

蛋清寡肽制备技术的研究

迟玉杰, 田 波

(东北农业大学食品学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘 要 : 蛋清蛋白质是食物中最理想的优质蛋白质, 但由于其受热易凝固、粘度大等性质, 限制了它在食品加工中的广泛应用。利用 Alcalase 蛋白酶对蛋清蛋白进行水解制备蛋清寡肽, 研究其工艺技术, 并总结设计要点, 为工业化生产提供依据。

关键词: 蛋清蛋白质; 水解; 寡肽

Study on Pilot-scale Hydrolysis Technology of Hydrolyzed Egg White Protease

CHI Yu-jie, TIAN Bo

(Food College of Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: Egg white was hydrolyzed by protease. Pilot-scale hydrolysis technology was studied, and some critical dots were pointed, thus the study could give some advice for industrial production.

Key words: egg white hydrolysis; pilot-scale

中图分类号: TS201.21

文献标识码: B

文章编号: 1002-6630(2004)11-0177-03

蛋清蛋白质是食物中最理想的优质蛋白质, 但由于其受热易凝固、粘度大等性质, 限制了它在食品加工中的广泛应用^[1]。目前, 关于蛋白质的水解研究已日趋成熟, 利用水解可以改善鸡蛋蛋清蛋白质的功能性质^[2], 从而可将其应用于更多的食品中。另外, 经酶修饰的水解产物具有原料蛋白质无法比拟的生理活性, 作为保健食品基料可广泛应用于医药、食品工业中。

从经济、营养角度讲, 鸡蛋的产量大, 价格低廉, 具有广泛的原料来源。对鸡蛋蛋清蛋白质进行酶水解对其功能和营养价值均破坏较小^[3]。本试验采用Alcalase碱性蛋白酶对蛋清蛋白进行水解制备蛋清寡肽, 研究其制备技术, 为以后工业化生产提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

鸡蛋; Alcalase(标注蛋白酶活力 2.4AU/G); LD4-20 离心机; HH-4 数显恒温水浴锅; pHs-3C 精密 pH 计; LNK-872 多功能快速消化器; JJ-1 型电动搅拌器等。

1.2 方法

1.2.1 蛋白质含量的测定^[4]

准确称取 0.2~2.0g 固体样品或吸取 5ml 液体样品于

消化管中, 加入 10ml 浓 H₂SO₄, 1.5g K₂SO₄, 2ml 10%CuSO₄, 置于消化装置上消化, 逐渐升温至 420℃, 待消化液呈绿色后开始计时, 保持温度在 420℃ 1.5h, 冷却后移入 100ml 容量瓶中定容, 取 10ml 此消化液在凯氏定氮装置上蒸馏并人工滴定定氮。按以下两公式计算出氮的含量和蛋白质含量。

$$\text{氮含量} = \frac{0.014 \times C \times (V_1 - V_0)}{m \times 10 / 100}$$

单位—g/(g 样品或 ml 样品); C—滴定用盐酸浓度(mol/L); V₁—滴定样品消耗盐酸的体积(ml); V₀—滴定空白消耗盐酸的体积(ml); m—所取样品的质量或体积(g/ml)。

$$\text{蛋白质含量} = 6.25 \times \text{氮含量}$$

1.2.2 氮回收率的测定

$$\text{氮回收率}(\%) = \frac{\text{所得上清液体积}(\text{ml}) \times \text{氮含量}(\text{g/ml})}{\text{底物体积}(\text{ml}) \times \text{底物氮含量}(\text{g/ml})} \times 100\%$$

1.2.3 原料处理及水解工艺流程

1.2.3.1 原料处理

收稿日期: 2004-07-15

基金项目: 黑龙江省教育厅海外学人资助项目(1053HZ006); 哈尔滨市“十五”重点攻关项目(2003AA6CN068)

作者简介: 迟玉杰, 女, 教授, 博士生导师, 研究方向为食品化学及食品深加工。

洗蛋 → 打蛋 → 分离蛋清蛋黄 → 稀释蛋清至一定浓度 → 沸水浴加热变性

1.2.3.2 蛋白质水解工艺流程

将加热变性后的一定浓度的蛋清 10kg, 以此为底物, 按照试验设计调节至所需温度, 加入一定量的酶进行水解, 水解时间为所设计时间。水解过程中不断搅拌, 并不断加入适当浓度的氢氧化钠溶液以维持 pH 值在规定的范围内 (± 0.05), 水解完成后, 加入 6mol/L 的盐酸调节 pH 值至 4.5。Alcalase 在 pH 为 4 时, 50℃ 以上 30min 便可使其失活。为防止蛋白质对酶的保护作用, 将灭活温度提高至 60℃, 然后迅速冷却至室温, 置于离心机中, 4000r/min 离心 30min, 取上清液, 记录总质量(g) 和总体积(ml)。

