



Rapport

Litteraturopsamling

Nye blodprodukter med bedre funktionelle egenskaber

Margit D. Aaslyng

17. december 2015
Proj.nr. 2003036
Version 1
MDAG/MT

Sammendrag

Baggrund

Blod er en næringsrig råvare med proteiner af høj kvalitet på niveau med kød og samtidig med et højt jernindhold. Det er derfor af interesse at udnytte blod til såvel kød og kødprodukter som til non-meatprodukter, hvor der i dag anvendes andre proteinkilder f.eks. valle og soja, der kan være allergifremkaldende.

Ernæringsmæssig effekt

Indholdet af aminosyrer i blod og blodprodukter er afhængig af fraktion, men er generelt højt i essentielle aminosyrer bortset fra Ile. Samtidig er indholdet af Leu, Trp og Tyr, som man ved har betydning i relation til mæthed, ligeledes højt, hvorfor produkter med blod – eller fraktioner af blod tilsat – kan forventes at have en høj mæthedsværdi. Endelig er det vist, at produkter tilsat hæmoglobin har en positiv effekt hos børn og unge med anæmi.

Funktionelle egenskaber

De funktionelle egenskaber afhænger af blodproteinfraktionen. Især globin, men også hæmoglobin har gode *emulgerende* egenskaber, der er fuldt på højde med æg og casein. Effekten er dog pH-afhængig og varierer mellem pH 4,5 og pH 8 afhængig af fraktion. De *skumdannende* egenskaber er ligeledes på højde med æggehviteprotein. Her er ligeledes en pH-effekt, der varierer med fraktion mellem pH 4,5 og pH 8. Der er også *gel-dannende* egenskaber i blodprotein, hvor pH 4-5 har vist mindre gelstyrke end ved højere pH-værdier, op til pH 7. Endelig er blodprotein anvendt som fedtstatter. Her giver globinfraktionen en bedre funktionel kvalitet end plasmafraktionen.

Både i nativ tilstand og efter hydrolyse har helblod såvel som hæmoglobinfraktionen en smagsmæssig udfordring, idet de har en bitter, metallisk smag, der skal maskeres før anvendelse.

Perspektivering

Blodprotein har således både ernæringsmæssigt og funktionelt gode egenskaber, der dog kræver, at smagen maskeres eller fjernes, før det kan anvendes i højere koncentrationer.

1. Introduktion

Protein er et vigtigt næringsstof. En hastigt voksende verdensbefolkning – og dermed relativt faldende tilgængeligt protein af høj kvalitet – øger behovet for nye proteinressourcer. Der er derfor et behov for at nytænke kilder til protein.

Slagtning af svin genererer væsentlige mængder blod, der er en ressource med et proteinindhold af høj biologisk værdi. Samtidig kan blod på svineslagterier være en udfordring, da det kan udgøre en stor miljøbelastning i forbindelse med destruktion. Udnyttes blodet til fødevarer, vil det kunne give en indtjening for slagteriet og samtidig reducere udgifter til destruktion.

Blod består af serum, plasma og røde blodceller (se figur 1). De røde blodceller udgør 40% af blodet. Hæmoglobin udgør 80% af proteinindholdet i blod. Det høje jern- og proteinindhold såvel som dets funktionelle egenskaber gør hæmoglobin interessant som en potentiel fødevarere ingrediens, forudsat at farvestabilitet og afsmag ikke påvirker produktet negativt.

Enzymatisk hydrolyse har været anvendt siden 1940'erne til nedbrydning af protein før anvendelse som fødevarere ingrediens. Hydrolysen nedbryder proteinet til dets mindre byggestene nemlig peptider og aminosyrer, hvorved opløseligheden øges (Qian, Baohua, Youling & Xiufang, 2010). I tarmen er det aminosyrer og mindre peptider, der optages, og der er derfor en hypotese om, at peptider har en højere ernæringsmæssig værdi end det intakte protein, der skal nedbrydes før absorption. Samtidig er visse peptider dog bitre (Aubes-Dufau & Combes, 1997), hvilket i stor udstrækning er den primære grund til den vanskelige kommercielle udbredelse af hydrolyseret blodprotein.

Formål

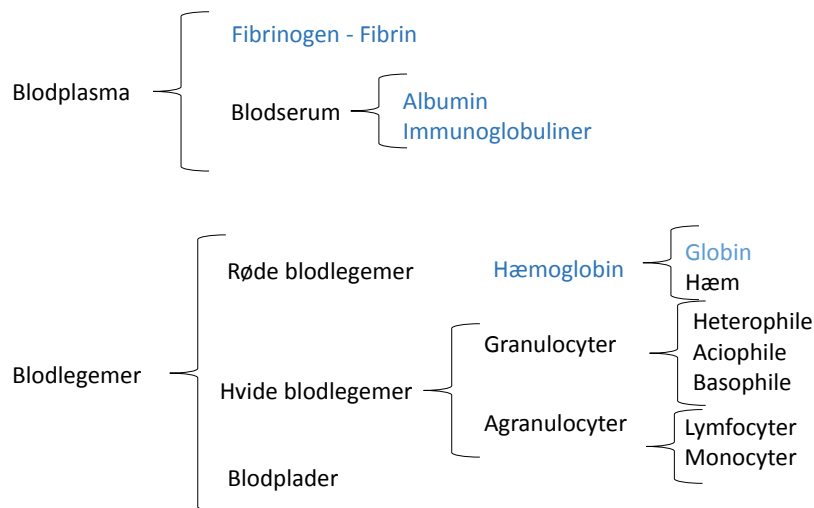
Formålet med dette litteratursammendrag er at få et overblik over studier, der har undersøgt sammensætningen af dyreblood, fortrinsvist svin og okse, processeringsparametre ved udnyttelse af blod samt blodets egenskaber som fødevarere ingrediens i forhold til ernæringsmæssige og funktionelle kvaliteter.

2. Sammensætning af blod

Hos et slagtesvin kan der ved slagtning opsamles omkring 4,1% blod svarende til 3-4 l ved en slagtevægt omkring 75-95 kg. Hos kalve/ungtyre er det tilsvarende tal 4,6% (DMRI, 1992, intern rapport). Blod har et proteinindhold på omkring 17-18% (Duarte, Carvalho-Simoes & Sgarbieri, 1999; Ofori & Hsieh, 2012), hvilket svarer til proteinindholdet i kød. Derudover indeholder det ca. 81% vand samt lidt fedt, kulhydrater og mineraler (Duarte et al., 1999). Disse tal er fra okseblod, men

det må forventes, at sammensætningen er omtrentligt den samme uanset dyreart.

Blodet kan deles op i plasma, der er flydende og udgør 60-65% af blodets volumen, og blodlegemer, der er faste bestanddele og udgør 35-40% af blodet (se figur 1) (Hansen, 1982).



Figur 1. Blodets bestanddele. Sort angiver fraktioner af blod, blå angiver proteiner. (Hansen, 1982).

Blodplasma Blodplasma er en lys, gullig, proteinholdig væske, der endvidere indeholder en række mineraler. Proteinindholdet er 7,9% og består primært af albumin (3,3%), immunoglobuliner (4,2%) og fibrinogen (0,4%) (Duarte et al., 1999). Af disse er især fibrinogen interessant for sine teksturmæssige egenskaber, idet det ved aktivering af et enzymesystem omdannes til fibrin, der danner et netværk og dermed kan 'klistre' kød sammen. Dette enzymesystem findes i blodpladerne og aktiveres ved et forhøjet niveau af Ca^{2+} (Hansen, 1982).

