

EFEITO DA HIDRÓLISE TRÍPTICA E DO pH SOBRE AS PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO PLASMA BOVINO¹

Cléia Batista Dias ORNELLAS², Roberto Gonçalves JUNQUEIRA³, Marialice Pinto Coelho SILVESTRE^{3,*}

RESUMO

Visando a utilização do plasma bovino como agente funcional de alimentos, foram estudadas, na faixa de pH de 3,0 a 8,0, a solubilidade, a hidrofobicidade e a sua habilidade de formar e estabilizar emulsões. Para tal, foram determinados a capacidade emulsionante (EC), o índice de atividade emulsionante (EAI) e a estabilidade da emulsão (ES). O efeito da ação da tripsina sobre estas propriedades foi, também, verificado, tendo sido preparados cinco hidrolisados enzimáticos. Os resultados obtidos indicam que a hidrofobicidade e o EAI apresentaram um máximo em pH 3,0 e 7,0, respectivamente, enquanto que as outras propriedades praticamente não foram influenciadas pela variação de pH. A hidrólise triptica provocou uma redução da solubilidade e da EC, não afetou o EAI e a ES, tendo contribuído para melhorar apenas a hidrofobicidade, em alguns tempos de reação.

Palavras-chave: plasma bovino; propriedades emulsionantes; solubilidade; pH; hidrólise triptica.

SUMMARY

THE EFFECT OF THE TRYPTIC HYDROLYSIS AND THE PH ON THE FUNCTIONAL PROPERTIES OF BOVINE PLASMA. Aiming to use of the bovine plasma as functional agent of foods, we studied its solubility, hydrophobicity and ability to form and to stabilize emulsions, in the range of pH from 3.0 to 8.0. Emulsifying capacity (EC), the emulsifying activity index (EAI) and the stability of the emulsion (ES) were determined. The effect of the trypsin on these properties was also studied and five enzymatic hydrolysates were prepared. The results showed that hydrophobicity and EAI presented a maximum value at pH 3.0 and 7.0, respectively, while the other properties practically were not influenced by the pH variation. The tryptic hydrolysis produced a reduction of the solubility and EC, it showed no effect on EAI and ES and improved only the hydrophobicity in some periods of reaction.

Keywords: Bovine plasma; emulsifying properties; solubility; pH; tryptic hydrolysis.

1 – INTRODUÇÃO

O sangue bovino, proveniente do abate em frigoríficos, constitui uma fonte potencial de proteínas de baixo custo, muito usada em diversos países na alimentação humana [24, 30]. Em geral, estas moléculas exibem propriedades funcionais de grande utilidade em produtos alimentares industrializados, entre elas a habilidade de agirem como emulsionantes. A capacidade de formar emulsão é de grande interesse do ponto de vista industrial, uma vez que são inúmeros os alimentos (maionese, patês, embutidos) cuja fabricação necessita do emprego de substâncias responsáveis por sua estabilidade. A ação de uma proteína como agente emulsificante é complexa e depende de fatores como a concentração protéica, tipo de óleo, velocidade e tempo de mistura, entre outros [9, 14, 29]. Além disso, as proteínas contribuem para enriquecer os alimentos do ponto de vista nutricional. Porém, no Brasil somente uma pequena quantidade do sangue animal é utilizada para este fim [3, 24, 26].

O fracionamento centrífugo do sangue produz plasma e um concentrado de células vermelhas [3, 21]. Frequentemente, o plasma é adicionado a produtos cárneos, por apresentar a capacidade de formação de gel, principalmente após aquecimento. A fração celular, devido à sua intensa pigmentação vermelha, que escurece com o

aquecimento e torna a aparência do produto final indesejável, geralmente é processada como farinha de sangue. Por outro lado, a utilização do plasma em alimentos, não apresenta este inconveniente. Por esta razão, torna-se importante estudar as propriedades funcionais desta fração sangüínea.

Em outros países, alguns autores vêm desenvolvendo trabalhos com o plasma. Assim, SATTERLE, FREE & LEVIN [27] estudaram a utilização deste material em produtos cárneos. Outros autores, investigaram o emprego do plasma como substituto da albumina do ovo em bolos, sopas e salsichas e, ainda, como fortificantes para pães [3, 5, 21, 23, 27]. CALDIRONI & OCKERMAN [5], compararam o efeito da adição de diferentes proporções de concentrados protéicos do sangue em produtos à base de carne, concluindo que o plasma apresenta boas propriedades emulsionantes mas, compromete a cor do produto quando utilizado em grandes quantidades.

A modificação da estrutura de proteínas, pela hidrólise enzimática, tem sido empregada no intuito de melhorar as propriedades funcionais, devido à sua especificidade e possibilidade de controle do grau de hidrólise. Este tratamento, promove alteração do tamanho molecular, das forças de ligação inter e intra-moleculares [18]. A melhoria dessas propriedades está diretamente relacionada ao seu teor em grandes peptídeos, contendo mais de 20 resíduos de aminoácidos [4].

