

UTILIZACIÓN DE TRIPOLIFOSFATO COMO ANTICOAGULANTE Y SU EFECTO SOBRE LAS PROPIEDADES EMULSIFICANTES DEL PLASMA

Trypolyphosphate as anticoagulant and its effect on the emulsifying properties of plasma

Lisbeth Rangel
Anangelina Archile
Osiris Castejón
Pedro Izquierdo
Enrique Márquez

Unidad de Investigación en Ciencia y Tecnología de los Alimentos
Facultad de Veterinaria. LUZ.

RESUMEN

La utilización masiva del plasma como fuente proteica en la formulación de alimentos para consumo humano, crea la necesidad de buscar anticoagulantes más económicos que los citratos. Los fosfatos son componentes naturales de casi todos los alimentos y son capaces de reaccionar con cationes polivalentes tales como el calcio, el cual juega un papel muy importante en el proceso de coagulación de la sangre. En este trabajo se midió la eficiencia del tripolisfosfato (TP) como anticoagulante a diferentes concentraciones y su efecto en las propiedades emulsificantes del plasma de ave, cerdo y bovino. Se evaluó el efecto de las condiciones de almacenamiento (fresco o congelado) al cual se sometieron los plasmas. Los resultados indicaron que el TP es muy efectivo como anticoagulante. En concentración de 0,2% en sangre evita la coagulación de la sangre de cerdo y bovino, mientras que para ave sólo se necesita el 0,1%. La capacidad y estabilidad de las emulsiones no se vieron afectadas por la adición de TP ni por las condiciones de almacenamiento, pero sí por la especie. El plasma de ave posee menor contenido proteico, capacidad y estabilidad de las emulsiones. El plasma de cerdo posee una capacidad de emulsificación mayor que el de bovino.

Palabras claves: Tripolifosfato, plasma, proteína, emulsificación.

ABSTRACT

The massive utilization of plasma as a protein source in the formulation of human food bring about the need to search for economical anticoagulants. Phosphates are natural components of almost all foods and react with polyvalent cations such as Calcium which play an important role in the blood coagulation process. In this work the efficiency of the tripolyphosphate (TP) as anticoagulant and its effect on the emulsifying properties of the plasma was evaluated. The effect of storage condition (refrigerated and frozen) on the functional properties of the plasma was also evaluated. Results indicated that TP is an effective anticoagulant. At concentration of 0.2% in blood avoids pig or bovine blood coagulation. Poultry blood only needed 0.1% of TP to avoid coagulation. No differences were observed on the capacity and stability of the plasma emulsions neither by the use of TP or by storage conditions, but by the species. Poultry blood plasma showed lower protein content, emulsifying capacity and emulsion stability than pig and bovine blood plasma. Pig blood plasma has higher emulsion capacity than bovine blood plasma.

Key words: Trypolyphosphate, plasma, proteins, emulsification.

INTRODUCCIÓN

Desde el punto de vista de su valor nutritivo, la sangre ha sido comparada con las carnes, la leche y los huevos. Ella posee un 18% de proteínas y tiene dos de los aminoácidos

esenciales que requiere el hombre para su normal funcionamiento [15].

Debido a su valor nutritivo, se ha propuesto la utilización de las proteínas sanguíneas en la formulación de alimentos concentrados para consumo animal, en la formulación de medios de cultivo y en fórmulas alimenticias para consumo humano [2,11,12,15].

El color y olor de la sangre limitan su utilización para la elaboración de alimentos destinados a la ingesta humana, por lo que se ha propuesto la separación de la estructura globular dejando solamente el plasma, el cual posee aproximadamente 7% de proteínas de alto valor biológico [2].

Las proteínas del plasma en polvo de bovino tienen propiedades emulsificantes y gelantes; se ha demostrado que éstas pueden ser incorporadas en alimentos [3,7,8]. Sin embargo, el secado por calor es un proceso que incrementa los costos de producción. Como alternativa para los países en desarrollo, se plantea la posibilidad de utilizar el plasma líquido en sustitución del plasma en polvo. Para esto se hace necesario conocer mejor las propiedades funcionales del plasma.

La utilización masiva del plasma, crea la necesidad de buscar anticoagulantes económicos. Los fosfatos son componentes naturales de casi todos los alimentos y son utilizados como aditivos en la industria cárnica y láctea, pero debido a su carácter altamente negativo, los fosfatos pueden reaccionar con cationes polivalentes tales como el calcio, el que juega un papel muy importante en el proceso de coagulación de la sangre.

