

## 加工方式对牛肉蛋白质氧化的影响

代媛媛, 李美莹, 李琳, 陈瑞琦, 查恩辉

### Effect of Processing Methods on Protein Oxidation of Beef

DAI Yuanyuan, LI Meiyang, LI Lin, CHEN Ruiqi, and ZHA Enhui

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021040226>

## 您可能感兴趣的其他文章

### Articles you may be interested in

#### 洋葱皮乙醇提取物对冷却牛肉颜色、脂质和蛋白质氧化稳定性的影响

Effect of Ethanol Extract from Onion Skin on Color, Lipid and Protein Oxidative Stability of Fresh Beef

食品工业科技. 2021, 42(18): 342-349

#### 水煮牛肉冷藏期间脂质和蛋白质氧化与质构特性变化

Changes of Lipid Oxidation, Protein Oxidation and Texture Properties in Braised Beef during Chilled Storage

食品工业科技. 2018, 39(17): 79-83,88

#### 水产品贮藏加工中的蛋白质氧化对其结构性质及品质的影响研究进展

Effects of Protein Oxidation on the Structural Properties and Quality of Aquatic Products during Storage and Processing

食品工业科技. 2019, 40(18): 319-325,333

#### 添加含磷与非磷保水剂对牦牛肉肉糜蛋白质氧化的影响

Effects of phosphorus and phosphorus-free agent on protein oxidation of yak meat batters

食品工业科技. 2017(16): 234-238

#### 羟基自由基氧化对蛋清蛋白质结构的影响

Effect of hydroxyl radical oxidation system on structure of egg white protein

食品工业科技. 2017(08): 113-117

#### 加工方式对添加复合脂肪替代物生鲜鸡排品质的影响

Effect of processing methods on the quality of fresh chicken chops adding compound fat substitutes

食品工业科技. 2018, 39(2): 28-35



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

代媛媛, 李美莹, 李琳, 等. 加工方式对牛肉蛋白质氧化的影响 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(2): 70–76. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021040226

DAI Yuanyuan, LI Meiyang, LI Lin, et al. Effect of Processing Methods on Protein Oxidation of Beef[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(2): 70–76. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021040226

# 加工方式对牛肉蛋白质氧化的影响

代媛媛, 李美莹, 李琳, 陈瑞琦, 查恩辉\*

(锦州医科大学食品科学与工程学院, 辽宁锦州 121000)

**摘要:** 为了研究热加工过程中蛋白质氧化的变化规律, 以牛腱子和牛肩为研究对象, 对其进行不同温度 (40、50、60、70、80、90、100 °C, 保温时间 30 min) 以及 70 kPa 高压下保温不同时间 (15、20、25、30、35 min) 的热处理, 通过分析羰基含量、巯基含量、蛋白粒径、表面疏水性、SDS-PAGE 电泳以及蛋白二级结构等的变化, 结果表明: 温度可以导致蛋白羰基含量增加, 巯基含量先升高后降低, 蛋白粒径增大, 蛋白表面疏水性先增大后减小; 高压导致蛋白羰基含量增加, 巯基含量减少, 蛋白粒径先增大后减少, 蛋白疏水性逐渐增加。另外, 不同热处理下肌原纤维蛋白发生了明显的降解聚集, 出现大量小分子蛋白质。红外研究发现在热加工过程中, 肌原纤维蛋白的二级结构不断转变, 促使  $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -折叠和无规则卷曲之间的转换。可知, 温度和压力都能促进牛肉蛋白的氧化并能够改变牛肉蛋白的化学作用力及二级结构。本研究为低温牛肉产品的工业化调控提供理论依据。

**关键词:** 蛋白质氧化, 加工方式, 牛肉, 高压处理

中图分类号: TS251.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)02-0070-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021040226

本文网刊:



## Effect of Processing Methods on Protein Oxidation of Beef

DAI Yuanyuan, LI Meiyang, LI Lin, CHEN Ruiqi, ZHA Enhui\*

(College of Food Science and Engineering, Jinzhou Medical University, Jinzhou 121000, China)

**Abstract:** In order to study the changes of protein oxidation during heat processing, cattle tendon and shoulder were treated at different temperatures (40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 °C, holding time 30 min) and at 70 kPa high pressure for different times (15, 20, 25, 30, 35 min). The changes of carbonyl content, sulfhydryl content, protein particle size, surface hydrophobicity, SDS-PAGE electrophoresis and protein secondary structure were analyzed. The results showed that temperature could lead to the increasing of protein carbonyl content, sulfhydryl content first increased and then decreased, protein particle size increased, protein surface hydrophobicity first increased and then decreased. High pressure resulted in the increasing of protein carbonyl content, the decreasing of protein sulfhydryl content, the increasing of protein particle size and the increasing of protein hydrophobicity. In addition, myofibrillar proteins were degraded and aggregated obviously under different heat treatments, and a large number of small molecular proteins appeared. Infrared studies showed that the secondary structure of myofibrillar protein changes during heat processing, which urged the formation of the secondary structure of myofibrillar protein  $\alpha$ -spiral  $\beta$ -the conversion between folding and irregular curling. It was concluded that temperature and pressure could promote the oxidation of beef protein and change the chemical force and secondary structure of beef protein. This study would provide a theoretical basis for the industrial regulation of low-temperature beef products.

