

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CAMPUS CAMPO MOURÃO
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS**

LINCOLN MALAGUTTI DOS SANTOS

**EFEITO DO TEMPO E DA TEMPERATURA NA EXTRAÇÃO DE ISOLADO
PROTÉICO DA CARNE DE FRANGO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO
2014

LINCOLN MALAGUTTI DOS SANTOS

**EFEITO DO TEMPO E DA TEMPERATURA NA EXTRAÇÃO DE ISOLADO
PROTÉICO DA CARNE DE FRANGO**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado ao Departamento de Alimentos – DALIM – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito para obtenção do título de Tecnólogo.

Orientadora: Dra. Adriana Aparecida Droval

CAMPO MOURÃO
2014

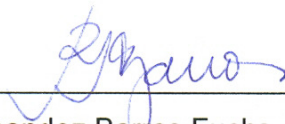
FOLHA DE APROVAÇÃO

**EFEITO DO TEMPO E DA TEMPERATURA NA EXTRAÇÃO DE
ISOLADO PROTÉICO DA CARNE DE FRANGO**

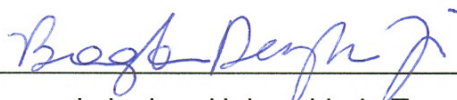
Por Lincoln Malagutti dos Santos

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado como requisito parcial para a
obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos, no Curso Superior de
Tecnologia em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná -
Campus Campo Mourão.

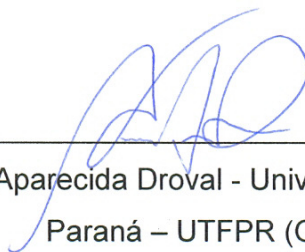
BANCA AVALIADORA



Prof. Dra. Renata Hernandez Barros Fuchs - Universidade Tecnológica Federal
do Paraná – UTFPR



Prof. Dr. Bogdan Demczuk Junior - Universidade Tecnológica Federal do
Paraná – UTFPR



Prof. Dra. Adriana Aparecida Droval - Universidade Tecnológica Federal do
Paraná – UTFPR (Orientador)

Campo Mourão

2014

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me iluminar e abençoar durante toda minha trajetória.

A minha orientadora Prof.^a. Dr.^a. Adriana Aparecida Droval pela orientação, apoio e incentivo fundamentais para a realização deste trabalho.

Aos meus pais Aurélio e Ana pelo exemplo de caráter, simplicidade e pelo apoio incondicional, por estarem sempre comigo ao longo destes anos e por todo o amor dedicado.

A minha namorada Carolina de Souza pela compreensão, pelas palavras de força e incentivo nas horas mais difíceis e pelo companheirismo e amor dedicado durante esta trajetória.

Àos técnicos dos laboratórios de apoio ensino e pesquisa de alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, pela disposição em ajudar.

A todos os professores pelas dicas e orientações prestadas, que mesmo não sendo orientadores, disponibilizaram um pouco de seu tempo o que levou ao desenvolvimento de muitas idéias.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná, que proporcionou a oportunidade de realização de um grande objetivo em minha vida.

RESUMO

O isolado protéico é obtido através da hidrólise química da proteína, e este pode ser empregado em uma larga variedade de produtos alimentícios, incluindo substitutos de leite, suplementos protéicos, realçadores de sabor e estabilizadores em bebidas, dentre outros, sendo utilizado tanto na alimentação humana como na animal. O objetivo deste trabalho foi estudar a variação do tempo e temperatura no processo de extração das proteínas miofibrilares da carne de frango com solução salina. O tecido muscular do frango apresenta um teor médio de 21 a 22% de proteína. As proteínas miofibrilares foram extraídas de filés de peito, empregando-se a técnica de extração por centrifugação diferencial em solução tampão, com diferentes concentrações salinas. Foram desenvolvidos quatro experimentos com diferentes faixas de tempo e temperatura de extração, ao término de cada experimento as amostras foram encaminhadas para a realização do teor de proteína e umidade, onde foi possível verificar que o experimento com menor tempo de extração diferiu-se estatisticamente dos demais em relação ao teor de proteína e umidade. Como não houve variação estatística dos teores de proteína e umidade obtidas entre os demais experimentos, repetiu-se o experimento cujo os parâmetros de extração são iguais a metodologia a qual foi utilizada para realização deste trabalho e determinou-se então a composição proximal do isolado protéico. A composição proximal do isolado protéico foi de 12,97% de proteína, 1,46% de lipídeos, 85,21% de umidade e 0,62% de cinzas. Estima-se que após a secagem do isolado protéico o teor médio de proteína seria de 87,69%. Embora os resultados não foram totalmente conclusivos para o teor final de proteínas miofibrilares os mesmos refletiram a eficiência da metodologia empregada.

Palavras-chave: Extração de proteína; carne de frango; soluções salinas; tempo e temperatura; isolado protéico; proteínas cárneas.

ABSTRACT

The protein isolate is obtained by chemical hydrolysis of the protein, and this can be used in a wide variety of food products, including milk replacers, protein supplements, stabilizers and flavor enhancers in beverages, among others, being used both as food as in animals. The objective of this work was to study the variation of time and temperature on the extraction process of myofibrillar proteins of chicken meat with salt solutions. The muscle tissue of chicken showed an average content of 21 to 22 % protein. The myofibrillar proteins were extracted from breast fillets, using the technique of differential centrifugal in tampon solution with different salt concentrations. Were developed four experiments with different ranges of time and temperature of extraction. At the end of each experiment, the samples were sent to the achievement of protein and moisture, where it was possible to verify that the experiment with shorter extraction if differ statistically from others in relation to the protein and moisture. As there were no changes in the levels of protein and moisture obtained from other experiments, was repeated the experiment which the parameters are the same extraction methodology which was used for this work and then was determined the proximate composition of protein isolate. The proximate composition of the isolated protein was 12,97 % of protein, 1,46 % of fat, 85,21 % of moisture and 0,62 % of ash. It is estimated that after the drying of the isolated protein, the protein medium would be 87,69 %. Although the results were not totally conclusive for the final content of myofibrillar proteins they reflected the efficacy of the method.

Keywords: Extraction of protein, chicken meat, salt solutions, time and temperature; Protein isolate; meat proteins.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	8
LISTA DE FIGURAS	9
1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVO.....	12
2.1 OBJETIVO GERAL	12
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
3. REVISÃO DE LITERATURA	13
3.1 ESTRUTURA MUSCULAR	13
3.2 PROTEÍNAS CÁRNEAS	16
3.3 OBTENÇÃO DE ISOLADOS PROTÉICOS.....	18
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
4.1 MATÉRIAS-PRIMAS.....	20
4.2 DESENVOLVIMENTO DO EXPERIMENTO.....	20
4.2.1 EXTRAÇÃO E OBTENÇÃO DO ISOLADO PROTÉICO.....	21
4.2.2 COMPOSIÇÃO PROXIMAL.....	22
4.2.3 UMIDADE	22
4.2.4 CINZAS.....	22
4.2.5 PROTEÍNAS	22
4.2.6 LIPÍDEOS	23
4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	24
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	25
5.1 DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL.....	25
5.2 COMPOSIÇÃO PROXIMAL.....	29
6. CONCLUSÃO.....	30
REFERÊNCIAS.....	31

