

微波能强度与鸡胸肉中蛋白质变性的关系

郁浩, 王志耕*, 吴洪义, 梅林, 薛秀恒

(安徽农业大学茶与食品科技学院, 安徽合肥 230036)

摘要:本文以鸡胸肉为研究对象,探讨微波能强度与鸡肉中肌浆蛋白和肌原纤维蛋白变性的关系。分别采用低火力、中火力、高火力,加热鸡胸肉 30、60、90、120s,采用双缩脲法和 SDS-PAGE 电泳分析肌浆蛋白和肌原纤维蛋白的变化情况。结果表明:肌浆蛋白提取液浓度随着加热火力和时间的增加浓度迅速降低,肌原纤维蛋白提取液浓度在低火力和中火力加热条件下先上升后下降,高火力条件下则一直降低;肌原纤维蛋白的热稳定性高于肌浆蛋白,30~40ku 之间的蛋白热稳定性较高,在高火力加热到 90s 以后才完全变性沉淀。

关键词:微波, 鸡肉, 肌浆蛋白, 肌原纤维蛋白, 变性

The relationship between microwave energy intensity and protein denaturation of chicken breast

YU Hao, WANG Zhi-geng*, WU Hong-yi, MEI Lin, XUE Xiu-heng

(Tea and Food Institute of Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

Abstract: With the conditions of commercial microwave processing, the relationship between microwave intensity and the denaturation of sarcoplasmic protein and myofibrillar protein in chicken breast was evaluated, which aimed at providing test parameters in the processing of chicken products with microwave. The changes of sarcoplasmic protein and myofibrillar protein were analysed using the biuret method and SDS-PAGE, with different heating fire: low fire, medium fire, high fire, and heating time: 30, 60, 90, 120s. The results suggested that: with the increase of heating fire and time, the denaturation of the sarcoplasmic protein in chicken breast increased significantly, the extract concentration of myofibrillar protein first increased and then decreased with the low and medium fire, under the conditions of high fire the content reduced; The thermal stability of myofibrillar protein was higher than sarcoplasmic protein. From 30ku to 40ku, the thermal stability of protein was higher. The proteins had fully denatured precipitation until high-fire heating with 90s.

Key words: microwave; chicken; sarcoplasmic protein; myofibrillar protein; denaturation

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2012)17-0131-04

随着人民生活水平的提高,微波炉已进入千家万户,微波加热以其加热速度快,加热均匀,节能高效等特点,逐渐成为家庭烹饪过程中普遍采用的快捷加热方式。用微波加热食品,是在变化的磁场下,依靠每秒 3.0~30 亿次周期变化的微波透入物料内,与物料的极性分子相互作用,极性分子彼此碰撞,产生大量摩擦热,使物料内各部分在同一时间升温,从而使制品成熟^[1]。近年来,随着研究的深入,微波加热对食品中各种营养成分的影响,已成为人们关注的焦点。鸡肉含有丰富的营养成分,其低脂肪、低胆固醇和低热量等特点,被认为是一种健康的肉类食品^[2]。据分析,每 100g 鸡肉中含有 23.3g 蛋白质,是一种优质蛋白质来源。蛋白质的降解是鸡肉制品在加工过程中一个重要的生化反应,它能够形成多种低分子量的化合物如肽类、氨基酸、有机酸、胺等重要的风味物质,从而影响制品的质构与口感,其中肌

浆蛋白和肌原纤维蛋白为营养价值较高的蛋白质成分^[3],这些蛋白的特性决定了鸡肉的加工特性和加工后产品的质地。肌浆蛋白是球形或柱形蛋白易水解,Tornberg 等人的研究表明,加热变性的肌浆蛋白与纤维蛋白之间形成凝胶,使得纤维蛋白聚合,能够改变肉的嫩度^[4]。肌原纤维蛋白主要由肌动球蛋白、肌动蛋白、肌钙蛋白等组成,它决定肉制品的质构特性。微波烹调能影响食物中蛋白质的存在形式和结构,从而会影响其营养价值,有研究表明,微波烹调鱼肉过程中,可溶性蛋白通过二硫键构成二聚体或多聚体,出现了两种高分子量的可溶性蛋白^[5],MR Rekha 等人的研究表明,制品在微波能的作用下温度迅速升高,导致蛋白酶受热变性凝固而丧失活性,影响制品的品质^[6]。本文探讨在商用微波炉处理条件下,微波能强度与鸡肉中肌浆蛋白和肌原纤维蛋白的变性关系,为微波能在鸡肉制品加工中应用提供实验参数。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

