

碱性蛋白酶降解骨胶原制备食品明胶工艺

吕坪^{1,2}, 魏立新^{1*}, 杜玉枝¹, 王安柱³, 李国庆³

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海西宁 810008; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049; 3. 青海明胶股份有限公司, 青海西宁 810015)

摘要 [目的]研究碱性蛋白酶降解骨胶原的工艺条件, 探索其应用于骨料制备明胶的可行性。[方法]采用碱性蛋白酶降解骨胶原制备食品明胶, 通过正交试验 $L_6(3^3)$ 得出酶解制备食品明胶的最佳工艺参数。[结果]结果表明: 最佳工艺参数为 20 万 U/g 碱性蛋白酶用量为干骨质量的 0.005%, 酶解温度 60, 酶解 pH 值为 8, 酶解时间 5 h, 升温灭酶, 提胶一次 2 h; 获得食品明胶指标值分别为: 得胶率 20.0%, 黏度 3.1 mPa·s, 冻力 193 Bloomg。[结论]该研究为获得品质和产量俱佳食品明胶提供了试验依据。

关键词 碱性蛋白酶; 骨胶原; 食品明胶; 工艺

中图分类号 TS251.94 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)20-06235-01

Technology of Preparing Food-grade Gelatin by Alkaline Protease Hydrolyzing Bone Collagen

LV Ping et al (Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining, Qinghai 810015)

Abstract [Objective] Technical conditions of alkaline protease hydrolyzing bone collagen were studied. And its application feasibility in preparing food-grade gelatin was discussed. [Method] The food-grade gelatin was prepared from alkaline protease hydrolyzing bone collagen. The optimum preparation conditions were investigated by using orthogonal design $L_6(3^3)$. [Result] Result showed that the optimum enzymatic hydrolysis conditions were 60 water-heating, pH8, 0.005% (dry-bone mass ration) enzyme concentration and 5 h reaction time. During hoisting temperature to terminate the enzymatic reaction, gelatin was extracted by hot water in 2 hours. The yield of the food-grade gelatin was 20.0%. Gelatin had viscosity of 3.1 mPa·s and gel strength of 193 Bloom g. [Conclusion] Experimental basis for obtaining food-grade gelatin with high quality and output were provided.

Key words Alkaline protease; Bone collagen; Food-grade gelatin; Technology

碱性蛋白酶是一种蛋白水解内切酶, 很多文献报道将其用于皮料、制革及皮明胶的酶法制备, 较少用于骨料。徐润等介绍 2709 碱性蛋白酶在 40、pH 值 11~12 的水溶液条件下降解皮料获得明胶^[1]。王方国采用 0.5% 碱性蛋白酶降解羊皮制革脚料获得明胶^[2]。1996 年, Dalev PG 等人处理废皮料, 采用 50 000 U/g 碱性蛋白酶, 酶用量 2.5 g/kg 湿皮, 水解获得 5%~10% 的胶, 进一步进行纯化处理获得可食用明胶^[3]。由于碱性蛋白酶的酶解条件较接近传统碱法工艺条件, 所以碱性蛋白酶的引入既可以用于单独的酶解制胶工艺研究, 又可以使碱法和酶法的结合成为可能。笔者主要研究碱性蛋白酶降解骨胶原的工艺条件, 探索其应用于骨料制备明胶的可行性, 以期获得品质和产量俱佳食品明胶。

1 材料与方

1.1 仪器与材料 恒温水浴锅(上海光地仪器设备有限公司); ND-2 型勃氏黏度测试仪(天津市国铭医药设备有限公司); JS-2 型冻力测试仪(天津市国铭医药设备有限公司)。骨素 2.0~4.0 cm(青海明胶股份有限公司)经浸酸后, 用浓度 0.5% 氢氧化钠中和, 水洗多次至 pH 值 7 左右, 自然晾干备用。碱性蛋白酶(Alkaline protease)(BR): 酶活 1 20 万单位, 厦门兴隆达试剂有限公司, 批号: 20051227。

1.2 方法

1.2.1 酶解制备明胶的试验方法。 酶用量单因素试验: 考察酶用量对明胶制备的得胶率、黏度的影响。将干骨素按 1.0:2.5 的体积比加入水, 浸泡一段时间, 置于设置一定酶解温度的水浴中, 适宜 pH 条件下, 分别添加干骨量 0.001%、0.010%、0.100%、1.000%、5.000% 的碱性蛋白酶, 间断性均匀搅拌, 酶解一定时间。采用升温灭酶法, 将反应体系放入 90 水浴 20 min, 在放入冷水浴冷却 15 min, 调体系 pH 值

