

屠宰畜禽血液血红蛋白(HB)及其脱色技术研究进展

王飞翔¹ 于美娟¹ 马美湖²

(1. 湖南省农业科学研究所 长沙 410125; 2. 湖南农业大学食品科技学院 长沙 410128)

摘要: 畜禽血液含有丰富的营养物质, 尤其是蛋白质, 其含量可与瘦肉相媲美, 它是一种优质的动物蛋白资源。本文就血液的营养价值着手, 介绍了血红蛋白的分子结构及含量, 概括了几种脱色方法的特点、应用和研究进展, 以及酶法水解脱色的研究状况。

关键词: 畜禽血液; 血红蛋白; 脱色技术; 酶法水解

Abstract: Blood in livestock and poultry is a high quality animal protein source, the content of protein in which can be equal to that of muscle. In this paper, the molecular structure and content of hemoglobin, a major protein in livestock and poultry blood, is introduced. Characters, applications and research situations of several decoloring methods, especially for the decoloring method by enzymatic hydrolysis, are summarized.

Keywords: livestock and poultry blood; hemoglobin; decoloring technology; enzymatic hydrolysis

前言

血液是肉类工业中丰富有用的副产物, 血液约占其体重的8%, 屠宰后可收集的血液占屠宰体重的4~5%^[1], 资源相当的丰富。血液中的血浆蛋白已被国内外用于肉类食物^[2]、香肠^[3]、布丁^[4]的配方中, 而血细胞中重要的蛋白质——血红蛋白属于色蛋白, 在加工过程中, 受温度、环境、处理时间等因素的影响易氧化变色, 并具有血腥味、不易消化等特点使自身用途受限。所以我国很多屠宰场屠

宰牲畜后留下来的血液除了少部分被用做菜肴食用外(如陕西的血面条、江苏的血丝酸汤、湖南的猪血饼和血豆腐), 大部分的血液被直接排入环境, 既浪费了宝贵的蛋白质资源, 又严重污染了周围的环境。我国虽然从上世纪七、八十年代开始研究畜禽血液的利用, 积累了很多有价值的研究资料, 但因血液利用中其色泽问题, 到目前为止, 猪血的产品品种单一^[5, 6, 7], 并且几种利用畜禽血的技术成本都比较高, 使其产品在经济价格上与其他蛋白质来源的同类产品没有优势。这些问题限制了我国的畜禽血的综合开发利用。因此解决畜禽血液中其色泽问题有着重要实际意义。

本文从血液的营养价值着手, 综述了血红蛋白的分子结构及含量、脱色技术与方法以及酶法水解脱色的研究状况。

1 畜禽血液的营养价值

畜禽血液含有丰富的营养物质, 尤其是蛋白质。其含量可与瘦肉相媲美, 所以血液在西方素有“液体肉”之称^[8]。而且血液中蛋白质中的必需氨基酸总量要高于人乳和全蛋, 特别是赖氨酸的含量很高, 接近9%^[9]。

血液可以分为血浆(Plasma)及血球(blood cell)两部分, 血浆含有约10%的固形物, 其中约70%为蛋白质; 血球的主要成分为红血球, 内含血红蛋白(hemoglobin), 约占血球总重量的35%, 或全血球蛋白质的90%^[10]。

有资料^[11]测定了猪血和牛血的成分, 见表1, 2。

2 畜禽血液血红蛋白

2.1 血红蛋白的分子结构

血红蛋白是结合蛋白质, 其蛋白质部分称为

基金项目: 国家自然科学基金项目(30270976)

作者简介: 王飞翔, 男, (1976-), 湖南岳阳人, 主要从事科研开发工作

珠蛋白，属组蛋白类，其辅基是血红素，所含的铁为二价^[12,13]。

表1 牛血和猪血的成分

	牛血	猪血
红细胞	33%	44%
血浆	67%	56%
水分	80.9%	79.1%
蛋白质	17.3%	18.9%
脂肪	0.5%	0.3%
糖分	0.1%	0.1%
灰分	0.5%	0.5%
氮	0.3%	0.3%
磷酸	0.04%	0.1%
其它	0.36%	0.7%

表2 血液蛋白中的必需氨基酸

氨基酸	每100g蛋白质中的克数			FAO 暂定数据
	全血	血浆	珠蛋白	
赖氨酸	10.2	9.2	10.5	4.2
苏氨酸	4.3	6.3	3.8	2.8
半胱氨酸+蛋氨酸	1.6	1.0	1.7	2.2
缬氨酸	8.9	7.0	9.4	4.2
酪氨酸+苯丙氨酸	7.4	5.6	7.9	2.8
亮氨酸	13.0	10.1	13.8	4.8
异亮氨酸	0.8	2.9	0.2	4.2
色氨酸	2.0	1.1	2.0	1.4
组氨酸	6.9	3.5	7.8	-

