

川白獭兔兔肉肌原纤维蛋白 热诱导凝胶制备工艺优化

陈炼红¹,王琳琳¹,简文素²,汪平²,张岩¹

(1.西南民族大学生命科学与技术学院,四川成都 610041;

2.四川省草原科学研究院,四川新津 611430)

摘要:为了研究不同诱导因素对川白獭兔肉肌原纤维蛋白热诱导凝胶特性的影响并对诱导条件进行优化。在单因素试验基础之上,以大豆分离蛋白添加量、肌原纤维蛋白浓度、离子强度和 pH 为影响因素,以蛋白凝胶硬度、弹性及持水性为响应值,利用响应面法(Box-Behnken)设计四因素三水平的响应面分析试验,建立了二次多项数学模型。结果表明,大豆分离蛋白添加量与离子强度的交互作用对凝胶硬度有显著影响,肌原纤维蛋白浓度与 pH 的交互作用对凝胶硬度和持水性也有显著影响,离子强度与 pH 的交互作用对凝胶硬度和弹性均有显著影响($P < 0.05$)。得到的最佳诱导条件为:大豆分离蛋白添加量 6.30%、肌原纤维蛋白浓度 51.0 mg/mL、离子强度 0.67 mol/L、pH 6.85,在此最佳工艺条件下所制肌原纤维蛋白凝胶的硬度为 508.435 g、弹性 0.337、持水性 0.896。本研究优化的最佳工艺所制凝胶特性较好,可为獭兔肉的加工利用提供一定数据支持和理论依据。

关键词:川白獭兔肉,肌原纤维蛋白,热诱导,凝胶制备,凝胶特性

Optimization of Preparation Process for Myofibrillar Proteins Thermally-induced Gel of Chuan-bai Rex Rabbit

CHEN Lian-hong¹, WANG Lin-lin¹, JIAN Wen-su², WANG Ping², ZHANG Yan¹

(1.College of Life Science and Technology, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, China;

2.Sichuan Academy of Grassland Science, Xinjin 611430, China)

Abstract: In order to study the effects of different induction conditions on the properties of myofibrillar proteins thermal-induced gel in Chuan-bai rex rabbit meat and to explore the optimum induction conditions. Based on the single-factor tests, the soybean protein isolate addition, myofibrillar protein concentration, ionic strength and pH were taken as the influencing factors. And the hardness, resilience and water-holding capacity of the protein gel were taken as the response values. The present results showed that the interaction between the soybean protein isolate addition and the ionic strength had a significant influence on gel hardness, the interaction between myofibrillar protein concentration and pH had a significant impact on gel hardness and water-holding capacity, and the interaction between ionic strength and pH had a significant impact on gel hardness and resilience. The optimal induction conditions were as follows: The additive amount of soy protein isolate 6.30%, myofibrillar protein concentration 51.0 mg/mL, ionic strength 0.67 mol/L and pH 6.85. The prepared protein gel had a hardness of 508.435 g, a resilience of 0.337 and a water-holding capacity of 0.896. The thermal-induced gel presented a fine quality by the optimal process, which could provide certain data support and theoretical basis for the processing and utilization of Chuan-bai rex rabbit meat.

Key words: Chuan-bai rex rabbit meat; myofibrillar protein; heat-inducible; gel preparation; gel properties

中图分类号: TS251.5⁺4

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2019)24-0136-09

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2019.24.023

收稿日期: 2018-12-28

作者简介: 陈炼红(1967-),女,本科,教授,研究方向:食品资源开发与研究, E-mail: lianhong_chen@163.com。

基金项目: 国家兔产业技术体系-獭兔(CARS-44-A-4);白色獭兔配套系选育与配套技术研究与示范(2016NYZ0046)。

学, 2007.

[21] Masaka M, Okuda H, Fujii S. Effect of calcium ion on lipase-fat complex formation [J]. Journal of Biochemistry, 2008, 72(6): 1565.

[22] 王桓. 鳕鱼排加工关键技术研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2013.

[23] 朱丽娅. 脱腥与方便食品的制作[J]. 渔业致富指南, 2005(6): 57-58.

引文格式:陈炼红,王琳琳,简文素,等.川白獭兔兔肉肌原纤维蛋白热诱导凝胶制备工艺优化[J].食品工业科技,2019,40(24):136-143,151.

川白獭兔是以德系獭兔与美系獭兔为育种素材,经过近13年选育而成的具有生长速度快、体型大、被毛密度好、枪毛比例低等生产性能突出的獭兔新品种,也是我国第一个自主培育的獭兔新品种,目前已在我国多省市累计推广11.30万只,改良獭兔27万只,经济社会效益较好,深受养殖户和社会的广泛认可^[1]。川白獭兔肉具有肌纤维细嫩,易于消化吸收,蛋白质含量高、脂肪含量低等优点^[2]。随着消费市场对于獭兔皮毛需求量的日益增大,獭兔的养殖规模也在逐渐扩大。但是,现阶段对獭兔的研究和利用主要集中在其皮毛上,而关于獭兔肉加工利用的相关研究报道不足^[3]。因此,对川白獭兔肉加工特性进行研究,有利于提高獭兔肉的综合加工与利用。

肌肉肌原纤维蛋白在肉品蛋白质凝胶过程中起着极其重要的作用,且其形成凝胶的能力均高于其他动植物蛋白质^[4]。在肉制品生产加工过程中,肌原纤维蛋白的热诱导凝胶特性是最重要的功能特性之一,对于提高肉制品的加工性能具有重要意义^[5-6]。在肌原纤维蛋白凝胶特性相关报道中,研究主要集中在通过改变外源非肉蛋白种类、肌原纤维蛋白浓度、离子强度、pH、肌肉种类、外源物质、加热方式等,探索上述因素对凝胶产品的质构、持水性、乳化性及流变学等特性的影响,从而达到改变肉制品功能特性的目的^[7-10]。崔旭海等^[11]研究发现添加不同种类的分离蛋白对鲤鱼鱼糜凝胶特性影响较大。Bertram等^[12]和Chantrapornchai等^[13]研究均指出离子强度的增加有利于提高蛋白凝胶的持水性。同时,热诱导温度也对肌肉蛋白的凝胶特性具有重要影响,过高或者过低的热处理温度均不利于凝胶的形成^[14]。目前,有关肌肉蛋白热诱导凝胶特性的研究主要集中在猪肉^[5-6]、羊肉^[7]、鸡肉^[10]、鱼肉^[11]、白兔肉^[13]和鸭肉^[14]等原料肉,而在獭兔肉肌肉蛋白凝胶特性方面还尚未见报道。因此,有必要对獭兔肉肌原纤维蛋白的凝胶特性进行研究与探讨。

