研究论文

DOI:10.3969/j.issn. 1673–1689.2018.04.010

热处理辅助木瓜蛋白酶改善蛋清蛋白的起泡特性

王永梅， 马晓军*

（江南大学 食品学院，江苏 无锡 214122）

摘要： 为获得起泡特性优良的蛋清蛋白制品，试验以新鲜鸡蛋蛋清为原料，采用热处理辅助木瓜蛋白酶有限酶解的方法来改性蛋清蛋白，通过单因素实验，分析了底物浓度、酶的添加量、酶解时间、酶解温度、酶解 pH 等因素对起泡能力、泡沫稳定性的影响，并在单因素实验的基础上，以起泡能力和泡沫稳定性为响应值，通过响应面分析和方差分析得出热处理辅助木瓜蛋白酶改性蛋清蛋白的最佳工艺条件：底物质量分数 3%、热处理温度 90 ℃、热处理时间 10 min、酶的添加量 3 500 u/g、酶解时间 2.5 h、酶解温度 55℃、酶解 pH 7。在此条件下，蛋清蛋白的起泡力为 1741.38%，泡沫稳定性为 93.38%。与未改性的蛋清蛋白相比，起泡力提高了 112.97%，泡沫稳定性提高了 93.27%。泡沫流变学特性结果表明改性蛋白的泡沫储存模量 G' 是未改性蛋白的 1.5 倍，泡沫更加稳定。

关键词： 蛋清蛋白；热处理；木瓜蛋白酶；起泡能力；泡沫稳定性

中图分类号：TS 253.4　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1673—1689(2018)04—0392—08

Study on Modification of Egg White Protein With Heat–Assisted Enzymatic Hydrolysis Methods

WANG Yongmei， *MA Xiaojun**

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

Abstract： In order to improve the foaming properties of egg white protein products，using fresh egg white as raw material，this paper adopted heat treatment to assist the limited papain hydrolysis of egg white protein. Then，the effects of substrate concentration，enzyme dosage，enzyme hydrolysis time，enzymatic hydrolysis temperature and pH on the foaming properties and the degree of hydrolysis of egg white protein were analyzed. Based on single factor experiment，the foaming ability and foam stability were selected as response values. Response surface analysis and variance analysis were employed to optimize process parameters. The optimum enzymatic hydrolysis conditions were as follows：substrate concentration 3%，heat treatment temperature 90 ℃，heat treatment time 10 min，enzyme dosage 3 500 u/g，enzyme hydrolysis time 2.5 h，enzymatic hydrolysis temperature 55 ℃ and pH 7. Under these conditions，the foaming ability and foam stability of egg white protein were 1741.38% and 93.38%. Compared with common egg white protein，the foaming ability was increased by 112.97%，and the foam stability was increased by 93.27%. The results of rheological

收稿日期： 2016–02–28

* **通信作者：** 马晓军(1965—)，男，湖北武汉人，工学硕士，副教授，主要从事谷物化学研究。E–mail：maxiaojun@jiangnan.edu.cn

引用本文： 王永梅，马晓军. 热处理辅助木瓜蛋白酶改善蛋清蛋白的起泡特性[J]. 食品与生物技术学报，2018，37(04)：392–399.

properties of foam were shown that the storage modulus G' of the foam of modified protein is 1.5 times higher than that of unmodified protein.

Keywords: egg white protein, heat treatment, Papain, foaming ability, foam stability

新鲜的蛋清蛋白因其极高的营养价值和其它食品原料所不可比拟的高起泡性能,被广泛地应用于蛋糕、面包、饼干、饮料等食品的加工中[1-3]。但因其储藏周期短、易受污染等缺陷,近年来,在蛋制品行业中开始出现了蛋清粉、全蛋粉等初级蛋制品[4],然而其起泡特性不佳,限制了在食品工业的应用。因此,为提高蛋制品的起泡特性,人们尝试采用酶法[5-7]、物理法[8](如:热处理、超高压)及化学法[9]对蛋清蛋白进行改性。目前将物理和酶法相结合改性蛋清蛋白的研究还较少。研究结果表明:利用蛋白酶适度水解蛋白后,其起泡性、溶解性等功能特性均有所改善,制得的蛋糕的体积也有大幅度提高。热处理和高压处理也能提高蛋清蛋白的起泡特性,但其影响不显著[5-7]。

作者采用湿热预处理蛋清蛋白,可使其中的蛋白酶抑制剂失活,同时蛋清蛋白适度变性,结构松散,有利于酶切位点的暴露;在此基础上,再利用蛋白酶酶解热处理后的蛋清蛋白,蛋白酶能优先酶解变性的蛋白质,导致不溶性的蛋白聚集体被降解成可溶性的蛋白,提高了其起泡特性,从而确定最佳的改性工艺条件,制成起泡特性优良的蛋清蛋白粉。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂 鸡蛋,市售;木瓜蛋白酶(酶活100 000 u/g):南宁东恒华道生物科技有限公司产品;邻苯二甲醛(OPA)、十二烷基硫酸钠(SDS)、二硫苏糖醇(DTT):国药集团化学试剂有限公司产品。

