



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109136315 A

(43)申请公布日 2019.01.04

(21)申请号 201810597655.X

(22)申请日 2018.06.11

(71)申请人 华南农业大学

地址 510642 广东省广州市天河区五山路
483号

(72)发明人 林捷 郑华 林晓楠 刘伟璇

(74)专利代理机构 广东广信君达律师事务所
44329

代理人 张燕玲 杨晓松

(51) Int. Cl.

C12P 21/06(2006.01)

C07K 1/34(2006.01)

C07K 17/10(2006.01)

C07K 17/04(2006.01)

权利要求书1页 说明书6页

(54)发明名称

一种亚铁血红素寡肽微胶囊粉及其制备方法

(57)摘要

本发明属于畜禽屠宰加工副产物综合利用加工技术领域,公开了一种亚铁血红素寡肽微胶囊粉及其制备方法。该方法以符合食品安全标准的肉鸡屠宰线上收集的、经抗凝的肉鸡新鲜血液为原料,包括以下步骤:(1)血红细胞的溶胀破壁;(2)亚铁血红蛋白保护;(3)亚铁血红蛋白复合酶解;(4)超滤分离纯化;(5)亚铁血红素寡肽微胶囊制备,获得分子质量小于3k Da、亚铁血红素得率高、稳定性好的亚铁血红素寡肽微胶囊粉。

1. 一种亚铁血红素寡肽微胶囊粉的制备方法,其特征在于包括以下步骤:

S1. 血红细胞的溶胀破壁:收集屠宰生产线屠宰的黄羽肉鸡的新鲜血液,加抗凝剂进行抗凝血,再将抗凝的新鲜血液离心,弃上清血浆,加入血细胞等质量的生理盐水清洗、离心,重复3次,获得血液红细胞,加入血液红细胞3~4倍体积的洁净水,充分搅拌20~30min使血红细胞溶胀破裂,释放出血红蛋白;

S2. 亚铁血红蛋白的保护:将S1所得破壁血红细胞,加入血红细胞质量0.04~0.06%的组氨酸,搅拌均匀后静置反应30~60min,获得组氨酸-亚铁血红蛋白复合物;

S3. 组氨酸-亚铁血红蛋白复合物的复合酶解:将S2所得组氨酸-亚铁血红蛋白复合物先进行碱性蛋白酶酶解,酶解的条件为:底物质量浓度4~6%的蛋白质含量,碱性蛋白酶用量3~8kU/g蛋白质,pH值8.5,温度45℃,在此条件下酶解5h,随后用盐酸将酶解液pH值调至6.0,按1~3kU/g蛋白质加入风味蛋白酶,酶解3h后,得到亚铁血红蛋白酶解液,降温至4℃抑制酶活性;

S4. 超滤分离纯化亚铁血红素寡肽:采用4000rpm将S3所得亚铁血红蛋白酶解液离心去除其中大颗粒物质,再将离心后的亚铁血红蛋白酶解液在0.5MPa压力下,用3kD的超滤膜进行超滤处理除去酶和大分子物质,得到分子质量小于3kD的亚铁血红素寡肽浓缩液;

S5. 亚铁血红素寡肽微胶囊粉制备:向S4所得亚铁血红素寡肽浓缩液中加入多孔淀粉作为芯材,多孔淀粉的用量为亚铁血红素寡肽浓缩液中干物质质量的1.5倍;在40℃条件下充分吸附至饱和,再加入芯材质量1.6倍的阿拉伯胶作为壁材,超声波辅助混合包埋,经真空冷冻干燥制得亚铁血红素寡肽微胶囊粉。

2. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于:步骤S1所述洁净水的用量为血液红细胞的3倍体积,搅拌时间为30min。

3. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于:步骤S2所述组氨酸的加入量为血红细胞质量的0.05%。

4. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于:步骤S3所述酶解的条件为底物质量浓度5%的蛋白质含量,碱性蛋白酶用量5kU/g蛋白质;所述风味蛋白酶的添加量为2kU/g。

5. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于:步骤S3所得亚铁血红蛋白酶解液中亚铁血红蛋白水解度达27.3~34.2%,亚铁血红素肽得率为82.6~87.5%。

6. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于:步骤S4所得亚铁血红素寡肽浓缩液中亚铁血红素寡肽的含量为20.8~22.5mg/mL,亚铁血红素的回收率为83.5~84.1%。

7. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于:步骤S5所得亚铁血红素寡肽微胶囊粉,微胶囊包埋率为95.83~97.34%,亚铁血红素寡肽含量203~207mg/g,亚铁血红素得率为77.64~79.33%。

8. 一种由权利要求1所述的制备方法制备得到的亚铁血红素寡肽微胶囊粉。

一种亚铁血红素寡肽微胶囊粉及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于畜禽屠宰加工副产物综合利用加工技术领域,具体地,涉及一种亚铁血红素寡肽微胶囊粉及其制备方法。

背景技术

[0002] 铁是人体必需的微量元素,铁缺乏或铁利用障碍将导致氧气运输和贮存能力减弱,长时间缺铁会耗尽机体贮备、降低血红蛋白水平和红细胞比容,而出现缺铁性贫血症(iron deficiency anemia,IDA)。IDA在世界范围内普遍存在,据世界公共健康营养组织的数据显示,世界约有24.8%的人口受IDA 困扰,因此,IDA仍是目前亟待关注的健康问题。缺铁是机体长时间累积的结果,一旦导致缺铁性贫血就很难通过食物补充得到完全恢复,目前世界主要用补铁剂来辅助治疗缺铁性贫血症,以缓解缺铁症状,减轻身体的损害。就目前常用的补铁剂,尽管对缺铁性贫血症状具有一定的缓解效果,但仍存在一下问题:生物利用率低、胃肠道副作用大,饮食禁忌多,游离铁毒性大;铁腥味重口感差,治疗周期长等。

[0003] 畜禽血液是畜禽屠宰加工后一种副产物,富含蛋白质、铁等营养成分,但由于收集技术、开发利用技术等方面的缺失,目前绝大部分的畜禽血液仍被废弃,一方面是资源的极大浪费,另一方面由于畜禽血液的废弃给环保处理带来了极大的压力,因此,畜禽血液的开发利用是禽屠宰加工企业极需解决的关键技术。血液是富含铁的生物资源,可用于人的补铁剂。畜禽血液中对人体有明显营养功能的是亚铁血红素,但由于血液中的血红蛋白在人体消化道中很难被消化吸收,因此,目前畜禽血液极少被用做补铁剂。为提高和解决畜禽血液的利用率,国内开展了大量的研究,目前的研究主要集中在血红蛋白酶解处理,来提高血红蛋白的利用率。

[0004] 公开号为CN101649342B的发明专利公开了一种二价血红素肽铁的纯化方法及其用途。该专利公开的核心内容包括:①超声波法破壁血红细胞;②在真空室中采用胰酶酶解血红蛋白,释放二价血红素肽铁,并真空(0.01MPa) 高温(95℃) 灭酶;③将酶解液离心取上清液,采用金属螯合亲和层析或电磁分离纯化二价血红素肽铁。该专利所述“通过真空高频脉冲电场酶解、真空高温灭酶”以获得二价血红素大铁。一方面,该专利并未描述产品的亚铁得率和血红素亚铁的保护效果,另一方面该专利所提及的“维持真空度 0.01MPa,升高真空室温度至95℃,高温灭酶10-10min”,在此真空条件下,温度是完全不可能达到95℃的。

