

中性蛋白酶对咸鸭蛋蛋清脱盐前后品质的影响

陈远哲¹, 丁丽娜¹, 尤玉如^{1,2}, 肖功年^{1,2}

(1. 浙江科技学院 生物与化学工程学院, 杭州 310023; 2. 浙江省农产品化学与生物加工技术重点实验室, 杭州 310023)

摘 要: 研究鲜鸭蛋蛋清、咸鸭蛋蛋清、脱盐咸鸭蛋蛋清, 以及加中性蛋白酶的咸鸭蛋蛋清和加中性蛋白酶的脱盐咸鸭蛋蛋清的黏度、乳化性、乳化稳定性、起泡性及泡沫稳定性。试验结果表明: 加酶的脱盐咸鸭蛋蛋清黏度高达 $58.2 \text{ Pa} \cdot \text{s}$, 得到了极大的提升; 加酶的咸鸭蛋蛋清乳化性及乳化稳定性最优, 分别为 1.108 和 1582.86 min; 未加酶的脱盐咸鸭蛋蛋清起泡性最佳, 为 587%, 加酶的脱盐咸鸭蛋蛋清泡沫稳定性最佳。

关键词: 咸鸭蛋蛋清; 中性蛋白酶; 黏度; 乳化性; 泡沫稳定性

中图分类号: TS253.4

文献标志码: A

文章编号: 1671-8798(2016)03-0230-05

Influence of neutral protease on quality of salted duck egg white before and after desalination

CHEN Yuanzhe¹, DING Lina¹, YOU Yuru^{1,2}, XIAO Gongnian^{1,2}

(1. School of Biological and Chemical Engineering, Zhejiang University of Science and Technology, Hangzhou 310023, China; 2. Zhejiang Provincial Key Laboratory for Chemical and Biological Processing Technology of Farm Produce, Hangzhou 310023, China)

Abstract: The viscosity, emulsification, emulsifying stability, foaming ability and foam stability of fresh duck egg, salted duck gee white, salted duck gee white with neutral protease and desalted duck gee white with neutral protease were studied. The results showed that, the viscosity of desalted duck egg white with neutral protease has large improvement, which can reach $58.2 \text{ Pa} \cdot \text{s}$; the emulsibility and emulsifying stability of salted duck egg white with neutral protease also can reach 1.108, 1582.86 min; the optimal foaming ability of salted duck egg white are increased 587%, the foam stability of desalted duck egg white with neutral protease is better than that of desalted duck egg white.

Keywords: salted duck egg white; neutral protease; viscosity; emulsibility; foam stability

收稿日期: 2016-06-14

基金项目: 浙江省科技计划项目(2014C32086)

作者简介: 陈远哲(1993—), 男, 浙江省金华人, 硕士研究生, 研究方向为食品工程。

通信作者: 肖功年, 教授, 博士, 主要从事食品添加剂与配料研究。

蛋类制品是中国特色农产品,而蛋制品产业在国民经济中也占有重要的地位。而由于传统的饮食习惯和鸭蛋的保鲜期,国内60%以上的鸭蛋以咸鸭蛋制品方式消费。其中,咸鸭蛋蛋黄因其良好的口感和色泽而备受人们的青睐,通常用于制作菜肴和糕点。咸鸭蛋蛋黄是制作月饼的主要原料之一,因此遗留的咸鸭蛋蛋清数量也相当大。据初步估算,每年遗留的咸鸭蛋蛋清已超过数万吨。因其含盐量高达10%~12%而未能被合理利用,这不仅是对优质蛋白质资源的浪费,而且由于咸鸭蛋蛋清的发酵分解及腐败也会对周围环境造成严重的污染,因此,咸鸭蛋蛋清的处理变得非常重要^[1]。目前对咸鸭蛋蛋清的利用率不高,国内的报道也仅仅是简单地将其直接添加利用、从中提取少量物质、直接干燥制粉、酶解或者初步脱盐等^[2]。

郑华等^[3]研究了3种不同酶(胰蛋白酶、复合风味蛋白酶、木瓜蛋白酶)对脱盐咸鸭蛋蛋清的酶解程度及规律。溶菌酶主要提取自蛋清,Gill等^[4-6]的研究表明,溶菌酶和EDTA对于火腿的防腐作用具有协同效果,能够大幅提高防腐效果。李晶晶等^[7]不仅研究了咸鸭蛋蛋清超滤脱盐工艺,还探讨了脱盐咸鸭蛋蛋清蛋白酶水解工艺和酶水解产物的脱腥处理方法;另外,也有专利将咸鸭蛋蛋清脱盐(脱盐率90%、蛋白质回收率90%)并将其应用到面包、蛋糕、饼干等食品及饮料和调味料等。

