

## Gélotvorné vlastnosti krvnej plazmy

KRKOŠKOVÁ BERNADETTA – DUDÍKOVÁ ZUZANA

Súhrn. Sledoval sa vplyv druhu použitej plazmy, koncentrácie bielkovín a teploty prípravy na tvorbu a kvalitu gélov krvnej plazmy.

Na kvalitu gélov najvýznamnejšie vplývala teplota prípravy gélov a koncentrácia bielkovín. Dobré gély sa získali pri teplote prípravy 90 °C a pri koncentrácii bielkovín okolo 75 g · l<sup>-1</sup>, čo predstavuje ich koncentráciu v natívnej neriedenej plazme.

Pri príprave gélov zo zmrazenej plazmy sa získali produkty menej tuhé, s nižšou viskozitou.

Schopnosť vytvárať gély so štruktúrnou maticou na zadržiavanie vody a ďalších zložiek je hlavnou funkciou bielkovín.

Tvorbu gélovej mriežky globulárnych proteínov normálne vyvoláva mechanizmus, ktorý závisí od interakcie medzi molekulovým reťazcom bielkoviny a rozpúšťadlom, ako aj medzi molekulovými reťazcami navzájom. Pre tvorbu gélovej mriežky treba dosiahnuť pred agregáciou určitý stupeň disociácie a denaturácie. Tvorba gélu je často agregáciou denaturovaných molekúl.

Na rozdiel od koagulácie, kde je agregácia nepravidelná, pri tvorbe gélu sa vytvára kontinuálna štruktúra s určitým stupňom pravidelnosti. Keďže gély sa tvoria z denaturovaných bielkovín, potravinárski technológovia sa usilujú ovládať proces denaturácie tak, aby sa získali štruktúry so žiadúcimi funkčnými vlastnosťami.

Pre vlastnosti štruktúr, ktorých tvorbu vyvoláva účinok teploty, je dôležitá kinetika denaturačných a agregáčnych reakcií. Výskum v tejto oblasti ukázal, že mechanizmus denaturácie a agregácie ovplyvňujú vonkajšie podmienky ako pH a koncentrácia soli. Dôležité sú aj podmienky zahrevu. Ak teplota stúpa pomaly (0,5 °C za minútu), stupeň agregácie je oveľa nižší ako pri rýchlym zvyšovaní teploty (20 °C za minútu). Skúmaním vplyvu roztoku kuchynskej soli na štruktúru gélu srvátkových bielkovín sa ukázalo, že za neprítom-

nosti soli sa vytvorí jemnejšia a usporiadanejšia mriežka. V prítomnosti soli je mriežka hrubšia a zložená z veľkých agregátov. To naznačuje možnosti tvorby gélových štruktúr so špecifickými vlastnosťami [1].

Pri tvorbe gélov sú významné reologické vlastnosti disperzií. Čím vyššia je viskozita pôvodného roztoku, tým lepšie sú podmienky na vytváranie matrice [2].

Krvná plazma sa zvyčajne využíva v mäsových výrobkoch ako prídavná látka s funkčnými účinkami, najmä pre svoju schopnosť tvoriť gély. Gély krvnej plazmy patria medzi termoreverzibilné gély, pri ktorých gél vzniká zahriatím systému. Pred vytvorením gélu je plazma kvapalinou s nízkou viskozitou a nemá priaznivý vplyv na tvorbu bielkovinovej matrice. Vytvorený gél svojou štruktúrou zlepšuje textúru a funkčne pôsobí ako matrica zadržiavajúca vodu, tukové častice a ďalšie zložky [3].

Na hodnotenie kvality, najmä textúry gélov, používajú sa najčastejšie penetračné merania, viskozimetria a meranie napätia v kompresii a v ťahu. Na testovanie za podmienok kompresie a ťahu treba špeciálnu techniku. Najčastejšie sa používa univerzálne testovacie zariadenie INSTRON. Pomocou rotačných viskozimetrov možno sledovať konformačné zmeny gélov [4].

V rámci riešenia etapy výskumu „Štúdium funkčných vlastností bielkovín jatočnej krvi“ sme v nadväznosti na predchádzajúci výskum technológie spracovania sledovali niektoré fyzikálnochemické charakteristiky a funkčné vlastnosti produktov spracovania krvi.