为 6~7。60, 提胶 2 h。正交试验: 选用 $L_6(3^3)$ 正交试验, 酶解时间、酶解 pH、酶解温度 3 因素的水平设定, 按照酶自身性质及文献值^[1-3]获得(表 1); 酶用量因素的水平由单因素试验结果来确定。

表 1 试验设计

水平	因素				加酶量 g/kg 干骨
	A 酶解温度	B 酶解时间 h	C 酶解 pH	D	
1	40	3	7		0.05
2	50	4	8		0.50
3	60	5	9		5.00

1.2.2 样品测定。 得胶率的计算: 得胶率 = 所得明胶干胶片重 / 原料干骨素重 $\times 100\%$ 。明胶黏度和冻力的测定: 按 GB6783-94《国家标准食品添加剂明胶》的要求, 配制 6.67% 的明胶溶液, 然后使用勃氏黏度仪及冻力仪进行黏度和冻力的测定。

2 结果与分析

2.1 酶用量单因素试验 由图 1、2 可知, 当固定酶用量一个因素时, 得胶率和黏度与酶用量之间的关系基本呈相反的趋势, 而黏度、冻力是明胶品质性能的 2 个重要指标, 二者正相关性不强, 但变化的基本趋势一致。这表明欲获得产量、品质俱佳食品明胶, 必须兼顾多种因素、全面考虑工艺条件。

2.2 正交试验

2.2.1 正交试验结果。 表 2 表明, 就得胶率单指标而言, 得胶率越高越好, 因此 9 号试验结果最好。就黏度和冻力值考虑, 《国家标准食品添加剂明胶》GB6783-94 中规定, 酸法骨明胶的黏度不低于 1.8 mPa·s, 冻力不低于 100 Bloom g, 碱法骨明胶的黏度不低于 2.5 mPa·s, 冻力不低于 100 Bloom g。由此规定可知, 1、5、6、7、8、9 号试验结果都符合。综合得胶率和黏度、冻力 3 个评价指标, 可以得出, 9 号试验条件结果最佳。

作者简介 吕坪(1979-), 女, 山东烟台人, 硕士研究生, 研究方向: 明胶及胶原蛋白生物活性。* 通讯作者。

收稿日期 2007-03-29

(下转第 6239 页)

在空间上存在着地区性差异。全省只有东部少数地区由于优越的地理区位和良好的经济基础,协调度基本为正值;西部如神农架林区等地则由于经济处于起步阶段,协调度也较高;而广大的东北、北部、中部、南部、西北和西南各市、州则处于较差的协调状态。

参考文献

[1] 许学强,周一星,宁越敏.城市地理学[M].北京:高等教育出版社,1997:43-57.
 [2] 李小建.经济地理[M].北京:高等教育出版社,1999:163-188.
 [3] 崔功豪.区域分析与规划[M].北京:高等教育出版社,1999:46-100.
 [4] 湖北省统计局.湖北统计年鉴 1979-2005 [M].北京:中国统计出版社,2006.
 [5] 刘耀彬,宋学锋.改革开放以来中国工业化与城市化协调度研究[J].科技导报,2005,23(2):48-52.
 [6] 张颖,赵民.论城市化与经济发展的相关性:对钱纳里研究成果的辨析和延伸[J].城市规划汇刊,2003(4):10-18.
 [7] 景普秋,张复明.工业化与城市化关系研究综述与评价[J].中国人口·资源与环境,2003,13(3):34-39.
 [8] 李伯华,刘盛佳,王文靖.湖北省城市化水平现状分析[J].理论月刊,2005(9):76-78.

[9] 刘传明,李娜.湖北省地区经济差异评价及协调对策[J].湖北社会科学,2004(1):27-28.
 [10] 吕宾,张小雷.新疆城市化与经济发展协调性分析[J].干旱区地理,2002,29(2):189-192.
 [11] 刘定惠,李仁东,朱超洪.湖北省地级市城市化水平综合评价研究[J].湖北大学学报,2004,26(1):87-91.
 [12] 付海雷,李利.论城市化与产业结构的互动关系[J].辽宁工学院学报,2005,7(4):30-32.
 [13] QI JIN LI. Agglomeration and radiation effect of the pull of urbanization[J].Chinese Geographical Science,2003(3):224-227.
 [14] 李郁.中国城市化滞后的经济因素:基于面板数据的国际比较[J].地理研究,2005(5):441-429.
 [15] 张守中.我国不同经济发展水平的省城市化道路初探[J].湖北大学学报,2003,25(2):172-176.
 [16] 吕璐.城市化水平与经济发展[J].天府新论,2005(4):58-60.
 [17] 陈波翀.城市推动城市经济增长的实证分析[J].云南地理环境研究,2005,17(3):48-52.
 [18] 陈力勇.中国工业化与城市化协调发展问题研究[J].改革研究,2004(4):15-17.
 [19] ZHIGANG XU, RAN TAO. Urbanization rural land system and social security in China[J].China & World Economy,2004(6):11-23.

