

醋蛋液水解物的类蛋白反应修饰及其对胆酸结合能力的影响

郑玥^{1,2}, 曾庆梅^{1,2}*

(1. 合肥工业大学食品与生物工程学院, 安徽合肥 230009; 2. 合肥工业大学农产品生物化工教育部工程研究中心, 安徽合肥 230009)

摘要 [目的]探讨类蛋白反应在醋蛋液水解过程中对其胆酸结合能力的影响。[方法]采用胃蛋白酶水解醋蛋液, 制备水解度为 43.61%, 胆酸结合能力为 64.01% 的醋蛋液水解物, 并以游离氨基减少量为试验指标, 利用响应面法优化胃蛋白酶催化的类蛋白反应修饰条件, 得到不同修饰程度的产物, 测定其结合胆酸的能力。[结果]修饰产物的胆酸结合能力均提高, 并且结合能力最高的修饰产物的结合能力达到 102.1%, 该修饰产物通过乙醇:水(7:3)或乙醇:水(3:7)比例的溶剂进行离心分级后, 上清液(沉淀)部分的胆酸结合能力高于(低于)修饰产物, 并通过对该修饰产物和上清液部分、沉淀部分的进一步酶水解处理的结果显示, 酶水解会导致它们的结合能力降低, 但是仍然高于最初的醋蛋液水解物。[结论]类蛋白反应可以提高醋蛋液水解物的胆酸结合能力和对蛋白酶抵抗的能力。

关键词 类蛋白反应; 醋蛋液水解物; 胃蛋白酶; 溶剂萃取; 蛋白酶抵抗

中图分类号 TS 201.2 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2019)01-0154-04

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.01.047



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Modification of Vinegar-egg Hydrolysates by Plastein Reaction and Bile Acid-binding Capacity of Modified Products

ZHENG Yue^{1,2}, ZENG Qing-mei^{1,2} (1. School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei, Anhui 230009; 2. Engineering Research Center of Bio-Process, Ministry of Education, Hefei University of Technology, Hefei, Anhui 230009)

Abstract [Objective] The impact of solvent fractionation and protease digestion on the bile acid-binding capacity of plastein reaction-stressed vinegar-egg hydrolysates was discussed. [Method] Vinegar-egg was hydrolyzed by pepsin to obtain a hydrolysate with a degree of hydrolysis of 43.61% and a bile acid-binding capacity of 64.01%. The decrease of free amino groups of the modified hydrolysate which was as the response was measured to obtain appropriate reaction condition. [Result] Bile acid-binding capacity of modified hydrolysate was improved, the treated hydrolysates were obtained and exhibited the highest bile acid-binding capacity of 102.1%. This modified hydrolysate was separated by applying ethanol-water of 7:3 or 3:7, the obtained supernatant (precipitate) fractionates have higher (lower) capacity to bile acid than the parent substrate. The further enzymatic hydrolysis of the supernatant and precipitation fractions could result in the impairment of bile acid-binding capacity. [Conclusion] Plastein reaction could enhance bile acid-binding capacity and protease resistance of vinegar-egg hydrolysate.

Key words Plastein reaction; Vinegar-egg hydrolysate; Pepsin; Solvent fractionation; Protease resistance

大量科学理论证明食物蛋白水解物与胆酸结合可以阻止胆酸重吸收, 从而降低内源性胆固醇浓度^[1-3]。胆酸结合能力可能与水解物和肽暴露出的疏水性氨基酸残基有关系^[4]。同时, 许多研究发现蛋白水解物比蛋白质本身有着更大的结合潜力^[5-6]。醋蛋液是一种民间广为流传的饮品, 它有很多药理作用, 比如免疫系统调节、消化功能提升、减轻人体内胆固醇水平、降血压和抗氧化等作用。许多人从醋蛋液中分离出 ACE 抑制肽和抗氧化肽^[7-8]。但是目前还没有从醋蛋液中分离出可以结合胆酸的肽。

类蛋白反应在食品科学领域是一种很重要的反应, 其反应机制具有多样性和争议性。在同一个反应系统中可能含有多个反应机制, 主要包括水解、聚集、转肽作用和物理聚集。主导类蛋白反应机制是由反应系统的特定条件(反应底物、酶和其他条件)决定的。类蛋白反应可以有效地去除蛋白水解物的苦味^[9], 通过引进许多重要的氨基酸进入蛋白水解物的肽分子解决氨基酸组成失衡问题^[10-11]。

类蛋白反应利用某些分子的氨基酸序列改变, 即新的肽分子的产生和氨基酸序列的重组, 改善生物活性肽提高其生理活性。Qian 等^[12]通过测定胆酸结合能力来研究类蛋白反