1.1.2 主要仪器设备 高速搅拌机:上海弗鲁克机械有限公司产品;DKZ-450B 电热恒温振荡水槽:上海森信实验仪器有限公司产品;SD-038 打蛋器:永康市康尔牛工贸有限公司产品;EL3002 电子分析天平:梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司产品;AR-G2 型旋转流变仪:美国 TA 公司产品。

1.2 测定方法

1.2.1 起泡能力和泡沫稳定性 室温下,用旋转搅拌器 2 000 r/min 转速条件下搅打稀释蛋清蛋白液,搅打结束后,立即将泡沫转移到预先称重的培养皿(100 mL)中,称重,记录 100 mL 泡沫的质量。倒置,收集 120 min 后的漏液,称重[10]。蛋清蛋白液的起泡能力(FC)和泡沫稳定性(FS)的计算公式如下:

$$FC(\%)=\frac{(Wt_1-Wt_2)}{Wt_2}\times 100\%$$

$$FS(\%)=\frac{(Wt_2-Wt_3)}{Wt_2}\times 100\%$$

其中,Wt_1 为 100 mL 蛋白液的质量,g;Wt_2 为 100 mL 泡沫的质量,g;Wt_3 为 120 min 后漏液的质量,g。

1.2.2 泡沫的流变学特性 采用平板-平板测量系统,平板横纹夹具 20 mm,间距 2.4 mm。静态剪切流变特性的测定:温度 25 ℃,测定剪切速率 0~0.002 865 s^{-1} 范围内泡沫的剪切应力的变化;动态黏弹性流变特性测试参数为:温度 25 ℃,扫描频率 1 Hz,测定扫描应力 0.1~1 000 Pa 递增范围内储能模量及损耗模量的变化[11]。

1.3 试验方法

1.3.1 蛋清蛋白的热处理 去杂后的蛋清配制成3%的蛋白液,置于不同温度下(60、70、80、90、100 ℃)热处理不同的时间(5、10、15、20、25、30 min),冷却至常温后,均于相同的酶解条件(底物质量分数3%、酶的添加量 3 500 u/g、酶解时间 2.5 h、酶解温度 55 ℃、酶解 pH 7)下改性,测定蛋清蛋白液的起泡特性。由起泡特性的高低确定蛋清最佳的热处理温度和时间。

1.3.2 蛋清蛋白的酶解工艺 蛋清和蛋黄分离,取蛋清于高速分散机下10 000 r/min 处理 30 s,然后 4 500 r/min 离心 20 min 去除杂质[12]。配成一定底物浓度的蛋清蛋白液,搅拌均匀后转移到反应容器中,90 ℃预处理 10 min[13],调节 pH、温度至木瓜蛋白酶的最适反应条件。添加木瓜蛋白酶酶解蛋清蛋白,用 0.5 mol/L NaOH 维持 pH 恒定,沸水浴灭酶 10 min。然后取反应液搅打起泡,测定稀释蛋清蛋白液的起泡能力和泡沫稳定性。

1.3.3 试验设计

1)单因素试验 以蛋白液的起泡能力和泡沫稳定性为试验指标,对酶的添加量、酶解时间、酶解

温度、酶解 pH 5 个因素进行单因素试验,并确定最佳的工艺参数。

2)响应面分析试验　在单因素实验的基础上,根据中心组合设计原理,以起泡能力和泡沫稳定性为响应值,通过响应面分析优化热处理辅助木瓜蛋白酶改性蛋清蛋白的酶解工艺,获得最优的酶改性工艺条件。每组实验重复 3 次,取其平均值。中心组合实验的因素水平如表 1 所示。

表 1　中心组合实验的因素水平表

Table 1　Factors and levels of central composite design

编码水平	因素		
	酶的添加量 A/(u/g)	酶解时间 B/h	酶解温度 C/℃
-1	2 500	2.5	45
0	3 500	3.5	50
1	4 500	4.5	55

2 结果与分析

2.1　蛋清蛋白的热处理

2.1.1　热处理温度对蛋清蛋白起泡特性的影响

热处理导致蛋白质发生变性,分子结构松散呈伸展状结构,暴露出更多的酶切位点,易被蛋白酶水解。在底物质量分数 3%、热处理时间 10 min、酶的添加量 3 500 u/g、酶解温度 55 ℃、酶解时间 2.5 h、酶解 pH 7 的情况下,热处理温度与蛋清蛋白的起泡能力和泡沫稳定性的关系如图 1 所示。随着蛋清蛋白热处理温度的升高, 起泡能力先增大后趋于平缓,泡沫稳定性先增大后缓慢减小。90 ℃时,蛋清蛋白的起泡能力最大;80 ℃时,泡沫稳定性最大,此后随着温度的增加,泡沫稳定性略有下降。因为蛋清蛋白中含有卵清蛋白和溶解酵素,当温度达到 70 ℃时,破坏了卵清蛋白的氢键、疏水相互作用等次级键,蛋白质分子从有序的致密结构转变为无序的松散伸展状结构,易于蛋白酶改性[14];因溶解酵素本身没有起泡能力,当温度大于 80 ℃时,起泡能力的持续增大究其原因是溶解酵素二级结构的改变导致的[15]。因此,综合考虑蛋清蛋白的起泡能力、泡沫稳定性及能耗三方面的因素,热处理辅助酶解蛋清蛋白的最佳热处理温度为 90 ℃。

