

11S 球蛋白酶解产物对猪肉肠品质的影响*

段春红, 孙婉, 王鲁峰, 王臻, 潘思轶

(华中农业大学食品科技学院, 湖北 武汉, 430070)

摘要 以中豆 36 为原料, 提取 11S 粗蛋白, 并采用碱性蛋白酶对其水解, 将水解后的产物添加到猪肉肠中。以质构特性、凝胶强度、肉肠得率为评价指标, 比较了添加不同水解度和不同添加量的 11S 酶解蛋白对猪肉肠品质的影响。采用二因素三水平正交试验, 确定了肉肠专用蛋白的最佳工艺参数: 11S 水解度为 10%, 添加量为 1.5%。通过凝胶电泳分析得出: 酶解产物主要是分子质量 < 20ku 的多肽。

关键词 11S 球蛋白, 猪肉肠, 质构, 得率

我国大豆蛋白应用广泛, 但大豆蛋白的物化性质不能完全满足现代食品加工的需求。研究大豆蛋白中不同类型蛋白质的功能特性及改性修饰技术, 对于开发新型专用大豆蛋白制品具有重要的理论意义和应用价值。

大豆 11S 球蛋白占大豆蛋白总含量的 30% 以上, 它是由酸性多肽(分子质量 35~37 ku)和碱性多肽(分子质量 20 ku)构成, 分子质量为 30~38 ku 的疏水性六聚体。亚基之间以及相同亚基之间通过二硫键结合^[1]。大豆 11S 球蛋白的热凝胶形成性是大豆蛋白在食品中应用最重要的功能特性之一。大豆 11S 球蛋白既可以作为食品的组分, 也可以作为食品添加剂, 以其独特的胶凝特性提高和改善原有食品的质构特性和口感。

大豆蛋白的强保水和保油性能够保留或乳化肉制品中的脂肪和水分, 并改善猪肉肠的组织状态和口感, 提高产品的出品率。本研究通过对 11S 球蛋白进行酶法改性, 并将改性后的蛋白添加到香肠中, 通过对猪肉肠制品质构、凝胶强度、色度、得率的分析, 探讨适合猪肉肠制品加工的专用蛋白。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

中豆 36(市售); 后腿肌肉和猪肥膘(市售); 碱性蛋白酶, 北京信诺科技有限公司; 三羟甲基氨基甲烷、过硫酸铵、甘氨酸、溴酚蓝、丙烯酰胺、甲叉双丙烯酰胺, 均购自中国医药(集团)上海化学试剂公司。

1.2 主要仪器与设备

TA-XTPlus 质构仪, 英国(Stable Micro System 公司); 数显恒温水浴锅, HH-4, 国华电器有限公司; ZD-3A 自动电位滴定仪, 上海安亭电子仪器厂; Ultra Scan XE 色度仪, Hunterlab 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 大豆 11S 球蛋白的提取

采用参考文献[2]中的方法提取 11S 和 7S。

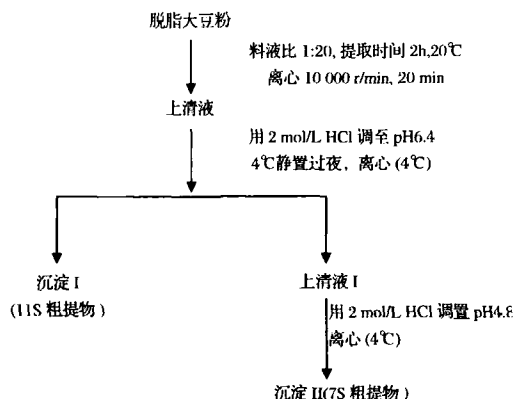


图 1 Thanh 法^[2] 分步提取大豆 7S 和 11S 大豆球蛋白工艺

1.3.2 大豆 11S 球蛋白的酶水解

一定浓度的大豆球蛋白溶液, 90℃ 灭酶 10 min 后, 冷却至酶适宜温度, 加入 0.6 mol/L NaOH, 调至所需 pH 值, 放入温度调至所需的水浴锅中, 加入水解所需的碱性蛋白酶, 在搅拌装置下水解, 反应中用 NaOH 保持 pH 恒定所需值, 到水解时间后, 放入沸水浴中 15 min, 杀菌并灭活酶, 装瓶标记冷藏备用^[3]。

