

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 $L_3(3^4)$ 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的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 $L_3(3^4)$. [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 P G 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的食品明胶。

1 材料与方法

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。①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。②正交试验:选用 $L_3(3^4)$ 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			
	A 酶解温度/℃	B 酶解时间/h	C 酶解 pH	D 加酶量/g/kg 干骨
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。①得胶率的计算:得胶率=所得明胶干胶片重/原料干骨素重)×100%。②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、品质俱佳的食品明胶,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)

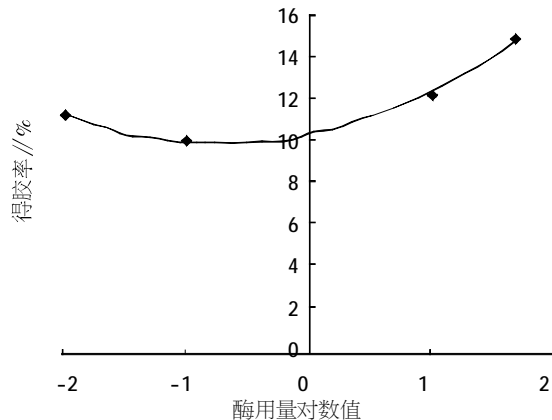


图1 得胶率与酶用量对数值的关系

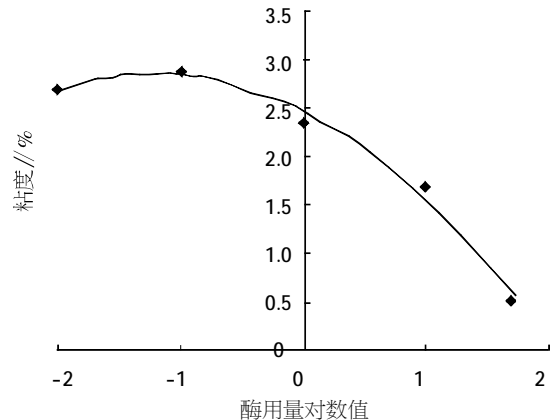


图2 胶粘度与酶用量对数值的关系

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版工艺研究[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