

## Perfil eletroforético de lombo suíno adicionado de proteínas não cárneas

### SDS-PAGE electrophoretic pattern of pork loin enhanced with non-meat proteins

Heitor Daguer<sup>I</sup> Marília Penteado Stephan<sup>II</sup> Luciano dos Santos Bersot<sup>III</sup>

#### RESUMO

A legislação brasileira permite a adição intencional de proteínas não cárneas em alguns produtos cárneos; entretanto, há poucas técnicas adaptadas e próprias para controle desses ingredientes. Na presente pesquisa, empregou-se a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida na presença de dodecil-sulfato de sódio (SDS-PAGE) para comparar amostras de carne suína (lombo), adicionadas de 1,5% de proteínas não cárneas (proteína isolada de soja e concentrado protéico de soro de leite). Mediante a padronização de dois protocolos distintos de extração (uréia 6M e Tris-HCl-SDS-mercaptoetanol) e a utilização de controles positivos e negativos, obtiveram-se perfis eletroforéticos típicos do músculo e das proteínas utilizadas. Ambas as extrações utilizadas foram adequadas para separação das proteínas do soro de leite das proteínas da carne, mas a visualização dos marcadores da soja não foi possível em razão da sobreposição de bandas.

**Palavras-chave:** carnes, fraudes, eletroforese, proteínas não cárneas.

#### ABSTRACT

Brazilian meat regulations allow the use of non-meat extenders in certain meat products. Thus, the need for controlling the use of these ingredients with proper analytical methods is evident, in order to avoid illegal addition. In the present research, SDS-PAGE electrophoresis has been applied to pork enhanced with 1.5% of soy protein isolate and whey protein concentrate, through two different methods of protein extraction (urea 6M and Tris-HCl-SDS-mercaptoethanol), in the presence of positive and negative controls. Electrophoresis has revealed typical profiles, for whole-muscle and non-meat

proteins, showing to be adequate to detect the addition of whey proteins in meat products. However, the soy proteins could not be detected, due to the overlapping of bands with meat proteins.

**Key words:** meat products, frauds, electrophoresis, non-meat ingredients.

#### INTRODUÇÃO

A eletroforese de proteínas, desde os anos 70, é amplamente utilizada em pesquisas com a finalidade de identificar fraudes em alimentos e a possível presença de proteínas estranhas à composição normal de produtos cárneos e lácteos. A eletroforese em gel de poliacrilamida – ou SDS-PAGE (do inglês *sodium dodecyl sulphate polyacrilamide gel electrophoresis*) – é o método mais simples e barato para analisar proteínas. A acrilamida é uma substância orgânica simples que forma gelatinas em largo espectro de concentração, permite o processamento simultâneo de diversas amostras e dispensa a presença do analista em algumas de suas etapas. A eletroforese é também empregada com sucesso para identificação de espécies de peixe e caracterização de compostos proteicos, como o concentrado de soro de leite e a avaliação das alterações das proteínas miofibrilares que podem ocorrer durante o *post mortem* dos animais (STEPHAN, 2006; XIONG et al., 2006; ANEMA, 2009).

<sup>I</sup>Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO), Serviço Laboratorial Avançado em Santa Catarina, Rua João Grumiché, 117, 88102-600, São José, SC, Brasil. E-mail: heitor.daguer@agricultura.gov.br. Autor para correspondência.

<sup>II</sup>Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

<sup>III</sup>Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Setor de Tecnologia, Centro Politécnico, Curitiba, PR, Brasil.

Diante do crescente uso de proteínas não cárneas na industrialização de produtos cárneos, especialmente as proteínas de soja, a legislação brasileira especificou limites de adição à formulação de vários produtos. Outras proteínas podem ser utilizadas, sejam de origem animal, como os caseinatos, as proteínas a base de soro de leite, o plasma sanguíneo e a ovalbumina; sejam de origem vegetal, como o glúten do trigo e as proteínas do amendoim, das sementes de algodão e girassol (SZERMAN et al., 2007). No entanto, o controle da utilização desses ingredientes ainda se constitui em um problema para os sistemas de fiscalização de alimentos, em razão da escassez de técnicas próprias a essa finalidade (BELLOQUE et al., 2002).