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. VARIAÇÕES DE TEMPO E TEMPERATURA DOS EXPERIMENTOS..	20
TABELA 2. TEORES DE PROTEÍNA E UMIDADE DOS QUATRO EXPERIMENTOS.	25
TABELA 7. COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE UMIDADE E PROTEÍNA. .	28
TABELA 8. VALORES MÉDIOS DA COMPOSIÇÃO PROXIMAL DO ISOLADO PROTÉICO.....	29

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. REPRESENTAÇÃO DA ESTRUTURA DO MÚSCULO ESQUELÉTICO ...	
13	
FIGURA 2. ORGANIZAÇÃO DAS FIBRAS MUSCULARES.	16
FIGURA 3. RESULTADO DOS TEORES DE PROTEÍNA (%) DE ACORDO COM AS FAIXAS DE TEMPO ESTUDADAS.	26
FIGURA 4. RESULTADO DOS TEORES DE UMIDADE (%) NOS INTERVALOS DE TEMPO DE 1, 2, 3 E 4 HORAS DE EXTRAÇÃO ESTUDADAS.	26
FIGURA 5. RESULTADO DA % DE PROTEÍNA EXTRAÍDA NOS VALORES DE TEMPERATURA DE 2,5, 5, 7,5 E 10°C.	27
FIGURA 6. RESULTADO DA % UMIDADE DO EXTRATO PROTÉICO NOS VALORES DE TEMPERATURA DE 2,5, 5, 7,5 E 10°C.	28

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior exportador mundial e o terceiro maior produtor de carne de frango, ficando atrás dos Estados Unidos e da China. A produção nacional de carne de frango chegou em 2012 a 12,645 milhões de toneladas, do volume total de aves produzidos pelo país, 69% é destinado ao consumo interno, e 31% para exportações. Atualmente o consumo per capita de carne de frango é de 45 quilos, (UBABEF, 2013), sendo esta uma das carnes mais consumidas pela população brasileira, juntamente com seus produtos industrializados, ou seja, o consumo está em 2,5% ao ano, comparado com 1,5% da carne suína. Esta elevação na demanda do consumo se deve a três razões: a) é considerada uma carne mais saudável em relação a carne vermelha, pois apresenta melhor digestibilidade e menor teor gordura; b) é mais barata, seu custo de produção é menor, segundo Beef Point (2013) precisa-se de muito menos alimento para produzir um quilo de frango do que para produzir a mesma quantidade de carne suína e/ou bovina; e c) apresenta maior conveniência de preparo; oferta de cortes, produtos industrializados (marinados e temperados, defumados) entre outros (SILVA & FABRINI, 1994; apud BLEIL, 1998).

O papel chave dos produtos alimentícios de origem animal na dieta da maioria das civilizações, reside na importância destes alimentos serem fontes de proteína de alta qualidade além de serem ricos em ferro e vitaminas do complexo B, em especial niacina (músculo escuro) e riboflavina (músculo claro) (MOREIRA, 1998). A carne de frango apresenta um teor médio de 21 a 22% de proteína (ROÇA, 2000). As proteínas fornecem aminoácidos essenciais ao organismo, e dentre as classes de alimentos, as carnes são as maiores fontes deste nutriente por apresentarem grandes quantidades. Os aminoácidos são chamados essenciais devido ao organismo não ser capaz de sintetizá-los, sendo que na digestão há a quebra da cadeia de proteínas e os aminoácidos livres são absorvidos e usados na síntese de novas proteínas (TONETTI, 2012). As proteínas são, portanto fundamentais em qualquer dieta, pois são utilizadas para o reparo e construção muscular (BOMPA & CORNACCHIA, 2000).

Existem muitas técnicas potenciais para a extração da proteína a partir de tecido animal. Estas incluem a utilização de água e solventes orgânicos, processos convencionais de cozimento, aplicação de altas pressões, secagem e extração a quente de óleo, e solução salina. Para realizar a hidrólise, métodos químicos e

biológicos são amplamente utilizados. Os biológicos que utilizam adição de enzimas tem-se demonstrado bastante promissores, porém a hidrólise química é mais comumente utilizada na prática industrial (MARTINS et al., 2009).

O mecanismo de precipitação de proteínas por hidrólise química através do uso de soluções salinas concentradas, decorre de um aumento da força iônica do sistema. Quando pequenas quantidades de sal são adicionadas à solução contendo proteínas, ocorre uma interação destas com as cargas provenientes da dissociação do sal e diminuição da interação inter-proteínas, aumentando a solubilidade no meio aquoso. Porém, em condições de elevada força iônica, decorrente da adição de grandes quantidades de sal, verifica-se um efeito oposto. As moléculas de água, interagem mais fortemente com os íons provenientes da dissociação do sal, promovendo desta forma, a desidratação das proteínas. Durante esse processo, a interação inter-proteínas se torna mais forte, diminuindo a solubilidade das mesmas em meio aquoso e, conseqüentemente, a ocorrência de precipitação. Esse processo é também conhecido por "salting-out". A precipitação de proteínas pelo gradativo aumento da concentração de sais é um processo muito importante para a separação de misturas complexas de proteínas, uma vez que a concentração de sal necessária para precipitação é diferente para cada proteína (LIMA et al., 2008).

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Estudar o efeito da variação de diferentes faixas de tempo e temperatura no processo de extração de isolado protéico da carne de frango por soluções salinas diluídas.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar por meio de quatro experimentos, diferentes faixas de tempo e temperatura no processo de extração das proteínas miofibrilares por soluções salinas diluídas e determinar qual obteve melhor êxito no processo de extração;
- Quantificar o teor de proteína dos isolados protéicos extraídos pelo método semi-micro Kjeldahl;
- Quantificar o teor de umidade dos isolados protéicos obtido através da técnica gravimétrica com emprego do calor;
- Determinar a composição proximal do isolado protéico cujo experimento proporcionou uma maior porcentagem de extração das proteínas miofibrilares.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Estrutura Muscular

O conhecimento da estrutura da carne e seus constituintes básicos, bem como da bioquímica do músculo, é fundamental para uma boa compreensão das propriedades funcionais da carne como alimento. A carne é composta basicamente dos tecidos: muscular, conjuntivo, epitelial e nervoso (GUIMARÃES & ADELL, 1995).

O tecido muscular é constituído por fibra e sarcômero onde o primeiro é uma unidade estrutural, e o último uma unidade funcional. Possui como característica a capacidade de se contrair segundo alguns estímulos claros e utilizando o ATP (molécula orgânica responsável pelo armazenamento de energia nas suas ligações químicas); e pela sua excitabilidade, ou seja, responde bem a um estímulo nervoso (SARCINELLI et al., 2007). A Figura 1 apresenta a representação da estrutura do músculo esquelético.

