

肌原纤维蛋白结构变化对鸭肉品质的影响

童今柱¹, 娄鹏祥¹, 吴晓龄¹, 范远景^{1*}, 刘培志², 李怀仁²

(1. 合肥工业大学食品与生物工程学院, 安徽合肥 230009; 2. 安徽刘郎食品有限公司, 安徽宣城 242000)

摘要 [目的]探究肌原纤维蛋白结构变化与鸭肉品质的关系。[方法]采用水浴、微波、红外3种加热方式处理鸭肉,并对鸭肉肌原纤维蛋白的结构性质(羰基含量、巯基含量、二级结构)以及鸭肉品质指标(pH、颜色、持水力、质构)进行测定。[结果]随着温度的升高,硬度、白度值(L^*)、羰基值、无规卷曲呈显著上升的趋势($P<0.05$),硬度值(a^*)、持水力、蛋白质二级结构(α 螺旋)呈显著下降的趋势($P<0.05$);硬度与 α 螺旋呈现极显著负相关($P<0.01$),弹性与无规卷曲呈正相关($P<0.01$), L^* 值与持水力呈负相关($P<0.01$), a^* 值与羰基值呈负相关($P<0.01$)。[结论]鸭肉肌原纤维蛋白结构变化对鸭肉品质产生明显的影响,表现在肌原纤维二级结构变化即 α 螺旋下降、无规卷曲上升导致鸭肉硬度和弹性上升,羰基值上升导致 a^* 上升。

关键词 鸭肉;肌原纤维蛋白;结构性质;品质;相关性中图分类号 TS 251.5⁺5 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2019)08-0162-06

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.08.043



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Effects of Structural Changes of Myofibrillar Proteins on Meat Quality in Duck

TONG Jin-zhu, LOU Peng-xiang, WU Xiao-ling et al (School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei, Anhui 230009)

Abstract [Objective] The research aimed to explore the relationship between the structural changes of myofibrillar protein and the quality of duck meat. [Method] Duck meat was treated with water bath, microwave and infrared. The structural properties of muscle fibrillar protein (carbonyl content, sulfhydryl content, secondary structure) and the quality index of duck meat (pH, color, water holding capacity, texture) were studied. [Result] The hardness, L^* , carbonyl value, random crimp showed a significant upward trend with the increase of temperature ($P<0.05$), and the a^* , water holding capacity and α -helix decreased significantly ($P<0.05$). Hardness was negatively correlated with α -helix ($P<0.01$), elasticity was positively correlated with random crimp ($P<0.01$), L^* was negatively correlated with hydraulic capacity ($P<0.01$), and a^* was negatively correlated with carbonyl value ($P<0.01$). [Conclusion] The structural changes of myofibrillar protein in duck meat has a significant effect on the quality of duck meat. The change of secondary structure of myofibrils, namely, the decrease of α -helix and the increase of random coil resulted in the increase of hardness and elasticity of duck meat. The increase of carbonyl value leads to the increase of a^* .

Key words Duck meat; Myofibrillar protein; Structure properties; Quality; Relevance

鸭肉具有低脂肪、低胆固醇和高蛋白等优点,深受消费者欢迎^[1]。鸭肉的颜色、嫩度和保水力是消费者最为关注的品质指标,了解影响鸭肉品质发展的因素,可以为改善鸭肉品质提供理论指导^[2]。蛋白质是机体必不可少的组成元素,对肉制品的风味、口感和营养起到调控作用^[3]。肌原纤维蛋白是鸭肉中含量最高的蛋白质,在鸭肉加工过程中蛋白质易发生降解,结构变化导致其功能特性和理化特性受到影响,使肉的品质发生变化。

