

HELSINGIN YLIOPISTO

Elintarvike- ja ympäristötieteiden laitos

EKT-sarja 1575

TEURASVEREN PROTEIINIEN  
HYÖDYNTÄMINEN ULTRASUODATUKSELLA  
JA RETENTAATIN TEKNOLOGISET OMINAISUUDET

Sarri Uotila

Helsinki 2012

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty Maatalous- metsätieteellinen tiedekunta		Laitos — Institution — Department Elintarvike- ja ympäristötieteiden laitos	
Tekijä — Författare — Author Sarri Uotila			
Työn nimi — Arbetets titel — Title Teurasveren proteiinien hyödyntäminen ultrasuodatuksella ja retentaatin teknologiset ominaisuudet			
Oppiaine — Läroämne — Subject Biotekniikka			
Työn laji — Arbetets art — Level Maisterin tutkielma		Aika — Datum — Month and year Marraskuu 2012	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages 67 + 3 (Liitteet)
Tiivistelmä — Referat — Abstract <p>Tärkeimpiä teurasveren proteiineja ovat verisolujen hemoglobiini ja globiini sekä plasman albumiini, fibrinogeeni ja immunoglobuliinit. Veren eri jakeilla on hieman toisistaan poikkeavia teknologisia ominaisuuksia. Veriproteiinia lisäämällä voidaan vaikuttaa elintarvikkeen geeliytymis-, vaahoutumis- ja emulgoitumisominaisuuksiin. Veren proteiineista voidaan valmistaa hydrolysaatteja, joiden antioksidatiivisia ja antigenotoksisia vaikutuksia voidaan hyödyntää elintarvikkeiden säilönnässä tai terveysvaikutteissa. Myös elintarvikkeen ravitsemuksellista arvoa voidaan parantaa veren proteiineja lisäämällä. Elintarvikesovelluksia ovat kananmunan-, rasvan- ja natriumkaseinaatin korvaajana sekä rakenteen ja säilyvyyden parantajana. Veren proteiineja voidaan käyttää kananmunan valkuaisen, maidon sekä soijan proteiinien korvaajina tai rasvan korvaajina kevyttöotteissa. Ultrasuodatus on elintarviketeollisuudessa yleisesti hyödynnetty menetelmä ja soveltuu myös veren proteiinien käsittelyyn.</p> <p>Tutkimuksen tavoitteena oli optimoida ultrasuodatusmenetelmä sian plasman konsentroitiiin elintarvikekäyttöä varten ja määrittää plasmakonsentraatin teknologiset ominaisuudet ja soveltuvuus elintarviketuotantoon.</p> <p>Vastepinta-analyysillä luotiin matemaattinen malli, jonka avulla laskettiin optimaaliset ultrasuodatusolosuhteet plasman konsentroidimiseksi. Optimiolosuhteet olivat Ultracel PLTK 30 –kalvo, 40 °C lämpötila ja 2 bar paine. Veriproteiinijakeiden teknologiset ominaisuudet määritettiin pH:ssa 4,5; 5,5; 6,3 ja 7,0. Proteiinien suhteen 5,8 % plasmakonsentraatista valmistettiin vatkaamalla vaahdot, joiden tilavuus ja pysyvyys mitattiin. Vaahoutuvuus ja vaahdon pysyvyys olivat suurimmat pH:ssa 5,5 ja matalimmat pH:ssa 7,0. Proteiinien suhteen 0,01 % plasmakonsentraatista määritettiin emulgointikyky, joka oli heikoin pH:ssa 5,5 suurentuen kohti pH-asteikon ääripäitä. 10 % plasmakonsentraatista valmistettiin geelit, joiden ominaisuudet mitattiin aineenkoetuslaitteella. Geelit olivat heikoimmat lähellä plasman isoelektristä pistettä pH:ssa 5,5. Plasmakonsentraatista valmistettiin lauantaimakkaraa, jonka rakenne ja aistinvaraiset ominaisuudet arvioitiin. Plasmaa sisältäneet lauantaimakkarat saivat kaikissa arvioiduissa ominaisuuksissa yhtä hyvät arviot kuin verrokkimakkarat.</p>			
Avainsanat — Nyckelord — Keywords Ultrasuodatus, veri, proteiini, elintarvike, teknologiset ominaisuudet			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited Viikin tiedekirjasto			
Muita tietoja — Övriga uppgifter — Further information EKT-sarja 1575			

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty Faculty of Agriculture and Forestry		Laitos — Institution — Department Department of Food and Environmental Sciences	
Tekijä — Författare — Author Sarri Uotila			
Työn nimi — Arbetets titel — Title The utilisation of slaughter blood proteins with ultrafiltration and technological properties of retentate			
Oppiaine — Läroämne — Subject Biotechnology			
Työn laji — Arbetets art — Level Master's thesis		Aika — Datum — Month and year November 2012	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages 67 + 3 (Attachments)
Tiivistelmä — Referat — Abstract  <p>Haemoglobin and globin from blood cells and albumin, fibrinogen and immunoglobulins from blood plasma are the most important proteins in slaughter blood. Different fractions of blood have slightly different technological properties. Adding blood proteins can have an effect on the gelling, foaming and emulsifying properties of foodstuffs. Blood protein hydrolysates have antioxidative and antigenotoxic effects that could be utilised as food preservatives or in functional foods to strengthen health. The nutritional value of food can be improved by adding blood proteins. Blood proteins can be utilized by replacing egg, fat and sodium caseinate in foods, to improve structure and shelf life of food. Blood proteins can also be utilised replacing egg white, milk or soy proteins or replacing fat in light products. Ultrafiltration is a common method in the food industry and it is also suitable for processing blood proteins.</p> <p>The aim of the study was to optimize an ultrafiltration method to concentrate porcine slaughter blood for use in the food industry and to determine the technological properties of plasma concentrate and its suitability for use in the food industry.</p> <p>Response surface methodology was used to create a mathematical model to calculate the optimal ultrafiltration parameters for plasma concentrations. Optimal conditions for the ultrafiltration were an Ultracel PLTK 30 membrane, temperature of 40 °C and pressure of 2 bar. The technological properties of blood proteins were measured at pH 4.5, 5.5, 6.3 and 7.0. Volume and stability were measured from foams prepared by whipping from plasma concentrate diluted to protein concentration of 5.8 %. Foam volume and stability were greatest at pH 5.5 and weakest at pH 7.0. Emulsifying capacity was measured from plasma concentrate diluted to 0.01 % protein concentration. Emulsifying capacity was weakest at pH 5.5 and increased towards high and low pH. Rheological properties of gels made from 10 % plasma concentrate were measured. The gels were weakest near the isoelectric point of plasma proteins at pH 5.5. Plasma concentrate was used to prepare bologna sausage. The structure and sensory properties of the sausages were evaluated. The sausages containing plasma concentrate were evaluated as equal to control sausages in every category.</p>			
Avainsanat — Nyckelord — Keywords Ultrafiltration, blood, protein, food, technological properties			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited Viikki Science Library			
Muita tietoja — Övriga uppgifter — Further information EKT-series 1575			

## Esipuhe

Tämä maisterin tutkielma tehtiin Jokioisilla Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskus MTT:lla Biotekniikka- ja elintarviketutkimuksen ohjelmassa Biomolekyylit-ryhmässä syksyllä ja talvella 2010 – 2011. Tutkielman ohjausryhmässä toimivat tutkija MSc Food Engineering Nora Pap ja erikoistutkija FT Anne Pihlanto MTT:lta ja valvojana toimi professori Tapani Alatossava Helsingin yliopistolta. Tutkimus oli osa laajempaa teurastamoiden sivuvirtojen hyödyntämistä koskevaa MTT:n tutkimuskokonaisuutta.

Suurin kiitos tutkielmasta kuuluu ohjaajalleni Nora Papille. Lisäksi haluan kiittää koko ohjausryhmää, Biomolekyylit-ryhmää, MTT:tä ja kannustavia työkavereita sekä yhteistyökumppaneita, erityisesti Jarkko Viikaria HK Ruokatalo Oy:stä. Haluan myös kiittää Lihantutkimuslaitos LTK:ta asiantuntevasta avusta makkaran valmistuksessa ja aistinvaraisessa arvioinnissa.

Jokioisilla marraskuussa 2012

Sarri Uotila

## TIIVISTELMÄ

## ABSTRACT

## ESIPUHE

## SISÄLLYSLUETTELO

<b>1 JOHDANTO .....</b>	<b>7</b>
<b>2 KIRJALLISUUSKATSAUS .....</b>	<b>9</b>
2.1 ULTRASUODATUS .....	9
2.1.1 Kalvosuodatus .....	9
2.1.2 Suodatusolosuhteet .....	10
Läpäisevyys .....	10
Selektiivisyys .....	13
Konsentraatiopolarisaatio ja likaantuminen .....	14
2.1.3 Ultrasuodatuksen hyödyntäminen teurasverimateriaaliin .....	16
2.2 VASTEPINTAMENETELMÄ .....	17
2.2.1 Faktorikokeet .....	18
2.2.2 Toisen asteen vastepinta-analyysi .....	18
2.2.3 Vastepintamenetelmä verimateriaalin ultrasuodatuksessa .....	20
2.3 TEURASVEREN PROTEIINIT .....	21
2.3.1 Veren ja sen fraktioiden käsittely .....	23
2.3.2 Veren proteiinien teknologiset ominaisuudet .....	26
Vaahoutumisominaisuudet .....	27
Emulgointiominaisuudet .....	28
Geelitymisominaisuudet .....	29
Liukoisuus .....	26
Muut ominaisuudet .....	30
2.3.3 Veren proteiinien antioksidatiiviset ja -genotoksiset vaikutukset .....	31
2.4 SOVELLUKSIA VEREN PROTEIINEILLE ELINTARVIKKEISSA .....	32
2.4.1 Ravitsemukselliset ominaisuudet .....	32
2.4.2 Veren ja sen fraktioiden käyttö elintarvikkeissa .....	33
2.4.3 Kananmunan korvaajana .....	34
2.4.4 Rasvan korvaajana .....	35
2.4.5 Surimituotteissa .....	35
2.4.6 Natriumkaseinaatin korvaajana .....	35
2.4.7 Veriproteiinin hyödyntäminen lihatuotteissa .....	36

<b>3 KOKEELLINEN TUTKIMUS .....</b>	<b>36</b>
3.1 TAUSTA JA TAVOITTEET .....	36
3.2 MATERIAALIT JA MENETELMÄT .....	37
3.2.1 Veren keräys ja jakeiden erottaminen .....	37
3.2.2 Plasman ultrasuodatus ja prosessin optimointi.....	37
3.2.3 Teknologiset ominaisuudet .....	41
Proteiinipitoisuuden määrittäminen.....	41
Viskositeetin määrittäminen .....	42
Vaahtoutuvuuden määrittäminen.....	42
Emulgointikyvyn määrittäminen .....	43
Geelitymiskyvyn määrittäminen.....	43
3.2.4 Lauantaimakkaran valmistus ja arviointi.....	44
3.3 TULOKSET.....	44
3.3.1 Plasmaproteiinien ultrasuodatus.....	45
3.3.2 Teknologiset ominaisuudet .....	52
Vaahtoutuvuus .....	52
Emulgointikyky .....	54
Geelityminen .....	55
3.3.3 Lauantaimakkara.....	55
Rakenne .....	55
Aistinvarainen arviointi .....	55
<b>4 TULOSTEN TARKASTELU .....</b>	<b>57</b>
<b>5 PÄÄTELMÄT.....</b>	<b>61</b>
<b>LÄHDELUETTELO.....</b>	<b>63</b>
<b>LIITTEET.....</b>	<b>68</b>
Liite 1. Vastepinta-analyysin koeasetelma sekä vasteiden toteutuneet ja luodulla mallilla ennustetut arvot	
Liite 2. Plasman ja plasmakonsentraattien proteiinipitoisuudet	
Liite 3. Plasmakonsentraattien viskositeetit	

# 1 Johdanto

Teurasveri sisältää runsaasti proteiineja, joita ei tällä hetkellä hyödynnetä kovin tehokkaasti. Eri puolilla maailman veri on suuri jätevirtojen lähde teurastamoilla, vaikka Suomessa suurin osa meneekin vielä nykyään turkiseläinten rehuksi (Belhocine 1998; Raevuori 2010). Turkiseläintuotannon oletetaan kuitenkin vähenevän huomattavasti lähitulevaisuudessa, joten veren proteiinien tehokkaaseen hyödyntämiseen myös Suomessa on paineita (Karhula ym. 2008). Veren proteiineilla on hyviä ravitsemuksellisia ominaisuuksia (Duarte ym. 1999). Kuitenkaan veren käyttö sellaisenaan elintarvikkeissa ei ole nykyisten ruokailutottumusten mukaista, mutta se voitaisiin jalostaa käytettäväksi uusilla helpommin hyväksyttävillä tavoilla. Veri voidaan helposti erotella erilaisiksi jakeiksi, joista tärkeimpiä ovat punasolujen hemoglobiini- ja globiinijakeet sekä plasman albumiini-, globiini- ja fibrinogeenijakeet (Autio ym. 1983; Dávila ym. 2007). Veren jakeet sellaisinaan tai jatkojalostettuina voisivat soveltua elintarvikkeissa käytettäväksi.

Ravitsemuksellisuuden lisäksi veren proteiineilla on hyviä toiminnallisia ominaisuuksia (Álvarez ym. 2009). Veren proteiineille elintarvikekäytön kannalta tärkeimpiä teknologisia ominaisuuksia ovat emulgointi-, vaahtoutumis- ja geeliytymiskyvyt. Plasmaproteiinit ovat teknologisilta ominaisuuksiltaan tehokkaita laajalla fysiologisella alueella, koska ne ovat usean ominaisuusiltaan erilaisen proteiinin seos. Proteiinien liukoisuudella on edellä mainittuihin ominaisuuksiin suuri vaikutus ja pH:lla on suuri vaikutus taas liukoisuuteen. Veriproteiinien teknologisia ominaisuuksia tutkittaessa tärkeitä muuttujia ovatkin pH ja proteiinipitoisuus.

Veren jakeita voidaan käyttää elintarvikkeissa mm. kananmunan, rasvan ja natriumkaseinaatin korvaajana sekä muutoin rakenteen, säilyvyyden ja ravitsemuksellisuuden parantajana (Lee ym. 1993; Duarte ym. 1999; Cofrades ym. 2000; Silva ym. 2003; Rawdkuen ym. 2004). Veriproteiineja voidaan yhteisen alkuperän johdosta hyödyntää erityisesti lihatuotteissa, kuten makkaroissa ja pateissa.

Ultrasuodatus on elintarviketeollisuudessa paljon hyödynnetty menetelmä haluttujen ainesosien konsentroimiseen ja se soveltuu hyvin proteiinipitoisten liuosten käsittelyyn (Mulder 1996). Kalvon ominaisuuksiin vaikuttaa kuitenkin useita tekijöitä ja menetelmä vaatii optimoinnin kullekin materiaalille. Kalvon tehokkuutta mitataan läpäisevyydellä ja

selektiivisyydellä. Läpäisevyyttä mitataan kalvon läpi virtaavan permeaattivuon suuruudella ja siihen vaikuttaa suodatuksen liikkeelle paneva voima, esimerkiksi paine tai pitoisuusero. Selektiivisyys on kalvon kyky läpäistä tai pidättää erotettavana olevia molekyylejä. Suurimmat ongelmat kalvosuodatuksessa ovat konsentraatiopolarisaation ja likaantumisen aiheuttamat vuon hidastuminen ja kalvon huokosten tukkeutuminen, joka voi johtaa kalvon käyttöiän lyhenemiseen. Veriplasman konsentroiduista ultrasuodatuksella on tutkittu jo pitkään; viime aikoina kiinnostusta on herättänyt erityisesti ultrasuodatusmenetelmän hyödyntäminen veriplasman proteiinien keräämiseksi elintarvikekäyttöön (Fernando 1981; Torres 2002).

Vastepintamenetelmä on tehokas tutkittaessa useita muuttujia samanaikaisesti (Myers ym. 2009). Menetelmässä suuren tietomäärän käsittelemiseen tarvitaan suhteellisen vähän kokeita. Tulosten perusteella voidaan arvioida muuttujien arvoja myös sellaisissa olosuhteissa, joita ei ole kokeellisesti tutkittu. Menetelmä soveltuukin ultrasuodatuksen optimointiin, sillä ultrasuodatuksen olosuhteisiin vaikuttaa samanaikaisesti useita muuttujia.

Kirjallisen tutkimuksen tavoitteena oli perehtyä veren käsittelyyn ja veriproteiinien ominaisuuksiin, ultrasuodatuksen ja vastepintamenetelmän hyödyntämiseen kartoittaen samalla mahdollisia veriproteiinien hyödyntämiskohteita elintarviketuotannossa. Kokeellisen tutkimuksen tavoitteena oli kehittää ultrasuodatusmenetelmä sian veriplasman konsentroiduiseksi ja mitata konsentraatin teknologiset ominaisuudet elintarvikekäytön näkökulmasta sekä valmistaa koetuote plasmakonsentraattia käyttäen. Tutkimuksessa sian veren plasmaa konsentroidtiin ultrasuodatuksella ja menetelmän optimointiin hyödynnettiin vastepinta-analyysiä. Plasmakonsentraatin soveltuvuus elintarvikkeiden raaka-aineeksi määritettiin mittaamalla teknologiset ominaisuudet emulgoituvuus, vaahtoutuvuus ja geeliytymiskyky sekä valmistamalla lauantaimakkaraa plasmaproteiineja hyödyntäen.

## 2 Kirjallisuuskatsaus

### 2.1 Ultrasuodatus

Ultrasuodatus on elintarviketeollisuudessa runsaasti käytetty menetelmä. Sitä voidaan hyödyntää myös veren käsittelyssä. Tämän tutkimuksen kokeellisessa osiossa sian veren plasmaproteiineja konsentroidiin ultrasuodatuksella ja ultrasuodatuksen parametrien mallintamiseen käytettiin vastepintamenetelmää.

#### 2.1.1 Kalvosuodatus

Kalvosuodatuksella pyritään erottamaan liuoksessa olevia komponentteja toisistaan, mikä perustuu puoliläpäisevään kalvoon kahden faasin, syöttövirran ja permeaatin, välillä (Mulder 1996). Kalvon läpäisevää virtaa kutsutaan permeaatiksi ja kalvon pidättämää virtaa retentaatiksi. Kalvon materiaali vaikuttaa mm. adsorption vaikutuksesta läpäisevyyteen, sovelluksen kemialliseen tasapainoon sekä kalvon puhdistukseen. Ultrasuodatuksessa käytettävät kalvot ovat yleensä asymmetrisiä ja huokoista materiaalia päällystettynä ohuella päällyskerroksella, joka on aluskerrosta huomattavasti tiiviimpi. Ohut päällyskerros saakin yleensä aikaan proteiinien erottumisen prosessissa. Yleisimmin käytössä on orgaanisista polymeereistä valmistettuja kalvoja. Polyeetterisulfoni on yksi erittäin suosittu kalvosuodatuksen perusmateriaali (Ulbricht ym. 2007). Muita usein käytettyjä materiaaleja ovat monet muut polysulfonit ja monet selluloosaesterit (Mulder 1996). Myös epäorgaanisia keraamisia kalvoja käytetään. Keraamisten kalvojen hyviä puolia ovat hyvä lämmönsietokyky, kemiallinen kestävyys ja pitkä käyttöikä. Ne soveltuvat käytettäväksi erityisesti vaativissa olosuhteissa, joita orgaaniset polymeerit eivät välttämättä kestä.

Kalvosuodatusmenetelmän etuja verrattuna muihin proteiinien erotus- ja konsentroidintimenetelmiin ovat usein jatkuvatoiminen erotusprosessi, matala energian kulutus ja lempeät prosessiolosuhteet (Mulder 1996). Menetelmä voidaan myös helposti yhdistää muihin menetelmiin ja prosessin mitoitus suureen mittakaavaan on suhteellisen helppoa.

Ultrasuodatusmenetelmää käytetään jo lähes kaikilla teollisuuden aloilla, mm. elintarvike-, lääke- ja kemianteollisuudessa. Elintarvikealalla menetelmää hyödynnetään erityisesti meijeriteollisuudessa, jossa käytössä olevia sovelluksia ovat esimerkiksi maidon konsentroiminen, juuston valmistaminen ja heraproteiinien talteenotto (Sharma ym. 1993; Yee ym. 2007; Govindasamy-Lucey ym. 2011). Muita elintarvikealan sovelluksia ovat muun muassa perunan proteiinien talteenotto, hedelmämehujen ja alkoholijuomien selkeyttäminen sekä tuotannon jätevesien puhdistaminen (Gonçalves ym. 2001; Zwijnenberg ym. 2002; Cassano ym. 2011; Lo ym. 2011). Myös veriplasman proteiinien konsentroimiseksi ultrasuodatusta on tutkittu jo pitkään (Fernando 1981).

Kalvojen ominaisuudet vaihtelevat paljon kohteena olevan prosessin tai sovelluksen olosuhteista riippuen. Käytettävät suodatuslaitteistot ja kalvojen rakenteet ovat erittäin monimuotoisia. Suodatettavaa liuosta voidaan esimerkiksi kierrättää useita kertoja kalvon ylitse tai kalvot voivat olla sarjassa paremman lopputuloksen saavuttamiseksi (Mayani ym. 2009; Echavarria ym. 2011).

### **2.1.2 Suodatusolosuhteet**

Suodatusolosuhteiden fysikaaliskemialliset tekijät vaikuttavat suodatuksen tehokkuuteen. Kalvon tehokkuutta voidaan määrittää läpäisevyydellä ja selektiivisyydellä. Niihin vaikuttaa mm. kalvon materiaali ja suodatettavan aineen ominaisuudet. Suodatuksen tehoa heikentäviä tekijöitä ovat konsentraatiopolarisaatio ja kalvon likaantuminen. Konsentraatiopolarisaatiossa kalvon pinnalle alkaa kertyä partikkeleita ja kalvon läpäisevä vuo hidastuu. Kalvon likaantuminen on kalvon huokosten tukkeutumista, joka on vaikeasti puhdistettavissa tai jopa peruuttamatonta. Likaantumisen takia kalvojen käyttöikä voi jäädä lyhyeksi.

### **Läpäisevyys**

Läpäisevyys on usein verrannollinen liikettä ajavaan voimaan, joka voi olla esimerkiksi paine, lämpötila tai pitoisuusero (Mulder 1996). Liikettä ajava voima saa suodatettavan aineen suotautumaan kalvon läpi. Ultrasuodatuksessa esimerkiksi paine voi vaihdella 1–10 bar:n välillä. Liian korkeassa paineessa molekyylit pakkautuvat kalvon pinnalle ja

huokosiin tukkien kalvon ja tyrehtyttäen vuon. Ultrasuodatuksessa vuo voi vaihdella välillä 10–50 l/m<sup>2</sup> h bar:a kohden, huokoskoko välillä 1–100 nm ja kalvon paksuus voi olla esimerkiksi 150 µm (Mulder 1996). Läpäisevyyteen vaikuttavat huokoskoko, kalvon materiaali, suodatus lämpötila ja pH, kriittinen vuo ja liuoksen ionivahvuus (Mulder 1996).

Field ym. (1995) määritteli kriittisen vuon käsitteen: ”(Ultrasuodatusta) aloitettaessa on olemassa vuon arvo, jonka alapuolella vuo ei vähene ajan suhteen ja jonka yläpuolella havaitaan likaantumista”. Kriittisen vuon arvo riippuu mm. virtausdynamiikasta. Vuon suuruuteen vaikuttavat suodatusolosuhteet, esimerkiksi kalvon ylittävä paine-ero. Suuremmalla paineella saavutetaan suurempi vuo, mutta liian korkea paine aiheuttaa pysyvää likaantumista ja vuon nopeaa heikkenemistä. Likaantuminen on huomattavasti vähäisempää työskenneltäessä kriittistä vuota alhaisemmissa olosuhteissa.

Läpäisevyyttä mitataan permeaattivuolla eli virtauksen tilavuudella kalvon läpi pinta-alaa ja aikayksikköä kohden (Mulder 1996). Tarkasteltaessa painetta liikettä ajavana voimana, paineen kasvaessa permeaattivuo kasvaa. Kriittinen vuo on se piste, jossa permeaattivuon kasvu alkaa hidastua. Kun paineen lisäys ei enää kasvata vuon arvoa, on saavutettu rajoittava vuo.

Vuo/voima -suhdetta voidaan kuvata yhtälöllä:

$$J = -A \frac{dX}{dx} \quad (\text{Mulder 1996}), \quad (1)$$

jossa

$J$  = vuo

$A$  = fenomenologinen kerroin

$dX/dx$  = liikettä ajava voima  $X$ :n gradienttina, joka on kohtisuorassa läpäisevyyden muodostamaan esteeseen.

Fenomenologinen kerroin  $A$  vaihtelee sen mukaan, missä yksikössä vuo ilmaistaan. Esimerkkinä massa- ja tilavuusvuot (yhtälöt 2 ja 3).

Massavuo:

$$J_m = -D \frac{dc}{dx} \quad (\text{Fickin lain mukaan}), \quad (2)$$

jossa

$D$  = diffuusiovakio

$c$  = konsentraatiogradientti.

Tilavuusvuo:

$$J_v = -L_p \frac{dP}{dx} \text{ (Darcyn lain mukaan),} \quad (3)$$

jossa

$L_p$  = läpäisevyysvakio

$P$  = painegradientti.

Kalvon läpäisevä vuo vähenee suodatuksen edetessä. Se johtuu pääasiassa konsentraatiopolarisaatiosta ja kalvon likaantumisesta, sillä ne lisäävät suodatuksen vastusta (Porter 1972). Näytettä käsiteltäessä vuo on usein vähemmän kuin 5 % puhtaalla vedellä saadun vuon arvosta (Mulder 1996).

