

血液タンパク質の食品への 利用に関する研究

鮫島邦彦*・荒川千恵*
岡 孝圭*・山本克博*

Studies on Utilization of Blood
Proteins as a Food

Kunihiro SAMEJIMA*, Chie ARAKAWA*, Takayoshi OKA*
and Katsuhiro YAMAMOTO*
(May, 1985)

緒 論

食肉生産のためにと殺される肉用家畜から通常生体重の約4~5%の血液が流出する。わが国の食肉生産量は枝肉量として、年間300万トン以上であるから流出血液は膨大な量になる。しかしながら、血液そのものは、肥料、飼料、食用などに利用されているものの、その色の強烈さのために量的に限られていて、そのほとんどが回収されることなく排水とともに廃棄されている。

血液は“液状肉”ともいわれる位豊富なタンパク質(18%)を含み、しかもそのタンパク質は極めて高い栄養価値を持っている^{2,15,16)}。血液はまた比較的簡単に赤血球画分とプラズマ画分に分別することが出来ることから、これらそれぞれの画分の食品への利用を目的とした研究が最近多くなってきた。たとえばプラズマタンパク質はゲル化能力や保水力^{2,4,7)}および乳化能力^{3,6,11,14,16)}にも優れているので、品質改良や增量を目的として種々の肉製品への添加効果が検討されている^{1,10,12)}。このように食品素材として価値のあるプラズマタンパク質をより有効に利用するには、まず現方法よりも簡便で安全(衛生的あるいは化学物質の混在にたいしても)な方法で調製する必要があるし、その食品化学的あるいは機能的性質も明らかにすることが大切である。

それ故に、本実験では、食肉処理場で採集した豚血液に抗凝固剤を使用することなく、物理的攪拌のみにより血液凝固物質(フィブリン)を除き、ただちに遠心分離して上澄の透

* 農学科、肉製品製造学研究室

Laboratory of Meat Research, Department of Dairy Science, The College of Dairying,
Ebetsu, Hokkaido 069, Japan

明部分(血清タンパク質)を試料として使用した。血清タンパク質の温度に対する挙動は濁度、溶解度変化によって調査し、合わせて加熱によって生じるゲルの強度を測定した。また、モデルソーセージを作製し、これに血清タンパク質の添加量を変えて加え、ソーセージの物性について調べ、血清タンパク質の添加適量についても検討した。

実験材料および実験方法

血清タンパク質の調製

豚の新鮮な血液を採取し、ただちに搅拌しフィブリンを除去する。その後、4°Cで4,000 rpm、20分間遠心分離して血球部分を除き、さらに4°Cで10,000 rpm、20分遠心分離して上澄を血清タンパク質試料とした。この様に調製した血清タンパク質は通常約70 mg/mlの濃度を示し、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動でその成分を調べると、主成分としてアルブミンがほとんどで、その他量的には少ないが α -、 β -、 γ -グロブリンが存在していた。

血清タンパク質の加熱による濁度変化と溶解度変化

塩濃度やpH条件を変えた試料を所定の温度でそれぞれ20分間加熱し、ただちに水冷して、室温に戻した後濁度を660 nmの吸光度で測定した。濁度測定後、試料を40,000 rpmで20分間遠心分離して上澄を280 nmの吸光度で測定して溶解度とした。

加熱ゲル強度の測定

血清タンパク質の加熱ゲル強度は帯型粘度計¹⁷⁾を使用し、加熱温度を変え、各温度で20分間保持して測定した。また塩濃度に対するゲル強度変化は70°Cで20分間保持した後に判定した。ゲル強度はそれぞれ剛性率として求めた。

加熱ゲルの微細構造観察

0.2 Mあるいは0.6 MKCl pH 6.0で60 mg/mlの濃度の血清タンパク質の0.5 mlを70°Cあるいは90°Cでそれぞれ20分間加熱後形成したゲルを室温で注意深く小片に切断し、2.5%グルタルアルデヒドおよび2%オスミウム酸で二重固定した。固定後段階的にエタノールで脱水しアミルアセテートで置換してから臨界点乾燥を行った。乾燥した試料は蒸着後日本電子JSM-T 200型走査型電子顕微鏡で観察した。