Vários trabalhos vêm sendo desenvolvidos sobre as propriedades funcionais de algumas proteínas, tais como a caseína e a globina bovina extraída por métodos diversos, com a avaliação do efeito de vários parâmetros, dentre os quais encontram-se a hidrólise enzimática, o pH e

¹ Recebido para publicação em 03/07/2000. Aceito para publicação em 07/06/2002.

² Departamento de Alimentos – Faculdade de Farmácia – UFMG. Av. Olegário Maciel, 2360 – CEP 30180-112 – Belo Horizonte-MG. Tel: (31) 3339-7633/Fax: (31) 3339-7666. E-mail: malice@farmacia.ufmg.br.

* A quem a correspondência deve ser enviada.

a adição de sal [11, 12, 22, 23, 26]. Dando continuidade a este estudo, o presente trabalho teve como objetivo determinar a solubilidade, a hidrofobicidade e as propriedades emulsionantes do plasma bovino, verificando o efeito da hidrólise triptica e do pH, na faixa de 3,0 a 8,0.

2 – MATERIAL E MÉTODOS

2.1 – Obtenção do sangue e do plasma bovino

Os animais foram abatidos em Frigorífico sob Inspeção Federal, sendo o sangue coletado diretamente da ferida de sangria em frascos já contendo quantidade necessária de anticoagulante (2mL de solução de EDTA a 10g/100mL, para cada 100mL de sangue). No momento da coleta, evitou-se o contato entre a vasilha coletora e a pele do animal.

Após liberado pela Inspeção Federal, o sangue foi imediatamente levado ao Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Farmácia – UFMG, onde foi centrifugado (centrifuga Jouan, modelo Br4i) a 3000rpm por 15min, para a obtenção do plasma, o qual foi transferido para frascos de vidro e mantido a -18°C, até o momento de sua utilização.

2.2 – Determinação do teor protéico

O teor de proteína total (N x 6,25), para o plasma bovino e seus hidrolisados tripticos, obtidos como descrito no item 2.3, foi determinado pelo método de Kjeldhal [2]. Estes resultados foram utilizados na determinação da solubilidade do plasma e de seus hidrolisados tripticos.

2.3 – Hidrólise triptica das proteínas do plasma bovino

Foi utilizada a metodologia descrita por CHOBERT, BERTRAND-HARD & NICOLAS [8], com algumas modificações. O plasma foi solubilizado em solução tampão (fosfato dissódico a 0,02 mol/L e ácido cítrico a 0,01mol/L), pH 8,0 em uma concentração de 0,1g de proteína/100mL. Posteriormente, foi adicionada a tripsina (de pâncreas bovino, tipo XIII, tratada com TPCK, Sigma Chemical Co), previamente solubilizada no mesmo tampão, de maneira a se obter uma relação enzima:substrato de 1:100. A mistura foi, então, mantida em banho-maria a 37°C sob agitação, por intervalos de tempo variando entre 5, 10, 15, 30 e 60min, para obter os hidrolisados tripticos T1, T2, T3, T4 e T5, respectivamente. Em todos os ensaios, a reação enzimática foi interrompida, reduzindo-se o pH da solução para 2,0 com ácido clorídrico. Os hidrolisados, assim preparados, foram liofilizados (liofilizador, modelo Freezone® 4.5, Labconco) e mantidos a -18°C, até o momento de utilização.

2.4 – Preparo das amostras

O plasma e seus hidrolisados tripticos foram solubilizados em solução tampão (fosfato dissódico a 0,02mol/L e ácido cítrico a 0,01mol/L), na faixa de pH entre 3,0 e 8,0, na concentração de 0,1g de proteína/100mL. Após 30min, em banho-maria a 35°C, estas soluções foram centrifugadas (centrifuga JOUAN, modelo

Br4i) a 6.500g por 10min e filtradas em papel de filtro (QUANTY, modelo JP42). Os filtrados, assim obtidos, foram utilizados imediatamente para as análises ou, então, mantidos a -18°C, até o momento de uso.

2.5 – Determinação da solubilidade

O teor de proteína solúvel foi determinado de acordo com o método de LOWRY *et al.* [19], modificado por HARTREE [15], utilizando albumina sérica bovina (BSA, Sigma Chemical Co.) como padrão. Foram utilizadas alíquotas (200 µL) do filtrado obtido no item 2.4. A absorbância foi lida a 650nm em espectrofotômetro (UV-VIS – Cecil, modelo CE2041), a solubilidade foi calculada em termos de percentagem do nitrogênio total e expressa em g de proteína solúvel por 100mL de solução.

