

# 酶解协同发酵改善蛋清蛋白起泡特性

张如意, 徐光伟, 沈佩瑶, 唐 晟, 饶胜其\*

(扬州大学 食品科学与工程学院, 江苏 扬州 225127)

**摘要:** 先后应用复合蛋白酶酶解和乳酸菌发酵对蛋清蛋白进行改性处理以改善其起泡特性和感官特性。研究结果显示 适宜的酶法改性条件为: 底物质量分数 10.0%、加酶量 5%、pH 7.5、酶解温度 65 ℃、酶解时间 90 min; 进一步的发酵改性条件为: 采用接种量为 2% 的嗜酸乳杆菌 CICC 6225 于 37 ℃ 发酵 6 h。在上述条件下 改性蛋清蛋白的起泡性和泡沫稳定性分别达到 293.67% 和 69.76% , 分别提高到未改性蛋清蛋白的 2.34 倍和 1.87 倍 , 同时其感官品质得到显著提升。

**关键词:** 起泡性; 泡沫稳定性; 酶解; 发酵; 蛋清蛋白; 食品科学

中图分类号: TS 201.2

文献标识码: A

文章编号: 2095-8730(2019)03-0074-05

鸡蛋有丰富的营养价值和良好的起泡特性, 被广泛应用于面包、饼干、蛋糕、饮料等食品的加工中。为迎合工厂大批量生产的需求, 市场上往往以蛋清液形式进行销售, 而如何提高蛋清起泡性及改善蛋清蛋白的理化性质是蛋清液研究的热点。研究表明, 可以通过改变蛋清液的加工工艺条件, 如热处理、辐射、糖基化作用和蛋白酶水解的方法来改善蛋清蛋白起泡性, 使得蛋清蛋白制品生产品质进一步改善。<sup>[1-5]</sup>

蛋白质酶解是利用蛋白酶在一定条件下催化并水解大分子蛋白, 改善蛋白质功能特性, 促使氨基酸组成趋于合理, 风味更为突出。<sup>[6]</sup> 然而, 酶解不能完全消除蛋腥味, 同时过度酶解会导致大分子蛋白降解成小分子肽, 从而丧失蛋清蛋白优良的加工特性。微生物发酵会产生发酵特有的味道,<sup>[7]</sup> 在有效掩盖蛋腥味的同时增加发酵味,<sup>[8]</sup> 且研究表明, 改变蛋清液的 pH 可以在某种程度上改善蛋清蛋白的起泡性和泡沫稳定性,<sup>[9]</sup> 而发酵过程产生的乳酸等有机酸能够有效调节蛋清液的 pH 从而改变其起泡特性。<sup>[10]</sup> 本研究拟通过复合蛋白酶酶解协同乳酸菌发酵改善蛋清蛋白的起泡特性和感官品质, 为高起泡性改性蛋清蛋白的生产加工和推广应用提供参考依据。

## 1 材料方法

### 1.1 材料与试剂

嗜酸乳杆菌 CICC 6225: 扬州大学食品微生物研究室; 新鲜鸡蛋: 江苏省扬州市邗江区苏果超市 符合 GB 2749—2015 要求; 复合蛋白酶(酶活 12 万 U/g): 上海源叶生物科技有限公司。

### 1.2 仪器与设备

RB 4001 不锈钢蛋清分离器: 广州莱贝生活用品有限公司; HC-2006 高速离心机: 安徽中科中佳科学仪器有限公司; RCD-1A 高速均质乳化机: 常州越新仪器制造有限公司; BME(MA/4) 单目生物显微镜: 上海新振仪器设备有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 蛋清蛋白的酶解

参考王永梅等<sup>[11]</sup> 方法并略有修改。将鸡蛋洗净, 分离蛋清于烧杯中, 室温下连续搅拌 3 h 后, 于高速离心机内 8 000 g 离心 10 min 去除杂质, 取上清液加入不同体积蒸馏水, 配制不同底物质量分数的蛋清蛋白液, 调节不同 pH 值后加入不同比例的复合蛋白酶, 搅拌均匀后置于不同温度的水浴锅中酶解不同时间, 90 ℃ 水浴灭酶 15 min, 冷却至室温后搅打起泡。