收稿日期: 2012-02-28 * 通讯联系人

作者简介: 郁浩(1987-),男,硕士研究生,研究方向:动物源食品质量与安全。

鸡胸肉 合肥市三里庵家乐福超市; 丙烯酰胺、N-N 甲叉双丙烯酰胺、十二烷基磺酸钠、考马斯亮蓝 R-250、巯基乙醇、溴酚蓝、过硫酸铵 生工生物工程(上海)有限公司; 磷酸氢二钠、磷酸二氢钠等 均为分析纯; 中分子量蛋白 marker Fermentas 公司。

WP800T 型微波炉 格兰仕微波炉电器有限公司; S-210 型电子天平 北京赛多利斯仪器系统有限公司; Expert 18K-R 型冷冻离心机 长沙新奥实验仪器有限公司; Tu-1901 型双光束紫外可见分光光度计 北京普析通用仪器责任有限公司; DYCZ-24DN 型迷你双垂直电泳仪 北京市六一仪器厂; JS-680D 型凝胶成像分析系统 上海培清科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品处理 取新鲜鸡胸肉, 用剪刀将可见的脂肪和结缔组织剔除后, 分切成 $5\text{cm} \times 4\text{cm} \times 1\text{cm}$ 块状, 置于微波炉托盘中, 在不同的微波火力(高火、中火、低火)和时间(30、60、90、120s)条件下进行加热处理。将处理后的样品搅碎, 准确称取绞碎后的样品 2g, 置于小烧杯中, 冰水浴保温备用。每个实验组测定三个平行样, 结果取平均值。

1.2.2 肌浆蛋白和肌原纤维蛋白的制备^[7] 肌浆蛋白和肌原纤维蛋白的提取参照 Joo S T 等人的方法并稍作更改。称取绞碎的鸡肉 2g, 按质量体积比 1:10 加入 0.025mol/L 的磷酸盐缓冲液($\text{pH} = 7.2$), 组织捣碎 1min, 静置 30min 后, 肌肉混合物在 4°C 、10000r/min 下离心 20min, 得沉淀和上清液, 所得沉淀再重复上述操作步骤得沉淀和上清液, 两次上清液混合即为肌浆蛋白抽提液。将上述所得沉淀溶解于含 1.1mol/L 碘化钾的 0.1mol/L 磷酸盐缓冲液($\text{pH} = 7.2$), 组织捣碎 1min, 静置 30min 后, 于 4°C 、4000r/min 下离心 20min, 得上清液, 即为肌原纤维蛋白。

1.2.3 测定蛋白溶液浓度 双缩脲试法, 用紫外可见分光光度计在波长 550nm 处测定蛋白质浓度。

1.2.4 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)凝胶电泳 以(10~200ku)分子量范围的标准蛋白作为对照, 采用 SDS-PAGE 凝胶电泳(分离胶浓度为 12%, 浓缩胶浓度为 4%, 上样量为 $15\mu\text{L}$)分析, 在不同的微波加热条件下, 肌浆蛋白和肌原纤维蛋白的变化情况^[8-10]。

2 结果与分析

2.1 不同微波加热火力和时间对鸡肉中肌浆蛋白和肌原纤维蛋白含量的影响

2.1.1 肌浆蛋白含量变化 由图 1 可以看出, 在微波加热条件下, 肌浆蛋白提取液的浓度迅速降低, 在三种不同的加热火力条件下, 加热 30s 后肌浆蛋白提取液浓度均由 80mg/g 下降至 40mg/g 以下, 加热 90s 以上时, 经过中火力和高火力处理后的样品, 肌浆蛋白提取液浓度均降至 20mg/g 以下。比较而言火力越低, 肌浆蛋白提取浓度下降越少, 表明随着微波能的提高, 鸡胸肉中肌浆蛋白的变性率随之加大。

2.1.2 肌原纤维蛋白含量变化 由图 2 可以看出, 随着微波能的增加, 肌原纤维蛋白提取液浓度呈下降

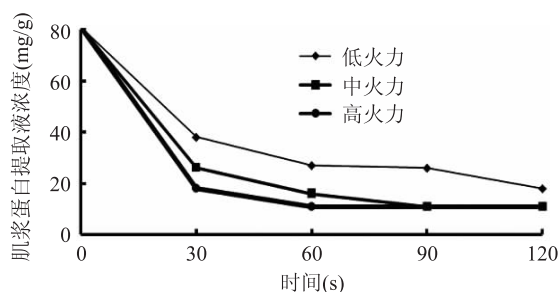


图 1 不同微波加热火力和时间
对肌浆蛋白提取液浓度的影响

Fig.1 Effect of different microwave energy and time
on the concentration of sarcoplasmic protein

