri-Therm") was used to concentrate up to 25%

solids and operated at 45°C. The resulting plasma proteins showed about 7 % denaturation. A linear relationship between the concentration of plasma and the physical-chemical properties of protein, ash, index of refraction and density was found. The viscosity showed a logarithmic dependence on the concentration.

Results by membrane concentration showed that increases in the feed flow rates and applied pressures could result in a higher permeate flux which was leveled off as a result of a concentration-polarization effect. The permeate flux was related to the plasma concentration by a logarithmic function. The maximum concentration obtained was 18% solids. While the membrane was partially permeable to the plasma salts, plasma proteins were completely retained.

The products obtained by the two methods of concentration were dehydrated by spray drying under similar conditions. Drying at elevated temperature resulted in a loss of protein solubility. It was also found that the increase in per-cent heat protein denaturation was dependent more upon temperature than the time of heating. The maximum outlet air temperature that did not produce denaturation was 58°C. The results of physical-chemical analysis indicated that better product was obtained by reverse osmosis concentration.

1. INTRODUÇÃO

O sangue, um subproduto dos abatedouros, se caracteriza por possuir proteínas de alto valor biológico (26) e, quando desperdiçado, ocasiona sérios problemas de poluição (16).

Na atualidade, em que se discute muito a escassez de alimentos, principalmente a de origem animal, somos levados a pensar no aproveitamento dessa considerável fonte de proteínas, cujas excelentes propriedades funcionais (61) fazem que este produto possua um vasto campo de aplicação na indústria de alimentos processados (1).

Nos últimos anos, nos países desenvolvidos, principalmente na Europa Continental, tem-se realizado, com êxito, estudos para a recuperação e utilização do sangue bovino e porcino, pelo fato de ter-se verificado que as proteínas desses plasmas possuem um alto valor nutritivo (55). No entanto, na literatura consultada, nacional e estrangeira, não foram encontrados estudos específicos para o aproveitamento do sangue de aves como alimento humano.

Tendo em vista o acelerado crescimento da avicultura e a instalação de novos abatedouros, providos dos mais modernos e higiênicos equipamentos, especialmente no Brasil e no México, que ocupam o 2º e 3º lugares em produção avícola na América, faz-se necessário considerar este subproduto dos abatedouros como uma fonte potencial de proteínas de alta qualidade, para consumo humano. Em 1974, a produção da avicultura do Brasil foi de 259,5 milhões de cabeças e a do México foi de 160 milhões (25),

cifras que deverão aumentar consideravelmente nos próximos anos.

Em alguns abatedouros, o sangue é processado no próprio local, transformando-se em farinha para o consumo animal (9), prática que já representa um certo grau de aproveitamento. Todavia, esta utilização, apenas parcial, nem sempre é praticada, juntando-se o sangue com as águas residuais, o que passa a constituir uma fonte poluidora de graves consequências (51), já que o sangue é um meio ideal para o desenvolvimento de microrganismos (16). Em alguns abatedouros com instalações para o aproveitamento de subprodutos, desconhecem-se os princípios de operação dos equipamentos e os cuidados que estes subprodutos, durante o processamento, devem receber; conseqüentemente, tais subprodutos são de baixa qualidade (17), provocando que alguns industrializadores se oponham ao seu emprego na formulação de produtos alimentícios, emprego este que bem poderia ser em benefício aos nossos países em vias de desenvolvimento.

O presente estudo tem como objetivo a recuperação e processamento do plasma de sangue de frango, estudando-se os efeitos de algumas das variáveis de operação em função das qualidades, características e propriedades do produto obtido em cada etapa do processo utilizado, visando o estabelecimento de condições mais apropriadas para seu processamento, na obtenção de um concentrado proteico para o consumo humano.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Generalidades sobre o sangue.

O sangue, na forma em que se apresenta no sistema vascular, consiste de massa celular (eritrócitos, leucócitos, plaquetas) e uma porção líquida, chamada plasma, que contém um grande número de substâncias orgânicas e inorgânicas em solução (34). As principais proteínas recuperáveis do sangue encontram-se nos eritrócitos e no plasma: hemoglobina, nos eritrócitos, e albumina, no plasma (32).

Quando o sangue é removido dos vasos sanguíneos, o fibrinogênio, que faz parte das proteínas do plasma, transforma-se, em presença do cálcio, em fibrina insolúvel, capturando grande parte dos eritrócitos e leucócitos, dando origem ao coágulo e ao soro. A diferença entre o plasma e o soro reside na presença de fibrinogênio solúvel no primeiro. O sangue não coagulará, se este é tratado por qualquer dos seguintes métodos: 1º - utilizando compostos químicos que fazem a remoção do cálcio - (6) (63); 2º - resfriando o sangue rapidamente até a temperatura de 1,6°C; 3º - por agitação, efetuando-se a remoção da fibrina. Dos tres métodos, o último provoca a ruptura dos eritrócitos, durante a agitação, ocasionando a liberação da hemoglobina, o que dificultaria a obtenção de um produto de cor clara, já que, a cromoproteína dissolver-se-ia totalmente no plasma. O segundo método é temporário, pois a coagulação é somente retardada mas não evitada. O primeiro método, químico, é o mais eficiente e prático (15).

A composição química do sangue é muito complexa e sofre variações com a espécie, idade, sexo, alimentação dos animais e

outros fatores (34). O plasma apresenta, aproximadamente, 70% do volume total do sangue. Trata-se de um líquido de cor âmbar amarelo claro. As proteínas, que constituem as substâncias específicas e características do plasma, pertencem a dois tipos principais: albuminas e globulinas (29).

2.2. Disponibilidade da matéria prima.

O sangue é um subproduto dos abatedouros que constitui uma fonte potencial de proteínas de alto valor biológico (18) (65). Cálculos com base em dados estatísticos oficiais indicam que somente no Reino Unido desperdiçam-se 96.000 toneladas de sangue animal, anualmente, na rede de águas industriais (26). Esta situação difere um pouco da que se verifica na Europa Continental, onde o sangue é recolhido e utilizado em grande escala, por exemplo: segundo Bourgeois (9), na França, no ano de 1966, aproximadamente 20% do sangue porcino eram aproveitados. Na República Federal da Alemanha, no ano de 1972, segundo Cselko (15), 60.000 toneladas de sangue animal foram aproveitadas, destinando-se aproximadamente 23% para consumo humano. De acordo com Dill (20), estima-se que, durante o primeiro semestre de 1971, nos Estados Unidos, 5.670 toneladas de proteína de sangue bovino foram desperdiçadas nas águas residuais dos abatedouros. Outros autores estimam que, da produção mundial dos abatedouros, obtêm-se anualmente 5×10^6 toneladas de sangue bovino (23).

Pela literatura consultada, observou-se que a maioria dos estudos efetuados se volta para o aproveitamento do sangue de bovinos e porcinos e, alguns, de ovinos. No entanto, pouco se tem encontrado sobre aves, apesar do crescimento da produção avícola nos últimos anos. Acredita-se que no futuro a avicultura aumentará mais ainda devido à sua alta eficiência de taxa de reprodução de carne animal, por exemplo: o frango precisa de um período de 2 a 4 semanas para duplicar seu peso, enquanto que

o boi requer de 2 a 4 meses (50).

A produção avícola na América, durante os anos de 1972 a 1974, somaram cerca de $3,48 \times 10^9$ cabeças, conforme se pode observar no Quadro 1 . Entre os países da América que tem aumentado - consideravelmente a sua produção avícola nos últimos 10 anos encontram-se: o México e a Colômbia, os quais duplicaram sua produção; inclui-se também o Brasil, com um aumento de 79%.

QUADRO 1 . Produção de aves: no mundo e os maiores produtores da América, durante os anos 1965-1974 (milhões de aves).

	1965	1972	1973	1974
Mundial	4271,8	5595,6	5721,6	5901,3
América	848,4	1136,3	1150,4	1193,5
Estados Unidos	379,7	425,1	406,2	412,5
Brasil	144,6	235,3	247,1	259,5
México	76,3	144,9	147,2	160,0
Canadá	67,4	91,0	94,7	98,3
Colômbia	22,1	33,5	42,0	45,0
Argentina	39,9	33,0	31,7	31,7
Venezuela	13,7	19,8	22,8	24,6

2.3. Processamento do sangue.

Os diferentes tipos de processamentos utilizados para a recuperação das albuminas e globulinas contidas no sangue, podem classificar-se dependendo do método empregado - durante a coleta, fundamentalmente, em dois grupos: 1º por coagulação, e 2º com anticoagulantes (32).

Atualmente o primeiro método é pouco empregado; consiste na coleção do sangue em painéis metálicas, deixando-se o sangue coagular completamente. O tempo de coagulação pode ser diminuído adicionando-se sais de cálcio. Após a coagulação o sôro é removido e posteriormente processado.

No segundo método, o sangue é misturado com anticoagulantes e depositado em recipientes de construção sanitária. Em seguida o sangue líquido é fracionado por centrifugação em seus componentes: plasma e massa celular.

Em ambos os casos, somente poderá ser processado , para fins alimentícios, o sangue dos animais que obtenham, durante a evisceração, aprovação das autoridades sanitárias. O método de coleta utilizando anticoagulantes apresenta um rendimento 3 vezes maior do que o método por coagulação. Isto é devido à diferença dos fatores tempo e espaço (32) (33).

Durante a Segunda Guerra Mundial, a Alemanha efetuou diversos estudos visando ao aproveitamento do sangue dos abatedouros . Inicialmente foi empregado o método de painéis metálicas, onde o sôro era secado à temperaturas inferiores ao ponto de coagulação das albuminas. Lamentavelmente, devido a que o produto obtido possui uma cor vermelha escura e solubilidade limitada, foi considerado inadequado para o consumo humano, exceto quando misturado com condimentos ou vegetais desidratados (50).

Muitos esforços se tem feito nos últimos anos para evitar que o sangue continue desperdiçado. Diversos países e instituições continuam estudando as possibilidades de incrementar a utilização do sangue animal, inteiro ou fracionado, na alimentação humana (18). Tal é o caso da Universidade de A & M, no Texas, Estados Unidos, onde, a partir de 1971, foram iniciadas as investigações sobre o aproveitamento do sangue bovino (61). Na Irlanda, o "Moorepark Research Centre" iniciou, em 1972, um projeto cujo objetivo principal foi o estudo e obtenção de produtos de alto valor proteico, utilizando como matéria prima ao sangue animal (19). Já em 1968, o "Commonwealth Scientific & Industrial Research Organization", da Austrália, desenvolvia um processo para a obtenção de globina a partir das cromoproteínas da massa celular (62). Outros países, como a Hungria, a qual, através do "Institutul National de Cercetari Pentru Industrializarea Carnii", tem trabalhado intensamente, durante os últimos 15 anos na área de processamento e utilização de subprodutos de matadouros, desenvolvendo tecnologias que têm sido empregadas com êxito naquele país (15).

Os processos utilizados em escala industrial para a recuperação deste subproduto, segundo se observa na literatura, não apresentam muita diferença, no entanto, as investigações na procura de melhores condições no processamento e de maiores campos de utilização muito têm contribuído ao desenvolvimento de novas técnicas, das quais algumas, atualmente, fazem parte das labores de rotina nos abatedouros modernos (como é o uso da faca perfurada durante a coleta, mencionada em 2.4), enquanto que outras continuam ainda em escala de laboratório (por exemplo, a separação da massa celular do plasma através de membranas, mencionado em 2.5.).

2.3.1. Processos de recuperação do sangue por coagulação.

Na atualidade, são poucos os abatedouros que utilizam o método de coagulação em painéis metálicas, devido as

desvantagens mencionadas anteriormente. No entanto, dentro desta classificação, incluem-se outros processos que utilizam o mesmo princípio, sendo sua finalidade a obtenção da farinha de sangue inteiro, este produto, de cor vermelha escura, apresenta na sua composição um elevado conteúdo de hemoglobina. A farinha de sangue é destinada geralmente, ao consumo animal, em especial para porcos. Sua utilização na alimentação humana, é limitada, devido principalmente à sua cor (1) e à sua baixa solubilidade(50).

Durante a sangria dos animais, o sangue é coletado em recipientes abertos, deixando-o coagular. O coágulo formado é prensado e seco. No entanto, o sangue pode ser mantido em forma líquida - por agitação, como fora descrito em 2.1. e, finalmente em trocadores de calor de coraça e tubos, trabalhando-se com vapor e a vácuo (15) (38), em secadores por asperção (40) (26) (9), ou em outros tipos de secadores (28).

O sangue líquido pode ser também tratado com vapor, favorecendo-se a coagulação. O resultado é a formação de partículas semi sólidas e de um líquido vermelho. O sangue coagulado pode ser concentrado numa centrífuga horizontal (3) em lugar de ser prensado ou filtrado, levando-o finalmente à secagem. Segundo os autores (3) (38), o processo é contínuo, de grande capacidade de operação e o produto obtido possui alto valor biológico. Embora, seu uso não esteja especificado, deve-se entender que o seu destino seria na ração animal. Este processo não apresenta uma boa solução para o problema da poluição (16), pois o líquido sobrenadante resultante após a formação do coágulo, é eliminado junto às águas residuais.

2.3.2. Processos de recuperação do sangue adicionando anticoagulantes durante a coleta.

Este método é atualmente, o mais utilizado para a recuperação deste subproduto. O sangue é mantido em estado líquido mediante a adição de anticoagulantes, e desta forma é fracionado em plasma e massa celular. O plasma líquido pode ser submetido

do a diferentes tratamentos, a saber: 1) Congelado e, desta forma, utilizado na formulação de produtos cárneos (26), 2) Seco diretamente, transformando-se em pós (39), 3) Concentrado e seco (19) (32), 4) Tratado com sais de cálcio para a eliminação do fibrinogênio, obtendo-se, após um tratamento químico, a albumina, a qual é seca por asperção ou por liofilização (29) (6). A massa celular pode submeter-se aos seguintes tratamentos: 1) seca diretamente por asperção ou outros métodos de secagem (40) (28), 2) tratada com solventes químicos para a eliminação da fração heme, transformando a cromoproteína em globina (62) (20) (61).

Os diferentes processos que se encontram dentro desta classificação, tem como finalidade a obtenção do plasma, que quando seco apresenta uma cor amarela clara, visando a sua utilização na alimentação humana; e a obtenção de massa celular, a qual, a maioria das vezes, é destinada ao consumo animal (13).

2.4. Coleta do sangue.

Em alguns abatedouros, o sangue é coletado por meio de canais e recolhido em recipientes abertos. Este método apresenta um alto grau de contaminação por microrganismos provenientes do meio ambiente e da carcaça dos mesmos animais (1). Em alguns casos, tem-se registrado uma contagem superior a 10^6 microrganismos/ml no sangue coletado desta forma (26).

A mais higiênica coleta do sangue bovino e porcino tem sido alcançada por outro método, que consiste na utilização de uma faca perfurada, ligada a uma mangueira plástica. A faca introduzida no animal é utilizada tanto para a sangria como para a coleta do fluido. Pela base desta faca, efetua-se a adição contínua da solução de anticoagulante. A mistura de sangue e anticoagulante flui pela mangueira a um recipiente fechado com capacidade para 25 kg. Em uma modificação deste método, apli-

α-se vácuo no recipiente, obtendo-se como resultado um rendimento de 30 a 40% maior do que o primeiro método de recipientes abertos (13) (64) (26) (1) (32).

O sangue coletado por este último método, segundo Plaschke(49), pode ser processado dentro das primeiras 6 horas após a coleta, sem a necessidade de resfriamento, já que, do ponto de vista - microbiológico o sangue proveniente de animais sadios é esteril e, durante esse tempo não se apresenta desenvolvimento de microrganismos (39) (49). O autor afirma que, com este método de coleta utilizado para porcinos e bovinos, o número de bactérias/ml é aproximadamente de 10^2 (64) (26), confirmando assim, as vantagens que o mesmo apresenta quando o produto final a ser obtido é destinado ao consumo humano (15). O sangue pode ser armazenado de 3 a 4 dias à temperaturas entre 4° e -5° C (26). No entanto, sabe-se que, para fins alimentícios, este deverá ser processado imediatamente após a coleta (26) (45). Como preservativo do sangue a ser mantido sem refrigeração por espaço de até 36 horas, pode-se utilizar uma solução de metabisulfito de sódio na concentração de 1% (1).

O problema de coletar sangue de animais que apresentam septicemia juntamente com o sangue de animais sadios pode ser solucionado, segundo Halliday (28), utilizando-se durante a secagem, temperaturas elevadas, capazes de provocar a destruição total dos microrganismos. Contudo, o produto resultante não apresenta as mesmas qualidades funcionais e nutritivas que aquele obtido a temperaturas menores de secagem, já que, durante o processamento mais enérgico, têm lugar mudanças não desejáveis (18).

2.4.1. Anticoagulantes utilizados no sangue durante a coleta.

Entre os compostos mais utilizados na indústria, como - anticoagulantes, encontram-se principalmente o citrato de sódio (29) (28) (32) (9). Alguns autores citam o uso

de solução de citrato de sódio na concentração final de 1% para a coleta do sangue porcino (18). Outros, para o sangue bovino, reportam o uso deste anticoagulante, porém, na concentração final de 0,4%, esfriando-se o sangue, imediatamente, à temperatura de 4°C (23). Tybor (60) (61) emprega solução de 0,85% de NaCl e 0,5% de citrato de sódio, na concentração final, para o sangue bovino. Espinosa (24) estudou os efeitos anticoagulantes de oxalato e citrato de sódio em diferentes concentrações, para o sangue de farnço, obtendo os melhores resultados com a utilização de solução de citrato de sódio na concentração final de 0,5%. O polifosfato de sódio tem sido utilizado com excelentes resultados na concentração final de 1% para a coleta do sangue bovino e porcino (39) (9). Outros compostos reportados na literatura consultada, os quais atuam como anticoagulantes, são os seguintes:

1. Oxalato . Utilizado quando o sangue não é destinado ao consumo humano (28).
2. Heparina. Em escala de laboratório, tem sido utilizada na concentração final de 0,05% (34) (65).
3. EDTA disódico. Utilizada quando o sangue se destina ao consumo humano (36).
4. Allyl-isotiocianato. Na concentração de 1:2000-50.000 partes de sangue. Foi utilizado por Rehor (52), segundo o qual o sangue é mantido em bom estado por um período de 2 a 6 dias. O composto, além de atuar como anticoagulante, exerce função preservativa, desodorante e repelente de insetos. No entanto, o autor não menciona o destino que teria o sangue tratado desta forma.
5. Fibrisol. (marca comercial europeia). Utilizado por alguns autores para armazenar o sangue em perfeitas condições durante 3 a 4 dias, a temperaturas de 4 a 5°C (26).

2.5. Separação das frações do sangue .

A separação da massa celular do plasma efetua-se, geralmente, por meio da centrifugação (9) (39), este procedimento tem alcançado níveis comerciais (29) no mercado. Atualmente, existem separadores centrífugos contínuos de vários tipos e com capacidade de operação acima de 5000 litros de sangue por hora. A eficiência da separação é de vital importância e depende, dentre outros fatores , da forma do rotor e das velocidades de rotação (6). Alguma hemólise pode ocorrer durante a separação, dando como resultado, a presença de uma cor vermelha no plasma. No entanto, introduzindo-se solução de anticoagulante na centrífuga, pouco antes da operação ser iniciada, a hemólise pode ser diminuída consideravelmente (1). O tipo de separador mais utilizado é a centrífuga de câmara e discos (60) (18) (33) (26).

O emprego das centrífugas na indústria de processamento de produtos cárneos tem aumentado muito nos últimos anos. São utilizados para a separação ou durante o processamento, principalmente dos subprodutos, como é o caso da refinação de gordura , separação da massa celular do plasma sanguíneo, desengorduramento dos ossos, decantação do soro no sangue coagulado e outros. Isherwood (33) descreve os diferentes tipos de centrífugas utilizados para este propósito e afirma que, para obtenção de plasma, o sangue líquido tratado com anticoagulantes , deverá ser centrifugado num separador contínuo de câmara e discos, obtendo-se um rendimento de separação de plasma de 65 a 70%, se o sangue é coletado sem anticoagulantes, facilitando a formação do coágulo, o tipo de centrífuga a usar seria o decantador horizontal contínuo, o qual facilitaria a secagem na fabricação de farinha de sangue (33).

Outros autores têm realizado estudos, em escala de laboratório, com a finalidade de separar as frações do sangue, empregando -

métodos diferentes de centrifugação. Por exemplo, Porter M.C. e Michaels (50) efetuaram a separação do plasma da massa celular por ultrafiltração, utilizando filtros Diapor microporosos. O plasma apresentou uma porcentagem extremamente baixa de hemólise (menor do que 0,6%), o que já representava uma vantagem. Melville (43) propõe a utilização de um campo magnético - para separar os eritrócitos do sangue. Estas duas últimas técnicas, todavia, não foram ainda testadas em operações de escala industrial.

O plasma, após a centrifugação, pode ser tratado com preservativos, como clorofórmio, e estocado, em recipientes de aço inoxidável, a baixas temperaturas, 4 a 5°C. Nestas condições, pode ser conservado por um período de, no máximo, 48 horas. Uma outra opção é congelar o plasma em forma de flocos, embalá-lo em recipientes plásticos e estocá-lo a temperatura de -25° C até ser levado para o processamento.

2.6. Concentração e secagem do plasma.

O plasma líquido obtido após a centrifugação é utilizado, em alguns casos, na formulação de produtos cárneos processados (26). Contudo, este procedimento não é sempre praticado. Na maioria das vezes, por motivo de economia e para conseguir maior estabilidade do produto, efetua-se, logo após a centrifugação, uma concentração e/ou secagem para remover grande parte da água, a qual constitui cerca de 90% da composição do plasma. Por meio da concentração e/ou secagem diminui-se os custos excessivos de embalagem, armazenamento, transporte e, principalmente, confere-se ao produto maior estabilidade do ponto de vista microbiológico (57).

CONCENTRAÇÃO. A concentração é, na maioria dos casos, uma operação muito mais econômica que a secagem (57). Consequentemente, esta economia será aumentada-

se o produto pode ser concentrado até um valor o mais alto possível (46). A concentração máxima alcançável depende, dentre outros fatores, do tipo de operação utilizada na concentração. Por exemplo: a osmose inversa, em condições ótimas, pode concentrar até 20 ou 25%; a ultrafiltração até 20 ou 30% ; a evaporação até 50 ou 80%. Do ponto de vista econômico, quando comparam-se os custos de operação entre estes tipos de concentração, observa-se que os custos aumentam na sequência de: ultrafiltração, osmose inversa e evaporação (57) (58).