本研究以獭兔肉背最长肌为试验材料,探究大豆分离蛋白添加量、肌原纤维蛋白浓度、离子强度和pH等因素对獭兔肉肌原纤维蛋白凝胶质构特性和持水性的影响;通过单因素和响应面试验,确定獭兔肉肌原纤维蛋白凝胶特性的影响因素及最佳诱导条件,以期对獭兔肉的加工利用提供理论支持和科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

随机选取相同饲养环境条件下的150日龄白色獭兔 采自四川草科院獭兔所自主培育的白色獭兔品系共20只(公母各半),宰后立即取背最长肌作为试验材料,将所有肉样用自封袋包装并冷藏带回实验室,置于-18℃条件下冻藏待测;磷酸氢二钠、氯化钠、磷酸氢二钾、氯化钾、氯化镁、二硫苏糖醇(DTT)、叠氮化钠、牛血清白蛋白、考马斯亮蓝G-250、磷酸、乙醇、氢氧化钠 均为分析纯,购自成

都市科龙化工试剂厂。

PL303 电子天平 梅特勒-托利多仪器上海有限公司;TD4A 台式离心机 长沙英豪仪器有限公司;UV-2102C/PC/PCS 紫外-可见分光光度计 尤尼柯上海仪器有限公司;TA-XT plus 质构仪 英国 Stable Micro System 公司;Centrifuge 5804R 高速冷冻离心机 德国 Eppendorf 公司;FSH-2A 可调高速组织匀浆机 金坛市华城海龙实验仪器厂;MP511 Lab pH 计 上海三信仪表厂。

1.2 实验方法

1.2.1 肌原纤维蛋白提取 参照 Xiong 等^[15]的方法并作改进。将肉样进行空气解冻,去除结缔组织和脂肪组织并制成肉糜,取28.5 g 肉样,加入250 mL 分离缓冲液 A (50 mmol/L K_2HPO_4 , 100 mmol/L KH_2PO_4 , 0.1 mol/L KCl, 2 mmol/L $MgCl_2$, 0.5 mmol/L DTT, 1 mmol/L 乙二醇二乙醚二胺四乙酸, pH7.0), 匀浆2 min,并在4℃、5500 r/min 条件下离心10 min,取沉淀,重复以上离心步骤3次后所得沉淀即为粗肌原纤维蛋白。进一步纯化,加入100 mL 分离缓冲液 B (1 mmol/L NaN_3 , 0.1 mol/L NaCl, pH6.25),充分溶解后,在4℃、5500 r/min 条件下离心10 min,取沉淀,重复以上离心步骤3次后所得沉淀即肌原纤维蛋白。采用考马斯亮蓝 G-250 法测定所提取的肌原纤维蛋白的浓度^[16]。

1.2.2 肌原纤维蛋白凝胶的制备 参考文献 [17-18] 方法。采用线性升温方法,吸取15 mL 搅拌均匀的肌原纤维蛋白溶液置于直径25 mm 离心管中,用水浴加热方式以2℃/min 的速度从25℃线性升温至80℃,恒温保持20 min 后取出,快速冷却至4℃,待测。测定前需将凝胶置于室温下平衡1 h,用于凝胶特性的测定。

1.2.3 单因素试验设计 选取大豆分离蛋白添加量、肌原纤维蛋白浓度、离子强度和 pH 对肌原纤维蛋白凝胶特性硬度、弹性和持水性的影响进行研究。

1.2.3.1 大豆分离蛋白添加量对肌原纤维蛋白凝胶特性的影响 将45 mg/mL 的肌原纤维蛋白分别加入到大豆分离蛋白含量(2%、4%、6%、8%、10%)的烧杯中,并用磷酸盐缓冲液(50 mmol/L Na_2HPO_4 , 100 mmol/L NaH_2PO_4 , 0.6 mol/L NaCl, pH6.5)将混合蛋白溶液浓度调至40 mg/mL,研究大豆分离蛋白添加量对肌原纤维蛋白凝胶特性硬度、弹性和持水性的影响。

1.2.3.2 肌原纤维蛋白浓度对肌原纤维蛋白凝胶特性的影响 将肌原纤维蛋白稀释到含量为35、40、45、50、55 mg/mL,然后,分别加入到含6%大豆分离蛋白的烧杯中,并用磷酸盐缓冲液(50 mmol/L Na_2HPO_4 , 100 mmol/L NaH_2PO_4 , 0.6 mol/L NaCl, pH6.5)将混合蛋白溶液浓度调至40 mg/mL,研究肌原纤维蛋白浓度对肌原纤维蛋白凝胶特性硬度、弹性和持水性的影响。

1.2.3.3 离子强度对肌原纤维蛋白凝胶特性的影响 将45 mg/mL的肌原纤维蛋白加入到含6%大豆分离蛋白的烧杯中,并分别用50 mmol/L Na_2HPO_4 , 100 mmol/L NaH_2PO_4 , NaCl 溶液(0.4、0.5、0.6、0.7、0.8 mol/L), pH6.5 的磷酸盐缓冲液将混合蛋白溶液浓度调至40 mg/mL,研究离子强度对肌原纤维蛋白凝胶特性硬度、弹性和持水性的影响。

1.2.3.4 pH 对肌原纤维蛋白凝胶特性的影响 将45 mg/mL的肌原纤维蛋白加入到含6%大豆分离蛋白的烧杯中,并分别用50 mmol/L Na_2HPO_4 , 100 mmol/L NaH_2PO_4 , 0.6 mol/L NaCl, pH5.5、6.0、6.5、7.0、7.5 的1.2.3.1 磷酸盐缓冲液将混合蛋白溶液浓度调至40 mg/mL,研究 pH 对肌原纤维蛋白凝胶特性硬度、弹性和持水性的影响。

1.2.4 响应面试验设计 在单因素试验基础上,选取大豆分离蛋白添加量、肌原纤维蛋白浓度、离子强度和 pH 4 个因素为变量,以凝胶的硬度、弹性和持水性为响应值,应用 Design-Expert 8.0 软件,设计四因素三水平的响应面分析试验设计。响应面试验因素水平见表1。

表1 响应面试验设计因素与水平

Table 1 Factors and levels for Box-Behnken design

指标名称	水平		
	-1	0	1
A 大豆分离蛋白添加量(%)	5	6	7
B 肌原纤维蛋白浓度(mg/mL)	45	50	55
C 离子强度(mol/L)	0.65	0.70	0.75
D pH	6.5	7.0	7.5