モデルソーセージの作製とその物性試験

市販の豚肉を2.5%食塩、0.1%硝酸カリ、0.01%亜硝酸ナトリウムで一週間2°Cで塩漬して、モデルソーセージの原料とした。ソーセージの配合は水10%あるいはこれに血清タンパク質溶液を10~50%、豚背脂肪10%、デン粉3%とし残りを豚ひき肉とした。これらの原料を所定の方法でカッティングしソーセージエマルジョンを作り、直径3.5 cm長さ

20 cm のケーシングに詰め所定の温度 ($70, 80, 90^{\circ}\text{C}$) で 40 分間加熱して試験試料とした。なおリン酸塩は市販の重合リン酸塩をそれぞれに 0.1% 添加した。

ソーセージの破断強度、凝集性、弾力性、結着性は飯尾電機のネオ・レオロメーター NR-330 型で測定した。

結果と考察

豚血液から調製した血清タンパク質 (アルブミン, α -, β -, γ -グロブリンを含有している) 約 70 mg/ml を、試験管に移し加熱すると乳白色を呈し無臭のゲルが形成された。

一般に、タンパク質溶液を加熱すると、溶液中に分散しているタンパク質が会合、集合、凝固といわれるタンパク質間相互作用により次第に大きな分子量をもった複合体を形成し、適当な条件下であれば三次元的に連続した網目構造を形成しゲル化する。したがってゲル化反応を捉えるために、稀薄タンパク質溶液では濁度変化を調べるのが簡便で好都合である。

Fig. 1 に pH に関する血清タンパク質の加熱後の濁度と溶解度変化を示した。濁度は pH 6.0 近辺で極大を示し、それ以上の pH では徐々に低下した。また溶解度変化は濁度に対応した変化を示している。一方プラズマタンパク質の機能特性は pH に依存していることが Tybor ら¹⁵⁾によって報告されている。同様に Hickson ら⁷⁾は、卵白アルブミンと

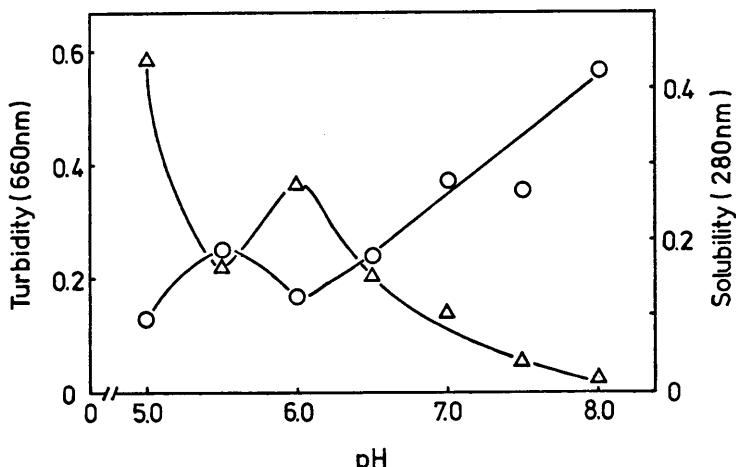


Fig. 1. Changes in turbidity (\triangle) and solubility (\circ) characteristics of blood serum proteins on heating to 70°C for 20 min in 0.6 M KCl at varying pH values.

Protein samples contained 0.5 mg/ml, 20 mM acetate (pH 5.0-5.5) and 20 mM Na-phosphate buffer (5.6-8.0).

プラズマタンパク質の pH に関するゲル形成能力を比較し、ゲル形成の至適 pH が卵白で 9.0 であったのに対し、プラズマタンパク質のそれは 7.0 で、プラズマタンパク質のゲル強度が卵白アルブミンのそれよりも優れていることを報告した。

本実験結果で示した凝集体形成の至適 pH と Hickson ら⁷⁾の粘度から求めたゲル強度の至適 pH との間にわずかな差 (pH ユニットで 1) のあることが指摘される。この違いの説明として、今後詳細な検討が必要であるが今のところ次に示すいくつかの原因を考えられる。すなわち、①タンパク質試料の調製方法の差による構成成分の違い、②加熱条件の差 (温度、タンパク質濃度、イオン強度等)、③測定方法の違いなどである。Fig. 1 の結果から、pH 6.0 の条件を以後の実験条件として選ぶことにした。これは丁度骨格筋ミオシンすでに報告されているゲル強度の至適 pH^{8,9,13,16)} と一致しているので、塩濃度を一定にして (0.6 M KCl) 実験した。