Na literatura consultada, observa-se que alguns autores efetuam a secagem do plasma imediatamente após a centrifugação (1) (9) (39) (40), enquanto que outros, antes da secagem, efetuam uma concentração (19) (28) (32), com a finalidade de diminuir os custos de operação na secagem (10) (46).

Dos tipos de evaporadores utilizados para a concentração do plasma, menciona-se o evaporador de filme descendente a vácuo. Alguns autores recomendam manter uma temperatura de no máximo, 54°C (32), durante a concentração, enquanto que outros consideram ideal a de 32°C (28). A utilização de baixas temperaturas deve-se ao fato de que a temperaturas maiores pode ocorrer a desnaturação das proteínas e, conseqüentemente, perdas no valor nutritivo.

A concentração por membranas é outra opção utilizada para concentrar o plasma. Nos últimos anos, o interesse pela utilização deste método na concentração e purificação de alimentos líquidos tem aumentado consideravelmente (42) (35) (50). Um exemplo de sua aplicação é a recuperação de subprodutos dos fluentes residuais das plantas processadoras de alimentos (30) (47). Muitos autores afirmam que qualquer alimento líquido, cujo valor nutritivo exista como substância macromolecular ou coloidal, pode ser concentrado e/ou desmineralizado, econômica

mente, mediante esta técnica de separação por membranas (57) (50) (37) (8) (44).

A ultrafiltração e a osmose inversa constituem o primeiro processo contínuo de separação molecular, que não envolve mudanças de fase ou estado. Isto faz com que este processo seja aplicado eficientemente na concentração de produtos termosensíveis (44) (50) (57) (56). A concentração por membranas tem sido aplicada com êxito ao soro de queijo (21) (31), à clara de ovo (37), a sucos de frutas e a outros alimentos (41) (35). A aplicação desta técnica na indústria de alimentos foi amplamente estudada por Porter e Michaelis (50). Segundo estes autores, a concentração das proteínas do plasma animal é uma aplicação direta desta operação, que tem sido empregada por outros autores na concentração dos plasmas bovino e porcino (19) (18) (23).

SECAGEM. Segundo Akers (1), a secagem do plasma efetua-se comumente em secadores de rolos. Nestes secadores, o contato prolongado do produto com a área de aquecimento-necessária para a remoção da água, provoca a perda do valor nutritivo do produto final. O problema pode ser diminuído, segundo o autor, utilizando-se secadores de leite fluidizado. Para a massa celular utiliza-se o secador de rolos. A secagem por asperção é, outro dos tipos de secadores, utilizado no processamento de subprodutos dos abatedouros. O sangue inteiro e a massa celular podem ser secos neste tipo de secador sem a necessidade de se efetuar uma prévia concentração, devido à sua elevada porcentagem de sólidos, que chega a, aproximadamente, 30% (55) (32).

A asperção no secador pode ser efetuada através de atomizadores centrífugos ou por esguichos a pressão. Em razão das proteínas do plasma pertencerem ao grupo de produtos termosensíveis, o sistema de secagem deve ser em paralelo, operando a

baixas temperaturas. A temperatura máxima de secagem deverá ser aproximadamente 70°C (55).

Durante o tratamento térmico na secagem de plasma, parte das proteínas coagula-se devido aos efeitos da desnaturação térmica. O plasma seco é quase 100% solúvel em água, mas, esta solubilidade dependerá muito da temperatura empregada durante a secagem (55). A digestibilidade do produto, sua capacidade de emulsificação, sua capacidade de formar espuma e seu valor nutritivo também apresentam diminuição durante tratamentos térmicos enérgicos (28) (59) (60). Os aminoácidos mais afetados são a metionina, o triptôfano e a lisina (9) (18).

O plasma seco pode ser utilizado numa grande variedade de produtos alimentícios, devido às suas excelentes propriedades funcionais e seu alto valor nutritivo (26) (1) (13) (65) (62) (20)

2.7. O sangue como alimento.

Nos últimos anos, a proteína animal adequada ao consumo humano tem sido cada vez mais escassa. Entretanto, quantidades consideráveis de sangue animal são desperdiçados anualmente diante da indiferença da indústria de alimentos (50)(65).

A utilização de sub-produtos de animais processados, como fonte potencial de alimentação humana, foi recentemente discutida por Satterler (55). Entre os sub-produtos estudados por este autor, inclui-se o sangue.

Pelas investigações feitas nos últimos anos (55) (18) (61) deduz-se que o sangue possui propriedades nutricionais e funcionais excelentes, as quais permitem e facilitam a sua utilização como alimento humano.

Os usos do sangue animal, até agora, têm sido em pequena escala, na elaboração de salsichas, hamburguers e carnes preparadas e, em escala industrial, empregado, na sua maioria, em rações animais e como componente na formulação de fertilizantes. Contudo, por representar uma boa fonte de proteína de alto valor biológico, existe um considerável interesse no fracionamento do sangue e no preparo de concentrados proteicos para consumo humano (65).

O sangue fresco, coletado sem anticoagulantes, e o soro de queijo têm sido estudados como ingredientes para a elaboração de pão. Este estudo foi feito por Bates e Col. (7), que avaliavam a influência da concentração do sangue misturado com o soro de queijo sobre o valor nutritivo e a aceitação dos pães elaborados. O valor nutritivo do pão no qual se adicionaram 10% de proteína obtida da mistura de 3 partes de sangue de porco e uma parte de soro de queijo apresentou, segundo os autores, um valor de PER igual a 1,85, muito superior ao pão comum, também estudado por eles e no qual encontraram um valor de PER de 0,64. A diminuição do volume e a cor escura foram as desvantagens apresentadas pelo pão obtido com a adição da mencionada mistura em comparação com o pão comercial comum.

Estudo similar ao anterior foi realizado por Espinosa (24), que adicionou no pão plasma de frango. Os resultados foram, evidentemente, superiores àqueles obtidos por Bates, já que, com 3,2% de proteína de plasma sanguíneo de frango, conseguiu-se um valor de PER igual a 2,02. Além disso, o volume do pão foi aumentado e sua cor apresentou-se quase igual à do produto comercial, sendo, em relação a este, apenas ligeiramente mais amarelado.

As frações correspondentes às proteínas do plasma e globina do

sangue bovino concentradas por "spray" apresentam características de emulsificação equivalentes às da albumina de ovo (54). Portanto, alguns autores têm proposto a substituição da albumina de ovo, em alguns produtos, por plasma animal (26) (13). Dill (20) verificou que adicionando somente 1% de plasma bovino seco por atomização nas formulações de salsichas e hamburguers, o efeito de adesividade dos produtos aumentava. Gordon (26) propões a substituição do gelo usado na fabricação de produtos cárneos, por plasma animal, aumentando assim o nível de proteína e adesividade do produto cozido. Propõe também a utilização da massa celular como pigmento adicional em carnes curadas.

Um método para fiação das proteínas foi descrito por Young e Lawrie (65). Eles verificaram que as proteínas do plasma porcino concentradas por liofilização e desnaturadas com álcali exibem propriedades adequadas para fiação. As fibras, obtidas por precipitação ácida e/ou salina, segundo eles, podem ser aceitas como um análogo da carne e apresentam um alto valor nutritivo.

As proteínas preparadas por ultrafiltração e secas por aspersão possuem, segundo Delaney (18), um alto valor nutritivo. A comparação dos aminoácidos essenciais do plasma concentrado com os de ovo revelou a isoleucina como aminoácido limitante. O autor conclui que as proteínas do plasma porcino podem complementar as proteínas de milho, soja e outras proteínas vegetais na dieta.

O estudo de algumas das propriedades funcionais do plasma de frango, o valor biológico de suas proteínas e sua utilização em panificação, elaborado por Espinosa (24), paralelamente ao presente estudo, revelou que o único aminoácido limitante das proteínas do plasma de frango é isoleucina. Contudo, este

aminoácido não se encontra em situação crítica, já que preenche 93% das exigências da FAO. Os valores de PER obtidos para o plasma são ligeiramente superiores à caseína, verificando-se um alto valor biológico para as proteínas de plasma de frango. Estas proteínas apresentaram aproximadamente 90% de digestibilidade, o que mostra sua fácil absorção pelo organismo humano.

3. MATERIAL

3.1. Amostra utilizada.

O material de estudo consistiu de sangue de frango, da raça "Peterson", com idade de 60 dias, coletado no abatedouro (Frango Soberbo, Louveira, São Paulo), durante a sangria dos animais. Utilizou-se um total de 1.200 kg de sangue, aproximadamente.

3.2. Reagentes utilizados.

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico das marcas: Reagen, Carlo Erba, Merck e Sigma.

3.3. Equipamentos.

- Centrífuga refrigerada "Sorvall Superspeed Model RC 2-B".
- Liofilizador "Virtis Model nº 10 - 146 MR - BA".
- Potenciômetro "Corning Digital 110".
- Agitador "V-Gyrotory Shaker Model V-37295".
- "Jar Bath Magni-WBL Model MW 1162 55 A-1".
- Espectrofotômetro "U.V. Spectrophotometer Perkim Elmer 402".
- Viscosímetro de tubos "Cannon-Fenske" (Std. test. ASTM D 445).
- Viscosímetro "Epprecht Contraves Model TV".
- Evaporador centrífugo a vácuo "Centri-Therm", Alfa - Laval, Model CT-B 1".
- Separador contínuo de laboratório "Alfa - Laval , Model LAPX 202 BGT-24-60".
- Bomba centrífuga "Alfa - Laval" tipo MM de 0,75 HP, construção sanitária".

- Unidade de laboratório "Reverse osmose/UF Model 111 RO-GA, Gulf Gral. Atomic".
- Secador "Spray" "Niro atomizer", Modelo 1199.
- Refratômetro "ATAGO N-94451".
- Balança "Dayton 0,25 kgs. Model CB 25".

Além destes foram utilizados outros equipamentos de uso comum no laboratório, como estufa, dessecador, balança analítica, etc., e materiais de vidro, tais como pipetas, buretas, beakers, etc.

4. MÉTODOS

O processo utilizado na recuperação das proteínas do plasma - sanguíneo de frango inclui as seguintes etapas:

- 4.1. Coleta do sangue,
- 4.2. Centrifugação do sangue,
- 4.3. Concentração do plasma e
- 4.4. Secagem do plasma.

4.1. Coleta do sangue.

Imediatamente após o corte da veia jugular das aves, o sangue ao ser conduzido por um canal plástico, era misturado com uma solução aquosa de citrato de sódio a 5%, a qual atuou como anticoagulante (24) (60) (23). Adicionou-se, de forma contínua, 100 ml de solução de anticoagulante para cada litro de sangue coletado. Desta forma, o sangue foi mantido em forma líquida.

A mistura sangue-anticoagulante era recolhido, de forma contínua, em recipientes plásticos de 15 lts e, imediatamente, cada lote de 60 litros era transportado ao laboratório para ser submetido a centrifugação.

O tempo entre coleta e centrifugação, nunca foi maior do que 3 horas.

4.2. Centrifugação do sangue.

O sangue foi fracionado, por centrifugação, em seus componentes, massa celular e plasma. A massa celular, fluido - mais denso, de cor vermelha, e o plasma, fluido menos denso, de cor âmbar, amarelo claro e translúcido.

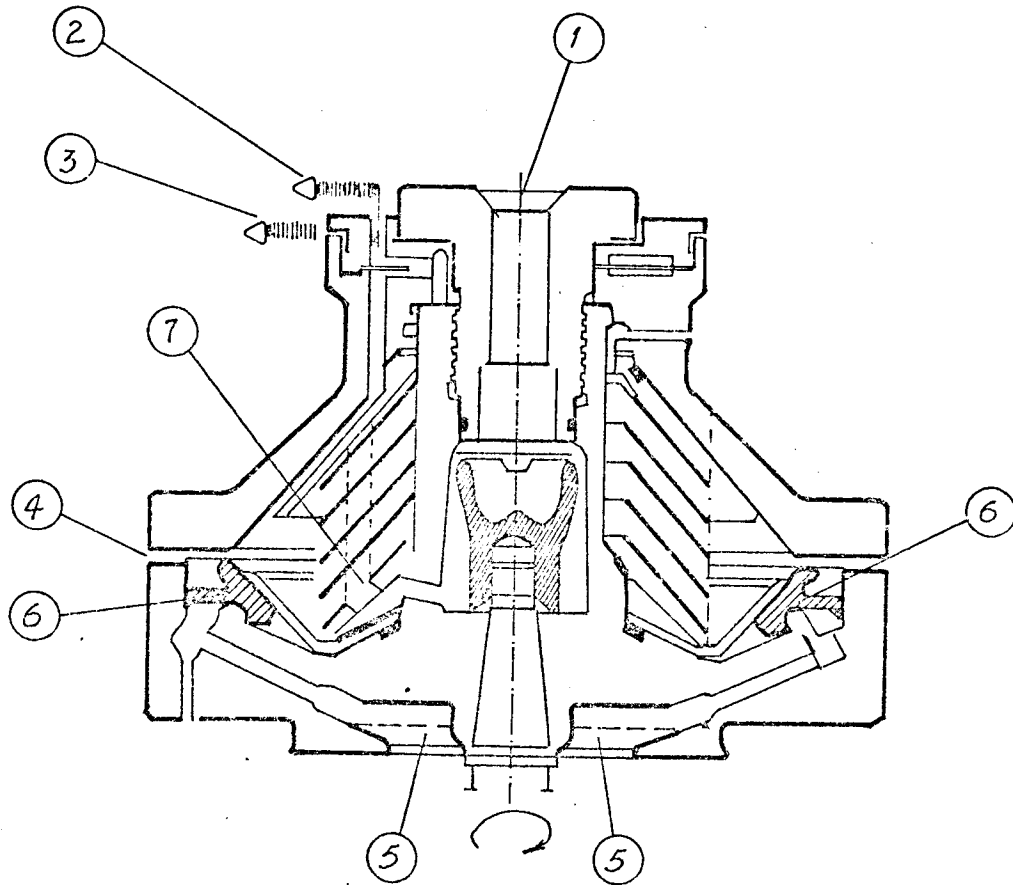
Para esta operação, utilizou-se a centrífuga contínua "Alfa - Laval" LAPX-202, o tipo de separação utilizado é conhecido, na literatura, como purificação (2), sendo que a escolha deste método foi determinado pelo interesse na obtenção de plasma com a menor quantidade possível de massa celular.

O sangue líquido era colocado nos recipientes de aço inoxidável, cuja capacidade é de 25 lts; por meio de uma bomba centrífuga, transporta-se o sangue ao separador centrífugo e, desta forma, deposita-se na entrada do sistema da centrífuga (Nº 1 Fig. 1); o líquido mais denso (massa celular) encaminha-se, pela ação da força rotacional, para a periferia do corpo da centrífuga, sendo, em seguida, expelida de forma contínua (Nº 2 Fig. 1). O plasma, líquido menos denso, circula pela seção tubular central através dos discos de separação da centrífuga, sendo expelido também de forma contínua (Nº 3 Fig. 1).

A vazão da água utilizada como líquido de operação (2) foi regulada através de uma válvula de bloqueio (Nº 10 Fig. 2); na tubulação do líquido de operação, empregou-se um filtro (Nº 11 Fig. 2) para evitar a entrada de impurezas no sistema da centrífuga; o líquido de operação circula pela seção exterior do sistema de separação (Nº 5 Fig. 1), exercendo pressão sobre o anel de selo (Nº 6 Fig. 1), eliminando, assim, o sistema de remoção de sólidos na centrífuga; desta forma, o raio da interfase de separação plasma-massa celular permanece constante durante a centrifugação (2).

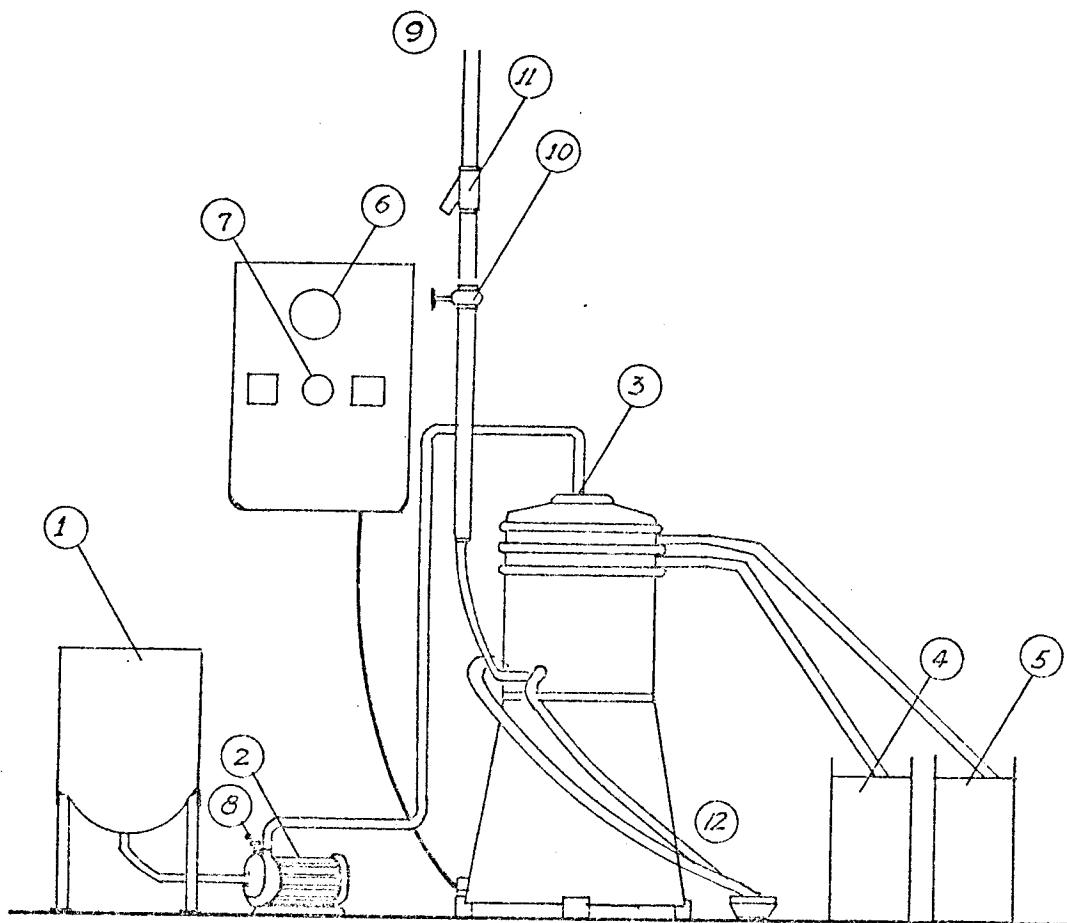
A massa celular e o plasma são coletados separadamente em recipientes de aço inoxidável (Nºs 4 e 5 Fig. 2); destes recipientes, foram tomadas amostras para as diferentes análises - realizadas.

Processa-se o plasma imediatamente ou, em caso contrário, é armazenado a temperaturas que oscilam entre 8 e 5°C, por um



1. Entrada do líquido ao sistema
2. Saída do líquido mais denso
3. Saída do líquido purificado
4. Descarga de sólidos
5. Líquido de operação
6. Anel de selo
7. Perfuração do disco

FIGURA 1. SEÇÃO TRANSVERSAL DO CORPO DO SEPARADOR CENTRÍFUGO.



1. Tanque de alimentação
2. Bomba centrífuga
3. Entrada ao separador centrífugo
4. Tanque do plasma centrifugado
5. Tanque da massa celular
6. Tacômetro
7. Potenciômetro
8. Válvula de regulagem
9. Líquido de operação (água)
10. Válvula do líquido de operação
11. Filtro
12. Saída do líquido de operação

FIGURA 2. ESQUEMA DA CENTRIFUGAÇÃO

período máximo de 24 hs; posteriormente, passa-se à fase seguinte: concentração e/ou secagem.

4.2.1. Parâmetros de operação na centrifugação.

A centrifugação contínua é influenciada, durante seu funcionamento, pelas seguintes variáveis: vazão de ali mentação, velocidade rotacional, temperatura e posição da interfase de separação plasma / massa celular. Cada uma destas variáveis foram estudadas e medidas das seguintes maneiras.

4.2.1.1. Vazão de alimentação.

O recipiente contendo sangue foi colocado sobre uma balança; do recipiente, o líquido a processar era transportado, por meio de uma bomba centrífuga, ao separador-centrífugo, que se encontrava funcionando na velocidade rotacional máxima (aproximadamente 8.750 rpm); imediatamente após a entrada do líquido, a velocidade rotacional desejada era ajustada por meio do potenciômetro. A vazão do líquido transportado pela bomba centrífuga foi regulada por meio da válvula de agulha da bomba.

Na unidade de tempo, pela diferença entre o peso inicial e o peso final do recipiente contendo o sangue, determinou-se a vazão do líquido a centrifugar; alcançou-se o regime num período de 5 minutos; no entanto, para efeito de estudo da influência da vazão de alimentação sobre a eficiência de separação, efetuaram-se leituras em intervalos de cada 6 minutos.

As vazões de alimentação estudadas foram: 100; 150; 200; 250 e 300 kg/h.

4.2.1.2. Velocidade rotacional.

A velocidade rotacional utilizada foi determinada pela leitura direta no tacômetro do equipamento e a regulação da velocidade rotacional desejada efetuava-se logo após a entrada do sangue. Centrifugou-se o sangue com as se-

guintes velocidades rotacionais: 5000; 6000; 7000 e 8000 rpm.

4.2.1.3. Temperatura.

Centrifugou-se o sangue para todos os casos, na faixa de temperaturas de 25° a 30°C, ou seja, a temperatura na qual se encontrava após ser coletado e transportado ao laboratório.

4.2.1.4. Posição da interfase de separação plasma/massa celular.

A posição da interfase plasma/massa celular na separação num campo centrífugo depende do raio das descargas dos líquidos (Fig. 3) e das densidades dos líquidos em operação (10).

Os discos de gravidade ou discos de bloqueio do separador centrífugo, são utilizados para modificar o raio da descarga do líquido mais denso; desta forma, a posição da interfase poder ser ajustada. Os discos de gravidade utilizados foram aqueles cujos raios medem 26,5; 27,5; 29; 30,5 e 32mm.