今以鲜鸭蛋蛋清为对照,研究咸鸭蛋蛋清脱盐前后及加入中性蛋白酶后品质的变化,旨在为咸鸭蛋蛋清的综合利用作铺垫。

1 材料与方法

1.1 材料

鲜鸭蛋蛋清,杭州羽浓禽蛋制品有限公司,实验室分离;咸鸭蛋蛋清,杭州羽浓禽蛋制品有限公司,实验室分离;脱盐咸鸭蛋蛋清,实验室分离(透析袋透析,将咸鸭蛋蛋清置于分子截留量为3 500 Da的透析袋中,两端扎紧封口,浸没于去离子水中,每隔2 h换一次水,透析6 h,蛋白质大分子被拦截,而NaCl可以通过,从而达到脱盐目的)。透析袋(分子截留量3 500 Da),上海长哲生物科技有限公司;金龙鱼大豆油,嘉里粮油(中国)有限公司。

碳酸氢钠、乙二胺四乙酸、十二烷基硫酸钠、氢氧化钠、盐酸,均为国产分析纯,国药集团化学试剂有限公司;中性蛋白酶,上海长哲生物科技有限公司。

1.2 仪器

DV-S数显黏度计,BROOKFIELD;UV765紫外可见分光光度计,上海仪电分析仪器有限公司;DGG-9070A型电热恒温鼓风干燥箱,苏州江东精密仪器有限公司;HH系列数显恒温水浴锅,上海江星仪器有限公司;ULTRA-TURRAX T 25 basic分散机,北京康林科技有限责任公司。

1.3 试验方法

1.3.1 中性蛋白酶对脱盐咸鸭蛋蛋清黏度的影响

采用DV-S数显黏度计测定鲜鸭蛋蛋清、咸鸭蛋蛋清和脱盐咸鸭蛋蛋清的黏度,取10 mL的鲜鸭蛋蛋清、咸鸭蛋蛋清、加酶脱盐咸鸭蛋蛋清于100 mL的烧杯中,水浴加热至25℃,立即测定黏度,选取转子S61,速度为50%,将探头完全淹没在试样中,30 s后读取数据^[8]。下文中出现“+”,即为加入中性蛋白酶,出现“-”,则是未添加中性蛋白酶。

1.3.2 中性蛋白酶对脱盐咸鸭蛋蛋清乳化特性的影响

乳化性的测定采用浊度法,并运用乳化活性指数(emulsifying activity index,EAI)和乳化稳定性指数(emulsifying stability index,ESI)来评价乳化活性和乳化稳定性。分别取鲜鸭蛋蛋清、咸鸭蛋蛋清、加酶脱盐咸鸭蛋蛋清3 mL,与1 mL大豆油混合,在10 000 r/min下分散1 min后,立即从距溶液底部0.5 cm处用50 μ L微量进样管量取50 μ L乳浊液,加入5 mL质量分数为0.1%的十二烷基硫酸钠(SDS)溶液,混匀后在500 nm下测定吸光度 A_0 ,即为乳化活性指数EAI,静置10 min后,测定其吸光度 A_{10} ,即为乳化稳定性指数ESI^[8],设为 Y_{ESI} 。计算公式如下:

$$Y_{\text{ESI}} = \frac{10A_0}{A_0 - A_{10}} \quad (1)$$

式(1)中: A_{10} 为将乳状液放置 10 min 后测得的吸光值。

1.3.3 中性蛋白酶对咸鸭蛋蛋清起泡性及泡沫稳定性的影响

量取鲜鸭蛋蛋清、咸鸭蛋蛋清、加酶脱盐咸鸭蛋蛋清各 10 mL 于 250 mL 烧杯中,稀释到 100 mL,使用 10 000 r/min 的分散机搅拌 3 min 后,立即转入 250 mL 量筒,记录搅拌停止时溶液体积 V_1 和泡沫体积 V_f ,静置 30 min 后溶液体积 V_{30} 。起泡性(foaming capacity, FC) 和泡沫稳定性(foaming stability, FS)^[9] 分别设为 Y_{FC} 和 Y_{FS} ,计算公式如下:

$$Y_{\text{FC}} = \frac{V_f}{V_0} \times 100\%, \quad (2)$$

$$Y_{\text{FS}} = \frac{V_0 - (V_{30} - V_1)}{V_0} \times 100\% \quad (3)$$

式(2)、式(3)中: V_0 为鸭蛋蛋清液体, $V_0 = 10$ mL; V_1 为搅拌停止时溶液体积, mL; V_f 为搅拌停止时泡沫体积, mL; V_{30} 为静置 30 min 后溶液体积, mL。

