

鸡蛋蛋清和蛋白多酶水解工艺的优化

霍永久¹, 刘正旭¹, 金晓君², 赵国琦¹

(1.扬州大学动物科学与技术学院, 江苏 扬州 225009; 2.苏州天马集团天吉生物制药有限公司, 江苏 苏州 215101)

摘要:探讨复合蛋白酶(protamex)、中性蛋白酶(neutralse)、碱性蛋白酶(alcalase)和风味蛋白酶(flavourzyme)4种商业酶多酶水解鸡蛋蛋清、蛋白的工艺和水解效果(最适温度和 pH 相近的 protamex、neutralse、flavourzyme 3 种酶同时水解; 最适温度和 pH 相差较大的 alcalase、flavourzyme 分阶段水解)。结果表明: protamex、neutralse 和 flavourzyme 3 种酶同时水解蛋清、蛋白的正交试验优化条件为水解时间 6 h、pH 6.5、酶比例 1 : 1 : 2、蛋清浓度 1 : 5($V_{\text{蛋清}} : V_{\text{水}}$), 此条件下水解 6 h 的水解度达 53.24%, 水解产物相对分子质量 300 以下的比例达 68.06%, 游离氨基酸比例达 44.02%; alcalase、flavourzyme 分阶段水解蛋清、蛋白的正交试验优化条件为蛋清浓度 1 : 5、酶比例 1 : 2、水解时间各 3 h, 在此条件下的水解度达 45.05%, 水解产物相对分子质量 500 以下的达 95.59%, 游离氨基酸比例达 38.01%。

关键词: 鸡蛋; 蛋白酶; 水解; 复合蛋白酶; 中性蛋白酶; 碱性蛋白酶; 风味蛋白酶

中图分类号: TQ936.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2015)02-0149-07

Optimization for hydrolyzing process of egg white protein using multi-enzyme

Huo Yongjiu¹, Liu Zhengxu¹, Jin Xiaojun², Zhao Guoqi¹

(1.College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China; 2.Suzhou Tianma group, Suzhou, Jiangsu 215101, China)

Abstract: Process optimization and hydrolysis efficiency for egg white hydrolyzed using multi-enzyme including protamex, neutralse, alcalase and flavourzyme were discussed in this paper (simultaneous hydrolyzed in similar optimal temperature and pH with three enzymes, including protamex, neutralse and flavourzyme; staging hydrolyzed in different optimal temperature and pH with two enzymes, including alcalase and flavourzyme). Orthogonal test showed that the optimal conditions for hydrolyzing egg white protein using protamex, neutralse and flavourzyme were 6 h, pH 6.5, protease at a ratio of 1 : 1 : 2, and egg white ($V_{\text{egg white}} : V_{\text{water}}$) at a concentration of 1 : 5. In this circumstance, the degree of hydrolysis (DH) was 53.24%, those hydrolyzate with relative molecular mass lower than 300 took up 68.06%, and relative amount of free amino acid reached to 44.02%. By comparison, the optimal hydrolysis conditions using Alcalase-Flavourzyme were egg white at a concentration of 1 : 5, protease at a ratio of 1 : 2, and hydrolysis time of 3 h+3 h. On these conditions, DH reached to 45.05%, the hydrolyzate with relative molecular mass lower than 500 took up 95.59%, and relative amount of free amino acid was 38.01%.

Keywords: egg; protease; hydrolysis; protamex; neutralse; alcalase; flavourzyme

鸡蛋蛋清、蛋白中蛋白质含量高达13%~15%, 富含多种对人体有益的蛋白质。鸡蛋蛋清、蛋白所含人体必需氨基酸的种类多, 配比平衡性好, 是生物利用效率最高的一类蛋白质^[1]。鸡蛋蛋清、蛋白

质的黏度大, 热稳定性差, 且含有卵类黏蛋白、卵白蛋白、卵转铁蛋白和溶菌酶等过敏性蛋白, 其应用范围因此而受到限制^[2]。水解可以降低蛋清、蛋白的相对分子质量, 减小致敏性, 生成的多肽混合