收稿日期: 2019-06-06 \* 通信作者

基金项目: 扬州大学大学生科技创新基金(x20180871)

作者简介: 张如意(1998-), 女, 江苏南通人, 扬州大学食品科学与工程学院本科生, 从事食品生物技术研究;

饶胜其(1981-), 男, 湖北鄂州人, 扬州大学食品科学与工程学院副教授, 博士, 从事食品生物技术研究。

以蛋清蛋白液的起泡能力和泡沫稳定性为试验指标,对底物质量分数(2.5%、5.0%、7.5%、10.0%、12.5%、15.0%)、酶解 pH(4.5、5.5、6.5、7.5、8.5、9.5、10.5)、加酶量(1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%)、酶解温度(45、50、55、60、65、70 和 75 °C)、酶解时间(30、60、90、120 和 150 min) 5 个因素分别进行单因素试验,以确定最适宜的酶解工艺参数。

### 1.3.2 蛋清酶解液的发酵

参考 LUCAS 等<sup>[12]</sup>方法并略有修改。在无菌条件下,吸取嗜酸乳杆菌 CICC 6225 菌种接种于装有 10 mL MRS 试管内,(37 ± 1) °C 静置培养 18 h,取该培养物反复接种 3 次。将预培养物于高速离心机内 8 000 r/min 离心 10 min 后,重悬于 10 mL 0.9% 无菌生理盐水中,用作蛋清酶解液发酵的接种物。

按照 1.3.1 项得出的适宜酶解条件酶解蛋清蛋白液,在无菌条件下,按 2% 接种量接种嗜酸乳杆菌 6225,加入 5% 麦芽糖(0.1 g/mL) 辅助发酵(37 ± 1) °C 静置培养,考察不同发酵时间对蛋清蛋白起泡性和泡沫稳定性的影响。

### 1.3.3 蛋清蛋白起泡性和泡沫稳定性的测定

参考 OU 等<sup>[13]</sup>方法并略有修改。取液面高度为  $h$  ( $h \leq$  烧杯高度的 1/4) 的蛋清蛋白液于小烧杯内,用高速匀浆机搅打 3 min(10 000 r/min),插入刻度尺读取溶液高度  $h_1$  和泡沫总高度  $h_2$ ,取平均值。起泡性计算公式如下:

$$\text{起泡性} = (h_2 - h_1) / h_1 \times 100\%$$

将搅打后的样品静止放置 30 min,插入刻度尺读取溶液高度  $h_1'$  和泡沫总高度  $h_2'$ ,取平均值。泡沫稳定性计算公式如下:

$$\text{泡沫稳定性} = (h_2' - h_1') / (h_2 - h_1) \times 100\%$$

### 1.3.4 泡沫微观结构观察

将泡沫样品平铺在表面皿上形成薄薄一层,在显微成像系统下放大 100 倍后观察。

### 1.3.5 感官评价

邀请 15 人组成评定小组,在了解本产品的意义、目的及评分标准后,根据表 1 的评分标准进行打分,满分为 100 分,感官评分为 15 人打分的平均值。根据改性蛋清液的特征,针对其溶解性、气味、色泽、组织形态及口感 5 个方面进行评定。品评之前,为避免口腔内残留的味道影响品评效果,应事先用清水漱口,品评过程中不进行任何交流,

独自打分评定。<sup>[14]</sup>

表 1 改性蛋清液的感官评分标准

评价指标	评价标准	评分
溶解性 (20 分)	全部溶解	11 ~ 20
	有少量不溶解	5 ~ 10
	有较多不溶解物	0 ~ 4
色泽 (15 分)	澄清,浅亮黄色且颜色均匀	11 ~ 15
	较澄清,浅黄微泛白,颜色较均匀	5 ~ 10
	浑浊,颜色不均匀且差距大	0 ~ 4
气味 (25 分)	有发酵乳香味,无异味	16 ~ 25
	有发酵乳香味,稍有蛋腥味	6 ~ 15
	有严重蛋腥味及其他不良风味	0 ~ 5
口感 (25 分)	细腻润滑,无明显异味	16 ~ 25
	略有颗粒物,稍有酸味	6 ~ 15
	口感粗糙,带有异常酸涩味	0 ~ 5
组织形态 (15 分)	黏稠度均匀,无分层,无杂质	11 ~ 15
	黏稠度较均匀,无杂质	5 ~ 10
	黏稠性不均匀,存在分层或杂质	0 ~ 4