2 结果与分析

2.1 中性蛋白酶对咸鸭蛋蛋清脱盐前后黏度的影响

由图 1 可知,鲜鸭蛋蛋清的黏度大于咸鸭蛋蛋清,可能与分子间力——氢键有关,因为盐分中 Na^+ 和 Cl^- 会屏蔽蛋白质的表面电荷,使得部分氢键受损,导致体系黏度下降。咸蛋蛋清脱盐前后黏度变化不大,说明蛋白质在高质量浓度盐环境中,发生了不可逆转的变性^[10]。加入中性蛋白酶的咸鸭蛋蛋清,其黏度也没有太大的改变,说明在高质量浓度盐环境中,酶的活性受到极大的影响。而在脱盐后加入酶,则发现黏度有极大的提高,甚至还优于鲜鸭蛋蛋清。这可能是因为酶解使已变性的蛋白质裂解,让大部分氢键暴露出来,体系黏度也随之上升。

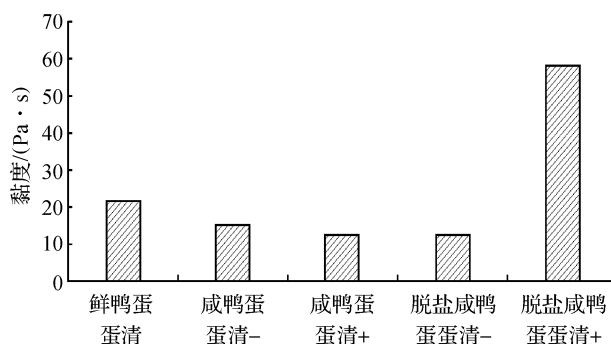


图 1 中性蛋白酶对咸鸭蛋蛋清脱盐后黏度的影响

Fig. 1 Influence of neutral protease on viscosity of salted duck egg white before and after desalination

2.2 中性蛋白酶对咸鸭蛋蛋清脱盐前后乳化性及乳化稳定性的影响

因蛋白质同时包含疏水性基团和亲水性基团,能够在乳液界面交互,疏水性基团部分朝向脂质展开,亲水性基团部分向水相展开,降低表面张力,易于形成稳定的乳状液,所以都是高效的乳化剂。蛋清蛋白的乳化性有助于脂肪的吸收并可防止脂肪的析出,延长商品的货架期^[11]。

由图 2(a)可知,鲜鸭蛋蛋清的乳化性优于咸鸭蛋蛋清,说明 NaCl 对蛋清乳化性有较大的影响,因为盐分中 Na^+ 和 Cl^- 会屏蔽蛋白质的表面电荷,降低蛋白质—水之间的相互作用,吸附在油—水界面的蛋白质量减少,油滴粒径较大,界面面积小,所以乳化活力降低^[12]。脱盐咸鸭蛋蛋清的乳化性几乎没有太大的改变。加入中性蛋白酶的咸鸭蛋蛋清的乳化性明显增加,可能是因为在高盐度环境中,虽然酶的活性大大降低,但酶作为一种蛋白质在乳化性的测定中也参与了反应,而加酶的脱盐咸鸭蛋蛋清乳化性降低,说明随着盐质量浓度的降低,酶的活性逐渐恢复,一部分已经变性的蛋白质被酶解成小分子肽链,使蛋清蛋白质中蛋白质分子的亲水基团暴露,使其亲水性增强、乳化性下降。

由图 2(b)可知,鲜鸭蛋蛋清的乳化性稳定优于咸鸭蛋蛋清,因为盐分中 Na^+ 和 Cl^- 会屏蔽蛋白质的表面电荷,降低蛋白质—水之间的相互作用,吸附在油—水界面的蛋白质量减少,油滴粒径较大,界面面积小,所以乳化稳定性降低。而加酶的脱盐咸鸭蛋蛋清乳化稳定性降低,说明随着盐质量浓度的降低,酶

