

β -环糊精脱除蛋黄中胆固醇的研究

陈汝财^{1,2}, 王明力², 沈 丹^{1,2}

1(贵州大学化学工程学院, 贵州贵阳, 550003) 2(贵州省发酵工程与生物制药重点实验室, 贵州贵阳, 550003)

摘 要 研究了 β -环状糊精(β -CD)包合法脱除鸡蛋蛋黄中胆固醇, 应用 DX7Trial 对试验数据进行分析并建立了数学模型, 得出了胆固醇脱除的最佳工艺为: pH 10.5, 加热温度 50.18℃, 搅拌时间 10.94 min, $n(\beta\text{-CD}) : n(\text{蛋黄液中胆固醇}) = 4.11 : 1$, 在此条件下, 胆固醇脱除率为 92.23%, 产品中胆固醇含量为 0.753 6 mg/g。

关键词 蛋黄粉, β -环糊精, 低胆固醇

鸡蛋中蛋白质生物价高达 94%, 消化率达 97%。蛋白以卵清蛋白为主, 而蛋黄除了含丰富的卵黄磷蛋白外, 还含有多种矿物质和营养元素, 如钾、钠、镁、磷、铁、 V_A 、 V_E 和 V_B 族、以及丰富的铁(70 $\mu\text{g/g}$), 此外, 蛋黄中有高含量的胆固醇(6.8 mg/g)^[1]。虽然胆固醇是高等真核细胞膜的重要组成部分, 在细胞的生长发育中必不可缺。但是, 在人体胆固醇摄入过量的情况下, 常会出现胆道阻塞和糖尿病、甲状腺机能衰退、肾病综合症, 血清中胆固醇水平升高常使动脉粥样硬化的发病率增高^[2], 严重影响人们的身体健康。根据国际营养卫生组织的推荐, 正常人胆固醇的摄入量不应高于 300 mg/d^[3]。从营养学的观点看, 为了保证膳食平衡, 满足机体需要, 将鸡蛋中的胆固醇降低到适合人体健康的水平具有积极的意义。本试验采用 β -环糊精包埋法脱除鸡蛋中的胆固醇取得了良好的效果, 这种方法工艺操作性好, 投资较少, 成本也较低, 具有很好的发展前景。

1 材料与设备

1.1 原辅料与试剂

鸡蛋, 市售; β -环状糊精(β -CD), 食用级, 曲阜市天利药用辅料有限公司; 胆固醇, 分析纯, 北京市海淀区微生物培养基制品厂; NaOH, 分析纯, 成都科龙化工试剂厂; 邻苯二甲醛, 化学纯, 天津市光复精细化工研究所; 甲醇, 分析纯, 重庆茂业化学试剂有限公司; 三氯甲烷, 分析纯, 天津市海光化学试剂厂; 浓硫酸, 分析纯, 沈阳化学试剂厂。

1.2 仪器设备

B-290 型瑞士小型喷雾干燥机, 瑞士 BUCHI 实验室仪器公司; pHB-3 数字式酸度计, 上海虹益仪器

仪表有限公司; UV-2550 型紫外分光光度计, 日本岛津; 81—2 型恒温磁力搅拌器, 江苏省金坛市恒丰仪器厂; 梅特勒—托利多 AG135 型分析天平, 成都科析仪器成套有限公司; DZKW-4 型电子恒温水浴锅, 上海科析试验仪器厂; TDL-40B 型离心机, 上海科析试验仪器厂。