Blodlegemer De røde blodlegemer er antalsmæssigt den største bestanddel af cellefraktionen i blodet. Ifølge Wikipedia er der omkring 5.000.000 røde blodlegemer i 1 μ l humant blod, mens der kun er 4.000-11.000 hvide blodlegemer og 200.000-500.000 blodplader. Hvordan fordelingen er vægtmæssigt, er ikke oplyst, men det må forventes, at de røde blodlegemer også vægtmæssigt udgør den største andel af cellefraktionen. (<http://en.wikipedia.org/wiki/Blood#Cells>).

Hæmoglobin De røde blodlegemer er således den vigtigste fraktion af de faste bestanddele i denne blodfraktion. De består primært af proteinet hæmoglobin. Hæmoglobin indeholder et jernatom, der kan binde ilt, og er således ansvarlig for transport af ilt rundt i kroppen.

Hæmoglobin består af 4 subunits. Hver subunit består af et peptid – globin – og en hæmgruppe. Hæmgruppen indeholder et jernatom i midten, hvortil der er bundet en aminosyre, histidin. Ilt bindes til hæmoglobin ved at bindes til jernionen. Hvert hæmoglobinmolekyle kan således have 4 iltatomer bundet.

Jernatomet giver blodet den røde farve, der ved visse anvendelser kan give udfordringer. Endvidere er det årsag til metalsmag i blod. Det er dog muligt at videre-processere hæmoglobin, således at det deles i hæm-komplekset med jernatomet og en globindel, der indeholder proteinet (Duarte et al., 1999). Globindelen kaldes ofte for affarvet blod (Ofori & Hsieh, 2012).

Aminosyresammensætning Den biologiske værdi af proteiner afhænger af deres aminosyresammensætning. Denne fremgår af tabel 1 for de forskellige fraktioner af okseblod samt for svineblod opdelt i cellefraktion henholdsvis plasma.

Plasma er den fraktion, der har den bedste biologiske værdi, idet den eneste essentielle aminosyre, der er i lavere koncentration end det humane behov, er Met. Met er til gengæld i høj koncentration i hæm-komplekset.

Globinisolater af okseblod, der er dannet ved at fjerne hæm-gruppen fra hæmoglobin, er lav i indhold af svovlholdige aminosyrer samt Ile, mens den samlede fraktion af blodlegemer endvidere også er lav i indholdet af Trp. Hæm-komplekset er tilsvarende lavt i Ile og Trp, men ikke i S-holdige aminosyrer. For at øge den biologiske værdi af proteinet vil det derfor være relevant enten at supplere med plasmaprotein eller andre f.eks. vegetabiliske proteinkilder, der ofte er lav i Lys, som er i høj koncentration i hæm og globin (Ofori & Hsieh, 2012).

I svineblod vil det primært være de svovlholdige aminosyrer og Ile, der er i lavere koncentration end det humane behov. Der mangler dokumentation for sammensætningen af aminosyrer i globin og hæm for svineblod, men den må formodes ikke at adskille sig væsentligt fra sammensætning i okseblod. Dette vil betyde, at hæm-komplekset vil kunne bidrage med Met, på trods af at det er i lav koncentration i hæmoglobin.

Tabel 1. Aminosyresammensætning af okseblod efter fraktionering (Duarte et al., 1999) samt af svineblod efter opdeling i celledel og plasma (Ramos-Clamont, Fernandez-Michel, Carrillo-Vargas, Martinez-Calderon & Vazquez-Moreno, 2003)

Aminosyre mg/100 g protein	Plasma (kon- centrat)	Serum	Globin (isolat)	Hæm- kom- pleks	Hæ- mo- globin	Blodle- gemer	Celle- frak- tion	Hel- blod	Hu- mant behov ¹
Dyreart	Okse ²	Svin ³	Okse ²	Okse ³	Svin ⁴	Okse ²	Svin ³	Svin ⁴	
Val	6,73	9,38	8,44	10,67	5,35	8,5	15,64	4,44	3,9
Ile	3,35	1,27	0,14		0,12		2,00	0,28	3,0
Leu	9,34	14,86	14,80	12,98	9,41	13,92	12,80	7,71	5,9
Thr	6,60	7,15	5,50	4,56	2,06	5,11	8,23	2,34	2,3
Halv- Cys/Cys	1,68	0,48			0,21		0,48	0,32	
Met	0,86	0,87	0,14	2,15	0,45	0,36	0,72		1,6
<i>Total S- holdige</i>	2,54	1,35	0,14	2,15	0,66	0,36	1,30		
Tyr	4,78	3,06	2,39	2,18	1,32	2,39	6,00	1,61	
Phe	5,16	7,74	7,62	9,29	4,54	8,19	7,22	3,59	3,0
<i>Total aro- matiske</i>	9,94	10,80	10,16	11,47	5,86	10,58	13,22	5,20	6,3
His	4,18	9,36	7,64	3,80	7,56	6,38	3,41	5,30	1,5
Lys	7,47	7,74	10,04	10,46	9,35	10,37	7,22	6,87	4,5
Trp	1,18	1,42	1,03		0,62		1,39	0,51	0,6
Asp	9,80	10,59	9,77	12,18	8,53	11,03	13,57	6,48	
Ser	6,67	2,56	7,00	3,26	4,13	5,47	6,42	3,38	
Glu	14,08	5,38	6,10	9,68	4,20	8,09	10,36	4,01	
Pro	4,74	2,25	3,77	2,58	2,15	3,24	9,34	1,86	
Gly	3,39	12,63	4,09	4,67	3,84	4,51	6,05	3,16	
Ala	5,00		10,16	8,35	7,64	9,47		6,10	
Arg	3,30	5,47	1,75	2,24	1,45	2,07	6,50	1,69	

¹ FAO/WHO/UNU (2007)

² (Duarte et al., 1999)

³ (Ramos-Clamont et al., 2003)

⁴ Analyser fra DAT-Schaub

Mineralsam- mensætning

Jern er det vigtigste mineral i blod. Det sidder i hæmoglobinet og findes derfor i høj koncentration i hæm-fraktionen (115 mg/100 g) og i den samlede fraktion af blodlegemer (253 mg/100 g) (Duarte et al., 1999). Derimod er der ikke noget væsentligt indhold i globinfraktionen eller plasma. Det indhold, der er, skyldes primært en ufuldstændig oprensning.

Plasmadelen indeholder en del natrium (2496 mg/100 g) og chlorid (3668 mg/100 g) samt lidt kalium (330 mg/100 g), phosphor (101 mg/100 g) og calcium (61 mg/100 g). I sammenligning hertil indeholder de øvrige fraktioner kun få mineraler bortset fra blodlegemerne, der indeholder natrium (505 mg/100 g), og globin, der indeholder chlorid (1454 mg/100 g) (Duarte et al., 1999).

Det væsentligste mineral i blod er således jern, men afhængig af fraktion skal man også være opmærksom på saltindholdet.

Proteinernes vigtigste funktionalitet Blod har forskellige mulige anvendelser. Det har en ernæringsmæssig værdi både som jernkilde og som proteinkilde. Dernæst har proteinerne forskellige funktionelle egenskaber. En oversigt over disse er givet i tabel 2. Endelig er der efter hydrolyse identificeret flere bioaktive effekter, både ACE, antimikrobiel aktivitet og antioxidativitet (Ofori & Hsieh, 2012) (se afsnit 4.2).