## 2 结果分析

### 2.1 蛋清蛋白酶解条件的优化

#### 2.1.1 底物质量分数对蛋清蛋白起泡性和泡沫稳定性的影响

在 pH 6.5、加酶量 5%、酶解温度 65 °C、酶解时间 120 min 的条件下,不同底物质量分数对蛋清蛋白起泡特性的影响如图 1 所示。随着底物质量分数的增加,蛋清蛋白起泡性显著上升至峰值后下降,泡沫稳定性逐渐增大后趋于平缓。随着底物质量分数的提高,复合蛋白酶与蛋清蛋白之间的酶反应不断进行,亲水基团和疏水的非极性基团逐渐增加,使得气泡易于形成。<sup>[15]</sup>但底物质量分数较大时,不断受热后,小分子肽进一步聚合成可溶性聚合多肽,界面张力增加,从而起泡性减小。<sup>[16]</sup>综上所述,选择 10.0% 的底物质量分数作为优化结果。

#### 2.1.2 加酶量对蛋清蛋白起泡性和泡沫稳定性的影响

在 pH 6.5、底物质量分数 10.0%、酶解温度 65 °C、酶解时间 120 min 的条件下,不同加酶量对蛋清蛋白起泡特性的影响如图 2 所示。随着加酶量的增多,蛋清蛋白起泡性逐渐上升至最大值 246.57% 后骤然下降,泡沫稳定性缓慢下降后于加酶量 5% 时急剧降低。加酶量较低时,复合蛋

白酶水解蛋清蛋白的同时,快速在气-液界面吸附,降低其表面张力,从而提高起泡性;加酶量超过5%时,蛋清中大分子蛋白被水解成小分子的肽,反应体系黏度急剧下降,不利于气-液界面的稳定,使蛋清蛋白起泡特性大幅度下降。综上所述,选择5%的加酶量作为优化结果。

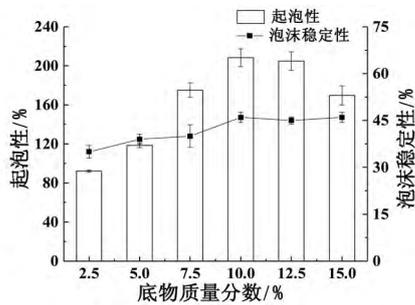


图1 底物质量分数对蛋清蛋白起泡特性的影响

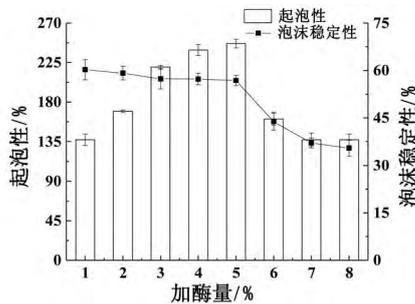


图2 加酶量对蛋清蛋白起泡特性的影响

### 2.1.3 酶解温度对蛋清蛋白起泡性和泡沫稳定性的影响

在 pH 6.5、底物质量分数 10.0%、加酶量 5%、酶解时间 120 min 的条件下,不同酶解温度对蛋清蛋白起泡特性的影响如图 3 所示。随着酶解温度的上升,蛋清蛋白的起泡性稳步上升至峰值后大幅度下降,泡沫稳定性原先起伏不大,65 °C 后显著下降。原因可能是复合蛋白酶的最适温度为 40~50 °C,此时蛋白酶活力强,酶解反应相对彻底,生成的小分子肽段比例高,导致此时的蛋白酶解液起泡性偏低;当温度高于 50 °C 时,随着温度的上升酶的活力开始减弱,反应逐步进入有限度水解进程,生成的大分子片段比例逐步升高,蛋清蛋白起泡性逐步增强;当温度上升至 65 °C 时,酶的活力进一步减弱但同时蛋清蛋白开始轻度变性,高分子肽段比例提升至峰值,此时蛋清蛋白起泡性亦达到峰值;当温度超过 65 °C 时,蛋清蛋白和酶蛋白变性幅度急剧上升,酶解反应严重受到影响,蛋清蛋白起泡性剧烈下降。