蒸煮加热是食品工业中最常见的熟化方式。蒸煮加热存在耗时间长、加热不均匀的问题,规模化生产会降低肉制品的口感和品相,微波和红外加热相对水浴加热避免了可溶性物质溶入水中,减少营养成分的损失,加工过程无废水产生利于环保,因此微波和红外加热技术的应用前景广阔。周琪^[4]研究表明微波加热可以显著改善牛肉的硬度和弹性等质构指标,而且确定微波煮制牛肉最佳条件为煮制中心温度为65℃、微波功率80%、微波时间120s;黄鸣等^[5]研究了微波和红外这2种加热技术各自的特征、加热原理以及在食品加工过程中的应用。近年来,鸭肉肌原纤维蛋白的研究多集中在蛋白质功能性质变化对肉品质的影响,例如蛋白质的

凝胶特性、乳化性等,蛋白质的结构变化与肉品质之间的关系研究相对缺乏。笔者从蛋白质结构的角度出发,对比研究水浴、微波和红外3种加热方式对鸭肉肌原纤维蛋白结构的影响,并探究结构变化与鸭肉品质变化之间的联系。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂 樱桃谷鸭胸肉购于合肥家乐福超市;氯化钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、Tris-甘氨酸、三氯乙酸、2,4-二硝基苯胍、乙醇、乙酸乙酯,均为分析纯,上海苏懿化学试剂有限公司;乙二醇二乙醚二胺四乙酸(glycol-bis-(2-aminooethylether)-N,N,N',N'-tetr, EGTA)、乙二胺四乙酸(Ethylene Diamine Tetraacetic Acid, EDTA)、二硫代二硝基苯甲酸(5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid), DTNB)、盐酸胍,均为分析纯,阿拉丁试剂有限公司。

1.2 仪器与设备 YB型系列电子天平,上海安亭科学仪器厂;WP800TL23-K3型微波炉,格兰仕微波炉电器有限公司;YZB/京0558-2003DYC系列电泳槽,北京市六一仪器;TA-Xtplus型物性测试仪,英国Stable公司;CT15RT型离心机,上海天美生化仪器设备工程有限公司等。

1.3 试验方法

1.3.1 样品的制备。参考Khan等^[6]的方法,将鸭肉用蒸馏水将表面血渍洗净。再剔除鸭胸肉表面脂肪和筋膜,分切为4.0 cm×4.0 cm×6.0 cm大小并进行编号称重,放入蒸煮袋中真空包装。参考张帆^[7]的方法,采用3种加热方式处理鸭

基金项目 安徽省科技厅项目(15CZZ03114);安徽省鸭肉制品工程技术研究中心项目(201306G01054)。**作者简介** 童今柱(1993—),男,安徽六安人,硕士研究生,研究方向:食品现代加工理论与方法。*通信作者,教授,博士,硕士生导师,从事食品科学研究。**收稿日期** 2019-03-13

肉:①微波加热组,微波炉火力设为低火、中低火、中火、中大火,加热 1 min;②水浴加热组,水浴锅温度设为 60、70、80、90 °C,加热 10 min;③红外加热组,红外干燥箱温度设为 60、70、80、90 °C,加热 10 min。以未处理组(25 °C)作为对照。加热结束后冷却,剔除表面由于失水过多带来差异,然后对各指标进行测定,每个取样点处均做 3 次平行。

1.3.2 鸭肉品质的测定。

1.3.2.1 pH 测定。参考 Toldrá 等^[8]的方法,将处理好的肉样剁碎,取 2 g 置于 50 mL 小烧杯中加 18 mL 蒸馏水,5 000 r/min 匀浆 1 min,用 PHS-25B 型数字酸度计测其 pH。

1.3.2.2 颜色测定。参考 Sharifzadeh 等^[9]的方法,使用色差仪来测定鸭肉白度值(L^*)、红度值(a^*)、黄度值(b^*)。

1.3.2.3 持水性的测定。参考李学鹏等^[10]的方法,将鸭肉(约 5 g,精确记重 W_0)放在 50 mL 离心管中,离心管底部放入纱布,在 4 000 r/min、4 °C 下离心 10 min 后记重(W_1),持水率由公式 $WHC = (W_0 - W_1) / W_0 \times 100\%$ 计算得到。

