

EFECTO DEL pH Y CONCENTRACIÓN DE LAS PROTEÍNAS SOBRE LA PROPIEDAD DE GELACIÓN DE LA SANGRE ANIMAL

Effect of pH and Proteins Concentration on Gelation Property of Animal Blood

Betty Benítez P., Yasmina Barboza, Mariela Bracho N., Pedro Izquierdo C., Anangelina Archile, Lisbeth Rangel y Enrique Márquez S.

Unidad de Investigación Ciencia y Tecnología de los Alimentos (UDICTA), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia Apartado 15252. Maracaibo 4005-A, estado Zulia, Venezuela

RESUMEN

La fracción globular de sangre de cerdo y bovino ha sido utilizada frecuentemente en productos cárnicos como amplificador de hierro y proteínas. Debido a sus propiedades de gelación, la fracción globular también aumenta la retención de agua. El propósito de este trabajo fue estudiar el efecto del pH y de la concentración de proteínas sobre la gelación de la sangre, a 2250 g x 20 min. Se determinó el contenido de proteínas, el pH y la humedad, así como la concentración mínima de proteínas y el pH óptimo para la gelación en todas las fracciones sanguíneas (sangre, plasma y la fracción globular). Los resultados mostraron que el contenido de proteínas y la humedad, variaron de acuerdo a la especie. La fracción globular presentó mayor contenido de proteínas que la sangre y el plasma, siendo los glóbulos de aves los que presentaron el valor más alto (31,34%). No hubo diferencias significativas con respecto al pH en las diferentes especies ($P > 0,05$). La sangre de ave gelificó a menor concentración de proteínas que la sangre de bovino y porcino. El pH 7 resultó óptimo para la formación del gel de la sangre, plasma y glóbulos, excepto el plasma de ave donde no se observó formación de gel a ningún pH.

Palabras clave: Glóbulos, gelación, propiedades funcionales.

ABSTRACT

Globular fraction of bovine and pig blood is been used frequently in meat products as a proteins iron amplifier. Due to their gelation properties, globular fraction also increase water retention. The purpose of this work was study the effect of pH, proteins concentration on the gelation of blood, plasma and globular fraction of bovine, porcine and poultry. Globular fraction and plasma were obtained by centrifugation of blood at

2250 g x 20 min. Protein, pH, and humidity as well as minimal proteins concentration and optimum pH for gelation were determined. Results showed that protein content and humidity varied according to the specie. Globular fraction presented higher percentage of proteins than blood and plasma, being poultry the one with the highest percentage (31.34%). There was no significant difference on the pH of the different species ($P > 0.05$). Poultry blood gelificated at lower concentration of proteins than bovine and porcine blood. pH 7 is the optimum for gels formation of blood, plasma and globules of different species except the poultry plasma in which gel formation was not observed to any pH.

Key words: Globules, gelation, functional properties.

INTRODUCCIÓN

La gelación es una propiedad funcional de varias proteínas. Juega un papel fundamental en la preparación de muchos alimentos, incluyendo productos lácteos, cárnicos, marinos, geles de proteína de soya, proteínas vegetales texturizadas y masa de pan. La gelación de las proteínas es importante no sólo para la formación de geles sólidos, sino también para mejorar la absorción del agua, espesamiento, adhesión y emulsión [9].

Anteriormente, las proteínas sanguíneas de bovino eran utilizadas en la formulación de alimentos para consumo animal, sin embargo, debido a su elevado valor nutricional y a sus propiedades funcionales se han incorporado en la formulación de alimentos para consumo humano. En la industria de productos cárnicos se están utilizando con la finalidad de aumentar el contenido proteico y mejorar la capacidad enlazante del agua de los productos finales [2, 3, 20, 21, 29].

Los derivados sanguíneos se emplean como aditivos proteicos, en especial por sus propiedades nutricionales y fun-

cionales. Su composición está próxima a la de las proteínas de alto valor biológico (proteínas de la leche y del huevo), debido a su aporte en aminoácidos esenciales los cuales se presentan en proporción adecuada a excepción de la metionina e isoleucina, cuyos valores son inferiores a los establecidos por la FAO/WHO [7]. Desde el punto de vista funcional, estas proteínas presentan características igualmente favorables, tales como la solubilidad, emulsificación y capacidad espumante [7, 14, 18, 28].

