

响应面法优化咸蛋清酶解工艺的研究

孔 玲¹, 张 懿^{*1}, 刘亚萍²

(1. 江南大学 食品学院,江苏 无锡 214122;2. 广东嘉豪食品股份有限公司,广东 中山 528447)

摘要:以咸鸭蛋蛋清为原料,在五种酶中选择出最合适的一种酶对其进行酶解,本研究中以水解度和多肽质量浓度为指标,首先通过单因素实验研究了酶的添加量、初始pH、酶解的温度和酶解的时间对咸蛋清水解效果的影响,其次采用响应面法优化了咸蛋清的酶解工艺,最后验证了最佳工艺条件下获得的咸蛋清酶解液的水解度。研究结果表明:咸蛋清稀释液利用木瓜蛋白酶酶解的最佳工艺条件是:加酶量为底物质量分数4%,初始pH 7.0,酶解温度60℃,此条件下测得水解度为18.41%,可验证响应面优化的数学模型的正确性。

关键词:酶解;咸蛋清;木瓜蛋白酶;单因素;响应面

中图分类号:TS 253.2 文献标志码:A 文章编号:1673—1689(2017)11—1189—08

Optimization of Enzymatic Hydrolysis of Salted Egg White Using Method of Response Surface

KONG Ling¹, ZHANG Min^{*1}, LIU Yaping²

(1. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Guangdong Jia Hao Foods Stock Inc, Zhongshan 528447, China)

Abstract: The salted egg white was used as raw material, the most appropriate enzyme was chosen from five kinds of enzymes to hydrolyze the salted egg white with two indexes: degree of hydrolysis (DH) and content of peptide (PC). The impacts of enzyme amount, initial pH, temperature and time on DH and PC of enzymatic hydrolysis of the salted egg white were studied by single factor experiments. The response surface methodology was used to optimize the enzymatic hydrolysis technology and DH was certified under the condition. The optimal technological conditions were determined by this study as follows: papain was added with the concentration of 4% (E/S), the initial pH of the diluted salted egg white solution was better to adjusted to 4.0, and the hydrolysis reaction was conducted at 60 °C and under this condition DH was 18.41%, which can prove the validity of the mathematical model of the response surface optimization.

Keywords: salted egg white, enzymatic hydrolysis, papain, single factor experiment, response surface method

收稿日期: 2015-10-17

基金项目: 广东省教育厅产学研结合项目(2012B091000125)。

*通信作者: 张 懿(1962—),男,浙江平湖人,工学博士,教授,博士研究生导师,主要从事生鲜食品加工、贮藏保鲜机理和工程研究。

E-mail:min@jiangnan.edu.cn

引用本文: 孔玲,张懿,刘亚萍. 响应面法优化咸蛋清酶解工艺的研究[J]. 食品与生物技术学报,2017,36(11):1189-1196.

我国是世界上有名的养鸭大国,咸鸭蛋是我国的主要蛋制品之一,能达到200万吨以上的年产量。咸鸭蛋的蛋黄由于具有特殊的风味和口感而倍受人们的喜爱,是制作粽子、月饼、点心以及其他一些菜肴的主要原料,由此每年产生的副产物咸蛋清超过了万吨^[1],咸蛋清由于腥味很重、咸度高、没有吸引人的风味而往往成为弃物^[2]。废弃的咸蛋清发酵分解及腐败后会对周围的环境、水源造成严重的污染。咸蛋清中蛋白质含量约为11%~13%,有卵白蛋白、卵伴白蛋白、卵球蛋白、卵黏蛋白、卵类黏蛋白和溶菌酶等6种主要蛋白质,剩下的主要是水分^[3]。咸蛋清含有人体需要的8种必需氨基酸和含硫氨基酸,是一种具有较高生物学效价的全价优质蛋白质^[4~5],因此咸蛋清的遗弃是蛋白质资源的极大浪费。目前也有一些研究回收利用咸蛋清,但咸蛋清中过高的含钠量极大地限制了它的开发利用,因此一般都会进行脱盐处理,但是脱盐处理能耗较高,所以咸鸭蛋仍然没有得到广泛的利用。因此,如何设计出更为有效的方法实现咸蛋清的全面利用已逐渐引起人们的关注。