(上接第 6235 页)

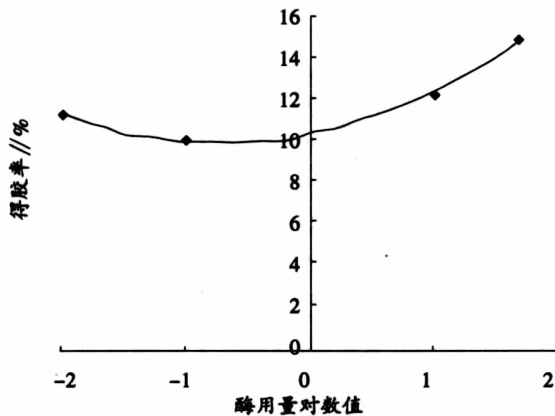


图1 得胶率与酶用量对数值的关系

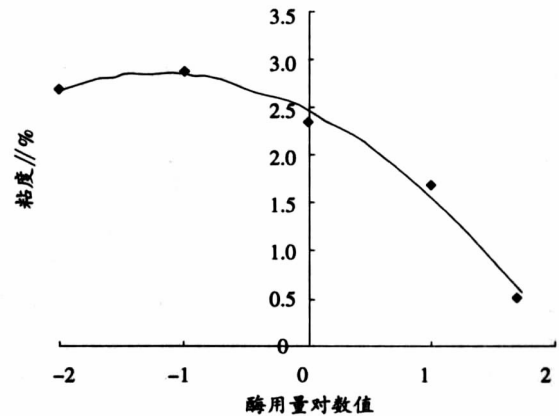


图2 胶粘度与酶用量对数值的关系

2.2.2 方差分析结果。由方差分析得出,影响碱性蛋白酶降解骨胶原制备明胶得率的显著因素是酶解温度,其他因素主次顺序为时间>加酶量>pH。影响黏度的显著因素是酶解温度、酶解 pH 和加酶量,其中影响因素主次顺序为:温度>加酶量>pH。影响冻力的显著因素是加酶量,其他因素主次顺序为温度>pH>时间。即酶解温度对碱性蛋白酶制备明胶过程影响较大,对明胶得率和黏度都有显著影响,加酶量对所得明胶黏度、冻力有显著影响,酶解时间只对得胶率略有

影响,pH 只对明胶黏度较有影响。

3 结论

该试验结果得出的最佳工艺条件为,20 万 U/g 碱性蛋白酶用量为干骨质量的 0.005%,酶解温度 60,酶解 pH 值 8,酶解时间 5 h,升温灭酶,提胶 2 h。获得食品明胶指标值分别为:得胶率 20.0%,黏度 3.1 mPa·s,冻力 193 Bloomg。试验结果表明,碱性蛋白酶对降解骨素亦表现良好。酶解过程受很多因素共同影响,除上述酶解温度、酶解时间、pH、加酶量 4 因素以外,还可能受其他因素的制约。

参考文献

[1] 徐润,梁庆华.明胶的生产及应用技术[M].北京:中国轻工业出版社,2000:29-30.
 [2] 王方国.酶在羊皮制革脚料中的应用研究[J].中国皮革,1996,25(2):35-38.
 [3] SIMEONOVA L S, DALEV P G. Utilization of a leather industry waste[J].Waste Management, 1996, 16(8):765-769.
 [4] 宋小岩.骨胶原的酶解仅应与酶法制革工艺研究[D].北京:北京化工大学,2003.

表 2 正交试验设计结果

试验号	因素				评价指标		
	A	B	C	D	得胶率 %	黏度 mPa·s	冻力 Bloomg
1	1	1	1	1	10.875	2.5	171
2	1	2	2	2	11.625	2.1	147
3	1	3	3	3	14.500	1.7	60
4	2	1	2	3	13.125	1.2	50
5	2	2	3	1	14.000	2.7	176
6	2	3	1	2	15.625	2.7	175
7	3	1	3	2	15.125	3.5	200
8	3	2	1	3	19.875	2.7	150
9	3	3	2	1	20.000	3.1	193