2 试验方法

2.1 工艺流程

选蛋→洗蛋→消毒→称量→蛋黄液稀释→调整 pH→加热→加 β -CD→恒温搅拌→冷却, 静置→离心取上层液→喷雾干燥

2.2 操作要点

2.2.1 称 量

用蛋黄分离器把蛋黄从鸡蛋中分离出, 称重。

2.2.2 蛋黄液稀释

将称好质量的蛋黄打散并加入 3 倍质量的水稀释, 混合均匀。

2.2.3 调整 pH

用 0.5 mol/L NaOH 液将稀释好的蛋黄液调至试验要求的 pH。

2.2.4 加 热

将调好 pH 的蛋黄液在试验要求的温度下, 水浴加热 15 min。

2.2.5 加 β -CD

在加热好的蛋黄液中加入 β -CD, 添加量根据蛋黄中的胆固醇含量, 按试验要求的摩尔比例加入。

2.2.6 恒温搅拌

将添加过 β -CD 的蛋黄液在 2.2.4 所要求的温度下恒温搅拌, 达到试验要求的时间即停止搅拌。

2.2.7 冷却静置

将搅拌后的蛋黄液迅速冷却至 3~5℃, 静置 1 h。

第一作者: 硕士研究生(王明力教授为通讯作者)。

收稿日期: 2007-08-21, 改回日期: 2007-09-28

2.2.8 离心

将冷却静置后的蛋黄液进行离心(3 500 r/min 10 min),取上层清液备用。

2.2.9 喷雾干燥

将离心后的蛋黄液进行喷雾干燥制成低胆固醇蛋黄粉,喷雾干燥机的进口温度为 180℃,出口温度为 80℃。

2.3 检测方法

2.3.1 胆固醇含量检测^[4]

(1)提取液的配制:取甲醇 200 mL,三氯甲烷 100 mL,混合均匀。

(2)邻苯二甲醛溶液的配制:称取邻苯二甲醛 50 mg,加冰醋酸溶解并定容至 1 000 mL,置棕色瓶中避光保存。

(3)胆固醇标准液的配制(2 mg/mL):准确称取纯化的胆固醇(AR)200 mg,置于 100 mL 的容量瓶中,加冰醋酸溶解并定容至刻度处。

(4)提取:取蛋黄粉 1 g,置于甲醇三氯甲烷混合液,超声提取 30 min,过滤于 10 mL 具有刻度的带塞试管中,并定容至 10 mL,混匀备用。

(5)制样:取蛋黄液、胆固醇标准液、甲醇三氯甲烷混合液各 0.02 mL 于标有样品、标准及空白的试管中。

(6)检测:在上述试样中各加入 3 mL 邻苯二甲醛试剂,2 mL 浓硫酸,混匀、冷却,在紫外分光光度计以空白样调“0”,并分别在 560nm 处进行比色,计算胆固醇的含量。

2.4 计算公式

2.4.1 胆固醇含量计算公式

$$\text{胆固醇}/\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} = \frac{A}{B} \times 2 \times 10^5$$

式中:A,样品光密度;B,标品光密度。

2.4.2 胆固醇脱除率计算公式

$$\text{胆固醇脱除率}/\% = \frac{C \times D}{C} \times 100$$

式中:C,普通蛋黄粉中胆固醇含量;D,低胆固醇蛋黄粉中胆固醇含量。

2.5 优化试验设计

运用 Design-Expert® Software,以搅拌温度 50℃、加热时间 10 min、β-CD 添加量 4:1 为中心值设计实验,其因素及水平见表 1。

表 1 设计因素与水平

水 平	X ₁ 加热温度/℃	X ₂ 搅拌时间/min	X ₃ β-CD 添加量
-1.68	45.8	5.2	3.58:1
-1	47.5	7.5	3.75:1
0	50	10	4.00:1
1	52.5	12.5	4.25:1
1.68	54.2	14.2	4.42:1

3 结果与讨论

3.1 单因素分析

3.1.1 pH 对胆固醇脱除率的影响

pH 对产品中胆固醇脱除率的影响(见图 1)。

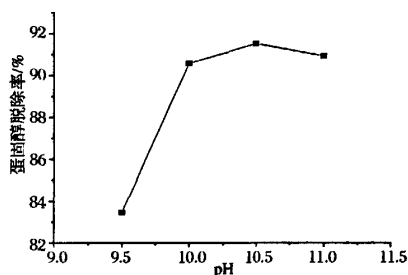


图 1 pH 对胆固醇脱除率的影响

从图 1 可知,当 pH<10.5 时,产品的胆固醇脱除率随 pH 的变大而增高,这是由于在 pH<10.5 时,蛋黄液中的蛋黄颗粒的解聚程度,随 pH 的增大而增大,使得胆固醇与 β-环糊精结合的量增多,产品中胆固醇的脱除率明显增大。当 pH>10.5 时,产品中的胆固醇脱除率随 pH 增加而减小,这是由于 pH>10.5 时,蛋黄的胶凝程度随着 pH 增大而加大,使得蛋黄中的胆固醇与 β-CD 结合就越困难,使得产品的胆固醇脱除率变小^[5]。

3.1.2 加热温度

加热温度对产品中胆固醇脱除率的影响(见图 2)。

从图 2 可知,当加热温度低下 50℃时,产品中胆固醇脱除率随着温度的升高而增大;当温度高于 50℃时,随着温度的升高,产品中胆固醇脱除率下降。这是因为当搅拌温度较小时,温度升高有助于提高蛋黄液体的流动性和 β-CD 在水中的溶解度;当搅拌温度超过特定值时,会破坏 β-CD 和胆固醇包合物稳定性,并且过高的温度也会使蛋黄中的蛋白质变性凝聚而不利胆固醇的脱除^[5]。