趋势。其中在低火力和中火力加热 60s 时蛋白提取液浓度含量略高于 30s 时, 这可能是因为随着加热时间的增加, 样品温度逐渐上升, 肌肉内大量的氢键和静电力被破坏, 球状蛋白展开, 同时纤维蛋白结构变松散, 使肌原纤维蛋白的溶解性提高所致^[11-12]。随着微波加热时间增加, 肌原纤维蛋白发生热变性变化, 蛋白质间发生交联形成凝胶, 致使肌原纤维蛋白提取液浓度迅速下降^[13], 加热 90s 后中火力和低火力处理的样品中肌原纤维蛋白提取液浓度趋于一致。在高火处理条件下, 60s 时鸡胸肉肌原纤维蛋白的热变性已经达到顶点, 与中低火力加热 120s 时的变性程度基本一致。

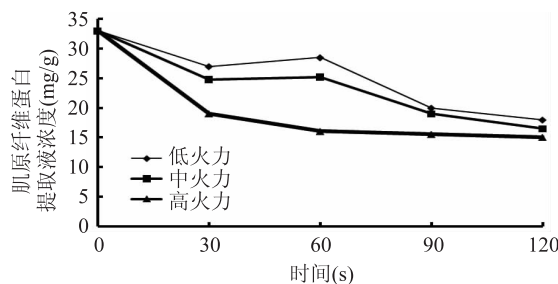


图 2 不同微波加热火力和时间
对肌原纤维蛋白提取浓度的影响

Fig.2 Effect of different microwave energy and time
on the concentration of myofibrillar protein

2.2 不同微波加热火力和时间处理条件下鸡胸肉中肌浆蛋白和肌原纤维蛋白的电泳分析

2.2.1 肌浆蛋白在不同微波火力和时间条件下的电泳图 由图 3~图 5 可知, 随着微波加热时间的增加和微波火力的增大, 肌浆蛋白的变性程度越来越明显。在低火加热条件下, 100ku 的副肌球蛋白条带不随着热处理时间的延长而消失, 光密度测定结果表明, 随着加热时间的增加, 其电泳条带的密度值变化不显著, 表明其在此加热条件下热稳定性较高, 30~50ku 之间有四条电泳条带较明显, 分别为肌红蛋白、肌浆酶、原肌球蛋白、肌联蛋白, 随着加热时间的增加, 36ku 的原肌球蛋白一直存在, 表明其也具有较高的热稳定性; 中火加热条件下, 肌浆蛋白的变性沉淀速度明显增加, 在中火加热 30~60s 时, 36ku 的原肌球蛋白保持较高稳定性, 加热 90s 后, 肌浆蛋白条带完全消失, 表明此时肌浆蛋白已经完全变性沉淀;

在高火加热 30s 时,肌浆蛋白条带即完全消失,表明此时肌浆蛋白即完全变性沉淀。

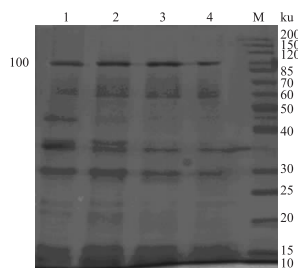


图3 低火力微波加热条件下肌浆蛋白 SDS-PAGE 电泳图

Fig.3 Low-fire microwave heating conditions sarcoplasmic proteins by SDS-PAGE electrophoresis

注:M:标准分子蛋白量,1~4 分别加热 30、60、90、120s。图 4~图 7 同。

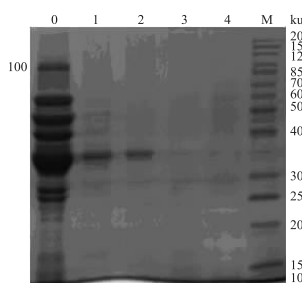


图4 中火力微波加热条件下肌浆蛋白 SDS-PAGE 电泳图

Fig.4 Middle-fire microwave heating conditions sarcoplasmic proteins by SDS-PAGE electrophoresis

注:0 为未加热处理时肌浆蛋白电泳,图 6 同。

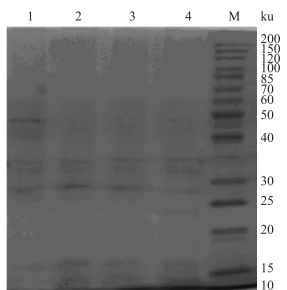


图5 高火力微波加热条件下肌浆蛋白 SDS-PAGE 电泳图

Fig.5 High-fire microwave heating conditions sarcoplasmic proteins by SDS-PAGE electrophoresis

