

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DA NUTRIÇÃO - MESTRADO

OBTENÇÃO DE FRACÇÕES PROTÉICAS DE SANGUE BOVINO:
COMPOSIÇÃO, VALOR NUTRITIVO E PROPRIEDADES
FUNCIONAIS

RENATA MARIA TEIXEIRA DUARTE

Campinas - 1997

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE PLANEJAMENTO ALIMENTAR E NUTRIÇÃO

OBTENÇÃO DE FRAÇÕES PROTÉICAS DE SANGUE BOVINO:
COMPOSIÇÃO, VALOR NUTRITIVO E PROPRIEDADES FUNCIONAIS

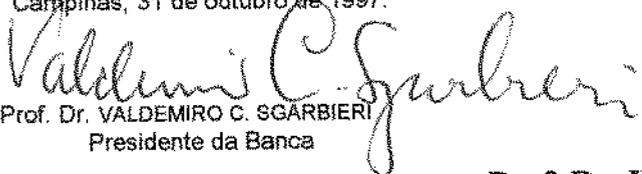
PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por RENATA MARIA TEIXEIRA DUARTE e aprovada pela Comissão Julgadora em 31 de outubro de 1997.

RENATA MARIA TEIXEIRA DUARTE

Campinas, 31 de outubro de 1997.

Zootecnista


Prof. Dr. VALDEMIRO C. SGARBIERI
Presidente da Banca

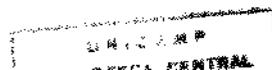
Prof. Dr. VALDEMIRO CARLOS SGARBIERI

Orientador

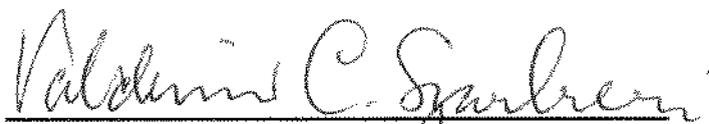
Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre em Ciência da Nutrição - Área de Nutrição Básica e Experimental

Campinas - 1997

942089

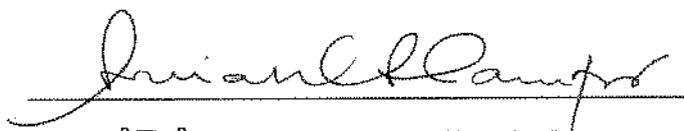


BANCA EXAMINADORA



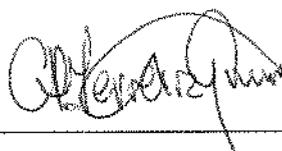
Prof. Dr. Valdemiro Carlos Sgarbieri

(orientador)



Prof^a Dr^a Sonia Dedeca da Silva de Campos

(membro)



Prof. Dr. Carlos Raimundo Ferreira Grosso

(membro)

Prof. Dr. Jaime Amaya-Farfán

(membro suplente)

Campinas, de de 1997

Aos meus pais
Augusto e Therezinha, pelo apoio constante
Ofereço com gratidão.

Ao Marcelo e Guilherme
pela colaboração, carinho e compreensão
essenciais nos momentos mais difíceis,
Dedico com amor

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Valdemiro Carlos Sgarbieri pela orientação e apoio ao desenvolvimento deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora pelas correções e sugestões apresentadas ao trabalho.

Ao Instituto de Tecnologia de Alimentos de Campinas por possibilitar a utilização das instalações e equipamentos para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pela bolsa concedida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro.

À Hércules Produtos Químicos Ltda pela concessão da carboximetil celulose.

Ao Frigorífico Nova Odessa pela concessão do sangue bovino.

Às pesquisadoras Vera Lúcia Signoreli Baldini e Iacy dos Santos Draetta do Centro de Química de Alimentos e Nutrição Aplicada do Instituto de Tecnologia de Alimentos, pela amizade e grande contribuição no desenvolvimento da parte experimental deste trabalho.

À Profa. Dra. Sonia Dedeca da Silva de Campos do Laboratório de Análises Físicas, Sensoriais e Estatística do Instituto de Tecnologia de Alimentos, pelo auxílio na análise de textura dos géis.

Ao Prof. Marcelo Morgano do Centro de Química de Alimentos e Nutrição Aplicada do Instituto de Tecnologia de Alimentos, pelas análises de minerais.

À Profa. Dra. Glenys Mabel Caballero Córdoba pelo auxílio na análise estatística e interpretação dos dados obtidos.

À Profa. Dra. Marta Cristina Teixeira Duarte e ao Prof. Alexandre Nunes Ponezi do Centro de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agronômicas (CPQBA), pelas sugestões e apoio que muito me auxiliaram na execução deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Rogério Lacaz Ruiz da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - USP pelo grande incentivo e exemplo.

À Sra. Eliete de Carvalho do DEPAN da Faculdade de Engenharia de Alimentos pelo auxílio prestado durante a execução do ensaio biológico.

Aos funcionários do DEPAN da Faculdade de Engenharia de Alimentos, Profa. Dra. Soeli Reis, Liana Dawood e Francisco Carraro, pela amizade e apoio técnico em diferentes etapas do desenvolvimento deste trabalho.

Às amigas Érica Granja, Rosimeire Nascentes, Míriam Simões, Maria Tereza Pacheco, Lídia Neyra, Andréa Frias, Lys Mary Cândido, Patrícia Zinsli, Heloísa, Sílvio, Elisabete e Wanderléia (*in memoriam*), pela amizade, carinho e auxílios prestados durante esses anos de convivência.

Aos amigos Sandra, Carlos, Gabriel, Elisabeth, Vanilda e demais funcionários do Instituto de Tecnologia de Alimentos de Campinas pelo carinho e colaboração.

À todas as pessoas que, direta e indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	xiv
SUMMARY	xvi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 COMPOSIÇÃO DO SANGUE.....	3
2.2 DISPONIBILIDADE DE SANGUE BOVINO	5
2.3 COLETA DO SANGUE	6
2.4 PROCESSAMENTO DO SANGUE.....	7
2.5 ARMAZENAMENTO	9
2.6 PROPRIEDADES FUNCIONAIS	10
2.6.1 Solubilidade	13
2.6.2 Capacidade de absorção de água	15
2.6.3 Propriedades espumantes	16
2.6.4 Propriedades emulsificantes.....	18
2.6.5 Capacidade de geleificação.....	20
2.7 UTILIZAÇÃO DAS PROTEÍNAS DO SANGUE EM ALIMENTOS	22
2.8 VALOR NUTRICIONAL DAS PROTEÍNAS DO SANGUE	25

3. MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3.1 MATÉRIA-PRIMA	27
3.2 OBTENÇÃO DOS CONCENTRADOS PROTÉICOS DE PLASMA E GLOBINA.....	27
3.3 REMOÇÃO DO GRUPAMENTO HEME DA HEMOGLOBINA.....	29
3.4 MÉTODOS ANALÍTICOS.....	29
3.4.1 Composição Centesimal.....	29
3.4.2 Composição em aminoácidos	30
3.4.3 Escore químico (EQ)	30
3.4.4 Determinação de minerais	30
3.5 AVALIAÇÃO NUTRICIONAL <i>IN VIVO</i>	31
3.5.1 Escore químico corrigido pela digestibilidade in vivo (PDCAAS)	37
3.6 PROPRIEDADES FUNCIONAIS.....	37
3.6.1 Solubilidade.....	37
3.6.2 Capacidade de absorção de água	38
3.6.3 Capacidade de formação de espuma e estabilidade da espuma	39
3.6.4 Propriedades de emulsificação.....	40
3.6.5 Capacidade de geleificação.....	41
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	42
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO SANGUE.....	43

4.2 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO CONCENTRADO PROTÉICO DE PLASMA (CPP) E CONCENTRADO PROTÉICO DE GLOBINA (CPG).....	44
4.3 RENDIMENTO DE RECUPERAÇÃO DA PROTEÍNA.....	44
4.4 REMOÇÃO DO GRUPAMENTO HEME DO ISOLADO PROTÉICO DE GLOBINA.....	46
4.5 ANÁLISE DE MINERAIS.....	47
4.6 COMPOSIÇÃO DE AMINOÁCIDOS DOS CONCENTRADOS PROTÉICOS DE PLASMA E GLOBINA.....	48
4.7 AVALIAÇÃO NUTRICIONAL.....	51
4.7.1 Ensaio biológico.....	51
4.8 PROPRIEDADES FUNCIONAIS.....	57
4.8.1 Solubilidade.....	57
4.8.2 Capacidade de absorção de água.....	59
4.8.3 Propriedades espumantes.....	62
4.8.4 Propriedades de emulsificação.....	66
4.7.5 Geleificação.....	70
5. CONCLUSÕES.....	75
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	77

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 - Representação da molécula de hemoglobina.	4
FIGURA 2 - Fluxograma do processo de obtenção de concentrados protéicos de sangue.....	28
FIGURA 3. Equipamento utilizado para medição da absorção espontânea de água do concentrado protéico de plasma e isolado protéico de globina.	38
FIGURA 4. Amostras de concentrado protéico de plasma (CPP), fração celular integral (FC) e isolado protéico de globina (IPG) desidratadas.	46
FIGURA 5. Escore do aminoácido limitante primário (EALP) e escore de aminoácido corrigido pela digestibilidade <i>in vivo</i> (PDCAAS) do concentrado protéico de plasma (CPP) e isolado protéico de globina (IPG).	51
FIGURA 6. Efeito do tempo de ensaio biológico no ganho de peso de ratos Wistar alimentados com dietas de caseína, concentrado protéico de plasma (CPP), isolado protéico de globina (IPG) e misturas protéicas de CPP:IPG nas proporções de 1:1 e 2:1.....	55
FIGURA 7. Perfil de solubilidade do concentrado protéico de plasma em função da força iônica.....	58
FIGURA 8. Perfil de solubilidade do isolado protéico de globina (IPG) em função da força iônica.....	59
FIGURA 9. Capacidade de absorção de água do concentrado protéico de plasma (CPP), isolado protéico de globina (IPG) e isolado protéico de soja (IPS).....	60
FIGURA 10. Capacidade de absorção de soluções em diferentes concentrações de NaCl do concentrado protéico de plasma (CPP) e isolado protéico de globina (IPG).	61

FIGURA 11. Capacidade de absorção de água do concentrado protéico de plasma (CPP), isolado protéico de globina (IPG), em função do pH.	61
FIGURA 12. Propriedades de formação de espuma (% expansão) e estabilidade do volume da espuma (% EEs) após 30 e 60 minutos para concentrado protéico de plasma (CPP) e proteína da clara de ovo (PCO) a 1% em pH 7.	62
FIGURA 13. Porcentagem de expansão da amostra CPP 1% em função do pH e da concentração de NaCl.	63
FIGURA 14. Porcentagem de expansão da amostra IPG 1% em função do pH e da concentração de NaCl.	65
FIGURA 15. Efeito da concentração de proteína sobre a capacidade de emulsificação (C.E.) do concentrado protéico de plasma (CPP) e isolado protéico de globina (IPG) em água.	68
FIGURA 16. Efeito do pH sobre a capacidade de emulsificação (C.E.) do concentrado protéico de plasma (CPP) e isolado protéico de globina (IPG).	68
FIGURA 17. Géis do CPP formados nas concentrações de 2, 4, 6, 8 e 10% de proteína.	71

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1. Produtos obtidos à partir de subprodutos animais	6
TABELA 2. Número de animais abatidos no Brasil durante o ano de 1991	6
TABELA 3. Propriedades funcionais típicas de proteínas em alimentos	11
TABELA 4. Distribuição dos animais em blocos casualizados.....	32
TABELA 5. Composição centesimal das dietas utilizadas no ensaio biológico.....	33
TABELA 6. Mistura mineral AIN-93 G-MX	34
TABELA 7. Formulação da mistura vitamínica AIN-93 VX.....	35
TABELA 8. Composição Química do Sangue Bovino, Células Sanguíneas e Plasma.....	43
TABELA 9. Composição centesimal aproximada do concentrado protéico de plasma (CPP) e isolado protéico de globina (IPG).....	44
TABELA 10. Rendimento da extração das proteínas de plasma e globina	45
TABELA 11. Conteúdo de sólidos totais e ferro no concentrado protéico de plasma (CPP) e isolado protéico de globina (IPG).....	46
TABELA 12. Composição mineral (macro e microelementos) do concentrado protéico de plasma (CPP) e isolado protéico de globina (IPG).....	48
TABELA 13. Composição de aminoácidos dos concentrados protéicos de plasma e globina (g aminoácido/100g proteína).....	50
TABELA 14. Valores de nitrogênio ingerido (NI), nitrogênio fecal (NF), nitrogênio urinário (NU) e balanço de nitrogênio (BN).	53

TABELA 15. Digestibilidade verdadeira (Dv), valor biológico verdadeiro (VBv), e utilização líquida verdadeira da proteína (NPUv) obtidos em sete dias de balanço nitrogenado	54
TABELA 16. Consumo de proteína, ganho de peso e taxa de eficiência líquida da proteína (NPR).....	56
TABELA 17. Estabilidade do volume de espuma (% EEs) e líquido drenado (%LD) do concentrado protéico de plasma (CPP) em função do pH e força iônica.....	64
TABELA 18. Estabilidade do volume de espuma (% EEs) e líquido drenado (%LD) do isolado protéico de globina (IPG) em função do pH e força iônica.....	65
TABELA 19. Capacidade de emulsificação (C.E.) e estabilidade da emulsão (E.E.) para dispersões de proteína a 1% em pH 4.....	66
TABELA 20. Resultados da capacidade de emulsificação (C.E.) e estabilidade da emulsão (%EES) para dispersões de proteína a 1%.....	70
TABELA 21. Parâmetros de textura dos géis de concentrado protéico de plasma (CPP) em função do pH.....	72
TABELA 22. Efeito da força iônica nos parâmetros de textura de géis do concentrado protéico de plasma (CPP) em comparação com a proteína da clara de ovo (PCO) em pH 7.....	73

RESUMO

Este estudo objetivou o desenvolvimento de um processo de obtenção das proteínas do sangue de bovinos e a avaliação de suas propriedades funcionais e nutricionais, visando sua utilização em alimentação humana. Os estudos foram realizados com sangue oriundo de bovinos sadios, coletado no frigorífico Nova Odessa, Nova Odessa São Paulo, por punção direta no sistema arterial (*arcus aortae*). Foi utilizado citrato de sódio como anticoagulante e após a coleta o sangue foi centrifugado para separar a massa celular do plasma. O plasma foi concentrado por ultrafiltração e desidratado em “spray dryer” sendo obtido, dessa maneira, o concentrado protéico de plasma (CPP). A massa celular foi hemolisada e fez-se a desconjugação da hemoglobina em meio ácido, precipitando-se o grupamento heme com solução diluída de carboximetil celulose. A globina foi recuperada do sobrenadante por precipitação em pH 6,0 com HCl 1N, e desidratada por liofilização, obtendo-se o isolado protéico de globina (IPG). As frações desidratadas foram caracterizadas quimicamente através da determinação de composição centesimal, minerais e aminoácidos. A qualidade protéica do CPP, IPG e de misturas dos mesmos, foi avaliada *in vivo* através da determinação do quociente de eficiência líquida da proteína (NPR) e balanço nitrogenado. Foram avaliadas as propriedades funcionais das frações protéicas através da determinação da solubilidade, capacidade de absorção de água, capacidade de formação de espuma e estabilidade da espuma, capacidade de emulsificação e estabilidade de emulsão e geleificação, tendo sido verificada a influência de parâmetros como pH, concentração de proteína e força iônica do meio. O rendimento de recuperação da globina foi de 61,26% em relação à solução de hemoglobina e a porcentagem de remoção do ferro de 96,9%. A composição de aminoácidos do CPP apresentou-se adequada em relação ao padrão teórico da FAO, porém, o IPG foi extremamente deficiente em isoleucina e em aminoácidos sulfurados. A mistura CPP: IPG na proporção de 2:1 quando comparada ao CPP, IPG e mistura CPP:IPG na proporção 1:1, apresentou maior valor de NPR

(4,12) e digestibilidade verdadeira (95,03%), não diferindo significativamente ($p \leq 0,05$) da caseína. O CPP apresentou o maior balanço nitrogenado (1,13), valor biológico verdadeiro (85,46%), e quociente de utilização líquida verdadeiro da proteína (81,05%). O CPP apresentou-se altamente solúvel nos pHs de 2 a 9, enquanto que a mais alta solubilidade do IPG ocorreu em meio ácido e acima do pH 9. O CPP superou o IPG na capacidade de formação de espuma em pH 7, na capacidade de emulsificação acima de pH 6 e na capacidade de geleificação. O IPG apresentou maior capacidade de absorção de água, maior capacidade de formação de espuma em pH 4 e maior capacidade emulsificante nos pHs 3 e 4.

SUMMARY

The objective of this thesis was to obtain bovine blood proteins and to study their functional and nutritional properties to be used in human foods. Blood of healthy bovines was collected from a slaughterhouse using sodium citrate to prevent coagulation and subsequently it was fractionated in a centrifuge separator into plasma and blood cell concentrate. The plasma was spray dried after concentration by ultrafiltration to obtain a dehydrated blood plasma concentrate (CPP). Blood cells concentrate was hemolyzed by suspending in water and the separation of hemoglobin to heme and globin was done under acidic solution (pH<3). Followed precipitation of the heme group with diluted carboxymethylcellulose solution at pH < 3. The globin isolate (IPG) was obtained by adjusting the supernatant to pH 6 with 1N HCl and then lyophilized. The dehydrated fractions were characterized chemically through determination of proximate percent composition, mineral and amino acids determination. The protein nutritional quality of CPP, IPG and mixtures of CPP:IPG was assessed *in vivo* through determination of net protein ratio (NPR) and nitrogen balance. Functional properties such as solubility, water absorption, foam formation and stability, emulsifying capacity and stability, and gelation were also studied under various conditions. The yield of globin preparation from hemoglobin solution was 61.26% and the iron removed represented 96%. The amino acid composition of CPP was considered adequate when compared with the FAO theoretical standard. However the IPG was limited in isoleucine and in sulphur-containing amino acids. The mixture CPP:IPG (2:1 w/w) showed the highest NPR (4.12) and a true digestibility of 95.03%, similar to casein (94.77%). The CPP showed the highest nitrogen balance (1.13), true biological value (85.46%) and true net protein utilization (81.05%). The CPP showed high water solubility at pHs 2 to 9 while the highest solubility of IPG was in the acidic pH region and above pH 9. The CPP was superior to IPG on foam formation at pH 7, on emulsifying capacity above pH 6 and on gelation. The IPG showed the highest water absorption, foam formation at pH 4 and emulsifying capacity at pHs 3 and 4.

1. INTRODUÇÃO

O acentuado aumento da população mundial e os altos custos de produção da agricultura convencional, incentivaram nas últimas décadas, as pesquisas sobre fontes alternativas de proteína.

Do processamento da carne resultam diversos subprodutos: sangue, vísceras, ossos, entre outros. O sangue animal contém em torno de 18% de proteína, semelhante à carne, e suas proteínas, particularmente as do plasma, apresentam elevado valor nutritivo e excepcionais propriedades funcionais para serem usadas como ingredientes em um grande número de produtos alimentícios para humanos.

O Brasil produz anualmente em seus abatedouros ao redor de 150 milhões de litros de sangue, que até o momento é mal aproveitado, sendo usado, apenas em parte, em rações para animais ou fertilizantes (PENTEADO et al., 1979). Boa parte é lançada nos mananciais hídricos constituindo-se em significativa fonte poluidora.

Países desenvolvidos, principalmente os da Europa, têm realizado com êxito estudos para a recuperação do sangue bovino e porcino e fazem um aproveitamento muito mais intensivo e racional desse subproduto da indústria animal do que o Brasil (GORDON, 1971).

O uso do sangue na alimentação humana tem sido limitado, entretanto, pela sua cor escura e um sabor metálico atribuído à hemoglobina, principal proteína das células vermelhas (LEE et al., 1990).

Com o fracionamento do sangue, obtém-se o plasma e o concentrado de hemácias ou fração celular. A fração celular pode ser clarificada e dela extrair a globina, cujas propriedades e potencial de utilização são semelhantes às das proteínas do plasma.

No Brasil, onde a deficiência protéica e de ferro constitui sério problema de alimentação, há que se considerar a importância do desenvolvimento de tecnologia apropriada para o aproveitamento do sangue produzido nos abatedouros e a sua incorporação em produtos para alimentação humana. Assim sendo, o presente trabalho foi realizado com os seguintes objetivos:

Objetivo Geral

- Realizar o fracionamento do sangue bovino em suas frações protéicas, de maneira higiênica e preservando ao máximo seu valor nutritivo e propriedades funcionais, para que possam ser usadas como ingredientes visando a melhoria da funcionalidade e do valor nutritivo de um grande número de alimentos formulados.

Objetivos Específicos

- Produzir os concentrados protéicos desidratados de plasma e globina;
- Estudar a composição centesimal, o perfil de aminoácidos e as propriedades funcionais das duas frações;
- Realizar ensaios biológicos para determinação do valor nutritivo dos concentrados protéicos de plasma e globina e de misturas dos mesmos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Composição do sangue

O sangue é constituído de componentes celulares (eritrócitos, leucócitos e plaquetas) e de uma fase líquida denominada plasma, que contém substâncias orgânicas e inorgânicas em solução. As proteínas mais abundantes no sangue são: hemoglobina nos eritrócitos e albumina no plasma (HALLIDAY, 1975).

O plasma difere do sêro, o qual é obtido quando o sangue coagula. As plaquetas têm participação no mecanismo de coagulação sanguínea, liberando trombina que reage com o fibrinogênio e o transforma em fibrina insolúvel quando o sangue é removido do sistema arterial, capturando grande parte dos eritrócitos e dando origem ao coágulo e ao sêro. Para impedir a coagulação, a fibrina pode ser removida mediante rápida agitação mecânica ou ser tratada com anticoagulante. Os anticoagulantes sequestram íons cálcio, imprescindíveis para a formação de trombina. Desse modo, as células se mantêm intactas e podem ser removidas por centrifugação, obtendo-se o plasma (GUNSTONE, 1980). A agitação provoca a ruptura dos eritrócitos, liberando a hemoglobina e colorindo o plasma, uma vez que a cromoproteína nele se dissolve. A utilização de anticoagulante é um método mais prático e eficiente. Por meio de fracionamento do sangue obtém-se, em volume, cerca de 65-70% de plasma e 35-40% de massa celular (HALLIDAY, 1973).

Como já mencionado, o sangue bovino possui uma composição semelhante à carne e segundo ALENCAR (1983), contém 80,9% de água, 17,3% de proteína, 0,23% de gordura, 0,07% de carboidratos e 0,62% de minerais, em que se destaca o ferro (36,3 mg/100g) que é cerca de 10 vezes a concentração encontrada na carne.

O plasma é composto principalmente pelas proteínas albuminas (3,3%), fibrinogênio (0,4%) e globulinas (imunoglobulinas, α e β -globulinas) (4,2%), totalizando em base líquida 7,9% de proteínas (HOWELL & LAURIE, 1983). O

plasma desidratado contém em média 7% de umidade, 80% de proteína, 7,9% de sais minerais e cerca de 1% de gordura, além de alguns constituintes menores (PISKE, 1982).

A hemoglobina (Figura 1) representa praticamente a totalidade da proteína contida nos eritrócitos e é formada por quatro cadeias polipeptídicas, duas α e duas β , sendo que a cada cadeia está ligado um grupo heme. O grupo heme consiste de uma complexa estrutura orgânica, chamada protoporfirina, à qual está ligado um átomo de ferro no estado ferroso. O átomo de ferro ferroso tem seis valências de coordenação, quatro delas ligando-se à protoporfirina, uma ao nitrogênio imidazólico de um resíduo de histidina e uma que se liga reversivelmente com o oxigênio ou gás carbônico (PERUTZ, et al., 1960; LEHNINGER, 1985).

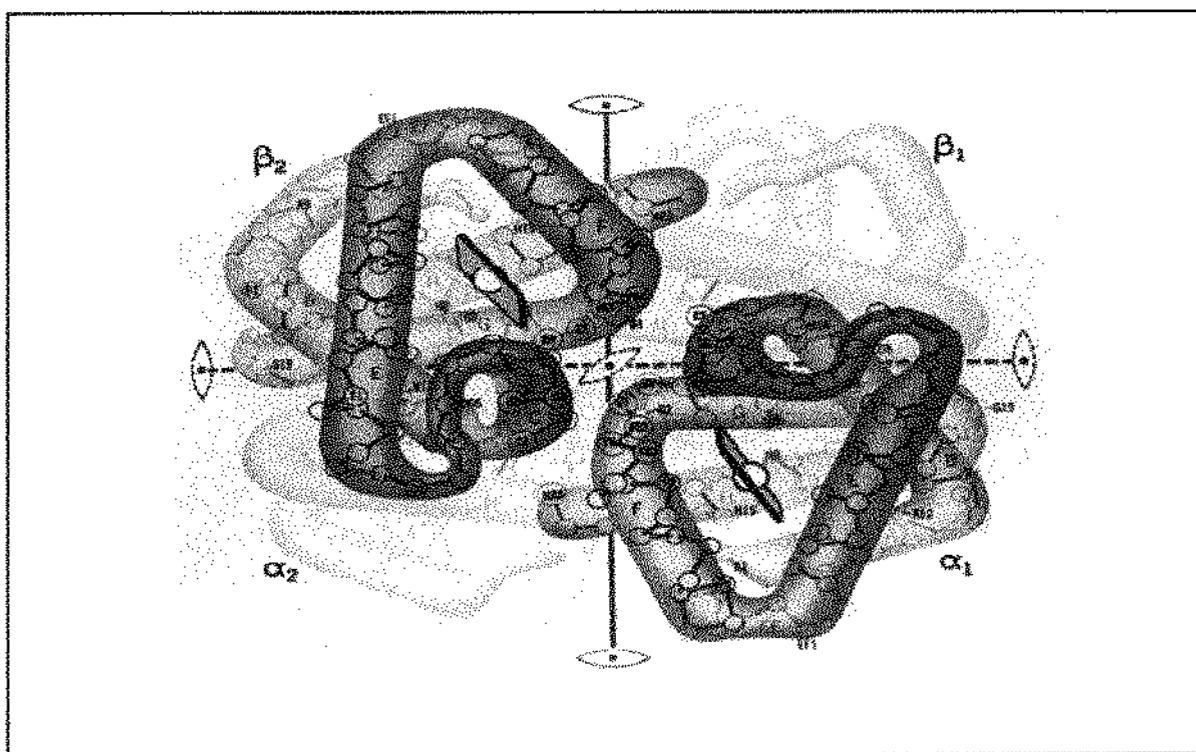


Figura 1. Representação da molécula de hemoglobina.
Fonte: SGARBIERI (1996).

