

О.В. Кригер, А.В. Изгарышев, А.П. Лапин

**ВЛИЯНИЕ СПОСОБА ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ ОБРАБОТКИ
НА ВЫХОД И ФРАКЦИОННЫЙ СОСТАВ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ**

В работе рассмотрены основные способы стабилизации крови убойных сельскохозяйственных животных, изучен механизм свертывания крови, определено влияние стабилизаторов на содержание плазмы и форменных элементов, определен фракционный состав белков стабилизированной плазмы боенской крови.

Кровь сельскохозяйственных животных, фракционный состав белков, стабилизация крови.

Введение

Научной основой современной стратегии производства пищи является изыскание новых ресурсов незаменимых компонентов пищи, использование нетрадиционных видов сырья, создание новых прогрессивных технологий, позволяющих повысить пищевую и биологическую ценность продукта, придать ему заданные свойства, увеличить срок хранения. Сегодня большое внимание уделяется внедрению в производство пищевых добавок высокого качества, которые позволяют увеличить объем, расширить асортимент и повысить качество выпускаемой продукции. В условиях кризиса, когда особенно важно сохранить достигнутый в последние годы уровень потребления продуктов питания, роль пищевых ингредиентов возрастает, с их помощью можно добиться более глубокой переработки и бережного использования сельхозсырья, усовершенствовать технологический процесс, снизить издержки производства, оптимизировать стоимость продукции [1, 2].

Одним из основных факторов, обуславливающих создание современного убойного производства, является стремительно растущее промышленное воспроизводство свиней и крупного рогатого скота в стране. Построенные несколько десятилетий назад цеха по забою скота, в основном на крупных мясоперерабатывающих заводах, на сегодняшний день физически и морально устарели. Новых, появившихся в последние пять-десять лет катастрофически не хватает. К тому же каждый АПК, в состав которого входит свинокотлек или котлек по выращиванию крупного рогатого скота, старается построить бойню для собственного скота. При этом каждый производитель ставит своей целью организовать производство, на котором он сможет получать качественное и недорогое мясо-сырье и перерабатывать вторичные сырьевые ресурсы, в том числе кровь убойных сельскохозяйственных животных [1].

Белки крови являются ее самыми важными составными частями. К белкам относится гемоглобин крови, который содержится в эритроцитах у всех позвоночных животных и человека. Большое значение имеют белки кровяной плазмы. Сыворотка содержит те же белки, кроме фибриногена, выпадающего в осадок при свертывании крови.

За последние годы наука не довольствуется определением только общего количества белков плазмы, она делает успешные попытки заглянуть глубже, познакомиться с качественным составом этих белков.

Для разделения белков, в том числе и белков плазмы крови, пользуются электрофорезом. Известно несколько таких электрофоретических фракций белков кровяной плазмы. Они получили название альбуминов и глобулинов, различают также альфа-, бета- и гамма-глобулин. Фибриноген – белок, обуславливающий свертывание крови, также относится к глобулинам. Содержание белков в плазме крови различных сельскохозяйственных животных представлено в табл. 1 [3].

Таблица 1

Содержание белков в плазме крови различных животных

Белки	Содержание, %		
	крупного рогатого скота	мелкого рогатого скота	свиней
Сывороточные альбумины	3,6	3,8	4,4
Сывороточные глобулины	2,9	3,0	3,0
Фибриноген	0,6	0,5	0,7

Белки плазмы крови выполняют разнообразные функции: коллоидно-осмотический и водный гомеостаз; обеспечение агрегатного состояния крови; кислотно-основной гомеостаз; иммунный гомеостаз; транспортная функция; питательная функция; участие в свертывании крови.

Сывороточные альбумины участвуют в регуляции кислотно-щелочного равновесия и играют важную роль в транспортировке различных соединений. Альбумины осуществляют питательную функцию, являются резервом аминокислот для синтеза белков. Их транспортная функция заключается в переносе холестерина, жирных кислот, билирубина, солей желчных кислот, солей тяжелых металлов, лекарственных препаратов (антибиотиков, сульфаниламидов).

Сывороточные глобулины также участвуют в переносе различных веществ. Они представляют собой смесь α -, β - и γ -глобулинов, причем γ -глобулин способен реагировать с чужеродными белками – антигенами. Таким образом, γ -глобулин является носителем защитных свойств организма.

Фибриноген содержится в плазме и отсутствует в сыворотке крови. Фибриноген – первый фактор свертывания крови. Под воздействием тромбина пе-

реходит в нерастворимую форму – фибрин, обеспечивая образование сгустка крови.