Os produtos cárneos que passam pelo processo de injeção, como os marinados, não estão completamente regulamentados pelas normas oficiais brasileiras, e a prática de injeção de salmouras adicionadas de ingredientes não cárneos muitas vezes ocorre de forma irregular. Por outro lado, o regulamento técnico de identidade e qualidade de lombo suíno temperado permite a adição máxima de 2% de proteínas não cárneas ao produto, sem especificar quais as proteínas utilizadas (BRASIL, 2000).

Na composição dos produtos cárneos, existem as proteínas dos constituintes do tecido animal e aquelas adicionadas intencionalmente. As proteínas miofibrilares constituem de 50 a 55% do total de proteínas da carne, sendo a miosina (50 a 55%) e a actina (20 a 25%) as proteínas majoritárias e as principais responsáveis pelas propriedades funcionais dos produtos cárneos (SGARBIERI, 1996).

Na soja, a glicinina (proteína 11S) e a  $\beta$ -conglucininina (proteína 7S) são globulinas que contabilizam cerca de 70% das proteínas. A glicinina possui seis subunidades, contendo cada qual uma cadeia polipeptídica ácida (36-40kDa) e outra básica (18-20kDa), ligadas por pontes bissulfeto. A  $\beta$ -conglucininina se constitui de três subunidades, designadas  $\alpha$ ,  $\alpha'$  e  $\beta$ , com pesos moleculares de 84kDa, 72kDa e 51kDa, respectivamente. As demais proteínas são enzimas celulares e constituintes estruturais (RIBLETT et al., 2001).

A  $\alpha$ -lactalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina são as principais proteínas do soro de leite, perfazendo 70 a 80% do total de proteínas e apresentando baixo peso molecular (aproximadamente 14kDa e 18kDa, respectivamente). São também encontradas no soro a albumina sérica, as imunoglobulinas, as lactoferrinas e as enzimas (STEPHAN, 2006; SZERMAN et al., 2007).

Os objetivos do presente trabalho foram verificar a viabilidade da aplicação de eletroforese (SDS-PAGE) para o controle da utilização de proteínas

não cárneas (proteína isolada de soja e concentrado proteico de soro de leite) em lombo suíno injetado com diferentes salmouras e comparar dois processos distintos para a extração das proteínas.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um experimento comparativo de seis tratamentos (II a VII) e um controle (I), variando-se os ingredientes por tratamento de forma isolada ou combinada. Foram utilizadas partes dos músculos M. *Longissimus thoracis* e M. *Longissimus lumborum* (lombo), obtidas da desossa de meias-carcaças resfriadas a 7°C, em até 24 horas após o abate, com pH entre 5,6 e 5,9, tendo sido retirada a pele e toda a camada de tecido adiposo subcutâneo aparente. As meias-carcaças foram provenientes de um abatedouro comercial, fiscalizado pelo Serviço de Inspeção Federal. Cada lombo foi dividido em três partes uniformes, com aproximadamente 25cm de comprimento, que foram consideradas as unidades experimentais para os distintos tratamentos. Todo o processo de corte e injeção da carne foi realizado em sala climatizada a 12°C. Para o preparo das carnes, utilizou-se uma injetora com 148 agulhas múltiplas (SPF 1480-F, Sampafi Indústria Mecânica, São Caetano do Sul, Brasil), com a qual as carnes foram adicionadas dos seguintes ingredientes: 15% de água e 0,75% de sal (tratamento II); 15% de água, 0,75% de sal e 0,45% de tripolifosfato de sódio (tratamento III); 15% de água, 0,75% de sal e 1,5% de proteína isolada de soja (tratamento IV); 15% de água, 0,75% de sal e 1,5% de concentrado proteico de soro de leite (tratamento V); 15% de água, 0,75% de sal, 0,45% de tripolifosfato de sódio, 1,5% de proteína isolada de soja (tratamento VI); e 15% de água, 0,75% de sal, 0,45% de tripolifosfato de sódio e 1,5% de concentrado proteico de soro de leite (tratamento VII). O tratamento I correspondeu ao lombo *in natura* (sem injeção). A água para preparo das salmouras encontrava-se sob temperatura máxima de 4°C. As carnes, após injeção, foram encaminhadas a um massagedor (*tumbler*) Inject Star (Inject Star, Mountain View, EUA), com capacidade de 30L, e foram massagedas por 10 minutos a aproximadamente 15rpm para melhor incorporação da salmoura. A seguir, as carnes foram embaladas a vácuo, individualmente, e mantidas a 2°C, por 72 horas, para equalização das soluções injetadas. As proteínas adicionadas intencionalmente aos produtos foram a proteína isolada de soja Supro 596 IP (Solae do Brasil Ind. e Com. de Alimentos Ltda., Esteio, Brasil) e o concentrado proteico de soro de leite Nutrilac SA 7505 (Arla Foods Ingredients, Buenos Aires, Argentina), com 80 e 75% de proteína bruta, respectivamente.

