

Precipitated proteins from blood plasma, some of their functional and technological properties and their biological value

ZHARINOV, A.I.

Technological Institute of the Moscow Meat and Dairy Industry, USSR.

VILLEGAS, J.R. and FRESA, O.B.

National Center of Scientific Research, Havana, Cuba.

MARTINEZ, L.A.

Research Institute of the Food Industry, Havana, Cuba.

Two methods are described for obtaining proteins from blood plasma by means of thermal denaturation in the presence of synergic substances for precipitation. The chemical and aminoacid composition of the precipitated plasma proteins was studied as well as some of their properties (water retention capacity, plasticity, adhesiveness).

The biological value of the protein component of the precipitated plasma proteins was studied in experiments in Vitro and in Vivo (according to the indexes for NPU, BV and True Digestibility).

The results obtained prove the suitability of precipitated plasma proteins for use in combined meat products (paté type, pastes, by-product sausages, smoked scalded, baked-smoked, partially prepared, ground products and others) that have a low final content of humidity.

Einige funktionelle und technologische Eigenschaften sowie biologischer Wert von Proteinen gewonnen durch Fällung aus dem Blutplasma

ZHARINOV, A.I.

Technologisches Institut für Milch - und Fleischindustrie, Moskau, UdSSR.

VILLEGAS, J.R. und FRESA, O.B.

Nationalzentrum für wissenschaftliche Forschung, Havanna, Kuba.

MARTINEZ, L.A.

Forschungsinstitut der Nahrungsmittelindustrie, Havanna, Kuba.

Es werden zwei Methoden zur Gewinnung von Proteinen aus dem Blutplasma unter Anwendung thermische Denaturierung in Anwesenheit synergetischer Fällungsmittel beschrieben.

Die chemische Zusammensetzung sowie die vorhandenen Aminosäuren und Eigenschaften dergewonnenen Proteine (Wasserzurückhaltung, Verformbarkeit, Adhärenz) werden untersucht.

Es wurde auch der biologische Wert der Proteine aus dem Plasma durch in vitro- und in vivo Versuchen (nach den NPU- und BV Indizes sowie wahre Verdaulichkeit) untersucht.

Die erhaltenen Ergebnisse beweisen die Zweckmäßigkeit der Anwendung gefällter Proteine zur Herstellung kombinierter Fleischprodukte (Pasten, Wurst aus Nebenprodukten, gekocht geräucherter und verbrüht-geräucherter Produkte sowie gemahlene halbverarbeitete Produkte usw.) mit einem niedrigen Endgehalt an Wasser.

## 12.8

### Protéines précipitées de plasma sanguin: quelques propriétés fonctionnelles et technologiques. Valeur biologique

ZHARINOV, A.I.

Institut Technologique de l'Industrie de la Viande et du lait de Moscou, URSS.

VILLEGAS, J.R. et PRESA, O.B.

Centre National de la Recherche Scientifique, La Havana, Cuba.

MARTINEZ, L.A.

Institut de Recherches de l'Industrie Alimentaire, La Havana, Cuba.

On décrit deux méthodes d'obtention de protéines du plasma sanguin au moyen de la dénaturalisation thermique en présence de synergétiques de la précipitation. On étudie la composition chimique et particulièrement les acides aminés des protéines précipitées ainsi que quelques propriétés physiques (capacité de rétention d'eau, plasticité, adhésivité).

On étudie également la valeur biologique des protéines précipitées au moyen d'expériences in vitro et in vivo (d'après les indices NPU, BV et vraie digestibilité).

Les résultats obtenus montrent l'efficacité de l'emploi de ces protéines précipitées du plasma, dans l'élaboration de produits à base de viande combinés (genre pâtés, charcuteries et produits à faible contenu d'humidité).

### "Осажденные белки плазмы крови. некоторые функционально-технологические свойства и биологическая ценность их".

ЖАРИНОВ А.И.

Московский технологический институт мясной и молочной промышленности, Москва, СССР.

ВИЛЬЕГАС АРГУЭЛЬЕС Х.Р., ПРЕСА КАБАЛЬЕРО О.Б.

Национальный центр научных исследований, Гавана, Куба.

МАРТИНЕЗ ДИАЗ Л.А.

Исследовательский институт пищевой промышленности, Гавана, Куба.

Дано описание двух способов получения белков из плазмы крови методом тепловой денатурации в присутствии синергистов осаждения.

Исследован химический и аминокислотный состав получаемого осажденного белка плазмы (ОБП), некоторые его свойства ( водосвязывающая способность, пластичность, липкость).

Изучена биологическая ценность белкового компонента ОБП в опытах *In vivo* (по показателям ЧУБ-НПУ, БЦ-вв, перевариваемости- DV). Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности использования ОБП при производстве комбинированных мясных продуктов ( типа паштетов, паст, ливерных колбас, копчено-запеченных, варено-копченых колбас, рубленых полуфабрикатов и др.), имеющих низкое конечное влагосодержание.