Перечисленные белки плазмы являются полноценными, так как содержат весь комплекс незаменимых аминокислот. Наиболее ценным из них является

фибриноген, в котором содержится больше триптофана (3,5 %), лизина (9 %) и метионина (2,6 %) по сравнению с другими белками плазмы. Сравнительный аминокислотный состав основных белков плазмы крови приведен в табл. 2.

Таблица 2

Содержание аминокислот (в %) к белку

Аминокислота	Фибриноген	Сывороточный глобулин	Сывороточный альбумин
Фенилаланин	4,6	4,7	6,6
Триптофан	3,5	2,8	0,7
Тирозин	6,0	6,7	5,1
Аргинин	6,7	5,8	5,9
Гистидин	2,3	2,1	4,0
Лизин	9,0	6,3	12,8
Метионин	2,6	1,0	0,8
Треонин	7,9	7,4	5,8
Лейцин	7,1	9,5	12,3
Изолейцин	5,0	2,0	2,6
Валин	3,9	9,7	5,9
Аспарагиновая кислота	11,9	9,0	10,9
Глутаминовая кислота	13,8	12,5	16,5
Цистин + цистеин	1,5	2,3	5,9

Исходя из высокого содержания в крови полноценных белков и биологически активных веществ кровь издавна называют «жидким мясом», отмечая тем самым ее значимость как сырья для производства пищевых ингредиентов и продуктов лечебно-профилактического и функционального назначения.

Увеличение производства пищевой крови неразрывно связано с созданием специализированных отделений и установок для ее сбора и первичной обработки путем стабилизации, дефибрирования, консервирования, фракционирования и охлаждения с целью получения высококачественной плазмы (сыворотки) и форменных элементов.

Целью данной работы является изучение влияния стабилизаторов на объемное соотношение плазмы и эритроцитов при фракционировании крови и фракционный состав белков плазмы крови убойных сельскохозяйственных животных.

Объекты и методы исследований

В качестве материала исследования использовали стабилизированную свиную кровь, полученную отбором с животного при одновременной стабилизации стандартным 10%-ным раствором пищевого лимоннокислого натрия. Стандартный раствор использовали в количестве 10 мл/л крови. Плазму свиной крови получали фракционированием на лабораторной центрифуге модели СМ-50. Методика разделения основывалась на подборе оптимального значения фактора разделения, при котором не происходил гемолиз эритроцитов и продолжительность процесса была наименьшей. Фактор разделения определяли по формуле, предложенной А.И. Самбурским [4, 5]:

$$Fr = 11,18 \cdot 10^{-7} \cdot r \cdot n^2, \quad (1)$$

где r – радиус вращения для разделяемого вещества, мм; n – частота вращения ротора центрифуги, об/мин.

Определение молекулярной массы и концентрации белков проводили при помощи одномерного электрофореза (SDS-PAGE) в полиакриламидном геле в присутствии анионного детергента додецилсульфата натрия с окраской гелей Coomassie Brilliant Blue. Метод основан на том, что молекулы белков в растворе несут электрические заряды. Если через этот раствор пропускать электрический ток, поместив в него электрод, то молекулы в соответствии со своими зарядами будут двигаться к электродам. Под действием электрического тока молекулы различных белков перемещаются с различной скоростью. Пользуясь этим, можно разделять смесь белков на отдельные фракции.

Результаты и их обсуждение

Кровь после извлечения ее из туши животного теряет свойства жидкости и свертывания, образуя сгусток. У крупного рогатого скота кровь свертывается через 6,5 мин, у свиней – через 2,5 мин, у лошадей – через 11,5 мин. Поэтому кровь предварительно обрабатывают с целью последующей ее переработки в готовые продукты. Для выработки пищевых продуктов можно применять до 50 % крови, извлекаемой из животного. Если к отделенной крови немедленно прибавить химическое вещество, дающее с кальцием, содержащимся в крови, нерастворимое соединение, то свертывание не наступает (табл. 3).

Таблица 3

Основные антикоагулянты, употребляемые для предупреждения свертывания крови

Соли	Количество в г/л
Лимоннокислый натрий	3
Растворимые щавелевокислые соли	1
Фтористые соли (Na или NH ₄)	1,5–3
Фосфорнокислые соли	1,5
Сернокислая магнезия	1

Кровь, стабилизированная синантрином 130 и фибризолем, не свертывается в течение трех-четырех суток. Хлорид натрия задерживает свертывание крови до 24 ч. При применении указанных стабилизаторов заметный гемолиз обнаруживается через 2 суток в случае хранения крови при комнатной температуре. При низких плюсовых температурах длительность безгемолизного хранения возрастает в 4–5 раз.

