

# 酶解猪血浆蛋白粉脱色工艺的研究

熊涛 邹春梅 (长江大学生命科学学院, 湖北荆州 434025)

**摘要** [目的] 探索可食用的猪血浆蛋白粉的制备方法。[方法] 采用酶解法水解猪血浆, 利用活性炭对酶解液脱色, 制备猪血浆蛋白粉。比较在不同脱色条件下活性炭的脱色效果, 以确定最佳脱色工艺条件。[结果] 活性炭对猪血浆酶解液的脱色率为90.60%。脱色温度对血浆酶解液的脱色效果影响显著, 而活性炭用量和脱色时间对脱色效果无显著影响, 它们对脱色效果的影响顺序为: 脱色温度 > 活性炭用量 > 脱色时间。利用活性炭对猪血浆酶解液进行脱色的最佳工艺条件为: 活性炭用量为4.00%, 脱色时间为30 min, 脱色温度为50℃。[结论] 该试验制得的血浆蛋白粉呈淡黄色粉末状、无腥味、无杂质、蛋白质含量为68.25%、室温下在水中的溶解度达92.35%, 可广泛应用于食品行业。

**关键词** 猪血浆; 酶解; 活性炭; 脱色; OD值; 食用蛋白粉

中图分类号 S852.16 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)09-03673-03

## Study on the Preparation of Plasma Protein Flour from Swine by Enzymatic Hydrolysis and Its Decoloration Technology

XIONG Tao et al (College of Life Science, Yangze University, Jingzhou, Hubei 434025)

**Abstract** [Objective] The research aimed to discuss the preparation methods of edible swine plasma protein flour. [Method] Swine plasma was hydrolyzed by enzymolysis method and the enzymolysis liquid was decolorized by using active carbon to prepare swine plasma protein flour. The decoloration effects of active carbon under different decoloration conditions were compared to confirm the optimum technology conditions of decoloration. [Result] The decoloration rate of active carbon to swine plasma enzymolysis liquid was 90.60%. Decoloration temperature had significant influences on the decoloration effects on plasma enzymolysis liquid and the dosage of active carbon and decoloration time had no significant effect on the decoloration effects on plasma enzymolysis liquid. Their influences on the decoloration effects in order was decoloration temperature > the dosage of active carbon > decoloration time. The optimum technology conditions of decolorizing swine plasma enzymolysis liquid by using active carbon were as follows: the dosage of active carbon of 4.00%, the decoloration time of 30 min and the decoloration temperature of 50℃. [Conclusion] The plasma protein flour made in the test was light yellow flour, without fishy smell and impurity. Its protein content was 68.25% and its solubility in water at room temperature reached 92.35%. It could be widely applied in food industry.

**Key words** Swine plasma; Enzymolysis; Active carbon; Decoloration; OD value; Edible protein flour

猪血全血的比重为1.06, 呈弱碱性, pH值平均为7.47<sup>[1]</sup>。猪血中各种成分的含量相当稳定, 蛋白质含量高达17%~21%, 含18种氨基酸, 尤其是赖氨酸含量很高, 接近9%<sup>[2]</sup>, 还含有多种微量元素、维生素、激素、酶系和其他生物活性物质。采用离心技术可以将猪血分离成血浆和血细胞2个部分。血浆是一种黄橙色液体, 约占猪血总量的65%, 含8%蛋白质; 约35%细胞成分主要是红细胞浓缩物。含有的蛋白质主要是血红蛋白和血红素铁。猪血蛋白在食品加工中表现出良好的功能性。含有60%白蛋白的血浆蛋白质具有较高的持水性和脂肪结合能力, 可以用来增加肉制品的蛋白质含量, 改善其结构和质量, 而在烘焙工业可以代替鸡蛋蛋白<sup>[3]</sup>。另外, 血浆中含有大量免疫球蛋白、血小球等成分。研究证明, 人类食用含有猪血血浆成分的食品后能够明显地提高机体的免疫力。目前国内这类血浆的研发尚处于萌芽阶段。