1.2.5 测定指标

1.2.5.1 凝胶硬度和弹性的测定 将凝胶样品制成20 mm 厚度,直径为25 mm 的圆柱体,在室温下利用质构仪对肌原纤维蛋白凝胶的硬度和弹性进行测定^[19]。探头类型 P/0.5,参数设置:测前速度1.0 mm/s,测定速度0.5 mm/s,测后速度1.0 mm/s,压缩距离5.0 mm。触发类型:自动,时间5 s,触发力5.0 g。

1.2.5.2 凝胶持水性的测定 取5 g 于4℃条件下保藏24 h 的凝胶,精确称重(M_1),移至50 mL 离心管中称重(M_2),并于5500 r/min 条件下离心15 min。弃上清液后称重(M_3)^[20-21]。

$$\text{凝胶持水性} = (M_3 - M_2 + M_1) / M_1$$

1.3 数据处理

所有数据均为三次重复测定的平均值,结果用平均值±标准差表示。采用 Microsoft 2016 Excel 进行整理,并用 SPSS 19.0 和 Design Expert 8.0 软件进行数据处理及分析。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 大豆分离蛋白添加量对肌原纤维蛋白凝胶特性的影响 由图1可知,随着大豆分离蛋白添加量的增加,凝胶的硬度、弹性及持水性均呈先上升后下降的趋势;当大豆分离蛋白添加量为6%时,凝胶的硬度、弹性及持水性均显著高于其他添加量($P <$

0.05),原因可能是大豆分离蛋白除具有热凝固性和纤维形成性的优良性状外还有凝胶化特性,加热后会增加凝胶强度,但过量添加会造成固形物过多,产生凝结现象导致凝胶品质下降,此结果与罗通彪^[22]研究结果一致。张志芳等^[14]研究也证实大豆分离蛋白的添加有助于提高肌原纤维蛋白凝胶的硬度、弹性和持水性,与本研究结果一致,本研究所选大豆分离蛋白的添加量为6%。

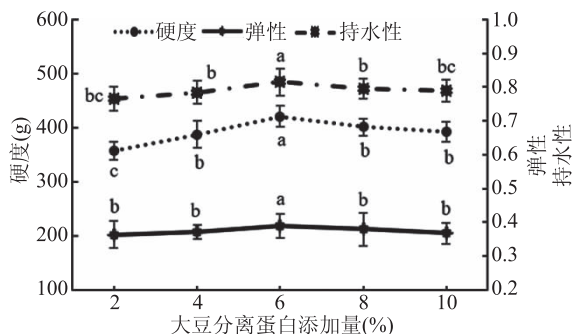


图1 大豆分离蛋白添加量对凝胶硬度、弹性和持水性的影响

Fig.1 Effect of soybean protein isolate addition on gel hardness, resilience and water-holding capacity

注:同一指标不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),图2~图4同。

2.1.2 肌原纤维蛋白浓度对肌原纤维蛋白凝胶特性的影响 图2表征了肌原纤维蛋白浓度对兔肉肌原纤维蛋白凝胶硬度、弹性和持水性的影响。

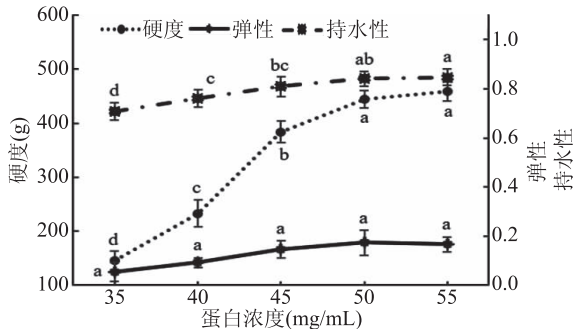


图2 肌原纤维蛋白浓度对凝胶硬度、弹性和持水性的影响

Fig.2 Effect of myofibrillar protein concentration on gel hardness, resilience and water-holding capacity

由图2可知,肌原纤维蛋白热诱导凝胶的硬度、弹性及持水性整体上均随肌原纤维蛋白浓度的增加呈显著上升趋势,且硬度增加的幅度大于弹性及持水性,当肌原纤维蛋白浓度高于50 mg/mL 时,凝胶的硬度、弹性及持水性变化均差异不显著($P > 0.05$),这可能因为蛋白浓度的增加使分子间的间距变小,有利于分子间的相互作用,增加了分子间的凝聚机会,使硬度增大,并改善凝胶网状结构,使弹性增加,同时由于凝胶网状结构可以包裹住水分,使其不易于流失,故持水性也会提升,本研究所选肌原纤维蛋白的浓度为50 mg/mL。

2.1.3 离子强度对肌原纤维蛋白凝胶特性的影响 由图3可知,蛋白热诱导凝胶的硬度、弹性随着离子强度的增加整体呈先增大后减小的变化趋势,

在离子强度为 0.7 mol/L 时达到最大值;而凝胶持水性随着离子强度增加变化不显著 ($P > 0.05$)。离子强度也能通过影响肌原纤维蛋白的溶解进而对凝胶的持水性产生作用;同时,在一定范围内,随着离子强度的提高,凝胶的硬度、弹性和持水性均呈上升趋势,但当离子强度高于 0.7 mol/L 时,硬度减小而弹性趋于稳定,可能是肌原纤维蛋白的溶解度到达临界值的原因,故本研究所选的离子强度为 0.7 mol/L。

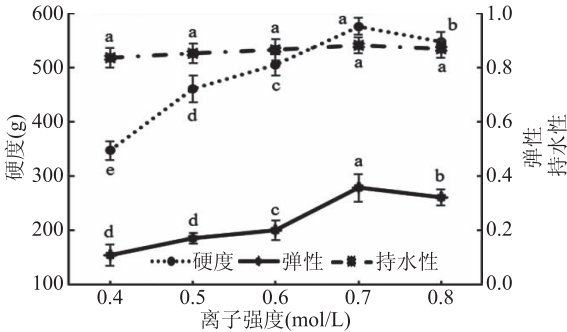


图3 离子强度对凝胶硬度、弹性和持水性的影响
Fig.3 Effect of ion concentration on gel hardness, resilience and water-holding capacity

2.1.4 pH 对肌原纤维蛋白凝胶特性的影响 由图 4 可看出, pH 对肌原纤维蛋白凝胶的硬度、弹性和持水性均有一定影响。其中,凝胶硬度和弹性均随凝胶形成环境 pH 的升高呈先增大后减小的变化趋势,当 pH 为 7.0,硬度和弹性均达到最大值并显著高于其他 pH 处理组 ($P < 0.05$),原因是当 pH 接近等电点范围时,蛋白质分子间疏水作用增强,蛋白溶解度部分或全