El objetivo de este trabajo es el de evaluar la posibilidad de utilizar el tripolifosfato de sodio como anticoagulante y estudiar las propiedades emulsificantes de plasmas de diferentes especies a diferentes condiciones de almacenamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvo sangre fresca de bovino y porcino de un matadero de la localidad (Frigorífico Industrial Bolívar), en tanto que la sangre de ave fue proporcionada por la Empacadora de Occidente (NUTRICO). La muestra fue recolectada en envases limpios que contenían 10 ml de anticoagulante para cada 100 ml de sangre al momento de ser sacrificado el animal. Los anticoagulantes utilizados fueron citrato de sodio y tripolifosfato de sodio a las siguientes concentraciones: 0.1, 0.15 y 0.2 g/100 ml de sangre. Las muestras se llevaron al laboratorio donde se mantuvieron a 4°C durante 24 horas. Después de este tiempo se procedió a observar la posible presencia de coágulos en cada uno de los distintos tratamientos. Los tratamientos con presencia de coágulos fueron descartados, y a los que no los poseían se les separó el plasma mediante centrifugación a 3.500 rpm durante 20 minutos. Al plasma fresco se le determinó pH, proteína, humedad, capacidad y estabilidad de emulsión; en tanto que otra parte del plasma se congeló por

48 horas, tiempo al cual se le realizó las pruebas de capacidad y estabilidad de emulsión.

Determinación del pH, proteína y humedad de los plasmas

El pH de los plasmas fue medido directamente utilizando un potenciómetro Metrohm 620 pH-Meter. Un buffer estándar de pH 7.0 fue utilizado para calibrar el aparato.

El contenido proteico se determinó utilizando el método de Biuret. Para transformar la absorbancia en concentración de proteínas se utilizó una curva patrón de albúmina a concentraciones de 1, 0.75, 0.50 y 0.25%.

La humedad se determinó mediante el secado en horno [1].

Capacidad de emulsificación

Para medir la capacidad de emulsificación se colocaron 20 ml de aceite vegetal en una licuadora, se agregó 40 ml de agua conteniendo entre 1.0 y 3.0 ml de plasma de acuerdo a la especie estudiada, se mezcló durante 2 minutos; se dejó en reposo y se midió los mililitros de plasma o miligramos de proteína necesarios para emulsificar 1 ml de aceite y mantener la emulsión estable por un tiempo mayor de 3 minutos.

Determinación de la estabilidad de las emulsiones

La emulsión se preparó mezclando 40 ml de plasma (diluido al 33%) con 20 ml de aceite vegetal, se mezcló en licuadora durante dos minutos manteniendo la temperatura por debajo de 20°C.

Para medir la estabilidad, se colocaron 10 ml (Volumen Inicial) de la emulsión en un tubo de centrifuga, procediendo a centrifugar a 3.000 rpm durante 1.5 minutos y se midió el volumen de líquido separado de la emulsión. La estabilidad se calculó utilizando la fórmula propuesta por Feeney y col. [5]:

$$EE = \frac{\text{Volumen Final de la Emulsión}}{\text{Volumen Inicial de la Emulsión}} \times 100$$

Donde:

EE = Estabilidad de la Emulsión

Volumen Final = Volumen Inicial - Volumen de Líquido Separado de la Emulsión

Análisis estadístico

El análisis estadístico para medir la efectividad del anticoagulante se fundamentó en la prueba Ji-cuadrada de Mantel-Haenszel para analizar tablas de contingencias múltiples [10].

El efecto del tipo de plasma, condiciones de almacenamiento y tipo de anticoagulante se midió utilizando un arreglo factorial. Los datos obtenidos en el estudio se analizaron utilizando el procedimiento SAS PROC GLM [14]. Las medias se

TABLA I

EFECTO DEL TIPO Y CONCENTRACIÓN DE ANTICOAGULANTE SOBRE LA SANGRE DE BOVINO

Concentración Anticoagulante (g/100 ml de sangre)	Anticoagulante	Coagulación		
		Sí	No	Total
0.10	Citrato	10 (100%)	0	10
	Fosfato	13 (100%)	0	13
	Total	23	0	23
0.15	Citrato	9 (82%)	2	11
	Fosfato	10 (100%)	0	10
	Total	19	2	21
0.20	Citrato	0 (0%)	10	10
	Fosfato	0 (0%)	10	10
	Total	0	20	20
Total		42	22	64

compararon utilizando el procedimiento de Tukey. Diferencias entre medias se aceptaron a un nivel de 5% de probabilidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las TABLAS I, II y III, se muestra la eficiencia del tripolifosfato de sodio como anticoagulante y su concentración óptima en la sangre de diferentes especies animales. Se utilizó el citrato de sodio como control.