**Key words:** protein oxidation; processing methods; beef; high pressure treatment

牛肉中蛋白质是人类能量和必需氨基酸的重要来源。加热温度是影响牛肉性能和微生物灭活阶段的关键因素之一。高压能有效消除致病菌和食品腐败菌, 提高食品的安全性并延长保质期<sup>[1]</sup>。蛋白质在

热处理过程中会经历结构修饰如氧化、聚集、降解和变性。蛋白质氧化涉及许多其他精确的化学修饰, 如色氨酸损失、羰基化、羧化和交联的形成<sup>[2-4]</sup>。

近几年, 国内外学者针对肉类在加热及高压过程

收稿日期: 2021-04-26

基金项目: 辽宁省自然科学基金指导计划 (2019-ZD-0605, 2019-ZD-0826)。

作者简介: 代媛媛 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 农产品加工与贮藏工程, E-mail: 1379243593@qq.com。

\* 通信作者: 查恩辉 (1979-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 畜产品质量安全, E-mail: 919338361@qq.com。

中蛋白质氧化测定的部分指标研究较广。曹莹莹<sup>[5]</sup>研究发现随着压力增加,肌球蛋白的疏水基团和巯基含量逐渐增加。Wan 等<sup>[6]</sup>研究结论得出,温度从 80 ℃ 升高到 90 ℃ 时,水溶性胶原蛋白含量增加,对牛肉制品的风味、口感、嫩度和总体偏好无不良影响。Pang 等<sup>[7]</sup>发现蒸煮过程中肌球蛋白和肌动蛋白含量的变化相似,说明肌原纤维蛋白的变性在蒸煮损失中起着关键作用。结果表明,肉类的蒸煮温度和蛋白质变性之间有很强的相关性,说明加热温度引起了肉类蛋白质的变化。Scholliers 等<sup>[8]</sup>研究发现在加热过程中,牛肉蛋白凝胶特性与疏水相互作用的形成有关,加热后肉蛋白表面疏水性的增加证实了这一点。Han 等<sup>[9]</sup>在 20~74 ℃ 条件下测定了蛋白质的构象和化学键,结果表明,在 55 ℃ 以上,表面疏水性显著增强,游离巯基含量降低。Edyta 等<sup>[10]</sup>研究发现在压力处理下会导致肉中蛋白质的变性和聚集现象。Stéphanie 等<sup>[11]</sup>发现当压力超过 300 MPa 时,蛋白质氧化产物增加,结构发生不可逆变化。热处理对牛肉蛋白质氧化、结构和性能的影响国内外报道较少,不同部位的牛肉品质不同,适宜的加工方法也不同。

因此,本文研究对热加工过程中不同温度和 70 kPa 高压下不同保压时间对牛肉中羰基含量、巯基含量、蛋白粒径、表面疏水性,十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate - polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)和蛋白二级结构进行分析,以探究蛋白质氧化在热加工过程中的变化规律,为选择合适的原料,实现牛肉价值最大化,以及生产出不同加工方法下质优价廉的标准化产品提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

牛腱子、牛肩 锦州新玛特超市;浓盐酸、磷酸氢二钠、氯化钠、磷酸二氢钠、盐酸胍、氯化镁、甲醇、溴化钾、冰醋酸、乙醇、甘油、尿素、考马斯亮蓝染色液 唐山三鼎化工有限公司;溴酚蓝、Tris、 $\beta$ -巯基乙醇、乙酸乙酯、2,4-二硝基苯肼、三氯乙酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、2-硝基苯甲酸(DTNB)、十二烷基硫酸钠(SDS) 烟台健硕化工有限公司;所有试剂均为分析纯。

JD-3 电子天平 沈阳龙腾电子有限公司;KH20R 高速冷冻离心机 湖南凯达科学仪器有限公司;CH6 数字显示温度计 上海亚度电子科技有限公司;JJ-2 高速匀浆机 常州润华电器有限公司;HH-4D 恒温水浴锅 上海比朗仪器制造有限公司;U-T6 紫外可见分光光度计 屹谱仪器制造有限公司;DYCZ-25D 型双垂直电泳 济南好来宝医疗器材有限公司;PHSJ-5 型 pH 计 上海仪电科学仪器股份有限公司;NKT-N9 纳米粒度仪 山东耐克特分析仪器有限公司;Great20 傅立叶红外光谱仪 中科瑞捷科技有限公司;FD-1A-50 冷冻干燥机 上海争巧科

学仪器有限公司;高压锅 美的公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 样品预处理 清洗牛肉,然后去除脂肪和筋膜,切成 3.0 cm×4.0 cm×5.0 cm 的长方体,放在 4 ℃ 的冰箱备用。处理牛肉分别采用两种加工方式。

水浴加热组:水浴锅温度设为 40、50、60、70、80、90、100 ℃,加热 30 min。

高压保温组:压力为 70 kPa,温度为 110 ℃,保压时间设为 15、20、25、30、35 min。

1.2.2 肌原纤维蛋白的提取 参考 Zhong 等<sup>[12]</sup>方法稍加修改。将样品冷却至室温,称取 10 g,加入 20 mmol/L 磷酸盐缓冲液(含 1 mmol/L EDTA, 0.1 mol/L NaCl 和 pH7.0)定容至 100 mL,混合,摇匀,匀浆后在 6000 r/min 和 4 ℃ 下离心 10 min,取沉淀,加入 50 mL 20 mmol/L 磷酸盐缓冲液,在上述条件下离心,重复 3 次,然后加入 25 mmol/L 磷酸盐缓冲液(含 0.6 mol/L NaCl, pH7.0),使沉淀均匀。用四层纱布过滤,滤液为肌原纤维蛋白溶液。以牛血清蛋白为标准,在 280 nm 处测定吸光度,用双缩脲法测蛋白浓度(mg/mL)。经考察,回归方程  $y=0.0501x+0.0022$ ,  $R^2=0.9998$ 。