近年来,蛋清水解物因为很高的营养价值、低的致敏性、易于消化、同时具有抗高血压等生物活性的优点引起了人们的关注。杜永盛对咸蛋清进行酶解得到的白蛋白肽相对分子质量小于5 000然后在再之城生物活性肽产品,并利用膜过滤技术去除盐分,达到食用的要求^[6]。因此,利用酶法水解回收的咸蛋清来制备多肽产品,成为了提高咸蛋清附加值、减少环境污染、实现资源综合利用的一条有效途径。目前研究蛋清酶解的文章较多,但主要是对新鲜或脱盐的咸蛋清的酶解进行研究,比如,刘雪^[7]选择胰蛋白酶对咸蛋清进行酶解;张英君^[8]深入研究比较了咸蛋清的酸水解、碱水解、单酶水解、双酶水解和发酵水解的工艺及其对产物理化特性的影响,从而为咸鸭蛋蛋清酶法水解制备生物活性多肽提供了理论基础;任尧^[9]系统研究鸭蛋清蛋白的单/双酶解反应及其产物结构及活性,研究出的新型抗氧化剂安全、抗氧化活性高、营养价值高。

本研究中以咸蛋清为原料,通过单因素实验得出酶解较好的工艺范围,再通过响应面优化得出酶解的最佳工艺条件,以提高酶解效果,从而为后续咸蛋清酶解液不经脱盐处理生产调味料提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

咸鸭蛋购买于无锡市滨湖区雪浪菜市场,贮存于4℃冰箱中备用,用时去除蛋黄,且用纱布过滤蛋清得到液态蛋清作为实验原料;复合蛋白酶、中性蛋白酶、胰蛋白酶、木瓜蛋白酶、水解蛋白酶,购于江苏锐阳生物科技有限公司。

消化炉,昕瑞仪器仪表(上海)有限公司产品;SSW-420-2S型水浴锅,博迅实业(上海)有限公司医疗设备厂制造;离心机,江苏江阴矿山机械厂制造;UV2600型紫外分光光度计,天美(中国)科学仪器有限公司产品;pHS-3C型pH计,奥豪斯仪器(上海)有限公司产品。

1.2 实验方法

1.2.1 咸蛋清酶解工艺 生咸鸭蛋蛋清——过滤——稀释(咸蛋清与去离子水的体积比为1:5)——加热变性(100℃ 10 min)——冷却——调节pH(用柠檬酸和氢氧化钠)——酶解——灭酶(100℃, 10 min)——离心取上清液(4 500 r/min, 25 min)——酶解产物。

1.2.2 单因素实验

1) 酶的选择 选择胰蛋白酶、复合蛋白酶、碱性蛋白酶、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶等5种酶,在1:5的变性的蛋清稀释液中各加入底物质量分数3%,通过查阅说明书和文献资料在5种酶的各自最适pH和温度范围内控制酶解时间为3 h,酶解结束后灭酶离心取上清液,分别测定水解度和多肽质量浓度,平均测定3次后取平均值,选出最适蛋白酶。

2) 酶添加量的选择 配制蛋清稀释液并加热变性冷却后在预实验的基础上按底物质量分数0.2%、0.4%、0.6%、0.8%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%的添加量加入最适的蛋白酶,在该酶最适pH和温度范围内酶解3 h,灭酶后离心取上清液分别测定水解度和多肽质量浓度,平均测定3次后取平均值,选出最合适的酶添加量。文中酶添加量均为底物质量分数。

3) 最适初始pH的选择 配制蛋清稀释液并加热变性冷却后加入3%的添加量加入确定的蛋白酶,调节pH至5.5、6.0、6.5、7.0、7.5,在最适温度范围内酶解3 h,灭酶后离心取上清液分别测定水解度和多肽质量浓度,平均测定3次后取平均值,选

出最适初始 pH。

4) 最适温度的选择 配制蛋清稀释液并加热变性冷却后加入 3% 的添加量加入确定的蛋白酶, 调节 pH 至 7.0, 设定酶解温度为 50、55、60、65、70 °C, 分别酶解 3 h, 灭酶后离心取上清液分别测定水解度和多肽质量浓度, 平均测定 3 次后取平均值选出最适的酶解温度。

5) 酶解时间的选择 配制蛋清稀释液并加热变性冷却后加入 3% 的添加量加入确定的蛋白酶, 调节 pH 至 7.0, 在 60 °C 下分别酶解 1、2、3、4、5、6、7、8 h, 灭酶后离心取上清液分别测定水解度和多肽质量浓度, 平均测定 3 次后取平均值, 选出最合适酶解时间。

