

蚕蛹蛋白肽的制备及其运动饮料研制

陈 静¹, 郑明珠², 王 浩³

(1. 吉林农业大学军事体育教研部, 吉林 长春 130118; 2. 吉林农业大学食品科学与工程学院, 吉林 长春 130118; 3. 吉林农业大学研究生学院, 吉林 长春 130118)

摘 要: 以超临界提取油脂后的蚕蛹蛋白粉为原料, 采用碱性蛋白酶水解制备蚕蛹蛋白肽, 通过正交试验确定了蚕蛹蛋白肽酶解的最佳工艺条件为: 酶解温度 55℃, 酶解时间 2.5h, 固液比 1:7(m/m), pH8, 酶用量 7%([E]/[S]), 此条件下水解度 29.97%。并进行缓解体力疲劳功能的蚕蛹蛋白肽运动饮料的研制, 得到最佳工艺为: 蛋白肽与水比例 1:5(V/V), 蔗糖量 6%, 柠檬酸量 0.15%。

关键词: 蚕蛹蛋白肽; 缓解体力疲劳; 运动饮料

Development of A Sports Beverage of Silkworm Pupa Protein Peptide

CHEN Jing¹, ZHENG Ming-zhu², WANG Hao³

(1. Department of Military Physical Education, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China ;
2. College of Food Science and Engineering, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;
3. Graduate Department, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract: A sports beverage was developed using silkworm pupa protein powder defatted by supercritical CO₂ fluid extraction as the starting material by means of enzymolysis, debittering and desalination, and formulation. Five crucial factors affecting degree of hydrolysis (DH) of silkworm pupa protein by alkali protease were optimized to attain the maximum DH using orthogonal array design. Activated carbon and was used for debittering of the hydrolysate obtained followed by desalination using 717-type anion-exchange resin and 732-type cation-exchange resin. Subsequently, a certain amounts of water, sucrose and citric acid were blended with the debittered and desalinated hydrolysate to produce sports beverage. To obtain a product with the highest sensory score, the hydrolysate/water ratio and amounts of added sucrose and citric acid were also optimized using orthogonal array design. Under optimized hydrolysis conditions [temperature 55 °C, pH 9.0, solid/liquid ratio 1:7 (m/m), and enzyme/substrate ratio 7%], and the DH after 2.5 h was 29.97%. An optimal sports beverage product which can alleviate physical fatigue and has nice taste and special flavor of silkworm pupa could be obtained, when 5-fold volume of water was blended with the pretreated hydrolysate of silkworm pupa protein, with addition of 6% sucrose and 0.15% citric acid.

Key words: silkworm pupa protein peptide; anti-fatigue; sports beverage

中图分类号: TQ936.16

文献标识码: B

文章编号: 1002-6630(2009)14-0318-03

蚕蛹(*Bombyxmori* L.)又名“小蜂儿”,为蚕蛾科家蚕的蛹。我国养蚕历史悠久,鲜蚕蛹年产量可达50万吨左右。蚕蛹具有较高的营养价值,自古就作为滋补强身,和脾胃的食物和药物^[1]。现代科学试验证明,蚕蛹中含有丰富的营养成分,干蚕蛹中含25%~30%粗脂肪、55%~60%粗蛋白、2%~4%糖、2%~3%甲壳质、3%~5%灰分,还含有多种微量元素和维生素等。

蚕蛹蛋白是一种优质纯天然全价蛋白质,除含有60%以上的人体必须氨基酸外,还富含核黄素、尼克酸、锌、铁、铜等营养素,具有补充机体营养、促进生长发育的作用,可广泛用于婴幼儿、孕妇、老人、

久病体弱者及运动员的营养食品添加剂和滋补剂^[2]。蚕蛹肽是蚕蛹蛋白经酶水解、精制后所得到的肽类,它具有缓解体力疲劳功能,能够参与人体代谢,特别是心脑血管系统的代谢,可使沉积在心脑血管壁的脂质沉积重新参与代谢,使血管得到软化;并可快速降低血液中多余的胆固醇及脂类物质,并通过软化血管达到一定程度的降低血压作用^[3]。