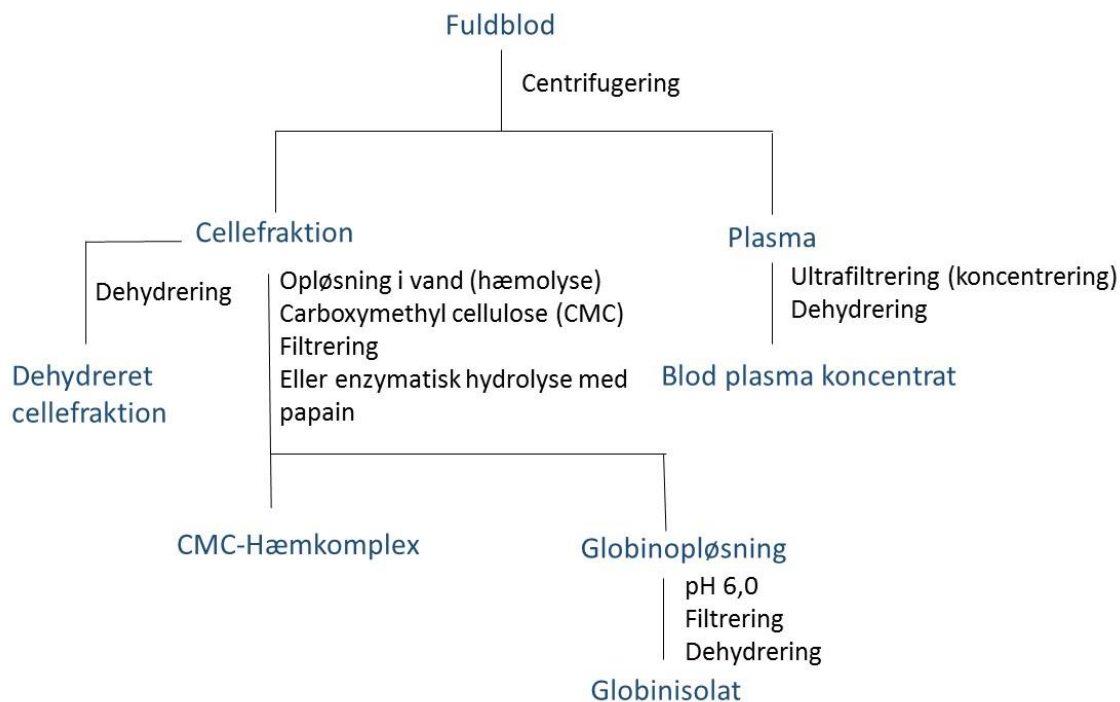
Tabel 2. Blodproteiners funktionelle egenskaber (Ofori & Hsieh, 2012).

Protein/fraktion	Anvendelse	Kommentarer
<i>Plasma</i>		
Samlet plasmafraktion	Bindemiddel	
Samlet plasmafraktion	Fedt-replacer	
Samlet plasmafraktion	Geldannende	Effekten er pH-afhængig
Fibrinogen	'Kødklister'	
Albumin	Emulgator	Bedre effekt end globin
Gamma-globulin	Skum-dannende	Afløse æggehvite i kage
<i>Blodlegemer</i>		
Hæmoglobin	Farvegiver	Farve afhængig af iltning Vigtig jernkilde
Hæmoglobin	Emulgator	
Globin	Emulgator	Især ved lav salt Hydrolyse øger emulgeringsevne
	Fedt-replacer	

De funktionelle egenskaber er anvendt i såvel kødprodukter som non-meatprodukter så som i kager (plasma) i stedet for æg (Ofori & Hsieh, 2012; Paul, 2014).

3. Processering af blod

Anvendelsen af blod afhænger af, hvordan det er opsamlet og videreprocesseret. Figur 2 viser et overblik over processerne som beskrevet i litteraturen.



Figur 2. Procestrin ved oprensning af blod (Duarte et al., 1999).

Opsamling af blod

Hygiejnisk opsamling af blod er en forudsætning for at kunne udnytte blodet til videreforarbejdning og anvendelse som fødevarer ingrediens. Dyrene bliver i slagteprocessen indledningsvist bedøvet, hvilket i Danmark foregår med CO₂, hvorefter de bliver stukket med en kniv i halspulsårene for effektivt at afbløde. Hygiejnisk opsamling af blod foregår med en kniv tilkoblet en slange med vakuumsug, der sikrer, at blodet kan opsamles direkte fra halspulsåren, uden at være i kontakt med andet end kniven. Opsamling i åbne systemer såsom en container, hvor blodet løber ned, er ikke hygiejnisk, grundet mulig kontaminering med ydre dele på dyret og partikler i rummet.

Koagulering

Blodet vil naturligt koagulere efter stikning pga. fibrin i samspil med blodpladerne. For at undgå dette tilsættes Na-citrat til det opsamlede blod som antikoagulant mellem 0,33 og 1% (Alvarez, Bances, Rendueles & Diaz, 2009; Duarte et al., 1999; Kehlet, Jespersen & Støier, 2011). Citronsaft er også rapporteret anvendt som antikoaguleringsmiddel (Kikafunda, 2005).

I visse artikler har man udnyttet, at blodet naturligt størkner og hermed adskilt serum fra en celledel, der så er anvendt til det videre arbejde (Ramos-Clamont et al., 2003).

Centrifugering

Blod i form af friskt helblod anvendes i begrænset omfang. I stedet for anvendelse som helblod adskilles komponenter traditionelt ved centrifugering til plasma (omkring 60%) og en celledel (omkring 40%). Det er

primært plasmadelen, der i dag udnyttes som ingrediens i produkter til human konsum på grund af de gode funktionelle egenskaber som beskrevet i tabel 2.

Cellefraktionen indeholder størstedelen af proteinet herunder de røde blodlegemer med hæmoglobin. Som beskrevet i tabel 2 er de funktionelle egenskaber ikke så gode som i plasmafraktionen, men indholdet af protein og biotilgængeligt hæmjern er højt. Cellefraktionen benyttes i dag kun i begrænset omfang i produkter til human konsum. Dette skyldes blandt andet, at celledelen har en karakteristisk jernsmag grundet det høje jernindhold, hvilket ydermere kan give farve- og oxidationsproblemer.

Centrifugeringstrinnet varierer i litteraturen, men er generelt 15 min ved 2060-3000 g (Shan-Guang, Mou-Ming, Jin-Shui & Chun, 2007; Fort, Kerry, Carretero, Kelly & Saguier, 2009; Pares, Toldra, Saguier & Carretero, 2014; Silva, Morais & Silvestre, 2003), mens en enkelt undersøgelse centrifugerer i 30 min ved 2000 g (Alvarez et al., 2009).

- Plasmadelen* Efter centrifugering koncentrerer plasmadelen ved ultrafiltrering, hvorefter den evt. spraytørres (Duarte et al., 1999).
- Cellefraktionen* Cellefraktionen kan spraytørres, hvis den skal anvendes som en samlet fraktion. Alternativt kan den opløses i vand med henblik på hæmolyse, dvs. ødelæggelse af cellemembranen, hvorved hæmoglobin frigøres. Herefter reguleres pH til 2,5 med HCl med henblik på videre forarbejdning.
- Affarvning* Affarvning af den hæmoglobinholdige fraktion kan ske ved hjælp af f.eks. hydrogenperoxid (H₂O₂) (Alvarez et al., 2009).