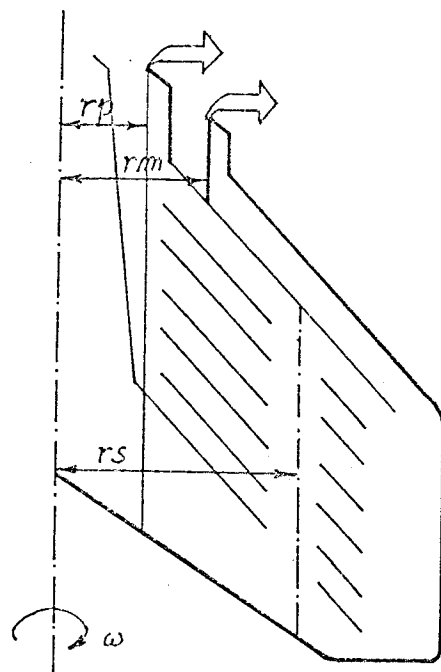
4.2.2. Propriedades do fluido que influenciam na separação.

Pela literatura consultada (10) (48) (2), observa-se que, entre as propriedades dos fluidos mais importantes, as quais apresentam efeito na separação, mencionam-se as seguintes: densidade dos líquidos (massa celular e plasma) e viscosidade do fluido da fase contínua (plasma).

Para as determinações de densidade de plasma e massa celular e para a viscosidade do plasma, prepararam-se as amostras segundo o método que se descreverá no item 4.2.3.1.

Em ambos os casos, para a determinação de densidade e viscosidade, utilizou-se, para o controle de temperatura, o banho térmico visível com agitação magnética "Jar Bath Magni-Wril".

4.2.2.1. Determinação da densidade do plasma e da massa celu -



r_p raio da descarga do fluido purificado

r_m raio da descarga do fluido mais denso

r_s raio da interfase de separação

FIGURA 3. ESQUEMA DA POSIÇÃO DA INTERFASE EM UM SEPARADOR CENTRÍFUGO DO TIPO DE CÂMARA E DISCO.

lar a diferentes temperaturas.

Utilizaram-se, separadamente, 50 ml de plasma e de massa celular, efetuando-se as determinações de densidade por triplicado, seguindo o método 9.009 AOAC. 11a.Ed. (5). As temperaturas estudadas foram: 5°, 10°, 20°, 30° e 40°C.

4.2.2.2. Determinação da viscosidade do plasma.

Para esta determinação, utilizaram-se 10 ml de amostra; as determinações, por triplicado, foram feitas empregando-se viscosímetros de tubo "Cannon-Fenske", conforme o método descrito na Std. ASTM (12); tais determinações foram realizadas para as temperaturas de 5°, 10°, 20°, 30° e 40°C.

4.2.3. Análise do plasma.

Foram feitas determinações de umidade, proteína, nitrogênio não proteico (NNP), óleo e cinzas, em amostras de plasma preparado segundo o método descrito a seguir em 4.2.3.1.

Todas as análises foram feitas com quatro repetições, cujos valores médios estão apresentados no capítulo dedicado aos resultados.

4.2.3.1. Preparação e determinação da composição porcentual das amostras dos fluídos na entrada e na saída da centrífuga.

O seguinte método foi utilizado para determinar a composição porcentual em volume das amostras de sangue antes da centrifugação e dos fluídos obtidos na saída do separador centrífugo, assim como para a preparação das amostras para as análises efetuadas no plasma e na massa celular: 320 ml da amostra, dispostos em 8 tubos de 50 ml, (40 ml cada um), foram centrifugados na centrífuga "Sorvall", nas seguintes condições: utilizou-se a velocidade rotacional de 8000 rpm equivalente, em nosso caso, a força centrífuga relativa de 10.444 G; por um espaço de 30 minutos; após a centrifugação, o volume do líquido sobrenadan-

te(plasma) de cada tubo medido. O volume da fração depositada no fundo do tubo (massa celular) foi determinado pela diferença entre o volume inicial e o volume do líquido sobrenadante.

4.2.3.2. Sólidos totais.

Foram determinados segundo o método 16.032;AOAC 11^a. Ed. (5).

4.2.3.3. Nitrogênio total.

Determinado pelo método Kjeldahl, descrito no AOAC - 11a. Ed. (5), cujo teor, multiplicado pelo fator - 6,25, representa a porcentagem de proteína bruta.

4.2.3.4. Nitrogênio não proteico.

Determinado pelo método de Moog's, mencionado em (14).

4.2.3.5. Óleo.

Determinou-se o óleo segundo o método descrito no AOAC 11a. Ed.(5), utilizando-se o aparelho de extração contínua de "Goldfish".

4.2.3.6. Cinzas.

A determinação das cinzas foi feita segundo o método 7.010, descrito no AOAC 11a.Ed.(5).

4.3. Concentração do plasma.

Na concentração do plasma, foram utilizados dois processos diferentes, a saber: concentração por evaporação à vácuo e concentração por membranas. Em ambos os casos, estudou-se o efeito de algumas das variáveis de operação do equipamento utilizado no concentrado obtido.

4.3.1. Concentração por evaporação à vácuo.

O equipamento empregado para esta operação foi o evaporador centrífugo à vácuo "Centri-Therm" da Alfa-Laval (Fig. 4).

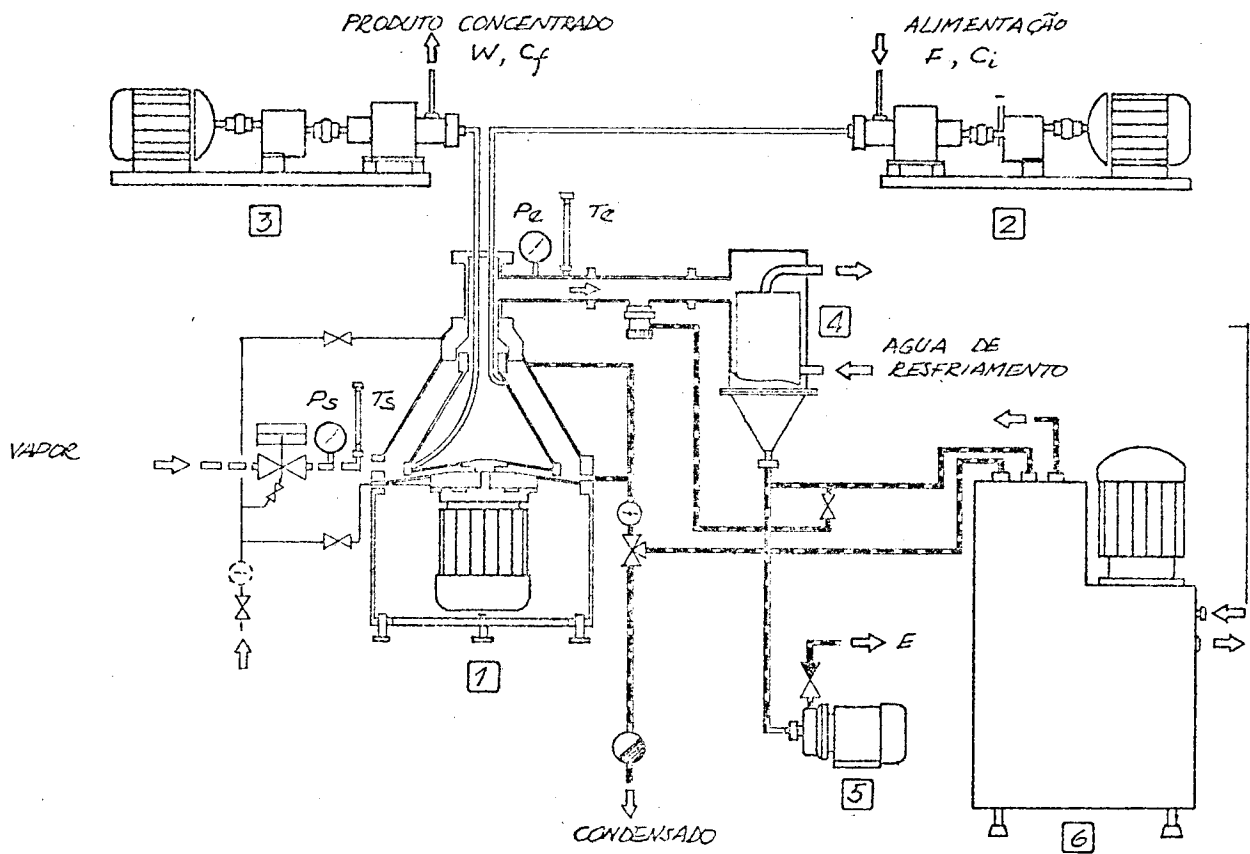


FIGURA 4. ESQUEMA DA CONCENTRAÇÃO DO PLASMA POR EVAPO-
RAÇÃO A VÁCUO:

O plasma foi introduzido na parte superior do cone do sistema de evaporação, por meio de uma bomba de alimentação. Devido à força centrífuga, o líquido formava imediatamente uma película muito fina e passando pela superfície do sistema de aquecimento, (9-10 seg.), efetua-se a evaporação. A temperatura de evaporação na camisa é diminuída pela ação do vácuo. O plasma concentrado se depositava no fundo do cone, de onde era expelido através de bombeamento, sendo introduzido diretamente, de forma contínua, nos recipientes destinados ao produto final (4). (Fig. 4).

Utilizaram-se, em cada operação, lotes de 40 litros de plasma e o produto concentrado foi levado imediatamente a etapa seguinte.

4.3.1.1. Parâmetros de operação na concentração por evaporação à vácuo.

Todas as variáveis de operação no evaporador "Centri-Therm" foram determinadas seguindo os métodos descritos no Manual de Operações do "Centri-Therm CT-1B" com as condições de operação para concentração de produtos termo-sensíveis (57).

As condições utilizadas durante a concentração foram as seguintes:

a) Para o vapor de aquecimento (Fig. 4).

$$P_s = 1,2 \text{ kg/cm}^2$$

$$t_s = 100 - 105^\circ\text{C}$$

b) Para o vapor do produto (Fig. 4)

$$-P_e = 0,55 \text{ kg/cm}^2$$

$$t_e = 43 - 45^\circ\text{C}$$

c) Para a alimentação do plasma

O plasma, cuja concentração inicial de sólidos é de 4,8% , foi levado ao evaporador e, mediante recirculações sucessivas, foram obtidas as concentrações especificadas no Quadro 2.

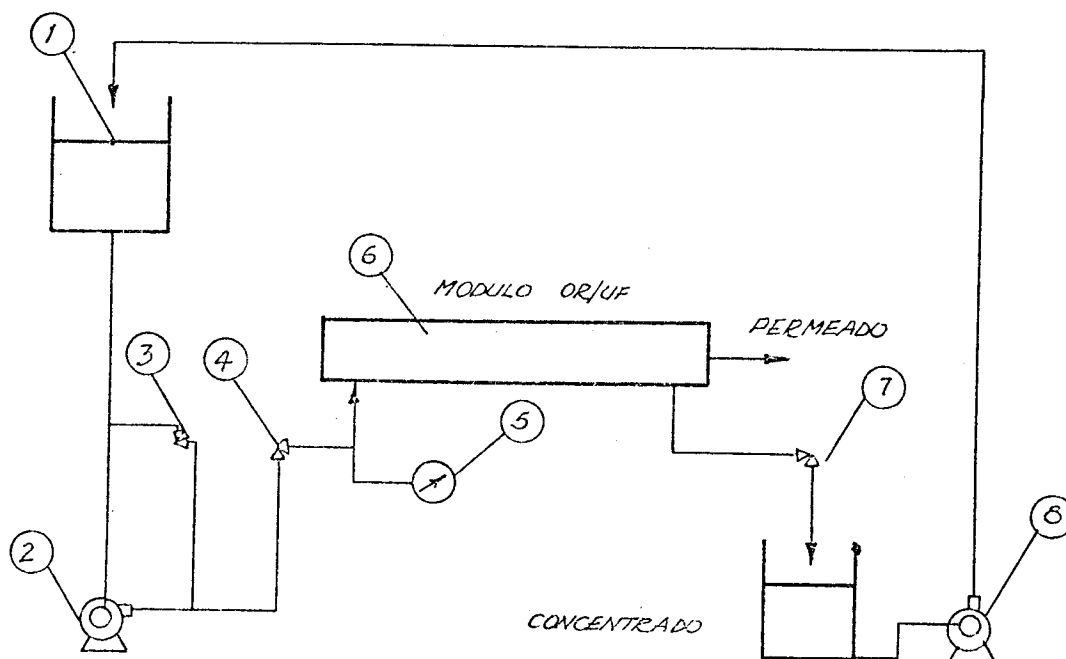
QUADRO 2 . Condições de alimentação utilizadas para a concentração do plasma, no evaporador "Centri-Therm".

Passagem	Temperatura tp (°C)	Concentração inicial Ci (% sólidos)	Vazão F(kg/hr)
1	15	4,8	80
2	18	9,8	60
3	20	12,5	35
4	25	15,8	25

4.3.2. Concentração por membranas (Osmose Inversa).

O equipamento utilizado na concentração por osmose inversa foi a unidade de laboratório da "Gulf General Atomic" modelo III. Na Fig. 5 , está apresentado o diagrama de fluxo da concentração do plasma por osmose inversa.

O plasma, por meio da bomba de alimentação foi depositado, de forma contínua, no recipiente de alimentação da unidade de osmose inversa, mantendo-se um nível de plasma de , no mínimo , 3/4 partes do volume total do recipiente. Mediante uma bomba de pistão, o plasma foi transportado do recipiente de alimentação ao módulo de osmose inversa. A vazão de alimentação foi regulada por meio da válvula de recirculação e a pressão por meio da válvula de orifício. O módulo da membrana pertence ao tipo de suporte do sistema em espiral (53). A membrana é de aceta-



1. Recipiente de alimentação
2. Bomba de pistão
3. Válvula de recirculação "by pass"
4. Válvula de alimentação
5. Manômetro
6. Módulo da membrana
7. Válvula do orifício
8. Bomba centrífuga

FIGURA 5. DIAGRAMA DE FLUXO DA CONCENTRAÇÃO DO PLASMA POR OSMOSE INVERSA:

to de celulosa do tipo 3003-B e a área útil total da membrana utilizada é de aproximadamente $0,93 \text{ m}^2$ (27).

O plasma concentrado e o líquido permeado foram recoletados - em recipientes separados.

4.3.2.1. Parâmetros de operação na concentração por membranas. A pressão e a vazão de alimentação regularam-se respectivamente por meio das válvulas, números 3 e 7 da Fig. 5 .

Os parâmetros de operação estudados foram os seguintes: vazão de alimentação, fluxo do permeado, fluxo do concentrado, pressão no módulo, concentração do fluido na alimentação e temperatura.

- a) Vazão de alimentação. Foi determinada pela medição direta - dos volumes de concentrado e do permeado na unidade de tempo (ml/min.). As vazões utilizadas foram as seguintes: 200, 400, 600 e 800 ml/min.
- b) Fluxo do permeado e do concentrado. Foram medidos os volumes do permeado e do concentrado recoletados em um período de 2 minutos e os resultados foram expressos na base da área útil total da membrana utilizada em unidades de $(\text{ml}) / (\text{min})(\text{m}^2)$.
- c) Pressão no módulo. As pressões de operação utilizadas foram 7, 14, 21, 28, 35, 42 kg/cm^2 ; pressões maiores do que 42 kg/cm^2 não foram estudadas já que excederia os limites de - segurança do equipamento usado (27).
- d) Concentração na alimentação. O plasma foi processado conforme descrito em 4.3.2. e periodicamente tomavam-se amostras do plasma na alimentação, para a determinação do teor de sólidos totais, pelo método descrito em 4.3.3.6. Uma vez alcançada a concentração desejada, efetuaram-se as determinações e me

dições dos parâmetros antes mencionados. Utilizaram-se na ali mentação as seguintes concentrações: 5, 10 e 15% de sólidos - totais.

e) Temperatura. Utilizou-se em todos os casos, para a concen- tração por membranas, a temperatura de 25°C.

4.3.3. Análises do plasma concentrado.

Durante a concentração do plasma no evaporador "Centri- therm", foram tomadas amostras do plasma durante a ali- mentação e do plasma concentrado. Na concentração por osmose- inversa, tomaram-se amostras dos líquidos na alimentação, na saída do concentrado e na saída do permeado, efetuando-se aná- lises de sólidos totais, cinzas, densidade e viscosidade a 20°C, concentração de proteína e índice de refração.

4.3.3.1. Sólidos totais.

Determinaram-se segundo o método 16.032 da AOAC (5).

4.3.3.2. Cinzas.

Determinou-se segundo o método 7.010 descrito na - AOAC (5).

4.3.3.3. Densidade a 20°C.

Seguiu-se o método 9.009 da AOAC (5).

4.3.3.4. Viscosidade a 20°C.

Foi determinada, em 150 ml de amostra, utilizando-se o viscosímetro "Epprecht Contraves" modelo TV e o ele- mento de medida MS-1. (22).

4.3.3.5. Conteúdo de proteína.

Foi determinado pelo método colorimétrico de Biureto, utilizado na determinação de proteína no sôro sangui- neo (63).

4.3.3.6. Índice de refração.

Foi determinado utilizando-se o refratômetro "Atago", na temperatura de 20°C.

Foi elaborada uma curva padrão graficando-se os valores conhecidos dos índices de refração versus porcentagens de sólidos totais. Posteriormente, durante a concentração do plasma, os índices de refração das amostras foram lidos diretamente no refratômetro. Desta forma, as porcentagens de sólidos totais das amostras foram determinadas pelo uso da curva padrão (Fig. 11).

4.4. Secagem do plasma.

Utilizou-se, para a secagem do plasma, a unidade de laboratório "Niro Atomizer Spray Dryer". O sistema de secagem do secador por atomização utilizado pertence ao tipo descendente em paralelo (10).

O plasma foi processado da seguinte forma: o líquido foi depositado no tubo de alimentação do atomizador centrífugo por meio de uma bomba peristáltica: simultaneamente, no mesmo atomizador centrífugo, introduzia-se ar à pressão, pelo tubo de entrada de ar do atomizador (Fig. 6); o plasma líquido encaminhava-se pelo dispersor ao canal radial do atomizador; e, finalmente, pela saída do canal radial, o plasma era aspergido em forma de chuva na câmara de secagem; as partículas, finalmente divididas, entravam em contato com o ar quente, efetuando-se a secagem.

O sistema de aquecimento, para o ar na entrada da câmara de secagem, está formado por resistências elétricas; um termopar, para o sistema de aquecimento, situava-se dentro do tubo de entrada do ar aquecido e a temperatura do ar na saída do secador registrava-se por meio de um outro termopar (Fig. 6).

Efetua-se a recuperação do produto seco por meio do separador ciclônico do secador. O produto de cada lote, era classifi

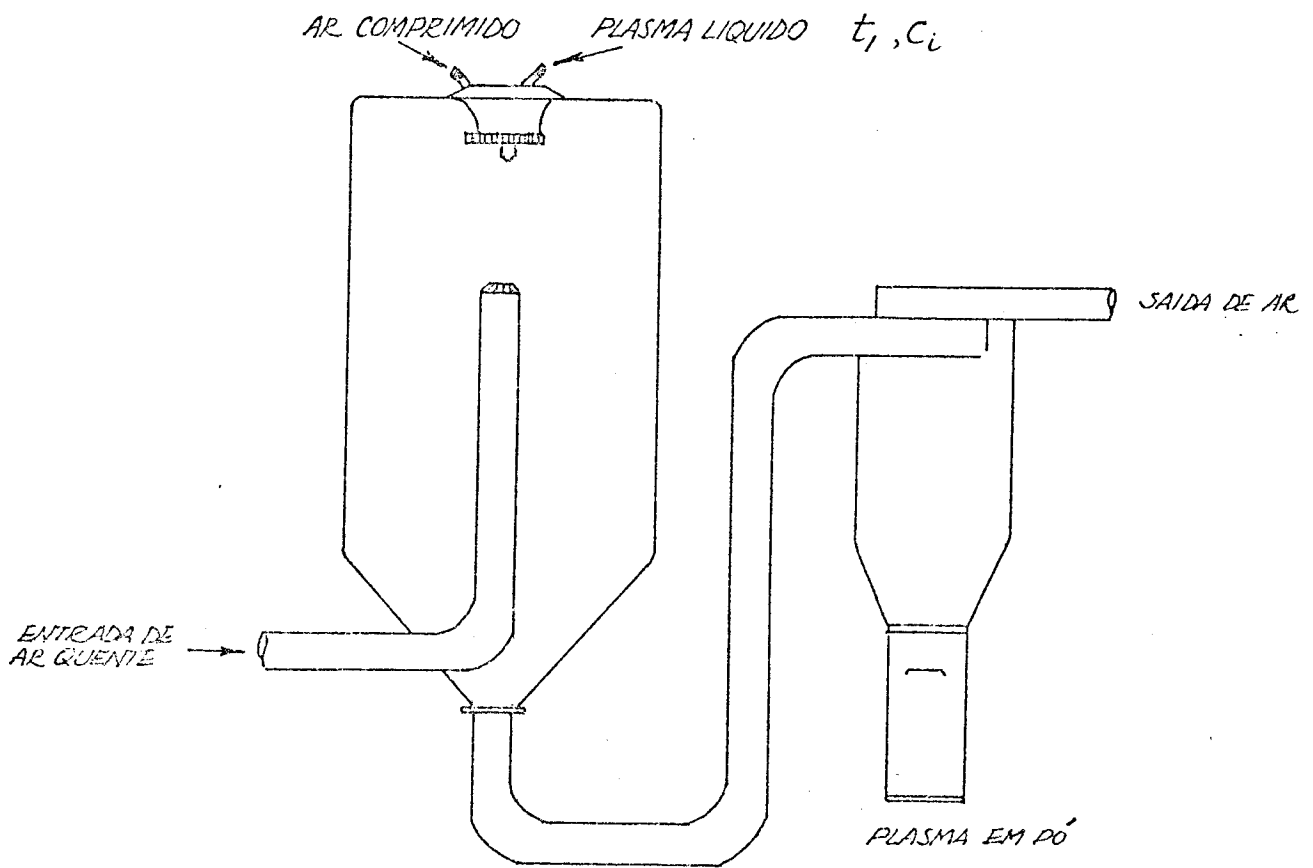


FIGURA 6. DIAGRAMA DO SECADOR POR ASPERÇÃO DE FLUXO DESCENDENTE EM PARALELO.

ficado, e imediatamente, uma parte do lote era tomada como amostra (100 gramas) para efeito de análises e o restante armazenado em vidros hermeticamente fechados, e, desta forma, mantidos na geladeira a temperaturas de 5 a 10°C.

4.4.1. Efeito da temperatura na secagem do plasma.

Plasma sem concentrar e plasma concentrado pelos dois processos estudados foram levados ao secador "spray", para efeitos de estudo; durante a secagem, variou-se a temperatura do ar na entrada do secador. Utilizaram-se quase as mesmas condições de secagem para os diferentes lotes de plasma líquido, tentando, assim, correlacionar os resultados do produto seco de cada lote com os efeitos da secagem.

