

蛋黄免疫蛋白奶加工工艺的研究

张倩倩,褚庆环*,范荣波,张佳程
(青岛农业大学,山东青岛 266109)

摘要:开发了蛋黄免疫球蛋白消毒奶,研究了蛋黄免疫球蛋白消毒奶的加工工艺。得出最佳工艺条件为:IgY添加量为10%,采用低温巴氏杀菌65℃,30min。产品在4℃储藏条件下比普通巴氏乳的货架期延长8h。因此,蛋黄免疫蛋白消毒奶是一种既有营养,又具有生物活性功能的新型乳制品,且具有较长的货架期,有一定的发展前景。

关键词:巴氏消毒奶,加工工艺,货架期

Study on processing technology of immunoglobulin of yolk pasteurized milk

ZHANG Qian-qian, CHU Qing-huan*, FAN Rong-bo, ZHANG Jia-cheng

(Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China)

Abstract: The processing technology of immunoglobulin of yolk pasteurized milk was studied. The optimum technic condition was as follows: the application amount of IgY 10%, the thermal death point 65℃, 30min. The shelf life of produce was 8h longer than normal pasteurized milk. So immunoglobulin of yolk pasteurized milk was a new style of dairy product, which had both nutrition and biological activity function, it also had long shelf life and had certain development in the future.

Key words: pasteurized milk; processing technic; shelf life

中图分类号: TS252.5

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2010)05-0282-03

抗原免疫鸡所产生的鸡蛋黄中的免疫球蛋白IgY与普通抗原免疫哺乳类动物所产生的血清IgY相比,具有纯度高、含量大、稳定性好、产量高、采集抗体方便等特性^[1]。以细菌为抗原时母鸡产生特异性IgY抗体,利用IgY抗体的识别吸附作用,可达到抑制细菌细胞生长的目的。Sugita Konishi等利用26种可传染性细菌免疫鸡,得到相应IgY抗体,经进一步实验证明均有不同程度的抑菌作用^[2]。同时IgY还具有抑制肿瘤的作用,因此得到了广泛应用,但在食品中尚未发现。巴氏杀菌乳是所有乳制品中营养损失最少的乳制品,但目前国内的液态奶产品以超高温灭菌奶为主,而国外以巴氏杀菌奶为主。饮用含有免疫球蛋白的巴氏杀菌乳,小肠无需吸收抗体就可起到被动免疫作用,免疫球蛋白IgY可特异性地中和和清除肠道中的病原菌,从而对疾病有预防和治疗作用。本文主要研究了蛋黄免疫球蛋白奶的加工工艺。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

蛋黄免疫球蛋白 实验室自制;复原乳,琼脂糖,磷酸盐,兔抗鸡血清,蛋白胨,氯化钠,生理盐水。

均质机,恒温水浴锅,培养箱,无菌操作台,打孔

器,冰箱。

1.2 实验方法

1.2.1 IgY添加量的确定 将IgY用复原乳进行溶解,制成浓度为1mg/mL的乳液,分别按照5%、10%、15%、20%、25%的比例加入到奶中,然后按照消毒奶的加工过程加工,到冷却步骤为止。对其进行评比,根据具体的实际经济等问题选出适合的添加量。

1.2.2 不同均质压力强度下IgY稳定性的研究 取原料乳加入一定量的IgY或提前制备好的IgY溶液,预热后(50~60℃)分别采用10、20、25、35、40MPa的均质压力对其进行处理,然后测定每次均质后的IgY活性含量。

1.2.3 不同杀菌温度下IgY稳定性的研究 取原料乳加入一定量的IgY或提前制备好的IgY溶液,预热均质后,分别采用预巴氏杀菌(60~90℃,20s)、低温巴氏杀菌(63℃,30min或72~75℃,15~20s)、高温巴氏杀菌(85℃,20s),对其进行处理,然后测定每次处理后的IgY活性保留率。

1.2.4 IgY活性保留率的测定 采用琼脂单向免疫扩散法(SRID)^[3]进行测定。

$$\text{IgY活性保留率}(\%) = (1 - \text{处理后对照中IgY活性含量} / \text{未处理样品中IgY活性含量}) \times 100\%$$

