

提高羊骨中钙的生物可利用性的研究

(中央民族大学生物与化学系, 北京 100081) 赵昌杰

摘 要 羊骨是少数民族地区廉价而丰富的有机钙源。为了能够充分有效地利用这一资源, 用物理法与酶法相结合, 从提高制品中的钙溶率和进入人体后的钙吸收率两个层次出发, 研究了提高羊骨中钙的生物利用率的基本工艺流程和最佳工艺条件。

关键词 羊骨 酶解 微粒化 钙溶率 生物可利用性

Abstract Sheep bone is one kind of cheap and rich organic sources of calcium in minority nationality regions. To take full and effective use of this source, the basic technological process and optimal processing conditions were studied on the basis of in vitro calcium solubility and in vivo calcium absorption by the combination of physical and enzyme methods.

Key words sheep bone; hydrolysis with enzymes; particulate; ratio of soluble calcium; biological availability

中图分类号: TS251.94 文献标识码: A
文章编号: 1002-0306(2003)10-0079-03

近些年的研究证明, 缺钙是造成人体许多疾病和使人体进入亚健康状态的主要原因之一, 而补钙不仅要保证一定的钙含量, 更要注重钙的有效利用^[1]。钙的可溶性是提高钙生物可利用性的首要条件。羊骨是少数民族地区较丰富的可再利用资源, 到目前为止一直未得到充分的开发利用, 造成了极大的浪费。生物骨作为有机钙源已有较多的研究, 但对羊骨的研究还未见报道。为了提高羊骨的有效利用, 促进少数民族地区的经济发展, 本文在提高羊骨的钙可溶性方面进行了研究。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

羊骨 新鲜采购, 符合兽医卫生标准; 香辛料的配制与使用方法 略; 中性蛋白酶 Novo 公司, 经测定酶活为 10 万 U/g; 其它试剂与药品 均为分析纯。

电热式蒸汽消毒器 YXQ.SG41.280B 型, 上海医用核子仪器厂; 绞肉机 8 型, 浙江省永康市前金厨房设备厂; 胶体磨 JMS-50 型, 廊坊通用机械厂。

1.2 工艺流程

鲜羊骨→清洗→高压蒸煮→乳糜化→酶解→微粒化

1.3 操作要点

1.3.1 高压蒸煮 添加香辛料, 用电热式蒸汽消毒器进行高压蒸煮。

1.3.2 乳糜化 用绞肉机将已熟制的原料绞制成泥。

1.3.3 酶解 用蛋白酶将体系中的蛋白质进行水解。

1.3.4 微粒化 用胶体磨将体系均质化, 使颗粒进一步细化。

1.4 检测方法

1.4.1 成分测定^[2] 蛋白质含量的测定采用微量凯氏定氮法; 钙含量的测定采用高锰酸钾滴定法; 脂肪含量的测定采用索氏抽提法。

1.4.2 蛋白溶率和钙溶率 分别指体系中可溶性的蛋白质含量或钙含量占体系中总蛋白质含量或钙含量的百分比。

1.4.3 粒度 指制品中颗粒的大小。稀释后显微镜下测量, 计算出平均值。

1.4.4 蛋白质水解度 pH-stat 法^[3]。

2 结果与讨论

2.1 高压蒸煮条件的确定

为了去膻除腥和防止脂类的氧化, 蒸煮前加入香辛料, 使产品形成特有的色、香、味。

以蒸煮压力、时间、料液比为三个考察因素, 以制品的综合得分 (指不经酶解而最后微粒化后制品的颗粒细度和口味, 两者各占 5 分) 为考察指标, 在单因素试验的基础上, 各确定三个水平, 进行三因素三水平的正交试验, 设计方案及结果见表 1。

