

鸡蛋蛋黄蛋白脱磷方法的比较

王芳^{1,2}, 焦爱权^{1,2}, 吴正宗^{1,2}, 徐恩波^{1,2}, 徐学明^{1,2}, 金征宇^{*1,2}

(1. 食品科学与技术国家重点实验室, 江南大学, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 为保证慢性肾脏病患者蛋白营养供给充足的同时控制磷的摄入, 采用一种新的脱磷方法即蛋白酶辅助碱性脱磷制备低磷蛋黄蛋白粉。同时分析比较了碱性蛋白酶辅助脱磷和碱法脱磷的效率、蛋白质溶解度、结构及氨基酸组成的差异。结果表明碱法脱磷对蛋白质氨基酸有破坏作用影响蛋白质品质; 碱性蛋白酶辅助脱磷方法的脱磷率达 45.17% 左右, 蛋白质质量分数高达 74.74%, 蛋白水解度高, 脱磷效率高于碱法脱磷, 表明脱磷率与水解度呈正相关; 同时脱磷后蛋黄蛋白呈疏松片状结构, 无规则卷曲蛋白质质量分数为 90% 左右; 碱性蛋白酶辅助脱磷的蛋黄蛋白中可溶蛋白质质量分数 18.92%, 溶解稳定性高达 98.62%, 优于碱法脱磷。另外, 采用此脱磷方法的氨基酸 FAO/WHO 模式贴近度 0.958, 明显优于碱法脱磷。因此, 所制备的低磷蛋白粉可作为慢性肾脏病患者的优质蛋白补充。

关键词: 低磷蛋黄蛋白; 碱法脱磷; 蛋白酶辅助脱磷; 蛋黄蛋白性质

中图分类号: TS 253.43 文献标志码: A 文章编号: 1673-1689(2017)07-0680-08

Comparison of Dephosphorization Method for Egg Yolk Protein – Alkaline Dephosphorization and Auxiliary Dephosphorization with Alkaline Protease

WANG Fang^{1,2}, JIAO Aiquan^{1,2}, WU Zhengzong^{1,2}, XU Enbo^{1,2}, XU Xueming^{1,2}, JIN Zhengyu^{*1,2}

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: To supply adequate dietary protein for CKD patients while controlling phosphorus intake, low-phosphorus yolk protein was prepared by alkaline protease auxiliary dephosphorization. Meanwhile we analyze the differences of dephosphorization efficiency, protein solubility, structure and amino acid composition between alkaline protease auxiliary dephosphorization and alkaline dephosphorization. The results showed that alkaline dephosphorization damages amino acids and affects protein quality. Dephosphorization rate and protein content of alkaline protease auxiliary dephosphorization are respectively 45.17% and 74.74%. And high protein hydrolysis shows that dephosphorization rate was positively correlated with the degree of hydrolysis; The micro structures is loose and the random coil about 90%; The soluble protein content of alkaline protease auxiliary dephosphorization yolk protein is 18.92 g/100 g, the dissolution stability was 98.62%. The

收稿日期: 2015-09-04

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划项目(2012BAD37B02; 2012BAD37B06)。

* 通信作者: 金征宇(1962—), 男, 江苏扬州人, 教授, 博士研究生导师, 主要从事碳水化合物研究。E-mail: jinlab2008@yahoo.com

引用本文: 王芳, 焦爱权, 吴正宗, 等. 鸡蛋蛋黄蛋白脱磷方法的比较[J]. 食品与生物技术学报, 2017, 36(07): 680-687.

FAO/WHO degree model was 0.958, which was better than the method of alkaline dephosphorization. The overall results confirmed that low-phosphorus yolk protein prepared by alkaline protease auxiliary dephosphorization can be as a high quality protein source for CKD patients.

Keywords: low-phosphorus yolk protein, alkaline dephosphorization, protease auxiliary dephosphorization, egg yolk protein characteristics

控制饮食中磷的摄入,是治疗高磷血症最基本和最关键的方法^[1]。在CKD患者的日常膳食中P/Pro往往超标,其营养的均衡摄入受到很大限制。膳食中蛋白质与磷存在着密切的关系,优质蛋白的磷含量相对较高^[2]。Fouque^[3]等研究表明对于血液透析患者通过限制饮食中的蛋白质以控制磷的摄入量可能弊大于利。在保证蛋白质营养供给充足的同时控制磷的摄入,对慢性肾病患者来说是一个挑战。蛋白脱磷因此成为一个新的研究方向。

脱磷方法目前有化学方法脱磷和酶法脱磷,相对于酶法脱磷,化学方法脱磷应用范围更广,成本更低。江波^[4]等采用碱法脱磷,但碱液浓度较高,会对蛋品质风味造成不良影响。吴世兰等也研究表明碱液处理后核桃仁必需氨基酸含量与碱液去皮前相比均有下降^[5]。蛋白质经蛋白酶水解处理,疏水性增加,内部基团暴露,同时鸡蛋蛋黄的水解蛋黄粉对骨质代谢有一定的影响^[6]。因此作者借助蛋白酶蛋白酶对改善鸡蛋蛋黄蛋白脱磷方法。