Muchos estudios han sido realizados con la finalidad de evaluar las propiedades funcionales de las proteínas plasmáticas de bovino y cerdo [2, 4, 5, 10, 15, 19, 20, 23, 24, 25].

Las proteínas del plasma sanguíneo animal, poseen excelentes propiedades funcionales y su utilización en el procesamiento de alimentos ofrece grandes ventajas. No obstante, en vista de que el 80% de las proteínas de la sangre animal se encuentran en los corpúsculos sanguíneos [19] surge la necesidad de estudiar las propiedades funcionales de esta fracción, específicamente la propiedad de gelación y su comportamiento ante los cambios de pH, a fin de compararla con la sangre y el plasma. Esto brinda una alternativa a la industria de alimento, permitiendo a su vez, un máximo aprovechamiento proteico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de muestras de sangre

Un total de 36 muestras de sangre de bovino, porcino y ave fueron recolectadas en diferentes mataderos de la ciudad de Maracaibo (Maimca y Avipollo), estado Zulia, Venezuela, empleando para su recolección recipientes plásticos conteniendo una solución de tripolifosfato de sodio como anticoagulante en proporción con la cantidad de sangre recogida: 10 ml del anticoagulante al 2% por cada 100 ml de sangre de bovino o de cerdo; y 10 ml del anticoagulante al 1% por cada 100 ml de sangre de pollo [26].

Tratamiento de las muestras

Una parte de las muestras de sangre fue conservada intacta y la otra fue centrifugada a 2250 g x 20 minutos, con la finalidad de separar la fracción plasmática y la fracción corpuscular. Tanto la sangre completa como el plasma y los glóbulos se analizaron por triplicado.

Análisis químico

A la sangre, plasma y glóbulos provenientes de las diferentes especies se les determinó pH, proteínas y humedad. El pH fue medido empleando un pHímetro marca Metrhom (modelo 620).

El porcentaje de proteínas se obtuvo siguiendo el método Macro Kjeldahl propuesto por la Association of Official Analytical Chemist (AOAC) [1], empleando un equipo Tecator

(Kjeltec-Systemem, 1002 Destilling Unit, 2006 Digestor). Mientras que la humedad fue determinada por el método secado en horno (110°C-16 horas) de acuerdo a la AOAC [1].

Determinación de la concentración mínima de proteína necesaria para la formación del gel

Para determinar la concentración mínima de proteínas necesarias para la gelificación de las muestras de sangre, glóbulos y plasma de las distintas especies, se prepararon soluciones con diferentes concentraciones de proteínas (2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0 y 6,5%) de las muestras, utilizando agua destilada para diluir. Se agregaron 10 ml de cada solución en tubos de ensayo, se taparon y colocaron en baño de María a una temperatura constante de 90°C por 15 minutos, observando en cuáles tubos gelificaban. Transcurrido el tiempo, en el que las muestras se encontraban a temperatura ambiente, se procedió a su lectura verificando la dilución a la cual se formó el gel.

Efecto del pH sobre la formación de geles en las muestras

Para determinar el efecto del pH sobre la formación de geles se prepararon soluciones de sangre, glóbulos y plasma a la concentración mínima de proteínas necesaria para la formación del gel. Estas soluciones fueron ajustadas a pH de 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0 y 10,0 con H_3PO_4 y NaOH 1M. Alícuotas de 10 ml de cada solución se colocaron en tubos de ensayo de 20 x 150 mm, se taparon y se colocaron en baño de María a 90°C por 15 minutos hasta observar la formación de geles.