"Осажденные белки плазмы крови, некоторые функционально-технологические свойства и биологическая ценность их".

ЖАРИНС В. А. И.

Московский технологический институт мясной и молочной промышленности, Москва, СССР.

ВИЛЬБЕГАС АРГУЭЛЬЕС Х. Р., ПРЕСА КАБАЛЬЕРО О. Б.

Национальный центр научных исследований, Гавана, Куба.

МАРТИНЕЗ ДИАЗ Л. А.

Исследовательский институт пищевой промышленности, Гавана, Куба.

Проблема использования белков крови сельскохозяйственных животных и ее фракций при производстве мясopодуlков представляет значительный технологический и экономический интерес (1,2). В настоящее время цельную кровь применяют на пищевые цели в ограниченном количестве, плазму и сыворотку - при выработке вареных колбасных изделий, причем в большинстве случаев используемые белки находятся в растворенном, т. е. гидрофильном, состоянии.

Высокое содержание воды в крови и ее фракциях ограничивает возможность использования белков крови, плазмы и сыворотки при производстве паштетов, паст, копчено-запеченых и полусухих колбас.

Нами была предпринята попытка максимально выделить из плазмы крови белки и придать им функционально-технологические свойства (влагосодержание, водосвязывающая способность, пластичность, липкость и степень дисперсности) которые могли бы обеспечить последующее использование полученных белков при замене основного сырья в рецептуре мясных продуктов, имеющих ограниченное конечное содержание влаги.

Как известно, нагрев растворов белков сопровождается падением их растворимости, возрастанием гидрофобности, в результате чего часть свободной и слабо-связанной влаги отделяется, а доля белковых веществ соответственно возрастает.

Поэтому выделение белков из плазмы производили методом тепловой денатурации и коагуляционного осаждения, причем для увеличения выхода осажденного белка плазмы и изменения его свойств применяли различные условия среды и присутствие синергистов.

В процессе работы, варьируя температурой и продолжительностью нагрева, концентрациями химических веществ - синергистов осаждения и условиями проведения реакции, мы установили оптимальные параметры выделения белка из плазмы крови, при условии получения достаточно высокого выхода, низкой водосвязывающей способности (3) и липкости (4) осажденного белка плазмы - ОБП. Ниже приводится описание разработанных нами способов получения ОБП и основные характеристики его.

Способ I. На определенный объем плазмы готовят равный объем водного раствора фосфатного буфера, который нагревают до кипения. Затем постепенно при перемешивании вливают в него плазму, выдерживают смесь 30 мин. при температуре 90-95°C и за 10 мин. до окончания нагрева в смесь добавляют NaCl и CaCl<sub>2</sub>. Двухфазную смесь охлаждают, осажденный белок (ОБП) отделяют и промывают водой. Интенсивное осаждение белка в среде фосфатного

буфера обусловлено тем, что фосфат поливалентен и с помощью фосфатных мостиков, очевидно, происходит присоединение к осаждаемым нагревом альбуминам других денатурированных белков — глобулинов и фибриногена.

Способ П. К определенному объему плазмы добавляют 0,2N. HCl, доводя величину pH среды до 6,8. Нагревают смесь до 90–95°C, осаждая в изоточке части  $\gamma$ ,  $\delta_1$  и  $\delta_2$ -глобулинов. После этого вновь добавляют кислоту, устанавливая последовательно pH на уровне 6,3–5,8–4,9 и производят нагрев в каждой фазе в течение 10 мин. При этом в изоточках осаждают остаток  $\gamma$  и  $\delta_2$ -глобулинов, фибриноген,  $\alpha$ -глобулины,  $\beta$ -глобулины и альбуминовые фракции.

После охлаждения двухфазной системы, осажденные белки плазмы (ОБП) отделяют и промывают водой. Полученный нерастворимый белковый осадок (ОБП) имеет серо-белый цвет, пористую консистенцию приятный свежий запах, легко отмывается от фосфатов и кислоты, хорошо обезвоживается. Показатели, характеризующие состав и некоторые свойства ОБП по сравнению с жидкой плазмой (первый контроль) и белками, полученными при нагреве плазмы в присутствии воды (второй контроль), представлены в таблице I.

Как следует из приведенных данных, ОБП выделенный из жидкой плазмы, имеет относительно высокое содержание белковых веществ, хорошую пластичность и выраженные антиадгезионные свойства. Влага удерживается в ОБП в основном не за счет химических связей, а в результате поглощения ее пористой структурой агрегированного белка. При необходимости излишнюю влагу можно удалить отжимом, прессованием, сепарированием или любым другим доступным способом, увеличивая таким образом относительное содержание белка.