1.2.5 蛋黄免疫蛋白奶货架期的研究 蛋黄免疫蛋白奶和普通巴氏杀菌乳在不同温度(4、15、20℃)下保存,通过菌落计数来判定蛋黄免疫蛋白奶的货架

收稿日期:2009-05-18 *通讯联系人

作者简介:张倩倩(1984-),女,在读硕士,研究方向:食品科学。

期。国家标准规定巴氏消毒奶的菌落总数应低于 3×10^4 cfu/mL。

2 结果与讨论

2.1 IgY 添加量的确定

将 IgY 乳液按照 5%、10%、15%、20% 的比例分别加到奶中,按照巴氏奶的加工工艺进行加工制成成品,对其进行评价。

表 1 不同 IgY 添加量的免疫消毒奶比较

IgY 的添加量 (%)	产品色泽	产品质地	产品口味	产品保质期 (h)
无	乳白色	均匀	奶香、无异味	13
5	乳白色	均匀	奶香、无异味	16
10	乳白色	均匀	奶香、无异味	21
15	微发黄	均匀	奶香,但微有异涩味	39
20	微发黄	均匀	稍有涩味	45

由表 1 中可知,添加量为 5% 和 10% 的产品质量优于添加量为 15% 和 20% 的,而从产品保质期来看,添加量为 5% 的延长 3h,添加量为 10% 的延长 8h。另外根据蛋黄免疫球蛋白的经济价值、市场和消毒奶货架期较短的情况,选用添加量为 10%。

2.2 不同均质压力下 IgY 的活性保留率

将添加 IgY 的乳液样品经前处理后,分别在 10、20、30、35、40MPa 压力下进行均值,结果如图 1。

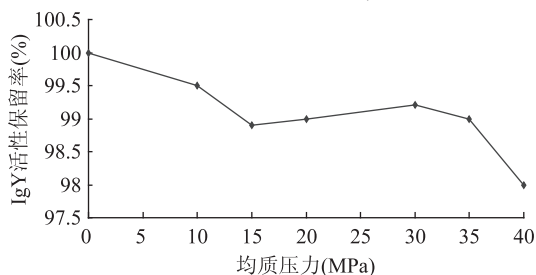


图 1 不同均质压力下 IgY 的活性保留率

在不同的均质压力条件下, IgY 活性保留率均可达到 98% 以上,其中在常用工作压力下的活性保留率可达到 99.2%,因此蛋黄免疫蛋白 IgY 具有良好的抗压力性,在乳制品加工中遭破坏较小,可以认为压力对其不起主要影响作用。

2.3 不同巴氏杀菌温度下 IgY 的活性保留率

将添加 IgY 的乳样经过前处理后分在 65、75、85℃ 下进行灭菌,进行 IgY 活性含量的测定,结果如图 2~图 4。

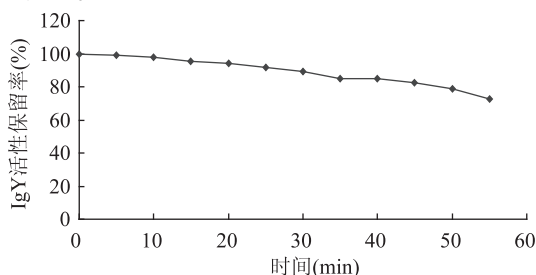


图 2 65℃ 杀菌温度下 IgY 随时间变化的活性保留率

由结果可知, IgY 在 65℃ 下,其活性没有很大的变化,都保持在 80% 以上。在普通巴氏杀菌 30min 条件下,活性保留率在 95%;杀菌条件在 75℃ 时, IgY

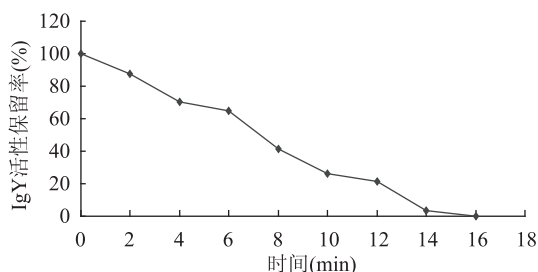


图 3 75℃ 杀菌温度下 IgY 随时间变化的活性保留率

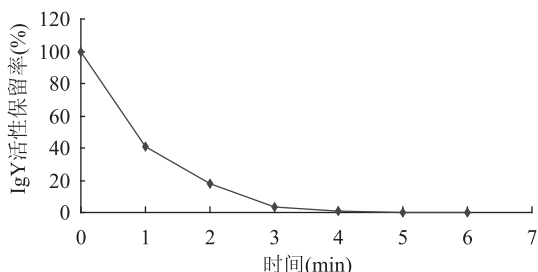


图 4 85℃ 杀菌温度下 IgY 随时间变化的活性保留率

的活性保留率随时间下降,加热 10min 时其活性保留率为 30.2%;杀菌条件在 85℃ 时, IgY 的活性急速下降,在 3min 后基本没有活性。这一结果表明, IgY 在低于 65℃ 时,具有较好的热稳定性,高于 65℃ 时活性下降较快,当温度升至 85℃ 后,活性迅速下降。实验结果与相关资料^[4]一致。