2.6 – Determinação da hidrofobicidade

A determinação da hidrofobicidade superficial foi realizada segundo a técnica descrita por AKITA & NAKAI [1]. A proteína foi solubilizada em tampão (fosfato dissódico a 0,02mol/L e ácido cítrico a 0,01mol/L), na faixa de 3,0 a 8,0, em concentrações de 1, 5, 8, 10 e 20mg de proteína/100mL. Um volume de 3mL destas soluções foi adicionado a 15µL de solução de 8-anilino-naftaleno-1-sulfonato 8mMol/L (ANS), preparada com o mesmo tampão. Posteriormente, foi feita a leitura da fluorescência (fluorímetro TURNER, modelo 450) destas misturas, sendo o λ de excitação igual a 374nm e o de emissão igual a 485nm. Foi, então, traçada uma curva da concentração protéica em função da fluorescência, cuja inclinação foi considerada como um índice de hidrofobicidade protéica.

2.7 – Concentração protéica ótima

Para estabelecer a concentração protéica a ser utilizada nos vários experimentos, foram preparadas soluções de plasma bovino, cujas concentrações variaram de 0,05 a 3,0g /100mL, em tampão (fosfato dissódico a 0,02mol/L e ácido cítrico a 0,01mol/L), pH 3,0. Em cada caso, determinou-se a EC, de acordo com o método descrito a seguir. Posteriormente, traçou-se um gráfico de EC em função da concentração protéica.

2.8 – Capacidade emulsionante (EC)

Para a determinação da capacidade emulsionante, foi utilizado o método descrito por VUILLEMARD *et al.* [31], com as adaptações descritas por DUARTE *et al.* [11]. A EC foi calculada pela fórmula 1.

$$EC = \frac{OE(g) - OB(g)}{\text{proteína}(mg)} \quad (1)$$

na qual OE e OB correspondem à quantidade de óleo emulsionado, respectivamente, pelas amostras e pelo branco (solução tampão sem agente emulsionante).

2.9 – Índice de atividade emulsionante (EAI)

Na determinação do EAI, a metodologia empregada foi baseada no trabalho de PEARCE & KINSELLA [23],

com as modificações feitas por DUARTE *et al.* [11]. O EAI foi calculado pela fórmula 2, proposta por CAMERON *et al.* [6].

$$EAI = \frac{2T}{(1-q) \cdot C} \quad (2)$$

sendo T a turbidez; θ a fração de óleo gasto para formar a emulsão (0,25); e C a concentração inicial de proteína (0,1g / 100mL). Por sua vez, a turbidez foi calculada pela multiplicação de 2,303 pela absorbância (A) e pelo fator de diluição (100), sendo este produto dividido pelo caminho óptico das cubetas (0,01m).

2.10 – Estabilidade da emulsão (ES)

O método utilizado para a determinação da ES foi relatado por CHOBERT, BERTRAND-HARD & NICOLAS [8] e adaptado por DUARTE *et al.* [11]. O $\Delta EAI\%$ foi calculado pela fórmula 3.

$$\Delta EAI \% = \frac{(EAI \max - EAI \min) 100}{EAI \max} \quad (3)$$

na qual o EAI_{\max} é o maior valor obtido para as emulsões diluídas logo após sua formação, e o EAI_{\min} é o menor valor de EAI obtido pela alíquotas após o armazenamento por 24 horas ou pelas alíquotas após o aquecimento a 80°C. Os valores de ES foram calculados pela fórmula 4.

$$ES = \frac{1}{\Delta EAI \%} \quad (4)$$

2.11 – Análise estatística

As determinações de concentração protéica ótima, proteína solúvel, proteína bruta, EC, EAI, ES e hidrofobicidade foram realizadas em triplicata.

Para a determinação da concentração protéica ótima, foi feita a análise de variância, em delineamento inteiramente casualizado, para verificar a presença de efeitos significativos ($p < 0,05$) e, nestes casos foi aplicado o teste de Duncan para determinar as diferenças entre as médias [25].

Para as determinações do efeito do pH e do tempo de hidrólise sobre a solubilidade, hidrofobicidade, EC, EAI e ES, foi adotado o delineamento em parcelas subdivididas (no qual os tempos de hidrólise eram as parcelas e os diferentes valores de pH, as sub-parcelas) e análises de variância para determinar a existência de efeitos significativos ou interações entre os efeitos ($p < 0,05$). O teste de Duncan foi utilizado para determinar diferenças entre as médias, para os efeitos que se mostraram significativos pelo teste de F [25].

3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 – Concentração protéica ótima

Os resultados desta determinação estão apresentados na *Figura 1*. Observa-se que o valor máximo encontrado para a EC do plasma bovino é de 0,1g de proteína/100mL, sendo esta concentração utilizada em todas as determinações neste trabalho. Na verdade, de acordo com PEARCE & KINSELLA [23], este valor refere-se à concentração mínima necessária para se obter resultados reprodutíveis na determinação de propriedades emulsionantes. Além disso, no caso de proteínas, a concentração ótima (na qual se obtém a EC máxima) depende do tipo de proteína envolvida.