部丧失,蛋白质分子无序聚集,形成容易渗水且强度较弱的凝胶,引起凝胶硬度和弹性下降^[23];凝胶持水性随 pH 增大呈缓慢上升趋势,但差异不显著 ($P > 0.05$),可能是因为较高的 pH 有利于蛋白之间静电斥力和蛋白-水作用的增强,本研究所选的 pH 为 7.0。

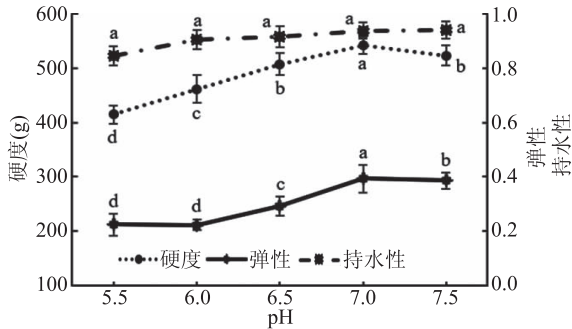


图4 pH 对凝胶硬度、弹性和持水性的影响
Fig.4 Effect of pH on gel hardness, resilience and water-holding capacity

2.2 响应面优化獭兔肉肌原纤维蛋白凝胶诱导条件优化

2.2.1 响应面优化试验结果与分析 根据单因素试验结果,以大豆分离蛋白添加量(A)、肌原纤维蛋白浓度(B)、离子强度(C)和 pH(D)为试验因子,以凝胶硬度(Y_1)、弹性(Y_2)和持水性(Y_3)为响应值,依据 Box- Behnken 原理进行响应面试验设计,试验优化结果见表 2。

2.2.2 各因素对肌原纤维蛋白热诱导凝胶硬度的响应面分析试验

表2 肌原纤维蛋白凝胶响应面试验结果
Table 2 Response surface design and results of protein gel

试验号	A	B	C	D	响应值(Y)		
					Y_1	Y_2	Y_3
1	5	50	0.70	6.50	435.32	0.223	0.8473
2	5	45	0.70	7.00	375.67	0.236	0.8245
3	6	50	0.75	6.50	391.86	0.215	0.8706
4	6	55	0.70	6.50	453.73	0.339	0.9139
5	7	50	0.70	6.50	412.19	0.266	0.8857
6	6	50	0.65	6.50	516.39	0.312	0.8786
7	6	45	0.70	6.50	471.89	0.303	0.8648
8	6	50	0.70	7.00	496.24	0.342	0.9059
9	6	55	0.70	7.50	476.57	0.294	0.8552
10	6	50	0.70	7.00	508.79	0.336	0.9038
11	6	45	0.65	7.00	472.28	0.285	0.8873
12	5	50	0.75	7.00	416.81	0.209	0.8248
13	5	50	0.70	7.50	428.59	0.219	0.8467
14	6	50	0.70	7.00	513.03	0.365	0.8957
15	6	50	0.70	7.00	493.72	0.371	0.8928
16	5	55	0.70	7.00	457.63	0.251	0.8519
17	6	50	0.75	7.50	426.94	0.278	0.8632
18	6	55	0.65	7.00	497.28	0.305	0.8767
19	7	50	0.75	7.00	379.06	0.277	0.8703
20	6	55	0.75	7.00	417.73	0.258	0.8594

续表

试验号	A	B	C	D	响应值(Y)		
					Y ₁	Y ₂	Y ₃
21	5	50	0.65	7.00	428.48	0.284	0.8489
22	7	50	0.65	7.00	463.19	0.341	0.9081
23	6	45	0.75	7.00	393.76	0.273	0.8376
24	6	45	0.70	7.50	415.52	0.308	0.8719
25	6	50	0.70	7.00	467.92	0.263	0.9128
26	7	45	0.70	7.00	435.48	0.276	0.8679
27	6	50	0.65	7.50	471.57	0.234	0.8692
28	7	50	0.70	7.50	449.38	0.312	0.9063
29	7	55	0.70	7.00	458.67	0.307	0.8824

表3 硬度拟合二次多项式模型的方差分析

Table 3 The fitted quadratic polynomial model of ANOVA with hardness

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	40751.23	14	2910.80	10.50	<0.0001	**
A	256.41	1	256.41	0.92	0.3525	
B	3234.41	1	3234.41	11.67	0.0042	**
C	14912.87	1	14912.87	53.79	<0.0001	**
D	13.67	1	13.67	0.049	0.8274	
AB	863.48	1	863.48	3.11	0.0994	
AC	1312.61	1	1312.61	4.73	0.0472	*
AD	482.24	1	482.24	1.74	0.2084	
BC	0.27	1	0.27	9.567E-004	0.9758	
BD	1568.56	1	1568.56	5.66	0.0322	*
CD	1596.00	1	1596.00	5.76	0.0309	*
A ²	13034.63	1	13034.63	47.02	<0.0001	**
B ²	3029.14	1	3029.14	10.93	0.0052	**
C ²	5073.61	1	5073.61	18.30	0.0008	**
D ²	2254.33	1	2254.33	8.13	0.0128	*
残差	3881.25	14	277.23			
失拟项	2633.92	10	263.39	0.84	0.6248	
纯误差	1247.33	4	311.83			
总差	44632.48	28				

注：* 表示差异显著($P < 0.05$)；** 表示差异极显著($P < 0.01$)。

2.2.2.1 模型方程的建立与方差分析 通过 Design-Expert 软件对凝胶硬度进行回归分析,得到如下回归方程:

$$Y_1 = -6927.33 + 789.37A + 52.63B + 11589.05C - 45.265D - 2.94AB - 362.30AC + 21.96AD - 1.03BC + 7.92BD + 799CD - 44.83A^2 - 0.86B^2 - 11187C^2 - 74.57D^2$$

如方差分析表 3 所示,对凝胶硬度建立的回归方程进行显著性检验, $P < 0.001$ 说明模型极显著($P < 0.01$),二次模型的失拟项均不显著($P > 0.05$),且校正系数 R^2_{Adj} (0.8261) 较大,说明所得到的模型与实际值具有良好的拟合性,试验方法可靠,能够满足响应曲面的分析要求。

在凝胶硬度回归模型中,一次项 B ($P = 0.0042$)、C ($P < 0.0001$) 对方程影响极显著($P < 0.01$),交互项 AC ($P = 0.0472$)、BD ($P = 0.0322$) 和 CD ($P = 0.0309$) 均对方程影响显著($P < 0.05$),二次项 A² ($P <$