1 材料与方法

1.1 主要的材料与仪器

鸡蛋:市售;德国沃奇滤料:购于科海思(北京)科技有限公司;碱性蛋白酶:购于庞博生物工程有限公司。

冷冻干燥机:美国Labconco公司产品;振荡水浴锅:上海一恒科技有限公司产品;K 9840全自动凯氏定氮仪公司产品;海能仪器;UV-1601 PC紫外可见分光光度计:日本岛津公司产品;IKA C-MAG HS 7 磁力搅拌器:德国IKA仪器公司产品;Model 5414 冷冻离心机:美国贝克曼公司产品;Ultra Scan Pro 1166 高精度分光测色仪:美国Hunter lab公司产品;Bio-Rad mini-protean Tetra system 电泳系统:美国伯乐公司产品;Mos-450 圆二色谱光谱仪:法国Biologic公司产品;Su 1510 扫描电子显微镜:日

本HITACHI产品;

1.2 试验方法

1.2.1 蛋黄脱脂方法 参考Mao^[6]的方法,将蛋清和蛋黄分离,用滤纸吸干表面蛋清后戳破蛋黄收集蛋黄液,通过冷冻干燥得到蛋黄粉。采用体积分数95%的乙醇脱脂,按照蛋黄粉与乙醇的质量比为1:6,在常温下封口搅拌1.5 h,进行3次萃取。萃取后用布氏漏斗抽滤;将3次抽滤后所得滤液合并,使用旋转蒸发仪回收乙醇,将所得滤渣在10 000 r/min,4℃条件下离心20 min,离心沉淀物在室温下风干,得到的蛋黄粉即为脱脂蛋黄粉,在冰箱中保存以防变质,备用。

1.2.2 蛋白质测定 鸡蛋液中蛋白质定量测定采用GB 5009.5—2010 凯氏定氮法测定。

1.2.3 磷测定 鸡蛋液中磷定量测定采用GB/T 5009.87—2003 分光光度法测定。

1.2.4 蛋黄粉脱磷率的计算方法 采用下列公式计算,

$$P(\%) = \frac{(M_0 - M_1)}{M_0} \times 100$$

式中, P 为脱磷率,%; M_0 为未经处理蛋黄蛋白粉中磷质量,mg; M_1 为脱磷后蛋黄蛋白粉中磷质量分数,mg;

1.2.5 蛋黄粉水解度的测定方法 采用pH-STAT法测定蛋黄粉中水解度,采用自动控制仪实时对反应体系的pH值进行在线控制,以维持反应体系恒定的pH值(每隔一定时间记录浓度为0.2 mol/L的碱液的消耗量)^[7],计算公式如下:

$$DH(\%) = \frac{V_B \times c_B}{\alpha \times M_p \times h_{tot}} \times 100$$

式中,DH为水解度,%; V_B 为NaOH体积,mL; c_B 为NaOH浓度,0.2 mol/L; M_p 为样品质量,mg; h_{tot} 为肽键数,8.38;

α - α -NH₂的解离度,计算公式如下:

$$\alpha = \frac{10^{pH-pK}}{(1+10^{pH-pK})}$$

1.3 低磷鸡蛋蛋白粉的制备工艺

新鲜干净鸡蛋去壳后进行蛋清和蛋黄的分离,蛋黄在滤纸上滚动除掉多余的蛋清,新鲜鸡蛋黄液体则进行真空冷冻干燥处理。冷冻干燥的蛋黄粉进行脱脂得到脱脂蛋黄粉,然后将脱脂蛋黄蛋白用于碱性蛋白酶辅助脱磷研究。

1.4 脱磷方法

1.4.1 碱法脱磷 采用江波等^[4]的方法进行碱法脱磷,略改。取 0.5 g 脱脂蛋黄蛋白质分别溶于 20 mL, 0.01, 0.05, 0.10, 0.20 mol/L NaOH 溶液中, 37 ℃ 下反应 3 h, 迅速用 1 mol/L HCl 调节 pH 至 7.0。另外将一定量样品先分别在 pH 9, 10 反应 2 h, 然后置于 0.01 mol/L 的 NaOH 溶液中处理 1 h。

1.4.2 蛋白酶辅助吸附剂脱磷 重点考察蛋白酶酶解可能影响蛋黄脱磷率的加酶量、温度、溶液 pH 3 个因素, 设置水平分别为加酶量 (质量分数): 0.5%、1%、1.5%、2%、2.5%; 温度: 45、50、55、60、65 ℃; 溶液 pH: 8.0、8.5、9.0、9.5、10.0; 时间: 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h。将经蛋白酶处理过的样品分别置于 0.01 mol/L NaOH 溶液中处理 1 h。