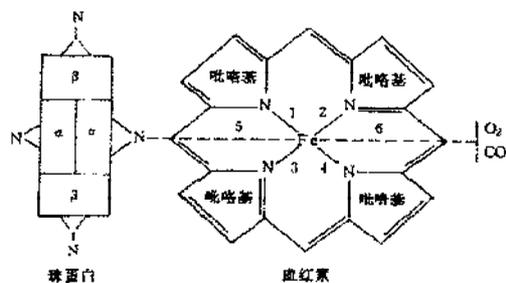


图1 血红蛋白组成示意图

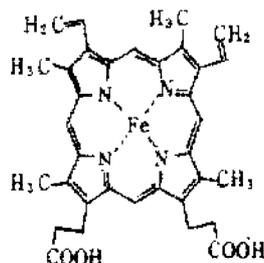


图2 血红素的结构

每一个血红蛋白分子 (Hb) 由1个珠蛋白和4个血红素 (又称亚铁原卟啉) 组成。每个血红素又由4个吡咯基组成一个环，中心为一铁原子如图1，

2. 每个珠蛋白有4条多肽链，每条多肽链与1个血红素至少连接构成Hb的单体或亚单位。在四个亚基中，两个称α-链，其氨基酸组成和排列顺序是彼此相同的。每个链上有141个氨基酸。另两个亚基也彼此相同，称β-链，由146个氨基酸组成。α-链分子量为15126，β-链分子量为15866。两条α-链和两条β-链再加四个血红素，则得血红蛋白分子量为64450。通过超离心测得分子量为64500，与此基本相同。血红素中的铁与两个级氨酸残基以配位键结合，这在α-链中可能是与第58位及87位的组氨酸结合，而在β-链中，可能是与第63位及第92位的组氨酸结合。当血红蛋白同氧结合时，α-链的第58位及β-链中的第63位，则可逆地被氧取代。

2.2 血红蛋白的含量

血红蛋白含量是以每项100毫升血液中所含的克数来表示的。各种成年畜禽的血液中，血红蛋白的含量约为7~15g。正常情况下，每克血红蛋白能与36ml的氧结合，所以，100ml的血红蛋白约有20ml的氧。一般来说，血液中红细胞数量多，血红蛋白含量也较高，但血液中血红蛋白的含量受年龄、性别、季节、环境变化及饲养等因素影响。各种畜禽血液中血红蛋白含量^[12,14]见表3。

表3 各种家畜血液血红蛋白含量 (g/100ml)

家畜种类	血红蛋白质量	家畜种类	血红蛋白量
马	8-13	山羊	7-14
牛	9-14	猪	10-15
水牛	8.3	鸡	8-12
牦牛	10.2	兔	12.3
绵羊	10-15	骆驼	15.2

3 血红蛋白脱色技术的研究

畜禽血液综合利用的限制，除血细胞碎片有一特殊的“腥味”，令消费者十分讨厌外，还有一个主要的问题是血红蛋白的颜色，即使加入少量也会使产品呈暗棕色。从营养角度来讲，血红蛋白是一种非常理想的蛋白质资源，所以许多年来，世界各国许多学者开始研究分离血红蛋白中蛋白质和血红素的方法，以便去除不易让人接受的颜色。纵观国内外脱色的研究，目前见诸报道的脱色方法有如下几种：

3.1 物理脱色法

物理脱色法是应用物理方法将血红蛋白用包埋剂包埋,外观上看不到让人不易接受的暗红色,使产品外观无色。Smimitskaya等(1973)利用凝固的乳蛋白来隐藏血红素。zayas等(1975年)人采用经超声乳化处理的脂肪乳化剂达到隐色,后来人们改用压力匀浆机来乳化脂肪。法国制订的方法是在低温下脂质介质中进行,结果细胞被蛋白质-脂肪膜覆盖而脱色;在美国制订的方法中制作溶化脂肪、蛋白质、水、血混合液,以急剧降压作用于混合液,结果,红细胞被蛋白质-脂肪膜包被;在丹麦,血在压力下通过均质脱色^[15]。

物理脱色其优点是可完全保存和避免分解蛋白质、维生素、酶等,高度易吸收的亚铁血红素保存下来,其制品安全可靠;缺点是脂肪用量大,制品具有一定的颜色,不易保存和运输,乳剂不稳定时产品易被氧化而发生颜色变化。这种方法虽然达到了不见颜色的目的,但是并没有使珠蛋白和血红素分离,所以虽然没有颜色了,实际上并没提高血红蛋白的利用率,不是十分好的方法。