[0005] 公开号为CN102150837的发明专利公开了亚铁血红素肽咀嚼片配方及制作方法。该专利的核心部分是利用中性蛋白酶和风味蛋白酶酶解血红蛋白,酶解后分别经10kD和3kD超滤膜超滤,获得亚铁血红素肽溶液;酶解液超滤液经喷雾干燥制成肽粉。该专利经酶解、超滤、喷雾干燥后所得产品是否为“亚铁血红素肽”?因为未加保护的血红蛋白在有氧条件下进行酶解、超滤和喷雾干燥,亚铁血红素很容易被氧化为高铁(三价铁) 血红素,最终所得的产物不可能为“亚铁血红素肽”,且专利中也未对所得产物“亚铁血红素肽”含量进行分析,专利中仅在“咀嚼片”制备时在配方中添加了“0.5%~1.5%抗坏血酸”作为抗氧化剂来保护亚铁血红素肽,但如果亚铁血红素肽在制备过程中已被氧化为“高铁血红素肽”,在“咀

嚼片”中抗坏血酸是不可能将“高铁血红素肽”还原为“亚铁血红素肽”的，因此，该专利中“亚铁血红素肽咀嚼片”中的“亚铁血红素肽”含量是极其有限的。

[0006] 公开号为CN201611134138.6的发明专利公开了一种从动物血液提取小肽亚铁血红素的生产方法，该专利的核心内容主要包括下面几个方面：1) 采血前分别加入2%~15%的抗凝剂和0.045%~0.048%的抗坏血酸作为抗氧化剂；2) 采用超声波辅助反复冻融方法进行血细胞溶血；3) 采用惰性气体抑制酶解过程中亚铁血红素的氧化；4) 酶解溶液中加入抗坏血酸和酪蛋白磷酸肽进行抗氧化，喷雾干燥获得小肽亚铁血红素；5) 用浓度为21~25%的浓盐酸高温(80~100℃)水解血浆蛋白，回流结晶获得小肽亚铁血红素晶体；6) 将喷雾干燥的酶解“小肽亚铁血红素”与浓盐酸水解的“小肽亚铁血红素晶体”混合后经磨粉、过筛，获得粉末状小肽亚铁血红素成品。专利中所描述的采用2%~15%的抗凝剂不合理；酶解过程中仅采用惰性气体(未注明具体的种类)、喷雾干燥过程中加入抗坏血酸和酪蛋白磷酸肽均不能有效抑制亚铁血红素的氧化；血浆蛋白水解后是不可能得到小肽亚铁血红素的。专利中所并未描述的“小肽亚铁血红素成品”中小肽亚铁血红素的含量是多少。

[0007] 硕士论文《食品级亚铁血红素肽的研制及其功能特性研究》采用不同类型保护剂分别添加于牛血酶解制取亚铁血红素肽的酶解底物和产物中，考查其对亚铁的保护性能。酶解反应中，最佳的抗氧化剂/还原剂组合为抗坏血酸/无水亚硫酸钠(2:1)，亚铁含量提高了24.5%。酶解产物中，最佳的抗氧化剂/还原剂组合为抗坏血酸/无水亚硫酸钠(2:1)，亚铁含量提高了37.7%。酶解产物中加入抗氧化剂的亚铁保护效果是优于酶解反应中加入抗氧化剂的。论文中描述的血红素亚铁保护方法是通过酶解反应中添加抗氧化剂抗坏血酸和无水亚硫酸钠，这些抗氧化剂后期稳定性不高，抗氧化效果不理想。

发明内容

[0008] 为了克服现有技术的缺点和不足之处，本发明的首要目的在于提供了一种有效的亚铁血红素寡肽微胶囊粉的制备方法。该方法以优质黄羽肉鸡屠宰生产线上收集的经抗凝的鸡血为原料，以优选的水溶胀法进行血细胞破壁释放血红蛋白，酶解前将血红蛋白制备为稳定的组氨酸-亚铁血红蛋白，经复合酶解、超滤纯化分离、微胶囊包埋等技术手段，获得分子质量小于3k Da、亚铁血红素得率高、稳定性好的亚铁血红素寡肽微胶囊粉。

