

蛋清蛋白质热处理改性及其热聚集行为的研究进展

迟玉杰*, 鲍志杰, 程 缘

(东北农业大学食品学院, 哈尔滨 150030)

摘 要: 蛋清蛋白质的热处理改性有助于提高其功能特性及生物有效利用率, 从而拓宽其在食品工业中作为配料的应用范围。热处理主要通过对蛋清蛋白质热聚集行为的影响, 从而影响其在食品体系中的应用, 而对蛋白质聚集行为的研究将有助于改善食品体系中蛋白质的功能性质。蛋清粉是许多食品加工中的重要原料, 也是很好的蛋白质体系, 是食品蛋白质热聚集行为和功能构效关系的理想研究对象。对蛋清蛋白质聚集机制的研究将有助于功能性蛋制品的开发。因此, 本文主要对蛋清蛋白质热聚集行为的研究进行综述, 希望能为相关科研人员及企业提供一定的借鉴。

关键词: 蛋清蛋白质; 热处理; 热聚集

Progress of heat-induced treatment and thermal aggregation of egg white protein

CHI Yu-Jie*, BAO Zhi-Jie, CHENG Yuan

(College of Food Science Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

ABSTRACT: Egg white protein modification by heat treatment is helpful to improve the functional properties and biological utilization efficiency, so as to broaden its application in the food industry as food ingredients. Heat treatments on egg white protein may affect its thermal aggregation behavior thus affect its application in the food system, and the study of protein heat-induced aggregation behavior will contribute to the improving of the functional properties of the protein in the food system. Egg white powder is an important raw material in food processing, which is an ideal object for study of food protein heat-induced aggregation behavior and functional structure-activity relationships. Research on the egg white protein heat-induced aggregation mechanism will contribute to the development of functional egg products. Therefore, the research progress of egg white protein heat-induced aggregation behavior was mainly reviewed in this paper, which could provide a reference for the relevant researchers and companies.

KEY WORDS: egg white protein; heat treated; heat-induced aggregation

基金项目: 国家自然科学基金项目(31470094)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (31470094)

*通讯作者: 迟玉杰, 教授, 主要研究方向为食品化学及农产品深加工。E-mail: yjchi@126.com

*Corresponding author: CHI Yu-Jie, Professor, Technical Center of Food Chemistry and Processing of Agricultural Products, No.79, Mucai Road, Xiangfang District, Harbin 150030, China. E-mail: yjchi@126.com

1 引言

热处理对蛋白质相关食品体系的作用主要包括：杀菌、提高功能性质、钝化抗营养因子等。涉及热处理的单元操作主要包括蒸煮、杀菌、喷雾干燥、干热处理等，这些单元操作在食品加工中被广泛应用^[1-3]。热处理是工业化生产中改善蛋白质功能性质的有效手段之一，也是引起蛋白质聚集的主要因素^[4]。因此，研究蛋白质热处理诱导的聚集机制，不但对蛋白质的理论研究具有重要意义，同时对食品加工也具有广泛辅助指导作用。

蛋白质的聚集行为直接影响其在食品体系中的应用，而对蛋白质聚集行为机制的研究将有助于改善食品体系中蛋白质的功能性质。如在喷雾干燥、干热处理等加工环节有时需要尽量减少或避免蛋白质聚集体产生(如溶解性、分散性等)，而有时则需要增加蛋白质聚集体形成(凝胶性、乳化性等)^[5-7]。基于此，对蛋白质聚集行为与功能性构效关系的研究已逐渐成为研究热点。

蛋清粉作为一种重要的食品添加原料被广泛用于食品加工中，具有营养价值高、原料来源充足等优点^[8]。也是很好的蛋白质体系(蛋白质含量大于90%)，且兼具高凝胶性、起泡性等多种优良功能性质^[9-11]，蛋清粉经过干热处理后，其功能性质发生相应的改变，蛋白质聚集行为机制的研究将有助于改善食品体系中蛋白质的功能性质。

2 蛋清蛋白质热处理改性的研究进展

热处理可以改变蛋清蛋白质的分子伸展状况，从而改变蛋清蛋白的功能性质和理化性质。在一定温度与湿度下对蛋清蛋白质进行热处理，是蛋粉加工中广泛采用的改性技术。

George N 与 Tong 等^[12-14]研究发现，加热处理卵类粘蛋白的过敏原性降低，且随加热温度升高和加热时间延长，不断降低。经不同温度热处理后的卵类粘蛋白二级结构的 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角和无规卷曲之间相互转化，分子有序性降低；卵类粘蛋白的表面疏水性随加热温度的升高而降低；随加热的温度的升高，具有紫外吸收的氨基酸残基逐渐暴露，最大吸光度逐渐增大。由此可以推断，卵类粘蛋白的构象改变导致其过敏原性变化。