1.2.3 羰基含量的测定 参考 Marco 等<sup>[13]</sup>方法稍加修改。取 0.1 mL 蛋白溶液和 0.5 mL 二硝基苯肼(DNPH)(溶剂为 2 mol/L HCl),空白样品不加 DNPH,暗室静置 1 h(每 20 min 摇动 1 次),加 5 mL 20% 三氯乙酸,摇匀后,在 10000 r/min, 15 min 条件下 4 ℃ 离心,弃上清。沉淀用 1 mL 乙酸乙酯-乙醇溶液(1:1)洗涤 3 次。加入 1 mL 6 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸胍溶液,在 37 ℃ 水浴 20 min,然后 10000 r/min 下离心 5 min。在 370 nm 波长处测定吸光度,羰基含量通过 22000 L/(mol·cm)的摩尔吸收率计算。

$$\text{羰基含量} = \frac{A_{370} \times 10^6}{22000 \times C}$$

式中:  $A_{370}$  为 370 nm 下的吸光度  $10^6$  为摩尔基础单位;  $C$  为测得的蛋白浓度(mg/mL)。

1.2.4 巯基含量的测定 参考 Yang 等<sup>[14]</sup>方法稍加修改。取 0.1 mL 蛋白溶液、1 mL 50 mmol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl 缓冲液(含有 1 mmol·L<sup>-1</sup> EDTA、6 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸胍, pH8.3)以及 10  $\mu$ L 10 mmol·L<sup>-1</sup> DTNB,混合摇匀,室温下静置 25 min,在 412 nm 处测定吸光度。巯基含量由 13600 L/(mol·cm)的摩尔吸收率计算。

$$\text{巯基含量} = \frac{A_{412} \times 10^6}{13600 \times C}$$

式中:  $A_{412}$  为 412 nm 下的吸光度;  $10^6$  为摩尔基础单位;  $C$  为测得的蛋白浓度(mg/mL)。

1.2.5 粒径的测定 参考 Zhang 等<sup>[15]</sup>方法稍加修改。利用纳米粒度仪测定蛋白质粒径。以去离子水为分散剂,粒子的折射率为 1.414,吸收率为 0.001。

1.2.6 表面疏水性的测定 参考 Zhu 等<sup>[16]</sup>方法稍加

修改。取 1 mL 蛋白溶液,加入 40  $\mu$ L 溴酚蓝溶液 (1 mg/mL),振荡 10 min,4  $^{\circ}$ C 下 2000 r/min 离心 15 min,取上清稀释 10 倍,在 595 nm 处测定吸光度。空白对照为 20 mmol/L 磷酸盐缓冲液。表面疏水性计算公式如下:

$$\text{表面疏水性}(\mu\text{g}) = 40 \times (A_{\text{空白}} - A_{\text{样品}}) / A_{\text{样品}}$$

式中:  $A_{\text{空白}}$  为空白组的吸光度;  $A_{\text{样品}}$  为样品组的吸光度。

**1.2.7 SDS-PAGE 凝胶电泳** 参考 Shi 等<sup>[17]</sup> 方法稍加修改。电泳采用 10% 分离胶和 5% 浓缩胶。每个时期的上样液量为 5  $\mu$ L,初始电泳电压为 75 V,样品进入分离胶后,升压至 100 V,电泳结束后剥离胶片,考马斯亮蓝染色 30 min,再用脱色液脱色 3 次。

**1.2.8 傅里叶变换红外光谱测定** 参考 Kun 等<sup>[18]</sup> 方法稍加修改。蛋白样品在 -20  $^{\circ}$ C 冷冻 5 h,然后在冷冻干燥机中干燥 12 h,取 1 mg 样品放入研钵再和 100 mg 溴化钾充分研磨成细粉。在模具内使分布均匀,将模具水平放置在模座上,加压至 10 t/cm<sup>2</sup>,保持 1 min,用傅里叶红外光谱仪进行分析,条件为:光谱范围: 500~4000 cm<sup>-1</sup>,分辨率: 4 cm<sup>-1</sup>,扫描积累 32 次。

### 1.3 数据处理

采用 Office 2019 进行数据处理及图表绘制,计算标准差。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同加热方式对蛋白羰基含量的影响

羰基的形成是蛋白质氧化的一个明显标志,反映了蛋白氧化损伤的程度。由图 1 可见,随着温度的升高和保压时间的延长,蛋白质羰基含量逐渐增加。在蒸煮和高压加热过程中,蛋白质结构发生变化,大部分肌浆蛋白、肌球蛋白和肌动蛋白变性,细胞膜结构遭到破坏,导致铁等过渡金属离子释放。活性氧和无氧自由基是由催化剂或前体产生的,包括一些血红素、过渡金属离子和各种氧化酶。这些自由基攻击蛋白质,催化蛋白质氧化,导致羰基含量增加<sup>[19]</sup>。羰基值的增加也可能是脂质氧化的产物。肽骨架裂解成短肽和蛋白质也可以与还原糖反应生成羰基。热处理后的牛肉肌原纤维蛋白发生蛋白质氧化反应,由于水浴持续加热时间较长,更容易诱导肉中脂肪氧化和蛋白质羰基的形成。但高压下升温速度快,可能导致脂肪氧化和羰基氧化水平低于水浴加热。牛腱子的羰基含量较牛肩低,是由于牛腱子脂肪含量较牛肩低,所以氧化程度较低。Xiong 等<sup>[20]</sup> 发现超高压与热处理相结合时,猪肉脂肪氧化程度增加,这可能是蛋白质氧化的诱因之一。