根据滴入的 NaOH 体积计算水解度。水解度(DH)的计算根据 pH-Stat 法^[4]。

第一作者: 博士研究生(潘思轶教授为通讯作者)。

* 863 项目(2006AA10Z330), 湖北省新世纪高层次人才工程入选人员科研择优资助项目(鄂人[2003]31 号)

收稿日期: 2008-06-03, 改回日期: 2008-11-05

$$DH = \frac{\text{被水解的肽键的数目}}{\text{总的肽键的数目}}$$

$$= V_{\text{NaOH}} \times \frac{1}{\alpha} \times \frac{C_{\text{NaOH}}}{M_p} \times \frac{1}{h_{\text{tot}}}$$

式中: V_{NaOH} —水解过程中用去的 NaOH 的量(mL); M_p —蛋白质总量(g); C_{NaOH} —NaOH 浓度(mol/L); α —氨基的解离度; h_{tot} —每克蛋白质中肽键的物质的量(取 7.75)。

α 氨基的解离度可按下式计算:

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

pH—试验时采用的 pH; pK— α 氨基酸的解离常数, 可取 7.0 进行计算。

1.3.3 猪肉肠的制备

将后腿肌肉和猪肥膘解冻, 用绞肉机分别搅碎, 将后腿肉(55 g), 冰水(15 g), 大豆分离蛋白(2 g)和食盐(2 g)在调理机上斩拌 1 min 后, 加入猪肥膘(25 g), 继续斩拌 4 min, 注意温度不能超过 15℃, 将肉糜注入肠衣中密封。于 80℃ 水浴加热 30 min 而后用自来水将其冷却至室温, 并在 4℃ 环境中保存备用^[5]。

1.3.4 猪肉肠得率的测定

$$\text{得率}/\% = \left(\frac{w_3}{w_2} - w_1 \right) \times 100$$

式中: w_1 —肠衣质量; w_2 —水浴前肠体的总质量; w_3 —水浴加热后肉凝胶加肠衣的中总质量。

1.3.5 质构分析

在室温下用 TA-XTPlus 质构分析仪进行猪肉肠质构测定^[6]。将猪肉肠切成 2 cm 高的肉块。采用型号为 P/36R 探头对样品进行连续 2 次 70% 的挤压。测定条件如下: 测前速度 2 mm/s, 测试速度 2 mm/s, 测后速度 2 mm/s, 压缩程度 70%, 停留时间 5 s, 数据采集速率 200 pps, 触发值 5 g。

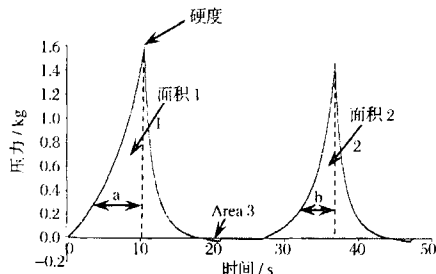


图2 猪肉肠凝胶 TPA 测试曲线

由 TPA 曲线, 可得到如下参数: 硬度(hardness), 弹性(springiness), 内聚性(cohesiveness), 回

复性(resilience)和咀嚼性(chewiness)。硬度定义为第 1 次压缩破坏凝胶所需的力, 其值为第 1 次挤压过程中的峰值; 内聚性定义为第 2 次挤压与第 1 次挤压正力面积之比, 即图 2 中的面积 1/面积 2; 弹性定义为凝胶经过压缩后恢复的高度, 其值为第 2 次挤压开始到达到峰值的时间与第 1 次的时间之比, 即图 2 中的 b/a ; 回复性定义为第 1 次挤压时探头回复开始到 X 轴的面积与第 1 次挤压的全面积之比。

