

弱碱高温法对花生粕脱毒及酶解效果的影响

盖云霞¹, 赵谋明¹, 崔春¹, 孔令会², 吴肖²

(1. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510640)

(2. 广东汇香源生物科技股份有限公司, 广东 广州 510665)

摘要: 本文主要研究了弱碱高温处理法去除花生粕中黄曲霉毒素的效果, 并对去毒后花生粕的酶解效果进行了研究。研究结果表明: 弱碱高温处理对原料中的黄曲霉毒素有较好的去除效果并有利于酶解的进行, 花生粕经过 121 °C、pH 10、60 min 处理, 黄曲霉毒素的破坏率高达 84.50%, 最终酶解上清液中黄曲霉毒素的含量低至 0.344 ng/mL; 而此时酶解液中蛋白质回收率比对照组的提高率为 27.44%, 氨态氮含量比对照组的提高率为 57.70%。

关键词: 花生粕; 黄曲霉毒素; 酶解; 酶联免疫

中图分类号: TQ925; **文献标识码:** A; **文章编号:** 1673-9078(2007)11-0004-03

Effects of Alkali and High Temperature Treatments on the Aflatoxins

Degradation and Enzymatic Hydrolysis of Peanut Dregs

GE Yun-xia¹, ZHAO Mou-ming¹, CUI Chun¹, KONG Ling-hui², WU Xiao²

(1. College of Light Industry and Food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. Guangdong H-BIO Biotechnology Co., Ltd., Guangzhou 510665, China)

Abstract: The effects of alkali and high temperature treatments on the aflatoxins degradation and enzymatic hydrolysis of peanut dregs are studied in this paper. Results show that the alkali and high temperature treatments contribute to the degradation of aflatoxins in peanut dregs and the enzymatic hydrolysis of peanut dregs. The optimized conditions are as follows: temperature of 121 °C, pH value of 10 and treatment time of 60 min, under which 84.50% of aflatoxins are decomposed and the concentration of the aflatoxins in the enzymatic hydrolysate is 0.344 ng/ml. Besides, the recovery rate of protein and amino nitrogen content in the hydrolysate are 27.44% and 57.70% respectively higher than those of the control group.

Key words: peanut dregs; aflatoxin; enzymatic hydrolysis; enzyme linked immunosorbent assay(ELISA)

花生粕是花生榨油的副产物, 据国家统计局公布的数字, 2005 年我国花生粕的总量达到 570 万吨, 同比增长约 6.1%。据不完全统计, 广州市花生粕的年产量约为 28 万吨。而广东省花生油以浓香型为主, 故广州市花生粕大都为高温变性花生粕; 另外, 大多数花生及其制品中都不同程度地含有黄曲霉毒素, 黄曲霉毒素具有强烈的致癌、致畸、致突变作用, 对人类健康危害极大^[1]。经测定, 本文试验所用花生粕中黄曲霉毒素高达 107 ppb。花生粕的高度变性和其中含有黄曲霉毒素大大限制了花生粕的精深加工和综合利用。

收稿日期: 2007-07-19

基金项目: 国家 863 计划专题 (2006AA10Z326); 广东省科技计划项目 (粤港关键领域重点突破招标项目 200649861112)。

作者简介: 盖云霞 (1982-), 女, 在读研究生, 主要从事蛋白质工程方面的研究

通讯作者: 赵谋明教授

用。

花生粕中的蛋白含量较高, 而目前国内花生粕主要用作动物饲料和肥料^[2], 蛋白资源的利用率低。因此, 研究花生粕中黄曲霉毒素的高效去除以及探索有利于花生粕酶解的条件对于充分利用花生粕蛋白资源具有重大的社会效益。

本文主要探讨了弱碱高温处理法对花生粕中黄曲霉毒素的去除效果及去毒后花生粕的酶解情况, 研究分析出适合于花生粕酶解加工的黄曲霉毒素去除方法。

1 材料与方法

1.1 实验原料

花生粕 (广东省农科院花生油厂提供) 粉碎后过 80 目筛备用; 碱性蛋白酶 (丹麦诺维信公司提供)。

1.2 主要试剂

甲醇(分析纯,广东汕头西陇化工厂); 甲醛(分析纯,广东光华化学厂); Aflatoxin Plate Kit (Portland, ME 04103, Beacon Analytical Systems Inc.)