Embora as proteínas de sangue sejam deficientes em isoleucina e metionina (TYBOR et al., 1975; DELANEY, 1975, SHAHIDI et al., 1984), por serem ricas em

lisina, leucina, valina, treonina, fenilalanina e triptofano, elas complementam, do ponto de vista nutritivo, as proteínas de cereais.

2.2 Disponibilidade de sangue bovino

A economia das indústrias cárnicas exige o aproveitamento dos subprodutos para poder competir com outras fontes protéicas de origem vegetal. Se os subprodutos dos animais não forem utilizados, além de se perder um valioso potencial alimentar, elevam-se consideravelmente os custos adicionais na eliminação dos resíduos para se evitar a poluição ambiental. Atualmente, os animais vivos podem chegar a custar mais que sua carne, portanto são os subprodutos que têm que pagar os gastos de transformação e gerar os benefícios nos abatedouros. Em abatedouros de pequeno porte, o sangue usualmente não é aproveitado e é descartado nos mananciais hídricos, o que acarreta riscos de contaminação e a concentração de sólidos suspensos se eleva três vezes mais (OCKERMAN & HANSEN, 1994). Na Tabela 1 são descritos alguns produtos obtidos à partir dos principais subprodutos animais.

Na Tabela 2 pode-se observar o número de animais abatidos no Brasil no ano de 1990. De acordo com DUEPJOHANN (1976) as quantidades de sangue que podem ser obtidas no abate de diferentes espécies, em Kg por animal, são como seguem: cavalo 18, bovinos 10 a 12, suínos 3,5, ovelhas 1,5, cabras 1,2. Segundo WISMERPEDERSEN (1979), se considerarmos um bovino com 500 Kg de peso vivo e 170 Kg de carne, a utilização do seu sangue representaria um aumento de 6 a 7%, em termos de proteína.

Na Itália a produção de 86.000 toneladas de sangue é subutilizada, porém na Suécia, a sua utilização é de 80% da produção (QUAGLIA & ALLESSANDRONI, 1977). GRAHAM (1978) afirma que apenas uma pequena parte da produção australiana de 80.000 toneladas de sangue/ano é utilizada em produtos alimentícios, e que na URSS a utilização de sangue é mais extensa na indústria farmacêutica.

Tabela 1. Produtos obtidos à partir de subprodutos animais

Gordura	Margarinas, doces, chiclets
Ossos	Farinha de osso, , botões, cerâmicas, gelatina
Sangue	Consumo humano, farinhas de sangue, fertilizantes, produtos farmacêuticos
Órgãos	Consumo humano, implantação cirúrgica como válvulas cardíacas, pele e ossos
Peles	Couros e produtos curtidos, farinha para animais, gelatina
Pêlos	Pincéis, brochas
Intestinos	Tripas para embutidos, cordas de instrumentos musicais, ligaduras cirúrgicas

Fonte: OCKERMAN & HANSEN (1994)

Tabela 2. Número de animais abatidos no Brasil durante o ano de 1991

Bovinos	13.900.819
Suínos	12.176.642
Aves	1.055.061.597
Ovinos	905.625
Caprinos	798.432

Fonte: Anuário Estatístico do Brasil (1993)

2.3 Coleta do sangue

Na sangria, apenas cerca de 50% do volume total do sangue podem ser removidos. O restante fica retido no coração, vasos sanguíneos e musculatura (GUNSTONE, 1980). A utilização do sangue para fins alimentícios exige precauções durante a coleta e processamento para que se garanta baixos níveis de contaminação microbiológica.

Uma coleta higiênica pode ser feita por sistema fechado, onde se utiliza facas especiais de sangria (AKERS, 1973). Neste sistema, se utiliza uma faca ôca e esterilizada que é introduzida diretamente no sistema arterial e o sangue flui por meio de um tubo a um recipiente estéril. Com este método, tomando-se as precauções necessárias como inspeção e limpeza dos animais, pode-se obter contagem bacteriana de 10 a 10^2 microrganismos por mililitro de sangue, que é mínima se comparada com a do método aberto, onde o sangue é coletado em recipientes ou calhas e a contagem total pode chegar a 10^5 microrganismos/mL. (GORDON, 1971; GRAHAM, 1978).

Um anticoagulante pode ser incorporado em doses exatas, por meio de injeção automática nos tubos transportadores, permitindo um contato contínuo com o sangue durante a coleta. Pode-se aplicar vácuo ao sistema para acelerar a sangria e aumentar o rendimento, porém segundo HALLIDAY (1973), com o uso de vácuo há risco de sangria excessiva, resultando em uma descoloração indesejável da carne, que pode ser evitada sangrando-se o animal apenas pela metade.

Dentre os anticoagulantes utilizados industrialmente quando o sangue se destina ao consumo humano, destaca-se o citrato de sódio, na proporção de 0,3-0,5% em relação à massa de sangue. (HALLIDAY, 1973; 1975). Sais de ácido fosfórico, embora muito eficientes, têm seu uso restrito pela legislação da maioria dos países. O cloreto de sódio apresenta o efeito indesejável de causar hemólise, nas proporções indicadas para uso (PISKE, 1982).

2.4 Processamento do sangue

Segundo GORDON (1971) o sangue pode ser armazenado de 3 a 4 dias à temperatura de $4-5^{\circ}\text{C}$ mas, no entanto, para fins alimentícios, seu processamento deve ocorrer imediatamente após a coleta.

Dentre os métodos utilizados para separar o plasma da fração celular, a centrifugação tem sido largamente utilizada nas indústrias, pois este processo permite

uma rápida separação. Diversos métodos também foram reportados para separar o grupo heme da hemoglobina e recuperar a globina, facilitando seu uso em alimentação humana por eliminar ou diminuir a cor e o sabor metálico (TYBOR et al., 1975; AUTIO et al., 1984; LEE et al., 1991).

Os separadores podem ser de fluxo contínuo ou de pratos. Existem separadores centrífugos contínuos de vários tipos e com capacidade de operação acima de 5000 litros de sangue por hora. A eficiência da separação depende, dentre outros fatores, da forma do rotor e da velocidade de rotação (AVERY, 1972). Antes de iniciar a centrifugação é aconselhável a aplicação de uma solução isotônica de anticoagulante ou uma solução de cloreto de sódio 0,9% em todas as superfícies com as quais o sangue entra em contato (HALLIDAY, 1973; DUEPJOHANN, 1976). Isso faz com que a pressão osmótica externa seja a mesma do interior das células vermelhas, evitando seu rompimento e a liberação de hemoglobina (hemólise), o que deixa o plasma com coloração vermelha, limitando seu uso na panificação e confeitaria, por exemplo.

Tradicionalmente a preparação da globina descolorida tem sido baseada na desconjugação da hemoglobina em meio ácido e separação do grupamento heme por diversos métodos como, pelo uso de solventes orgânicos (TYBOR et al., 1975), precipitação do grupo heme com solução diluída de carboximetil celulose (AUTIO et al., 1984), ou ainda pelo uso de alginato de sódio (LEE et al., 1990).

A ligação da molécula heme às cadeias polipeptídicas de globina é feita através de ligações coordenadas. O meio ácido rompe as ligações, permitindo a dissociação do radical heme e globina (SATO et al., 1981; WISMER-PEDERSEN, 1988).

Segundo WISMER-PEDERSEN (1988) os métodos de remoção com solventes orgânicos requerem consideráveis volumes de solvente, não menos que 50 litros para cada Kg de globina produzido, e os resíduos são difíceis de serem removidos do produto final.

SATO et al. (1981) relatam que a carboximetil celulose atua como um trocador de íon na remoção do grupamento heme, provavelmente pela formação de uma ligação não coordenada entre o grupo carboxil, que em meio ácido se encontra em uma forma não ionizada, e o ferro do grupamento heme.

2.5 Armazenamento

As frações sanguíneas obtidas após separação (plasma e células sanguíneas) quando não utilizadas imediatamente, devem ser submetidas a processos de conservação pois, devido à sua composição, sofrem facilmente deterioração química, enzimática e microbiológica. Segundo HALLIDAY (1973) as frações podem ser acondicionadas em sacos plásticos, congeladas e armazenadas em câmaras frias a -25°C. As frações separadas podem ser desidratadas por liofilização, “spray dryer” ou rolos secadores (“drum dryer”).

A liofilização é um método dispendioso para ser usado na produção das frações para fins alimentícios. Na desidratação por “drum dryer” o material permanece em contato com a superfície aquecida por um tempo prolongado, tendendo a reduzir o valor nutricional do produto final. Devido à utilização de temperaturas mais baixas para secagem e ao menor tempo de exposição do material com o ar aquecido, as perdas nutricionais na desidratação por “spray” são mínimas (RUSIG, 1979).

A concentração do plasma por ultrafiltração antes da desidratação com o uso de calor é recomendada por ERIKSSON & VON BOCKELMANN (1975) para diminuir o tempo de exposição do plasma ao calor e para economizar energia com menor tempo de secagem. O teor de sólidos totais no plasma pode passar de 9% a 20-25% com a ultrafiltração. FERNANDO (1981) concentrou o sangue bovino por ultrafiltração e assinalou a vantagem do processo quando comparado com a evaporação à vácuo, devido aos menores custos de operação.

O sangue integral e a massa celular podem ser desidratados sem a necessidade de se efetuar uma concentração prévia, devido à sua elevada porcentagem de sólidos que chega a aproximadamente 30% (SATTERLEE, 1975)

A conservação do plasma líquido com sacarose, cloreto de sódio e ácido acético foi estudada por CONTRERAS-GUSMÁN (1984), tendo sido concluído que a conservação com esses aditivos só é eficiente à baixas temperaturas. Porém, a conservação em baixa temperatura é um método caro, que exige investimentos na área de armazenagem.

2.6 Propriedades Funcionais

As propriedades funcionais de uma proteína referem-se às características físico-químicas e às interações da proteína com outros componentes em alimentos, que determinam o uso e êxito como ingrediente protéico em sistemas alimentares. Estas propriedades influem no processamento, preparo e nos atributos da qualidade dos alimentos (KINSELLA, 1976).

As propriedades funcionais das proteínas lhes permitem contribuir com as características desejadas de um alimento. Na Tabela 3 está apresentada uma classificação proposta por HALÁSZ & LÁSZTITY (1991) para as principais propriedades funcionais das proteínas em alimentos. O objetivo dos pesquisadores é encontrar uma explicação mecânica do comportamento funcional, mas o estado atual dos conhecimentos, assim como a complexidade dos diversos sistemas alimentares, não permitem compreender de forma clara, como uma estrutura protéica concreta condicionará, por exemplo, a estrutura final de um alimento. As dificuldades surgem porque frequentemente se modifica a estrutura inicial da proteína, quando o ingrediente protéico ou a proteína alimentar se transforma no complexo alimentar final (CHEFTEL et al., 1989).

Tabela 3. Propriedades funcionais típicas de proteínas em alimentos.

Propriedade Funcional	Modo de ação	Sistema alimentício
Hidratação, absorção de água, ligação de água	Ligação de água por pontes de hidrogênio	Carne, produtos cárneos e de panificação
Solubilidade	Solubilização de proteínas	Bebidas
Viscosidade	Espessamento, ligação de água (imobilização)	Sopas, molhos, condimentos
Geleificação	Formação de matriz protéica	Carne, coalho, queijo, produtos de panificação
Emulsificação	Formação e estabilização de emulsões	Crems, produtos cárneos, condimentos, sopas, bolos, alimentos para bebês
Formação de espuma	Formação de filmes estáveis, imobilização de gases	Doces aerados
Coesividade, Adesividade	Proteína como material aderente	Carne, produtos cárneos, produtos de panificação
Elasticidade	Ligações hidrofóbicas, ligações S-S em gel	Carne, produtos de panificação
Absorção de gordura	Ligação de gordura livre	Bolos, Produtos cárneos
Absorção de flavor	Adsorção, absorção	Todos os alimentos
Mudança de fase durante aquecimento	Desnaturação	Produtos cárneos

Fonte: HALÁS & LÁSZTITY, 1991.

A funcionalidade de uma proteína reflete as complexas interações entre a composição de aminoácidos, a conformação estrutural e propriedades da proteína em si, bem como sua interação com outros componentes alimentares e a natureza do meio no qual ela está inserida (KILLARA & SHARKASI, 1986).

Diversos fatores como concentração protéica, pH, temperatura, tempo, força iônica e presença de outros componentes, afetam as forças que intervêm entre as interações proteína-proteína e proteína-água. A maioria das propriedades funcionais são determinadas pelo equilíbrio entre essas forças.

A falta de padronização da metodologia utilizada no estudo das propriedades funcionais de uma nova proteína dificulta sua avaliação por comparação de resultados. Diversos autores têm ressaltado a necessidade de se padronizar os métodos empregados (MATTIL, 1971; KINSELLA, 1976; PHILLIPS, et al., 1987). A utilização de uma proteína com propriedades funcionais bem caracterizadas, como padrão de funcionalidade da nova proteína que se pretende avaliar, é uma prática usualmente empregada pelos pesquisadores. A albumina do ovo, caseinatos e proteínas da carne e soja são as proteínas de referência mais utilizadas (WANG & KINSELLA, 1976).

Segundo KINSELLA (1976) a avaliação de uma nova proteína com a utilização de sistemas modelo pode não ser equivalente aos resultados obtidos em um sistema real, ou seja, no alimento no qual se deseja incorporá-la. O autor cita trabalhos (HERMANSSON & AKESSON, 1975; YATSUMATSU et al., 1972) em que estudos das características funcionais de proteínas, demonstraram que os dados obtidos através de sistemas modelo apresentaram boa correlação quando incorporadas em sistemas alimentares complexos e que sistemas modelo são importantes para identificação e avaliação dos possíveis efeitos da adição de proteínas no processamento.

O número de pesquisas explorando as propriedades funcionais das proteínas de sangue vem aumentando com o crescente interesse no aproveitamento deste subproduto em alimentação humana. Pela versatilidade de suas propriedades funcionais, o plasma desidratado tem sido usado em produtos de panificação, em produtos cárneos e em vários outros produtos em substituição à clara de ovo (HICKSON et al., 1982; ETHERIDGE et al., 1981; HERMANSSON, 1982a,b)

2.6.1 Solubilidade

As propriedades de hidratação ou hidrofílicas, especialmente a solubilidade, são as primeiras a serem avaliadas na pesquisa de uma proteína, já que constituem uma indicação do potencial de aplicação em alimentos (HUTTON & CAMPBELL, 1977a).

A solubilidade protéica é difícil de ser definida já que as proteínas em meio aquoso podem formar uma verdadeira solução, uma dispersão coloidal ou uma suspensão estável de partículas insolúveis (BORDERÍAS & MONTERO, 1988). PATEL & FRY (1987) definem a solubilidade como a quantidade de proteína que permanece em solução ou dispersão coloidal e não se sedimenta sob força centrífuga moderada.

Segundo FENNEMA (1985) quanto maior a capacidade de uma proteína interagir com a água através de ligações de hidrôgenio, dipolo-dipolo e iônicas, tanto maior será sua solubilidade. A composição em aminoácidos de uma proteína, particularmente o número de resíduos ácidos (asparagil, glutamil) e básicos (histidil, arginil e lisil) influenciam sua solubilidade. Esses aminoácidos, por apresentarem carga, aumentam o número de interações eletrostáticas com a água, contribuindo para uma maior solubilidade das proteínas (SGARBIERI, 1996).

As variações de pH modificam a carga líquida da molécula de proteína, alterando as forças atrativas e repulsivas entre as proteínas e sua capacidade de interagir com a água. No ponto isoelétrico, onde a carga líquida da proteína é quase nula, as interações água-proteína são mínimas e as interações proteína-proteína são máximas, levando à formação de agregados e precipitados protéicos (BORDERÍAS & MONTERO, 1988).

A presença de sais altera a solubilidade das proteínas devido à competitividade entre as moléculas de água e de sais pelos grupos laterais dos aminoácidos. Em baixas concentrações de sais a solubilidade pode aumentar (salting-in), devido às interações

dos íons com as cargas das proteínas, reduzindo a atração eletrostática entre as cargas opostas de grupos vizinhos. Em altas concentrações de sais pode ocorrer precipitação das proteínas (salting-out) devido à predominância das interações água-sal, em detrimento das interações água-proteína (CHEFTEL et al., 1989).

O'RIORDAN et al. (1988) trabalhando com plasma bovino, encontraram que as proteínas do plasma não aquecido são amplamente solúveis em toda a faixa de pH, apresentando um mínimo de solubilidade a pH 5 onde, entretanto, 80% das proteínas permaneceram em solução. Porém, com aquecimento (60°-90°C), a solubilidade das proteínas diminui 50% no pH 5.

Segundo HAYASHY et al. (1991) com a pasteurização do plasma por irradiação gama e por elétrons, a solubilidade é melhor do que quando submetido a tratamento térmico.

ETHERIDGE et al. (1981) trabalhando com plasma bovino obtiveram para o isolado de proteínas plasmáticas tratadas com hexametáfosfato de sódio, um aumento na solubilidade em valores acima do ponto isoelétrico (4,8-5,3). Abaixo dessa faixa as proteínas se apresentaram praticamente insolúveis. Isso mostra que a presença de fosfato interfere significativamente com a ionização dos aminoácidos a baixos valores de pH, e/ou produz uma agregação isoelétrica irreversível em pHs baixos.

HAYAKAWA et al. (1982) verificaram que a globina apresenta uma alta solubilidade em meio ácido, mesmo após aquecimento. Estudando o efeito do aquecimento a diferentes pHs na solubilidade da globina, os autores verificaram que quando o aquecimento da proteína foi realizado em pH 4, a solubilidade foi menos afetada do que a pH 10, onde a maioria das proteínas poderiam coagular. Isso é importante para a indústria de bebidas pois a globina poderia ser usada em bebidas levemente acidificadas por permanecer muito solúvel durante o processamento ou estocagem.

AUTIO et al. (1984) encontraram para globina uma solubilidade de 10% em pH 7. A adição de NaCl 1M diminuiu ainda mais a solubilidade da globina neste pH.

TYBOR et al. (1975) concluíram que o método de preparação afeta o perfil de solubilidade das proteínas do sangue. Comparando os efeitos da desidratação por “spray dryer” a temperaturas de 160° e 190°C, com o método de liofilização em presença e ausência de lactose, os autores observaram que temperaturas mais altas diminuíam a solubilidade em até 20% em relação ao produto liofilizado. A incorporação de lactose antes da secagem demonstrou ter um efeito protetor na sensibilidade térmica das proteínas.

2.6.2 Capacidade de absorção de água

A absorção de água por ingredientes protéicos tem um papel fundamental na textura de diversos alimentos, especialmente carnes trituradas e massas de pão. A água absorvida sem dissolução da proteína, conduz a uma expansão, e lhe confere propriedades tais como consistência, espessamento, viscosidade e aderência (CHEFTEL et al., 1989). A absorção de água é fortemente influenciada pelo tamanho da molécula, pH, força iônica, temperatura e tipo de proteína (KINSELLA, 1976).

A absorção de água por um ingrediente protéico pode, algumas vezes, melhorar com uma desnaturação parcial, principalmente em proteínas com estrutura muito compacta, onde um desdobramento parcial da estrutura expõe à superfície ligações peptídicas e grupos polares não ionizados, que podem formar pontes de hidrogênio com a água, facilitando sua absorção (CHEFTEL et al., 1989).

A presença de sais, levando à alteração da força iônica e propriedades do solvente, afetam a capacidade de absorção de água. Mudanças nas interações proteína- água devido à presença de sais podem ser causadas pela competição entre grupos laterais de aminoácidos e sais pela água (CHOU & MORR, 1979). Já em sistemas cárneos, SHULTS et al. (1972) relataram que o aumento da capacidade de

ligação de água com adição de sal, ocorre devido ao fato dos íons cloreto se associarem às proteínas acima do ponto isoelétrico, aumentando a carga líquida negativa dos polipeptídeos e, portanto, as forças repulsivas, permitindo uma maior absorção de água pela estrutura protéica.

De acordo com AUTIO et al. (1984) a globina apresenta um potencial de utilização em alimentos semi-sólidos devido à grande capacidade de absorção de água, a qual é relativamente estável em diversos pHs, baixa concentração de sal e tratamento térmico.

2.6.3 Propriedades espumantes

Espumas são sistemas dispersos de duas fases distintas, onde uma delas líquida, circunda uma fase dispersa constituída de bolhas de ar. Proteínas podem agir como estabilizantes desse sistema, acumulando-se na interface ar-água, alterando as propriedades de superfície. As bolhas de ar são separadas por uma fina camada de líquido, denominada lamela, formando uma interface gás-líquido de elevada proporção, resultando num filme adsorvido nesta região que previne a coalescência das bolhas de ar (HALLING, 1981). As proteínas atuam como um soluto surfactante, formando membranas extendidas que resistem até certo grau de desnaturação, diminuindo a tensão superficial do líquido e facilitando sua deformação por expansão da área superficial (KINSELLA, 1976).

O método mais comumente utilizado para formação de espuma consiste no batimento ou mistura de uma dispersão protéica a altas velocidades, através do qual se dá a incorporação de ar. Excesso de batimento, como por exemplo com clara de ovo, causa coagulação-agregação das proteínas na interface ar-água, insolubilizando a proteína que não se adsorve apropriadamente, sendo ineficiente para uma expansão e estabilidade da espuma (HALLING, 1981). A drenagem do líquido e o colapso da espuma, têm sido os principais métodos empregados para caracterizar a estabilidade da espuma (ELIZALDE et al., 1991).

Diversos fatores influenciam a formação e estabilidade de espumas como, solubilidade, pH, método de preparação, concentração, temperatura, presença de sais, açúcares e lipídios. Os mecanismos de desestabilização de espuma têm sido descritos como drenagem, quebra ou escoamento do líquido da lamela com o decorrer do tempo após formação da espuma, devido à gravidade, diferenças de pressão e mesmo evaporação (KINSELLA, 1976).

Segundo CHEFTEL et al. (1989) embora muitos estudos ressaltem a importância de uma alta solubilidade das proteínas, para que se manifeste uma boa capacidade espumante e estabilidade, é aceito que as partículas protéicas insolúveis podem ter um papel benéfico na estabilidade da espuma. O pH, intrinsicamente relacionado à solubilidade de dispersões protéicas, afeta as propriedades espumantes, da mesma maneira que em outras propriedades funcionais, pela alteração na carga elétrica das moléculas de proteína. A alta estabilidade da espuma de muitas proteínas no pH isoelétrico, pode ser explicada pelo fato de que as atrações eletrostáticas intermoleculares, que se produzem no ponto isoelétrico, aumentam a espessura e a rigidez das proteínas adsorvidas na interface ar-água.

A influência dos sais sobre as propriedades espumantes varia de acordo com o tipo de proteína. O cloreto de sódio, em baixas concentrações, aumenta a capacidade espumante da proteína de soja e concentrado protéico de peixe, reduzindo, no entanto a estabilidade das proteínas de ovo e soja. Baixas concentrações de NaCl aumentam a solubilidade da proteína, podendo melhorar sua capacidade espumante. À medida que a concentração de sal é aumentada, efeitos de "salting-out" podem ocorrer, reduzindo a estabilidade, pela lentidão em atingir o limite crítico necessário de desnaturação da superfície, requerida para estabilizar a espuma (KINSELLA, 1976).

TYBOR et al. (1975) avaliaram o efeito da concentração protéica e do pH na capacidade de formar espuma (CFE) dos isolados protéicos de plasma e globina comparativamente à ovalbumina. A máxima CFE encontrada para plasma e globina foi

a uma concentração de 1,7g/100 mL. A capacidade de formar espuma do plasma foi semelhante à da ovalbumina em todas as concentrações. Quanto ao efeito do pH, proteínas do plasma exibiram uma resposta linear, diminuindo a CFE com o aumento do pH. Já a globina apresentou uma CFE maior do que o plasma durante as variações de pH e, a resposta a essas variações foi semelhante ao perfil de solubilidade. Ela exibiu uma CFE máxima a pH 6 e mínima a pH 7,2. Quanto à estabilidade da espuma, a globina apresentou-se mais estável do que as proteínas plasmáticas a pH 6 (máxima CFE), estabilidade essa comparável à da ovalbumina. Resultados semelhantes também foram obtidos por SHAHIDI et al. (1984).