1.3.6 破断试验

在室温下用 TA-XT Plus 质构分析仪进行破断测试^[7]。采用直径为 1/2 英寸的球型探头穿刺样品($\phi 1$, 20 mm×20 mm)15mm, 穿刺曲线上的第 1 个峰值即为破断力。凝胶强度为破断力(图 3 中第 1 个峰值)与破断距离之积(kg×mm), 见图 3。

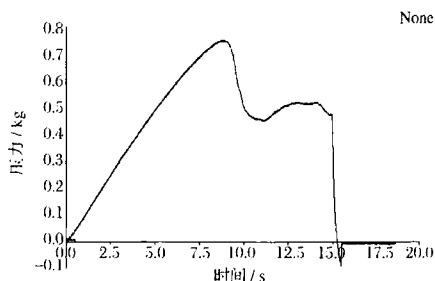


图3 猪肉肠凝胶破断测试曲线

1.3.7 色度测定

将样品切成厚 3 mm 的圆片, 放置于型号为 UltraScanXE 的色度测定仪上测定^[8]。 L^* 值表示亮度。

1.3.8 凝胶电泳法测蛋白质分子结构

采用 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法测蛋白质分子结构。采用不连续电泳凝胶, 分离胶 15%; 浓缩胶 5%; 电泳条件 100~150 V^[9]。

2 结果与讨论

2.1 单因素试验

2.1.1 不同酶解度 11S 球蛋白在猪肉肠中的应用

2.1.1.1 不同酶解度 11S 球蛋白对猪肉肠质构的影响

将不同水解度的 11S 酶解产物和 11S 球蛋白、杜邦蛋白添加至猪肉肠中, 其对肉肠质构的影响如表 1 所示。由表 1 可知, 水解度对 11S 球蛋白对猪肉肠质构特性产生的正负效果不同。当水解度小于 9% 时, 其质构特性, 如硬度、弹性、咀嚼性、内聚性及回复性逐渐增大; 当水解度大于 9% 时, 其质构特性, 如硬度、弹性、咀嚼性、内聚性及回复性先减小再增大, 但

当水解度为9%时,猪肉肠的质构特性,如弹性达到最大,咀嚼性与水解度15%的相差不大,且高于杜邦

蛋白对其影响。故本试验选11S的最适水解度为9%。

表1 不同酶解度11S球蛋白对猪肉肠TPA参数的影响及方差分析结果(n=3)

不同酶解度/%	硬度/kg	弹性	内聚性	回复性	咀嚼性/(kg×mm)
杜邦	2.23±0.13 ^b	0.62±0.019 ^d	0.25±0.018 ^c	0.063±0.004 1 ^d	0.35±0.046 ^a
0	1.59±0.10 ^a	0.42±0.004 9 ^c	0.21±0.006 4 ^d	0.052±0.002 3 ^{bd}	0.14±0.010 ^b
3	2.14±0.094 ^b	0.71±0.009 6 ^a	0.24±0.002 9 ^c	0.064±0.005 1 ^b	0.36±0.015 ^a
6	2.16±0.056 ^b	0.74±0.035 ^b	0.25±0.0047 ^b _c	0.069±0.001 9 ^{ac}	0.38±0.012 ^{ad}
9	2.29±0.14 ^b	0.80±0.031 ^a	0.28±0.016 ^a	0.079±0.001 5 ^{ac}	0.50±0.048 ^c
12	2.22±0.078 ^b	0.72±0.009 0 ^b	0.27±0.028 ^b	0.078±0.005 7 ^a	0.43±0.032 ^d
15	2.36±0.13 ^b	0.78±0.022 ^d	0.28±0.014 ^a	0.083±0.002 8 ^{bc}	0.53±0.045 ^c