应的作用, 发现类蛋白反应可以提高胆酸结合能力。Howard 等^[13]报道蛋白水解物通过结合胆酸由胆固醇转化为胆酸。鸡肉水解物的类蛋白反应修饰物由于肽聚集比原水解物捆绑更多的胆酸^[14]。因此, 利用胃蛋白酶制备醋蛋液水解物, 再利用胃蛋白酶催化的类蛋白反应对水解物进行修饰, 评价其胆酸结合能力和探究进一步酶水解对其结合能力的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂 胃蛋白酶, 碱性蛋白酶, 胰蛋白酶, 上海源叶生物科技有限公司; 其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备 AG135 电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司); BSG-26 电热恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 醋蛋液水解物的制备。鸡蛋用水洗净后, 95%酒精消毒, 晾干后按照 1:3(W/V)的比例放于米醋中, 浸泡 48 h 后, 鸡蛋被戳破搅拌获得混合液。最后, 混合液被冻成粉, 便于后续分析。醋蛋粉(5 g)溶解于 50 mL 去离子水中, 用 1.0 mol/L HCl 调节 pH 至 2.0, 加入胃蛋白酶于 37 °C 下水解 1~7 h, 在 100 °C 水浴中保持 10 min 后终止反应。待冷却到室温后, 5 000 r/min 离心 15 min, 取上清液测定其水解度和胆酸结合能力。具有最大结合能力的水解物被大量制备, 冻干, 用于类蛋白反应的底物。

1.3.2 醋蛋液水解物的类蛋白反应修饰。用胃蛋白酶对醋

基金项目 国家自然科学基金项目(31371844, 31071556); 安徽省科技厅项目(1301032155)。

作者简介 郑玥(1995—), 女, 安徽合肥人, 硕士研究生, 研究方向: 农产品加工及贮藏工程。* 通信作者, 教授, 博士, 从事食品贮藏保鲜、食品卫生和油脂加工工程方面的研究。

收稿日期 2018-08-12; **修回日期** 2018-08-22

蛋液水解产物进行类蛋白反应修饰。采用中心组合试验,通过测定反应体系的游离氨基量变化,利用响应面法对底物质量浓度、酶添加量、反应温度等 3 个反应条件进行优化(表 1),以选择适宜的修饰反应条件。反应结束后,修饰产物在沸水浴灭酶 15 min,冷却后冻干,20 ℃ 储存备用。在优选的条件下,改变反应时间(1,3,5,7 和 9 h)制备 5 个修饰产物,测定游离氨基含量及其胆酸结合能力。具有最大结合能力的修饰产物被大量制备,冻干,以备后续的溶剂萃取和进一步酶解。

1.3.3 修饰产物的溶剂萃取和分离。利用不同的介质对最大结合能力的修饰产物进行分离,10 000 r/min 离心 30 min,分离出上清液和沉淀,测定其游离氨基含量和胆酸结合能力,分别冻干,用于进一步研究。

1.3.4 修饰产物和上清液、沉淀部分的进一步酶解。对最大结合能力的修饰产物和离心分级产物(上清液部分和沉淀部分)分别采用胃蛋白酶、碱性蛋白酶和胰蛋白酶进行酶水解处理,并对其产物的游离氨基含量和胆酸结合能力进行分析测定。

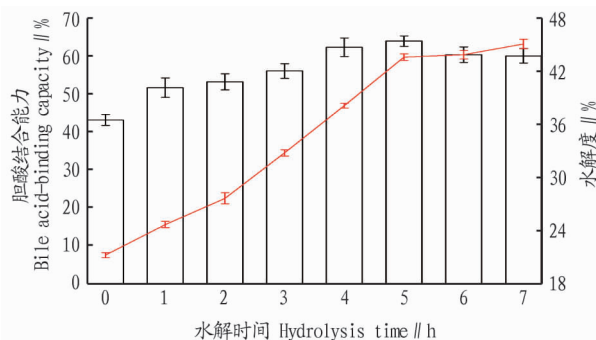
1.3.5 游离氨基含量、醋蛋液水解度(DH)和胆酸结合能力测定。样品游离氨基含量通过邻苯二甲醛(OPA)法测定^[15-16],醋蛋液水解度通过 Adler-Nissen 提出的公式计算^[17],胆酸结合能力根据 Kahlon 和 Chow 提出的方法来测定^[18],使用消胆胺作为胆酸结合能力的阳性对照药物。