3.2 有机溶剂萃取法

血红蛋白中的血红素是以非共价键与珠蛋白肽键相连。血液中的血红素有游离态和结合态两种,游离和结合的血红素之间存在着动态平衡,酸性条件下可使平衡向分解方向移动。一般的方法是将血红蛋白酸解后用有机溶剂萃取分离。常用的有机溶剂有丙酮、2-丁酮、丁酮^[16]、乙醇^[17]等。

最早用酸性丙酮进行脱色实验的是Jope^[18],1973年,Tybor等人对该法进行了一些改进,他们使血红蛋白的pH值为4且抗坏血酸存在的情况下将血红蛋白转化为胆氯蛋白,然后珠蛋白与血红蛋白得以彻底分离,从而获得了良好的脱色效果^[19,20]。酸性丙酮虽然几乎可完全去除血红素,但却要消耗大量丙酮,而且最终产品还有一定量的残留,为了解决这个问题,人们在继续用丙酮的基础上添加其它处理手段,如酸钠法、蒸馏法、单宁酸法^[21,22,23]。

人们对采用酸性丙酮和乙醇脱色制取的蛋白质也进行了大量的功能特性研究^[24,25]。但该方法使用有机溶剂较多,因此使得成本较高,而且还有少量残留物存在,在应用上受到限制。

3.3 氧化脱色法

该法是血红蛋白溶液中加入氧化剂,氧化破坏血红蛋白。在畜禽正常体内,血红蛋白可被氧化破坏形成无色物质。有人通过过氧化氢作为氧化剂氧化脱色,其方法简便易行。例如,在血液温度为20、pH2.5的情况下加入0.3%的过氧化氢并作用20小时即可达到脱色目的,但该法会导致含硫氨基酸的氧化,这样便破坏了蛋白质的营养价值,同时过氧化氢的消耗量也非常大,使成本增加。后经人们研究采用过氧化氢物-过氧化氢酶法^[14],克服了单一用过氧化氢时的不足。另外有人先将新鲜血液用三聚磷酸盐稳定,随后加热至68,按照每升血液加入60ml和比例加入过氧化氢,混合搅拌30分钟,残余的过氧化氢用纤维性炭或铁的催化剂处理去除。在氧和臭氧脱色方面也有一些报道^[26,27]。

氧化脱色法因与血红蛋白进行氧化反应,对其蛋白质的功能特性、营养价值产生一定的影响及破坏作用,因此,在应用上受到限制。

3.4 吸附脱色法

该法是在酸化的血红蛋白溶液中加入吸附剂,吸附血红素,并将其同珠蛋白分开。活性碳是一种常用的吸附剂。采用AAS型树脂吸附^[28]和阳离子交换剂^[29]对猪血血红蛋白进行脱色也有报道过。Sato^[30]采用CMC(羧甲基纤维素)层析柱吸附血红素,但1gCMC只得到70mg脱色球蛋白。Auto^[31]使用可溶性CMC来拆分牛血红蛋白,利用CMC稀液加入溶血的红细胞中,结合生成CMC-血红素复合物,经离心沉淀分离,其成本大大低于层析柱,但其缺点是脱色球蛋白中仍然有0.7%铁存在,即大约还有20%的血红素铁没有被拆分。杨严峻筛选确定了粗血红蛋白拆分剂CMS(羧甲基淀粉)^[6],其脱色效果优于CMC,并具有良好的乳化性和发泡性,可代替鸡蛋清作为食品的起泡剂。

3.5 水解脱色法

水解是目前最常用的方法,水解后珠蛋白质不仅与血红素分离了,而且蛋白质自身被降解,变成肽、氨基酸等,表现消化率得到很大提高,一般来说,水解分酸法水解^[32,32,33,34]和酶法水解。酶法水解比较彻底,常用的酶有胰酶^[35]、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶^[36]、微生物蛋白酶^[37]。单独用酶水解得到的水解产物并非完全脱色,有时还会

伴有苦味。所以在生产加工中一般需要辅以其它方法才能完全去除颜色。

3.6 综合脱色法

采用单一的脱色方法其效果不是很理想,随着分离技术的发展,多种脱色方法结合起来应用越来越多。酶水解—活性碳法是目前常被利用的一种综合脱色法^[38,39]。也有其它综合脱色法,如马美湖等人^[40]利用酸性丙酮和过氧化氢结合起来进行脱色处理,得到食用血粉蛋白质含量高达70.1%,血红素纯度含量达73.75%,其中含铁量达9%两种产品。G ómez-ju á rez等人^[41]采用木瓜蛋白酶水解牛血红细胞,然后超滤制备脱色蛋白液。