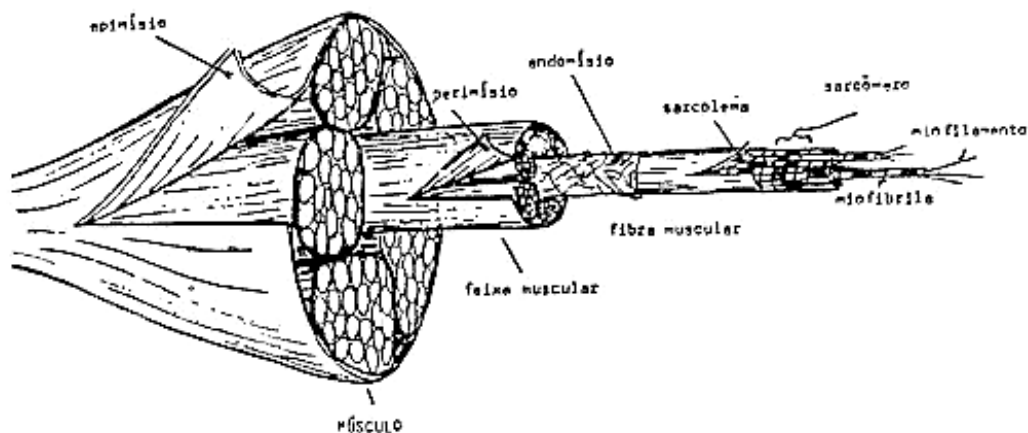


Figura 1. Representação da estrutura do músculo esquelético (EMBRAPA, 1999).

O tecido conjuntivo ou tecido conectivo caracteriza-se por possuir células em baixa quantidade e uma grande quantidade de substância fundamental amorfa produzida pelas próprias células do tecido. Tem como a principal função unir e manter ligadas as diversas partes do organismo, atuando na defesa do organismo contra agentes infecciosos. Apresenta vários tipos, são eles: tecido conjuntivo

própriamente dito, tecido (conjuntivo) adiposo e tecido conjuntivo de sustentação (GUIMARÃES & ADELL, 1995).

O tecido epitelial comparado com os outros tecidos é representado com uma pequena porcentagem no peso do músculo. O tecido epitelial estratificados está relacionado com a função de proteção, enquanto os tecidos epiteliais simples, de pequena espessura, desempenham à absorção e à troca de substâncias, além de secreções. Desempenha papel fundamental nas características do frango, como formação do aroma, sabor e crocância durante a fritura (SARCINELLI et al., 2007).

O tecido nervoso constitui menos do que 1% da carne, sendo formado por células altamente especializadas, atuando com uma estrutura sensível a vários tipos de estímulos de origem externa ou interna do organismo. Quando estimulado o tecido é capaz de conduzir os impulsos nervosos de maneira rápida e por distâncias relativamente grandes. Os impulsos nervosos transmitidos pelas fibras nervosas, que estão entremeadas no tecido muscular, antes ou durante do abate do animal influenciam na qualidade da carne (GUIMARÃES & ADELL, 1995).

Segundo Sgarbieri (1996), o principal componente da carne é o músculo, que é dividido em:

Músculo cardíaco: este músculo tem como propriedade exclusiva a contratibilidade rítmica que continua ininterruptamente desde o início da vida embrionária até a morte. O miocárdio é a camada contrátil do coração formando a maior parte do músculo cardíaco. As fibras do miocárdio são mantidas em seus lugares por fibras reticulares e colagenosas. Vasos sanguíneos e linfáticos e fibras nervosas penetram e saem do miocárdio via tecido conjuntivo, que se interpõe aos feixes musculares.

Músculo liso: o tecido muscular liso representa apenas uma pequena parte das carnes estando presente em maior quantidade nas paredes das artérias, vasos linfáticos, no trato gastrointestinal e reprodutivo. A fibra muscular lisa varia em tamanho e forma, conforme a localização do tecido. A fibra possui somente um núcleo, geralmente central e o retículo sarcoplasmático é bem menos desenvolvido em relação à musculatura esquelética.

Músculo esquelético: são células longas, afiladas e multinucleadas, sendo responsável pela forma estriada característica deste tipo de músculo. Em peso, constituem a parte maior da carcaça do animal. O músculo esquelético é um músculo estriado de contração voluntária, ou seja, sua ação é controlada pela

própria vontade do indivíduo. A unidade estrutural deste músculo é a fibra muscular, uma célula altamente especializada. O músculo inteiro é geralmente envolvido por uma camada externa de tecido conjuntivo denominado epimísio, que também divide o músculo em feixes, O epimísio emite projeções que, penetrando nos feixes envolve cada fibra, recebendo a denominação de endomísio. As fibras musculares são constituídas de uma membrana externa (sarcolema), de um citoplasma diferenciado (sarcoplasma), que está praticamente tomado pelas (miofibrilas).

O sarcolema é uma membrana lipoproteica, constituída por duas lâminas que recobre cada fibra muscular. Ela é bastante elástica para suportar as distorções que ocorrem nas fases de contração, relaxamento e estiramento do músculo, possuindo invaginações ao longo de toda superfície da fibra, formando os túbulos "T". O sarcoplasma de uma fibra muscular tem por constituição 75 a 85% de água, gotículas de gordura e grânulos de glicogênio e de organelas, assim como de miofibrilas peculiares ao músculo. As miofibrilas são estruturas cilíndricas, compridas e delgadas, com diâmetro de 1 a 2 μm , orientadas na direção longitudinal da fibra e podem preencher quase que totalmente o volume do sarcoplasma. Elas ordenam-se paralelamente, conferindo o aspecto estriado. O conjunto de miofibrilas encontra-se organizado em unidades denominada sarcômeros, que é compreendido entre dois discos Z. As miofibrilas são formadas por um agrupamento ordenado de filamentos grossos e finos paralelos entre si, cuja distribuição ao longo da miofibrila é responsável pela formação de bandas (SARCINELLI et al., 2007). A Figura 2 apresenta a organização das fibras musculares.

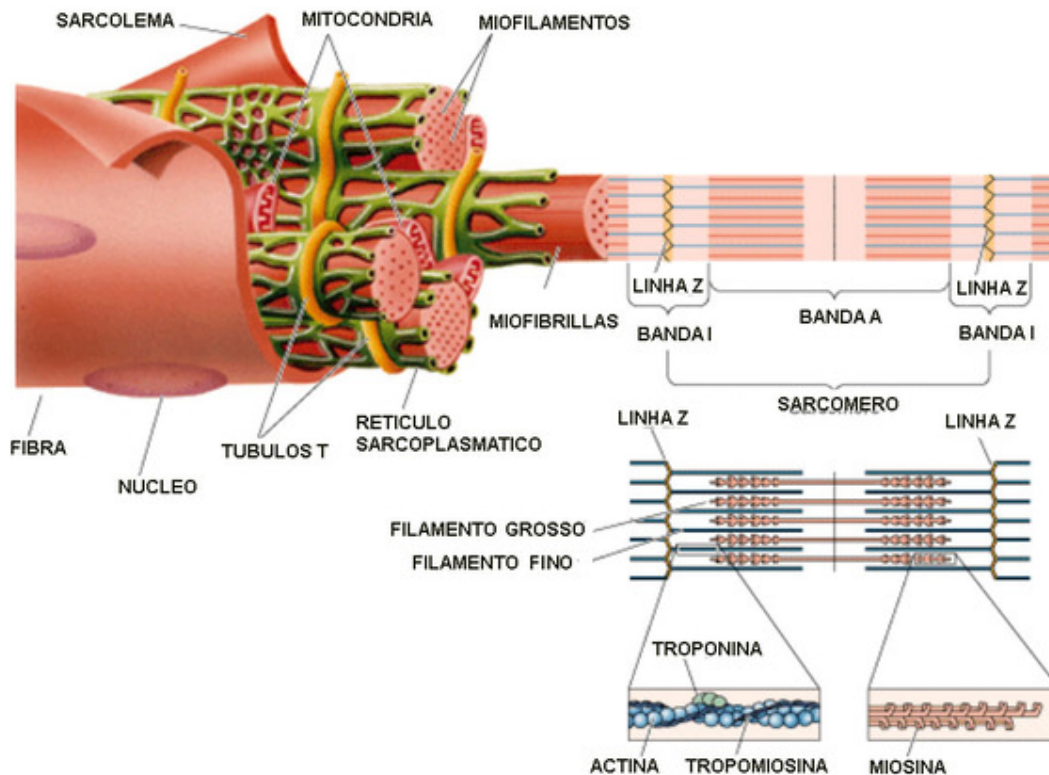


Figura 2. Organização das fibras musculares (DUARTE, 2011).

