

# 猪血多肽螯合铁的制备工艺研究

郑炯<sup>1,2</sup>, 汪学荣<sup>3</sup>, 阚建全<sup>1,2,\*</sup>

(1.西南大学食品科学学院, 重庆 400716; 2.重庆市农产品加工技术重点实验室, 重庆 400716;

3.西南大学荣昌校区动物科学系, 重庆 402460)

**摘要:**研究了猪血多肽与铁盐反应制备多肽螯合铁的最佳工艺条件,并对产物的组成成分进行了测定。研究表明,氯化亚铁适合作为多肽与铁进行螯合反应的铁源,制备猪血多肽螯合铁的最佳工艺条件为:螯合反应的 pH 为 5.0,多肽与铁盐的质量比为 3:1,多肽溶液浓度为 3.0%,猪血多肽螯合铁的主要成分是多肽和铁,其质量百分数分别为 70.02% 和 14.23%。

**关键词:**猪血多肽,螯合,铁盐,制备

## Study on preparation of porcine blood polypeptide-iron

ZHENG Jiong<sup>1,2</sup>, WANG Xue-rong<sup>3</sup>, KAN Jian-quan<sup>1,2,\*</sup>

(1.College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400716, China;

(2.Chongqing Key Laboratory of Agricultural Products Processing Technology, Chongqing 400716, China

3.Department of Animal Science, Southwest University, Chongqing 402460, China)

**Abstract:** The synthesized conditions of porcine blood polypeptide and iron source were studied, and the component of the product has also been measured. The results indicated that, the ferrous chloride was chosen for the iron source of chelation. The best chelating process conditions were that pH 5.0, the ratio of polypeptide to ferric chloride 3:1 and 3.0% polypeptide concentration. The principal constituents of porcine blood polypeptide-iron were polypeptide and iron, and the content was 70.02% and 14.23% respectively.

**Key words:** porcine blood polypeptide; chelation; iron salt; preparation

中图分类号: TS202.3

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2010)02-0261-03

铁是人体所必须的微量元素之一,它具有造血和输氧的生理作用,也是人体重要的酶和蛋白的组成成分,对人体的健康具有重要作用<sup>[1]</sup>。据 WHO 报告,全世界约有 10%~30% 的人群有不同程度的缺铁,在发展中国家可能高达 50% 以上,其中成年男子约占 10%, 妇女约占 20%, 孕妇和儿童约占 40%~60%<sup>[2]</sup>。我国各地的流行病学调查结果也大致如此。目前,缺铁性贫血的防治主要通过服用补铁剂来实现。目前补铁剂主要有无机铁、有机铁、氨基酸铁和生物态铁四类。早在 20 世纪 70 年代,有研究者发现氨基酸和小肽具有促进铁吸收的作用<sup>[3-4]</sup>,并且氨基酸和肽的金属螯合物具有吸收率高,口感好,无铁锈味,无胃肠道刺激,添加到食品中不影响食品性质等优点。因此,研究开发这种生物态铁——多肽螯合铁,具有十分重要的意义。目前,有学者对脱脂豆粕多肽、酪蛋白酶解多肽、低值鱼蛋白多肽与铁离子进行螯合制备多肽铁螯合盐的研究和报道<sup>[5-7]</sup>,但对于猪血多肽与铁的螯合制备工艺条件尚未见报道。本

文以猪血多肽为原料,采用络盐的方法合成了猪血多肽螯合铁,筛选出了适合于猪血多肽进行螯合反应的铁盐,研究了制备猪血多肽螯合铁的最佳工艺条件,以期能为猪血多肽螯合铁的工业化生产提供有益借鉴和参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

猪血多肽 分子量为 1~5kDa,实验室自制;氯化亚铁、硫酸亚铁、抗坏血酸、柠檬酸 天津市大茂化学试剂厂,分析纯;无水乙醇 成都市科龙化工厂,分析纯。

AA-6200 型原子吸收分光光度计 日本岛津公司;ALPAAI-4LSC 型真空冷冻干燥机 德国 Christ 公司;SHZ-III 循环水真空泵 上海亚荣生化仪器厂。