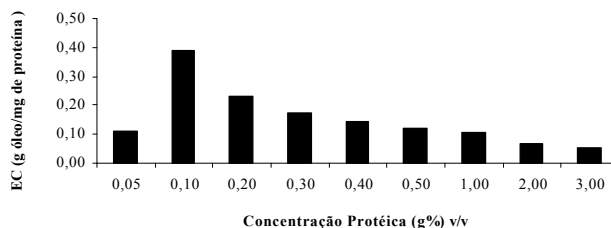


FIGURA 1. Variação da Capacidade Emulsionante em Função da concentração de Proteína do Plasma Bovino.

Trabalhando, anteriormente, com proteínas isoladas, foi verificado o mesmo valor do plasma (0,1g de proteína/100mL) tanto para a globina bovina em pH 3,0 [22, 28] quanto para a caseína bovina, em pH 7,0 [11, 28].

Outros autores também têm verificado o efeito da concentração protéica na capacidade emulsionante. Assim, CALDIRONI & OCKERMAN [5], ao estudar a EC de proteínas plasmáticas e cárneas, obteve um valor máximo para uma concentração protéica de 0,2g/100mL. Contudo, neste trabalho, não foram testadas concentrações inferiores a este valor.

Vários resultados sobre a concentração ótima da caseína foram relatados, anteriormente, por DUARTE *et al.* [11], mostrando que para uma mesma proteína pode-se encontrar valores distintos. Isto foi explicado nesses relatos como sendo devido ao emprego da proteína em diferentes formas (livre ou salina), como também pelo fato da metodologia e a aparelhagem utilizadas não serem exatamente as mesmas nos diversos trabalhos [7, 17, 20, 23].

3.2 – Efeito da hidrólise triptica e do pH e sobre a solubilidade

Observa-se, na *Figura 2*, que a solubilidade das proteínas do plasma bovino mantiveram-se altas (entre 70 e 80%) e praticamente inalteradas em toda faixa de pH estudada. Sabe-se que o pH tem um efeito sobre a carga da proteína, influenciando desta maneira a sua solubilidade, sendo que no pI esta propriedade atinge o seu valor mínimo [7]. Entretanto, no caso do plasma, contendo proteínas diversas, este efeito não foi observado, uma vez que o pH teve pouca influência sobre a solubilidade. PENTEADO, LAJOLO & SANTOS [24] observaram uma

queda da solubilidade do plasma bovino ao passar do pH 3,0 ao 5,0, no qual atingiu o seu mínimo. Na faixa de pH de 6,0 a 8,0, a solubilidade se manteve constante e elevada, tal como os resultados obtidos no presente trabalho. Estes autores, entretanto, não indicaram o método empregado para a determinação da solubilidade. Por outro lado, KING, PABLO & OCA [16] encontraram para o plasma comercial uma solubilidade acima de 80%, em pH 7,0 e 8,0. Da mesma maneira, TYBOR, DILL & LANDMANN [30] obtiveram uma solubilidade superior a 90% para o plasma sanguíneo preparado em laboratório, em valores de pH menor que 4,0 e maior que 6,0.

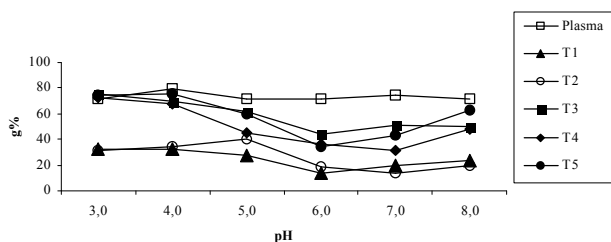


FIGURA 2. Efeito da hidrólise triptica e do pH sobre a Solubilidade das Proteínas do Plasma Bovino T1, T2, T3, T4, T5 - Hidrolisados de plasma obtidos aos 5, 10, 15, 30 e 60 min de reação, respectivamente.

A curva de solubilidade para a caseína, apresentada por DUARTE *et al.* [11], foi bem diferente da obtida para o plasma, uma vez que esta propriedade foi influenciada pelo pH. Assim, na faixa de 3,0 a 5,0 a caseína apresentou solubilidade mínima. Quando passou do pH 5,0 para o 6,0 houve um aumento acentuado, atingindo um valor máximo entre pH 7,0 e 8,0.