Ultrasuodatuskalvo, konsentraatiopolarisaatio ja kalvon likaantuminen aiheuttavat resistanssia kalvon läpi virtaavalle aineelle. Kalvon aiheuttama resistanssi määritetään puhtaan veden resistanssilla puhtaalle kalvolle ja likaantumisen aiheuttama resistanssi saadaan määrittämällä puhtaan veden resistanssi suodatuksen jälkeen likaantuneelle kalvolle. Eri resistanssien vaikutuksia voidaan määrittää mallintamalla resistansseja sarjassa (eng. resistance-in-series model).

$$\text{Resistanssi} = \frac{p}{\eta \times J} \text{ (Mulder 1996),} \quad (4)$$

jossa

$p$  = paine

$\eta$  = dynaaminen viskositeetti

$J$  = vuo.

Suodatuksen aiheuttama resistanssi saadaan laskemalla kokonaisresistanssin sekä kalvon ja likaantumisen aiheuttaman resistanssin erotus.

Suodatuksen resistanssi:

$$R_g = R_T - R_m - R_f \text{ (Mulder ym. 1996),} \quad (5)$$

jossa

$R_T$  = kokonaisresistanssi

$R_m$  = puhtaan kalvon resistanssi

$R_f$  = likaantumisen aiheuttama resistanssi.

## Selektiivisyys

Kalvon selektiivisyys tarkoittaa kalvon kykyä pidättää tai läpäistä erotettavana olevia ainesosia. Selektiivisyys perustuu usein ja etenkin aikaisemmin perustui yleisesti kalvon huokoskokoon, jolloin erottelu perustuu partikkelikokoon. Proteiiniliuoksia suodatettaessa yleensä perussääntönä pidetään sitä, että partikkeleiden kokoeron täytyy olla vähintään kymmenkertainen (Ghosh 2000; Saxena 2009). Proteiinien molekulaarinen koko ei kuitenkaan aina kerro niiden todellista halkaisijaa, joka voi vaihdella paljon suhteessa kokoon (Ghosh & Cui 2000). Viime aikoina on tutkittu paljon myös muiden ominaisuuksien aikaansaamaa selektiivisyyttä. Hydrodynaamiset vuorovaikutukset partikkelien ja huokosten seinämän välillä heikentävät partikkeleiden läpäisyä (Dechadilok & Deen 2009). Kalvon huokokset ovat usein asymmetrisiä ja huokoskoossa on vaihtelua vaikuttaen proteiinien läpäisyyn. Viiltojen kaltaisia huokosia omaavilla kalvoilla on parempi suorituskyky ja selektiivisyys kuin symmetrisiä huokosia omaavilla kalvoilla (Kanani ym. 2010). Huokoskoon lisäksi selektiivisyyteen vaikuttaa liuoksen pH ja konsentraatio sekä kalvon ja proteiinien elektroninen varaus (Ghosh & Cui 1998; van Reis ym. 1999). Dechadilokin ym. (2009) mukaan varautuneiden partikkeleiden ympärille muodostunut ionipilvi voi olla huomattavasti partikkelin halkaisijaa suurempi ja siten vaikuttaa partikkeleiden läpäisevyyteen.

Koska proteiinit ovat amfolyyttisiä aineita, sopivin pH suodatukseen on usein lähellä proteiinin isoelektristä pistettä  $pI$  (Ghosh & Cui 1998). Isoelektrisessä pisteessä proteiinin nettovaraus on nolla, jolloin proteiinien läpimitta on pienimmällään ja ne läpäisevät kalvon helpoiten. Kuitenkin isoelektrisessä pisteessä proteiinit saattavat muodostaa keskenään komplekseja aiheuttaen kalvon likaantumista (Lo ym. 2005). Proteiinin isoelektrisestä pisteestä poikkeavassa pH:ssa proteiinien varaus on positiivinen pH:n ollessa  $pI$ :n yläpuolella tai negatiivinen pH:n ollessa  $pI$ :n alapuolella. Kaukana  $pI$ -arvostaan olevat voimakkaasti varautuneet proteiinit voivat reagoida sähköisen vuorovaikutuksen kautta muiden proteiinien kanssa muodostaen suurempia komplekseja, jolloin suodatuskalvo likaantuu herkästi (Hiltunen & Metsämuuronen 2007). Kalvon materiaalilla ja kalvon pinnan käsittelyllä voidaan vaikuttaa kalvon ja partikkeleiden väliseen repulsioon ja pH:n vaikutukseen suodatuksessa (Ghosh & Cui 1998).

Kalvon selektiivisyyttä liuokselle kuvataan joko retentiolla  $R$  tai erotuskertoimella  $\alpha$ . Laimeita vesiliuoksia suodatettaessa käytetään yleensä retentiota. Retentio  $R$  on dimensioton arvo 0–1 väliltä. Jos  $R = 1$ , vain liuotin läpäisee kalvon. Jos  $R = 0$ , sekä liuotin että liuenneet aineet läpäisevät kalvon vapaasti.

Retentio:

$$R = (c_f - c_p) / c_f = 1 - c_p / c_f \quad (\text{Mulder 1996}), \quad (6)$$

jossa

$c_f$ : liuenneen aineen konsentraatio syöttövirrassa

$c_p$ : liuottimen konsentraatio permeaatissa

Erotuskerrointa  $\alpha$  käytetään kalvon selektiivisyyttä kuvaamaan suodatettaessa orgaanisia nesteitä ja kaasuseoksia.  $\alpha$  on aina suurempi kuin 1. Jos A:n läpäiseväisyys kalvolle on suurempi kuin B:n, erotuskerroin merkitään  $\alpha_{A/B}$ . Jos B läpäisee kalvon paremmin kuin A, erotuskerroin merkitään  $\alpha_{B/A}$ . Jos  $\alpha_{A/B} = \alpha_{B/A} = 1$ , erottumista ei tapahdu.

Erotuskerroin:

$$\alpha_{A/B} = (y_A / y_B) / (x_A / x_B) \quad (\text{Mulder 1996}), \quad (7)$$

jossa

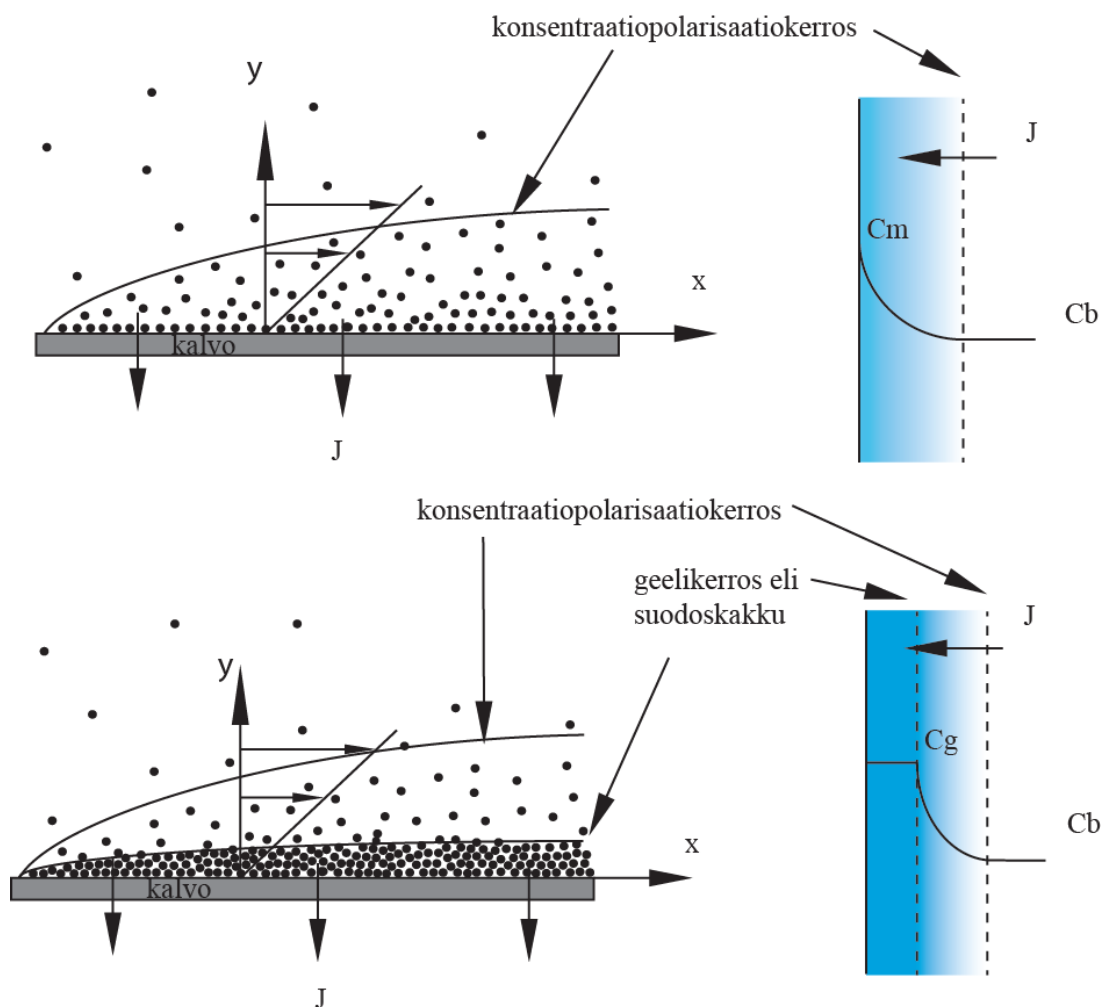
$\alpha_{A/B}$ : selektiivisyys kerroin A:sta ja B:sta koostuvalle seokselle

$y_A$  and  $y_B$ : A:n ja B:n konsentraatio permeaatissa

$x_A$  and  $x_B$ : A:n ja B:n konsentraatio syöttövirrassa

## Konsentraatiopolarisaatio ja likaantuminen

Suurimmat ongelmat ultrasuodatuksessa ovat konsentraatiopolarisaatio ja likaantuminen. Konsentraatiopolarisaatiossa virtaus kalvon läpi vetää partikkeleita mukanaan kalvon rajapinnalle, kalvo ei läpäise kaikkia partikkeleita ja sen pinnalle alkaa kertyä syöttövirtaa tiheämpi kerros ja muodostuu konsentraatiogradientti (Porter 1972). Kalvon pinnalle muodostuu tiheä kerros, jonka konsentraatio ei enää kasva kalvoa lähestyessä (Kuva 1). Suuri pitoisuus saattaa aiheuttaa liuoksen geeliytymisen muodostaen ikään kuin toisen kalvon alkuperäisen kalvon pinnalle ja heikentäen huomattavasti liuoksen virtausta kalvon läpi. Konsentraatiopolarisaatiota voidaan vähentää pienentämällä rajakerroksen paksuutta (Mulder 1996). Alkuperäinen permeaattivuo voidaan jälleen saavuttaa huuhtomalla kalvo



**Kuva 1.** Konsentraatiopolarisaatio ja suodskakun muodostuminen. (a) Virtausnopeuden ollessa kriittisen vuon alapuolella muodostuu konsentraatiopolarisaatiokerros. (b) Virtausnopeuden ollessa kriittisen vuon yläpuolella partikkeleita kasaantuu kalvon pintaan ja muodostuu geelikerros eli suodskakku.  $J$  = vuo,  $C_b$  = konsentraatio syöttövirrassa,  $C_g$  = konsentraatio geelikerroksessa (Kuva muokattu lähteistä Song & Elimelech 1995; Mulder 1996).

esim. vedellä. Ultra-suodatuksessa konsentraatiopolarisaatio on voimakasta, koska kalvon läpäisevä vuo on suuri, makromolekyylien diffuusio melko matala ja retentio yleensä melko korkea. Konsentraatiopolarisaatio pienentää vuota, heikentää saantoa ja voi johtaa kalvon likaantumiseen.

Kalvosuodatuksen likaantumislmiössä (eng. fouling) konsentraatiopolarisaation aiheuttamana erotettavaa materiaalia kertyy membraanin pinnalle ja huokosiin pienentäen permeaattivuota. Kalvon likaantumisen mekanismeja ei vielä kunnolla tunneta (Chen ym. 2004). Ainakin kalvon rakenne ja materiaali vaikuttavat likaantumislmiöön. Huokosten muodolla, yhteyksillä toisiinsa ja huokostiheydellä on myös suuri vaikutus likaantumiseen (Chandler & Zydney 2006). Likaantumista ei voida kokonaan estää, mutta siihen voidaan

vaikuttaa suodatusolosuhteilla ja kalvon materiaalilla. Kalvon materiaali vaikuttaa sovelluksen kemialliseen tasapainoon ja kalvon puhdistukseen. Likaantunut kalvo voidaan usein puhdistaa, mutta se yleensä lyhentää kalvon käyttöikää. Kalvon materiaalin tulisi olla likaantumista ehkäisevää ja puhdistettavissa. Likaantumisherkkyyteen vaikuttavat materiaalin termiset ja kemialliset ominaisuudet.

Likaantumisen erilaiset tyypit ovat huokosten tukkeumat (eng. pore blockage), huokosten umpeenkuroutuminen (eng. pore constriction) ja suodoskakun muodostuminen kalvon pintaan (eng. cake filtration) (Ho & Zydney 2000; Wu ym. 2011). Huokosten tukkeumassa partikkelit tukkivat huokosen suuaukon eikä huokoseen pääse enää uusia partikkeleita. Huokosten umpeen kuroutuessa partikkelit tarttuvat huokosen muodostaman kanavan pintaan pienentäen huokosen halkaisijaa. Kalvon pintaan muodostunut suodoskakku kasvattaa suodatuksen resistanssia samaan tapaan kuin konsentraatiopolarisaatio (Kuva 1). Erityyppinen likaantuminen aiheutuu erilaisten partikkeleiden ominaisuuksista. Wu ym. (2011) oletivat huokosten umpeenkuroutumisen aiheutuvan liukoisesta materiaalista, huokosten tukkeutumisen aiheutuvan kolloideista ja kakun muodostumisen aiheutuvan kiinteistä partikkeleista. Likaantumisessa huokosten tukkeutuminen on konsentraatiopolarisaatiosta poiketen usein peruuttamatonta ja likaantunut kalvo erittäin vaikea puhdistaa (Chen ym. 2004). Likaantumisen ymmärtäminen onkin tärkeää ja hydrodynaamisilta ominaisuuksiltaan likaantumisen minimoivia kalvomateriaaleja tulisi kehittää.

### **2.1.3 Ultrasuodatuksen hyödyntäminen teurasverimateriaaliin**

Ultrasuodatusta voidaan hyödyntää teurastamoiden jätekuormituksen pienentämisessä. Veri on merkittävin biologinen kuormittaja teurastamoiden jätevesissä (Belhocine ym. 1998). Belhocine ym. (1998) tutkimuksissa havaittiin ultrasuodatuksen olevan erittäin tehokas teollisuuden jätevirtojen biologisen saastuttavuuden pienentämismenetelmä. Orgaaninen kalvo osoittautui epäorgaanista kalvoa tehokkaammaksi teurastamoiden jätevirtojen puhdistamisessa. Lisäksi ultrasuodatuksen havaittiin olevan haihduttamista huomattavasti taloudellisempi menetelmä jätteen määrän vähentämiseksi.

Ultrasuodatusta voidaan myös hyödyntää teurasveren proteiinien talteen keräämiseksi. Fernando (1982) ja Belhocine ym. (1998) totesivat ultrasuodatusmenetelmän soveltuvan

plasmaproteiinien konsentroimiseen. Torres ym. (2002) lisäksi totesivat ultrasuodatuksen soveltuvan kanan veren konsentroiintiin tavoitteena elintarvikekäyttö. Ultrasuodatuksella konsentroidu veri plasma on ravitsemukseltaan lähes kaseiinin veroinen proteiinilähde (Delanay 1975).

Tärkeimpiä verimateriaalin ultrasuodatukseen vaikuttavia tekijöitä ovat paine, lämpötila ja kalvon materiaali (Torres ym. 2002; Lo ym. 2005). Näiden lisäksi myös virtausnopeus ja pH voivat olla merkittävästi vaikuttavia tekijöitä (Torres ym. 2002; Lo ym. 2005). Lo ym. (2005) havaitsivat, että pH:n säätäminen isoelektrisestä pisteestä poikkeavaksi mahdollisti paremman ultrasuodatustuloksen teurastamoiden jätevesiä suodatettaessa (Lo ym. 2005).

## **2.2 Vastepintamenetelmä**

Vastepintamenetelmä on viime aikojen käytetyin optimointimenetelmä tieteellisessä tutkimuksessa (Baş & Boyacı 2007). Vastepintamenetelmää käytetään myös usein teollisuudessa, jotta saavutetaan tehokkain mahdollinen prosessointi (Myers ym. 2009). Vastepintamenetelmä soveltuukin hyvin toisen paljon teollisuudessa käytettävän menetelmän, kalvosuodatuksen, parametrien optimointiin. Menetelmän avulla saadaan minimoitua suoritettavien kokeiden määrä ultrasuodatusprosessin optimaalisia olosuhteita määrittäessä. Suoritettavien kokeiden määrä voisi kattavassa koeasetelmassa muutoin olla hyvinkin suuri, sillä ultrasuodatuksen tehokkuuteen vaikuttaa useita eri parametreja. Vastepintamenetelmä soveltuu optimoimaan kemiallisten ja biologisten prosessien muutoksia, joita voidaan kuvata toisen kertaluvun polynomisella yhtälöllä (Baş & Boyacı 2007).

Vastepintamenetelmässä tavoitteena on tuntemattoman suureen  $y$  selvittäminen tunnettujen suureiden  $x_1, x_2, x_3, \dots, x_k$  funktiona  $y = f(x_1, x_2, x_3, \dots, x_k)$  (Myers ym. 2009). Vastepintamenetelmää voidaan käyttää optimin etsimiseen. Vastepinta-analyysi on vaiheittainen menetelmä, jossa edetään systemaattisesti alkupisteestä kohti optimia. Optimi voi joko maksimoida tai minimoida vasteen arvon. Vastepintamenetelmällä selvitetään, millä tekijöillä eli faktoreilla on todellinen merkitys vasteisiin ja millä muuttujilla on merkittäviä synergisiä tai antagonistisia yhteisvaikutuksia (MODDE User Guide). Tärkeitä tekijöitä ovat ne, joiden vaihtelulla on huomattavia vaikutuksia vasteisiin (MODDE User Guide). Vastepinta-analyysillä pyritään selvittämään, miten tekijät vaikuttavat vasteisiin.

Vastepinta-analyysissa luodaan matemaattinen malli, jonka kertoimet pyritään selvittämään koesuunnittelun avulla saatavan tiedon perusteella (MODDE User Guide).

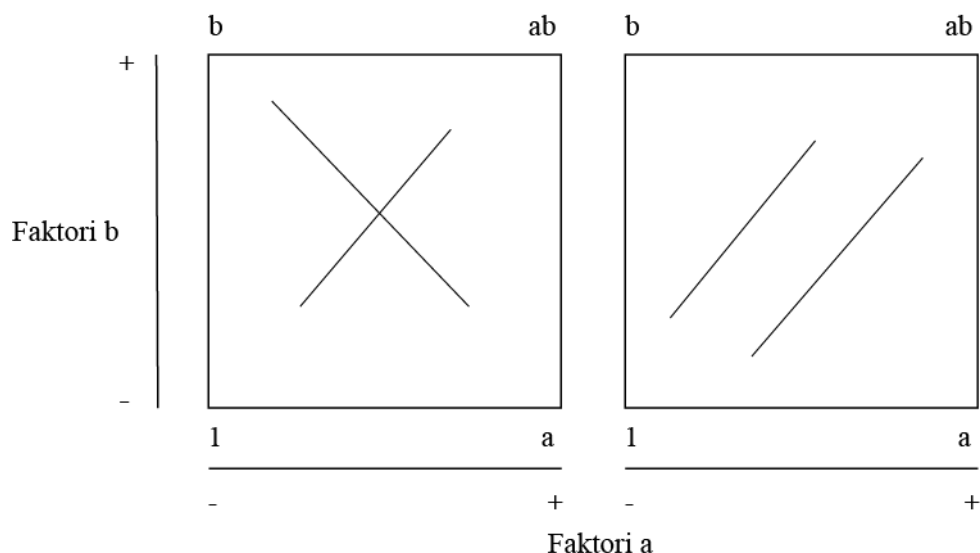
### **2.2.1 Faktorikokeet**

Faktorikokeiden avulla saadaan tietoa tekijöiden vaikutuksesta vastemuuttujiin. Vastemuuttuja on tutkimuksen keskeisen mielenkiinnon kohteena oleva ominaisuus. Usein faktorikokeissa jokaisella faktorilla on kaksi tasoa, korkea ja matala (Kuva 2). Eri muuttujien yksiköt tai arvojen jakautuminen voivat olla hyvinkin vaihtelevia. Jotta muuttujat vaikuttaisivat vasteisiin tasaisemmin ja yksiköillä ei olisi merkitystä, parametrit normalisoidaan ja muuttujat saavat arvot  $-1$  ja  $1$  (Baş & Boyacı 2007). Näitä kutsutaan  $2^k$ -faktorikokeiksi, jolloin kokeessa on  $k$  tekijää. Tärkeä erityistapaus ovat  $2^2$ -faktorikokeet.  $2^2$ -faktorikokeessa on  $2^2 = 2 \times 2 = 4$  käsittelykombinaatiota. Faktoreiden päävaikutus voi olla positiivinen tai negatiivinen. Jos vaikutus on positiivinen, tekijän siirtyminen matalalta tasolta korkeammalle tasolle kasvattaa vastemuuttujan arvoa ja päinvastoin vaikutuksen ollessa negatiivinen. Kuitenkaan  $2^2$ -faktorikokeita ei voida tai haluta aina käyttää. Esim. jos tekijöitä on paljon,  $2^2$ -kombinaatioiden määrä kasvaa todella nopeasti.

Osafaktorikokeilla voidaan selvittää tekijöiden päävaikutukset ja matalan asteen yhdysvaikutukset. Osafaktorikokeissa oletetaan, että tiettyä astetta suurempia yhdysvaikutuksia ei ole. Koska kaikkia kombinaatioita ei tarvitse tutkia, päästään huomattavista pienemmällä määrällä kokeita. Osafaktorikokeita varten on selvitettävä, mitkä tekijät ovat merkittäviä (Myers ym. 2009).

### **2.2.2 Toisen asteen vastepinta-analyysi**

Toisen asteen vastepinta-analyysien avulla voidaan selvittää tekijöiden optimaalinen yhdistelmä (Myers ym. 2009). Jyrkimmän nousun menetelmä on tärkein toisen asteen vastepinta-analyyseistä. Minimiiä etsittäessä kyseessä on jyrkimmän laskun menetelmä. Ensin luodaan ensimmäisen tason malli faktorikokeita käyttäen. Ensimmäisen tason mallin perusteella suoritetaan kokeita, joiden pohjalta luodaan uusi malli. Lähellä optimia jyrkimmän nousun menetelmä ei enää päde yhtä hyvin, koska aiemmin merkityksettömät yhdysvaikutukset muuttuvat merkitseviksi. Jyrkimmän nousun malli onkin lähinnä esivaihe, jolla päästään lähemmäs optimia ja voidaan ottaa käyttöön toisen asteen malli.



**Kuva 2.**  $2^2$ -faktorikokeiden yhdysvaikutuksen havainnollistaminen ja merkintätavat. Vasemmanpuoleisessa ruudussa on tekijöiden välillä yhdysvaikutus, mutta oikeanpuoleisessa yhteisvaikutusta ei ole. Merkkien selitykset: - : matala taso, + : korkea taso, 1 : molemmat faktorit matalalla tasolla, ab : molemmat faktorit korkealla tasolla, b : faktori A korkealla ja faktori B matalalla tasolla, a : faktori A matalalla ja faktori B korkealla tasolla (Kuva muokattu lähteestä Myers ym. 2009).

Toisen asteen malli (Myers ym. 2009):

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i < j} \sum_{j=2}^k \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (8)$$

Geometrisen pinnan optimia kutsutaan stationaariseksi pisteeksi tai keskuukseksi. Jos keskus ei ole maksimi eikä minimi se on satulapiste. Toisen asteen mallin sovitteesta saadaan lineaarinen yhtälöryhmä, jonka ratkaisemalla saadaan stationaarisen pisteen koordinaatit. Usean muuttujan yhtäaikainen tutkiminen on monivasteoptimointia (Myers ym. 2009). Optimoitaessa tulisi tietää suurin piirtein, miltä alueelta optimi löytyy, jotta voidaan määrittää alue, mistä optimia etsitään. Voidaan myös määrittää käytettävyyden alue, jota rajaa esim. prosessin mahdolliset toimintaolosuhteet.

Yleisin toisen asteen vastepinta-analyysimenetelmä on keskuskomposiittikoesuunnittelu, joka kehitettiin jo 1950-luvulla (Box & Wilson 1951). D-optimaalisuus on eniten käytetty keskuskomposiittikoesuunnittelun optimaalisuuskriteeri (Myers ym. 2009). D-optimaalinen koesuunnittelu keskittyy hyvään mallin parametrien arviointiin. Se on toisen kertaluvun polynominen malli. Optimaalisen kokeen suunnittelussa koepisteiden paikat koalueella valitaan niin, että tavoitefunktio minimoituu (Piche & Ruohonen 2010).