[0009] 本发明的另一目的在于提供一种上述制备方法制备得到的亚铁血红素寡肽微胶囊粉。

[0010] 一种亚铁血红素寡肽微胶囊粉的制备方法，包括以下步骤：

[0011] S1. 血红细胞的溶胀破壁：收集屠宰生产线屠宰的黄羽肉鸡的新鲜血液，加抗凝剂进行抗凝血，再将抗凝的新鲜血液离心，弃上清血浆，加入血细胞等质量的生理盐水清洗、离心，重复3次，获得血液红细胞，加入血液红细胞3~4倍体积的洁净水，充分搅拌20~30min使红细胞溶胀破裂，释放出血红蛋白；

[0012] S2. 亚铁血红蛋白的保护：将S1所得破壁红细胞，加入红细胞质量 0.04~0.06%的组氨酸，搅拌均匀后静置反应30~60min，获得组氨酸-亚铁血红蛋白复合物；

[0013] S3. 组氨酸-亚铁血红蛋白复合物的复合酶解：将S2所得组氨酸-亚铁血红蛋白复合物先进行碱性蛋白酶酶解，酶解的条件为：底物质量浓度4~6%的蛋白质含量，碱性蛋白酶用量3~8kU/g蛋白质，pH值8.5，温度45℃，在此条件下酶解5h，随后用盐酸将酶解液pH值

调至6.0,按1~3kU/g蛋白质加入风味蛋白酶,酶解3h后,得到亚铁血红蛋白酶解液,降温至4℃抑制酶活性;

[0014] S4.超滤分离纯化亚铁血红素寡肽:采用4000rpm将S3所得亚铁血红蛋白酶解液离心去除其中大颗粒物质,再将离心后的亚铁血红蛋白酶解液在0.5MPa压力下,用3kD的超滤膜进行超滤处理除去酶和大分子物质,得到分子质量小于3kD的亚铁血红素寡肽浓缩液;

[0015] S5.亚铁血红素寡肽微胶囊粉制备:向S4所得亚铁血红素寡肽浓缩液中加入多孔淀粉作为芯材,多孔淀粉的用量为亚铁血红素寡肽浓缩液中干物质质量的1.5倍;在40℃条件下充分吸附至饱和,再加入芯材质量1.6倍的阿拉伯胶作为壁材,超声波辅助混合包埋,经真空冷冻干燥制得亚铁血红素寡肽微胶囊粉。

[0016] 步骤S1所述洁净水的用量为血液红细胞的3倍体积,搅拌时间为30min。

[0017] 步骤S2所述组氨酸的加入量为血红细胞质量的0.05%。

[0018] 步骤S3所述酶解的条件为底物质量浓度5%的蛋白质含量,碱性蛋白酶用量5kU/g蛋白质;所述风味蛋白酶的添加量为2kU/g。

[0019] 步骤S3所得亚铁血红蛋白酶解液中亚铁血红蛋白水解度达27.3~34.2%,亚铁血红素肽得率为82.6~87.5。

[0020] 步骤S4所得亚铁血红素寡肽浓缩液中亚铁血红素寡肽的含量为20.8~22.5mg/mL,亚铁血红素的回收率为83.5~84.1%。

[0021] 步骤S5所得亚铁血红素寡肽微胶囊粉,微胶囊包埋率为95.83~97.34%,亚铁血红素寡肽含量203~207mg/g,亚铁血红素得率为77.64~79.33%。

[0022] 一种由上述的制备方法制备得到的亚铁血红素寡肽微胶囊粉。微胶囊粉呈均匀的灰褐色粉末状,无血腥味,颗粒均匀,无成块现象。

[0023] 将本发明亚铁血红素寡肽微胶囊粉溶于水中,所得含质量分数0.5%的亚铁血红素寡肽微胶囊粉的水溶液在60℃、70℃加热10min后,溶液中的亚铁血红素寡肽的得率为96.3%,亚铁血红素回收率为88.3%,故0.5%的亚铁血红素寡肽微胶囊粉溶液在低于温度70℃条件下,其亚铁血红素寡肽具有很好的稳定性。