1.3 实验方法

1.3.1 花生粕的基本组成测定

粗蛋白含量:按 GB5511-85 的方法检测,花生蛋白的换算系数为 5.46^[3];水分含量:按 GB5497-85 的方法测定;粗脂肪含量:索氏抽提;灰分含量:干法灰化法^[4]。

1.3.2 花生粕酶解方法

花生粕粉末→1:9 加水→前处理→冷却至 60 °C→调 pH→加酶→(60±2) °C 恒温酶解→灭酶→离心→上清液

1.3.3 黄曲霉毒素测定方法—酶联免疫法^[5-6]

样品提取→试剂准备→加样→免疫反应→显色反应→仪器法计算含量

1.3.4 黄曲霉毒素破坏率和损失率计算方法

$$\text{黄曲霉毒素的破坏率}/\% = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

$$\text{黄曲霉毒素的损失率}/\% = \frac{A_2 - A_3}{A_2} \times 100\%$$

其中: A₀ - 原料中的黄曲霉毒素的含量 (ng/g); A₁ - 处理后花生粕中黄曲霉毒素的含量 (ng/g); A₂ - 过滤/处理前溶液中黄曲霉毒素的含量 (ng/mL); A₃ - 过滤/处理后溶液中黄曲霉毒素的含量 (ng/mL)。

1.3.5 蛋白质回收率和氨态氮损失率计算方法

蛋白质回收率 = [上清液总氮量 × 上清液量(g)] / [原料总氮量 × 原料量(g)] × 100%

氨态氮含量: 甲醛电位滴定法^[4]。

1.4 主要仪器

GL-21M 高速冷冻离心机(长沙湘仪离心仪器有限公司); SHZ-82 水浴恒温振荡器(金坛市恒丰仪器厂); PHS-25 数显 pH 计(上海雷磁仪器厂); JA1003 电子天平(上海天平仪器厂); MK₃ 酶标仪(上海热电仪器有限公司); JJ500 精密电子天平(常熟双杰测试仪器厂); KDN-2C 型定氮仪(上海纤检仪器有限公司)。

2 结果与讨论

2.1 花生粕基本成分分析

表 1 花生粕基本组成成分

组分	粗蛋白	粗脂肪	水分	灰分	黄曲霉毒素含量/%
	50.56±0.50	5.50±0.01	6.30±0.08	4.45±0.04	(105±2)ppb

注: 其它为粗纤维, 粗多糖等。

2.2 弱碱高温处理法对花生粕中黄曲霉毒素的影响

根据黄曲霉毒素的性质, 采用弱碱高温处理法破坏黄曲霉毒素。在单因素实验的基础上, 选取处理温度、处理 pH 以及处理时间为因素, 以处理后黄曲霉毒素的破坏率为指标, 进行三因素三水平的正交实验, 因素水平表如表 2 所示, 结果如表 3 所示。

表 2 因素水平表

因素水平	A(处理温度/°C)	B(pH)	C(处理时间/min)
1	100	8	20
2	110	9	40
3	121	10	60

表 3 正交实验及结果

实验号	实验因素				处理后总 AFT 含量(ng/g)*	AFT 破坏率/%
	A	B	C	空列		
1	1	1	1	1	75.10	29.81
2	1	2	2	2	53.57	49.93
3	1	3	3	3	36.97	65.45
4	2	1	2	3	55.38	48.24
5	2	2	3	1	40.35	62.29
6	2	3	1	2	29.76	72.19
7	3	1	3	2	45.71	57.28
8	3	2	1	3	31.60	70.47
9	3	3	2	1	18.73	82.50
K ₁	145.19	135.33	172.47	174.60		
K ₂	182.72	182.69	180.67	179.40		
K ₃	210.25	220.14	185.02	184.16		
k ₁	48.40	45.11	57.49	58.20		
k ₂	60.91	60.90	60.22	59.80		
k ₃	70.08	73.38	61.67	61.39		
极差 R	21.68	28.27	4.18	3.19		
优方案	A ₃	B ₃	C ₃			

注: * 处理后总 AFT 含量指处理后渣和液中总黄曲霉毒素的含量。

由表 3 可以得出, 处理温度、处理 pH 和处理时间三个因素对花生粕中黄曲霉毒素含量的影响大小依次为: 处理 pH > 处理温度 > 处理时间; 最优方案为: 用 1 mol/L 的 NaOH 调 pH 10, 在 121 °C 温度下处理 60 min, 花生粕中黄曲霉毒素的破坏率最大, 经重复试验测定计算为 84.50%。而 N.K.S. Gowda 等^[7]报道, 在 80 °C 的热空气中处理 6 h, 黄曲霉毒素的平均去除率为 57.6%; 黄达明等^[8]研究指出, 120 °C 处理去壳花

生 60 min, 黄曲霉毒素的去除率为 31.7%; 冯定远等^[9]报道, 用 1% NaOH 处理 1 d, 黄曲霉毒素的破坏率为 67.5%。本实验处理方法对花生粕中黄曲霉毒素的破坏率均高于以上文献报道。因此, 我们选择在 121 °C、pH 10 条件处理 60 min 对原料进行脱毒处理。