No experimento com proteínas plasmáticas, ETHERIDGE et al. (1981) observaram que a proteína plasmática fosforilada com hexametáfosfato de sódio, apresentou melhores resultados do que a não fosforilada e a ovalbumina a uma concentração de 1%. Uma provável explicação seria que a presença de íons sódio e fosfato aumenta a viscosidade da dispersão protéica e a estabilidade da espuma.

2.6.4 Propriedades emulsificantes

Proteínas atuam como agentes emulsificantes por possuírem a capacidade de reduzir a tensão interfacial entre dois líquidos imiscíveis, permitindo a mistura dos dois. Isso ocorre em função da natureza anfotérica e flexível das proteínas, apresentando regiões hidrofóbicas e hidrofílicas com localizações distintas em sua estrutura (HIROTSUKA et al., 1984). As proteínas possuem a capacidade de se difundir e atingir a interface, orientando seus resíduos de aminoácidos não polares em direção à fase não aquosa, o que diminui a energia livre do sistema e faz com que o restante da proteína adsorva espontaneamente, expondo-se e difundindo-se em uma camada monomolecular. Sugere-se que, quanto mais hidrofóbica a proteína, maior será sua concentração na interface, menor a tensão superficial e mais estável a emulsão (FENNEMA, 1985)

MINE et al. (1991) avaliaram a capacidade emulsificante da albumina de ovo e relataram que esta foi dependente do pH, concentração da dispersão protéica, e presença de sais. O pH foi a variável mais importante, sendo que a capacidade emulsificante da albumina de ovo foi maior a pH ácido (pH 3), do que a pH neutro (pH 7), devido à hidrofobicidade superficial da proteína ser maior em pH ácido. Isso ocorreu devido a mudanças microambientais dos resíduos aromáticos em solução ácida.

Dentre os fatores que influenciam as características das emulsões estão temperatura, pH, força iônica, presença de açúcares e surfactantes de baixo peso molecular, tipo de óleo, concentração de proteína, propriedades emulsificantes da proteína e condições de formação da emulsão (tipo e desenho do equipamento, intensidade do aporte energético, velocidade de adição de óleo, volume da fase óleo) (KINSELLA, 1976; HALLING, 1981). O pH, uma vez que altera a solubilidade das proteínas, é um fator primário no desempenho das proteínas quanto às propriedades de emulsificação, já que estas devem se dissolver e migrar à interface a fim de alterar as propriedades de superfície (PEARSON et al., 1965; CRENWELGE et al., 1974; HUFFMAN et al., 1975; VOLKERT & KLEIN, 1979)

Segundo VOLKERT & KLEIN (1979) no ponto isoeletrico as proteínas não podem contribuir para estabilizar cargas superficiais (repulsivas) dos glóbulos de gordura, apresentando estruturas compactas, não contribuindo para a formação de emulsões. Entretanto, alguns pesquisadores têm encontrado proteínas com ótimas propriedades de emulsificação na região do pH isoeletrico, atribuindo o fato à própria rigidez da molécula, que pode auxiliar na estabilização da emulsão contra a coalescência do glóbulo e, também, devido às interações hidrofóbicas entre lipídios e proteínas serem máximas no ponto isoeletrico (HALLING, 1981).

O método mais utilizado para medir a capacidade emulsificante das proteínas foi desenvolvido por SWIFT et al. (1961). Este consiste da adição contínua de óleo ou

gordura líquida a uma dispersão protéica mantida em agitação, medindo-se o volume de óleo adicionado até o ponto de inversão ou quebra da emulsão, que pode ser percebida visualmente ou por alteração do ruído durante a agitação. Um método mais preciso para se determinar objetivamente a quebra da emulsão foi desenvolvido por WEEB et al. (1970), que consiste na medida da resistência elétrica a uma corrente que passa pela emulsão. Os óleos e gorduras não são bons condutores de eletricidade, já a solução de proteína em água apresenta boa condutividade. Em uma emulsão a fase proteína-água é contínua e a resistência permanece baixa, sendo que com a quebra da emulsão, os glóbulos de gordura se agregam, causando um aumento brusco na resistência, detectada por um ohmmímetro.

A capacidade emulsificante do plasma depende basicamente da concentração de proteína e do processamento. O pH e o congelamento também influem nesta propriedade. EHINGER & TOWNSEND (1980), citados por PISKE (1982), comparando os efeitos do pH (4-9) e da concentração protéica de plasma de frango, constataram que o congelamento tem efeito negativo sobre a capacidade de emulsificação. Com o aumento do pH, mais óleo foi emulsionado porém, a concentração protéica teve pouca influência sobre o volume de óleo emulsionado.

TYBOR et al. (1973) estudando a capacidade emulsificante das proteínas do plasma concluíram que a mesma depende, primariamente, da concentração protéica e do processamento. A melhor concentração ocorreu próximo a 1g de proteína por 100 mililitros de solução. A capacidade emulsificante da globina foi especialmente sensível à variação de pH, provavelmente devido ao efeito do pH sobre a solubilidade da proteína.

2.6.5 Capacidade de geleificação

A capacidade de formar gel é uma importante propriedade funcional das proteínas. Os géis de proteínas são constituídos por uma matriz tridimensional de polipeptídios entrelaçados, na qual a água permanece presa. A formação de gel

protéico requer um aquecimento inicial a fim de causar uma desnaturação parcial ou desenrolamento da cadeia polipeptídica da proteína. A formação de gel é governada por um balanço entre forças atrativas e repulsivas entre cadeias próximas. O balanço é muito dependente do pH e as forças atrativas podem envolver associações hidrofóbicas, atrações eletrostáticas, pontes de hidrogênio e pontes dissulfídicas (KINSELLA, 1976).

Várias proteínas podem geleificar-se sem necessitar de aquecimento, com uma hidrólise enzimática moderada (micelas de caseína, clara de ovo, fibrina), uma simples adição de íons cálcio (micelas de caseína), ou uma alcalinização seguida de um retorno à neutralidade ou ao pH isoeletrico (proteínas de soja) (CHEFTEL et al., 1989).

A habilidade de um gel exibir viscosidade, rigidez e elasticidade é tida como uma função que depende do tipo de proteína, composição em aminoácidos, peso molecular, temperatura e tempo de aquecimento, concentração protéica e força iônica (HICKSON, et al., 1980, SHIMADA & MATSUSHITA, 1981).

O fenômeno de geleificação pode auxiliar no sentido de melhorar a absorção de água, o espessamento, a união de partículas (adesão) e para estabilizar emulsões e espumas (HALASZ & LÁSZTITY, 1991).

HOWELL & LAURIE (1984a) relataram que o aumento no tempo e temperatura de aquecimento elevou consideravelmente a força do gel de plasma bovino e suíno, possivelmente devido a um aumento nas ligações não covalentes. Resultados semelhantes foram também encontrados por O'RIORDAN et al. (1989b) quando investigaram o binômio tempo-temperatura nas propriedades de textura de géis de plasma. Segundo esses autores, um aumento na concentração protéica resulta em mais sítios de interações e aumenta as ligações cruzadas resultando em um aumento linear na força do gel.

HICKSON et al. (1982) comparando os géis formados pela ovalbumina e proteína de plasma bovino a uma concentração de 8%, aquecidos a 80°C, observaram que o plasma bovino forma um gel de estrutura mais forte e maior elasticidade, viscosidade e resistência à penetração do que a ovalbumina.

HOWEL & LAWRIE (1984b) estudaram a interação das proteínas de plasma com outras proteínas na firmeza do gel e, encontraram que as proteínas plasmáticas produziram géis mais resistentes quando interagiram com ovalbumina., enquanto que, as interações com isolados protéicos de soja e caseinato de sódio resultaram em géis muito fracos.

O efeito de sais neutros nas propriedades reológicas de géis de proteína plasmática foi estudado por O'RIORDAN et al. (1989c) através da adição de CaCl_2 , MgCl_2 , K_2SO_4 , KF, KI, KCl, e KSCN. Os autores observaram que a força dos géis formados na presença de sais de potássio foi na seguinte ordem: $\text{F}^- > \text{SO}_4^{2-} > \text{Cl}^- > \text{I}^- > \text{SCN}^-$. Esses resultados sugerem que as interações hidrofóbicas e agregações proteína-proteína podem ser significantes na formação de gel a partir da proteína plasmática. Resultados semelhantes também foram obtidos por HERMANSSON (1982 a, b) com a adição de NaCl.

KNIPE & FRYE (1990) relataram que a firmeza do gel mostrou um aumento com o plasma em pH mais alto. Entretanto, quando o pH foi ajustado em 5,6 e adicionou-se NaCl mais fosfato alcalino, o rendimento dos géis "cozidos" aumentou sem nenhum efeito na sua firmeza.

2.7 Utilização das proteínas do sangue em alimentos

Muitos estudos têm sido realizados visando a utilização do sangue animal, inteiro ou fracionado na alimentação humana. Ainda em 1968, o "Commonwealth Scientific & Industrial Research Organization", da Austrália, desenvolvia processos para obtenção de globina à partir da hemoglobina da massa celular (VICKERY, 1968).

Nos Estados Unidos, a Universidade de A & M, no Texas, iniciou à partir de 1971, investigações sobre o aproveitamento do sangue bovino (TYBOR et al., 1975). Em 1972 um projeto foi implantado no “Moorepark Research Centre”, Irlanda, com o principal objetivo de se preparar produtos de alto valor protéico para consumo humano, utilizando o sangue animal (DELANEY et al., 1975).

O sangue tem sido usado tradicionalmente em países europeus no preparo de produtos típicos, porém a quantidade de sangue integral utilizada com esta finalidade é muito restrita, devido principalmente à alteração de cor do produto final. Já o plasma tem utilização mais ampla como ingrediente protéico em produtos alimentícios, sem alterar as características organolépticas do produto final. Na Suécia, por exemplo, 80% do sangue são destinados à alimentação humana direta ou indiretamente (QUAGLIA & ALESSANDRONI, 1977).

As proteínas do sangue (proteínas do plasma e globina) apresentam propriedades funcionais que permitem sua incorporação e/ou substituição parcial de alguns ingredientes em alimentos processados como produtos de panificação e cárnicos, entre outros.

A utilização de plasma é comum em diversos países europeus e está sujeita a limitações legais, dentro das quais a declaração de uso não é exigida em rótulo. A maioria das normas limita a adição de plasma ou soro, ou ainda plasma reidratado na proporção de 1:10, a um teor de 10% (em relação à quantidade de carne e gordura), e praticamente só é permitido em embutidos cozidos, além de patês ou bifes-rolê (TAENDLER & STIEBING, 1978, citado por PISKE, 1982).

KHAN et al. (1979) estudaram o uso de plasma em bolos e verificaram que o isolado protéico de plasma (IPP) tem a capacidade de formar espuma semelhante à da clara de ovo desidratada. Porém a compatibilidade do IPP com outros ingredientes do bolo foi diferente, e o tamanho do bolo foi reduzido significativamente com 50% ou mais de substituição da clara do ovo desidratada pelo IPP. A substituição de até 25%

da clara de ovo por IPP produziu bolos com volume, sabor e cor aceitáveis, semelhantes aos obtidos com 100% de clara de ovo. Os autores relataram ainda que pães formulados com 2% de IPP em substituição à farinha de trigo, apresentaram um aumento em 15% de proteína e 75% de lisina quando comparados com o controle (100% de farinha de trigo), aumentando significativamente o valor nutricional dos pães.

LEE et al. (1993) avaliando sensorialmente bolos feitos com 25, 50 e 75% de isolado protéico de plasma observaram que quanto ao sabor, os bolos feitos com proteínas de plasma foram tão bem aceitos quanto ao controle (100% de clara de ovo desidratada), apesar de terem apresentado alterações na cor da crosta e miolo. Esses bolos apresentaram significativamente menor volume, menor perfil de crosta e maior maciez que os feitos com quantidades equivalentes de clara de ovo em pó.

A adição de proteínas de plasma e globina descolorida em salsichas, foi estudada por CALDIRONI & OCKERMAN (1982a). Eles verificaram que a adição de 20% de proteínas do plasma e globina produziu uma emulsificação desejável, sendo aceitável a qualidade do produto. Quando avaliadas sensorialmente, as salsichas foram aceitáveis com a adição de 10% de plasma mais 2,5% de globina, ou com 12,5% de proteínas de plasma.

CALDIRONI & OCKERMAN (1982b) não encontraram diferenças em salsichas contendo 10% de proteínas de osso mais 5% de proteínas de plasma, combinadas com 0,4% (p/p) de pirofosfato de sódio quando comparadas com salsichas controle, tendo sido avaliados o sabor, textura, odor e cor.

VEGA & FELÍCIO (1987) estudaram os efeitos da substituição parcial da carne de frango por plasma bovino desidratado e isolado protéico de soja, nas características físicas e organolépticas de hambúrguer. Os autores concluíram que níveis crescentes de plasma reduziram a perda de peso e a retração no cozimento. Nas combinações sem soja, aumentaram a mastigabilidade e reduziram a aceitação geral. Foi evidenciada a

possibilidade de se substituir em até 20% a carne de frango por proteínas de plasma e soja combinadas, sem prejudicar a qualidade do produto.

FARAJI et al. (1991) reportaram que a adição de plasma suíno em carne suína inibiu a oxidação lipídica, sendo que a menor concentração em que a cor foi protegida e a oxidação lipídica inibida foi de 5%. A oxidação lipídica é a principal causa de deterioração química em carnes e seus produtos, principalmente congelados.

Segundo MADDIPAT & MARNETT (1987) o plasma sanguíneo tem uma utilização potencial como aditivo alimentar por conter vários agentes antioxidantes como superóxido desmutase, soroalbumina, glutathione peroxidase, catalase, ceruloplasmina, vitamina E e ácido úrico.

2.8 Valor nutricional das proteínas do sangue

A composição em aminoácidos dos isolados protéicos de plasma e globina avaliada por TYBOR et al. (1975) indicou que ambos os isolados são excelentes fontes de lisina e leucina. Os níveis de treonina, valina, fenilalanina e triptofano foram também superiores quando comparados ao padrão FAO/WHO (1965). Isoleucina e metionina foram limitantes para ambos os isolados.

Segundo DELANEY (1975) o plasma suíno contém quantidades adequadas de treonina, leucina, tirosina e lisina, podendo ser considerada até em excesso, e apresentou valores abaixo do padrão utilizado (albumina de ovo), para os aminoácidos valina, isoleucina, fenilalanina, triptofano e aminoácidos sulfurados. O escore químico foi de 49,0 sendo a isoleucina o primeiro aminoácido limitante. Comparando os valores de NPU de ratos alimentados com dieta contendo plasma suíno e caseína, o autor encontrou valores médios de 65,8% e 72,1% para plasma e caseína, respectivamente.

DEL RIO DE REYS et al. (1980) estudando as propriedades nutricionais de proteínas do plasma de frango, obtiveram quociente de eficiência protéica de 3 para

plasma dialisado e 2,8 para plasma não dialisado, sendo superiores à caseína (2,5). A digestibilidade *in vitro* foi de 92% e 83% para plasma dialisado e não dialisado, respectivamente.

WISMER-PEDERSEN (1979) concluiu que em virtude de suas limitações em isoleucina e metionina, o sangue deve ser utilizado juntamente com proteínas que suplementem estes aminoácidos. Segundo o autor, a mistura usada em emulsões (47% de sangue e 53% de caseinato) apresenta um índice químico de 94,0 em relação ao padrão FAO, sendo a metionina o primeiro aminoácido limitante.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Matéria-prima

Sangue bovino fornecido pelo Frigorífico Nova Odessa, Nova Odessa-SP, proveniente de bovinos sadios que receberam controle sanitário realizado por médicos veterinários do Serviço de Inspeção Federal (SIF).

O sangue foi coletado de maneira higiênica através do uso de faca vampiro, por punção direta no sistema arterial (*Arcus aortae*) imediatamente após o abate, em recipiente contendo solução de citrato de sódio como anticoagulante, na relação de 0,33% (p/v) (TYBOR et al., 1973; HAYASHI et al., 1991).

3.2 Obtenção dos concentrados protéicos de plasma e globina

O procedimento para isolamento das proteínas do plasma e da globina, apresentado no fluxograma da Figura 2, seguiu o método proposto por AUTIO et al. (1984) com modificações. Imediatamente após a coleta, o sangue foi resfriado a +4°C e separou-se, por centrifugação, o plasma da fração celular. O plasma foi concentrado por ultrafiltração em membrana de celulose da Millipore, com 1.000 daltons de corte de peso molecular, seguindo-se a desidratação em "Spray Dryer". Obteve-se assim o "Concentrado Protéico de Plasma" (CPP). As temperaturas de entrada e saída do ar comprimido no "Spray Dryer" foram, respectivamente, de 200°C e 90°C.

A fração celular foi inicialmente submetida à hemólise por adição de água na proporção de 1:3 (hemácias:água), mantida sob baixa agitação, durante o período de 1 hora. Seguiu-se nova centrifugação para separar as membranas celulares e células não hemolisadas. O sobrenadante, "Solução de Hemoglobina", foi acidificado e tratado com solução 0,8% de carboximetil celulose (CMC - Hércules 12M31 PD), na proporção de 1:7 (solução de hemoglobina: solução de CMC), mantendo-se o pH ao redor de 2,5 com HCl 1N. O precipitado formado foi separado por filtração, obtendo-se no filtro o complexo CMC-Heme e a solução separada constituiu-se de globina.

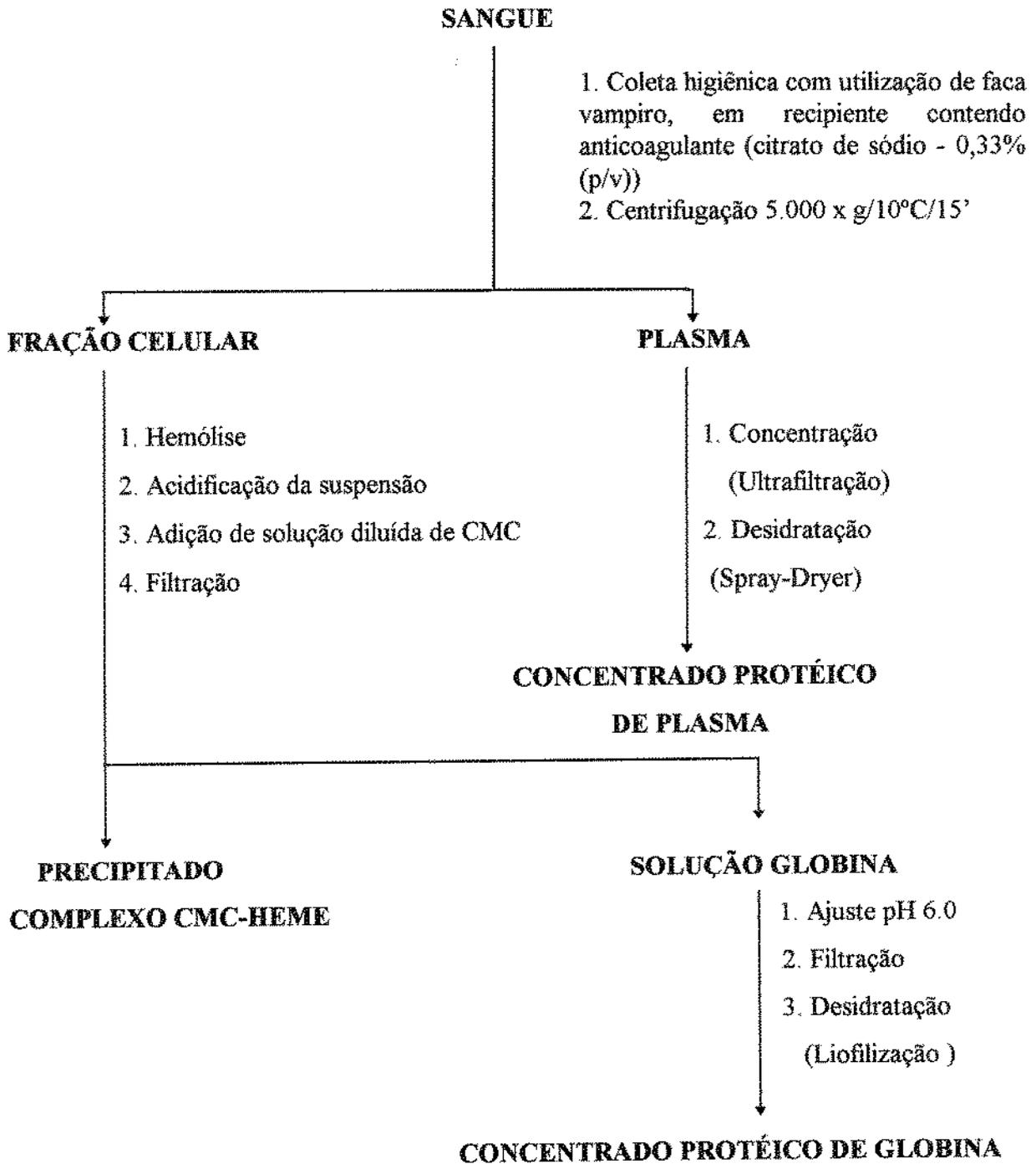
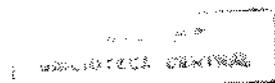


Figura 2. Fluxograma do processo de obtenção de concentrados protéicos de sangue.



O pH da solução de globina foi ajustado a 6,0 (pH isoelétrico) e a proteína precipitada foi filtrada e desidratada por liofilização, obtendo-se o “Isolado Protéico de Globina” (IPG). Este isolado foi utilizado nos ensaios biológicos. Devido à sua baixa solubilidade em água e em soluções salinas de várias concentrações, foi ressuscendido em H₂O destilada, teve o pH baixado para 3,0 com HCl 1N, e foi então reliofilizado para sua utilização nos estudos de suas propriedades funcionais.

3.3 Remoção do grupamento heme da hemoglobina

Para se avaliar a porcentagem de remoção do grupamento heme no isolado protéico de globina, a fração celular (FC) foi desidratada em “spray dryer” e determinou-se o teor de ferro e sólidos nesta fração, em comparação ao isolado protéico de globina (IPG), calculando-se a porcentagem de remoção pela fórmula:

$$\% \text{ remoção de ferro} = 100 - \left(\frac{\text{conteúdo de ferro no IPG}}{\text{conteúdo de ferro na FC}} \times 100 \right)$$

3.4 Métodos analíticos

3.4.1 Composição Centesimal

Umidade, nitrogênio total e cinzas. Foram determinados de acordo com os procedimentos da AOAC (1990). Proteína total foi obtida multiplicando-se o nitrogênio total pelo fator 6,25.

Lipídios totais. Foram determinados segundo o método descrito por BLIGH & DYER (1959), empregando-se os solventes clorofórmio, metanol e água para extração dos lipídios.

Carboidratos totais. Foram determinados por método colorimétrico, utilizando-se fenol a 5% em ácido sulfúrico, segundo DUBOIS et al. (1958).

3.4.2 Composição em aminoácidos

As amostras foram hidrolisadas com HCl 6N em tubos de hidrólise, seladas a vácuo e mantidas a 110°C por 22 horas. Após a incubação, o ácido clorídrico foi evaporado e após recuperação da amostra em tampão citrato pH 2,2, alíquota de 25µl foi injetada no analisador Dionex DX 300, para separação dos aminoácidos em coluna de troca iônica e reação pós-coluna com ninidrina. Solução padrão de aminoácidos Pierce foi utilizada como referência. O triptofano foi determinado segundo SPIES (1967).

3.4.3 Escore químico (EQ)

O escore químico foi calculado pela relação de cada um dos aminoácidos essenciais das frações protéicas em estudo com os aminoácidos do padrão de referência da FAO/WHO/UNU (1985), de acordo com HENLEY & KUSTER (1994). Os quocientes obtidos indicaram a ordem dos aminoácidos limitantes. O escore químico é dado pelo menor quociente (primeiro aminoácido limitante).

$$EQ = \frac{\text{mg de aminoácido / g N da proteína teste}}{\text{mg de aminoácido / g N da proteína padrão ou referência}} \times 100$$

3.4.4 Determinação de minerais

Cálcio, fósforo, potássio, sódio, magnésio zinco e cobre foram determinados após mineralização das amostras em mufla a 450°C e diluição em ácido nítrico 5% (ANGELUCCI & MANTOVANI, 1986).

Para análise de ferro, as amostras foram submetidas a processo de destruição da matéria orgânica por via úmida com ácido nítrico e peróxido de hidrogênio até digestão completa, sendo então diluídas em ácido clorídrico 5% (SLAVIN et al., 1975). A quantificação dos minerais foi realizada em espectrômetro de emissão de plasma de argônio (ICP-2000 BAIRD), versão simultânea, frequência de 40 Mhz, potência de 1000 W, nebulizador pneumático concêntrico e tocha de baixo fluxo. O fluxo de entrada das amostras foi de 3mL/min e do argônio de 15 mL/min (IMO INDUSTRIES INC ICP-2000 BAIRD, 1990).

O cloreto foi determinado pelo método de Volhard, segundo ANGELUCCI & MANTOVANI (1986). O método baseia-se na argentometria indireta, que consiste em precipitar o cloreto com excesso de nitrato de prata e titular a prata residual, em presença de ácido nítrico, com uma solução padrão auxiliar de tiocianato de amônio, empregando-se sulfato férrico amoniacal como indicador.