物更有利于人体吸收^[3-4],与原蛋白相比,其水解产物的黏度、溶解性及起泡性功能特性得到了改善,且具有抗氧化、降血脂、降血压等生理活性^[5-6]。单酶水解鸡蛋蛋清、蛋白存在水解度不高、蛋白残留量高、蛋清肽得率低和易产生苦味肽等缺点,因而,研究者尝试用多酶水解来解决上述问题^[7-8]。由于单一蛋白酶水解蛋白质具有专一性,所以,蛋白酶的单一使用使底物中相应的肽键断裂,联合使用则因为酶作用位点之间产生互补而降低蛋白残留量,提高水解度,增加蛋清、蛋白肽得率。笔者研究 protamex、neutrase、flavourzyme 组合和 alcalase、flavourzyme 组合水解蛋清、蛋白的水解物的性能,将能降低水解液苦味的端肽酶 Flavourzyme 作为水解蛋清、蛋白最终加入的酶,以优化多酶同时水解及分阶段水解的参数,旨在为蛋清、蛋白多酶水解工艺的优化提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

鸡蛋为市售鲜鸡蛋。

商业酶 protamex、neutrase 0.8 L、alcalase 2.4 L FG 和 flavourzyme 500MG 购自诺维信公司。

所用试剂为浓硫酸、硫酸铜、无水硫酸钾、氢氧化钠、硼酸、盐酸、甲基红-溴甲酚绿指示剂、甲醛、30%过氧化氢等。

1.2 主要仪器与试剂

主要仪器:HS-4(B)型恒温浴槽(成都仪器厂)、722 可见分光光度计(上海菁华科技仪器有限公司)、KDN-04B 消化炉(上海新嘉电子有限公司)、KDN-04B 定氮仪(上海新嘉电子有限公司)、SHA-C 水浴恒温振荡器(常州国华电器有限公司)、5810R 离心机(德国艾本德(Eppendorf)股份公司)、79-2 磁力加热搅拌器(常州国华电器有限公司)、PB-21 pH 计(德国 Sartorius 赛多利斯)、Waters 600 高效液相色谱仪(配备 2487 紫外检测器、Empower 工作站,美国 Waters 公司)、Ag1100 安捷伦液相色谱仪(美国安捷伦公司)。

1.3 方法

1.3.1 水解前处理

将新鲜鸡蛋洗净,用 75%的乙醇棉球擦拭蛋

壳,使用漏勺分离蛋清、蛋黄,用灭菌蒸馏水将蛋清稀释至一定浓度(浓度以 $V_{\text{蛋清}}/V_{\text{水}}$ 表示),95 °C 加热变性 20 min,用 HCl 或 NaOH 调节至一定 pH 供水解。

1.3.2 水解

在反应温度条件下水浴预热后,加入所需酶,于恒温水浴振荡器(120 r/min)中进行水解反应。水解反应期间用 pH 计监测蛋清液的 pH,并通过滴加 NaOH 溶液来调节 pH,使 pH 保持在一定值。于设置的水解时间收集蛋清、蛋白水解液,置沸水浴中灭活酶 20 min,使水解反应终止。水解方式分为 2 种:

1) 将最适温度和 pH 相近的蛋白酶(protamex、neutrase、flavourzyme 3 种酶,下文用“P+N+F”表示)同时加入进行水解,水解温度设定为 55 °C,酶总量设定为 6%,针对水解时间、pH、酶比例和蛋清浓度 4 个因素进行正交设计。

2) 对于最适温度和 pH 相差较大的蛋白酶 alcalase 和 flavourzym(下文用“A-F 表示”),在 alcalase 的最适温度(55 °C)和最适 pH(7.5)条件下反应一定时间后,将反应底物溶液调至 flavourzyme 的最适温度(55 °C)和最适 pH(6.0),再加入 flavourzym 进行水解。alcalase、flavourzyme 分阶段水解蛋清、蛋白的酶总用量设定为 6%,针对蛋清浓度、酶比例和水解时间 3 个因素进行正交试验。