1.2.3 响应面优化酶解工艺 经过一系列单因素分析, 选择酶的添加量、初始 pH、酶解温度 3 个因素为响应因子, 水解度为响应值, 设计 3 因素 3 水平的响应面优化试验。3 个响应因子的 3 个试验水平如下表 1 所示。

表 1 响应面分析的自变量因素及编码水平

Table 1 Variable factors and coding levels for Box-Behnken

因素	水平		
	-1	0	1
酶添加量/%	2	3	4
初始 pH	6.5	7.0	7.5
酶解温度/°C	50	60	70

1.3 分析方法

1.3.1 水解度的测定

1) 游离氨基酸态氮质量浓度的测定 根据文献[10]采用中性甲醛滴定法并略有改进, 将灭酶并冷却后的酶解液离心取上清液, 在小烧杯中加入一定体积 V 的滤液和 60 mL 蒸馏水, 在磁力搅拌器搅拌的作用下, 用一定浓度(C)的氢氧化钠溶液滴定至 pH 值为 8.2, 立即加入 10 mL 中性甲醛溶液, 继续用氢氧化钠溶液滴定至 pH 值为 9.2, 记录加入甲醛后消耗氢氧化钠溶液的体积 V_1 。空白试验原料为 60 mL 蒸馏水, 其他方法相同, 加入甲醛后消耗氢氧化钠溶液的体积 V_2 。游离氨基酸态氮的计算公式如下(1)所示。

$$\text{游离氨基酸态氮含量(g/dL)} = \frac{(V_1 - V_2) \times C \times 0.014}{V} \times 100 \quad (1)$$

式中: V_1 为滴定样品时加入甲醛后消耗氢氧化钠溶液的体积(mL); V_2 为滴定空白试剂时加入甲醛后消

耗氢氧化钠溶液的体积(mL); C 为该实验中所用的氢氧化钠溶液的浓度(mol/L); V 为吸取的酶解上清液的体积(mL)。

2) 总氮质量分数的测定 总氮质量分数采用国标^[11]中所述凯氏定氮法, 公式如下(2)所示。

$$\text{总氮质量分数(g/hg)} = \frac{(V_1 - V_2) \times C \times 0.014}{m \times V_3 / 100} \times 100 \quad (2)$$

式中: V_1 为样品消耗硫酸或盐酸滴定液的体积(mL); V_2 为试剂空白消耗硫酸或盐酸滴定液的体积(mL); V_3 为吸取消化液的体积(mL); c 为硫酸或盐酸标准滴定溶液浓度, 单位为摩尔每升(mol/L); 0.014 为 1.0 mL 硫酸 [$c(1/2\text{H}_2\text{SO}_4)=1.000 \text{ mol/L}$] 或盐酸 [$c(\text{HCl})=1.000 \text{ mol/L}$] 标准滴定溶液相当的氮的质量(g); m 为试样的质量(g)。

3) 蛋白质水解度是指蛋白质在酶解过程中肽键被断裂的程度, 即酶解液中游离氨基酸态氮总含量与总氮含量的比值, 计算公式如下(3)所示。

$$\text{水解度} = \frac{\text{游离氨基酸态氮质量浓度} \times \text{上清液体积}}{\text{总氮质量分数} \times \text{咸蛋清质量}} \quad (3)$$

此研究中由于酶解离心后得到的沉淀质量很小, 所以上清液体积与咸蛋清质量之比可近似取 6。

1.3.2 多肽质量浓度的测定 采用双缩脲法^[12], 以牛白蛋白为标样, 配制成 0、0.5、1、2、3、4、5 mg/mL 质量浓度的溶液, 取 2 mL 牛白蛋白标样溶液与 3 mL 双缩脲试剂均匀混合, 放置 30 min 后, 测定波长为 540 nm 时的吸光度值, 并绘制标准曲线如下图 1 所示。测定样品多肽质量浓度时, 取一定量的酶解液, 加入等体积 10 g/dL 三氯乙酸溶液, 均匀混合后于 4 500 r/min 离心机中离心 20 min 得到上清液, 取 2 mL 上清液, 测定方法与制备标准曲线过程一致, 测定出相应的吸光度值, 根据公式 4 计算多肽含量。

$$\text{多肽质量浓度(mg/mL)} = \frac{(\text{吸光度值} - 0.17123) \times 2}{0.09681} \quad (4)$$

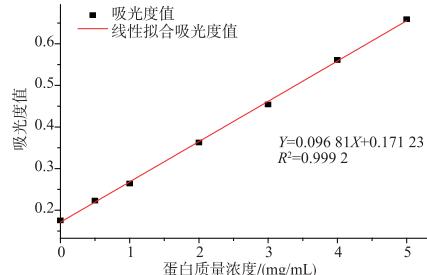


图 1 多肽质量浓度测定的标准曲线

Fig. 1 Standard curve of the content of peptide.