Дисперсионный анализ физического состояния ОБП показал, что агрегированные частицы белка плазмы не одинаковы по размерам и включают 60,1–60,4% частиц диаметром от 0,5 до 4 мкм, 35,9–38,6% частиц диаметром 5–9 мкм, 1,30–3,7% частиц диаметром 10–14 мкм. Соотношение фракций агрегатов и их значительные размеры позволяют реально рассматривать вопрос отделения осажденных белков плазмы от жидкой фазы с помощью отстойных центрифуг и некоторых видов сепараторов. Результаты бактериологических исследований свидетельствуют об уменьшении общего количества микроорганизмов в 1 г. ОБП ( $1,5-2,0 \times 10^3$  клеток) по сравнению с исходной жидкой плазмой ( $4,73 \times 10^6$ ), причем во всех пробах ОБП протей и кишечной палочки обнаружено не было.

Пищевую ценность белкового компонента ОБП определяли, анализируя аминокислотный состав (таблица 2) и скорость ферментативного гидролиза в опытах (9) *In vitro* (таблица 3). Как и следовало ожидать, количество таких незаменимых аминокислот как треонин, метионин, и триптофан в ОБП несколько уменьшается по сравнению с составом жидкой плазмы, однако, наиболее существенно дефицит проявляется у метеонина.

Вследствие прошедших денатурационно-коагуляционных изменений скорость расщепления ОБП пищеварительными ферментами возрастает в 1,6–2,1 раза.

Для определения биологической ценности ОБП по общепринятым показателям (5–7) нами был проделан эксперимент *in vivo* на белых мышах. Каждая из партий состояла из 8 животных

средним весом 38 г., одного пола, возрастом 21 день. Имели 5 партий животных, содержащихся на различных рационах питания: 1 диета- DLM - свободная от азота; 2-диета- DN-4 - содержащая 4% белка яйца; 3 диета-экспериментальная DE -1, содержащая лиофилизированный ОБП; 4 диета- экспериментальная DE -2, содержащая ОБП вакуумной сушки ( температура 40°C); 5 диета-DN - контрольная.

Каждое животное в день получало 10 г. сухого вещества, в том числе 9,36% белка, 1% витаминов, микроэлементы и другие компоненты в соответствии с рекомендациями Института Питания Норвегии ( 8). Общее время кормления составляло 9 дней, в том числе 4 дня адаптации животных к рациону. В последующие 5 дней проводили исследования, связанные с определением коэффициента чистой утилизации белка ( ЧУБ - NPU ), биологической ценности белка ( БЦ- VB ) и перевариваемости белка ( ПБ -DV ).

Результаты, характеризующие биологическую ценность и степень утилизации белкового компонента ОБП разных условий сушки, рассчитанные по данным эндогенного и метаболического азота, представлены в таблице 4. Полученные результаты свидетельствуют о несколько меньшей по сравнению с яичным белком биологической ценности ( VB ) ОБП. Значение коэффициента утилизации белка ( NPU ) также ниже эталонного, хотя перевариваемость ОБП ( DV ) на 2-4% превышает аналогичный показатель, характерный для диеты, содержащей белок цельного яйца.

Таким образом, оценка некоторых функционально-технологических свойств ОБП, его состава, санитарного состояния и биологической ценности белкового компонента позволяет сделать вывод о возможности использования его для замены части мясного сырья в продуктах с ограниченным влагосодержанием.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Increasing the Production and Use of Edible Protein. United Nations Economic and Social Council, 43 rd Session, May, 1967.
2. Увеличение ресурсов мяса - важнейшая задача промышленности. - Обзорная информация. Серия "Мясная промышленность", №27, М., ЦНИИТЭИ мясомолпром, 1978.
3. Воловинская В.П., Кельман Б.Я. - Разработка метода определения влагопоглощаемости мяса. - Труды ВНИИМП, 1962, вып. XI, стр. 123.
4. Соколов А.А., Алехина Л.Т., Буянов А.С. и др. - "Методические указания к лабораторным по курсу "Научные основы технологии мяса", - Москва, МТИИМП, 1976, стр. 14-19.
5. Mitchell, H.H. - A method of determining the biological value of proteins - "Journal of Biological Chemistry," 1923, 4.
6. Mitchell H. H., Carman G.G. - The Biological value for maintenance and growth of the protein of whole wheat, eggs and pork (1924) In: Aminoácidos de los alimentos y datos biológicos sobre las proteínas. FAO Estudios sobre Nutrición. Roma, No. 24, 1970.
7. Mitchell H.H., Block R.J. - J. Biol Chemistry, 163, 599-620, 1946.
8. Njaa L.R. Reports on Technological Research concerning Norwegian Fish Industry. Vol IV 1963
9. Покровский А.А., Ертанов Е.П. - Атакуемость пищевых белков пищеварительными ферментами в опытах in Vitro - Вопросы питания, 1965, №3.