A hidrólise triptica foi prejudicial para a solubilidade do plasma, tendo provocado uma redução em praticamente todos os valores de pH e tempos de reação. Considerando que, de maneira geral, a hidrólise de proteínas contribui para elevar a solubilidade de proteínas, este resultado poderia ter sido influenciado pela presença de outras substâncias presentes no plasma (gorduras, íons, açúcares, etc.), uma vez que neste trabalho as proteínas do plasma não foram previamente isoladas. Deve-se ressaltar, ainda, que este efeito foi mais acentuado para 5 e 10 min de hidrólise. Por outro lado, DUARTE *et al.* [11] verificaram que este mesmo tratamento enzimático sobre a caseína bovina aumentou a solubilidade em todos os valores de pH estudados, exceto no pH 6,0. Pode-se notar, ainda, na Figura 2 que o pH exerceu efeito na solubilidade dos hidrolisados tripticos de forma diferente e bem mais variado que o observado para o plasma, sendo este um fato semelhante ao descrito por DUARTE *et al.* [11] para os hidrolisados tripticos da caseína.

3.3 – Efeito da hidrólise triptica e do pH e sobre a hidrofobicidade

Pode-se observar na Figura 3 que a hidrofobicidade do plasma foi influenciada pela variação do pH, ao contrário do que ocorreu com a solubilidade, sendo o maior valor encontrado no pH 3,0.

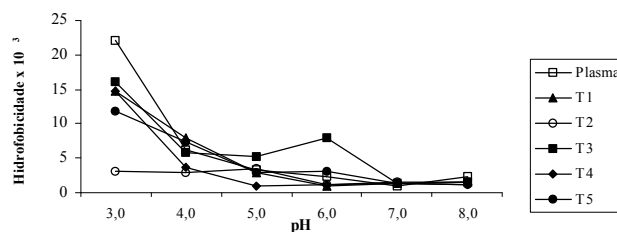


FIGURA 3. Efeito da hidrólise triptica e do pH sobre a hidrofobicidade das proteínas do plasma bovino T1, T2, T3, T4 e T5 - Hidrolisados de plasma obtidos aos 5, 10, 15, 30 e 60 min de reação, respectivamente.

As interações de proteínas com lipídes são hidrofóbicas por natureza, e o conhecimento da hidrofobicidade protéica pode ser útil para se avaliar a formação de emulsão. Entretanto, deve-se considerar o método empregado para a determinação da hidrofobicidade, pois apenas os grupos hidrofóbicos disponíveis para interagir devem ser considerados [20]. No presente trabalho, o método utilizado corresponde a esta medida da hidrofobicidade superficial. Por outro lado, alguns autores empregaram técnicas menos eficazes, nas quais são medidas, também os grupos que se encontram no interior da molécula protéica e que, portanto, não participam efetivamente das interações com os lipídes [10, 20].

Segundo CHEFTEL, CUQ & LORIENT [7], quanto mais hidrofóbica for a proteína, mais elevada será a concentração protéica na interface água/óleo e, portanto, mais estável será a emulsão. Na verdade, para que a proteína seja um bom emulsionante deve existir uma certa correlação entre a hidrofobicidade e a solubilidade [20]. Entretanto, a tentativa feita nesse trabalho de se estabelecer uma ligação entre esses dois parâmetros, revelou ausência de uma correlação linear.

Com relação ao efeito da hidrólise triptica na hidrofobicidade do plasma pode-se observar na Figura 3 que este tratamento foi vantajoso em pH 4,0 (5 e 60 min), pH 5,0 (15 min) e pH 6,0 (15 min). Estes resultados estão de acordo com o fato de que a hidrólise rompe a conformação nativa da proteína, expondo os grupos hidrofóbicos, que se tornam mais disponíveis para interagir com os lipídes durante a formação da emulsão [8, 10, 13].

3.4 – Efeito da hidrólise triptica e do pH sobre a capacidade emulsionante

Observa-se na Figura 4 que a curva obtida se assemelha à da solubilidade (Figura 2), ou seja, o pH não afetou a EC do plasma, que se manteve elevada e praticamente constante em toda a faixa estudada. Este resultado já era esperado, uma vez que a curva de EC, em função do pH, geralmente acompanha a da solubilidade, uma vez que para apresentar boa capacidade emulsionante, a proteína deve ser suficientemente solúvel, permitindo a sua migração para a interface óleo-água [7]. Na verdade, este comportamento foi anteriormente demonstrado por DUARTE *et al.* [11], que encontraram semelhança entre as curvas de EC e solubilidade da caseína bovina, mas o efeito do pH sobre a EC foi

bem diferente do obtido para o plasma, uma vez que foi observado um mínimo na faixa de 3,0 a 5,0.