1.4.3 吸附剂处理条件优化 重点考察吸附剂脱磷可能影响蛋黄脱磷率的吸附剂添加量、吸附时间、溶液 pH 3 个因素, 设置水平分别为吸附剂添加量、吸附时间、溶液 pH。

在单因素的基础上, 采用软件进行 $L_4(2^3)$, 正交试验设计表 1。对试验结果进行极差分析, 进而确定最佳脱磷工艺。

表 1 正交试验设计表
Table 1 Orthogonal design

水平	时间/min	pH	质量比
1	20	6	1:1.0
2	30	6.5	1:1.5

1.5 AA 组成测定

采用联用高效液相色谱衍生化法测定蛋黄蛋白粉的氨基酸组成, 参照赵凤敏的方法^[8]。精确称取一定量蛋白质样品置于水解管中, 加入 8 mL, 6 mol/L 的盐酸溶液, 真空封口, 在 120 ℃ 下水解 22 h, 冷却后定容、过滤、蒸干, 取滤液 1 mL 于小烧杯中, 真空干燥后加入 20 mmol/L 盐酸溶液, 在空气

中放置 30 min 后, 用全自动氨基酸分析仪以外标法测定鸡蛋蛋白粉样品中的 17 种氨基酸 (其中色氨酸在酸水解中被破坏, 故未测定)。

1.6 扫描电镜分析

将蛋黄蛋白样品在干燥器中干燥一周后, 取少量样品用双面胶固定, 置于扫描电子显微镜中观察蛋粉的颗粒结构。

1.7 SDS-PAGE 分析

采用 Laemmli^[9]的电泳方法, 略有调整。浓缩胶质量浓度为 5 g/dL, 分离胶质量浓度为 10 g/dL, 电泳进样前, 将 2.0 mg 样品与 0.5 mL 样品缓冲液震荡混匀, 煮沸 5 min, 迅速冷却, 并离心 5 min, 电泳上样量为 4.0 μ L。凝胶电泳于恒压下进行, 在浓缩胶中电压为 80 V, 进入分离胶后增至 110 V。当电泳前沿跑至距玻璃板边缘 1 cm 左右时停止电泳。将凝胶胶片取出放入适量考马斯亮蓝 R 250 染色 1 h, 再用甲醇和醋酸混合液脱色, 期间换脱色液 2~3 次, 至蛋白质谱带清晰时为止。

1.8 蛋黄粉中蛋白二级结构变化

蛋白质二级结构的构象变化是通过型号为 Mos-450 圆二色谱分光偏振计测定。二级结构的测定是通过波长范围为 190~250 nm 的波长扫描稀释后的蛋白样品 (mg/mL) 进行的, 扫描速度为 5 nm/s, 每个光谱都是 5 次扫描平均值。磷酸盐缓冲液 (10 mmol/L, pH 7.0) 为空白对照。

1.9 溶解特性测定

1.9.1 溶解度测定 参考沈青^[10]方法, 处理的蛋白样品溶于去离子水中, 用 1.0 mol/L NaOH/HCl 调节 pH 至 7.0, 在室温下搅拌 1 h 后, 离心 3 000 r/min, 20 min, 收集上清液用微量凯氏定氮法测定溶解蛋白质的质量分数。计算公式如下:

$$S(\%) = \frac{m_1}{m_2} \times 100\%$$

式中, S 为溶解度, %; m_1 为上清液中蛋白质质量; m_2 为样品中总蛋白质质量。

1.9.2 稳定系数测定 取 1 g 蛋粉定容至 100 mL, 取一定体积的蛋粉溶液于 50 mL 离心管中, 将样品在 3 000 r/min 的离心机中离心 20 min, 上清液稀释 100 倍, 置于 1 cm 比色皿中, 以蒸馏水作空白对照, 测定波长为 250~350 nm 范围内的最大吸收峰下的吸光度 A_1 , 与离心前最大吸收峰下的吸光度 A_2 的比值即为稳定性系数^[11]。计算公式如下:

$$R(\%) = \frac{A_1}{A_2} \times 100\%$$

式中, R 为稳定性系数,%; A_1 为离心后最大吸收峰下的吸光度; A_2 为离心前最大吸收峰下的吸光度。

1.10 数据分析

采用 Origin 8.5 软件与 DPS 软件对数据进行统计分析,所有试验均重复 3 次。

2 结果与讨论

2.1 脱磷效果研究

2.1.1 碱性蛋白酶处理对脱磷效果的影响 随着蛋白酶的添加量的增加,水解时间的加长,水解度增加,脱磷率相应增加。因此研究表明,脱磷率与蛋白质水解度成正相关,可能由于蛋白酶有助于蛋白结构的打开,磷酸基团暴露,提高了脱磷效率。蛋白酶最佳处理条件:55℃,质量分数 1%,pH 9,2 h。研究结果表明,碱性蛋白酶处理有助于提高脱磷率,使其脱磷条件更加温和。