Fig. 2 に血清タンパク質の加熱温度に対する濁度変化と溶解度変化を示した。濁度変化は約 50°C 近辺から上昇し始め、60 から 90°C にかけてその変化は急激に上昇した。90°C 以上 100°Cまでの加熱でも濁度の上昇が観察された。またこの濁度変化は溶解度変化とよく対応していることが明らかである。同じような条件下で調べた筋肉タンパク質ミオシンのゲル形成能を代表する重鎖部分の濁度変化は、30°Cで上昇が観察され約 60°C 近辺で最大となった¹³⁾。このことは血清タンパク質がミオシン重鎖よりも熱安定性に優れていることを表わしている。

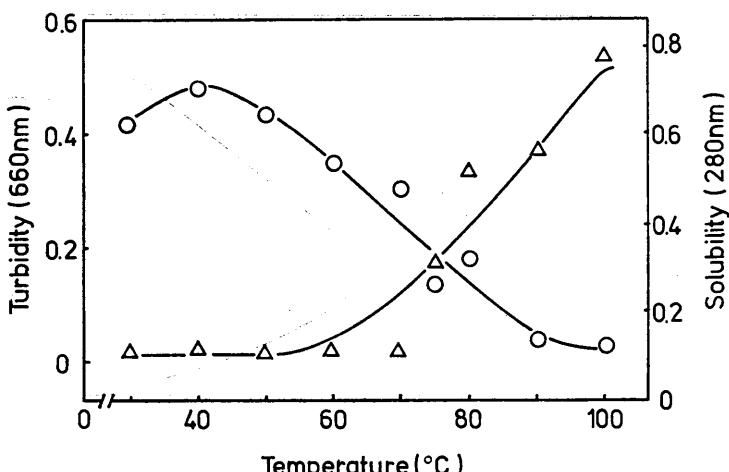


Fig. 2. Changes in turbidity (\triangle) and solubility (\circ) of blood serum proteins as a function of temperature.

Protein solution (0.5 mg/ml) were maintained constant at pH 6.0 (20 mM Na-phosphate) and 0.6 M KCl. Samples were incubated for 20 min at each temperatures.

次に、プラズマタンパク質のゲル強度はイオン強度に依存しているとの報告¹⁷⁾があるのを、塩濃度を変えて濁度と溶解度を測定し、その結果を Fig. 3 に示した。pH を一定(6.0)に保ち、種々の塩濃度条件で加熱すると、濁度は 0.1 M KCl の時に最大値を示し、塩濃度

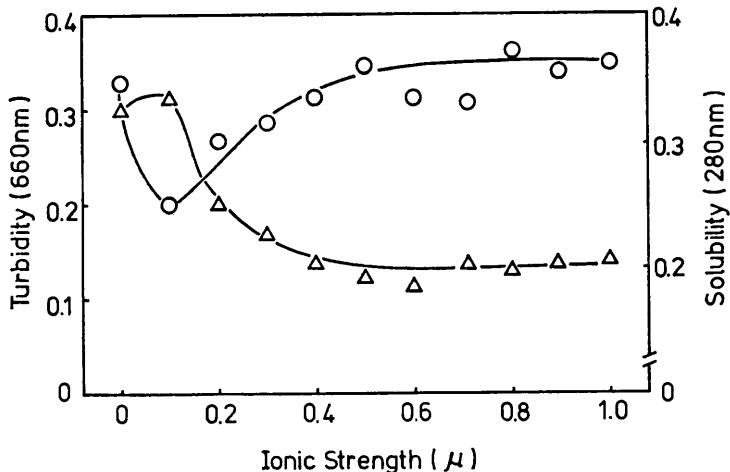


Fig. 3. Changes in turbidity (\triangle) and solubility (\circ) characteristics of blood serum proteins on heating to 70°C for 20 min at pH 6.0 in varying KCl concentrations.

Protein samples contained 0.5 mg/ml.