2 结果与分析

2.1 醋蛋液水解物的制备 胃蛋白酶在人体胃环境中保持稳定,我们希望醋蛋液类蛋白修饰产物稳定存在于胃中,所以胃蛋白酶被选择作为该研究中水解和聚集作用的催化剂^[12]。醋蛋液相对于消胆胺(结合能力 100%)来说具有 43.21%的胆酸结合能力。由图 1 可以看出,当水解时间在 0~5 h,制备的醋蛋液水解物的水解度从 21.24% 上升到 43.61%,胆酸结合能力从 43.21% 提高到 64.01%。但是,更长的水解时间不能显著影响其结合能力。水解度为 43.61% 时,水解物的胆酸结合能力最大,为 64.01%,因此选择此醋蛋液水解物作为进一步修饰反应的底物。

Sun 等^[19]用碱性蛋白酶水解酪蛋白 6 h 后得到水解度为 10.9%, IC_{50} 为 52.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的水解物,Zhang 等^[20]用碱性蛋白酶水解大豆蛋白,获得的大豆蛋白水解物水解度为 14.0%,螯合钙离子能力为 41.0 mg/g 肽。Wei 等^[21]报道称酪蛋白被水解 4 h 时,水解物表现出最大的 ACE 抑制活性(42.9%)。Lin 等^[22]发现海瓜子的可食用肌肉部分在消化酶水解后有更强的胆酸结合能力。该研究结果与以上结论较为相近,说明在一定范围内,某些蛋白质的胆酸结合能力和其水解度呈正相关。

2.2 醋蛋液水解物的类蛋白反应修饰与产物的胆酸结合能力 通过中心组合试验,利用响应面法对底物浓度、酶添加量、反应温度等 3 个反应条件进行优化(表 1),共计 20 次试验,以选择适宜的修饰反应条件。采用 Design-Expert 8.0.6 软件设计试验条件,对其结果进行多元线性回归拟合,得到



注:柱状图代表胆酸结合能力;折线图代表水解度

Note:The column chart is for bile acid-binding capacity;the graph chart is for DH

图 1 不同水解时间对醋蛋液水解物的水解度和胆酸结合能力的影响

Fig. 1 The hydrolysis degree and bile acid-binding capacity of vinegar-egg hydrolysates prepared at different hydrolysis time

底物浓度(X_1)、酶添加量(X_2)和反应温度(X_3)的回归方程模型:

$$Y = +101.76 + 6.58X_1 + 2.60X_2 + 5.25X_3 - 1.75X_1X_2 - 3.50X_1X_3 - 7.50X_2X_3 - 4.06X_1^2 - 10.42X_2^2 - 5.83X_3^2$$

$P < 0.0001$,失拟项 $P = 0.0771 > 0.05$,说明该模型失拟不显著,方程能够反应游离氨基变化量与各因素之间的关系; $R^2 = 0.9536$, $R_{\text{Adj}}^2 = 0.9118$,即该模型能解释 91.18%,有 4.78%的变异不能用该模型解释,说明该模型与实际拟合较好,影响因素与响应值之间的关系显著,因此能用此模型对游离氨基变化量进行分析和预测(图 2)。A、C、BC、 A^2 、 B^2 、 C^2 对应的 P 值小于 0.01,影响极显著,说明这几个因素对游离氨基变化量的影响大,由 F 值的大小可知,3 个因素对游离氨基变化量的影响顺序为底物浓度>反应温度>酶添加量。

表 1 响应面分析的因素与水平编码

Table 1 Coded values of factors and levels in response surface analysis

因素 Factor	底物浓度 Substrate concentration (W/V) / %	酶添加量 Enzyme added kU/g peptides	反应温度 Reaction temperature ℃
$-\alpha$	18.2	0.82	13.2
-1	25.0	1.50	20.0
0	35.0	2.50	30.0
+1	45.0	3.50	40.0
$+\alpha$	51.8	4.18	46.8

根据所得的模型,进一步确定各因素最佳条件,得优化的提取条件:底物浓度为 42.07%,酶添加量为 2.47 kU/g peptides,反应温度为 32.54 ℃,预测的结果为 104.721 $\mu\text{mol}/\text{g}$ peptides。为了便于操作,将以上参数修正为:底物浓度为 42.1%,酶添加量为 2.5 kU/g peptides,反应温度为 32.5 ℃,2 组平行试验的结果分别为 103.5 和 102.8 $\mu\text{mol}/\text{g}$ peptides,平均值为 103.15 $\mu\text{mol}/\text{g}$ peptides,低于计算值 104.721 $\mu\text{mol}/\text{g}$ peptides ($P > 0.05$),表明采用该模型得到的预测值与试验真实值相符度高,得到的条件参数可靠。