3.2 Proteínas Cárneas

Segundo Sgarbieri (1996), as proteínas do músculo podem ser divididas em três classes: sarcoplasmáticas, miofibrilares e estromáticas.

Sarcoplasmáticas: As proteínas sarcoplasmáticas constituem 30% a 35 % da proteína total da musculatura esquelética e, dentre elas, estão a mioglobina e todas as enzimas da glicólise e a maior parte das enzimas da síntese de carboidratos e de proteínas. São classificadas como sarcoplasmáticas as proteínas solúveis em soluções de força iônica igual ou menor que 0,1, em pH neutro.

Miofibrilares: As proteínas miofibrilares são representadas pela miosina, actina, proteína C, proteína M, tropomiosina, α -actina e β -actina. São proteínas que formam os miofilamentos grossos e finos que constituem a miofibrila, organela que desempenha a função de contração muscular. Representam 52% a 56% das proteínas musculares. A fração miofibrilar é constituída de proteínas que normalmente só são extraídas em soluções de força iônica entre 0,5 e 1,0. Embora a

elevada força iônica seja necessária para romper as miofibrilas, muitas das proteínas miofibrilares são solúveis em água, depois de extraídas.

Estromáticas: As proteínas estromáticas, conhecidas também como proteínas do tecido conjuntivo, correspondem a 10% a 15% de toda proteína dos músculos esqueléticos. Em contraste com as proteínas sarcoplasmáticas, as estromáticas são as menos solúveis. Duas proteínas do tecido conjuntivo, colágeno e elastina, representam a maior parte da fração protéica estromática. Os colágenos representam 40% a 60% do estroma e são caracterizados pelo elevado conteúdo de glicina, prolina e hidroxiprolina, e completa ausência de aminoácidos sulfurados e de triptofano. São classificadas como estromáticas as proteínas insolúveis em solventes aquosos.

A maioria dos aspectos da carne origina-se do tecido muscular do animal. As fibras do músculo, a miosina e a actina, depois da morte combinam-se juntas para formar uma substância chamada actimiosina. A rigidez num animal é conhecida como *rigor mortis*, e demora algum tempo antes que a carcaça do animal se torne novamente macia (PROUDLOVE, 1996).

O entendimento da sequência dos eventos bioquímicos, no músculo *post-mortem*, é o centro do desenvolvimento das práticas pós-abate, designadas para otimizar a qualidade da carne. O fenômeno do *rigor mortis* pode ser considerado como uma contração muscular irreversível. Ocorre logo após a morte do animal e é caracterizado pela inextensibilidade e rigidez do músculo. Esta rigidez observada é devida à formação de pontes actomiosinas, como na contração muscular. Existem duas diferenças básicas: primeiro, o número de pontes actomiosinas formadas durante o rigor é bem maior que na contração muscular (CANHOS & DIAS, 1985 apud ALVES, D. D. et al., 2005); e segundo, o relaxamento no caso do rigor não é possível, pois não existe energia suficiente para quebrar as ligações actomiosinas (NAUSS & DAVIES, 1966 apud ALVES et al., 2005). Para que o músculo permaneça em repouso, ou para que haja o relaxamento é necessária a presença do complexo ATP-Mg⁺⁺. Uma vez esgotado o ATP do músculo, pontes permanentes entre actina e miosina se formam e o músculo vai perdendo a elasticidade e entra em *rigor mortis*, ou seja, os músculos transformam-se em carne (CANHOS & DIAS, 1985 apud ALVES et al., 2005).

Como a miosina contém menos prolina que a actina, esta é de natureza mais fibrilar. A actomiosina constitui a maior parte das proteínas fibrilares existentes no

músculo *post-mortem* e se forma através da integração entre a actina e a miosina (formação de pontes), resultando num estado de rigidez e de relativa inextensibilidade muscular após a morte dos animais e o estabelecimento da rigidez cadavérica (*rigor mortis*). No animal vivo, as pontes de actina e miosina (actomiosina) são transitórias, pois durante a fase de relaxamento do ciclo de contração estas pontes são rompidas. Tropomiosina, troponina T, Mproteínas, α -actina, β -actina e C-proteínas são também denominadas proteínas reguladoras, apresentando função de controle direto e indireto no complexo adenosina-trifosfato-actina-miosina (LUCHIARI, 2000 apud ALVES et al., 2005).

3.3 Obtenção de Isolados Protéicos

O isolado protéico é um produto obtido através da hidrólise química da proteína, e pode ser utilizado como um suplemento nutricional na alimentação animal e humana (MORAES, 2009).

Os hidrolisados podem ser definidos como proteínas que são clivadas química ou enzimaticamente em peptídeos de vários tamanhos. Hidrolisados protéicos são produzidos para serem utilizados em ampla variedade de produtos alimentícios, incluindo substitutos de leite, suplementos protéicos, realçadores de sabor e estabilizadores em bebidas, dentre outros (MARTINS et al., 2009).

Não existe um método único ou um conjunto de métodos aplicáveis ao isolamento de todas as proteínas indistintamente; porém, para qualquer proteína é possível, geralmente, escolher-se uma seqüência de etapas de separação que irão resultar em um grau elevado de purificação e um alto rendimento. O objetivo geral é aumentar a pureza ou a afinidade biológica da proteína desejada por unidade de peso, pela eliminação das proteínas inativas ou indesejáveis, enquanto, ao mesmo tempo, eleva-se o rendimento ao máximo possível (LEHNINGER, 2002).

Fundamental para que uma extração de proteína seja possível e bastante completa é que a proteína seja dispersável, isto é, solúvel como colóide, o que muitas vezes é chamado, também de peptização. O dispersante pode ser água, uma solução de sal neutro fraco, uma solução ácida ou alcalina, ou um solvente orgânico. Depois da dispersão, precipita-se a proteína, a fim de separá-la de seu meio. Agente dispersante ou peptizante ideal é aquele que pode dispersar todas as proteínas sem

mudar a sua estrutura natural, isto é, sem desnaturá-las (REGULY, 1983 apud MORAES, 2009, p.25).

As proteínas mais utilizadas para a produção de isolados protéicos são as derivadas do leite, soja e carne (NEVES et al., 2004).