3.5 Avaliação nutricional *in vivo*

Foi estudada no concentrado protéico de plasma (CPP), no isolado protéico de globina (IPG) e em mistura dos mesmos, tendo como controle dieta contendo caseína como fonte protéica.

O ensaio biológico foi realizado no Laboratório de Ensaios Biológicos do Centro de Química de Alimentos e Nutrição Aplicada do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), Campinas.

Os animais utilizados foram ratos machos da linhagem Wistar, recém desmamados, com 21 dias de idade, provenientes do Centro de Bioterismo da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

O delineamento usado no experimento foi o em blocos casualizados, descrito por BENDER et al. (1982), formando-se seis grupos de sete animais, sendo que em um

dos grupos os animais foram mantidos em dieta aprotéica. As médias de peso obtidas para cada grupo não diferiram significativamente ($p>0,05$) (Tabela 4).

Os animais foram acondicionados em gaiolas metabólicas individuais com alimentação e água à vontade. As condições ambientais do biotério foram controladas a fim de manter a temperatura a $22 \pm 2^\circ\text{C}$, e períodos alternados de claro e escuro de 12 horas.

Tabela 4. Médias de peso dos animais distribuídos em blocos casualizados.

Animais	Dietas					
	CPP	IPG	P:G 1:1	P:G 2:1	Caseína	Aprotéica
1	56,2	56,3	56,5	56,7	56,2	57,5
2	57,6	57,7	58,5	58,5	57,5	58,6
3	59,9	60,6	60,6	60,9	58,7	61,3
4	62,1	62,2	62,7	62,9	61,3	63,8
5	66,0	65,2	64,8	64,4	66,3	66,5
6	67,0	66,9	66,8	66,7	67,2	67,3
7	69,7	69,0	68,6	67,6	69,8	63,1
Média	62,6	62,6	62,6	62,5	62,4	62,6
Desvio Padrão	5,1	4,7	4,4	4,1	5,3	3,7

CPP = concentrado protéico de plasma; IPG = isolado protéico de globina; P:G 1:1 = mistura de concentrado protéico de plasma e isolado protéico de globina na proporção de 1:1; P:G 2:1 = mistura de concentrado protéico de plasma e isolado protéico de globina na proporção 2:1.

As dietas foram preparadas seguindo-se as especificações da AIN-93 (REEVES et al., 1993). A composição centesimal das dietas utilizadas para determinação dos índices da qualidade protéica está apresentada na Tabela 5, e as misturas mineral e vitamínica nas Tabelas 6 e 7, respectivamente.

Tabela 5. Composição centesimal das dietas utilizadas no ensaio biológico

Componentes	%
Proteína Bruta	10
Óleo de soja	8,0
Fibra (Celulose)	5,0
Mistura Mineral ¹	3,5
Mistura Vitamínica ¹	1,0
Carboidrato ²	72,25
Bitartarato de Colina	0,25
Tert-butilhidroquinona	0,024

(1) segundo AIN-93

(2) fornecido por 75% de amido de milho e 25% de açúcar

Tabela 6. Mistura mineral AIN-93 G-MX

Componentes	g/Kg
Elementos minerais essenciais	
Carbonato de cálcio anidro - 40,04% Ca	357,00
Fosfato de potássio monobásico - 22,76% P; 28,73% K	196,00
Citrato de potássio, tri-K, monohidratado - 36,16% K	70,78
Cloreto de sódio - 39,34% Na; 60,66% Cl	74,00
Sulfato de Potássio - 44,87% K; 18,39% S	46,60
Óxido de magnésio - 60,32% Mg	24,00
Citrato Férrico - 16,5% Fe	6,06
Carbonato de Zinco - 52,14% Zn	1,65
Carbonato de Manganês - 47,79% Mn	0,63
Carbonato de cobre - 57,47% Cu	0,30
Iodeto de potássio - 59,3% I	0,01
Selenito de sódio anidro - 41,79% Se	0,01025
Paramolibdato de amônio - 4H ₂ O - 54,34% Mo	0,00795
Elementos minerais potencialmente benéficos	
Meta-silicato de sódio - 9H ₂ O - 9,88% Si	1,45
Sulfato de potássio crômico - 12H ₂ O - 10,42% Cr	0,275
Cloreto de lítio - 16,38% Li	0,0174
Ácido bórico - 17,5% B	0,0815
Fluoreto de sódio - 45,24% F	0,0635
Carbonato de níquel - 45% Ni	0,0318
Vanadato de amônio - 43,55% V	0,0066
Sacarose	221,026
Paramolibdato de amônio - 4H ₂ O - 54,34% Mo	

Fonte : REEVES et al. (1993)

Tabela 7. Formulação da mistura vitamínica AIN-93 VX

Componentes	g/Kg
Ácido nicotínico	3,000
Pantotenato de cálcio	1,600
Piridoxina - HCl	0,700
Tiamina - HCl	0,600
Riboflavina	0,600
Ácido fólico	0,200
D-biotina	0,020
Cianocobalamina (B-12) (0,1% em metanol)	2,500
Acetato de all-rac- α -tocoferol (E) (500 UI/g)	15,00
Palmitato de all-trans-retinol (A) (500.000 UI/g)	0,800
Colicalciferol (D ₃) (400.000 UI/g)	0,250
Filoquinona (Vitamina K)	0,075
Sacarose	974,655

Fonte: REEVES et al. (1993)

O ensaio teve duração de 14 dias, sendo que nos 4 primeiros dias os animais permaneceram em adaptação às dietas experimentais. No sexto dia de experimento, iniciou-se coleta de fezes e urina para realizar o balanço de nitrogênio, com duração de sete dias.

Os índices nutricionais determinados através do balanço metabólico foram: balanço de nitrogênio (BN), digestibilidade verdadeira (Dv), valor biológico verdadeiro (VBv), e quociente de utilização líquida verdadeiro de proteína (NPUv), conforme metodologia descrita por SGARBIERI (1987), com o uso de ratos em dieta aptotéica. O quociente eficiência líquida da proteína (NPR) foi determinado pela avaliação do ganho de peso dos animais e consumo de ração, segundo SARWAR et al. (1985).

$$BN = NI - (NF + NU)$$

$$Dv = \frac{NI - NFa}{NI} = \frac{NA}{NI} \times 100$$

$$VBv = \frac{NI - (NFa + NUa)}{NI - NFe} \times 100 = \frac{NR}{NA} \times 100$$

$$NUa = NU - NUe$$

$$NPUv = \frac{NI - (NFa + NUa)}{NI} \times 100 = \frac{NR}{NI} \times 100$$

$$NPR = \frac{\text{Ganho peso } G_1 + \text{Perda peso } G_2}{\text{Proteína consumida (g)}}$$

Onde: NI = nitrogênio ingerido;

NF = nitrogênio fecal;

NU = nitrogênio urinário;

NA = nitrogênio absorvido;

NR = nitrogênio retido;

NFa = nitrogênio fecal de origem alimentar;

NFe = nitrogênio fecal de origem endógena, determinado nas fezes do grupo em dieta aprotéica;

NUa = nitrogênio urinário de origem alimentar;

NUe = nitrogênio urinário de origem endógena, determinado na urina do grupo em dieta aprotéica;

G1 = grupo em dieta protéica;

G2 = grupo em dieta aprotéica.

3.5.1 Escore químico corrigido pela digestibilidade *in vivo* (PDCAAS)

A avaliação da qualidade protéica por escore químico corrigido pela digestibilidade (PDCAAS) foi determinada através do procedimento proposto por HENLEY & KUSTER (1994), correlacionando o escore químico (EQ) do concentrado protéico de plasma e isolado protéico de globina com a digestibilidade verdadeira (Dv), sendo:

$$\text{PDCAAS} = \text{EQ} \times \text{Dv}$$

3.6 Propriedades Funcionais

As propriedades funcionais estudadas no Concentrado Protéico de Plasma e Isolado Protéico de Globina foram: solubilidade, capacidade de absorção de água, capacidade emulsificante e estabilidade da emulsão, capacidade de formação de espuma e estabilidade da espuma e capacidade de geleificação.

3.6.1 Solubilidade

A solubilidade da proteína foi determinada pelo procedimento de MORR et al. (1985), que consiste em uma modificação do método de determinação do índice de nitrogênio solúvel. Suspendeu-se 0,5 g de proteína das amostras CPP e IPG em água destilada e em soluções salinas, ajustando-se os pHs a diferentes valores compreendidos na faixa de 2 a 12, com NaOH 0,1N ou HCl 0,1N. As suspensões foram agitadas em agitador magnético por uma hora a temperatura ambiente e, após centrifugação das suspensões, foi determinada a proteína solúvel no sobrenadante pelo método de Kjeldhal. A porcentagem de proteína solúvel (%PS) foi calculada pela fórmula:

$$\%PS = \frac{\text{concentração de proteína no sobrenadante (mg/mL)} \times 50}{\text{peso amostra (mg)} \times \frac{\text{conteúdo proteína amostra (\%)}}{100}} \times 100$$

3.6.2 Capacidade de absorção de água

A absorção espontânea de água do concentrado protéico de plasma e isolado protéico de globina, foram medidos em comparação ao isolado protéico de soja, em um aparelho proposto por TORGENSEN & TOLEDO (1977), que consiste em uma modificação do aparelho de Baumann (Figura 3).

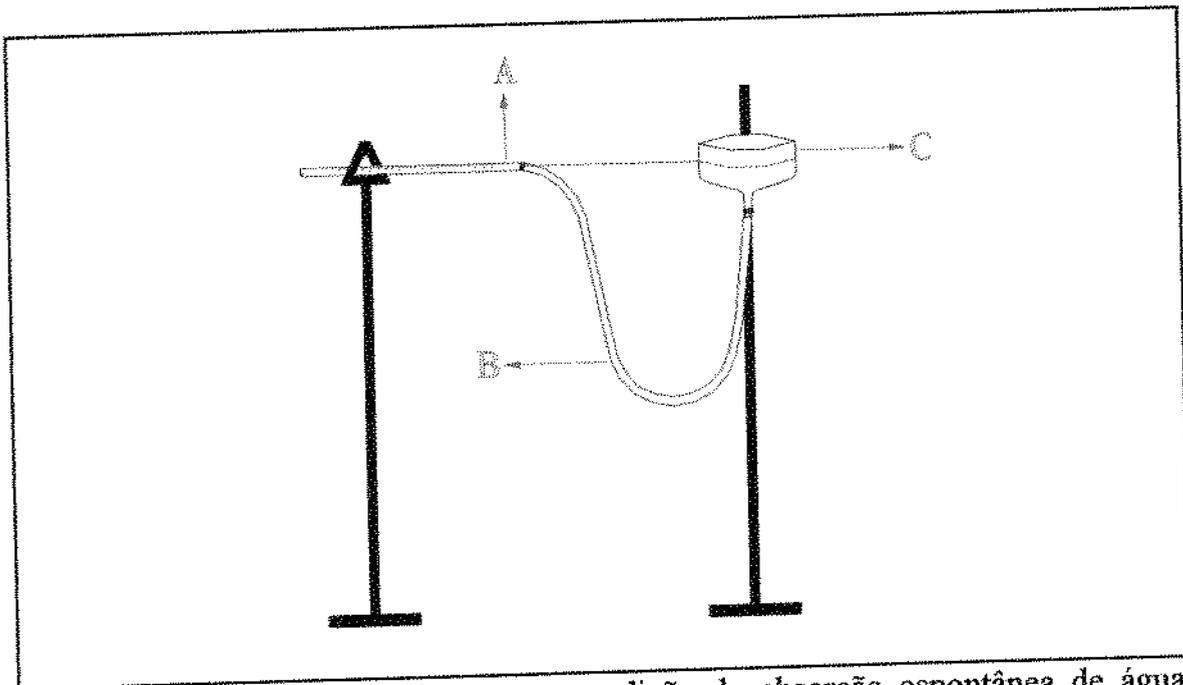


Figura 3. Equipamento utilizado para medição da absorção espontânea de água do concentrado protéico de plasma e isolado protéico de globina. A = pipeta; B = tubo de silicone; C = funil de porcelana.

O equipamento é composto de uma pipeta de 1 mL, graduada em 1/1000mL, conectada a um funil de porcelana de 4cm de diâmetro, através de um tubo de silicone de 30 cm de comprimento. A pipeta foi ajustada em posição horizontal no mesmo nível do papel de filtro (Whatman nº 1) disposto no fundo do funil. A pipeta e o tubo foram enchidos com água ou soluções salinas, através do funil, até o menisco passar do marco zero na pipeta. O excesso de água foi removido por contato de papel absorvente com o papel de filtro, até o menisco se mover para o

marco zero da pipeta. Uma quantidade exata das amostras (100 mg) foram homogeneamente espalhadas sobre o papel de filtro dentro do funil. A quantidade de água absorvida foi medida a cada 15 segundos até se alcançar o ponto de equilíbrio. Os experimentos foram feitos à temperatura ambiente ($24 \pm 1^\circ\text{C}$). A absorção foi corrigida para perdas de água por evaporação, através da corrida de um branco antes de se iniciar a medição com as amostras.

3.6.3 Capacidade de formação de espuma e estabilidade da espuma

A capacidade de formar espuma foi determinada pelo método de MOHANTY et al. (1988) utilizando-se como padrão de referência a albumina de ovo comercial (SOHOVOS). Dispersões de 1% de proteína foram agitadas em batedeira Walita, mod. HL 3122, na velocidade de 960 rpm (máxima velocidade) por cinco minutos. A espuma formada foi rapidamente transferida, com o auxílio de uma espátula, para proveta de 500 mL. O volume inicial de espuma formada, expresso como % de expansão foi calculada pela fórmula:

$$\% \text{ expansão} = \frac{\text{Volume da espuma (mL)}}{\text{Volume original da solução de proteína (mL)}} \times 100$$

O método descrito por PATEL et al. (1988) foi empregado para o estudo da estabilidade da espuma nos tempos de 30 e 60 minutos, tendo sido avaliados a redução do seu volume em relação ao volume inicial, indicando o percentual de estabilidade do volume da espuma (%EEs) e o percentual de líquido drenado (%LD), calculados pelas fórmulas seguintes:

$$\% \text{EEs} = \frac{\text{Volume residual da espuma após 30 ou 60 minutos (mL)}}{\text{Volume inicial da espuma incluindo o volume do líquido (mL)}} \times 100$$

$$\%LD = \frac{\text{Volume de líquido drenado após 30 ou 60 minutos (mL)}}{\text{Volume original da solução de proteína (mL)}} \times 100$$

3.6.4 Propriedades de emulsificação

Capacidade de emulsificação

Foi determinada pelo método de DE KANTEREWICZ et al. (1987). Foram preparadas dispersões de CPP e IPG na concentração de 1% de proteína. As dispersões foram combinadas com óleo de soja, em diferentes proporções, mantendo-se o volume final igual a 50 mL, até encontrar o ponto onde ocorre a quebra da emulsão. Tomou-se a proporção dispersão de proteína/óleo anterior ao ponto de quebra e iniciou-se a adição de incrementos de 1 mL de óleo através de uma bureta, enquanto as emulsões eram agitadas em ultra-turex à velocidade de 10.000 rpm e mantidas em banho de gelo para evitar aquecimento. Suspendeu-se a incorporação de óleo quando se observou a quebra da emulsão, visualizada pela inversão das fases.

A capacidade de emulsificação foi calculada pela máxima quantidade de óleo adicionada, em mililitros, até atingir o ponto de inversão, por grama de proteína.

Estabilidade da emulsão

Nesta análise foi empregado o procedimento descrito por ACTON & SAFLE (1970), com algumas modificações. Foram preparadas emulsões com 50 mL de dispersões de proteína a 1% e 50 mL de óleo de soja e homogeneizadas a 10.000 rpm por 3 minutos, mantidas em banho de gelo. Uma alíquota foi retirada para determinação de umidade e alíquotas de 10 mL foram transferidas para tubos de ensaio e mantidas em repouso por 24 horas a temperatura de $22 \pm 1^\circ\text{C}$ (temperatura ambiente). Em seguida foi introduzida uma pipeta até o fundo do tubo e retirou-se

volumes de 5 mL para a determinação da umidade. A estabilidade da emulsão (EE) foi calculada pela equação:

$$EE = \frac{100 - U^{24 \text{ horas}}}{100 - U^{\text{original}}} \times 100$$

onde: $U^{24 \text{ horas}}$ = porcentagem de umidade da emulsão após 24 horas de repouso

U^{original} = porcentagem de umidade da emulsão imediatamente após preparo

3.6.5 Capacidade de geleificação

Para a determinação da capacidade de geleificação foi empregado o método descrito por KING et al. (1989), com algumas modificações. Para se determinar a concentração mínima de proteína onde ocorre geleificação, dispersões de proteína das amostras CPP e IPG a 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0% foram preparadas a pH 3,5; 7,0 e 9,5 em 10 mL de água destilada, sendo os pHs ajustados com NaOH 0,1N ou HCl 0,1N. Transferiu-se 5 mL das dispersões para tubos de ensaio com 1,2 mm de diâmetro que foram aquecidos à temperatura de 80°C por 1 hora, resfriados em banho de gelo e mantidos a 4°C por 2 horas. A mínima concentração de proteína para geleificação foi determinada quando os tubos foram invertidos e as amostras não caíram ou deslizaram pelas paredes do tubo.

As determinações de parâmetros do perfil de textura dos géis - dureza, adesividade, coesividade e elasticidade, foram realizadas pelo método de compressão, utilizando-se o texturômetro TA-XT₂ (programa TPA).

De acordo com VAN VLIET (1991), a dureza corresponde à força necessária para se obter uma certa deformação; a adesividade corresponde à quantidade de energia ou trabalho necessário para superar as forças de atração entre a superfície da amostra e a de outros materiais; a coesividade significa a quantidade de forças internas

que mantém o corpo do produto e a elasticidade corresponde à extensão a qual um material deformado volta à sua condição inicial após a remoção da força aplicada.

Géis de proteína das amostras CPP e IPG a 8% de concentração foram comparados com géis de albumina de ovo comercial (SOHOVOS), nos pHs 3,5 e 7,0 e 9,5, em solução aquosa e em diferentes concentrações de NaCl.

Aliquotas de 3 mL das dispersões protéicas foram colocadas nos tubos de ensaio e desaeradas em ultrassom por 15 minutos. A seguir os tubos foram colocados em banho de água a 80°C por 1 hora, resfriados e mantidos por 16 horas a 4°C. Os géis foram então retirados dos tubos e cortados em fragmentos de 15 mm de altura para as determinações de textura.

O diâmetro da sonda empregada na compressão foi de 1 polegada, a velocidade de compressão de 1mm/s e os géis foram comprimidos em 1/3 de sua altura original (5 mm), conforme descrito por PACHECO (1996).

3.7 Análise estatística

Foi realizada pelo software SANEST (Sistema de Análise Estatística) versão 2.1. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), através do teste F e as diferenças entre as médias dos tratamentos comparadas entre si pelo teste de Tukey, a 5% de significância (PIMENTEL-GOMES, 1982).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Composição química do sangue

A composição química do sangue pode variar de acordo com a idade, sexo e alimentação dos animais (DELANEY, 1977). Os resultados da composição química do sangue e suas frações estão apresentados na Tabela 8, comparativamente aos descritos por ALENCAR (1983). Observa-se que o sangue é uma boa fonte de proteína e sua composição difere muito da composição do plasma e das células vermelhas quando separados.

A porcentagem de recuperação do plasma e das células vermelhas após centrifugação do sangue, está de acordo com HALLIDAY (1973) que relata que através do fracionamento do sangue obtém-se cerca de 65-70% de plasma e 35-40% de massa celular.

RUSIG (1979) cita que cerca de 1/3 das proteínas do sangue estão contidas no plasma, separado por centrifugação, na presença de um anticoagulante. Analisando a Tabela 8, verificamos que as células sanguíneas apresentaram 71,44% das proteínas totais do sangue e, o plasma 28,52%.

Tabela 8. Composição Química do Sangue Bovino, Células Sanguíneas e Plasma

Composição	Sangue (%)	Células sanguíneas (%)	Plasma (%)
Recuperação*	100,00	36,00	64,00
Umidade	81,07 ± 0,70 (80,9)	64,61 ± 0,78 (60,5)	91,12 ± 1,36 (91,3)
Proteína	16,65 ± 0,02 (17,3)	33,04 ± 0,04 (37,2)	7,42 ± 0,03 (7,10)
Cinzas	0,63 ± 0,06 (0,62)	0,51 ± 0,10 (0,50)	0,59 ± 0,07 (0,67)

* Recuperação após centrifugação do sangue a 5000 x g.
Dados entre parênteses: (Fonte: Alencar, 1983)

4.2 Caracterização química do concentrado protéico de plasma (CPP) e concentrado protéico de globina (CPG)

Os resultados da caracterização química do CPP e IPG, desidratados respectivamente por secagem em spray e liofilização, estão apresentados na Tabela 9.

O teor de proteína da amostra CPP está acima do encontrado por TYBOR et al. (1975), que obtiveram plasma com 70,68% de proteína, sem concentrá-lo antes da secagem em "spray". Para o IPG o valor encontrado é semelhante ao obtido pelos autores (91,22%). DELANEY (1975) obteve teor de proteína de 87,5% em plasma ultrafiltrado e desidratado em spray-dryer, enquanto que os plasmas dialisado e não dialisado e liofilizados, obtidos por DEL RIO DE REYS, (1980), apresentaram valores de proteína de 79,60% e 59,40%, respectivamente. Esses resultados indicam que o conteúdo de proteína do CPP, é dependente do procedimento de preparação.

Tabela 9. Composição centesimal aproximada do concentrado protéico de plasma (CPP) e isolado protéico de globina (IPG)

Componentes (%)	IPG	CPP
Umidade	2,24 ± 0,04	6,67 ± 0,02
Cinzas	3,96 ± 0,11	7,26 ± 0,07
Proteína	91,40 ± 0,08	79,54 ± 0,00
Carboidratos	2,56 ± 0,06	3,20 ± 0,05
Lipídios	0,04 ± 0,02	1,45 ± 0,21

* Valores expressos como média de três determinações ± desvio padrão.

4.3 Rendimento de recuperação da proteína

Os rendimentos de extração das proteínas sanguíneas, expressos em gramas/litro de sangue estão apresentados na Tabela 10. Analisando os resultados observamos que o rendimento de recuperação de proteína na fração globina foi de 44,5% em relação à células sanguíneas e de 61,26% em relação à solução de hemoglobina. Podemos

observar também que 27% da proteína precipitaram devido à centrifugação da suspensão de hemoglobina, e 28% precipitaram juntamente com o complexo CMC-Heme. O procedimento de centrifugação da suspensão de hemoglobina, foi adotado devido à verificação de que, deste modo, obtinha-se globina bem mais descolorida. SATO et al. (1981) relatam que obtiveram um rendimento de 69% de globina à partir de uma solução de hemoglobina, utilizando uma coluna de troca iônica com carboximetil celulose para fazer a separação do grupamento heme. Os autores tiveram um consumo muito alto de carboximetil celulose, necessitando de 1g de CMC para produzir 70 mg de globina. No presente trabalho, utilizando-se uma solução diluída de CMC, à partir de 1 grama de CMC foram obtidos 860 mg de globina. Na Figura 4 podem ser visualizadas as amostras desidratadas de CPP, fração celular integral (FC) e IPG descolorido.

Tabela 10. Rendimento da extração das proteínas de plasma e globina

Fração	Concentração de proteína (g/L)
Sangue	166,50
Células Sanguíneas	118,94
Plasma	47,49
Suspensão de Hemoglobina ¹	118,94
Solução de Hemoglobina ²	86,40
Globina ³	52,93
CMC-Heme ⁴	33,47

1-Células sanguíneas hemolisadas. 2-Células sanguíneas hemolisadas e centrifugadas para eliminação de membrana celular, células sanguíneas não hemolisadas e material precipitado após acidificação a pH < 3,0. 3-Obtida à partir da solução de hemoglobina a pH 2,5. 4-Calculado por diferença

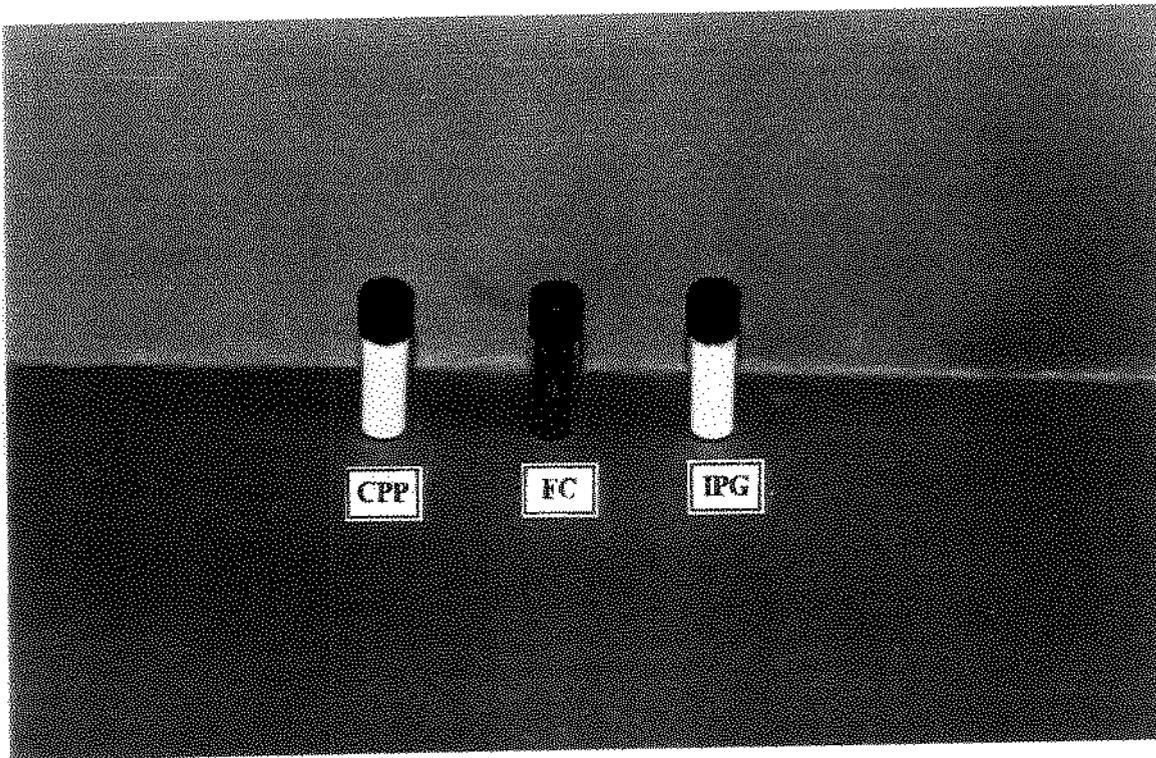


Figura 4. Amostras de concentrado protéico de plasma (CPP), fração celular integral (FC) e isolado protéico de globina (IPG) desidratadas.