4.4.1.1. Secagem do plasma não concentrado.

O plasma líquido obtido na centrifugação foi levado diretamente ao secador sem prévia concentração. Utilizaram-se as seguintes temperaturas para o ar na entrada do secador: 150° e 200°C; e, na saída do secador, as temperaturas de 82° e 107°C, respectivamente. Os produtos secos foram identificados como SC 150 e SC 200, para efeito de classificação e análises.

4.4.1.2. Secagem do plasma concentrado por evaporação à vácuo.

O plasma líquido, que fora concentrado no evaporador "Centri-Therm" até 10,5 e 25,1% de sólidos totais, respectivamente, foi levado ao secador, nas condições de secagem assinaladas no Quadro 3.

QUADRO 3 . Temperaturas do ar, na entrada e na saída do secador, utilizadas para a secagem do plasma previamente concentrado no evaporador "Centri-Therm" a 10,5 e 25,1 % de sólidos.

Concentração na alimentação (% de sólidos)	Temperatura do ar		Classificação
	na entrada (°C)	na saída (°C)	
10,5	215 ± 5	100 ± 10	10 CT 210
25,1	221 ± 5	97 ± 5	25 CT 221
25,1	132 ± 3	60 ± 5	25 CT 132

4.4.1.3. Secagem do plasma concentrado por Osmose Inversa.

O plasma líquido que fora concentrado na unidade de osmose inversa até 10 e 15% de sólidos totais, respectivamente, foi levado ao secador nas condições de secagem assinaladas no Quadro 4 .

QUADRO 4 . Temperaturas do ar, na entrada e na saída do secador, utilizadas para a secagem do plasma previamente concentrado por Osmose Inversa, na concentração de 10 e 15% de sólidos, respectivamente.

Concentração na alimentação (% de sólidos)	Temperatura do ar na entrada (°C)	Temperatura do ar na saída (°C)	Classificação
10	210 ± 6	96 ± 7	10 RO 210
15	210 ± 5	96 ± 5	15 RO 210

4.4.2. Análise do plasma seco.

4.4.2.1. Umidade.

Foi determinada segundo o método 16,032; AOAC 11a. Ed. (5).

4.4.2.2. Cinzas.

A determinação foi feita segundo o método 7,010, descrito no AOAC, 11a. Ed. (5).

4.4.2.3. Proteína.

Foi determinada por colorimetria pela reação de biu-

reto, segundo o método descrito por Villela (63).

4.4.2.4. Densidade Aparente.

Foi determinada da seguinte forma: numa proveta de 50 ml de peso conhecido, colocava-se amostra até o volume de 40 ml; posteriormente, determinava-se o peso da bureta contendo a amostra e relacionava-se o peso da amostra com o volume por ela ocupado. Repetia-se a experiência 5 vezes; o resultado representa o valor médio das determinações.

4.4.2.5. Determinação da solubilidade das proteínas do plasma em diferentes pHs.

A solubilidade foi determinada segundo o método descrito por Tybor (61); os pHs estudados foram: 2; 4; 5; 6; 8 e 10 e a determinação de proteína foi realizada pelo método descrito por Villela (63).

4.4.2.6. Determinação da porcentagem de desnaturação térmica das proteínas do plasma.

Esta porcentagem foi determinada para o plasma líquido concentrado pelos dois processos descritos (evaporação a vácuo e osmose inversa) e para todas as amostras de plasma-seco, segundo o método descrito por Tybor (59).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela literatura consultada, mencionada em 2.3 , observou-se que existem diversas possibilidades para a recuperação das proteínas do plasma sanguíneo animal. O processo utilizado no presente estudo inclui as seguintes etapas:

a) Coleta do sangue com anticoagulante.

Este método é o mais utilizado atualmente na Europa Continental (1), devido ao seu alto rendimento de recuperação de plasma quando comparado com o método de coleta do sangue sem anticoagulante na obtenção do coágulo (32). O anticoagulante utilizado no presente estudo, foi o citrato de sódio (24).

b) Centrifugação do sangue.

Esta etapa se faz necessária para fracionar o sangue em seus componentes: massa celular e plasma (6).

c) Concentração do plasma.

As finalidades desta etapa são: Reduzir o volume do líquido para abaixar os custos de estocagem, embalagem e transporte; Concentrar o produto para reduzir os custos de operação da etapa seguinte (10); Facilitar sua preservação; Purificar a proteína durante a concentração, como é o caso de concentração por membranas (50).

e) Secagem do plasma.

Fundamentalmente, a secagem é utilizada para diminuir a disponibilidade da água no produto até o nível no qual não existe a possibilidade do crescimento de microrganismos, obtendo-se um produto muito mais estável (57). A secagem tem também a fi-

nalidade de reduzir os custos de estocagem, embalagem e transporte (46).

5.1. Coleta do sangue.

Na literatura consultada são mencionados diversos compostos que atuam como anticoagulantes, descritos em 2.4.1., sendo mais frequentemente utilizado pelos autores, o citrato de sódio, na concentração final de 1%, para sangue porcino e bovino (19) (32). Para o sangue de frango, Espinosa (24), estudou o efeito da concentração de citrato de sódio como anticoagulante, e os melhores resultados que obteve foram para a concentração final de 0,5%; assim, utilizou-se esta concentração para a coleta do sangue de frango.

A contínua adição de anticoagulante durante a coleta (100 ml de solução/litro de sangue) e a concentração final de 0,5%; mostraram ser eficientes para manter o sangue em estado líquido, não se observando formação de coágulo no sangue tratado desta forma.

5.2. Centrifugação do sangue.

Devido à importância que possui a centrifugação na obtenção do plasma, considerou-se necessário estudar alguns dos parâmetros mais importantes nesta operação. Primeiramente, determinou-se a posição da interfase na separação plasma-massa celular, em função do tipo de centrífuga utilizada, já que desta determinação dependem os outros parâmetros. Nesta primeira parte, compara-se a teoria com os resultados obtidos na prática, a fim de se determinar a posição da interfase, que é modificada pelo uso de discos de bloqueio.

Posteriormente, estudam-se os fatores que influenciam na sedimentação, tais como: densidade, tamanho da partícula, viscosidade e temperatura, com a finalidade de se estabelecer as condições ótimas para obter uma melhor separação entre o plasma e a massa celular.

Finalmente, com os resultados obtidos nas experiências anteriores estudaram-se, para a centrifugação do sangue numa centrífuga de câmara e disco, os seguintes parâmetros de operação: vazão de alimentação e velocidade rotacional, com a finalidade de estabelecer as melhores condições de operação na obtenção do plasma.

A maioria dos autores utiliza, na separação da massa celular, as centrífugas de câmara e disco ou equipamento similar como os separadores de leite (18) (23) (28) (33) (39).

A centrífuga utilizada neste estudo (Fig. 2), a qual pertence a este tipo, mostrou-se adequada para a separação da massa celular e o plasma, visto que, na sua operação, a aceleração do líquido a processar, na entrada do sistema, é feita gradualmente (2), o que ajuda a evitar a hemólise (33), e, durante a separação, o líquido quase não tem contato com o ar, evitando a formação de espuma (2), a qual dificultaria a separação.

5.2.1. Determinação da interfase de separação plasma/massa celular.

A posição da interfase na separação plasma/massa celular, depende do raio das descargas dos fluídos na separação (Fig. 3), e das densidades dos líquidos processados. Teoricamente, expressa-se esta relação da seguinte forma (10) (2):

$$r_s^2 - r_m^2 = (D_p / D_m) (r_s^2 - r_p^2) \quad \text{eq. 1}$$

Na Figura 3, encontram-se representadas as posições dos raios (r_s , r_p , r_m). Destes, o raio da descarga do fluído menos denso (r_p) é fixo, o qual tem um valor de 25,2 mm para a centrífuga utilizada (2); o raio da interfase (r_s) possui, para o mesmo equipamento, quando utilizado como purificador, valores entre 53 e 60 mm, ou seja, a posição na qual estão situadas as perfurações dos discos de separação (2). O raio da descarga do líquido mais denso (r_m) corresponde ao raio do disco de grava-

de, que é utilizado como disco de bloqueio para a massa celular. Este raio (r_m) é determinado através da equação nº 1, utilizando-se os valores obtidos na determinação da densidade do plasma e da massa celular segundo o método descrito em 4.2.2.1., e os valores dos raios r_s e r_p descritos anteriormente.

A relação D_p / D_m da equação nº 1, para as temperaturas de 10º; 20º; 30º e 40ºC, teve um valor constante igual a 0,94 (Quadro 6). O valor teórico para r_m , obtido através da mesma equação, flutua entre 27,66 e 28,51 mm; os raios dos discos disponíveis no equipamento utilizado, cujos valores aproximam-se dos raios teóricos encontrados na equação 1, são: 27,5 e 29 mm, respectivamente.

Experimentalmente, foram testados 5 discos de gravidade com as seguintes condições de operação:

Velocidade rotacional	=	7500 rpm
Temperatura	=	25ºC
Vazão de alimentação	=	100 lt/h

Os resultados das análises efetuadas na saída do líquido purificado e na saída do líquido menos denso, utilizando o método descrito em 4.2.3.1., para os 5 discos utilizados, encontram-se resumidos no Quadro 5.

QUADRO 5 . Efeitos do disco de gravidade na composição percentual do plasma e massa celular, nas descargas dos líquidos mais denso e menos denso no separador centrífugo LAPX-202.

Raio do disco de bloqueio (mm)	Porcentagem (em volume), na saída do líquido:					
	Menos denso (X):			Mais denso (Y):		
	Total (%)	Plasma (%)	Massa (%)	Total (%)	Plasma (%)	Massa (%)
26,5	65	90	10	35	33	67
27,5	60	97	3	40	30	70
29,0	55	98	2	45	36	65
30,5	50	100	-	50	40	60
32,0	45	100	-	55	45	55

No Quadro 5 observa-se que, a medida em que aumenta o raio do disco de gravidade, a descarga do líquido menos denso (X), diminui. Isto é devido à diminuição do bloqueio para a descarga do líquido mais denso (Y).

Para o disco de gravidade de 26,5 mm encontrou-se uma elevada porcentagem de massa celular (10%), na saída do líquido menos denso (X). Este fenômeno apresenta-se quando o raio da interface é menor do que a posição das perfurações dos discos na centrífuga (53-60 mm). Isto é comprovado teoricamente subs -

tituindo-se o valor do raio do disco utilizado em r_m para a equação 1, encontra-se um valor de 42mm, aproximadamente, para o raio da interfase de separação.

Para os discos de gravidade cujo raio é igual ou maior do que 27,5 mm, os resultados obtidos para a porcentagem de plasma - na saída do líquido purificado são satisfatórios; no entanto, a porcentagem de plasma na saída do líquido mais denso, cujo valor poderia ser expressado em tempos de perda, cresce ao aumento do raio do disco de bloqueio utilizado.

Com a equação 1, utilizada para a determinação da posição da interfase na separação de líquidos inmiscíveis, obtém-se resultados semelhantes, já que, desta equação, deduz-se que a melhor separação ocorreria com a utilização do disco de bloqueio de raio igual a 27,5 mm, devido a que o raio da interfase obtido com este disco, encontra-se próximo à posição das perfurações dos discos. Observa-se também, utilizando a mesma equação, que, para os discos de bloqueio cujo raio é igual a 29; 30,5 e 32 mm, respectivamente, o raio da interfase é maior do que a posição das perfurações dos discos, o que resulta no aumento de plasma na saída do líquido mais denso (2).

O plasma obtido na centrifugação, operando-se com o disco de bloqueio de raio igual a 27,5 mm, apresentou uma cor âmbar - amarelo-claro e translúcido. Evidentemente, para este disco de bloqueio, apresentaram-se os melhores resultados experimentais e teóricos; portanto, este foi o disco utilizado nas experiências seguintes de centrifugação.

5.2.2. Fatores que influenciam na separação.

Quando uma partícula (sólida ou líquida) circula através de um meio viscoso, pela influência da força da gravidade, atingirá uma velocidade constante, depois de um certo tempo. Esta velocidade é conhecida como: velocidade final de

sedimentação (Vg), a qual, derivada da Lei de Stokes, expressa-se da seguinte forma (48) (10):

$$Vg = \frac{d^2 (D_p - D_l) g}{18 \mu} \quad \text{eq. 2}$$

Num campo centrífugo, a força gravitacional é substituída pela força centrífuga aplicada. Murkes, mencionado em (2), utilizou a equação anterior no seu estudo sobre os fatores que influenciam a separação de azeites minerais; utilizando uma centrífuga de câmara e disco; no seu estudo, estabelece que, para este tipo de centrífuga, a equação 2 pode ser expressada da seguinte forma, resultando a equação 3:

$$Q = \left[\frac{d^2 (D_p - D_l)}{18 \mu} \right] \left[(2,094) w^2 N \cot \alpha (r_1^3 - r_2^3) \right]$$

eq. 3

O primeiro termo da equação 3 corresponde à Lei de Stokes ou às propriedades dos líquidos na separação, enquanto que, o segundo termo da equação, corresponde às características do equipamento utilizado. As propriedades dos líquidos, segundo se observa na equação 3, que influenciam a separação, são: densidade da partícula (D_p), densidade da fase contínua (D_l), tamanho da partícula a separar (d) e viscosidade da fase contínua (μ).

DENSIDADE: da equação 3, deduz-se que a velocidade de sedimentação crescerá com o aumento da diferença de densidades entre a partícula e o fluido da fase contínua, massa celular e plasma, respectivamente. Em alguns casos, a diferença de densidade entre a partícula e o líquido da fase contínua pode ser aumentada pela elevação da temperatura ou por diluição.

As determinações das densidades do plasma e da massa celular a diferentes temperaturas encontram-se resumidas no Quadro 6 ; o método utilizado na determinação foi descrito em 4.2.2.1.; os dados obtidos na unidades gr/cm^3 foram convertidos nas unidades de kg/m^3 por serem estas as unidades utilizadas na literatura consultada (2) (6) (10), para as equações 2 e 3.

QUADRO 6 . Densidade do plasma e da massa celular a temperaturas de 5°, 10°, 20°, 30° e 40°C.

Temperatura (°C)	Densidade em kg / m^3 de:		Diferença de densidades ($D_p - D_l$)
	Massa Celular (D_p)	Plasma (D_l)	
5°	1100 \pm 0,7	1037 \pm 1	63
10°	1096 \pm 5	1031 \pm 2	65
20°	1095 \pm 2	1029 \pm 1	66
30°	1094 \pm 3	1027 \pm 1	67
40°	1086 \pm 8	1022 \pm 2	64

Pela determinação da densidade do plasma e massa celular à diferentes temperaturas (Quadro 6), observa-se que a densidade diminui com o aumento da temperatura. No entanto, os efeitos destas temperaturas na densidade de ambos os fluídos parecem ser os mesmos, já que não apresentaram uma variação considerável nos resultados da diferença de densidade.

Uma outra possibilidade, utilizada em outros compostos, para

aumentar a diferença entre os componentes a separar, é a diluição (2); no entanto, para o sangue, requer-se muito cuidado neste ponto, já que a diluição pode provocar a hemólise com muita facilidade (9). Por exemplo, a adição de água no sangue provoca a hemólise da massa celular (60). Porém, esta possibilidade não foi estudada.

TAMANHO DA PARTÍCULA (d): outro fator que possui influência na velocidade final de sedimentação é o tamanho da partícula (eq.3). Em nosso caso, as células foram consideradas como partículas, cujo diâmetro médio é igual a 7μ (34). Os métodos mencionados na literatura para aumentar o tamanho das partículas pelo emprego de agentes químicos (floculantes), para favorecer a separação (2) (48), não podem ser utilizados para os glóbulos vermelhos, já que qualquer ruptura na parede celular daria como resultado a liberação de hemoglobina ou fenômeno de hemólise (20) (32) (34), conferindo ao plasma a cor vermelha, o que, dependendo de seu uso, seria indesejável (9) (28).

VISCOSIDADE : pela equação 3, observa-se que a viscosidade do fluido da fase contínua (plasma), é inversamente proporcional à velocidade final de sedimentação; isto é, diminuindo a viscosidade, como sucede com o aumento da temperatura, a velocidade final de sedimentação aumentará. A viscosidade do plasma determinada para diferentes temperaturas, segundo o método descrito em 4.2.2.2., está representada na - Figura 7 .

Pela determinação da viscosidade do plasma a diferentes temperaturas (Fig. 7), observa-se que, para a faixa de temperaturas estudadas, as quais foram representadas pelo inverso da temperatura absoluta, existe uma correlação linear positiva bem definida frente ao log. da viscosidade. Para o ajustamento da

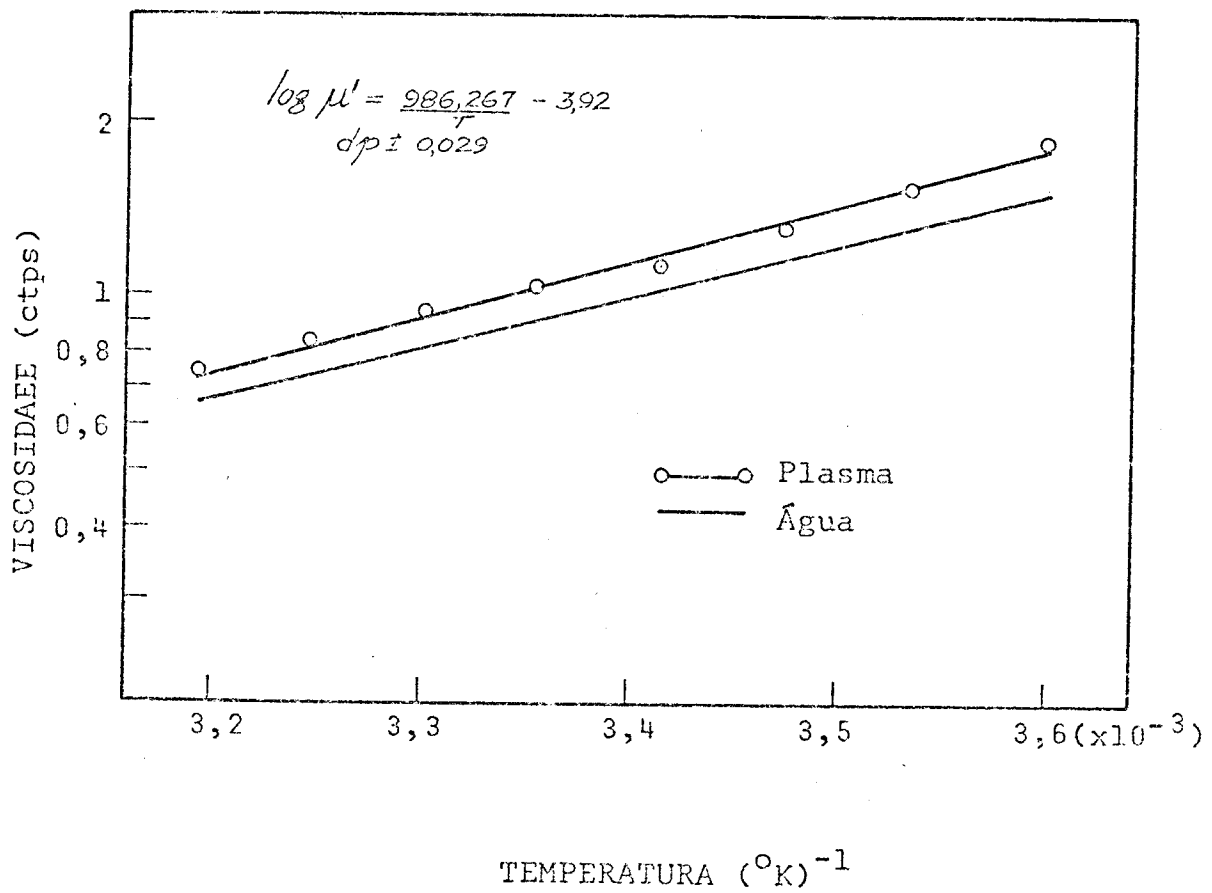


FIGURA 7. EFEITO DA TEMPERATURA NA VISCOSIDADE DO PLASMA À TEMPERATURAS ENTRE 5° E 40°C.

curva, utilizou-se o seguinte modelo : (48).

$$\text{Log. } \mu' = (a / T) - b \quad \text{eq. 4}$$

A viscosidade (μ'), na eq. 4, está expressa em centipoises e a temperatura (T) em $^{\circ}\text{K}$; os valores de (a) e (b) foram determinados por regressão do (Log. μ') para ($1/T$); a equação resultante apresentou um desvio padrão igual a $\pm 0,029$ para a viscosidade determinada experimentalmente.

Observa-se que a viscosidade diminui proporcionalmente com o aumento da temperatura. Para efeito de comparação, na Fig. 7, foram representadas as viscosidades da água e do plasma, observando-se que a viscosidade da última é maior do que a da primeira. No entanto, o plasma apresenta o mesmo comportamento para as diferentes temperaturas estudadas.

Durante a determinação da viscosidade do plasma a temperaturas iguais ou maiores do que 50°C , observou-se a presença de coágulos. Isto é devido, provavelmente, à coagulação da fração albumina, a qual constitui a maior parte das proteínas do plasma (59) (24).

TEMPERATURA: a influência da temperatura na velocidade final de sedimentação está representada na Fig. 8 . Para o cálculo desta velocidade, assumimos que o tamanho da partícula permanece constante diante das alterações da temperatura.