As proteínas de origem animal apresentam a vantagem de possuírem um elevado valor biológico, decorrente de uma alta sensibilidade à hidrólise e de uma composição balanceada em aminoácidos, particularmente daqueles que costumam ser os limitantes em proteínas de origem vegetal (BÁRZANA E GARIBAY, 1994 apud MORAES, 2009, p.34).

Segundo Rafael et al. (2009), o qual utilizou o método de extração de proteínas do frango por solubilização alcalina, ao empregar em seu estudo temperaturas relativamente altas houve uma solubilização da gordura o que dificultou a separação da mesma, segundo os mesmos autores menores temperaturas durante a extração das proteínas miofibrilares apresentaram um conteúdo de lipídeos reduzido porém em relação aos teores de proteína não houve diferença quanto a variações de temperatura.

O baixo conteúdo de lipídios possibilita que estes isolados protéicos sejam utilizados como ingredientes para produtos com baixo teor de gordura (LIANG e HULTIN, 2003).

Valores muito baixos de pH e temperatura elevada promovem a desnaturação da proteína. Sendo desejável reduzir a temperatura do processo, principalmente quando o pH da solução da proteína atingir valores abaixo de 2,0 (HULTIN & KELLEHER, 1999).

A necessidade da adição de cloreto de sódio para a solubilização das proteínas musculares contráteis é uma prática que vem sendo superada. Vários pesquisadores (WU et al., 1991; STEFANSSON & HULTIN, 1994; VENUGOPAL et al., 1995) têm demonstrado que, quando intensivamente lavadas, essas proteínas possuem elevada solubilidade em água. Wu et al. (1991) sugerem que as lavagens removem algumas proteínas solúveis, bem como outros componentes de baixo peso molecular, que possivelmente interagem com as proteínas miofibrilares, impedindo sua solubilização (MONTEREY & SOBRAL, 2000).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Matéria-Prima

Foram utilizados como matéria-prima filés de peito de frango congelados obtidos no comércio local da cidade de Campo Mourão, PR, Brasil. A matéria-prima foi armazenada em freezer doméstico à temperatura de -5 °C, até o seu processamento.

Para realização das análises físico-químicas todos os reagentes possuíam padrão analítico.

4.2 Desenvolvimento do Experimento

Para a realização do processo de extração das proteínas miofibrilares foram utilizados quatro diferentes experimentos os quais sofreram variações de tempo e temperatura de forma aleatória. Na Tabela 1 estão apresentadas as variações de tempo e temperatura dos quatro experimentos submetidos ao processo de extração das proteínas miofibrilares. Os valores de tempo e temperatura máximos utilizados no trabalho foram de 4 horas e 10 °C, respectivamente. Todas as análises foram realizadas com quatro repetições.

Tabela 1. Variações de tempo e temperatura dos experimentos.

Experimento	Tempo (horas)	Temperatura (°C)
1	4	5 °C
2	2	10 °C
3	3	2,5 °C
4	1	7,5 °C

4.2.1 Extração e Obtenção do Isolado Protéico

Os filés de peito de frango foram descongelados em geladeira a 5°C por aproximadamente 12 horas. Posteriormente realizou-se o refilê dos filés para remoção da gordura externa e do tecido conjuntivo visível e o músculo foi cortado manualmente no sentido transversal das fibras, em pedaços de aproximadamente 60 g, e foram embalados em filmes de PVC. Em seguida as amostras foram armazenadas a temperatura de -5° C em um congelador doméstico vertical (Marca Cônsul). Antes do processo de extração as amostras foram descongeladas sob refrigeração a 4 °C, por um período de 12 horas. As proteínas miofibrilares foram extraídas seguindo o método de Eisele & Brekke (1981), modificado por Souza, et al. (2009) o qual foi submetido a variações de tempo e temperatura (Tabela 1) para realização deste estudo.

Inicialmente, o músculo foi cortado em forma de cubos de aproximadamente 2 cm de aresta e triturado em um moedor de carne Modelo (Gural MGI-10). Em seguida, foi adicionado à carne moída, 6 vezes seu peso, de solução tampão (pH 7,0) fosfato de sódio 0,05 M ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$) e cloreto de sódio (NaCl) 0,1 M. Esse material foi misturado em um liquidificador por 90 segundos e posteriormente em um homogeneizador Agitador (Fisatom 713D), pelo período de tempo e temperatura pré determinado. Após esse tempo, o homogeneizado foi filtrado em tecido para eliminar o resíduo de tecido conjuntivo e centrifugado em uma centrífuga sob refrigeração a uma temperatura pré determinada (Modelo Nova Técnica NT 825) utilizando-se o rotor tipo GSA e uma velocidade rotacional de 6.000 rpm durante 20 minutos.

Seguindo-se o processo de re-extração, foi adicionado ao decantado, 1/3 de seu peso, de solução tampão (pH 7,0) fosfato de sódio 0,05 M ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$) e cloreto de sódio (NaCl) 2,4 M, sob agitação, para dispersar o resíduo. Então foi adicionado 1 a 2 vezes, o peso do resíduo inicial, de solução tampão (pH 7,0) fosfato de sódio 0,05M ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$) e cloreto de sódio (NaCl) 0,6M, mantendo-se sob agitação mecânica em Agitador (Fisatom 713D), durante 1 hora. Após a agitação adicionou-se a mistura, 7 vezes seu peso, água destilada refrigerada, sob agitação seguida de centrifugação a 6.000 rpm por 20 a 30 min, descartando-se o sobrenadante. Os resíduos constituídos de proteínas miofibrilares foram

encaminhadas para posterior análise do teor de proteína bruta e umidade afim de comparar qual dos quatro experimentos obteve uma maior porcentagem de extração. Feito isto, repetiu-se o experimento de melhor rendimento para determinação de sua composição proximal.

4.2.2 Composição Proximal

4.2.3 Umidade

Utilizou-se a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2005) para a determinação de umidade. Inicialmente pesou-se aproximadamente 0,3 g das amostras em cadinhos de porcelana, previamente calcinados em mufla a 600 °C de massa conhecida. Para a determinação gravimétrica da umidade levou-se os cadinhos para a estufa a 105°C por 4 horas. Posteriormente, deixou-se esfriar em dessecador com sílica gel, e em seguida, pesou-se, repetiram-se as operações de aquecimento e resfriamento até que se obtivesse peso constante.

4.2.4 Cinzas

Na determinação gravimétrica de cinzas foi utilizado a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2005), onde as amostras em que se realizaram a determinação de umidade, primeiramente foram carbonizadas em bico de Bunsen. Em seguida, elas foram levadas à incineração em mufla a 600°C durante 6 horas ou até a obtenção de uma cinza clara (sinal da ausência completa de matéria orgânica). Esfriou-se em dessecador e determinou-se o peso da cinza.

4.2.5 Proteínas

Para realização da análise do teor de proteína bruta segundo o método semi-micro Kjeldahl (n° 928.08) conforme técnicas da AOAC (CUNNIFF, 1998),

foram pesados 0,3 g das amostras e transferidas para um tubo digestor, a qual foram adicionados cerca de 0,2 g de mistura catalítica (100 partes de Na_2SO_4 anidro, 1,0 parte de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ e 0,8 parte de selênio metálico em pó) e 10 mL de ácido sulfúrico concentrado. Em seguida, os tubos foram levados ao bloco digestor, utilizando-se de uma rampa de aquecimento com percentagens de potência, variando de 30, 50 e 70%, em um tempo de 20 minutos cada e mais 40 minutos para resfriar. Após o resfriamento à temperatura ambiente, foi realizada a destilação em destilador de nitrogênio, onde através da reação com hidróxido de sódio 40%, todo nitrogênio contido na amostra foi convertido em amônia, coletada em erlenmeyer contendo solução de ácido bórico 4% e indicador verde de bromocresol. A solução resultante foi titulada com ácido clorídrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ padrão.

