

氨基酸多肽螯合钙的制备及其工艺优化

张 妹, 过世东*

(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 以罗非鱼下脚料(鱼头,鱼骨架)为原料,对原料进行水解获得氨基酸多肽溶液和鱼骨,鱼骨进行酸解获得游离钙,最终利用游离钙溶液与氨基酸多肽溶液反应制得氨基酸多肽螯合钙。作者获得了酸解鱼骨的较佳条件以及氨基酸多肽液与游离钙的较佳螯合工艺条件。骨钙溶出试验:温度 50 ℃、溶出时间 100 min、盐酸浓度 4 mol/L、盐酸量 12 mL/g(以骨粉计)。螯合试验:螯合液 pH 5、螯合时间 60 min、氨基酸多肽与钙离子质量比 2.5:1、螯合温度 80 ℃。

关键词: 螯合钙;钙;螯合;氨基酸多肽螯合钙

中图分类号:TS 254.9 文献标志码:A 文章编号:1673—1689(2014)04—0422—04

Study on Preparation and Optimization of Amino Acid Chelated Calcium

ZHANG Mei, GUO Shidong*

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: Hydrolysis of the raw material that is tilapia (fish heads, fish ribs) to obtain complex amino acid solution and fishbone, Acid-hydrolyzed fishbone The free calcium to obtain free calcium. Final, Complex amino acid chelated calcium was developed by complex amino acid and free calcium. The experiment obtains better conditions of acid hydrolysis bone and better chelating conditions. Calcium leaching result: Acidolysis temperature 50 ℃, Acidolysis time 100 min, The concentration of Hcl 4 mol/L, the quality rate of Hcl and bone meal 12 mL/g. Chelating result: pH 5, Chelating time 60 min, The quality Rate of complex amino acid and calcium 2.5:1, Chelating temperature 80 ℃.

Keywords: complex amino acid chelated calcium, calcium, chelating, chelated calcium

钙是人生的重要组成物质,是人生中所有各种有机和无机元素排行第五大元素,钙在人体内几乎参与了所有的生命活动。最新的科学研究表明,人体之所以衰老或者发生疾病,与钙的代谢发生紊乱,使细胞内外的钙浓度发生变化密切相关。近年

来,越来越多人注意补钙的问题。理想的钙剂应具备钙含量高、吸收效率高、无副作用、服用方便、口感好等特点,若含有人体所需要的多种氨基酸、维生素及微量元素等物质则更为理想。

目前市场上补钙产品吸收率差别不是很大,一

收稿日期:2013-11-06

基金项目:江苏省普通高校研究生科研创新计划项目;江苏高校优势学科建设工程项目。

*通信作者:过世东(1953—),男,江苏无锡人,工学博士,教授,博士研究生导师,主要从事食品工程研究。E-mail:guosd@jiangnan.edu.cn

一般在 20%~40%^[1]。目前国内外补钙制剂繁多,但无机钙盐占主导地位,无机钙盐价格便宜但吸收率低易在肾脏停留,导致肾结石等疾病,如碳酸钙长期服用可能产生大便干燥、食欲不振、胃疼等副作用。近年来,国内外对补钙制剂的研究集中在有机钙方面,但有机钙盐也存在不同的毒副作用,如乳酸钙长期服用容易产生疲劳;葡萄糖酸钙能引起糖尿病患者血糖升高;醋酸钙能引起腹泻等^[2-4]。新型可溶性有机钙,氨基酸钙为代表,其特点是:稳定性好,易吸收;量小高效;长期服用无毒副作用,人体在摄入氨基酸螯合物时,同时摄入了一般食物中往往缺乏的 2 种营养物质—微量元素和氨基酸,具有双重营养作用在微量摄入时,氨基酸钙中钙的吸收不是以离子形式而是以整个螯合物形式被吸收的,是一种较为理想的钙制剂。作者以鱼蛋白酶解液与骨粉钙制备螯合钙,通过单因素实验和正交试验,得出最佳的螯合条件,为开发鱼类下脚料增加其附加值提供参考,为开发钙营养添加剂的制备提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要材料

鱼下脚料:广西百洋集团提供;钙离子溶液、鱼蛋白水解液:自制;酸性蛋白酶:无锡锐阳生物有限公司产品;无水乙醇、盐酸、氢氧化钠均为分析纯试剂。

1.2 主要仪器和设备

万能粉碎机:天津市泰斯特仪器有限公司产品;超微粉碎机:桓台东奇粉体有限公司产品;DSHZ-300 水浴恒温振荡器:江苏太仓市实验设备厂产品;冷冻干燥机:美国热电公司产品;原子吸光谱仪:东芝株式会社产品;傅里叶变换红外光谱仪:美国赛默飞公司产品;DL-5 离心机:上海安亭科学仪器厂产品。