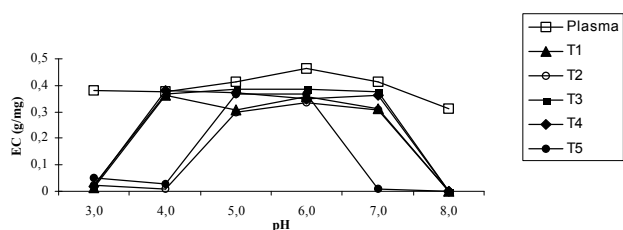


FIGURA 4. Efeito da hidrólise triptica e do pH sobre a capacidade emulsificante do plasma bovino T1, T2, T3, T4, T5 - Hidrolisados de plasma obtidos aos 5, 10, 15, 30 e 60min de reação, respectivamente.

De uma maneira geral, pode-se dizer que a hidrólise triptica reduziu a EC do plasma em quase todos os valores de pH e tempos de reação estudados, sendo esse efeito mais pronunciado em pH 3,0 (todos os tempos de hidrólise), 4,0 (10 e 60min), 7,0 (60min) e 8,0 (todos os tempos), nos quais a EC foi praticamente anulada. A influência desse tratamento enzimático sobre a caseína, estudada anteriormente por DUARTE *et al.* [11], mostrou resultados opostos aos obtidos para o plasma, uma vez que a hidrólise triptica foi benéfica para EC da proteína, em quase todos os valores de pH e tempo de reação estudados. Este mesmo efeito foi encontrado para a EC da globina bovina, uma vez que a hidrólise triptica foi prejudicial apenas no pH 5,0 [22].

Considerando o efeito da hidrólise sobre as propriedades emulsionantes de proteínas, alguns autores afirmaram que, além da ação enzimática melhorar a solubilidade protéica, pode contribuir para aumentar o número de pontos de contato entre a proteína e a interface óleo/água e desta maneira favorecer a formação da emulsão [8, 10, 13, 19]. Entretanto, no presente trabalho a hidrólise enzimática não promoveu melhoria na solubilidade e nem na EC do plasma.

3.5 – Efeito da hidrólise triptica e do pH sobre o índice de atividade emulsificante

Como apresentado na *Figura 5*, o EAI do plasma manteve-se baixo e inalterado do pH 3,0 ao 6,0. A partir daí, houve um aumento acentuado, tendo atingido o máximo no pH 7,0. Em seguida, obteve-se uma queda até o pH 8,0, alcançando valor próximo ao inicial. De acordo com MANGINO [20], este índice mede a capacidade da proteína em permanecer na interface óleo-água, logo após a formação da emulsão, sendo que vários fatores podem influenciar esta propriedade, dentre eles o pH.

Estes resultados se assemelham aos apresentados por DUARTE *et al.* [11], uma vez que a variação do pH também influenciou o EAI da caseína, mesmo na faixa na qual a sua solubilidade foi mínima (entre 3,0 e 5,0). Resultados similares foram obtidos para a globina bovina, verificou-se uma alteração do EAI em função do pH, sendo máximo em pH 3,0, 7,0 e 8,0 [22]. A hidrólise

triptica não contribuiu para melhorar o EAI do plasma, nas condições estudadas de pH e tempos de reação. A mesma observação foi feita por DUARTE *et al.* [11] ao estudar o efeito desse tratamento enzimático sobre a caseína. Entretanto, a hidrólise triptica da globina bovina produziu efeitos favoráveis em pH 4,0 e 5,0 [22].

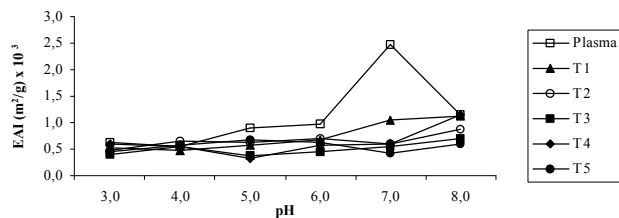


FIGURA 5. Efeito da hidrólise triptica e do pH sobre o índice de atividade emulsificante das proteínas do plasma bovino T1, T2, T3, T4 e T5 - Hidrolisados obtidos aos 5, 10, 15, 30 e 60min de reação, respectivamente.

3.6 – Efeito da hidrólise triptica e do pH sobre a estabilidade das emulsões

Os resultados da *Figura 6* indicam que o plasma apresentou valores muito baixos para ES (próximos de zero), que mantiveram-se inalterados em toda a faixa de pH estudados.

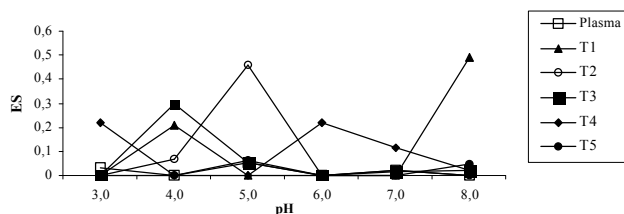


FIGURA 6. Efeito da hidrólise triptica e do pH sobre a estabilidade da emulsão do plasma bovino T1, T2, T3, T4, T5 - Hidrolisados de plasma obtidos aos 5, 10, 15, 30 e 60 min de reação, respectivamente.