1.3.3 测定指标及方法

1) 水解度的测定。总氮含量测定采用凯氏定氮法,由凯式半自动定氮仪测得^[9]。氨基氮含量测定由甲醛滴定法测得^[10]。

水解度=氨基氮含量/总氮含量。

蛋白残留率=离心沉淀物的含氮量/总氮含量。

2) 蛋清、蛋白水解物相对分子质量的测定。将蛋清、蛋白水解物溶液经 0.45 μm 微孔过滤膜过滤后上 TSK gel 2000 色谱柱,以细胞色素 C(MW12500)、抑肽酶(MW6500)、杆菌酶(MW1450)、乙氨酸-乙氨酸-酪氨酸-精氨酸(MW451)和乙氨酸-乙氨酸-乙氨酸(MW189)为标准品,测定水解物的相对分子质量。

高效液相色谱条件:色谱柱 TSK gel 2000, 7.8 mm×300 mm;柱温 30 °C;流速 0.5 mL/min;检测

波长 220 nm ;流动相乙腈、水、三氟乙酸的体积比为 45.00 55.00 0.01。标准品高效液相色谱图(相对分子质量流出曲线)和 GPC 校正曲线分别见图 1 和图 2。

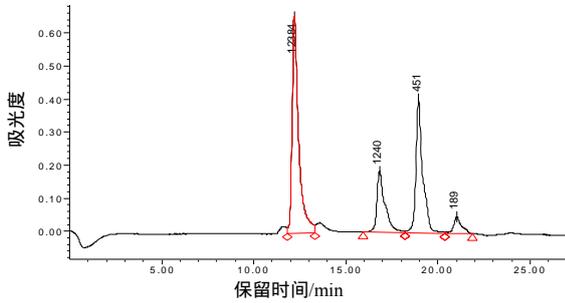


图 1 标准品高效液相色谱图

Fig.1 High Performance Liquid chromatogram of standard substance

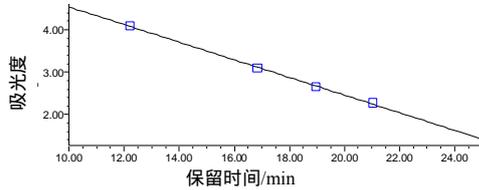


图 2 标准品相对分子质量分布的 GPC 校正曲线

Fig.2 GPC calibration curve of molecular weight distribution from standard substance

3) 氨基酸组成分析。总氨基酸组成分析 :将蛋清、蛋白水解液样品溶解在 6 mol/L 盐酸中 , 110 °C 水解 24 h ,蒸干盐酸 ,定容得水解液。用 Agilen 1100

高效液相分析仪测定水解液中的氨基酸组成。

高效液相色谱条件 : C₁₈柱 , 4.0 mm×125 mm ; 柱温 40 °C ; 流速 1.0 mL/min ; 检测波长 338 nm 和 262 nm(Pro) ; 流动相 A 为 20 mmol/L 的醋酸钠液 , 流动相 B 为 20 mmol/L 的醋酸钠液和甲醇及乙腈 , 其体积比为 1 2 2。

游离氨基酸组成分析 : 将蛋清、蛋白水解液样品与 10% 三氟乙酸溶液等体积混合 , 在室温下静置 2 h , 经双层滤纸过滤后 , 取 1 mL 于 1.0×10⁴g 离心 10 min。用在线自动衍生生化用 Agilent 1100 高效液相分析仪测定水解液(上清液)中氨基酸组成。

2 结果与分析

2.1 P+N+F 水解鸡蛋蛋清、蛋白的试验结果

2.1.1 正交试验结果

由表 1 中的极差分析结果可知 , 在 55 °C 条件下 , 水解时间、pH、酶比例、蛋清浓度对水解反应的影响依次减小。3 种酶同时水解鸡蛋蛋清、蛋白的最优组合为 A₂B₂C₂D₃ , 即水解时间为 6 h、pH 为 6.5、酶比例为 1 1 2、蛋清浓度为 1 5。在此条件下的水解度达 53.24%。

表 1 P+N+F 水解蛋清、蛋白的正交试验结果

Table 1 Orthogonal results of simultaneous hydrolyzing egg white protein using P+N+F