2.4 蛋黄免疫球蛋白奶货架期的研究结果

蛋黄免疫球蛋白消毒奶的成品分别在 4、15、20℃ 条件下贮藏,按照一定的时间进行菌落计数,结果如图 5~图 8。

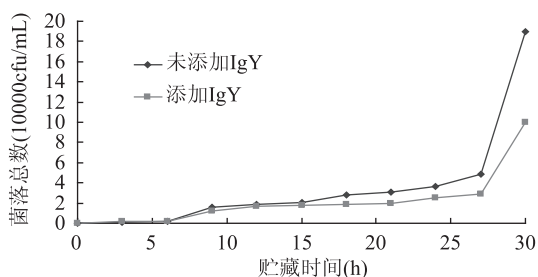


图 5 在 4℃ 条件下贮藏时菌落总数随时间的变化

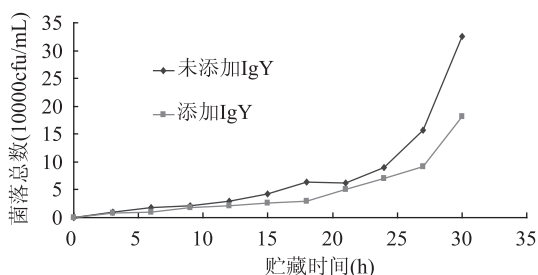


图 6 在 15℃ 条件下贮藏时菌落总数随时间的变化

在 4℃ 贮藏条件下免疫蛋白奶比普通巴氏奶的保质期延长 8h;在 15℃ 贮藏条件下免疫蛋白奶比普通巴氏奶的保质期延长 5h;在 20℃ 贮藏时免疫蛋白奶比普通巴氏奶的保质期延长 4h。因此蛋黄免疫球蛋白有效抑制了奶中腐败菌的生长,从而延长了产品的保质期。

(下转第 286 页)

表2 正交实验结果

实验号	A	B	C	D	胰蛋白酶比活力 (BAEE/mg)	收率 (%)
1	1	1	1	1	3480	5.71
2	1	2	2	2	4155	7.35
3	1	3	3	3	1550	6.20
4	2	1	2	3	3536	4.75
5	2	2	3	1	2221	5.22
6	2	3	1	2	3149	5.04
7	3	1	3	2	1877	4.94
8	3	2	1	3	3112	5.14
9	3	3	2	1	6580	6.55

根据实验结果,对各因素进行极差分析,从而确定影响各项指标的主次因素,结果见表3。

表3 正交实验结果分析

指标	影响因素主次顺序	水平最优组合
胰蛋白酶比活力	C > D > A > B	A ₃ B ₃ C ₂ D ₁
胰蛋白酶得率	A > C > B > D	A ₁ B ₃ C ₂ D ₁

由表3可知,因素B、C和D对胰蛋白酶比活力和胰蛋白酶得率的影响是一致的,都是以B₃C₂D₁为最优的水平,而因素A对这两个指标的影响不一致,对于胰蛋白酶活力,水平3为最优,但对于胰蛋白酶得率,水平1为最优。在胰蛋白酶的提取过程中,胰蛋白酶比活力为主要指标,收率为次要指标,胰蛋白酶的提取首先要保证高活力,其次是高收率。因此选择A₃为最佳水平。根据上面的分析,确定各个因素的最佳水平组合为A₃B₃C₂D₁,也就是说,料液比为1:5,Tris-HCl浓度为0.05mol/L,激活pH为8,激活时间为6h。

2.3 验证实验结果

对正交实验选定的最优组合A₃B₃C₂D₁进行验证实

验,实验所得的胰蛋白酶的比活力为6600BAEE/mg,胰蛋白酶的得率为6.5%,实验中得到的胰蛋白酶晶体的纯度为80%~90%,实验结果合理,达到了验证实验的目的。