1.3.2.4 物性的测定。参考 Larsen 等^[11]的方法,采用物性仪测定(硬度、剪切力、咀嚼度、黏度、弹性等),仪器参数:P36R 探头;测试前速率 3 mm/s;测试速率 3 mm/s;测试后速率 10 mm/s;测定间隔时间 5 s;压缩比 15%。

1.3.3 肌原纤维蛋白的提取。参考 Xiong 等^[12]的方法并稍作修改。将处理好的肉样剔除表面后绞碎,取 10 g 放入烧杯中,加 4 倍体积冰的分离缓冲液 A(0.1 mol/L NaCl、2 mmol/L $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 、1 mmol/L EGTA、10 mmol/L $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ 、10 mmol/L $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$,pH 7.0),采用匀浆机在 0~4 °C,10 000 r/min 条件下匀浆 20 s,重复 3 次。然后在 4 °C 条件下,5 500 r/min 离心 10 min,去除上清,取沉淀,再加入分离缓冲液 A 液,用磁力搅拌器慢速混匀 15 min,然后在 4 °C 条件下,5 500 r/min 离心 10 min,弃去上清液,取沉淀。重复 3 次,制得粗蛋白。再加入 4 倍体积冰的分离缓冲液 B(0.1 mol/L NaCl、10 mmol/L $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ 、10 mmol/L $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$,pH 7.0),用磁力搅拌器慢速混匀 15 min。再在 4 °C、5 500 r/min 条件下离心 10 min,去除上清,取沉淀,重复上述步骤 2 次,用纱布过滤,再离心 1 次,得到肌原纤维蛋白质,用双缩脲试剂法测出蛋白质浓度。再用缓冲液 C 溶解(0.6 mol/L NaCl、10 mmol/L $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ 、10 mmol/L $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$,pH 7.0)后备用。

1.3.4 肌原纤维蛋白结构测定。

1.3.4.1 巯基的测定。巯基的含量与二硫键有关,反映蛋白质空间结构的稳定性,测定方法参考 Beveridge 等^[13]方法;将提取的肌原纤维蛋白加入 5 倍体积的缓冲溶液匀浆,取 0.5 mL 匀浆液溶于 2.5 mL 的 Tris-甘氨酸-8 mol/L 尿素缓冲液,漩涡振荡,加入 20 μ L Ellman 试剂(4 mg DTNB、1 mL 的 Tris-甘氨酸缓冲液、0.086 mol/L Tris、0.09 mol/L 甘氨酸、4 mmol/L EDTA,pH 8.0),将悬浊液置于室温(25 °C \pm 1 °C)下保温 1 h,10 000 r/min 离心 15 min,测定 412 nm 处吸光值(A_{412}),以牛血清白蛋白为标准,280 nm 测定相应蛋白质含量。计算公式如下:

$$C_{SH} = 73.53A_{412}/C$$

其中 $73.53 = 10^6 / (1.36 \times 10^4)$, 1.36×10^4 为摩尔消光系数; C_{SH} 为巯基浓度(μ mol/g); C 为样品的蛋白质浓度(mg/mL)。

1.3.4.2 羰基的测定。羰基值反映蛋白质被氧化的程度,测定方法按照 Oliver 等^[14]方法;取 1 mL 蛋白液与 50 mL 离心管中,加入 4 mL 10 mmol/L 的 2,4-二硝基苯肼和 2 mol/L 盐酸的混合溶液,同时做空白,25 °C 反应 1 h,然后各加入 5 mL 20%三氯乙酸混合后 4 °C 11 000 r/min 离心 5 min,弃上清,沉淀用 2 mL 体积 1:1 的乙醇-乙酸乙酯溶液洗涤数次,然后加 2 mL 6 mol/L pH 为 2.3 的盐酸胍,37 °C 保温 30 min 后 370 nm 测吸光度,计算羰基含量的摩尔吸光数为 22 000 cm^2/mol 。