由于猪血在运输保存过程中会发生少量红血球的溶血现象, 导致血浆颜色加深并带有一定的血腥味, 从而限制了猪血在食用方面的应用范围。很久以来, 人们对血液的利用只限于用来作血粉、血肠和动物性饲料等初级产品上, 有相当一部分不得不作为肥料使用, 致使大量宝贵的血液资源被浪费, 并造成了环境污染。随着现代分析技术及分离加工技术的发展, 曾经制约血液利用的不利因素逐渐被打破。近年来, 国际上对血液利用的研究重新形成热点, 特别是在食品上的应用与开发。我国也明确指出了要利用动物血液提取血红素、蛋白粉、凝血酶、超氧化物歧化酶(SOD)等生化产品<sup>[4]</sup>。为了充分利用血液资源, 克服血制品中色泽处理难

的问题, 国内外的专家学者进行了大量科学试验, 探讨了血液的脱色机理, 找出了几种脱色方法。一般有物理脱色法、有机溶剂萃取法、氧化脱色法、吸附脱色法、酶水解脱色法、表面活性剂脱色法、综合脱色法等<sup>[5]</sup>。一般应用较多的是酶解法, 具有用量少、成本低、副反应少、易于进行大规模生产、产品易被人体消化吸收等优点。但采用单一的脱色方法效果不是很理想, 多种方法结合起来应用将是血液脱色制备产品的发展趋势。笔者结合血浆蛋白粉的加工特性, 采用酶解结合活性炭脱色以制取无色血浆蛋白粉, 并在不同的脱色条件下比较活性炭的脱色效果, 从而确定最佳脱色工艺条件。

### 1 材料与方 法

**1.1 材料** 供试猪血购于荆州市西门屠宰场, 要求新鲜、无污染。

**1.2 主要试剂** 柠檬酸钠(分析纯), 氯化钠(分析纯), 氢氧化钠(分析纯), 蒸馏水, 粉末活性炭, 碱性蛋白酶。

**1.3 仪器和设备** 101A-1型干燥箱由上海市实验仪器总厂生产; LD4-2A型离心机由北京医用离心机厂制造; 数显恒温水浴锅HH-4由常州国华电器有限公司生产; 722型分光光度计由上海精密科学仪器有限公司生产。另外, 还需凯氏定氮装置、紫外灭菌机、抽滤装置、电子天平等。

**1.4 猪血浆蛋白粉的制备工艺** 采集新鲜猪血 加抗凝剂 离心分离 血浆(上层) 酶解 酶解液 活性炭脱色 抽滤 滤液 烘箱干燥 研磨 灭菌 成分检测 成品。

### 1.5 操作要点

**1.5.1 抗凝处理。** 在洁净的容器内收集猪血, 加入0.7%柠檬酸三钠做抗凝剂, 同时加入1.5%盐水5%~10%<sup>[6]</sup>, 充分搅拌, 用纱布过滤除去其中的纤维蛋白原, 并放入冷库(2~4℃)<sup>[7]</sup>中保存, 以防止猪血凝固变质。

基金项目 湖北省教育厅基金(Q200712005)资助。

作者简介 熊涛(1974-), 男, 湖北襄樊人, 博士, 副教授, 从事生物医药方面的研究。

收稿日期 2007-11-19

**1.5.2 离心分离。**利用血浆与血细胞相对密度的差异,可采用离心机将两者分离<sup>[8]</sup>。胡奇伟等研究了离心转速和离心时间对猪血浆分离的影响,确定最佳分离条件为离心机转速2 500 r/min,对应离心力1 388 g,时间10 min<sup>[9]</sup>。

**1.5.3 酶解。**用酶活性>20 000 单位的碱性蛋白酶水解离心后的血浆,过滤,去除残渣,得猪血浆酶解液。用3% NaOH 调pH 值至8.0,加入5% 碱性蛋白酶,45 ℃ 保温水解12 h。

**1.5.4 猪血浆酶解液中有色物质最大吸收波长的确定<sup>[10]</sup>。**由于难以确定猪血浆酶解液中有色成分最大吸收峰,所以要将猪血浆酶解液稀释一定的浓度,在紫外-可见光分光光度计下,在可见光波长范围测定光密度值,绘制图表,找出酶解液中有色物质的最大吸收峰。