Задержать свертывание крови можно действием низких температур: если отделенную кровь немедленно заморозить, то при оттаивании она будет иметь жидкую консистенцию и лишь затем свернется. Наоборот, высокие и повышенные температуры ускоряют процесс свертывания крови.

Преобразование фибриногена в фибрин происходит в несколько стадий. Сначала фермент тромбин отщепляет от молекулы фибриногена четыре небольших пептида (фибринопептиды), в результате чего образуется активная форма фибриногена – фибрин-мономер, который способен спонтанно полимеризоваться с построением волокон фибрина, формирующих впоследствии непрерывную сеть – основу кровяного сгустка. Как правило, тромбин расщепляет строго определенные связи, составляющие границу фибринопептидов, при этом в качестве С-концевой аминокислоты фибринопептида освобождается аргинин, а N-концевой аминокислотой фибрин-мономера остается глицин.

Предотвращение свертывания крови упрощает технологический процесс, дает возможность сократить и механизировать весь цикл выработки кровепродуктов, сохраняет в составе крови все содержащиеся в ней белки, уменьшает вероятность гемолиза и микробного загрязнения крови. При выборе стабилизаторов должна быть учтена продолжительность стабилизирующего действия, его влияние на гемолиз (в случае получения продуктов из плазмы) и на зольность готового продукта, расход стабилизатора, его стоимость и дефицитность, а при стабилизации пищевой крови – отсутствие токсического действия применяемых доз стабилизатора.

Для получения плазмы свиную кровь стабилизируют растворами цитрата и фосфата натрия в разных концентрациях. Соотношение стабилизатора и крови составляло 1:10. После фракционирования крови определяли процентное соотношение плазмы и форменных элементов. Результаты проведенных исследований представлены в табл. 4.

Таблица 4

Влияние стабилизатора на выход плазмы и форменных элементов

Стабилизатор	Объем плазмы, %	Объем эритроцитов, %
4 % p-p Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇	56,6	43,4
4 % p-p Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ + 0,75 % p-p Na ₂ HPO ₄ (5:1)	51,6	48,4
4 % p-p Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ + 0,75 % p-p Na ₂ HPO ₄ (4:1)	51,0	49,0
4 % p-p Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ + 0,75 % p-p Na ₂ HPO ₄ (2:1)	55,0	45,0
4 % p-p Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ + 0,75 % p-p Na ₂ HPO ₄ (3:1)	53,6	46,4
4 % p-p Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ + 0,75 % p-p Na ₂ HPO ₄ (1:1)	52,6	47,4

Анализ результатов, представленных в табл. 4, свидетельствует о том, что для наибольшего выхода плазмы при фракционировании свиной крови целесообразно применять в качестве стабилизатора 4%-ный раствор цитрата натрия в соотношении с кровью 1:10. Он связывает ионы кальция, что способствует подавлению одного из этапов процесса гемостаза – образования тромбина. Важным свойством цитрата натрия является то, что через 20–30 мин после трансфузии крови, стабилизированной с его помощью, он почти полностью (не менее 90 %) выводится из организма.

При изучении фракционного состава белков плазмы, полученной при сепарировании стабилизированной цитратом натрия свиной крови, было установлено, что в плазме свиной крови содержится достаточно большое количество белков с различными молекулярными массами от 24 до 855 кДа. При этом наибольшая концентрация белков (46,83 %) имеет молекулярную массу 58,95 кДа. Этот диапазон соответствует альбуминам, концентрация которых и должна быть наибольшей для плазмы крови (рис. 1, табл. 5).

До 30–35 % общего кровяного белка составляют глобулины. Они представляют собой смесь α-, β- и γ-глобулинов. γ-Глобулины имеют молекулярную массу около 150 кДа. В полученной плазме их концентрация составляет 2,75 %. γ-Глобулины включают в себя различные антитела или иммуноглобулины 5 классов: JgA, JgG, JgM, JgD и JgE, защищающие организм от вирусов и бактерий. На долю глобулярного белка фибриногена (молекулярная масса 340 кДа) приходится 2,76 %. По данным электрофореза в плазме свиной крови имеется также незначительная доля других белковых соединений, имеющих большую (596,6 и 854,23 кДа) и низкую (24,47 кДа) молекулярную массу.

