

# 亚硝基血红蛋白合成条件的优化及其特性

张坤生 任云霞 天津商学院 食品工程系 300400

**摘 要** 对用氧化一氮和血红蛋白合成的腌肉色素——亚硝基血红蛋白进行研究,优化了合成条件,探讨了不同溶剂与方法下的溶解性以及色素微胶囊化及喷雾干燥等技术。紫外分光光度计图谱证明,其结构与亚硝基亚铁血色原(DNFH)是一致的。

**关键词** 亚硝基血红蛋白 优化 色素

多少年来,亚硝酸盐和硝酸盐被用作肉制品的添加剂,但亚硝酸盐能生产致癌物质<sup>[1, 2]</sup>。为了解决此问题,肉类研究者提出用一组物质来代替亚硝酸盐。替代物中,合成腌肉的色素是个关键。腌肉的色素主要来自肌红蛋白。

由于肌红蛋白与血红蛋白在化学结构上的相似。因此,用血红蛋白来代替肌红蛋白,起到呈色的作用,则是可能的。

## 1 实验材料和方法

### 1.1 实验药品与仪器

用 Beckman DU-7 分光光度计测定色素吸收光谱, HITACHI 扫描电子显微镜(S-520)用于研究扫描图谱。Buchi 喷雾干燥器用于色素的喷雾干燥。

### 1.2 亚硝基血红蛋白合成

血红蛋白从牛血液中获得。牛血来自 New York Porc and Food Exchange (Toronto, Canada)。在采血时需加入一些抗凝剂。离心分离后,弃去血清。200ml 红血球加入 200ml 蒸馏水,在 9000r/min 下均质 3min,然后,再加入 600ml 蒸馏水稀释。用布氏过滤器过滤后,加入抗坏血酸,使 pH 值为 5.90~6.00,通入 N<sub>2</sub> 以排出空气,最后通入 NO 进行亚硝基血红蛋白的合成。

### 1.3 亚硝基血红蛋白合成参数

1.3.1 pH: 用抗坏血酸调整 pH4.57~

7.60。

1.3.2 均质速度: 均质的目的是使血红蛋白从红细胞中出来。采用 POLYTRON 均质机,其速度在 6000~11000r/min。

1.3.3 NO 与血红蛋白反应时间: 氧化一氮与血红蛋白的反应时间为 2~6min。以色度和热稳定性为依据。

1.3.4 调 pH 值所用酸: 抗坏血酸和柠檬酸。

### 1.4 亚硝基血红蛋白的喷雾干燥

1.4.1 普通喷雾干燥: 用 Buchi 喷雾干燥机。调节溶液 5~10% 固形物含量。用 N<sub>2</sub> 作为雾化器。进风温度为 108~132℃, 出风温度为 71~83℃。

1.4.2 微胶囊化喷雾干燥: 上述合成得到亚硝基血红蛋白,在喷雾干燥前,加入  $\beta$ -环糊精、变性淀粉(N-LOK)作为微胶囊剂。

### 1.5 色素稳定性的研究

用 0.04mol/L 碳酸钠和蒸馏水作为溶剂。用磁力搅拌、均质和超声波作为助溶手段来研究色素的稳定性。

### 1.6 色素的一些物性测定

1.6.1 紫外吸收光谱曲线: 合成的硝基化血红蛋白,取 60ml 稀释到 2000ml。在 450~650nm,用紫外分光光度计测定吸收光谱。同样,合成的硝基化血红蛋白加热后,也在 450~650nm 下测定。

1.6.2 扫描电子显微图谱(SEM): 用被膜剂

包埋的和未包埋的色素分别用 HITACHI(S—520)扫描电子显微镜做图谱。

## 2 实验结果及讨论

### 2.1 合成的条件研究

在 NO 与血红蛋白合成前, 需要将血红蛋白溶液的 pH 值调节到最适值, 设定的 pH 值从 4.57 ~ 7.60。从表 1 可以看出, 最佳的 pH 值为  $5.99 \pm 0.1$ 。此值下合成的色素, 色泽最鲜艳, 颗粒均匀细小, 并且容易沉积下来; 在隔绝氧气的条件下非常稳定, 光线对颜色几乎没有影响。

表 1 最适 pH 的选定

抗坏血酸量(g)	pH 值	色素外观
10.00	4.57	红褐色, 颗粒细小
3.38	5.46	较红, 颗粒细小
3.35	5.61	较红, 颗粒细小
2.23	5.99	鲜红, 颗粒细小
1.46	6.61	微红, 颗粒较大
1.47	6.69	微红, 颗粒较大
0.00	7.60	较红, 颗粒大