4.4 Remoção do grupamento heme do isolado protéico de globina

A Tabela 11 apresenta as determinações de sólidos totais e ferro, realizadas no isolado protéico de globina (IPG) em comparação com a fração celular (FC) desidratada. Analisando os resultados verificamos que a porcentagem de remoção de ferro do IPG foi de 96,90%, sendo semelhante à obtida por SATO et al. (1981), de 97%.

Tabela 11. Conteúdo de sólidos totais e ferro no concentrado protéico de plasma (CPP) e isolado protéico de globina (IPG)

Amostra	Rendimento (g sólidos/litro de sangue)	Ferro (mg/g sólidos)
IPG	56,61	8,21
FC	102,02	265,25

4.5 Análise de minerais

Na Tabela 12 encontram-se os teores de minerais (macro e microelementos) do concentrado protéico de plasma e isolado protéico de globina. Os minerais Na, Cl, K, Ca e Mg, apresentaram valores inferiores aos reportados por TYBOR et al. (1975). O CPP apresentou maiores níveis relativos de sódio e cloreto que o IPG e a concentração de cloreto na globina foi desproporcionalmente maior que o nível de sódio. Esse dados estão de acordo com os apresentados pelos autores citados, que observam que o citrato de sódio adicionado na coleta do sangue torna-se um constituinte do plasma.

O CPP apresentou teor de sódio muito acima do recomendado pela RDA (1989), o mesmo ocorrendo com o teor de fósforo do IPG. Nos demais minerais analisados os valores por 100g de amostra ficaram abaixo da recomendação diária.

Em relação ao teor de ferro do IPG, AUTIO (1983) citado por WISMER-PEDERSEN (1988) encontrou um conteúdo de ferro de 0,04% em seu isolado protéico de globina obtido por precipitação do grupamento heme com carboximetil celulose e, portanto, verificamos que está acima do encontrado no presente trabalho (0,014%). MADSEN (1985) citado pelo mesmo autor, obteve 0,016% de ferro em seu IPG preparado pelo método de TYBOR et al. (1973), com o uso de acetona acidificada. SATO et al. (1981) prepararam globina bovina através de uma coluna de troca iônica com carboximetil celulose e obtiveram em seu produto um conteúdo de 0,009% de ferro.

Tabela 12. Composição mineral (macro e microelementos) do concentrado protéico de plasma (CPP) e isolado protéico de globina (IPG)

Minerais (mg/100g)	CPP	IPG	RDA* (mg/dia)
Cálcio	60,60 ± 0,80	9,50 ± 0,1	800
Magnésio	10,20 ± 0,10	0,31 ± 0,02	120
Fósforo	101,40 ± 0,30	2,42 ± 0,005	800
Sódio	2496,30 ± 0,80	152,50 ± 0,8	400
Potássio	330,60 ± 0,90	3,40 ± 0,1	1.600
Cloreto	3668,40 ± 16,81	1454,20 ± 17,99	600
Ferro	ND	14,20 ± 0,02	10
Zinco	1,50 ± 0,10	3,56 ± 0,07	10
Cobre	1,050 ± 0,04	0,85 ± 0,01	1,5-2,0

Valores expressos como média de três determinações ± desvio padrão

* Recommended Dietary Allowances - RDA, 1989

** ND - Não determinado

4.6 Composição de aminoácidos dos concentrados protéicos de plasma e globina

Os valores encontrados para a composição aminoacídica do concentrado protéico de plasma (CPP) e isolado protéico de globina (IPG) encontram-se na tabela 13. Os concentrados são excelentes fontes de lisina, leucina e histidina, sendo a última requerida por crianças. Apresentam, ainda, elevados níveis de treonina, valina e fenilalanina.

Na amostra CPP a concentração de todos os aminoácidos essenciais foi superior às quantidades recomendadas pela FAO/WHO/UNU (1985). O menor escore químico encontrado foi 101,60 para os aminoácidos sulfurados. O IPG mostrou-se muito deficiente em isoleucina e nos aminoácidos sulfurados, sendo que não foi detectada a presença de cisteína. A isoleucina apresentou escore químico de 5%, sendo o primeiro

aminoácido limitante. O escore químico dos aminoácidos sulfurados no IPG foi de 5,6%.

TYBOR et al. (1975) obtiveram um escore químico de 88% para os aminoácidos sulfurados em concentrado protéico de plasma, comparado com o mesmo padrão FAO, sendo portanto inferior ao encontrado neste trabalho. Para o isolado protéico de globina obtido pelos mesmos autores, o menor escore químico encontrado foi igualmente para isoleucina (7,4%). Porém, o escore químico dos aminoácidos sulfurados foi muito superior, apresentando o valor de 72%.

A FAO/WHO (1990) considera o escore químico corrigido pela digestibilidade (PDCAAS) um índice mais apropriado para avaliar a qualidade protéica em alimentos e fórmulas infantis. Esse índice utiliza os requerimentos dos aminoácidos essenciais para humanos, sendo mais apropriado quando comparado com os ensaios em animais utilizados para avaliar a qualidade da proteína em alimentos.

Na figura 5 estão apresentados o escore químico do aminoácido limitante primário (EALP) e o escore químico corrigido pela digestibilidade *in vivo* (PDCAAS) das proteínas de sangue bovino CPP e IPG. O PDCASS foi de 0,96 e 0,046 para o CPP e IPG, respectivamente. Para o CPP, o índice encontrado foi superior ao da carne e isolado protéico de soja de 0,92 (FAO/WHO, 1990). Quanto ao isolado protéico de globina, o índice foi ainda muito inferior ao PDCASS do glúten de 0,25 (SARWAR, 1987).

Resultados e Discussão

Tabela 13. Composição de aminoácidos dos concentrados protéicos de plasma e globina (g aminoácido/100g proteína)

Aminoácidos	CPP	IPG	Padrão FAO*
Valina	6,73	8,44	3,5
Isoleucina	3,35	0,14	2,8
Leucina	9,34	14,80	6,6
Treonina	6,60	5,50	3,4
1/2 Cistina	1,68	ND**	
Metionina	0,86	0,14	
Sulf. totais	2,54	0,14	2,5
Tirosina	4,78	2,54	
Fenilalanina	5,16	7,62	
Arom. totais	9,94	10,16	6,3
Histidina	4,18	7,64	1,9
Lisina	7,47	10,04	5,8
Triptofano	1,18	1,03	1,1
Ac. Aspártico	9,80	9,77	
Serina	6,67	7,00	
Ac. glutâmico	14,08	6,10	
Prolina	4,74	3,77	
Glicina	3,39	4,09	
Alanina	5,00	10,16	
Arginina	3,30	1,75	
EQ (%)	101,60	5,00	

* Padrão teórico da FAO/WHO/UNU, 1985 (aminoácidos indispensáveis para crianças de 2 a 5 anos de idade).

**ND - Não detectado

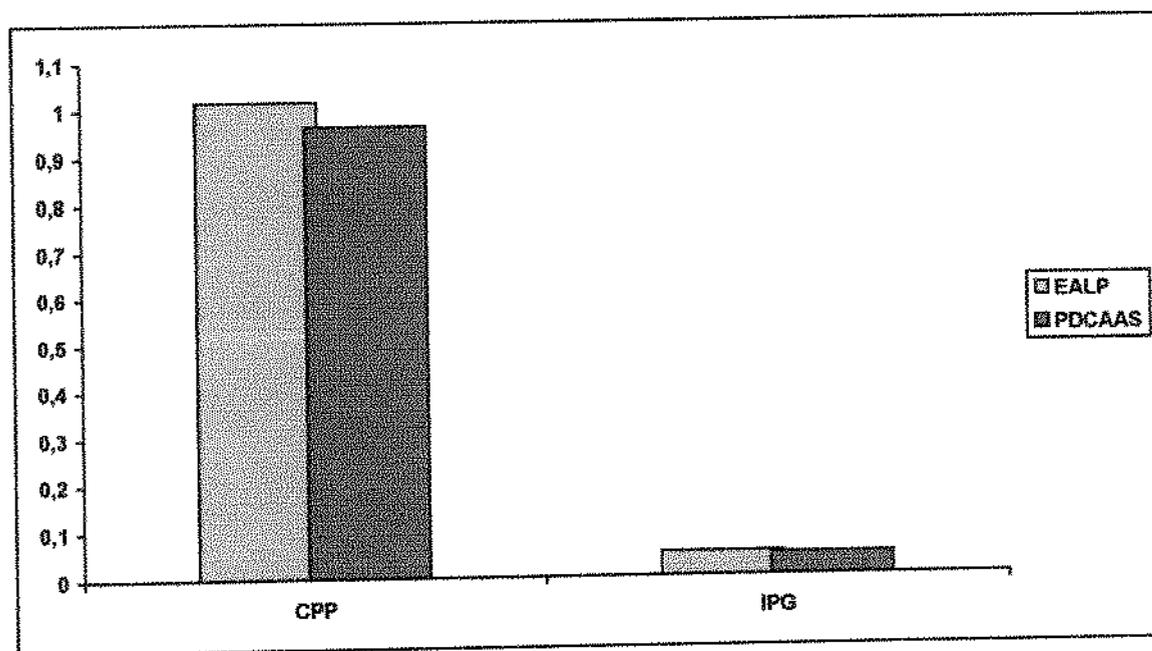


Figura 5. Escore do aminoácido limitante primário (EALP) e escore de aminoácido corrigido pela digestibilidade *in vivo* (PDCAAS) do concentrado protéico de plasma (CPP) e isolado protéico de globina (IPG).

4.7 Avaliação nutricional

4.7.1 Ensaio biológico

Os valores médios referentes a nitrogênio ingerido (NI), nitrogênio fecal (NF), nitrogênio urinário (NU) e balanço nitrogenado (BN) de ratos Wistar alimentados com dietas contendo 10% de proteína proveniente de caseína (CAS), concentrado protéico de plasma (CPP), isolado protéico de globina (IPG) e misturas protéicas de CPP:IPG nas proporções de 1:1 (P:G 1:1) e 2:1 (P:G 2:1), respectivamente, encontram-se na Tabela 14.

Quanto ao nitrogênio ingerido, houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as cinco dietas experimentais, sendo que o maior teor correspondeu à dieta controle e o menor, à dieta contendo globina (IPG), devido ao menor consumo alimentar deste grupo (Tabela 22). Como consequência da menor quantidade de nitrogênio ingerido, a dieta IPG apresentou também, os menores valores para NF, NU e BN.

Possivelmente, a menor ingestão de nitrogênio, decorrente do menor consumo de proteína (Tabela 16), pelos animais que receberam IPG foi devido ao desbalanço aminoácido desta fração, que apresenta severa deficiência em isoleucina e aminoácidos sulfurados (Tabela 13). Segundo TACKMAN et al. (1990), os aminoácidos têm importante função no controle da ingesta alimentar e o excesso ou deficiência causa depressão na ingesta. A ingestão de dietas desbalanceadas resulta em alterações nas concentrações de aminoácidos do plasma e cérebro, o que conduz a ajustes na ingesta, onde o cérebro parece exercer função primordial, pois mudanças nas concentrações cerebrais de aminoácidos causadas por alterações nas concentrações plasmáticas estão relacionadas com o controle da ingesta de alimentos. PENG (1979) estudando a extensão da depressão na ingesta alimentar e crescimento de ratos, pela severidade relativa de desbalanços de aminoácidos, encontrou que o desbalanço de metionina foi o mais severo, seguido em ordem decrescente por isoleucina, triptofano, leucina e valina, histidina, fenilalanina, treonina, lisina e arginina.

Os ratos alimentados com dieta contendo proteína de plasma apresentaram valores de nitrogênio urinário significativamente superiores ($p \leq 0,05$) às demais dietas, o que pode ser decorrente da presença de compostos nitrogenados não protéicos que compõe o plasma sanguíneo como uréia, ácido úrico e creatinina, e que permaneceram no CPP mesmo após a ultrafiltração do plasma. O nitrogênio fecal foi também superior para o grupo CPP em relação às demais dietas, embora inferior ao da caseína.

A dieta CPP apresentou valores significativamente superiores ($p \leq 0,05$) de NI e BN dentre as dietas contendo proteínas do sangue, seguida das misturas CPP:IPG (2:1) e CPP:IPG (1:1) e IPG, respectivamente.

Na Tabela 15 encontram-se os valores obtidos para digestibilidade verdadeira (Dv), valor biológico verdadeiro (VBv) e utilização líquida verdadeira da proteína (NPUv) em ratos alimentados com dietas contendo 10% de proteína proveniente de proteínas do sangue e de caseína.

Tabela 14. Valores de nitrogênio ingerido (NI), nitrogênio fecal (NF), nitrogênio urinário (NU) e balanço de nitrogênio (BN).

Tratamento	NI (g)	NF (g)	NU (g)	BN (g)
CAS	1,7643 ± 0,17 ^a	0,1214 ± 0,01 ^a	0,1714 ± 0,04 ^b	1,4714 ± 0,15 ^a
CPP	1,4443 ± 0,14 ^b	0,1057 ± 0,02 ^b	0,2086 ± 0,02 ^a	1,1300 ± 0,10 ^b
IPG	0,3986 ± 0,07 ^c	0,0629 ± 0,01 ^c	0,1343 ± 0,03 ^c	0,2014 ± 0,04 ^c
P:G 1:1	0,6429 ± 0,06 ^d	0,0757 ± 0,01 ^c	0,1443 ± 0,02 ^c	0,4229 ± 0,06 ^d
P:G 2:1	0,8757 ± 0,11 ^c	0,0743 ± 0,02 ^c	0,1800 ± 0,04 ^b	0,6214 ± 0,09 ^c
D.M.S.	0,1069	0,0139	0,0210	0,0827

Valores expressos como média de 7 animais por tratamento ± desvio padrão
P:G= Plasma:Globina. Médias seguidas por letras diferentes na vertical indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$).

A digestibilidade verdadeira das dietas caseína, CPP e da mistura CPP:IPG 2:1 não apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$), enquanto que as dietas CPP:IPG 1:1 e IPG apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) em relação aos outros grupos porém, não diferiram entre si e representaram 97,9% e 96,9%, respectivamente de digestibilidade quando comparadas com a dieta controle.

Analisando os resultados, observamos que as proteínas do sangue possuem uma digestibilidade muito semelhante às proteínas da carne bovina (95,9%) e às proteínas da farinha de soja (90,6%), resultados estes apresentados por SAMMÁN & FARIAS (1993), sendo, portanto, facilmente hidrolisadas pelas enzimas digestivas humanas.

O valor biológico verdadeiro foi superior para o grupo tratado com caseína. A dieta à base de globina (IPG) apresentou o menor valor biológico (VBv). As dietas CPP e as misturas CPP:IPG nas diferentes proporções, apresentaram valores intermediários. A dieta CPP alcançou o maior índice VBv ($p \leq 0,05$) dentre as dietas contendo proteína do sangue indicando que, os animais que a receberam apresentaram a maior quantidade de nitrogênio retido no organismo para ser utilizado na síntese

protéica endógena. As médias dos grupos CPP:IPG 1:1 e CPP:IPG 2:1 não apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$) para estas variáveis.

Seguindo o mesmo comportamento dos outros índices analisados, a NPUv da formulação à base de plasma foi superior ($p \leq 0,05$) quando comparada com as demais dietas à base de proteínas do sangue. O resultado da NPUv obtido para o CPP no presente estudo foi 14% maior do que o valor encontrado por DELANEY (1975) para dieta formulada com plasma suíno.

Tabela 15. Digestibilidade verdadeira (Dv), valor biológico verdadeiro (VBv), e utilização líquida verdadeira da proteína (NPUv) obtidos em sete dias de balanço nitrogenado

Tratamento	Dv (%)	VBv (%)	NPUv (%)
CAS	94,77 ± 0,77 ^a	90,37 ± 1,69 ^a	85,65 ± 1,78 ^a
CPP	94,85 ± 1,35 ^a	85,46 ± 1,25 ^b	81,05 ± 1,21 ^b
IPG	91,83 ± 0,8 ^b	65,99 ± 4,60 ^d	60,60 ± 4,17 ^e
P:G 1:1	92,82 ± 1,95 ^b	77,37 ± 3,69 ^c	71,81 ± 3,53 ^d
P:G 2:1	95,03 ± 2,11 ^a	79,54 ± 5,02 ^c	75,55 ± 4,46 ^c
D.M.S.	1,05	2,63	2,98

Valores expressos como média de 7 animais por tratamento ± desvio padrão
P:G= CPP:IPG. Médias seguidas por letras diferentes na vertical, indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$).

A figura 6 ilustra o ganho de peso de ratos Wistar alimentados com dietas caseína (CAS), concentrado protéico de plasma (CPP), isolado protéico de globina (IPG) e misturas protéicas de CPP:IPG nas proporções de 1:1 e 2:1, respectivamente. O maior ganho de peso ocorreu nos ratos alimentados com caseína, seguido de CPP e CPP:IPG 2:1.

Dentre os tratamentos com proteínas sanguíneas, os ratos que receberam dieta à base de globina não apresentaram mudanças no crescimento corporal, após o período de adaptação. Apesar do IPG apresentar NPUv superior a 60% e VBv de 66%, quando

utilizado como única fonte protéica, mostrou-se ineficiente para promover o crescimento corporal dos animais, o que pode ser atribuído ao baixo consumo de proteína apresentado por este grupo (Tabela 16). As depressões de ingesta associadas com padrões de aminoácidos da dieta severamente desbalanceados, como apresentado pelo IPG, ocorrem em curto tempo, são severos e prolongados e dificilmente recuperáveis (TACKMAN et al., 1990). Por outro lado, o plasma (CPP) e as misturas protéicas CPP:IPG, em ambas as proporções apresentaram um ganho de peso intermediário, sugerindo assim que o plasma é uma boa fonte de proteína para a suplementação de outras fontes protéicas alternativas. O CPP, apesar de se apresentar muito próximo da caseína nos índices de balanço, promoveu crescimento nos animais bem inferior ao da caseína, o que provavelmente foi também decorrente do menor consumo de proteína. Em estudos realizados com proteína de sangue bovino, PENTEADO et al. (1979), obtiveram resultados semelhantes aos apresentados no presente trabalho.

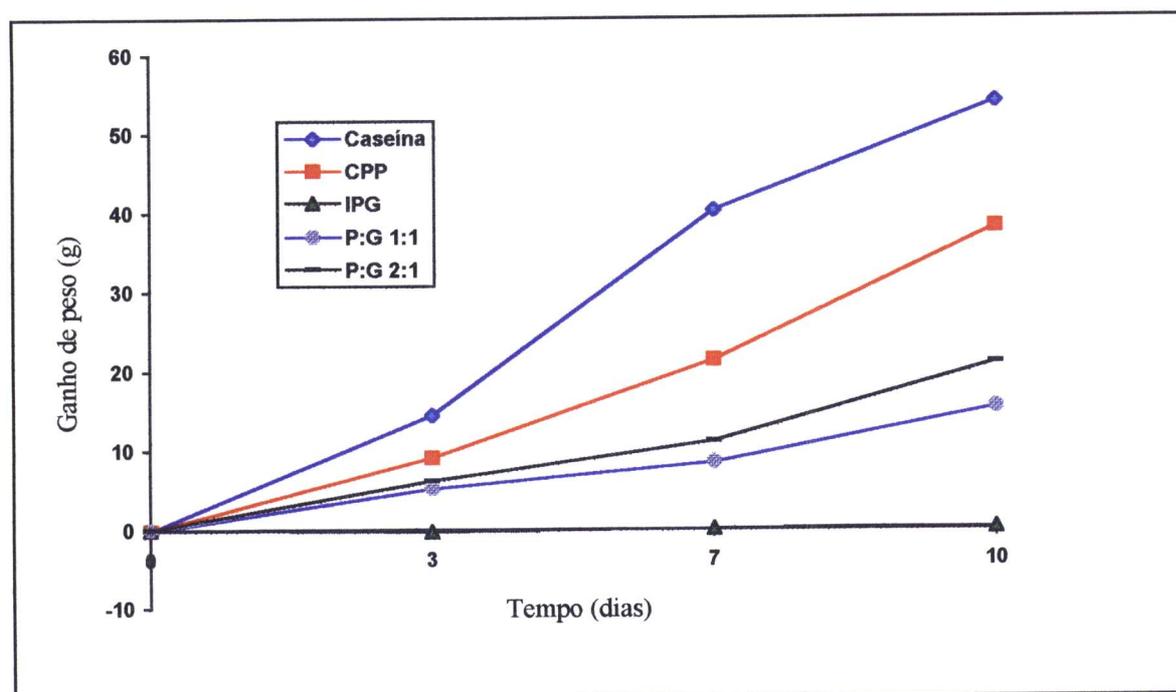


Figura 6. Efeito do tempo de ensaio biológico no ganho de peso de ratos Wistar alimentados com dietas de caseína, concentrado protéico de plasma (CPP), isolado protéico de globina (IPG) e misturas protéicas de CPP:IPG nas proporções de 1:1 e 2:1.

A Tabela 16 ilustra o NPR e consumo de proteína de ratos Wistar alimentados com dietas caseína (CAS), concentrado protéico de plasma (CPP), isolado protéico de globina (IPG) e misturas protéicas de CPP:IPG nas proporções de 1:1 e 2:1, respectivamente. O grupo alimentado com IPG apresentou o menor valor de NPR em relação aos demais tratamentos, diferindo significativamente destes ($p \leq 0,05$). Os grupos alimentados com CPP e CPP:IPG 2:1 não diferiram significativamente entre si ($p \leq 0,05$). O grupo que recebeu CPP:IPG 2:1 apesar de apresentar média aritmética ligeiramente inferior à caseína, não diferiu estatisticamente desta.

Tabela 16. Consumo de proteína, ganho de peso e taxa de eficiência líquida da proteína (NPR)

Tratamento (g)	Consumo Proteína (g)	Ganho de peso (g)	NPR
CAS	15,55 ± 1,55 ^a	53,86 ± 5,75 ^a	4,24 ± 0,13 ^a
CPP	12,55 ± 1,16 ^b	38,23 ± 4,21 ^b	4,01 ± 0,14 ^b
IPG	4,23 ± 0,23 ^c	0,19 ± 0,11 ^e	2,88 ± 0,27 ^d
P:G 1:1	6,27 ± 0,48 ^d	11,2 ± 2,04 ^d	3,71 ± 0,32 ^c
P:G 2:1	7,99 ± 1,01 ^c	20,98 ± 4,35 ^c	4,12 ± 0,20 ^{ab}
D.M.S.	0,84	3,99	0,16

Valores expressos como média de 7 animais por tratamento ± desvio padrão
P:G= CPP:IPG. Médias seguidas por letras diferentes na vertical indicam resultados estatisticamente diferentes ($p \leq 0,05$).

Em relação ao consumo de proteína, constatou-se que os animais que receberam caseína como fonte protéica, apresentaram o maior consumo, enquanto que os que receberam IPG, o menor. Verifica-se que à medida que se elevam os níveis de substituição de IPG por CPP (misturas CPP:IPG 1:1 e 2:1) ocorre, proporcionalmente, aumento do consumo protéico, provavelmente devido ao CPP proporcionar um aumento de isoleucina e aminoácidos sulfurados nas misturas CPP:IPG em comparação ao IPG, tornando essas dietas menos desbalanceadas.

Os resultados de NPR e consumo de proteína de sangue encontrados neste trabalho foram superiores aos publicados por PENTEADO et al. (1979) e DEL RIO DE REYS et al. (1980). Cabe ressaltar que não ocorreu morte de animais no grupo que recebeu isolado protéico de globina como relatado nos trabalhos citados.

4.8 Propriedades funcionais

4.8.1 Solubilidade

A solubilidade da proteína é uma propriedade importante para sua projeção em um dado sistema alimentar. Segundo KINSELLA (1976) NaCl e CaCl₂ são os sais mais comumente empregados nesse estudo, e a avaliação da solubilidade das proteínas a diferentes forças iônicas é essencial devido à maioria dos alimentos se apresentarem como complexos sistemas iônicos. Essa propriedade também vem a ser extremamente importante quando expressada em função do pH, já que diferentes valores de pH são encontrados para diferentes alimentos.