4 酶法水解脱色的研究状况

4.1 酶的选择

目前已报道的用于水解血液的酶有:胃蛋白酶^[42]、胰蛋白酶^[42]、木瓜蛋白酶^[42,43,44]、碱性蛋白酶^[45,38]、菠萝蛋白酶^[42,45]、中性蛋白酶^[38,43]等。由于酶具有专一性和特异性,因此不同酶作用于同一底物时,肽键断裂的部位不同,生成产物的特性也有差别。

4.2 酶法水解条件的选择

酶法水解蛋白的条件涉及到温度(T), pH值、酶底物浓度之比([E] / [S])、底物浓度([S])、水解时间(t)等。

大多数研究者在确定酶法水解条件时,均是根据酶的最适温度与最适pH值来确定反应的温度与pH值^[42]。例如:对于碱性蛋白酶来说,它的最适温度为55,最适pH值为8,所以应用此酶的研究者均选定此温度和pH值作为水解条件。对于底物浓度([S]),大多数研究者均选定小于10%,因为浓度太高,导致溶液的粘度大,不利于搅拌,而且底物浓度升高,在保持酶量不变的情况下,反应速度会降低,不利于水解。至于酶—底物浓度之比([E]/[S])、水解时间(t)则视酶的活力不同、所要得到产物的特性不同而不同。显然酶的用量越多、水解速度越快,水解越彻底;水解时间越长,所得产物短肽和氨基酸含量就越大,水解度(DH)就越高。但仍要考虑产品的成本,酶用量多,水解时间延长,势必会增加成本,所以一般研究者大多是根据自己所要的产品的特性来确定这两个因素,已见报道的最长水解时间达24小时,最短的90分钟^[45]。

大多数研究者在确定上述水解条件时,均未采用正交试验之类的设计,只是独立考虑每个因素后确定最终的水解反应条件。

4.3 酶解血液的营养评价及其利用

酶水解后的血液无论是营养价值,还是功能性质均比较好。对血红蛋白来说,酶水解后除去了血红素,同时使蛋白质降解成为易于消化吸收的短肽和氨基酸,无论是表观消化率还是真实消化率都大大提高,许多文章对酶解血液进行了营养评价^[39,46,47]。

国内一篇报道^[48]对酶解猪血纤维蛋白进行的营养评价结果表明:酶解猪血纤维蛋白所含8种人体必需氨基酸,占氨基酸总量的40%,化学评分(CS)为42,第一限制氨基酸为蛋氨酸,必需氨基酸指数(EAAI)为83,优于植物蛋白。动物试验结果表明:可促进幼年大鼠生长,蛋白质功效比值(PER)为2.44,可促进成年大鼠体重恢复,可维持成年大鼠氮平衡(167 ± 63.6mg/日),但不如酪蛋白。主要是因为色氨酸含量偏高,蛋氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸含量偏低,若能改善其氨基酸平衡,不失为优质氮源。

另一利用猪血酶法制备复合氨基酸营养液的研究^[49],试验结果表明:猪血酶解蛋白含有人体所需的八种必需氨基酸,肽的分子量分布在17500道尔顿以下,按照FAO/WHO建议的必须氨基酸模式进行调配后可得到的配方合理的氨基酸营养液。

天津市食品研究所^[50]采用生物酶工程技术、结晶等技术,特别是采用了内酰胺酶(白氨基酸酰胺酶、氨酰基脯、氨酸二酰胺酶),将猪血有效分离提取血浆粉、球蛋白及血红素,使猪血得到充分利用,新开发的5种产品(水解血浆粉、水解球蛋白粉、血红素、水解血浆口服液,血红素补铁生血片)符合国家产业发展趋势。

血液酶法水解后的产物可以应用到许多方面,有的将其注入大块肉中,或作为腌制卤水的配料,还可与血浆混合,用来生产诸如香肠和午餐肉之类食品^[15],也可用来作口服液,这些应用方法比较常见。有的在制造干酪过程中添加一部分,从而使组织状态得到改善,还有的将水解液作为微生物培养基,提供氮源。血液蛋白水解物不仅仅限于这些方面的应用,它的应用仍有待继续开发。

(下转第48页)

菌落形态: MSA 固体培养基, 30 培养 48h, 菌落成小圆点状, 有光泽, 为乳白色。

ALx3 特征:

个体形态特征: 球状, 成堆排列、存在四联体状排列。

菌落形态: MSA 固体培养基, 30 培养 48h, 菌落成圆点凸起, 表面光滑湿润, 有光泽, 为白色菌落。

2) 药敏性实验^[4]: 将 AFx5、ALx3 菌株通过对吡喃唑酮和溶葡萄球菌素敏感性试验, 得出 AFx5 为微球菌, ALx3 为葡萄球菌。对 ALx3 进行凝固酶反应, 得出 ALx3 凝固酶反应阴性。

3) A 类菌生理生化特性 (见上表 7)

根据 AFx5、ALx3 表型特性和生理生化特性, 参考《常见细菌系统鉴定手册》, 初步鉴定 AFx5 为变异微球菌, ALx3 为肉糖葡萄球菌。

3 结论

1) 所筛选的乳酸菌都能耐受 4% 和 6%NaCl 和 150mg/kg 亚硝酸盐, 他们具有很好的发酵特性: 不产粘液; 能使牛奶酸凝; 葡萄糖发酵不产 CO₂; 不生成 H₂S; 不产氨; 生长过程中不产 H₂O₂; 不具有氨基酸脱羧能力等, 并且具有很好的产酸能力,

能抑制大肠杆菌的生长。

2) 所筛选得到的微球菌和肉葡萄球菌, 也具有很好的发酵特性, 它们具有很强的硝酸盐还原能力, 同时具有很好蛋白酶和脂肪酶的活性。

参考文献

- [1] 周德庆. 微生物学实验手册. 上海: 上海科学技术出版社, 1986.
- [2] 郝林. 食品微生物学实验技术. 中国农业出版社 2001.5.
- [3] 罗欣等. 发酵香肠中的菌种分离及鉴定. 食品与发酵工业. 2003, Vol(29) No.3 5~8.
- [4] 王永霞, 牛天贵. 肉品混合发酵剂的筛选及应用研究. 食品科技. 2004, (8) 34~38.
- [5] 凌代文, 东修珠. 乳酸细菌分类鉴定及实验方法 [J]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999.
- [7] Cornejo J. CharacteristicsofMicrococccaceaeastainsselectedaspotentialstarterculturesinSpanishdry-curedham processes. i. Fastprocess, Fleischwirtschaft 71, 66~68.
- [8] Peparnanoli E, Kotzekidou P. characterizationofMicrococccaceaeisolatedfromdryfermented sausage[J].

(上接第 36 页)

参考文献

- [1] 张学舜. 家畜血液综合利用的研究 [J]. 饲料工业. 1993, 14 (3): 14.
- [2] YoungRH, LawrieRA. 1974. Utilizationofedibleprotein frommeat industryby-productandwaste. Thespinningof bloodplasma proteins. JFood Technol 9(2), 171~177.
- [3] P.K. Mandal, V.K. Rao, B.N. Kowale, U.K. Pal. Utilizationofserumproteinisolatefrombuffalobloodinbuffalo meat sausages. J. Food Sci. Technol., 2000 37(5), 484~487.
- [4] Guzman JC, Mcmillin KW, Bidner TD, Dugas-Sims S, GodberJS. 1995. Texture colorandsensorycharacteristics ofgroundbeefpattiescontainingbovinebloodproteins. J. Food Sci. 60(4), 657~660.
- [5] 郭先锋. 发酵动物血饲料的研制 [J]. 粮食科技与经济, 1996, (3).
- [6] 杨严俊. 猪血中脱色球蛋白的制备及其功能性

- 研究 [J]. 无锡轻工大学学报. 1997(2): 15~20.
- [7] 刘昭明, 卢寅泉, 芮汉明. 利用动物血开发氨基酸营养液的酶解条件研究 [J]. 广州食品工业科技. 1994(6): 26~28.
- [8] 赵法仍等. 酶解猪血纤维蛋白的营养评价 [J]. 营养学报. 1984, 6 (1): 27.
- [9] 穆国春, 李志钊, 葛玲. 亟待开发利用的家畜血液资源 [J]. 食品研究与开发. 1999(6): 38~40.
- [10] 阮进惠等. 猪血血浆与血球蛋白质之分离回收及其功能性质 [J]. 食品科学(台), 1973, 11 (3, 4): 178.
- [11] 吴世林译, 谈谈牛血和猪血的利用武汉食品科技 [J]. 1981. (1): 40.
- [12] 马美湖. 血红蛋白脱色技术及其在食品中的应用 [J]. 农牧产品开发. 1996(10): 3~6.
- [13] 张爱华. 血红素的应用研究及生化机理探讨 [J]. 药学进展. 1992(1): 44~48.
- [14] 马美湖主编. 现代畜产品加工学. 湖南科学技术出版社. 第二版. 1998, 11.