组别	因 素				水解度/%			总计
	A (水解时间/h)	B (pH)	C (酶比例)	D (蛋清浓度)				
1	1(7 h)	1 (6.0)	1 (2 1 1)	1(1 3)	42.49	44.44	42.69	129.62
2	1	2 (6.5)	2 (1 1 2)	2(1 4)	46.76	45.51	45.03	137.30
3	1	3 (7.0)	3 (1 2 1)	3(1 5)	40.82	43.57	41.78	126.17
4	2(6 h)	1	2	3	52.21	52.99	53.16	158.36
5	2	2	3	1	50.14	50.30	48.39	148.83
6	2	3	1	2	40.83	40.88	40.06	121.77
7	3(5 h)	1	3	2	36.58	35.62	35.37	107.57
8	3	2	1	3	38.86	39.87	37.29	116.02
9	3	3	2	1	37.15	36.67	38.27	112.09
K ₁	393.09	395.55	367.40	390.55				
K ₂	428.95	402.16	407.74	366.63				
K ₃	335.68	360.02	382.58	400.54				
k ₁	43.68	43.95	40.82	43.39				
k ₂	47.66	44.68	45.30	40.74				
k ₃	37.30	40.00	42.51	44.50				
R(极差)	10.36	4.68	4.48	3.77				

2.1.2 水解产物的相对分子质量分布

由图3和表2可见,在55℃条件下,当水解时间为6h、pH为6.5、酶比例为1:1:2、蛋清浓度为15时,protamex、neutrase、flavourzyme同时水解水解物的相对分子质量大部分在500以下,即水解物主要以短肽的形式存在,其中相对分子质量为180~300和300~500的分别为68.06%和18.65%。

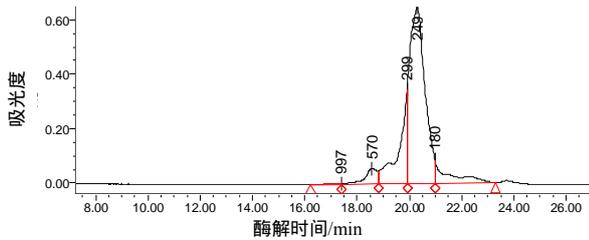


图3 P+N+F 水解蛋清、蛋白产物的高效液相色谱图

Fig.3 High Performance Liquid chromatogram of enzymolysis product of egg white protein using P+N+F

表2 P+N+F 水解蛋清、蛋白产物的相对分子质量分布

Table 2 Distribution of relative molecular weight from enzymolysis product of egg white protein using P+N+F

峰编号	相对分子质量	各峰保留时间/min	相对含量/%
1	>1000	17.400	0.17
2	>500~1 000	18.568	4.89
3	>300~500	19.917	18.65
4	>180~300	20.300	68.06
5	180	20.983	8.22

2.1.3 产物的总氨基酸组成

由表3可见,在2.1.1最优水解条件下,水解物的总游离氨基酸含量为7.404 6 mg/ mL,占总氨基酸含量的44.02%,即水解产物中有将近50%的成分是以游离氨基酸的形式存在。

表3 P+N+F蛋清、蛋白水解物和水解前蛋清、蛋白的氨基酸组成

Table 3 Amino acid composition of original egg white protein and enzymolysis product of egg white protein using P+N+F