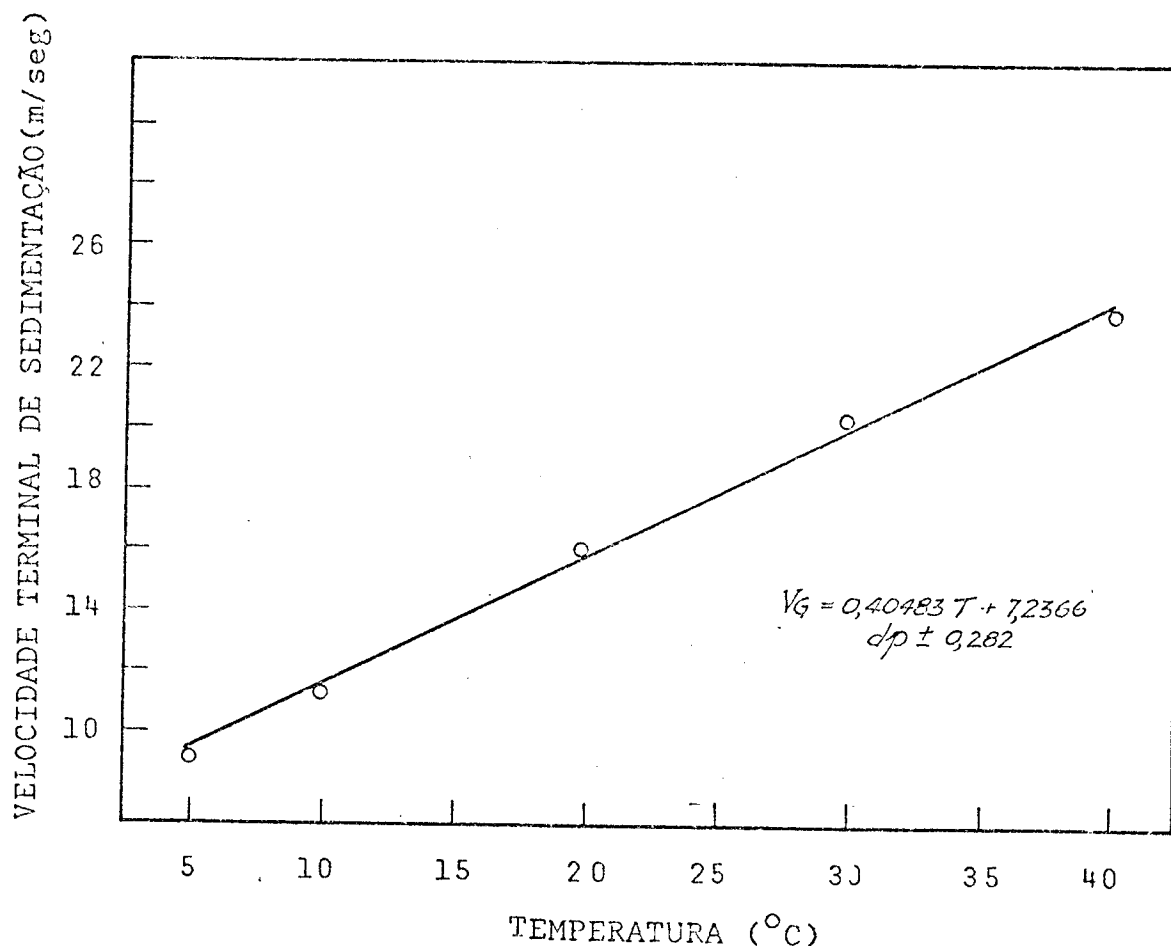


FIGURA 8. EFEITO DA TEMPERATURA NA VELOCIDADE TERMINAL DE SEDIMENTAÇÃO À TEMPERATURAS ENTRE 5° e 40°C.

Observou-se que a velocidade final de sedimentação cresce proporcionalmente com o aumento da temperatura, (Fig. 8), sendo a viscosidade a propriedade dos componentes do sangue que

mais contribui para este crescimento com o aumento da temperatura. Para a centrifugação do sangue, deduz-se que os melhores resultados de separação são obtidos na faixa de temperaturas - de 35° a 40°C. Temperaturas maiores do que 40°C causariam a coagulação parcial das proteínas do plasma (28)(59)(9).

Alguns autores propõem a utilização de equipamento de resfriamento antes de centrifugar o sangue, para aumentar a eficiência da separação (1). Tal conceito encontra-se em desacôrdo com os resultados que obtivemos, representados na Fig. 8, onde a velocidade final de sedimentação apresentou, com o aumento da temperatura, uma correlação positiva linear bem definida.

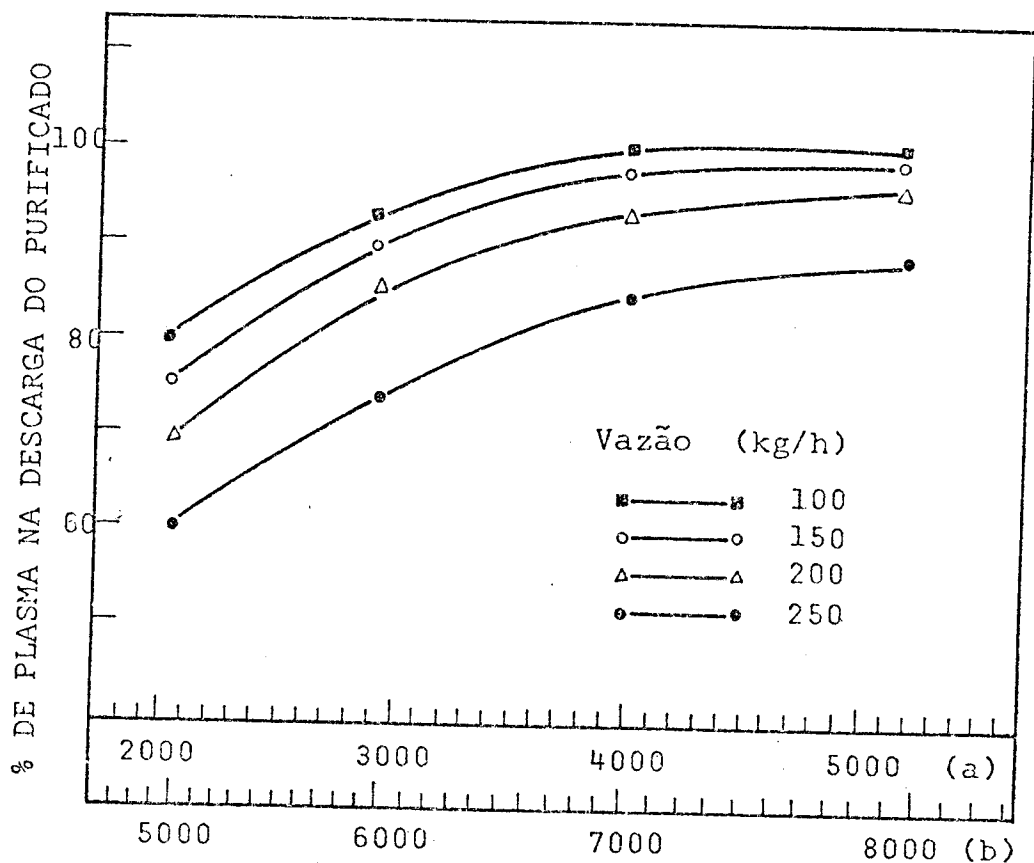
5.2.3. Parâmetros de operação na centrifugação.

Uma vez determinado o raio do disco de gravidade(27,5mm) e o efeito da temperatura na velocidade final de sedimentação, centrifugou-se o sangue a diferentes condições de vazão de alimentação e de velocidade rotacional. Representou-se na Fig. 8, para efeitos de comparação a força rotacional máxima (gravidade) paralelamente à escala da velocidade rotacional utilizada. A análise do líquido na descarga do fluído - purificado corresponde à qualidade ou porcentagem de plasma na amostra determinada segundo o método descrito em 4.2.3.1.

A Figura 9 mostra os resultados obtidos das experiências realizadas na determinação dos efeitos da fôrça rotacional na eficiência de separação da centrífuga à diferentes vazões de alimentação. De fato, observa-se que o aumento da força rotacional favorece a separação, obtendo-se os melhores resultados - com as velocidades rotacionais máximas do equipamento utilizado. O resultado, porém, está de acordo com a eq. 3, na qual pode-se observar a influência direta da velocidade angular no segundo termo da equação.

O incremento na vazão de alimentação dá como resultado uma di-

minuição no rendimento de separação (Figura 9). Isto poderia de ver-se, fundamentalmente, ao tempo de residência da massa celular no corpo da centrífuga, tempo este que diminui com o aumento da vazão de alimentação.



- (a) Força Rotacional em Gravidades, G.
- (b) Velocidade Rotacional em RPM.

FIGURA 9. EFEITO DA FÔRÇA ROTACIONAL NA EFICIÊNCIA DE SEPARAÇÃO À DIFERENTES VAZÕES DE ALIMENTAÇÃO.

Conclui-se que, para centrifugar o sangue num separador centrífugo de câmara e disco, cujo volume do corpo de separação é igual a 350 ml (2), as melhores condições de operação são:

Temperatura = 30 - 35°C
 Velocidade Rotacional = 7000 - 8000 rpm
 Força Rotacional = 4000 - 5250 G
 Vazão de Alimentação = 100 - 150 kgs/h
 Raio do disco de blo-
 queio = 27,5 mm

Com as condições anteriores, obteve-se um rendimento de recuperação de aproximadamente 82% do total de conteúdo original de plasma no sangue.

5.2.4. Análises químicas do plasma.

No Quadro 7 , estão apresentados os valores médios correspondentes à composição química do plasma, efetuados segundo os métodos descritos em 4.2.3.

QUADRO 7 . Análises químicas do plasma líquido.

Determinação de :	(%)		d.p.
Sólidos totais	4.55	±	0.17
Proteína (N x 6,25)	3.08	±	0.25
Nitrogênio não Proteico	0.06	±	0.002
Cinzas	1.24	±	0.21

Verificou-se que o conteúdo de proteína no plasma de frango (Quadro 7) é menor que aqueles encontrados por outros autores (26) (29) (45) para os plasmas de outras espécies, como o bovino e porcino. O conteúdo de proteína destes últimos é de aproximadamente, 7,3% e 6,8%, respectivamente. Contudo, a porcentagem de proteína no plasma sanguíneo do frango mostra-se com um desvio padrão ligeiramente elevado, devido, certamente, à idade, sexo e alimentação da ave.

5.3. Concentração do plasma.

A concentração do plasma foi realizada através de duas operações unitárias diferentes, com o propósito de comparar os efeitos dos diferentes tratamentos utilizados no produto final. As operações utilizadas na concentração do plasma foram: (1º) -evaporação a vácuo, a qual consiste na remoção de uma parte do solvente, nosso caso água, sob a forma de vapor, aumentando a concentração da solução diluída; (2º) Osmose Inversa, a qual consiste numa operação contínua de separação molecular, - (50), que não envolve mudança de fase.

5.3.1. Concentração por evaporação a vácuo.

Na evaporação a vácuo, utilizou-se o evaporador "Centri-Therm", devido às vantagens que oferece quando comparado com outros tipos de evaporadores na concentração de produtos termo-sensíveis (57).

Nesta parte, variaram-se as condições na alimentação com a finalidade de se obter o plasma com diferentes concentrações, determinando-se para cada experiência o coeficiente de transferência de calor.

Efetuarão-se as seguintes análises físicas e químicas no plasma concentrado: sólidos totais, proteína, cinzas, índice de refra-

ção, densidade e viscosidade. Os resultados das determinações - de cada uma das análises foram correlacionados com a concentração, estabelecendo-se, por regressão do ajustamento da curva , as equações de cada análise em função da concentração. Apresentou-se para cada equação o desvio padrão entre os dados experimentais e a curva. Estas análises tem como objetivo estabelecer os efeitos da concentração em algumas das propriedades físicas e químicas do plasma.

5.3.1.1. Condições de operação na concentração do plasma por evaporação a vácuo.

Na concentração do plasma por evaporação a vácuo, utilizou-se a temperatura de 45°C. Foi selecionada esta temperatura considerando-se que o plasma pertence aos produtos classificados como altamente termo-sensíveis (32) (50). Mann Heim , mencionado em (57), estabelece que as temperaturas adequadas - para a concentração deste tipo de produto está na faixa de 30 a 45°C para um tempo de residência entre 0,5 e 5 minutos. Acima de 50°C, ocorre a coagulação parcial das proteínas do plasma , sendo este um fator importante que deverá ser considerado durante a concentração do plasma por evaporação (59). Os evaporadores utilizados para a concentração destes produtos devem operar com tempos curtos de contato e baixas temperaturas, para evitar a possível decomposição do produto (57).

No Quadro 8 , é apresentada uma comparação, segundo Mann Heim dos tempos de residência para diferentes tipos de evaporadores.

QUADRO 8 . Comparação dos tempos de residência para diferentes tipos de evaporadores (57).

Tipo de evaporador	Nº de etapas	Tempo de residência
Filme ascendente	1	aproximadamente 1 min.
Filme descendente	1	aproximadamente 1 min.
Placas	3	4 minutos
Filme agitado	1	20 - 30 segundos
"Centri-Therm"	1	1 - 10 segundos

O equipamento utilizado neste estudo foi o evaporador "Centri-Therm", no qual o tempo de residência em condições ótimas é de, aproximadamente, 9 segundos (4). Trata-se de um equipamento de escala piloto, cuja área de transferência de calor é igual a $0,09\text{m}^2$, com uma capacidade máxima de evaporação de 50 kg/h. As condições utilizadas durante a concentração do plasma foram especificadas em 4.3.1.

O coeficiente de transferência de calor foi determinado para cada operação ou passagem utilizando-se a seguinte equação (4) (10) (48):

$$U = E H_{\text{vap}} / A (T_s - T_e) \quad \text{eq. 5}$$

Os resultados obtidos durante a concentração do plasma encontram-se resumidos no Quadro 9. No mesmo, inclui-se o valor do coeficiente de transferência de calor, o qual foi determinado por cálculo empregando-se a eq. 5. Durante a concentração do plasma por evaporação a vácuo, observou-se a formação de espuma na câmara de evaporação, de onde era transportada, pelo vapor do produto, ao condensado. O condensado apresentou, em alguns dos casos, concentrações entre 4 e 5% no conteúdo de sólidos totais.

QUADRO 9. Concentração do plasma no evaporador "Centri-Therm".

CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO:	PASSAGENS				
	1	2	3	4	
Vapor:					
(Ps) pressão	kg/cm ²	1,2	1,2	1,2	1,2
(Ts) temperatura	°C	100	100	100	100
Alimentação:					
(F) vazão	kg/h	80	60	35	25
(Ci) concentração	% (sol.)	4,8	9,8	12,5	15,8
(Tp) temperatura	°C	15	18	20	25
Valor do produto:					
(Pe) pressão	kg/cm ²	-0,55	-0,55	-0,55	-0,55
(Te) temperatura	°C	45	45	45	45
Concentrado:					
(W) vazão	kg/h	35,6	27,5	20,0	15,4
(Cf) concentração	% (sol.)	10,5	17,5	21,5	24,75
Condensado:					
(E) vazão	kg/h	44,4	32,5	15,0	9,7
Coef. de transf. de Calor:					
(U) Kcal/m ² . h . °C		5130	3750	1730	1120

A vazão de alimentação teve que ser diminuída enquanto aumentava-se a concentração de alimentação (Quadro 9), para poder-se obter a concentração final desejada. A diminuição da vazão se faz necessária já que, durante a concentração do plasma, a viscosidade aumenta proporcionalmente com a concentração (Figura 13), aumentando, porém, a espessura do filme e provocando a queda do coeficiente de transferência de calor (4) (57), como se pode observar no Quadro 9 .

O concentrado obtido, de cor âmbar escuro, não apresentou precipitados, pelo contrário, trata-se de um líquido homogêneo , cujas características físicas e químicas mencionam-se em 5.3.1.2.

5.3.1.2. Características físicas e químicas do plasma concentrado.

Foram realizadas, no plasma concentrado, as seguintes análises químicas: sólidos totais, proteína e cinzas (Fig.10). As análises físicas incluem as determinações de: índice de refração, densidade e viscosidade, os resultados destas últimas, encontram-se representados nas Figuras 11 , 12 e 13, respectivamente.

PROTEÍNA E CINZAS. Pelos resultados das análises químicas efetuadas no plasma concentrado (Fig.10), observou-se que, existe uma correlação linear positiva bem definida, tanto para a porcentagem de proteína como para a porcentagem de cinzas, quando relacionadas com a concentração; para cada curva, foi determinada a pendente, assumindo-se que a origem de ambas as retas é igual a zero; o desvio padrão de cada curva, foi determinado, a partir da curva e dos valores experimentais.

ÍNDICE DE REFRAÇÃO. Devido às vantagens que oferece, a determi

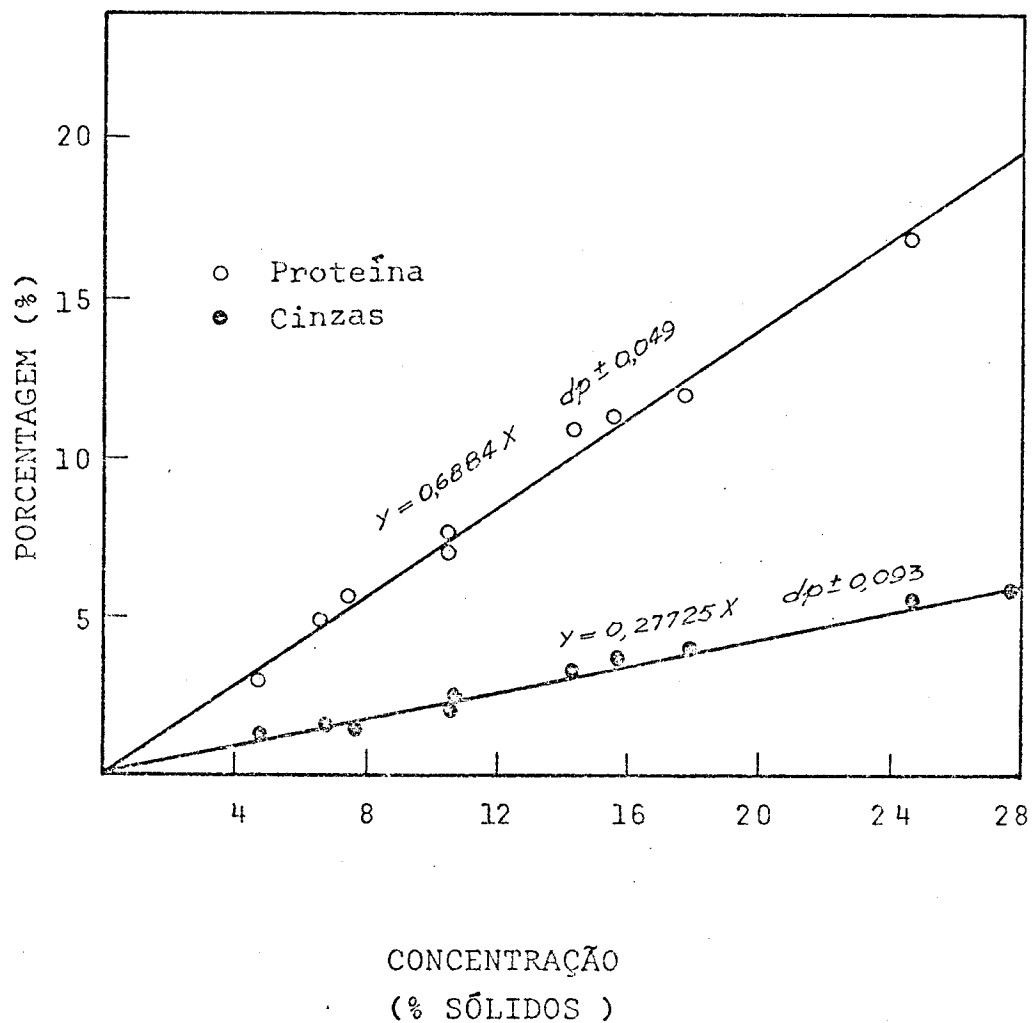


FIGURA 10. EFEITO DA CONCENTRAÇÃO NOS CONTEÚDOS DE PROTEÍNA E CINZAS DO PLASMA CONCENTRADO.

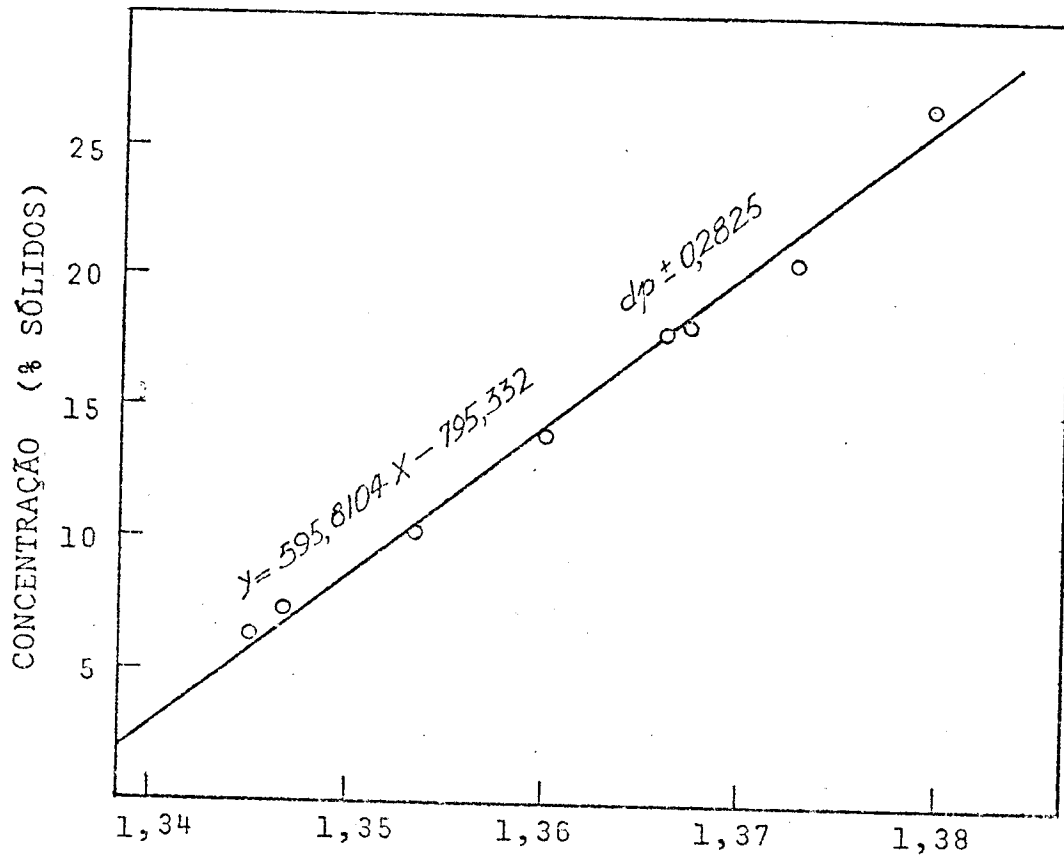
nação do índice de refração, praticidade e rapidez, foi elaborada uma curva padrão (Fig. 11), que apresenta o índice de refração de amostras cuja porcentagem de sólidos totais é conhecida. Desta forma, determinou-se, indiretamente, a porcentagem de sólidos totais durante o processamento. A equação da curva, obtida pela regressão da concentração para o índice de refração, apresentou um desvio padrão igual a $\pm 0,2825$, para a porcentagem de sólidos, determinada segundo o método descrito em 4.3.3.1.