2 结果与分析

2.1 酶的选择

不同的酶种类对不同的蛋白质原料的酶解效果不同,为了更充分的利用咸蛋清,使咸蛋清酶解更充分,本实验选用5种不同的蛋白酶,在各自适合的酶解条件下对咸蛋清进行酶解,以水解度和多肽质量浓度为指标,结果如图2所示。从此图可以看出,木瓜蛋白酶酶解后水解度最高,且多肽质量浓度相对也比较高,中性蛋白酶和胰蛋白酶酶解后多肽质量浓度较高,但是水解度明显低于木瓜蛋白酶的水解度。综合2个指标选择木瓜蛋白酶作为最佳蛋白酶。

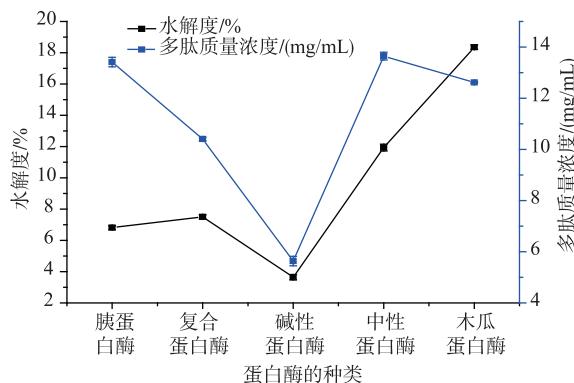


图2 不同种类蛋白酶对咸蛋清酶解效果的影响

Fig. 2 Effect of different kinds of enzymes on the DH and PC of the salted egg white

2.2 酶添加量的选择

相关研究表明,酶解反应速度与酶的添加量有关,当酶添加量低时酶解反应速度主要由酶的浓度控制,当加酶量较高时酶解速度则主要由底物的浓度控制,而当酶的含量过高时,酶之间的相互水解作用加强会阻碍酶对底物的水解作用^[13]。从图3可知,当木瓜蛋白酶的添加量低于3%时,水解度和多肽质量浓度均增长迅速,接近于线性上升速度,当木瓜蛋白酶的添加量超过3%时,水解度和多肽质量浓度的增长速度均变平缓。综合考虑水解度和多肽质量浓度的变化趋势以及酶的成本问题,酶的最适宜添加量为3%。

2.3 最适初始pH的选择

最适pH的选择与蛋白酶和底物的种类均有关,所以针对不同蛋白酶和使用的蛋白质需要进行试验来确定。每一种酶只能在一定的pH范围内表

现出活性,pH值的大小对蛋白酶的酶活性影响较大。pH对酶解反应的影响可能是通过影响酶的分子结构的稳定性以及底物的解离反应从而发挥作用的^[14-15]。根据该木瓜蛋白酶的说明书选择pH 5.5~7.5进行试验,结果如图4所示。从图4可以看出,初始pH在达到7.0之前,水解度和多肽质量浓度均呈上升趋势,二者均在pH 7.0时达到最高值,pH超过7.0之后水解度和多肽质量浓度将会下降,说明对该咸蛋清稀释液而言木瓜蛋白酶的最佳初始pH值在7.0左右。

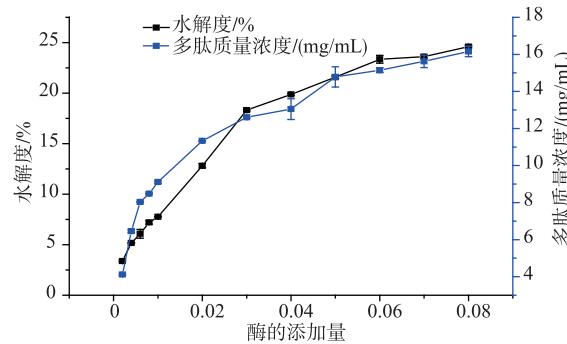


图3 酶的添加量对咸蛋清酶解效果的影响

Fig. 3 Effect of added content of enzyme on the DH and PC of the salted egg white