注:同一列中字母不相同者差异显著(P<0.05)。

2.1.1.2 不同酶解度11S球蛋白对猪肉肠凝胶强度的影响

如图4所示,不同水解度11S球蛋白酶解物对猪肉肠凝胶强度的影响不同。以杜邦蛋白为对照,添加水解度为9%的11S酶解物可显著增加猪肉肠的凝胶强度,且优于添加杜邦蛋白的肉肠。

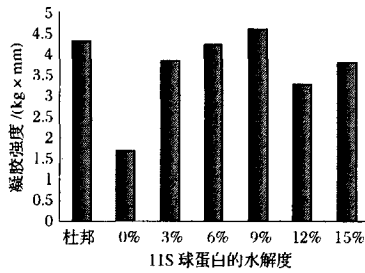


图4 不同酶解度11S球蛋白对猪肉肠凝胶强度的影响

2.1.1.3 不同酶解度11S球蛋白对猪肉肠得率的影响

从图5可以看出,不同水解度11S酶解蛋白添加至猪肉肠中,对肉肠得率变化不同。随着水解度的增加,得率逐渐增加,当水解度达到15%时,得率有所下降。

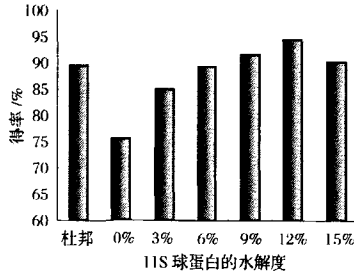


图5 不同酶解度11S球蛋白对猪肉肠得率的影响

2.1.1.4 不同酶解度11S球蛋白对猪肉肠色度的影响

由图6可知,不同水解度的11S球蛋白对猪肉肠

亮度的影响不同。与其他水解度相比,水解度为9%时,猪肉肠的亮度最高。这可能是由于水解度为9%时,猪肉肠具有相对较好的凝胶强度及得率,因此在肉肠蒸煮的过程中锁住大量脂肪,提高了猪肉肠的亮度^[10]。

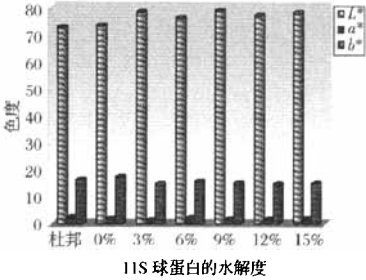


图6 不同酶解度11S球蛋白对猪肉肠色度的影响

2.1.2 酶解11S球蛋白不同添加量对猪肉肠品质的影响

从图7可以看出,不同添加量对猪肉肠的质构特性产生的影响不同。随着添加量的增大,其质构特性指标内聚性,回复性和咀嚼性均有所下降;硬度,弹性先下降后上升,添加量为5.5%时,硬度,弹性较高,但与添加量1%相比,并没有显著改善。考虑到加工成本,本试验肉肠的最适宜添加量选为1%。