### 2.2 不同加热方式对蛋白巯基含量的影响

肌原纤维蛋白中存在大量巯基,氧化条件下易转化为二硫键,造成巯基含量下降。所以,巯基对维持蛋白质的结构稳定性起着重要作用。

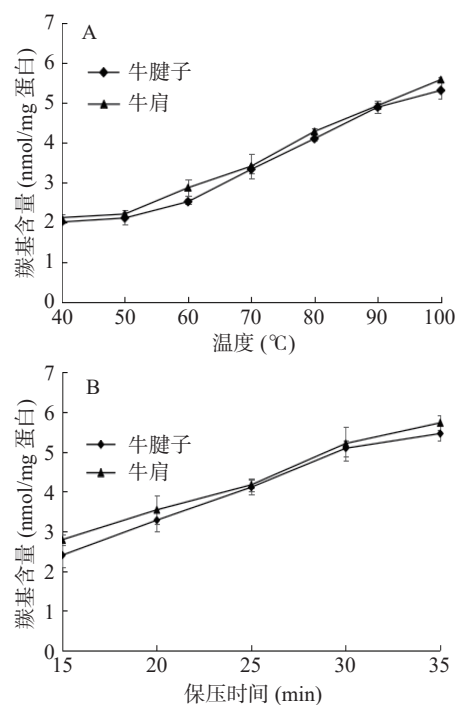


图 1 不同加热方式对蛋白羰基含量的影响

Fig.1 Effect of different heating methods on protein carbonyl content

注: A: 水浴, B: 高压; 图 2~图 4 同。

由图 2A 可知,随着温度的升高,巯基含量先升高后降低。热加工过程影响肌动球蛋白的解离程度,40~60  $^{\circ}$ C 可以导致肌动蛋白解离,60  $^{\circ}$ C 是促进肌动蛋白解离的最佳温度,因此 60  $^{\circ}$ C 时巯基含量最高<sup>[21]</sup>。当温度继续升高时,肌动球蛋白构象改变,巯基被氧化成二硫键,使巯基含量降低。从图 2B 可以看出,巯基含量随着保压时间的增加而减少。这表明肌原纤维蛋白在高压处理下打开,巯基通过二硫键聚集。因为在高压处理下巯基暴露在分子表面,与空气中的氧充分结合形成二硫键致使巯基减少<sup>[22]</sup>。万红兵等<sup>[23]</sup> 发现,在牛排的油炸过程中,热处理对巯基和二硫键的含量有显著影响,牛肉蛋白中巯基含量先升高后降低。

### 2.3 不同加热方式对蛋白粒径的影响

粒径是反应蛋白聚集状态的一个指标,在一定程度上可以反映反应蛋白在降解过程中的状态。

由图 3 可知,随着温度的升高和保压时间的延长,蛋白质的粒径逐渐增大。在 80  $^{\circ}$ C、保压 25 min 时,牛腱子的粒径最大,而在 70  $^{\circ}$ C、保压 25 min 时,牛肩的粒径最大;继续加热,蛋白质的粒径逐渐减小,这进一步说明在热加工过程中,蛋白质在加热的作用下首先形成聚集现象。另一方面,然后持续加热,蛋白质变性,使其中一些不耐热的化学键发生断裂,减弱了交联作用,结果蛋白质聚集体被部分破坏,因此粒径变小<sup>[24]</sup>。在高压过程中,当时间在 15~25 min 时,蛋白质进一步变性,蛋白质膨胀程度增加,变性蛋白通过分子内或分子间的相互作用增强了蛋白质的



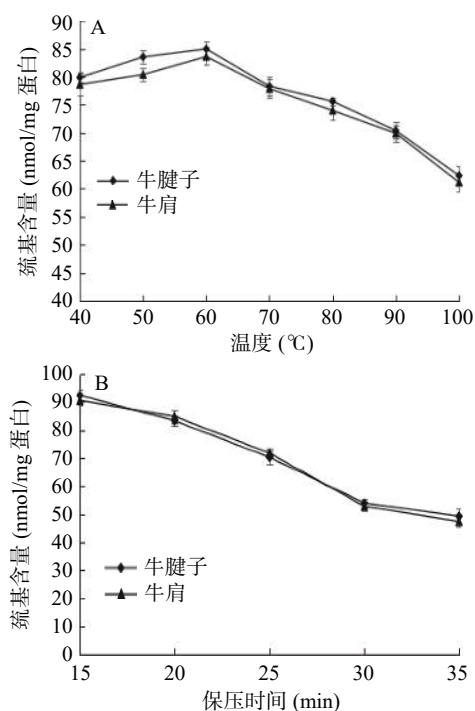


图 2 不同加热方式对蛋白巯基含量的影响

Fig.2 Effect of different heating methods on protein sulfhydryl content

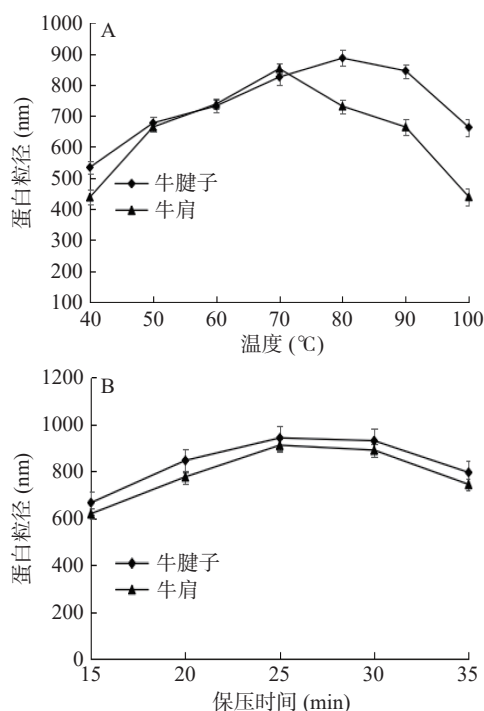


图 3 不同加热方式对蛋白粒径的影响

Fig.3 Effect of different heating methods on protein particle size

聚集程度,形成的聚集物尺寸增大,导致蛋白质粒径增大;随着时间的进一步增加,蛋白质的聚集率增加,打破了蛋白质变性率和聚集率之间的平衡,形成的聚集物无序,不能形成较大的聚集物,或者形成的聚集物不稳定,不能保持原来的形态,导致粒径减小<sup>[25]</sup>。