**1.5.5 活性炭脱色。**根据正交试验结果所确定的最佳脱色工艺条件,对酶解液进行脱色处理,抽滤,收集滤液。

**1.5.6 烘箱干燥。**将滤液放入烘箱中,温度不超过60 ℃<sup>[11]</sup>,至干燥成块状固体。

**1.5.7 研磨。**用研钵将块状固体研磨至粉末状,即得成品。

**1.5.8 灭菌。**将研磨所得的蛋白粉通过紫外灭菌机灭菌1.5~2.5 min。

**1.5.9 成分检测。**包括理化指标如蛋白质含量、沉淀率和微生物指标等。

**1.6 活性炭脱色的单因素试验** 酶解液呈现浅红色,影响最终成品的外观。利用活性炭,将血浆酶解液脱色,脱色液过滤后测定其光密度值。选取酶解液脱色过程的假定影响因素参数(活性炭用量、脱色时间、脱色温度)进行单因素试验。取20.00 g 酶解液,加入活性炭的量设定为血浆量的1%、2%、3%、4%、5%;脱色时间设定为15、20、25、30、35 min,脱色温度设定为30、40、50、60、70 ℃。先固定其中2个因素,改变1个因素,对酶解液进行脱色试验,过滤,滤液在最大吸收波长下测定光密度值<sup>[12]</sup>。

**1.7 活性炭脱色的正交试验** 根据单因素试验的结果,选择活性炭用量、脱色温度、脱色时间按L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)安排正交试验,得到脱色工艺的最优组合。

## 1.8 检测方法

**1.8.1 脱色率的计算<sup>[13]</sup>。**

$$\text{脱色率} = \frac{\text{脱色前吸光度} - \text{脱色后吸光度}}{\text{脱色前吸光度}} \times 100\% \quad (1)$$

**1.8.2 血浆蛋白粉中蛋白质含量的测定。**采用凯氏定氮法<sup>[14]</sup>。

**1.8.3 沉淀率<sup>[15]</sup>。**测定成品在水中的溶解度。

**1.8.4 微生物检测。**采用平板计数法。

## 2 结果与分析

**2.1 猪血浆酶解液中有色物质最大吸收波长的测定** 取5 ml 酶解液稀释至50 ml,在紫外-可见光分光光度计下,在可见光波长范围内测定其OD 值。由图1可知,猪血浆酶解液中有色物质在410 nm 处有最大吸收峰,其OD 值为0.915,因此可采用分光光度法考察活性炭脱色法的效果。

### 2.2 单因素试验

**2.2.1 活性炭用量对脱色效果的影响。**准确称取20.00 g 血浆酶解液4份,加入活性炭的量分别为酶解液的1%、2%、3%、4%、5%,在50 ℃ 恒温水浴锅中脱色30 min,不断用玻璃

棒搅拌,取出,抽滤,取滤液5 ml 稀释至50 ml,在410 nm 处测定其吸光值。由图2可知,随着活性炭用量的增大,猪血浆酶解液的吸光值OD 值随之下降;当活性炭用量在3%时,OD 值下降缓慢。因此,选用活性炭用量为3%左右。