La sangre de cerdo y bovino se comportó de manera similar ante el tipo y concentración de los anticoagulantes utilizados, TABLAS I y II. Ambas coagularon a concentración de 0.1 y 0.15 g/100 ml de sangre, independientemente del anticoagulante utilizado. La concentración óptima fue de 0.2 g/100 ml de sangre.

La sangre de ave se comportó de manera diferente, TABLA III, demostrándose que una concentración de 0.1 g/100 ml de sangre es suficiente para evitar su coagulación, independientemente del tipo de anticoagulante utilizado. Estos resultados indican que el tripolifosfato de sodio es tan eficiente como el citrato de sodio.

Es importante señalar que el precio del tripolifosfato de sodio es inferior al del citrato y además, que el tripolifosfato es comúnmente utilizado en la formulación de alimentos para consumo animal y humano. En la industria cárnica es utilizado para la extracción de proteínas miofibrilares [6]. También es

TABLA II

EFECTO DEL TIPO Y CONCENTRACIÓN DE ANTICOAGULANTE SOBRE LA SANGRE DE CERDO

Concentración Anticoagulante (g/100 ml de sangre)	Anticoagulante	Coagulación		
		Sí	No	Total
0.10	Citrato	10 (100%)	0	10
	Fosfato	13 (100%)	0	13
	Total	23	0	23
0.15	Citrato	9 (82%)	2	11
	Fosfato	8 (80%)	2	10
	Total	17	4	21
0.20	Citrato	0 (0%)	10	10
	Fosfato	0 (0%)	10	10
	Total	0	20	20
Total		40	24	64

TABLA III

EFECTO DEL TIPO Y CONCENTRACIÓN DE ANTICOAGULANTE SOBRE LA SANGRE DE AVE

Concentración Anticoagulante (g/100 ml de sangre)	Anticoagulante	Coagulación		
		Sí	No	Total
0.10	Citrato	0 (0%)	10	10
	Fosfato	0 (0%)	13	13
	Total	0	23	23
0.15	Citrato	0 (0%)	11	11
	Fosfato	0 (0%)	10	10
	Total	0	21	21
0.20	Citrato	0 (0%)	10	10
	Fosfato	0 (0%)	10	10
	Total	0	20	20
Total		0	64	64

utilizado como antioxidante debido a que su estructura aniónica le permite reaccionar con cationes como el hierro, evitando que éste pueda ejercer su efecto catalizador de la reacción de oxidación de los lípidos [13]. Esta estructura aniónica del tripolifosfato le permite atrapar al calcio, y pudiera ser una de las razones de su efecto como anticoagulante.

En la TABLA IV se muestran los valores promedio de proteína, pH y humedad de los plasmas de diferentes especies. El plasma de ave presenta un porcentaje de proteína (4.34), significativamente menor a los valores obtenidos para los plasmas de cerdo (7.26) y bovino (7.6). No se observaron diferencias significativas entre los valores proteicos de estos dos últimos tipos de plasmas.

En relación a los valores de humedad, se observa que el plasma de ave presentó el mayor ($P < 0.05$) porcentaje (95.31), no observándose diferencias significativas entre los plasmas de cerdo y bovino.

En cuanto al pH de los diferentes plasmas, se obtuvo un valor de 7.7 para aves, 7.7 para cerdos y 7.5 para bovinos, no existiendo diferencia ($P > 0.05$) entre ellos.

Los resultados demuestran que el plasma de ave contiene menos proteína y más humedad que los plasmas de cerdo y bovino.

Los valores promedios de la capacidad y estabilidad de la emulsión formada con plasmas de diferentes especies se presentan en la TABLA V. Los resultados indican que la capacidad de emulsificación se ve afectada por el tipo de plasma utilizado. Se necesitó menor cantidad de plasma de cerdo (0.061 ml) que de bovino (0.075 ml) o ave (0.143 ml) para emulsificar la misma cantidad de aceite. Cuando los resultados se expresaron en términos de mg de proteína/ml de aceite, se observó nuevamente una mayor eficiencia en el plasma de cerdo, ya que sólo se necesitó 4.40 mg de proteína de cerdo para emulsificar un ml de aceite, mientras que de bovino y ave se necesitaron 5.70 mg y 6.50 mg, respectivamente. Sin embargo, es importante mencionar que las diferencias en la capacidad de emulsificación son mucho menores cuando son comparadas en función de mg de proteínas que cuando se comparan en función de mililitros de plasma, lo que parece indicar que las proteínas del plasma de ave son emulsificadores tan eficientes como las de plasma de cerdo y bovino. Estos resultados sugieren que el plasma de cerdo posee una capacidad de emulsificación mayor que el de bovino y éste a su vez, mayor que el de ave.