#### 2.4 不同加热方式对蛋白表面疏水性的影响

蛋白质的表面疏水性反映其结构稳定性,并影

响蛋白凝胶形成。疏水相互作用对蛋白凝胶的形成和蛋白结构的稳定性起着非常重要的作用。

由图 4A 得出,随着温度的升高,蛋白质的表面疏水性逐渐增加,在 80 °C 时牛腱子达到最大值,在 70 °C 时牛肩达到最大值,然后随温度升高而降低。其原因可能是随着温度的升高,蛋白质疏水侧链的暴露程度增加,使蛋白质的水溶性环境变为疏水性环境,导致表面疏水性增加。70~80 °C 后肌球蛋白变性,肌原纤维蛋白聚集与侧链之间发生反应,产生沉淀<sup>[26-27]</sup>。随着蛋白质聚集度的增加,少量疏水基团被再次包埋,疏水基团的结合降低了表面疏水性。从图 4B 可以看出,蛋白质的疏水性随着保压时间的增加而增加。压力使肌原纤维蛋白展开,暴露出蛋白质的疏水残基,同时压力可诱导蛋白质表面出现特殊氨基酸残基,导致疏水性增加。表面疏水性变化也可能是因为蛋白质的降解。

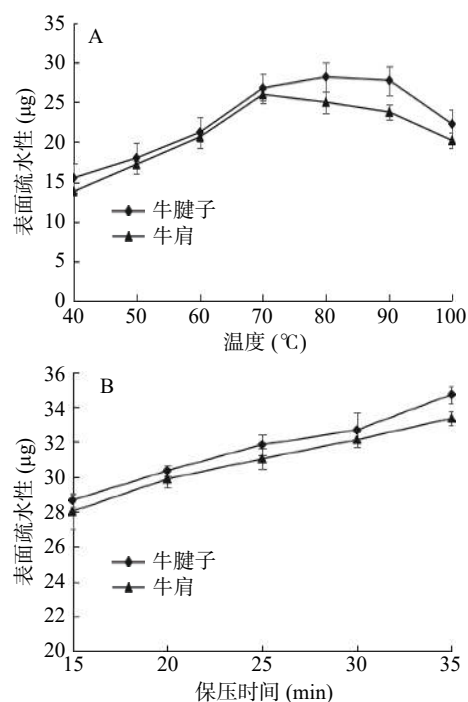


图 4 不同加热方式对蛋白表面疏水性的影响

Fig.4 Effect of different heating methods on hydrophobicity of protein surface

#### 2.5 SDS-PAGE 凝胶电泳结果

肌原纤维蛋白主要由副肌球蛋白(100 kDa)、肌钙蛋白(75 kDa)、肌动蛋白(43 kDa)、肌球蛋白重链(200 kDa)等组成。

肌原纤维蛋白经高温高压后进一步降解,造成其变性。如图 5 所示,随着温度升高,牛腱子中的肌原纤维蛋白出现降解和聚集,导致许多电泳条带在 245~75 kDa 范围内明显模糊,甚至消失。随着温度的升高,200 kDa 处的肌球蛋白重链带颜色逐渐变浅,在 50~80 °C 时可以看到条带密度的明显变浅,这可能是由于高温加热,导致蛋白质之间产生了相互作用,在 90~100 °C 温度下条带基本消失,表明温度过

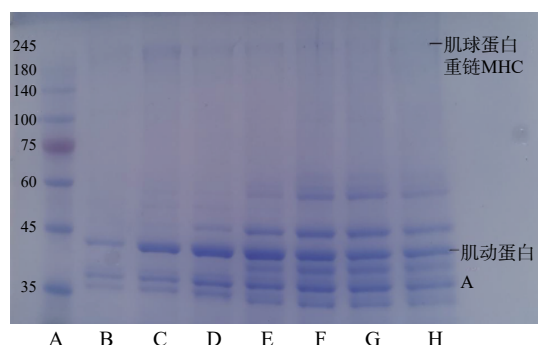


图5 不同温度下牛腱子蛋白质 SDS-PAGE 电泳图

Fig.5 SDS-PAGE electrophoresis of bovine tendon protein at different temperatures

注: A: 标准蛋白; B: 40 °C; C: 50 °C; D: 60 °C; E: 70 °C; F: 80 °C; G: 90 °C; H: 100 °C。

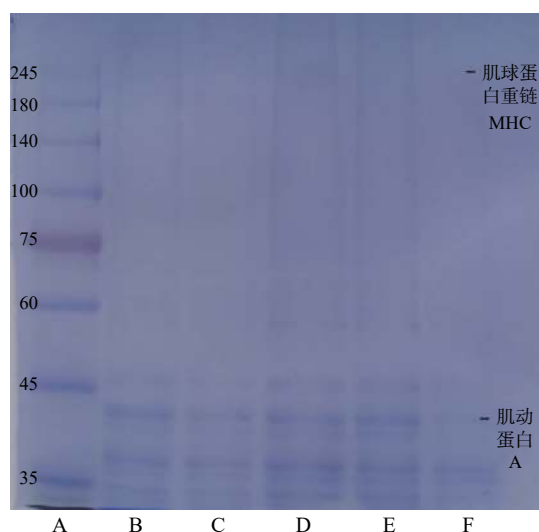


图6 不同保压时间对牛腱子蛋白质 SDS-PAGE 电泳图

Fig.6 SDS-PAGE electrophoresis of aponeurosis protein with different pressure holding time