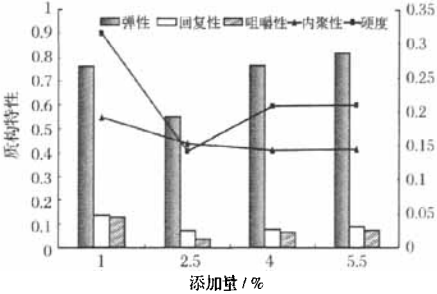


图7 添加量对猪肉肠质构特性的影响

2.2 正交试验

以水解度和添加量为影响因素,以肉肠的质构、得率、色度、凝胶强度为指标,进行正交试验,研究添加肉肠的 11S 酶解蛋白的最佳工艺。

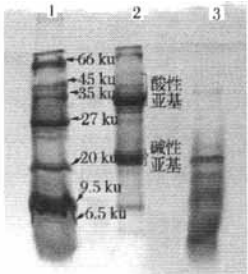
表 2 11S 球蛋白全因子试验及其对猪肉肠品质的影响

水解度/%	添加量/%	硬度	弹性	内聚性	回复性	咀嚼性	GS	得率/%	L*
8	0.5	2.112	0.5024	0.3601	0.1335	0.3798	4.034	90.35	79.95
	1.0	1.818	0.4550	0.4044	0.1525	0.3343	4.812	89.62	79.74
	1.5	1.991	0.4482	0.4215	0.1690	0.3763	4.012	90.25	81.41
9	0.5	1.906	0.4319	0.3979	0.1500	0.3288	5.497	88.06	81.32
	1.0	1.544	0.4391	0.3754	0.1371	0.2545	3.732	89.06	79.69
	1.5	1.808	0.4469	0.4225	0.1664	0.3413	5.779	90.98	80.94
10	0.5	1.767	0.4244	0.3971	0.1466	0.2988	4.555	88.33	80.14
	1.0	2.013	0.4470	0.4172	0.1578	0.3772	5.048	88.42	81.60
	1.5	2.193	0.4595	0.4357	0.1709	0.4376	5.598	88.51	82.63

一般猪肉肠的凝胶特性主要是从凝胶硬度、弹性、咀嚼性、内聚性和回复性 5 项凝胶组织结构参数来研究。其中咀嚼性为弹性、硬度、回复性的乘积,是一个综合性指标。所以选取咀嚼性为主要评价标准,采用正交试验进一步优化试验条件,如表 3 所示。

表 3 实验结果

试验号	A	B	咀嚼性
	水解度/%	添加量/%	
1	1(8)	1(0.5)	0.379 8
2	1	2(1.0)	0.334 3
3	1	3(1.5)	0.376 3
4	2(9)	1	0.328 8
5	2	2	0.254 5
6	2	3	0.298 8
7	3(10)	1	0.298 8
8	3	2	0.377 2
9	3	3	0.437 6
K ₁	1.090 4	1.007 4	ΣChew=3.0861
K ₂	0.882 1	0.966	
K ₃	1.113 6	1.112 7	
级差	0.231 5	0.146 7	



1—分子量标准蛋白;2—11S 球蛋白;3—11S 酶解产物

图 8 11S 和 11S 酶解蛋白的电泳图谱

基本消失,仅存有少量碱性亚基条带。水解产物主要是小分子质量的多肽分子或氨基酸,分子质量在 20 ku 以下。对肉肠质构其主要作用的是这些小分子质量的多肽,原因可能是因为蛋白质经过酶水解后,部分肽键发生断裂,从而导致蛋白质分子上极性基团增加,使蛋白质平均疏水性降低,可使产物的亲水性增强;肽链长度缩短,分子质量减少。酶解分离蛋白在水中分散溶解的效果增加,适用于肉肠加工,增加其质构特性^[11]。

3 结论

- (1)通过单因素试验,确定添加不同水解度和不同添加量 11S 球蛋白酶解物对肉肠的品质影响不同。
- (2)采用二因素三水平正交试验,确定出 11S 球蛋白酶解蛋白肉肠添加的工艺参数为:11S 的酶解度为 10%,添加量为 1.5%。
- (3)通过凝胶电泳分析得出:11S 球蛋白酸性亚基基本上水解完全,还存有少量的碱性亚基。水解度为 11%的酶解产物主要是分子质量小于 20 ku 的多肽。