氨基酸	含量/(mg·mL ⁻¹)			相对含量/%		
	水解物 游离氨基酸	水解物 总氨基酸	水解前蛋清、蛋白 总氨基酸	水解物 游离氨基酸	水解物 总氨基酸	水解前蛋清、蛋白 总氨基酸
天冬氨酸(Asp)	0.042 5	1.60	1.95	0.57	9.51	9.90
谷氨酸(Glu)	0.303 7	2.08	2.75	4.10	12.38	13.91
丝氨酸(Ser)	0.051 8	1.08	1.35	0.70	6.43	6.82
组氨酸(His)	0.210 2	0.42	0.52	2.84	2.47	2.63
甘氨酸(Gly)	0.097 8	0.58	0.70	1.32	3.43	3.53
苏氨酸(Thr)	0.324 4	0.67	0.88	4.38	3.99	4.45
精氨酸(Arg)	0.561 8	0.89	1.11	7.59	5.31	5.63
丙氨酸(Ala)	0.434 6	1.02	1.27	5.87	6.07	6.42
酪氨酸(Tyr)	0.582 3	0.81	0.76	7.86	4.83	3.85
半胱氨酸(Cys-s)	0.250 0	0.30	0.35	3.38	1.78	1.76
缬氨酸(Val)	0.745 9	1.16	1.34	10.07	6.89	6.80
蛋氨酸(Met)	0.491 1	0.71	0.75	6.63	4.21	3.82
苯丙氨酸(Phe)	0.805 0	1.07	1.25	10.87	6.36	6.34
异亮氨酸(Ile)	0.633 4	1.05	1.09	8.55	6.22	5.50
亮氨酸(Leu)	1.195 6	1.60	1.68	16.15	9.49	8.50
赖氨酸(Lys)	0.659 4	1.08	1.38	8.90	6.40	6.99
脯氨酸(Pro)	0.015 1	0.71	0.62	0.20	4.23	3.15
合计	7.404 6	16.82	19.74	99.98	100.00	100.00

2.2 A-F 水解鸡蛋蛋清、蛋白的试验结果

2.2.1 正交试验结果

由表6极差分析可知,影响水解反应的主次因

素依次为酶比例、蛋清浓度、水解时间,最优组合为A₃B₁C₂,即蛋清浓度1:5,酶比例为1:2,水解时间各为3h。在此条件下的水解度可达45.05%。

表4 A-F水解鸡蛋蛋清、蛋白的正交试验结果

Table 4 Orthogonal results of staging enzymolysis of egg white protein using A-F

组别	因 素				水解度/%			总计
	A (蛋清浓度)	B (酶比例)	C (水解时间/h)	D 空列				
1	1(1 3)	1 (1 2)	1 (2 h+4 h)	1	39.06	39.99	41.22	120.27
2	1	2 (1 1)	2 (3 h+3 h)	2	38.14	39.06	39.06	116.26
3	1	3 (2 1)	3 (4 h+2 h)	3	30.76	31.50	32.58	94.84
4	2(1 4)	1	2	3	41.80	40.75	40.19	122.74
5	2	2	3	1	35.14	37.01	34.96	107.11
6	2	3	1	2	27.82	28.79	28.04	84.65
7	3(1 5)	1	3	2	46.61	47.05	46.05	139.71
8	3	2	1	3	44.74	43.87	42.14	130.75
9	3	3	2	1	35.75	35.49	35.19	106.43
K_1	331.37	382.72	335.67	333.82				
K_2	314.50	354.13	345.43	340.61				
K_3	376.88	285.90	341.65	348.32				
k_1	36.82	42.52	37.30	37.09				
k_2	34.94	39.35	38.38	37.85				
k_3	41.88	31.77	37.96	38.70				
R (极差)	6.93	10.76	1.08	1.61				

2.2.2 A-F 水解鸡蛋蛋清、蛋白产物的相对分子质量分布

A-F水解鸡蛋蛋清、蛋白，在蛋清浓度1 5、酶比例1 2、水解时间各3 h条件下水解物的相对分子质量分布曲线如图4所示。

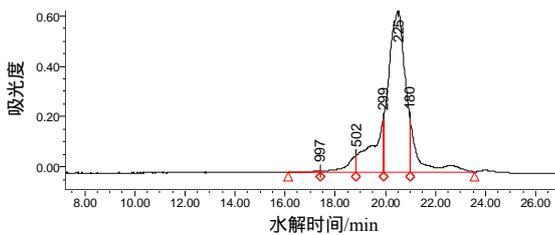


图4 A-F 水解鸡蛋蛋清、蛋白产物的高效液相色谱图
Fig.4 High Performance Liquid chromatogram of staging enzymolysis product of egg white protein using A-F

由表5可知，alcalase、flavourzyme分阶段水解鸡蛋蛋清、蛋白产物的相对分子质量大部分集中在

1 000以下，其中 180、> 180~300、> 300~500所占的比例分别为11.89%、67.65%、16.05%。

表5 A-F 水解鸡蛋蛋清、蛋白产物的相对分子质量

Table 5 Distribution of relative molecular weight from enzymolysis product of egg white protein using A-F