DENSIDADE. Pelas determinações da densidade na temperatura de 20°C , para o plasma concentrado (Fig. 12), observou-se que, para a faixa de porcentagens de sólidos totais estudada, existe, uma correlação linear positiva bem definida. O ajustamento da curva por regressão de Y para X apresentou um desvio padrão igual a $\pm 0,002177$ para a densidade - em g/cm^3 determinada experimentalmente. A equação encontrada mostra no coeficiente de correlação angular a contribuição da concentração na densidade. Pode observar-se, por exemplo, que a densidade é igual a $0,99872 \text{ g}/\text{cm}^3$ quando a concentração é igual a zero, ou seja, a densidade da água nessa temperatura. Na literatura (48), encontrou-se que o valor da densidade da água a 20°C é igual a $0,99823 \text{ g}/\text{cm}^3$, praticamente, não existe uma diferença significativa entre ambos os resultados.

VISCOSIDADE. Os resultados das determinações da viscosidade do plasma à temperatura de 20°C , para a concentração entre 4,6 e 30% de sólidos totais, encontram-se representados na Fig. 13. Para o ajustamento da curva utilizou-se a seguinte equação (48):

$$\log. \mu' = a' X - b' \quad \text{eq. 6}$$

A viscosidade μ' , para a equação 6, está expressa em centipoises



ÍNDICE DE REFRAÇÃO

FIGURA 11. EFEITO DA CONCENTRAÇÃO NO ÍNDICE DE REFRAÇÃO DAS SOLUÇÕES DE PLASMA NA TEMPERATURA DE 20°C.

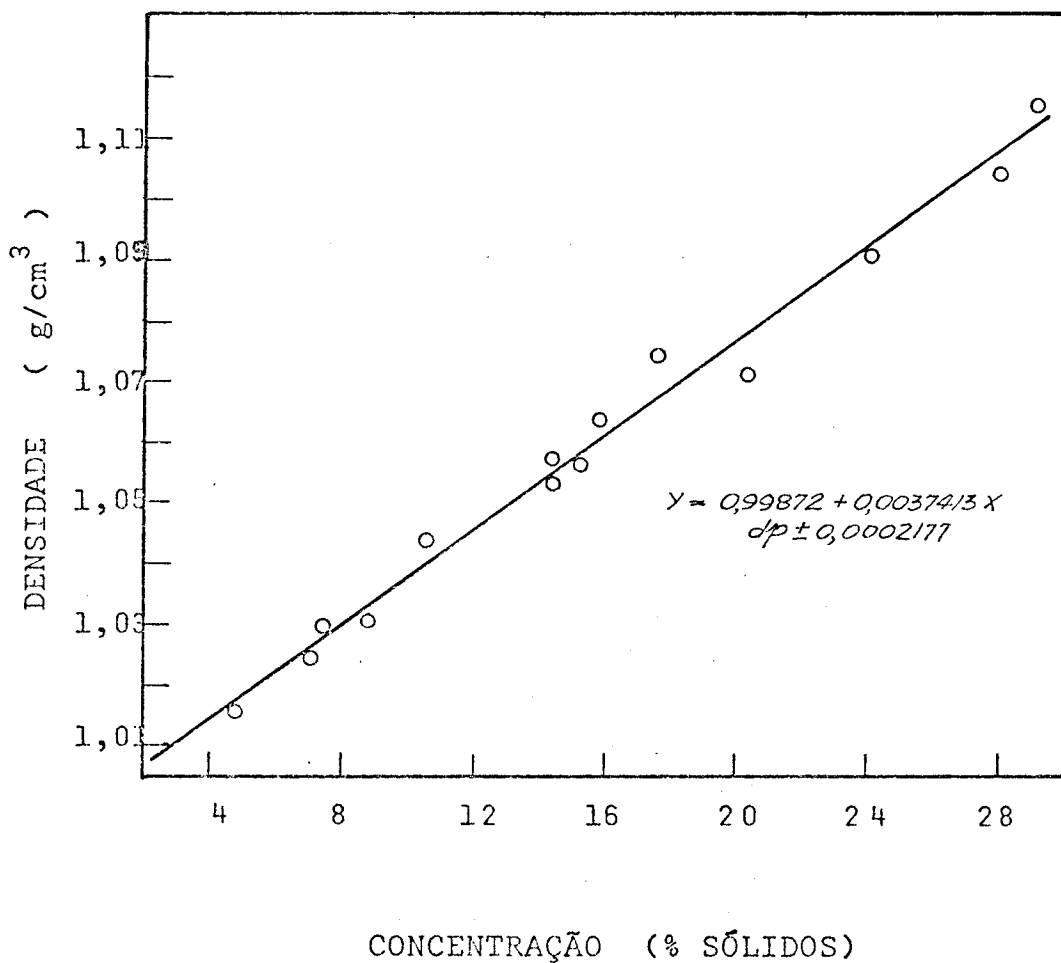


FIGURA 12.. EFEITO DA CONCENTRAÇÃO NA DENSIDADE DO PLASMA NA TEMPERATURA DE 20°C.

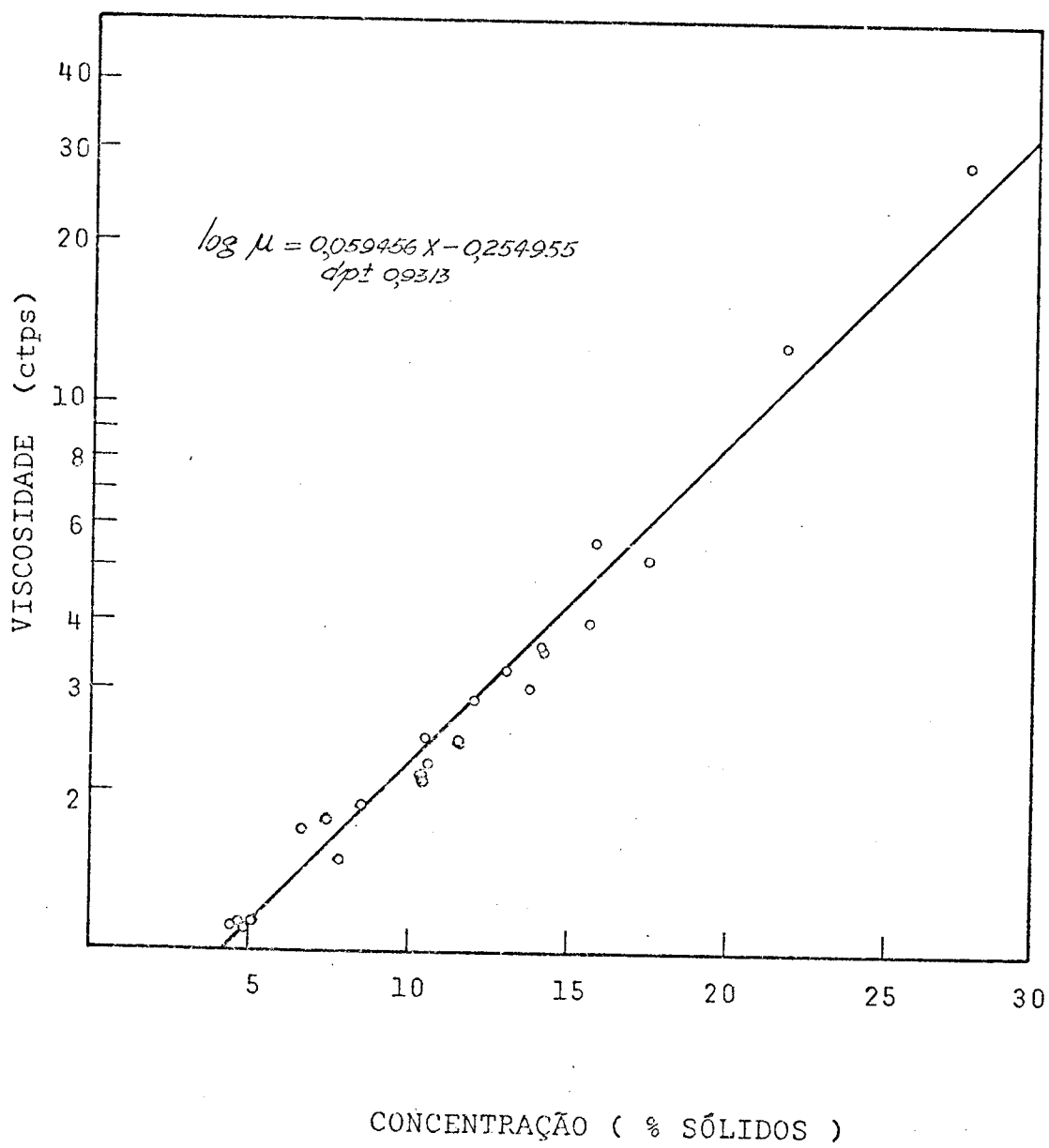


FIGURA 13. EFEITO DA CONCENTRAÇÃO NA VISCOSIDADE DO PLASMA NA TEMPERATURA DE 20°C.

e a variável X da equação corresponde à porcentagem de sólidos totais. Os valores de a' e b' foram determinados por regressão do log. μ para X; a equação resultante apresentou um desvio padrão igual a $\pm 0,9313$ para a viscosidade determinada pelo método descrito em 4.3.3.4.

5.3.2. Concentração do plasma por osmose inversa.

O uso de membranas na concentração das proteínas do plasma apresenta muitas vantagens, quando comparado com outros processos de concentração, como a evaporação (50) (58). A ultrafiltração e a osmose inversa são consideradas como uma operação contínua de separação molecular, a qual não envolve mudanças de fase (44) (50) (56) (57). Os produtos obtidos na concentração de proteínas do plasma utilizando membranas apresentam entre outras vantagens, uma alta retenção das suas propriedades funcionais (18) (19) (23), já que, a operação efetua-se à temperatura ambiente, eliminando assim, a desnaturação das proteínas, o que ocorre quando processadas por outros métodos à temperaturas maiores de 50°C (59). O concentrado obtido por ultrafiltração apresenta uma diminuição no conteúdo de cinzas (19) e, conseqüentemente, uma elevada porcentagem de proteína em relação ao conteúdo de sólidos (23) (50).

O presente estudo tem como finalidade: 1º- Estudar alguns dos parâmetros de operação tais como : pressão de operação, vazão de alimentação, concentração na alimentação e fluxo do permeado; e 2º- Comparar o produto concentrado, obtido através desta operação (osmose inversa) com aquele concentrado por evaporação a vácuo.

5.3.2.1. Condições de operação na concentração por membranas.

Na prática, a performance das membranas é determina-

da pelas características gerais das mesmas (seletividade) e pela taxa de permeação (35) (53). A taxa de permeação dependerá da pressão de operação, da temperatura, da vazão de alimentação e da composição e viscosidade do líquido na alimentação (8) (21) (35) (56) (57).

A membrana utilizada neste estudo, descrita em 4.3.2. apresenta estas particularidades: elaborada para trabalhar a temperaturas inferiores a 27°C, com faixa de operação de pHs entre 3 e 8 e a pressão de operação máxima de 49 kg/cm² (27); o plasma foi, portanto, processado nestas condições: a temperatura foi mantida em 25°C para todas as experiências realizadas; o pH da solução de plasma apresentou valores entre 7 e 8; e as pressões de operação foram sempre inferiores ao valor máximo recomendado.

As variáveis estudadas na concentração do plasma por osmose inversa foram as seguintes: vazão de alimentação, pressão de operação, fluxo de permeado e concentração do líquido na alimentação.

EFEITO DA PRESSÃO NO FLUXO DE PERMEADO. O efeito da pressão no fluxo de permeado para a solução de plasma na concentração de 5% de sólidos totais está representado na Fig. 14. Pode-se observar que, nas pressões de operação menores do que 14 kg/cm² o fluxo de permeado é igual a zero. Segundo Besik (8), para membranas de alta rejeição salina, como é o caso da membrana utilizada neste estudo (27), essa pressão pode ser considerada como a pressão osmótica da solução processada. Para cada vazão de alimentação, observa-se que o fluxo de permeado (Fig. 14) avoluma-se com o aumento da pressão até um ponto no qual tende a ser independente da

pressão aplicada. O ponto no qual ocorre este fenômeno varia com a vazão de alimentação. Observa-se também que, a medida em que a vazão de alimentação aumenta, cresce o fluxo de permeado.

A independência da pressão deve-se aos efeitos de polarização por concentração (35) (50) (57). Durante a operação, enquanto a água é removida da solução diluída, as moléculas de proteína constroem um filme na parede da membrana (21), aumentando a concentração nas proximidades desta. Consequentemente, a pressão osmótica local e a viscosidade desta solução aumentam consideravelmente, diminuindo a força efetiva (44). A independência da pressão sobre o fluxo de permeado é inversamente proporcional à vazão (Fig. 14) e diretamente proporcional à concentração da alimentação (8).

EFEITO DA VAZÃO DE ALIMENTAÇÃO. Os efeitos da vazão de alimentação no fluxo de permeado para diferentes pressões utilizando uma solução de plasma cuja concentração é igual à 5% de sólidos, está representado na Figura 15 . Os resultados obtidos não diferem muito daqueles encontrados na literatura (8). A fundamental diferença entre os resultados encontrados na literatura e no presente estudo reside no tipo de membrana utilizada (50), já que o ponto no qual o fluxo de permeado é independente da pressão e da vazão de alimentação, dependerá entre outros fatores das características individuais da membrana (21). A medida que aumenta a vazão de alimentação, se observa que, o fluxo do permeado aumenta, isto é devido à diminuição da polarização por concentração na parede da membrana, com o aumento da turbulência dentro do módulo (57).

EFEITO DA CONCENTRAÇÃO. Na Figura 16 , encontram-se graficados os valores encontrados durante a concentração do plasma, operando a uma

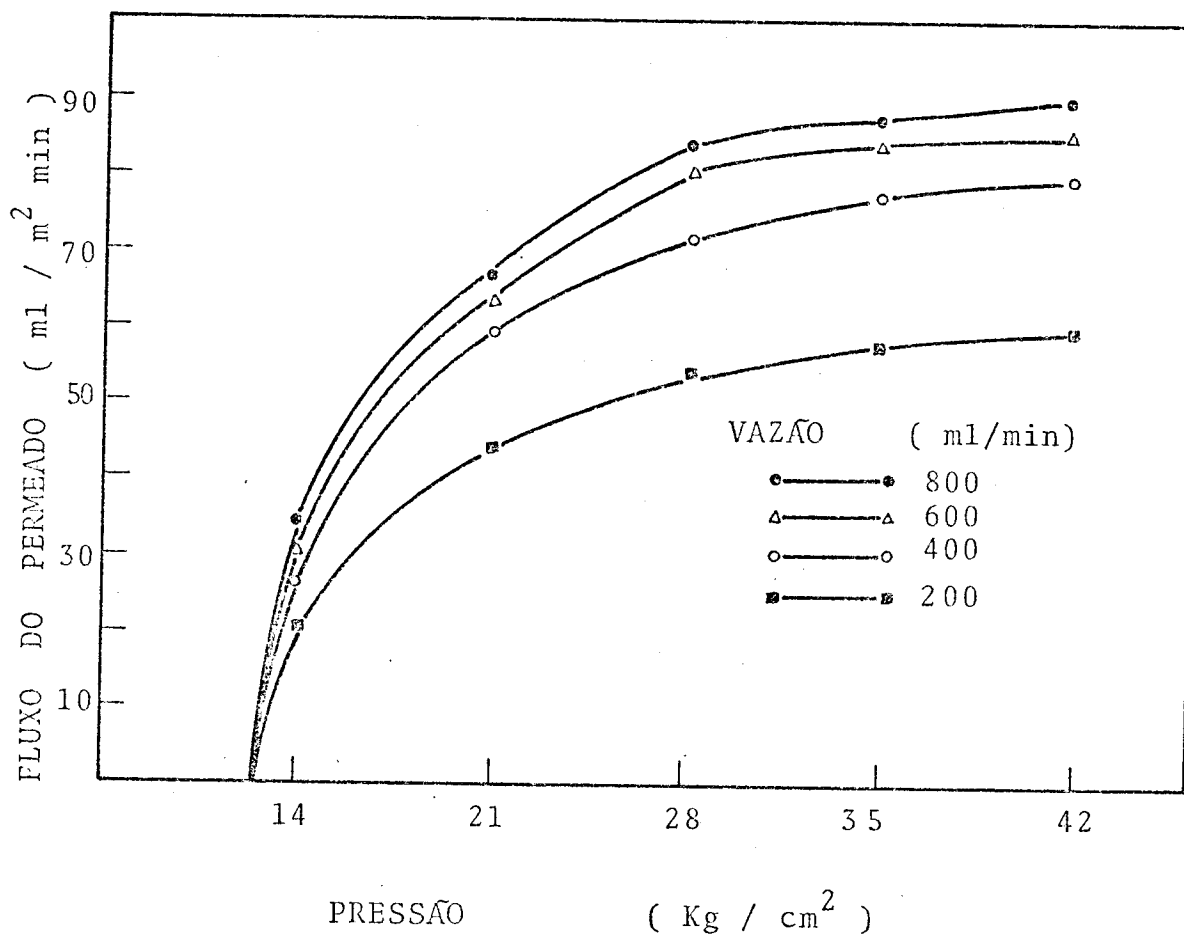


FIG. 14. EFEITO DA PRESSÃO NO FLUXO DO PERMEADO PARA AS VAZÕES DE ALIMENTAÇÃO DE: 800, 600, 400, e 200 ml/min.

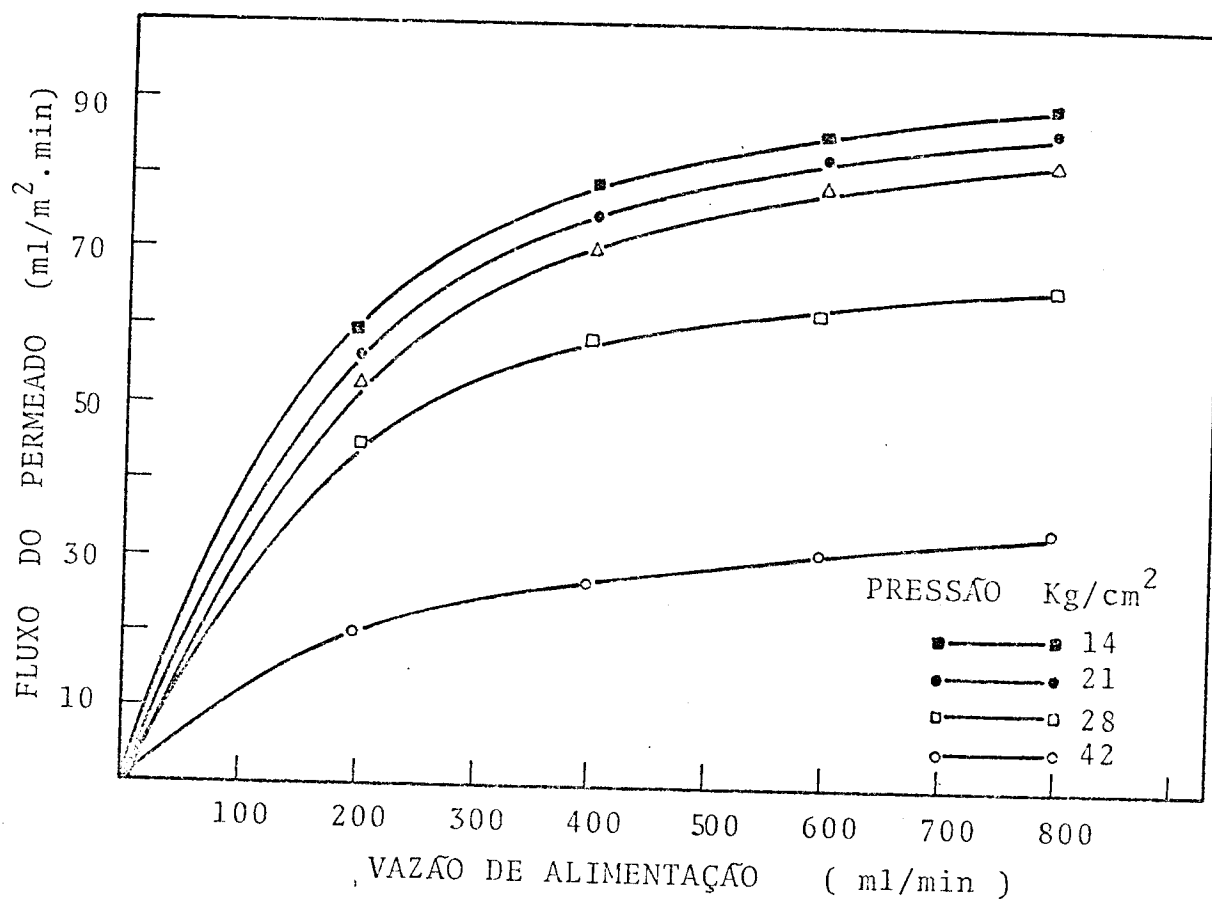


Fig. 15. EFEITO DA VAZÃO DE ALIMENTAÇÃO NO FLUXO DO PERMEADO PARA AS PRESSÕES DE: 14, 21, 28 35 e 42 Kg/cm²

pressão de 28 kg/cm² e vazão de alimentação igual a 800 ml/min. Os resultados mostraram que, o fluxo do permeado é inversamente proporcional ao logarítmo da concentração. Esta diminuição apresenta-se, devido aos aumentos da pressão osmótica e da viscosidade na solução à medida que esta se concentra (50). A máxima concentração alcançada foi de 18%. Este valor depende de vários fatores, entre os quais podem ser mencionados os seguintes: características da membrana, pressão de operação, vazão de alimentação, composição química da solução, temperatura de operação e sistema de disposição da membrana (21) (35) (56). No Quadro 10 são apresentados alguns dos resultados de concentração máxima obtidos dos plasmas bovino e porcino, por diversos autores.

QUADRO 10 . Concentração máxima do plasma animal para diferentes tipos de membranas.