Kato 等^[15]研究表明，在80℃、7.5%的相对湿度下干热处理10d，蛋清粉的凝胶性、乳化性与起泡性(发泡性与泡沫稳定性)均有了显著提高。干热处理使蛋清蛋白质的表面疏水性与分子柔性增加，并且在加工过程中蛋白质的表面疏水基团与亲水基团处于平衡状态，因此在加热处理前后蛋白质的溶解性无显著变化。干热处理可使蛋白质分子发生热变性，而热变性后增加的柔性和表面疏水性使得蛋白质分子更易于在油水界面吸附，使蛋白质暴露的疏水性基团与油相相互作用，进而提高了蛋白质的起泡性与泡沫

稳定性。Iesel 与 Talansier 等^[16-21]研究发现，干热处理后蛋清蛋白质溶液所成泡沫呈乳脂状，且比较湿润。Matsudomi 等^[22,23]研究发现，在热处理过程中，蛋白质发生热变性，使得蛋白质内部的巯基暴露在蛋白表面，且部分巯基转变为二硫键，最终使得蛋白质的总巯基数减少，表面巯基数增加，而巯基向二硫键的转变以及巯基的氧化是干热处理提高蛋清蛋白凝胶性的主要原因，SDS-PAGE 电泳结果表明，在热处理过程中，部分蛋白质的聚集不受除巯基乙醇的影响，这表明除二硫键以外其他作用力对凝胶网络的形成也有影响。

Kato 等^[16,24-28]研究发现，蛋清蛋白质干热处理时间的延长可以大幅提高蛋白质的表面疏水性，在干热处理过程中，部分蛋清蛋白发生了热变性，推断在此过程中，有部分天然态卵白蛋白转变为S-卵白蛋白。DSC 结果表明，干热处理后蛋白质分子发生了部分伸展，部分巯基转变为了二硫键，并提高了蛋白质的热稳定性。干热法提高蛋清蛋白功能性虽简单易行，在蛋制品加工行业中应用广泛，但也存在着加热处理时间长、能耗大等问题。

3 蛋清蛋白质热聚集行为的研究进展

对蛋清蛋白质热聚集行为的研究主要集中在离子强度、pH、蛋白质浓度、加热时间等因素对蛋清蛋白质热聚集行为的影响^[29-31]。Hegg 等^[32]最早研究了 SDS、pH 及盐浓度等条件对卵伴白蛋白和卵白蛋白热聚集和变性行为的影响。研究表明，无论加热速率快慢，卵伴白蛋白均是先沉淀后变性，并且沉淀物的分子粒径大小不一。在卵白蛋白聚集和变性温度的研究中，Hegg 等^[33]对卵白蛋白形成各种凝胶所需条件以及变性温度和聚集温度的关系进行了阐述。其认为凝胶和凝胶样沉淀是介于溶解态和沉淀态的中间态，中间态的范围则取决于 pH、中性盐浓度、SDS 的添加量等因素。研究显示热聚集温度低于热变性温度，形成凝胶的种类不同，热聚集的温度也不同。Nemoto 等^[34]利用动态激光扫描技术研究卵白蛋白在中性、低离子强度条件下的热聚集状态及过程，结果表明：卵白蛋白线性聚集物的形成不是个别蛋白质之间相互作用的结果，而是由热力学因素控制的疏水氨基酸的疏水相互作用与蛋白质表面静电斥力的平衡造成的。卵白蛋白在中性低离子强度下，两个卵白蛋白单体利用分子间力形成二聚体，二聚体再通过运动和撞击形成线性聚集体。荷兰瓦赫宁根大学 Weijers 等^[35-45]对卵白蛋白热诱导凝胶及聚集体也开展了类似研究，即在低 pH 和离子强度条件下，随着离子强度或 pH 的提高，卵白蛋白聚集体由线性或多分枝结构向多胶束结构转变；而在等电点附近(pH4.0~6.0)或者高离子强度条件下，蛋白质分子间的静电斥力很弱，分子间的吸引力(通常是疏水相互作用)会诱导随机聚集体的形成。其结果是形成软且浑浊的凝胶。当蛋白质处于远离等电点，在低离子强度