### 1.2 实验方法

1.2.1 猪血多肽的制备 猪血粉→酶解→离心→上层清液→脱色→抽滤→除盐→超滤→浓缩→冷冻干燥→猪血多肽

1.2.2 猪血多肽铁的螯合方法 准确称取一定量的猪血多肽,加去离子水溶解在三角瓶中,待多肽完全溶解后,加入溶液体积 1.0% 的抗坏血酸防止亚铁离

收稿日期:2009-03-16 \* 通讯联系人

作者简介:郑炯(1982-),男,硕士,助理实验师,主要从事食品化学与营养学的研究。

子被氧化,然后加入一定量的亚铁盐,用柠檬酸调节 pH,充氮气,于室温下混合反应 10min,冷却后将反应液在 4000r/min 下离心 20min,上清液用无水乙醇处理得到沉淀,抽滤,收集滤渣,并反复洗涤抽滤 2~3 次,最后真空冷冻干燥得猪血多肽螯合铁。

### 1.2.3 测定方法

1.2.3.1 铁含量的测定 采用火焰原子吸收分光光度计<sup>[8]</sup>。

1.2.3.2 铁螯合率的测定 计算公式如下:

$$\text{铁螯合率}(\%) = \frac{M_1}{M_0} \times 100\%$$

式中:  $M_1$ —螯合物中铁的量(mg);  $M_0$ —加入反应的铁的量(mg)。

1.2.3.3 多肽铁得率的测定 计算公式如下:

$$\text{多肽铁得率}(\%) = \frac{M_1}{M_0} \times 100\%$$

式中:  $M_1$ —加入反应物的总量(g);  $M_0$ —生成螯合物的总量(g)。

1.2.3.4 多肽的测定 采用微量凯氏定氮法<sup>[9]</sup>。

1.2.3.5 水分的测定 采用直接干燥法<sup>[10]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 螯合铁盐的选择

研究表明<sup>[11]</sup>,多肽螯合铁在乙醇等有机溶剂中的溶解度极小,如果选择能够溶解于有机溶剂中的亚铁盐作为铁源进行螯合反应,反应完成后用有机溶剂进行处理,剩余的游离铁和多肽就能够溶解于有机溶剂中,而生成的多肽螯合铁会从有机溶剂中沉淀析出,这样就可以使螯合铁和游离铁分离,从而得到多肽螯合铁。常见的亚铁盐有硫酸亚铁和氯化亚铁。分别在 40%~100% 浓度的乙醇溶液中比较 2 种亚铁盐的溶解情况,以选定合适的亚铁盐作为螯合反应的铁源。

由表 1 可知,在乙醇浓度 40%~50% 中硫酸亚铁的只有部分溶解,60%~90% 的乙醇溶液中,硫酸亚铁的溶解度变化不大,都是完全不溶解。因此,用硫酸亚铁为铁盐合成螯合铁,不能达到使游离金属离子和螯合物分离的目的。

表 1 硫酸亚铁和氯化亚铁在乙醇溶液中的溶解情况

乙醇浓度(%)	40	50	60	70	80	90	100
FeSO <sub>4</sub>	+	+	-	-	-	-	-
FeCl <sub>2</sub>	++	++	++	++	++	++	++

注: - 完全不溶解; + 部分溶解; ++ 完全溶解。

而氯化亚铁能完全溶于不同浓度的乙醇中,同时实验研究表明,三氯化铁也能溶于乙醇。这样,就可以用乙醇处理反应液,游离的 Fe<sup>2+</sup> 或 Fe<sup>3+</sup> 溶解在乙醇中,而多肽螯合铁在乙醇中沉淀析出。因此,用氯化亚铁做螯合反应的铁盐,可以实现有机铁和无机铁的分,提高产品的纯度。

### 2.2 猪血多肽螯合铁制备工艺研究

2.2.1 pH 对螯合反应的影响 在猪血多肽与铁的质量比为 3:1,多肽溶液浓度 3.0% 的条件下,比较不同 pH(3、4、5、6、7)对螯合反应的影响,结果见图 1。

由图 1 中可知,随着 pH 不断升高,铁螯合率和

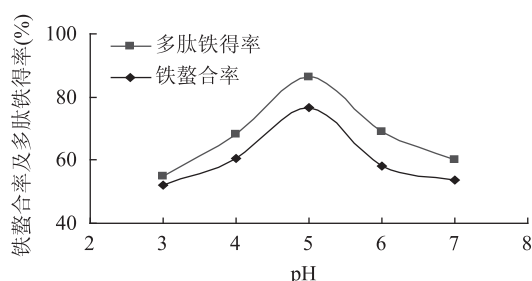


图 1 pH 对螯合反应的影响

多肽螯合铁得率都逐渐增大,在 pH5.0 时达到最大值,当 pH 大于 5.0 后,螯合率和多肽螯合铁得率逐渐减小。这是因为在 pH 较低的酸性条件下, H<sup>+</sup> 将与金属离子竞相争夺供电子基团,从而不利于金属螯合物的形成;随着 pH 的升高,意味着溶液中 OH<sup>-</sup> 增加,游离铁离子与 OH<sup>-</sup> 结合形成羟合 Fe<sup>2+</sup> (氢氧化亚铁) 的机会增加,也不利于多肽螯合铁的生成和稳定。所以,选择螯合反应的最适 pH 为 5。