运动食品又称运动营养食品^[4],是与运动相关的一类功能食品,即为运动的特殊需要而研制或经运动人体实验的研究证明具有提高运动能力,促进疲劳消除和恢复体力的一系列特殊食品。

收稿日期: 2009-05-18

作者简介: 陈静(1965—),女,副教授,本科,研究方向为运动生理生化。E-mail: chen17666@163.com

目前已有研究表明蚕蛹蛋白可缓解体力疲劳^[5]。由于蚕蛹含有大量的油脂,在蚕蛹蛋白肽的制备过程中会产生影响,因此需对蚕蛹进行脱脂处理,采用超临界二氧化碳萃取技术提取蚕蛹油,可得到含油率低的蚕蛹蛋白粉^[6]。本实验以蚕蛹蛋白粉为原料,采用酶解方法制备蚕蛹蛋白肽,并研制蚕蛹蛋白肽运动饮料,为蚕蛹资源的开发及其在运动营养领域的应用奠定一定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

蚕蛹蛋白粉:市售蚕蛹干燥后,采用超临界二氧化碳萃取的方法脱脂后得到。

2709 碱性蛋白酶 北京房山酶制剂厂。

1.2 仪器与设备

TDL-5 型离心机 上海安亭科学仪器厂;BS224S 电子天平 北京赛多利斯仪器系统有限公司;PHS-3C 精密 pH 计 上海精密科学仪器有限公司;磁力搅拌器 威海宏协化工机械有限公司;恒温磁力搅拌器 金坛富华仪器有限公司

1.3 方法

1.3.1 蚕蛹蛋白肽酶解工艺的研究

以脱脂后的蚕蛹蛋白粉为原料,采用碱性蛋白酶酶解的方法制备蚕蛹蛋白肽,通过单因素试验可知酶解温度、pH 值、固液比(m/m)、酶用量($[E]/[S]$)、酶解时间五个因素对蚕蛹分离蛋白水解作用的影响较大,为进一步优化水解条件,以水解度(DH)为指标,通过 $L_{16}(4^5)$ 正交试验设计,确定蚕蛹蛋白肽的最佳酶解工艺参数,因素水平表见表 1。

表 1 $L_{16}(4^5)$ 正交试验因素水平

Table 1 Factors and levels in orthogonal array design for optimizing alkali protease-catalyzed hydrolysis of silkworm pupa protein

水平	因素				
	A 酶解温度(°C)	B pH	C 固液比(m/m)	D 酶用量(%)	E 酶解时间(h)
1	45	8.0	1:7	4	1.5
2	50	8.5	1:8	5	2.0
3	55	9.0	1:9	6	2.5
4	60	9.5	1:10	7	3.0

1.3.2 水解液的精制

采用活性炭吸附的方法对酶解液进行脱苦。

表 2 苦味值评分标准表

Table 2 Standard for bitterness scoring of hydrolysate of silkworm pupa protein

奎宁	2C	3C	4C	5C	6C	7C	8C
苦味分值	1	2	3	4	5	6	7

以奎宁为基准物质,配置标准溶液,苦味值的评分标准(表 2)。当标准液浓度为 $C=3 \times 10^{-6} \text{mol/ml}$ 时,刚

好无苦味,定 C 值为下限,32C 为上限(此时若再增加奎宁浓度,苦味基本上不再增加)^[7]。

采用 717 型强碱性和 732 型强酸性阴离子交换树脂对酶解液进行脱盐处理。将一定体积的蚕蛹蛋白水解上清液以 10BV/h 的流速通过 H^+ 型阳离子交换树脂进行脱盐处理,收集,合并流出液。然后以同样的流速将水解液通过 OH^- 型阴离子交换树脂至流出液呈弱酸性,收集,合并流出液,测定脱盐后的水解物中粗盐分的含量。

1.3.3 蚕蛹蛋白肽运动饮料的研制

1.3.3.1 工艺流程

蚕蛹蛋白粉→酶解→蚕蛹蛋白肽→精制→调配→灌装→灭菌→成品

1.3.3.2 操作要点

混合调配:将蔗糖、柠檬酸按照一定比例加入到精制后的肽液中,即得基本料液;灌装:采用 70~80℃ 热灌装,可减少饮料中溶解的空气量;灭菌:采用 115℃,10~15min 的条件进行灭菌。