Химический состав, технологические и функциональные свойства ОБП. n=12.

Таблица 1.

Chemical composition, technological and functional property of protein precipitated of plasma (PPP).

Показатели Index	Жидкая плазма Liquid plasma	Плазма+вода+нагрев Plasma +water +hot treatm.	ОБП-фосфатный буфер PPP-buffer phosphate	ОБП - 0,2н. HCl
Содержание: content :%				
- воды moisture	90,82 $\pm$ 6,32	88,95 $\pm$ 5,86	79,3 $\pm$ 5,03	82,24 $\pm$ 4,16
- белка protein	8,4 $\pm$ 0,68	8,5 $\pm$ 0,75	15,69 $\pm$ 1,43	15,67 $\pm$ 1,18
- золы, ash	0,48 $\pm$ 0,03	0,65 $\pm$ 0,06	3,84 $\pm$ 0,27	1,29 $\pm$ 0,14
в том числе общего фосфора, мг% included phosphor, mg %	38,4	37,6	16,6%	74,3
Выход ОБП к общему белку жидкой плазмы, % Effect precipitation of protein from liquid plasma, %	-	63,5 $\pm$ 5,31	95,0 $\pm$ 7,82	96,17 $\pm$ 8,01
Водосвязывающая способность по Грау W.H.C. (Grau, %)	-	41,4 $\pm$ 3,62	10,8 $\pm$ 1,34	
Пластичность, см <sup>2</sup> /г Plasticity cm <sup>2</sup> /g	-	8,14 $\pm$ 1,28	7,39 $\pm$ 1,07	5,46 $\pm$ 0,65
Липкость, г/см <sup>2</sup> Adhesion g/cm <sup>2</sup>	-	12,36 $\pm$ 2,43	x	x
x - не регистрируются шкалой приборов.				

Аминокислотный состав ОБП

Таблица 2.

Amino Acid Composition of PPP

Аминокислоты, г/100г белка Aminoacids g/100g protein	Лизин Lis	Треонин Tre	Цистеин Cis	Метионин Metion	Валин Val	Изолейцин Isolei	Лейцин Leu	Фенилаланин Phenyl	Тирозин Tir	Триптофан Trypt
Жидкая плазма Liquid Plasma	9,2	6,3	1,2	0,7	6,7	2,5	9,4	5,3	3,6	1,5
ОБП-фосфатный буфер PPP buffer phosphate	10,09	3,26	1,18	0,28	8,82	2,97	8,94	6,15	1,28	0,625
ОБП- 0,2н. PPP- 0,2N HCl	8,17	3,39	1,44	0,15	9,28	3,15	10,01	5,54	0,51	0,776
Эталон ФАО, 1973 Standard FAO, 1973	5,5	4,0	3,5	5,0	4,0	7,0	6,0			1,0

Скорость перевариваемости ОБП в опытах in Vitro  
Value of digestibility in Vitro of PPP.

Таблица 3.

Содержание тирозина при гидролизе Content of tyrosine in during to hidrolise	Образцы S A M P L E		
	Жидкая плазма Liquid plasma	ОБП-фосф. буфер. PPP- buffer phosphate	ОБП-0,2н. PPP- 0,2 HCl
Пепсином, мг by pepsin, mg	1,705	1,23	1,2568
Трипсином, мг by tripsin, mg	1,7645	0,6256	0,8944
Суммарное количество продуктов гидролиза, мг на 1г. сухого вещества Quantity of products hidrolise, mg in 1g dry material	18,9	30,43	39,1

Биологическая ценность ОБП.  
Biological value of protein precipitated of plasma

Таблица 4.

Вид белка Samples	№	ПБ- DV Digestibility of protein, %	КВ КЖ SD	БЦ- VB Biological value, %	КВ КЖ SD	ЧУБ- NPU Net protein utilization %	КВ КЖ SD
ОБП лиофилизированный PPP liophilized	1 2	95,03 95,50	1,41 1,41	71,86 77,25	16,35 14,29	68,38 73,86	17,28 15,23
ОБП в вакуумной сушки Vacuum-dry PPP	1 2	97,07 97,41	1,43 1,17	79,51 84,13	11,49 10,51	77,20 82,44	11,72 10,62
Белок цельного яйца Protein of eggs	1 2	93,02 93,55	2,87 2,53	94,76 97,85	5,03 5,35	88,05 91,43	2,76 3,26

## Обозначения:

№ - 1. Использование диеты, свободной от азота.  
Using of diet without of nitrogen

2. Использование диеты, содержащей 4% белка яйца.  
Using of diet with 4% protein of eggs.

КЖ - КВ - коэффициенты вариации.  
Standard deviation, %