2.1.2　热处理时间对蛋清蛋白起泡特性的影响

在底物质量分数 3%、热处理温度 90 ℃、酶的添加量 3 500 u/g、酶解温度 55 ℃、酶解时间 2.5 h、酶解

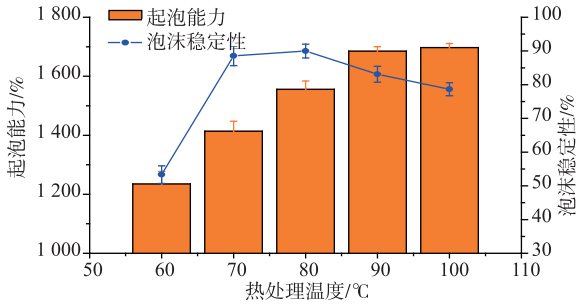


图 1　热处理温度对加热辅助酶解蛋清蛋白起泡特性的影响

Fig. 1　Effect of heat treatment temperature on foaming properties of egg white protein with heat-assisted enzymatic hydrolysis

pH 7 的情况下,热处理时间与蛋清蛋白的起泡能力和泡沫稳定性的关系如图 2 所示。蛋清蛋白的热处理时间为 5~15 min 时,起泡能力和泡沫稳定性均呈增加趋势,随着热处理时间的增加,蛋清蛋白中一些组分会逐步发生裂解或伸展,可减少酶解过程中达到同一水解度所需要的时间[14]。当蛋清蛋白热处理时间为 15~30 min 时,起泡能力呈急剧下降趋势,随着热处理时间的持续增加,迫使蛋白质分子内部的疏水基团大量暴露,在分子表面的亲水基团相对减少, 因而蛋白质分子间相互碰撞发生聚合作用,不利于蛋清蛋白的酶解改性;同时,泡沫稳定性的增加,究其原因是蛋清蛋白液粘度的增加影响了泡沫的流变学特性[4]。因此,综合考虑蛋清蛋白的起泡能力和泡沫稳定性,热处理辅助酶解蛋清蛋白的最佳热处理为 10 min。

2.2　单因素试验结果与分析

2.2.1　底物质量分数对蛋清蛋白起泡特性的影响

在热处理温度 90 ℃、热处理时间 10 min、酶的添加量 3 500 u/g、酶解温度 50 ℃、酶解时间 4 h、酶解 pH 7 的情况下,底物质量分数与蛋清蛋白的起泡能力和泡沫稳定性的关系如图 3 所示。由图 3 可知,随着底物浓度的增加,起泡特性呈先增大后减小的趋势,且在底物浓度较小时,起泡特性增加迅速,在达到最高点之后又缓慢下降。在底物质量分数为 3%时,起泡能力和泡沫稳定性均为最大值。这可能是由于底物浓度过低时降低了酶解效率[15],导致其水解度仅为 8.97%;而当底物浓度过高时,蛋清蛋白热处理变性时导致了其凝固形成凝胶状,减少了可以与木瓜蛋白酶相结合的有效作用位点,导致不溶性聚集体的增加和可溶性蛋白含量的减小,使得起

泡能力显著下降(P<0.05)[16];然而底物浓度对泡沫稳定性的影响却不显著(P>0.05),分析原因是当底物浓度超过4%时,蛋白酶可作用的可溶性蛋白的量有限,导致蛋白的水解度变化不大且均在14%左右,此时聚集在气液界面的蛋白足以形成较稳固的粘弹性膜来抑制漏液[17];此外,底物越大,酶解前的热处理使得溶液的粘度增大,同时酶解后的蛋白的粘度会有部分下降[18],相互抵消后,其粘度几乎不变。因此,综合考虑蛋清蛋白的起泡能力和泡沫稳定性,选取底物质量分数3%为宜。

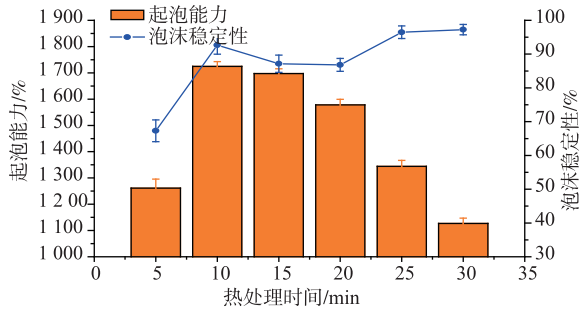


图2 热处理时间对加热辅助酶解的蛋清蛋白起泡特性的影响

Fig. 2 Effect of heat treatment time on foaming properties of egg white protein with heat-assisted enzymatic hydrolysis