3.1.3 β-CD 添加量

β-CD 添加量对产品中胆固醇脱除率的影响(见

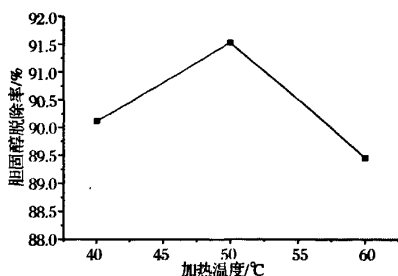
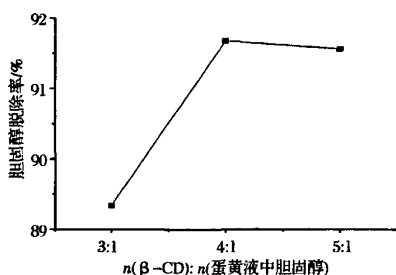


图2 加热温度对胆固醇脱除率的影响

图3)。

图3 β -CD 加量对胆固醇脱除率的影响

从图3中可知,当 β -CD添加量 $<4:1$ 时,产品胆固醇脱除率随 β -CD添加量的增大而增大;当 β -CD添加量 $>4:1$ 时,产品中胆固醇脱除率随 β -CD添加量的增加而减少,这是因为过量的 β -CD会与自身竞争,从而导致胆固醇包埋率的降低^[6]。

3.1.4 搅拌时间

搅拌时间对产品中胆固醇脱除率的影响(见图4)。

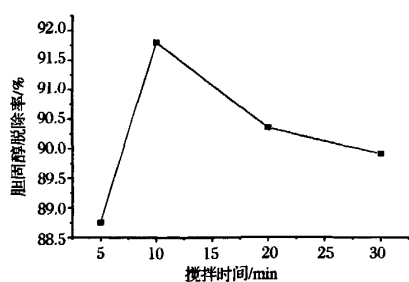


图4 搅拌时间对胆固醇脱除率的影响

从图4中可知,当搅拌时间 <10 min时,产品中胆固醇的脱除率随时间的增加而增大;当搅拌时间 >10 min时,产品中胆固醇的脱除率随着搅拌时间的增加而减少。这是因为经过长时间的搅拌, β -CD和胆固醇结合形成的包合物变得不稳定^[5]。

3.2 脱除胆固醇最佳工艺的条件确定

从单因素试验中可初步确立最佳工艺条件为:

pH为10.5,加热温度为 50°C , β -CD添加量为 $4:1$ 及搅拌时间为10 min。以此为中心值,运用 Design-Expert(r) Software 设计试验并实施,结果见表1。

表2 试验结果分析表

试验号	X_1	X_2	X_3	胆固醇脱除率/%
1	0	0	0	92.15
2	1	1	1	89.46
3	0	0	1.68	90.15
4	0	0	0	92.36
5	0	1.68	0	89.26
6	1	-1	-1	86.15
7	0	0	0	90.21
8	-1.68	0	0	88.56
9	-1	-1	-1	87.15
10	0	0	-1.68	88.15
11	-1	0	-1	87.26
12	0	0	0	92.14
13	1.68	0	0	89.55
14	0	0	0	91.45
15	1	-1	1	88.65
16	0	0	0	91.45
17	1	1	-1	89.22
18	-1	1	1	91.27
19	-1	-1	1	87.16
20	0	-1.68	0	86.43

采用 Design-Expert(r) Software 对表1中试验数据进行分析,结果见表2。

表3 回归模型方差分析表

方差来源	自由度	平方和	均方	F值	P值	显著性
模型 Model	9	64.09116	7.12124	6.103577	0.0046	☆☆
X_1	1	9.429983	9.429983	8.082388	0.0175	☆
X_2	1	0.031765	0.031765	0.027225	0.8722	
X_3	1	5.973358	5.973358	5.119734	0.0472	☆
$X_1 X_2$	1	0.347071	0.347071	0.297473	0.5974	
$X_1 X_3$	1	0.056293	0.056293	0.048249	0.8306	
$X_2 X_3$	1	1.158257	1.158257	0.992736	0.3426	
X_1^2	1	11.16625	11.16625	9.570534	0.0114	☆
X_2^2	1	26.51027	26.51027	22.72181	0.0008	☆☆
X_3^2	1	11.50435	11.50435	9.860313	0.0105	☆
误差	10	11.66732	1.166732			
总和	19	75.75848				