[0024] 与现有技术相比,本发明具有如下有益效果:

[0025] 本发明通过方便、快捷、有效的水溶胀法破壁血红细胞;用组氨酸对亚铁血红蛋白进行保护,防止亚铁血红蛋白的氧化;以复合酶解方法高效地制备亚铁血红蛋白酶解产物;以超滤分离纯化方法分离获得高浓度的亚铁血红素寡肽溶液;通过微胶囊包埋方法制备获得亚铁血红素寡肽含量高、亚铁血红素稳定、无血腥味铁锈味的颗粒均匀亚铁血红素寡肽微胶囊粉,可以作为有效的缺铁性贫血补铁剂产品的原料。

具体实施方式

[0026] 下面通过具体实施例进一步对本发明进行阐述,但不能理解为对本发明保护范围的限制,本领域的技术人员根据上述发明的内容作出一些非本质的改变和调整,均属于本发明的保护范围。

[0027] 以下实施例中使用的原料为符合食品安全标准的黄羽肉鸡屠宰线上收集的、经抗凝的肉鸡新鲜血液,所选用碱性蛋白酶实测酶活力为172kU/g、风味蛋白酶实测酶活力为147kU/g。除非特别说明,本发明采用的试剂、方法和设备为本技术领域常规试剂、方法和设

备。

[0028] 实施例1

[0029] S1. 血红细胞的溶胀破壁:以4000rpm对抗凝新鲜鸡血离心10min,弃上清血浆,再以血细胞等质量的生理盐水清洗、离心,重复3次,获得血液红细胞,加入血液红细胞3倍体积的洁净水,充分搅拌30min使红细胞溶胀破裂,获得破壁的血红蛋白,血红细胞的溶胀破壁率达到96.6%。

[0030] S2. 亚铁血红蛋白的保护:将S1所述破壁血红蛋白,加入红细胞质量 0.05%的组氨酸,搅拌均匀后静置反应60min,获得组氨酸-亚铁血红蛋白复合物,组氨酸-亚铁血红蛋白复合物的得率达86%。

[0031] S3. 组氨酸-亚铁血红蛋白复合物的复合酶解:将S2所得组氨酸-亚铁血红蛋白复合物先进行碱性蛋白酶酶解,酶解的条件为:底物质量浓度5%的蛋白质含量,碱性蛋白酶用量5kU/g蛋白质,pH值8.5、温度45℃,酶解5h 后,调pH值至6.0,风味蛋白酶添加量2kU/g酶解3h后,得到亚铁血红蛋白酶解液,降温至4℃抑制酶活性;亚铁血红蛋白水解度达30.1%,亚铁血红素肽得率为85.8%。

[0032] S4. 超滤分离纯化制备亚铁血红素寡肽浓缩液:采用4000rpm将S3所得亚铁血红蛋白酶解液离心去除其中大颗粒物质,以免堵塞超滤膜,再将离心后的亚铁血红蛋白酶解液在0.5MPa压力下,用3kD的超滤膜进行超滤处理除去酶和大分子物质,得到分子质量小于3kD亚铁血红素寡肽浓缩液;所得亚铁血红素寡肽浓缩液中亚铁血红素寡肽的含量为21.8mg/mL,亚铁血红素的回收率为83.9%。

[0033] S5. 亚铁血红素寡肽微胶囊粉制备:向S4所得亚铁血红素寡肽浓缩液中加入1.5倍其干物质含量的多孔淀粉作为芯材,在40℃条件下充分吸附至饱和,再加入芯材量1.6倍的阿拉伯胶作为壁材,超声波辅助混合包埋,经真空冷冻干燥制得亚铁血红素寡肽微胶囊粉。