Tipo de membrana	Rejeição total (pêso molecular)	Pressão kg/cm ²	Vazão lt/min.	Concentração máxima (%)	Referência
UM - 10	10.000	0,7	-	29	(50)
PM - 30	69.000	3,5	-	15	(44)
DDS - 600	20.000	8,0	8	20	(21)
DDS - AR6	20.000	-	12	30	(23)

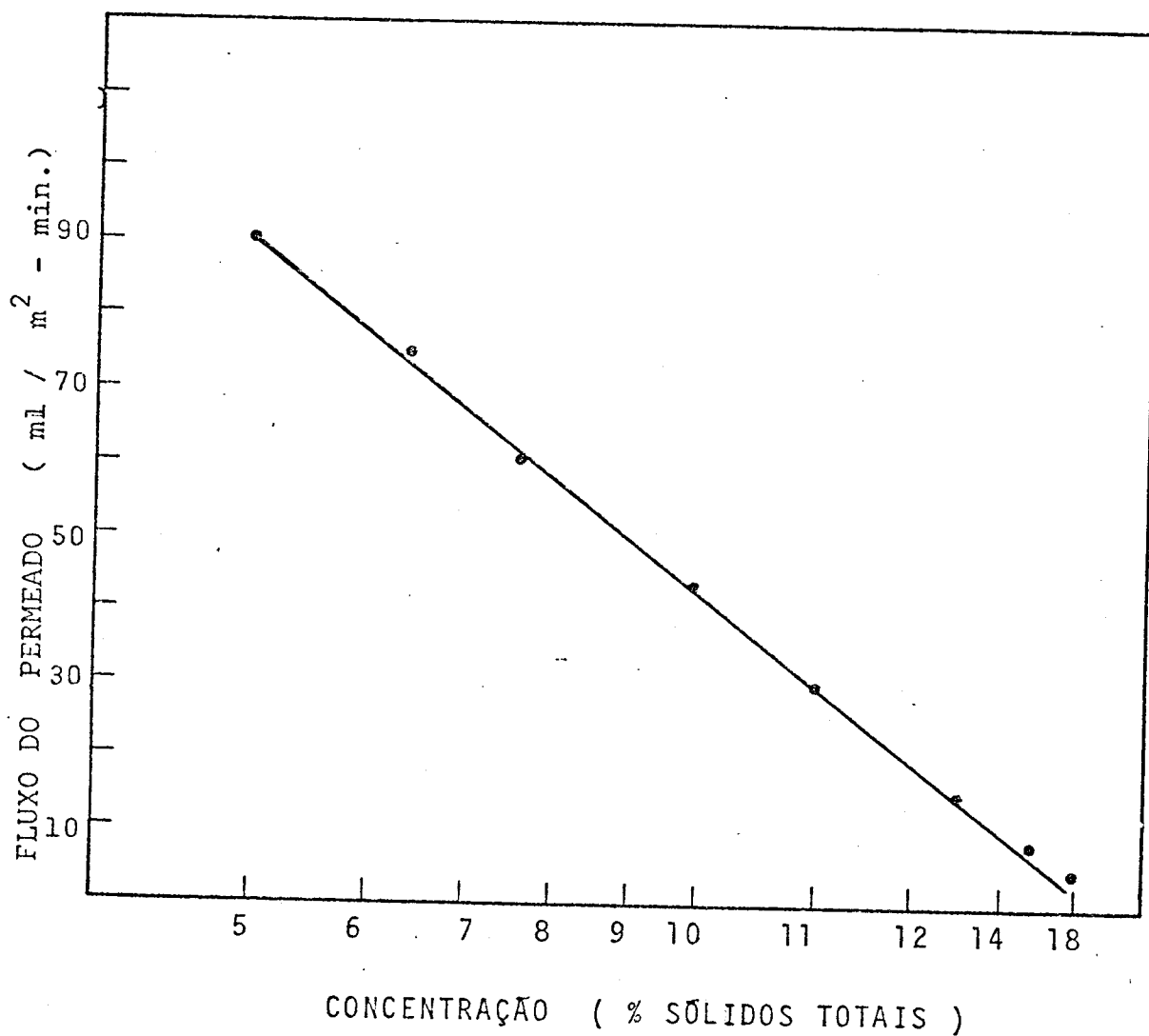


FIGURA 16. EFEITO DA CONCENTRAÇÃO NO FLUXO DO PERMEADO, NAS CONDIÇÕES DE: PRESSÃO 28 kg/cm² E VAZÃO DE ALIMENTAÇÃO 800 ml/min.

5.3.2.2. Análises do plasma concentrado por osmose inversa.

Efetuar^{am}-se, no plasma concentrado por osmose inversa, as mesmas análises do plasma concentrado por evaporação a vácuo. As determinações de densidade, viscosidade e índice de refração apresentaram resultados similares aos reportados nas Figuras 12, 13, e 11, respectivamente. Portanto, as equações desenvolvidas para cada análise, são válidas em ambos os casos. Nas determinações das análises químicas encontrou-se, como era de se esperar algumas diferenças. Para efeito de comparação, incluíram-se no Quadro 11 os resultados obtidos no plasma concentrado pelos dois métodos estudados.

QUADRO 11. Análise química do plasma concentrado por osmose inversa e por evaporação a vácuo.

Determinação de:	Concentração por:	
	Osmose Inversa	Evaporação a vácuo
Sólidos totais (%)	10,0	10,0
Proteína (%)	7,42	6,9
Cinzas (%)	1,61	2,1
Sólidos totais (%)	15,0	15,0
Proteína (%)	12,0	10,3
Cinzas (%)	2,1	3,2

Observa-se pelos resultados do Quadro 11 que, com a operação de osmose inversa, a relação proteína / sólidos totais é maior do que com a operação de concentração por evaporação a vácuo, e que esta relação aumenta com o aumento da concentração. Quando a concentração final na solução é de 15% de sólidos, a relação proteína / sólidos para a operação de osmose inversa, é igual a 80%, enquanto que, para a operação de concentração por evaporação, esta relação permanece constante em um valor igual a 68,8% (Fig. 10). A relação entre cinzas e sólidos totais apresenta, quando comparando os resultados das duas operações, o efeito contrário; ou seja, na operação por osmose inversa, esta relação é de 16,1%, para o produto que possui uma concentração final de 10% de sólidos, e diminui até 14% no produto concentrado à 15% de sólidos; enquanto que, para a evaporação a vácuo, esta relação (cinzas / proteína) permanece constante a um valor igual à 21,7% (Figura 10). O aumento de proteína e diminuição de cinzas no produto concentrado por osmose inversa é devido à permeabilidade dos sais através da membrana, desmineralizando a solução, ao mesmo tempo em que concentra a proteína, que é rejeitada pela membrana.

Pelas análises realizadas, observou-se que, durante a concentração do plasma por membranas, até 10 e 15%, a porcentagem de sólidos totais no permeado foi de 0,7 e 1,0%, respectivamente. No entanto, pelas determinações da porcentagem de proteína realizadas no permeado, observou-se que as proteínas do plasma são totalmente rejeitadas pela membrana.

As proteínas do plasma, no concentrado por osmose inversa, não apresentaram desnaturação alguma, enquanto que, no concentrado por evaporação a vácuo, mostraram uma desnaturação térmica de 6 a 8% . Esta diferença se apresenta como vantagem para o processo de membranas, porque a concentração é efetuada à temperatura ambiente de 25°C.

5.4. Secagem do plasma.

Diferentes tipos de amostras foram levadas ao secador - "spray": plasma não concentrado, plasma concentrado por evaporação a vácuo e plasma concentrado por osmose inversa. Para efeito de estudo, durante a secagem, utilizaram-se quase as mesmas condições para os diferentes lotes, com a finalidade de correlacionar os resultados das análises do produto seco com as temperaturas utilizadas na secagem.

As análises efetuadas no plasma seco, foram: umidade, cinzas, proteína, densidade aparente, solubilidade das proteínas em diferentes pHs e porcentagem de desnaturação térmica das mesmas.

5.4.1. Efeito da temperatura de secagem no plasma não concentrado.

Plasma não concentrado foi seco por atomização à diferentes temperaturas de entrada de ar, 150°C e 200°C, identificando-se os produtos resultantes como: SD-150 e SD-200, respectivamente.

As análises químicas efetuadas no plasma seco sem concentrar - foram: sólidos totais, proteína, umidade e cinzas. Os valores médios de cada determinação e o desvio padrão das determinações encontram-se resumidos no Quadro 12 .

QUADRO 12 . Análises químicas do plasma seco sem concentrar, à temperaturas de 150°C e 200°C, na entrada de ar do secador

Condições de secagem:	SD - 150	SD - 200
Temperatura (ar) entrada	150°C	200°C
Temperatura (ar) saída	82°C	107°C
Análise do produto seco:		
Sólidos totais (%)	93,83 ± 0,76	93,75 ± 0,64
Umidade (%)	6,16 ± 0,76	6,25 ± 0,64
Proteína (%)	62,16 ± 1,81	63,83 ± 1,65
Cinzas (%)	18,96 ± 1,15	18,91 ± 1,20

Praticamente, pelos resultados das análises químicas efetuadas, observa-se que estas não apresentam muita diferença, como mostra o Quadro 12 . O plasma seco apresentou a seguinte composição química em porcentagens: 63% de proteína, 19% de cinzas e 6% de umidade.

A porcentagem de solubilidade das proteínas do plasma seco em diferentes pHs foi determinada segundo o método descrito em 4.4.2.5. Os resultados destas determinações foram representados na Figura 17 .

Pelas análises da porcentagem de solubilidade das proteínas (Figura 17), observou-se que, a medida em que se aumenta a temperatura de secagem, a solubilidade das proteínas diminui. Para efeito de comparação, utilizou-se, como controle , plasma liofilizado. Os resultados apresentam-se bastante similares aos reportados por outros autores para plasma bovino (61) e porcino (21).

A solubilidade das proteínas, é uma propriedade funcional de muita importância e a sua diminuição, ocasionada pelo tratamento térmico, limitaria a sua utilização naqueles produtos aos quais fora destinada (1).

5.4.2. Efeito da temperatura de secagem no plasma concentrado.

As amostras de plasma encontradas pelos dois métodos - descritos anteriormente, foram secas em secador por asperção. Os resultados das análises efetuadas nas amostras encontram-se resumidas no Quadro 13 . As condições de secagem - utilizadas em cada lote foram especificadas anteriormente em 4.4.1.2.

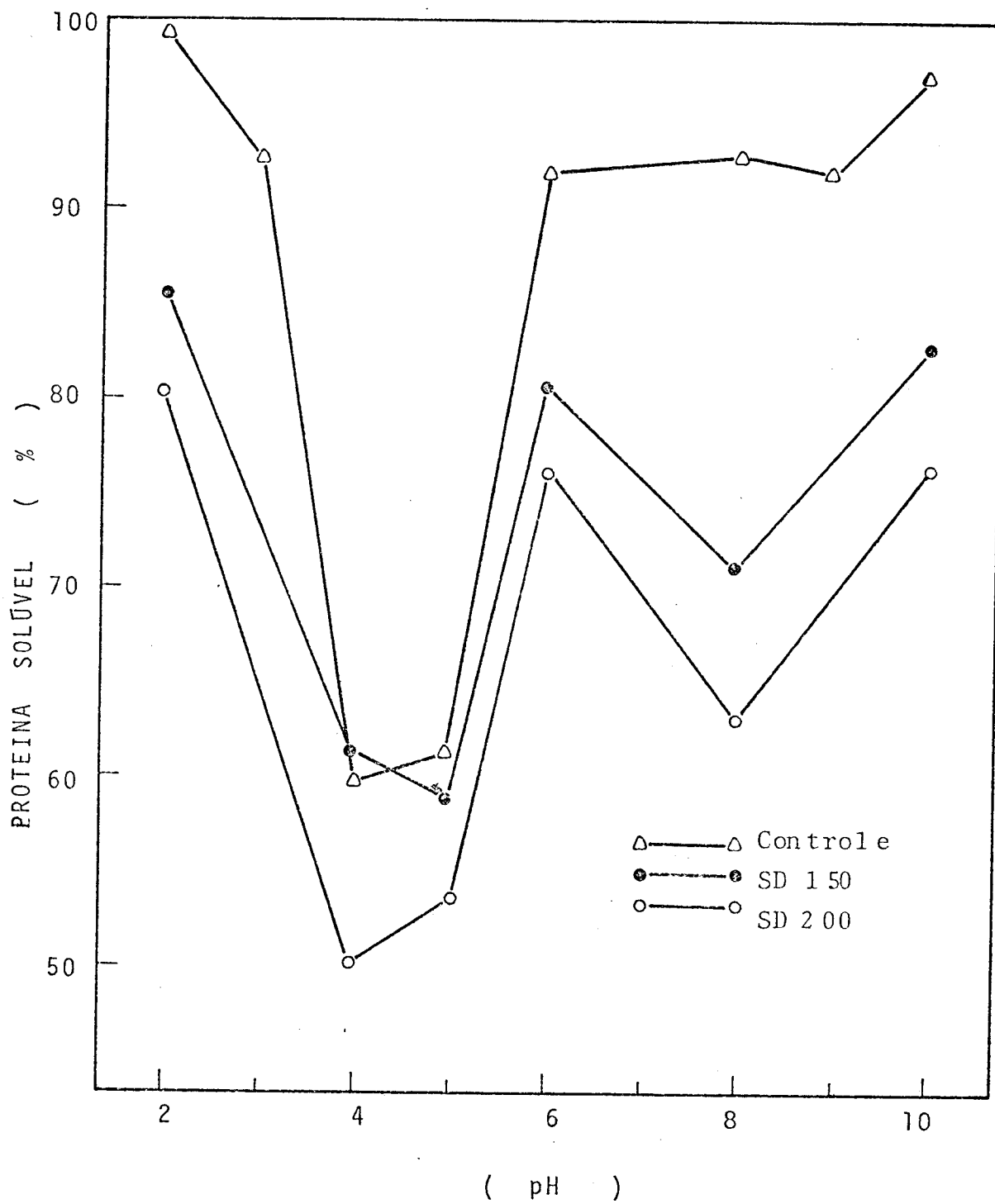


FIGURA 17. PORCENTAGEM DA SOLUBILIDADE À DIFERENTES pHs DAS PROTEÍNAS DO PLASMA NÃO CONCENTRADO E SECO POR ASPERÇÃO À TEMPERATURAS DE ENTRADA DO AR DE 150° E 200° C.

QUADRO 13 . Análises químicas dos plasmas concentrados por evaporação a vácuo e por osmose inversa e secos por asperção.

Análises de :	Concentrado por evaporação a vácuo		
	10 CT 210	25 CT 221	25 CT 132
Sólidos totais (%)	93,5 ± 0,99	96,1 ± 0,11	94,4 ± 0,65
Umidade (%)	6,5 ± 0,99	3,9 ± 0,11	5,6 ± 0,65
Proteína (%)	62,2 ± 1,52	64,4 ± 0,96	64,1 ± 1,24
Cinzas (%)	20,9 ± 1,82	20,4 ± 1,53	19,3 ± 0,85

Concentrado por osmose inversa

	10 RO 210	15 RO 210
Sólidos totais (%)	95,4 ± 1,12	95,0 ± 0,90
Umidade (%)	4,6 ± 1,12	5,0 ± 0,90
Proteína (%)	70,5 ± 0,77	75,4 ± 1,11
Cinzas (%)	15,1 ± 0,89	13,0 ± 1,14

A diferença mais importante entre os produtos concentrados pelos dois processos estudados e secos no secador por asperção, reside na porcentagem de proteína (Quadro 13). O plasma concentrado por osmose inversa e seco por asperção apresenta maior conteúdo de proteína e menor conteúdo de cinzas que aquele obtido por evaporação a vácuo, o que vem comprovando a vantagem da utilização da operação com membranas para, purificar

a proteína de uma solução diluída durante a concentração. De-
laney (19) nos seus trabalhos com plasma porcino concentrado -
por ultrafiltração e seco por asperção, encontrou para a porcen-
tagem de proteína e cinzas; 77,5% e 6,2%, respectivamente.

As porcentagens da solubilidade das proteínas dos plasmas con-
centrados por osmose inversa e por evaporação a vácuo e secos-
por asperção foram determinadas em diferentes pHs. Os resulta-
dos destas determinações foram graficados na Figura 18 . Para
efeito de comparação, utilizou-se, como controle , os dados -
obtidos para o plasma liofilizado.

Pela determinação da porcentagem de solubilidade das proteí-
nas dos plasmas concentrados por evaporação, por osmose in-
versa e, finalmente, secos por asperção, observou-se que:

1º - Para um mesmo tipo de operação de concentração e com as
mesmas condições de temperatura de secagem, e a diferen-
tes concentrações na alimentação, a solubilidade das proteínas
não apresenta muita diferença. Por exemplo: 10 CT 210 e 25 CT
210 na Figura 18 .

2º - Para as mesmas condições de concentração e diferentes -
temperaturas de secagem, a solubilidade das proteínas di-
minui à medida em que se aumenta o tratamento térmico. Por exem-
plo: entre 25 CT 221 e 25 CT 132 da Figura 18 .

3º - Para as mesmas condições de secagem e comparando os
tipos de operação de concentração utilizado, a solubili-
dade é maior no produto concentrado por osmose inversa. Por
exemplo: entre 10 CT 210 e 10 RO 210 na Figura 18 .

5.4.3. Porcentagem de desnaturação térmica das proteínas do - plasma seco por asperção.

A desnaturação térmica das proteínas do plasma, verifi-
cada nos diferentes produtos secos, pelo método descrito em

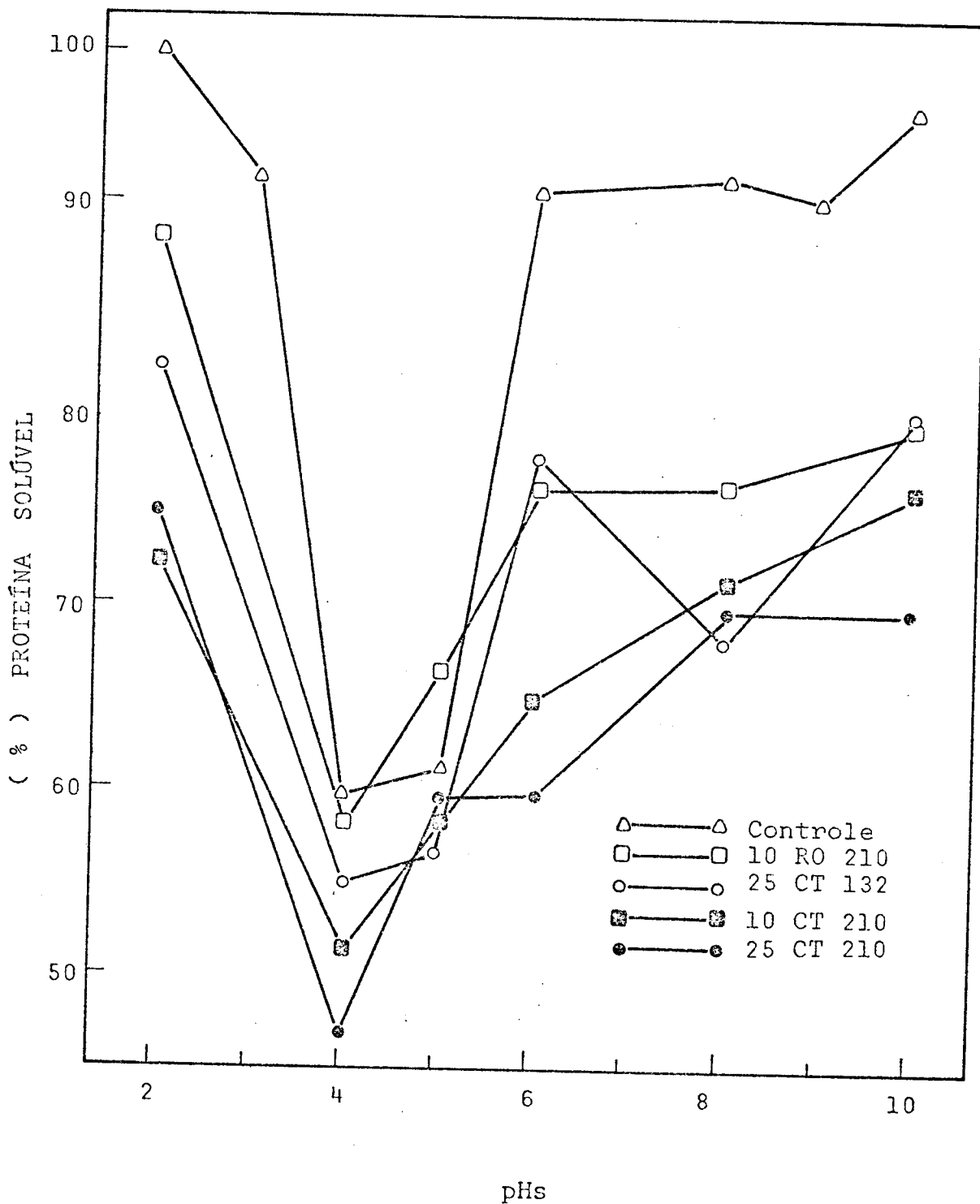


FIGURA 18. PORCENTAGEM DA SOLUBILIDADE A DIFERENTES pHs, DAS PROTEÍNAS DOS PLASMAS CONCENTRADOS POR EVAPORAÇÃO E POR OSMOSE INVERSA- E SECOS POR ASPERÇÃO.

4.4.2.6., encontram-se resumidas no Quadro 14 .

QUADRO 14 . Porcentagem de desnaturação térmica das proteínas do plasma seco.

Amostra:		Porcentagem de desnaturação (%)
Sem concentrar	SD 150	20,2
	SD 200	27,5
Concentrada por evapora ção a vácuo	10 CT 210	24,5
	25 CT 221	28,6
	25 CT 132	21,5
Concentrada por osmose inversa	10 RO 210	19,2
	15 RO 210	20,1

No Quadro 14, observa-se que, à medida em que o tratamento térmico é maior, aumenta a porcentagem de desnaturação. O efeito da concentração na alimentação do secador não apresentou - uma variação definida para os valores encontrados de desnaturação térmica. Observa-se, também, uma ligeira vantagem para o plasma previamente concentrado por osmose inversa. A porcentagem de desnaturação mais alta foi no plasma previamente concentrado por evaporação, porque durante a concentração uma porcen

tagem destas proteínas foi afetada pelo tratamento térmico.

Entre os fatores fundamentais que determinam a utilidade de um produto como alimento, encontram-se ; suas qualidades nutricionais (1) e propriedades funcionais: solubilidade, capacidade de emulsificação e capacidade de formar espuma (54): Em geral as proteínas do plasma possuem excelentes qualidades nutricionais (24) (55) (18) (65), excelentes propriedades funcionais (20) (61) (60), como também apresentam uma elevada porcentagem de digestibilidade de aproximadamente 92%. No entanto, o tratamento térmico que experimentam as proteínas do plasma, durante a secagem, provoca a perda parcial nas suas propriedades funcionais (60) (59) (19), no seu valor nutritivo (18) (59) e na digestibilidade (9), Evidentemente, as altas temperaturas utilizadas durante a secagem limitariam a sua qualidade, portanto, considerou-se necessário estabelecer uma relação entre a porcentagem de desnaturação térmica em função do tempo e da temperatura, utilizando o método desenvolvido por Tybor (59). Os resultados desta experiência encontram-se graficados na Figura 19 .