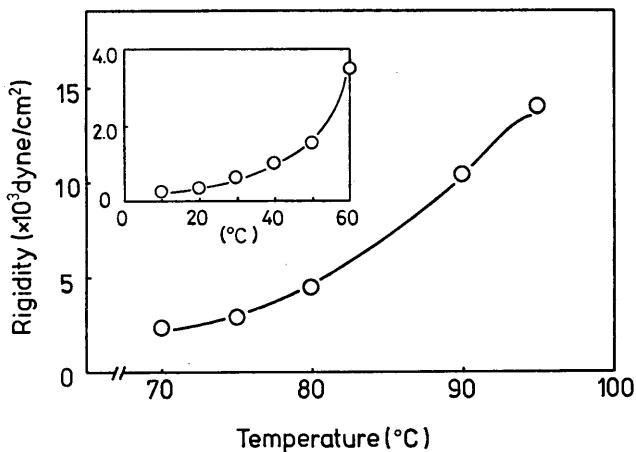


Fig. 4. Changes in gel strength (rigidity) of blood serum proteins as a function of temperature.

Protein solutions (60 mg/ml) dissolved in 0.2M KCl and 20 mM Na-phosphate buffer (pH 6.0) were incubated for 20 min at each temperatures.

(Inset) 70 mg/ml of protein solutions were incubated under the same conditions as described above.

度の増大につれて徐々に減少した。これ等の変化は溶解度変化によく対応している。低イオン強度での凝集体形成の促進は、多分タンパク質分子の negative portion に K^+ が結合するために分子間反発力が減少して増大されるのであろうと考えられる。

次に血清タンパク質溶液の加熱によるゲル化現象を温度上昇にともなうゲル強度の変化で調べてみると、Fig. 4 に示すような結果が得られた。内挿図は加熱温度 60°C 以下のゲル強度変化を表わしているが 70°C 以上の加熱での実験よりも実験に供した試料のタンパク質濃度が高いので得られたこれらの結果を単純に比較することは出来ないが、温度に対するゲル強度の変化傾向は Fig. 2 で示した濁度変化とよく似ている。濁度変化と同じようにゲル強度は 60°C 以上の加熱でも増大していて、これまで得られた筋肉タンパク質での実験結果^{8,13,17,18)}と異っていた。また、ゲル強度が 40°C 近辺から上昇し始めているのに対して、濁度変化の開始温度は約 10°C 高温度側に移動している (Fig. 2)。これは、多分両実験に使用したタンパク質濃度の差によるものであろうと考えられる (ゲル強度測定では濁度測定の 120~140 倍の濃度)。すなわち、高タンパク質濃度下では、稀薄溶液よりも分子間相互作用が起り易いので加熱により凝集反応が促進されるのであろう。

Fig. 5 は塩濃度に対する試料タンパク質溶液の加熱ゲル強度変化を表わしている。最大ゲル強度は 0.2 M KCl で得られ塩濃度の増大につれてゲル強度は減少した。塩濃度上昇にともなう濁度減少 (Fig. 3) とゲル強度の減少 (Fig. 5) については、Hermansson と Åkesson⁵⁾による、高塩濃度でタンパク質一溶媒間相互作用の增大によってタンパク質ゲル形成は

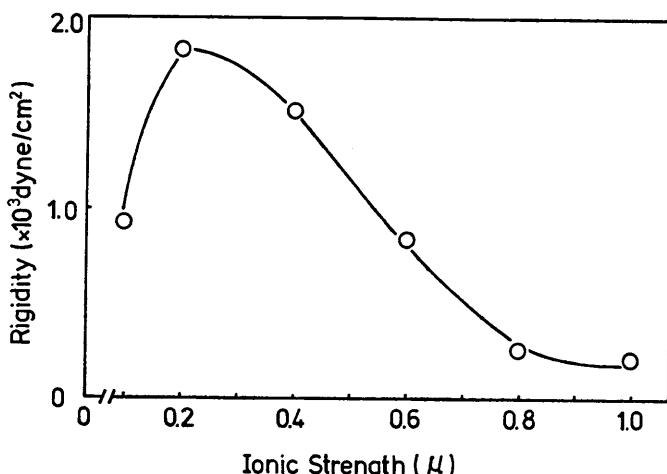


Fig. 5. Changes in gel strength (rigidity) of blood serum proteins as a function of ionic strength, when pH was kept constant at pH 6.0.

Protein samples (50 mg/ml) were incubated for 20 min at 70°C.