QUIST 等<sup>[17]</sup>研究表明,在酶解适宜条件下,蛋白酶能够优先酶解变性的蛋白,使得不溶性聚集体被降解,可溶性成分增多,从而起泡特性加强。李三宝<sup>[18]</sup>研究表明,当加热温度超过 65 °C 时蛋白酶活力迅速减弱,蛋清蛋白与水作用大幅度减弱,体系趋向不稳定,起泡特性变差。综上所述,选择 65 °C 的酶解温度作为优化结果。

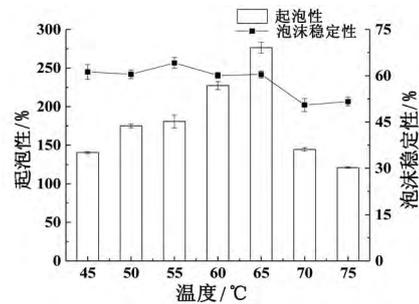


图3 酶解温度对蛋清蛋白起泡特性的影响

### 2.1.4 酶解时间对蛋清蛋白起泡性和泡沫稳定性的影响

在 pH 6.5、底物质量分数 10.0%、加酶量 5%、酶解温度 65 °C 的条件下,不同酶解时间对蛋清蛋白起泡特性的影响如图 4 所示。随着酶解时间的延长,蛋清蛋白的起泡性先上升后下降,泡沫稳定性逐渐上升后趋于平缓。最初酶解进程中,热处理使蛋清蛋白结构伸展,易于蛋白酶酶解,从而起泡性提高;酶解时间超过 90 min 时,随着酶解反应的不断进行,底物质量分数明显降低,有效酶切位点数减少,使得蛋清蛋白起泡性略有下降趋势。<sup>[17]</sup>综上所述,选择 90 min 的酶解时间作为优化结果。

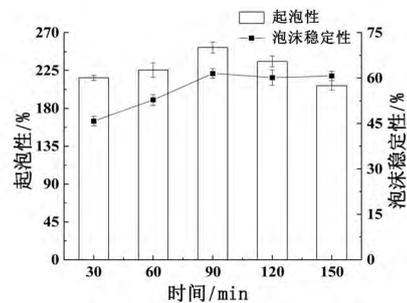


图4 酶解时间对蛋清蛋白起泡特性的影响

### 2.1.5 pH 值对蛋清蛋白起泡性和泡沫稳定性的影响

在底物质量分数 10.0%、加酶量 5%、酶解时间 120 min、酶解温度 65 °C 的条件下,不同 pH 对蛋清蛋白起泡特性的影响如图 5 所示。随着 pH

的上升,蛋清蛋白的起泡性显著提升至峰值 293.74% 后陡然下降,泡沫稳定性略有起伏随后逐渐下降。复合蛋白酶的最适 pH 为 7.5,当体系过酸或过碱时,酶的活力被抑制,蛋清蛋白中的高分子聚集体不能得到有效降解,因此其起泡特性降低。综上所述,选择 7.5 的 pH 作为优化结果。