V prvej etape experimentálnych prác sme podrobne študovali gélotvorné vlastnosti bielkovín krvi. Určovali sme parametre prípravy a sledovali kvalitu gélov pripravených z krvnej plazmy, z izolovaných bielkovín krvinkovej frakcie i koagulátov jatočnej krvi.

V tejto práci uvádzame výsledky štúdia gélotvorby krvnej plazmy.

### **Materiál a usporiadanie pokusov**

Na prípravu gélov sa použila čerstvá a zmrazená plazma. Gély sa pripravili modifikovaným spôsobom podľa Hermanssonovej a Lucisana [3] v centrifugačných skúmavkách s vnútorným priemerom 12 mm a v nádobkách s priemerom 50 mm. Pripravené gély sa uskladnili na 12 h pri chladničkej teplote. Na druhý deň sa gély senzoricky zhodnotili a stanovila sa tuhosť penetrickou metódou a zdanlivá viskozita pomocou rotačného viskozimetra.

V experimentoch sa menili:

- koncentrácia bielkovín (7,5 % – natívna plazma, 5 % – plazma zriedená destilovanou vodou v pomere 2:1, 5,6 % – plazma zriedená destilovanou vodou v pomere 3:1),
- teplota prípravy gélov (70, 80, 90 °C).

Kvalita gélov sa posudzovala senzoricky a stanovili sa ich fyzikálne charakteristiky, najmä tuhosť penetrometricky a zdanlivá viskozita.

Pokusy boli usporiadané podľa schémy faktorového pokusu 2<sup>3</sup>. Vplyv jednotlivých variabilít a ich interakcie na charakteristiky gélov sa zistili štatisticky metódou rozptylu podľa ČSN 010250 [5].

Významnosť jednotlivých variabilít sa hodnotila na 95 % hladine významnosti.

Na meranie tuhosti sa použil laboratórny automatický penometer AP 4/2. Použili sa penetrometrické nadstavce kruhového prierezu (ploché valce) s rôznou plochou a hmotnosťou (3,2 g a 2,4 g) a čas prieniku 5 a 30 s. Podmienky merania pre jednotlivé vzorky sa zvolili podľa senzorického zhodnotenia tuhosti gélov.

Hodnoty penetrácie namerané za rôznych podmienok sa pomocou koeficientu  $K$  prepočítali a vyjadrili ako index penetrácie  $I_p$  ktorý udáva penetráciu pri penetračnej sile 1 g · cm<sup>-2</sup> [6].

Na viskozimetrické meranie sa použil rotačný viskozimeter RHEOTEST 2. Merania sa robili pomocou cylindrickej meracej zostavy. Pri laboratórnej teplote sa sledovala závislosť dotyčnicového napätia od rýchlosti deformácie v rozsahu gradientu rýchlostí od 3,00 do 243 s<sup>-1</sup>. Na základe nameraných hodnôt  $\alpha$  sa po prepočte zistili hodnoty dynamickej viskozity sledovaných materiálov.

## Výsledky a diskusia

V tabuľkách 1 a 2 sú výsledky hodnotenia kvality a tuhosti gélov pripravených z čerstvo izolovanej a zmrazenej krvnej plazmy.

Vonkajší vzhľad a konzistenciu gélov sme hodnotili senzoricky 4-bodovou stupnicou:

- 1 – rovnorodé, primerane tuhé, kompaktné gély, bez uvoľňovanej kvapaliny;
- 2 – gély bez väčších chýb, menej tuhé, čiastočne uvoľňujúce kvapalinu;
- 3 – gély s väčšími chybami, málo tuhé, trasľavé, uvoľňujúce kvapalinu;
- 4 – nerovnorodé, čiastočne stuhnuté, prípadne rozrazené gély s vylúčenou kvapalinou.

Tuhosť a textúru gélov sme hodnotili na základe stanovenia zdanlivej viskozity a tuhosti penetračnou metódou.