[0034] 以实施例1制备所得亚铁血红素寡肽微胶囊粉,包埋率为96.54%,亚铁血红素寡肽含量203mg/g,亚铁血红素得率为78.45%,微胶囊粉呈均匀的灰褐色粉末状,无血腥味,颗粒均匀,无成块现象。含质量分数0.5%亚铁血红素寡肽微胶囊粉的水溶液,经60℃加热10min,溶液中亚铁血红素寡肽得率为96.3%,亚铁血红素寡肽具有很好的稳定性。

[0035] 实施例2

[0036] S1. 血红细胞的溶胀破壁:以4000rpm对抗凝新鲜鸡血离心10min,弃上清血浆,再以血细胞等质量的生理盐水清洗、离心,重复3次,获得血液红细胞,加入血液红细胞3倍体积的洁净水,充分搅拌30min使红细胞溶胀破裂,获得破壁的血红蛋白,血红细胞的溶胀破壁率达到95.6%。

[0037] S2. 亚铁血红蛋白的保护:将S1所得破壁血红蛋白,加入红细胞质量 0.04%的组氨酸,搅拌均匀后静置反应60min,获得组氨酸-亚铁血红蛋白复合物,组氨酸-亚铁血红蛋白复合物的得率达85%。

[0038] S3. 组氨酸-亚铁血红蛋白复合物的复合酶解:将S2所得组氨酸-亚铁血红蛋白复合物先进行碱性蛋白酶酶解,酶解的条件为:底物质量浓度4%的蛋白质含量,碱性蛋白酶用量4kU/g蛋白质,pH值8.5、温度45℃,酶解5h 后,调pH值至6.0,风味蛋白酶添加量1kU/g酶解3h后,得到亚铁血红蛋白酶解液,降温至4℃抑制酶活性;亚铁血红蛋白水解度达27.3%,亚铁血红素肽得率为82.6%。

[0039] S4.超滤分离纯化制备亚铁血红素寡肽浓缩液:采用4000rpm将S3所得亚铁血红蛋白酶解液离心去除其中大颗粒物质,以免堵塞超滤膜,再将离心后的亚铁血红蛋白酶解液在0.5MPa压力下,用3kD的超滤膜进行超滤处理除去酶和大分子物质,得到分子质量小于3kD亚铁血红素寡肽浓缩液;所得亚铁血红素寡肽浓缩液中亚铁血红素寡肽的含量为20.8mg/mL,亚铁血红素的回收率为84.1%。

[0040] S5.亚铁血红素寡肽微胶囊粉制备:向S4所得亚铁血红素寡肽浓缩液中加入1.5倍其干物质含量的多孔淀粉作为芯材,在40℃条件下充分吸附至饱和,再加入芯材量1.6倍的阿拉伯胶作为壁材,超声波辅助混合包埋,经真空冷冻干燥制得亚铁血红素寡肽微胶囊粉。

[0041] 以实施例2制备所得亚铁血红素寡肽微胶囊粉,包埋率为95.83%,亚铁血红素寡肽含量206mg/g,亚铁血红素得率为77.64%,微胶囊粉呈均匀的灰褐色粉末状,无血腥味,颗粒均匀,无成块现象。含质量分数0.5%亚铁血红素寡肽微胶囊粉的水溶液,经60℃加热10min,溶液中亚铁血红素寡肽得率为97.2%,亚铁血红素寡肽具有很好的稳定性。

[0042] 实施例3

[0043] S1.血红细胞的溶胀破壁:以4000rpm对抗凝新鲜鸡血离心10min,弃上清血浆,再以血细胞等质量的生理盐水清洗、离心,重复3次,获得血液红细胞,加入血液红细胞3倍体积的洁净水,充分搅拌30min使红细胞溶胀破裂,获得破壁的血红蛋白,血红细胞的溶胀破壁率达到97.2%。

[0044] S2.亚铁血红蛋白的保护:将S1所得破壁血红蛋白,加入红细胞量0.06%的组氨酸,搅拌均匀后静置反应60min,获得组氨酸-亚铁血红蛋白复合物,组氨酸-亚铁血红蛋白复合物的得率达87%。