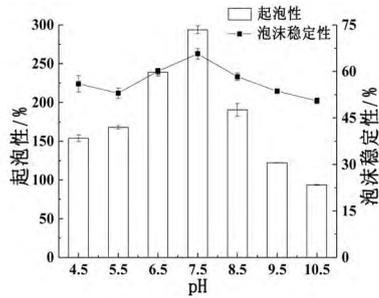


图5 pH对蛋清蛋白起泡特性的影响

### 2.2 酶解和发酵对蛋清蛋白起泡特性的影响

图6为不同处理方法对蛋清蛋白起泡特性的影响。酶解后蛋清蛋白的起泡性为原蛋清蛋白液的2.3倍,发酵后起泡特性进一步提升。随着发酵时间的延长,蛋清蛋白起泡性缓慢降低,泡沫稳定性较为平缓渐有上升趋势,发酵6h达峰值69.76%后迅速下降。原因可能是发酵前12h仍处在菌种生长对数期,此时乳酸菌不断增殖并分解利用蛋清蛋白,可溶性蛋白不断减少,从而起泡性降低。0~6h内菌种生长产生的代谢产物使得液体黏度上升,泡沫稳定性随之提高;6h后,搅打产生的气泡大小不一,流动性较强,一定程度上影响了泡沫稳定性。<sup>[9]</sup>

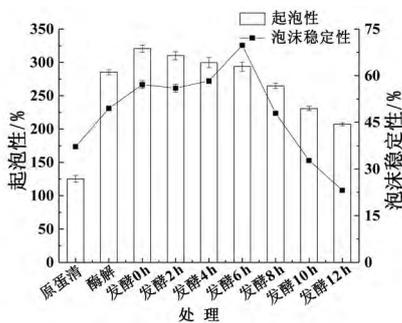


图6 不同处理条件对蛋清蛋白起泡特性的影响

### 2.3 处理方法对泡沫微观结构的影响

图7为蛋清酶解液(图7.A)和蛋清酶解发酵液(图7.B)经过搅打后的泡沫显微结构图,其中目镜和物镜的放大倍数均为10倍。图7.A泡沫大小不均,稳定性较差,气泡呈分散状态;图7.B泡沫细腻均匀,稳定性好,气泡之间连接比较紧

密。在相同起泡时间内,经乳酸菌发酵后的气泡在胞外多糖的作用下表面膜强度增大,<sup>[9]</sup>从而增强了泡沫稳定性。

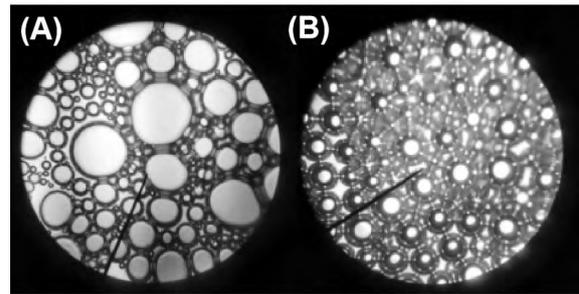


图7 泡沫显微结构

### 2.4 处理方法对蛋清蛋白感官特性的影响

分别取10 mL蛋清酶解液和蛋清酶解发酵液,通过视觉、嗅觉、味觉等感官指标进行测定。由图8可知,蛋清酶解液在色泽上略优于后者,但其溶解性、气味、口感、组织形态均逊色于后者,说明发酵过程在一定程度上改善了原蛋清蛋白液的感官品质。

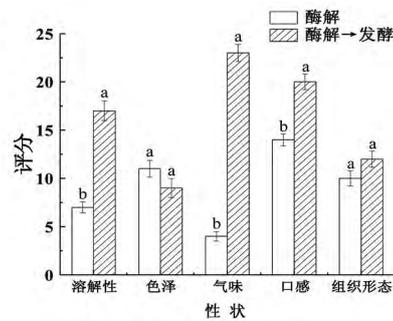


图8 两种处理方法后蛋清蛋白的感官评分

注:图中不同字母柱状组间差异显著

## 3 结论

通过单因素实验,得出适宜的酶解条件:底物质量分数10.0%、加酶量5%、酶解温度65℃、酶解时间90 min、酶解pH 7.5。在此条件下,与原蛋清蛋白相比,起泡性由125.40%提高到285.37%;泡沫稳定性由37.21%提高到49.50%。酶解后使用乳酸菌发酵6h后蛋清蛋白起泡特性最佳,与酶解相比起泡性变化不大,而泡沫稳定性提高到69.76%,增加了20.26%,且感官特性进一步提升,蛋腥味明显降低,发酵香味浓郁。复合蛋白酶酶解协同乳酸菌发酵改性蛋清蛋白的起泡特性有了显著提高,为高起泡性蛋清蛋白的研发与应用提供了依据。