由表 1 可见, 蒸煮压力和蒸煮时间对产品的综合风味影响较大, 而料液比对成品的颗粒细度和口味仅有很小的影响。高压蒸煮的最优方案为 $A_2B_2C_1$ 或 $A_2B_2C_2$, 即综合考虑颗粒细度和口味, 高压蒸煮的最佳工艺条件为压力 0.10MPa、时间为 1.5h、料液比为 1:1.0~1:1.5。实验结果表明, 蒸煮压力太高和蒸煮时间太长, 虽然骨骼易碎, 颗粒细度变小, 但同时破坏了较多的风味物质, 所以成品综合得分不高; 蒸煮

收稿日期: 2003-01-29

作者简介: 赵昌杰(1964-), 男, 研究方向: 食品工艺。

表1 蒸煮条件正交试验设计方案及结果

实验号	A 蒸煮压力 (MPa)	B 蒸煮 时间(h)	C 料液比(羊骨 与水的重量比)	综合 得分
1	1(0.05)	1(1.0)	1(1:1.0)	2.0
2	1	2(1.5)	2(1:1.5)	5.5
3	1	3(2.0)	3(1:2.0)	3.5
4	2(0.10)	1	2	5.5
5	2	2	3	8.0
6	2	3	1	7.5
7	3(0.13)	1	3	5.0
8	3	2	1	8.0
9	3	3	2	6.5
K ₁	11.0	12.5	17.5	
K ₂	21.0	21.5	17.5	
K ₃	19.5	17.5	16.5	
k ₁	3.7	4.2	5.8	
k ₂	7.0	7.2	5.8	
k ₃	6.5	5.8	5.5	
R	3.3	3.0	0.3	
优方案	A ₂	B ₂	C ₁ 或C ₂	

压力太低或蒸煮时间太短,有些风味物质不能形成,

而且骨骼不易碎,颗粒粗,所以综合得分也不高。只有蒸煮压力和时间适当,才能同时保证成品的风味和颗粒的细度。以正交试验得出的最优方案为条件进行验证试验,结果综合得分为8.5,高于正交试验中的最高分8.0分,因而结果是可信的。

2.2 乳糜化

乳糜化可以减小颗粒细度,增大酶作用的表面积,有利于酶解反应的进行,并且也有利于最后微粒化工艺的进行。

2.3 酶解

骨骼的蛋白质包括骨骼本身的胶原和骨骼上附着的少量的肌肉,经水解后蛋白质变成多肽,这一方面减轻了胃肠道的消化负担,另一方面使可溶性的蛋白质含量增加,从而使更多的钙保持在溶解状态。水解蛋白质可采用多种方法,其中以蛋白酶水解法最为温和,不易造成氨基酸等营养物质的破坏。蛋白酶的种类非常多,若以溶解转化蛋白质的能力为指