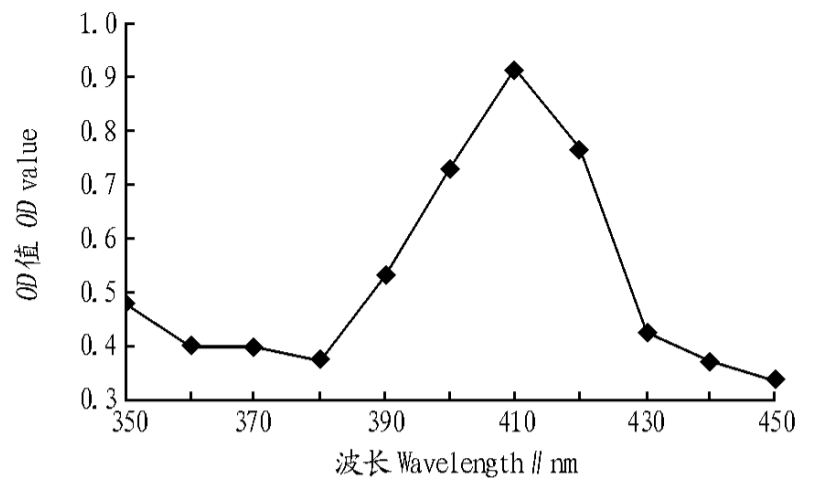


图1 猪血浆酶解液在波长350~450 nm 处的扫描曲线

Fig.1 Scanning curve for enzymatic hydrolysate of porcine blood plasma with the wavelength of 350~450 nm

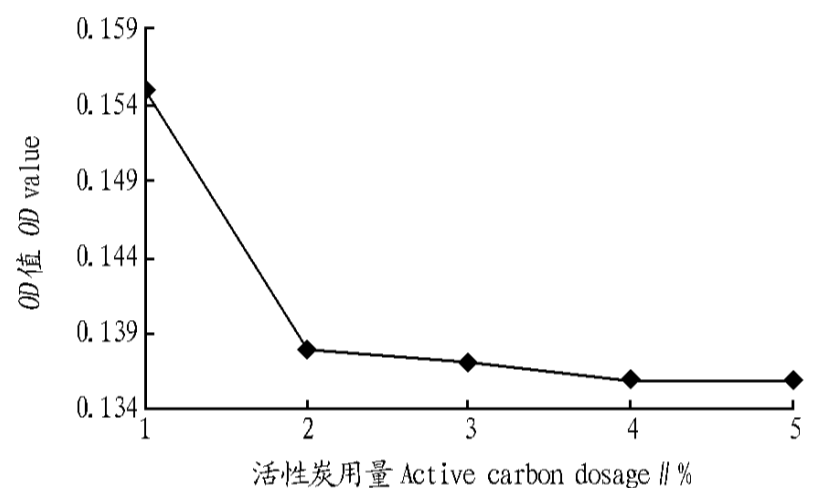


图2 活性炭用量对猪血浆酶解液脱色效果的影响

Fig.2 Effects of active carbon dosage on decoloration effect of enzymatic hydrolysate of porcine blood plasma

**2.2.2 脱色时间对脱色效果的影响。**准确称取20.00 g 血浆酶解液4份,加入3%活性炭,放入50 ℃ 恒温水浴锅中脱色,时间分别为10、15、20、25、30 min,抽滤,取5 ml 滤液稀释至50 ml,在410 nm 处测定其吸光值。由图3可知,不同的脱色时间溶液的OD 值不同。当活性炭与溶液接触30 min 时,溶液的OD 值降为最低。由此,选择脱色时间为30 min 左右。

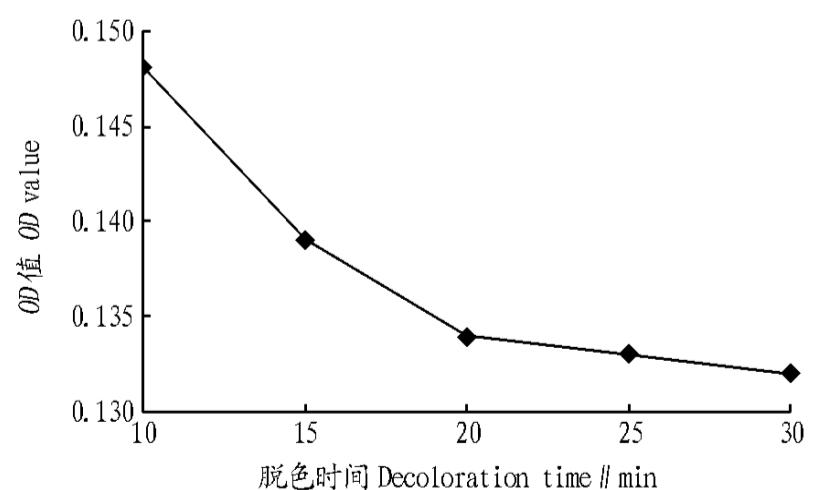


图3 脱色时间对猪血浆酶解液脱色效果的影响

Fig.3 Effects of decoloration time on decoloration effect of enzymatic hydrolysate of porcine blood plasma