1.3.4.3 二级结构测定方法。采用傅里叶光谱法进行测定,参考叶锋等^[15]的测定方法。

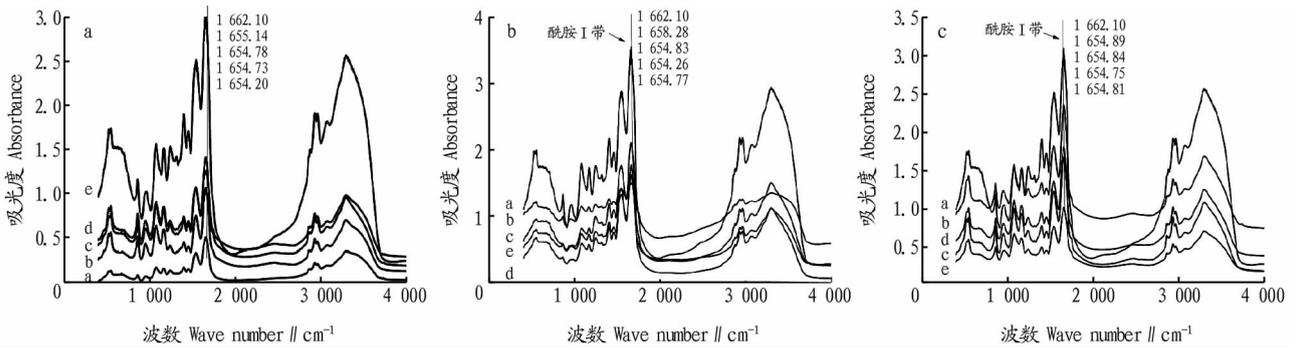
1.4 统计分析 运用 SPSS 19.0 统计软件对所得数据进行相关性分析,运用 PeakFit 软件对图谱进行分析。

2 结果与分析

2.1 肌原纤维蛋白二级结构的变化 由于酰胺 I 带是靠 $C=O$ 的伸缩振动,因此酰胺 I 带的特征吸收峰为 1 700~1 600 cm^{-1} ,而吸收峰位置又受到 $C=O$ 和 NH 之间的氢键性质的影响^[16],因此常被用于分析蛋白质的二级结构。从不同加热条件下鸭肉肌原纤维蛋白红外原始图谱(图 1)可看出,不同的加热方式和温度使得吸光度发生变化,说明蛋白质的二级结构产生变化;水浴条件下随着温度的升高,酰胺 I 带吸收峰由 1 662.10 cm^{-1} 移动至 1 654.20 cm^{-1} ,这是 α 螺旋特征吸收峰,同样微波组和红外组也是随着温度升高,酰胺 I 带吸收峰分别从 1 662.10 cm^{-1} 移动至 1 654.77 和 1 654.81 cm^{-1} ,为了更好地分辨肌原纤维蛋白酰胺 I 带的差异,对其进行二阶求导,小肩峰和重叠峰被分离开来,再经过计算峰面积即为 α 螺旋、 β 折叠、 β 转角、无规卷曲的比例,详见表 1。