O perfil de solubilidade das proteínas do concentrado protéico de plasma (CPP) em função do pH e os efeitos da força iônica na solubilidade das proteínas do plasma, podem ser observados na Figura 7. O CPP em água apresentou um mínimo de solubilidade em pH 5,0 onde, entretanto, aproximadamente 85% da proteína permaneceu em solução. Os resultados mostram que os sais empregados causaram uma elevação na solubilidade das proteínas do plasma na região isoeletrica (5-6), sendo menos notável a contribuição do NaCl na concentração de 0,1M. O CaCl₂ na concentração de 0,1M elevou a solubilidade das proteínas do plasma em todos os valores de pH, não sendo mais perceptível a solubilidade mínima no ponto isoeletrico. O NaCl e o CaCl₂ na concentração de 0,5M, causaram um decréscimo considerável na solubilidade em valores de pH abaixo da região isoeletrica (5-6), e apresentou pouco efeito em valores de pH acima de 7, exceto o NaCl 0,5M que reduziu a solubilidade acima desse pH. Os resultados são semelhantes aos obtidos por O'RIORDAN et al.

(1989a), e segundo esses autores, na região isoelétrica os sais interagem com os grupos carregados da proteína aumentando a solubilidade. Nos pHs onde a solubilidade foi reduzida em presença de sal ocorreu uma competição entre as proteínas do plasma e os íons pela água (“salting-out”), promovendo uma agregação das proteínas e causando o decréscimo da solubilidade.

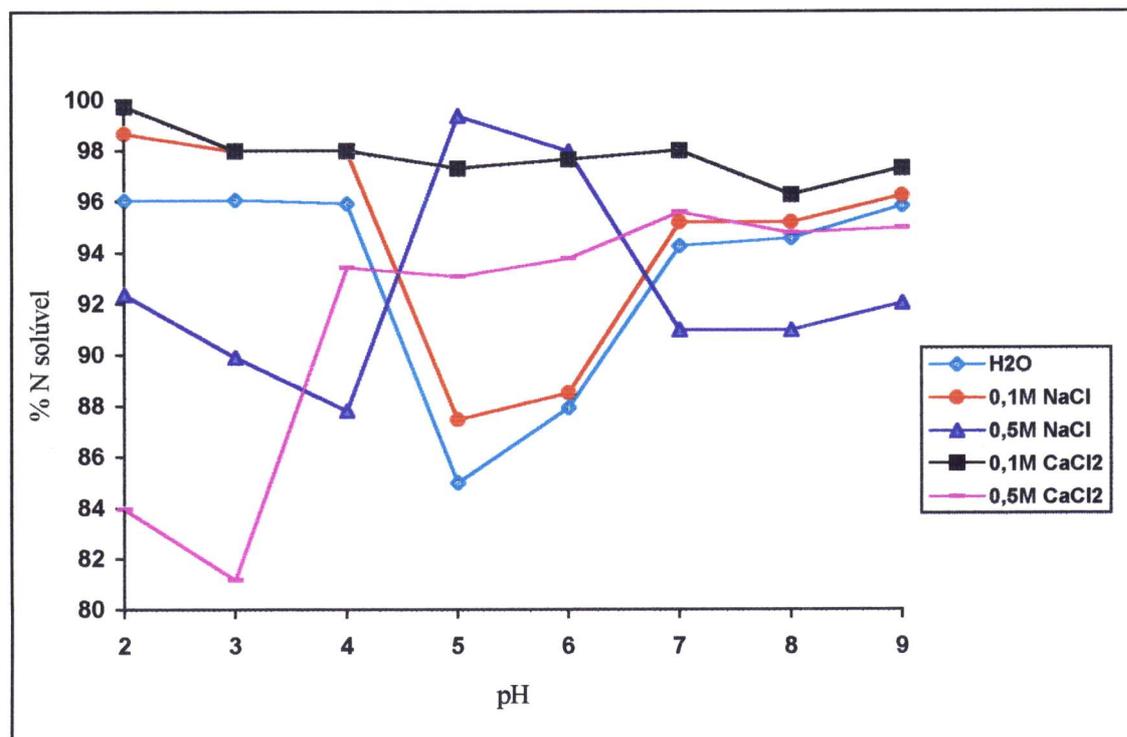


Figura 7. Perfil de solubilidade do concentrado protéico de plasma em função da força iônica (NaCl 0,1 e 0,5 M; CaCl₂ 0,1 e 0,5M).

Os resultados do perfil de solubilidade do isolado protéico de globina (IPG), estudado em água e em concentrações salinas (NaCl e CaCl₂) de 0,05 e 0,1M, estão apresentados na Figura 8. A solubilidade em água do IPG na faixa de pH de 4-7 se apresenta inferior à obtida por AUTIO et al. (1984). Isso pode ser devido às diferenças no processo de obtenção da globina. Esses autores, após retirarem o grupo heme da hemoglobina com carboximetil celulose em pH < 3, liofilizaram a solução de globina em pH 3, enquanto que no presente trabalho, conforme a metodologia apresentada anteriormente, a globina foi precipitada da solução em pH 6,2 e liofilizada neste pH.

Como a proteína apresentou uma solubilidade muito baixa, foi ressuspensa em água, teve seu pH reajustado para 3 e foi novamente liofilizada, na tentativa de melhorar sua solubilidade. Segundo KINSELLA (1976) a precipitação isoelétrica de proteínas é um método comumente praticado para recuperação de proteínas, entretanto, uma prolongada permanência nesse pH, durante a precipitação isoelétrica, resulta em perda gradual da solubilidade. Quanto ao efeito da força iônica na solubilidade do IPG, os sais estudados causaram uma redução na solubilidade ou praticamente não afetaram; exceto o CaCl_2 a 0,05M, que elevou a solubilidade nos pHs de 5 a 8.

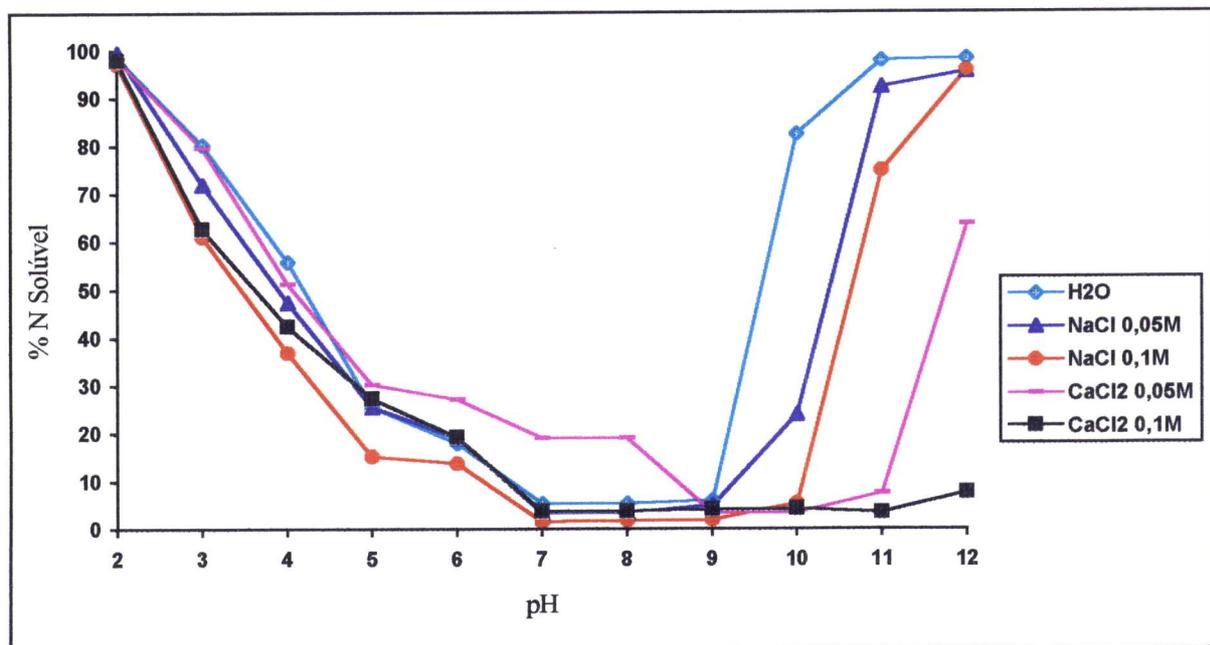


Figura 8. Perfil de solubilidade do isolado protéico de globina (IPG) em função da força iônica.

4.8.2 Capacidade de absorção de água

A análise comparativa da capacidade de absorção de água (CAA) do concentrado protéico de plasma (CPP), isolado protéico de globina (IPG) e isolado protéico de soja (IPS), encontra-se na figura 9. A máxima quantidade de água absorvida para as amostras IPG, IPS e CPP foi de 4,33; 3,90 e 1,06 mL $\text{H}_2\text{O}/\text{g}$ proteína, nos tempos de 9, 7 e 26 minutos, respectivamente. O IPG desidratado por

liofilização apresentou CAA próxima à relatada por AUTIO et al. (1984) para globina desidratada por spray-dryer. Os autores encontraram os valores de 5 e 1,8 mL H₂O/g proteína para globina desidratada por spray e liofilização, respectivamente e, atribuíram essa diferença às variações na porosidade obtida com diferentes técnicas de secagem.

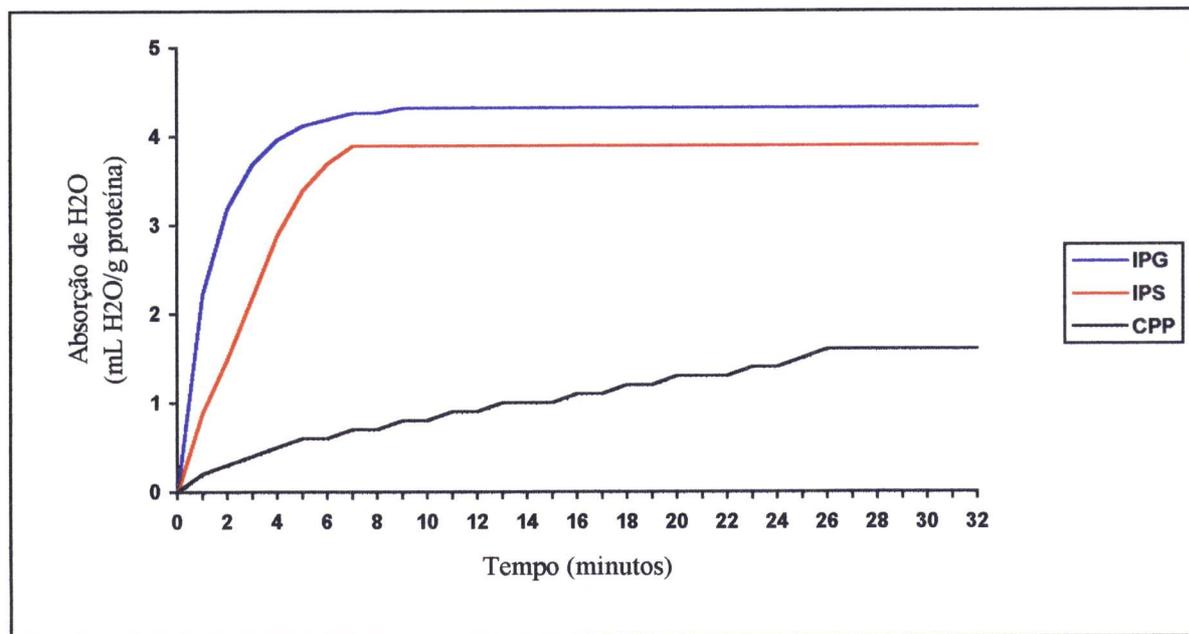


Figura 9. Capacidade de absorção de água do concentrado protéico de plasma (CPP), isolado protéico de globina (IPG) e isolado protéico de soja (IPS), em função do tempo de exposição.

A adição de NaCl 0,1M aumentou a capacidade de absorção de água das amostras CPP e IPG em 0,2mL e 1,0mL de água/grama de proteína, como pode ser observado na Figura 10. Concentrações mais elevadas de NaCl decresceram a capacidade de absorção de água das amostras. YAO et al. (1988) atribuem este fato ao efeito dos íons cloreto e sódio, os quais circundam os grupos laterais polares e com carga dos resíduos de aminoácidos, impedindo-os de interagirem com a água. Como a solubilidade, a capacidade de absorção de água do IPG decresceu com o aumento do pH (Figura 11), e para o CPP, o decréscimo ocorreu na região isoelétrica (5-6). HUTTON E CAMPBELL (1977b) relataram que as curvas de pH-retenção de água e pH-solubilidade apresentaram mesmo perfil para concentrado protéico de soja.

O método utilizado apresentou boa repetibilidade, sendo que o máximo desvio padrão da média entre as repetições foi de 9,4% para a absorção de água da amostra CPP (Figura 9).

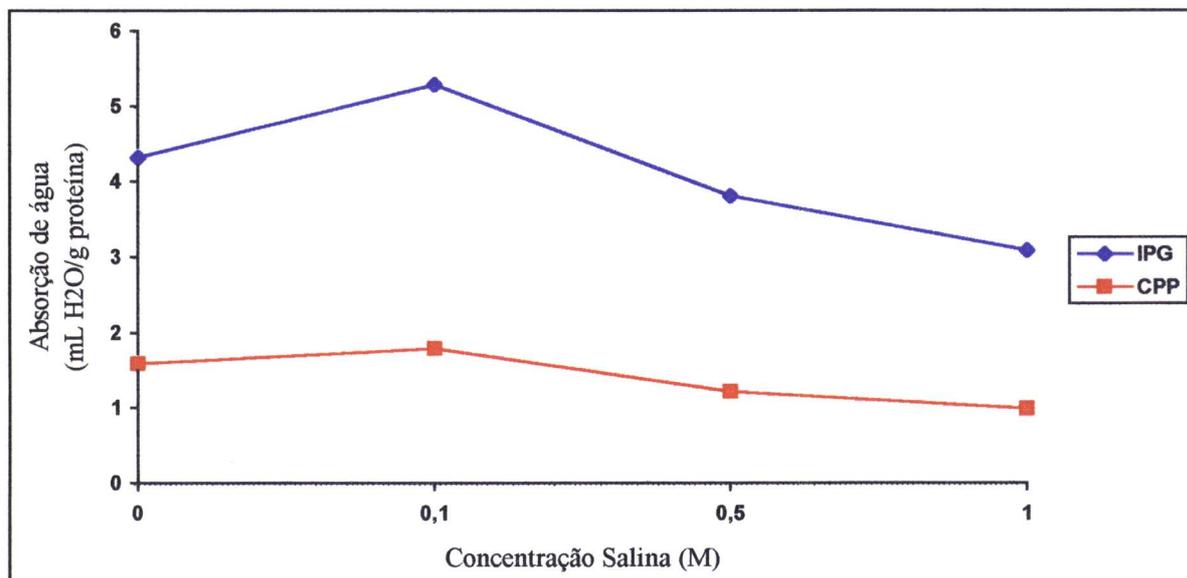


Figura 10. Capacidade de absorção de soluções em diferentes concentrações de NaCl do concentrado protéico de plasma (CPP) e isolado protéico de globina (IPG).

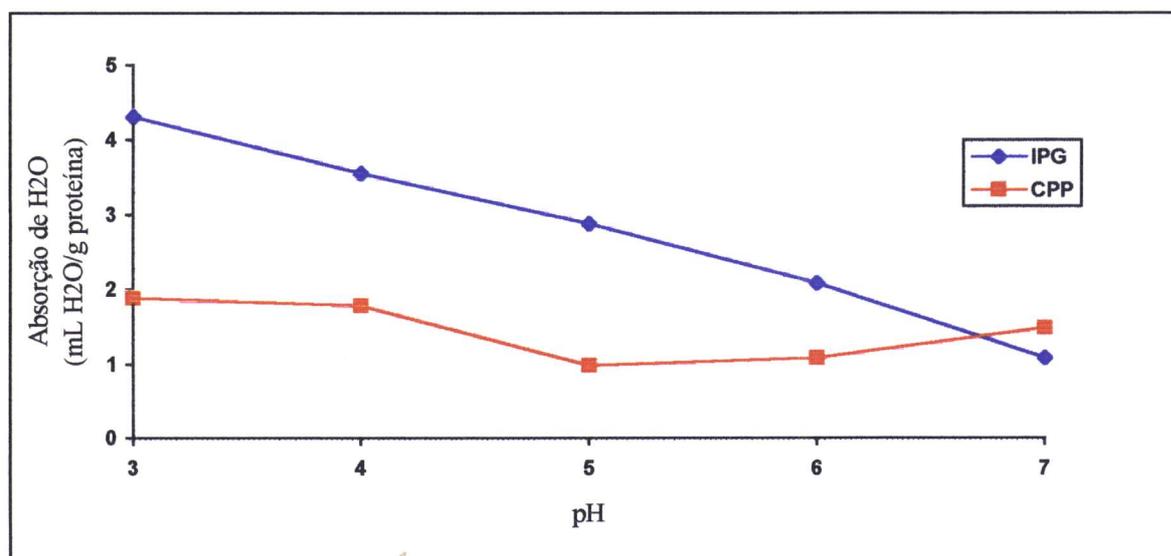


Figura 11. Capacidade de absorção de água do concentrado protéico de plasma (CPP), isolado protéico de globina (IPG), em função do pH.

4.8.3 Propriedades espumantes

As propriedades espumantes do concentrado protéico de plasma (CPP) e isolado protéico de globina (IPG), em comparação com a proteína da clara de ovo (PCO), analisadas através da % de expansão e estabilidade do volume de espuma (%EEs) após os períodos de 30 e 60 minutos, expressas em porcentagem, estão apresentadas na figura 12.

A amostra CPP foi estatisticamente superior à PCO em relação à formação de espuma (% de expansão), mas inferior quanto à estabilidade nos tempos de 30 e 60 minutos. O IPG foi inferior à PCO tanto em relação à formação de espuma quanto à estabilidade. A porcentagem de líquido drenado (%LD) da PCO nos tempos de 30 e 60 minutos foi de 70% e 80%, respectivamente, sendo estatisticamente inferior à %LD do CPP e IPG, apresentados nas tabelas 17 e 18.

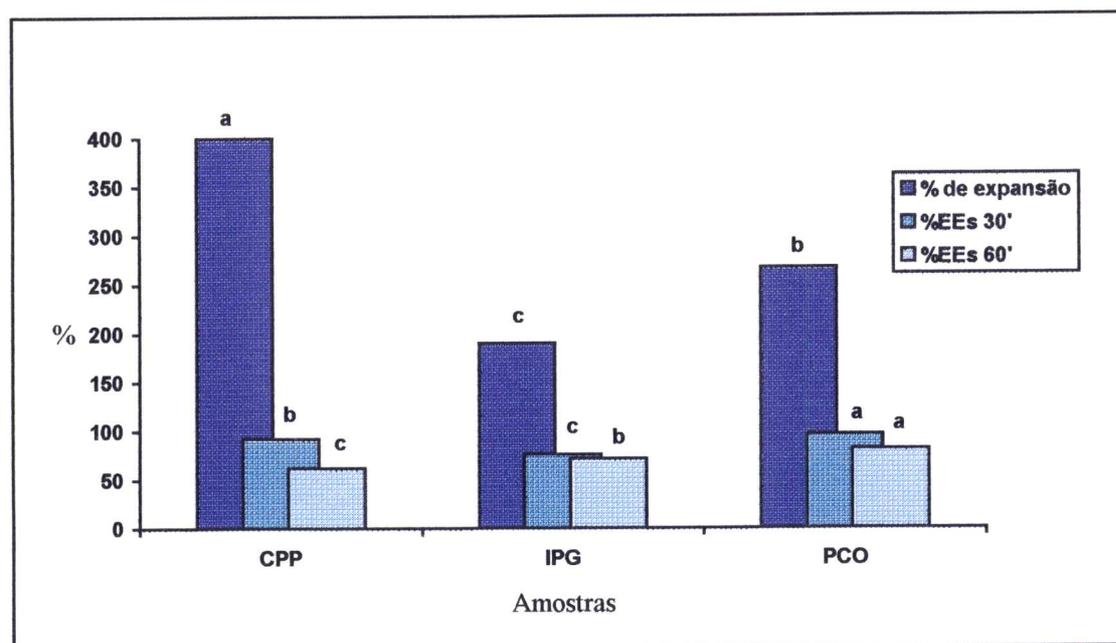


Figura 12. Propriedades de formação de espuma (% de expansão) e estabilidade do volume da espuma (%EEs) após 30 e 60 minutos para concentrado protéico de plasma (CPP) e proteína da clara de ovo (PCO) a 1% em pH 7. a, b e c indicam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$) entre as médias para um mesmo parâmetro.

A Figura 13 apresenta o efeito do pH e força iônica na capacidade de formação de espuma das proteínas do plasma. Observa-se que o CPP apresenta maior capacidade

de formação de espuma em pH 4,0. O aumento da força iônica aumentou significativamente a formação de espumas nos pHs 7,0 e 4,0, sendo os maiores valores obtidos na concentração de 0,5M de NaCl. O aumento da capacidade de formação de espuma em presença de NaCl pode ser devido ao aumento da taxa de difusão, proporcionada pelo sal, provavelmente por enfraquecer as atrações interpeptídios. Segundo KINSELLA (1981), para muitas proteínas o aumento da taxa de difusão, reflete na formação de espumas melhores, com bolhas grandes, aumentando a quantidade de espuma.

Quanto à estabilidade da espuma (Tabela 17), analisada pela estabilidade do volume de espuma (% EEs) e pelo líquido drenado (%LD), a presença de NaCl ocasionou decréscimo significativo ($p \leq 0,05$) na estabilidade nos intervalos de 30 e 60 minutos, nos pHs 4,0 e 7,0. Segundo CHEFTEL et al. (1989), o cloreto de sódio aumenta a perda de líquidos e reduz a estabilidade da espuma, provavelmente devido a um decréscimo da viscosidade da solução protéica.

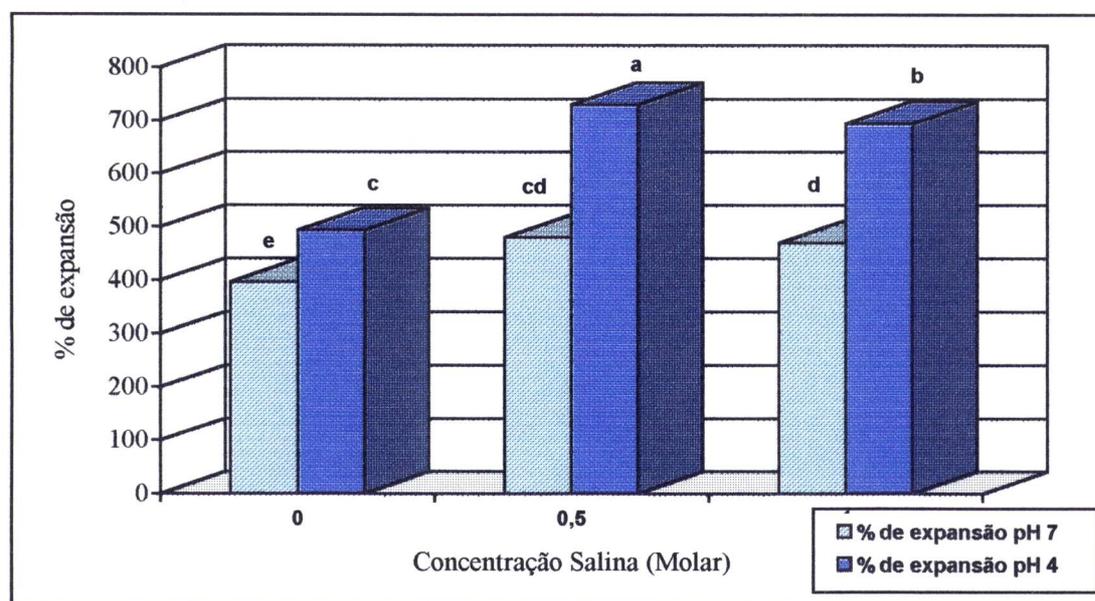


Figura 13. Porcentagem de expansão da amostra CPP 1% em função do pH e da concentração de NaCl (0; 0,5 e 1,0 M). a,b,c,d,e indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$).

Tabela 17. Estabilidade do volume de espuma (% EEs) e líquido drenado (%LD) do concentrado protéico de plasma (CPP) em função do pH e força iônica.

TEMPO	Concentração NaCl	%EES		%LD	
		pH4	pH7	pH4	pH7
30'	0,0 M	98,7 ± 1,2 ^a	92,0 ± 0,6 ^a	68,3 ± 2,9 ^c	78,7 ± 2,3 ^b
	0,5 M	95,2 ± 2,5 ^a	89,6 ± 2,7 ^{ab}	85,0 ± 5,0 ^{ab}	85,0 ± 0,0 ^b
	1,0 M	94,3 ± 1,4 ^a	87,2 ± 1,8 ^b	88,3 ± 2,9 ^a	85,0 ± 4,1 ^b
60'	0,0 M	82,0 ± 1,9 ^b	62,1 ± 0,6 ^c	80,0 ± 0,0 ^b	83,3 ± 2,9 ^b
	0,5 M	80,0 ± 3,2 ^b	59,4 ± 1,4 ^c	91,0 ± 1,7 ^a	93,3 ± 2,9 ^a
	1,0 M	67,1 ± 1,5 ^c	42,6 ± 0,5 ^d	90,0 ± 0,0 ^a	96,4 ± 2,3 ^a
D.M.S.		5,62	4,13	7,48	8,10

* Valores expressos como média de três determinações ± desvio padrão.