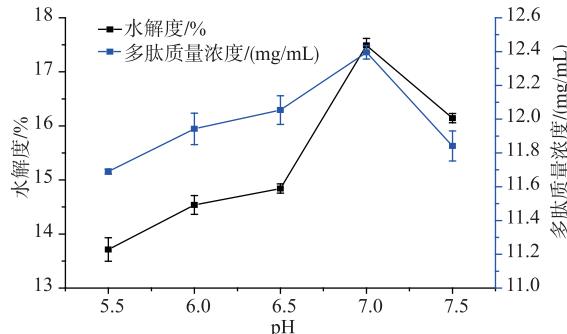


图4 初始pH对咸蛋清酶解效果的影响

Fig. 4 Effect of initial pH on the DH and PC of the salted egg white

2.4 最适温度的选择

酶解温度对酶解效果的影响主要分为3个方面。**①蛋白酶活性。**与酶的最适作用pH一致,温度过高会导致酶的失活,过低会造成酶活性发挥不佳;**②酶解底物分子结构。**蛋白酶解底物属于蛋白质,在一定温度下,蛋白质分子中疏水性氨基酸更倾向与暴露在蛋白质球分子外部,蛋白酶更容易与蛋白质肽键作用;**③酶-底物反应速率。**温度的升高会加剧溶液中分子的运动,可以促进蛋白酶与底物

蛋白质的作用机会^[16]。如图 5 所示,水解度和多肽质量浓度变化曲线均随着酶解温度的增加呈现抛物线型趋势,60 ℃时水解度达到最大值,65 ℃时多肽质量浓度达到最大值,当超过 65 ℃时,水解度和多肽质量浓度明显的下降,说明高温造成了蛋白酶的失活。由于水解度在本研究中的意义超过了多肽质量浓度,且温度从 60 ℃上升到 65 ℃时,水解度的变化比多肽质量浓度的变化更大,所以考虑 60 ℃作为木瓜蛋白酶的最佳作用温度。

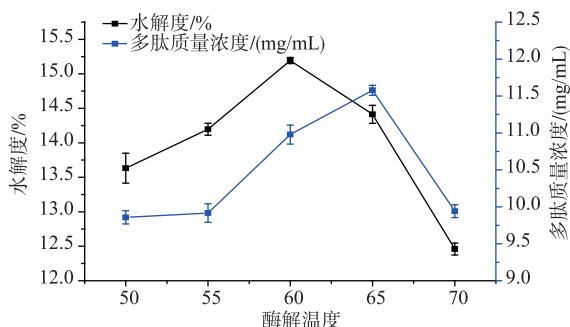


图 5 酶解温度对咸蛋清酶解效果的影响

Fig. 5 Impact of temperature on the DH and PC of the salted egg white

2.5 酶解时间的选择

酶解时间对咸蛋清酶解效果的影响,在 3 h 之前随着酶解时间的延长,水解度呈上升趋势且上升趋势比较快,3 h 后水解度保持平缓,3 h 之前多肽含量呈上升趋势,但趋势较平缓,之后的一个小时又略有下降(见图 6),可能原因是一部分多肽被木

瓜蛋白酶分解,之后基本保持稳定。通常水解度会随着反应时间的延长而增大,但是当酶解时间增加到一定值后,水解度的增加趋势会逐渐减缓,且最后接近于某一固定值^[17],这可能是由于底物-底物抑制和酶解过程中酶有一定程度的失活^[18]。由于当水解时间增加时,能耗会变大、成本会增加,且蛋白质会生成一些苦味肽增加了产品的苦味。所以可选择酶解时间 3 h 为最佳。

2.6 响应面优化

2.6.1 响应面分析结果 根据单因素的结果选择酶的添加量、初始 pH、酶解温度 3 个因素,采用 Design-Expert 8.05b 软件程序设计 3 因素 3 水平的响应面实验,以水解度为响应值,实验结果如表 2 所示。