均质速度 7000 r/min, 3min, 充氮 5min, 硝基化 11min

均质的速度直接关系到血红蛋白从红血球中的溶出率。实验的速度是 6000 ~ 11000r/min, 根据设备(Polytron TM)的极限而定。通过实验, 认为 9000 r/min, 是最适的。太高容易产生泡沫, 从而包进许多气体, 对以后的合成不利。因为, 氧气会氧化血红蛋白。速度太低不能最大程度地抽提出血红蛋白(表 2)。

表 2 最适宜均质速度

速度(r/min)	色素外观
6000	较红, 有较大的悬浮颗粒
8000	微红, 有大的悬浮颗粒
9000	鲜红, 颗粒细小
10000	红褐色
11000	微红, 颗粒细小

(pH  $5.99 \pm 0.1$ , 充氮气 5min, 硝基化 11min)

经研究认为氧化一氮与血红蛋白反应的时间控制在 4min 是适宜的。用抗坏血酸和柠檬酸调节血红蛋白溶液的 pH 值, 结果表明单独使用抗坏血酸, 此合成的色素颜色最鲜艳, 也最稳定。这可能与抗坏血酸的优良的抗氧化性有关。

### 2.2 亚硝基血红蛋白的喷雾干燥

一般地讲, 喷雾干燥时, 固形物的含量在 5% ~ 10% 为宜。硝基化后的血红蛋白, 喷雾干燥时, 掌握在 4.7% 左右。

在欲喷雾干燥的血红蛋白溶液上, 用氮气笼罩, 可最大地防止色素氧化。同时, 氮气还作为喷雾时的雾化剂。Buchi 喷雾干燥器是一种气流式喷雾器, 可制备粒径  $5\mu\text{m}$  以下的产品, 能处理粘度较大的料液。进风温度  $108 \sim 132^\circ\text{C}$ , 出风温度  $71 \sim 83^\circ\text{C}$ , 一般温差  $40^\circ\text{C}$ 。喷雾干燥后水分含量大约为 5%。

### 2.3 色素溶解性的研究

从工业生产考虑, 色素的溶解速度应当越快越好。不同的溶剂和搅拌方法对溶解速度有影响。溶剂选用 0.04mol/L 的碳酸钠溶液和纯蒸馏水, 溶解性的测定通过重力沉降后的残渣在室温下干燥称重来比较。研究发现, 0.04mol/L 碳酸钠溶液的溶解性较好。搅拌方法选择了超声波水浴均质机和磁力搅拌。结果表明, 磁力搅拌较好(见表 3)。均质的溶解性最差。因为, 均质时色素液的上部形成了许多泡沫, 造成色素的损失。超声波比磁力搅拌溶解性稍差, 可能是搅拌的强度不够。因此, 在 0.04mol/L 碳酸钠溶液中用磁力搅拌色素的溶解性最好。