3 结论

3.1 实验确定了胰蛋白酶提取的新工艺,对正交实验结果进行了分析,确定最佳工艺参数为:料液比为1:5,Tris-HCl浓度为0.05mol/L,激活pH为8,激活时间为6h。

3.2 实验采用了硫酸铵盐析和结晶法除去了一部分杂蛋白,有利于胰蛋白酶活力的提高,实验所得的胰蛋白酶的比活力为6600BAEE/mg,胰蛋白酶的得率为6.5%,为胰蛋白酶的工业化生产提供了理论依据。

参考文献

- [1] 王镜岩,朱圣庚,徐长法,等.生物化学[M].高等教育出版社,2002:405-406.
- [2] 倪逸声,张龙翔.胰蛋白酶工程研究进展[J].生物工程进展,1992,12(1):2-8.
- [3] 王增禄,卢军,茹炳根,等.猪胰脏多酶联产实验研究[J].第四军医大学学报,1995,16(4):294-299.
- [4] 耿莉娜,胡重江,李英文.草鱼肝胰脏中两种胰蛋白酶的纯化及部分性质的研究[J].重庆师范大学学报:自然科学版,2008,25(1):14-19.
- [5] 安小宁,高威.磁性亲和分离法纯化胰蛋白酶[J].现代食品科技,2007,23(11):37-40.
- [6] 中华人民共和国药典委员会.中华人民共和国药典(第二部)[S].北京:化学工业出版社,2005:631-633.

(上接第283页)

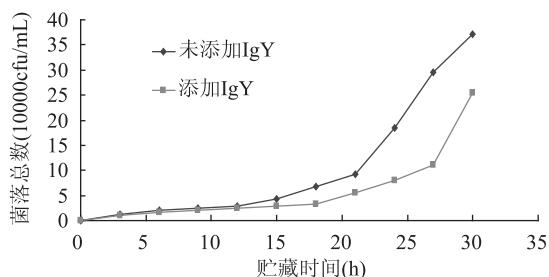


图7 在20°C条件下贮藏时菌落总数随时间的变化

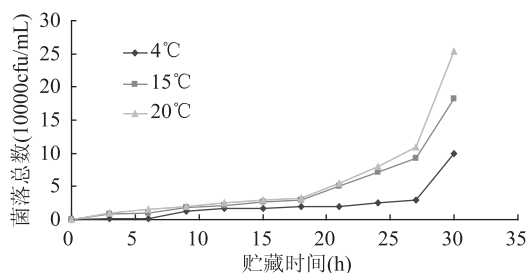


图8 免疫奶在不同温度下贮藏时菌落总数随时间的变化

3 结论

3.1 蛋黄免疫球蛋白IgY具有较强的抗压力性,因此适合巴氏奶的加工,并且根据IgY的这一特性可将其应用于其他乳制品的生产中。

3.2 蛋黄免疫球蛋白在65°C以下加热40min,活性基本没有变化,而40min后活性开始缓慢下降;在

75°C加热IgY活性下降较快,在14min后活性基本丧失;在85°C加热时IgY活性迅速下降,在3min后活性丧失。

3.3 蛋黄免疫蛋白消毒奶具有和普通消毒奶相同的营养成分,但其功能性更优于普通巴氏奶,免疫球蛋白能凝集细菌,中和细菌毒素,并能在体内其他因素的参与下彻底杀死细菌和病毒,增强机体的免疫功能,预防消化道疾病,促进营养吸收。现已有大量的研究证明,人口服外源性免疫球蛋白也同样具有预防肠道疾病,调节免疫等功效^[5]。因此,蛋黄免疫蛋白消毒奶是一种既有营养,又具有功能性的新型乳制品。

参考文献

- [1] 王炯,龚春梅,赵树栋,等.鸡卵抗体(IgY)理化特性的研究[J].中国生物制品学杂志,1997,10(3):140-143.
- [2] 易全茂,谢艳霞.鸡卵黄抗体研究进展[J].动物科学与动物医学,2004,2(21):44-45.
- [3] 刘朋龙,张丹凤.琼脂单、双扩散法测定牛初乳IgG的应用分析[J].乳业科学与技术,2002(4):6-11.
- [4] 孙高英,褚庆环.蛋黄免疫球蛋白的制备与应用[J].食品与药品,2006(8):60-62.
- [5] 陈斌,杨志华.鸡卵黄免疫球蛋白(IgY)的作用机理及应用前景[J].浙江畜牧兽医,2005(1):9-10.