T a b u l k a 1. Hodnotenie gélov čerstvej krvnej plazmy  
T a b l e 1. Evaluation of fresh blood plasma gels

Koncentrácia bielkovín <sup>2</sup> [g.l <sup>-1</sup> ]	Vzhľad <sup>3</sup>	Penetrácia <sup>4</sup>				Viskozita <sup>7</sup> [Pa.s]
		vnik <sup>5</sup>		konečná <sup>6</sup>		
		o <sub>p</sub>	I <sub>p</sub>	o <sub>p</sub>	I <sub>p</sub>	
Teplota prípravy <sup>1</sup> 70 °C						
75	3	175	103	177	105	0.65
75	2	212	125	318	188	1.69
50	2	249	147	287	170	0.68
56	3	—	riedky gél <sup>8</sup>		—	0.72
Teplota prípravy <sup>1</sup> 80°C						
75	2	128	8.5	155	10	—
75	1	78	5.2	114	7.6	11.2
50	2	136	9.0	188	12.5	14.4
56	2	93	6.2	126	8.4	—
50	2	251	16.7	264	17.6	14.1
Teplota prípravy <sup>1</sup> 90 °C						
75	1	37.2	22	60.7	36	26.6
75	2	32	19	39	23	14.9
50	1	59	35	109	65	0.94
50	1	289	19	290	19.3	9.83
56	1	38	22	54	32	—
56	1	256	17	256	17	13.7

<sup>1</sup>Preparation temperature; <sup>2</sup>Protein concentration; <sup>3</sup>Appearance; <sup>4</sup>Penetration; <sup>5</sup>Pierce; <sup>6</sup>Final;

<sup>7</sup>Viscosity; <sup>8</sup>Thin gel.

Teplota prípravy bola rozhodujúcim faktorom, ktorý ovplyvňoval kvalitu získaných gélov. Z čerstvej i zmrazenej krvnej plazmy sa pri teplote prípravy 70 °C získali mäkké, riedke gély pri všetkých použitých koncentráciách plazmy. Pri zvýšenej teplote prípravy na 80 °C sa získali gély preukazne lepšej kvality.

Najlepšie hodnotené gély boli gély pripravené z neriedenej plazmy (koncentrácia bielkoviny 75 g . l<sup>-1</sup>), pri nižších koncentráciách bielkoviny sa získali rovnorodé, ale menej tuhé gély. Gély pripravené zo zmrazenej plazmy boli v porovnaní s gélmi z čerstvej plazmy mäkkšie a mali nižšiu viskozitu. Najtuhšie gély sa získali pri teplote prípravy 90 °C, rozdiely medzi gélmi s rôznou koncentráciou bielkoviny sa pri senzorickom hodnotení nezistili; fyzikálne merania dokumentovali väčšiu tuhosť a viskozitu pri vyššej koncentrácii bielkoviny.

Pri veľmi tuhých géloch nebolo možné stanoviť dynamickú viskozitu.

T a b u l k a 2. Hodnotenie gélov zo zamrzutej krvnej plazmy  
Table 2. Evaluation of gels from frozen blood plasma

Koncentrácia bielkovín <sup>2</sup> [g.l <sup>-1</sup> ]	Vzhľad <sup>9</sup>	Penetrácia <sup>4</sup>				Viskozita <sup>7</sup> [Pa.s]
		vnik <sup>5</sup>		konečná <sup>6</sup>		
		o <sub>p</sub>	I <sub>p</sub>	o <sub>p</sub>	I <sub>p</sub>	
Teplota prípravy <sup>1</sup> 70 °C						
75	3	162	96	185	109	3.69
50	3	191	113	247	146	1.44
50	3	–	riedky gél <sup>8</sup>		–	0.58
56	2	–	riedky gél <sup>8</sup>		–	0.72
56	1	246	145	252	149	2.09
Teplota prípravy <sup>1</sup> 80°C						
75	1	44.6	2.9	73	5.0	14.05
50	2	194	115	322	191	1.7
56	1	127	75.1	192	114	3.5
56	2	99	59	274	162	7.02
Teplota prípravy <sup>1</sup> 90°C						
75	1	–	tuhý gél <sup>9</sup>	–	–	13.3
75	2	52	31	57	34	veľmi tuhý gél <sup>10</sup>
50	1	109	64	173	102	10.5
56	1	15	9	27	16	7.0
56	1	46	27	113	67	5.3
75	1	30.8	2.1	50.6	3.4	veľmi tuhý gél <sup>10</sup>

For 1–8 see Table 1. <sup>9</sup>Solid gel; <sup>10</sup>Very solid gel.

Podobne riedke gély nemožno penetrometricky merať pri používanej zostave automatického penetrometra.

V tabuľke 3 uvádzame výsledky štatistického hodnotenia vplyvu a) druhu použitej plazmy, b) koncentrácie plazmy, c) teploty prípravy gélu na kvalitu gélov.