2.2.2 酶的添加量对蛋清蛋白起泡特性的影响

选用适当的加酶量可在确保变性蛋白有限酶解的同时节约生产成本。在底物质量分数3%、热处理温度90 ℃、热处理时间10 min、酶解温度50 ℃、酶解时间4 h、酶解pH 7的情况下,酶的添加量与蛋清蛋白的起泡能力和泡沫稳定性的关系如图4所示。随着酶添加量的增大,蛋清蛋白的起泡能力先增大后减小,在酶的添加量为3 500 u/g时,起泡能力为最大值;而泡沫稳定性先缓慢降低,在酶的添加量为5 500 u/g时,降到最低值。轻度水解时,蛋白相对分子质量降解为多肽链,并能快速在界面上吸附并展开,降低了表面张力,使得蛋白的起泡能力增大[17]。因酶解时间的过长,蛋白质水解过度,形成了相对分子质量较小的肽链,而较短的多肽链不利于气-液界面坚固薄膜的形成,使得起泡能力和泡沫稳定性均急剧下降[8]。同时,酶解导致蛋白液粘度降低,有可能也是泡沫稳定性下降的原因之一。因此,综合考虑蛋清蛋白的起泡能力、泡沫稳定性和经济成本3方面的因素,选取酶的添加量3 500 u/g为宜。

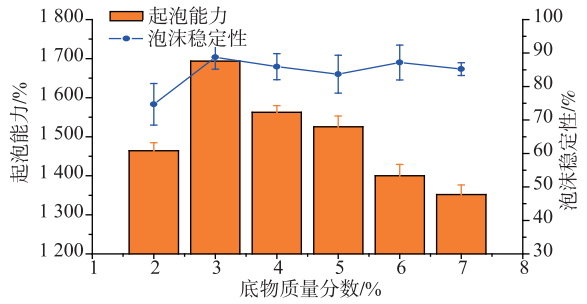


图3 底物质量分数对加热辅助酶解的蛋清蛋白起泡特性的影响

Fig. 3 Effect of substrate concentration on foaming properties of egg white protein with heat-assisted enzymatic hydrolysis

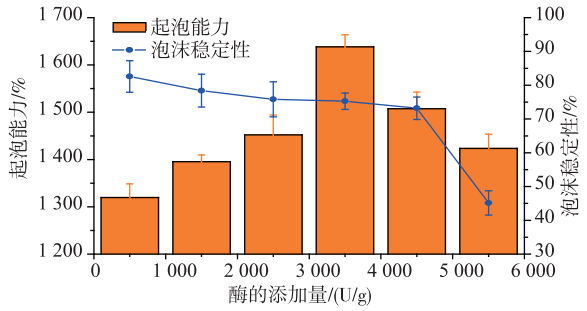


图4 酶的添加量对加热辅助酶解蛋清蛋白起泡特性的影响

Fig. 4 Effect of the added amount of enzyme on the foaming properties of egg white protein with heat-assisted enzymatic hydrolysis

2.2.3 酶解温度对蛋清蛋白起泡特性的影响

在底物质量分数3%、热处理温度90 ℃、热处理时间10 min、酶的添加量3 500 u/g、酶解时间4 h、酶解pH 7的情况下,酶解温度与蛋清蛋白的起泡能力和泡沫稳定性的关系如图5所示。酶解温度对蛋清蛋白的起泡特性影响显著(P>0.05)。随着酶解温度的升高,蛋清蛋白的起泡能力呈先增大后降低的趋势,泡沫稳定性先增大后降低再增大的趋势。在酶解温度50 ℃时,蛋清蛋白的起泡特性最佳。木瓜蛋白酶水解的最适温度范围为50~60 ℃,在此温度范围内,木瓜蛋白酶酶解蛋清蛋白的水解程度最大,但蛋白的起泡特性和水解程度并不成正比,因适当的有限酶水解是起泡特性改善的关键所在[4]。65 ℃时,泡沫稳定性略有增大。研究表明,液体的粘度与蛋白的水解度呈正比。推测原因是,65 ℃时酶活降低[20]导致水解度降低为14%左右,此时和50 ℃的水解度相近,所以与60 ℃相比,此时的液体粘度增大了,从而导致泡沫稳定性的轻微增强[18]。涂勇刚[21]等

采用响应面分析优化了木瓜蛋白酶改善蛋清蛋白起泡特性的工艺，研究表明酶解温度 47.5 ℃时，起泡特性最佳。蛋白酶能优先酶解变性的蛋白质，不溶性聚集体被降解，得到更多的可溶性成分，但温度过低时，酶与底物的反应速率慢，得到的可溶性成分不足，降低了蛋白质的起泡特性[14]。因此，综合考虑蛋清蛋白的起泡能力、泡沫稳定性及能耗等因素，选取酶解温度 50 ℃为宜。