Análisis estadístico

El diseño consistió en un arreglo factorial 3x3 siendo los factores: la especie (bovino, cerdo y ave) y tres componentes sanguíneos. Los datos obtenidos se evaluaron mediante análisis de varianza, utilizando el paquete estadístico SAS PROC GLM [27]. Se determinó que las medias diferían significativamente ($P < 0,05$), mediante comparación múltiple de Duncan.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la TABLA I se muestran los valores promedios de humedad en sangre, glóbulos y plasma de las diferentes especies evaluadas. La humedad varió significativamente ($P < 0,05$) de acuerdo a la especie y fracción sanguínea, siendo el plasma el que presentó la mayor humedad. Los glóbulos, independientemente de la especie, arrojaron mayor porcentaje de proteínas que la sangre y el plasma, TABLA II; presentando el mayor contenido los glóbulos de ave, seguido de los de cerdo y bovino.

También se observaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en el contenido proteico de la sangre y plasma por especie, variando desde 18,43% para la especie bovina hasta un valor de 13,5% para las aves en la sangre y de 7,30% en

TABLA I

VALORES PROMEDIO DE HUMEDAD EN SANGRE, GLÓBULOS Y PLASMA DE DIFERENTES ESPECIES

Fracción	Especie		
	Bovino (%)	Cerdo (%)	Ave (%)
Sangre	80,55 ^a	83,50 ^b	86,05 ^c
Glóbulos	73,91 ^a	71,01 ^b	68,42 ^c
Plasma	91,67 ^a	92,10 ^a	95,31 ^b

^{a,b,c} Medias con diferentes superíndices dentro de una misma fila difieren significativamente ($P < 0,05$).

TABLA II

VALORES PROMEDIO DE PROTEÍNA DE SANGRE, PLASMA Y GLÓBULOS DE DIFERENTES ESPECIES

Fracción	Especie		
	Bovino (%)	Cerdo (%)	Ave (%)
Sangre	18,43 ^a	16,37 ^a	13,50 ^b
Glóbulos	24,93 ^a	29,77 ^b	31,34 ^b
Plasma	7,60 ^a	7,30 ^a	4,50 ^b

^{a,b,c} Medias con diferentes superíndices dentro de una misma fila difieren significativamente ($P < 0,05$).

TABLA III

VALORES PROMEDIO DE pH POR ESPECIE Y FRACCIÓN SANGUÍNEA

Característica	Especie			Fracción		
	Bovino	Cerdo	Ave	Sangre	Glóbulos	Plasma
pH	7,46	7,43	7,53	7,48	7,47	7,44

TABLA IV

VALORES PROMEDIO DE CONCENTRACIÓN MÍNIMA DE PROTEÍNAS PARA LA GELIFICACIÓN DE SANGRE, PLASMA Y GLÓBULOS DE DIFERENTES

Fracción	Especie		
	Bovino (%)	Cerdo (%)	Ave (%)
Sangre	5,05 ^a	5,00 ^a	3,51 ^b
Glóbulos	3,69 ^a	4,74 ^b	6,52 ^c
Plasma	3,80 ^a	3,65 ^a	4,46 ^b

^{a,b,c} Medias con diferentes superíndices dentro de una misma fila difieren significativamente ($P < 0,05$).

cerdos hasta 4,50% en aves en el plasma. No se observó diferencia ($P > 0,05$) entre los valores proteicos de plasma de bovino y cerdo.

En cuanto al pH, independientemente de la especie y el tipo de muestra, no hubo diferencia significativa ($P > 0,05$), obteniéndose valores que oscilan entre 7,43 y 7,53, TABLA III.

Los valores promedios de la concentración mínima de proteína para la gelificación de sangre, plasma y glóbulos se muestran en la TABLA IV. Cuando se comparó el comportamiento de la sangre de las diferentes especies se observó que la sangre de ave gelificó a una menor concentración de proteína (3,51%) que la sangre de bovino y cerdo (5,05 y 5,00%). Sin embargo, los glóbulos y plasma de ave requirieron mayor

cantidad de proteína para gelificar cuando se compararon con los glóbulos y plasma de bovino y cerdo. Estos resultados indicaron, la presencia de un efecto sinérgico del plasma y los glóbulos en la sangre de las aves.