D-optimaaliseen koesuunnitteluun voidaan käyttää koodattuja faktoreita, mikä ei ole mahdollista muilla optimaalisuusmenetelmillä. D-optimaalisuuden tavoitefunktio on muotoa (Piche & Ruuhonen 2010):

$$J_D(\mathbf{X}) = \frac{1}{\det(\mathbf{X}^T \mathbf{X})} = \det((\mathbf{X}^T \mathbf{X})^{-1}) \quad (9)$$

jossa

$J_D(\mathbf{X})$  = tavoitefunktio

$\mathbf{X}$  = datamatriisi,

$\det(\mathbf{X}^T \mathbf{X})$  = matriisin  $\mathbf{X}^T \mathbf{X}$  determinantti ja

$\mathbf{X}^T$  = matriisin  $\mathbf{X}$  transpoosi.

Tällöin minimoituu regressiomallin  $b$  luottamusellipsoidien tilavuus (Piche.& Ruuhonen 2010).

### 2.2.3 Vastepintamenetelmä verimateriaalin ultrasuodatuksessa

Torres ym. (2002) tutkivat vastepintamenetelmällä paineen, virtausnopeuden ja kalvon leikkauskoon vaikutuksia kanan veren proteiinien konsentroidiin ultrasuodatuksella 2<sup>3</sup>-faktorikokein. Kokeiden perusteella pystyttiin arvioimaan optimiolosuhteet plasman konsentroidimiselle. Heidän mukaansa kaikilla tutkituilla tekijöillä oli vaikutusta plasman konsentroidiin. Kuitenkin virtausnopeuden vaikutuksen oli erittäin merkittävä muihin tekijöihin verrattuna.

Vastepinta-analyysiä käyttämällä onkin mahdollista huomattavasti parantaa suodatuksen lopputulosta, esimerkiksi Lo ym. (2005) saivat veripitoisen jäteveden ultrasuodatuksen keskimääräisen vuon kaksinkertaistettua vastepinta-analyysin avulla. Lo ym. (2005) havaitsivat vastepinta-analyysimenetelmällä kvadraattista mallia hyödyntäen teurastamoiden jätevesiä puhdistettaessa tärkeimmiksi parametreiksi pH:n, tilavuusvirran ja kalvon ylittävän paine-eron.

Tämän tutkielman kokeellisen osan tutkimuksien analysoinnissa käytetään vastepintamenetelmää ja D-optimaalista koesuunnittelua ultrasuodatuksen parametrien optimointiin sian veren plasman konsentroidimiseksi.

## **2.3 Teurasveren proteiinit**

Sianlihaa tuotetaan Suomessa yli 200 000 tonnia vuosittain (SVT: Lihantuotanto). Lihantuotannon sivutuotteena syntyy myös suuri määrä teurasverta. Suomessa suurin osa teurasverestä käytetään lähinnä turkiseläinten rehuksi ja pienemmässä määrin elintarvikkeeksi. Lihantuotannon sivutuotteena syntyvästä verestä elintarvikekäyttöön menee 600 tonnia ja rehukäyttöön 8 500 tonnia (Raevuori ym. 2010). Pieni osa kuitenkin päätyy myös teurastamoiden jätevesiin. Turkiseläintuotanto elinkeinona on vähenemässä Suomessa, mikä lisää tarvetta teurasveren uusiin hyödyntämistapoihin (Karhula ym. 2008). Suomessa sikoja teurastetaan yli 2 miljoonaa kappaletta vuosittain (SVT: Lihantuotanto). Yhdestä siasta on mahdollista kerätä noin 3 litraa verta (Ockerman & Hansen 1999). Sian veren proteiinipitoisuus on noin 19 % (Márquez ym. 2005), jolloin veren proteiinia kertyisi yli 1 700 tonnia vuodessa. Määrä on merkittävä, sillä Suomessa tuotetaan vuosittain noin 75 000 tonnia maitoproteiinia ja noin 7700 tonnia kananmunaproteiinia (SVT: Kananmunien tuotanto; SVT: Maito- ja maitotuotetilasto).

Belhocinen ym. (1998) mukaan eläinten veri on tärkein orgaaninen epäpuhtaus teurastamoiden jätevirroissa. Veri sisältää arvokkaita proteiineja ja ne voitaisiin ottaa talteen sekä edelleen myyntiin. Belhocine ym. (1998) tutkivat algerialaisen El Harrachin teurastamon jätevirtojen kuormittavuutta mikrobiologisin ja fysikokemiallisin menetelmin. Suurin osa jäteveden kuormituksesta oli peräisin eläinten verestä. Belhocine ym. (1998) käyttivät määrittämissä biologista hapenkulutusta, BOD<sub>5</sub>-lukua, eli 5 vuorokauden aikana 20 °C:ssa mikrobien orgaanista ainesta hajottaessa kuluttamaa happimäärää. Veren BOD<sub>5</sub> arvo oli 85 mg/l O<sub>2</sub> teurastamon jätevirtojen kokonais-BOD<sub>5</sub> -arvon ollessa 3,6 mg/l O<sub>2</sub>. Belhocinen ym. (1998) tutkimuksissa ultrasuodatuksen havaittiin huomattavasti vähentävän teollisuusjäteveden saastuneisuutta. Suomessa rehuksi päätynyt veri hyödyttää teurastamoita nykyään myös taloudellisesti, mutta turkistuotannon vähentyessä teurasverestä tulee suuri puhdistuskustannuksia aiheuttava jätevirta. Euroopan Unionin direktiivin 91/271/ETY mukaan teollisuuden jätevedet on ennen jätevedenpuhdistamoille johtamista esikäsiteltävä asianmukaisella tavalla ja myös jätevedenpuhdistamoille johtamattomien teollisuusjätevesien päästöillä on vaatimukset. Direktiivin mukaan yhdyskuntajätteen puhdistettujen jätevesien sallittu BOD<sub>5</sub>-arvo on vain 25 mg/l O<sub>2</sub>.

Tuotantoeläinten veren hyödyntämismahdollisuuksia on tutkittu useilta eläinlajeilta, kuten naudalta (Lee ym. 1993; Duarte ym. 1999; Silva ym. 2003; Silva & Silvestre 2003; Bizzotto ym. 2005), sialta (Ramos-Clamont ym. 2003; Chang ym. 2007; Dávila ym. 2007) ja kanalta (Torres ym. 2002). Vaikka eri tuotantoeläinlajeilta kerätyllä verellä on koostumuksessaan ja ominaisuuksissaan pieniä eroavaisuuksia, ne ovat silti samankaltaisia (Ramos-Clamont 2003). Taulukossa 1 on esitetty eri tuotantoeläinlajien veren ja veren fraktioiden proteiinipitoisuudet verrattuna lihan proteiinipitoisuuteen. Kanan veressä on pienin proteiinipitoisuus (Márquez ym. 2005). Punasolujakeen proteiinipitoisuus taas on naudalla pienin. Plasman proteiinipitoisuus on kanalla huomattavasti pienempi kuin naudalla ja sialla (Márquez ym. 2005).

Veren soluista suurin osa (99 %) on punasoluja. Hemoglobiini on tärkein proteiini punasoluissa. Hemoglobiinipitoisuus veressä on siipikarjalla 9 000 mg/100 ml, naudalla 11 000 mg/100 ml ja sialla 12 700 mg/100 ml (Sjaastad ym. 2010). Punasolujakeesta noin 38 % on raakaproteiinia, jonka kuiva-aineesta hemoglobiinia on naudalla noin 80 % ja sialla noin 87 % (Autio ym. 1983). Hemoglobiinista 6 % on rautapitoista hemiä ja loput 94 % on globiinia (Autio ym. 1983). Veriplasma sisältää suuren määrän erilaisia proteiineja (Taulukko 2). Plasma on heraan, soijaproteiiniin ja kananmunaan verrattavissa oleva luonnollinen proteiiniseos. Tärkeimmät plasman proteiinit ovat albumiini ja fibrinogeeni (Dávila 2006). Näiden lisäksi plasmassa on suuri joukko erilaisia globuliineja, joista tärkeimpiä ovat immunoglobuliinit. Jopa 60 % plasman proteiineista on albumiinia, noin 40 % globuliineja ja noin 3 % fibrinogeenia. Plasma sisältää pienempiä määriä myös useita muita proteiineja. Veren proteiineilla on suuri koko vaihtelu muutamasta kDa:sta lähes tuhanteen kDa:n (Taulukko 2). Suuri vaihtelu koossa ja rakenteessa mahdollistaa veriproteiinien monipuoliset teknologiset ominaisuudet.

**Taulukko 1.** Eri tuotantoeläinlajien lihan ja veren proteiinipitoisuus g/100 g näytettä (Márquez ym. 2005)

Materiaali	Nauta	Sika	Siipikarja
Liha <sub>a</sub>	19,3	18,3	20,3
Veri	19,18	19,07	12,77
Punasolut	27,11	31,32	31,53
Plasma	7,21	6,65	3,46

a) [www.finelli.fi](http://www.finelli.fi) (31.10.2010)

**Taulukko 2.** Plasmaproteiinien molekulaarinen koko ja määrä plasmassa (Dávila 2006)

	MW (kDa)	Määrä (mg/100ml)
Albumiini	66,5	3000 – 5000
Fibrinogeeni	340	200 – 450
Globuliinit		
- Immunoglobuliinit	150 – 950	900 – 2500
- $\alpha$ - globuliinit	26 – 725	700 – 1400
- $\beta$ - globuliinit	35 – 440	300 – 550
Muut koagulaatioproteiinit	58 – 320	30 – 80
Komplementtiproteiinit	24 – 540	150 – 300
Pienimolekyyllipainoiset proteiinit	5 – 14	< 5

### 2.3.1 Veren ja sen fraktioiden käsittely

Veri sellaisenaan on elintarvikkeissa vaikeasti hyödynnettävissä oleva materiaali. Veren käsittelyyn on kehitetty useita menetelmiä. Eri menetelmiä yhdistelemällä voitaisiin saada veren eri osat kattavasti hyödynnettyä.

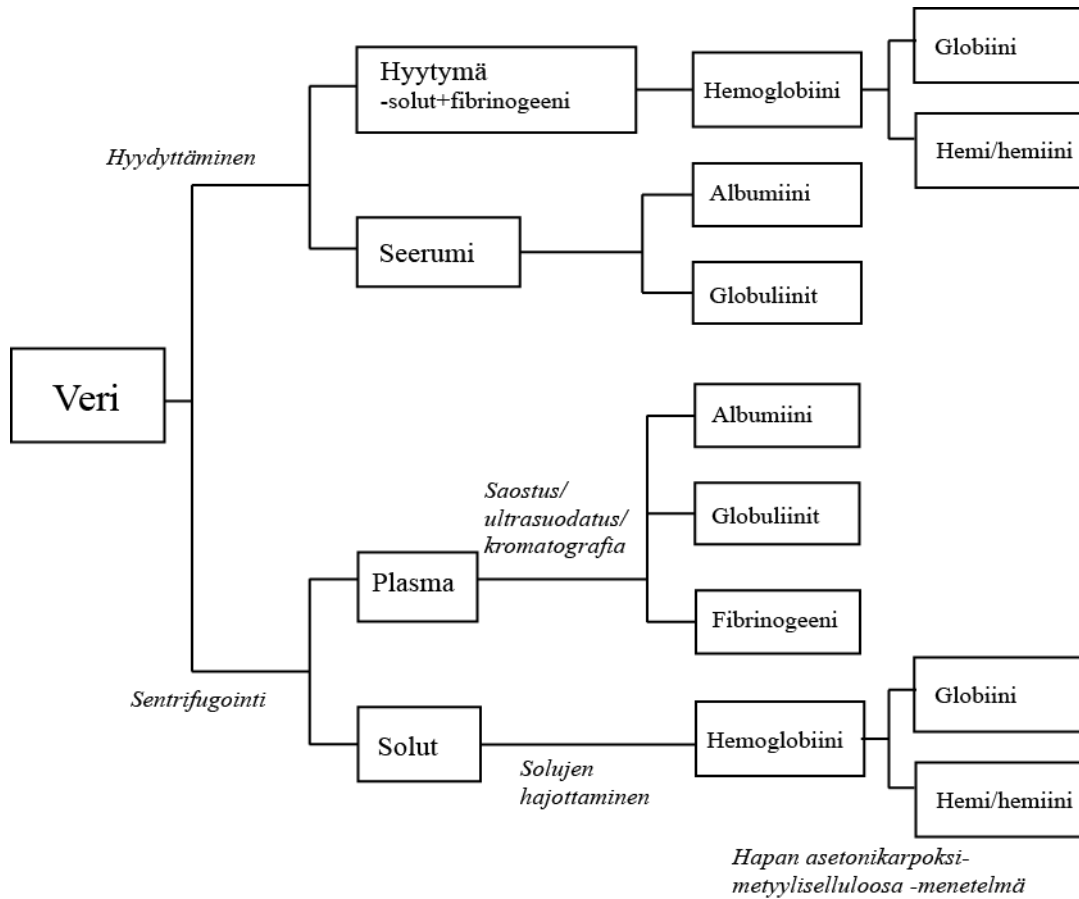
Veren käsittelyssä on otettava huomioon, että se on mikrobiologisesti erittäin herkkä materiaali. Terveessä eläimessä veri on käytännössä steriiliä, mutta on heti keräämisestä lähtien altis mikrobeille. Veri kerätään teurastamoilta teurastuksen yhteydessä pyrkien välttämään kontaminaatiota. Usein käytetään suljettuun keräysastiaan letkulla yhdistettyä pistoveistä, jotta veri ei pääse kosketuksiin ympäristön tai eläimen ihon kanssa. Keräysastiaan voidaan hyytymisen estämiseksi lisätä esimerkiksi EDTA:ta (Belhocine ym. 1998; Silva ym. 2003; Silva & Silvestre 2003; Bizzotto ym. 2005) tai natriumsitraattia (Duarte ym. 1999; Torres ym. 2002; Chang ym. 2007; Dávila ym. 2007; del Hoyo ym. 2008). Säilyvyyden parantamiseksi voidaan lisätä myös bakteriosidia (Belhocine ym. 1998).

Verta voidaan prosessoida sellaisenaan, mutta yleensä siitä erotellaan plasma- ja punasolujakeet. Usein plasman erottamiseen punasoluista käytetään sentrifugointia (Duarte ym. 1999; Torres ym. 2002; Silva ym. 2003; Silva & Silvestre 2003; Dávila ym. 2007; del Hoyo ym. 2008). Solujen erottamiseksi sentrifugointi olosuhteet olivat tutkimuksesta riippuen välillä 900–5000 g 15–20 minuutin ajan. Sentrifugoinnilla saadaan eroteltua verisolu- ja plasmafraktiot verisolujen painuessa pohjaan. Seerumin erottamiseen verisoluista voidaan myös käyttää hyydyttämismenetelmää. Veren, johon ei ole lisätty

hyytymisenestoainetta, voidaan antaa hyytyä ja näin saadaan erotettua veren seerumi punasolujen ja fibrinogeenin jäädessä hyytymään (Ramos-Clamont ym. 2003). Plasmaa on noin 50–60 tilavuus-% ja verisoluja 40–50 tilavuus-% verestä (Torres ym. 2002; del Hoyo ym. 2008). Noin 70 % veren kokonaisproteiinimäärästä on verisolujakeessa ja noin 30 % plasmajakeessa (Duarte ym. 1999).

Veriplasma voidaan konsentroida käyttämällä ultrasuodatusta (Belhocine ym. 1998; Duarte ym. 1999; Torres ym. 2002). Veriplasman konsentroidi kalvosuodatusmenetelmällä on havaittu olevan haihdutusmenetelmää huomattavasti taloudellisempaa ja sitä hyödyntämällä saadaan myös lopputuotteen hiilijalanjälkeä pienennettyä (Jevons & Awe 2010). Ultrasuodatuksella plasman proteiinipitoisuus on saatu nostettua 5–11 %:n tasolle ja proteiinihävikki permeaattiin on vähäistä (Torres ym. 2002). Lisäksi kalvosuodatuksen hyödyntäminen proteiinien fraktiointiin ja puhdistamiseen on suuren kiinnostuksen kohteena. Suuren mittakaavan prosesseissa kalvosuodatuksen etuja kromatografiamenetelmään verrattuna ovat edulliset kustannukset ja helpompi skaalaus tehdasmittakaavaan tuotekehitysvaiheesta (Saxena ym. 2009). Suodatusolosuhteita säätämällä voidaan kalvosuodatuksella erotella plasmaproteiineja, esim. seerumin albumiinia ja immunoglobuliineja (Ghosh & Cui 2000). Kalvosuodatuksen suurimmat ongelmat ovat konsentraatiopolarisaatio ja likaantuminen sekä niistä johtuva permeaattivuon hidastuminen. Plasmaan lisätyn etanolin on havaittu lisäävän likaantumista ja hidastavan permeaattivuota ainakin orgaanisia aineita suodatettaessa yleisesti käytettävällä polysulfonikalvolla (Jaffrin ym. 1997). Likaantumista voidaan ehkäistä ja lopputuotteen proteiinipitoisuutta parantaa myös muodostamalla sähkökenttä, joka nopeuttaa isoelektristä pistettä korkeammassa pH:ssa olevien happamien, negatiivisesti varautuneiden proteiinien siirtymistä kalvon läpi (Tarazaga ym. 2006).

Kalvosuodatuksen lisäksi verestä voidaan erotella erilaisia jakeita monin eri käsittelyin (Kuva 3). Veriplasma voidaan erotella jakeiksi saostamalla suolan avulla (eng. salting out) tai kromatografiamenetelmällä (Moure ym. 2003; Ramos-Clamont ym. 2003; Dávila ym. 2007). Näillä menetelmillä onnistuu ainakin fibrinogeeni-, albumiini- ja immunoglobuliinijakeiden erottelu. Verisolujakeesta voidaan eristää hemi- ja globiinijakeet happamalla asetonikarboksimetyyliselluloosa –menetelmällä (Autio ym. 1983). Menetelmässä saostettu hemi erotetaan globiinin vesiliuoksesta. Lundell ym. (1990) keksivät vielä tehokkaamman tavan erottaa hemi tai hemiini hemoglobiinista hajottamalla



**Kuva 3.** Verestä eri käsittelyin saatavat jakeet.

hemin rakenteita. Globiini voidaan erottaa punasoluista myös dekolorisointimenetelmällä (Gómez-Juárez ym. 1999). Proteiinit voidaan erottaa myös saostamalla etanolilla (Moure ym. 2003).

Jakeet usein kuivataan kuljettamisen ja säilyttämisen helpottamiseksi. Kuivaukseen voidaan käyttää useita menetelmiä, esim. sumutus- tai kylmäkuivausta (Lee ym. 1993; Duarte ym. 1999). Jakeet voidaan kuivata suoraan erottelun tai vasta konsentroidin jälkeen. Kuivausta voidaan käyttää kaikkiin veren jakeisiin: verisoluihin, veriplasmaan tai hajotetuista verisoluista eroteltuihin jakeisiin, kuten hemoglobiini- tai globiinijakeisiin (Lee ym. 1993, Duarte ym. 1999; Bizzotto ym. 2005).

### 2.3.2 Veren proteiinien teknologiset ominaisuudet

Veren teknologiset ominaisuudet ovat oleellisia suunniteltaessa veren ja sen jakeiden hyödyntämistä elintarviketuotannossa. Ne määrittelevät verestä saatavien tuotteiden mahdolliset käyttökohteet. Tärkeimpiä veriproteiinien teknologisia ominaisuuksia ovat lihan, soijan ja kananmunankin ominaisuuksiin vaikuttavat emulgointi-, geeliytymis- ja vaahtoutumiskyvyt. Proteiinien liukoisuudella on suuri vaikutus näihin ominaisuuksiin.

#### Liukoisuus

Liukoisuus vaikuttaa proteiinien muihin toiminnallisiin ominaisuuksiin, kuten emulgoitavuuteen, vaahtoutuvuuteen ja geeliytymiskykyyn (de Witt & Klarenbeek 1984). Voimakkaat käsittelyt, jotka sisältävät suuria pH:n, lämpötilan tai ionivahvuuden vaihteluita yleensä denaturoivat proteiineja johtaen liukoisuuden vähenemiseen ja proteiiniryhmittymien muodostumiseen ja proteiinien biologisen aktiivisuuden menetykseen (Ustunul & Sypien 1997).

Plasmaa voitaisiin lisätä parantamaan elintarvikkeiden proteiinipitoisuuden ja -koostumuksen lisäksi tuotteen vedensidontakykyä. Plasmaproteiinien liukoisuus on noin 65–80 % (del Hoyo ym. 2008). Liukoisuus on heikointa lähellä plasman isoelektristä pistettä eli pH-arvossa 6,4. Isoelektrisessä pisteessä proteiinien nettovaraus on pienimmällään ja ne pääsevät kasautumaan yhteen ja liukoisuus vähenee. pH-asteikon ääripäitä kohti liukoisuus paranee, vaikka pH:lla ei olekaan kovin suurta vaikutusta plasman proteiinien liukoisuuteen. Plasman deionisointi parantaa plasmaproteiinien liukoisuutta noin 15 % kun taas plasman dekalionisointi heikentää liukoisuutta noin 10 % (del Hoyo ym. 2008).

Seerumin proteiinien liukoisuus on hieman suurempi kuin edellä mainittu plasmaproteiinien liukoisuus (Ramos-Clamont ym. 2003). Seerumin liukoisten proteiinien osuus on suurimmillaan korkeassa pH:ssa ja vähenee pH:n alentuessa. pH:ssa 8 liukoisten proteiinien osuus on 92 % ja pH:ssa 5 enää 70 %, mikä vastaa plasman liukoisten proteiinien määrää (Ramos-Clamont ym. 2003).

Suolapitoisuudella on merkittävä vaikutus proteiinijakeiden liukoisuuteen. Albumiinijakeen liukoisuus on korkea, parhaimmillaan lähes 90 % (Ramos-Clamont ym. 2003). Deionisoituun veteen liuotetun albumiinin liukoisuus on hieman korkeampi kuin 0,15 ja 0,25 M suolaliuokseen liuotettaessa. Myös väkevämmässä suolaliuoksessa liukoisuus on miedompaa suolaliuosta matalampi. pH:lla ei ole vaikutusta albumiinijakeen liukoisuuteen. Immunoglobuliinijakeen liukoisuus on sitä vastoin suurin korkeimmassa suolapitoisuudessa ja matalin deionisoidussa vedessä. Immunoglobuliinien liukoisuus on matalin pH:ssa 6 jääden alle 70 % ja korkein pH:ssa 8 parhaimmillaan yltäen 96 %. Suolapitoisuuden lisäksi globiinijakeen liukoisuus riippuu fraktiointimenetelmästä. Happamalla asetonilla fraktioidulla globiinilla on pH:ssa 6 hyvä liukoisuus (noin 90 %) suolattomassa ja matalasuolapitoisessa (0,25 M) ympäristössä (Silva ym. 2003). Karboksimeetyyliselluloosa-menetelmällä fraktioiduilla globiineilla liukoisuus on heikompi, noin 40 % vastaavissa olosuhteissa. Sen sijaan lihatuotteiden normaalissa suolapitoisuudessa (0,25 mol/l) kummallakin menetelmällä fraktioiduilla globiineilla oli erittäin matala liukoisuus. Punasolujen dekolorisointimenetelmällä fraktioidun globiinin liukoisuus on matalassa pH:ssa heikko. Nettoliukoisuus nousee pH-arvon 6 yläpuolella ollen 90 % pH:ssa 12 (Gómez-Juárez ym. 1999).

## **Vaahoutumisominaisuudet**

Vaahoutumiskykyä kuvaa vaahdon määrä, joka saadaan muodostettua liuoksen tilavuutta kohti. Proteiinit ovat tärkeimmät vaahoutumistekijät elintarvikkeissa, koska ne pidättäytyvät voimakkaasti kaasu-vesi -rajapintaan ja aikaansaavat hyvän vakauden (Murray 2007). Ilma/vesi -rajapinnan muodostumiseen tarvitaan mekaanista energiaa ja pinta-aktiivisia aineita ylläpitämään rajapinta (del Hoyo ym. 2008). Vaahdonmuodostuskykyä mitattaessa määritetään vaahdon tilavuus ja stabiilisuus sekä pH:n vaikutus niihin.

Plasman vaahoutumisominaisuudet ovat hyvät ja vaahoutuminen voimistuu pH-asteikon ääripäissä (del Hoyo ym. 2008). Plasman vaahoutumiskyky on suurin pH-alueella 3–4 (del Hoyo ym. 2008, Álvarez ym. 2009). Happamuuden laskiessa pH-arvoon 2 vaahoutumiskyky heikkenee huomattavasti. pH:n noustessa pH-arvon 4 yläpuolelle vaahoutumiskyky pienenee melko lineaarisesti. Dekationisoidun ja deionisoidun plasman vaahoutumiskyky on pienin lähellä plasmaproteiinien isoelektristä pistettä  $pI$  6,4 ja kasvaa

pH:n ääripäitä kohti ollen kuitenkin suurin matalassa pH:ssa (del Hoyo ym. 2008). Vaahtojen stabiilisuus on hyvä, 15 minuutin kuluttua vaahton tilavuus pienentyy plasmalla 20 %, dekatiosisoidulla plasmalla 22 % ja deionisoidulla plasmalla 28 % (del Hoyo ym. 2008).

Proteiinifraktioista globuliinien ja fibrinogeenin vaahtoutumiskyky kasvaa pH:n noustessa (Álvarez ym. 2009). Albumiinin vaahtoutuvuus on suurin pH:ssa 6 ja laskee pH-asteikon ääripäitä kohden. Plasmaproteiinifraktiot jäävät kuitenkin parhaimmillaankin alle 50 % plasman vaahtoutuvuudesta. Hemoglobiinin vaahtoutumiskyky kasvaa pH:n noustessa ja vaahtoutuvuus on pH:ssa 8 yhtä hyvin kuin plasmalla pH:ssa 4 (Álvarez ym. 2009). Globiinin vaahtoutumisominaisuudet riippuvat käytetystä globiinin fraktiointimenetelmästä (Yang & Lin 1998). Globiinin vaahtoutumiskyky on voimakkainta happamassa (pH 2–3) ja heikoin neutraalissa (pH 7–8) (Yang & Lin 1998). Álvarez ym. (2009) mukaan globiinin vaahtoutumiskyky on vaahton määrän ja pH-riippuvuuden suhteen samanlainen kuin plasmalla.