For at udnytte globindelen bedre kan hæmoglobin adskilles i hæmgruppen og globindelen, og globin kan isoleres (Duarte et al., 1999; Ofori & Hsieh, 2012). Dette kan ske ved forskellige metoder, hvor anvendelse af carboxymethylcellulose (CMC) er den, der anbefales, da man ikke anvender organiske opløsningsmidler. Ved denne metode udfældes globin ved hjælp af CMC gennem flere processer med pH-justering og opvarmning (Silva et al., 2003). Globindelen kaldes affarvet blod og har ikke den sensorisk negative metalsmag, som den samlede cellefraktion har (Ofori & Hsieh, 2012; Duarte et al., 1999; Silva et al., 2003). Fordelen ved CMC-metoden er, at man undgår brug af organiske opløsningsmidler som ved en traditionel fraktionering (Tybor, Dill & Landmann, 1975), samtidig med at jernindholdet bliver forholdsvis lavt (198 mg/kg i forhold til 757 mg/kg). Samtidig bliver saltindholdet dog væsentligt højere (1,86 mg Cl/kg i forhold til 0,11 mg Cl/Kg), da pH reguleres med HCl og NaOH (Silva et al., 2003).

Enzymatisk hydrolyse af hæmoglobin med papain for at frigive hæmgruppen er også blevet beskrevet (Gomez-Juarez, Castellanos, Ponce-Noyola, Calderon-Salinas & Figueroa, 1999a). Endvidere er globindelen efterfølgende bleget med Na-hypochlorite (NaOCl) for at opnå et hvidt smagsløst pulver (Ofori & Hsieh, 2012; Gomez-Juarez, Castellanos, Ponce-Noyola, Calderon & Figueroa, 1999b).

Ultrafiltrering Ultrafiltrering kan anvendes for at opnå et bedre slutprodukt, hvor f.eks. salte, aske eller bitterstoffer er frasorterede, afhængig af hvilken størrelse filter der anvendes (Aubes-Dufau & Combes, 1997).

Stabilisering af jernet Farven af hæmoglobin er meget følsom over for variationer i iltkoncentrationer, hvorfor det er vigtigt at stabilisere det, hvis man ønsker at bevare farven, f.eks. til anvendelse som naturligt farvestof. Dette kan f.eks. gøres ved gennemluftning med kulmonoxid (CO) eller med nikotinsyre (C₁₀H₁₄N₂) (Ofori & Hsieh, 2012)

Enzymatisk hydrolyse af blodproteiner For at øge funktionalitet og optagelighed af blodproteinerne kan de hydrolyseres enzymatisk. Ulempen er, at hydrolysen kan resultere i forekomst af bitre peptider. Der er mange, der har fokuseret på hydrolyse af plasmaprotein, men da plasmaprotein i forvejen har en relativ høj værdi, er det valgt at fokusere på hæmoglobindelen i dette litteraturreview.

Hydrolyseprocesser kan udføres i industriel skala eller i laboratorieskala. Følgende beskrivelse er baseret på anvendt praksis hos DAT-Schaub (2011) og anvendes generelt på forskellige typer biprodukter.

Hydrolyseprocessen er typisk udført ved, at det homogeniserede biprodukt tilsættes et foodgradeenzym. Det kan fx være Alcalase®, Protamex® and Flavourzyme®, der produceres af Novozymes A/S. Den enzymatiske behandling af produktet foregår ved 53-56°C i en time. Herefter inaktiveres enzymerne ved opvarmning til 90°C, hvorved hydrolyseprocessen standses.

Efter endt hydrolyse koncentrerer produktet ved vakuum. Produktet kan yderligere ultrafiltreres (10.000 Dalton separation) eller spraytørres direkte.

Enzymer I litteraturen er forskellige enzymer beskrevet, afhængig af hvordan peptidsammensætningen ønskes. Det vides ikke, hvorvidt nogle enzymer er specielt egnede til nogle typer biprodukter, idet proteinsammensætningen af biprodukter selvfølgelig er forskellig. Hydrolyse af blodproteiner med Proctase og Alcalase alene giver bitre peptider, mens hydrolysatet efter Neutrase og Papain ikke er bittert (Aubes-Dufau &

Combes, 1997). Tilsvarende giver en kombination af Pancreatin og Flavourzyme heller ikke bitre peptider (Shan-Guang et al., 2007).

Hydrolysegrad Hydrolysegrad (Degree of hydrolysis, DH) angiver, hvor mange af peptidbindingerne, der er hydrolyseret, dvs. hvor meget proteinet er nedbrudt. Jo længere processen forløber, desto mere nedbrudt er proteinet (Aubes-Dufau & Combes, 1997), men også sammensætningen af proteaser har en betydning for, hvor effektivt der hydrolyseres. Da såvel funktionalitet som bitterhed er relateret til hydrolysegrad, er de væsentlige at bestemme som karakterisering af hydrolysatet (Shan-Guang et al., 2007).

4. Egenskaber ved blodprotein

4.1 Funktionelle egenskaber

Blodprotein har, ligesom andre proteiner, forskellige funktionelle egenskaber, der kan anvendes ved processering af såvel kødprodukter som andre fødevarer.

Emulgering Blodproteiner har generelt gode emulgerende egenskaber, der i kødprodukter er på højde med casein og æg. Blodproteiner har endvidere den fordel, at de ikke er allergene i modsætning til protein fra f.eks. æg og mælk (Ofori & Hsieh, 2012). En sammenligning af svineblod og okseblod har vist, at de emulgerende egenskaber er de samme for begge blodtyper (Ramos-Clamont et al., 2003). Det er især globin, der har gode emulgerende egenskaber – også bedre end hæmoglobin (Ofori & Hsieh, 2012). Derimod rapporteres det også, at hæmoglobin og globin er mere effektive end affarvet globin, hvis affarvningen foregår med brintperoxid (H_2O_2) (Alvarez et al., 2009). Endvidere er effekten pH-afhængig, idet den emulgerende effekt af cellefraktionen er større ved pH 4,5 end ved pH 7 (Salvador, Saguer, Pares, Carretero & Toldra, 2010), mens globinfraktionen alene er mest effektiv ved pH > 8 (Gomez-Juarez et al., 1999a). Også procestemperaturen ved oprensning af globinet har en betydning for emulgeringsevnen (Tybor et al., 1975).

Erstattes casein og polyphosphat med plasmaprotein i frankfurtere, opnås en tekstur på højde med kontrolproduktet, men smagen påvirkes i negativ retning (Hurtado, Saguer, Toldra, Pares & Carretero, 2012). Anvendes serum fremfor helblod, giver det mindre afsmag i frankfurtere (Pares, Saguer, Pap, Toldra & Carretero, 2012). Det må forventes, at en tilsvarende påvirkning af smagen kan forekomme med globin og hæmoglobin, hvilket der skal tages højde for f.eks. ved maskering.

Skumdanner Den skumdannende evne kan beskrives som kapacitet, dvs. hvor meget skum der kan dannes, og stabilitet, dvs. hvor længe skummet kan holde. Plasmaproteiner har vist skumdannende kapacitet på højde med

æggehvide før varmebehandling, mens den var lavere efter varmebehandling. Derimod var holdbarheden bedre end æggehvide, især efter varmebehandling (Ramos-Clamont & Vazquez-Moreno, 2006).