2.1.2 脱磷处理条件对脱磷效果的影响 单因素实验结果如图 1 所示,脱磷前 30 min,随着时间增加脱磷率升高,当大于 30 min 时,脱磷率不再增加。

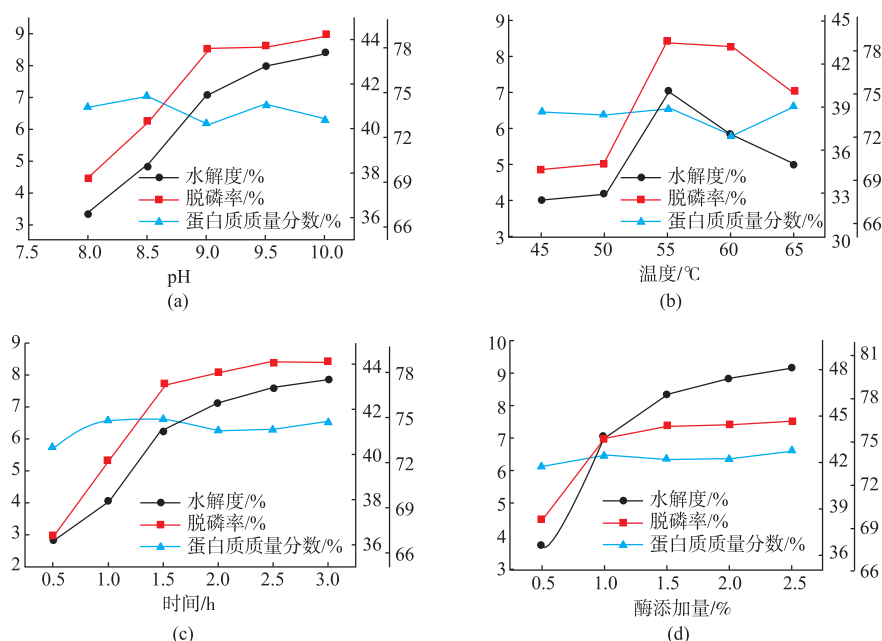


图 1 蛋白酶处理对脱磷率影响

Fig. 1 Effect of protease on dephosphorization rate

2.2 氨基酸组成分析

通过液相色谱法测定的各蛋黄蛋白的氨基酸组成见表 3。结果显示,蛋黄蛋白中谷氨酸、天冬氨酸、亮氨酸和赖氨酸质量分数较高,其中加蛋白酶

吸附剂添加量超过 1:1 时,脱磷率增加不再显著。可能由于游离的磷酸根已被吸附,增加吸附剂的量不能再提高脱磷效果。吸附剂在酸性条件下才能吸附磷酸根等阴离子,研究表明在 pH 6.5 时吸附效果最好。即在 pH=6.5,1:1,处理 30 min 时,脱磷率高达 43.59%,蛋白质质量分数高达 74.74%,磷质量分数 400 mg/hg 左右。在单因素的基础上,进行 $L_4(2^3)$ 三因素二水平正交试验设计,对各因素的影响进行显著性分析,正交试验结果和极差分析如表 2 所示。各因素的极差越大说明其对脱磷效果影响越显著,各因素对脱磷率影响的主次顺序依次为: A (吸附时间) $>C$ (添加质量比) $>B$ (溶液 pH 值)。最优组合为 $A_2B_2C_2$,即吸附时间为 30 min、溶液 pH=6.5、添加质量比为 1:1.5,脱磷率高达 45.17%。肾功能衰竭的病人进行透析治疗以后,日常饮食蛋白质量控制在每天 1.2 g/kg,CKD 5 期患者磷摄入为 800~1 000 mg/d^[3]。脱磷后蛋黄蛋白粉满足肾脏病患者磷和蛋白质的摄入量,脱磷后蛋黄蛋白粉中 P/Pro=5.46<12,减轻慢性肾病患者的肾脏负担^[12]。与 Jiang 等^[13]相比较,此方法脱磷简单易操作且效率较高,处理条件较温和,蛋黄蛋白粉持有浓郁的蛋液味道。

处理的脱磷蛋黄蛋白的谷氨酸、天冬氨酸、亮氨酸和赖氨酸质量分数最高,分别是 9.39,6.43,6.40,5.87 g/hg,其中色氨酸在水解过程中被破坏掉。研究表明,经 0.1 mol/L NaOH 脱磷的蛋黄蛋白脱磷率比