## **Emulgointiominaisuudet**

Veren proteiinien joukossa on pinta-aktiivisia proteiineja, jotka voivat toimia emulgointiaineina. Emulgointiaineita käytetään emulsioiden aikaansaamiseksi sekä emulsioiden ja vaahtojen pysyvyyden parantamiseksi. Emulgoitumisominaisuuksia ovat emulgointikyky, emulsion stabiilisuus ja emulgointiaktiivisuus. Emulgointikyky kertoo, kuinka hyvin proteiini pystyy emulgoimaan rasvaa. Emulsion stabiilisuus kertoo, kuinka hyvin emulgaattorina toimiva proteiini pystyy säilyttämään emulsion rakenteen esim. kuumennuksen aikana.

Emulsioilla on tärkeä rooli elintarviketuotannossa. Niitä tarvitaan mm. makkaroissa, majoneeseissa ja margariineissa. Veren proteiineilla emulgointiaineina käytettäessä on hyvä emulgointikyky ja stabiilisuus. Veriplasma sisältää useita eri proteiineja, jotka voivat toimia emulgointiaineina. Plasman toimiminen emulgaattorina onkin näiden proteiinien yhteistoiminnan tulos. Veren proteiinien emulgointiominaisuudet vastaavat elintarviketuotannossa lähinnä kananmunan, erityisesti keltuaisen, ja soijaproteiinien ominaisuuksia. Kananmunan emulgointiominaisuudet johtuvat pääasiassa LDL-, livetiini-, HDL- ja fosvitiiniproteiineista. Myös soijaproteiini on seos monia erilaisilla

ominaisuuksilla varustettuja proteiineja. Eri proteiinit toimivat emulgointiaineina eri pH:ssa (Anton & Gandemer 1999), joten eri proteiineja sisältävät materiaalit ovat hyviä emulgaattoreita, koska ne toimivat laajalla pH-alueella. Esim. kananmunan keltuainen emulgaattorina pH:ssa 3 öljy-vesi rajapinnalla on lähinnä fosfatiineja ja pH:ssa 9 apoproteiineja LDL:sta ja HDL:sta (Anton & Gandemer 1999).

Caldironin ja Ockermanin (1982) mukaan veriplasman liukoisten proteiinien emulgointikyky on 2–3 kertaa korkeampi kuin lihalla. Plasman proteiineilla paras emulgointikyky saavutetaan melko matalalla proteiinipitoisuudella 0,1–0,2 g/100 ml (Silva & Silvestre 2003; Bizzotto ym. 2005). Plasman demineralisointi parantaa ja suolan lisääminen heikentää emulgointiominaisuuksia (Silva & Silvestre 2003; del Hoyo ym. 2008). Toimintakyky suuremmassa suolapitoisuudessa olisi kuitenkin hyödyllistä käytettäessä plasmaa lisäaineena liha- ja säilyketuotteissa, joissa suolapitoisuus on tyypillisesti suurempi kuin plasmassa.

Plasman pH:lla ei ole suurta vaikutusta emulgointikykyyn (Silva & Silvestre 2003; Álvarez ym. 2009). Plasmaproteiinihydrolysaateilla on plasmaa heikompi emulgointikyky edelleen heiketen pH-asteikon ääripäissä (Silva & Silvestre 2003). pH:ssa 5,0 – 6,0 hydrolysaattien emulgointikyky on vain hieman plasman emulgointikykyä alhaisempi, mutta pH:ta 3 tai 4 alhaisemmassa ja pH:ta 7 tai 8 korkeammassa pH:ssa emulgointikyky lähes olematon (0 g öljyä / mg proteiinia). Punasolujen globiinin emulgointikyky paranee pH:n noustessa (Gómez-Juárez ym. 1999; Álvarez ym. 2009). Plasmaproteiineista poiketen, hydrolysointi paransi globiinin emulgointikykyä (Bizzotto ym. 2005).

Plasman proteiineista fibrinogeenilla on suurin emulgointikyky (Álvarez ym. 2009). Fibrinogeenin emulgointikyky on suurempi kuin plasmalla sellaisenaan. Muiden plasmaproteiinien emulgointikyky on plasman emulgointikykyä alhaisempi ja albumiinin emulgointikyky on heikoin.

## **Geelitysominaisuudet**

Geelitymistä tutkittaessa selvitetään reologiset ja rakenteelliset ominaisuudet. Geelin reologisiin ominaisuuksiin kuuluu geelitysmispiste, varastomoduuli  $g'$  ja faasisiirtyminen. Geelistä selvitettäviä rakenteellisia ominaisuuksia ovat kovuus, elastisuus, koheesiivisuus

ja vedenpidätyskyky. Geelien ominaisuuksiin vaikuttaa plasman proteiinipitoisuus, pH, kuumennuslämpötila ja -aika sekä säilytyslämpötila (O’Riordan ym. 1989a).

Plasma proteiinien aggregoituminen alkaa lämpötilassa 60–75 °C pH:sta (pH 4,5–7,5) riippuen (Dávila ym. 2007). Dávila ym. (2007) tulokset geeliytymisen alkamislämpötilasta ovat yhteneväiset Álvarez ym. (2009) tuloksiin, joiden mukana pH:ssa 6,0 plasman geeliytyminen alkaa 71 °C:ssa. Eri plasmaproteiinien geeliytymislämpötiloissa on kuitenkin eroja, esim.  $\alpha$ - ja  $\beta$ -globuliinien geeliytyminen alkaa jo 44 °C:ssa (Álvarez ym. 2009). Matala pH nopeuttaa ja tehostaa geeliytymistä mutta kuitenkin heikentää etenkin plasmasta valmistetun geelin kestävyttä. Plasmaproteiinien isoelektristä pistettä ( $pI$  5,0) korkeammassa pH:ssa geeleistä tulee kiinteämpiä kuin matalassa pH:ssa (O’Riordan ym. 1989a). Seerumista valmistetussa geelissä pH:n vaikutukset sitä vastoin olivat pienemmät (Dávila ym. 2007). Pitoisuudeltaan 6 % plasmaproteiiniliuos riittää muodostamaan geelin (Álvarez ym. 2009). Plasmasta erotellut proteiinijakeet muodostivat geelejä vielä plasmaa alhaisemmalla proteiinipitoisuudella, albumiinit ja hemoglobiini 4 % ja globuliinit 2 % pitoisuudella (Álvarez ym. 2009). Albumiinista valmistettu geeli oli heikoin ja plasmasta valmistettu geeli vahvin (Dávila ym. 2007).

Suolojen lisääminen plasmasta valmistettuihin geeleihin voi parantaa geelien kestävyttä (O’Riordan ym. 1989b). Pieni suolapitoisuuden nostaminen eli 0,01 M  $\text{CaCl}_2$  tai 0,02 M  $\text{MgCl}_2$  lisääminen vahvisti geelejä mutta tätä suurempi suolapitoisuus kuitenkin jo heikensi niitä. Koheesiivisuus oli parempi mutta palautuminen heikompi geeleissä, joihin oli lisätty suoloja.

Plasman ominaisuuksia voitaisiinkin muokata haluttuihin elintarvikkeisiin sopiviksi muokkaamalla plasman koostumusta ja säätämällä pH:ta.

## **Muut ominaisuudet**

Veren ja veren jakeiden mikrobiologinen laatu on tärkeä suunniteltaessa materiaalin käyttöä elintarviketuotannossa. Mikrobiologista laatua tutkittaessa määritetään aerobisten bakteerien määrä sekä onko näytteessä koliformeja, salmonellaa tai *Staphylococcus aureus* -bakteeria (Ramos-Clamont ym. 2003). Mikrobeja voidaan myös hyödyntää, sillä verestä eristettyjä maitohappobakteerikantoja voidaan käyttää veren biopreservatioon eli säilyvyyden parantamiseen (Dávila ym. 2006). Proteiinien aiheuttama pintajännitys

vaikuttaa teknologisiin ominaisuuksiin mm. vaikuttamalla proteiinien käyttäytymiseen faasien rajapinnoilla. Plasmaproteiinien pintajännitys on 72 mN/m 0,4 g/l proteiinipitoisuudessa (del Hoyo ym. 2008). Plasmaproteiinien pintajännitys laskee proteiinipitoisuuden kasvaessa. Mitatuilla arvoilla 0,4–2 g/l ei saavutettu *critical micellar concentration* -pistettä, jonka jälkeen proteiinipitoisuuden muutos ei enää muuttaisi pintajännitystä. Plasmaproteiinien hydrofobisuus on suurin happamassa (pH 3), ja tässä pH:ssa myös hydrolysoinnilla voidaan pienentää hydrofobisuutta. Korkeammassa pH:ssa hydrofobisuus on matala eikä hydrolysoinnilla ole merkitystä hydrofobisuuteen (Silva & Silvestre 2003).

### 2.3.3 Veren proteiinien antioksidatiiviset ja -genotoksiset vaikutukset

Veren eri fraktioilla ja niiden hydrolysaateilla tavattuja antioksidatiivisia ja antigenotoksisia vaikutuksia voitaisiin hyödyntää esimerkiksi elintarvikkeiden säilönnässä ja vapaiden radikaalien aiheuttamien sairauksien ehkäisyyn (Park ym. 2002; Rodriguez-Garcia & Guil-Guerrero 2007; Sarmadi & Ismail 2010). Proteiinihydrolysaatteja on mahdollista valmistaa monista kasvi- ja eläinlähteistä, mutta ekologisin perustein on syytä pyrkiä käyttämään myös tuotantoeläimistä syntyviä jättemateriaaleja, kuten verta (Chang ym. 2007). Hydrolysaatteja voidaan valmistaa käyttämällä proteaasina esimerkiksi trypsiiniä (Silva & Silvestre 2003). Antioksidatiivisia ominaisuuksia on tutkittu sekä punasoluista erotetusta hemoglobiini- että plasmasta saatavista albumiini- ja globuliinijakeista (Keeton 1994; Chang ym. 2007; Wang ym. 2008). Parhaat antioksidatiiviset ominaisuudet vapaita radikaaleja vastaan on saatu pienimolekyylimassaisilla hydrolysaateilla ja paras antioksidatiivisuus pienillä (MW < 3 kDa) albumiinipeptidijakeilla (Keeton 1994). Suurempia molekyylimassoja sisältävät hydrolysaatit ovat osoittautuneet paremmiksi pelkistäjiksi ja ferri-ionien kelatoijiksi kuin pienimolekyylimassaiset hydrolysaatit (Chang ym. 2007).

Park ym. (2002) tutkivat naudan plasmasta, albumiinin ja globiinin entsymaattisella hydrolyysilla tuotettujen peptidien antigenotoksisuutta. Tutkimuksessa käytettiin erilaisia proteaaseja, kuten trypsiiniä, pepsiniä ja alkalaasia. Pepsini osoittautui näistä parhaaksi proteaasiksi ja albumiini puolestaan lupaavaksi antigenotoksisten hydrolysaattien proteiinilähteeksi. Antigenotoksisesti aktiiviset peptidit osoittautuivat suhteellisen pieniksi, molekyylimassaltaan alle 1 kDa. Peptidien antigenotoksinen vaikutus johtunee suojaavasta

vuorovaikutuksesta solun ja peptidin välillä pikemminkin kuin suorasta mutageenin toiminnan estämisestä (Park ym. 2002).

## **2.4 Sovelluksia veren proteiineille elintarvikkeissa**

Veriproteiinien hyvien teknologisten ominaisuuksien ansiosta ne soveltuvat elintarvikkeiden raaka-aineiksi. Teurasveren proteiineja voidaan lisätä elintarvikkeisiin ravitsemuksellisista syistä tuotteen proteiinikoostumuksen tai –pitoisuuden parantamiseksi tai tuotteen rakenteeseen vaikuttavien teknologisten ominaisuuksien hyödyntämiseksi.

### **2.4.1 Ravitsemukselliset ominaisuudet**

Duarte ym. (1999) tutkivat veren osien ravitsemuksellista arvoa. Ravitsemuksellisesta näkökulmasta rauta on veren tärkein mineraali. Verisolujakeessa on runsaasti rautaa, joka on elimistölle biologisesti helposti käytettävissä olevassa muodossa sitoutuneena punasolujen hemoglobiiniin. Walter ym. (1993) tutkivat hemoglobiinilla rikastettujen (6 %) keksien vaikutusta kouluikäisiin lapsiin ja havaitsivat 3 vuotta kestäneiden kokeiden aikana keksejä syöneiden lasten veren rauta-arvojen parantuneen verrokkiryhmään nähden.

Tuotantoeläinten veren proteiineissa välttämättömistä aminohapoista erityisesti lysiinin osuus on korkea (Márquez ym. 2005). Lysiiniä on kaikilla tuotantoeläimillä sekä plasma-että punasolujakeessa yli aikuisille suositeltu määrä proteiinin aminohappopitoisuudesta (Taulukko 3). Naudan veri on kuitenkin tuotantoeläimistä paras lysiinin lähde pitoisuuden ollessa lähes kaksinkertainen suositeltuun arvoon nähden. Tuotantoeläinten veressä on niukasti muutamia ihmiselle välttämättömiä aminohappoja, isoleusiinia, tryptofaania ja rikkiä sisältäviä aminohappoja kysteiniä ja metioniinia (Duarte ym. 1999; Márquez ym. 2005). Isoleusiinia on plasmassa enemmän kuin punasoluissa ja tuotantoeläimistä kanan plasmassa eniten, vain hieman alle suositellun tason (Taulukko 3). Metioniinia on parhaiten sian ja kanan punasolujakeessa, pitoisuuden kuitenkin jääden alle puoleen suositellusta proteiinin aminohappopitoisuudesta (Taulukko 3). Veriproteiini ei riittäisikään varmistamaan kasvua ainoana proteiinin lähteenä.

**Taulukko 3.** Eri tuotantoeläinten veren, punasolujen ja plasman välttämättömien aminohappojen isoleusiinin, lysiinin ja metioniinin pitoisuudet verrattuna aikuisille suositeltuun määrään proteiinin aminohappopitoisuudesta. (Márquez ym. 2005)

	<u>Veri</u>			<u>Punasolut</u>			<u>Plasma</u>			<u>AVA</u> <sub>1, a</sub>
	Nauta	Sika	Kana	Nauta	Sika	Kana	Nauta	Sika	Kana	
Proteiinipitoisuus %	19,18	19,07	12,77	27,11	31,32	31,53	7,21	6,65	3,46	
Isoleusiini g / 100 g proteiinia	0,93	0,69	2,75	1,08	0,28	2,65	2,56	2,25	2,87	3
Lysiini g / 100 g proteiinia	8,68	5,84	7,5	9,1	5,33	7,51	7,18	6,12	5,87	4,5
Metioniini g / 100 g proteiinia	0,28	0,96	0,64	0,39	0,75	0,73	0,21	0,53	0,51	1,6

<sub>1</sub>Aikuisille Välttämättömät Aminohapot  
a WHO/FAO

Eniten välttämättömiä aminohappoja oikeassa suhteessa sisältää kuitenkin plasmaproteiinkonsentraatti (Duarte ym. 1999). Ultrasuodatuksella valmistetun plasmakonsentraatin aminohappokoostumuksessa isoleusiini on ainut merkittävästi rajoittava aminohappo vaikkakin myös valiini, fenylalaniini, tryptofaani ja rikkipitoiset aminohapot metioniini ja kysteiini ovat ravitsemuksellisen ideaalitason alapuolella (Delanay 1975). Plasmakonsentraatti sisältää riittävästi tai ylen määrin treoniinia, leusiinia, tyrosiinia ja lysiiniä. Yhteensä rikkipitoisia aminohappoja on vastaava määrä kuin kaseiinissa, jota pidetään ravitsemuksellisesti riittävänä proteiininä. Delanayn (1975) tutkimusten mukaan plasmakonsentraatin välttämättömien aminohappojen indeksi oli 70,1 sen ollessa kaseiinille 79,5. Myös ravitsemuskokeet rotilla varmistivat plasmakonsentraatin proteiinien ravitsemuksellisuuden vastaavan kaseiinin ravitsemuksellisuutta melko hyvin (Delanay 1975). Nämä tutkimukset antavat viitteitä siitä, että verellä ja sen jakeilla on hyviä ravitsemuksellisia ominaisuuksia. Ne eivät kuitenkaan yksistään riitä ravinnon lähteeksi, mutta niitä voitaisiin käyttää parantamaan muiden tuotteiden ravitsemuksellisia ominaisuuksia.

#### 2.4.2 Veren ja sen fraktioiden käyttö elintarvikkeissa

Käsittlemättömän veren käyttöä elintarvikkeissa rajoittaa verestä aiheutuva tumma punaruskea väri sekä raudan maku (Duarte ym. 1999, Bizzotto ym. 2005). Näitä ongelmia voidaan välttää jakamalla veri erilaisiin proteiinijakeisiin. Hyödyntämismahdollisuuksia on

tutkittu niin verelle, plasmalle ja seerumille kuin plasmasta ja punasoluista eristetyille proteiinijakeille. Plasmasta eristettyjä proteiinijakeita ovat esimerkiksi albumiini- ja globuliinijakeet ja punasoluista eristettyjä proteiinijakeita ovat hemoglobiini- ja globiinjakeet.

Materiaalin teknologiset ja toiminnalliset ominaisuudet määrittelevät materiaalin käyttömahdollisuudet elintarviketuotannossa. Veriproteiinien mahdollisia sovelluksia elintarvikkeissa niiden toiminnallisten ominaisuuksien perusteella on liha- ja maitotuotteissa, liha- ja kalamassasta valmistetussa surimissa, juomissa, leivässä, kakuissa, jäätelöissä sekä kohokkaissa (Lee ym. 1993, Kang & Lanier 1999; del Hoyo ym. 2008). Joidenkin tutkimusten mukaan veren proteiinit ovat jopa parempia emulgointiominaisuuksiltaan kuin eräät yleisesti elintarviketeollisuudessa käytetyt emulgointiaineet, kuten kaseiini, kananmunan albumiini tai soijaproteiini (Ramos-Clamont ym. 2003). Lisäksi veren proteiineja voidaan hyödyntää valmistettaessa vähärasvaisia kevyttuotteita (Cofrades ym. 2000).

### **2.4.3 Kananmunan korvaajana**

Kananmunan valkuaiset voitaisiin kakkujen valmistuksessa korvata munia halvemmalla teuraseläinten plasmalla, sillä kuivatulla plasmalla on samankaltaiset toiminnalliset ominaisuudet kuin kuivatulla munanvalkuaisella (Lee ym. 1993). Lee ym. (1993) tutkimuksessa kuivatulla plasmalla korvattiin 0, 25, 50, 75 tai 100 % kakkujen valmistamisessa käytetystä kuivatusta kananmunasta tai munanvalkuaisesta. Lisäksi rasvaa ja lesitiiniä lisättiin taikinoihin, joista korvattiin kokonaan tai osittain myös keltuaiset. Plasmalla valmistetuissa kakuissa oli kontrolleihin verrattuna pieniä eroja symmetriassa, kutistumisessa, värissä ja rakenteellisissa ominaisuuksissa. Lisäksi plasmasta valmistetut kakut arvioitiin hieman makeammiksi kuin kontrollikakut. Havaitut eroavaisuudet eivät kuitenkaan vaikuttaneet ainakaan epäsuotuisasti aistinvaraiseen laatuun. Vaaleasta taikinasta valmistettu täytekakku, jossa oli 100 % veriplasmalla korvattu kananmunaproteiinit, oli aistinvaraisissa tutkimuksissa hieman, tilastollisesti merkittävästi ( $P < 0,005$ ), kananmunanvalkuaisia käyttäen valmistettua kontrollikakua maistuvampi (Lee ym. 1993).

#### 2.4.4 Rasvan korvaajana

Cofrades ym. (2000) mukaan veren plasmaproteiinit voisivat olla hyviä rasvankorvaajia vähärasvaisissa lihaemulsioissa; ryhmä teki tutkimuksia bolognan makkaralla. Makkaroista määritettiin mm. pH, kalorimäärä, väri ja rakenteelliset ominaisuudet, kuten kovuus, koheesiivisuus, kimmoisuus ja sitkeys. Korkeammat plasmaproteiini- ja soijakuitupitoisuudet johtivat kovemman, pureskeltavamman rakenteen ja paremman rasvan- ja vedensidontakyvyn omaavan makkaran muodostumiseen. Tutkimuksessa plasma proteiineille saatiin paremmat ominaisuudet rasvan korvaajana kuin soijakuiduille (Cofrades ym. 2000).

#### 2.4.5 Surimituotteissa

Surimi on puristettu kala- tai lihamassatuote ja siinä voitaisiin käyttää plasmaa sen proteaaseja inhiboivien ja geeliytymistä parantavien ominaisuuksien ansiosta (Rawdkuen ym. 2004). Surimin raaka-aineena käytettävä kalajauheliha sisältää erilaisia proteaaseja, jotka nopeuttavat tuotteiden pilaantumista. Surimista tutkittiin lujuus, koheesiivisuus / elastisuus, veden pidätyskyky, proteolyysin määrä ja väri. Plasman lisääminen surimitahnaan vähensi valkoisuutta, joka on lopputuotteessa haluttu ominaisuus, mutta kuitenkin lisäsi veden pidätyskykyä. Korkein tutkittu plasman osuus 2 paino-% lisäsi proteaasien inhibitiota eniten. Myös lujuutta mittaava leikkausvoima ja elastisuus nousivat plasman pitoisuuden noustessa (Rawdkuen ym. 2004).

#### 2.4.6 Natriumkaseinaatin korvaajana

Maitoperäinen natriumkaseinaatti voitaisiin lihatuotteissa korvata lihassa luonnollisestikin esiintyvillä verestä peräisin olevilla proteiineilla. Silva ym. (2003) tutkivat happamalla asetonilla ja karboksimeetyyliselluloosamenetelmällä valmistettujen globiinijakeiden ominaisuuksia korvattaessa natriumkaseinaatti kinkkupateessa. Tutkimuksissa testattiin raan pateetaikin ja valmiin kypsän pateen ominaisuuksia. Molemmilla edellä mainituilla menetelmillä valmistettuja globiinijakeita käytettäessä pateen ominaisuudet olivat toisiaan vastaavat ja selvästi paremmat kuin natriumkaseinaattia käytettäessä. Myös proteiinipitoisuus oli globiinijakeita käytettäessä korkeampi kuin natriumkaseinaattia sisältävissä tuotteissa. karboksimeetyyliselluloosa-menetelmällä valmistetusta globiinista

tehty patee oli kuitenkin kemiallisilta ominaisuuksiltaan happamalla asetonilla valmistetusta globiinista tehtyä parempi; pH oli korkeampi ja lipidit eivät hapettuneet varastoinnin aikana. Näin ollen karboksimeytylliselluloosamenetelmällä valmistettu globiini osoittautui näistä kahdesta menetelmästä paremmaksi tavaksi korvata natriumkaseinaatti kinkkupateessa (Silva ym. 2003).

### **2.4.7 Veriproteiinin hyödyntäminen lihatuotteissa**

Lihat tuotteet voisivat olla erinomainen kohde veriproteiinien hyödyntämiseksi, sillä silloin tuotteisiin ei lisättäisi niissä luonnostaan esiintymättömiä ainesosia. Veriproteiinien käyttöä lihatuotteissa on tutkittu jonkin verran. Cofrades ym. (2000) havaitsivat plasmaproteiinien soveltuvan rasvan korvaamiseen bolognan makkarassa. Silva ym. (2003) totesivat punasolujen globiinin soveltuvan kinkkupateen natriumkaseinaatin korvaajaksi samalla parantaen tuotteen laatua. Caldironi ja Ockerman (1982) korvasivat makkaran valmistuksessa osan lihaproteiinista plasmaproteiinilla. Makkarat, joissa 10 % lihaproteiinista korvattiin plasmaproteiinilla ja 10 % luumateriaalista uutetuilla proteiinilla, eivät poikenneet verrokkimakkarosta tilastollisesti merkittävästi maun, rakenteen, tuoksun tai värin suhteen. Tämän tutkielman kokeellisessa osassa tutkittiin ultrasuodatuksella konsentroidun plasman käyttöä lauantaimakkaran raaka-aineena.

## **3 Kokeellinen tutkimus**

### **3.1 Tausta ja tavoitteet**

Teurasveren hyödyntämiseen on paineita Suomessa, sillä turkistuotanto on vähenemässä ja veren korkeiden biologisten hapenkulutusarvojen ( $BOD_5$ ) takia verta sisältävän jäteveden puhdistuskustannukset ovat korkeat. Työn tavoitteena oli optimoida ultrasuodatusmenetelmä elintarvikekelpoisen materiaalin valmistamiseksi heikosti hyödynnetystä sian teurasverestä. Ultrasuodatuksen on menetelmänä todettu soveltuvan proteiinipitoisen materiaalin konsentroiduuteen. Veren ja plasman prosessointi voi vaikuttaa proteiineihin esimerkiksi denaturoimalla niitä, joten lisäksi tavoitteena oli mitata konsentroidusta materiaalista elintarviketuotannon kannalta merkityksellisten jakeiden teknologiset ominaisuudet ja elintarvikekäyttöön soveltuvuus valmistamalla koetuote. Koetuotteeksi

valittiin lauantaimakkara. Plasmakonsentraatin teknologiset ominaisuudet määritettiin, jotta voidaan arvioida menetelmän soveltuvuutta käytettäväksi elintarvikemateriaalin valmistamisessa. Tutkimus oli osa laajempaa Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskus MTT:n tutkimuskokonaisuutta, jonka yhteydessä laadittiin elinkaarianalyysi plasman prosessoinnista sekä tutkittiin plasman mikrobiologinen laatu ja muiden teurastamoiden sivuvirtojen hyödyntämistä elintarviketeollisuuden tarpeisiin.