A eletroforese de proteínas foi realizada utilizando-se o sistema de eletroforese vertical, com o auxílio do equipamento PROTEAN II xi Cell (Bio-Rad Laboratories, Hercules, EUA), conforme proposto por LAEMMLI (1970). As proteínas foram extraídas em dois métodos distintos, para a comparação da efetividade das técnicas de extração com o objetivo de visualização das bandas.

Extração com ureia 6M: foram misturados 10g das amostras previamente trituradas com 30mL de solução extratora contendo ureia 6M para a realização da extração inicial em misturador 34BL197 (Waring Commercial, New Hartford, EUA), durante dois minutos, e posterior aquecimento durante dois minutos, a 70°C. Em seguida, o extrato bruto foi sedimentado em centrífuga modelo RC3B (SORVAL, Wilmington, EUA) a 3000rpm, sob temperatura de 4°C, durante 15 minutos. Após centrifugação, a camada superior de gordura foi retirada, e 400µL do sobrenadante foram misturados com 200µL do tampão de amostra. Dessa amostra, foram retirados 10µL e aplicados em gel de poliacrilamida.

Extração com Tris-HCl-SDS-mercaptoetanol: foi utilizado o método descrito por LEE et al. (1976), suspendendo-se aproximadamente 10g de amostra previamente triturada em multiprocessador modelo R13170 (WALITA, Varginha, Brasil), em solução extratora contendo 0,0625M Tris-HCl (pH 6,8), 3% dodecil-sulfato de sódio (SDS) e 1% β-mercaptoetanol (ME). As amostras foram homogeneizadas em *blender* modelo 34BL97 (Waring Commercial, New Hartford, EUA), durante dois minutos, sendo em seguida centrifugadas a 3.000rpm por 15 minutos sob temperatura de 4°C. Os sobrenadantes foram diluídos na proporção de 1/6 para que houvesse uma perfeita visualização das cadeias polipeptídicas no gel de poliacrilamida.

O controle positivo das duas proteínas não cárneas analisadas (proteína isolada de soja e concentrado proteico de soro de leite) foi feito preparando-se as seguintes misturas: 1) 600µL do extrato de lombo e 100µL de proteína isolada de soja na concentração de 0,01g mL<sup>-1</sup>; e 2) 600µL do extrato de lombo e 100µL de concentrado proteico de soro de leite na concentração de 0,1g mL<sup>-1</sup>. Os extratos utilizados para preparo dos controles foram obtidos conforme os protocolos descritos anteriormente. Os controles foram submetidos à corrida eletroforética junto com as amostras e os padrões de peso molecular.