Blodproteiner har også skumdannende egenskaber, hvilket kan udnyttes til erstatning af f.eks. æggehvide ved bagning. De skumdannende egenskaber er således på højde med æg-albumin (Tybor et al., 1975). Effekten afhænger af pH, hvor hæmoglobin f.eks. har størst kapacitet ved pH 8, mens farvet globin har bedst kapacitet ved pH 4 fremfor pH 2, 6 og 8 (Alvarez et al., 2009), og isoleret globin har bedre kapacitet ved pH 6 end ved pH 8 eller højere (Tybor et al., 1975). Tilsvarende er den samlede cellefraktion bedre ved pH 4 i forhold til pH 7 (Salvador et al., 2010), mens globindelen er mest effektiv ved pH 6 eller højere (Gomez-Juarez et al., 1999a).

Den skumdannende evne er anvendt ved bagning af kager. Dette har vist, at størrelsen – dvs. den skumdannende evne – var på højde med æggehvide, der normalt bruges (Raeker & Johnson, 1995), men som for andre produkter kan der forekomme en bismag, der skal tages højde for (Ofori & Hsieh, 2012).

Geldannende evne Den geldannende evne af blodproteiner er primært undersøgt i model-systemer. Svineblod giver en hårdere gel end andeblod (Peng, Xinglian, Ming, Mengmeng & Guanghong, 2014). Som for den skumdannende evne er der også en pH-effekt, idet pH omkring 4-5 giver en mindre hård gel end højere pH op til pH 7, hvilket har betydning for anvendelsen, idet f.eks. spegepølser har pH omkring 4-5, hvor effekten er lavest (Peng et al., 2014; Davila, Pares, Cuvelier & Relkin, 2007). Geldannelsen kan øges ved tilsætning af transglutaminase, men ved sure betingelser er dette ikke nok til at opnå en acceptabel gelstyrke (Saguer, Fort, Pares, Toldra & Carretero, 2007).

Fedterstatter Flere kødprodukter har et højt indhold af fedt, og det kan med fordel sænkes af ernæringsmæssige årsager. Globin har vist sig at være en bedre fedterstatter i paté end plasma og kombinationen af plasma og globin vurderet ud fra de funktionelle egenskaber (Viana, Bizzotto & Oliveira, 2004; Viana, Silva, Delvivo, Bizzotto & Silvestre, 2005). Sensorisk medførte blodproteinerne ingen ændringer i smag, mens der var en ændret farve og bl.a. hårdhed (Viana et al., 2005). I hakket kød er det dog en fordel at ultrafiltrere okseplasma før brug for at fjerne bitre komponenter. Herefter var der ikke en reduktion i den sensoriske kvalitet (Furlan, Padilla & Campderros, 2014).

<i>Farve</i>	Ved økologisk produktion af kødprodukter må der i Danmark ikke anvendes nitrit. Her kan hæmgruppen i form af en mono- eller di-nitrogenoxidhæm anvendes som farvegiver i stedet (Ofori & Hsieh, 2012). De ernæringsmæssige egenskaber er dog ikke beskrevet i artiklen.
<i>Smag</i>	Anvendes forskellige fraktioner af blod, kan det medføre en metallisk, bitter smag, der kan reducere anvendelsen. Hydrolyseres proteinet, kan der dannes bitre peptider. Forekomsten af bitre peptider afhænger af de specifikke enzymer, der er anvendt ved hydrolysen, idet det fortrinsvis er hydrofobe peptider, der er bitre. Det er muligt at identificere de fraktioner af proteinhydrolysater af blodprotein, der indeholder de bitre peptider (Aubes-Dufau & Combes, 1997). Det er således muligt at reducere bitterheden af proteinhydrolysater dels ved at kombinere enzymer, dels ved at regulere hydrolysegraden.
<i>Anden anvendelse</i>	Der er forskellige anvendelser af blodprotein, der ikke er dækket af ovenstående funktionaliteter. Disse anvendelser fokuserer i højere grad på at udnytte proteinet, fremfor at det går til spilde, end på at udnytte proteinets funktionalitet. Anvendes blodprotein sammen med sværprotein i rå, salamiagtige produkter, kan det gøres i op til 15% blodprotein, uden at det reducerer den sensoriske kvalitet (Nowak & Mueffling, 2009). Okseplasma, cellefraktionen samt affarvet cellefraktion kan tilsættes op til 3,5% til hakket oksekød, uden at stegesvind og den oxidative stabilitet påvirkes, men allerede fra 1,5% er den sensoriske kvalitet påvirket (Guzman, McMillin, Bidner, Dugas-Sims & Godber, 1995). Op til 2,2% plasma fra okseblod kunne tilsættes pasta, uden at den sensoriske kvalitet blev reduceret (Yousif, Cranston & Deeth, 2003).

4.2 Ernæringsaspekt

Ernæringsmæssigt er der to aspekter ved anvendelse af blod, herunder specielt hæmoglobin: proteinindholdet og jernindholdet.

<i>Protein</i>	Protein er et væsentlig næringsstof, der har betydning for såvel muskelopbygning som -vedligehold, alment velbefindende, energiomsætning og mæthed. Som beskrevet i tabel 1 er aminosyresammensætningen af såvel globin, hæmkomplekset og blodlegemerne (der primært består af hæmoglobin) god på nær enkelte aminosyrer, især Ile og til dels Met, der er i lavere koncentrationer end det humane behov. Indholdet af Lys er højt, hvilket har betydning, når der suppleres med planteprotein, der ofte mangler denne aminosyre. Som eksempel har man forsøgt at tilsætte blodplasmaprotein (ikke tørret) i op til 50% til
----------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

dej til majsmandekager, uden at den sensoriske kvalitet er blevet reduceret (Barboza et al., 2012). Majs har et højt indhold af Ile, og samspillet mellem de to proteinkilder er derfor optimalt. I forsøg med majsmandekager er der anvendt plasma, men ifølge aminosyresammensætningen vist i tabel 1, vil såvel globin, hæm som blodcellefraktionen også kunne anvendes med samme ernæringsmæssige effekt.

Mæthed

Protein vides generelt at mætte mere pr. energienhed end kulhydrater og fedt. Effekten menes at skyldes specifikke aminosyrer bl.a. leucine, tryptofan og tyrosin (Gilbert, Bendsen, Tremblay & Astrup, 2011). Som det fremgår af tabel 3, indeholder blod og fraktioner af blod især meget leucine og tryptofan sammenlignet med soja. Det må derfor forventes, at blodprotein har en høj mættende effekt.

Jern

Ifølge EFSA (2015) har et ekspertpanel konkluderet, at jern, der er bundet som hæm-jern, har højere biotilgængelighed og absorberes bedre end jern fra andre kilder. Dermed har blod en markant positiv betydning ved forebyggelse af jernmangel. Det har da også været anvendt til at forebygge og helbrede jernmangel i flere sammenhænge. I Chile er der anvendt en småkager tilsat hæmjern til skolebørn, hvilket har reduceret forekomsten af anæmi. Den sensoriske kvalitet var acceptabel evt. pga. maskering (Ofori & Hsieh, 2012). Tilsvarende blev en chokoladekiks med jernprotein undersøgt i Mexico, ligeledes med positive resultater på forekomst af anæmi. Her er den sensoriske kvalitet ikke beskrevet (Ofori & Hsieh, 2012). I Uganda er blod (tørret helblod) tilsat bønnesovs i ca. 3%. Bønnesovsen blev bedømt af 19 dommere, og disse vurderede den sensoriske kvalitet som signifikant dårligere end en bønnesovs uden blod (Kikafunda, 2005). Dette understreger, at anvendelse med henblik på at øge jernindholdet kræver en optimering af den sensoriske kvalitet. Yderligere vil en let enzymbehandling af hæmoglobin øge biotilgængeligheden, idet det forebygger dannelse af store uopløselige polymerer i tarmens sure miljø (Ofori & Hsieh, 2012).