注: A: 标准蛋白; B: 15 min; C: 20 min; D: 25 min; E: 30 min; F: 35 min。

高使得蛋白质的变性和聚集速度加快,肌球蛋白重链结构被破坏,使其分解,说明肌球蛋白重链具有不耐热性,这可能是由于某些蛋白质随着温度的升高而变性所致,高温使肌球蛋白重链分解,形成分子量小的肌球蛋白轻链,肌动蛋白也分解成原肌球蛋白,造成条带颜色变浅。另外,由于肌球蛋白重链在加热后聚集成大分子,不能进入电泳条带,因此在凝胶浓缩液的上界面无法观察到大分子蛋白形成的条带,使蛋白条带颜色变浅<sup>[28-29]</sup>。而在 40 °C 时 43 kDa 处的肌动蛋白略有降解,但随温度的升高,没有观察到肌动蛋白条带的显著差异,可能是肌动蛋白通过非共价键与肌球蛋白相互作用,如疏水相互作用。也可能是肌动蛋白聚合导致变性,形成聚集体,氢键、疏水相互作用、二硫键和由内源转化酶诱导的 $\epsilon$ -( $\gamma$ -谷氨酰)赖氨酸键是形成蛋白质聚集体的主要化学键。进一步说明肌球蛋白的热稳定性没有肌动蛋白比高<sup>[30]</sup>。此外,35~45 kDa 范围内的蛋白质条带数量随温度升高急

剧增加,这表明在此期间也发生了蛋白水解降解。

如图 6 所示,随着保压时间的延长,肌球蛋白重链条带颜色变浅甚至消失,可能是肌球蛋白重链对压力不稳定,高压导致这些蛋白质降解,抑制肌球蛋白的交联,从而使肌原纤维蛋白解聚作用,溶解度降低。而肌动蛋白的条带一直存在,在 15 min 时略有降解,随后颜色加深,在 35 min 时条带颜色减弱,表明肌动蛋白在高压加热过程中部分分解。Zhang 等<sup>[31]</sup>的电泳结果表明,鲢鱼鱼糜凝胶在加热过程中 MHC 带的强度随着加热温度和时间增加而急剧下降,而 25~35 kDa 范围内的蛋白质条带数量急剧增加。

不同热处理引起蛋白质降解的差异与传热介质有关,不同于蒸煮加热过程中由外到内的传热方式,高压使极性分子在加热过程中通过摩擦产生热量,而高压加热速率较快,因此结构破坏最为严重,造成蛋白质降解严重。然而,SDS-PAGE 结果显示,在蒸煮过程中,蛋白质的降解相对温和。

## 2.6 不同加热方式对肌原纤维蛋白二级结构的影响

常见的蛋白质二级结构可分为  $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -折叠、 $\beta$ -螺旋和无规卷曲。在高温高压作用下,蛋白质二级结构发生变化,造成不可逆转变。蛋白质红外光谱主要集中在 1600~1700  $\text{cm}^{-1}$  的酰胺 I 带,这是蛋白质二级结构最敏感的区间,常用来分析蛋白质二级结构<sup>[32]</sup>。

由图 7 可知,牛肉肌原纤维的酰胺 A 带由 3448  $\text{cm}^{-1}$  向 3423  $\text{cm}^{-1}$  移动,这可能是酰胺 A 带的 N-H 伸缩振动和氢键缔合的形成,改变了位移,说明氢键产生变化。不同温度处理组 and 不同保压时间组的蛋白酰胺 I 带的吸收峰形状相似,但两个波数位置不同,说明传统水浴加热肌球蛋白的二级结构不同于高压肌球蛋白。随着温度的增加和保压时间的延长,不同温度下牛腱子酰胺 I 带从 1658  $\text{cm}^{-1}$  变为 1616  $\text{cm}^{-1}$ ,牛肩酰胺 I 带从 1656  $\text{cm}^{-1}$  变为 1618  $\text{cm}^{-1}$ ,而高压下牛腱子酰胺 I 带从 1653  $\text{cm}^{-1}$  变为 1622  $\text{cm}^{-1}$ ,牛肩酰胺 I 带从 1652  $\text{cm}^{-1}$  变为 1622  $\text{cm}^{-1}$ ,说明加热后牛肉肌原纤维的  $\alpha$ -螺旋结构先转变为无规则卷曲结构,再转化为  $\beta$ -折叠。加热导致蛋白质变性,从而破坏羰基和氨基之间的氢键, $\alpha$ -螺旋分裂,可能向无规则卷曲和  $\beta$ -折叠转化。在加热后期,水分子随着二级结构的膨胀而迁移,疏水基团和巯基的暴露提供了较大的空间。此时,蛋白质逐渐聚合, $\beta$ -折叠结构开始分解,分子间的疏水作用形成无规则卷曲<sup>[33]</sup>。可以看出,随着热处理温度的升高和保压时间的延长,酰胺 I 带的峰值位置向低的波数移动,这反映了蛋白质在热处理过程中的变性和蛋白质从  $\alpha$ -螺旋转化为无规则卷曲和  $\beta$ -折叠。

## 3 结论

随着温度的升高,蛋白羰基含量逐渐增加,巯基含量呈现先升高后降低的变化趋势,蛋白粒径增大,蛋白表面疏水性先增大后减小。随着保压时间的延长,蛋白羰基含量增加,巯基含量减少,蛋白粒径先增