2.2.2 肌原纤维蛋白在不同微波火力和时间条件下的电泳图 从图 6~图 8 中可以看出,肌原纤维蛋白的热稳定性比肌浆蛋白高。在微波加热下,肌原纤维蛋白发生降解,并且随着热处理温度和时间延长降解效果更加显著。在低火力处理中,相比较原样条带在 16ku 和 23ku 附近出现了新的条带,表明肌原纤维蛋白中的大分子蛋白开始降解为小分子,并随着热处理时间的延长而降解为分子量更小的产物。其中,在 30~40ku 之间的肌钙蛋白 TNT 条带并不随处理时间延长而消失,表明其保持较高的热稳定性,这与在中火加热条件下肌原纤维蛋白的变性分解情况类似。在高火力加热处理 90s 时,肌原纤维蛋白完全变性沉淀。

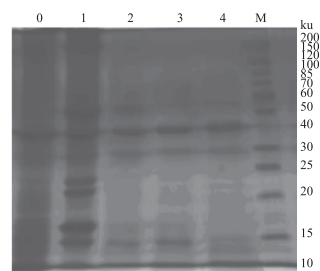


图6 低火力微波加热条件下肌原纤维蛋白 SDS-PAGE 电泳图

Fig.6 Low-fire microwave heating conditions myofibrillar proteins by SDS-PAGE electrophoresis

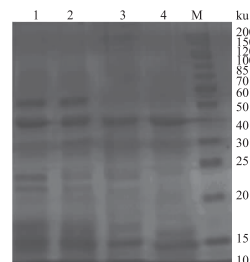


图7 中火力微波加热条件下肌原纤维蛋白 SDS-PAGE 电泳图

Fig.7 Middle-fire microwave heating conditions myofibrillar proteins by SDS-PAGE electrophoresis

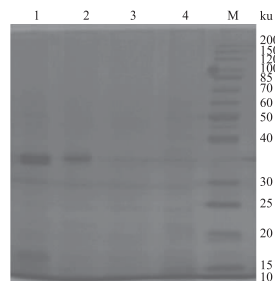


图8 高火力微波加热条件下肌原纤维蛋白 SDS-PAGE 电泳图

Fig.8 High-fire microwave heating conditions myofibrillar proteins by SDS-PAGE electrophoresis

3 结论

随着微波加热条件下,肌浆蛋白提取液浓度迅速降低,在中火和高火加热到 90s 以后,肌浆蛋白提取液浓度均降至 20mg/g 以下,表明随着微波能的提高,鸡胸肉中肌浆蛋白的变性率随之加大。肌原纤维蛋白提取液浓度先上升后下降,其中低火力和中火力加热 60s 时,肌原纤维蛋白的溶出达到最大值。高火条件下处理 60s 肌原纤维蛋白的热变性已经达到顶点。

由电泳条带分析可知,鸡肉中肌原纤维蛋白热稳定性较肌浆蛋白高。在中火力加热到 90s,高火力加热到 30s 后,肌浆蛋白基本变性沉淀。对肌原纤维蛋白的电泳条带分析中发现,30~40ku 之间的肌钙蛋白 TNT 是热稳定蛋白,低火和中火加热过程中一直存在。在高火力加热到 90s 后肌原纤维蛋白大部分已经变性沉淀。

(下转第 138 页)