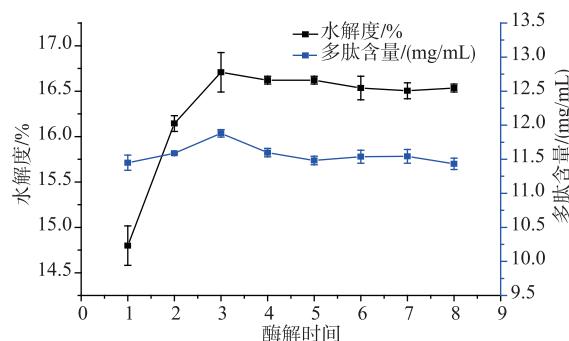


图 6 酶解时间对咸蛋清酶解效果的影响

Fig. 6 Impact of time on the DH and PC of the salted egg white

表 2 响应面实验结果

Table 2 Results of box-behnken

实验编号	酶的添加量(A)	初始 pH(B)	酶解温度 C/℃	水解度/%
1	-1	-1	0	12.932 4
2	-1	0	1	10.415 4
3	-1	0	-1	11.717 3
4	-1	1	0	10.241 8
5	0	-1	-1	11.623 1
6	0	-1	1	11.019 2
7	0	0	0	15.813 6
8	0	0	0	15.887 2
9	0	0	0	14.836 3
10	0	0	0	15.821 1
11	0	0	0	15.887 2
12	0	1	1	11.019 2
13	0	1	-1	11.494 7
14	1	-1	0	17.792 9
15	1	0	-1	14.060 8
16	1	0	1	15.623 1
17	1	1	0	17.792 9

对实验数据进行二次多元回归拟合,分析结果得出木瓜蛋白酶解咸蛋清稀释液的回归方程为:

$$Y = -306.1670 + 13.336 \cdot 26A + 68.349 \cdot 84B + 3.387 \cdot 56C + 1.345 \cdot 32AB + 0.0716 \cdot 06AC + 6.420 \cdot 00E - 003BC + 0.353 \cdot 01A^2 - 5.248 \cdot 27B^2 - 0.030 \cdot 480C^2$$

对拟合的二次多项式进行方差分析,结果如下表3所示,高F值(16.60)和低P值(0.000 6)表明拟合模型能够很好的解释该酶解过程。较低的变异系数(CV=6.03%)表明预测值与实验值是有较高可信度。另外,模型失拟性F值和P值分别为6.42和0.052 2说明模型预测值具有较高的准确性。而R²

(0.955 3)也表明了模型可用来预测木瓜蛋白酶解咸蛋清稀释液过程的变化。一般认为较低的P值和较大的F值意味着变量对响应值的影响越大,所以分析各项变量的影响(见表3)可以看出:一次项中,A影响极显著,B和C影响相对较小,所有交互作用并没有表现出显著的影响(P>0.05),平方项中C²影响极显著,酶的添加量对响应值具有最大的影响(极显著),而初始pH值和酶解温度的影响相对较小,且初始pH值对酶解效果的影响比酶解温度的影响更大。

表3 响应面回归模型方差分析

Table 3 ANOVA for response surface quadratic model

方差来源	自由度	平方和 SS	均方 MS	F 值	Prob > F	显著性
模型	103.08	9	11.45	16.60	0.000 6	**
A	49.81	1	49.81	72.21	< 0.000 1	**
B	0.99	1	0.99	1.44	0.269 2	
C	0.084	1	0.084	0.12	0.737 6	
AB	1.81	1	1.81	2.62	0.149 3	
AC	2.05	1	2.05	2.97	0.128 3	
BC	4.122E-003	1	4.122E-003	5.975E-003	0.940 5	
A ²	0.52	1	0.52	0.76	0.412 0	
B ²	7.25	1	7.25	10.51	0.014 2	*
C ²	39.12	1	39.12	56.70	0.000 1	**
残差	4.83	7	0.69			
失拟差	4.00	3	1.33	6.42	0.052 2	
纯误差	0.83	4	0.21			
总和	107.91	16				
R ²	0.955 3	R _{Adj} ²	0.897 7	变异系数	6.03	

2.6.2 响应面交互作用的分析 根据回归方程,做出响应面图,见图7~图9。就各因素之间的交互影响而言,初始pH和加酶量对水解度的影响如图7所示。固定酶解温度为60 °C时,pH在6.5~7.5时,水解度均随着加酶量的增大而增大,对加酶量相同时,pH 6.0时的水解度会略高于两侧pH时的水解度。当固定初始pH为7.0时,酶解温度和加酶量对水解度的影响如图8所示。当酶解温度相同时,水解度仍然随着加酶量的增大而增大,当在同一加酶量的情况下时,酶解温度为60 °C左右时水解度达到最大值。当固定加酶量为3%时,初始pH和酶解温度的交互作用如图9所示。从此图可以看出初始pH和酶解温度均在各自中间水平时木瓜蛋白酶对咸蛋清稀释液的水解效果最好。从此3个图中也可