[0045] S3.组氨酸-亚铁血红蛋白复合物的复合酶解:将S2所得组氨酸-亚铁血红蛋白复合物先进行碱性蛋白酶酶解,酶解的条件为:底物质量浓度6%的蛋白质含量,碱性蛋白酶用量8kU/g蛋白质,pH值8.5、温度45℃,酶解5h后,调pH值至6.0,风味蛋白酶添加量3kU/g酶解3h后,得到亚铁血红蛋白酶解液,降温至4℃抑制酶活性;亚铁血红蛋白水解度达34.2%,亚铁血红素肽得率为87.5%。

[0046] S4.超滤分离纯化制备亚铁血红素寡肽浓缩液:采用4000rpm将S3所得亚铁血红蛋白酶解液离心去除其中大颗粒物质,以免堵塞超滤膜,再将离心后的亚铁血红蛋白酶解液在0.5MPa压力下,用3kD的超滤膜进行超滤处理除去酶和大分子物质,得到分子质量小于3kD亚铁血红素寡肽浓缩液;所得亚铁血红素寡肽浓缩液中亚铁血红素寡肽的含量为22.5mg/mL,亚铁血红素的回收率为83.5%。

[0047] S5.亚铁血红素寡肽微胶囊粉制备:向S4所得亚铁血红素寡肽浓缩液中加入1.5倍其干物质含量的多孔淀粉作为芯材,在40℃条件下充分吸附至饱和,再加入芯材量1.6倍的阿拉伯胶作为壁材,超声波辅助混合包埋,经真空冷冻干燥制得亚铁血红素寡肽微胶囊粉。

[0048] 以实施例3制备所得亚铁血红素寡肽微胶囊粉,包埋率为97.34%,亚铁血红素寡肽含量207mg/g,亚铁血红素得率为79.33%,微胶囊粉呈均匀的灰褐色粉末状,无血腥味,颗粒均匀,无成块现象。含质量分数0.5%亚铁血红素寡肽微胶囊粉的水溶液,经60℃加热10min,溶液中亚铁血红素寡肽得率为97.1%,亚铁血红素寡肽具有很好的稳定性。

[0049] 对比例

[0050] S1.血红细胞的溶胀破壁:以4000rpm对抗凝新鲜鸡血离心10min,弃上清血浆,再

以血细胞等质量的生理盐水清洗、离心,重复3次,获得血液红细胞,加入血液红细胞3倍体积的洁净水,充分搅拌30min使血红细胞溶胀破裂,获得破壁的血红蛋白。

[0051] S2. 亚铁血红蛋白的保护:将S1所得破壁血红蛋白,加入血红细胞量 0.01%的亚硝酸钠,搅拌均匀后静置反应60min,获得亚硝基-亚铁血红蛋白复合物。

[0052] S3. 亚硝基-亚铁血红蛋白复合物的复合酶解:将S2所得经亚硝基-亚铁血红蛋白复合物先进行胰蛋白酶酶解,酶解的条件为:底物质量浓度5%的蛋白质含量,胰蛋白酶用量5kU/g蛋白质,pH值7.0、温度45℃,酶解5h后,亚铁血红蛋白水解度达18.5%,亚铁血红素肽得率为40.2%。

[0053] 该对比例以亚硝酸钠替代组氨酸对亚铁血红蛋白进行保护;以胰蛋白酶替代碱性蛋白酶和风味蛋白酶,由于亚铁血红素肽得率较低,故未进行超滤分离纯化和微胶囊制备。

[0054] 上述实施例为本发明较佳的实施方式,但本发明的实施方式并不受上述实施例的限制,其他的任何未背离本发明的精神实质与原理下所作的改变、修饰、替代、组合、简化,均应为等效的置换方式,都包含在本发明的保护范围之内。