La estabilidad de la emulsión se expresó como el porcentaje de emulsión que quedó estable después que la misma ha sido sometida a centrifugación. Los resultados demuestran que la estabilidad de la emulsión fue significativamente menor (92.5) cuando se utilizó plasma de ave, no encontrándose diferencias entre el plasma de bovino y cerdo.

Las proteínas debido a su estructura anfipática son conocidas como buenos emulsificadores [4]. En las emulsiones

TABLA IV

VALORES PROMEDIO DE PROTEÍNAS, pH Y HUMEDAD DE PLASMAS DE DIFERENTES ESPECIES DE ANIMALES

	Ave	Cerdo	Bovino
Proteína	4.57 ^a	7.26 ^b	7.6 ^b
Humedad	95.31 ^a	92.10 ^b	91.67 ^b
pH	7.7	7.7	7.5

TABLA V

VALORES PROMEDIO DE LA CAPACIDAD Y ESTABILIDAD DE LA EMULSIÓN FORMADA CON PLASMAS DE DIFERENTES ESPECIES DE ANIMALES

Características	Tipo de plasmas		
	Ave	Cerdo	Bovino
Capacidad de emulsificación			
ml de plasma/ml aceite	0.143 ^a	0.061 ^b	0.075 ^c
mg proteína/ml de aceite	6.500 ^a	4.400 ^b	5.700 ^c
Estabilidad de la emulsión, %	92.50 ^a	96.60 ^b	96.70 ^b

^{a,b} Medias en una misma fila que posean diferentes super índices difieren significativamente ($P < 0.05$)

del tipo aceite en agua, las proteínas son importantes debido a su tendencia a localizarse en la interfase, disminuyendo la tensión superficial que se origina entre el aceite y el agua, de allí la facilidad que tienen para estabilizar la emulsión. La estabilidad indica la duración de la emulsión, sin que exista separación de fases [9].

La menor capacidad y estabilidad de la emulsión formada con plasma de ave pudiera deberse a que presenta una cantidad inferior de proteínas en comparación a la cantidad que presenta el plasma de bovino y cerdo, TABLA IV. Estos resultados sugieren la necesidad de aumentar el volumen de plasma de ave para obtener una emulsión con la misma estabilidad que la obtenida con plasma de cerdo o bovino.

En la TABLA VI se presentan los valores promedios de la capacidad y estabilidad de la emulsión según el anticoagulante utilizado (citrato o fosfato) y según la condición de almacenamiento del plasma (fresco o congelado). Los resultados demuestran que ni la capacidad de emulsificación ni la estabilidad de la emulsión formada, se ven afectadas por el tipo de anticoagulante o por las condiciones de almacenamiento de plasma, independientemente del tipo de plasma utilizado.

TABLA VI

VALORES PROMEDIO DE LA CAPACIDAD Y ESTABILIDAD DE LA EMULSIÓN EN BASE AL TIPO DE ANTICOAGULANTE Y CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO DEL PLASMA

Características	Tipo de anticoagulante		Condiciones de almacenamiento	
	Citrato	Fosfato	Fresco	Congelado
Capacidad de emulsificación				
ml plasma/ml aceite	0.0958	0.0956	0.0958	0.0957
mg proteína/ml aceite	5.590	5.650	5.960	5.640
Estabilidad de la emulsión	95.40%	95.20%	95.40%	95.30%

La capacidad de emulsificación, expresada como mg de proteína por ml de aceite emulsificada, fue de 5.65 cuando se utilizó tripolfosfato y de 5.59 cuando se utilizó citrato, no encontrándose diferencias significativas. Por otro lado, la emulsión formada con plasma obtenido con el citrato de sodio, obtuvo un 95.4% de estabilidad, en tanto que la emulsión formada con el plasma obtenido con tripolfosfato de sodio, fue de 95.2%.

La utilización de ciertos reactivos químicos pueden causar una modificación del pH original del plasma creando un estado de desnaturalización en la estructura proteica, cuya intensidad relativa determina su reversibilidad. La desnaturalización puede ser observada por el cambio de ciertas propiedades, entre las cuales se encuentra la disminución en la capacidad y estabilidad de una emulsión [9].