峰编号	相对分子质量	各峰保留时间/min	相对含量/%
1	>1 000	17.400	0.29
2	>500~1 000	18.568	4.12
3	>300~500	19.917	16.05
4	>180~300	20.300	67.65
5	180	20.983	11.89

2.2.3 A-F 水解鸡蛋蛋清、蛋白产物的氨基酸组成

在2.2.1的最优条件下，A-F水解物的总游离氨基酸含量为6.819 3 mg/mL，占总氨基酸含量的38.01%，即水解产物中有近40%的成分是以游离氨基酸的形式存在。

表6 A-F 鸡蛋蛋清、蛋白水解物和水解前蛋清、蛋白的氨基酸组成

Table 6 Amino acid composition of original egg white protein and enzymolysis product of egg white protein using A-F

氨基酸	含量/(mg·mL ⁻¹)			相对含量/%		
	水解物 游离氨基酸	水解物 总氨基酸	水解前蛋清、蛋白 总氨基酸	水解物 游离氨基酸	水解物 总氨基酸	水解前蛋清、蛋白 总氨基酸
天冬氨酸(Asp)	0.054 8	1.76	1.95	0.80	9.81	9.90
谷氨酸(Glu)	0.367 0	2.28	2.75	5.38	12.69	13.91
丝氨酸(Ser)	0.042 6	1.18	1.35	0.62	6.57	6.82

表6(续)

氨基酸	含量/(mg·mL ⁻¹)			相对含量/%		
	水解物 游离氨基酸	水解物 总氨基酸	水解前蛋清、蛋白 总氨基酸	水解物 游离氨基酸	水解物 总氨基酸	水解前蛋清、蛋白 总氨基酸
组氨酸(His)	0.191 8	0.40	0.52	2.81	2.25	2.63
甘氨酸(Gly)	0.081 4	0.63	0.70	1.19	3.51	3.53
苏氨酸(Thr)	0.292 3	0.81	0.88	4.29	4.49	4.45
精氨酸(Arg)	0.586 9	0.99	1.11	8.61	5.50	5.63
丙氨酸(Ala)	0.340 5	1.13	1.27	4.99	6.28	6.42
酪氨酸(Tyr)	0.593 1	0.81	0.76	8.70	4.49	3.85
半胱氨酸(Cys-s)	0.230 2	0.31	0.35	3.38	1.71	1.76
缬氨酸(Val)	0.647 3	1.25	1.34	9.49	6.97	6.80
蛋氨酸(Met)	0.467 5	0.69	0.75	6.85	3.87	3.82
苯丙氨酸(Phe)	0.747 0	1.11	1.25	10.95	6.21	6.34
异亮氨酸(Ile)	0.420 8	1.05	1.09	6.17	5.86	5.51
亮氨酸(Leu)	1.026 5	1.55	1.68	15.05	8.63	8.50
赖氨酸(Lys)	0.695 2	1.19	1.38	10.19	6.65	6.99
脯氨酸(Pro)	0.034 5	0.81	0.62	0.51	4.50	3.15
合计	6.819 3	17.94	19.74	100.00	100.00	100.00

3 结论与讨论

蛋白水解物的苦味主要来自于水解物中的疏水性多肽^[11]。如果用于水解的蛋白酶是非专一性的内切酶,那么它们对蛋白原料的酶切作用是随机的,无论采用何种水解条件都会或多或少产生游离氨基酸,且随着水解度的提高,蛋白质内部的疏水性氨基酸末端大量游离出来,小肽末端的疏水性氨基酸残基也逐渐暴露,水解产物的苦味越重。呈苦味的氨基酸主要有亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、色氨酸、精氨酸、苯丙氨酸。这些疏水性氨基酸残基在水解液中的比例越高,苦味可能越大。苦肽也是蛋清、蛋白水解物产生苦味的原因之一。控制或消除蛋白水解液苦味的方法包括选择性分离法、掩盖法、类蛋白反应和酶法处理。酶法水解过程易于控制,效率高,且条件温和,不会使多肽的营养成分丢失,不改变多肽的重要特性。肽链端解酶(端肽酶)是酶法处理中主要的酶类。肽链内切酶是酶法处理中的另一种酶类,从肽链的内部将肽链裂开。flavourzyme兼具内外肽酶的活性,将其用于水解不仅能产生端肽酶的外切效应,还能产生美拉德反应,生成浓香的风味物质,使水解液的苦味大大降低。