## **3.2 Materiaalit ja menetelmät**

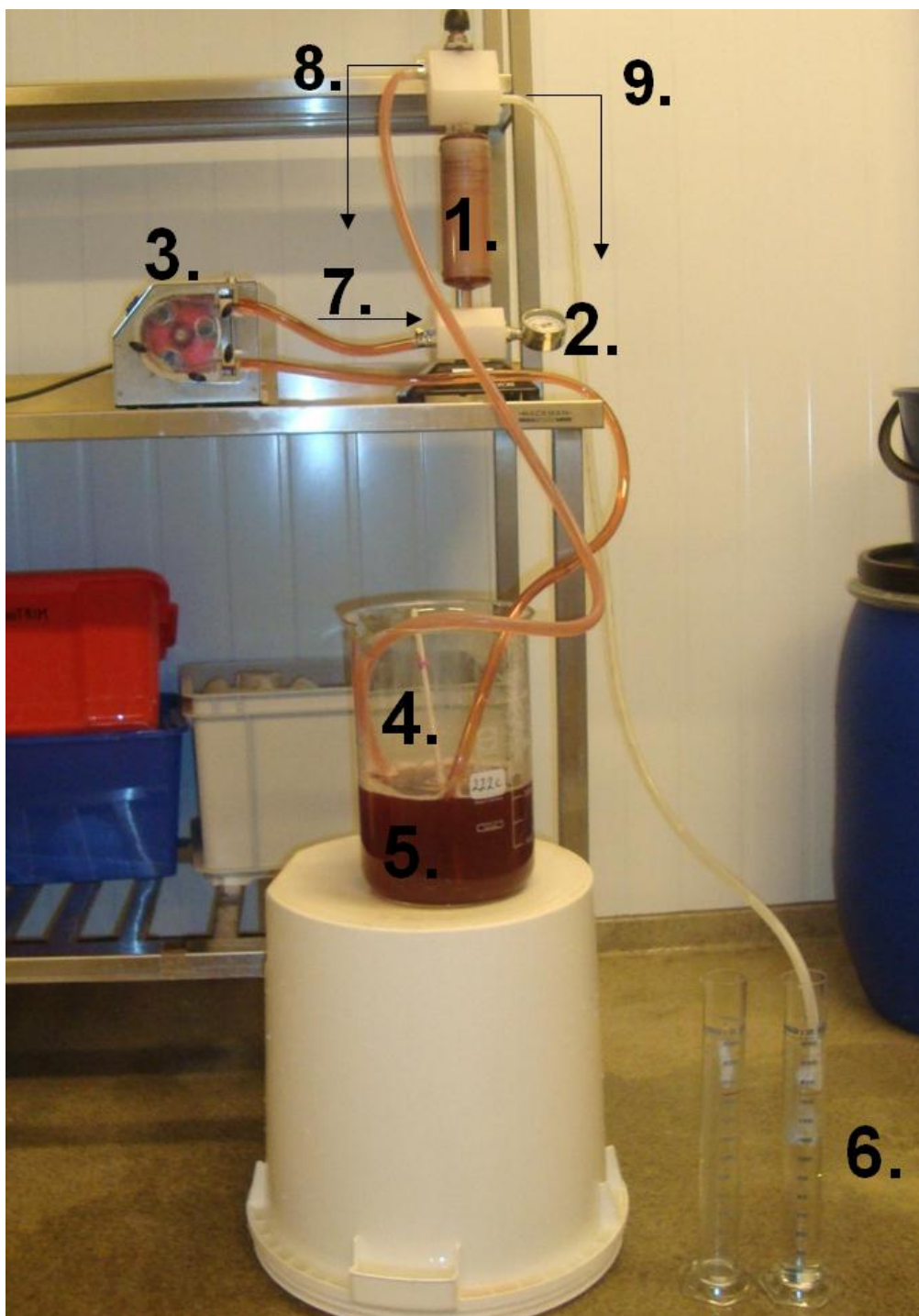
### **3.2.1 Veren keräys ja jakeiden erottaminen**

Sian teurasveri kerättiin teurastamolta (HK Ruokatalo Oy, Forssa, Suomi), jonka toiminta oli ISO 22000 -sertifikaatin mukaista. Verta kerättiin useista eri eläimistä. Veri valutettiin eläimistä avoimeen astiaan. Tämän jälkeen veri siirrettiin kanistereihin, joissa oli hyytymisenestoainetta (0,2 tai 1 % natriumsitraattia deionisoituun veteen liuotettuna). Keräämisen jälkeen veri tuotiin välittömästi laboratoriolle ja säilytettiin kylmässä (+ 4 °C) plasman ja punasolujen erottamisvaiheeseen asti. Solut erotettiin plasmasta sentrifugilla (Sorvall RC 26 Plus) saman päivän aikana 1000 g:ssa 20 minuutin ajan kylmässä (+ 4 °C). Sentrifugointi tehtiin tarvittaessa kahdesti, jotta saatiin plasma eroteltua punasoluista. Plasma säilytettiin kylmässä (+ 4 °C) seuraavaan aamuun jatkokäsittelyjä varten.

### **3.2.2 Plasman ultrasuodatus ja prosessin optimointi**

Ultrasuodatuksen käytettiin edellisenä päivänä valmistettua kylmässä säilytettyä plasmaa. Suodatuslaitteistoon kuului vesihaude lämpötilan säätämiseen, plasmäsäiliö, pumppu (Ismatec ecoline), Milliporen kalvoteline ja suodatuskalvo (Kuva 4). Suodattamiseen käytettiin kahta spiral wound -tyyppistä ultrasuodatuskalvoa, joiden molekulaarinen leikkauskoko oli 30 kDa. Tutkimuksessa käytetyt kalvot olivat Milliporen regeneroidusta selluloosasta valmistettu Ultracel PLTK 30 – (RC) ja polyeetterisulfonista valmistettu Biomax PTTK 30 –kalvo (PES). Kalvojen suodatuspinta-alat olivat 0,23 m<sup>2</sup>. Kalvon pienen leikkauskoon perusteella olettamuksena oli, että permeaatin mukana plasmasta poistuisi suodatuksen aikana lähinnä vettä ja suoloja. Tutkimukseen valittiin kahdesta erilaisesta polymeeristä valmistetut kalvot, jotta myös kalvon materiaalin vaikutusta

päästiin mittaamaan. Suodatuksen tulokset voivat olla erilaiset eri materiaaleista valmistetuilla kalvoilla, koska esimerkiksi kalvojen hydrofobiset ominaisuudet voivat olla erilaiset. Plasman konsentrointi ultrasuodatuksella toteutettiin kierrättämällä retentaatti eli konsentroitunut plasma takaisin syöttöliuokseen Kuvan 4 mukaisesti.



**Kuva 4.** Tutkimuksessa käytetty ultrasuodatus laitteisto: 1. ultrasuodatuskalvo, 2. manometri, 3. pumppu, 4. lämpömittari, 5. syöttösäiliö, 6. permeaatin keräyssäiliö, 7. syöttövirta sisääntulo, 8. retentaatin ulostulo ja 9. permeaatin ulostulo. Lämpötilan säätämiseen käytetty vesihaude ei ole kuvassa mukana.

Ennen plasman suodattamista kalvo huuhdeltiin runsaalla vedellä sekä liuotinvuo mitattiin vedellä 1,5; 1 ja 0,5 bar:n paineissa resistanssin määrittämiseksi samassa lämpötilassa kuin tulossa ollut suodatus. Suodatettavan plasman alkutilavuus oli 3 litraa. Plasman lämpötila säädettiin vesihauteessa 8, 19, 24 tai 40 °C, minkä jälkeen suodatus suoritettiin 0,5; 1; 1,25; 1,5 tai 2 bar:n kalvon ylittävällä paine-erolla. Suotautumisaika mitattiin ja ~ 25 ml näytteet permeaatista (Kuva 4: kohta 6.) sekä retentaatista eli syöttöliuoksesta (Kuva 4: kohta 5.) otettiin 10 · 200 ml suodattumisvälein. Osassa suodatuksista vuo tyrehtyi aikaisemmin ja permeaattia saatiin kerättyä 7, 8 tai 9 · 200 ml (Liite 2). Kokonaissuodatusaika vaihteli 1–5 tunnin välillä. Suodatuksen päätyttyä laitteisto huuhdeltiin runsaalla vedellä, minkä jälkeen mitattiin vielä puhdas liuotinvuo vedellä 1,5; 1 ja 0,5 bar:n paineessa samassa lämpötilassa kuin suodatus oli suoritettu.

Suodatuksen jälkeen suodatuskalvot puhdistettiin. Kalvojen läpi kierrätettiin 1 h ajan 0,1 bar:n kalvon ylittävällä paine-erolla noin 40 °C:sta 0,1 M natriumhydroksidia (J.T.Baker 0402), joka oli valmistettu liuottamalla rakeista natriumhydroksidia veteen. Pesun jälkeen kalvot huuhdeltiin runsaalla vedellä ja jälleen mitattiin liuotinvuo. Kalvojen huuhtelun, liuotinvuon mittaamisen ja pesuun kaikissa vaiheissa käytettiin ionivaihdettua vettä.

Plasmakonsentraattia käytettiin teknologisten ominaisuuksien määrittämiseen samana päivänä tai säilytettiin seuraavaan päivään kylmässä (+4 °C).

Tutkimuksessa oli tarkoituksena selvittää, miten eri muuttujat vaikuttavat ultrasuodatuksella tehtävän konsentroidin tehokkuuteen. Koeasetelman luomiseen ja mallintamiseen käytettiin MODDE v.9 –ohjelmistoa (Umetrics Oy, Ruotsi).

Resistanssi laskettiin kalvolle, likaantumiselle ja konsentraatiopolarisaatiolle yhtälöllä (4) ja suodatuksen kokonaisresistanssi yhtälöllä (5).

Suodatuksen permeaattivuo  $J$  ( $l/m^2h$ ) saatiin laskemalla tilavuusvuo 200 ml suotautumisen jaksoilta:

$$J = dV / (t \cdot A_m), \quad (10)$$

jossa

$dV$  = suodatettu tilavuus (l),

$t$  = suodatukseen kulunut aika (h),

$A_m$  = suodatuskalvon pinta-ala ( $m^2$ ).

Mallinnuksessa käytettiin D-optimaalista keskuskomposiittikoesuunnittelua. Vaste- eli selitettäviksi muuttujiksi valittiin permeaattivuo (suure  $y_P$ ) ja kalvon likaantuminen (suure  $y_L$ ). Faktoreiden tekijöitä eli selittäviä muuttujia olivat siten kalvon materiaali, paine ja lämpötila (suureet  $x_1$ ,  $x_2$ ,  $x_3$  ja  $x_4$ ). Kalvon materiaali oli kvalitatiivinen muuttuja ja sillä oli kaksi tasoa, RC ja PES –materiaaleista valmistetut kalvot. Paine ja lämpötila olivat kvantitatiivisia muuttujia. Tässä tutkimuksessa paineella oli neljä tasoa (0,5; 1; 1,5 ja 2 bar) sekä keskusosa (1,25 bar) ja lämpötilalla neljä tasoa (8, 19, 29 ja 40 °C) sekä keskusosa (24 °C). Koeasetelma koostui kaikkiaan 22 kokeesta (Liite 1). Tutkimukseen sisällytettiin kuusi kappaletta toistokokeita (Liite 1: rivit 17–22) mallin yhteensopivuuden testaamiseksi. Koejärjestys oli satunnaistettu suoritusjärjestyksen vaikutuksen minimoimiseksi. Vastepinta-analyysin avulla tutkittiin sekä ensimmäisen kertaluvun päävaikutuksia että niiden tulosten yhdysvaikutuksia.

Vastepinta-analyysissä vastemuuttujien arvoina käytettiin permeaattivuolle suodatuksen voiden geometrinen keskiarvo ja kalvon likaantumisen resistanssia. Geometrinen keskiarvo kuvaa lukujen keskiarvoa logaritmisella asteikolla. Sitä käytetään tilanteissa, joissa aritmeettinen keskiarvo ei riitä kuvaamaan keskilukua.

Suodatuksen voiden geometrinen keskiarvo:

$$G = \sqrt[n]{J_1 \cdot J_2 \cdots J_n}, \quad (11)$$

jossa

$J$  = permeaattivuo 200 ml suodautumisen aikana ( $l/m^2h$ )

$n$  = 200 ml suodosten lukumäärä kyseisessä suodatuksessa.

Likaantumisen resistanssit saatiin laskemalla puhtaan kalvon resistanssi mittaamalla vesivuo ennen suodatusta, suodatuksen aiheuttama resistanssi sekä likaantuneen kalvon resistanssi mittaamalla vesivuo suodatuksen jälkeen. Kalvon ja likaantumisen resistanssi lasketaan vesivuolla suodatuksessa käytettävästä paineesta riippuen joko 0,5; 1,0 ja 1,5 tai 0,5; 1,0; 1,25 ja 1,5 baarin paineissa saatujen resistanssien keskiarvona. Liitteessä 1 on esitetty vastepinta-analyysin suoritettujen kokeiden perusteella lasketut permeaattivuot ja likaantumisen resistanssit.

D-optimaalisessa koeasetelmassa mallinnetaan toisen asteen yhtälö kuvaamaan tekijöiden vaikutuksia. Malli sovitetaan usean selittäjän lineaarisella regressiolla, jonka avulla mallin kerrointen residuaalien neliöiden summa minimoidaan. Mallin sopivuutta parannettiin

eliminoimalla merkityksettömät tekijät ja tekijöiden vuorovaikutukset regressioanalyysin avulla. Tekijän vaikutusta pidettiin merkityksellisenä sen saadessa p-arvon  $< 0,05$ .

Mallista tehtiin varianssianalyysi mallin oikeellisuuden selvittämiseksi. Analyysissa saadaan sopivuuden puute ja p-arvo. Mallia arvioitiin myös laskemalla selitysasteet  $R^2$  ja  $Q^2$ , oikeellisuus ja toistettavuus sekä residuaalien normaalijakaumakäyrä. Selitysasteet kertovat, kuinka hyvin malli selittää aineistossa ilmenevän varianssin ( $R^2$ ) ja ennustaa uudet arvot ( $Q^2$ ).  $R^2$  yliarvioi ja  $Q^2$  aliarvioi mallin hyvyden (MODDE User Guide). Mallin toistettavuuden arvo alle 0,25 ilmentää merkittävää puutteellisuutta ja arvo lähellä 1 merkitsee erittäin hyvää oikeellisuutta. Toistettavuus on samoilla muuttujien arvoilla tehtyjen vasteiden varianssi verrattuna kokonaisvarianssiin. Sovitettua mallia käyttäen ennustettiin optimipiste suodatukselle.

Vastepinta-analyysillä selvitettyjä optimiolosuhteita käyttäen valmistettiin plasmakonsentraattia teknologisten ominaisuuksien mittaamiseksi sekä lauantaimakkaran valmistamiseen. Plasmakonsentraatti demineralisoitiin jatkamalla ultrasuodatusta diasuodatuksena. Syöttösäiliöön lisättiin 2 l deionisoitua vettä ja suodatusta jatkettiin keräämällä 2 l permeaattia. Demineralisoitua plasmakonsentraattia valmistettiin emulgointi- ja geeliytymiskykyjen määrittämiseksi. Optimiolosuhteilla suoritettuja rinnakkaisia ultrasuodatuksia käytettiin myös mallin luotettavuuden arviointiin.

### 3.2.3 Teknologiset ominaisuudet

#### Proteiinipitoisuuden määrittäminen

Plasman ja plasmakonsentraattien proteiinipitoisuus määritettiin Lowryn menetelmään perustuvalla Bio-Rad Laboratorios -yrityksen kuoppalevymenetelmällä (Bio-Rad DC Protein Assay kit) MTT / BEL / Elintarvike tutkimus 43. Proteiiniin määritys kuoppalevymenetelmällä –ohjeen mukaan. Proteiinipitoisuus määritettiin kolmena rinnakkaisnäytteenä. Menetelmällä proteiinipitoisuus määritettiin spektrofotometrisesti käyttäen aallonpituutta 690 nm. Plasmanäytteitä verrattiin naudan seerumin albumiinia sisältäneeseen verrokkiin (Bio-Rad Protein Standard II). Proteiinipitoisuudet määritettiin plasmasta, plasmakonsentraateista eli retentaatista suodatuksen lopussa sekä permeaatista.

## Viskositeetin määrittäminen

Viskositeetti mitattiin joko suodatuspäivänä suodatuksen jälkeen tai myöhemmin pakastetusta näytteestä. Viskositeetti mitattiin Brookfield DV III -mallisella viskosimetrilla. Mittaus suoritettiin samassa lämpötilassa, jossa plasmakonsentraatti oli valmistettu eli 8, 19, 24 tai 40 °C. Näyte säädettiin oikeaan lämpötilaan ennen mittausta. Mittauksissa käytettiin varttinää (eng. spindle) nro 18. Viskositeetti määritettiin UP and DOWN -ohjelmalla kierrosnopeudesta 150 rpm. Viskositeettia käytettiin suodatuksen resitanssien laskemiseen.

## Vaahdotuvuuden määrittäminen

Vaahdotuvuudella mitataan vaahdon määrää ja pysyvyyttä. Vaahdotukseen käytetty MTT / BEL / Elintarviketutkimus 63. Maitoproteiinien vaahdotuvuus -ohje on kehitetty de Witin ym. (1988) ja Phillipsin ym. (1987) menetelmien pohjalta. Vaahdotukseen käytettiin vatkasta ja vaahdon tilavuus ja pysyvyys määritettiin. Plasmakonsentraatista valmistettiin 5,8 % proteiiniliuos Milli-Q -veteen. Vaahdotumiskyky ja vaahdon pysyvyys mitattiin neljässä pH:ssa: 4,5; 5,5; 6,3 ja 7,0. Plasmaliuos säädettiin oikeaan pH:n 0,2 M suolahapolla. pH:n säädön jälkeen liuosta sekoitettiin magneettisekoittajalla 120 minuuttia huoneenlämmössä, minkä jälkeen pH tarkistettiin. Vaahdotuskulhoon punnittiin 150 g plasmaliuosta, jota vatkattiin yleiskoneella (Hobart N50) 5 minuuttia teholla 3. Välittömästi vaahdotuksen jälkeen käynnistettiin sekuntikello ja mitattiin vaahdon tilavuus mittatikulla. Vaahdon stabiilisuus määritettiin vaahdon hajoamisnopeuden mukaan. Vaahdosta erottunut neste valutettiin vatkastian pohjassa olleesta reiästä ja kirjattiin valuneen nesteen paino 5, 10, 30 ja 60 minuutin kuluttua vatkauksen lopettamisesta sekä aika, jolloin 50 % liuksesta oli valunut kulhosta eli erottunut vaahdosta. Mittauksia tehtiin neljästä eri näytteestä kustakin kaksi rinnakkaista.

Vaahdotuvuus laskettiin kaavalla:

$$\text{Vaahdotuvuus} = \frac{(\text{Vaahdon tilavuus} - \text{Plasman tilavuus})}{\text{Plasman tilavuus}} \cdot 100. \quad (12)$$

Vaahtoutuvuusominaisuuksille laskettiin yksisuuntainen varianssianalyysi 5 % merkitsevyystasolla.

## Emulgointikyvyn määrittäminen

Emulgointikyvyn määrittämiseen käytettiin mukautettua MTT / BEL / Elintarviketutkimus 60. Maitoproteiinien emulgointikapasiteetti -ohjetta, joka perustui Vuillemardin ym. (1990) kehittämään menetelmään. Näytteitä laimennettiin proteiinien suhteen 0,01 % liuokseksi Milli-Q -vedellä. Emulgoituvuus mitattiin neljässä pH:ssa: 4,5; 5,5; 6,3 ja 7,0. pH säädettiin oikeaksi 0,1 M suolahapolla. 50 ml plasmaliuosta homogenisoitiin homogenisaattorilla (IKA T25 digital Ultra-Turrax) ja samalla astiaan johdettiin rypsiöljyä (valmistaja Pirkka) noin 3 ml/min. Emulgointikyky havaittiin mittaamalla emulsion sähkövirta yleismittarilla (Fluke 83 Multimeter). Öljyn lisääminen lopetettiin välittömästi vastuksen noustua selkeästi aikaisemmasta vastusarvosta. Kulutettu öljyn määrä punnittiin. Mittauksia tehtiin neljä rinnakkaista.

Proteiinin emulgointikyky laskettiin kaavalla:

$$\text{Emulgointi kapasiteetti} = \frac{\text{Öljyn kulutus (g)}}{\text{Proteiinin määrä 50 ml : ssa liuosta (mg)}} . \quad (13)$$

Emulgointikyvyille laskettiin kaksisuuntainen varianssianalyysi ilman toistoja 5 % merkitsevyystasolla.

## Geelitymiskyvyn määrittäminen

Plasmakonsentraattien geelitymiskyky määritettiin mukautetulla Rantamäen ym. (2000) menetelmällä MTT / BEL / Elintarviketutkimus 59. Maito- ja munanvalkuaisproteiinien geelityvyys -ohjeen mukaan. Geelitymiskyky määritettiin pH:ssa 4,5; 5,5; 6,3 ja 7,0. Plasmakonsentraatista valmistettiin 10 % proteiiniliuos Milli-Q -veteen. Plasmaliuoksen pH säädettiin 0,2 M suolahapolla. Liuosta sekoitettiin magneettisekoittajalla 60 min ja pH tarkistettiin. 1,9 ml näyteliuosta pipetoitiin 2 ml Eppendorf-koeputkiin, joihin oli tehty neulalle reikä kanteen. Näytteitä kuumennettiin 80 °C vesihautessa 40 min. Aika laskettiin siitä hetkestä lähtien, jolloin kontrollina olevan vesiputken lämpötila ylisi 79 °C:een.

Kuumennuksen jälkeen geeliputket siirrettiin kylmähuoneeseen (+ 4 °C) jäähtymään. Vuorokauden kuluttua geeliputkien annettiin lämmitä huoneenlämpöiseksi ja niiden rakenteelliset ominaisuudet mitattiin penetraatiotestillä LLOYD LR 10 K -aineenkoetuslaitteella käyttäen LC 10 N -mittauskennoa. Geelit olivat mittauksissa edelleen putkissa, koska niiden poistaminen putkista osoittautui hankalaksi. Ominaisuudet mitattiin määrittämällä voima, joka tarvittiin puristamaan 30 % geelin paksuudesta kasaan. Mitattavia rakenteellisia ominaisuuksia olivat kovuus eli suurin voima, joka tarvittiin ensimmäisessä puristuksessa, sidosteisuus eli toisen puristuksen työn määrä verrattuna ensimmäiseen puristukseen, kimmoisuus eli paljonko näyte palautuu ensimmäisen puristamisen jälkeen (mm), kumimaisuus eli kovuus · sidosteisuus sekä pureskeltavuus eli kumimaisuus · joustavuus (N mm). Mittauksia tehtiin 4 rinnakkaista.

Geelien ominaisuuksille laskettiin yksisuuntainen varianssianalyysi 5 % merkitsevyystasolla.

### **3.2.4 Lauantaimakkaran valmistus ja arviointi**

Plasmakonsentraattia hyödyntäen valmistettiin lauantaimakkaraa, jossa osa vedestä ja lihasta tai soija sekä osa lihasta korvattiin plasmakonsentraatilla. Lihatuokimuksen asiantuntijat valmistivat makkaran Lihateollisuuden tutkimuskeskus LTK:ssa Hämeenlinnassa. Verrokkilauantaimakkaroita valmistettiin kahdenlaiset: normaali ja soijaton, jossa soijakonsentraatti korvattiin neutraalilla maltodekstriinillä. Makkaroihin käytettiin kahta erityyppistä sian lihaseosta, joiden rasvapitoisuus oli erilainen. Koemakkaroissa plasmakonsentraatilla korvattiin toisessa makkaramassasta 2 paino-% vettä ja 2 paino-% lihaa ja toisessa 2 paino-% lihasta sekä makkaran soijaosuus, jolloin makkaroitten plasmapitoisuus oli 4 % 1. koemakkarassa ja 3,5 % 2. koemakkarassa. Taulukossa 4 on esitetty koe- ja verrokkimakkaroitten valmistusaineiden %-osuudet. Makkaramassaa valmistettiin 10 kg erissä, joista saatiin kutakin laatua 5 · 2 kg rinnakkaista keinokuoreen pakattua makkaraa.

LTK:ssa tehtiin myös analyysit makkaran rakenteesta ja aistinvaraisesta laadusta. Makkaroista mitattiin pH ja konsistenssi. LTK:n asiantuntijapaneeli arvioi makkaran aistinvaraisen laadun. Aistinvaraisesti arvioitiin suutuntuma, maku ja ulkonäkö.