- [3] Ho Y T, Ishizaki S, Tanaka T. Improving emulsifying activity of ϵ -polylysine by conjugation with dextran through the maillard reaction[J]. Food Chemistry, 2000, 68(4): 499-455.
- [4] 强涛涛, 王学川, 任龙芳. 壳聚糖化学改性的研究进展[J]. 皮革化工, 2005, 22(5): 14-17.
- [5] Schulz P C, Rodríguez M S, Del Blanco L F, et al. Emulsification properties of chitosan[J]. Colloid Polymer Science, 1998, 276(12): 1159-1165.
- [6] Rodríguez M S, Albertengo L A, Agull E. Emulsification capacity of chitosan[J]. Carbohydrate Polymers, 2002, 48(3): 271-276.
- [7] Payet L, Terentjev E M. Emulsification and stabilization mechanisms of O/W emulsions in the presence of chitosan[J]. Langmuir, 2008, 24(21): 12247-12252.
- [8] Li X K, Xia W S. Effects of concentration, degree of deacetylation and molecular weight on emulsifying properties of chitosan[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2011, 48(5): 768-772.
- [9] Usui M, Tamura H, Nakamura K, et al. Enhanced bactericidal action and masking of allergen structure of soy protein by attachment of chitosan through Maillard - type protein - polysaccharide conjugation[J]. Nahrung - Food, 2004, 48(1): 69-72.
- [10] Song Y, Babiker E E, Usui M, et al. Emulsifying properties and bactericidal action of chitosan-lysozyme conjugates[J]. Food Research International, 2002, 35(5): 459-466.
- [11] Babiker E E. Effect of chitosan conjugation on the functional properties and bactericidal activity of gluten peptides[J]. Food Chemistry, 2002, 79(3): 367-372.
- [12] Ajandouz E H, Tchiakpe L S, Ore F D, et al. Effects of pH on caramelization and Maillard reaction kinetics in fructose-lysine model systems[J]. Journal of Food Science, 2001, 66(7): 926-931.
- [13] Li X X, Shi X W, Wang M, et al. Xylan chitosan conjugate-A potential food preservative[J]. Food Chemistry, 2011, 126(2): 520-525.
- [14] 阚建全. 食品化学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2002.
- [15] Umemura K, Kawai S. Modification of chitosan by the Maillard reaction using cellulose model compounds[J]. Carbohydrate Polymers, 2007, 68(2): 242-248.
- [16] 吴瑾光. 近代傅里叶变换红外光谱技术及应用: 上卷[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 1994.
- [17] Umemura K, Kawai S. Preparation and characterization of Maillard reacted chitosan films with hemicellulose model compounds[J]. Journal of Applied Polymer Science, 2008, 108(4): 2481-2487.
- [18] 王学东, 吴国庆, 陈相英, 等. 乳糖化聚赖氨酸共价结合物的制备和分析[J]. 潍坊医学院学报, 2003, 25(2): 119-120.
- [19] 许朵霞, 许洪高, 毛立科, 等. 蛋白质多糖共价复合物的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(11): 186-190.
- [20] Liu H, Du Y M, Wang X H, et al. Chitosan kills bacteria through cell membrane damage[J]. International Journal of Food Microbiology, 2004, 95(2): 147-155.
- [21] Helander I M, Nurmi ho-Lassila E L, Ahvenainen R, et al. Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of gram - negative bacteria[J]. International Journal of Food Microbiology, 2001, 71(2-3): 235-244.
- [22] Vaara M. Agents that increase the permeability of the outer membrane[J]. Microbiological Review, 1992, 56(3): 395-411.
- [23] Santini M, Cesare C, Pietro L. Polylysine induces changes in membrane electrical properties of K562 cells[J]. Journal of Biomedical Materials Research, 1997, 35(2): 165-174.
- [24] 李春林. 亚临界水中 ϵ -聚赖氨酸葡聚糖共价复合反应的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2011.

(上接第 133 页)

参考文献

- [1] 蒋岚, 朱毅, 罗云波. 微波加热食品的安全性[J]. 食品工业, 2011(9): 1-4.
- [2] 欧阳艳华, 汪少芸, 周红. 鸡肉蛋白和大豆蛋白的相互作用和机理研究[J]. 中国食品学报, 2011(4): 90-95.
- [3] 周雪松, 赵谦明, 林伟锋, 等. 鸡肉蛋白质组成与分离研究[J]. 食品与发酵工业, 2005(10): 9-12.
- [4] Tornberg E, Andersson K, Josell A. The rheological properties of whole and minced meat during cooking as related to sensory and structural characteristics[C]. Proceeding of the 1st International Symposium on Food Rheology and Structure Zurich, 1997(16): 16-20.
- [5] 杨文慧, 高昂. 微波加工对食品营养成分影响的研究进展[J]. 宁夏农林科技, 2011(3): 61-62.
- [6] Rekha M, G Padmaja. Alpha-amylase inhibitor changes during processing of sweet potato and taro tubers[J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2002, 57(3-4): 285-294.
- [7] Joo S T, Kauffman R G, Kim B C, et al. The relationship of sarcoplasmic and myofibrillar protein solubility to colour and water-holding capacity in porcine longissimus muscle[J]. Meat Science, 1999, 52(3): 291-297.
- [8] Tomaszewska G J, Kijowski J, Schreurs F J. Quantitative determination of titin and nebulin in poultry meat by SDS-PAGE with an internal standard[J]. Meat Science, 2002, 62(1): 61-66.
- [9] 郭饶君. 蛋白质电泳实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [10] 汪家政, 范明. 蛋白质技术手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [11] TORNBERG E. Effect of heat on meat proteins-Implications on structure and quality of meat products[J]. Meat Science 2005, 70(3): 493-508.
- [12] 王振宇. 热处理下的猪肉蛋白质特性[J]. 食品科学, 2008, 29(5): 73-77.
- [13] 王境岩. 生物化学[M]. 第三版. 北京: 高等教育出版社, 2002.