条件下, 蛋白质分子表面电荷没有或很少被屏蔽, 静电斥力较大。强静电斥力会阻碍随机聚集体的产生, 从而导致线性聚集体的形成, 形成透明凝胶(因为线性分子的特征波长小于可见光波长)。而当 pH 和离子强度处于中间状态时, 则形成分支柔性强的聚集体。

Watanabe 等^[46]研究在酸性条件下蛋清蛋白质的热诱导的聚集及变性行为, 随着酸度的增加, 卵转铁蛋白、卵巨球蛋白、卵白蛋白及卵球蛋白 G3A, A1, A2 等蛋白质的热稳定性下降, 但是卵黏蛋白和卵抑制剂在 90 °C 加热 3 min 和 74 °C 加热 20 min 均未发生聚集。Mine^[47-49]研究了热诱导蛋清蛋白聚集体在高 pH(9.5)、低离子强度条件下的空间结构变化, 即蛋清蛋白的柔性和疏水性随着热处理温度的升高而升高, 热处理过程中蛋清蛋白质发生了巯基—二硫键的转变。圆二色谱结果表明热处理使蛋清蛋白的折叠结构增加, 螺旋结构减少。

Johnson 等^[50]研究表明, 混合的蛋清蛋白质加热时蛋白质分子的聚集发生在明显的两个不同温度区间: 在 61.5~62.5 °C 范围内, 卵转铁蛋白或其他蛋白开始变性和部分聚集; 在 71.0~73.0 °C 之间时, 蛋白质分子聚集加速, 形成大量不溶性聚集产物。Vassilios 等^[51]发现热诱导蛋清蛋白凝胶前后 SDS-PAGE 条带明显变化, 证明蛋白质分子发生了相互交联, 出现了高分子量交联蛋白质分子。这些研究基本能印证热诱导体系下对蛋清蛋白质凝胶形成机制主体构架的推断, 即先变性而后聚集。

天然态蛋清蛋白的热聚集是一综合复杂的过程, 天然态蛋清体系中含有 30 多种蛋白质, 上述研究虽然对热诱导条件及其引起的结构变化做了较为深入的研究, 但对蛋清蛋白质热聚集的过程及机制阐述相对较少, 尤其是在生产条件下的热聚集行为对凝胶形成过程及凝胶性质的影响未见报道, 因此针对天然态蛋清体系热聚集行为与凝胶性等功能特性间的构效关系还需进一步深入研究。

4 结 语

目前, 蛋白质的热聚集是食品科学方面的一个研究热点。蛋白质的热聚集与蛋白质的功能性质及蛋白质在食品体系中的应用密切相关。蛋清蛋白质热处理中的聚集行为及机制的研究有助于拓展热处理在蛋清蛋白质相关食品体系中的应用, 提高蛋清粉的附加值及拓宽其作为配料的应用范围。