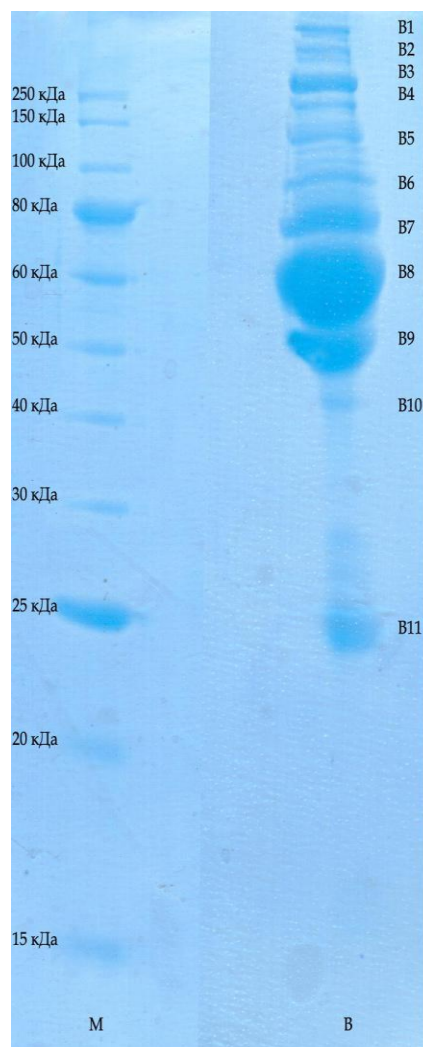


Рис. 1. Электрофорез в полиакриламидном геле (12 % разделяющий и 4 % фокусирующий): М – маркер; В – плазма

Молекулярно-массовое распределение белков плазмы свиной крови

№	Диапазон молекулярных масс, кДа	Относительное содержание фракций, %
1	Более 250,0	7,24
2	250,0–150,0	2,42
3	150,0–100,0	2,75
4	100,0–80,0	3,12
5	80,0–60,0	6,39
6	60,0–50,0	46,83
7	50,0–40,0	17,17
8	40,0–30,0	4,99
9	30,0–25,0	9,09

Таким образом, по результатам проведенных исследований можно сделать следующие выводы.

1. Применение стабилизации позволяет сохранить в крови, используемой для пищевых и медицинских целей, полноценный белок – фибриноген и увеличивает выход технической продукции за счет сохранения величины сухого остатка исходной крови.

2. Наиболее подходящими стабилизаторами являются те, которые подавляют ферментную систему свертывания крови. К такому стабилизатору относится цитрат натрия, предотвращающий образование фермента тромбина.

3. Изучение фракционного состава белков плазмы стабилизированной свиной крови показало, что в плазме содержатся разнообразные фракции белковых высокомолекулярных веществ, что делает перспективным использование плазмы в качестве ингредиента в производстве функциональных и лечебно-профилактических продуктов.

Список литературы

1. Беляничев, С.А. Вопросы организации современного производства по убою скота / С.А. Беляничев // Мясные технологии. – 2012. – № 2.
2. Лисицын, А.Б. Функциональные продукты на мясной основе / А.Б. Лисицын, А.В. Устинова, Н.Е. Белякина // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2007. – № 8. – С. 59–63.
3. Митасева, Л.Ф. Новый способ структурирования плазмы крови / Л.Ф. Митасева, Н.В. Нефедова, О.В. Козеева // Мясная индустрия. – 2000. – № 6. – С. 32–33.
4. Самбурский, А.И. Лабораторные центрифуги. Классификации и рекомендации по использованию / А.И. Самбурский // Медтехника и медизделия. – 2008. – № 3 (46). – С. 28–32.
5. Изгарышева, Н.В. Преимущества использования вторичного сырья мясной промышленности в технологии кислородных коктейлей / Н.В. Изгарышева, О.В. Кригер, В.А. Жданов // Техника и технология пищевых производств. – 2011. – № 1. – С. 27–31.

ФГБОУ ВПО «Кемеровский технологический институт пищевой промышленности»,
650056, Россия, г. Кемерово, б-р Строителей, 47.
Тел./факс: (3842) 73-40-40
e-mail: office@kemtipp.ru

SUMMARY

O.V. Kriger, A.V. Izgaryshev, A.P. Lapin

**INFLUENCE OF THE WAY OF PRELIMINARY PROCESSING
ON THE YIELD AND FRACTIONAL COMPOSITION OF BLOOD PLASMA PROTEINS**

The article deals with the main ways of butcher blood stabilization. The blood clotting mechanism is studied. The influence of stabilizers on the content of plasma and forming elements is defined. The fractional composition of the stabilized plasma proteins of alimentary blood is defined.

Butcher blood, fractional composition of proteins, blood stabilization.

Kemerovo Institute of Food Science and Technology
47, Boulevard Stroiteley, Kemerovo, 650056, Russia
Phone/Fax: +7(3842) 73-40-40
e-mail: office@kemtipp.ru