4.2.6 Lipídeos

A determinação do teor de lipídios realizou-se de acordo com o proposto por Bligh e Dyer (1959). Pesou-se aproximadamente 15 g das amostra, num béquer onde foram adicionados 30 mL de metanol, agitou-se mecanicamente por 2 minutos e em seguida, acrescentou-se 15 mL de clorofórmio. Agitou-se mecanicamente por 5 minutos. Acrescentou-se mais 15 mL de clorofórmio e agitou-se mecanicamente por mais 2 minutos, em seguida adicionou-se 15 mL de água destilada e agitou-se mecanicamente por mais 5 minutos. A amostra foi filtrada em funil de Büchner, o resíduo foi lavado com mais 10 mL de clorofórmio e agitado por mais 5 minutos. O resíduo lavado foi filtrado, e lavou-se novamente o béquer com mais 10 mL de clorofórmio. O filtrado foi recolhido num funil de separação de 250 mL. Após a separação das fases recolheu-se a inferior que contém o clorofórmio com o lipídio, em balão de fundo chato devidamente pesado, a fase superior que contém metanol, água e outros compostos polares foi descartada. O solvente foi evaporado em evaporador rotatório a vácuo, com aquecimento de $35 \text{ }^\circ\text{C}$ até sua completa secagem. O resíduo de solvente com lipídio foi terminado de evaporar em estufa a 105°C durante 4 horas. Posteriormente os balões com lipídios foram pesados e os lipídios determinados gravimetricamente.

4.3 Análise Estatística

Os resultados dos testes físico-químicos foram submetidos a ANOVA e teste de TUKEY para comparação de médias. O nível de significância utilizado para os testes estatísticos foi de 5%. Utilizou-se o programa Statistica 7.0 (STATSOFT, 2006).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Desenvolvimento Experimental

Foram determinados os teores de proteína e umidade dos quatro experimentos (Tabela 1) no qual estudou-se a variação de algumas faixas de tempo e temperatura para o processo de extração e obtenção do isolado protéico. Os resultados estão apresentados na Tabela 2:

Tabela 2. Teores de proteína e umidade dos quatro experimentos.

Experimentos	Tempo (horas)	Temperatura (°C)	Proteína Bruta (%)	Umidade (%)
1	4	5 °C	12,98 ^a ±0,31	85,82 ^a ±0,23
2	2	10 °C	12,58 ^a ±0,28	86,30 ^a ±0,85
3	3	2,5 °C	12,68 ^a ±0,37	85,99 ^a ±0,41
4	1	7,5 °C	11,01 ^b ± 0,75	87,84 ^b ±0,38

Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Os teores de proteína e umidade foram submetidos a análise de variância e teste de Tukey ($p \leq 0,05$), diante destes resultados verificou-se que apenas o experimento de número 4 diferiu-se estatisticamente dos experimentos 1, 2 e 3 tanto em relação ao teor de proteína extraída, quanto aos valores de umidade.

Nas figuras 3 e 4 estão apresentados os resultados da análise estatística sobre a influência do tempo no processo de extração e obtenção do isolado protéico em relação ao teor de proteína e a porcentagem de umidade obtido nos experimentos avaliados.

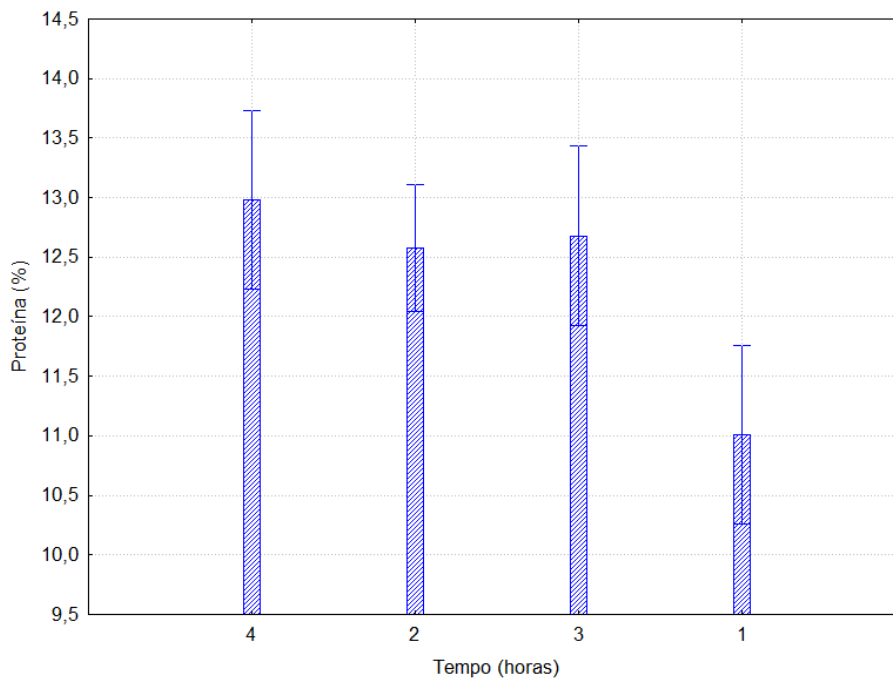


Figura 3. Diagrama dos teores de proteína (%) de acordo com as faixas de tempo estudadas.

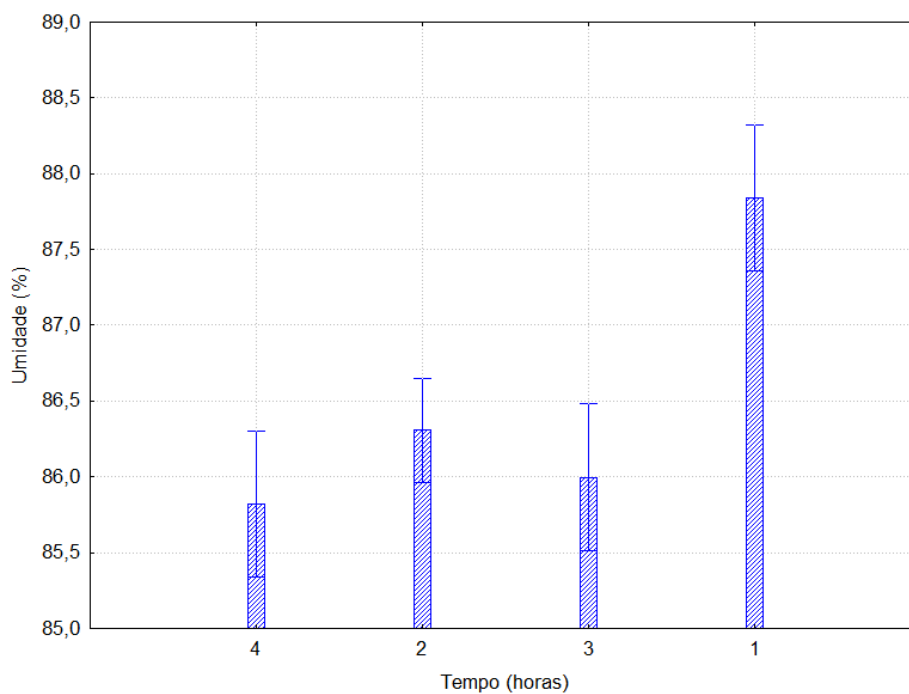


Figura 4. Diagrama dos teores de umidade (%) nos intervalos de tempo de 1, 2, 3 e 4 horas de extração estudadas.