注:☆表示差异显著($P<0.050$);☆☆表示差异极显著($P<0.010$)

从表3中可知,搅拌温度、 β -CD的添加量及加热温度、 β -CD的添加量的平方对胆固醇脱除率的影响是显著的,而搅拌时间的平方的影响是极显著的。

由 Design-Expert® Software 分析同时可以得出,以加热温度、搅拌时间、 β -CD的添加量为自变量,以脱除率为因变量的数学模型:

$$Y = -445.304 + 12.48 \times X_1 + 0.63 \times X_2 +$$

$$104.31 \times X_3 + 0.031 \times X_1 \times X_2 + 0.13 \times X_1 \times X_3 + 0.62 \times X_2 \times X_3 - 0.13 \times X_1^2 - 0.22 \times X_2^2 - 14.28 \times X_3^2$$

对以上模型中变量 X_1 、变量 X_2 及变量 X_3 分别进行求导,并由求导后的 3 个式子,可求出最佳的工艺条件为: $X_1 = 50.176$, $X_2 = 10.941$, $X_3 = 4.1118$, 即加热温度为 50.18°C , 搅拌时间为 10.94 min , $n(\beta\text{-CD}) : n(\text{蛋黄液中胆固醇})$ 的添加量为 $4.11 : 1$ 。根据上述模型,在此条件下,可预测胆固醇的脱除率为 92.36% 。经验证,在此条件下所得的低胆固醇蛋黄粉中胆固醇的脱除率为 92.23% 。

4 结 论

本试验研究得出,脱除鸡蛋中胆固醇的最佳的生产工艺参数为:pH 为 10.5 ,加热温度为 50.18°C ,搅拌时间为 10.94 min , $\beta\text{-CD}$ 的添加量为 $4.11 : 1$ (其他条件为:蛋黄液与水的质量以 $3 : 1$ 混合, 3500 r/

min , 30 min),此条件下可得的胆固醇脱除率为 92.23% ,产品中胆固醇含量为 0.7536 mg/g 。

参 考 文 献

- 1 Guardoil F, Codony R, Rafecas M, et al. Selective gas chromatographic determination of cholesterol in eggs[J]. JAOCS, 1994, 71(8): 867
- 2 Franz Ulberth. Hermine Reich[J]. Food Chemistry, 1992, 43: 387~391
- 3 中国营养学会编著. 中国居民膳食营养素参考摄入量[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2000. 88~98
- 4 王惠云, 高 应. 鸡蛋中胆固醇快速测定方法的研究[J]. 食品科学, 1995(6): 58~59
- 5 张佳程, 骆承庠. β -环状糊精脱除蛋黄液中胆固醇的三种工艺流程比较[J]. 食品科技, 1999(4): 27~28
- 6 曹劲松, 彭志英. β -环状糊精包合法脱除乳品中胆固醇的研究[J]. 中国乳品工业, 1996, 24(1): 15~18

Study on Cholesterol Removal from Egg Yolk by β -cyclodextrin

Chen Rucai^{1,2}, Wang Mingli¹, Shen Dan^{1,2}

1(College of Chemistry Engineering, Guizhou University, Guiyang 550003, China)

2 (Guizhou Province Key Laboratory of Fermentation Engineering and Biopharmacy, Guiyang 550003, China)

ABSTRACT Cholesterol removal from egg yolk by β -cyclodextrin ($\beta\text{-CD}$) inclusion method was studied. The DX7 Trial was used in data analysis and mathematic model creation, the optimized conditions were elicited: the heating temperature 50.18°C , the stirring time 11 min , the mol ratio of cholesterol in egg yolk and $\beta\text{-CD}$ was $4.11 : 1$. In these conditions, the maximal cholesterol removal rate was up to 92.23% and the content of cholesterol in the product was 0.7536 mg/g .

Key words egg yolk powder, β -cyclodextrin, low cholesterol

(上接第 67 页)

Research on the Conditions of the Maillard Reaction of Glycinin and Xylose

Chen Zhong, Zhou Yuan, Lin Weifeng, Cai Lei

(South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

ABSTRACT The maillard reaction can be used to promote the stability of the yogurt based on soy protein. The aim of this work was to investigate relations between the conditions and the degree on the glycation of glycinin and xylose. The results revealed that it is essential to control the parameters of the reaction considering the method we used and the application of the product.

Key words glycinin, soybean, fermentation