Štatistické zhodnotenie vplyvu variabilít na vzhľad, penetračné hodnoty a dynamickú viskozitu ukázalo na 95 % hladine významnosti štatisticky významný vplyv teploty prípravy gélov. Táto variabilita štatisticky významne vplývala na všetky sledované charakteristiky gélov.

T a b u l k a 3. Štatistické hodnotenie vplyvu variabilít na kvalitu gélov  
T a b l e 3. Statistical evaluation of the influence of variabilities on gel quality

Variabilita <sup>1</sup>	Vypočítané hodnoty F <sup>2</sup>			Viskozita <sup>7</sup>
	Významnosť vplyvu na <sup>3</sup> :			
	Vzhľad <sup>4</sup>	začiatočnú <i>I</i> <sub>p</sub> <sup>5</sup>	konečnú <i>I</i> <sub>p</sub> <sup>6</sup>	
A (konc. plazmy) <sup>8</sup>	0	5.3	3.01	1,82
B (teplota prípravy) <sup>9</sup>	22.5	77.4	60.52	31.14
C (druh plazmy) <sup>10</sup>	2.5	0.79	0.83	10.8
Interakcia <sup>11</sup> AB	0	0.22	1.17	0.18
AC	0	1.99	8.59	13.57
BC	2.5	4.3	6.9	16.55
	Porovnávacie hodnoty F <sup>12</sup>			
	6.61	10.13	18.51	18.51

<sup>1</sup>Variability; <sup>2</sup>Calculated values  $F$ ; <sup>3</sup>Significance of the influence on; <sup>4</sup>Appearance; <sup>5</sup>Initial  $I_p$ ; <sup>6</sup>Final  $I_p$ ;  
<sup>7</sup>Viscosity; <sup>8</sup>Plasma concentration; <sup>9</sup>Preparation temperature; <sup>10</sup>Plasma type; <sup>11</sup>Interaction;  
<sup>12</sup>Comparative values  $F$ .

## Záver

Pri sledovaní gélotvorných vlastností krvnej plazmy sa preukázal významný vplyv teploty prípravy gélov na ich kvalitu a fyzikálne charakteristiky.

Gély s optimálnou konzistenciou sa získali pri teplote prípravy 90 °C.

Najlepšie gély sa pripravili z natívnej neriedenej plazmy. Pri riedení plazmy a nižších koncentráciách bielkoviny sa získali síce rovnomerné, ale menej tuhé gély.

Gély pripravené zo zmrazenej plazmy boli menej tuhé.

Do redakcie došlo 8. 3. 1989

## Literatúra

1. HERMANSSON, A. M., Some physico-chemical aspects of the structure formation of proteins. In: Biochemical Aspects of New Protein Food, FEBS, 1978, s. 99.
2. GREEN, M. L., Food Chem., 1980, s. 41.
3. HERMANSSON, A. M. – LUCISANO, M., J. Food Sci., 47, 1982, s. 55.
4. HERMANSSON, A. M., J. Food Sci., 47, 1982, s. 60.
5. ČSN 01 0250: Statistické metody v průmyslové praxi, 1974.
6. KRKOŠKOVÁ, B. – BUZINKAYOVÁ, D. – ROMANOVÁ, J., Penetvorné vlastnosti mliečnych bielkovín. Zborník ÚVITZ – Potravinárske vedy, 3, 1985, s. 287.

### Гелеобразные свойства кровной плазмы

#### Резюме

Авторы исследовали за влиянием сорта употребленной плазмы, концентрации белков и температуры подготовки на образование и качество гелей кровной плазмы.

На качество гелей наиболее оказывала влияние температура подготовки гелей и концентрация белков. Гели хорошево качества авторы получили при температуре подготовки 90 °C и при концентрации белков около 75 г . л<sup>-1</sup>, что представляет их концентрацию в нативной неразбавленной плазме.

При подготовке гелей из морженной плазмы получили продукты менее твердые, с низшой пониженной вязкостью.

### Gelling properties of blood plasma

#### Summary

The influence of the plasma type, protein concentration and temperature at preparation on the formation and quality of blood plasma gels has been investigated.

The temperature of gel preparation and the protein concentration had the strongest influence on the quality of the gels. Good quality gels were obtained at the preparation temperature of 90 °C and at protein concentration of about 75 g . l<sup>-1</sup> which is their concentration in the native undiluted plasma.

Gels prepared from frozen plasma were less solid and had lower viscosity.