**2.2.3 脱色温度对脱色效果的影响。**准确称取20.00 g 酶解液4份,加入3%活性炭,分别在温度为30、40、50、60、70 ℃ 的水浴锅中脱色30 min,抽滤,取5 ml 滤液稀释至50 ml,在410 nm 处测定其吸光值。由图4可知,猪血浆酶解液的OD 值随

着脱色温度的升高而降低,而脱色温度高于60 ℃时,血浆酶解液中的蛋白成分会发生变性而有少许絮状沉淀产生。因此,脱色温度应控制在50 ℃左右。

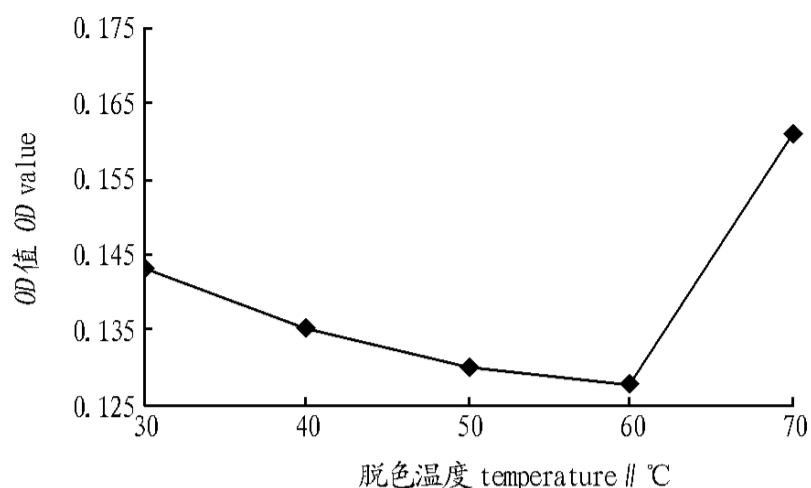


图4 脱色温度对猪血浆酶解液脱色效果的影响

Fig. 4 Effects of temperature on decoloration effect of enzymatic hydrolyzate of porcine blood plasma

**2.3 正交试验** 在单因素试验的基础上,在猪血浆酶解液在410 nm处初始吸光度即OD值为0.915的条件下,对活性炭用量(A)、脱色时间(B)和脱色温度(C)3个因素进行正交试验,每个因素选3个水平,以OD值为考察指标,确定猪血浆酶解液的最佳脱色工艺条件,具体的试验因素水平见表1。

表1 活性炭脱色试验因素水平

Table 1 Factors and levels in active carbon decoloration test

水平Level	因素Factor		
	A %	B min	C
1	2	25	40
2	3	30	50
3	4	35	60

方差分析结果表明,脱色温度对血浆酶解液脱色效果的影响达到了0.05显著水平,活性炭用量和脱色时间对脱色效果均无显著影响。由表2可知,对脱色效果的影响大小顺序为脱色温度>活性炭用量>脱色时间。综合比较,得出脱色的最佳工艺条件为A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>,即活性炭用量为4%,脱色时间为30 min,脱色温度为50 ℃。

**2.4 验证试验** 准确称取20.00 g酶解液,加入4%活性炭,在50 ℃水浴锅中搅拌30 min,抽滤,收集滤液;取5 ml滤液稀释至50 ml,在410 nm处测定吸光值为0.086;根据脱色率计算公式,计算得活性炭对猪血浆酶解液的脱色率为90.60%;将剩余滤液放入烘箱中干燥,调节温度为45 ℃,至完全干燥;取出,用研钵研磨成粉末状,将所得的血浆蛋白粉通过紫外灭菌机灭菌1.5~2.5 min,即得成品。