**Taulukko 4.** Tutkimuksen kohteena olleiden raaka-aineiden osuudet (paino-%) lauantaimakkaroissa.

Raaka-aine	1. Kontrolli	1. Koemakkara	2. Kontrolli	2. Koemakkara
Sian lihaseos 1	20,00	18,00	20,00	20,00
Sian lihaseos 2	32,00	32,00	32,00	30,00
Soijakonsentraatti	1,50	1,50	-	-
Vesi	37,00	35,00	37,00	37,00
Maltodekstriini	-	-	1,50	-
Plasma	-	4,00	-	3,5

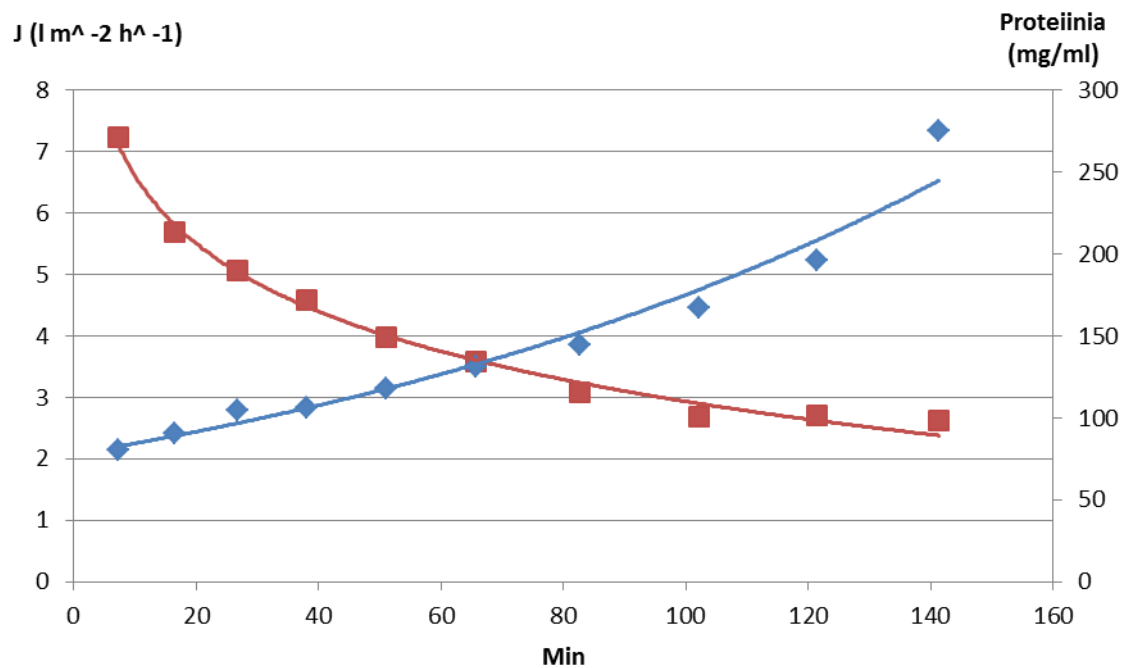
### 3.3 Tulokset

#### 3.3.1 Plasmaproteiinien ultrasuodatus

Proteiinipitoisuus nousi tasaisesti suodatuksen edetessä (Kuva 5). Plasman ja plasmakonsentraattien proteiinipitoisuudet on esitetty Liitteessä 2. Plasman proteiinipitoisuus ennen suodatusta oli  $78 \pm 12$  mg/ml. Plasmakonsentraattien proteiinipitoisuuksissa oli plasmaa suurempi vaihtelu, pitoisuuden ollen  $228 \pm 87$  mg/ml. Osittain suuri vaihtelu konsentraatin proteiinipitoisuudessa johtui siitä, että osassa suodatuksia vuo tyrehtyi muita suodatuksia aikaisemmin. Matalimmat proteiinipitoisuudet mitattiinkin suodatuksissa, joissa vuo tyrehtyi aikaisemmin. Loppuun asti edenneiden suodatusten konsentraattien proteiinipitoisuus oli  $243 \pm 48$  mg/ml.

Permeaatista ei löytynyt merkittäviä pitoisuuksia proteiinia, proteiinipitoisuuden ollen reilusti käytetyn määrittämenetelmän asteikon alapuolella. Kuvassa 6 on esitetty plasman, plasmakonsentraatin eli ultrasuodatuksen retentaatin ja permeaatin sävyerot. Näytteistä plasman konsentroituminen on selkeästi havaittavissa myös paljain silmin. Proteiinipitoisuutta käytettiin kalvosuodatuksen seurantaan sekä vaahtoutuvuuden, geeliytymiskyvyn ja emulgointikyvyn määrittämiseen.

Liitteessä 3 on esitetty plasmakonsentraattien viskositeetit. Viskositeetit asettuvat välille 3,5–15 cP. Matalassa lämpötilassa (8 °C) konsentraattien viskositeetti oli selvästi matalampi kuin korkeassa lämpötilassa (40 °C). Vaihtelu lämpötilan suhteen oli melko lineaarista. Permeaateista mitattu viskositeetti ei poikennut veden viskositeetista. Viskositeettiarvoa käytettiin kalvosuodatuksen parametrien laskentaan.



**Kuva 5.** Vuon (■) ja proteiinipitoisuuden (◆) suhde ultrasuodatuksen aikana. Proteiinipitoisuus nousee tasaisesti suodatuksen edetessä.



**Kuva 6.** Vasemmalla plasma ennen ultrasuodatusta, keskellä plasmakonsentraatti eli ultrasuodatuksen retentaatti suodatuksen jälkeen sekä oikealla plasmasta suodatuksella erotettu permeaatti.

Tutkimuksessa selvitettiin myös kalvon materiaalin, syöttövirran paineen ja lämpötilan vaikutusta ultrasuodatuksen tehokkuuteen. Resistanssin arvioimiseksi mitattiin liuotinvuo ennen ja jälkeen suodatusten. Tulokset analysoitiin vastepinta-menetelmällä käyttäen MODDE v.9 -ohjelmistoa.

Mallintamisen alussa paineen neliön yhdysvaikutus sai sekä permeaattivuolle että likaantumisen resistanssille merkityksettömän p-arvon (p-arvo permeaattivuolle 0,87 ja likaantumisen resistanssille 0,28), joten se poistettiin mallista merkityksettömänä tekijänä. Lämpötila oli mallintamisen alussa erittäin merkityksellinen molemmille vastemuuttujille ja muut muuttujat merkityksellisiä likaantumisen resistanssille.

Vastepinta-analyysissä saatiin permeaattivuolle ja likaantumiselle mallit:

Permeaattivuo:

$$y_P = 0,712 - 0,0487 x_1^2 - 0,0049 x_2 x_3 + 0,0049 x_2 x_4 + 0,245 x_1 + 0,0133 x_2 + 0,0014 x_3 - 0,0487 x_4, \quad (14)$$

Likaantuminen:

$$y_L = 0,405 + 0,374 x_1^2 - 0,252 x_2 x_3 + 0,252 x_2 x_4 - 0,317 x_1 - 0,192 x_2 - 0,183 x_3 + 0,183 x_4, \quad (15)$$

joissa

$x_1$  = lämpötila,

$x_2$  = paine,

$x_3$  = RC-kalvo ja

$x_4$  = PES-kalvo.

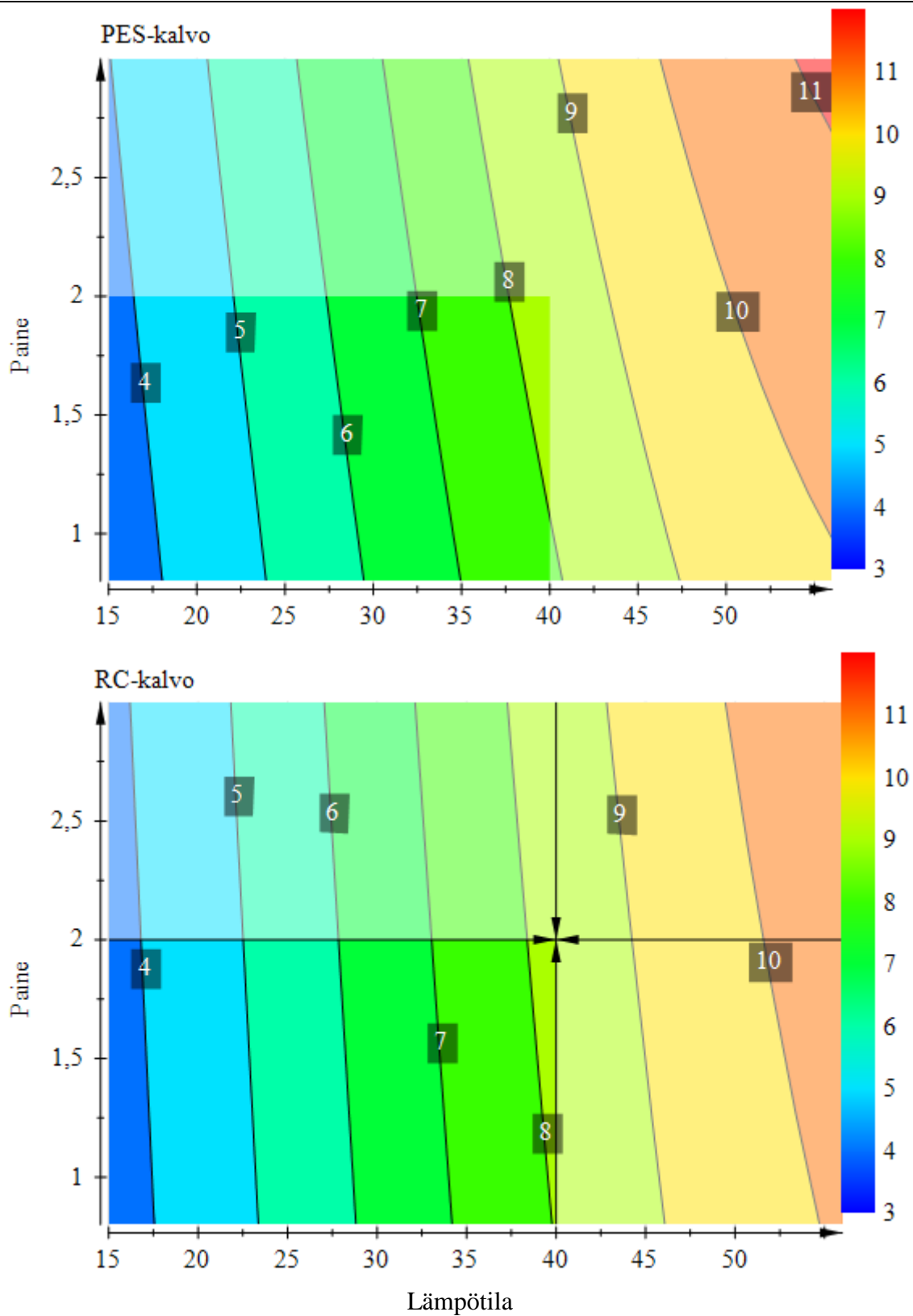
Liitteessä 1 on esitetty permeaattivuon ja likaantumisen resistanssien tutkimuksen kokeissa saadut toteutuneet arvot ja mallin perusteella lasketut ennustetut arvot. Ennustetut arvot ovat samaa kokoluokkaa kuin toteutuneet arvot. Kuvassa 7 on esitetty permeaattivuon ja likaantumisen resistanssin mallilla ennustetut arvot verrattuna toteutuneisiin mitattuihin arvoihin suhteessa regressiosuoraan. Hyvässä mallissa pisteet asettuisivat regressiosuoralle. Kuvassa 7 on kuitenkin havaittavissa hajontaa. Suuri hajonta voi tarkoittaa sitä, että ominaisuuteen vaikuttaa tutkittujen olosuhteiden lisäksi jokin muuttuja, jota ei ole tässä tutkimuksessa otettu huomioon. Ultrasuodatuksen voisi mahdollisesti vaikuttaa kalvon puhdistumisen tehokkuus ennen suodatusta tai eri eläinyksilöistä peräisin olevan plasman koostumuksien vaihtelu esimerkiksi viskositeetin osalta.



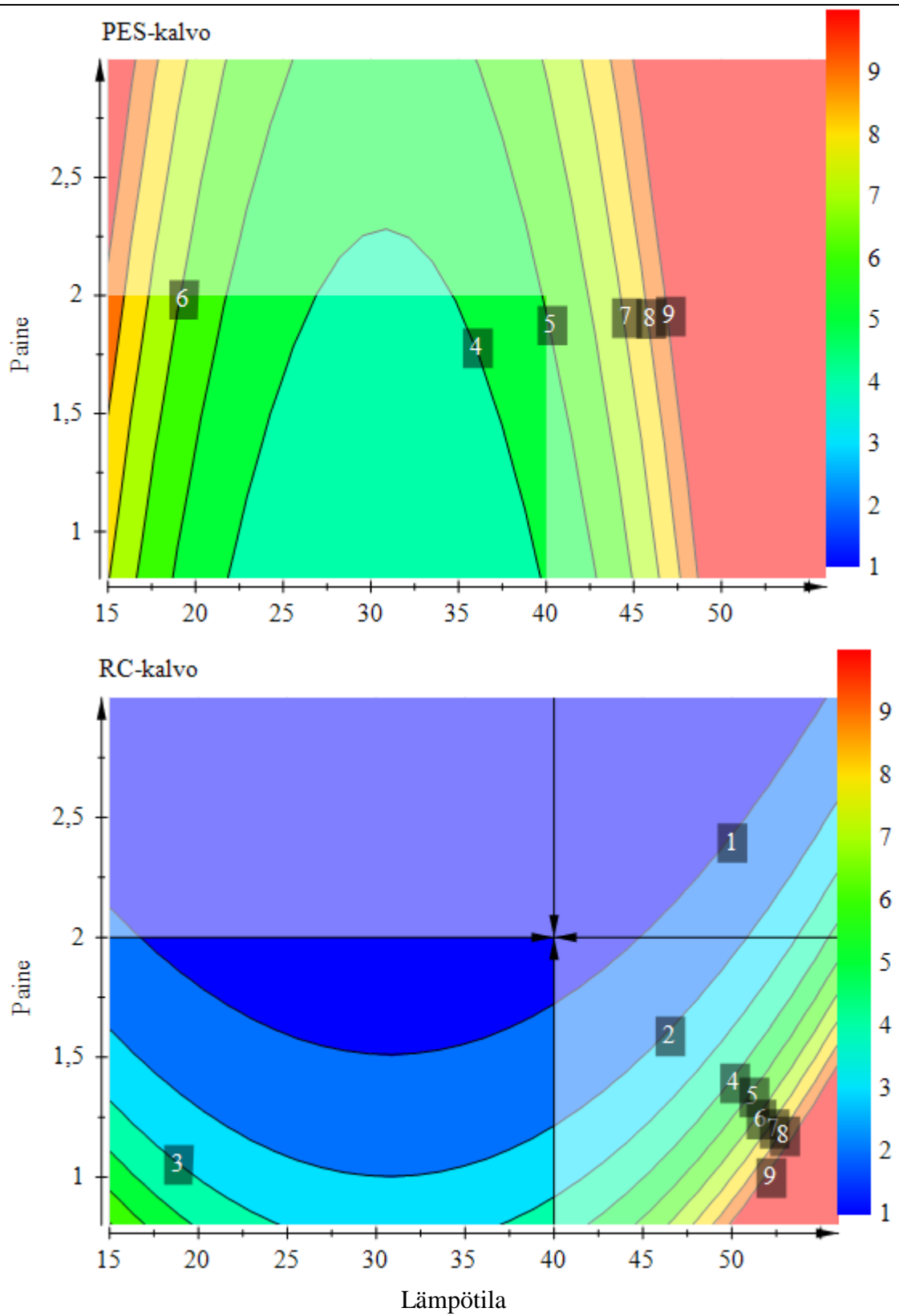
Kuvassa 8 on esitetty permeaattivuon kalvoille lasketut vastepinnat. Lämpötilan ja paineen noustessa permeaattivuo kasvaa. Kuvassa 9 on esitetty likaantumisen resistanssin vastepinnat suhteessa lämpötilaan ja paineeseen. PES-kalvoa käytettäessä resistanssi kasvaa paineen noustessa. Lämpötilan suhteen resistanssi on pienin hieman yli 30 °C:ssa. Lämpötilan noustessa tai laskiessa resistanssi kasvaa. RC-kalvoa käytettäessä resistanssi pienenee paineen noustessa. Resistanssi on pienin hieman yli 30 °C:ssa ja lämpötilan noustessa tai laskiessa resistanssi kasvaa. Vastepinnoista on havaittavissa RC-kalvon olevan PES-kalvoa hieman parempi permeaattivuoltaan. Likaantumisen resistanssi taas on suurempi PES-kalvolla.

Mallilla saadut suodatuksen optimiolosuhteet ovat RC-kalvo 40 °C lämpötilassa ja 2 bar paineessa. Kuvissa 8 ja 9 on merkitty optimiolosuhteiden piste RC-kalvon vastepintaan. Optimiolosuhteet olivat käytettävissä olevan laitteiston (pumppu, putkisto) ylärajoilla. Laitteisto ei toiminut ylärajoillaan täysin luotettavasti. Teknologisten ominaisuuksien mittaamiseksi plasma valmistettiin hieman laskennallista optimia pienemmässä paineessa, näihin suodatuksiin käytettiin RC-kalvoa 40 °C lämpötilaa ja 1,5 bar painetta.

Lämpötila oli selvästi merkittävin permeaattivuohon vaikuttava tekijä. Lämpötila oli myös tärkein likaantumiseen vaikuttava tekijä. Regressiokertoimien p-arvojen perusteella permeaattivuolle vain lämpötila oli merkittävä muuttuja kun likaantumisen resistanssille merkittäviä olivat kaikki mukana olevat muuttujat. Vastepinta-analyyseistä tehtiin myös varianssianalyysit (Taulukko 5). Malli oli permeaattivuolle tilastollisesti merkitsevä 95 % luottamusvälillä (F-arvo = 28,3 ja p-arvo = 0,000) ja mallin puutteellisuus ei ollut merkitsevä (F-arvo = 0,607 ja p-arvo = 0,773). Malli selitti melko hyvin permeaattivuon muutokset  $R^2$ -selitysasteen saadessa arvon 0,899 ja mallin hyvyys oli erittäin hyvä  $Q^2$ -selitysasteen saadessa arvon 0,815. Mallin toistettavuus permeaattivuolle oli 0,82. Likaantumisen resistanssille malli oli tilastollisesti merkitsevä 95 % luottamusvälillä (F-arvo = 17,7 ja p-arvo = 0,000) ja mallin puutteellisuus ei ollut merkitsevä (F-arvo = 2,8 ja p-arvo = 0,113). Malli selitti melko hyvin likaantumisen resistanssin muutokset  $R^2$ -selitysasteen saadessa arvon 0,847 ja mallin hyvyys oli melko hyvä  $Q^2$ -selitysasteen saadessa arvon 0,676. Likaantumisen resistanssille toistettavuus oli 0,91. Näiden tulosten perusteella malli pystyy melko hyvin määrittämään optimiolosuhteet prosessille. Mallin luotettavuutta arvioitiin vertaamalla ennustettuja arvoja mallilla lasketuissa optimiolosuhteissa toteutuneisiin arvoihin (Taulukko 6). Toteutuneet arvot olivat hieman laskennallisia arvoja paremmat.



**Kuva 8.** Sian veren plasman ultrasuodatuksen permeaattivuo vastepintamallin mukaan PES- ja RC-kalvoille. RC-kalvon vastepinnassa on esitetty myös optimipiste 40 °C ja 2 bar.



**Kuva 9.** Sian veren plasman ultrasuodatuksen aikaisen kalvon likaantumisen vastepinta mallin mukaan PES- ja RC-kalvoille. RC-kalvon vastepinnassa on esitetty myös optimipiste  $40^{\circ}$  ja 2 bar.

**Taulukko 5.** Mallin varianssianalyysi.

	DF	SS	MS	F	p	SD
<b>Permeaattivuo</b>						
Regressio	5	0,768	0,154	28,344	0,000	0,392
Puutteellisuus	11	0,050	0,005	0,607	0,773	0,067
Q2	0,815					
R2	0,899					
<b>Likaantuminen</b>						
Regressio	5	3,364	0,673	17,741	0,000	0,438
Puutteellisuus	11	0,523	0,048	2,828	0,113	0,218
Q2	0,676					
R2	0,847					

DF = vapausasteet

R2 = mallin hyvyyden yliarvioiva selitysaste

Q2 = mallin hyvyyden aliarvioiva selitysaste

SS = neliöiden summa

MS = neliöiden keskiarvo

SD = keskihajonta

**Taulukko 6.** Mallin luotettavuutta arvioitiin vertaamalla mallilla laskennallisesti saatuja arvoja toteutuneisiin arvoihin mallilla lasketuissa optimaalisissa olosuhteissa suoritettuna.

	J	R <sub>f</sub>
<b>Toteutuneet</b>		
Koe 1	10,855	$8,18 \cdot 10^{11}$
Koe 2	11,901	$8,77 \cdot 10^{11}$
Koe 3	11,608	$3,51 \cdot 10^{11}$
Laskennallinen	8,184	$1,35 \cdot 10^{12}$

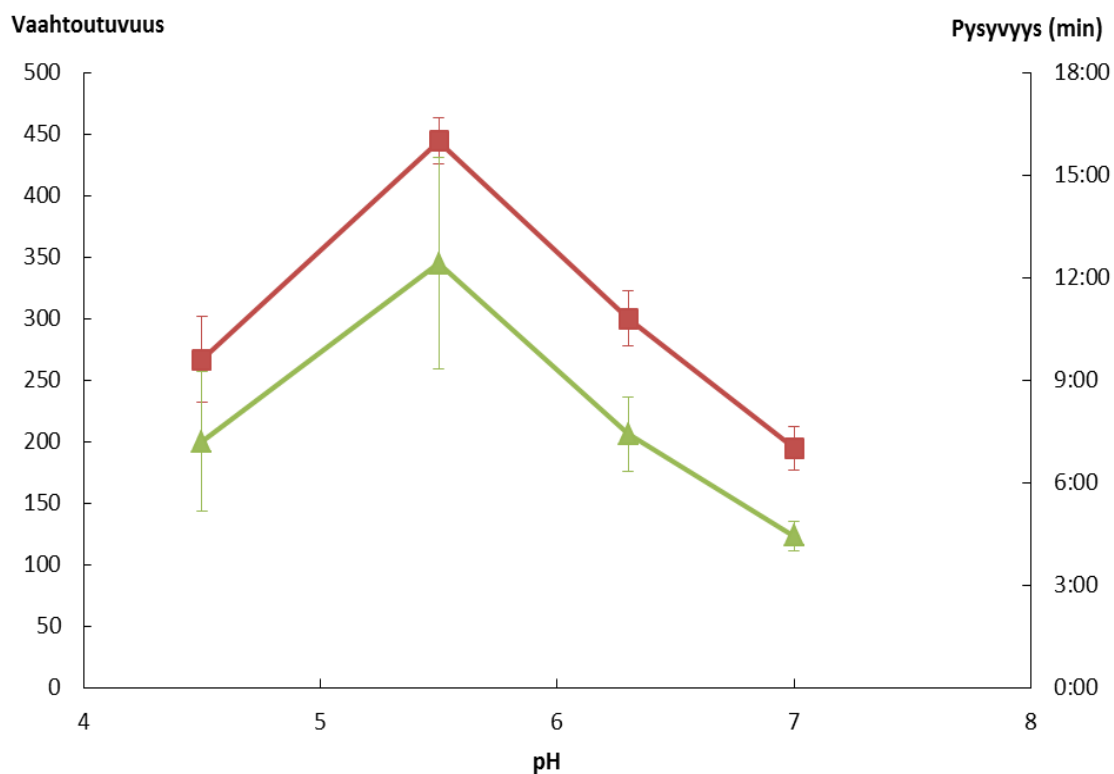
J = permeaattivuo

R<sub>f</sub> = likaantumisen resistanssi

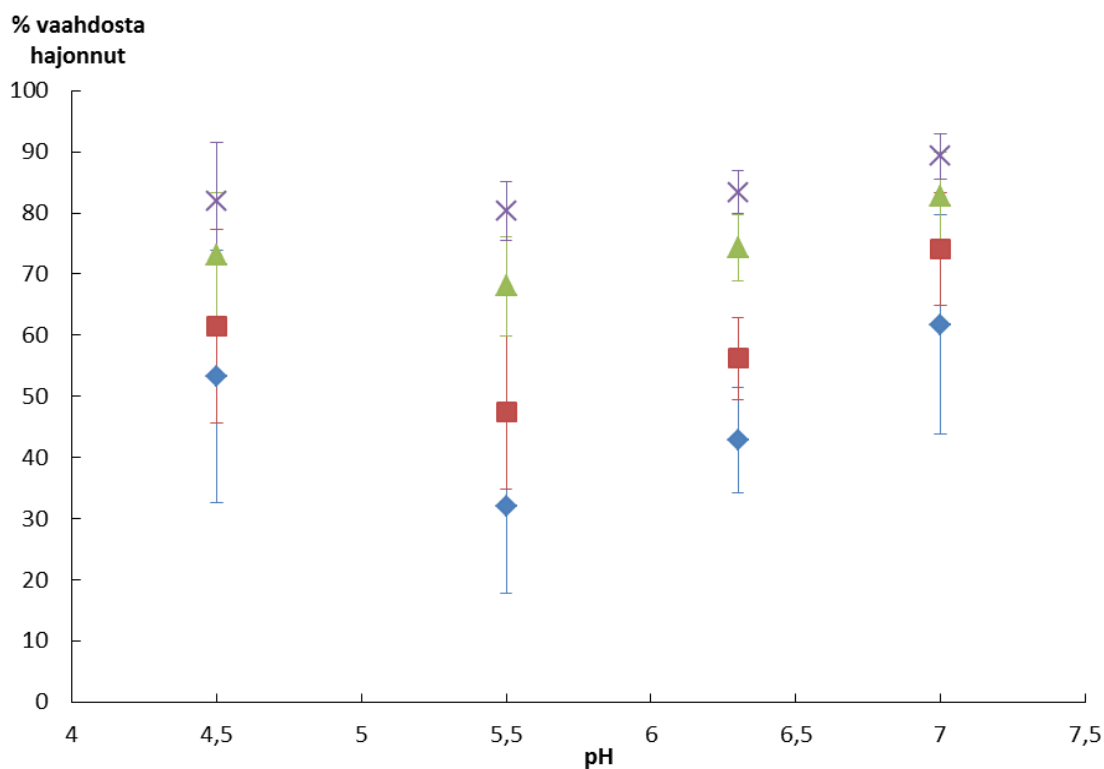
### 3.3.2 Teknologiset ominaisuudet

#### Vaahtoutuvuus

Plasmakonsentraatin vaahtoutuvuusarvot olivat välillä 153–500 pH:sta riippuen. Pysyvyys, eli aika, jolloin 50 % vaahdosta hajonnut, oli välillä 4–13 minuuttia. Vaahtoutumiskyky ja vaahdon pysyvyys suhteessa pH:n on esitetty Kuvissa 10 ja 11. Samasta plasmakonsentraatinäytteestä tehdyt rinnakkaiset määritykset käyttäytyivät vaahtoutuvuuden kannalta samoin, mutta hajonta oli suurta eri plasmakonsentraatinäytteestä tehtyihin



**Kuva 10.** Sian plasmakonsentraatin vaahtoutuvuus eli vaahton tilavuus (■) ja vaahton pysyvyys (▲) eli aika, jolloin 50 % vaahdosta hajonnut esitettynä suhteessa pH:n.