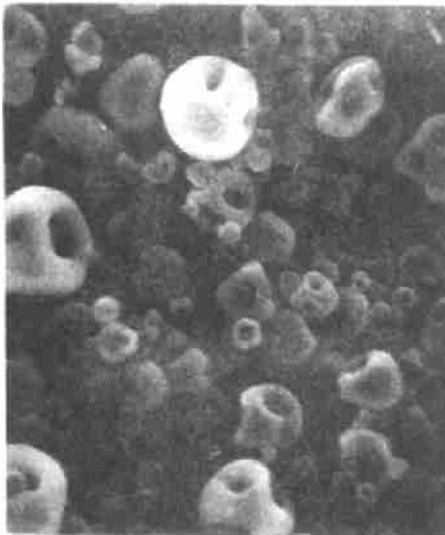
表 3 色素在不同溶液和方法下的溶解性

溶液	磁力搅拌	均质	超声波
蒸馏水	86.4%	44.1%	86.6%
碳酸钠	96.6%	38.2%	94.1%

### 2.4 色素的电子扫描图谱

为了研究色素的颗粒形状和大小, 使用了电子显微镜扫描(SEM)和包埋的扫描图。两图比较, 经被膜剂包埋后色素直径增大,

形状似乎没有变化。其共同特点是：外形凹陷，其原因可能是，色素颗粒含有水份，在做扫描图谱时采用真空，造成了颗粒内缩



未包埋



包埋

图1 亚硝基血红蛋白扫描图

## 2.5 色素的紫外吸收光谱

用合成的硝基化血红蛋白溶液，经稀释后，用紫外分光光度计测定吸收值(图2)。同样，将硝基化血红蛋白溶液加热后，也在450~650nm做吸收图谱，则得到图3的曲线。

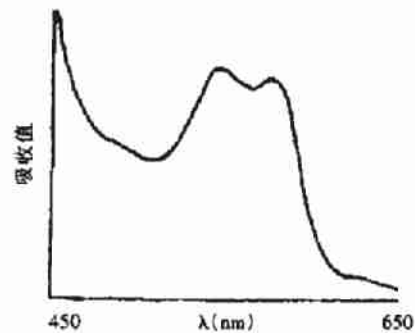


图2 未加热色素的吸收光谱

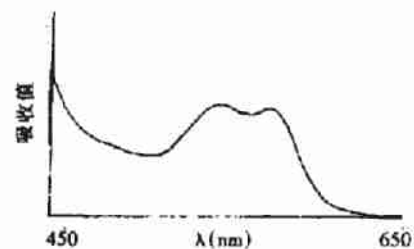


图3 加热色素的吸收光谱

无论是加热的，还是未加热的，其紫外吸收光谱与文献报道的二亚硝基亚铁血色原(DNFH)<sup>[3,4]</sup>相似，因此，可以认为，亚硝基血红蛋白与二亚硝基亚铁血色原在结构上有相同之处。这为进一步研究亚硝基血红蛋白的结构及性质提供了一定的依据。

## 3 结论

用血红蛋白，经氧化-氮硝基化后，合成亚硝基血红蛋白是可行的。从紫外吸收光谱看出，其结构与二亚甲基亚铁血色原有类似之处。合成的优化工艺：血红蛋白溶液的pH值为 $5.99 \pm 0.1$ ，均质用9000r/min；在100%抗坏血酸的作用下，反应时间4min可得到色泽鲜红，稳定的色素；在0.04mol/L碳酸钠均质溶液中，用磁力搅拌，溶解性好；用被膜剂包埋后，色素更稳定。

### 参考文献

- 1 L. J. Rubin et al. A Nitrite-free Meat-curing system, L'Actualite chimique canadienne, juillet / aout 1990, 18-21.

- 2 A. R. O'BOYLE et al. Encapsulated Cured - Meat Pigment and its Application in Nitrite - free Ham. Journal of Food Science, 1992, 57, (4): 807 ~ 812.
- 3 F. SHAHIDI, et al. Preparation of the Cooked Cured - Meat Pigment, Dinitrosyl Ferrohemochrome, from Hemin and Nitric Oxide. Journal of Food Science, 1985, 50, 272 ~ 273.
- 4 Zhang Kumsheng. Preparation of the Pigment Included Nitrosyl Ferrohemochrome from Nitric Oxide and Hemoglobin. Food and Fermentation Industries, 1995, 4, 29 ~ 32.

## 几种抗氧化剂对鱼油的抗氧化效果的研究

方承志 方诩 于兰 广西大学食品工程系 530004

**摘 要** 用 3 种新型的食品抗氧化剂——植酸钠、茶多酚、特丁基对苯二酚(TBHQ)添加到纯鱼油中, 在 5℃ 和 20℃ 的条件下贮存, 对其过氧化值(POV)和酸价(AV)进行测试和分析, 并比较它们在鱼油中的抗氧化效果。

**关键词** 鱼油 抗氧化剂 过氧化值 酸价

**Abstract** In order to prevent oxidation of fish oil and prolong storage life, adding three anti - oxidants —— sodium phytate, polyphenol of tea, TBHQ into refined fish oil under 5 ℃ and 20℃. Test and analyze the change of POV and AV and get antioxiation effect of three anti - oxidants to fish oil.

**Key Words** Fish oil Anti oxidant POV AV

近年来, 由于鱼油中, 尤其是海鱼油中的二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)对人体有良好的保健作用, 因此在食品、医药等领域被广泛应用。但 EPA、DHA 是高度不饱和脂肪酸, 极易被氧化酸败, 生成醛类、酮类和低分子脂肪酸, 产生一种特殊的刺激性臭味和苦味, 影响了鱼油的风味、品质和营养价值, 甚至对人体有害。必须添加抗氧化剂抑制酸败。近年来我国食品添加剂工业发展迅速, 出现了许多新的抗氧化剂。因此, 选出几种具有代表性的抗氧化剂进行研究。

### 1 实验材料

纯化鱼油(不含抗氧化剂); 抗氧化剂——茶多酚、植酸钠、特丁基对苯二酚(TBHQ)均为食用级和固体状粉末。

### 2 试样制备

- 2.1 对照组: 不添加任何抗氧化剂的纯化鱼油;
- 2.2 茶多酚组: 将茶多酚用无水乙醇溶解, 按 200ppm 的儿茶素添加到鱼油中, 混合均匀(1ppm =  $10^{-6}$ );
- 2.3 植酸钠组: 植酸钠按 200ppm 添加到鱼油中, 混合均匀;
- 2.4 TBHQ 组: TBHQ 按 200ppm 添加到鱼油中, 混合均匀;

### 3 测试方法

将添加不同抗氧化剂的鱼油分别在 5℃、20℃ 下避光贮存, 按 GB5009.37-85 的方法定期取样测定过氧化值(POV)、酸价(AV)。