0.0001)、B² ($P = 0.0052$)、C² ($P = 0.0008$) 对方程影响极显著($P < 0.01$),D² ($P = 0.0128$) 影响显著($P < 0.05$),所得各自变量对凝胶硬度的影响程度大小顺序为:C > B > A > D。

2.2.2.2 各因素对肌原纤维蛋白热诱导凝胶硬度的响应曲面分析 响应面反应两个变量之间交互作用,以及每个变量水平对响应值的影响程度^[24],由此可知各试验变量间的交互作用对凝胶硬度、弹性和持水性的影响。其中,响应曲面越陡表征该变量对响应值的影响作用越大;响应曲面越平缓表征该变量对响应值的影响越小^[25]。

如图 5a~图 5c 所示,大豆分离蛋白添加量和离子强度、蛋白浓度和 pH 以及离子强度和 pH 之等两两之间的交互作用均对凝胶硬度有显著影响,其他交互项均无显著影响(文中未列出)。凝胶硬度随大豆分离蛋白添加量增加呈上升趋势且响应曲面的坡面逐渐变陡,原因可能是大豆分离蛋白的凝胶性可

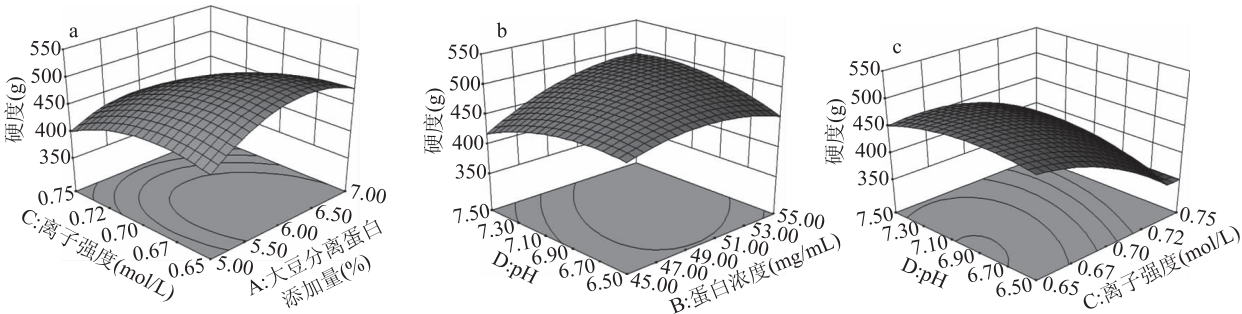


图5 各因素交互作用对肌原纤维蛋白凝胶硬度显著影响的响应面

Fig.5 Response surface of the interactive effects of factors on the gel hardness

以将蛋白溶胶基质“固化”形成具有一定机械强度的网状结构,有效提高了肌原纤维蛋白凝胶的硬度,从而防止已形成的乳化肉糜在加热过程中被破坏^[26]。但随着离子强度的增强,硬度呈先上升后下降的变化,当离子强度为 0.70 mol/L 左右时,凝胶硬度最好,说明离子强度对肌原纤维蛋白凝胶的硬度具有较大影响,离子强度主要通过影响分子的聚集行为和聚集体的大小对凝胶特性造成影响^[27],过高或过低的离子强度均不利于凝胶网状结构的形成和稳定,本研究与 Bertram 等^[12]研究一致。同时,肌原纤维蛋白浓度与 pH 之间的交互作用对凝胶硬度也有显著影响,凝胶硬度随蛋白浓度和 pH 增加整体呈先上升后下降的变化趋势,当 pH 为 6.80 以及蛋白浓度为 51.0 mg/mL 左右时,凝胶的硬度最好;且离子浓度与 pH 之间的交互作用也对凝胶硬度有显著影响,随着 pH 的增大,凝胶硬度呈显著上升变化,但随着离子强度的增大,凝胶硬度呈下降趋势且响应曲面逐渐变陡。

2.2.3 各因素对肌原纤维蛋白热诱导凝胶弹性的响应面分析试验

2.2.3.1 模型方程的建立与显著性检验 通过 Design-Expert 软件对凝胶弹性进行回归分析,得到如下回归方程:

$$Y_2 = -9.59 + 0.29A + 0.11B + 10.19C + 0.79D + 8.00E-004AB + 0.055AC + 0.025AD - 0.035BC - 5.00E-003BD + 1.41CD - 0.04A^2 - 5.41E-004B^2 - 13.61C^2 - 0.12D^2$$

如方差分析表 4 所示,对凝胶弹性所建立的回归方程进行显著性检验, $P = 0.0281 < 0.05$,说明模型显著,二次模型的失拟项均不显著($P > 0.05$),且校正系数 R^2_{Adj} 为 0.4862,说明所得到的模型与实际值具有良好的拟合性,试验方法可靠,能够满足响应曲面的分析要求。

在凝胶弹性回归模型中,一次项 A ($P = 0.0062$) 对方程影响极显著($P < 0.01$),C ($P < 0.0401$) 对方程影响显著($P < 0.05$),交互项 CD ($P = 0.0450$) 对方程

表4 弹性拟合二次多项式模型方差分析

Table 4 The fitted quadratic polynomial model of ANOVA with resilience

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	0.042	14	2.968E-003	2.89	0.0281	*
A	0.011	1	0.011	10.35	0.0062	**
B	4.441E-004	1	4.441E-004	0.43	0.5213	
C	5.250E-003	1	5.250E-003	5.12	0.0401	*
D	1.408E-005	1	1.408E-005	0.014	0.9084	
AB	6.400E-005	1	6.400E-005	0.062	0.8064	
AC	3.025E-005	1	3.025E-005	0.029	0.8661	
AD	6.250E-004	1	6.250E-004	0.61	0.4481	
BC	3.062E-004	1	3.062E-004	0.30	0.5934	
BD	6.250E-004	1	6.250E-004	0.61	0.4481	
CD	4.970E-003	1	4.970E-003	4.84	0.0450	*
A ²	0.012	1	0.012	11.57	0.0043	**
B ²	1.188E-003	1	1.188E-003	1.16	0.3001	
C ²	7.513E-003	1	7.513E-003	7.32	0.0171	*
D ²	5.581E-003	1	5.581E-003	5.70	0.0316	*
残差	0.014	14	1.026E-003			
失拟项	6.934E-003	10	6.934E-004	0.37	0.9060	
纯误差	7.429E-003	4	1.857E-003			
总差	0.056	28				