以得出加酶量对水解度的影响最大,初始pH次之,这与拟合方程的方差分析结果一致。

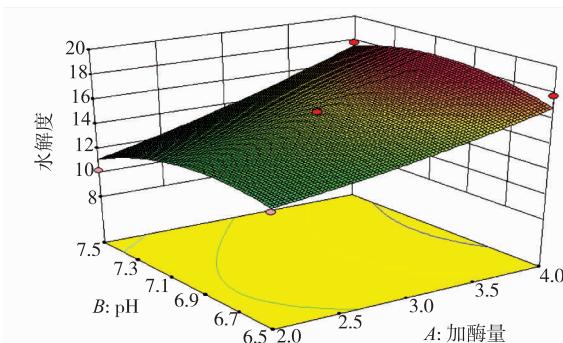


图7 初始pH与加酶量的交互作用的响应曲面

Fig. 7 Responsive surfaces of pH and the content of enzyme

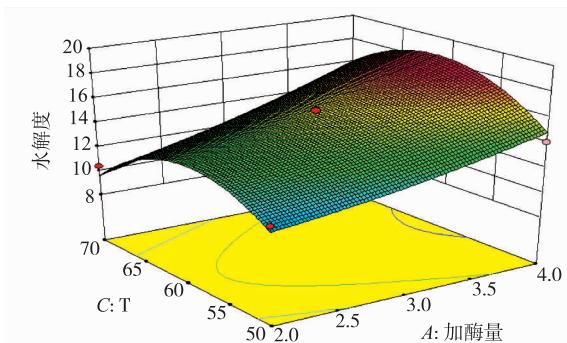


图 8 酶解温度与加酶量的交互作用的响应曲面

Fig. 8 Responsive surfaces of temperature and the content of enzyme

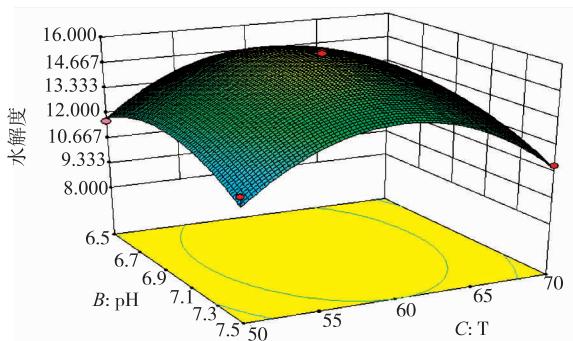


图 9 pH 与温度的交互作用的响应曲面

Fig. 9 Responsive surfaces of pH and temperature

参考文献：

- [1] 肖丹华,林捷,郑华.咸蛋清的利用和研究现状[C].“科技创新与食品产业可持续发展”学术研讨会暨 2008 年广东省食品学会年会论文集,广州:广东省食品学会,2008(1):51-53.
- [2] THAMMARAT K, SOOTTAWAT B, WONNOP V. Protein Hydrolysate of salted duck egg white as a substitute of phosphate and its effect on quality of pacific white shrimp(*litopenaeus vannamei*)[J]. *Journal of Food Science*, 2009, 74(8):351-361.
- [3] 李灿鹏,吴子健.蛋品科学与技术[M].北京:中国质检出版社,2013.
- [4] 迟玉杰.蛋制品加工技术[M].北京:中国轻工业出版社,2009:33-38.
- [5] 蔡朝霞,马美湖,余勘.蛋品加工新技术[M].北京:中国农业出版社,2012,09.
- [6] 杜永盛.酶解咸鸭蛋蛋清制取白蛋白肽的研究[D].杭州:浙江大学生命系统工程与生物科学学院,2006.
- [7] 咸鸭蛋蛋清功能特性的研究及其酶解物的应用[D].长春:吉林大学军需科技学院,2013.
- [8] 张英君.脱盐咸鸭蛋蛋清的水解规律研究[D].杭州:浙江大学动物科学学院,2001.
- [9] 任尧.鸭蛋清蛋白肽的酶法制备及其抗氧化活性研究[D].广州:华南理工大学轻工与食品学院,2011.
- [10] 张水华.食品分析[M].北京:中国轻工业出版社,2010.
- [11] 中华人民共和国卫生部.GB 5009.5-2010.食品中蛋白质的测定[S].北京:中国标准出版社,2010.
- [12] GU Zhonghua, QIAN Haifeng, CHEN Sisi, et al. Study on wheat gluten enzymatic preparation of peptides feed additive[J]. *Cereal & Feed Industry*, 2013(4):52-55, 58. (in Chinese)
- [13] HOUSEMAN B T, HUH J H, KRON S J, et al. Peptide chips for the quantitative evaluation of protein kinase activity[J]. *Nat Biotechnology*, 2002, 20:270-274.
- [14] RUAN C Q, CHI Y J, ZHANG R D. Kinetics of hydrolysis of egg white protein by pepsin[J]. *Czech Journal of Food Sciences*, 2010, 28(5):355-363.