Trabalhando anteriormente com a globina bovina, também foram observados valores baixos de ES na faixa de pH de 3,0 a 5,0 e de 7,0 a 8,0. Entretanto, ao contrário do plasma, no pH 6,0 a ES sofreu um aumento acentuado [22]. No caso da caseína, DUARTE *et al.* [11] encontraram valores bem mais elevados para ES e, ainda, uma importante elevação ao passar do pH 6,0 ao 7,0, no qual atingiu o seu máximo e que corresponde a um valor de pH acima do seu pI.

DAS & KINSELLA [10] relataram que, os resultados obtidos por diferentes laboratórios sobre o efeito do pH na estabilidade de emulsões são contraditórios. Assim, existe um grupo que obteve o valor máximo de ES no pI, enquanto outros autores descreveram exatamente o oposto. Além da falta de padronização da metodologia empregada, sabe-se que a utilização de concentrações diferentes de proteínas nestes estudos, pode dar origem a

filmes protéicos interfaciais possuindo propriedades e forças diversas.

A hidrólise triptica não contribuiu para melhorar a ES do plasma na maioria dos valores de pH e tempos de reação estudados. Este tratamento enzimático foi benéfico apenas em pH 5,0 (10 min) e 8,0 (5 min). Resultados semelhantes foram relatados para a globina, uma vez que a hidrólise triptica pouco influenciou a ES, tendo sido vantajosa apenas no pH 7,0 após 60 min de reação [22]. Para a caseína, DUARTE *et al.* [11] não obtiveram qualquer efeito benéfico sobre a ES, pela hidrólise triptica.

Finalmente, é importante ressaltar que não foram encontrados na literatura dados associados ao efeito da hidrólise triptica sobre as propriedades funcionais do plasma estudadas no presente trabalho.

4 – CONCLUSÕES

Os resultados obtidos indicam que apenas a hidrofobicidade e o EAI do plasma bovino foram afetados pela variação de pH, na faixa de 3,0 a 8,0, tendo sofrido uma redução ou apresentado um máximo em pH 7,0, respectivamente. A hidrólise triptica, de uma maneira geral, não foi benéfica para as propriedades funcionais do plasma, com exceção da hidrofobicidade, em alguns tempos de reação.