参考文献

- [1] Lechevalier V, Jeantet R, Arhaliass R, *et al.* Egg white drying: Influence of industrial processing steps on protein structure and functionalities [J]. *J Food Eng*, 2007, 83: 404–413.
- [2] Rao QC, Jeancarlo RR, Theodore PL. Accelerated shelf-life testing of quality loss for a commercial hydrolysed hen egg white powder [J]. *Food Chem*, 2012, 135(2): 464–472.
- [3] Rao QC, Jeancarlo RR, Theodore PL. Storage stability of hen egg white powders in three protein/water dough model systems [J]. *Food Chem*, 2013, 138(2–3): 1087–1094.
- [4] 王盼盼. 食品中蛋白质的功能特性综述[J]. *肉类研究*, 2010, (5): 62–71. Wang PP. Functionality of food protein [J]. *Meat Res*, 2010, (5): 62–71.
- [5] Campbell L, Raikos V, Euston SR. Modification of functional properties of egg-white proteins [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2003, 47: 369–376.
- [6] Seideman, WE, Cotterill OJ, Funk EM. Factors affecting heat coagulation of egg white [J]. *Poult Sci*, 1963, 43: 406.
- [7] Kitabatake N, Shimizu A, Doi E. Preparation of transparent egg white gel with salt by two step heating method [J]. *J Food Sci*, 1988, 53: 735.
- [8] Rao QC, Theodore PL. Effect of moisture content on selected physicochemical properties of two commercial hen egg white powders [J]. *Food Chem*, 2012, 132: 373–384.
- [9] 李俐鑫, 迟玉杰, 孙波, 等. 蛋清蛋白凝胶特性影响因素的研究[J]. *食品工业*, 2008, 12(2): 54–55. Li LX, Chi YJ, Sun B, *et al.* Study on affecting factors of egg white protein gel property [J]. *Food Ind*, 2008, 12(2): 4–55.
- [10] 孙敏杰, 迟玉杰, 张华江. 提高蛋清粉起泡性能的工艺[J]. *农业工程学报*, 2008, 11(24): 274–278. Sun MJ, Chi YJ, Zhang HJ. Technology for improving foaming properties of egg albumen powders [J]. *Trans CSAE*, 2008, 11(24): 274–278.
- [11] 胥伟, 迟玉杰, 孙强. 蛋清粉凝胶性与凝胶稳定性的研究[J]. *中国家禽*, 2011, 33(2): 22–24. Xu W, Chi YJ, Sun Q. Gelling properties and stability of egg white powder [J]. *China Poult*, 2011, 33(2): 22–24.
- [12] Tong P, Gao JY, Chen HB, *et al.* Effect of heat treatment on the potential allergenicity and conformational structure of egg allergen ovomucoid [J]. *Food Chem*, 2012, 131(2): 603–610.
- [13] George N, Konstantinou, Jennifer S. Paradigm shift in the management of milk and egg allergy: Baked milk and egg diet [J]. *Immunol Allergy Clin*, 2012, 32(1): 151–164.
- [14] Gustavo M, Ivan L, Ramon B, *et al.* Mechanisms underlying differential food allergy response to heated egg [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2011, 127(4): 990–997.
- [15] Kato A, Watanabe H, *et al.* New approach to improve the gelling and surface functional properties of dried egg white by heating in dry state [J]. *J Agric Food Chem*, 1989, 37: 433–437.
- [16] Iesel V, Ann V, Marc E. Kinetic study on the combined effect of high pressure and temperature on the physico-chemical properties of egg white proteins [J]. *J Food Eng*, 2007, 78(1): 206–216.
- [17] Iesel V, Ann V, Marc E. Foaming properties of egg white proteins affected by heat or high pressure treatment [J]. *J Food Eng*, 2007, 78(4): 1410–1426.
- [18] Iesel V, Ann V, Marc E. Combined effect of high pressure and temperature on selected properties of egg white proteins [J]. *Innov Food Sci Emerg*, 2005, 6(1): 11–20.
- [19] Kaewmanee T, Benjakul S, Visessanguan W. Effect of NaCl on thermal aggregation of egg white proteins from duck egg [J]. *Food Chem*, 2011, 125(2): 706–712.
- [20] Nicorescu I, Vial C, Talansier E, *et al.* Comparative effect of thermal treatment on the physicochemical properties of whey and egg white protein foams [J]. *Food Hyd*, 2011, 25(4): 797–808.
- [21] 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 Sci Technol*, 2009, 42(2): 496–503.
- [22] Matsudomi N, Yakahashi H, Miyata T. Some structural properties of ovalbumin heated at 80 °C in the dry state [J]. *Food Res Int*, 2001, 34: 229–235.
- [23] Matsudomi N, Oka H, Sonoda M. Inhibition against heat coagulation of ovotransferrin by ovalbumin in relation to its molecular structure [J]. *Food Res Int*, 2002, 35(9): 821–827.
- [24] Kato A. Functionality of heat-denatured ovalbumin [J]. *New Food Ind*, 1984, 26: 69–82.
- [25] Kato A, Nakai S. Hydrophobicity determined by a fluorescence probe method and its correlation with surface properties of proteins [J]. *Biochem Biophys Acta*, 1980, 624: 13–20.
- [26] Kato A, Takahashi A, Matsudomi N, *et al.* Determination of foaming properties of proteins by conductivity measurements [J]. *J Food Sci*, 1983, 48: 62–65.