2.6.3 最佳酶解工艺条件的确立 Design – Expert8.05b 软件程序分析得出,最佳酶解条件为:加酶量 4%, 初始 pH 7.06, 酶解温度 61.01 °C, 预测水解度为 18.55%, 这与李晶晶的研究结果有差异^[19], 在此研究中,木瓜蛋白酶的最佳反应温度是 50 °C、初始 pH 8.0, 这可能与蛋清有没有脱盐有关,氯化钠的存在会对酶和底物的分子结构以及酶解动力学存在一定的影响。根据实际生产条件确定最佳水解条件为:加酶量 4%, 初始 pH 7.0, 酶解温度 60 °C, 按此酶解条件对 1:5 的咸蛋清稀释液进行验证试验,酶解时间为 3 h, 测得水解度为 18.41%, 验证了数学模型的正确性。证明响应面法对利用木瓜蛋白酶酶解咸蛋清工艺条件的优化结果准确可靠,有实用价值。

3 结语

在单因素实验的基础上,利用响应面法优化木瓜蛋白酶酶解咸蛋清的工艺条件为:加酶量 4%, 初始 pH 7.0, 酶解温度 60 °C, 此条件下测得水解度为 18.41%, 可验证响应面优化的数学模型的正确性,该酶解液可用于后续调味品的生产研究。

- [15] FLAVIA F M, JANE S R, COIMBRA E E, et al. Solubility and density of egg white proteins: Effect of pH and saline concentration[J]. **LWT- Food Science and Technology**, 2007, 40: 1304-1307
- [16] 唐文林. 猪胎盘综合利用工艺与应用研究[D]. 无锡: 江南大学 食品学院, 2014.
- [17] CHI Yujie. Research and exploitation of protein hydrolyzate[J]. **Food and Nutrition in China**, 2003, (8): 28-30. (in Chinese)
- [18] CUI Jie, KONG Xiangzhen, HUA Yufei, et al. Study on the mechanism and kinetics characteristics of controlled enzymatic hydrolysis of wheat gluten[J]. **Food and Fermentation Industries**, 2010, (8): 46-49. (in Chinese)
- [19] 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 轻工与食品学院, 2010.

科 技 信 息

欧盟将腔昆布海藻提取物列入新食品成分

2017年10月16日,欧洲食品安全局(EFSA)发布10.2903/j.efsa.2017.5003号文件,根据欧洲议会和理事会(EC)第258/97号条例,授权将腔昆布海藻提取物(Ecklonia cava phlorotannins)作为新食品成分,作为食物补充剂使用成分安全用量为:对12至14岁青少年的最大摄入水平为163毫克/日,14岁以上的青少年为230毫克/日和成人263毫克/日。

[信息来源] 厦门WTO工作站. 欧盟将腔昆布海藻提取物列入新食品成分 [EB/OL]. (2017-10-19). <http://www.xmtbt-sps.gov.cn/detail.asp?id=55575>

加拿大批准硫酸铜用于松花蛋的加工

2017年10月6日,加拿大卫生部发布消息,批准硫酸铜(copper sulphate)用于松花蛋的加工,并修订具有其他可接受用途的许可食品添加剂名单。

加拿大卫生部食品司完成了一项有关食品添加剂申请的详细安全评估。该申请旨在要求批准制作松花蛋的过程中使用硫酸铜,使松花蛋早日成型。加拿大已批准硫酸铜作为澄清剂在葡萄酒中使用。由于本次评估未提出安全性问题,卫生部通过更新具有其它可接受用途的许可食品添加剂名单,批准硫酸铜用于松花蛋的制作。

[信息来源] 厦门WTO工作站. 加拿大批准硫酸铜用于松花蛋的加工 [EB/OL]. (2017-10-12). <http://www.xmtbt-sps.gov.cn/detail.asp?id=55495>