La concentración mínima de proteína es un factor importante que se requiere para la habilidad de formar geles [22]. La dureza de un gel de proteínas globulares inducido por el calor, se encuentra afectado por la concentración de proteínas [8, 12, 15, 16, 17]. En un estudio sobre la formación de geles de albúmina de suero de bovino y β -lactoglobulina inducidos por el calor, se encontró que la concentración mínima de proteínas requeridas para la formación de un gel en 100 mM Tris- HCl buffer (pH 8,0) seguido de calentamiento a 90°C por quince minutos, fue del 4% para la albúmina de suero de bovino y 5%

TABLA V

EFECTO DEL pH EN LA FORMACIÓN DE GELES EN SANGRE, GLÓBULOS Y PLASMA DE DIFERENTES ESPECIES

pH	Bovino			Cerdo			Ave		
	*G	*S	*P	*G	*S	*P	*G	*S	P
4,0	**Ag	**Gel	Ag	**NG	NG	Ag	NG	NG	Ag
5,0	Ag	Gel	Ag	NG	Gel	Ag	Ag	Ag	Ag
6,0	Gel	Gel	Gel	NG	Gel	Gel	Gel	Gel	Ag
7,0	Gel	Gel	Gel	Gel	Gel	Gel	Gel	Gel	Ag
8,0	Ag	Gel	Gel	NG	Gel	Gel	Gel	Gel	NG
10	NG	NG	Gel	NG	NG	Gel	NG	NG	NG

*G: Glóbulos rojos. *S: Sangre. *P: Plasma. **Ag: Formación de Agregados. **Gel: Gelación. **NG: No gelificó.

para la β -lactoglobulina y se especuló que las uniones disulfuro son importantes en la firmeza de los geles de la albúmina del suero de bovino, mientras que las interacciones electrostáticas y uniones disulfuro están involucradas en la formación y mantenimiento de los geles de la β -lactoglobulina [22].

Autio y col. [2] encontraron un gran aumento en la viscosidad de una solución de globina al 5%, la cual gelifica a valores de pH entre 5,2 y 5,8 a 95°C y señalaron que la globina puede tener una utilidad importante en alimentos semi-sólidos debido a su gran capacidad de retener agua, siendo relativamente estable dependiendo del pH, concentración de sal y tratamiento térmico. Hayakawa y col. [11] estudiando la condición para la formación del gel de globina calentada y la inhibición de la termocoagulación de la albúmina y ovoalbúmina, observaron un incremento de la viscosidad cuando una solución de globina al 1% fue calentada por encima de los 80°C en un rango de pH entre 5,2 y 5,4. La globina calentada forma un gel transparente a una concentración por encima del 3% bajo condiciones de calentamiento bien controladas. Es importante mencionar que todos estos trabajos han sido realizados con albúmina de plasma o globina de glóbulos de cerdo o bovino y los resultados en el presente trabajo son los primeros reportados con sangre, glóbulos y plasma de ave.

La TABLA V muestra el efecto del pH en la formación de geles, en soluciones de sangre, glóbulos y plasma preparadas con la concentración mínima de proteínas necesarias para la formación del gel. Los resultados indican que el valor óptimo de pH para la formación de geles de la sangre, plasma y glóbulos de las distintas especies estudiadas fue de 7,0, a excepción del plasma de ave, que no mostró formación de gel a ningún pH produciendo sólo agregados, lo que demuestra que su capacidad de retención de agua es menor en comparación a la del plasma de cerdo y bovino. Estos resultados concuerdan con los reportados por otros investigadores que han estudiado la gelación de proteínas plasmáticas, quienes señalan que la mejor capacidad del gel para unir agua es a pH 7,0, cuando se calienta por 10 minutos entre 75 y 77°C, pero su textura será mejor si se aumenta la temperatura [13]. Hickson y col. [15] observaron que, cuando se calienta por largo tiempo a 80°C, se obtienen geles fuertes. Otras investigaciones sugieren, que