表2 酶解条件正交试验设计方案及结果

实验号	A B C D				各指标的试验结果				
	酶底比 * (%)	水解度 (%)	温度 (℃)	pH	蛋白溶率 (%)	钙溶率 (%)	苦味	粒度 ** (μm)	所需时间 (min)
1	1(0.5)	1(6)	1(50)	1(7.0)	42.1	4.20	-	4.58	86
2	1	2(8)	2(55)	2(7.5)	67.9	11.2	-	2.74	92
3	1	3(10)	3(60)	3(8.0)	76.3	14.9	+	2.17	140
4	2(1.0)	1	2	3	40.8	4.53	-	4.25	28
5	2	2	3	1	71.3	12.8	-	2.16	50
6	2	3	1	2	74.5	13.1	+	2.10	73
7	3(1.5)	1	3	2	46.6	4.94	-	3.49	25
8	3	2	1	3	64.2	10.2	-	2.66	47
9	3	3	2	1	78.4	15.4	+	1.70	77
蛋白溶率	K ₁	186.3	129.5	180.8	191.8				
	K ₂	186.6	203.4	187.1	189.0				
	K ₃	189.2	229.2	194.2	181.3				
	k ₁	62.10	43.17	60.27	63.93				
	k ₂	62.20	67.80	62.37	63.00				
	k ₃	63.07	76.40	64.73	60.43				
	R	0.97	33.23	4.46	3.50				
	优方案	A ₃	B ₃	C ₃	D ₁				
钙溶率	K ₁	30.30	13.67	27.50	32.40				
	K ₂	30.43	34.20	31.13	29.24				
	K ₃	30.54	43.40	32.64	25.15				
	k ₁	10.10	4.56	9.17	10.80				
	k ₂	10.14	11.40	10.38	9.75				
	k ₃	10.18	14.47	10.88	8.38				
	R	0.08	9.80	1.71	2.42				
	优方案	A ₃	B ₃	C ₃	D ₁				
苦味	K ₁	+	-	+	+				
	K ₂	+	-	+	+				
	K ₃	+	+++	+	+				
	k ₁	+ / 3	-	+ / 3	+ / 3				
	k ₂	+ / 3	-	+ / 3	+ / 3				
	k ₃	+ / 3	+	+ / 3	+ / 3				
	R	0	+	0	0				
	优方案	同	B ₁ , B ₂	同	同				
粒度	K ₁	9.49	12.32	9.34	8.44				
	K ₂	8.51	7.56	8.69	8.33				
	K ₃	7.85	5.97	7.82	9.08				
	k ₁	3.16	4.12	3.11	2.81				
	k ₂	2.84	2.52	2.90	2.78				
	k ₃	2.62	1.99	2.61	3.03				
	R	0.54	2.13	0.50	0.25				
	优方案	A ₃	B ₃	C ₃	D ₂				
所需时间	K ₁	318	139	206	213				
	K ₂	151	189	197	190				
	K ₃	149	290	237	215				
	k ₁	106	46.3	68.7	71.0				
	k ₂	50.3	63.0	65.7	63.3				
	k ₃	49.7	96.7	79.0	71.7				
	R	56.3	50.4	13.3	8.4				
	优方案	A ₃	B ₁	C ₂	D ₂				

注:* 酶底比是指加入的中性蛋白酶与底物蛋白质的质量百分比;** 粒度是指经微粒化后体系中颗粒的平均大小。

表3 酶解和微粒化对粒度的影响

微粒化前粒度(μm)		微粒化后粒度(μm)	
不经酶解 颗粒太大,无法统计	经酶解 颗粒不均,1012 $\pm$ 172	不经酶解 均匀,8.91 $\pm$ 1.65	经酶解 均匀,2.34 $\pm$ 0.14

标,许多研究^[4-6]表明,细菌蛋白酶的作用最佳,而考虑到成本,选用中性细菌蛋白酶最好。以中性蛋白酶作为水解用酶,以蛋白溶率、钙溶率、苦味程度、粒度以及反应所需时间为考察指标,以水解的酶底比、水解度、pH和温度作为影响因素,在单因素试验的基础上,各选择3个水平,进行四因素三水平的正交试验,设计方案和结果见表2。

由表2可见,对于蛋白溶率、钙溶率、苦味程度、粒度等四项考察指标来说,都是水解度这一因素的影响最大,是重点需要考虑的因素。首先,我们要求产品无苦味,从实验结果来看,苦味只与水解度有关,水解度6%和8%的均无苦味,所以对于苦味这一因素来说,这两个水平均可。对于蛋白溶率、钙溶率和粒度3个考察指标来说,最优方案均是A₃、B₃、C₃,但A和C两个因素的极差R很小,可在各因素平衡时再考虑它们的影响,同时,对B因素来说,考虑到苦味指标,选择B₂。从所需时间来看,A和B两个因素有显著影响,C和D的影响较小;与其它指标综合考虑,取A₂、B₂、C₂和D₂。因此,根据实验结果综合考虑进行平衡,酶解的工艺条件确定为:A₂、B₂、C₂和D₂,即酶底比为1%、水解度为8%、温度为55℃、pH为7.5。用这套工艺参数进行实验,所得制品无苦味,其蛋白溶率为73.9%,钙溶率为12.6%,平均粒度为2.34 μm ,反应所需时间为41min。与正交试验结果比较是最优方案。