1.2.3.3 蛋清蛋白质水解底物浓度的确定

将原蛋清进行稀释, 在水解反应器中以 700r/min 搅拌均匀, 变性处理后观察搅拌效果, 然后在温度 68.5℃, pH8.21 条件下进行水解^[5,6], 测氮回收率, 比较各浓度的差异。

1.2.3.4 蛋清蛋白质水解变性条件的确定

扩大试验为模拟连续操作, 即稀释、变性、水解在同一容器中进行, 因此变性过程是一个连续的升温过程, 当容器内稀释蛋清温度达到 60℃ 时开始出现变性现象, 此时开始计时, 选择 15、20、25min 三个时间进行变性试验, 然后将变性后蛋清调至水解温度进行水解, 测定氮回收率, 选出适宜的变性条件。

1.2.3.5 操作流程

原料鸡蛋 → 洗蛋、消毒 → 打蛋 → 搅匀 → 稀释至底物浓度 4% → 变性水解 → 离心取上清液 → 水解液

1.2.3.6 水解生产流程 如图 1 所示。

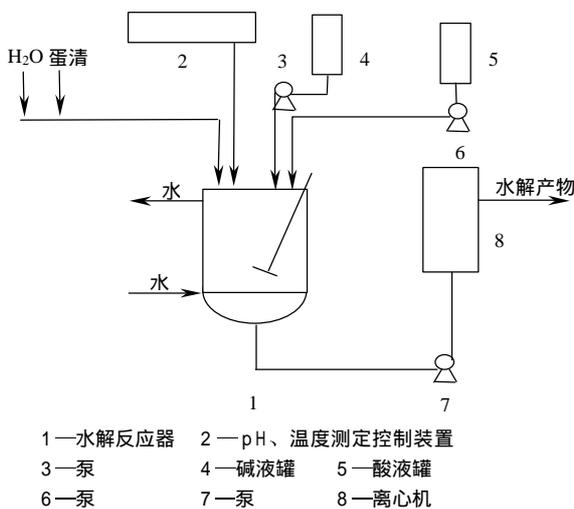


图1 水解生产流程

Fig. 1 Production process of hydrolysis

1.2.4 试验水解用机械设备

1.2.4.1 蛋处理设备

由于试验条件有限, 洗蛋、消毒、打蛋均为人工操作, 主要的蛋处理设备为打蛋机, 将得到的蛋清搅打均匀。蛋壳上含有大量的微生物, 是造成微生物污染的来源, 为防止蛋壳上微生物进入蛋液内, 通常在打蛋前将蛋壳洗净并杀菌。洗涤过的蛋壳上还含有很多细菌, 因此应立即消毒以使蛋壳上细菌减少到最少数量。将洗涤后的蛋采用稀 NaOH 溶液浸泡消毒, 经消毒后的蛋用温水清洗, 然后迅速晾干, 以减少微生物污染。

1.2.4.2 水解反应器

水解反应器为水解主要的设备, 本试验所采用设备为小型发酵罐, 材料为不锈钢, 内部带有搅拌装置, 具有温度控制装置, pH 为另外连接装置控制, 此罐为夹套式, 在水解过程中可对底物进行加热或冷却。蛋清变性、水解和酶灭活过程均在此罐内完成。

1.2.4.3 离心机

水解物生产为分批间歇式生产, 一次水解后, 通过管道将反应液卸出, 本试验离心机为 LD4-20 型离心机, 处理量较大, 每次 2000ml, 本试验转速要求达到 4000r/min, 离心 30min。

1.2.4.4 酸、碱泵

此装置原理为简单的传动过程, 采用自动控制, 即当 pH 低于某一值时, 系统自动反应, 通过传动装置(相当于泵的作用)加碱。加酸的原理也是如此, 只不过酸是反应终止时一次加入。

2 结果与讨论

表1 最佳技术条件的试验结果

Table1 Results of the pilot-scale experiment

试验号	A	B	C	氮回收率
	变性时间(min)	酶用量 E/S(%)	水解时间(min)	(%)
1	1(20)	1(4.5)	1(100)	67.48
2	1	2(5.0)	2(120)	72.11
3	1	3(5.5)	3(140)	76.75
4	2(25)	1	2	70.82
5	2	2	3	74.57
6	2	3	1	71.04
7	3(30)	1	3	73.02
8	3	2	1	68.96
9	3	3	2	74.11
K ₁	216.34	211.32	207.48	
K ₂	216.43	215.64	217.04	
K ₃	216.09	221.90	224.34	