注: * 表示差异显著($P < 0.05$); ** 表示差异极显著($P < 0.01$)。

表5 持水性拟合二次多项式模型的方差分析

Table 5 The fitted quadratic polynomial model of ANOVA with water-holding capacity

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	0.016	14	1.165E-003	9.31	<0.0001	**
A	6.376E-003	1	6.376E-003	50.94	<0.0001	**
B	6.092E-004	1	6.092E-004	4.87	0.0446	*
C	1.702E-003	1	1.702E-003	13.60	0.0024	**
D	1.952E-004	1	1.952E-004	1.56	0.2322	
AB	4.160E-005	1	4.160E-005	0.33	0.5734	
AC	4.692E-005	1	4.692E-005	0.37	0.5502	
AD	1.124E-004	1	1.124E-004	0.90	0.3595	
BC	2.624E-004	1	2.624E-004	2.10	0.1696	
BD	1.082E-003	1	1.082E-003	8.65	0.0107	*
CD	1.000E-006	1	1.000E-006	7.990E-003	0.9300	
A ²	3.347E-003	1	3.347E-003	26.74	0.0001	**
B ²	2.374E-003	1	2.374E-003	18.96	0.0007	
C ²	2.336E-003	1	2.336E-003	18.67	0.0007	*
D ²	5.421E-004	1	5.421E-004	4.33	0.0563	*
残差	1.752E-003	14	1.252E-004			
失拟项	1.493E-003	10	1.493E-004	2.30	0.2187	
纯误差	2.592E-004	4	6.480E-005			
总差	0.018	28				

注: * 表示差异显著($P < 0.05$); ** 表示差异极显著($P < 0.01$)。

影响显著($P < 0.05$), 二次项 A^2 ($P = 0.0043$) 对方程影响极显著($P < 0.01$), C^2 ($P = 0.0171$) 和 D^2 ($P = 0.0316$) 对方程影响显著($P < 0.05$), 所得各自变量对凝胶弹性的影响程度大小顺序为: $A > C > B > D$ 。

2.2.3.2 各因素对肌原纤维蛋白热诱导凝胶弹性的响应曲面分析 由图6, 交互项蛋白浓度和离子强度之间的相互作用对凝胶弹性有显著影响, 其他交互项均无显著影响(文中未列出)。分析 CD 交互影响的响应面图可知, 离子强度与 pH 的交互作用较强, 随着离子强度和 pH 的增大凝胶弹性呈先上升后下降的变化趋势, 且响应曲面的坡面逐渐变陡, 当离子强度为 0.65~0.70 mol/L, pH 在 6.5~7.0 范围内时, 凝胶具有较好的弹性。pH 主要通过影响蛋白质体系静电荷的数量, 蛋白质表面的静电荷越多, 静电斥力越大, 所形成的凝胶为线性聚集体结构, 较不稳定^[28]。

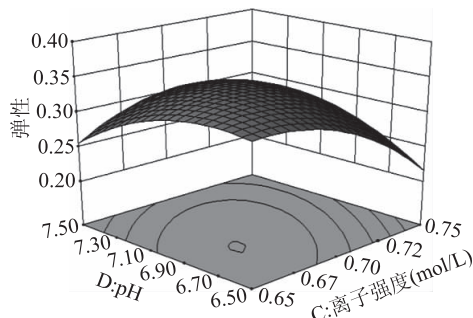


图6 pH 和离子强度交互作用对肌原纤维蛋白凝胶弹性影响的响应面

Fig.6 Response surface of the interactive effects of pH and ion concentration on resilience

2.2.4 各因素对肌原纤维蛋白热诱导凝胶持水性的响应面分析试验

2.2.4.1 模型方程的建立与显著性检验 通过 Design-Expert 软件对凝胶持水性进行回归分析, 得到如下回归方程:

$$Y_3 = -8.43 + 0.30A + 0.11B + 9.04C + 0.76D - 6.45E-004AB - 0.0685AC + 0.01AD + 0.03BC - 6.58E-003BD + 0.02CD - 0.023A^2 - 7.6517E-004B^2 - 7.59C^2 - 0.036D^2$$

如方差分析表所示, 对凝胶持水性所建立的回归方程进行显著性检验 $P < 0.001$, 说明模型极显著($P < 0.01$), 二次模型的失拟项不显著($P > 0.05$), 校正系数 R_{Adj}^2 (0.806) 较大, 说明所得到的模型与实际值具有良好的拟合性, 试验方法可靠, 能够满足响应曲面的分析要求。

在凝胶持水性回归模型中, 一次项 A ($P < 0.0001$)、 C ($P = 0.0024$) 对方程影响极显著($P < 0.01$), B ($P = 0.0446$) 对方程影响显著($P < 0.05$), BD ($P = 0.0107$) 对方程影响显著($P < 0.05$), 二次项 A^2 ($P = 0.0001$)、 B^2 ($P = 0.0007$) 和 C^2 ($P = 0.0007$) 也均对方程影响极显著($P < 0.01$), 所得各自变量对凝胶硬度的影响程度大小顺序为: $A > C > B > D$ 。

2.2.4.2 各因素对肌原纤维蛋白热诱导凝胶持水性的响应曲面分析 如图7, 交互项蛋白浓度和离子强度之间的相互作用对凝胶持水性有显著影响, 其他交互项均无显著影响(文中未列出)。分析 BD 交互影响的响应面图可知, 随着肌原纤维蛋白浓度和 pH 的增大, 凝胶持水性呈上升的变化趋势且响应曲面的坡面逐渐变陡, 主要因为 pH 的增大, 导致蛋白质体系内蛋白所含静电荷增加, 静电斥增大, 蛋白质结合

水的能力也随之增强,进而导致持水性的增强。同时,随着肌原纤维蛋白浓度的增大,凝胶的持水性也逐渐增大,原因是溶解的蛋白质含量的增多,有利于高密度蛋白形成紧密且稳定的立体网状结构,说明蛋白浓度的增加有利于提高凝胶的持水性。

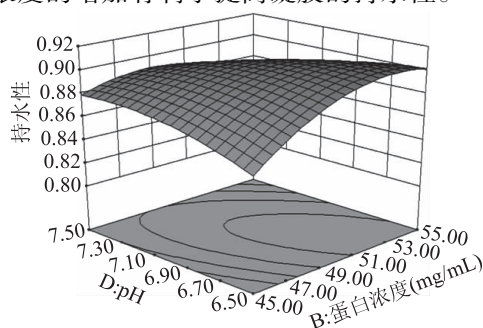


图7 pH和蛋白浓度交互作用对肌原纤维蛋白凝胶持水性影响的响应面

Fig.7 Response surface of the interactive effects of pH and protein concentration on the water-holding capacity

