

鹿血酒中鹿血多肽提取工艺研究

张翠侠 周海妹 展学孔 肖礼勇 安军 海南椰岛酒业发展有限公司 海南海口 570311

基金项目：《海口市保健酒工程技术开发研究中心》项目编号：(2020-059)

作者简介：张翠侠(1983年-)，女，河南，硕士，化工工程师，研究方向：天然药物提取及酒体配方设计。

摘要：针对一款配料为鹿血、枸杞、桑椹、黄精的鹿血酒，为了优化其酒体感官、减轻鹿血带来的腥味、提高酒液稳定性、提高鹿血有效成分利用率，本实验对该鹿血酒中鹿血多肽采用酶法工艺提取，并对该提取工艺参数进行优化。试验结果表明，本试验中的鹿血多肽提取工艺得到的鹿血多肽具有很高的醇溶性，提高了鹿血有效成分的利用率，对改善酒体感官、减轻鹿血带来的腥味、提高酒液稳定性上发挥了重要作用。

关键词：鹿血；酒；多肽；提取；酶解

引言

鹿血为鹿科动物梅花鹿或野生动物马鹿的腥血或茸血，其性热，味甘咸，归肝、肾二经，具有养血益精、行血祛瘀、消肿疗伤等作用。鹿血含有丰富的蛋白质、氨基酸、多种微量元素，还含有各种酶类和维生素，试验证明鹿血有显著的抗衰老、补血、促进代谢、增强免疫力和抗疲劳等作用^[1-6]。多年来，我国对鹿血资源的利用，仅限于对原血液的利用和加工，其中大部分都是以鹿血酒的形式存在，但生产工艺各有不同。国内的鹿血酒大部分还是采用传统的生产方法，将基酒和鹿血简单混合。这种鹿血酒含有大量不溶性物质，产品外观让消费者难以接受，同时这种简单的组合方式使得鹿血中的有效成分损失严重，降低了人体对鹿血细胞中的有效成分的吸收和利用^[7-8]。利用酶解技术使鹿血中大分子蛋白质降解为小分子多肽，既保证了产品稳定性，又有利于营养成分被人体完全吸收。

为优化配料为鹿血、枸杞、桑椹、黄精的鹿血酒的酒体感官、减轻鹿血带来的腥味、提高酒液稳定性、提高鹿血有

效成分利用率，本实验拟对该鹿血酒中鹿血多肽采用酶法工艺提取，利用木瓜蛋白酶进行酶解提取鹿血多肽，解决鹿血在酒中溶解性差造成大量有效成分损失的问题，同时利用果香与酒香、植物药香的复合作用减弱鹿血腥味，改善酒体感官。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

鹿血粉：采购；基酒：由海南椰岛酒业发展有限公司提供；酶制剂：南宁东恒华道生物科技有限责任公司提供；枸杞、桑椹、黄精：购买自药材批发市场。

1.2 主要仪器与设备

电热恒温水浴锅；超声仪；分析天平(XS205DU)；超声波清洗器(HU1020F)；海能凯氏定氮仪(K9840)：海能未来技术集团有限公司。

1.3 方法

1.3.1 提取工艺流程



鹿血粉 → 加水 → 超声溶解 → 加入蛋白酶酶解 → 沸水浴灭酶 → 过滤 → 调配 → 过滤 → 分装 → 成品鹿血酒。

1.3.2 实验用酶制剂种类的研究

鹿血粉的酶解是鹿血酒加工过程的关键工艺，它直接关系到鹿血营养成分的利用和成品酒的色泽、香气、口感等。本试验采用单因素法，研究木瓜蛋白酶、胰蛋白酶、中性蛋白酶的酶解效果，优选出色泽、香气等感官较优方案。

1.3.3 鹿血粉的酶解提取工艺参数的优化

进一步采用 L9 (3⁴) 正交试验设计 (表 1)，研究鹿血多肽的提取工艺中加水量、加酶量、温度、时间各因素对多肽得率的影响。

表 1 鹿血多肽提取工艺因素水平表

因素水平	A 加水量 / 倍	B 加酶量 / %	C 酶解温度 / °C	D 酶解时间 / h
1	80	0.5	50	2
2	100	1.5	52	4
3	120	2.5	54	6

1.3.4 鹿血多肽含量的测定

鹿血酶解液样品加入 10% 三氯乙酸 10 ml, 4800 r/min 高速离心 12min, 以沉淀未酶解的蛋白质。然后分别采用茚三酮显色法、凯氏定氮法测定游离氨基酸态氮含量和酶解液总氮含量。

多肽得率 (%) = (酶解液总氮 - 游离氨基酸态氮) / 鹿血原料总氮 * 100%

1.3.5 鹿血酒的调配

鹿血酒的配方为: 鹿血、桑椹、枸杞、黄精, 植物药材 (桑椹、枸杞、黄精) 按一定配方比例调配, 鹿血酶解液的添加比例按鹿血含量为 1%、2%、3% 三种不同比例折算添加, 配制成 33 %vol 的鹿血酒, 密封贮存 1 个月, 观察其色泽、沉淀情况, 并进行感官品评。

2 结果与分析

2.1 实验用酶制剂种类的确定

通过单因素实验, 结果表明利用木瓜蛋白酶进行酶解提

取得到的酶解液色泽、香气较佳, 由于木瓜蛋白酶释放的果香与酒香、脂香、药香通过复合协调作用, 减弱了鹿血的腥味, 改善了酒体感官, 使整体酒香更加丰富多元, 色泽更加纯净自然, 品质更加独特优良。