## 2.5 成品检测

**2.5.1 感官指标。**血浆蛋白粉呈淡黄色粉末状,无腥味,无杂质。

**2.5.2 蛋白质含量。**利用凯氏定氮法,测得血浆蛋白粉中蛋白质含量68.25%。

**2.5.3 沉淀率。**测定成品在室温下在水中的溶解度为

92.35%,所以成品的沉淀率为7.65%。

表2 活性炭脱色血浆酶解液正交试验结果与分析

Table 2 The results of orthogonal test for active carbon decoloration on enzymatic hydrolyzate of porcine blood plasma

编号No.	A	B	C	D(空白Blank)	OD值 OD value
1	1	1	1	1	0.140
2	1	2	2	2	0.115
3	1	3	3	3	0.133
4	2	1	2	2	0.133
5	2	2	3	1	0.143
6	2	3	1	2	0.147
7	3	1	3	2	0.137
8	3	2	1	3	0.125
9	3	3	2	1	0.118
K <sub>1</sub>	0.388	0.410	0.412	0.401	
K <sub>2</sub>	0.423	0.383	0.366	0.399	
K <sub>3</sub>	0.380	0.398	0.413	0.391	
k <sub>1</sub>	0.129	0.137	0.137	0.134	
k <sub>2</sub>	0.141	0.128	0.122	0.133	
k <sub>3</sub>	0.127	0.133	0.138	0.130	
极差 R	0.014	0.009	0.016	0.004	

**2.5.4 微生物指标。**细菌总数 20 000 个/g,符合食品卫生标准。

## 3 结论

该试验采用碱性蛋白酶与粉末活性炭相结合脱色,达到了很好的效果,脱色率达到90.60%。通过测定猪血浆酶解液的吸光度值,确定脱色效果的方法简单可行。活性炭脱色猪血浆酶解液的最佳工艺条件为粉末活性炭用量4%,脱色温度50 ℃,时间30 min。

## 参考文献

- [1] 程池,蔡永峰.可食用动物血液资源的开发利用[J].食品与发酵工业,2003,24(3):66-72.
- [2] 刁治民,杜军华,马寿福.动物血液的开发利用[J].青海科技,2003,7(3):7-9.
- [3] EDUARD D, ELENA S, MONCAT, et al. Surface functional properties of blood plasma protein fractions[J]. Eur Food Res Technol, 2007, 226: 207-214.
- [4] 王军,陈红亮,张向东,等.氯化血红素提取新工艺研究[J].当代化工,2001,9(3):25-26.
- [5] 于美娟,马美湖.畜禽血液的脱色技术研究进展[J].肉类工业,2004(10):24-28.
- [6] 楚杰,李树品,蒋千里.酶法猪血食用蛋白粉的研究[J].食品工业科技,1999,20(3):27-28.
- [7] 陈晓燕.鹿血血浆和血球蛋白粉加工工艺研究[J].西南农业大学学报,2003,25(4):374-376.
- [8] 王春维,胡奇伟.喷雾干燥血浆蛋白粉生产工艺研究进展[J].中国粮油学报,2006,21(3):396-399.
- [9] 胡奇伟.血浆蛋白分离工艺参数的研究[J].粮食与饲料工业,2004(9):29-31.
- [10] 王文岭,陈秀兰,冉廷红,等.活性炭对桃胶水解液的脱色研究[J].工艺技术,2006(10):104-106.
- [11] 邓红玉.血粉饲料的开发和利用[J].浙江畜牧兽医,1999(2):12-13.
- [12] 向东,王国政,赖凤英,等.活性炭对南瓜粗多糖液的脱色研究[J].河南科学,2004,22(6):780-782.
- [13] 杨云,田润涛,苗明三,等.大枣渣多糖活性炭脱色工艺研究[J].河南中医学院报,2004,19(1):35-36.
- [14] 单季先,陈悦.食品中蛋白质含量测定方法的探讨[J].中国卫生检验杂志,2005,15(4):453-454.
- [15] 王丽娟.动物血浆蛋白的应用与选择[J].饲料博览,2005(10):43-45.