Para as corridas de eletroforese, foi utilizado gel de separação na concentração de 12% e gel de aplicação da amostra na concentração de 4%. As corridas foram realizadas durante sete horas, sob uma tensão contínua de 100V. Foram utilizados marcadores

de peso molecular (BIO-RAD LABORATORIES, Richmond, EUA), sendo os de alto peso molecular: miosina (211,240kDa), β-galactosidase (117,760kDa), albumina sérica bovina (99,810kDa), ovalbumina (49,780kDa) e os de baixo peso molecular: fosforilase B (103,035kDa), albumina sérica bovina (80,664kDa), ovalbumina (49,491kDa), anidrase carbônica (36,545kDa), inibidor de tripsina de soja (28,829kDa) e lisozima (19,445kDa).

A coloração dos géis ocorreu em solução contendo ácido acético 10% (v/v), álcool metílico 40% (v/v) e *Coomassie Brilliant Blue* R-250 1%, durante uma noite. Os géis foram descorados em solução contendo 10% (v/v) de ácido acético e 40% (v/v) de álcool metílico, renovando-se a solução a cada 30 minutos, até a obtenção de revelação nítida.

O cálculo do peso molecular das frações proteicas foi efetuado mediante a construção de curvas-padrão, com os pesos moleculares dos marcadores contra as respectivas distâncias percorridas no gel.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os poços numerados de 4 a 10, representados na figura 1, correspondem aos tratamentos I a VII, cujas faixas de cadeias polipeptídicas mostram, na sua maioria, variações de pesos moleculares dentro da faixa dos padrões utilizados (19,4kDa a 211,2kDa), obtidas por extração com ureia 6M. Observam-se perfis eletroforéticos típicos do músculo, nos quais a caracterização das proteínas miofibrilares ficou evidente, com o aparecimento da cadeia pesada da miosina (223kDa), de fragmentos da cadeia pesada da miosina (163kDa) e da actina (54kDa), semelhantes aos descritos na literatura (SOUZA et al., 2004; XIONG et al., 2006). Foram identificadas, ainda, outras frações das proteínas miofibrilares, como a α-actinina (102kDa), a troponina (50kDa) e a β-tropomiosina (31kDa). Como esperado, os perfis eletroforéticos da carne suína apresentam bandas de baixo peso molecular correspondentes a polipeptídeos produtos da degradação proteica, como também observaram XIONG et al. (2006). Entre essas bandas, surgiu um fragmento, provavelmente a mioglobina (17kDa), fracamente corada. OLIVERA CARRIÓN & VALENCIA (1990) descrevem que a carne suína possui quantidades mais baixas desse pigmento, quando comparada à carne bovina, assim, a baixa evidência dessa banda pode ser reflexo das quantidades de mioglobina presentes em músculos suínos. No entanto, a presença de bandas com pesos moleculares até 37kDa pode corresponder, tanto a fragmentos da cadeia leve de miosina, quanto à troponina T ou a subunidades de