的活性逐渐恢复,一部分已经变性的蛋白质被酶解成小分子肽链,使蛋清蛋白质中蛋白质分子的亲水基团暴露,使其亲水性增强、乳化稳定性下降。

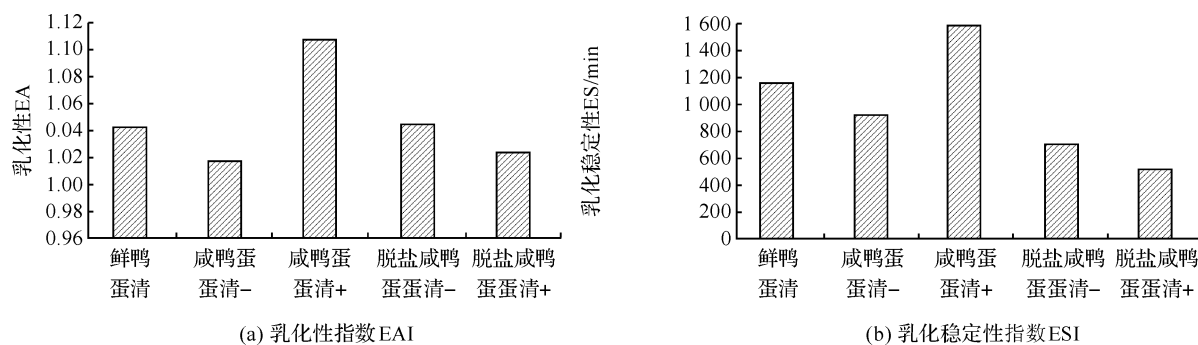


图2 中性蛋白酶对咸鸭蛋蛋清脱盐前后乳化特性的影响

Fig. 2 Influence of neutral protease on emulsibility of salted duck egg white before and after desalination

2.3 中性蛋白酶对咸鸭蛋蛋清脱盐前后起泡性及泡沫稳定性的影响

蛋清中含有丰富的蛋白质,是一种亲水胶体,具有良好的起泡性,在糕点生产中具有重要作用,特别是在西点的装饰方面。

蛋白经过强烈搅打,蛋白薄膜将混入的空气包裹起来形成泡沫,由于受表面张力制约,迫使泡沫成为球形,制品在烘烤时,泡沫由于蛋白质凝结而固定,因此,蛋白在糕点和面包制作中起到了膨松、增大体积的作用^[13]。

由图 3(a)可知,鲜鸭蛋蛋清的起泡性优于咸鸭蛋蛋清,可能是因为过高的含盐量增加了溶液的表观黏度和蛋白膜的刚性,但脱盐咸鸭蛋蛋清的起泡性远高于鲜鸭蛋蛋清,可能是未完全脱去的少量 NaCl 减少了溶液的表观黏度和蛋白膜的刚性,增加了扩散速率,从而减弱了肽链间的相互作用^[14],这有助于增强咸鸭蛋蛋清的起泡性,故脱盐咸鸭蛋蛋清的起泡性明显大于鲜蛋蛋清的起泡性。加入中性蛋白酶后,部分已经变性的蛋清蛋白被酶解成小肽,在某种程度上加强了肽链间的相互作用,导致咸鸭蛋蛋清起泡性的降低^[15]。

由图 3(b)可知,鲜鸭蛋蛋清的泡沫稳定性优于咸鸭蛋蛋清,因为咸鸭蛋蛋清中的高含盐量,脱盐咸鸭蛋蛋清的泡沫稳定性与鲜鸭蛋蛋清几乎一致,可能是未完全脱去的少量 NaCl 虽然减少了溶液的表观黏度和蛋白膜的刚性,增加了扩散速率,增强了蛋白质的起泡性,但少量 NaCl 的存在极大地影响了泡沫稳定性^[16]。加入中性蛋白酶后,部分已经变性的咸鸭蛋蛋清蛋白被酶解成小肽,在某种程度上加强了肽链间的相互作用,虽然不利于咸鸭蛋蛋清的起泡性,但肽链间的相互作用使泡沫稳定性得到了极大的提升。