表 2 正交实验极差分析表

Table 2 Orthogonal range analysis

处理	A	B	C	脱磷率/%
1	1	1	1	37.83
2	1	2	2	40.12
3	2	1	2	45.17
4	2	2	1	43.59
k_1	38.98	41.50	40.71	
k_2	44.38	41.86	42.65	
R	5.41	0.36	1.94	

pH=9 和 0.01 mol/L 蛋白酶脱磷方式低,各氨基酸质量分数也明显低于条件较温和的脱磷方法,说明碱液对氨基酸组成有破坏作用,即对蛋黄蛋白营养价值不利^[9]。贴适度可以反映评价样品中氨基酸品质与模式蛋白氨基酸的接近程度,值越接近 1,其营养价值相对较高^[14]。对不同脱磷方式的蛋黄蛋白通过标准差标准化方法对 FAO/WHO 模式贴适度进行计算,结果发现 pH=9 和 0.01 mol/L 蛋白酶脱磷方式的蛋黄蛋白 FAO/WHO 模式贴适度 0.958,接近 1,且高于猪瘦肉蛋白 (FAO/WHO 模式贴适度 0.919)和大豆蛋白 (FAO/WHO 模式贴适度 0.896)^[8],可作为优质蛋白质来源,也高于 0.1 mol/L NaOH 脱磷方式的蛋黄蛋白。结果表明,pH=9 和 0.01 mol/L 蛋白酶的蛋黄蛋白必需氨基酸质量分数较高,高达 29.32 g/hg,尤其谷氨酸、亮氨酸和赖氨酸质量分数较高,并且磷质量分数低达 400 mg/hg 左右。因此,可以作为肾脏病患者的优质蛋白源。

2.3 脱磷蛋黄蛋白微观结构表征

通过扫描电镜(SEM)观察蛋黄粉蛋白质的微观结构,反映出经过脱脂脱磷处理后蛋黄蛋白粉的微观结构发生显著变化,结果如图 2 所示。原蛋黄蛋白粉,结构比较致密,并且蛋白上面附着很多小的脂肪颗粒。观察脱脂蛋黄蛋白粉的微观结构图,发现蛋白中夹杂的脂肪小颗粒明显减少,蛋白出现稍微褶皱状态。而 pH=9 和 0.01 mol/L 蛋白酶的脱磷蛋黄蛋白显示出比较稀松的片层及孔状结构,无脂肪填充。由于水解,脱磷破坏了其内部结构,因此经 pH=9 和 0.01 mol/L 蛋白酶的脱磷后蛋黄蛋白,结构疏松,体积密度也相对较小。而 0.1 mol/L NaOH 脱磷蛋黄蛋白呈现了明显的褶皱状态,表明脱磷过

程明显改变了蛋黄蛋白的微观结构。pH=9 和 0.01 mol/L 蛋白酶比 0.1 mol/L NaOH 脱磷蛋黄蛋白结构疏松,主要由于前者蛋白水解度和脱磷率较高。另外,大的片层结构有助于提高蛋黄蛋白的溶解度,与后面溶解度测定结果相一致。蛋黄蛋白微观结构上的不同会对它们在物理化学特性及功能性方面产生一定的影响。