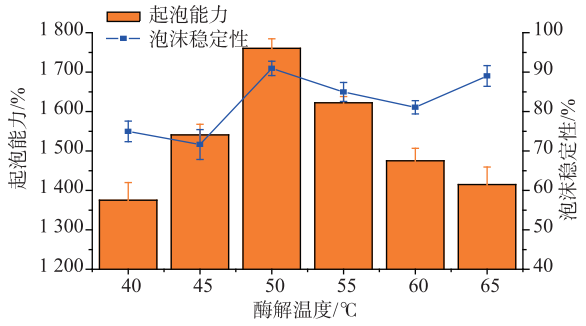


图 5　酶解温度对加热辅助酶解蛋清蛋白起泡特性的影响

Fig. 5　Effect of enzymatic temperature on foaming properties of egg white protein with heat – assisted enzymatic hydrolysis

2.2.4　酶解时间对蛋清蛋白起泡特性的影响　在底物质量分数 3%、热处理温度 90 ℃、热处理时间 10 min、酶的添加量 3 500 u/g、酶解温度 50 ℃、酶解 pH 7 的情况下，酶解时间与蛋清蛋白的起泡能力和泡沫稳定性的关系如图 6 所示。随着酶解时间的延长，蛋清蛋白的起泡能力也随之增加，到 3.5 h 时达到最大值，其后呈下降趋势；而泡沫稳定性先增大后减小，当酶解时间在 0~1.5 h 时泡沫稳定性增加显著(P<0.05)，在 3.0 h 时达到最大值。在最初的酶解进程中，因热处理使蛋清蛋白结构伸展，增大了蛋白质分子的柔性，易于蛋白酶酶解[18]，促进了肽键的暴露，有利于气液界面上蛋白分子间的相互作用，从而提高蛋白的起泡特性。之后随着酶解时间的延长，蛋白酶能够降解不溶性聚集体得到可溶性蛋白成分，提高了起泡特性但不显著(P>0.05)；当酶解时间超过 3.5 h 后，随着酶解反应的进行，底物浓度减小，有效酶切位点数量降低，产物浓度增加，其对底物的竞争性抑制变强，水解度变化不大，导致了蛋清蛋白起泡特性的下降[14]。因此，综合考虑蛋清蛋白的起泡能力、泡沫稳定性及能耗 3 方面因素，选取酶解时间 3.5 h 为宜。

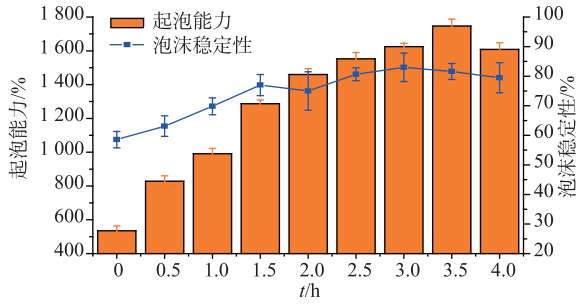


图 6　酶解时间对加热辅助酶解蛋清蛋白起泡特性的影响

Fig. 6　Effect of enzymatic time on foaming properties of egg white protein with heat –assisted enzymatic hydrolysis

2.2.5　酶解 pH 对蛋清蛋白起泡特性的影响　在底物质量分数 3%、热处理温度 90 ℃、热处理时间 10 min、酶的添加量 3 500 u/g、酶解温度 50 ℃、酶解时间 4h、酶解 pH 7 的情况下，酶解 pH 与蛋清蛋白的起泡能力和泡沫稳定性的关系如图 7 所示。由图 6 可知，随着 pH 的增加，蛋清蛋白的起泡能力和泡沫稳定性均呈先升高后降低的趋势。在 pH 7 时，起泡能力和泡沫稳定性均达到最大值，pH 6.5~7.5 之间，泡沫的稳定性相差不大，即体系在中性环境下，起泡特性良好；因木瓜蛋白酶的最适 pH 范围为 5~7，但当体系过酸或过碱时，会抑制蛋白酶的活力，从而影响蛋白质的水解，导致蛋清蛋白液中的聚集体不能得到有效降解，降低了蛋清蛋白的起泡特性[11]。综合考虑蛋清蛋白的起泡能力和泡沫稳定性，选取酶解 pH 7 为宜。

2.3　响应面试验结果和方差分析

在单因素实验结果的基础上，利用 Box-Behnken 对影响热处理辅助酶解蛋清蛋白起泡特性的酶解因素进行响应面分析实验，并对实验结果进行统计分析，结果见表 2。