Øvrige

Som for andre hydrolyserede biprodukter er der i hydrolyseret blod beskrevet forskellige bioaktiviteter herunder ACE (Angiotensin I-converting enzyme), antimikrobielle effekter overfor *Micrococcus luteus*, *Listeria innocua*, *Esterichia Coli* og *Salmonella enteritidis*, og antioxidative effekter af hydrolysaterne (Ofori & Hsieh, 2012).

5. Andre proteinkilder

Hvis blod skal indgå i processering af fødevarer, enten som funktionel ingrediens eller for at øge jern- eller proteinindholdet, er det relevant at sammenligne dets egenskaber og sammensætning med de proteinkilder, det vil skulle erstatte. Her er mejeribaserede proteiner de væsentligste, men også soja – som et vegetabilsk alternativ – er relevant.

5.1 Soja

Sojaprotein fremkommer ved ekstraktion af olie fra sojabønner. Sammensætningen af sojaproteinet kan variere mellem forskellige sorter, år og forventeligt også mellem forskellige lokationer. En undersøgelse har dog vist, at aminosyresammensætningen er forholdsvis konstant over en periode på 8 år (Porter & Jones, 2003).

Aminosyresammensætning Tabel 3 angiver aminosyreindholdet som et gennemsnit over de 8 år undersøgelsen omhandler (1994-2003). Dette er sammenlignet med værdierne angivet i et litteraturreview (Boye, Zare & Pletch, 2010)

Tabel 3. Aminosyresammensætning i sojaprotein (Boye et al., 2010; Porter & Jones, 2003) sammenlignet med humant behov samt blodprotein (Duarte et al., 1999).

Aminosyre mg/100 g protein	Soja ¹	Soja ²	Blod- plasma	Globin (isolat)	Hæm- kompleks	Humant be- hov ³
Val	2,30	2,06-2,38	6,73	8,44	10,67	3,5
Ile	2,20	1,94-2,28	3,35	0,14		2,8
Leu	3,94	3,26-4,10	9,34	14,80	12,98	6,6
Thr	2,05	1,62-1,67	6,60	5,50	4,56	3,4
Halv-Cys	0,74	0,70-0,86	1,68			
Met	0,71	0,61-0,80	0,86	0,14	2,15	
<i>Total S-holdige</i>	1,45	1,31-1,66	2,54	0,14	2,15	2,5
Tyr	1,68	1,53-1,75	4,78	2,39	2,18	
Phe	2,51	2,16-2,66	5,16	7,62	9,29	
<i>Total aromatiske</i>	4,19	3,69-4,41	9,94	10,16	11,47	6,3
His	1,37	1,15-1,36	4,18	7,64	3,80	1,9
Lys	3,30	2,69-3,23	7,47	10,04	10,46	5,8
Trp	0,62	0,50	1,18	1,03		1,1
Asp	6,02	4,79-6,09	9,80	9,77	12,18	
Ser	2,76	1,92-3,08	6,67	7,00	3,26	
Glu	8,97	7,66-9,39	14,08	6,10	9,68	
Pro	2,90	2,04-2,93	4,74	3,77	2,58	
Gly	2,17	1,77-2,20	3,39	4,09	4,67	
Ala	2,12	1,79-2,27	5,00	10,16	8,35	
Arg	3,71	3,17-3,77	3,30	1,75	2,24	

¹ Porter & Jones, 2003, gennemsnitligt indhold over 8 år i sojamel

² Boye et al, 2010

³ FAO/WHO/UNU (1985)

Soja har ifølge Porter & Jones (2003) en suboptimal aminosyresammensætning i forhold til det humane behov, idet den er under behovet for samtlige aminosyrer. Sammenlignet med globin og hæm-komplekset er den eneste aminosyre, hvor soja har et bedre indhold, Ile, hvor den indeholder 2,2%, mens globin kun har 0,14%, og den slet ikke er detekteret i hæm-komplekset, mens det humane behov er 2,8% (Por-

ter & Jones, 2003). Det skal dog tages i betragtning, at en anden reference angiver en aminosyresammensætning, der i højere grad afspejler det humane behov (Preeti, Kumar, Sabapathy & Bawa, 2008).

Fedtindhold Selv om sojaprotein dannes ved at ekstrahere fedtet fra sojabønner, er der en mindre rest fedt tilbage (op til 2,4% afhængig af analysemetode). Den primære fedtsyre er linolsyre (C18:2), mens der er mindre mængder af palmesyre (C16:0), stearinsyre (C18:0), oliesyre (C18:1) samt linolinsyre (C18:3) (Porter & Jones, 2003). Pga. det lave indhold forventes fedtet ikke at have væsentlig ernæringsmæssig betydning, ligesom det ikke har skumdannende egenskaber. Dog kan det have en betydning som kilde til oxidationsprodukter som hydroperoxider (Porter & Jones, 2003).

Mineralindhold Som i blodet indeholder sojaprotein forskellige mineraler. I modsætning til blodet, der – afhængig af fraktion – især indeholder jern efterfulgt af natrium og chlorid, indeholder soja især kalium (2333 mg/100 g), magnesium (320 mg/100 g) og calcium (321 mg/100 g), mens jernindholdet er 7,44 mg/100 g (Porter & Jones, 2003).

5.1.1. Funktionelle egenskaber af soja

Sojaproteinerne varierer markant i deres opløselighed, hvilket har betydning for deres funktionelle egenskaber (Preeti et al., 2008).

Gelering Soja har generelt en høj geleringsevne (Nishinari, Fang, Guo & Phillips, 2014), men forskellige sojaproteinisolater varierer i deres evne til geldannelse (Preeti et al., 2008). Gelering starter med en mild denaturering af sojaproteinerne, hvorved de globulære proteiner foldes ud. Herefter sker der en aggregering, hvorved der dannes en gel. Denatureringen kan ske ved en mild varmebehandling eller ved at sænke pH (Nishinari et al., 2014). Gelstyrken afhænger også af saltindholdet (Preeti et al., 2008), idet øget saltindhold reducerer gelstyrken (Nishinari et al., 2014). Hypotesen for dette er, at saltet beskytter proteinet mod denaturering, hvorved der ikke sker den ønskede udfoldning af proteinerne. Sænkes pH til under 5,6, sker der en øget gelstyrke, hvilket omvendt kan skyldes den pH-inducerede denaturering. Sojaprotein har således optimal gelstyrke i sure produkter.

Emulgering Opløseligt soja anvendes som emulgator, men som for den geldannende egenskab kan den emulgerende egenskab variere (Preeti et al., 2008). Emulgeringsevnen stiger ved en mild hydrolyse, ligesom det også er vist, at en mild oxidation øger både emulgeringsevnen og emulsionernes holdbarhed (Nishinari et al., 2014).