2.2 加水量、加酶量、酶解时间、酶解温度对鹿血多肽得率的影响

根据鹿血原料及木瓜蛋白酶的性质, 取一定量鹿血粉, 采用 L9 (3⁴) 正交试验设计对加水量、加酶量、酶解温度、酶解时间 4 个因素进行研究, 以提取液的多肽含量及多肽得率为指标优选酶解提取最佳工艺。

表 2 正交试验表及结果

因素序号	A	B	C	D	多肽得率 / %
1	1	1	1	1	30.36
2	1	2	2	2	41.00
3	1	3	3	3	37.12
4	2	1	2	3	53.05
5	2	2	3	1	46.85
6	2	3	1	2	53.96
7	3	1	3	2	51.85
8	3	2	1	3	53.98
9	3	3	2	1	46.18
K1	36.160	45.087	46.100	41.130	
K2	51.287	47.277	46.743	48.937	
K3	50.670	45.753	45.273	48.050	
R	15.127	2.190	1.470	7.807	

由表 2 可见四个因素的极差大小顺序为 A > D > B > C。与水平的组合应为 A2 D2 B2 C2。进一步进行方差分析,结果见表 3 所列。

表 3 方差分析表

方差来源	偏差平方和	自由度	F 比	F 值	显著性
A	459.736	2	134.971	19.000	*
B	7.561	2	2.321	19.000	
C	3.258	2	1.000	19.000	
D	109.617	2	33.645	19.000	*
误差	3.26	2			

查表得 $F_{0.05}(2,2) = 19.0$, $F_{0.01}(2,2) = 99.0$, 经方差分析,发现 A、D 具有显著意义, B、C 无显著意义。A 因素在各影响因素中排首位,加水量 100 倍时多肽得率最高,即 A2 为最佳条件,可能由于在酶解过程中,加水量过少,反应体系过于粘稠,会导致酶解反应不充分,加水量过多,则会稀释酶浓度同样会导致酶解度下降。D 因素在各影响因素中排第二位,为获得较大的酶解度,酶解时间要充分,因酶与底物作用是一个可逆的过程,一定时间后达到平衡,水解度不再增加,结果表明酶解时间为 4 h 最佳。B 因素对多肽得率的影响较大,随着加酶量增加水解度升高,加酶量过高水解度略有下降,这主要是由于酶浓度过大,发生自水解现象,导致对底物水解作用减弱,结果表明加酶量为底物质量的 1.5 % 最佳。C 因素对多肽得率的影响较小,蛋白酶作用都有一个最适温度范围,结果表明温度在 52 °C 时多肽得率最高。结合 R 水平,得出鹿血提取最佳工艺条件为:加水量 100 倍,加酶量 1.5 %,媒介温度 52 °C,酶解时间 4h,即最佳提取工艺为 A2 D2 B2 C2。经测定按最佳工艺提取所得鹿血酶解液中多肽含量达 13.47 mg/ml,多肽得率达 54.38 %。

2.3 鹿血酒的调配结果

鹿血酒调配实验的结果表明,三种鹿血含量的鹿血酒质量都较好,酒液透亮,酒香药香协调自然,口感丰满醇和。贮存一个月后有极少量沉淀,综合色泽、口感等方面的评价后选定鹿血含量为 1 % 的鹿血酒最佳,经测定按配方调配得到的鹿血酒中多肽回收率达 89.4%。结果表明该工艺提取制得的鹿血多肽调配成鹿血酒,多肽损失较小。

3 结论

本试验利用木瓜蛋白酶进行酶解提取鹿血多肽,并通过正交试验得出木瓜蛋白酶提取鹿血多肽的最佳工艺条件为:加水量 100 倍,加酶量 1.5 %,媒介温度 52 °C,酶解时间 4 h,该条件下鹿血多肽的得率可达到 55.38 %,鹿血酒中多肽回收率达 89.4%。结果表明本试验中的鹿血多肽提取工艺得到的鹿血多肽具有很高的醇溶性,提高了鹿血有效成分的利用率,同时改善了酒体感官,减轻了鹿血带来的腥味、提高了酒液稳定性。

参考文献:

- [1] 张志颖,孙佳明,牛晓晖等.鹿血化学成分及其药理作用研究[J].吉林中医药,2013,33(1):61-62.
- [2] 袁相恋,薄士儒,李庆杰等.鹿血化学成分和药理作用及其应用研究进展[J].经济动物学报,2011,12(4):207-211.
- [3] 蒋蕾,赵文静,常惟智.鹿血的药理作用及临床应用概况[J].中医药信息,2006,23(6):12-13.
- [4] 李鹰,张晓莉,董艳,等.鹿血对小鼠肠道菌群及免疫功能的影响[J].中国微生态学杂志,1997,9(6):8-10.
- [5] 韩淑芳,邵志强,吴双福,等.鹿血口服液对肾虚和抗应激药理研究[J].中国林副特产,2002,(2):8-9.
- [6] 崔丽,王宜,董崇田,等.鹿血清对老龄大鼠抗衰老作用的实验研究[J].中国老年学杂志,1995,15(1):44-45.
- [7] 王守本,孙德水,周淑荣.鹿血与鹿茸血的研究利用概况[J].特产研究,1999,01:51-56.
- [8] 彭涛.新型鹿龟酒的研制[J].酿酒科技,2004,04:86-92.