表 4 方差分析表

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
A	711.023	2	46.680	19.000	*
B	1204.245	2	79.060	19.000	*
C	27.074	2	1.777	19.000	
误差	15.23	2			

由表 4 可以看出, 处理温度和处理 pH 的变化对花生粕中黄曲霉毒素含量的影响非常显著, 而处理时间对花生粕中黄曲霉毒素也有一定的影响, 但不显著。

2.3 弱碱高温处理法对酶解效果的研究

分别将处理后的样品调 pH 值 7.5, 加 0.5% 的 Alcalase 酶解 48 h, 测酶解上清液中蛋白质回收率和氨态氮含量, 以不经任何处理直接酶解所得的酶解上清液中蛋白回收率 (46.83%) 和氨态氮含量 (10.07%) 作为对照组, 分析弱碱高温处理脱毒法对花生粕酶解效果的影响, 结果如表 5。

表 5 酶解上清液中各指标对照表

试验号	A	B	C	蛋白回收率/%	氨态氮含量/%
对照	-	-	-	46.83	10.07
1	1	1	1	55.06	12.05
2	1	2	2	56.29	18.48
3	1	3	3	58.10	13.96
4	2	1	2	58.38	11.98
5	2	2	3	51.63	13.86
6	2	3	1	54.72	13.12
7	3	1	3	54.97	15.23
8	3	2	1	57.85	13.77
9	3	3	2	59.29	14.69
最优	3	3	3	59.68	15.88

由表 5 可以看出, 对脱毒处理后的样品以相同方法酶解, 测得酶解液中蛋白质回收率和氨态氮含量与未处理前比较均有不同程度的提高, 这说明弱碱高温处理有利于酶解的进行。Fred Basolo^[10]等均对热处理及酸、碱处理对大豆蛋白水解的影响做了研究, 得出这些预处理方法可使蛋白结构疏松, 利于水解, 提高水解度。钱方等研究也得出相同的结论。

因此, 综合弱碱高温处理法对花生粕脱毒效果以及酶解效果的研究, 我们选择将花生粕在 121 °C、pH

10 处理 60 min 脱毒后进行酶解, 其酶解 48 h 后, 酶解上清液中蛋白质回收率为 59.68%, 氨态氮含量为 15.88%, 比对照组的提高率分别为 27.44%、57.70%。

3 结论

通过以上实验发现: (1) 弱碱高温处理法对花生粕原料中的黄曲霉毒素有较好的去除效果。本实验花生粕经过 121 °C、pH 10、60 min 处理, 黄曲霉毒素的破坏率高达 84.50%, 酶解 48 h 后, 酶解上清液中黄曲霉毒素的含量为 0.344 ng/mL。(2) 弱碱高温法脱毒处理有利于酶解的进行。最优脱毒处理后的样品酶解 48 h, 酶解上清液中的蛋白质回收率和氨态氮含量明显高于对照组, 分别为 59.68%、15.88%, 比对照组的提高率分别为 27.44%、57.70%。

参考文献

- [1] International Agency for Research on Cancer(IARC),1993. Some naturally occurring substances: food items and constituents. IARC Monograph Evaluation for Carcinogenic Risk to Humans No 56
- [2] 周雪松,赵谋明.我国花生食品产业现状与发展趋势[J].食品与发酵工业,2004(30):84-89
- [3] Tkachuk R. Nitrogen to protein conversion factors for cereal and oilseed meals[J]. Cereal Chemistry. 1969, 46: 419-423
- [4] 黄伟坤,等著.食品检验与分析[M].北京:中国轻工业出版社,1989
- [5] Beacon 黄曲霉毒素检测试剂盒使用说明书
- [6] Sun Xiulan, Zhao Xiaolian. et al. Development of an immunochromatographic assay for detection of aflatoxin B₁ in foods[J]. Food Control, 2006(17):256-262
- [7] N.K.S.Gowda, R.U.Suganthi, V.Malathi, A.Raghavendra. Efficacy of heat treatment and sun drying of aflatoxin-contaminated feed for reducing the harmful biological effects in sheep[J]. Animal Feed Science and Technology, 2007(133):167-175
- [8] 黄达明,林琳,林克龙.加热对减少花生中黄曲霉毒素水平的作用[J].中国油脂,2006(31): 51-53
- [9] 冯定远, P.P.Atreja. 花生饼粕中黄曲霉毒素化学脱毒的研究[J].中国粮油学报,1997 (12):21-25
- [10] Fred Basolo, Ronald C Johnson. Coordination Chemistry: The Chemistry of Metal Complexes[M]. California:W.A. Benjamin. Inc. Publisher,1964