1.3.3.3 配方设计

由于蚕蛹蛋白肽具有缓解体力疲劳的作用,因此本试验进行了运动员专用的蚕蛹蛋白肽饮料的研制。在单因素试验的基础上,以对饮料影响比较大的蔗糖量、柠檬酸量、蚕蛹蛋白肽与水比例(V/V)三个因素,进行 $L_9(3^4)$ 正交试验设计,因素水平见表 3。感官评分见表 4。

表 3 正交试验因素水平表

Table 3 Factors and levels in orthogonal array design for optimizing formulation of sports beverage of silkworm pupa protein peptide

水平	因素		
	A 料水比(V/V)	B 蔗糖量(%)	C 柠檬酸量(%)
1	1:4	6	0.10
2	1:5	8	0.15
3	1:6	10	0.20

表 4 感官评分指标

Table 4 Sensory index evaluation scores

项目	评分标准	分值
色泽	淡黄色	2
状态	有蚕蛹的香气,酸甜适口	3
滋气味	澄清透明,无沉淀	5

1.3.4 指标测定

蛋白质含量测定:微量凯氏定氮法^[8];水解度测定:甲醛滴定法^[8]。

2 结果与分析

2.1 蚕蛹蛋白肽最佳酶解工艺的确定

为优化水解条件,在单因素试验的基础上,采用 $L_{16}(4^5)$ 正交试验,以水解度为指标,确定蚕蛹蛋白肽最佳酶解工艺,试验结果见表 5。

由表5极差分析可得,影响水解反应的主次关系为: $A > E > D > B > C$,说明在蚕蛹蛋白肽酶解过程中影响水解度的主要因素是酶解温度,其他因素影响顺序依次是酶解时间、酶用量、pH值,固液比对蚕蛹蛋白肽的水解度影响最小。

根据表5中各因素的R值大小可以确定各因素的较优水平组合是 $A_3B_1C_1D_4E_3$,正交试验中无此方案,通过验证试验确定蚕蛹蛋白肽酶解最佳的工艺参数为:酶解温度 55°C ,酶解时间 2.5h,固液比 1:7(m/m),pH8,酶用量 7%。在此条件下水解度为 29.97%。

表5 蚕蛹蛋白肽酶解工艺正交试验结果

Table 5 Arrangement of orthogonal array design for optimizing alkali protease-catalyzed hydrolysis of silkworm pupa protein and the experimental results

试验号	因素					
	A酶解温度($^\circ\text{C}$)	BpH	C固液比(m/m)	D酶用量(%)	E酶解时间(h)	水解度(%)
1	1	1	1	1	1	16.268
2	1	2	2	2	2	20.013
3	1	3	3	3	3	21.321
4	1	4	4	4	4	23.307
5	2	1	2	3	4	23.840
6	2	2	1	4	3	28.878
7	2	3	4	1	2	23.671
8	2	4	3	2	1	18.324
9	3	1	3	4	2	29.856
10	3	2	4	3	1	23.744
11	3	3	1	2	4	26.344
12	3	4	2	1	3	26.220
13	4	1	4	2	3	28.503
14	4	2	3	1	4	23.685
15	4	3	2	4	1	23.502
16	4	4	1	3	2	25.852
K_1	80.909	98.467	97.342	89.844	81.838	
K_2	94.677	96.320	93.575	93.184	99.392	
K_3	106.164	96.824	95.172	96.743	106.908	
K_4	101.542	91.717	97.239	103.557	95.154	
k_1	20.227	24.617	24.336	22.461	20.460	
k_2	23.669	24.080	23.394	23.296	24.848	
k_3	26.541	24.206	23.793	24.186	26.727	
k_4	25.386	22.930	24.310	25.890	23.790	
R	6.314	1.687	0.942	3.429	6.267	