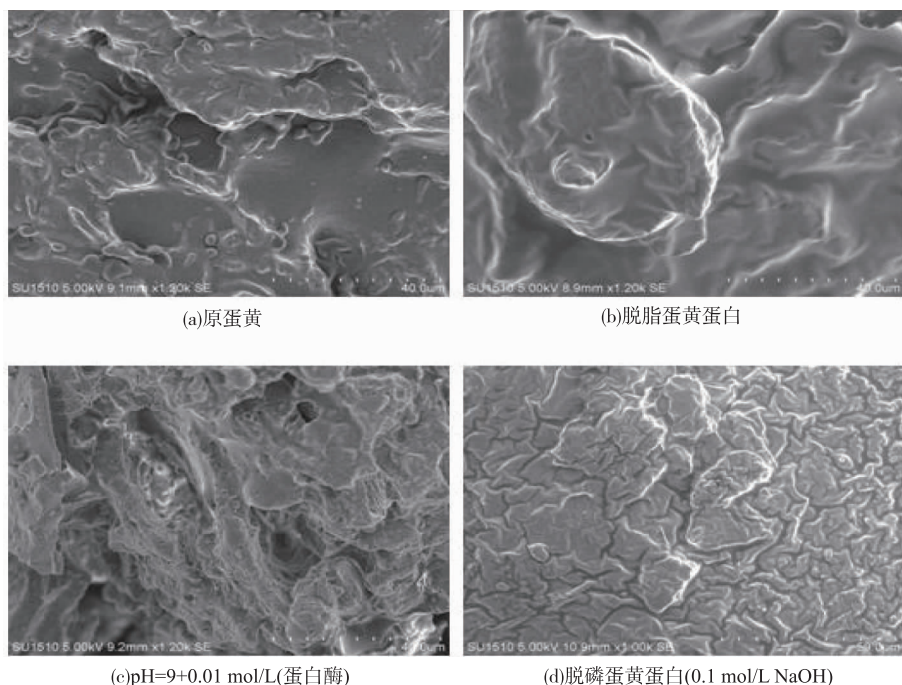
表 3 脱磷蛋黄蛋白粉的氨基酸组成

Table 3 Amino acid composition of dephosphorylated yolk protein 质量分数/%

氨基酸	原蛋黄粉	0.1 mol/L NaOH	pH=9 和 0.01 mol/L 蛋白酶
Asp	2.72	4.96	6.43
Glu	3.83	7.17	9.39
Ser	1.61	3.11	4.14
His	0.69	1.51	1.70
Gly	0.92	1.71	2.19
Thr	1.30	2.46	3.12
Arg	1.85	5.10	5.18
Ala	1.48	2.86	3.56
Tyr	0.57	2.09	2.17
Cys	0.24	0.36	0.52
Val	2.27	3.54	4.72
Met	0.72	1.38	1.82
Phe	1.33	2.78	3.21
Ile	1.69	3.46	4.18
Leu	2.56	5.08	6.40
Lys	2.31	4.38	5.87
Pro	1.32	2.37	3.56
总 AA	27.41	54.32	68.17

2.4 SDS-PAGE

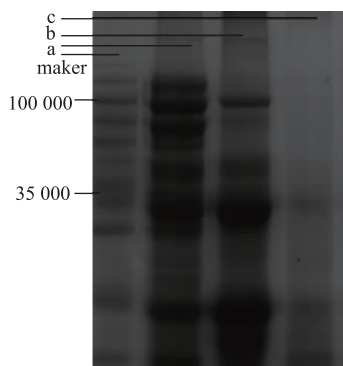
由图 3 可以看出,蛋黄蛋白质相对分子质量分布范围较宽,电泳图中明显可见的有多条相对分子质量带,相对分子质量范围主要从 10 000 至 100 000 以上。Raikos 等^[15]研究鸡蛋蛋黄相对分子质量时发现蛋黄蛋白质的相对分子质量有至少 14 种之多,并指出 35 000~37 000 范围的蛋白质分子会出现扩散带,该相对分子质量的蛋白质是卵黄高磷蛋白质分子。经不同脱磷方法处理后,扩散带都有消失,表明卵黄高磷蛋白被破坏,脱磷效果显著。



注:a-原蛋黄;b-脱脂蛋黄蛋白;c- pH=9 和 0.01 mol/L 蛋白酶;d-脱磷蛋黄蛋白(0.1 mol/L NaOH)

图 2 脱磷蛋黄蛋白粉的扫描电镜图

Fig. 2 Scanning electron microscope pictures of dephosphorylated yolk protein powder



注:a-原蛋黄蛋白;b-脱脂蛋黄蛋白;c- pH=9 和 0.01 mol/L 蛋白酶;d-0.1 mol/L NaOH

图 3 脱磷蛋黄蛋白的 SDS-PAGE

Fig. 3 SDS-PAGE of dephosphorylated yolk protein

2.5 CD 光谱分析

不同蛋黄粉中蛋白二级结构的分析结果表 4 所示,由表可知,原蛋黄蛋白以 α -螺旋为主,占 66.6%。脱脂后蛋黄粉 α -螺旋质量分数明显下降, β -转角和无规则卷曲质量分数增加,分别为 21.6% 和 34.3%,同时 β -折叠也少量增加,表明在蛋黄粉脱脂过程中破坏了蛋白质的 α -螺旋结构。脱磷后蛋黄蛋白中蛋白质二级结构皆主要以无规则卷曲为主,质量分数高达 90%左右,但 pH=9 和 0.01

mol/L 蛋白酶比 0.1 mol/L NaOH 脱磷效率高,且蛋白质品质及氨基酸组成更好。蛋白质分子的天然结构遭到破坏,蛋白质分子天然结构中的次级键(如氢键、二硫键、盐键等)被破坏,使蛋白质有规则的肽链结构(二级、三级、四级结构)打开呈松散型不规则结构,分子的刚性降低,柔性、不对称性增加,疏水基团暴露。结果表明脱磷蛋黄蛋白粉柔性增加,疏水性高于脱脂蛋黄蛋白,这与其疏水性测定结果相一致。

表 4 CD 测定脱磷蛋黄蛋白中蛋白质二级结构

Table 4 Secondary structural of dephosphorylated yolk protein powder determined by CD spectra