利用这些反应条件,对醋蛋液水解物进行修饰,根据反

应时间不同(1、3、5、7和9 h)制备5个不同修饰程度的修饰产物(产物1~5),它们的胆酸结合能力、游离氨基变化量列于表2,结果表明,在类蛋白反应初始阶段,游离氨基减少量增加,反应时间5 h,游离氨基减少量最大,为103.7 $\mu\text{mol/g}$ peptides,游离氨基含量下降最多,这可能是因为酶解导致的游离氨基酸的共价修饰,导致酰胺结合和肽的聚集^[12]。反

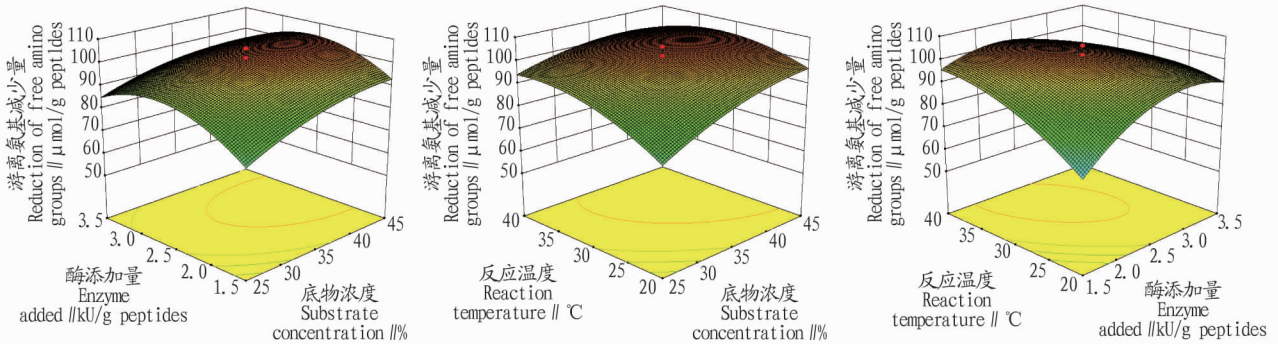


图2 类蛋白反应中底物浓度、酶添加量、反应温度对修饰产物游离氨基减少量的影响

Fig. 2 Effects of substrate concentration, pepsin amount and reaction temperature of plastein reaction on the reduction of free amino groups in modified hydrolysates

表2 类蛋白反应修饰对醋蛋液水解物的胆酸结合能力的影响

Table 2 Effect of plastein reaction on bile acid-binding capacity of vinegar-egg hydrolysates

样品 Sample	反应时间 Reaction temperature h	游离氨基 含量减少量 Reduction of free amino groups $\mu\text{mol/g}$ peptides	胆酸结合能力 Bile acid- binding capacity %
醋蛋液水解物 Hydrolysate obtained with vinegar egg	0	0	52.7 \pm 2.5
修饰产物1 Modified hydroly- sate 1	1	65.7 \pm 1.3	61.3 \pm 2.8
修饰产物3 Modified hydroly- sate 3	3	81.4 \pm 4.0	79.5 \pm 3.6
修饰产物5 Modified hydroly- sate 5	5	103.7 \pm 1.0	102.1 \pm 9.8
修饰产物7 Modified hydroly- sate 7	7	69.2 \pm 2.0	83.8 \pm 2.6
修饰产物9 Modified hydroly- sate 9	9	41.8 \pm 4.9	62.4 \pm 1.9

2.3 修饰产物的溶剂萃取 Qian等^[12]报道许多水解物中的肽在类蛋白反应期间聚集形成沉淀,疏水性肽键可能在反应中发挥很大的作用。修饰产物5在加入不同溶剂后进行离心分级分离,分离后分别得到上清液和沉淀2个部分。由表3可知,乙醇-水溶剂(7:3, V/V)可以有效地分离修饰产物5的活性部分,获得的上清液相比醋蛋液水解物有着较高的胆酸结合能力,而沉淀的胆酸结合能力弱于醋蛋液水解物,结果表明低极性溶剂可以丰富疏水性肽组分。相反,乙醇-水(3:7, V/V)有较高的极性,所以低极性肽组分在沉淀部分被发现而展现出较高的结合能力。说明疏水性肽组分存在于低极性溶剂中,可能是增加胆酸结合能力的主要原因。疏水性氨基酸因为其两亲性结构通过疏水作用结合胆酸^[24]。Brownsell等^[25]报道蛋白水解物在通过类蛋白修饰后,其疏水性氨基酸组成增加,从而影响其胆酸结合能力。