弱められるとの報告によって説明出来るかもしれない。濁度とゲル強度の減少傾向 (Fig. 3 と 5) は良く似ているが、それぞれの最大変化量を示す塩濃度は一致していない。これは、多分実験に供したタンパク質濃度の差によるものと考えられる。

加熱によって形成するタンパク質試料のゲル微細構造を走査型電子顕微鏡で観察した結果を Fig. 6 に示した。0.6 M KCl, 70°C で加熱したゲル (a) と 90°C で加熱したゲル (c) を比較すると、90°C で加熱したゲルはその構造が一定の粒子を形成していて (a) よりもしっかりとし、ゲル強度の強いことを示唆している。同様の結果は、0.2 M KCl における 70°C (b) あるいは 90°C (d) 加熱ゲルでも観察された。また、塩濃度の違いはゲル強度に大きな影響を及ぼすので (Fig. 5) 加熱ゲルの微細構造におよぼす塩濃度の影響を調べた。しかし 0.6 M KCl ((a) および, (c) の場合) と 0.2 M KCl ((b) および (d)) で明らかな違いを観察することは出来なかった。

これらの実験結果は血清タンパク質溶液が単独でも適当な条件さえあれば (タンパク質濃度、加熱温度、塩濃度、pH 等), 簡単にゲル化現象を起すことを、明らかに示している。

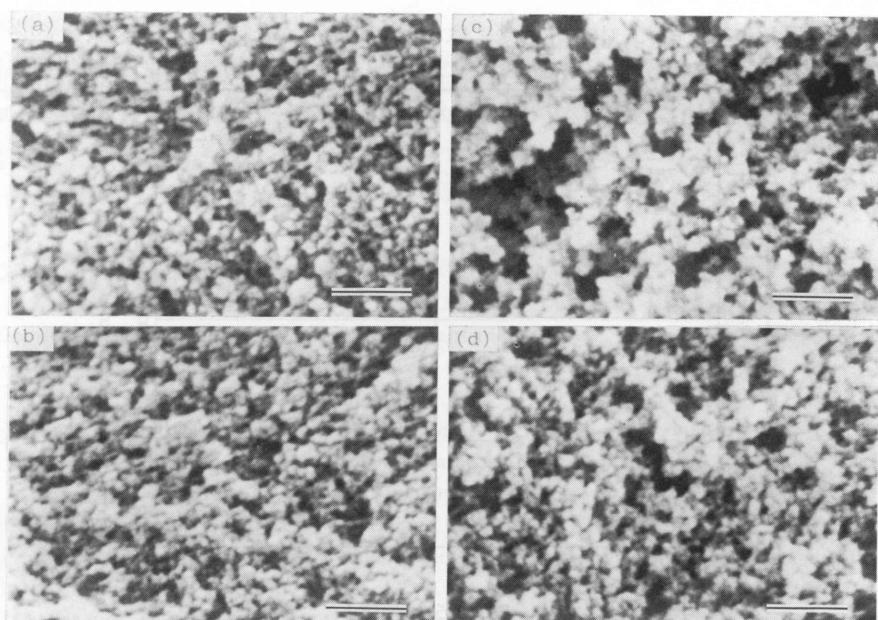


Fig. 6. Scanning electron micrographs of heat-induced gels of blood serum proteins at pH 6.0. (Bar length is 2μ).

- (a) A gel formed at 70°C and 0.6 M KCl;
- (b) A gel formed at 70°C and 0.2 M KCl;
- (c) A gel formed at 90°C and 0.6 M KCl;
- (d) A gel formed at 90°C and 0.2 M KCl.

すなわち、このタンパク質資源は食品素材としてかなり有望であり有効な利用方法の検討が必要である。

そこで本実験では、このタンパク質をソーセージに添加することにより品質改良的な効果が得られるかどうか検討した。ソーセージのカッティング操作時に、添加する水の代用として、原料肉の0~50%までの割合で血清タンパク質(約70 mg/mlのタンパク質濃度溶液)をそれぞれ加えてモデルソーセージを作製した。ソーセージの品質は破断強度(a)、凝集性(b)、弾力性(c)および結着性(d)で判定しFig. 7に示した。70°Cで加熱した後に判定した、これら4種類の測定結果はいずれの場合も添加した血清タンパク質量20%までは、水を10%添加した対照区に比較して良好な結果を示している。Fig. 1と4の結果から加熱温度を高くすると血清タンパク質の凝集性が高められることが示されているので80°Cおよび90°Cでソーセージを加熱した。その結果は予想したように添加量30%でも、破断強度(a)と結着性(d)は対照区より改良された物性を示した。