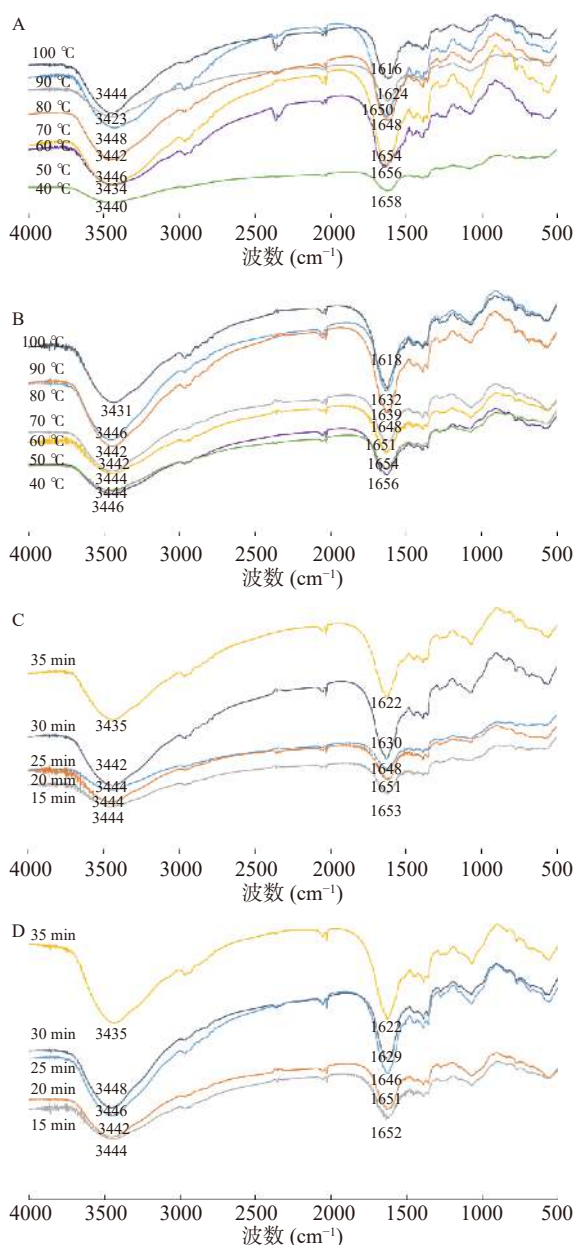


图 7 不同加热方式对肌纤维蛋白二级结构的影响

Fig.7 Effect of different heating methods on secondary structure of myofibrillar protein

注: A: 牛腱子水浴; B: 牛肩水浴; C: 牛腱子高压; D: 牛肩高压。

大后减少,蛋白疏水性逐渐增加。SDS-PAGE 研究发现,随着温度升高,肌球蛋白重链发生了降解明显,而肌动蛋白加热后开始略有降解,随着温度升高没有明显的变化趋势;在高压条件下,肌球蛋白重链条带逐渐减弱甚至消失,而在不同保压时间肌动蛋白条带无明显变化。与高压相比,在蒸煮过程中,蛋白质的降解相对温和。红外结果表明,随着温度的升高和保压时间的延长,酰胺 I 带的峰值位置向低的波数移动,反映蛋白质在热处理过程中的变性和蛋白质从  $\alpha$ -螺旋转变为无规则卷曲和  $\beta$ -折叠。本文为不同部位的牛肉精深加工精确工艺参数的设定提供了有力的理论依据。

### 参考文献

[1] 郑海波. 高压下加热处理对鸡肉糜凝胶品质的影响及机制

研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2018. [ZHENG H B. Effect of heat treatment on gel quality of chicken meat paste under high pressure and its mechanism [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2018.]

[2] 伏慧慧, 马雪莲, 普莉雯, 等. 干腌牛肉加工过程中蛋白质变化对品质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(9): 223-230.

[FU H H, MA X L, PU L W, et al. Effect of protein change on quality of dry cured beef during processing[J]. Food and Fermentation Industry, 2021, 47(9): 223-230.]

[3] RIMI M, MASAHIRO A, RIEKO H, et al. Rapid inspection method for investigating the heat processing conditions employed for chicken meat using Raman spectroscopy[J]. Journal of Bio-science and Bioengineering, 2020, 129(6).

[4] 吴倩蓉, 朱宁, 陈松, 等. 加工工艺对酱牛肉中蛋白质降解及风味物质的影响[J]. 食品科学, 2021, 42(12): 76-84. [WU Q R, ZHU N, CHEN S, et al. Effect of processing technology on protein degradation and flavor compounds in sauced beef[J]. Food Science, 2021, 42(12): 76-84.]

[5] 曹莹莹. 超高压结合热处理对肌球蛋白凝胶特性的影响研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2012. [CAO Y Y. Effect of ultra high pressure combined with heat treatment on myosin gel properties [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2012.]

[6] WAN Hongbing, LI Haipeng, LEI Yuanhua, et al. Influence of stewing conditions on tenderness and protein structure in beef[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2021, 45(3): e15208.

[7] PANG B, YU X, BOWKER B, et al. Effect of meat temperature on moisture loss, water properties, and protein profiles of broiler pectoralis major with the woody breast condition[J]. Poultry Science, 2021, 100(2): 1283-1290.

[8] SCHOLLIERS J, STEEN L, FRAEYE I. Gelation of a combination of insect and pork proteins as affected by heating temperature and insect: Meat ratio[J]. Food Research International, 2020; 137.

[9] HAN Z Y, ZHANG J L, ZHENG J Y, et al. The study of protein conformation and hydration characteristics of meat batters at various phase transition temperatures combined with low-field nuclear magnetic resonance and fourier transform infrared spectroscopy[J]. Food Chemistry, 2019; 280.

[10] EDYTA M, MARTA W, ROMAN P, et al. The effect of high pressure at subzero temperature on proteins solubility, drip loss and texture of fish (cod and salmon) and mammal's (pork and beef) meat[J]. Food Science and Technology International, 2014, 20(5): 383-395.