## 参考文献:

- [1] 迟玉杰,赵英,毋引子. 鸡蛋蛋清液起泡性的研究[J]. 中国家禽,2017,39(3):1-5.
- [2] 徐旭东,吴文琪,尹吉帆,等. 热处理和乳酸钙对蛋液起泡性的影响[J]. 食品研究与开发,2019,40(3):112-115.
- [3] 皮钰珍,王森,岳喜庆,等. 紫外辐照法提高咸蛋清起泡性的工艺研究[J]. 食品工业科技,2013,34(10):247-250.
- [4] 胥伟,黄迪,王海滨,等. 糖基化反应过程中蛋清蛋白粉的功能性研究[J]. 食品科技,2016,41(1):33-36.
- [5] 周玲,谢爱英,汪学荣. 酶解对蛋清蛋白液起泡性能和乳化性能的影响[J]. 食品工业科技,2012,33(24):103-105.
- [6] 刘丽莉,陈珂,李玉,等. 复合酶水解卵白蛋白及其特性与结构分析[J]. 食品与机械,2018,34(9):47-53.
- [7] 王娜,华蕾,周文娟,等. 乳酸菌在慕斯中的生长特性研究[J]. 美食研究,2017,34(4):60-64.
- [8] 尹忠平,洪艳平,李冬文,等. 降胆固醇去腥发酵型全鸡蛋饮料加工研究[J]. 食品科技,2007(10):188-192.
- [9] 刘清霞,林伟锋,陈中. 嗜热链球菌发酵乳对全蛋液起泡性的影响[J]. 食品与发酵工业,2017,43(4):119-124.
- [10] MLEKO S, KRISTINSSON H G, LIANG Y, et al. Rheological properties of foams generated from egg albumin after pH treatment [J]. LWT - Food Science and Technology, 2006, 40(5): 908-914.
- [11] 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(4):392-399.
- [12] LUCAS A, SODINI I, MONNET C, et al. Probiotic cell counts and acidification in fermented milks supplemented with milk protein hydrolysates [J]. International Dairy Journal, 2004, 14(1): 47-53.
- [13] OU S Y, KWOK K C, KANG Y J, et al. An improved method to determine SH and -S-S- group content in soymilk protein [J]. Food Chemistry, 2004, 88(2): 317-320.
- [14] 石飞云,刘树兴,但俊峰,等. 发酵蛋乳饮料的工艺研究[J]. 食品科技,2007(2):196-198.
- [15] 何慧娟,周瑞宝,马宇翔,等. 脱酚棉籽粕蛋白起泡性的研究[J]. 中国油脂,2006(4):29-32.
- [16] 黄群,杨万根,金永国,等. 酶法改善卵白蛋白起泡性[J]. 食品科学,2014,35(23):171-175.
- [17] QUIST E E, PHILLIPS R D, SAALIA F K. The effect of enzyme systems and processing on the hydrolysis of peanut (*Arachis hypogaea* L.) protein [J]. LWT - Food Science and Technology, 2009, 42(10): 1717-1721.
- [18] 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.

## Improving synergistically the foaming ability by enzymolysis and fermentation of egg white protein

ZHANG Ruyi, XU Guangwei, SHEN Peiyao, TANG Sheng, RAO Shengqi

(School of Food Science and Engineering, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225127, China)

**Abstract:** In order to improve the foaming ability and the foam stability of egg white protein, enzymolysis with compound protease and fermentation with lactobacillus were applied to modify the sensory quality of egg white protein. The results showed that after enzymolysis at the substrate concentration of 10.0%, enzyme volume of 5%, pH of 7.5, temperature of 65 °C for 90 min, the egg white protein was successively fermented for 6 hours at 37 °C with *Lactobacillus acidophilus* CICC 6225 of 2% inoculum size, the foaming ability and the foam stability of egg white protein reached 293.67% and 69.76%, respectively, with increments to 2.34 times and 1.87 times, respectively, as compared with the control without modification, displaying significantly improved sensory qualities.

**Key words:** foaming ability; foam stability; enzymolysis; fermentation; egg white protein; food science

(责任编辑:赵勇)