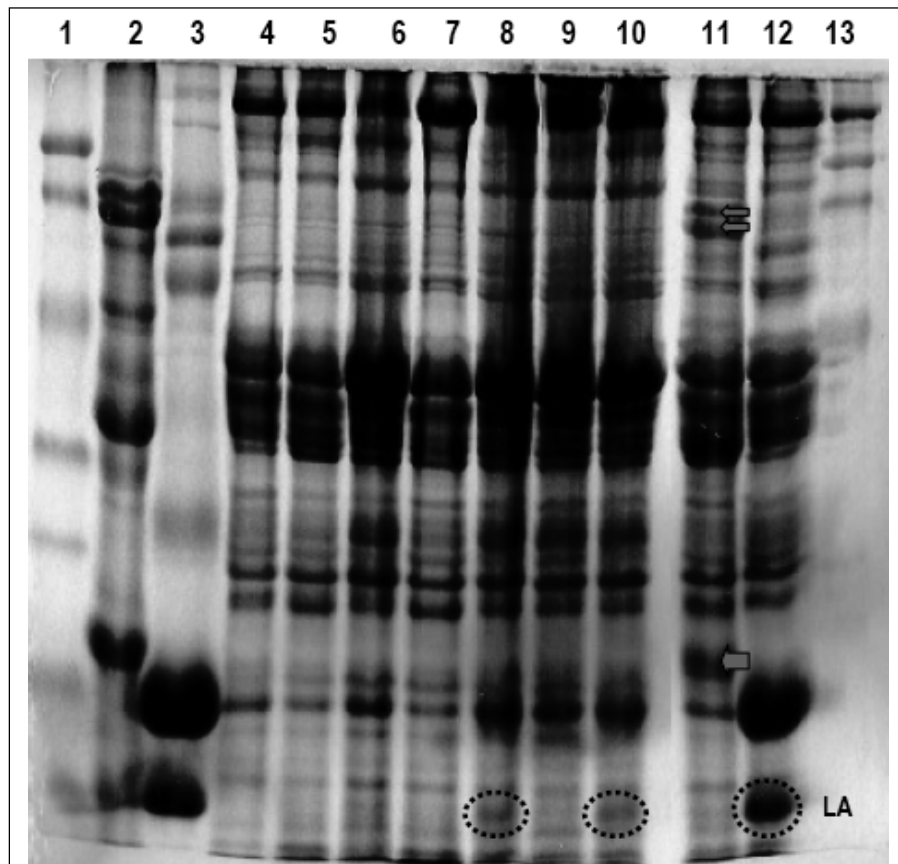


Figura 1 - Perfil eletroforético das proteínas de lombo obtido por SDS-PAGE após extração com ureia.

Poço 1: padrões de baixo peso molecular; poço 2: proteína isolada de soja; poço 3: concentrado proteico de soro de leite; poços 4 a 10: tratamentos experimentais; poços 11 e 12: controles positivos; poço 13: padrões de alto peso molecular. LA:  $\alpha$ -lactalbumina. Setas horizontais indicam as bandas de soja com aproximadamente 74kDa ( $\beta$ -conglucina, subunidade  $\alpha'$ ), 56kDa ( $\beta$ -conglucina, subunidade  $\beta$ ) e 19kDa (subunidade básica da glicina), identificadas como marcadores no controle positivo.

$\beta$ -actina, uma vez que os pesos moleculares dessas proteínas são próximos e, nos perfis eletroforéticos, as bandas se confundem (SOUZA et al., 2004).

Nos poços numerados 8 e 10, correspondendo aos perfis dos tratamentos V e VII, respectivamente, observa-se uma discreta banda de peso molecular inferior a 19,445kDa, que parece corresponder à  $\alpha$ -lactalbumina do soro de leite, sem ter havido sobreposição com as bandas das proteínas intrínsecas da carne. A equivalência dessa banda com a lactalbumina pode ser constatada pela comparação com o padrão de concentrado proteico de soro de leite aplicado nos poços 3 e 12, embora apareça menos corada nas amostras de lombo injetado.

Na figura 2, observa-se o perfil eletroforético das amostras de lombo suíno obtido por extração com Tris-HCl-SDS-ME (poços 2 a 8), correspondendo aos

tratamentos I a VII, respectivamente. Observam-se, ainda, os padrões de peso molecular (poços 1 e 13) e os controles (poços 9 a 12). A faixa de cadeias polipeptídicas das amostras de lombo suíno apresentou variação de pesos moleculares entre <19,4kDa e 207kDa.

Ambos os protocolos de extração utilizados na presente pesquisa permitiram a visualização das proteínas majoritárias da soja: a  $\beta$ -conglucina e a glicina. Na figura 2, as subunidades  $\alpha$ ,  $\alpha'$  e  $\beta$  da  $\beta$ -conglucina correspondem às bandas com aproximadamente 82kDa, 74kDa e 56kDa, respectivamente, que estão de acordo com as descrições de RIBLETT et al. (2001) e SEIBEL & BELÉIA (2008). As duas bandas mais proeminentes da glicina são as subunidades ácida (A) e básica (B), com pesos moleculares aproximados de 40kDa e 19kDa, respectivamente, correspondendo às duas bandas mais