しかし、90°Cといった高温は通常畜肉製品にとっては、かえって組織が硬くなったり、クッキングロスが多くなったり、脂肪が溶けるといった弊害が考えられるので実用的ではないように思われる。また、本実験結果には示していないが、血清タンパク質を30%以上

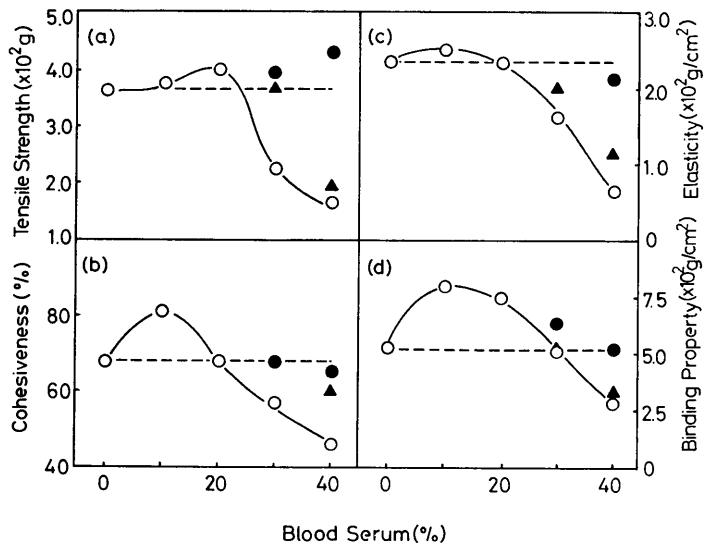


Fig. 7. Effects of the incorporated blood serum proteins on the rheological properties of a model sausage.

(a) Tensile strength, (b) Cohesiveness, (c) Elasticity, (d) Binding properties.

Dotted lines in each Figures expressed the values of control sausage (10% water and 0% blood serum proteins).

○ : 70°C ; ▲ : 80°C ; ● : 90°C.

加えるとモデルソーセージの色は好ましい赤色を失い、色調として満足出来るものではなかった。これらの結果は血清タンパク質をソーセージの原料として混入する時に約20%までの添加であれば、従来の製造方法でも品質の改良あるいは增量効果が期待出来ることを示している。

要 約

と畜場で得られる豚の血液に抗凝固剤を使用することなく、搅拌によりフィブリンを除き、遠心分離により上澄の血清タンパク質を調製した。血清タンパク質の食品への利用を検討するために加熱に対する性質を調べた。

このタンパク質は低イオン強度(0.2 MKCl)で最大ゲル強度を示し、その変化は濁度変化とほぼ一致していた。また、加熱温度の上昇につれて、ゲル強度は次第に上昇し、60~80°Cで最も急激な変化が観察され、90°Cでも増大が続いた。温度上昇にともなう濁度変化はゲル強度変化と大体一致しており、このタンパク質がかなり温度に対して安定であることを示している。また走査型電子顕微鏡によるゲルの微細構造の観察結果はゲル強度の測定結果によく対応していた。

血清タンパク質をソーセージに添加したところ、破断強度、凝集性、弾力性、接着性いずれの測定値も、約20%の添加までは無添加製品に比較して品質が改良されることを示した。