2.2 蚕蛹蛋白肽的精制

采用活性炭吸附的方法对酶解液进行脱苦处理,分析 0.5%、1.5%、3.0%、5.0%、7.0% 的活性炭用量对脱苦结果的影响,结果表明 3% 的活性炭用量可以消除酶解液的苦味,取得满意的效果。

采用强酸型阳离子交换树脂和强碱型阴离子交换树脂对酶解液进行脱盐处理,可除去 91.2% 的盐分。

2.3 蚕蛹蛋白肽运动饮料的研制

在单因素试验的基础上,以蔗糖量、柠檬酸量、蚕蛹蛋白肽与水比例三个因素,以饮料的口感、色泽、状态等感官评价为指标,进行 $L_9(3^4)$ 正交试验设计,试验结果如下。

由表6极差分析可得,影响蚕蛹蛋白肽饮料感官的主

次因素为: $B > C > A$,即蔗糖浓度>柠檬酸浓度>稀释倍数,蚕蛹蛋白肽饮料制备的最佳工艺组合为: $A_2B_1C_2$,即蛋白肽与水比例 1:5(V/V),蔗糖量 6%,柠檬酸量 0.15%。以此工艺制备的饮料口感良好,具有蚕蛹的獨特风味。

表6 正交试验结果

Table 6 Arrangement of orthogonal array design for optimizing alkali protease-catalyzed hydrolysis of silkworm pupa protein and the experimental results

试验号	因素			感官评分 (满分 10 分)
	A料水比(V/V)	B蔗糖量(%)	C柠檬酸量(%)	
1	1	1	1	7.5
2	1	2	2	8
3	1	3	3	6
4	2	1	2	9
5	2	2	3	7
6	2	3	1	6
7	3	1	3	8
8	3	2	1	6
9	3	3	2	6
K_1	21.5	24.5	19.5	
K_2	22	21	23	
K_3	20	18	21	
k_1	7.17	7.33	6.67	
k_2	8.17	7	6	
k_3	6.5	7.67	7	
R	0.66	2.17	1.17	

2.4 产品质量指标

感官指标:淡黄色,澄清,有光泽;理化指标:肽含量 $\geq 0.5\%$,可溶性固形物 $\geq 8\%$,重金属(铅、砷)未检出;卫生指标:细菌总数 ≤ 10 个/ml,大肠菌群未检出,致病菌未检出。

3 结 论

采用碱性蛋白酶水解制备蚕蛹蛋白肽,通过正交试验确定了蚕蛹蛋白肽最佳酶解工艺条件为:酶解温度 55°C ,酶解时间 2.5h,固液比 1:7(m/m),pH8,酶用量([E]/[S]) 7%,此条件下水解度为 29.97%。试验以此蚕蛹蛋白肽为原料进行缓解体力疲劳的蚕蛹蛋白肽运动饮料的研制,得到最佳工艺为:蛋白肽与水比例 1:5(V/V),蔗糖量 6%,柠檬酸量 0.15%,并在 115°C 条件下,灭菌 10~15min,在此条件制得的饮料最佳。

参考文献:

- [1] 浦锦宝,魏克民.蚕蛹的传统应用和现代研究概况[J].浙江中医学院学报,1999,10(5):57-58.
- [2] 熊燕飞,陈怀新.蚕蛹的综合利用[J].天然产物研究与开发,1999,11(1):82-85.
- [3] 郭清泉,张兰威.食品中活性肽的研究[J].食品与机械,1999(6):12-14.
- [4] 何轶,秦丹.运动食品及其研究现状[J].中国食物与营养,2007(12):46-48.
- [5] 徐家玉,吕晓华.蚕蛹蛋白缓解运动性疲劳的实验研究[J].现代预防医学,2008,35(12):2309-2313.
- [6] 王浩,郑明珠,刘景圣,等.超临界 CO_2 萃取蚕蛹油工艺条件的研究[J].食品科学,2007,28(7):109-111.
- [7] 赵新淮.大豆蛋白水解物的精制研究[J].东北农业大学学报,1997,28(1):94-97.
- [8] 张龙翔,张庭芳,李令媛.生化实验方法和技术[M].北京:高等教育出版社,1984:55-59.