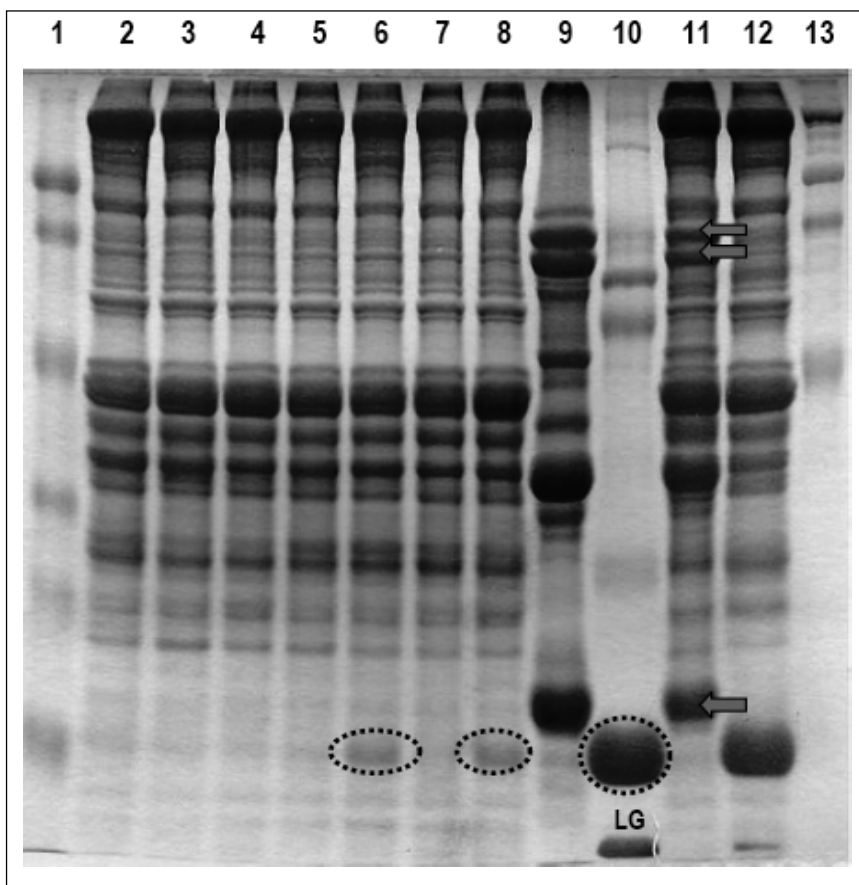


Figura 2 - Perfil eletroforético das proteínas de lombo obtido por SDS-PAGE após extração com Tris-HCl, SDS e 1%  $\beta$ -mercaptoetanol.

Poço 1: padrões de baixo peso molecular; poços 2 a 8: tratamentos experimentais; poço 9: proteína isolada de soja; poço 10: concentrado proteico de soro de leite; poços 11 e 12: controles positivos; poço 13: padrões de alto peso molecular. LG:  $\beta$ -lactoglobulina. Setas horizontais indicam as bandas de soja com aproximadamente 74kDa ( $\beta$ -conglucina, subunidade  $\alpha'$ ), 56kDa ( $\beta$ -conglucina, subunidade  $\beta$ ) e 19kDa (subunidade básica da glicina), identificadas como marcadores no controle positivo.

densamente coradas, conforme observado por RIBLETT et al. (2001). Observa-se que a extração com ureia 6M forneceu menor bandeamento da proteína isolada de soja, e algumas bandas são de difícil distinção do fundo (*background*) do gel, em razão da sua baixa resolução.

Embora a extração com ureia 6M tenha obtido maior número de bandas de proteínas da carne à eletroforese, a alta extração prejudicou a visualização das bandas, que se apresentaram intensamente coradas. A extração com Tris-HCl-SDS-ME propiciou melhor solubilização das proteínas, com clara visualização das bandas de proteínas dos tratamentos experimentais. Ficou evidente a banda com cerca de 18kDa, correspondente à  $\beta$ -lactoglobulina, nos tratamentos V e VII, em que foi empregado o

concentrado proteico de soro de leite. No entanto, essa banda sobrepôs-se à posição esperada para a mioglobina nos perfis eletroforéticos desses tratamentos, com maior intensidade de coloração, servindo de marcador.