5.2 Valle

Komælk består af ca. 87% vand, 3-4% fedt, 4-5% laktose, 0,7% mineraler og ca. 4% protein. Proteinet er fordelt på ca. 2,8% casein og 1,2% valleprotein. Casein er således mængdemæssigt det væsentligste protein i mælk, men valleprotein er også væsentligt, da det har flere funktionelle egenskaber, så som skumdannende og emulgerende, og det anvendes bredt i fødevarer så som chokolade, snack, sovse, mayonnaise, pasta m.m. (Tunich, 2008).

Valleprotein er et restprodukt ved ostefremstilling. Før videre processing er der i selve vollen 5,8% protein. Det primære protein i mælk fra drøvtyggere er β -lactoglobulin, der i komælk udgør 55% af valleproteinerne. De øvrige proteiner er α -lactalbumin (21%), immunoglobuliner (14%), serum albumin (7%) og lactoferrin (3%) (Mehra & O'Kennedy, 2008). β -lactoglobulin findes ikke i human mælk og virker allergent på nogen (Bonnaillie & Tomasula, 2008).

β -lactoglobulin udgør således ca. 10% af de samlede mælkeproteiner og er væsentlig, da det har flere funktionelle egenskaber. Det eksisterer som en dimer, dvs. to proteinkæder, men afhængig af pH, temperatur og ionstyrke kan det også optræde som monomer eller polymer eller aggregere (Mehra & O'Kennedy, 2008). β -lactoglobulin har både gellingsegenskaber samt vandbindeevne og er derfor ofte anvendt til at skabe fedtreducerede produkter (Mehra & O'Kennedy, 2008)

Fedt Afhængig af processing indeholder vallepulver kun en mindre mængde fedt – 4-6% i medium- samt højproteinvallepulver, og ned til under 1% i very-high proteinpulver og valleproteinisolat. Fedtfraktionen udgøres af en kombination af phosphorlipider og triglycerider.

Mineraler Indholdet af mineraler afhænger, som for fedtet, af processingen og varierer mellem 1,4% i valleproteinisolat op til 7% i medium proteinvallepulver. Det væsentligste mineral er kalium (650 mg/100 g højproteinpulver) efterfulgt af calcium (350 mg/100 g) og phosphor (330 mg/100 g), mens der også er en vis mængde natrium (280 mg/100 g).

5.2.1. Funktionelle egenskaber af valle

Generelt er proteinerne meget afhængige af pH og skifter konformation og dermed funktionelle egenskaber afhængig af pH, ionstyrke og temperatur. Det er derfor vigtigt at styre disse parametre under processing for at opnå den optimale kvalitet.

Gelering Især β -lactoglobulin har gellingsegenskaber. Ved tilstedeværelse af casein interagerer de og danner en stærkere gel, end hvis β -lactoglobulin

lin er tilstede alene (Mehra & O'Kennedy, 2008). Geleringsvnen afhænger af pH og er lavest ved proteinerne isoelektriske pH, dvs. omkring pH 4. Øges pH op til 8, øges gelstyrken. Samtidig bliver gelen også mere gummiagtig (Sullivan, 2009).

Emulgering De globulære valleproteiner β -lactoglobulin, α -lactalbumin og bovine serum albumin har emulgerende egenskaber (McClements, 2008). De emulgerende egenskaber øges, hvis proteinerne først får en mild denaturering, hvorved de globulære proteiner foldes ud, og de indre, elektronegative dele af proteiner kommer frem.

Skumdannende egenskaber Valle har gode skumdannende egenskaber, der udnyttes i flere produkter, f.eks. kager (Sullivan, 2009).

6. Anvendelse af blodprotein

Friskt blod Nordic Food Lab har udført forsøg med friskt blod med fokus på blodets funktionelle egenskaber i f.eks. is og bagværk, men har også fokuseret på produkter, hvor den røde farve kunne være særlig attraktiv som i f.eks. sorbetis (Paul, 2014).

Hydrolyseret blodprotein Den væsentligste udfordring ved at anvende hydrolyseret globin i dag er den metalliske bitre smag, der er i produktet. Dersom denne maskeres, vil det være en proteinkilde, der kan anvendes til at proteinberige produkter. Tilsvarende kan der ved helblod også være en bitter metallisk smag, der enten skal fjernes eller maskeres. Samtidig bør man være opmærksom på, at anvendelsen af blod eller fraktioner af blod i fødevarer af nogle forbrugere kan opfattes uappetitligt, uanset om de kan smage det eller ej. Ligeledes skal der, ved anvendelse af okseblod, tages hensyn til, at visse religiøse forhold kan bestemme, hvorvidt man spiser blod. Både jøder og muslimer spiser ikke blod, uanset hvilket dyr det kommer fra, da det betragtes som urent (Ofori & Hsieh, 2012).

Der er screenet forskellige muligheder for produkter, hvor hydrolyseret helblodsprotein har vist sig anvendeligt. Følgende er eksempler fra DMRI's arbejde:

Is Hydrolyseret blodprotein er tilsat med op til 5% i is med lakridssmag, hvilket har øget lakridssmagen, men samtidig også bitterheden. I mere smagsneutrale former for is, f.eks. chokoladeis, har lavere tilsætning været nødvendig, for at smagen har været maskeret.

Luncheon meat Når blodprotein tilsættes luncheon meat, medfører det en tendens til en mere gammel, syrlig og bitter smag allerede ved 1,5%. Forskellen er dog ikke signifikant.

<i>Tenderpork</i>	Tilsætning af op til 3% blodprotein gav en tendens til øget saftighed og mørhed i forhold til en reference, der ikke var tilsat ekstra protein til lagen. Effekten af blodprotein var dog væsentlig mindre end ved tilsætning af kasein på disse egenskaber.
<i>Wienerpølser</i>	Tilsætning af såvel 1,5% som 3% helblodsprotein med 60% proteinindhold til wienerpølser gav øget bitterhed og reduceret pølsesmag i forhold til en referencepølse.
<i>Leverpostej</i>	Tilsætning af 1,5% blodprotein til leverpostej gav en mere salt og krydret og til dels bitter smag, mens 3% gav en markant bitter bismag.

Referencer

- Scientific opinion on the safety of heme iron (blood peptonates) for the proposed uses as a source of iron added for nutritional purpose to foods for the general population, including food supplements (2015). *EFSA journal*, 8, 1585.
- Alvarez, C., Bances, M., Rendueles, M. & Diaz, M. (2009). Functional properties of isolated porcine blood proteins. *International Journal of Food Science & Technology*, 44, 807-814.
- Aubes-Dufau, I. & Combes, D. (1997). Effect of different proteases on bitterness of hemoglobin hydrolysates. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 67, 127-138.
- Barboza, Y., Marquez, E., Benitez, B., Parra, K., Pinero, M. & Medina, L. (2012). Formulation and evaluation of corn pancakes containing bovine plasma protein and tender corn. *Advance Journal of Food Science & Technology*, 4, 166-171.
- Bonnaillie, L. M. & Tomasula, P. M. (2008). Whey protein fractionation. In C. I. Onwulata & P. J. Huth (Eds.), *Whey processing, functionality and health benefits* (pp. 15-38). Wiley-Blackwell.
- Boye, J., Zare, F., & Pletch, A. (2010). Pulse proteins: processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International*, 43, 414-431.
- Davila, E., Pares, D., Cuvelier, G. & Relkin, P. (2007). Heat-induced gelation of porcine blood plasma proteins as affected by pH. *Meat Science*, 76, 216-225.
- DMRI (1992). Slagtekroppens sammensætning. Intern rapport
- Duarte, R., Carvalho-Simoes, M. & Sgarbieri, V. (1999). Bovine blood components: fractionation, composition, and nutritive value. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 231-236.