Médias seguidas de letras diferentes na vertical, indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$)

O efeito do pH e força iônica na capacidade de formação de espuma do IPG está apresentado na Figura 14. Observa-se que a maior capacidade de formação de espuma ocorreu em pH 4, na ausência de NaCl. TYBOR et al. (1975) estudando a capacidade espumante da globina em função do pH, encontraram mínima capacidade de formar espuma em pH 7,2. Os sais ocasionaram um acentuado decréscimo na capacidade de formação de espuma da amostra, em pH 4. Em pH 7, a adição de NaCl 0,5M não alterou significativamente ($p > 0,05$) a % de expansão em relação ao controle (0M de NaCl), enquanto que o NaCl 1M causou redução significativa. ELDRIDGE et al. (1963), estudando a capacidade de formação de espuma da proteína de soja, concluíram que foi necessário disponibilidade de proteína solúvel para maior expansão da espuma. Portanto, a diminuição da % de expansão da globina em presença de sal pode ser devido à diminuição em sua solubilidade.

Quanto à estabilidade da espuma formada pelo IPG, apresentada na Tabela 18, verificou-se que a adição de NaCl ocasionou uma redução significativa ($p \leq 0,05$) na estabilidade da espuma, nos pHs 4 e 7, e assim como para o CPP, a perda de

estabilidade na presença de sal, pode estar relacionada com a diminuição da viscosidade dos filmes protéicos, resultando em filmes mais finos e menos resistentes

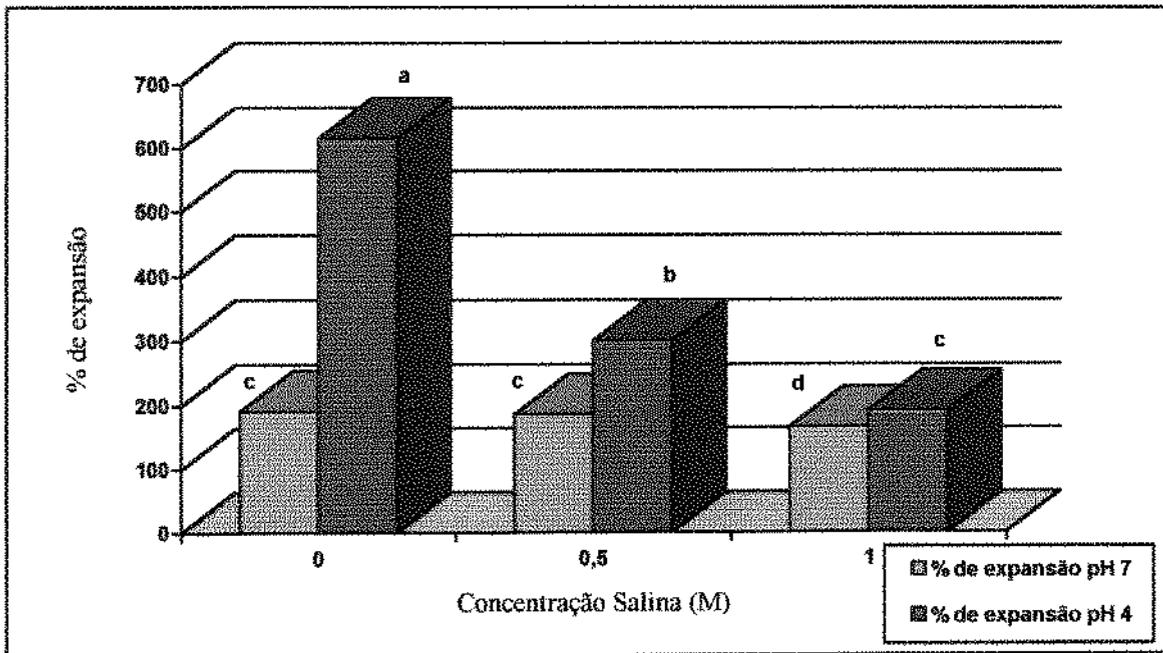


Figura 14. Porcentagem de expansão da amostra IPG 1% em função do pH e da concentração de NaCl (0; 0,5 e 1,0 M). a,b,c,d,e indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$).

Tabela 18. Estabilidade do volume de espuma (% EEs) e líquido drenado (%LD) do isolado protéico de globina (IPG), em função do pH e força iônica.

Tempo	Concentração NaCl	%EEs		%LD	
		pH4	pH7	pH4	pH7
30'	0,0 M	89,7 ± 0,4 ^a	75,8 ± 2,6 ^a	70,0 ± 0,0 ^c	77,3 ± 4,6 ^c
	0,5 M	60,4 ± 0,8 ^c	67,6 ± 1,8 ^{bc}	94,0 ± 2,0 ^c	85,0 ± 5,0 ^{bc}
	1,0 M	57,9 ± 2,6 ^{cd}	63,6 ± 2,7 ^c	95,0 ± 5,0 ^{bc}	96,7 ± 2,8 ^a
60'	0,0 M	82,1 ± 0,1 ^b	71,5 ± 2,3 ^{ab}	80,0 ± 0,0 ^d	82,0 ± 5,2 ^c
	0,5 M	57,8 ± 0,8 ^{cd}	64,9 ± 1,7 ^{bc}	96,7 ± 1,6 ^b	93,3 ± 2,9 ^{ab}
	1,0 M	55,3 ± 0,0 ^d	62,7 ± 3,9 ^c	100,0 ± 0,0 ^a	99,3 ± 1,2 ^a
D.M.S.		3,22	6,98	2,59	10,7

Valores expressos como média de três determinações ± desvio padrão.

Médias seguidas de letras diferentes na vertical, indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$).

4.8.4 Propriedades de emulsificação

Os valores da capacidade de emulsificação (C.E.) e estabilidade da emulsão (E.E.) do concentrado protéico de plasma (CPP) e isolado protéico de globina (IPG) comparados com isolado protéico de soja (IPS), para dispersões de proteína a 1% em pH 4, estão apresentados na Tabela 19. As amostras de proteína obtidas à partir do sangue bovino apresentaram propriedades emulsificantes superiores ao isolado protéico de soja, sendo que o IPG apresentou C.E. estatisticamente superior ao CPP, porém a estabilidade da emulsão foi inferior.

Tabela 19. Capacidade de emulsificação (CE) e estabilidade da emulsão (EE) para dispersões de proteína a 1% em pH 4.

Amostras	CE (mL óleo/g proteína)	EE(%) (24 horas)
CPP	460,00 ± 5,45 ^b	86,09 ± 0,50 ^a
IPG	495,56 ± 7,10 ^a	76,60 ± 2,50 ^b
IPS	348,89 ± 3,85 ^c	65,79 ± 2,44 ^e
D.M.S.	15,75	5,1

* Valores expressos como média de três determinações ± desvio padrão.

Médias seguidas de letras diferentes na vertical, indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$)

Os resultados da capacidade de emulsificação das proteínas do plasma (CPP) e da globina (IPG) em função da concentração de proteína podem ser observados na Figura 15. Com o aumento da concentração ocorreu um aumento da CE das proteínas, sendo que o volume máximo de óleo emulsificado foi obtido a 1% de concentração para ambas as amostras. Os resultados obtidos estão de acordo com os apresentados por TYBOR et al. (1973), exceto que esses autores encontraram a máxima quantidade de óleo emulsificada na concentração de 0,8% para proteínas do plasma e globina. Já CRENWELGE et al. (1974) obtiveram a melhor capacidade de emulsificação para a globina a uma concentração de 0,4%.

O efeito do pH sobre a capacidade de emulsificação das proteínas em estudo foi determinado na faixa de pH de 3 a 10 e os resultados estão apresentados na Figura 16. Observa-se que as amostras apresentaram mínima CE na região de menor solubilidade das proteínas, principalmente o IPG (pH 6-9). Muitos pesquisadores têm encontrado uma alta correlação entre a capacidade emulsificante e a solubilidade das proteínas, onde o distanciamento do ponto isoelétrico aumenta a carga elétrica da proteína e possibilita uma maior solubilização (PEARSON et al., 1965; MCWATTERS & HOLMES, 1979; SHAHIDI et al., 1984).

Alguns pesquisadores, no entanto, têm encontrado um máximo de capacidade emulsificante próximo ao ponto isoelétrico da proteína (FLINT & JOHNSON, 1981; KANNO et al., 1991). VOUTSINAS et al. (1983) relatam que a capacidade emulsificante está mais relacionada com a hidrofobicidade da superfície das moléculas, do que com a solubilidade, sendo que proteínas mais hidrofóbicas causam maior decréscimo na tensão interfacial, melhorando as propriedades emulsificantes. Observa-se que o IPG apresentou elevada capacidade de emulsificação em pH 5, onde apenas 27,8% da proteína apresentou-se solúvel.

A mínima capacidade emulsificante do IPG na faixa de pH de 6-9, provavelmente ocorreu devido à carga líquida da proteína ser praticamente nula e, de acordo com CHEFTEL et al. (1989), nestas condições, as proteínas adotam estruturas compactas, o que pode impedir seu desdobramento e adsorção na interface.

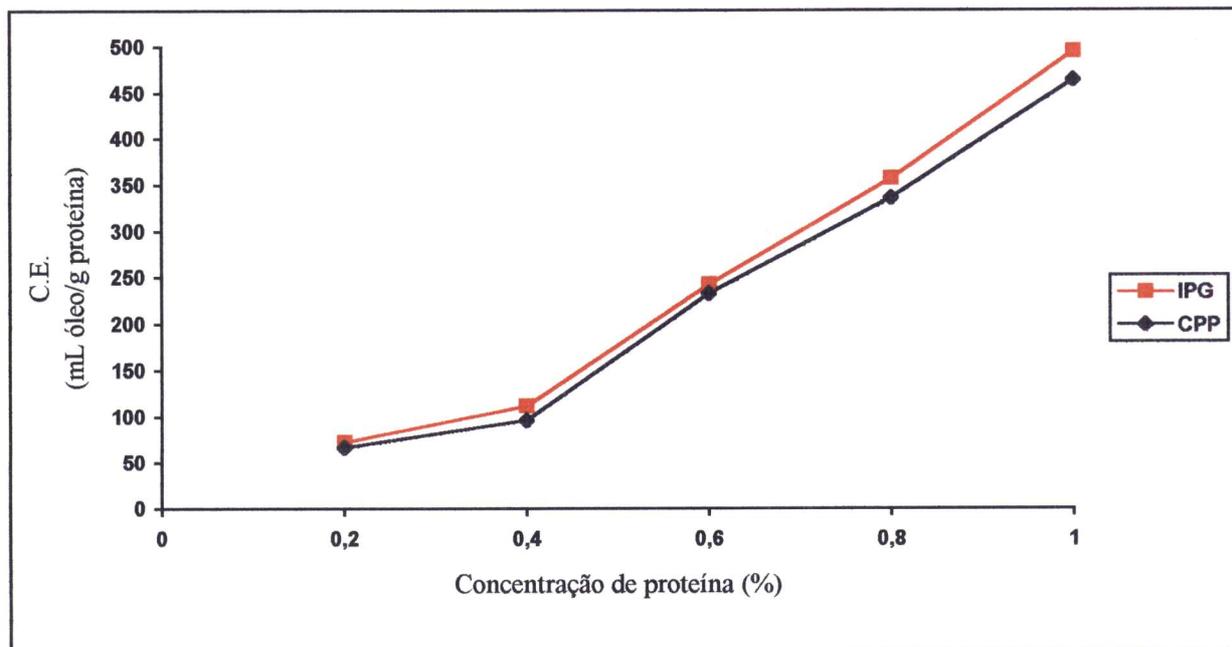


Figura 15. Efeito da concentração de proteína sobre a capacidade de emulsificação (CE) do concentrado protéico de plasma (CPP) e isolado protéico de globina (IPG) em água.

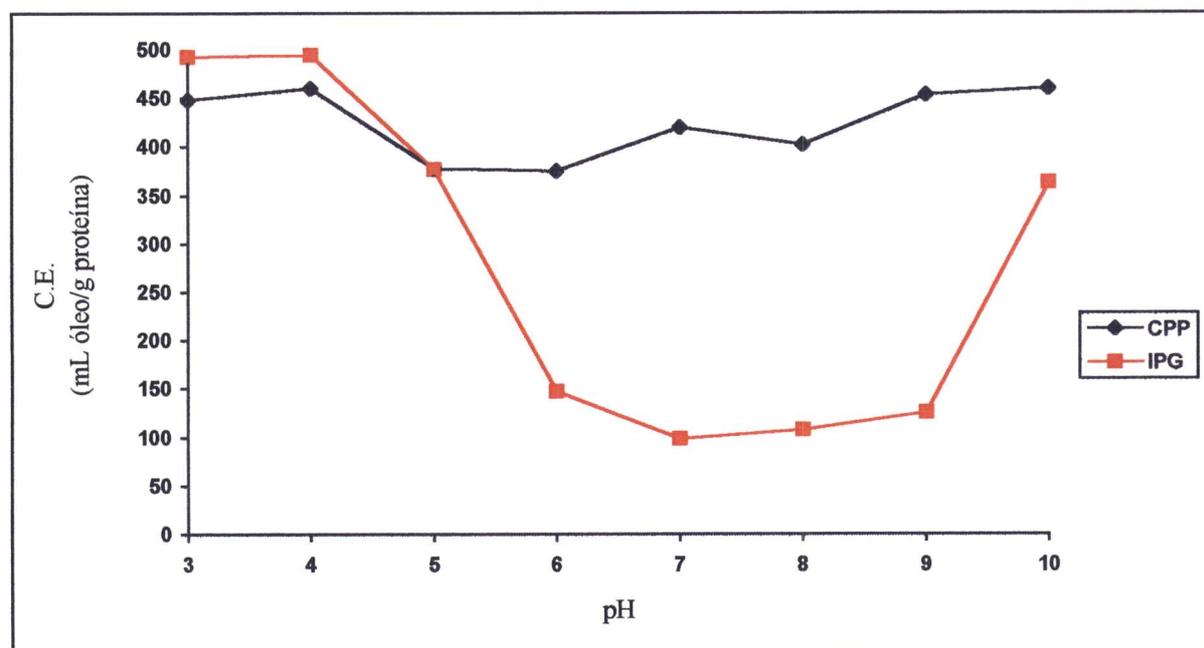


Figura 16. Efeito do pH sobre a capacidade de emulsificação (CE) do concentrado protéico de plasma (CPP) e isolado protéico de globina (IPG).

Os resultados do efeito da força iônica sobre as propriedades de emulsificação do concentrado protéico de plasma (CPP) e isolado protéico de globina (IPG) nos pHs 4, 5,5 e 7, estão apresentados na Tabela 20. Segundo BORDERÍAZ & MONTERO (1988) até certo ponto, o aumento da força iônica favorece a solubilização da proteína, o que aumenta seu poder emulsificante. O IPG em pH 7 em presença de NaCl e nos pHs 4 e 5,5 em concentração salina acima de 0,1M, não apresentou formação de emulsão, e o CPP nos pHs 4 e 7 apresentou uma diminuição da CE em presença de sal. Isto pode ter ocorrido devido ao efeito "salting out" causado pelos íons, que favoreceu as interações proteína-proteína, diminuindo conseqüentemente a capacidade da proteína em adsorver-se na interface óleo-água.

Quanto à estabilidade das emulsões formadas, observa-se que com o aumento da concentração salina, ocorre uma diminuição da estabilidade para ambas as amostras nos pHs estudados, exceto para o IPG em pH 4. Resultados semelhantes foram obtidos por MINE et al. (1991) para a estabilidade da ovalbumina em presença de 0,2M de NaCl.

Tabela 20. Resultados da capacidade de emulsificação (CE) e estabilidade da emulsão (EE) para dispersões de proteína a 1%.

pH	Concentração salina (M)	CPP		IPG	
		CE*	EE(%)	CE*	EE(%)
	0	460,0 ± 5,5 ^a	86,1 ± 0,5 ^a	495,6 ± 7,7 ^a	76,6 ± 2,5 ^a
4,0	0,1	457,8 ± 3,8 ^a	83,3 ± 0,5 ^a	417,8 ± 7,7 ^b	74,3 ± 2,6 ^a
	0,5	406,7 ± 6,7 ^b	81,0 ± 3,0 ^a		NF
	1,0	362,2 ± 7,7 ^c	67,2 ± 2,7 ^b		NF
D.M.S.		16,7	5,4	17,5	5,7
	0	375,6 ± 3,9 ^b	72,0 ± 0,4 ^a	177,3 ± 2,3 ^a	63,3 ± 4,2 ^a
5,5	0,1	377,8 ± 3,8 ^b	64,3 ± 2,3 ^b	156,7 ± 2,9 ^b	29,2 ± 3,2 ^b
	0,5	399,8 ± 6,3 ^a	55,7 ± 0,9 ^c		NF
	1,0	304,5 ± 3,9 ^c	53,1 ± 2,5 ^c		NF
D.M.S.		12,3	4,7	5,9	8,4
	0	417,7 ± 4,0 ^a	64,9 ± 1,7 ^a	100,0 ± 3,3	25,3 ± 1,0
7,0	0,1	328,9 ± 3,9 ^b	60,5 ± 2,2 ^a		NF
	0,5	317,8 ± 3,9 ^c	59,0 ± 1,7 ^{ab}		NF
	1,0	304,5 ± 3,9 ^d	53,5 ± 3,8 ^b		NF
D.M.S.		10,2	6,5		

Valores expressos como média de três determinações ± desvio padrão.*C.E. em mL óleo/g proteína. NF = não formou emulsão. Médias seguidas de letras diferentes na vertical, para cada pH, indicam diferença estatística (p≤0,05)

4.7.5 Geleificação

Na figura 17 estão apresentados os tubos de géis formados pelo concentrado protéico de plasma (CPP), em pH 7 e à diferentes concentrações de proteína. A mínima

concentração em que houve formação de gel foi de 4%. Na concentração de 2%, não houve formação de gel e a fase aquosa ficou separada na parte superior dos tubos. A concentração de 4% foi, também a mínima concentração onde o CPP apresentou formação de gel nos pHs 3,5 e 9,5. O isolado protéico de globina formou gel apenas em pH 3,5 à partir de 6% de concentração.

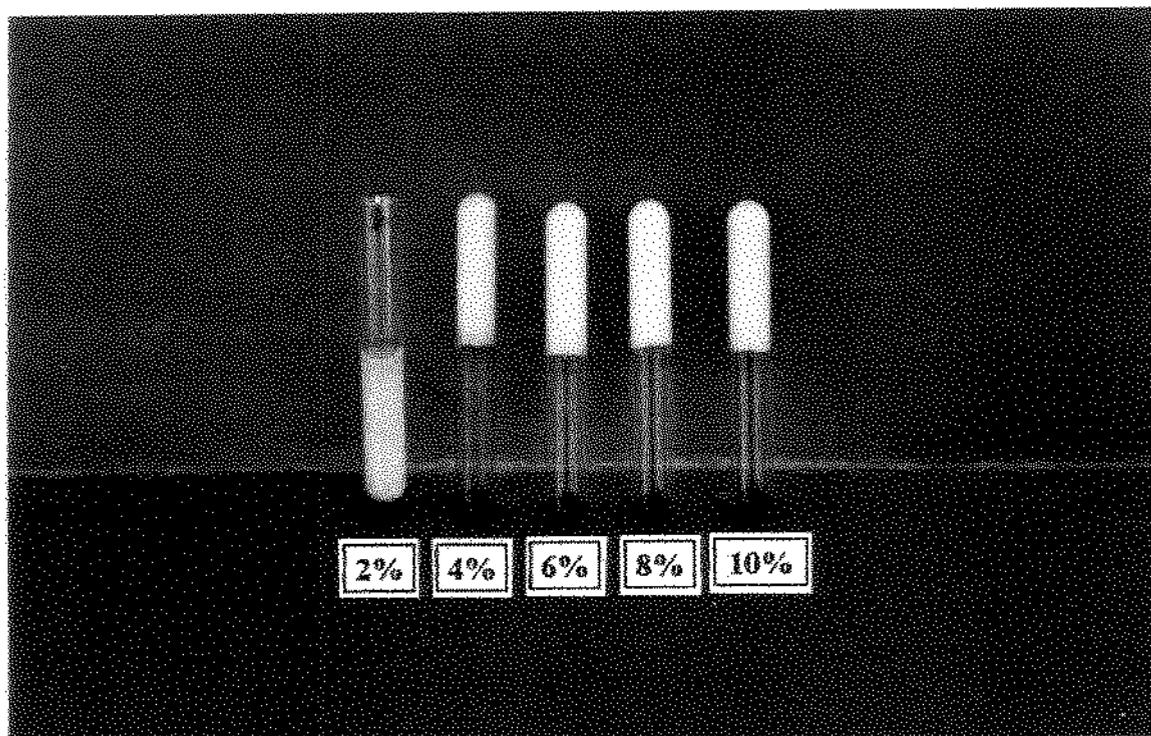


Figura 17. Géis do CPP formados nas concentrações de 2, 4, 6, 8 e 10% de proteína.

Na avaliação dos parâmetros de textura foram utilizados géis com 8% de concentração, uma vez que a concentrações inferiores, os géis não apresentaram consistência, uma vez retirados dos tubos. Embora tenha sido empregado o método de Análise do Perfil de Textura (TPA), alguns parâmetros praticamente não foram aplicáveis em géis, ou seja elasticidade (devido a coeficiente de variação muito alto), adesividade (não apresentada pelas amostras na ausência de sal), mastigabilidade (interrelacionada com a dureza, coesividade e elasticidade) e gomosidade (coeficiente de variação muito alto). Na Tabela 21 estão apresentados os parâmetros de textura do CPP nos pHs 3,5; 7, 0 e 9,5. Observa-se que o pH não interferiu na firmeza dos géis

($p \leq 0,05$). Os géis de CPP apresentaram-se significativamente ($p \leq 0,05$) mais coesos e mais elásticos em pH 9,5 e apresentaram adesividade apenas em pH 3,5.

O IPG apresentou valor de dureza de $18,2g \pm 1,9$, não sendo possível avaliar outros parâmetros de textura, devido à fragilidade do gel. Segundo HERMANSSON & TORNBORG (1976) citado por ALENCAR (1983), as proteínas do plasma e globina possuem propriedades geleificantes consideravelmente diferentes. Enquanto o plasma forma géis firmes em concentrações de 10% (p/v) em peso seco, a globina, na mesma concentração, quando aquecida, adquire uma consistência cremosa, sem apresentar uma verdadeira geleificação.

Tabela 21. Parâmetros de textura dos géis com 8% de concentrado protéico de plasma (CPP) em função do pH.

Parâmetro	pH			D.M.S.
	3,5	7,0	9,5	
Dureza (g)	$108,70 \pm 2,80^a$	$117,50 \pm 6,00^a$	$110,0 \pm 3,71^a$	10,50
Coersividade*	$0,25 \pm 0,04^c$	$0,64 \pm 0,01^b$	$0,70 \pm 0,02^a$	0,06
Elasticidade*	$0,80 \pm 0,09^b$	$-0,04 \pm 0,02^c$	$0,99 \pm 0,01^a$	0,14
Adesividade (gs)	$-9,2 \pm 1,40$	NA	NA	

Valores expressos como média de três determinações \pm desvio padrão. Médias seguidas de letras diferentes na horizontal indicam diferença estatística ($p < 0,05$). NA= Não apresentou. *Adimensional.

Na Tabela 22 podem ser observados os parâmetros de textura dos géis de CPP em comparação com géis de ovalbumina (PCO), em pH 7 e os efeitos da adição de NaCl nas concentrações de 0,1 e 0,25M. Os géis formados por CPP apresentaram maior firmeza que os géis da PCO na presença de NaCl. Os géis da PCO, ao contrário do CPP, não apresentaram alteração na firmeza com a adição de NaCl.

Tabela 22. Efeito da força iônica (0,1 e 0,25M NaCl) nos parâmetros de textura de géis do concentrado protéico de plasma (CPP) em comparação com a proteína da clara de ovo (PCO) em pH 7.

Amostra	Força iônica	Dureza (g)	Coesividade*	Elasticidade*	Adesividade (gs)
	0,0M	117,5 ± 6,0 ^b	0,64 ± 0,010 ^a	-0,040 ± 0,020 ^c	NA
CPP	0,1M	158,0 ± 13 ^a	0,65 ± 0,004 ^a	-0,050 ± 0,005 ^c	-1,22 ± 0,10 ^b
	0,25M	173,9 ± 1,0 ^a	0,65 ± 0,007 ^a	0,9460 ± 0,020 ^a	-1,68 ± 0,10 ^b
	0,0M	104,0 ± 6,3 ^{bc}	0,58 ± 0,006 ^c	-0,060 ± 0,010 ^c	-0,37 ± 0,08 ^a
PCO	0,1M	87,3 ± 6,3 ^c	0,58 ± 0,007 ^c	0,897 ± 0,010 ^b	-1,27 ± 0,20 ^b
	0,25M	108,0 ± 2,0 ^b	0,61 ± 0,002 ^b	0,916 ± 0,006 ^{ab}	-2,62 ± 0,30 ^c
D.M.S.		18,7	0,018	0,038	0,468

Valores expressos como média de três determinações ± desvio padrão. Médias seguidas de letras diferentes na vertical indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$). NA= Não apresentou. *Adimensional.