2.2.2 猪血多肽与铁盐的质量比对螯合反应的影响

在 pH 为 5,猪血多肽溶液浓度 3.0% 的条件下,比较不同的猪血多肽与铁盐的质量比(1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1)影响,结果见图 2。

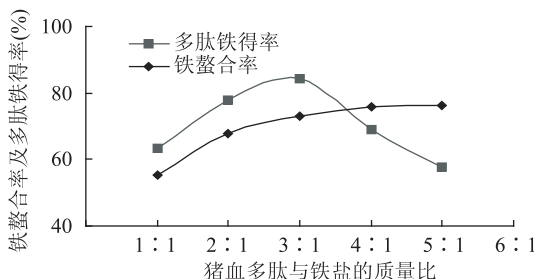


图 2 猪血多肽与铁盐的质量比对螯合反应的影响

由图 2 中可知,在猪血多肽与铁为 3:1 以前,随着猪血多肽与铁盐的质量比的逐渐增加,铁螯合率和多肽螯合铁得率逐渐增大;在质量比增加到 3:1 以后,铁螯合率的增幅逐渐趋于平缓,而多肽螯合铁得率会随着猪血多肽的量的增加而降低,将造成猪血多肽的浪费。因此,确定猪血多肽与铁盐的最佳质量比为 3:1。

2.2.3 猪血多肽溶液浓度对螯合反应的影响 在 pH 为 5,在猪血多肽与铁的质量比为 3:1 的条件下,比较不同猪血多肽溶液浓度(1.0%、2.0%、3.0%、4.0%、5.0%)对螯合反应的影响,结果见图 3。

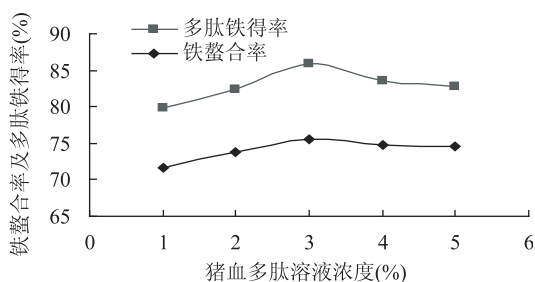


图 3 猪血多肽溶液浓度对螯合反应效果的影响

由图 3 可知,随着猪血多肽溶液浓度的升高,铁螯合率和多肽铁得率有上升趋势,但当猪血多肽溶

(下转第 265 页)

表2 嫩啤酒的主要理化指标

理化指标	固定化酵母工艺	传统工艺
酒精度(%, m/m)	3.64	3.62
原麦汁浓度(%, m/m)	11.12	11.10
总酸(mL/100mL)	1.73	1.54
双乙酰(mg/L)	0.144	0.183

传统工艺主发酵时间约为6d左右;采用泡沫陶瓷固定化酵母工艺主发酵时间很短,在上述优化的工艺条件下约为23h,极大缩短了发酵时间。

由嫩啤酒主要理化指标的测定结果可知,采用固定化酵母工艺,嫩啤酒的几项主要理化指标均与传统工艺比较接近,可以认为该工艺不会对啤酒质量造成影响。

### 3 讨论

文献[5]的主发酵时间为20~26h,嫩啤酒双乙酰含量为0.3~0.5mg/L;上述实验结果的发酵时间为23h,嫩啤酒双乙酰含量为0.144mg/L。发酵时间与文献接近,但主发酵结束后嫩啤酒双乙酰含量要低很多,将有利于后发酵双乙酰的还原。

#### 参考文献

- [1] Matti L, Auli H, Anneli R, et al. Recent advances in the malting and brewing industry[J]. Journal of Biotechnology, 1998, 65(2-3): 85-98.
- [2] Navratil M, Gemeiner P, Klein J, et al. Properties of hydrogel materials used for entrapment of microbial cells in production of