2.3 獭兔肌原纤维蛋白热诱导凝胶最佳制备条件的预测及验证

响应面图形分别是由大豆分离蛋白添加量、肌原纤维蛋白浓度、离子强度和pH等因子之间的交互作用对凝胶硬度、弹性和持水性等响应值的影响程度构成的三维网络结构图,对回归方程进行求解,可预测得到最优的凝胶硬度、弹性和持水性数值,当大豆分离蛋白添加量为6.28%、肌原纤维蛋白浓度为51.22 mg/mL、离子强度为0.67 mol/L、pH为6.87时,肌原纤维蛋白获得最佳的凝胶特性,此时最大硬度值为508.44 g、弹性为0.35、持水性为0.91。为了比较实际测定值和预测值之间的准确性,考虑到实际工作的可操作性,将最优的预测实验条件进行修正并对模型进行实际验证。确定肌原纤维蛋白凝胶最佳制备条件为:大豆分离蛋白添加量6.30%、肌原纤维蛋白浓度51.0 mg/mL、离子强度0.67 mol/L、pH6.85。在此参数下制得的凝胶特性指标为:硬度508.435 g、弹性0.337、持水性0.896,与理论值的相对误差分别为0.70%、3.44%、1.58%。说明回归方程能较真实地反应各因素对肌原纤维蛋白凝胶特性的影响,用响应面法优化獭兔肌原纤维蛋白凝胶最佳诱导工艺所制凝胶特性较好。

3 结论

采用水浴加热线性升温法制备肌原纤维蛋白凝胶,在单因素试验基础之上,以凝胶硬度、弹性和持水性为响应值,建立了评价獭兔肉肌原纤维蛋白凝胶特性的二次多项式模型。结果证明利用响应面确定的该模型是合理的,能用来较好地预测肌原纤维蛋白的凝胶特性。

通过模型分析和实验修正后得到肌原纤维蛋白热诱导凝胶最佳工艺条件为:大豆分离蛋白添加量6.30%、肌原纤维蛋白浓度51.0 mg/mL、离子强度0.67 mol/L、pH6.85,所得凝胶特性指标硬度为508.435 g、弹性为0.337、持水性为0.896。在此最佳工艺条件下的响应值与模型预测值相比,相对误差

分别为硬度0.70%、弹性3.44%、持水性1.58%,说明本研究方法所制凝胶品质较好。

参考文献

- [1] 中国畜牧兽医报. 四川育成我国第一个獭兔新品种[J]. 畜禽业, 2016(2): 43.
- [2] 张岩, 简文素, 汪平. 獭兔肉兔肉氨基酸脂肪酸组分比较分析[J]. 食品工业, 2015, 36(9): 204-207.
- [3] 张岩, 简文素, 汪平, 等. 獭兔肉成熟过程中肉用品质及结构变化特点[J]. 食品科技, 2015, 40(6): 136-141.
- [4] 宋萃. 四川白兔肉及其肌原纤维蛋白热加工特性研究[D]. 重庆: 西南大学, 2017.
- [5] Westphalen A D, Briggs J L, Lonergan S M. Influence of muscle type on rheological properties of porcine myofibrillar protein during heat-induced gelation[J]. Meat Science, 2006, 72(4): 697-703.
- [6] Pietrasik Z, Jarmoluk A, Shand P J. Effect of non-meat proteins on hydration and textural properties of pork meat gels enhanced with microbial transglutaminase[J]. LWT-Food Science and Technology, 2007, 40(5): 915-920.
- [7] Ni N, Wang Z, He F, et al. Gel properties and molecular forces of lamb myofibrillar protein during heat induction at different pH values[J]. Process Biochemistry, 2014, 49(4): 631-636.
- [8] 夏秀芳, 孔保华, 张宏伟. 肌原纤维蛋白凝胶形成机理及影响因素的研究进展[J]. 食品科学, 2017, 38(7): 63-69.
- [9] 孔保华, 王宇, 夏秀芳, 等. 加热温度对猪肉肌原纤维蛋白凝胶特性的影响[J]. 食品科学, 2011, 32(5): 50-54.
- [10] 冯美琴, 刘雯燕, 孙健, 等. 不同NaCl浓度条件下亚麻籽胶对肉糜乳化凝胶特性的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(24): 48-53.
- [11] 崔旭海, 毕海丹, 崔晓莹, 等. 不同食用蛋白的添加对鲤鱼鱼糜流变和凝胶特性的影响[J]. 食品工业科技, 2018, 39(16): 195-225.
- [12] Bertram H C, Kristensen M, Andersen H J. Functionality of myofibrillar proteins as affected by pH, ionic strength and heat treatment—a low-field NMR study[J]. Meat Science, 2004, 68(2): 249-256.
- [13] Chantrapornchai W, McClements D J. Influence of NaCl on optical properties, large-strain rheology and water holding capacity of heat-induced whey protein isolate gels[J]. Food Hydrocolloids, 2002, 16(5): 467-476.
- [14] 张志芳, 潘道东, 孙杨赢, 等. 模糊数学结合响应曲面法优化麻鸭肌原纤维蛋白凝胶工艺[J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(6): 149-154.
- [15] Xiong Y L, Brekke C J. Changes in protein solubility and gelation properties of chicken myofibrils during storage[J]. Journal of Food Science, 1989, 54(5): 1141-1146.
- [16] 杨志敏. 生物化学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 2015: 21-24.
- [17] 李亚楠. 鸭肉中肌原纤维蛋白的提取及凝胶特性的研究[D]. 天津: 天津商业大学, 2012.
- [18] 费英, 韩敏义, 杨凌寒, 等. pH对肌原纤维蛋白二级结构及其热诱导凝胶特性的影响[J]. 中国农业科学, 2010, 43(1): 164-170.
- [19] Chin K B, Go M Y, Xiong Y L. Konjac flour improved

(下转第151页)

顺序为:谷朊粉>真菌 α -淀粉酶>单甘酯>木聚糖酶,其中谷朊粉和单甘酯的交互作用对感官评分有极显著影响。本实验制备的食用菌馒头相较于小麦粉馒头,氨基酸更加均衡,营养性更高。此外,制备的食用菌馒头经过改良后,感官品质接近正常的小麦粉馒头,内部呈现蓬松多孔的结构。将食用菌渗透到主食中,开发食用菌营养主食,依托主食工业强大的市场空间和发展潜力而发展,应该成为我国食用菌加工业新的经济增长点。

参考文献

[1] Patel S, Goyal A. Recent developments in mushrooms as anticancer therapeutics: A review[J]. *Biotechnology*, 2012, 2(1): 1-15.