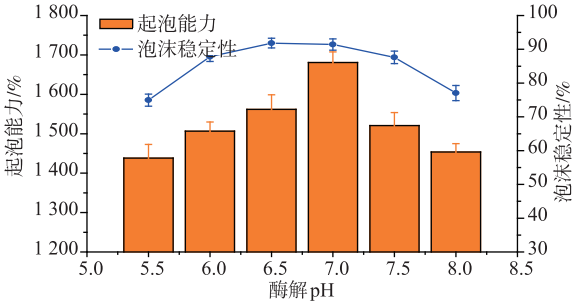


图 7　酶解 pH 对加热辅助酶解蛋清蛋白起泡特性的影响

Fig. 7　Effect of pH on foaming properties of egg white protein with heat–assisted enzymatic hydrolysis

表 2　中心组合实验设计及实验结果

Table 2　Experimental design of central composite design and results obtained from the process

实验号	因素			起泡能力/%	泡沫稳定性/%
	A	*B*	*C*		
1	1	0	−1	1 238.89	62.32
2	0	0	0	1 421.14	79.54
3	0	1	1	1 485.9	75.30
4	−1	1	0	1 543.41	87.79
5	−1	0	1	1 480.66	80.19
6	0	0	0	1 580.58	71.40
7	0	−1	−1	1 502.07	76.79
8	−1	−1	0	1 645.05	89.76
9	1	0	1	1 427.93	71.53
10	0	−1	1	1 750.3	93.17
11	0	0	0	1 470.69	80.40
12	1	1	0	1 231.96	79.61
13	−1	0	−1	1 557.88	72.86
14	1	−1	0	1 581.35	82.20
15	0	0	0	1 463.25	70.39
16	0	1	−1	1 526.68	69.54
17	0	0	0	1 493.8	81.45

2.3.1　不同因素对起泡能力的影响　运用 Design Expert V8.0.6 软件对表 2 中的蛋清蛋白的起泡能力进行回归方程及变量方程分析见表 3。

以蛋清蛋白的起泡能力为响应值，通过 Design-Expert 7.1.3 统计软件对实验结果进行回归分析,并剔除不显着项,得到的二阶多项式为:起泡能力（%）=1 485.89 −93.36A −86.35B +39.91C −61.94AB +66.57AC −72.25BC −62.67A^2 +77.22B^2 +3.12C^2。从方差分析表 3 可以看出,p=0.004 4,说明模型极显着。决定系数 R^2=0.915 3,说明该模型的拟合性较好,可用此模型来分析和预测蛋清蛋白的酶解工艺参数。失拟项不显着,说明方程模拟较好。一次项 A、B，二次项 A^2、B^2 对蛋清蛋白的起泡能力影响极为显着，交互作用项 AC、BC 对蛋清蛋白的起泡能力影响显着,说明这些因素存在相互作用。通过对各影响因素进行 F 值检验,得到因素之间贡献作用依次是酶的添加量>酶解时间>酶解温度。由 p 值可以看出,A、B、AC、BC、A^2、B^2 对起泡能力的影响显着。

表 3　起泡能力回归方程方差分析

Table 3　Analysis of variance for regression model of foaming capacity

来源	平方和	自由度	均值	F 值	p 值	显著性
模型	235 800.00	9	26 194.60	8.86	0.004 4	**
A	69 726.85	1	69 726.85	23.59	0.001 8	**
B	59 654.03	1	59 654.03	20.19	0.002 8	**
C	12 741.67	1	12 741.67	4.31	0.076 5	
AB	15 345.02	1	15 345.02	5.19	0.056 7	
AC	17 723.60	1	17 723.60	6.00	0.044 2	*
BC	20 881.70	1	20 881.70	7.07	0.032 6	*
A^2	16 538.81	1	16 538.81	5.60	0.049 9	**
B^2	25 109.67	1	25 109.67	8.50	0.022 5	**
C^2	41.03	1	41.03	0.014	0.909 5	
残差	20 687.34	7	2 955.33			
失拟项	6 722.40	3	2 240.80	0.64	0.627 2	
纯误差	13 964.94	4	3 491.23			
总离差	256 400.00	16				

注:** 表示极显著(p<0.01),* 表示显著(0.01<p<0.05)

2.3.2　不同因素对泡沫稳定性的影响　运用 Design Expert V8.0.6 软件对表 2 中蛋清蛋白的泡沫稳定性进行回归方程及变量方程分析见表 4。

以蛋清蛋白的泡沫稳定性为响应值,将实验数据进行回归分析,并剔除不显着项,得到的二阶多项式为：泡沫稳定性（%）=76.64−4.37A −3.71B+4.84C −0.16AB +0.47AC −2.66BC +0.61A^2 +7.59B^2 −5.53C^2。从方差分析 4 可以看出,酶的添加量对泡沫稳定性影响最大,其次是酶解温度,酶解时间影响最小。由 p 值可知,A、C、B^2 对泡沫稳定性影响显著。