- [27] Kato A, Fujishige T, Matsudomi N, *et al.* Determination of emulsifying properties of some proteins by conductivity measurements [J]. *J Food Sci*, 1985, 50: 56–58, 62.
- [28] Kato A, Komatsu K, Fujimoto K, *et al.* Relationship between surface functional properties and flexibility of proteins detected by the protease susceptibility [J]. *J Agric Food Chem*, 1985, 33: 931–934.
- [29] Holme J. Thermal denaturation and aggregation of ovalbumin [J]. *J Phys Chem*, 1963, 67: 782.
- [30] Kitabatake N, Hatta H, Doi E. Heat-induced and transparent gel prepared from hen egg ovalbumin in the presence of salt by a two-step heating method [J]. *J Agric Biol Chem*, 1987, 51: 771.
- [31] Nakamura R, Sugiyama H, Sato Y. Factors contributing to the heat-induced aggregation of Ovalbumin [J]. *Agric Biol Chem*, 1978, 42: 819.
- [32] Hegg PO, Martens H, Löfqvist B. The protective effect of sodium dodecylsulphate on the thermal precipitation of conalbumin-A study on thermal aggregation and denaturation [J]. *J Sci Food Agric*, 1978, 29: 245–260.
- [33] Hegg PO, Martens H, Löfqvist B. Effects of pH and neutral salts on the formation and quality of thermal aggregates of ovalbumin-A study on thermal aggregation and denaturation [J]. *J Sci Food Agric*, 1979, 30: 981–993.
- [34] Nemoto N, Koike A, Osaki K. Dynamic light scattering of aqueous solutions of linear aggregates induced by thermal denaturation of ovalbumin [J]. *Biopolym*, 1993, 33: 551–559.
- [35] Weijers M, Sagis LMC, Veerman C. Rheology and structure of ovalbumin gels at low pH and low ionic strength [J]. *Food Hyd*, 2002, 16: 269–276.
- [36] Weijers M, Visschers RW. Light scattering study of heat-induced aggregation and gelation of ovalbumin [J]. *Macromol*, 2002, 35(12): 4753–4762.
- [37] Weijers M, Barneveld RW, Martien ACS. Heat-induced denaturation and aggregation of ovalbumin at neutral pH described by irreversible first-order kinetics [J]. *Prot Sci*, 2003, 12(12): 2693–2703.
- [38] Alting AC, Weijers M, DeHoog EHA. Acid-induced cold gelation of globular proteins: Effects of protein aggregate characteristics and disulfide bonding on rheological properties [J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52(3): 623–631.
- [39] Weijers M, Visschers RW, Nicolai T. Influence of the ionic strength on the structure of heat-set globular protein gels at pH 7 ovalbumin [J]. *Macromol*, 2004, 37(23): 8709–8714.
- [40] Pouzot M, Nicolai T, Weijers M. X-ray and light scattering study of the structure of large protein aggregates at neutral pH [J]. *Food Hyd*, 2005, 19(2): 231–238.
- [41] Weijers M, Hoog EHA, Stuart MAC. Heat-induced formation of ordered structures of ovalbumin at low ionic strength studied by small angle X-ray scattering [J]. *Coll Surf A*, 2005, 270: 301–308.
- [42] Nicolai T, Pouzot M, Weijers M. Iso-scattering points during heat-induced aggregation and gelation of globular proteins indicating micro-phase separation [J]. *EPL-Europhys Lett*, 2006, 73(2): 299–305.
- [43] Weijers M, Velde FVD, Stijnman A. Structure and rheological properties of acid-induced egg white protein gels [J]. *Food Hyd*, 2006, 20(2): 146–159.
- [44] Broersen K, Weijers M, Groot J. Effect of protein charge on the generation of aggregation-prone conformers [J]. *Biomacromol*, 2007, 8(5): 1648–1656.
- [45] Weijers M, Broersen K, Barneveld PA. Net charge affects morphology and visual properties of ovalbumin aggregates [J]. *Biomacromol*, 2008, 9(11): 3165–3172.
- [46] Watanabe K, Matsuda T, Nakamura R. Heat-induced aggregation and denaturation of egg white proteins in acid media [J]. *J Food Sci*, 1985, 50: 507–510.
- [47] Mine Y, Noutomi T, Haga N. Thermally induced changes in egg white proteins [J]. *J Agric Food Chem*, 1990, 38: 2122–2125.
- [48] Mine Y. Recent advances in the understanding of egg white protein functionality [J]. *Trend Food Sci Technol*, 1995, 6(7): 225–232.
- [49] Mine Y. Effect of pH during the dry heating on the gelling properties of egg white proteins [J]. *Food Res Inter*, 1996, 29(2): 155–161.
- [50] Johnson TM, Zabik ME. Gelation properties of albumen proteins, singly and in combination [J]. *Poult Sci*, 1981, 60(9): 2071–2083.
- [51] Vassilios R, Campbell L, Euston SR. Rheology and texture of hen's egg protein heat-set gels as affected by pH and the addition of sugar and/or salt [J]. *Food Hyd*, 2007, 21(2): 237–244.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



迟玉杰, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为食品化学及农产品深加工。
E-mail: yjchi@126.com