应时间超过5 h后,游离氨基减少量不再增加,随着反应时间的延长,水解程度不断增强^[23]。这些修饰产物的胆酸结合能力从61.3%增加到102.1%(相对于消胆胺),均比原始的醋蛋液水解物(52.7%)要高,表明类蛋白反应可以增强醋蛋液水解物的单算结合能力。因此,将反应时间为5 h的修饰产物,即修饰产物5用于进一步的溶剂萃取和酶解。

表3 醋蛋液水解物和修饰产物的不同溶剂离心分级对胆酸结合能力的影响

Table 3 Effects of their water or ethanol-water solvent fractionated products of vinegar-egg hydrolysates and modified hydrolysates on bile acid-binding capacity

样品 Sample	溶剂 Solvent	分级部分 Fractionated products	胆酸结合能力 Bile acid- binding capacity, %
醋蛋液水解物 Hydrolysate obtained with vinegar egg	水	上清液部分	45.2 \pm 0.4
		沉淀部分	56.5 \pm 1.2
修饰产物5 Modified hydroly- sate 5	乙醇:水7:3	上清液部分	60.4 \pm 0.9
		沉淀部分	39.1 \pm 0.8
修饰产物5 Modified hydroly- sate 5	乙醇:水3:7	上清液部分	53.1 \pm 1.3
		沉淀部分	51.9 \pm 0.9
修饰产物5 Modified hydroly- sate 5	水	上清液部分	98.4 \pm 2.3
		沉淀部分	100.7 \pm 2.4
修饰产物5 Modified hydroly- sate 5	乙醇:水7:3	上清液部分	106.4 \pm 2.7
		沉淀部分	80.3 \pm 0.6
修饰产物5 Modified hydroly- sate 5	乙醇:水3:7	上清液部分	102.3 \pm 1.3
		沉淀部分	98.9 \pm 0.9

2.4 修饰产物和分级产物进一步酶解与胆酸结合能力的变化 由表4可知,修饰产物5和它的分级产物相对于其对应的底物都有更高的游离氨基含量,表明它们均被3种酶进一步的水解。但是,进一步酶解的最终产物的胆酸结合能力低于修饰产物5(76.4%)或者分级产物(上清液106.4%,沉淀70.3%)。可见,每一个样品的胆酸结合能力都被降低,且对胃蛋白酶、碱性蛋白酶和胰蛋白酶的水解敏感。整体来说,目前的研究表明类蛋白修饰不仅能够提高醋蛋液水解物的胆酸结合能力,而且能够提高其对蛋白酶的抵抗能力。在3种酶的水解之后,相比于溶剂萃取后的产物,修饰产物5具有更强的胆酸结合能力,表明醋蛋液修饰产物不能通过溶剂萃取提高其对蛋白酶抵抗的能力。

3 结论

通过对胃蛋白酶水解制备的醋蛋液水解物进行类蛋白

反应修饰,胆酸结合能力从 52.7% 提高到 102.1%,以游离氨基含量减少量为指标,响应面法得到的类蛋白修饰反应条件为:底物浓度 42.1%、酶添加量 2.5 kU/g peptides、反应温度 25 °C 和反应时间 5 h。利用体积比为 7:3 的乙醇-水溶剂对修饰产物进行离心分级处理,表明上清液的胆酸结合能力明

显高于修饰产物,但是沉淀部分则低于修饰产物。修饰产物及离心分级产物的进一步酶水解处理,表明类蛋白修饰不仅能够提高酪蛋液水解物的胆酸结合能力,而且能够提高其对蛋白酶的抵抗能力。

表 4 进一步酶水解对酪蛋液修饰产物 5 和其分级产物的胆酸结合能力的影响

Table 4 Effects of further protease hydrolysis of modified hydrolysate 5, and its fractionated products on bile acid-binding capacity