1.3 实验方法

1.3.1 骨钙溶出工艺流程 鱼骨→干燥→粗粉碎→超微粉碎→盐酸酸解→离心分离→过滤→游离钙溶液

1.3.2 螯合工艺流程 酶解液、游离钙→调节 pH、温度、时间、质量比→搅拌螯合→一定体积比的水乙醇→离心去上清液→干燥→粉碎→产品

1.4 指标的测定方法

水解度:电位滴定法;钙的测定:原子吸光光度计;螯合物的定性:红外光谱法。

2 结果与分析

2.1 产物的鉴定

取 1~2 mg 干燥的氨基酸多肽样品和干燥的螯合钙产物分别与干燥的 KBr(A R 级)粉末(质量约样品的 50 倍)在玛瑙研钵中研磨成混合细粉末。装入模具内,在压片机压制成片测试,得红外光谱分析图 1,图 2。

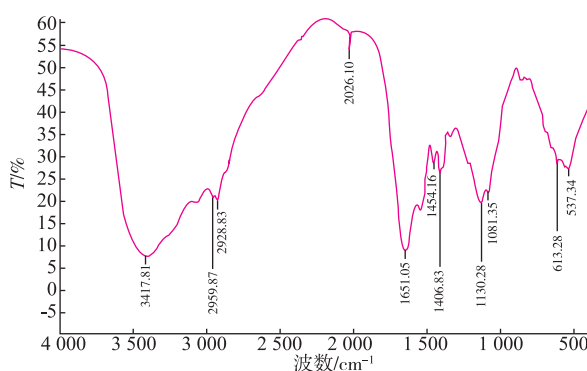


图 1 氨基酸多肽的红外光谱图

Fig. 1 Infrared Spectrum of Multi-peptide amino acid

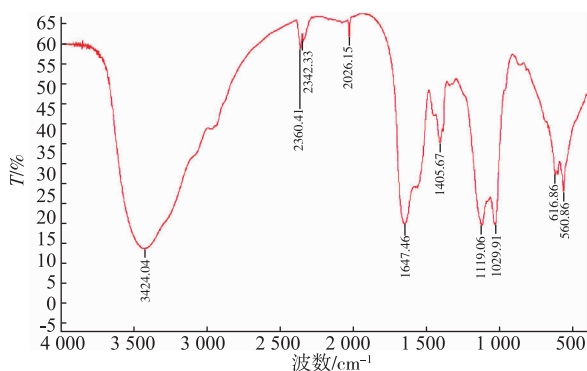


图 2 氨基酸多肽螯合钙的红外光谱图

Fig. 2 Infrared Spectrum of Chelated Products

红外光谱整个范围可分为 4 000~1 300 cm^{-1} 与 1 300~600 cm^{-1} 两个区域。4 000~1 300 cm^{-1} 区域的峰是由伸缩振动产生的吸收带。由于基团的特吸收峰一般位于此高频范围,并且在该区域内,吸收峰比较稀疏,因此它是基团鉴定工作最有价值的区域,称为官能团区。在 1 300~600 cm^{-1} 区域中,除单键的伸缩振动外,还有因变形振动产生的复杂光谱,当分子结构稍有不同时,该区的吸收就要细微的差异。这种情况就像每个人的都有不同的指纹一样,因而称为指纹区。

由氨基酸多肽溶液的红外光谱图 1 与螯合产物的红外光谱图 2 可见,在特征区, $-\text{NH}_2$ 的吸收峰由 $3\,417.81\text{ cm}^{-1}$ 移动到 $3\,424.04\text{ cm}^{-1}$; $\text{C}=\text{O}$ 的吸收峰由 $2\,959.87\sim 2\,928.83\text{ cm}^{-1}$ 移动到 $2\,360.23\sim 2\,342.33\text{ cm}^{-1}$,由两图对比可见,氨基与羧基氧都参与了反应,与钙离子形成配位($p-\pi$)螯合物,证明了螯合钙的生成。

2.2 游离钙制备

将鱼骨清洗,去脂,自然风干,粗粉碎过筛,得 100 目骨粉,超微粉碎 5 min。选择时间、温度、骨粉质量/盐酸体积比、盐酸浓度 4 个因素进行 4 因素 3 水平的正交实验,用 $L_9(3^4)$ 正交表安排实验并方差分析,结果如表 1。