按两者权重 1:1，软件给出的最优酶解工艺条件为:底物质量分数 3%、酶的添加量 3 500 u/g,酶解时间2.5 h,酶解温度 55 ℃、酶解 pH 7。预测的蛋清蛋白的起泡能力为 1 750.30%，泡沫稳定性为 93.17%。经实验验证，该蛋清蛋白的起泡能力为 1741.38%,泡沫稳定性为 93.38%。与空白对照组(起泡能力为 770.69%,泡沫稳定性为 47.25%)相比,起泡能力提高了 125.95%，泡沫稳定性提高了 97.63%。Hammershoj[9]等人用中性蛋白酶改性卵清蛋白后，水解度在 15%~40%之间时能获得最佳起泡特性，其起泡能力和泡沫稳定性分别提高了 20.45%、16.67%,然而起泡特性的改善效果却不佳,可能是水解度太大导致的。作者的改性蛋白的水解

度在13%左右,起泡特性却有大幅度的提高。与徐东红[8]用 40 000 U/g 的复合酶酶解改性的蛋清蛋白相比,起泡能力要高于其结果,而泡沫稳定性相对略低。出现这种结果的原因可能是起泡特性测定方法的不同造成的差异,或是湿热处理的蛋清蛋白经酶解后仍然存在少量的蛋白聚集体,对在气液界面上更快的形成更加稳固的粘弹性界面膜有消极作用。从实验结果可以看出,热处理辅助木瓜蛋白酶酶解后的蛋清蛋白的起泡特性得到了提高,更重要的是其起泡能力得到了大幅度的提高,这对其进一步应用是有利的。

表 4　泡沫稳定性回归方程方差分析

Table 4　Analysis of variance for regression model of foaming stability

来源	平方和	自由度	均值	F 值	p 值	显著性
模型	834.63	9	92.74	3.81	0.0459	*
A	152.60	1	152.60	6.72	0.040 8	*
B	110.11	1	110.11	4.52	0.071 0	
C	187.02	1	187.02	7.68	0.027 6	*
AB	0.096	1	0.096	0.0039	0.951 7	
AC	0.88	1	0.88	0.036	0.854 3	
BC	28.20	1	28.20	1.16	0.317 6	
A^2	1.59	1	1.59	0.065	0.805 7	
B^2	242.53	1	242.53	9.96	0.016 0	*
C^2	128.55	1	128.55	5.28	0.055 2	
残差	170.46	7	24.35			
失拟项	58.26	3	19.42	0.69	0.602 9	
纯误差	112.20	4	28.05			
总离差	1 005.09	16				

2.4　泡沫的流变学特性的测定

泡沫的静态流变测试是通过扫描时间得到相应的剪切应力的变化趋势,可以此来评估泡沫屈服应力的变化情况。对照组和改性蛋白泡沫的静态流变特性结果如图 8 所示。改性蛋白和对照组泡沫的最大剪应力分别是 141.2,113.4,因屈服应力和剪应力呈正比,所以改性蛋白泡沫的最大屈服应力是对照组的 1.2 倍,能够承受的屈服应力越高,相应的,泡沫越稳定。与测定的泡沫稳定性结果相一致。

泡沫的动态流变测试是在固定振动频率的条件下,系统地变化应力而得到的泡沫储能模量(G')与损耗模量(G'')的变化情况,可以此来反应泡沫的稳定程度和泡沫开始破裂时承受的应力大小。泡沫的动态流变特性结果如图 9 所示。由图 9 可知,两组蛋白泡沫的 G'均大于 G'',表现为固态样品。改性蛋白和对照组蛋白的泡沫开始出现破裂的应力分别为 31.62,15.85,改性后的蛋白的泡沫能够承受的屈服应力是对照组的 2 倍,关于在直线区域的泡沫的平均 G',改性蛋白和对照蛋白分别为 1372.8,982.4,改性蛋白泡沫的储能模量 G'更大,同时两组蛋白泡沫的损耗模量 G''相比,对照组略大些,所以改性后的蛋白泡沫更加稳定,原因是改性后的蛋白质肽链打开,疏水键更多的暴露出来,使得表面疏水性增大,而高的表面疏水性可以使得粘度升高分散性变好,从而可提高起泡特性。