Nas Figuras 3 e 4 pode-se verificar que apenas o experimento realizado com tempo de 1 hora de extração houve variação estatística em relação aos teores de proteína e umidade. Os tempos de 4 horas, 3 horas e 2 horas não diferiram entre si em relação aos quesitos avaliados.

Nas Figuras 5 e 6 estão apresentados os resultados da análise estatística sobre a influência da temperatura no processo de extração e obtenção do isolado protéico, em relação ao teor de proteína e a porcentagem de umidade obtido nos experimentos avaliados.

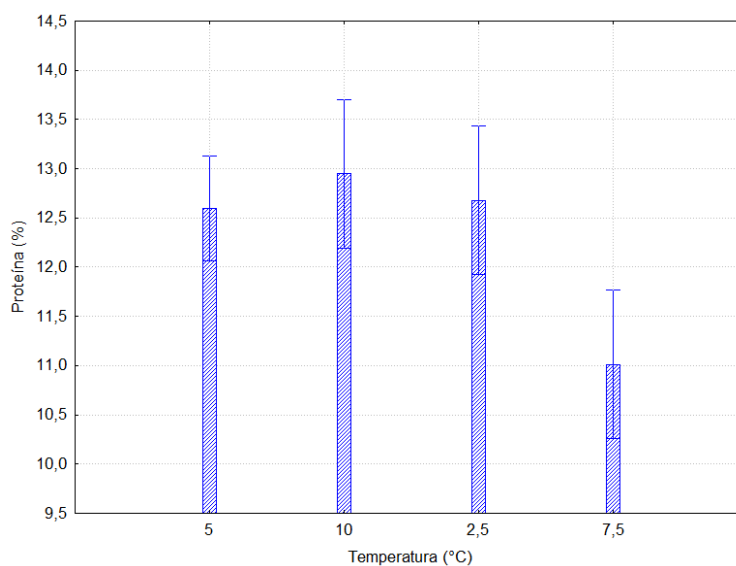


Figura 5. Diagrama do teor de proteína extraída nos valores de temperatura de 2,5, 5, 7,5 e 10°C.

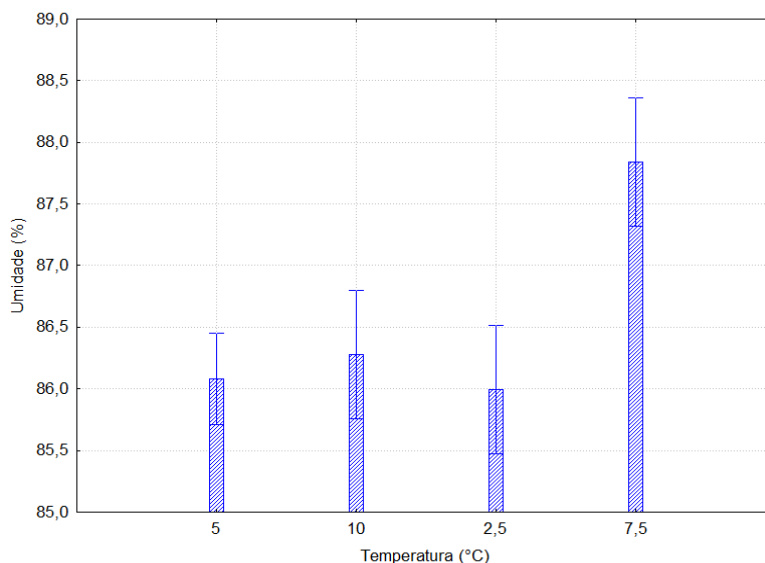


Figura 6. Diagrama do teor de umidade do extrato protéico nos valores de temperatura de 2,5, 5, 7,5 e 10°C.

Conforme pode ser observado houve uma correlação negativa entre umidade e proteína (Tabela 7). Porém, acredita-se que apenas o tempo e não a temperatura foi o fator primordial para que ocorresse um maior teor de proteína extraída em função de uma menor umidade obtida.

Como não houve diferença significativa entre os experimentos 1, 2, 3 optou-se pelo experimento de menor tempo de extração (experimento de número 2) e repetiu-se para a realização da composição proximal do isolado protéico, experimento o qual foram utilizados os valores de tempo de extração de 2 horas e temperatura de 10 °C, valores estes similares aos utilizados por Souza, et al. (2009).

Tabela 7. Coeficiente de correlação entre Umidade e Proteína.

Variáveis	Médias	Desvio padrão	Proteína	Umidade
Proteína	12,36550	0,963718	1,000000	-0,671504
Umidade	86,45500	0,847563	-0,671505	1,000000

5.2 Composição Proximal

Na Tabela 8 são apresentados valores referentes à composição proximal do extrato proteico obtido através do experimento de número dois.

Tabela 8. Valores médios da Composição Proximal do isolado protéico.

Parâmetros	Proteína (%)	Lipídeos (%)	Umidade (%)	Cinzas (%)
2 horas – 10°C	12,97±0,32	1,46±0,18	85,21±0,12	0,62±0,27

Conforme pode ser observado na Tabela 8, os teores de proteína, lipídeos, umidade e cinzas do isolado protéico úmido foram de 12,97%, 1,46%, 85,21% e 0,62% respectivamente. Acredita-se que se o isolado protéico passasse por um processo de secagem, como por exemplo a liofilização, o teor de proteína extraída seria de aproximadamente 87,69%, este valor corrobora com valores obtidos por SOUZA, et al. (2009) que foi de 84,3% de concentração das proteínas miofibrilares liofilizadas ao utilizar o músculo bovino *Semitendinosus*.

Estes resultados mostram a eficiência da metodologia empregada e demonstram-se inclusive superiores ao comparar esta metodologia com a empregada por Stanley, Stone & Hultin (1994) a qual utilizou-se de um método de centrifugação diferencial, com solução iônica (30mM), onde foi possível obter valores de 70,2% de concentração protéica ao também utilizar filés de peito de frango.

Por outro lado o valor de proteínas determinado neste trabalho bem como os valores obtidos por Souza, et al. (2009) se demonstraram inferiores aos obtidos por Sobral, Ocuno & Savastano Jr (1998) o qual obteve 92,5% de concentração protéica trabalhando com proteínas miofibrilares de carne bovina extraídas da paleta de forma semelhante ao preparo de surimi.

6. CONCLUSÃO

Os resultados apresentados neste trabalho demonstram que houve uma correlação negativa entre umidade e proteína, e acredita-se que apenas o tempo de extração e não a temperatura influenciou no teor de proteína e umidade do isolado extraído. O teor médio de proteína do isolado protéico úmido foi de 12,97%, estimando-se que este teor seria de aproximadamente 87,69% se o isolado protéico passasse por um processo de secagem.