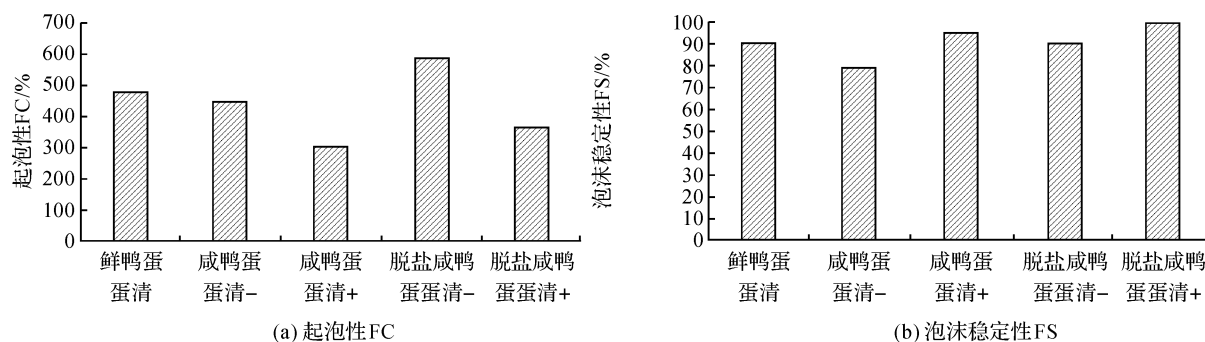


图3 中性蛋白酶对咸鸭蛋蛋清脱盐前后起泡性及泡沫稳定性的影响

Fig. 3 Influence of neutral protease on foamability and foam stability of salted duck egg white before and after desalination

3 结 语

添加中性蛋白酶的咸鸭蛋蛋清黏度为 $12.4 \text{ Pa}\cdot\text{s}$, 较之未添加酶的咸鸭蛋蛋清无太大的变化; 加酶的咸鸭蛋蛋清乳化性为 1.108, 较之未添加之前得到了较大的提升, 乳化稳定性也有相应的提升; 起泡性为 304%, 较之未添加之前有所下降, 但稳定性有所提升; 而在脱盐咸鸭蛋蛋清中添加中性蛋白酶, 其黏度有极大的提升, 达到 $58.2 \text{ Pa}\cdot\text{s}$, 起泡性为 364%, 较之未添加之前有所下降, 但稳定性有较大的提升, 达到了 99%。综上所述, 是否需要添加中性蛋白酶应根据实际需求。

参考文献:

- [1] LIU J B, YU Z P, ZHAO W Z, et al. Isolation and identification of angiotensin-converting enzyme inhibitory peptides from egg white protein hydrolysates[J]. Food Chemistry, 2010, 122(4): 1159.
- [2] 李晶晶. 咸蛋清脱盐及制备抗氧化肽的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2010.
- [3] 林静芬, 林捷, 郑华. 脱盐咸蛋清蛋白质的单因素酶解条件研究[C]//第七届中国蛋品科技大会论文集. 北京: 中国畜产品加工研究会, 2006: 58, 60-61.
- [4] 吴素萍. 溶菌酶在食品工业中的应用[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(5): 190-192.
- [5] 谷绒, 车振明, 万国福, 等. 溶菌酶及其在食品工业中的应用[J]. 保鲜与加工, 2006, 6(6): 5-6.
- [6] GILL A O, HOLLEY R A. Interactive inhibition of meat spoilage and pathogenic bacteria by lysozyme, nisin and EDTA in the presence of nitrite and sodium chloride at 24°C [J]. International Journal of Food Microbiology, 2003, 80(3): 251.
- [7] 李晶晶, 郑建仙. 咸蛋蛋清液除腥脱盐的工艺[J]. 食品与发酵工业, 2009(9): 72-74.
- [8] 许亚夫, 邹大江, 熊俊. 滤膜材料及微滤技术的应用[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(16): 2949.
- [9] 范劲松, 李斌, 夏莹, 等. 3 种磷酸盐对咸蛋清豆腐质构的影响[J]. 食品科技, 2010(6): 257.
- [10] CHOI D W, LEE J H, CHUN H H et al. Isolation of a calcium-binding peptide from bovine serum protein hydrolysates[J]. Food Science and Biotechnology, 2012, 21(6): 1663.
- [11] GUO Q, MU T H. Emulsifying properties of sweet potato protein; effect of protein concentration and oil volume fraction[J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(1): 98.
- [12] 董华伟, 何慧, 陈伯雍, 等. 电渗析对脱盐对鸭蛋清理化性质的影响[J]. 食品科学, 2013, 34(7): 129-130, 134.
- [13] 肖雯. 蛋白粉的功能特性与蛋白粉的加工[J]. 国外畜牧学: 猪与禽, 2003, 23(3): 57-59.
- [14] MINE Y. Effect of pH during the dry heating on the gelling properties of egg white proteins[J]. Food Research International, 1996, 29(2): 155.
- [15] 杨利, 张程, 张琪, 等. 咸蛋清蛋白质的絮凝与脱盐研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(20): 203.
- [16] COSENTINO S, DONIDA B M, MARASCO E, et al. Calcium ions enclosed in casein phosphopeptide aggregates are directly involved in the mineral uptake by differentiated HT-29 cells[J]. International Dairy Journal, 2010, 20(11): 770.