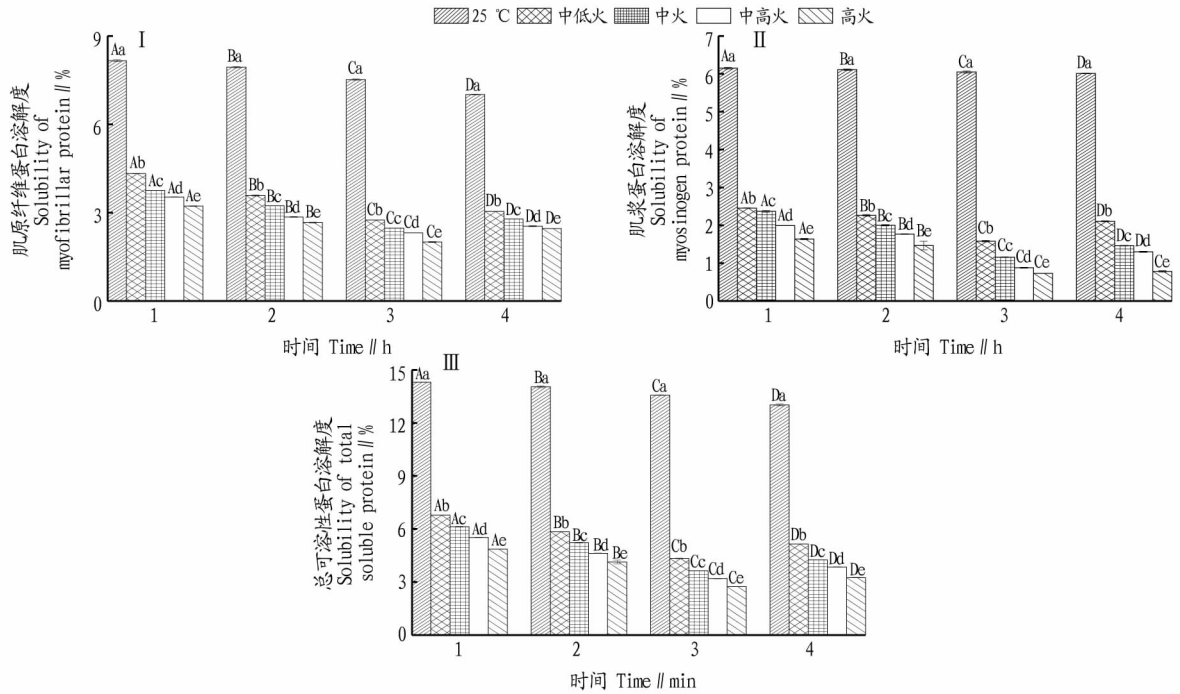
样品 Sample	蛋白酶 Protease	水解时间 Hydrolysis time//min	游离氨基含量减少量 Reduction of free amino groups// $\mu\text{mol/g}$ peptides	胆酸结合能力 Bile acid-binding capacity//%
修饰产物 5 Modified hydrolysate 5	胃蛋白酶	10	62.6 \pm 2.2	84.3 \pm 1.4
		30	103.2 \pm 9.0	61.4 \pm 2.0
	胰蛋白酶	10	52.3 \pm 3.7	86.4 \pm 0.9
		30	98.4 \pm 2.3	59.8 \pm 3.3
	碱性蛋白酶	10	49.3 \pm 0.5	81.9 \pm 0.8
		30	85.7 \pm 0.3	57.5 \pm 1.6
上清液部分 Supernatant part	胃蛋白酶	10	62.7 \pm 2.9	79.6 \pm 1.1
		30	112.3 \pm 6.3	52.9 \pm 2.4
	胰蛋白酶	10	56.3 \pm 3.2	81.4 \pm 3.0
		30	98.5 \pm 2.3	52.8 \pm 1.7
	碱性蛋白酶	10	48.6 \pm 1.8	80.8 \pm 3.6
		30	89.3 \pm 3.6	53.6 \pm 1.6
沉淀部分 Precipitation part	胃蛋白酶	10	46.4 \pm 1.4	63.9 \pm 2.1
		30	102.3 \pm 1.0	52.8 \pm 1.7
	胰蛋白酶	10	45.6 \pm 0.9	64.3 \pm 1.8
		30	87.4 \pm 5.6	56.6 \pm 0.8
	碱性蛋白酶	10	42.7 \pm 1.1	62.7 \pm 1.6
		30	79.3 \pm 1.9	44.9 \pm 1.9