Debido a que la sangre posee un efecto buffer, el pH del plasma no se vio alterado por el pH de los anticoagulantes utilizados (citrato de sodio pH = 8.1 o tripolfosfato de sodio pH = 8.4). La ausencia de variación en el pH pudiera explicar el hecho de que no se observaran diferencias en la capacidad y estabilidad de la emulsión debido al tipo de anticoagulante.

El uso de plasma fresco originó una capacidad de emulsificación de 5.96, mientras que la del plasma congelado fue de 5.64 expresado en mg de proteína/ml de plasma. El porcentaje de estabilidad de la emulsión fue de 95.4% para el plasma fresco y de 95.3% para el plasma congelado.

La congelación pudiera ser un factor que altere el funcionamiento de las proteínas presentes en el plasma; sin embargo, los resultados obtenidos demuestran que no hubo variación en el porcentaje de la estabilidad de la emulsión al utilizar plasma congelado.

Estos resultados son de gran importancia puesto que indican la posibilidad de almacenar el plasma congelado por cierto tiempo sin alterar sus propiedades emulsificantes.

CONCLUSIONES

El tripolfosfato de sodio resultó eficaz como anticoagulante a una concentración de 2% para bovino y cerdo, y de 1% para ave.

El plasma de ave mostró mayor contenido de humedad, menor contenido proteico y menor capacidad y estabilidad de emulsión. No se encontró diferencia significativa entre los plasmas de cerdo y bovino. El plasma de cerdo posee una capacidad de emulsificación mayor que el de bovino.

Las propiedades de emulsificación de los plasmas estudiados no se ven afectadas por el tipo de anticoagulante utilizado, ni por las condiciones de almacenamiento.

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 proyecto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AOAC. "Official Methods of Analysis". Assoc. Official Analytical Chemists, Washington, D C. 1980.
- [2] Barboza, Y., Márquez, E.J., Arias, B., Faría, J. y Castejón, O. Utilización de Plasma Sanguíneo de Bovino como Fuente Proteica en la Formulación de un Medio de Cultivo para Lactobacilos. Revista Científica, FCV-LUZ 4:55, 1994.
- [3] De Vuono, M., Penteadó, C., Franco, M., Lajolo and Pereira, N. Functional and Nutritional Properties of Isolated Bovine Blood Proteins. J. Sci. Food Agric. 30:809, 1979.

- [4] Dickinson, E. and Sthinsby, G. The Oil-Water Interface and Emulsion Stability, in "Colloid in Foods". Applied Science Publishers, New York. Ch. 4:16, 1982.
- [5] Feeney, R., Yamasaki, R. and Geochegan, K. Chemical Modification of Proteins: and Overview, in "Modification of Proteins" (R.E. Feeney and J.R. Whitaker, eds.). Am. Chem. Soc. pp. 3-55, 1982.
- [6] Hamm, R. Biochemistry of Meat Hydration. Advan. Food Res. 10:355, 1960.
- [7] Haque, Z. and Kinsella, J.E. Emulsifying Properties of Food Proteins: Bovine Serum Albumin. Journal of Food Science 53:416, 1988.
- [8] Lee, J.Y. and Hirose, M. Effect of Salls the Thior-dependent Gelation Bovine Serum Albumin. Agric. Biol. Chem. 55:2057, 1991.
- [9] Lorient, D. Propiedades Funcionales de las Proteínas de Origen Animal, en "Proteínas Animales" (C.M. Bourgeois y P. Le Roux eds.). Editorial El Manual Moderno, México D.F. Cap. 2:16, 1979.
- [10] Ott, Lyman. An introduction to statistical methods and data analysis. Third edition. PWS-KENT Publishing Company. Boston. p. 258, 1988.
- [11] Pedersen, J. Utilization of Animal Blood in Meat Products. Food Technology 33:76, 1979.
- [12] Rusig, Olavo. Evaluation of plasma and plasma-alginate fibres for use in sausages. Meat Sci. 3:295. 1979.
- [13] Rust, R. Sausages and Processed Meats Manufacturing. Amer. Meat Inst. 4:24, 1975.
- [14] SAS PROC GLM. "SAS User's Guide: Statistics, 5th ed. SAS Institute Inc., Cary, NC. 1985.
- [15] Terrel, R., Winblatt, P., Smith, G. Carpenter, Z., Dill, C., and Morgan, R. Plasma protein effects on physical characteristics of all meat and extended frankfurters. J. of Food Sci. 44:1041. 1979.