5 – REFERÊNCIAS

- [1] AKITA, E.M.; NAKAI, S. Liophilization of B-lactoglobulin: effect on hydrophobicity, conformation and surface functional properties. **J. Food Sci.**, Chicago, v. 55, n. 3, p. 711-717, 1990.
- [2] AOAC (Association Of Official Agricultural Chemists) **Official methods of analysis of AOAC international**. 16. ed. Arlington: AOAC International, 1995. 2 v.
- [3] AUTIO, K., LYYTIKÄINEN, H., MÄLKKI, Y., KANKO, S. Penetration studies of blood globin gels. **J. Food Sci.**, Chicago, v. 50, n. 2, p. 615-617, 1985.
- [4] BREKKE, C.J.; SMITH, D.M. Enzymatic modification of the structure and functional properties of mechanically deboned fowl proteins. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, D.C., v. 33, n. 4, p. 631-637, 1985.
- [5] CALDIRONI, H.A., OCKERMAN, H.W. Incorporation of blood proteins into sausage. **J. Food Sci.**, Chicago, v. 47, n. 2, p. 405-407, 1982.
- [6] CAMERON, D.R., WEBER, M.E., IDZIAK, E.S., NEUFELD, R.J., COOPER, D.G. Determination of interfacial areas in emulsions using turbidimetric and droplet size data: correction of the formula for emulsifying activity index. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, D.C., v. 39, n. 4, p. 655-659, 1991.
- [7] CHEFTEL, J.C.; CUQ, J.-L.; LORIENT, D. **Proteínas alimentarias**. Zaragoza: Acribia, 1989. p. 179-220; 291-335.
- [8] CHOBERT, J.M., BERTRAND-HARD, C., NICOLAS, M.G. Solubility and emulsifying properties of caseins and whey proteins modified enzymatically by trypsin. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, D.C., v. 36, n. 5, p. 883-892, 1988.
- [9] CRENWELGE, D.D., DILL, C.W., TYBOR, P.T., LANDMANN, W.A. A comparison of the emulsification capacities of some protein concentrates. **J. Food Sci.**, Chicago, v. 39, n. 1, p. 175-177, 1974.
- [10] DAS, K.P.; KINSELLA, J.E. Stability of food emulsions: physicochemical role of protein and non protein emulsifiers. **Adv. Food Nutr. Res.**, v. 34, New York: Academic Press, 1990. p. 81-129.
- [11] DUARTE A.J., CARREIRA, R.L., JUNQUEIRA, R.G., COELHO, J.V., SILVESTRE, M.P.C. Propriedades emulsionantes e solubilidade da caseína bovina e de seus hidrolisados tripticos: 1. Efeito do pH e do tempo de hidrólise. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 18, n. 3, p. 295-302, 1998a.
- [12] DUARTE A.J., CARREIRA, R.L., JUNQUEIRA, R.G., COELHO, J.V., SILVESTRE, M.P.C. Propriedades emulsionantes e solubilidade da caseína bovina: 2. Efeito da adição de NaCl. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 18, n. 3, p. 303-308, 1998b.
- [13] GAUTHIER, S.F.; PAQUIN, P.; POULIOT, Y.; TURGEON, S. Surface activity and related functional properties of peptides obtained from whey proteins. **J. Dairy Sci.**, ST. Champaign, v. 76, n. 1, p. 321-328, 1993.
- [14] GILLET, T.A., MEIBURG, D.E., BROWN, C.L., SIMON, S. Parameters affecting meat protein extraction and interpretation of model system data for meat emulsion formation. **J. Food Sci.**, Chicago, v. 49, n. 6, p. 1606-1610, 1977.
- [15] HARTREE, E.F. Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. **Anal. Biochem.**, San Diego, v. 45, n. 3, p. 422-427, 1972.
- [16] KING, J., PABLO, S.; OCA, de M. F. Evaluation of Gelation and Solubility of Bovine Plasma Protein Isolates. **J. Food Sci.**, Chicago, v. 54, n. 5, p. 1381-1390, 1989.
- [17] KINSELLA, J.E. Functional properties of proteins in foods: a survey. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, Boca Raton, v. 7, n. 3, p. 219-280, 1976.
- [18] KINSELLA, J.E. Milk proteins: physicochemical and functional properties. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, Boca Raton, v. 21, n. 4, p. 197-262, 1984.
- [19] LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., LEWIS FARR, A., RANDAL, R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.**, Bethesda, v. 193, n. 4, p. 265-275, 1951.
- [20] MANGINO, M.E. Protein interactions in emulsions: protein-lipid interactions. In: HETTIARACHCHY, N.S., ZIEGLER, G.R. (Ed.) **Protein functionality in food systems**. New York: Marcel Dekker. 1994. Cap. 5, p. 147-180.
- [21] OCKERMAN, H.W., HANSEN, C.L. **Industrialización de subproductos de origen animal**. Zaragoza: Acribia, 1994. p. 244-263.
- [22] ORNELLAS, C. B. D.; SILVA, J. G.; SILVESTRE, M. P. C. Efeito do pH e da hidrólise triptica sobre as propriedades emulsionantes da globina bovina. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 21, n. 1, p. 51-56, 2001.
- [23] PEARCE, K.N., KINSELLA, J.E. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, D.C., v. 26, n. 3, p. 716-723, 1978.
- [24] PENTEADO, M.D.V.C., LAJOLO, F.M., SANTOS, N.P. Functional and nutritional properties of isolated bovine blood proteins. **J. Sci. Food Agric.**, Barking, v. 30, n. 8, p. 809-815, 1979.
- [25] PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 13. ed. Piracicaba: Nobel, 1990.
- [26] PISKE, D. Aproveitamento de sangue de abate para alimentação humana. **Bol. Inst. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 19, n. 3, p. 253-308, jul./set. 1982.

- [27] SATTERLEE, L.D.; FREE, B.; LEVIN, E. Utilization of high protein tissue powders as a binder/extender in meat emulsions. **J. Food Sci.**, Chicago, v. 38, n. 2, p. 306-309, 1973.
- [28] SILVA, J. G.; MORAIS, H. A.; OLIVEIRA, A.L; SILVESTRE, M. P. C. Evaluating the incorporation of globin bovine and sodium caseinate on the raw batter quality and on the stability of ham pâté. *Meat Science*, Fort Collins, Co, USA, 63(2):177-184, 2003.
- [29] TYBOR, P.T., DILL, C.W., LANDMANN, W.A. Effect of decolorization and lactose incorporation on the emulsification capacity of spray-dried blood protein concentrates. **J. Food Sci.**, Chicago, v. 38, n. 6, p. 4-6, 1973.
- [30] TYBOR, P.T., DILL, C.W., LANDMANN, W.A. Functional properties of proteins isolated from bovine blood by a continuous pilot process. **J. Food Sci.**, Chicago, v. 40, p. 155-159, 1975.
- [31] VUILLEMARD, J.C., GAUTHIER, S.F., RICHARD, J.P., PAQUIN, P. Development of a method for measurement of the maximum value of emulsifying capacity of milk proteins. **Milchwissenschaft**, Munchen, v. 45, n. 9, p. 572-575, 1990.

6 – AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPEMIG e ao CNPq pelo apoio financeiro.