[11] STÉPHANIE J, MARIE L, MOHAMED G. Modifications of ultrastructure and myofibrillar proteins of post-rigor beef treated by high pressure[J]. LWT-Food Science and Technology, 2000, 33(4): 313-319.

[12] ZHONG H, MENG J C, JUN H C, et al. Effects of microwave and water bath heating on the interactions between myofibrillar protein from beef and ketone flavour compounds[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2019, 54(5): 1787-1793.

[13] MARCO C, MÓNICA F, ANTONIO M, et al. Effect of high



pressure treatment on colour, microbial and chemical characteristics of dry cured loin[J]. *Meat Science*, 2008, 80(4): 1174-1181.

[14] YANG K, WANG L M, GUO J J et al. Structural changes induced by direct current magnetic field improve water holding capacity of pork myofibrillar protein gels[J]. *Food Chemistry*, 2021; 345.

[15] ZHANG C, LIU H T, XIA X F, et al. Effect of ultrasound-assisted immersion thawing on emulsifying and gelling properties of chicken myofibrillar protein[J]. *LWT*, 2021, 142(3): 111016.

[16] ZHU M M, ZHANG J, PENG Z Y, et al. Fluctuated low temperature combined with high-humidity thawing to retain the physicochemical properties and structure of myofibrillar proteins from porcine longissimus dorsi[J]. *LWT*, 2021, 142: 111001.

[17] SHI H B, ZHANG X X, CHEN X, et al. How ultrasound combined with potassium alginate marination tenderizes old chicken breast meat: possible mechanisms from tissue to protein[J]. *Food Chemistry*, 2020; 328.

[18] KUN Y, YUAN H Z, GUO J J, et al. Low frequency magnetic field plus high pH promote the quality of pork myofibrillar protein gel: a novel study combined with low field NMR and raman spectroscopy[J]. *Food Chemistry*, 2020; 326.

[19] 杨慧娟. 超高压处理改善低脂低盐猪肉糜制品乳化凝胶特性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2017. [YANG H J. Ultra high pressure treatment to improve the emulsifying properties of low fat and low salt pork products [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2017.]

[20] XIONG Y L, PARK D K, OOIZUMI T. Variation in the cross-linking pattern of porcine myofibrillar protein exposed to three oxidative environments[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(1): 153-159.

[21] 韦婕妤. 热加工方式对羊肉制品蛋白质氧化及体外模拟消化性的影响研究[D]. 成都: 西南民族大学, 2019. [WEI J Y. Effect of heat treatment on protein oxidation and in vitro digestibility of mutton products [D]. Chengdu: Southwest University For nationalities, 2019.]

[22] 刘海梅. 鲢鱼糜凝胶及形成机理的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2007. [LIU H M. Study on the gel and formation mechanism of silver carp surimi [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2007.]

[23] 万红兵, 李海鹏, 雷元华, 等. 烹饪熟度对肌原纤维蛋白结构特性和氧化特性的影响[J]. *食品科学*, 2021, 42(13): 17-25.

[WAN H B, LI H P, LEI Y H, et al. Effects of cooking maturity on structural and oxidative properties of myofibrillar protein[J]. *Food*

*Science*, 2021, 42(13): 17-25.]

[24] 游佳伟. 不同部位牛肉烤制加工适宜性研究[D]. 锦州: 渤海大学, 2020. [YOU J W. Study on the processing suitability of different parts of beef [D]. Jinzhou: Bohai University, 2020.]

[25] ILHAM C, PHILIPPE G, VÉRONIQUE S L. Technical note: a simplified procedure for myofibril hydrophobicity determination[J]. *Meat Science*, 2006, 74(4): 681-683.

[26] WANG Z F, HE Z F, ZHANG D, et al. The effect of linalool, limonene and sabinene on the thermal stability and structure of rabbit meat myofibrillar protein under malondialdehyde-induced oxidative stress[J]. *LWT*, 2021; 148.

[27] Kang Z L, Zhang X H, Li X, et al. The effects of sodium chloride on proteins aggregation, conformation and gel properties of pork myofibrillar protein running head: Relationship aggregation, conformation and gel properties[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2021, 58(6): 1-7.

[28] NIU Y H, CHEN J H, FAN Y L, et al. Effect of flavonoids from *Lycium barbarum* leaves on the oxidation of myofibrillar proteins in minced mutton during chilled storage[J]. *Journal of Food Science*, 2021, 86(5): 1766-1777.

[29] XIAO H M, WU Y F, LIU J, et al. Potential mechanism of different gelation properties of white and red muscle fibre from crocodile (*Crocodylus siamensis*) meat: Study of myofibrillar protein[J]. *LWT*, 2021; 143.

[30] QIAN J, WANG C, ZHUANG H, et al. Evaluation of meat-quality and myofibrillar protein of chicken drumsticks treated with plasma-activated lactic acid as a novel sanitizer[J]. *LWT*, 2021; 138.

[31] ZHANG L T, LI Q, SHI J, et al. Changes in chemical interactions and gel properties of heat-induced surimi gels from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillets during setting and heating: effects of different washing solutions[J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 75: 116-124.

[32] 蔡梦洁. 恒功率微波处理牛肉肌原纤维蛋白对风味物质吸附能力研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2019. [CAI M J. Adsorption capacity of beef myofibrillar protein treated by constant power microwave on flavor compounds [D]. Guangzhou: South China University of technology, 2019.]

[33] 孙佳悦, 钱方, 姜淑娟, 等. 基于红外光谱分析热处理对牛乳蛋白质二级结构的影响[J]. *食品科学*, 2017, 38(23): 82-86.

[SUN J Y, QIAN F, JIANG S J, et al. Effect of heat treatment on secondary structure of milk protein based on infrared spectroscopy[J]. *Food Science*, 2017, 38(23): 82-86.]