- fermented beverages [J]. Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol, 2002, 30(3): 199-218.
- [3] A Bekatorou, A A Koutinas, A Kalifas, et al. Freeze-dried Saccharomyces cerevisiae cells immobilized on gluten pellets for glucose fermentation[J]. Process Biochemistry, 2001, 36(6): 549-557.
- [4] Viktor A N, Bojana O, Ida L, et al. Electrostatic generation of alginate microbeads loaded with brewing yeast [J]. Process Biochemistry, 2001, 37(1): 17-22.
- [5] Bekatorou A, Sarellas A, Ternan NG, et al. Low-temperature brewing using yeast immobilized on dried figs [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(25): 7249-7257.
- [6] 居乃琥, 仇昌明, 黄国英, 等. 固定化生长酵母细胞快速发酵生产啤酒[J]. 食品与发酵工业, 1986, (2): 17-29.
- [7] 王运吉, 张道谦, 刘金珍, 等. 固定化酵母细胞流化床反应器的操作与嫩啤酒双乙酰水平[J]. 生物工程学报, 1989, 5(4): 322-327.
- [8] 黄亚东. 应用固定化酵母进行啤酒连续发酵的研究[J]. 中国酿造, 2001(1): 12-15.
- [9] 程江峰, 苏忠亮, 梁成伟, 等. 泡沫陶瓷固定化啤酒酵母工艺[J]. 中国酿造, 2009(3): 109-111.
- [10] 程江峰. 新型陶瓷载体固定化酵母细胞啤酒连续发酵工艺及动力学研究[D]. 浙江大学, 2000: 67.
- [11] 唐启义, 冯明光. 实用统计分析及其计算机处理平台[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997: 85-86.
- [12] GB/T4928-2001. 啤酒分析方法[S].

(上接第262页)

液浓度大于3.0%时,铁螯合率和多肽螯合铁得率开始降低。因此,多肽溶液的浓度以3.0%为宜。

通过以上实验可知,猪血多肽与氯化亚铁最佳螯合工艺条件为:pH为5.0,猪血多肽与铁盐的质量比为3:1,猪血多肽溶液浓度为3.0%。

### 2.3 猪血多肽螯合铁的成分组成测定

从表2中可以看出,实验所制得的猪血多肽螯合铁中主要成分是多肽和铁,其质量百分数分别为70.02%和14.23%。但是其中还有一部分其它的成分,可以在后续研究中可以通过透析、超滤等方法进一步纯化产品。

表2 猪血多肽螯合铁成分分析表

成分	质量分数(%)
多肽	70.02
铁	14.23
水分	5.78
其它	9.97

### 3 结论

3.1 通过硫酸亚铁和氯化亚铁在不同浓度的乙醇中溶解性的比较得知,氯化亚铁更适合做螯合反应的铁源。

3.2 猪血多肽与氯化亚铁最佳螯合工艺条件为:pH为5.0,猪血多肽与铁盐的质量比为3:1,猪血多肽溶液浓度为3.0%。

3.3 猪血多肽螯合铁的主要成分是多肽和铁,其质量百分数分别为70.02%和14.23%。

#### 参考文献

- [1] 朱王飞, 钱胜峰. 铁与人体健康[J]. 中国食物与营养, 2004(3): 47-49.
- [2] Institute of Medicine. Iron. In: Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc [M]. Washington, DC: National Academy Press, 2002: 290-293.
- [3] Oscar Pineda, H DeWayne Ashmead. Effectiveness of treatment of iron-deficiency anemia in infants and young children with ferrous bis-glycinate chelate [J]. Nutrition, 2001, 17(5): 381-384.
- [4] Fernando Pizarro, Raúl Uicich, Manuel Olivares, et al. Iron absorption of ferric glycinate is controlled by iron stores [J]. Nutrition Research, 1998, 18(1): 3-9.
- [5] 张亚丽, 徐忠. 脱脂豆粕多肽络合亚铁食品添加剂的制备及应用研究[J]. 食品工业科技, 2004, 25(4): 120-122.
- [6] 王稳航, 刘安军, 王丽霞, 等. 酪蛋白酶解多肽-Fe<sup>2+</sup>的制备及性质研究[J]. 食品工业科技, 2004, 25(8): 53-56.
- [7] 邓尚贵, 杨燊, 秦小明. 低值鱼蛋白多肽-铁(II)螯合物的酶解制备及其抗氧化、抗菌活性[J]. 湛江海洋大学学报, 2006, 26(4): 54-58.
- [8] 杨祖英. 食品检验 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2004, 7.
- [9] 中华人民共和国国家标准[S]. GB/5009.5-85.
- [10] 中华人民共和国国家标准[S]. GB/T 5009.3-2003.
- [11] 林萍, 宋常英, 张晓鸣. 甘氨酸螯合铁的合成工艺[J]. 无锡轻工大学学报, 2004, 23(2): 53-57.