los geles inducidos por el calor se forman a pH alcalino como resultado de la ruptura intramolecular de uniones disulfuro y de la pérdida de la estructura tridimensional de la proteína nativa, conllevando a la formación de grupos sulfidrilos libres y a la exposición de los grupos hidrofóbicos, los cuales subsecuentemente se asocian vía intramolecular a uniones disulfuro, asociaciones hidrofóbicas, puentes de hidrógeno e interacciones electrostáticas. Un balance adecuado proteína-proteína e interacción proteína-solvente, es crítico para la formación de geles homogéneos [23]. A pH 4,0 sólo la sangre de bovino presentó gelación, mientras que las demás fracciones (plasma, glóbulos y sangre) de las distintas especies estudiadas no mostraron gelificación alguna. Esto puede deberse a que, a valores extremos de pH cerca de su punto isoeléctrico, la formación del gel es menor [6].

Hayakawa y col. [11] estudiando algunas propiedades funcionales de la globina bajo tratamiento térmico, demostraron que ésta resultó soluble cuando se calentó a 100°C a pH por debajo de 5,0.

A valores de pH distintos del punto isoeléctrico, las proteínas presentan cargas eléctricas semejantes y las moléculas se repelen entre sí, el agua interacciona con ellas formando puentes de hidrógeno y de esta manera contribuye a la solubilización de las proteínas [9].

CONCLUSIONES

La humedad varía significativamente ($P < 0,05$) de acuerdo a la especie y fracción sanguínea, siendo el plasma el que contiene mayor humedad.

Los glóbulos presentan mayor porcentaje de proteínas que la sangre y el plasma, en especial los glóbulos de ave. El contenido proteico de la sangre y plasma difiere significativamente ($P < 0,05$) por especie.

La sangre de ave gelifica a una menor concentración de proteína que la sangre de bovino y cerdo. Sin embargo, los glóbulos y plasma de ave requieren mayor cantidad proteica para gelificar en comparación con los de bovino y cerdo.