文 献

- 1) Caldironi, H. A. and H. W. Ockerman, 1982. Incorporation of blood proteins into sausage. *J. Food Sci.*, **47**: 405-408.
- 2) Del Rio De Reys, M. T. E., S. M. Constantinides, V. C. Sgarbieri and A. A. El-Dash, 1980. Chicken blood plasma proteins: Physicochemical, nutritional and functional properties. *J. Food Sci.*, **45**: 17-20.
- 3) Fretheim, K. and S. A. Gumpen, 1978. Factors influencing the denaturation and gelling of bovine plasma proteins. 24th European Meeting of Meat Research Workers, September 4-8, Kulmbach, West Germany.
- 4) Harper, J. P., D. A. Suter, C. W. Dill and E. R. Jones, 1978. Effects of heat treatment and protein concentration on the rheology of bovine plasma protein suspensions. *J. Food Sci.*, **43**: 1204-1209.
- 5) Hermansson, A. M. and C. Åkesson, 1975. Functional Properties of added proteins correlated with properties of meat systems. Effect of salt on water-binding properties of model meat systems. *J. Food Sci.*, **40**: 603-610.
- 6) Hermansson, A. M. and M. Lucisano, 1982. Gel characteristics-waterbinding properties of blood plasma gels and methodological aspects on the waterbinding of gel systems. *J. Food Sci.*, **47**: 1955-1959.
- 7) Hickson, D. W., C. W. Dill, R. G. Morgan, D. A. Suter and Z. L. Carpenter, 1980. A

- comparison of heat-induced gel strengths of bovine plasma and egg albumen proteins. *J. Animal Sci.*, **51**: 69-73.
- 8) Ishioroshi, M., K. Samejima and Y. Yasui, 1979. Heat-induced gelation of myosin: Factors of pH and salt concentrations. *J. Food. Sci.* **44**: 1280-1284.
 - 9) Ishioroshi, M., K. Samejima and T. Yasui, 1983. Heat-induced gelation of myosin filaments at a low salt concentration. *Agric. Biol. Chem.*, **47**: 2809-2816.
 - 10) 高坂和久・小沢総一郎, 1979. 牛, 豚血液の利用をめぐって. *食品工業*, **22**: 28-32.
 - 11) Marshall, W. H., T. R. Dutson, Z. L. Carpenter and G. C. Smith, 1975. A simple method for emulsion end-point determinations. *J. Food Sci.*, **40**: 896-897.
 - 12) 中村豊郎・沼田正寛・吉野裕一・糸沢きみ子, 1983. 乾燥プラズマの食肉製品への応用. *日食工誌*, **30**: 283-289.
 - 13) Samejima, K., H. Yamauchi, A. Asghar and T. Yasui, 1984. Role of myosin heavy chains from rabbit skeletal muscle in the heat-induced gelation mechanism. *Agric. Biol. Chem.*, **48**: 2225-2232.
 - 14) Satterlee, L. D., B. Free and E. Levin, 1973. Utilization of high protein tissue powders as a binder/extender in meat emulsions. *J. Food Sci.*, **38**: 306-309.
 - 15) Tybor, P. T., C. W. Dill and W. A. Landmann, 1973. Effect of decolorization and lactose incorporation on the emulsification capacity of spray-dried blood protein concentrates. *J. Food Sci.*, **38**: 4-6.
 - 16) Tybor, P. T., C. W. Dill and W. A. Landmann, 1975. Functional properties of proteins isolated from bovine blood by a continuous pilot process. *J. Food Sci.*, **40**: 155-159.
 - 17) Yasui, T., M. Ishioroshi, H. Nakano and K. Samejima, 1979. Changes in shear modulus, ultrastructure and spin-spin relaxation times of water associated with heat-induced gelation of myosin. *J. Food Sci.*, **44**: 1201-1204.
 - 18) Yasui, T., M. Ishioroshi and K. Samejima, 1980. Heat-induced gelation of myosin in the presence of actin. *J. Food Biochem.*, **4**: 61-78.

Summary

Blood serum proteins were prepared freshly from pig blood collected at a local abattoir. Some functional properties of the proteins were studied in model system. The results indicated that solubility, turbidity and gel strength (rigidity) of the proteins were highly influenced by pH, ionic strength and temperature.

For instance, the heat-induced gelation of the proteins was optimally developed at 0.2 M KCl and at pH 6.0. The rigidity of the protein increased as the temperature rises. However, the change was very small below 30°C. A conspicuous increase in the rigidity was seen between 40°C and 90°C, and the rigidity value rose even over 90°C. These changes corresponded fairly to the results of the solubility and turbidity of the proteins. The results of scanning electron microscopic observations of heat-set gels of the proteins were consistent with those of rigidity.

The possibility of introducing blood serum proteins as ingredients to improve the quality of cooked sausages was evaluated. The results indicated that addition of blood serum proteins up to 20% was effective for the improvement of rheological properties of model sausage.