将flavourzyme和其他蛋白酶联合水解不仅能促进蛋白质的溶出,提高氮的回收率^[12],而且可有效水解苦味肽,减轻甚至消除苦味,获得苦味值低、

溶解性好的蛋白水解产物。吴晖等^[8]发现,蛋清水解专用蛋白酶与碱性蛋白酶alcalase AF 2.4 L、碱性蛋白酶alcalase AF 2.4 L与胰蛋白酶组合水解鸭蛋蛋清、蛋白的效果较好,在水解8 h后水解度可达26.2%和26.6%,明显优于其单酶的水解效果。万丽娜等^[10]发现flavourzyme修饰后的水解液苦味很小,接受度较高。毛善勇等^[13]以牛肉为原料,先用protamex在其优化条件下水解6 h,再用flavourzyme在其优化条件下水解6 h,所得产物的水解度达24.26%,比protamex单酶水解牛肉蛋白的水解度提高了11.69%。

本试验中,protamex、neutralse、flavourzyme同时水解鸡蛋蛋清、蛋白的水解度达53.24%,比其单独水解的水解度分别提高了45.84%、49.53%和14.49%;alcalase、flavourzyme分阶段水解的水解度达45.05%,比其单独水解的水解度分别提高了26.32%和6.3%。多酶(分步)水解产物的水解度大幅度增高,主要是因为flavourzyme氨基肽酶的作用,可选择性从多肽和蛋白质N-端水解释放氨基酸,使水解液中氨基氮明显上升^[14]。由于不同蛋白酶的作用位点不同,采用多酶复合水解可产生互补效应,能进一步提高水解度和肽的得率。笔者发现protamex和neutralse单酶水解的水解度低,neutralse单酶水解的蛋白残留率高,将二者同时与蛋清、蛋白作用能提高水解度,还能改善水解液的风味。

alcalase是内切酶,用其水解鸡蛋蛋清、蛋白所得的水解液苦味值较大,在alcalase水解一段时间后添加flavourzyme可使苦味值大大降低。Cigic等^[12]发现alcalase和flavourzyme分阶段水解有效降低了鸡蛋清水解液的苦味,并提高了水解度。

本试验中,protamex、neutrase、flavourzyme同时水解鸡蛋蛋清、蛋白产物的相对分子质量分布主要集中在500以下,其中相对分子质量 > 180~300和 > 300~500所占比例分别为68.06%和18.65%。alcalase、flavourzyme分阶段水解鸡蛋蛋清、蛋白产物的相对分子质量主要分布在1 000以下,其中 > 180~300和 > 300~500所占的比例分别为67.65%、16.05%。可以看出,多酶水解蛋清、蛋白产物主要以短肽形式存在。短肽有利于人体吸收,致敏性更低,还可提供抗氧化、降血压、抗菌、降血脂等生物活性,有扩大蛋清应用范围的潜力^[15]。protamex、neutrase、flavourzyme同时水解产物的总游离氨基酸含量为7.404 6 mg/mL,占总氨基酸含量的44.02%;alcalase、flavourzyme分阶段水解产物的总游离氨基酸含量为6.819 3 mg/mL,占总氨基酸含量的38.01%。可见,多酶水解产物总氨基酸中,游离氨基酸所占比例较大,在3种酶同时水解的条件下所占比例约达50%。杨万根等^[16]利用单酶alcalase 2.4 L碱性蛋白酶和protease N蛋白酶水解蛋清、蛋白,得到的总游离氨基酸含量分别为6.429、4.193 mg/mL。本试验中多酶水解产物的总游离氨基酸含量与此相比均有明显提高。另外,protamex、neutrase、flavourzyme 3种酶同时水解物总氨基酸中7种必需氨基酸的含量为43.56%,Alcalase、Flavourzyme分阶段水解物总氨基酸中7种必需氨基酸的含量为42.68%,均略高于酶解前蛋清、蛋白中7种必需氨基酸的含量(42.41%)。