**Kuva 11.** Sian plasmakonsentraatin vaahton pysyvyys ja pysyvyyden keskihajonta prosentteina konsentraatin eri pH-arvoissa. Prosenttiluku kuvaa sitä, kuinka suuri osa vaahdosta hajonnut kun kulunut 5 min (◆), 10 min (■), 30 min (▲) tai 60 min (×) vaahtotuksen lopettamisesta.

rinnakkaisiin (keskihajonta vaihteli välillä 10–35 % keskiarvosta). Suurin vaahtoutuvuus myös saavutettiin pH:ssa 5,5. Vaahdon stabiilisuus on vastaavalla tavalla pH-riippuvainen (Kuva 10). pH:n vaikutus vaahtoutumiseen oli tilastollisesti erittäin merkitsevä ( $p = 0,0001$ ) ja pysyvyyteen (50 %) merkitsevä ( $p = 0,01$ ).

Vaahtoutuvuus ja vaahdon pysyvyys olivat riippuvaisia näytteen pH:sta, ollen suurimmat pH:ssa 5,5 ja matalimmat pH:ssa 7,0 (Kuva 10). Tilavuuden hävikki 60 minuutin kuluttua pH:ssa 7,0 oli 89 % kun se pH:ssa 6,3 oli hieman pienempi 83 %. pH:ssa 6,3 pysyvyys kuitenkin oli huonompi kuin pH:ssa 7,0. Suurin vaikutus pH:lla vaahdon hajoamiseen oli hajoamisen alkuvaiheessa merkityksen vähentyessä ajan kuluessa.

Kuvassa 11. on esitetty sian plasmakonsentraatin vaahdon pysyvyys konsentraatin eri pH-arvoissa. Vaahdon pysyvyys on huonoin pH:ssa 5,5. Suurimmat erot pysyvyydessä havaitaan ensimmäisessä mittauspisteessä 5 min kuluttua vaahdotuksesta. Tässä vaiheessa ero on vielä tilastollisesti merkitsevä ( $p = 0,002$ ) Erot tasaantuvat ajan kuluessa ja 60 min kohdalla suuria eroja ei enää ole havaittavissa ( $p = 0,4$ ).

## Emulgointikyky

Demineralisoimaton plasmakonsentraatti on hieman demineralisoitua parempi emulgointikyvyltään (Taulukko 7). Emulgointikyky on matalin pH:ssa 5,5 sekä plasmakonsentraatissa että demineralisoidussa plasmakonsentraatissa. Varianssianalyysillä demineralisoimattoman plasmakonsentraatin emulgointikyvyn havaittiin olevan parempi kuin demineralisoidun plasmakonsentraatin (tilastollisesti merkitsevästi,  $p = 0,04$ ). Sen sijaan pH:n vaikutus ei ollut tilastollisesti merkitsevä ( $p = 0,24$ ).

<b>Taulukko 7.</b> Sian plasma- ja demineralisoitujen plasmakonsentraattien emulgointikyky konsentraattien eri pH-arvoissa				
pH	4,5	5,5	6,3	7,0
Plasmakonsentraatti				
Emulgointikyky	24,1	19,5	22,5	24,7
Keskihajonta	7,1	5,2	3,4	5,0
Demineralisoitu plasmakonsentraatti				
Emulgointikyky	19,4	17,8	19,3	18,2
Keskihajonta	1,4	2,2	0,8	2,3

## Geelytyminen

Geelit valmistettiin sian plasmaliuoksista, joiden proteiinipitoisuus ja pH oli säädetty halutuiksi. Geeleistä mitattiin kovuus, sidosteisuus, kimmoisuus ja pureskeltavuus. Geelien ominaisuudet on esitetty Taulukossa 8. pH:lla oli vaikutusta geelien ominaisuuksiin. Kaikki ominaisuudet saivat korkeammat arvot pH-asteikon ääripäissä. pH:ssa 5,5 valmistetut geelit saivat matalimmat arvot kaikissa ominaisuuksissa. Geelien ominaisuuksien erot pH:n suhteen olivat tilastollisesti merkitsevät tai erittäin merkitsevät sidosteisuuden saadessa suurimman arvon ( $p = 0,036$ ).

### 3.3.3 Lauantaimakkara

#### Rakenne

Sian plasmasta valmistettu lauantaimakkara ei saanut merkittävästi huonompia arvioita verrattuna tavalliseen lauantaimakkaraan. Taulukossa 9 on esitetty makkaroiden ominaisuuksia. Makkaroille saatiin laskennalliset proteiini- ja rasvapitoisuudet valmistusaineiden pitoisuuksien perusteella. Johtuen plasman korkeasta proteiinipitoisuudesta ja käytettyä lihaseosta alhaisemmasta rasvapitoisuudesta, koemakkaroiden proteiinipitoisuus on hieman korkeampi ja rasvapitoisuus hieman matalampi kuin verrokkien. Tämä voi myös vaikuttaa koemakkaroiden hieman korkeampaan konsistenssiarvoon (Taulukko 9). Kuvassa 12 on kokeessa valmistettuja makkaroita. Plasmaa sisältävät koelauantaimakkarat eivät ulkonäöllisesti eronneet merkittävästi verrokkilauantaimakkaroista.

**Taulukko 8.** Sian demineralisoidusta plasmakonsentraatista valmistettujen geelien rakenteelliset ominaisuudet.

Konsentraatin pH	Geelin kovuus	$\sigma$	Geelin sidosteisuus	$\sigma$	Geelin kimmoisuus indeksi	$\sigma$	Geelin pureskeltavuus	$\sigma$
pH 4,5	0,46	0,65	0,36	0,45	0,90	0,47	0,15	0,23
pH 5,5	0,12	0,04	0,11	0,05	0,54	0,26	0,03	0,02
pH 6,3	0,15	0,07	0,11	0,03	0,99	0,39	0,04	0,03
pH 7	0,32	0,04	0,17	0,03	1,13	0,20	0,16	0,05

## Aistinvarainen arviointi

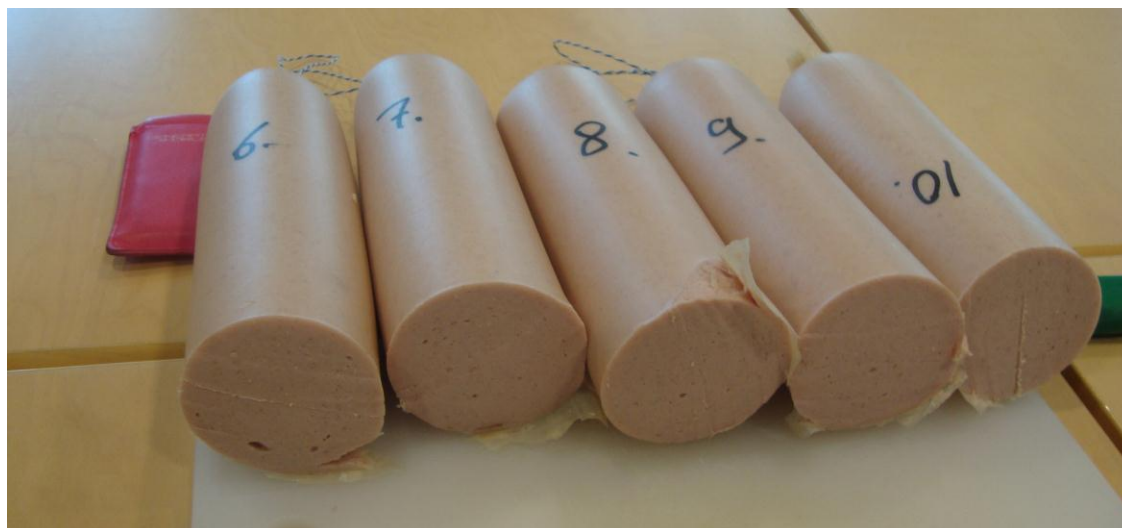
Makkaroista tehtiin LTK:n asiantuntijapaneelin suorittama aistinvarainen arviointi. Arvioinnin tulokset on esitetty Taulukossa 10. Soijaa sisältävät 1. kontrolli ja 1. koemakkara sekä soijattomat 2. kontrolli ja 2. koemakkara testiparit saivat testissä samat tulokset kaikissa arvioitavissa ominaisuuksissa; ulkonäkö, rakenne ja maku.

**Taulukko 9.** Lauantaimakkaroiden ominaisuuksia. Taulukossa on esitetty makkaroiden laskennalliset proteiini- ja rasvapitoisuudet sekä mitattu pH-arvo ja konsistenssi. 1. Koemakkarassa 4 % plasmakonsentraattia raaka-aineena lihan ja veden tilalla ja 2 Koemakkarassa 3,5 % plasmakonsentraattia 3,5 % lihan ja maltodekstriinin tilalla.

	1. Kontrolli	1. Koemakkara	2. Kontrolli	2. Koemakkara
Proteiini %	8,4	8,6	7,3	7,9
Rasva %	17,2	16,3	17,2	16,3
pH-arvo	6,0	6,0	6,1	6,1
Konsistenssi (kp = kg/4cm <sup>2</sup> )	2,4	2,5	1,9	2,0

**Taulukko 10.** Lauantaimakkaroiden aistinvaraisen arvioinnin tulokset.

Makkara	Ulkonäkö (0-3)	Rakenne (0-5)	Maku (0-7)	Yhteensä (0-15)
1. Kontrolli	3,0	4,0	5,0	12,0
1. Koemakkara	3,0	4,0	5,0	12,0
2. Kontrolli	2,5	3,5	4,5	10,5
2. Koemakkara	2,5	3,5	4,5	10,5



**Kuva 12.** Koemakkaroita, joista numero 6 vasemmassa reunassa on verrokkimakkara 1 ja numero 10 oikeassa reunassa on plasmasta valmistettu koemakkara 1.

## 4 Tulosten tarkastelu

Sian plasman konsentroidi ultrasuodatuksella onnistui, sillä plasmakonsentraatin proteiinipitoisuus on korkea nousten tasaisesti suodatuksen edetessä (Kuva 4, Liite 2). Plasmakonsentraatti sisältää tärkeimmät veren proteiinit, albumiinin, globuliinit ja fibrinogeenin, sekä proteiinihävikki permeaattiin oli erittäin vähäistä. Suodatuksessa poistunut permeaatti oli kirkasta (Kuva 6) ja sisälsi korkeintaan erittäin vähäisiä määriä proteiinia, todennäköisesti lähinnä vettä ja suoloja. Plasmakonsentraattien ja permeaattien koostumusta ei kuitenkaan proteiinipitoisuutta tarkemmin tutkittu. Lo ym. (2005) käyttivät polysulfonista valmistettua ultrasuodatuskalvoa samalla leikkauskoolalla 30 kDa teurastamoiden veripitoisen jäteveden puhdistuksessa ja myös he totesivat lähes kaiken raakaproteiinin säilyvän retentaattissa.

Plasman proteiinien ultrasuodatuksen optimoinnissa saatujen vastepintojen perusteella lämpötila on tärkein suodatukseen vaikuttava tekijä (Yhtälöt 14 ja 15). Suodatus on sitä tehokkaampi, mitä korkeampi lämpötila on. Kalvojen ominaisuudet rajoittavat kuitenkin korkeamman lämpötilan käyttöä. Valmistajan ilmoittama korkein kalvojen käyttölämpötila on 50 °C. Myöskään veren proteiinit eivät kestä kovin korkeita lämpötiloja denaturoitumatta. Suodatuspainetta sen sijaan kalvot kestäisivät enemmänkin, sillä valmistajan ilmoittama korkein käyttöpainetta on 5,5 bar. Käyttämällämme laitteistolla ei kuitenkaan pystynyt tutkimaan suuremman paineen vaikutusta. Suuremmalla paineella voisi olla mahdollista saavuttaa tehokkaampi prosessi, mutta samalla myös konsentraatiopolarisaation ja kalvon likaantumisen aiheuttamat haitat kasvavat mahdollisesti lyhentäen kalvon käyttöikä. RC-kalvon havaittiin olevan ominaisuuksiltaan PES-kalvoa parempi plasman konsentroidiin (Kuvat 8 ja 9). Kuitenkin regressioanalyysissä oli hajontaa laskennallisten ja toteutuneiden arvojen välillä (Kuva 7). Kaikkia suodatukseen vaikuttavia tekijöitä ei olekaan todennäköisesti otettu huomioon mallissa. Siitä huolimatta varianssianalyysin mukaan malli oli merkitsevä ja mallin puutteellisuus ei ollut merkitsevä kummallekin tutkitulle vasteelle, permeaattivuolle ja likaantumisen resistanssille (Taulukko 5). Mallin luotettavuutta tutkittiin vertaamalla mallilla saatuja laskennallisia arvoja mallilla saadussa optimiolosuhteissa toteutuneisiin arvoihin (Taulukko 6). Toteutuneet arvot olivat hieman paremmat kuin laskennalliset. Tämä voisi johtua esimerkiksi materiaalin koostumuseroista eri plasmaerien välillä tai suodatuksen jälkeisen puhdistuksen tehokkuudesta eri suodatuskertojen välillä. Tässä

tutkimuksessa vastepinta-analyysiä hyödyntämällä onnistuttiin löytämään tutkitulta alueelta optimaaliset prosessiolosuhteet ultrasuodatukselle. Vastepinta-analyysiä käyttämällä onkin mahdollista huomattavasti parantaa suodatuksen lopputulosta, esimerkiksi Lo ym. (2005) saivat veripitoisen jäteveden keskimääräisen vuon kaksinkertaistettua menetelmän avulla.

Tutkielman tutkimuksessa ultrasuodatuksessa otettiin huomioon vaikuttavina tekijöinä paine, lämpötila ja kalvon materiaali. Näiden lisäksi myös virtausnopeus ja pH voivat olla veren proteiinien ultrasuodatukseseen merkittävästi vaikuttavia tekijöitä (Torres ym. 2002; Lo ym. 2005). pH:n tarkastelu ja säätäminen isoelektrisestä pisteestä poikkeavaksi voi mahdollistaa paremman ultrasuodatustuloksen kasvattamalla kalvon läpäisevää vuota (Lo ym. 2005).

Ultrasuodatuksessa plasmasta muodostuva jäte eli suodatuksen permeaatti sisältää lähinnä suoloja ja muita pienimolekyylisiä veren yhdisteitä, jolloin jätteen BOD<sub>5</sub>-arvo on matala. Ultrasuodatusta voitaisiin hyvin käyttää plasman konsentroimiseen myös ekologisuuatta ajatellen. Prosessille täytyisi kuitenkin ensin tehdä laskelmat ja mittaukset kannattavuudesta. Skaalaus teolliseen mittakaavaan myös mahdollistaa suuremman paineen käytön, sillä teollisen mittakaavan ultrasuodatuslaitteistot kestävät paljon korkeampaa painetta kuin laboratoriomittakaavan laitteet. Myös erityyppisiä kalvoja olisi syytä kokeilla. Erilaisilla kalvorakenteilla voi olla vaikutusta likaantumiseen ja vuohon. Belhocine ym. (1998) ovat jo todenneet ultrasuodatuksen olevan tehokas ja taloudellinen tapa pienentää teurastamoiden jäteveden kuormittavuutta.

Teurastamoiden sivuvirtojen nykyistä tehokkaampi hyödyntäminen olisi ekologista. Teurastamoiden jätevirtojen BOD<sub>5</sub>-luku saadaan huomattavasti matalammaksi, jos veri erotetaan muista jätevirroista. Matalampi BOD<sub>5</sub>-luku tarkoittaisi käytännössä pienempää jätevirtojen puhdistuksen tarvetta. Tuotannon ekologisuus jo sinällään lisää toiminnan arvoa kuluttajien näkökulmasta, mutta hyödyntämällä sivuvirrat elintarviketuotannosta, sivuvirroista saataisiin taloudellista hyötyä kulujen sijaan. Jätevirtojen vähentämisen kannalta plasman hyödyntämisen lisäksi myös punasolujakeelle tulisi kehittää käyttöä.

Aiemmissa tutkimuksissa plasman emulgointikyvyn on havaittu olevan suurin proteiinikonsentraation ollessa 0,1 g / 100 ml pH:ssa 3,0 naudan plasmalle (Silva & Silvestre 2003) ja pH:ssa 7,0 naudan globiinille (Silva & Silvestre 2003 ref. Ornellas ym.

2001). Silvan ja Silvestren (2003) mukaan pH:lla ei ole vaikutusta plasman emulgointikykyyn vaan se oli kaikissa testatuissa pH:ssa korkea. Tämän tutkimuksen perusteella pH:n vaikutus emulgointikykyyn ei ole kovin merkittävä myöskään plasmakonsentraatin ollessa kyseessä (Taulukko 7). Proteiinien hydrolyysilla voidaan parantaa emulgointikykyä (Bizzotto ym. 2005), joskaan aina hydrolyysi ei kuitenkaan paranna emulgointikykyä (Silva & Silvestre 2003). Plasma on usean proteiinin seos, mikä vaikuttaa hydrolyysillä saavutettavaan emulgointikykyyn vaikuttaviin liukoisuuteen ja proteiinien vesi/öljy-vuorovaikutukseen. Plasmakonsentraatissa proteiinit ovat tiiviimmässä, millä voi olla vaikutusta proteiinien välisiin vuorovaikutuksiin ja liukoisuuteen ja sitä kautta myös hydrolyysin vaikutukseen.

Álvarez ym. (2009) tutkivat plasman vaahtoutumista pH:ssa 2,0; 4,0; 6,0 ja 8,0 erilaisella menetelmällä kuin tässä tutkimuksessa käytetyt. Heidän mukaansa vaahtoutuminen on suurimmillaan pH:ssa 4,0. del Hoyo ym. (2008) saivat toisenlaisia tuloksia, sillä heidän tutkimuksen mukaan vaahtoutuvuus vahvistuu pH-asteikon ääripäissä. Tämän tutkimuksen perusteella plasmakonsentraattien vaahtoutuvuus kuitenkin heikentyy pH-asteikon ääripäissä ollen suurin pH:ssa 5,5 (Kuva 10) ja on näin ollen lähempänä Álvarez ym. (2009) saamia tuloksia konsentroidumattomalle plasmalle. Álvarez ym. (2009) saivat mitattua plasmasta muodostetulle vaahdolle erittäin hyvän pysyvyyden; plasman tilavuus pieneni 15 min aikana enimmillään 20 %. Plasmakonsentraatista valmistetun vaahdon pysyvyys sen sijaan on hieman plasmavaahdon pysyvyyttä heikompi 10 min jälkeen enimmillään yli 60 % vaahdon painosta hajonnut (Kuva 11).

Tässä tutkimuksessa plasmakonsentraatista valmistetut geelit olivat heikoimmat pH:ssa 5,5 (Taulukko 8). Myös plasmageelit ovat aikaisempien tutkimuksien mukaan olleet kiinteämpiä ja kestävämpiä isoelektrisestä pisteestä ( $pI$  5,0) poikkeavassa pH:ssa (O’Riordan ym. 1989a; Dávila ym. 2007).

Plasmaproteiinien potentiaalisimpien käyttökohteiden ollen lihatuotteissa, olisi hyvä plasmaproteiinikonsentraattien teknologiset ominaisuudet mitata myös plasman luonnollista tasoa suuremmissa suolapitoisuuksissa. Lihatuotteiden suolapitoisuus on usein melko korkea, minkä takia plasmaproteiineille tulisi pyrkiä löytämään olosuhteet tai käsittelymenetelmät, joilla teknologiset ominaisuudet saataisiin paranemaan suuremmissa suolapitoisuuksissa.

Tarkasteltavan tutkielman tutkimuksessa valmistetuissa makkaroissa korvattiin painon mukaan vettä ja lihaa sekä vettä, lihaa ja soija suoraan vastaavalla painomäärällä plasmakonsentraattia. Proteiini ja rasvapitoisuuksia ei huomioitu kokeessa. Lauantaimakkaraan käytetyllä lihalla oli melko korkea rasvapitoisuus. Plasmakonsentraattia käyttäen valmistetut lauantaimakkarat vastasivat ominaisuuksiltaan kontrollimakkaroina (Taulukot 9 ja 10). Koemakkarat saivat aistinvaraisessa arvioinnissa yhtä hyvät pisteet kuin verrokkina ollut normaalilla reseptillä valmistettu lauantaimakkara (Taulukko 10). Kumpikaan makkaroista ei kuitenkaan yltänyt asteikon parhaisiin pisteisiin. Rasvan vähentäminen makkaramassasta heikentää rakenteellisia ominaisuuksia ja lisää kypsentämisen aikana tapahtuvaa painohävikkiä (Cofrades ym. 2000). Cofrades ym. (2000) mukaan plasman ja soijan lisääminen parantaa makkaran rakennetta ja veden- sekä rasvansidontakykyä. Viana ym. (2005) havaitsivat, että 25–30 % kinkkupateen rasvasta voitiin korvata plasmalla. Aromissa ja maussa ei havaittu muutoksia heidän tutkimuksessaan. Muutoksia oli kuitenkin havaittavissa joissakin muissa ominaisuuksissa ja pate ei pärjännyt aistinvaraisessa arvioinnissa normaalille kinkkupateelle. Tämän tutkimuksen kokeessa käytetty plasmakonsentraatti määrä ei heikentänyt aistinvaraisia ominaisuuksia verrokkiin nähden, vaikka plasmakonsentraattia sisältäneiden makkaroiden rasvaprosentti oli verrokkeja pienempi (Kuva 12, Taulukko 10). Plasmaproteiinien avulla makkaraa voitaisiin myös valmistaa normaalia kevyempiä tuotteita rasvaa vähentämällä sillä Cofrades ym. (2000) osoittivat, että rasvan vähentämisestä aiheutuvaa rakenteen huonontumista voidaan ehkäistä plasmaproteiineilla. Makkaraa voitaisiin valmistaa suuremmilla plasmakonsentraattimäärillä ja selvittää, kuinka suuri pitoisuus plasmaproteiinikonsentraattia lihaproteiinin ja rasvan korvaajana aiheuttaa aistinvaraisten ominaisuuksien heikentymisen.

Veren plasman mahdolliset käyttökohteet voisivat olla esim. hypoallergeenisessa ruuassa. Liha-allergia on harvinaista, mutta kananmunalle, maidolle ja soijalle allergisuus yleisempää. Lesitiini on yleisesti elintarvikkeissa käytetty emulgointiaine, joka yleensä valmistetaan soijapavuista tai kananmunasta. Kananmunan ja soijan lesitiinin on havaittu aiheuttavan allergisia oireita osalle ihmisistä (Palm 2008). Etenkin lihatuotteissa lesitiini voitaisiin korvata lihatuotteen kanssa samasta eläinlajista valmistetulla eläinperäisellä emulgointiaineella, jolloin allergiaongelmaa ei syntyisi. Pienempi kohderyhmä voisi olla veren plasman käyttö vaahdon muodostajana ja stabiloijana leipomotuotteissa kananmuna-allergisille.

Plasmaproteiiniseoksen teknologisia ominaisuuksia voitaisiin myös muokata muuttamalla plasman proteiinikoostumusta ja säätämällä pH:ta. Tuotteissa voitaisiin käyttää plasmasta esim. ultrasuodatuksella ja saostuksella erotettuja sopivat ominaisuudet omaavia proteiineja tai niiden seoksia ja säätää plasmaseoksen eri proteiinien suhteita lisäämällä jotakin tiettyä proteiinia seokseen tavallista suurempi osuus. Näin plasman ominaisuuksia voitaisiin muokata haluttuihin elintarvikkeisiin sopiviksi.

Plasmakonsentraatin hyvää ravitsemuksellista arvoa voitaisiin pyrkiä hyödyntämään myös lisäämällä plasmakonsentraattia elintarvikkeisiin, joissa on vähän plasmakonsentraatissa runsaasti esiintyviä välttämättömiä aminohappoja: treoniinia, leusiinia, tyrosiinia ja lysiniä (Delanay 1975). Tällaisia voisivat olla esimerkiksi viljatuotteet (Fennema 1996).

EU:n lainsäädännössä ei pidetä veriplasmaa elintarvikelisiä aineina (Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus 1333/2008). Pakastettua tai kuivattua veriplasmaa voidaan käyttää makkaran valmistuksessa esim. veden sidonnan parantamiseksi. Elintarvikkeen ainesosaluettelossa on ilmoitettava elintarvikkeen valmistukseen käytetyt ainesosat (Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus 1169/2011). Myös jos lihavalmisteen sisältävät lisättyä eri eläinlajeista peräisin olevaa proteiinia sellaisenaan, on sen esiintyminen ja alkuperä ilmentävä elintarvikkeen nimestä. Kuluttajien voi olla vaikea hyväksyä tuotteita, joissa on käytetty raaka-aineena eläinten verta etenkin jos sillä on pyritty korvaamaan lihaproteiinia. Hieman eettisesti arveluttavaa voisi olla myös verestä peräisin olevan proteiinin lisääminen tuotteisiin, joissa eläinperäisiä aineksia ei normaalisti käytetä. Menestyvien tuotteiden aikaansaamiseksi tarvittaisiin tuotekehityksen lisäksi kattavaa markkinaselvitystä ja oikeanlaista markkinointia.