Nas figuras 1 (poços 3 e 12) e 2 (poços 10 e 12), tem-se os controles de soro de leite utilizados. Observa-se que suas proteínas minoritárias também foram extraídas, correspondendo às bandas da lactoferrina (72-80kDa), da albumina sérica bovina (82-91kDa) e das cadeias leves e pesadas de imunoglobulinas (entre 30kDa e 70kDa, aproximadamente), semelhantes aos perfis eletroforéticos de SDS-PAGE observados por BORGES et al. (2001) em concentrados de proteínas de leite bovino.

Na literatura, alguns autores descrevem que, em misturas de carne e soja, bandas com aproximadamente 53kDa e 17,5kDa são adequadas para determinar a presença de proteína não cárnea de forma qualitativa (BELLOQUE et al., 2002). Por outro lado, OLIVERA CARRIÓN & VALENCIA (1990) demonstraram que a banda com 19,5kDa apresentou menor interferência com as proteínas da carne, podendo ser usada como marcador. Na presente pesquisa, embora essa banda tenha ficado bastante evidente nos controles utilizados, não foi possível a sua identificação nos tratamentos experimentais com adição de proteína isolada de soja nos protocolos de extração empregados, uma vez que não houve diferença sensível entre os perfis eletroforéticos de lombo injetado com proteína isolada de soja e os tratamentos em que não foram empregadas proteínas não cárneas.

Nas figuras 1 e 2, nos poços 11 e 12, correspondentes aos controles positivos empregados, observa-se que as duas extrações permitiram a visualização de três bandas de proteínas da soja (com aproximadamente 74kDa, 56kDa e 19kDa) que poderiam ser utilizadas como marcadores (marcadas com setas horizontais), discriminando os extratos cárneos das proteínas não cárneas. Contrariamente a esses controles, os perfis eletroforéticos das amostras de lombo injetado apresentaram interferência das proteínas da soja com as da carne, impedindo a sua detecção pela eletroforese. De acordo com JANSSEN et al. (1987), a dificuldade de evidencição por eletroforese de bandas oriundas das proteínas não cárneas adicionadas a produtos cárneos reside no fato de que estas sempre possuem menor intensidade quando comparadas às bandas de proteínas da própria carne. Contrariamente aos estudos citados por BELLOQUE et al. (2002), os quais demonstraram que a eletroforese é capaz de detectar a soja mesmo quando adicionada a produtos cárneos em concentrações inferiores a 0,5%, no presente trabalho não foi possível uma adequada separação entre as proteínas da leguminosa e as proteínas intrínsecas da carne, mesmo que a concentração de proteínas da soja tenha sido 1,5%. Assim, são necessários novos estudos com SDS-PAGE e com outras técnicas analíticas de separação para controle da adição intencional dessas proteínas em produtos cárneos. Por outro lado, os dois protocolos de extração utilizados permitiram a identificação de marcadores moleculares do soro de leite nos produtos em que esse ingrediente foi adicionado, de forma distinta: a extração com ureia 6M permitiu a visualização de uma banda fracamente corada, correspondente à  $\alpha$ -lactalbumina, enquanto a extração das proteínas com Tris-HCl-SDS-ME permitiu a clara visualização da banda correspondente à  $\beta$ -lactoglobulina nos produtos cárneos.

## CONCLUSÃO

A utilização de eletroforese (SDS-PAGE) é adequada para controle da utilização de concentrado proteico de soro de leite em lombo de suíno injetado, mas não permitiu a separação entre as proteínas da soja e as proteínas intrínsecas da carne, mesmo sendo utilizada na concentração de 1,5%. Estudos adicionais com essa e com outras técnicas analíticas ainda se fazem necessários para propor uma metodologia adequada a ser utilizada para o controle da utilização de proteínas não cárneas em produtos cárneos, especialmente as proteínas da soja, que são as mais utilizadas na indústria da carne.