El valor óptimo de pH para la formación de geles de la sangre, plasma y glóbulos de las distintas especies involucradas en el estudio fue de 7,0, exceptuando el plasma de ave que no formó gel a ningún pH.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES) por el financiamiento que hizo posible la realización del presente trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 15th ed. Washington, DC: 854-855. 1990.
- [2] AUTIO, K.; LYYTIKÄINEN, H.; MÄLKKI, Y.; KANKO, S. Penetration Studies of blood globin gels. **J. Food Sci.** 50:615-617. 1985.
- [3] AUTIO, K.; MIETSCH, F. Heat Induced gelation of myofibrillar proteins and sausages. Effect of blood plasma and globin. **J. Food Sci.** 55(6):1494-1496. 1990.
- [4] AUTIO, K.; KIESVAARA, M.; MÄLKKI, Y.; KANKO, S. Chemical and Functional Properties of Blood Globin Prepared by a New Method. **J. Food Sci.** 49:859-862. 1984.
- [5] BARBOZA, Y.; RANGEL, L.; ARCHILE, A.; IZQUIERDO, P.; MÁRQUEZ, E. Estudios de algunos factores que afectan la propiedad de gelación del plasma sanguíneo animal. **Revista Científica**, FCV-LUZ. VII (1):31-36.1996.
- [6] BORDERIAS, A.J.; MONTERO, P. Fundamentos de la funcionalidad de las proteínas en alimentos. **Rev. Agroquim. Technol. Aliment.** 28:159-169.1988.
- [7] BOURGUEOIS, C. Productos de transformación de la sangre. En Bourgeois, C.; Le Roux, P. **Proteínas animales**. Editorial El Manual Moderno. México. Cap. 12:244-260.1986.
- [8] CLARK, A.H.; JUDGE, F.J.; RICHARDS, J.B.; STUBBS, J.M.; SUGGETT, A. Electron microscopy of network structures in thermally-induced globular protein gels. **Int. J. Peptide Proteins Res.** 17:380-383.1981.
- [9] OWEN, R.F. Characteristics for Gel Formation and Gel Structure. **Food Chemistry**. Second Edition: 292-294.1985.
- [10] DE VUONO, M.; PENTEADO, C.; LAJOLO, F.; PEREIRA, N. Functional and Nutritional properties of isolated bovine blood proteins. **J. Food Sci Agric.** 30:809-815. 1979.
- [11] HAYAKAWA, S.; OGAWA, T.; SATO, Y. Some Functional properties under heating of the globin prepared by carboxymethyl cellulose procedure. **J. Food Sci.** 47:1415-1418. 1982.
- [12] HEGG, P.O. Conditions for the formation of heat-induced gels of some globular food proteins. **J. Food Sci.** 47:1241-1245. 1982.
- [13] HERMANSSON, A. M. Gel Characteristics, compression and penetration of blood Plasma Gels. **J. Food Sci.** 47:1965-1971.1982.
- [14] HERMENSSON, A.; TORBERG, E. Functional properties of some protein preparations from blood. **22nd Meat Res Cong. Congress.** Swedish Meat Res. Inst Kavlinge Sweeden. II:2-8.1976.
- [15] HICKSON, D.W.; DILL, C.W.; MORGAN, R.G.; SUTER, D.A.; CARPENTER, Z.L. A comparison of heat-induced gel strength of bovine plasma and egg albumen proteins. **J. Animal Sci.** 51:69-73.1980.
- [16] HILLER, R.M.; LYSTER, R.L.; CHEESEMAN, G.C. Gelation of reconstituted whey powders by heat. **J. Food Sci. Agric.** 31:1152.1980.
- [17] KATSUTA, K.; RECTOR, D.; KINSELLA, J.E. Viscoelastic properties of whey proteins gels. Mechanically model and effects of protein concentration. **J. Food Sci.** 52(2):518-521. 1990.
- [18] KHAN, M.; ROONEY, W.; DILL, C. Baking properties of plasma protein isolate. **J. Food Sci.** 44:274-276. 1979.
- [19] KING, J.; DE PABLO, S.; MONTES DE OCA, F. Evaluation of gelation and solubility of bovine plasma protein isolates. **J. Food Sci.** 54(5):1381-1382.1989.
- [20] KNIPE, C.; FRYE, C. Characteristics of bovine plasma gels as affected by pH, sodium Chloride, and sodium tripolyphosphate. **J. Food Sci.** 55(1):252-253.1990.
- [21] MÁRQUEZ, E.; BARBOZA, Y.; IZQUIERDO, P.; TORRES, G. Studies on the incorporation of bovine plasma in emulsion type of meat product. **J. Food. Sci. Technol.** 34: 337-339 1997.
- [22] MATSUDOMI, N.; RECTOR, D.; KINSELLA, J. Gelation of bovine serum albumin and β -Lactoglobulin, effects of pH, Salts and thiol reagents. **Food Chem.** 40:55-69.1991.
- [23] O'RIORDAN, D.; KINSELLA, J.; MULVIHILL, D.; MORRISSEY, P. Gelation of plasma proteins. **Food Chem.** 33:203-214.1989.
- [24] O'RIORDAN, D.; MULVIHILL, D.; MORRISSEY, P.; KINSELLA, J. Study of the molecular forces involved in the gelation of plasma proteins at alkaline pH. **J. Food Sci.** 54(5):1202-1205.1989.

- [25] RAEKER, M.; JHONSON, L. Thermal and functional properties of bovine blood plasma and egg white proteins. **J. Food Sci.** 60(4):685-690.1995.
- [26] RANGEL, L.; ARCHILE, A.; CASTEJÓN, O., IZQUIERDO, P., MÁRQUEZ, E. Utilización del tripolifosfato de sodio como anticoagulante y su efecto sobre las propiedades emulsificantes del plasma. **Revista Científica, FCV-LUZ.** V(2):111-116.1995.
- [27] STATISTIC ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE (SAS). "SAS User's statistics". University North of California. Ver. 6.04.1991.
- [28] SATERLEE, L.; FREE, B.; LEVIN, E. Utilization of high protein tissue powders as a binder extender in meat emulsions. **J. Food Sci.** 44:274-276.1979.
- [29] SHAIDI, N.M.; RUBIN, L.; DIOSADY, L. Functional properties of blood globin. **J. Food Sci.** 49:370-372.1984.