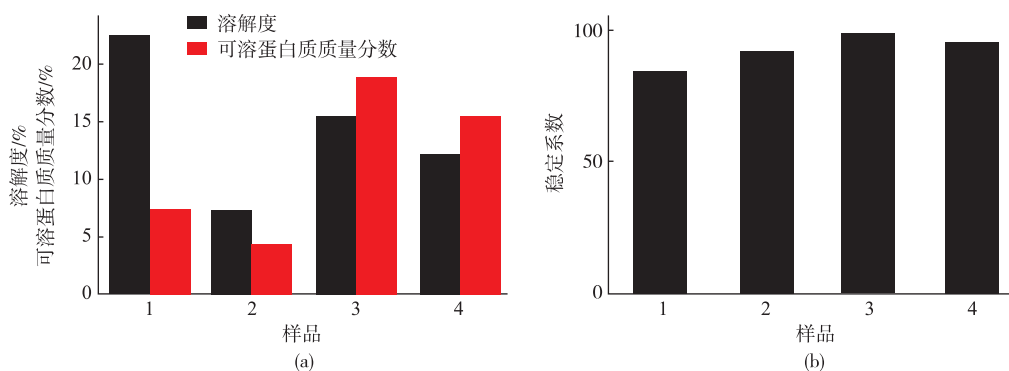
样品	质量分数/%			
	α -螺旋	β -折叠	β -转角	无规则卷曲
原蛋黄蛋白	66.60	1.80	5.10	26.50
脱脂蛋黄蛋白	36.10	8.00	21.60	34.30
pH=9, 0.01 mol/L 蛋白酶	3.30	3.70	2.70	90.30
0.1 mol/L NaOH	4.00	4.00	2.00	90.00

2.6 溶解性能分析

蛋白的溶解性对其他功能特性有着重要的影响,也是其冲调特性的一个重要反映指标。用微量

凯氏定氮法测定可溶性蛋白质的质量分数,结果见图4(a)。研究发现脱磷蛋黄蛋白的溶解度在去离子水中的溶解度较差,这与Mao^[6]对核桃脱脂粉和核桃浓缩蛋白的研究结果相似。但是采用不同脱磷方法脱磷后蛋黄蛋白的溶解性皆要好于脱脂蛋黄蛋白,而且由于pH=9和0.01 mol/L蛋白酶脱磷蛋黄蛋白经过酶水解脱磷处理,故其溶解性能也优于0.1 mol/L NaOH脱磷方式。通过SEM也观察到其结构成疏松片状,这种结构有利于在冲调过程中水

分的截留,改善冲调性能。采用pH=9和0.01 mol/L蛋白酶脱磷蛋黄蛋白可溶蛋白质质量分数高达18.92%,明显高于原蛋黄蛋白,脱脂蛋黄蛋白和0.1 mol/L NaOH脱磷蛋黄蛋白。另外,图4(b)结果表明,脱磷蛋黄蛋白粉稳定系数最高,高达98.62%。说明脱磷蛋黄蛋白溶液状态较稳定。总体来说,pH=9和0.01 mol/L蛋白酶脱磷蛋黄蛋白的冲调特性优于未经处理蛋黄蛋白和脱脂蛋黄蛋白,pH=9和0.01 mol/L蛋白酶脱磷方式优于0.1 mol/L NaOH脱磷方式。



注:1,原蛋黄;2,脱脂蛋黄蛋白;3,pH=9和0.01 mol/L蛋白酶;4,0.1 mol/L NaOH

图4 脱磷蛋黄蛋白的溶解特性

Fig. 4 Dissolution properties of dephosphorylated yolk protein

3 结 语

1) 新型脱磷蛋黄蛋白最佳处理工艺:蛋白酶水解条件 55 ℃, 质量分数 1%, pH=9, 2 h, 再于 0.01 mol/L NaOH, 1 h; 吸附剂质量比的最优条件 1:1.5, pH=6.5, 30 min; 其脱磷率高达 45.17%, 与蛋白水解度呈正相关, 表明蛋白酶有利于提高其脱磷率; 蛋白质质量分数高达 74.74%, 脱磷蛋黄蛋白氨基酸质量分数高达 68.17%, FAO/WHO 模式贴近度

0.958, 可作为慢性肾脏病患者的优质蛋白源。然而强碱液脱磷对蛋白质氨基酸组成有破坏作用, 影响蛋黄蛋白风味。

2) 两种脱磷方法得到的脱磷蛋黄蛋白微观结构都发生了明显变化, pH=9 和 0.01 mol/L 蛋白酶脱磷蛋黄蛋白呈疏松片状结构, 无规则卷曲状; pH=9 和 0.01 mol/L 蛋白酶脱磷蛋黄蛋白溶解度达到 15.56%, 可溶蛋白质质量分数 18.92%, 其溶解稳定性高达 98.62%, 优于碱法脱磷。

参考文献:

- [1] NAZANIN N, JOHN J S, JOEL D Kopple, et al. Organic and inorganic dietary phosphorus and its management in chronic kidney disease[J]. *IJKD*, 2010, 4(2): 89-100.
- [2] SINHA A, PRASAD N. Dietary management of hyperphosphatemia in chronic kidney disease[J]. *Clinical Queries: Nephrology*, 2014, 3(1): 38-45.
- [3] FOUQUE D, HORNE R, COZZOLINO M, et al. Balancing nutrition and serum phosphorus in maintenance dialysis [J]. *Am J Kidney Dis*, 2014, 64(1): 143-150.
- [4] JIANG Bo, MINE Y. Preparation and their calcium binding properties of novel functional oligo-phosphopeptides from egg yolk phosphovitin[J]. *Journal of Wuxi University of Light Industry*, 2000, 19(4): 325-330. (in Chinese)

- [5] WU Shilan, QIN Likang, JIANG Chenggang, et al. Dynamic changes of nutritional and functional components of walnut kernel during lye peeling[J]. **China Oils and Fats**, 2013, 38(2): 84-87. (in Chinese)
- [6] WU Jing, SONG Xingan. Effect of egg yolk powder hydrolysis bonepep on the bone metabolism [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2013, 32(11): 1227-1231. (in Chinese)
- [7] MAO X Y, HUA Y F. Chemical composition, molecular weight distribution, secondary structure and effect of NaCl on functional properties of walnut(*Juglans regia* L) protein isolates and concentrates [J]. **Journal of Food Science and Technology**, 2014, 51(8): 1473-1482.
- [8] DUAN X, OCEN D, WU F, et al. Purification and characterization of a natural antioxidant peptide from fertilized eggs [J]. **Food Research International**, 2014, 56: 18-24.
- [9] ZHAO Fengmin, LI Shujun, ZHANG Xiaoyan, et al. Nutritional evaluation of amino acids in different potato cultivars[J]. **Journal of the Chinese Cereals and Oils Association**, 2014, 29(9): 13-18. (in Chinese)
- [10] LAEMMLI U K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 [J]. **Nature**, 1970, 227: 680-685.
- [11] SHEN Qing, ZHAO Ying, CHI Yujie, et al. Effects of freeze-drying and spray-drying on the physicochemical properties and ultrastructure of whole-egg powder[J]. **Modern Food Science and Technology**, 2015, 31(1): 147-152. (in Chinese)
- [12] LIU Jingbo, MA Shuang, LIU Boqun, et al. Effects of different drying methods on solubility of whole egg powder [J]. **Transactions of the CSAE**, 2011, 27(12): 383-388. (in Chinese)
- [13] NOORI N, KALANTAR Z K, KOVESDY C P, et al. Association of dietary phosphorus intake and phosphorus to protein ratio with mortality in hemodialysis patients [J]. **Clinical journal of the American Society of Nephrology: CJASN**, 2010, 5(4): 683-692.
- [14] JIANG B, MINE Y. Preparation of novel functional oligophosphopeptides[J]. **J Agric Food Chem**, 2000, 48(4): 990-994.
- [15] ZHU Shengtao, WU Kun. Nutritional evaluation of protein-Ratio coefficient amino acid [J]. **Acta Nutrimenta Sinica**, 1988, 10(2): 187-190. (in Chinese)
- [16] RAIKOS V, HANSEN R, CAMPBELL L, et al. Separation and identification of hen egg protein isoforms using SDS-PAGE and 2D gel electrophoresis with MALDI-TOF mass spectrometry[J]. **Food Chemistry**, 2006, 99(4): 702-710.

会 议 消 息

会议名称(中文):第二十次全国环境微生物学学术研讨会

所属学科:动植物微生物学,细胞生物学,环境科学

开始日期:2017-11-10

结束日期:2017-11-13

所在城市:浙江省 杭州市

具体地点:之江饭店

主办单位:中国微生物学会环境微生物学专业委员会

承办单位:浙江工业大学、国家海洋局第二海洋研究所、浙江大学

主题:环境微生物学创新与应用

联系人:李骏:18258120722;霍颖异:13819128939;孙凯凯:15967157911 E-MAIL:em20hangzhou@163.com

会议网站:<http://csm.im.ac.cn/templates/team/introduction.aspx?nodeid=9&page=ContentPage&contentid=4841>

会议背景介绍:由中国微生物学会环境微生物学专业委员会主办,浙江工业大学、国家海洋局第二海洋研究所、浙江大学承办的“第二十次全国环境微生物学学术研讨会”定于2017年11月10日-13日在杭州召开。热忱欢迎全国从事环境微生物学研究、教学和技术开发的专家、学者到风景秀丽开放创新的杭州相聚,本次会议将为与会代表提供一个学术交流、成果展示以及项目合作的良好平台。大会将邀请国内外环境微生物学领域著名专家、学者报告当今环境微生物学研究的最新科研成果与发展趋势。同时,大会也热忱欢迎从事环境微生物学研发相关企业参会并展示相关的技术和产品。