- Fort, N., Kerry, J., Carretero, C., Kelly, A. & Saguer, E. (2009). Cold storage of porcine plasma treated with microbial transglutaminase under high pressure. Effects on its heat-induced gel properties. *Food Chemistry*, *115*, 602-608.
- Furlan, L., Padilla, A. & Campderros, M. (2014). Development of reduced fat minced meats using inulin and bovine plasma proteins as fat replacers. *Meat Science*, *96*, 762-768.
- Gilbert, J., Bendtsen, N., Tremblay, A. & Astrup, A. (2011). Effect of proteins from different sources on body composition. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, *21*, B16-B31.
- Gomez-Juarez, C., Castellanos, R., Ponce-Noyola, T., Calderon-Salinas, V. & Figueroa, J. (1999a). Functional properties of globin protein obtained from bovine blood by decolorisation of the red cell fraction. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *79*, 793-796.
- Gomez-Juarez, C., Castellanos, R., Ponce-Noyola, T., Calderon, V. & Figueroa, J. (1999b). Protein recovery from slaughterhouse wastes. *Bioresource Technology*, *70*, 129-133.
- Guzman, J., McMillin, K., Bidner, T., Dugas-Sims, S. & Godber, J. (1995). Texture, color and sensory characteristics of ground beef patties containing bovine blood proteins. *Journal of Food Science*, *60*, 657-660.
- Hansen, A. (1982). *Huspattedyrenes anatomi*. A/S Carl Fr. Mortensen.
- Hurtado, S., Saguer, E., Toldra, M., Pares, D. & Carretero, C. (2012). Porcine plasma as polyphosphate and caseinate replacer in frankfurters. *Meat Science*, *90*, 624-628.
- Kehlet, U., Jespersen, C. M. & Støier, S. (2011). Animal blood - an unutilized resource. *Fleischwirtschaft International* *6*, 14-17.
- Kikafunda, J. (2005). Production and use of a shelf-stable bovine blood powder for food fortification as a food-based strategy to combat iron deficiency anaemia in sub-Saharan Africa. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, *5*.
- McClements, D. J. (2008). Whey protein-stabilized emulsions. In C. I. Onwulata, & P. J. Uth (Eds.), *Whey processing, functionality and health benefits* (pp. 63-97). Wiley-Blackwell.
- Mehra, R. & O'Kennedy, B. T. (2008). Separation of b-lactoglobulin from whey: Its physico-chemical properties and potential uses. In *Whey processing, functionality and health benefits* (pp. 39-62). Wiley-Blackwell.
- Nishinari, K., Fang, Y., Guo, S. & Phillips, G. (2014). Soy proteins: a review on composition, aggregation and emulsification. *Food Hydrocolloids*, *39*, 301-318.

- Nowak, B. & Mueffling, T. (2009). Microbiological and sensory suitability of a novel raw material from porcine blood and collagenous rind protein as an ingredient in a fermented raw salami-type sausage. *Journal of Food Protection*, *72*, 826-836.
- Ofori, J. A. & Hsieh, Y.-H. P. (2012). The use of blood and derived products as food additives. In Y. El-Samragy (Ed.), *Food additive* (pp. 229-256). InTech.
- Pares, D., Saguer, E., Pap, N., Toldra, M. & Carretero, C. (2012). Low-salt porcine serum concentrate as functional ingredient in frankfurters. *Meat Science*, *92*, 151-156.
- Pares, D., Toldra, M., Saguer, E. & Carretero, C. (2014). Scale-up of the process to obtain functional ingredients based in plasma protein concentrates from porcine blood. *Meat Science*, *96*, 304-310.
- Paul, E. (2014). Blood and egg - Nordic Food Lab.
- Peng, W., Xinglian, X., Ming, H., Mengmeng, H. & Guanghong, Z. (2014). Effect of pH on heat-induced gelation of duck blood plasma protein. *Food Hydrocolloids*, *35*, 324-331.
- Porter, M. & Jones, A. (2003). Variability in soy flour composition. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *80*, 557-562.
- Preeti, S., Kumar, R., Sabapathy, S. & Bawa, A. (2008). Functional and edible uses of soy protein products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *7*, 14-28.
- Qian, L., Baohua, K., Youling, L. & Xiufang, X. (2010). Antioxidant activity and functional properties of porcine plasma protein hydrolysate as influenced by the degree of hydrolysis. *Food Chemistry*, *118*, 403-410.
- Raeker, M. & Johnson, L. (1995). Cake-baking (high-ratio white layer) properties of egg white bovine blood plasma, and their protein fractions. *Cereal Chemistry*, *72*, 299-303.
- Ramos-Clamont, G., Fernandez-Michel, S., Carrillo-Vargas, L., Martinez-Calderon, E. & Vazquez-Moreno, L. (2003). Functional properties of protein fractions isolated from porcine blood. *Journal of Food Science*, *68*, 1196-1200.
- Ramos-Clamont, M. & Vazquez-Moreno, L. (2006). Foaming properties of porcine serum and porcine serum albumin. *Ciencia y Tecnologia Alimentaria*, *5*, 105-111.
- Saguer, E., Fort, N., Pares, D., Toldra, M. & Carretero, C. (2007). Improvement of gelling properties of porcine blood plasma using microbial transglutaminase. *Food Chemistry*, *101*, 49-56.

- Salvador, P., Saguer, E., Pares, D., Carretero, C. & Toldra, M. (2010). Foaming and emulsifying properties of porcine red cell protein concentrate. *Food Science and Technology International*, 16, 289-296.
- Shan-Guang, G., Mou-Ming, Z., Jin-Shui, W. & Chun, C. (2007). Proteolytic degradation and amino acid liberation during extensive hydrolysis of porcine blood hemoglobin by protease admixture. *Journal of Food Process Engineering*, 30, 640-659.
- Silva, J., Morais, H. & Silvestre, M. (2003). Comparative study of the functional properties of bovine globin isolates and sodium caseinate. *Food Research International*, 36, 73-80.
- Sullivan, ST. (2009). Whey proteins: functionality and foaming under acidic conditions. In C. I. Onwulata & P. J. Huth (Eds.), *Whey processing, functionality and health benefits* (pp. 99-132). Wiley & Sons.
- Tunich, M. H. (2008). Whey protein production and utilization - a brief history. In C. I. Onwulata & P. J. Huth (Eds.), *Whey processing, functionality and health benefits* (pp. 1-13). Wiley-Blackwell.
- Tybor, P., Dill, C. & Landmann, W. (1975). Functional properties of proteins isolated from bovine blood by a continuous pilot process. *Journal of Food Science*, 40, 155-159.
- Viana, F., Silva, V., Delvivo, F., Bizzotto, C. & Silvestre, M. (2005). Quality of ham pate containing bovine globin and plasma as fat replacers. *Meat Science*, 70, 153-160.
- Viana, F. R., Bizzotto, C. S. D. D. R. & Oliveira, A. L. (2004). Bovine blood constituents as fat replacers in ham pate. *Food technol biotechnol*, 42, 5-10.
- WHO (2007). Protein and amino acid requirements in human nutrition: Report of a joint FAO/WHO/UNO expert consultation. WHO Press
- Yousif, A., Cranston, P. & Deeth, H. (2003). Incorporation of bovine dry blood plasma into biscuit flour for the production of pasta. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, 36, 295-302.