[2] 郭晓帆, 杨蓓蓓, 王欣悦, 等. 食用菌加工产品发展前景分析[J]. *现代园艺*, 2018(4): 21.

[3] 侯瑞明. 食用菌的经济价值及其加工利用分析[J]. *农产品加工*, 2018(11): 74-76.

[4] Zhu F. Influence of ingredients and chemical components on the quality of Chinese steamed bread[J]. *Food Chemistry*, 2014, 163: 154-162.

[5] 高晶晶, 李贞. 燕麦粉添加量对馒头营养特性及活性化合物的影响[J]. *粮食与油脂*, 2017, 30(9): 86-91.

[6] 孙聘, 田少君, 郭兴凤. 豌豆蛋白及豌豆粉对馒头品质的影响[J]. *粮油加工*, 2008(3): 81-83.

[7] 张剑, 肖志刚, 李梦琴, 等. 大豆粉对馒头品质影响的研究[J]. *粮食与饲料工业*, 2007(12): 7-8.

[8] Lin S Y, Chen H H, Shin L U, et al. Effects of blending of wheat flour with barley flour on dough and steamed bread properties[J]. *Journal of Texture Studies*, 2012, 43(6): 438-444.

[9] Cheung P C K. Mini-review on edible mushrooms as source of dietary fiber: Preparation and health benefits[J]. *Food Science and Human Wellness*, 2013, 2(3/4): 162-166.

[10] FAO/WHO. Energy and protein requirements[R]. Geneva: World Health Organization, 1973.

[11] 杜冉, 郑新雷, 王世雄, 等. 真空微波干燥技术对食用面粉品质的影响[J]. *食品科技*, 2018, 43(7): 72-82.

[12] 范勇. 辣椒精中辣椒碱的提取纯化工艺研究[D]. 济南: 齐鲁工业大学, 2016.

[13] 刘洋. 豆腐渣粉对面团和面包品质特性的影响研究[D]. 新乡: 河南科技学院, 2013.

[14] 王小媛, 王文静, 丁俊豪, 等. 红枣粉对小麦面团特性以及微观结构的影响[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(9): 28-32, 39.

[15] 侯飞娜, 木泰华, 孙红男, 等. 不同品种马铃薯全粉蛋白质营养品质评价[J]. *食品科技*, 2015(3): 49-56.

[16] 刘甲. 杂粮米型营养强化剂的配方设计及其品质和贮藏稳定性的研究[D]. 重庆: 西南大学, 2010.

[17] 杨炜, 蔺艳君, 刘丽娅, 等. 小麦馒头品质评价方法优化[J]. *食品科学技术学报*, 2016, 34(2): 31-38.

[18] Roininen K. Effects of gluten and transglutaminase on microstructure, sensory characteristics and instrumental texture of oat bread[J]. *Agricultural and Food Science*, 2004, 13(1): 138-150.

[19] Van Steertegem, Bénédicte, Pareyt B, et al. The role of gluten proteins in production and quality of a yeast leavened sugar and fat rich wheat based food model system[J]. *Food Research International*, 2014, 62: 991-997.

[20] Pommet M, Redl A, Morel M, et al. Study of wheat gluten plasticization with fatty acids[J]. *Polymer*, 2003, 44(1): 115-122.

[21] Ross A. Catharine, Modern nutrition in health and disease[M]. Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams and Wilkins, 2014: 1616.

[22] 徐宝财, 王瑞, 张桂菊, 等. 国内外食品乳化剂研究现状与发展趋势[J]. *食品科学技术学报*, 2017, 35(4): 1-7.

[23] 林金剑. 多种谷物馒头粉的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2008.

[24] 崔兆惠, 赵文华, 李书国. 酶制剂在全麦食品品质改良中的应用研究[J]. *粮食与油脂*, 2016(2): 82-85.

[25] 杨炜. 酶制剂在全麦馒头品质改良中的应用及其机理研究[D]. 无锡: 江南大学, 2017.

[26] 方秀利, 孙辉, 曹颖君, 等. 利用图像分析仪评价馒头品质的研究(摘登)[J]. *粮食科技与经济*, 2012, 28(b12): 29.

[27] Jiang Z, Cong Q, Yan Q, et al. Characterisation of a thermostable xylanase from *Chaetomium* sp. and its application in Chinese steamed bread[J]. *Food Chemistry*, 2010, 120(2): 457-462.

[28] Laurikainen T, Harkonen H, Autio K, et al. Effects of enzymes in fibre-enriched baking[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2015, 76(2): 239-249.

[29] 郭宏奎, 李冬, 雷雄, 等. 花椒多酚提取工艺响应面优化及动力学分析[J]. *食品科学*, 2018, 39(2): 247-253.

(上接第 143 页)

textural and water retention properties of transglutaminase-mediated, heat-induced porcine myofibrillar protein gel: Effect of salt level and transglutaminase incubation[J]. *Meat Science*, 2009, 81(3): 565-572.

[20] 潘君慧, 刘泽龙. 冻藏方式对猪肉肌原纤维蛋白氧化及凝胶特性的影响[J]. *食品工业科技*, 2013, 21(34): 313-316.

[21] 孔杭如, 孙莎, 唐善虎, 等. 牦牛肌原纤维蛋白与热改性大豆分离蛋白共凝胶条件的优化[J]. *食品科学*, 2015, 36(14): 44-49.

[22] 罗通彪. 大豆分离蛋白对鱼糜凝胶特性的影响[J]. *食品工程*, 2015(4): 37-40.

[23] 周心雅, 贺雅非, 李洪军, 等. 酸碱度对兔肉肌原纤维蛋白功能特性的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2017, 43(11):

172-179.

[24] 刁岩, 陈斌, 王蕊, 等. 响应面法优化松多酚微粒制备工艺[J]. *食品科学*, 2019, 40(6): 281-288.

[25] Mariá Benito M J, Rodríguez M, Acosta R, et al. Effect of the fungal extracellular protease EPg222 on texture of whole pieces of pork loin[J]. *Meat Science*, 2003, 65(2): 877-884.

[26] 李令平. 鸡胸肉中肌原纤维蛋白的提取及其凝胶特性的研究[D]. 天津: 天津商业大学, 2008.

[27] 刘德阳. 盐离子对大豆分离蛋白凝胶特性和微结构影响研究[D]. 无锡: 江南大学, 2015.

[28] Durand D, Gimel J C, Nicolai T. Aggregation, gelation and phase separation of heat denatured globular proteins[J]. *Physical A*, 2002(304): 253-265.