REFERÊNCIAS

ALVES D. D.; GOES R. H. T. B.; MANCIO A. B. Maciez da Carne bovina. **Ciência Animal Brasileira** v. 6, n. 3, 2005.

BEEF POINT. **Carne de frango deve se tornar a mais consumida do mundo, ultrapassando a carne suína.** Disponível em: <<http://www.beefpoint.com.br/cadeia-produtiva/carne-de-frango-deve-se-tornar-a-mais-consumida-do-mundo-ultrapassando-carne-suina-entenda-porque/>>. Acesso em: 02 Jan. 2013.

BLEIL, S. I. O padrão alimentar ocidental: considerações sobre a mudança de hábito no Brasil. **Caderno de Debates UNICAMP**, Campinas, v. 6, p. 1-25, 1998.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. **A rapid method of total lipid extraction and purification.** Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, v. 37, n.8, p. 911-917, 1959.

BOMPA, T. O.; CORNACCHIA, L. J. **Treinamento de força consciente.** São Paulo: Editora Phorte, 2000.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Ministério da Saúde, **Portaria nº 222, de 24 de Março de 1998.** Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/222_98.htm>. Acesso em: 11 Jan. 2013.

CUNNIF, P. A. (Official Methods of Analysis of AOAC International (6th Ed.) Arlington: **Association of Official Analytical Chemists.** 1998.

CURSO CONHECENDO A CARNE QUE VOCÊ CONSOME, 1., 1999, Campo Grande. **Qualidade da carne bovina.** Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 1999. 25p.

DUARTE, F. O. S. **Fatores relacionados a maciez da carne**. Seminários aplicados do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. Universidade Federal de Goiás, 2011.

EISELE, T. A.; BREKKE, C. J. Chemical and Modification and Functional Properties of Acylated Beef Heart Myofibrillar Proteins. **Journal of Food Science**, v. 46, n. 4, p. 1095-1102, jul./ago. 1981.

GUIMARÃES J. L.; ADELL E. A .A. Estrutura e bioquímica do músculo. Apostila do laboratório de carnes. Unicamp, 1995.

HULTIN, H. O.; KELLEHER, S. D. **Process for isolating a protein composition from a muscle source and protein composition**. U. S. patent 6005073, 1999.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v. 1: *Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*, 3. ed. Sao Paulo: IMESP, 2005. p. 347-402.

LIANG, Y.; HULTIN, H. O.; Functional protein isolates from mechanically deboned turkey by alkaline solubilization with isoelectric precipitation. **Journal of Muscle Foods**. 195-205, 2003.

LIMA, M. R.; SILVA, V. P. A D.; FURTADO, R. F.; ALVES, C. R.; GUEDES, M. I. F.; DUTRA, R. A. F. **Purificação de ricina a partir de saturação com sulfato de amônio**. III Congresso Brasileiro de Mamona. Salvador, 2008.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de Bioquímica**. 3. ed. São Paulo: Savier, 2002.

MARTINS, V. G.; COSTA, J. A. V.; PRENTICE, C. H. Hidrolisado protéico de pescado obtido por vias química e enzimática a partir de corvina (*Micropogonias furnieri*). **Quím. Nova**, São Paulo, v. 32, n. 1, 2009 .

MONTERREY, Q. E. S.; SOBRAL, P. J. A. Preparo e Caracterização de Proteínas miofibrilares de tilápia-do-nilo parágrafo elaboração de biofilmes. **Pesq. agropec. bras.[online]**. vol.35, n.1, pp 179-189, 2000.

MORAES, K. S. **Recuperação e utilização de proteína da carne de frango por processo de mudança de pH.** Dissertação (Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Escola de Química e alimentos. Universidade federal do Rio grande. Rio grande, RS, 2009.

MOREIRA, R. S. R.; ZAPATA, J. F.F.; FUENTES, M. F. F.; SAMPAIO, E. M.; MAIA, G. A. **Efeito da restrição de vitaminas e minerais na alimentação de frangos de corte sobre o rendimento e a composição da carne.** Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas, v. 18, n. 1, Apr. 1998 . Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20611998000100017>. Acesso em: 07 Jan. 2013.

NEVES, R. A. M.; DE MIRA, N. V. M.; MARQUEZ, U. M. L. Caracterização de hidrolisados enzimáticos de pescado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos.** v. 24, n. 1, p. 101-108, 2004.

PROUDLOVE, K. **Os Alimentos em debate: Uma visão Equilibrada.** São Paulo: Varela, 1996.

RAFAEL, R.; MORAES, K.; PRENTICHE-HERNANDEZ, C.; FLORES, J.; SIMOES, L. **EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS DE FRANGO POR SOLUBILIZAÇÃO ALCALINA.** XVII Congresso de iniciação Científica - X Encontro de Pos-Graduação, Rio Grande, 2008.

ROÇA, R. O. **Tecnologia da carne e produtos derivados.** Departamento de Gestão e Tecnologia Agroindustrial, FCA. Botucatu: UNESP, 2000.

SARCINELLI M. F.; VENTURINI K. S.; SILVA L. C. **Estrutura da Carne.** Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, 2007.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações, modificações.** São Paulo: Varela, 1996.

SILVA, L. F.; FABRINI FILHO, L. C. Complexo avícola e questões sobre hábito alimentar. **Caderno de Debate UNICAMP**, Campinas, v. 2, p. 41-61, 1994.

SOBRAL, P.J.A.; OCUNO, D.; SAVASTANO JR., H. Preparo de Proteínas Miofibrilares de Carne e Elaboração de Biofilmes com Dois Tipos de Ácidos: Propriedades Mecânicas. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 1, n. 1/2, p. 44-52, 1998.

SOUZA, S. M. A.; SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C. Extração de proteínas miofibrilares de carne bovina para elaboração de filmes comestíveis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 2004.

STANLEY, D.W.; STONE, A.P.; HULTIN, H.O. Solubility of Beef and Chicken Myofibrillar Proteins in Low Ionic Strength Media. **Journal Agricultural of Food Chemistry**, v. 42, n. 4, p. 863-867, 1994.

STATSOFT, 2006 StatSoft. 2006. Statistica Version 7.0. StatSoft, Tulsa.

STEFANSSON, G.; HULTIN, H.O. On the solubility of cod muscle proteins in water. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 1994.

TONETTI, C. R.; NICOLETI, J. F.; NICOLETI, J. F. **Determinação físico-química da carne de frango**. XVII Seminario de iniciacao Cientifica e Tecnologica da UTFPR, Apucarana, 2012.

VENUGOPAL, V.; MARTIN, A.M.; PATEL, T.R.; VASANTHAN, T.; OMAR, S. Rheological and solubility characteristics of washed Capelin (*Mallotus villosus*) mince in water. **Journal of Food Biochemistry**, 1995.

UBABEF. **Relatório Anual 2013**. Disponível em: <
<http://www.ubabef.com.br/files/publicacoes/732e67e684103de4a2117dda9ddd280a.pdf>>. Acesso em: 02 Jan. 2013.

WU, Y.J.; ATALLAH, M.T.; HULTIN, H.O. The proteins of washed, minced fish muscle have significant solubility in water. **Journal of Food Biochemistry**, 1991.