Os resultados apresentados na Figura 19 mostram que quando se aumenta a temperatura, a porcentagem de desnaturação é maior e que esta porcentagem é mais uma função da temperatura do que do tempo, não apresentando muita diferença entre os resultados obtidos, para os diferentes tempos estudados. Observa-se que, para os mesmos tempos, a porcentagem encontrada aumenta consideravelmente com o aumento da temperatura. Observa-se também que, à temperaturas menores do que 60°C, quase não houve desnaturação das proteínas e que, por extrapolação das curvas na Figura 19 , verifica-se que a temperatura máxima que não provoca desnaturação é de aproximadamente 58°C. Alguns autores tem reportado que a temperatura na qual as proteínas do plasma começam a coagular é de 55°C (32). Resultados similares foram encontrados durante a determinação da viscosidade do plasma no

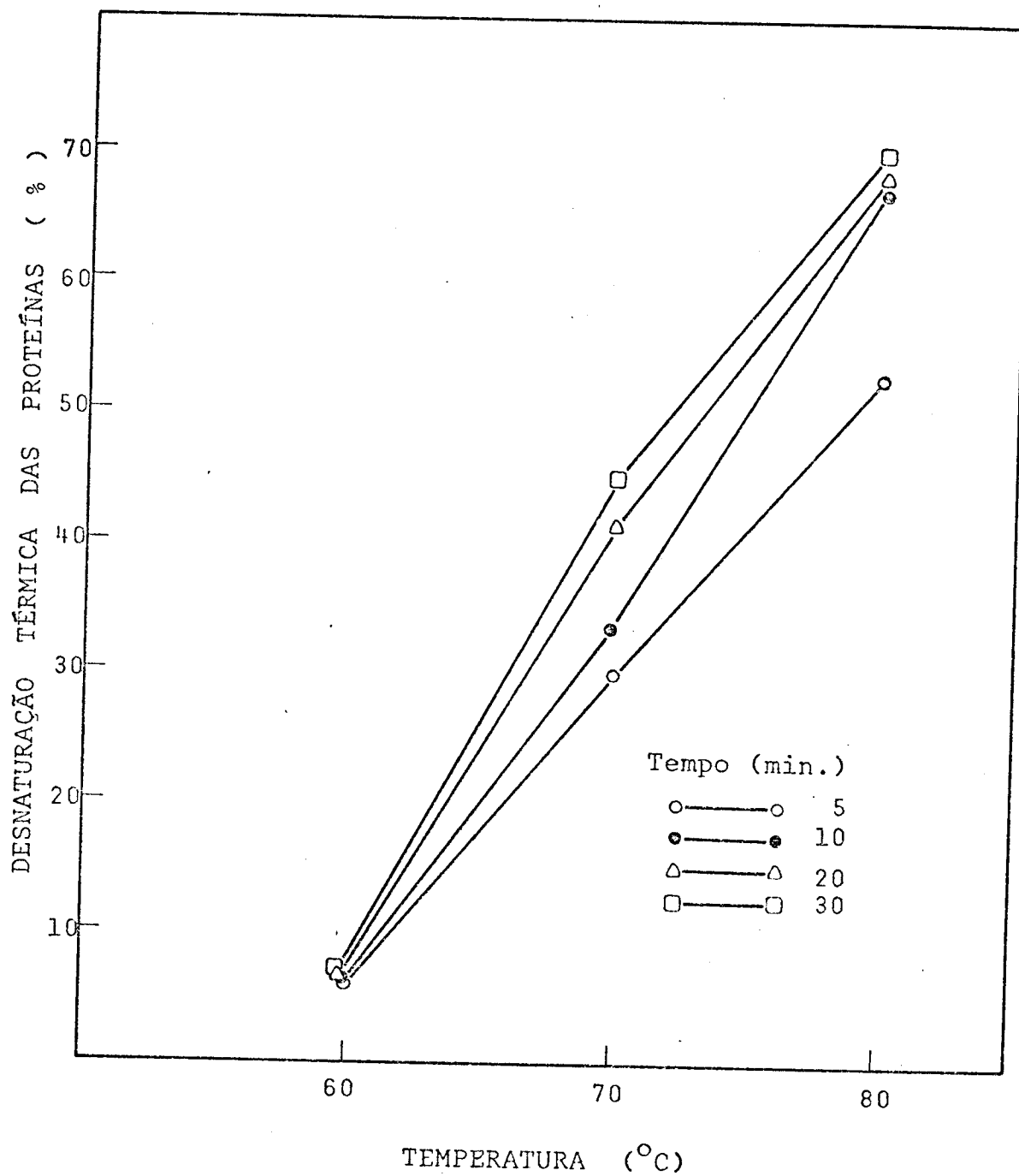


FIGURA 19. EFEITO DA TEMPERATURA NA PORCENTAGEM DE DESNATURAÇÃO DAS PROTEÍNAS DO PLASMA, NOS TEMPOS DE AQUECIMENTO DE 5, 10, 20 e 30 MINUTOS.

presente trabalho. Os resultados graficados na Figura encontram-se de acôrdo com aqueles reportados por Tybor (59) para o sôro bovino.

5.4.4. Densidade aparente do plasma seco.

A determinação da relação peso/volume no produto final pode fornecer dados de valiosa importância, relacionados com os custos de embalagem e transporte em função do tipo de operação utilizada para obtenção do produto seco (57). O método descrito em 4.4.2.4. foi utilizado para determinar a densidade aparente dos diferentes plasmas secos; os resultados encontram-se resumidos no Quadro 15.

QUADRO 15 . Densidade aparente do plasma seco no secador por asperção.

Amostra:		Densidade aparente (grs/cm ³)		d.p. x 10 ⁻³
Sem concentrar	SD 150	0,247	±	7,2
	SD 200	0,228	±	6,8
Conc. por evaporação	10 CT 210	0,225	±	7,6
	25 CT 221	0,438	±	4,4
	25 CT 132	0,481	±	5,8
Conc. por membranas	10 RO 210	0,362	±	14,0
	15 RO 210	0,401	±	9,1

Pela determinação da densidade aparente do plasma seco (Quadro 15), verificou-se que o plasma sem concentrar apresenta a menor densidade aparente, enquanto que, nas outras amostras,

tras, a densidade aparente aumentava à medida em que aumenta a concentração do produto na alimentação do secador. O tratamento térmico apresentou uma ligeira influência nos resultados de densidade aparente, favorecendo aos produtos cuja temperatura de secagem é menor. Para as mesmas condições de concentração na alimentação, observa-se que, dos tipos de operação utilizados, a osmose inversa apresenta uma densidade aparente maior, aproximadamente, 60%. O valor mais alto de densidade aparente, foi apresentado pelo plasma concentrado até 25% de sólidos no evaporador "Centri-Therm" e seco à temperatura de 132°C na entrada de ar, classificado como 25 CT 132 (Quadro 15).

6. CONCLUSÕES

- 1.- A contínua adição de anticoagulante, durante a coleta (100 ml de solução de citrato de sódio/litro de sangue), na concentração final de 0,5%, mostra ser eficiente para manter o sangue em estado líquido, não se observando formação de coágulo no produto tratado desta forma.
- 2.- Na separação das frações do sangue, a velocidade final de sedimentação aumenta proporcionalmente com o aumento da temperatura, sendo a viscosidade do plasma a propriedade dos componentes do sangue que mais contribui na sedimentação.
- 3.- Com a centrífuga utilizada, do tipo câmara e disco, operando como purificadora, obtêm-se, quando utilizando valores de força rotacional maiores do que 4.000 G e vazões de alimentação menores do que 150 kg/h, plasma puro, com um rendimento de recuperação de aproximadamente 82%.
- 4.- A concentração no evaporador "Centri-Therm" apresenta a facilidade de concentrar, em um período bastante curto de tempo, plasma até 25% de sólidos com uma porcentagem de desnaturação nas suas proteínas de somente 7%.
- 5.- As equações desenvolvidas para a determinação dos efeitos da concentração sobre as porcentagens de proteína e cinzas e sobre a densidade e índice de refração apresentam-se como uma função linear, enquanto que a viscosidade, como uma função logarítmica.

- 6.- Na osmose inversa, para o tipo de membrana utilizada, a concentração máxima encontrada foi de 18% de sólidos.
- 7.- A concentração por membranas efetua-se à temperatura ambiente (25°C), observando-se que as proteínas do plasma concentrado não apresentam desnaturação.
- 8.- A membrana de acetato de celulose utilizada na concentração apresenta parcial permeabilidade para os sais, enquanto que as proteínas do plasma são rejeitadas totalmente.
- 9.- A polarização por concentração na membrana tende a diminuir os efeitos que a vazão e a pressão exercem sobre o fluxo de permeado.
- 10.- A solubilidade das proteínas do plasma seco diminuem à medida em que aumenta a temperatura de secagem.
- 11.- As análises efetuadas no produto seco, mostraram que os melhores resultados obtidos foram a partir do plasma pré concentrado por osmose inversa, o qual apresenta uma porcentagem de proteína na base seca superior à 72%.
- 12.- A porcentagem de desnaturação térmica das proteínas é mais uma função da temperatura que do tempo. Determinou-se, também, que a temperatura máxima a utilizar na saída do ar do secador, para que não ocorra desnaturação durante a secagem, é de 58°C.
- 13.- Aumentando a concentração do plasma na alimentação do secador, obtém-se, no produto seco, uma densidade aparente maior.
- 14.- A maioria dos resultados encontrados nas diferentes expe

riências realizadas em cada etapa do processo podem ser utilizadas visando à sua aplicação em escala industrial.

- 15.- Por meio do processo desenvolvido, utilizando-se um subproduto de abatedouros de aves, obtém-se um concentrado proteico de alto valor biológico.

7.- SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS

- 1.- Ampliar o processo, incluindo a secagem da massa celular, para a recuperação total do sangue.
- 2.- Um estudo do ponto de vista microbiológico nas diferentes etapas do processo se faz necessário para assegurar a qualidade final do produto e a sua imediata utilização para o consumo humano.
- 3.- Realizar experiências com outros tipos de membranas, que possuam uma maior permeabilidade dos sais, visando à obtenção de fluxos de permeado maiores.
- 4.- Estudar a possibilidade de recuperar o anticoagulante utilizado na coleta do sangue.
- 5.- Realizar um estudo de mercado para os diferentes produtos obtidos a partir do sangue junto às indústrias processadoras de produtos cárneos, de massas alimentícias, panificadoras, indústrias farmacêuticas, indústrias químicas, etc.
- 6.- Efetuar um estudo econômico do processo, considerando que o mesmo é aplicável não somente ao sangue de frango, como também ao de outros animais.

NOMENCLATURA

		na equação
A	Área de transferência de calor (m^2)	5
a,a'	Coefficiente de correlação angular	4, 6
b,b'	Coefficiente de correlação linear	4, 6
D_1	Densidade da fase contínua, plasma (kg/m^3)	2
D_m	Densidade do fluido mais denso (g/cm^3)	1
D_p	Densidade do fluido purificado, plasma (g/cm^3)	1
D_p'	Densidade da partícula (kg/m^3)	2, 3
d	Diâmetro da partícula (m)	2, 3
E	Vazão da água evaporada (kg/h)	5
g	Aceleração gravitacional (9,81 m/seg)	2
Hvap	Calor de vaporização (kcal/kg)	5
N	Número de elementos de separação (discos)	3
Q	Vazão de alimentação (lt/h)	3
r_m	Raio da descarga do fluido mais denso (mm)	1
r_p	Raio da descarga do fluido purificado, plasma (mm)	1
r_s	Raio da interfase de separação (mm)	1
r_1	Raio exterior do elemento de separação (m)	3
r_2	Raio interior do elemento de separação (m)	3
T	Temperatura ($^{\circ}K$)	4
Te	Temperatura de evaporação ($^{\circ}C$)	5
Ts	Temperatura do vapor ($^{\circ}C$)	5

na equação

U	Coefficiente de transferência de calor (kcal/m ² .h.°C)	5
Vg	Velocidade final de sedimentação (m/seg)	2
w	Velocidade angular (radianes/seg)	3
X	Concentração (% sólidos totais)	6
α	Ângulo do elemento de separação	3
μ	Viscosidade da fase contínua, plasma (kg/m.seg)	2
μ'	Viscosidade do plasma (centipoises)	4, 6

BIBLIOGRAFIA CITADA

1. AKERS, J.M. 1973. Utilization of blood. *Fd. Manufacture* 4:31.
2. ALFA - LAVAL (s.d). Laboratory separation LAPX 202 user's guide. Alfa - Laval AB, Separation Division, S-147 00 Tumba, Sweeden.
3. ALFA - LAVAL (s.d) Centriblood. Planta para deshidratación mecánica de sangre. Technical Bulletin SFF 7202-06. Alfa - Laval AB, Separation Division.
4. ALFA- LAVAL (s.d) Centri-Therm CT 1B, user guide. Alfa-Laval AB, Separation Division, S 147 00 Tumba, Sweeden.
5. A.O.A.C. 1970. Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemist. 11th Ed. Washington, D.C.
6. AVERY, C.G. 1972. Fractionation of blood by centrifugation. *Process Biochemistry* 7 (3) 20-23.
7. BATES, R.P., WU, L.I. and MURPHY, B. 1974. Use of animal blood and cheese whey in bread. *J. Fd. Sci.* 39 (3) 585-587.
8. BESIK, F.G., ZARNETT, G.V., PANCUSKA, V. and MLYNARCZYK, A. 1971. Reverse Osmosis, engineering considerations. *Fd. Engineering.* 43 (7) 72-75.
9. BOURGEOIS, C. 1975. Récupération et valorisation du sang dans les abattoirs. *Revue de la conserve moderne alimentation* 35 (1) 29-35.
10. BRENNAN, J.G., BUTTERS, J.R., COWELL. N.D. and LILLY,A.E.V. 1970. Las operaciones de la Ingenieria de los alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza, España.

11. BROWN, G.G. 1950. Unit Operations. John Wiley & Sons, New York.
12. CANNON-FENSKE. (s.d) Standard test and calibration to measure viscosity. Std. Test. ASTM D-445.
13. CIRONEANU, J., DANICEL, G. and DRAGULICI, D. 1973. Production of blood plasma and its use in the meat industry. Industria Alimentara 24 (12) 667-670.
14. CRISTOL, P. and MONNIER, P. 1936. Deproteinization of serum by trichloacetic acid for the determination of total non protein nitrogen. Compt. rend. soc. biol. 123 (8) 1106.
15. CSELKŐ, M., VIRAGH, A. 1972. Producerea si utilizarea plasmei din singe. Industria Alimentara. 23 (3) 132-139.
16. DART, M.C. 1974. Treatment of waste waters from the meat Industry. Process Biochemistry. 9 (5) 11-14.
17. DAVILA, E.L. 1971. Aprovechamiento de sub-productos de mataderos. Rev. del Inst. de Inv. Tec. (Colombia) 13 (69) 16-21.
18. DELANEY, R.A.M. 1975. The nutritive value of porcine blood plasma concentrates prepared by ultrafiltration and spray drying. J.Sci. Fd. Agr. 26 (3) 303-310.
19. DELANEY, R.A.M., DONNELLY, J.K. and BENDER, L.D. 1975. Concentration & characterization of porcine blood plasma. Lebensm-Wiss. und Tech. 8 (1) 20-24.
20. DILL, C.M. 1975. Use of blood protein in processed meat and sausage. The National Provisioner. (12) 14-17.
21. DONNELLY, J.K. and DELANEY, R.A.M. 1974. Performance characteristics of an ultrafiltration plant. Lebensm-Wiss. u Technol. 7 (3) 162-166.
22. EPPRECHT CONTRAVES. (s.d) Measurement of rheological properties. Contraves Industrial Products Ltda. Station Approach, U.K.

23. ERIKSSON, G. and VON BOCKELMANN, I. 1975. Ultrafiltration of animal blood serum. Proc. Biochem. 10 (7) 11-14.
24. ESPINOSA, d.R.R.T. 1976. Caracterização do plasma sanguíneo de frango, visando à sua utilização na alimentação humana. Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola da UNICAMP para obtenção do título de Mestre em Ciências de Alimentos.
25. F.A.O. 1974. Production year-book 1974, Production tables number 110-111.
26. GORDON, A. 1971. Animal blood as a source of protein in food products. Food Trade Review 41 (4) 29-30.
27. GULF GENERAL ATOMIC. (s.d) Operation and Service Handbook for the Roga Reverse Osmosis Laboratory Unit Model III. Gulf General Atomic Inc. San Diego, California.
28. HALLIDAY, D.A. 1973. Blood: A source of proteins. Proc. Biochem. 8 (12) 15-17.
29. HALLIDAY, D.A. 1975. Blood: A source of protein. Process Biochem. 10 (5) 11-12.
30. HORTON, B.S. 1970. Prevents whey pollution recovers profitable by products. Fd. Engineering. 42 (7) 81-83.
31. HORTON, B.S. GOLDSMITH, R. L. and ZALL, R.R. 1972. Membrane processing of cheese whey reaches commercial scale. Fd. Technol. 26 (2) 30-35.
32. INSTITUTE OF MEAT PACKING. 1941. Readings of by-products from the meat packing industry. American Meat Institute, University of Chicago. Chapter XX p. 361-369.
33. ISHERWOOD, C. 1972. Centrifuges for animal by-products. Proc. Biochem. 7 (3) 37-39.
34. LEAVELL, B.S. and THORUP, O.A. 1973. Hematologia Clínica. Nueva Editorial Interamericana. México, D.F.

35. LEIGHTELL, B. 1972. Reverse osmosis in the concentration of food. *Process Biochem.* 7 (3) 40-42.
36. LIPNER, S. 1969. Meat emulsion additive. *Food Science Technology Abstracts.* 1 (9) S:667.
37. LOWE, E., DURKEE, E.L., MERSON, R.L. IJICHI, K. and CIMINO, S.L. 1969. Egg White / Concentrated by reverse osmosis. *Fd. Tech.* 23 (6) 753-762.
38. MACY, C.D. and BUTLER, H.B. 1969. Blood drying process. Canadian Patent 806 126.
39. MARLAND, M. 1972. The 5th section of the abattoir. *Ind. Alimentaries et Agricoles.* 89 (5) 573-577.
40. MASTERS, K. 1972. *Spray-Drying.* Leonard Hill, London. Chapter 18. p.p. 606-608.
41. MATSUURA, T., BAXTER, A.G. and SOURIRAJAN, S. 1974. Studies on reverse osmosis for concentration of fruit juice. *J. Fd. Sci.* 39 (4) 704-711.
42. MELLING, J. 1974. Application of ultrafiltration-Modifying factors. *Process Bioch.* 9 (9) 7-10.
43. MELVILLE, D. 1975. Direct magnetic separation of red cells from whole blood. *Nature.* 255 (5511) 706.
44. MICHAELS, A.S. 1968. New Separation Technique for the CPI. *Chemical Engineering Progress.* 64 (12) 31-43.
45. MOORJANI, M.N. 1971. Utilization of slaughter-house by-products. *Indian Food Packer* 25 (1) 33-37.
46. NODEN, D. 1969. Industrial Dryers. Selection, Sizing and costs. *Chemical and Process Engineering.* 50 (10) 1-8.
47. PENINAH, D. 1974. Treatment of process water by reverse osmosis. *Process Biochem.* 9 (6) 18-19.
48. PERRY, J.H. 1963. *Chemical engineer's handbook.* 4th. edition. McGraw-Hill Book Company, Tokyo.

49. PLASCHKE, W. and BIEWALD, U. 1969. Some problems of hygienic blood collection. *Fleischermeister* 23 (5) 130-133.
50. PORTER, M.C. and MICHAELS, A.S. 1970. Applications of membrane ultrafiltration to food processing. 3rd International Congress of Food Sc. & Tech.
51. POWERS, G.L. 1971. Processes wastes for profit. *Fd. Eng.* 43 (12) 56-57.
52. REHOR, J. 1974. Method of preserving animal blood. *Food Science & Technology Abstracts* 6 (7) T:414.
53. REYNA, R.D. e LUCCHINI, O.A. 1976. Osmose Inversa e ultrafiltração. *Indústria Alimentar.* 1 (2) 46-52.
54. SATTERLEE, L.D. FREE, B. and LEVIN, E. 1973. Utilization of high protein tissues powders as a binder/extender in meat emulsions. *J. Fd. Sci.* 38 (2) 306.
55. SATTERLEE, L. D. 1975. Improving utilization animal by-products for human foods. *Journal of animal science* 41 (2) 687-697.
56. SOURIRAJAN, S. 1970. Reverse osmosis. Academic Press. New York.
57. SPICER, A. 1974. Advances in preconcentration and dehydration of foods. John Wiley 7 Sons. New York, Toronto.
58. THIJSSSEN, H.A.C. 1970. Concentration processes for liquid food containing volatile flavours and aromas. *J. Fd. Technol.* 5 (3) 211-229.
59. TYBOR, P.T., DILL, C.W., BRYANT, J.M. and LANDMANN, W.A. 1970. Heat denaturation of blood serum protein measured in saturated sodium chloride. *J. Agr. Food Chem.* 18 (4) 629-631.
60. TYBOR, P.T., DILL, C.W. and LANDMANN, W.A. 1973. Effect of decolorizati on and lactose incorporation on the

emulsification capacity of spray-dried blood protein concentrates. J. Fd. Sci. 38 (1) 4-6.

61. TYBOR, P.T., DILL, C.W. and LANDMANN, W.A. 1975. Functional properties of protein isolated from bovine blood by continuous pilot process. J. Fd. Sci. 40 (1) 155-159.
62. VICKERY, J.R. 1968. The recovery and utilization of edible proteins from blood and trash fish. Fd. Technol. in Australia. 20 (7) 315-319.
63. VILLELA, G.G., BACILA, M. e TASTALDI, H. 1973. Técnicas e experimentos de Bioquímica. Guanabara Koogan, S.A. Rio de Janeiro.
64. VMETTLER, M. 1975. New methods for obtaining and processing of blood. Fleischwirtschaft 55 (12) 1680-1684.
65. YOUNG, R.M. and LAWRIE, R.A. 1974. Utilization of edible protein from meat industry by products and waste. Part II. J.Fd. Sci. 9 (2) 171-177.