## REFERÊNCIAS

- ANEMA, S.G. The use of "lab-on-a-chip" microfluidic SDS-PAGE electrophoresis technology for the separation and quantification of milk proteins. **International Dairy Journal**, v.19, n.4, p.198-204, 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/journal/09586946>>. Acesso em: 30 abr. 2009. doi: 10.1016/j.idairyj.2008.11.001.
- BELLOQUE, J. et al. Analysis of soyabean proteins in meat products: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.42, n.5, p.507-532, 2002. Disponível em: <<http://www.informaworld.com/smpp/title~content=t713606380~db=all~tab=sample>>. Acesso em: 13 ago. 2008. doi: 10.1080/20024091054238.
- BORGES, P.F.Z. et al. Produção piloto de concentrados de proteínas de leite bovino: composição e valor nutritivo. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.4, n.52, p.1-8, 2001. Disponível em: <<http://www.ital.sp.gov.br/bj/artigos/bjft/2001/p0152.pdf>>. Acesso em: 30 abr. 2009.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO. Instrução Normativa n. 21, de 31 de julho de 2000 (Anexo III). Regulamento técnico de identidade e qualidade de lombo. **Diário Oficial da União**, seção I, p.12, 2000.
- JANSSEN, F.W. et al. Detection of wheat gluten, whey protein, casein, ovalbumin, and soy protein in heated meat products by electrophoresis, blotting, and immunoperoxidase staining. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.35, p.563-567, 1987. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf00076a031>>. Acesso em 10 abr. 2009. doi:10.1021/jf00076a031.
- LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head bacteriophage T4. **Nature**, v.227, p.680-685, 1970.
- LEE, Y.B. et al. Detection of various nonmeat extenders in meat products. **Journal of Food Science**, v.41, n.3, p.589-593, 1976.
- OLIVERA CARRIÓN, M.; VALENCIA, M.E. Detección y cuantificación de soja em productos cárnicos por electroforesis. II. Identificación e interferencias de otras proteínas diferentes de soja. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, v.30, n.4, p.518-528, 1990.

- RIBLETT, A.L. et al. Characterization of  $\beta$ -conglycinin and glycinin soy protein fractions from four selected soybean genotypes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, n.10, p.4983-4989, 2001. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf0105081>>. Acesso em 01 dez. 2008. doi: 10.1021/jf0105081.
- SEIBEL, N.F.; BELÉIA, A.D.P. Carboidratos das fibras de cotilédones e proteínas de produtos derivados de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.3, p.607-613, 2008. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_issues&pid=0101-2061&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_issues&pid=0101-2061&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em 01 dez. 2008. doi: 10.1590/S0101-20612008000300016.
- SGARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações e modificações**. São Paulo: Varela, 1996. 517p.
- SOUZA, S.M.A. et al. Extração de proteínas miofibrilares de carne bovina para elaboração de filmes comestíveis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.24, n.4, p.619-626, 2004. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_issues&pid=0101-2061&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_issues&pid=0101-2061&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em 01 dez. 2008. doi: 10.1590/S0101-20612004000400024.
- STEPHAN, M.P. Estudos iniciais de utilização de eletroforese (SDS-PAGE) para avaliação de fraude em produtos comercializados como concentrado de soro de queijo. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.61, n.351, p.214-217, 2006.
- SZERMAN, N. et al. Effect of whey protein concentrate and sodium chloride addition plus tumbling procedures on technological parameters, physical properties and visual appearance of sous vide cooked beef. **Meat Science**, v.76, n.3, p.463-473, 2007. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/journal/03091740>>. Acesso em 10 dez. 2008. doi: 10.1016/j.meatsci.2007.01.001.
- XIONG, Y.L. et al. Effect of dietary ropamine on tenderness and postmortem protein degradation of pork muscle. **Meat Science**, v.73, n.4, p.600-604, 2006. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/journal/03091740>>. Acesso em 22 jul. 2008. doi: 10.1016/j.meatsci.2006.02.016.