表 1 酸解鱼骨正交试验

Table 1 Acid hydrolysis of bone results of orthogonal test

序号 因素	温度/ ℃	时间/ min	HCl 浓度/ (mol/L)	HCl 添加量/ (mL/g)	骨钙溶 出率/%
1	1(50)	1(60)	1(2)	1(8)	59.14
2	1	2(90)	2(3)	2(10)	58.45
3	1	3(120)	3(4)	3(12)	74.70
4	2(60)	1	2	3	53.40
5	2	2	3	1	58.01
6	2	3	1	2	63.68
7	3(70)	1	3	2	50.18
8	3	2	1	3	56.73
9	3	3	2	1	61.97
K_1	192.29	162.72	179.55	179.12	
K_2	175.09	173.19	173.82	172.31	
K_3	168.88	200.35	182.89	184.83	
R	23.4	37.28	9.06	12.52	

根据表 1, 可以得出骨钙溶出最佳组合是 $A_1B_3C_3D_3$, 因素影响顺序: $B>A>D>C$ 。用最佳组合 $A_1B_3C_3D_3$, 得到骨钙溶出率为 74.7%。因此, 骨钙溶出工艺条件是: 温度 $50\text{ }^\circ\text{C}$ 、时间 100 min、盐酸浓度 4 mol/L、盐酸量 12 mL/g 骨粉。

2.3 螯合单因素实验

2.3.1 pH 对螯合反应的影响 在温度为 $60\text{ }^\circ\text{C}$, 氨基酸多肽: 离子钙的质量比为 2:1, 螯合时间为 60 min, 乙醇体积比 7:1, 选取 pH 值 3、4、5、6、7、8、9 做梯度试验。结果见图 3。

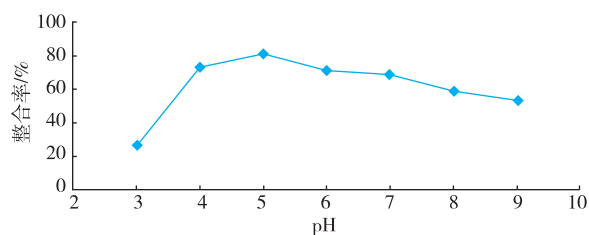


图 3 pH 对螯合反应的影响

Fig. 3 Influence of pH value on Chelate Ratio

由图 3 可以看出, 在 pH 值为 3 到 5 时螯合率不断升高, 在 pH 值 5 到 9 呈下降趋势。分析原因为当 H^+ 大量存在时, H^+ 将会与 Ca^{2+} 争夺供电子基团, 不利于螯合物的生成, 当 pH 超过 6 以后, OH^- 与供电子基团争夺 Ca^{2+} 优先结合生成氢氧化钙沉淀, 故 pH 选择在 5 左右为适宜。

2.3.2 螯合温度对螯合反应的影响 在氨基酸多肽: 离子钙的质量比为 2:1, 螯合时间为 60 min, pH 值 4, 乙醇体积比 7:1, 选取 30 、 40 、 50 、 60 、 70 、 80 、 90 、 $95\text{ }^\circ\text{C}$, 做梯度试验。结果见图 4。

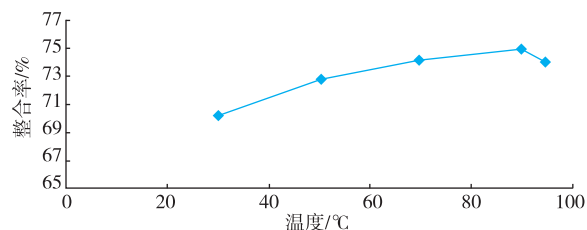


图 4 螯合温度对螯合反应的影响

Fig. 4 Influence of Temperature on Chelate Ratio

由图 4 可以看出, 温度低于 $90\text{ }^\circ\text{C}$ 螯合率缓慢上升, 而高于 $90\text{ }^\circ\text{C}$ 时螯合率却急剧下降, 当温度为 $90\text{ }^\circ\text{C}$, 螯合率达到最高。分析原因可能是螯合过程是一个动态平衡的反应, 当温度上升, 加速了反应离子的运动, 加大了螯合反应, 螯合反应大于解离反应, 所以随着温度的上升螯合率增加, 当温度大于 $90\text{ }^\circ\text{C}$ 时, 解离反应大于螯合反应, 螯合率呈现下降趋势。故温度选择 $90\text{ }^\circ\text{C}$ 为适宜。

2.3.3 螯合时间对螯合反应的影响 在温度为 $60\text{ }^\circ\text{C}$, 氨基酸多肽: 离子钙的质量比为 2:1, pH 值 4, 乙醇体积比 7:1, 选取螯合时间, 30 、 60 、 90 、 120 、 150 min 做梯度试验, 结果见图 5。

由图 5 可以看出, 随着时间的延长, 螯合率不断升高, 但是当时间超过 60 min 后, 螯合率曲线变化平缓。分析原因可能是离子和供电子基团是不停的运动的, 并不停的反应, 当达到一定时间后, Ca^{2+} 或