2.4 微粒化

颗粒的大小是多个因素和多个步骤共同作用的结果。由于体系的复杂性,这里仅对酶解和微粒化两个步骤的影响进行了实验研究,结果如表3所示。

由表3结果可见,微粒化步骤对粒度具有极其显著的影响,无论酶解与否,必须经微粒化才能使颗粒细致和均匀;酶解也有使颗粒细化的作用,同样微粒化的条件下,经酶解的粒度降为不经酶解粒度的1/3以下。

2.5 该工艺的综合考察

骨骼中的钙主要以羟磷灰石结晶的形式存在,溶解度很低,要想促进其中钙的吸收利用,必须在充分微粒化的基础上促进它的溶解。高压蒸煮一方面为进一步的微粒化打下了基础,另一方面也促使少部分的蛋白质和钙转变为溶解状态。乳糜化是促使颗粒细化的第一大步骤,这一简单的物理方法大大提高了后续酶解和微粒化的效果。酶解是整个工艺中的重要步骤,通过酶解,体系中增加了大量的可溶性肽和氨基酸,氨基酸使磷酸钙转变为可溶性的氨

基酸钙,而可溶性的肽有螯合钙的功能^[7],并能以金属肽分子的形式直接被小肠粘膜高效地吸收^[8]。由实验结果也可以看出,酶解大大提高了体系中的蛋白溶率和钙溶率,并且经微粒化后使粒度降低至2.34 μm ,这样经人体消化道的进一步作用,钙溶率会有更大的提高。微粒化是促使颗粒细化的最关键的步骤,这一物理方法大大强化了上游工序的功效,一方面大大降低了粒度,有利于进入人体后消化液的作用,因为1997年美国政府审查机构通过大量严格实验指出,平均直径在110 μm 以下的骨粒,在与人体胃液相同的pH下是可溶的,而本研究骨粒的平均直径是2.26 μm ,因此进入人体后溶解的效率会非常高,这样就极大地促进了其吸收效率;另一方面还能使体系均质而稳定,大大提高了其感官质量。

用物理法与酶法相结合,通过降低体系的颗粒细度和提高钙溶率,可促进羊骨中钙的利用率。增加制品中钙溶率的主要措施是通过蛋白质的酶解使可溶性肽和氨基酸含量提高,进而促进钙的溶解;进入人体后钙的吸收率的提高,主要通过使制品微粒化而有利于消化液作用而实现。两个层次、两个主要措施密不可分,它们的结合最终大大提高了骨钙的生物利用率。

参考文献:

- [1] 赵瑞香,等.利用酶法促使骨粉中钙转化的研究[J].食品科学,2000,21(3):34~36.
- [2] 黄伟坤,等.食品检验与分析[M].北京:轻工业出版社,1989,1.52~53,226~227,24~25.
- [3] 王璋.食品酶学[M].北京:轻工业出版社,1990,4.194~195.
- [4] O'meara G M, et al. Enzyme hydrolysis of waste meat tissue[M]. Presented at: Chemeca 81-9th Australasian conference on chemical engineering, 1981. 511~518.
- [5] Webster J C, et al. Protein hydrolysis from meat industry by-products[J]. Meat Sci, 1982(7): 147~157.
- [6] Ledward D A, Lawrie R A. Recovery and utilization of by-product proteins of the meat industry [J]. Chem Technol. Biotechnol, 1984, 34B: 223~228.
- [7] Mykkanen H M, et al. Enhanced absorption of calcium by casein phosphopeptides in rachitic and normal chicks[J]. Nutr, 1980, 110: 2141~2152.
- [8] Shoaf C, et al. Isolation and characterization of four peptides hydrolysates from the brush border of rat intestinal mucosa[J]. Biochem Biophys Acta, 1976, 445: 694~703.