A firmeza dos géis do CPP aumentou significativamente ($p \leq 0,05$) com o aumento da concentração de NaCl. Resultados semelhantes foram relatados por HICKSON et al. (1980) com a adição de 0,2M de NaCl. Os autores atribuem esse aumento na firmeza, em presença de baixa concentração salina, à redução das forças repulsivas entre as moléculas de proteína pela atração do Na^+ nas porções negativas da proteína, ou devido ao aumento na hidratação das moléculas de proteína.

A coesividade dos géis de CPP não se alterou com a adição de NaCl, porém os géis da PCO se apresentaram mais coesos em presença de 0,25M de NaCl. A elasticidade dos géis de CPP foi significativamente aumentada à concentração de 0,25M de NaCl e para os géis de PCO, a partir de 0,1M de sal a elasticidade já começa a aumentar.

Resultados e Discussão

Quanto à adesividade, que não existia na ausência de sal para o CPP, começa a aparecer com a adição de NaCl. O sal também causa um aumento da adesividade para os géis de PCO.

5. CONCLUSÕES

- O processo de descoloração da globina com solução diluída de carboximetil celulose mostrou-se eficiente, possibilitando a remoção de 96,9% do ferro contido na fração celular sanguínea.
- O perfil aminoacídico do CPP foi adequado comparado com o padrão FAO/WHO/UNU, porém o IPG apresentou severa deficiência em isoleucina e aminoácidos sulfurados.
- A mistura CPP:IPG 2:1 apresentou o maior valor de NPR dentre as dietas à base de proteínas de sangue, não diferindo estatisticamente da caseína. Os maiores índices de balanço nitrogenado, valor biológico verdadeiro e coeficiente de utilização líquida verdadeiro da proteína foram obtidos com o CPP.
- O IPG não promoveu o crescimento corporal dos animais experimentais. O CPP promoveu o maior crescimento dos animais em comparação às demais dietas à base de proteínas sanguíneas, porém o ganho de peso foi bem inferior ao obtido pelo padrão de caseína.
- O CPP apresentou-se altamente solúvel em água em ampla faixa de pH, sendo que a adição de NaCl 0,5M e CaCl₂ 0,1M proporcionaram aumento da solubilidade das proteínas na região isoelétrica (pH 5-6). O IPG apresentou baixa solubilidade nos pHs 5-9 e o CaCl₂ na concentração de 0,05M elevou a solubilidade nos pHs 6-8.
- O IPG apresentou elevada capacidade de absorção de água, sendo superior ao CPP e isolado protéico de soja.
- A adição de NaCl apresentou um efeito benéfico sobre a capacidade de formação de espuma (% de expansão) do CPP nos pHs 4 e 7 e causou decréscimo da % de expansão do IPG. Quanto à estabilidade da espuma, os sais causaram decréscimo para o CPP em pH 7 e IPG nos pHs 4 e 7.

Conclusões

- As amostras IPG e CPP apresentaram boa capacidade emulsificante (C.E.) e estabilidade da emulsão em pH 4, sendo superiores ao isolado protéico de soja.
- O IPG não apresentou formação de gel térmico. O CPP formou géis térmicos semelhantes aos da proteína da clara de ovo, apresentando-se mais firmes em presença de NaCl.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACTON, J.C.; SAFLE, R.L. Stability of oil-water emulsion 1. Effects of surface tension, level of oil, viscosity and type of meat protein. **Journal of Food Science**, Chicago, v.35, n.9, p.852-855, 1970.
- AKERS, J.M. Utilisation of blood. **Food Manufacture**, London, v.48, n.4, p.31-32, 1973.
- ALENCAR, F.A. **Estudos da recuperação das proteínas do plasma bovino por compensação com fosfatos e sua utilização em produtos cárneos**. Campinas, 1983. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- ANGELUCCI, E.; MANTOVANI, D.M.B. **Minerais em alimentos: manual técnico**. Campinas: ITAL/SBCTA, 1986. 131p.
- ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. Rio de Janeiro: IBGE, 1993. v.53.
- AOAC. Association of Official Agricultural Chemists. **Official Methods of Analysis**, 15th, Ed. Washington, D.C., 1990.
- AUTIO, K.; KIESVAARA, M. MÄLKKI, Y.; KANKO, S. Chemical and functional properties of blood globin prepared by a new method. **Journal of Food Science**, Chicago, v.49, n.3, p.859-862, 1984.
- AVERY, C.G. Fractionation of blood by centrifugation. **Process Biochemistry**, London, v.7, n.3, p.20-23, 1972.
- BENDER, F.E.; DOUGLAS, L.W.; KRAMER, A. **Statistical methods for food and agriculture**. Westport: Avi Publishing Company, 1982. p.91-94.

- BLIGHT, E.C.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, v.37, p.911-917, 1959.
- BORDERÍAS, A.J.; MONTERO, P. Fundamentos de la funcionalidad de las proteínas en alimentos. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, Valencia v.28, n.2, p.159-169, 1988.
- CALDIRONI, H.A.; OCKERMAN, H.W. Incorporation of blood plasma proteins into sausage. **Journal of Food Science**, Chicago, v.47, n.2, p.405-408, 1982a.
- CALDIRONI, H.A.; OCKERMAN, H.W. Bone and plasma protein extracts in sausages. **Journal of Food Science**, Chicago, v.47, n.5, p.1622-1665, 1982b.
- CHEFTEL, J.C.; CUQ, J.L.; LORIENT, D. **Proteínas alimentarias**. Zaragoza: Acribia, 1989. 346p.
- CHOU, D.H.; MORR, C.V. Protein-water interactions and functional properties. **Journal of American Oil Chemists Society**, Champaign, v.56, n.1, p.53A-63A, 1979.
- CONTRERAS GUZMÁN, E.S. Desenvolvimento de novos produtos na base de plasma bovino. Relatório técnico n° 1. Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP. Campinas, 1984.
- CRENWELGE, D.D.; DILL, C.W.; TYBOR, P.T.; LANDMANN, W.A. A comparison of the emulsification capacities of some protein concentrates. **Journal of Food Science**, Chicago, v.39, n.1, p.175-177, 1974.
- DE KANTEREWICZ, R.J.; ELIZALDE, B.E.; PILOSOFF, A.M.R.; BARTHOLOMAI, G.B. Water-oil absorption index (WOAI): a simple method for predicting the

emulsifying capacity of food proteins. **Journal of Food Science**, Chicago, v.52, n.5, p.1381-1383, 1987.

DELANEY, R.A.M. The nutritive value of porcine blood plasma concentrates prepared by ultrafiltration and spray drying. **Journal of Science and Food Agriculture**, London, v.26, p.303-310, 1975.

DELANEY, R.A.M.; DONNELLY, J.K.; BENDER, L.D. Concentration and characterisation of porcine blood plasma. **Lebensmittel-wissenschaft und Technologie**, Frankfurt, v.8, n.1, p.20-24, 1975.

DELANEY, R.A.M. Protein concentrates from slaughter animal blood. I. Preparation and purification of red blood cell concentrates. **Journal of Food Technology**, Oxford, v.12, p.339-354, 1977.

DEL RIO DE REYS, M.T.E.; CONSTANTINIDES, S.M.; SGARBIERI, V.C.; EL DASH, A.A. Chicken blood plasma proteins: physicochemical, nutritional and functional properties. **Journal of Food Science**, Chicago, v.46, p.1782-1784, 1980.

DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, Washington, v.28, p.350-356, 1958.

DUEPJOHANN, J. Ein Verfahren zur Verwertung von Schlachttierblut unter besonderer Beruecksichtigung der Plasmagewinnung. **Die Fleischwirtschaft**, Frankfurt, v.56, n.1, p.54-57, 1976.

ELDRIDGE, A.C.; HALL, P.K.; WOLFF, W.J. Stables foams from unhydrolyzed soybean protein. **Food Technology**, Chicago, v.17, n.5, p.120-123, 1963.

Referências Bibliográficas

- ELIZALDE, B.E.; GIACCAGLIA, D.; PILOSO, A.M.R.; BARTHOLOMAI, G.B. Kinetics of liquid drainage from protein-stabilized foams. **Journal of Food Science**, Chicago, v.56, n.1, p.24-26, 1991.
- ERIKSSON, G.; BOCKELMANN, I.V. Ultrafiltration of animal blood serum: technology and microbiology. **Process Biochemistry**, London, v.10, n.7, p.11-14, 1975.
- ETHERIDGE, P.A.; HICKSON, D.W.; HOUNG, C.R.; LANDMANN, W.A.; DILL, C.W. Functional and chemical characteristics of bovine plasma proteins isolated as a metaphosphate complex. **Journal of Food Science**, Chicago, v.46, n.6, p.1782-1784, 1981.
- FAO/WHO. "Protein Requirements"; Report of a joint FAO/WHO Expert Group. FAO Nutrition Meetings Report n° 37. Roma, 1965.
- FAO/WHO/UNU. **Energy and protein requirements**. Report of the Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation Technical Report Series n° 724, FAO/WHO and the United Nations University, Geneva, 1985.
- FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION/ WORLD HEALTH ORGANIZATION. Protein Quality Evaluation. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. Roma, 1990.
- FARAJI, H.; DECKER, E.A.; AARON, D.K. Suppression of lipid oxidation in phosphatidylcholine liposomes and ground pork by spray-dried porcine plasma. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.39, n.7, p.1288-1290, 1991.
- FENNEMA, O.R. **Food Chemistry**. New York: Marcel Dekker, 1985. 991p.
- FERNANDO, T. Concentration of animal blood by ultrafiltration. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v.23, n.1, 19-27, 1981.

- FLINT, F.O.; JOHNSON, R.F.P. A study of film formation by soy protein isolate. **Journal of Food Science**, Chicago, v.46, n.5, p.1351-1353, 1981.
- GORDON, A. Animal blood as a source of proteins in food products. **Food Trade Review**, Kent, v.41, n.4., p.29-30, 1971.
- GRAHAM, A. The collection and processing of edible blood. **CSIRO Food Research Quarterly**, Melbourne, v.38, n.1, p.16-22, 1978.
- GUNSTONE, J.W. Using blood plasma. **The National Provisioner**, New York, v.182, n.23, p.20-28, 1980.
- HALÁSZ, A.; LÁSZTITY, R. Use of yeast biomass in food production. Budapest: CRC Press, 1991. 312p.
- HALLIDAY, D.A. Blood - A source of proteins. **Process Biochemistry**, London, v.8, n.12, p.15-17, 1973.
- HALLIDAY, D.A. Blood - A source of proteins. **Process Biochemistry**, London, v.10, n.4, p.11-12, 1975.
- HALLING, P.J. Protein-stabilized foams and emulsions. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.15, n.2, p.155-203, 1981.
- HAYAKAWA, S. OGAWA, T.; SATO, Y. Some functional properties under heating of globin prepared by carboxymethyl cellulose procedure. **Journal of Food Science**, Chicago, v.47, n.5, p.14-15, 1982.
- HAYASHI, T.; BIAGIO, R.; SAITO, M.; TODORIKI, S.; TAJIMA, M. Effect of ionizing radiation on sterility and functional qualities of dehydrated blood plasma. **Journal of Food Science**, Chicago, v.56, n.1, p.168-171, 1991.

- HENLEY, E.C.; KUSTER, J.M. Protein quality evaluation by protein digestibility-corrected amino acid scoring. **Food Technology**, Chicago, v.48, n.4, p.74-77, 1994.
- HERMANSSON, A.M.; AKESSON, C. Functional properties of added proteins correlated with properties of meat systems: effects of various parameters. **Journal of Food Science**, Chicago, v.40, n.3, p.505-611, 1975.
- HERMANSSON, A.M. Gel characteristics - structure as related to texture and water binding of blood plasma gels. **Journal of Food Science**, Chicago, v.47, n.6, p.1965-1972, 1982a.
- HERMANSSON, A.M. Gel characteristics -compression and penetration of blood plasma gels. **Journal of Food Science**, Chicago, v.47, n.6, p.1960-1964, 1982b.
- HICKSON, D.W.; DILL, C.W.; MORGAN, R.G.; SUTER, D.A.; CARPENTER, Z.L. A comparison of heat-induced gel strengths of bovine plasma and egg albumen proteins. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.51, n.1, p.69-73, 1980.
- HICKSON, D.W.; DILL, C.W.; MORGAN, R.G.; SWEAT, V.E.; SUTER, D.A.; CARPENTER, Z.L. Rheological properties of two heat-induced protein gels. **Journal of Food Science**, Chicago, v.47, n.3, p.783-791, 1982.
- HIROTSUKA, M.; TANIGUCHI, H. NARITA, H. KITO, M. Functionality and digestibility of a highly phosphorylated soybean protein. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v.48, n.1, p.93-100, 1984.
- HOWELL, N.K.; LAWRIE, R.A. Functional aspects of blood plasma proteins. I. Separation and characterization. **Journal of Food Technology**, Oxford, v.18, n.6 p.747-762, 1983.

Referências Bibliográficas

- HOWELL, N.K.; LAWRIE, R.A. Functional aspects of blood plasma proteins. II. Gelling properties. **Journal of Food Technology**, Oxford, v.19, n.3 p.289-295, 1984a.
- HOWELL, N.K.; LAWRIE, R.A. Functional aspects of blood plasma proteins. III. Interaction with other proteins and stabilizers. **Journal of Food Technology**, Oxford, v.19, n.3, p.297-313, 1984b.
- HUFFMAN, V.L.; LEE, C.K.; BURNS, E.E. Selected functional properties of sunflower meal. **Journal of Food Science**, Chicago, v.40, n.1, p.70-74, 1975.
- HUTTON, C.W.; CAMPBELL, A.M. Functional properties of soy concentrate and soy isolate in simple system and in a food system. Emulsion properties, thickening function and fat absorption. **Journal of Food Science**, Chicago, v.42, n.2, p.457-460, 1977a.
- HUTTON, C.W.; CAMPBELL, A.M. Functional properties of soy isolate in a simple systems. Nitrogen solubility index and water absorption. **Journal of Food Science**, Chicago, v.42, n.2, p.454-456, 1977b.
- IMO INDUSTRIES INC. **Analytical Instruments Division**. ICP 2000 BAIRD. Spectrometer user's guide. Bedford, 1990.
- KANNO, C.; SHIMOMURA, Y.; TAKANO, E. Physicochemical properties of milk fat emulsions stabilized with bovine milk fat globule membrane. **Journal of Food Science**, Chicago, v.56, n.5, p.1219-1223, 1991.
- KHAN, M.N.; ROONEY, L.W.; DILL, C.W. Baking properties of plasma protein isolate. **Journal of Food Science**, Chicago, v.44, n.1, p.274-76, 1979.

- KILARA, A.; SHARKASI, T.Y. Effects of temperature on food proteins and its implications on functional properties. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.23, n.4, p.323-395, 1986.
- KING, J.; DE PABLO, S.; MONTES DE OCA, F. Evaluation of gelation and solubility of bovine plasma protein isolates. **Journal of Food Science**, Chicago, v.54, n.5, p.1381-1382, 1989.
- KINSELLA, J.E. Functional properties in foods, a survey. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton: CRC Press, v.7, n.3, p.219-280, 1976.
- KINSELLA, J.E. Functional properties of proteins; possible relationship between structure and function in foams. **Food Chemistry**, Barking, v.7, n.4, p.273-288, 1981.
- KNIPE, C.L.; FRYE, C.B. Characteristics of bovine plasma gels as affected by pH, sodium chloride, and sodium tripolyphosphate. **Journal of Food Science**, Chicago, v.55, n.1, p.252-253, 1990.
- LEE, Y.Z.; WANG, R.M.; NAKAI, S. Preparation of colorless globin from bovine hemoglobin using sodium alginate. **Journal of Food Science**, Chicago, v.55, n.2, p.577-578, 1990.
- LEE, Y.Z.; JOHNSON, L.A.; LOVE, J.A.; JOHNSON, S. Effects of processing and usage level on performance of bovine plasma as an egg white substitute in cakes. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.68, p.100-104, 1991.
- LEE, C.C.; LOVE, J.A., JOHNSON, L.A. Sensory and physical properties of cakes with bovine plasma products substituted for egg. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.70, p.18-21, 1993.
- LEHNINGER, A.L. **Princípios de Bioquímica**. São Paulo, Sarvier, 1985. 725p.

- MCWATTERS, K.H.; HOLMES, M.R. Influence of pH and salt concentration on nitrogen solubility and emulsification properties of soy flour. **Journal of Food Science**, Chicago, v.44, n.3, p.770-773, 1979.
- MADDIPATI, K.R.; MARNETT, L.J. Characterization of the major hydroperoxidase - reducing activity of human plasma. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v.262, p.17398-17403, 1987.
- MATTIL, K.F. The functional requirements of protein in foods. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v.48, n.9, p.477-480, 1971.
- MINE, Y.; NOUTOMI, T.; HAGA, N. Emulsifying and structural properties of ovalbumin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.39, n.9, p.443-446, 1991.
- MOHANTY, B.; MULVIHILL, D.M.; FOX, P.F. Emulsifying properties of acidic caseins and sodium caseinate. **Food Chemistry**, Barking, v.28, n.1, p.17-30, 1988.
- MORR, C.V.; GERMAN, B.; KINSELLA, J.E.; REGENSTEIN, J.M.; VAN BUREN, J.P.; KILARA, A.; LEWIS, B.A.; MANGINO, M.E. A collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure. **Journal of Food Science**, Chicago, v.50, n.6, p.1715-1718, 1985.
- OCKERMAN, H.W.; HANSEN, C.L. **Industrialización de subproductos de origen animal**. Zaragoza: Acribia, 1994. 387p.
- O'RIORDAN, D.; MORRISSEY, P.A.; MULVIHILL, D.M. Hydration related properties of plasma proteins. **Sciences des Aliments**, Paris, v.8, n.3, p.315-324, 1988.

Referências Bibliográficas

- O'RIORDAN, D.; MORRISSEY, P.A.; MULVIHILL, D.M. The effect of neutral salts and chemical reagents on the solubility and viscosity of plasma protein solutions. **Sciences des Aliments**, Paris, v.9, n.3, p.463-472, 1989a.
- O'RIORDAN, D.; KINSELLA, J.E.; MULVIHILL, D.M. Gelation of plasma proteins. **Food Chemistry**, Barking, v.33, n.3, p.203-214, 1989b.
- O'RIORDAN, D.; MORRISSEY, P.A.; KINSELLA, J.E.; MULVIHILL, D.M. The effects of salts on the rheological properties of plasma protein gels. **Food Chemistry**, Barking, v.34, n.4, p.249-259, 1989c.
- PACHECO, M.T.B. **Propriedades funcionais, nutricionais e toxicológicas de concentrados protéicos de levedura (*Saccharomyces sp*), obtidos por diferentes processos de extração**. Campinas, 1996. Tese (Doutora em Ciência da Nutrição) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- PATEL, P.D.; FRY, J.C. The search for standardised methods for assessing protein functionality. In: HUDSON, B. J. **Developments in food protein-4**. London: Elsevier Applied Science, 1987. 341p.
- PATEL, P.D.; STRIPP, A.M.; FRY, J.C. Whipping test for the determination of foaming capacity of protein: a collaborative study. **International Journal of Food Science and Technology**, New York, v.23, n.1, p.57-63, 1988.
- PEARSON, A.M.; SPOONER, M.E.; HEGARTY, G.R.; BRATZLER, L.J. The emulsifying capacity and stability of soy sodium proteinate, potassium caseinate and non-fat dry milk. **Food Technology**, Chicago, v.19, n.12, p.103-107, 1965.
- PENG, Y.S. Studies on the severity of various amino acid imbalances in the young male rat. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v.109, n.9, p.1916-1924, 1979.

- PENTEADO, M.V.C.; LAJOLO, F.M.; SANTOS, N.P. Functional properties of isolated bovine blood proteins. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.30, p.809-815, 1979.
- PERUTZ, M.F.; ROSSMAN, M.G.; CULLIS, A.F.; MUIRHEAD, H.; WILL, G.; NORTH, A.C.T. Structure of hemoglobin. A three-dimensional fourier synthesis at 5.5Å. Resolution, obtained by X-ray analysis. **Nature**, London, v.185, n.4711, p.416-422, 1960.
- PHILLIPS, L.G.; HAQUE, Z.; KINSELLA, J.E. A method for the measurement of foam formation and stability. **Journal of Food Science**, Chicago, v.52, n.4, p.1077, 1987.
- PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 10ª ed. São Paulo: Nobel, 1982. 430p.
- PISKE, D. Aproveitamento de sangue de abate para alimentação humana - Uma Revisão. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.19, n.3, p.253-308, 1982.
- QUAGLIA, G.B.; ALESSANDRONI, A. Sangue di macellazione: una potenziale fonte di proteine per l'alimentazione umana. Nota 1. **Industrie Alimentari**, Pinerolo, v.16, n.10, p.112-116, 1977.
- RDA - RECOMMENDED DIETARY ALLOWANCES. Subcommittee on the Tenth Edition of the RDAs, Food and Nutrition Board, Commission on Life Sciences. Washington: National Academy Press, 1989. 284p.
- REEVES, P.G.P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY, G.C. AIN-93. Purified diets for laboratory rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76. A rodent diet. **Journal of Nutrition**, Bethesda, n.123, p.1939-1951, 1993.

Referências Bibliográficas

- SHIMADA, K.; MATSUSHITA, S. Thermal coagulation of bovine serum albumin. **Agricultural Biological Chemistry**, Tokyo, v.45, n.9, p.1945-52, 1981.
- SHULTS, G.W.; RUSSEL, D.R. ; WIERBICKI, E. Effect of condensed phosphates on pH, swelling and water holding capacity of beef. **Journal of Food Science**, Chicago, v.37, n.6, p. 860-864, 1972.
- SLAVIN, S; PETERSON, G.E.; LINDAHL, P.C. Determination of heavy metals in meats by absorption spectroscopy. **Atomic Absorption Newsletter**, Norwalk, v.14, n.3, p.57-59, 1975.
- SPIES, J.R. Determination of tryptophan in proteins. **Analytical Chemistry**, Arlington, v.39, p.1412-1415, 1967.
- SWIFT, C.E.; LOCKETT, C.; FRYAR, A.J. Comminuted meat emulsions - The capacity of meats for emulsifying fat. **Food Technology**, Chicago, v.15, n.11, p.468-477, 1961.
- TACKMAN, J.M.; TEWS, J.K.; HARPER, A.E. Dietary disproportions of amino acids in the rat: effects on food intake, plasma and brain amino acids and brain serotonin. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v.120, p.521-533, 1990.
- TORGERSEN, H.; TOLEDO, R.T. Physical properties of protein preparations related to their functional characteristics in comminuted meat systems. **Journal of Food Science**, Chicago, v.42, n.6, p.1615-1620, 1977.
- TYBOR, P.T.; DILL, C. W.; LANDMAN, W. A. Effect of decolorization and lactose incorporation on the emulsification capacity of spray-dried blood protein concentrates. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 38, n.1, p. 4-6, 1973.

- TYBOR, P.T.; DILL, C. W.; LANDMAN, W.A. Functional properties of protein isolated from bovine blood by a continuous pilot process. **Journal of Food Science**, Chicago, v.40, n.1, p.155-159, 1975.
- VAN VLIET, T. Terminology to be used in cheese rheology. In: Rheological and fracture properties of cheese. Bulletin of the International Dairy Federation. cap. 2, p.5-15, 1991.
- VEGA M., J. A.; FELÍCIO, P. E. Substituição parcial de carne por plasma bovino desidratado e isolado protéico de soja em hambúrguer de frango. **Ciência de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.7, n.2, p.123-144, 1987.
- VICKERY, J.R. The recovery and utilization of edible proteins from blood and trash fish. **Food Technology in Australia**, Sydney, v.20, n.7, p.315-319, 1968.
- VOLKERT, M.A.; KLEIN, B.P. Protein dispersibility and emulsion characteristics of flour soy products. **Journal of Food Science**, Chicago, v.44, n.1, p.93-96, 1979.
- VOUTSINAS, L.P.; CHENG, E.; NAKAY, S. Relationship of hydrophobicity to emulsifying properties of heat denatured proteins. **Journal of Food Science**, Chicago, v.48, n.1, p.26-36, 1983.
- YAO, J.J.; WEI, L.S.; STEINBERG, M.P. Water binding and rheological properties of isolated soy. **Journal of Food Science**, Chicago, v.53, n.2, p.464-467, 1988.
- YATSUMATSU, K.; SAWADA, K.; MORITAKA, S.; TODA, J.; WADA, T.; ISHII, K. Effects of addition of soybean products. **Agricultural Biological Chemistry**, Tokyo, v.36, p.537, 1972.
- WANG, J.C.; KINSELLA, J.E. Functional properties of novel proteins: alfafa leaf protein. **Journal of Food Science**, Chicago, v.41, n.2, p.286-292, 1976.

Referências Bibliográficas

WEBB, N.B.; IVEY, F.J.; CRAIG, H.B.; JONES, V.A.; MONROE, R.J. The measurement of emulsifying capacity by electrical resistance. **Journal of Food Science**, Chicago, v.35, n.4, p.501-504, 1970.

WISMER-PEDERSEN, J. Utilization of animal blood meat products. **Food Technology**, Chicago, v.33, n.8, p.76-80, 1979.

WISMER-PEDERSEN, J. Use a haemoglobin in foods - A Review. **Meat Science**, Barking, v.24, n.1, p.31-45, 1988.