者供电子基团达到饱和,螯合率就不再增加。故时间选择在 60 min 为适宜。

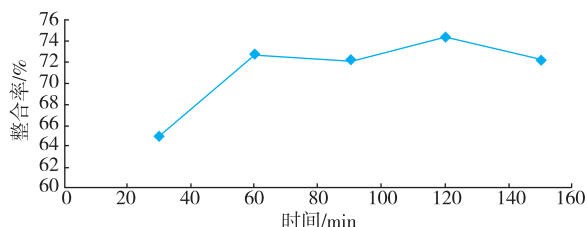


图 5 螯合时间对螯合反应的影响

Fig. 5 Influence of Time on Chelate Ratio

2.3.4 质量比对螯合反应的影响 在温度为 60 ℃,螯合时间为 60 min,pH 值 4,乙醇体积比 7:1 选取氨基酸多肽:离子钙的质量比为 1:1、2:1、4:1、6:1 做梯度试验,结果见图 6。

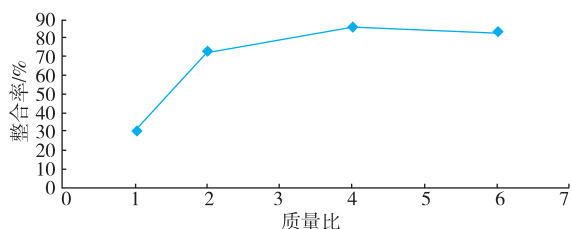


图 6 质量比对螯合反应的影响

Fig. 6 Influence of mass ratio on chelate ratio

由图 6 可以看出,随着氨基酸多肽与钙质量比值升高,螯合率明显增加,当比值为 4:1 时,螯合率最大,但比值从 2:1 往后,螯合率变化很小,比值过大就造成了浪费。当氨基酸多肽与钙质量比值为 2:1 为适宜。

2.4 螯合反应的正交实验分析

为了进一步优化螯合工艺,选择时间、温度、钙离子/氨基酸多肽质量之比、pH 4 个因素进行 4 因素 3 水平的正交实验,用 $L_9(3^4)$ 正交表安排实验并方差分析,结果如表 2。

根据表 2,可以得出螯合工艺的最佳组合是 $A_2B_2C_2D_3$, 因素影响顺序: $A>B>D>C$ 。用最佳组合 $A_2B_2C_2D_3$ 再次试验,得到螯合率为 90.83%。因此,螯合工艺最佳条件是:温度 80 ℃、时间 60 min、多肽/钙离子质量比为 2.5:1、pH 为 5。

表 2 酸解鱼骨正交试验

Table 2 Chelate reaction results of orthogonal test

序号 因素	温度/ ℃	氨基酸多肽/ 钙质量比	时间/ min	pH	螯合率/ %
1	1(70)	1(2:1)	1(50)	1(4)	50.92
2	1	2(2.5:1)	2(60)	2(5)	74.27
3	1	3(3:1)	3(70)	3(6)	65.17
4	2(80)	1	2	3	76.43
5	2	2	3	1	87.46
6	2	3	1	2	83.83
7	3(90)	1	3	2	65.18
8	3	2	1	3	77.01
9	3	3	2	1	73.97
K_1	190.38	192.54	211.77	212.36	
K_2	247.74	238.75	224.68	223.29	
K_3	216.16	222.99	217.63	218.63	
R	57.36	46.21	12.91	10.93	

3 结 语

探讨了以罗非鱼下脚料酶解液和骨粉钙螯合,制备氨基酸多肽螯合钙的最优工艺条件,得出以下结论:

1) 利用盐酸酸解鱼骨粉的最佳条件:温度 50 ℃、时间 100 min、盐酸浓度 4 mol/L、盐酸添加量 12 mL/g(以骨粉计)。

2) 螯合反应的最佳条件:pH 5、时间 60 min、多肽液与钙离子质量比 2.5:1、温度 80 ℃。

参考文献:

- [1] 刘燕萍. 营养医生话补钙[M]. 北京:中国协口医科大学出版社,2003.
- [2] 韩歆. 一粒钙片[M]. 北京:中国轻工业出版社,2004.
- [3] 高明侠,秦卫东,苗敬芝. 复合 L-氨基酸螯合钙对大鼠骨密度增加的影响[J]. 食品与生物技术学报,2008,27(2):44-46.
GAO Mingxia, QIN Weidong, MIAO Jingzhi. Effects on the raising of bone density by calcium complex L-Amino acid chelate compound in weaning rats[J]. Journal of Food Science and Biotech Nology, 2008, 27(2):44-46. (in Chinese)
- [4] 米昭曾,罗永健. 白双法.米氏说钙[M]. 北京:中央民族大学出版社,2006.