参考文献

- [1] ALHAJ O A, IRSHAD I, KANEKANIAN A D. Hypocholesterolemic and angiotensin I converting enzyme-inhibiting activity of trypsin-hydrolysed bovine casein[J]. Journal of nutritional health & food engineering, 2016, 5(3):177.
- [2] NAGAOKA S, FUTAMURA Y, MIWA K, et al. Identification of novel hypocholesterolemic peptides derived from bovine milk β -lactoglobulin[J]. Biochemical and biophysical research communications, 2001, 281(1):11-17.
- [3] SHIRATA S, ODA K, ONODERA-MASUOKA N, et al. Hypocholesterolemic effect of indigestible fraction of *Chlorella regularis* in cholesterol-fed rats[J]. Journal of nutritional science and vitaminology, 2001, 47(6):373-377.
- [4] KONGO-DIA-MOUKALA J U, ZHANG H, IRAKOZE P C. *In vitro* binding capacity of bile acids by defatted corn protein hydrolysate[J]. International journal of molecular sciences, 2011, 12(2):1066-1080.
- [6] MULLALLY M M, MEISEL H, FITZGERALD R J. Angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activities of gastric and pancreatic proteinase digests of whey proteins[J]. International dairy journal, 1997, 7(5):299-303.
- [6] PIHLANTO-LEPPÄ L ÄA, ROKKA T, KORHONEN H. Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides derived from bovine milk proteins[J]. International dairy journal, 1998, 8(4):325-331.
- [7] 杨锋, 陈锦屏, 吴莉莉. 酪蛋多肽血管紧张素转化酶抑制活性的稳定性研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(11):151-153, 156.
- [8] 杨锋, 陈锦屏, 林心怡. 美拉德反应对酪蛋多肽抗氧化活性的影响[J]. 食品科学, 2013, 34(3):137-140.
- [9] STEVENSON D E, OFMAN D J, MORGAN K R, et al. Protease-catalyzed condensation of peptides as a potential means to reduce the bitter taste of hydrophobic peptides found in protein hydrolysates[J]. Enzyme & microbial technology, 1998, 22(2):100-110.
- [10] ASHLEY D V, TEMLER R, BARCLAY D, et al. Amino acid-enriched plasteins: A source of limiting amino acids for the weanling rat[J]. Journal of nutrition, 1983, 113(1):21-27.
- [11] YAMASHITA M, ARAI S, AMANO Y, et al. A novel one-step process for enzymatic incorporation of amino acids into proteins; Application to soy protein and flour for enhancing their methionine levels[J]. Agricultural and biological chemistry, 1979, 43(5):1065-1068.
- [12] QIAN F, WANG Y, WEN Z J, et al. Plastein reaction enhanced bile-acid binding capacity of soybean protein hydrolysates and whey protein hydrolysates[J]. Journal of food science & technology, 2018, 55(3):1021-1027.
- [13] HOWARD A, UDENIGWE C C. Mechanisms and prospects of food protein hydrolysates and peptide-induced hypolipidaemia[J]. Food & function, 2013, 4(1):41-50.
- [14] UDENIGWE C C, MOHAN A, WU S H. Peptide aggregation during plastein reaction enhanced bile acid-binding capacity of enzymatic chicken meat hydrolysates[J]. Journal of food biochemistry, 2015, 39(3):344-348.
- [15] CHURCH F C, SWAISGOOD H E, PORTER D H, et al. Spectrophotometric assay using *o*-phthalaldehyde for determination of proteolysis in milk and isolated milk proteins[J]. Journal of dairy science, 1983, 66(6):1219-1227.
- [16] SPELLMAN D, MCEVOY E, O'CUINN G, et al. Proteinase and exopeptidase hydrolysis of whey protein; Comparison of the TNBS, OPA and pH stat methods for quantification of degree of hydrolysis[J]. International dairy journal, 2003, 13(6):447-453.
- [17] ADLER-NISSEN J. Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid[J]. Journal of agricultural and food chemistry, 1979, 27(6):1256-1262.
- [18] SAIGA A, TANABE S, NISHIMURA T. Antioxidant activity of peptides obtained from porcine myofibrillar proteins by protease treatment[J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2003, 51(12):3661-3667.
- [19] SUN H, LI T J, ZHAO X H. ACE Inhibition and enzymatic resistance *in vitro* of a casein hydrolysate subjected to plastein reaction in the presence of extrinsic proline and ethanol-or methanol-water fractionation[J]. International journal of food properties, 2014, 17(2):386-398.
- [20] ZHANG Y, ZHAO X H. *In vitro* angiotensin I-converting enzyme inhibition of casein hydrolysate responsible for plastein reaction in ethanol-water medium, solvent fractionation, and protease digestion[J]. International journal of food properties, 2014, 17(7):1577-1590.
- [21] WEI X, LI T J, ZHAO X H. Coupled neutrase-catalyzed plastein reaction mediated the ACE-Inhibitory activity *in vitro* of casein hydrolysates prepared by alcalase[J]. International journal of food properties, 2013, 16(2):429-443.
- [22] LIN Y H, TSAI J S, CHEN G W. Purification and identification of hypocholesterolemic peptides from freshwater clam hydrolysate with *in vitro* gastrointestinal digestion[J]. Journal of food biochemistry, 2017, 41(4):12385.