## 5 Päätelmät

Tutkielman kokeellisessa osassa sian plasmasta valmistettiin proteiinikonsentraattia, jonka toiminnalliset ominaisuudet tutkittiin ja josta valmistettiin lauantaimakkaraa. Proteiinikonsentraatin valmistukseen kehitettiin ultrasuodatusmenetelmä käyttäen menetelmän optimiolosuhteiden löytämiseen vastepinta-analyysiä. Ultrasuodatus soveltui plasman konsentroiduuteen ja menetelmää hyödyntämällä saadaan myös verijätteen biologista kuormitettavuutta pienennettyä. Plasmakonsentraatin toiminnalliset ominaisuudet, vaahtoutuvuus, emulgointikyky ja geelityskyky osoittautuivat

elintarvikekäyttöön soveltuviksi. Plasmakonsentraatin lisääminen lauantaimakkaraan ei vaikuttanut negatiivisesti lopputuotteen aistinvaraiseen laatuun. Plasmakonsentraatin todettiin sopivan elintarvikkeiden valmistukseen, joskin lisätutkimuksia tarvitaan määrittämään parhaiten sopivat reseptit ja tuotteeseen laitettavan plasmakonsentraatin määrä.

Suoritettujen kokeiden perusteella konsentroitua plasmaa voitaisiin käyttää elintarvikkeiden raaka-aineena. Erityisesti plasmallaproteiineilla voisi olla käyttökohteita lihatuotteissa rasvan tai lisäaineiden korvaajana. Lisäksi plasmaproteiineja voisi käyttää toiminnallisena lisäaineena hypoallergeenisessa ruuassa ja proteinaaseja tuhoavana herkästi pilaantuvia ainesosia sisältävissä tuotteissa. Lisätutkimusta vaaditaan selvittämään, minkä tyyppisiin elintarvikkeisiin materiaali sopii ja kuinka suuren osan sitä voi lisätä elintarvikkeen aistinvaraisten ominaisuuksien kärsimättä. Lisätutkimuksia voisi tehdä myös teknologisista ominaisuuksista tutkimalla plasman ja soijan yhteisvaikutuksia samaan aikaan käytettäessä. Myös plasmaproteiinien teknologisten ominaisuuksien parantaminen lihatuotteissa käytettävissä korkeissa suolapitoisuuksissa olisi tutkimisen arvoista.

## LÄHDELUETTELO

Álvarez C., Bances M., Rendueles M & Díaz M. 2009. Functional properties of isolated porcine blood proteins. *Int. J. Food Sci. Technol.* 44:807–814.

Anton M. & Gandemer G. 1999. Effect of pH on interface composition and on quality of oil-in-water emulsions made with hen egg yolk. *Colloids Surf., B* 12:351–358.

Autio K., Kiesvaara M. & Mälkki Y., keksijät; Valtion teknillinen tutkimuskeskus, Espoo, hakija. 31.1.1983. Tapa erottaa veren hemoglobiini hemiksi ja globiiniksi. FI63243.

Baş D. & Boyacı I.H. 2007. Modeling and optimization I: Usability of response surface methodology. *J. Food Eng.* 78:836–845.

Belhocine D., Griba H., Abdessmeda D., Comeaub Y. & Mameri N. 1998. Optimization of plasma proteins concentration by ultrafiltration. *J. Membr. Sci.* 142:159-171.

Bio-Rad. DC Protein Assay Instruction Manual.

Bizzotto C.S., Capobiango M. & Silvestre M.P.C. 2005. Evaluation of Functional Properties of a Blood Protein. *Pak. J. Nutr.* 4: 11-16.

Box G.E.P. & Wilson K.B. 1951. On the Experimental Attainment of Optimum Conditions. *J. Royal Stat. Soc. Ser. B*, 13:1-45.

Caldironi H.A. & Ockerman H.W. 1982. Bone and plasma protein extracts in sausages. *J. Food Sci.* 47:1622-1625.

Cassano A., Conidi C. & Drioli E. 2011. Clarification and concentration of pomegranate juice (*Punica granatum L.*) using membrane processes. *J. Food Eng.* doi:10.1016/j.jfoodeng.2011.07.002.

Chandler M. & Zydney A. 2006. Effects of membrane pore geometry on fouling behavior during yeast cell microfiltration. *J. Membr. Sci.* 285:334–342.

Chang, C. Y., Wu, K. C., & Chiang, S. H. 2007. Antioxidant properties and protein compositions of porcine haemoglobin hydrolysates. *Food Chem.* 100:1537–1543.

Chen J.C., Li Q. & Elimelech M. 2004. In situ monitoring techniques for concentration polarization and fouling phenomena in membrane filtration. *Adv. Colloid Interface Sci.* 107:83–108.

Cofrades S., Guerra M.A., Carballo J., Fernández-Martín F. & Jiménez Colmenero F. 2000. Plasma protein and soy fiber content effect on bologna sausage properties as influenced by fat level. *J. Food Sci.* 65:281-287.

Dávila E. 2006. Advances in animal blood processing: Development of biopreservation system and insights on the functional properties of plasma. Tohtorin tutkielma. 184 s.

Dávila E., Parés D., Cuvelier G. & Relkin P. 2007. Heat-induced gelation of porcine blood plasma proteins as affected by pH. *Meat Sci.* 76:216–225.

Dechadilok P. & Deen W.M. 2009. Electrostatic and electrokinetic effects on hindered diffusion in pores. *J. Membr. Sci.* 336:7–16.

Delaney R. A. M. 1975. The nutritive value of porcine blood plasma concentrates prepared by ultrafiltration and spray drying. *J. Sci. Food Agric.* 26:303-310.

Duarte R.T., Simões M.C.C. & Sgarbieri V.C. 1999. Bovine Blood Components: Fractionation, Composition, and Nutritive Value. *J. Agric. Food Chem.* 47:231-236.

- Echavarria A., Pagán J. & Ibarz A. 2011. Effect of previous enzymatic recirculation treatment through a tubular ceramic membrane on ultrafiltration of model solution and apple juice. *J. Food Eng.* 102:334–339 doi:10.1016/j.jfoodeng.2010.09.009.
- Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus (EU) N:o 1169/2011. 2011. Euroopan Unionin virallinen lehti. L 304/18–63. Saatavilla: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:304:0018:0063:FI:PDF>.
- Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus (EY) N:o 1333/2008. 2008. Euroopan Unionin virallinen lehti. L 354/16–33. Saatavilla: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:354:0016:0033:fi:PDF>.
- Euroopan parlamentin ja neuvoston direktiivi (ETY) N:o 271/1991. 1991. Euroopan Yhteisöjen virallinen lehti. N:o L 135/40 s. 93–105. Saatavilla: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=DD:15:10:31991L0271:FI:PDF>.
- FAO/WHO/UNU. 2007. Protein and amino acid requirements in human nutrition: report of a joint. WHO Press WHO technical report series; no. 935. 2002 : Geneva, Switzerland. [http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO\\_TRS\\_935\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_935_eng.pdf), page 150.
- Fernando T. 1981. Concentration of animal blood by ultrafiltration. *Biotechnol. Bioeng.* XXIII:19–27.
- Fennema O.R. 1996. Food chemistry. 3. painos. Marcel Dekker, Inc, New York. 1069 s.
- Field R.W., WU D., Howell J.A. & Gupta B.B. 1995. Critical flux concept for microfiltration fouling. *J. Membr. Sci.* 100:259–272.
- Ghosh R., Z.E Cui Z.F. 1998. Fractionation of BSA and lysozyme using ultrafiltration: effect of pH and membrane pretreatment. *J. Membr. Sci.* 139:17–28.
- Ghosh R. & Cui Z.F. 2000. Simulation study of the fractionation of proteins using ultrafiltration. *J. Membr. Sci.* 180:29–36.
- Gómez-Juárez C., Castellanos R., Ponce-Noyola T., Calderón-Salinas V. & Figueroa J. 1999. Functional properties of globin protein obtained from bovine blood by decolorisation of the red cell fraction. *J. Sci. Food Agric.* 79:793–796.
- Gonçalves F., Fernandes C. & de Pinho M.N. 2001. White wine clarification by micro/ultrafiltration: effect of removed colloids in tartaric stability. *Sep. Purif. Technol.* 22–23:423–429.
- Govindasamy-Lucey S., Jaeggi J.J., Martinelli C., Johnson M.E. & Lucey J.A. 2011. Standardization of milk using cold ultrafiltration retentates for the manufacture of Swiss cheese: Effect of altering coagulation conditions on yield and cheese quality. *J. Dairy Sci.* 94 :2719–2730 doi: 10.3168/jds.2010-3842.
- Hiltunen S. & Metsämuuronen S. 2007. Proteiinien erotus ultrasuodatuksella. Tekniikan kandidaatintyö. Lappeenranta teknillinen yliopisto, kemian tekniikan osasto, membraanitekniikan ja teknillisen polymeerikemian laboratorio. Lappeenranta. 31 s.
- Ho C-C. & Zydney A. 2000. A Combined Pore Blockage and Cake Filtration Model for Protein Fouling during Microfiltration. *J. Colloid Interface Sci.* 232:389–399.
- del Hoyo P., Rendueles M. & Díaz M. 2008. Effect of processing on functional properties of animal blood plasma. *Meat Sci.* 78:522–528.
- Jaffrin M.Y., Ding L.H., Couvreur Ch. & Khari P. 1997. Effect of ethanol on ultrafiltration of bovine albumin solutions with organic membranes. *J. Membr. Sci.* 124:233–241.
- Jevons K. & Awe M. 2010. Economic benefits of membrane technology vs. evaporator. *Desalination* 250:961–963 doi:10.1016/j.desal.2009.09.081.

- Kanania D.M., Fissell W.H., Royd S., Dubnishevac A., Fleischmanc A. & Zydney A.L. 2010. Permeability–selectivity analysis for ultrafiltration: Effect of pore geometry. *J. Membr. Sci.* 349:405–410 doi:10.1016/j.memsci.2009.12.003.
- Kang I.S. & Lanier T.C. 1999. Bovine Plasma Protein Functions in Surimi Gelation Compared with Cysteine Protease Inhibitors. *J. Food Sci.* 64:842-846.
- Karhula T., Latukka A. & Rekilä T. 2008. Turkistilojen talous ja alan merkitys sekä tulevaisuuden näkymät Suomessa. MTT Taloustutkimus. MTT:n selvityksiä 160. Helsinki. 39 s.
- Keeton J.T. 1994. Low-Fat Meat Products Technological Problems with Processing. *Meat Sci.* 36: 261-276.
- Lee C.C., Love J.A. & Johnson L.A. 1993. Sensory and physical properties of cakes with bovine plasma products substituted for egg. *Cereal Chem.* 70:18-21.
- Lo Y.M., Cao D., Argin-Soysal S., Wang J. & Hahm T.-S. 2005. Recovery of protein from poultry processing wastewater using membrane ultrafiltration. *Bioresour. Technol.* 96:687–698 doi:10.1016/j.biortech.2004.06.026.
- Lundell R.O., Mansson K.M.V. & Tiainen E.T., keksijät; Provivo Oy, Espoo, hakija. 22.10.1990. Process for the preparation of heme/hemin. European Patent EP0427690A1.
- Luo J., Ding L., Qi B., Jaffrin M.Y. & Wan Y. 2011. A two-stage ultrafiltration and nanofiltration process for recycling dairy wastewater. *Bioresour. Technol.* 102:7437–7442 doi:10.1016/j.biortech.2011.05.012.
- Márquez E., Bracho M., Archile A., Rangel L. & Benítez B. 2005. Proteins, isoleucine, lysine and methionine content of bovine, porcine and poultry blood and their fractions. *Food Chem.* 93:503–505.
- Mayani M., Mohanty K., Filipe C. & Ghosh R. 2009. Continuous fractionation of plasma proteins HSA and HIgG using cascade ultrafiltration systems. *Sep. Purif. Technol.* 70:231–241.
- MODDE User Guide. Sähköisessä muodossa olevat manuaalit.
- Moure F., Rendueles M. & Díaz M. 2003. Coupling process for plasma protein fractionation using ethanol precipitation and ion exchange chromatography. *Meat Sci.* 64:391–398.
- Mulder M. 1996. Basic Principles of Membrane Techonology, 2nd edition. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Hollanti.
- Murray B.S. 2007. Stabilization of bubbles and foams. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 12:232–241. doi:10.1016/j.cocis.2007.07.009.
- MTT / BEL / Elintarviketutkimus. 43. Proteiinimääritys kuoppalevymenetelmällä.
- MTT / BEL / Elintarviketutkimus. 59. Maito- ja munanvalkuaisproteiinien geelityvyys.
- MTT / BEL / Elintarviketutkimus. 60. Maitoproteiinien emulgointikapasiteetti.
- MTT / BEL / Elintarviketutkimus. 61. Maitoproteiinien vaahtoutuvuus.
- Myers R.H., Montgomery D.C. & Anderson-Cook C.M. 2009. Response surface methodology : process and product optimization using designed experiments 3<sup>rd</sup> edition. John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, USA.
- Ockerman H.W. & Hansen C.L. Animal by-product processing & utilization. CRC Press LLC. USA. 1999. 544 s.
- O’Riordan D., Kinsella J.E., Mulvihill D.M. & Morrissey P.A. 1989a. Gelation of plasma proteins. *Food Chem.* 33:203-214.
- O’Riordan D., Morrissey P.A., Kinsella J.E. & Mulvihill D.M. 1989b. The effects of salts on the rheological properties of plasma protein gels. *Food Chem.* 34:249-259.

- Ornellas C.B.D., Silva J.G. & Silvestre M.P.C. 2001. Efeito do pH e da hidrólise trípica sobre as propriedades emulsionantes da globina bovina. *Rev. ciên. tecnol. ali.* 21:51-56,
- Palm M., Moneret-Vautrin D.A., Kanny G., Denery-Papini S. & Fré̂mont S. Food allergy to egg and soy lecithins. *Allergy.* 2008, 54:1116-1117.
- Park K.-J., Hyun C.-K. 2002. Antigenotoxic effects of the peptides derived from bovine blood plasma proteins. *Enzyme Microb. Technol.* 30:633–638.
- Piche, R. & Ruohonen, K. 2010. Tilastollinen vastepintamallinnus: kokeiden suunnittelu, regressiomallin analyysi ja vasteen optimointi. *Opintomoniste - Tampereen teknillinen yliopisto.* Tampere. 85 s.
- Porter M.C. 1972. Concentration polarization with membrane ultrafiltration. *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Develop.* 11:234-248.
- Raevuori M., Niemistö M. & Heinänen M. 2010. Teurastamoteollisuuden sivutuotteiden käsittely ja prosessointi. Selvitys nykytilasta ja kehittämismahdollisuuksista tuotantoketjussa. Lihateollisuuden tutkimuskeskus LTK Osuuskunta. Sitran raportin 2007 päätösvyöry. Hämeenlinna. 15 s.
- Ramos-Clamont G, Fernandez-Michel S, Garrilo-Vargas L, Martinez-Calderón E, Vazquez-Moreno L. 2003. Functional properties of protein fractions isolated from porcine blood. *J. Food Sci.* 68:1196-1200.
- Rantamäki P., Tossavainen O., Outinen O., Tupasela T., Koskela P. & Kaunismäki M. 2000. Functional properties of the whey protein fractions produced in pilot scale processes. Foaming, water-holding capacity and gelation. *Milchwissenschaft* 55:569-572.
- Rawdkuen S., Benjakul S., Visessanguan W. & Lanier T.C. 2004. Chicken plasma protein: Proteinase inhibitory activity and its effect on surimi gel properties. *Food Res. Int.* 37:156–165.
- van Reis R., Brake J.M., Charkoudian J., Burns D.B. & Zydney A.L. 1999. High-performance tangential flow filtration using charged membranes. *J. Membr. Sci.* 159 (1999) 133-142.
- Rodríguez-García I. & Guil-Guerrero J.L. 2008. Evaluation of the antioxidant activity of three microalgal species for use as dietary supplements and in the preservation of foods. *Food Chem.* 108:1023–1026 doi:10.1016/j.foodchem.2007.11.059.
- Saxena A.S., Tripathi B.P., Kumar M. & Shahi V.K. 2009. Membrane-based techniques for the separation and purification of proteins: An overview. *Adv. Colloid Interface Sci.* 145:1-22.
- Sarmadi B.H. & Ismail A. 2010. Antioxidative peptides from food proteins: A review. *Peptides* 31:1949–1956 doi:10.1016/j.peptides.2010.06.020.
- Sharma S.K., Hill A.R. & Mittal G.S. 1993. Effect of milk concentration, pH and temperature on aggregation kinetics and coagulation properties of ultrafiltered (UF) milk. *Food Res. Int.* 26: 81-87.
- Silva J.G., Morais H.A., Oliveira A.L. & Silvestre M.P.C. 2003. Addition effects of bovine blood globin and sodium caseinate on the quality characteristics of raw and cooked ham pâté. *Meat Sci.* 63:177–184.
- Silva V.D.M. & Silvestre M.P.C. 2003. Functional properties of bovine blood plasma intended for use as a functional ingredient in human food. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 36:709–718.
- Sjaastad Ø. V., Hove K. & Sand O. 2010. Physiology of domestic animals. 2. painos. Scandinavian Veterinary Press, Oslo. 804 s.
- Song L.F. & Elimelech M. 1995. Theory of concentration polarization in crossflow filtration. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* 91:3389–3398. Viite julkaisusta: Chen J.C., Li Q. & Elimelech M. 2004. In situ monitoring techniques for concentration polarization and fouling phenomena in membrane filtration. *Adv. Colloid Interface Sci.* 107:83–108.
- Suomen virallinen tilasto (SVT): Kananmunien tuotanto [verkkojulkaisu]. Viitattu 27.8.2012. Saatavilla: <http://www.stat.fi/til/kanmtu/index.html>.

Suomen virallinen tilasto (SVT): Lihantuotanto [verkkojulkaisu]. Viitattu 27.8.2012. Saatavilla: <http://www.stat.fi/til/litu/index.html>.

Suomen virallinen tilasto (SVT): Maito- ja maitotuotetilasto [verkkojulkaisu]. Viitattu 27.8.2012. Saatavilla: <http://www.stat.fi/til/mama/index.html>.

Tarazaga C.C., Campderrós M.E., Pérez Padilla A. 2006. Physical cleaning by means of electric field in the ultrafiltration of a biological solution. *J. Membr. Sci.* 278:219–224.

Torres M.R., Marín F.R., Ramos A.J. & Soriano E. 2002. Study of operating conditions in concentration of chicken blood plasma proteins by ultrafiltration. *J. Food Eng.* 54:215–219.

Ulbricht M., Schuster O., Ansorge W., Ruetering M. & Steiger P. 2007. Influence of the strongly anisotropic cross-section morphology of a novel polyethersulfone microfiltration membrane on filtration performance. *Sep. Purif. Technol.* 57:63–73.

Ustunul Z. & Sybien C. 1997. Heat stability of bovine milk immunoglobulins and their ability to bind lactococci as determined by an ELISA. *J. Food Sci.* 62:1218–1222.

Viana F.R., Silva V.D.M., Delvivo F.M., Bizzotto C.S. & Silvestre M.P.C. 2005. Quality of ham pâté containing bovine globin and plasma as fat replacers. *Meat Sci.* 70:153–160.

Vuillemard, J.-C., Gauthier, S.F., Richard, J.-P. & Paquin P. Development of a method for the measurement of the maximum value of emulsifying capacity of milk proteins. *Milchwissenschaft*, 1990, 45, 572-575.

Walter T., Hertrampf E., Pizarro F., Olivares M., Llaguno S., Letelier A., Vega V. & Stekel A. 1993. Effect of bovine hemoglobin fortified cookies on iron status of schoolchildren: a nationwide program in Chile. *Am. J. Clin. Nutr.* 57:190-194.

Wang J.-Z., Zhang H. Zhang M. Yao W.-T. Mao X.-Y. & Ren F.-Z. 2008. Antioxidant activity of hydrolysates and peptide fractions of porcine plasma albumin and globulin. *J. Food Biochem.* 32: 693–707.

de Witt J.N. & Klarenbeek G. 1984. Effects of various heat treatments on structure and solubility of whey proteins. *J. Dairy Sci.* 67:2701-2710.

Wu J., He C., Jiang X. & Zhang M. 2011. Modeling of the submerged membrane bioreactor fouling by the combined pore constriction, pore blockage and cake formation mechanisms. *Desalination* doi:10.1016/j.desal.2011.05.069. Viitattu: 22.8.2011.

Yang J.-H. & Lin C.-W. 1998. Functional properties of porcine blood globin decolourized by different methods. *Int. J. Food Technol.* 33:419-427.

Yee K.W.K., Wiley D.E. & Bao J. 2007. Whey protein concentrate production by continuous ultrafiltration: Operability under constant operating conditions. *J. Membr. Sci.* 290:125–137.

Zwijnenberg H.J., Kemperman A.J.B., Boerrigter M.E., Lotzb M., Dijksterhuis J.F., Paulsen P.E. & Koops G.-H. 2002. Native protein recovery from potato fruit juice by ultrafiltration. *Desalination* 144: 331-334.

## Liitteet

**Liite 1.** Vastepinta-analyysin koeasetelma sekä vasteiden toteutuneet ja luodulla mallilla ennustetut arvot.

Vastepinta-analyysidata

Koe No.	Faktorit				Vasteet			
	Koejärjestys	Lämpötila	Paine	Kalvo	Toteutuneet		Ennustetut	
					Vuo	Likaantumisen resistanssi	Vuo	Likaantumisen resistanssi
1	2	8	0,5	RC	2,13	41,8	2,58	22,73
2	12	40	0,5	RC	10,03	7,65	7,98	5,29
3	9	8	2	RC	2,53	1,64	2,68	2,94
4	7	40	2	RC	7,57	1,41	8,29	0,68
5	11	8	1,5	RC	2,92	4,33	2,65	5,81
6	20	40	1	RC	10,45	1,12	8,08	2,67
7	10	19	0,5	RC	4,48	4,82	4,15	6,5
8	14	29	2	RC	7,35	0,73	6,28	0,52
9	22	8	0,5	PES	2,35	15,07	2,51	16,54
10	1	40	0,5	PES	7,87	3,9	7,75	3,85
11	19	8	1,5	PES	3,32	32,56	2,65	19,85
12	21	40	2	PES	8,25	4,17	8,43	5,06
13	16	8	1	PES	2,62	17,45	2,58	18,12
14	18	40	1,5	PES	8,6	3,92	8,19	4,62
15	15	29	0,5	PES	6,19	3,23	5,87	2,91
16	5	19	2	PES	3,89	6,84	4,39	6,22
17	8	24	1,25	PES	4,95	3,28	5,14	3,87
18	4	24	1,25	PES	4,64	5,83	5,14	3,87
19	17	24	1,25	PES	6,12	3,75	5,14	3,87
20	3	24	1,25	PES	4,47	4,57	5,14	3,87
21	13	24	1,25	PES	6,71	2,45	5,14	3,87
22	6	24	1,25	PES	3,98	3,35	5,14	3,87

**Liite 2.** Plasman ja plasmakonsentraattien proteiinipitoisuudet.

Proteiinikonsentraatiot					
Koe	<u>Syöttövirta</u>		<u>Konsentraatti</u>		Nestettä poistettu l
	mg/ml	keskihajonta	mg/ml	keskihajonta	
<b>1</b>	78	0,6	141	1,7	1,4
<b>2</b>	76	1,2	177	3,4	1,6
<b>3</b>	90	1,1	166	0,9	1,6
<b>4</b>	68	1,2	254	6,9	2,0
<b>5</b>	76	0,3	222	2,0	1,8
<b>6</b>	76	0,1	205	1,5	2,0
<b>7</b>	86	0,4	291	4,2	2,0
<b>8</b>	71	0,5	219	1,8	2,0
<b>9</b>	74	0,2	182	0,7	1,8
<b>10</b>	73	0,1	220	3,4	2,0
<b>11</b>	76	0,9	244	1,9	2,0
<b>12</b>	80	0,3	246	1,2	2,0
<b>13</b>	80	0,4	201	1,1	2,0
<b>14</b>	76	3,8	259	2,0	2,0
<b>15</b>	85	0,6	290	2,5	2,0
<b>16</b>	81	0,5	282	2,4	2,0
<b>17</b>	84	0,6	240	2,4	2,0
<b>18</b>	72	0,1	262	0,5	2,0
<b>19</b>	71	0,6	191	0,7	2,0
<b>20</b>	76	0,4	279	1,0	2,0
<b>21</b>	67	0,2	203	1,3	2,0
<b>22</b>	89	0,3	240	3,5	2,0

**Liite 3.** Plasmakonsentraattien viskositeetit.**Plasmakonsentraattien viskositeetit**

Koe	Viskositeetti cP	Lämpötila
	150 rpm	°C
1	12,98	10
2	7,78	7
3	23,7	10
4	19,3	10
5	12,06	10
6	7,06	10
7	15,04	10
8	10,42	10
9	12,26	8
10	11,28	10
11	14,1	9
12	5,47	8
13	12,4	24
14	14,66	29
15	14,34	29
16	13,8	8
17	10,7	24
18	13,6	40
19	10,53	8
20	12,08	29
21	3,68	40
22	9,05	8