通过综合分析,由本试验结果可得到如下结论: 1) protamex、neutrase和flavourzyme同时水解鸡蛋蛋清、蛋白的优化条件为水解时间为6 h、pH 6.5、酶比例为1 1 2、蛋清浓度为1 5,在此条件下水解6 h的水解度达53.24%,产物中相对分子质量300以下的比例达68.06%,游离氨基酸比例达44.02%。2) alcalase和flavourzyme分阶段水解鸡蛋蛋清、蛋白的优化条件为蛋清浓度1 5、酶比例为1 2、水解时间各3 h,在此条件下的水解度达45.05%。产物相对分子质量大部分集中在500以下, < 180、> 180~300

和 > 300~500所占的比例分别为11.89%、67.65%、16.05%,游离氨基酸比例达38.01%。

参考文献:

- [1] 周玲,周萍.不同水解条件对蛋清、蛋白液功能性质的影响[J].食品研究与开发,2014,35(2):103-106.
- [2] 刘爽,夏杨毅,尚永彪.鸡蛋蛋清、蛋白水解产物的研究进展[J].食品科学,2013,34(15):409-414.
- [3] 杨瑾,唐传核.鸡蛋蛋清、蛋白水解物的抗氧化性研究[J].现代食品科技,2011,27(12):1446-1450.
- [4] Rao Q C ,Rocca-Smith J R ,Labuza T P .Storage stability of hen egg white powders in three protein/water dough model systems[J]. Food Chemistry, 2013, 138(2/3): 1087-1094 .
- [5] 周利亘,王君虹,张治国,等.中性蛋白酶水解蛋清、蛋白的工艺[J].浙江农业科学,2011(2):335-337.
- [6] Chen C ,Chi Y J ,Xu W .Comparisons on the functional properties and antioxidant activity of spray-dried and freeze-dried egg white protein hydrolysate[J]. Food and Bioprocess Technology, 2012, 5(6): 2342-2352 .
- [7] 刘晓艳,于纯淼,张妍,等.复合动物蛋白酶水解蛋清、蛋白最优工艺的研究[J].中国调味品,2010,35(6):62-65.
- [8] 吴晖,任尧,李晓凤.单酶和双酶分步水解鸭蛋清、蛋白的工艺[J].食品与发酵工业,2010,36(11):93-97.
- [9] GB/T 50095-2010 食品中蛋白质的测定[S].
- [10] 万丽娜,熊星星,罗岩,等.风味蛋白酶修饰蛋清水解液的研究[J].食品工业,2013,34(6):105-108.
- [11] 邓靖,林亲录,赵谋明.酶法去除蛋白水解产物的研究进展[J].中国食品添加剂,2004(3):67-72.
- [12] Cigic B ,Zelenik-Blatnik M .Preparation and characterization of chicken egg white hydrolysate[J]. Acta Chimica Slovenica, 2004, 51(1): 177-188 .
- [13] 毛善勇,周瑞宝.复合酶水解牛肉的研究[J].肉类工业,2004(9):16-18.
- [14] 周雪松.蛋白质水解物形成机理及控制研究[J].粮食与油脂,2004(8):20-24.
- [15] 周向军,吴红艳,颜彩映,等.蛋清肽的工艺优化、抗氧化作用及特性[J].食品与生物技术学报,2013,32(8):844-853.
- [16] 杨万根,张煜,王璋,等.蛋清、蛋白水解物的抗氧化、抗凝血酶活性及生化特性的研究[J].食品科学,2008,29(6):202-207.
- [17] 李晓琳,刘政坤,李桂玲,等.鹌鹑蛋蛋清、蛋白水解工艺条件的研究[J].中国海洋大学学报,2011,41(增刊):245-251.

责任编辑:王赛群
英文编辑:王 库