浴加热、微波加热对肌浆蛋白溶解度影响存在部分不显著性变化,说明水浴加热时盐分子的无规则运动以及微波加热幅

照对鸭肉中的极性分子与非极性分子进行重新排列,蛋白质结构改变可能是引起蛋白溶解度降低的主要因素。



注:大写字母不同表示相同处理温度不同腌制时间差异显著($P < 0.05$);小写字母不同表示相同腌制时间不同处理温度差异显著($P < 0.05$)

Note: Different capital letters indicate that the same treatment temperature and different curing time have significant differences ($P < 0.05$); the lowercase letters indicate that the same curing time and different treatment temperatures have significant differences ($P < 0.05$)

图3 微波加热时肌原纤维蛋白(a)、肌浆蛋白(b)、总可溶性蛋白(c)的溶解度变化

Fig. 3 Solubility of myofibrillar protein (a), myosinogen protein (b), total soluble protein (c) during heating by microwave

参考文献

- [1] BAŠIĆ M, IVANOVIĆ J, MAHMUTOVIĆ H, et al. Duck meat in human nutrition [J]. Tehnologija mesa, 2015, 56(1): 50-57.
- [2] 李超, 徐为民, 王道营, 等. 加热过程中肉嫩度变化的研究 [J]. 食品科学, 2009, 30(11): 262-265.
- [3] 邓少颖, 王道营, 张牧焱, 等. 鸭胸肌肉加热过程中肌动球蛋白解离研究 [J]. 食品科学, 2015, 36(1): 1-5.
- [4] 邹良亮, 康怀彬, 张慧芸, 等. 高温处理对牛肉蛋白质组分及其降解的影响 [J]. 食品与机械, 2017(11): 18-22, 27.
- [5] 殷燕涛. 脉动正负压对鸭肉腌制的影响 [D]. 扬州: 扬州大学, 2015.
- [6] 李清正, 张顺亮, 罗永康, 等. 温度对复合肌原纤维蛋白结构及其表面疏水性的影响 [J]. 肉类研究, 2017, 31(2): 6-10.
- [7] LEYGONIE C, BRITZ T J, HOFFMAN L C. Meat quality comparison between fresh and frozen/thawed ostrich *M. iliobfularis* [J]. Meat science, 2012, 91(3): 364-368.
- [8] 潘锦锋, 沈慧星, 尤娟, 等. 草鱼肌原纤维蛋白加热过程中理化特性的变化 [J]. 中国农业大学学报, 2009, 14(6): 17-22.
- [9] 孙丽. 金枪鱼肉在蒸煮过程中品质特性变化的研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2009.
- [10] BELIBAGLI K B, SPEERS R A, PAULSON A T. Thermophysical properties of silver hake and mackerel surimi at cooking temperatures [J]. Journal of food engineering, 2003, 60(4): 439-448.
- [11] YONGSAWATDIGUL J, PARK J W. Thermal denaturation and aggregation of threadfin bream actomyosin [J]. Food chemistry, 2003, 83(3): 409-416.
- [12] TORNERBERG E. Effects of heat on meat proteins-Implications on structure and quality of meat products [J]. Meat science, 2005, 70(3): 493-508.
- [13] KIJOWSKI J M, MAST M G. Thermal properties of proteins in chicken broiler tissues [J]. Journal of food science, 1988, 53(2): 363-366.
- [14] 李鹏, 李沛然, 郭耀华, 等. pH变化对鲢鱼肌浆蛋白理化和功能特性的影响 [J]. 食品研究与开发, 2014, 35(6): 3-7.
- [15] 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.
- [16] 李晓龙, 刘书成, 解万翠, 等. 远红外和水煮加热虾仁变化规律研究 [C] // “食品工业新技术与新进展”学术研讨会暨 2014 年广东省食品学会年会论文集. 广州: 广东省食品学会, 2014.
- [17] 牟群英, 李贤军. 微波加热技术的应用与研究进展 [J]. 物理, 2004, 33(6): 438-442.
- [18] 张天义. 微波加热对猪肉中蛋白质及苯并芘形成的影响研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2013.
- [19] QASEM R J. The effect of microwave thermal denaturation on release properties of bovine serum albumin and gluten matrices [J]. AAPS PharmSciTech, 2006, 7(1): 1-7.
- [20] 涂宗财, 马达, 王辉, 等. 超声波对鸡肉肌浆蛋白理化性质和结构的影响 [J]. 食品科学, 2013, 34(19): 32-36.

(上接第 157 页)

- [23] UDENIGWE C C, WU S H, DRUMMOND K, et al. Revisiting the prospects of plastein: Thermal and simulated gastric stability in relation to the antioxidative capacity of casein plastein [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2014, 62(1): 130-135.
- [24] HIGAKI N, SATO K, SUDA H, et al. Evidence for the existence of a soybean resistant protein that captures bile acid and stimulates its fecal excretion [J]. Journal of the agricultural chemical society of Japan, 2006, 70(12): 2844-2852.
- [25] BROWNELL V L, WILLIAMS R J H, ANDREWS A T. Application of the plastein reaction to mycoprotein: II. Plastein properties [J]. Food chemistry, 2001, 72(3): 337-346.