参 考 文 献

- 1 Nielsen NC. The structure and complexity of the 11S polypeptides in soybean[J]. J Am Oil Chem Soc, 1985, 62: 1 680~1 686
- 2 Vu Huu Thanh, Kazuo Shibasaki. Major protein of soybean seeds. a straight forward fraction and their characterization[J]. Agric Food Chem, 1976, 24(6): 1 117 ~ 1 121
- 3 汪建斌, 邓勇. Alcalase 碱性蛋白酶对大豆分离蛋白水解作用的研究[J]. 食品工业科技, 2002, 23(1): 61~63
- 4 肖凯军, 曾庆孝, 高孔荣. 大豆分离蛋白的酶法改性[J]. 食品科学, 1995, 16(9): 30~34
- 5 褚弘斌. 大豆蛋白在肉制品中的应用[J]. 肉类研究, 1999(4): 39~43
- 6 沈蓓英, 倪培德, 胡传荣. 植物蛋白凝胶特性的研究[J]. 中国油脂, 1995(4): 33~37
- 7 Lee Chung. Analysis of surimi gel properties by compression and penetration tests[J]. Texture Studies, 1989, 20: 363~377
- 8 Park J W. Functional protein additives in surimi gel[J]. Food Science, 1994, 59(3): 183~189
- 9 郭尧君. 蛋白质电泳实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 1999
- 10 刘志同, 裴静. 酶改性技术在大豆分离蛋白生产中的应用[J]. 粮油食品科技, 2003(11): 11~12
- 11 葛长荣, 马美湖. 肉与肉制品工艺学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2002. 119

Enzymatic Hydrolysis of 11S Globulin and Its Application in Pork Sausage

Duan Chunhong, Pan Siyi, Sun Wan, Wang Zhen

(College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

ABSTRACT 11S globulin extracted by bean 36 was enzymatically modified. Texture, GS, and yield of pork sausage by added 11S had been showed to vary with different hydrolysis degree. The proper technology parameters were obtained through single factor test: hydrolysis degree and quantity. Through orthogonal test, the proper technology parameters for the process were obtained: hydrolysis degree 10%, quantity 1.5%. The results of lectrophoresis analysis showed the molecular weight of hydrolysate of 11S were mostly less than 20 ku.

Key words 11S globulin, pork sausage, texture property, yield

信息窗

茶叶研究新发现 4 大保健性能

(1) 茶水可促进新陈代谢。美国科学家通过人体试验发现, 与饮用普通水的人相比, 饮用茶水的人每天的能量消耗平均要高出 67 卡, 特别是脂肪氧化率要高出 12%。这一发现再次证明, 茶水确有促进脂肪消耗、提高新陈代谢速度的作用。美国科学家认为, 这是茶叶中所含有的咖啡因和儿茶酚共同起作用的结果。

(2) 茶水可降低胆固醇。美国科学家最近发现, 饮用茶水(特别是绿茶和黑茶水)有助于降低胆固醇, 从而可防止冠状心脏病的发生。为期 3 周的人体试验发现, 与饮用普通水的人相比, 饮用黑茶水的人的血脂下降了 6%~10%; 更为重要的是, 饮用黑茶水对高密度脂蛋白水平没有任何影响。

(3) 茶水可提高胰岛素活性。美国科学家发现, 绿茶、黑茶和乌龙茶水接触白鼠的脂肪细胞之后, 可使胰岛素活性提高 15 倍。为期 8 周的试验发现, 每天饮用 6 杯茶水的乙型糖尿病人的血糖水平平均下降了 15%~20%。

(4) 茶叶含有丰富的类黄酮。茶树通过生成多酚化合物来保护自身的光合作用过程, 这种多酚化合物包括许多水果和蔬菜所拥有的旨在抗氧化的类黄酮。茶叶所含有的多酚化合物近 95% 是类黄酮, 在所有种类植物中排名第一。绿茶含有较多的简单类黄酮(即儿茶酚), 而黑茶和乌龙茶则含有较多的复杂类黄酮(即茶玉红精和茶黄素)。美国科学家发现, 173g 绿茶中约含有 235 毫克儿茶酚, 而 1 个质量为 178g 的苹果仅含有约 16mg 儿茶酚和 10mg V_C; 此外, 与众所周知的 V_A、V_C 和 V_E 相比, 某些多酚化合物具有更强的抗氧化性。

在美国, 黑茶消费量目前占茶叶消费总量的 90%; 绿茶消费量近年来增长了 1 倍以上, 约占茶叶消费总量的 9%。美国科学家认为, 饮用多种茶水有助于增加饮食中的营养。