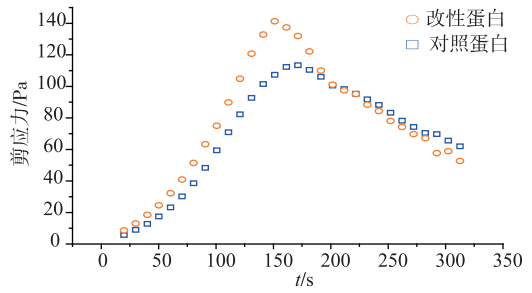


图 8　泡沫的稳态流变特性曲线

Fig. 8　Steady state flow curves on foams

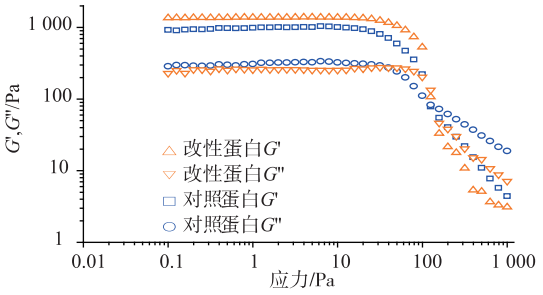


图 9　泡沫的动态流变特性曲线

Fig. 9　Oscillatory stress sweep curves on foams

3　结　语

研究分析了热处理温度和时间对热处理辅助木瓜蛋白酶改性的蛋清蛋白起泡特性的影响,得出最佳热处理条件:热处理温度 90 ℃,热处理时间 15 min。通过单因素和响应面优化得出热处理辅助木瓜蛋白酶改性蛋清蛋白的最佳酶解工艺条件为:底物质量分数 3%、酶的添加量 3 500 u/g、酶解时间 2.5 h、酶解温度 55 ℃、酶解 pH 7。在此条件下,与未改性的稀释蛋清蛋白相比,起泡能力提高了 112.97%,泡沫稳定性提高了 93.27%。同时,泡沫流

变学特性结果和蛋清蛋白起泡特性相一致。热处理辅助木瓜蛋白酶改性蛋清蛋白的起泡特性有了大幅度提高,为蛋清蛋白粉在蛋糕预混合粉中的应用提供了依据。

参考文献:

[1] 李三宝. 改善鸡蛋液起泡特性的研究[D]. 广州:华南理工大学,2011.
[2] ZHOU Bing,ZHANG Min,WANG Yuchuan,et al. Two kinds of different drying methods affect on different desalination pretreatment duck egg quality[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2013,32(12):1311-1318.(in Chinese)
[3] 赵金平. 蛋清蛋白的干燥加热硒酸化及其功能特性的研究[D]. 昆明:云南大学,2012.
[4] 杨瑾. 鸡蛋蛋白酶水解物的制备,物化及抗氧化性质的研究[D]. 广州:华南理工大学,2012.
[5] HAMMERSHØJ M,NEBEL C,CARSTENS J H. Enzymatic hydrolysis of ovomucin and effect on foaming properties [J]. **Food Research International**,2008,41(5):522-531.
[6] LEE W C,CHEN T C. Functional characteristics of egg white solids obtained from papain treated albumen [J]. **Journal of Food Engineering**,2002,51(4):263-266.
[7] VANDER P I,VAN L A,HENDRICKX M E. Foaming properties of egg white proteins affected by heat or high pressure treatment[J]. **Journal of Food Engineering**,2007,78(4):1410-1426.
[8] 徐东红. 酶法制备高特性蛋清蛋白粉工艺研究[D]. 南昌:江西农业大学,2013.
[9] HAMMERSHØJ M,PETERS L V,ANDERSEN H J. The significance of critical processing steps in the production of dried egg albumen powder on gel textural and foaming properties [J]. **Journal of the Science of Food and Agriculture**,2004,84(9):1039-1048.
[10] TALANSIER E,LOISEL C,DELLAVALLE D,et al. Optimization of dry heat treatment of egg white in relation to foam and interfacial properties[J]. **LWT–Food Science and Technology**,2009,42(2):496-503.
[11] LIANG Y,KRISTINSSON H G. Structural and foaming properties of egg albumen subjected to different pH-treatments in the presence of calcium ions[J]. **Food Research International**,2007,40(6):668-678.
[12] WANG G,WANG T. Effects of yolk contamination,shearing,and heating on foaming properties of fresh egg white [J]. **Journal of Food Science**,2009,74(2):C147-C156.
[13] WATABE K,YAMAZAKI T. Egg white hydrolysate and production method therefor [P]. M.S. Patent Application 13/989,998. 2011-8-24.
[14] 刘岩. 物理及酶法改善热压榨花生粕蛋白功能特性的研究[D]. 广州:华南理工大学,2011.
[15] HUO Yongjiu,ZHAN Jinshun,JIN Xiaojun,et al. Hydrolysis of egg white protein by flavourzyme [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2015,34(4):424-429.(in Chinese)
[16] IBANOGLU E,ERCELEBI E A. Thermal denaturation and functional properties of egg proteins in the presence of hydrocolloid gums[J]. **Food Chemistry**,2007,101(2):626-633.
[17] 李维瑶. 高起泡性大豆分离蛋白的研究及其在蛋糕中的应用[D]. 无锡:江南大学,2009.
[18] 王伟,李文钊. 鸡蛋蛋白改性及其打发性能研究[D]. 天津:天津科技大学,2009.
[19] PANYAM D,KILARA A. Enhancing the functionality of food proteins by enzymatic modification [J]. **Trends in Food Science & Technology**,1996,7(4):120-125.
[20] LECHEVALIER V,JEANTET R,ARHALIASS A,et al. Egg white drying:Influence of industrial processing steps on protein structure and functionalities[J]. **Journal of Food Engineering**,2007,83(3):404-413.
[21] TU Yonggang,NIE Xuliang,XU Mingsheng,et al. Response surface methodology for technological optimization of papain hydrolysis of albumen protein for in prover foaming properties[J]. **Food Science**,2011,32(20):84-88.