2.1 最佳技术条件的确定

基于小试与扩大试验结果比较发现,在试验规模不同的情况下,搅拌效果和响应时间是主要的影响因素,故在中试试验中应尽量控制好这两个因素,以提高水解效果,试验结果如表1。

极差分析结果表明,采用25 min变性,酶用量5.5%和水解时间140min的条件得到的氮回收率较高,水解效果较好。

根据上述得到的技术条件进行验证试验,结果氮回收率为77.24%,水解效果较好。据此确定水解较优的工艺条件为水解底物变性25min,温度68.5℃,pH8.21,酶用量5.5%和水解时间140min。

2.2 中试水解设计要点

2.2.1 搅拌器类型

由于与其他原料相比,蛋清稀释液仍属粘稠性混合物,故在中试和工业生产中应选择搅拌面积较大,效果较好的锚式或框式搅拌器。它们所应用的转速不大,范围为1~100r/min,可避免蛋清在搅拌过程中的起泡现象,从而获得好的搅拌效果和较高的水解质量。

2.2.2 pH的控制

对于大批量的蛋清蛋白水解,pH控制要较实验室困难得多,准确度也有所下降。pH控制一般采用输入机器内一个值,当底物pH低于此值时,机器会驱动碱泵,向反应液中加入一定量一定浓度的碱液(一般为氢氧化钠溶液),这种控制会有一些的滞后,这是工业生产中应当注意的关键性问题。工业生产中可采用多点多方位测定或提高搅拌效果的方法加以解决。

2.2.3 其他

由于水解物生产为分批间歇式生产,故在生产设计时需备有原料贮罐和产物贮罐。贮罐要求带有夹套或螺旋管,可对原料和产物进行冷却处理,从而既保证水解过程的连贯性,提高生产效率;又可使原料和产物短期保存,避免原料和产物腐败变质^[7]。

3 结论

通过以上研究表明,蛋清蛋白质在Alcalase碱性蛋白酶作用下,水解温度68.5℃,pH8.21,水解时间140min的条件下,水解效果较好。生产设计时需注意搅拌器类型的选择,pH的控制和一些辅助设备的配置。

参考文献:

- [1] 迟玉杰. 蛋白质水解物的研究与开发[J]. 中国食物与营养, 2003, (8): 20-23.
- [2] 田波, 迟玉杰. 蛋清蛋白酶改性条件的研究[J]. 食品与发酵工业, 2003, 29(2): 30-32.
- [3] 程秀范, 侯百枝, 杨浩哲, 等. 鸡蛋的营养与保健功能[J]. 中国禽业导刊, 2001, 18(22): 37.
- [4] 宁正祥. 食品成分分析手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998. 190-192.
- [5] 田波, 迟玉杰. 蛋清蛋白水解物的水解程度与分子量关系的研究[J]. 食品工业科技, 2002, (11): 14-15.
- [6] 蒋雪薇, 罗晓明, 刘永乐. 酶解卵清白蛋白条件的研究及其应用[J]. 食品与机械, 2002, (1): 24-25.
- [7] 冯志彪. 大豆蛋白水解物及其在食品工业中的应用[J]. 山西食品工业, 1999, (2): 33-35, 43.



信息

新型介花籽油研制成功

最近,由印度研究者作出的研究发现一种新型介花籽油可以作为现在的氢化植物油的良好替代品。

根据生化原理,反式脂肪酸在液态植物油经历一个叫做氢化的过程之后可以形成。这种反式脂肪酸在许多食品中都存在,例如饼干、薯条、膨化食品,这种反式脂肪酸在商品加工行业中应用十分普遍,因为它可以在室温下存在,并且可以保存很长时间。

但是就研究表明,反式脂肪酸可以升高胆固醇的水平,引起动脉硬化和堵塞。现在有了这种新型替代品之后,产品中含有了更多的omega-3多不饱和脂肪酸,所以相对更加有利健康。

明年食品标签将实行新国标

为改变食品标签的混乱状况,保证食品安全,国家质检总局、国家标准化管理委员会修订发布了《预包装食品标签通则》,以及预包装特殊膳用食品标签通则》两项强制性国家标准。为了与裸装食品有所区别,使用了“预包装”这一术语,而“特殊膳食用”则是直接采用国际食品法典委员会的法典名称,较原“特殊营养”的称谓更加贴切。新标准进一步强化了食品标签的真实性,不允许利用产品名称混淆食品的真实属性欺骗消费者。对于消费者关心的甜味剂、防腐剂、着色剂,新标准要求必须标示具体的名称;对较长时间贮存不易变质的包装食品,可以免除标示保质期。

据悉,新标准将于2005年10月1日起实施。