对不同加热方式处理后的肌原纤维蛋白傅里叶光谱图进行基线校正,再用软件进行求二阶导数和去卷积,去除不需要的子峰,并用 Peakfit 拟合多次使残差最小。根据峰面积计算各二级结构的比率。各子峰与二级结构对应关系为:1 615~1 637 cm^{-1} 为 β 折叠;1 637~1 645 cm^{-1} 为无规卷曲;1 646~1 661 cm^{-1} 为蛋白质二级结构(α 螺旋);1 660~1 695 cm^{-1} 为 β 转角。由表 1 可知,未处理蛋白以 β 折叠为主,占蛋白质二级结构总量的 38.292%,其他分别为 α 螺旋 34.814%、 β 转角 19.934% 和无规卷曲 6.959%;而且随着温度的升高, α 螺旋整体呈现显著下降的趋势($P < 0.01$),红外和微波组的 β 折叠呈现上升的趋势,水浴组的 β 转角和无规卷曲呈现上升的趋势($P < 0.01$),说明加热使得蛋白质的氢键作用力减弱,导致蛋白质的结构由有序向无序转变,这与郭丽萍等^[17]研究超高压结合热处理对猪肉蛋白质相互作用力及结构的影响结果一致;此外水浴加热相对于微波和红外加热对肌原纤维蛋白的二级结构影响存在显著差别。

2.2 肌原纤维蛋白羰基值的变化 羰基的含量是反映蛋白



注:A.水浴组;B.红外组;C.微波组。a.25℃;b.60℃;c.70℃;d.80℃;e.90℃

Note:A.Water bath group;B.Infrared group;C.Microwave group.a.25℃;b.60℃;c.70℃;d.80℃;e.90℃

图1 不同加热方式和温度处理后鸭肉肌原纤维蛋白红外图谱

Fig.1 Infrared spectra of myofibrillar protein of duck meat treated by different heating methods and temperature

表1 不同加热方式处理过程中肌原纤维蛋白二级结构含量变化

Table 1 Changes of secondary structure content of myofibrillar protein during hyperbaric heat treatment

组别 Group	处理温度 Treatment temperature//℃	α螺旋 α-helix	β折叠 β folding	β转角 β corner	无规卷曲 Random crimp
对照组 Control group	常温	34.814±1.608 a	38.292±1.553 b	19.934±1.377 b	6.959±1.443 b
水浴组 Water bath group	60	21.058±2.149 b	43.484±2.535 b	24.246±1.185 c	11.212±0.768 b
	70	20.204±2.484 b	42.694±2.987 b	26.269±1.520 b	10.833±0.700 b
	80	17.962±1.897 b	43.299±2.488 a	26.739±2.328 a	12.070±1.581 a
	90	17.616±2.088 c	42.154±2.943 a	28.158±0.772 a	12.045±1.732 a
红外组 Infrared group	60	19.922±1.299 b	40.479±1.529 b	28.767±2.585 d	10.832±1.252 b
	70	18.682±1.655 c	41.942±2.619 b	26.791±1.935 a	12.585±0.671 c
	80	18.743±1.140 c	41.546±2.295 b	27.277±2.612 cd	12.434±1.208 a
	90	15.921±1.260 c	53.179±1.518 a	23.006±2.062 b	7.894±1.605 a
微波组 Microwave group	60	19.211±2.247 a	41.025±1.954 c	27.116±1.350 c	12.647±0.475 c
	70	19.175±1.769 b	41.071±3.431 b	27.005±1.125 b	12.749±0.921 b
	80	18.702±1.243 b	40.862±2.901 b	27.931±1.770 b	12.506±1.760 b
	90	16.755±1.284 c	45.163±3.826 a	27.868±1.332 a	10.241±1.094 a

注:同列不同小写字母表示差异极显著(P<0.01)

Note:Different lowercase letters in the same column indicate that the difference is extremely significant(P<0.01)

质被氧化程度的重要指标之一。由图2可知,随着加热温度的上升,羰基值都呈现上升的趋势,当温度低于70℃时,红外组的羰基值明显高于水浴和微波加热组(P<0.05),当温度高于70℃时,水浴加热的羰基值明显高于红外和微波加热组(P<0.05),且红外和水浴加热组的羰基值上升较为平缓,表明加热温度和方式对鸭肉肌原纤维蛋白羰基含量影响较大。在加热过程中,鸭肉的肌原纤维蛋白质发生蛋白氧化反应,水浴加热处理组的持续加热时间比较长,更容易诱发肉中的脂肪氧化和蛋白羰基的形成,而微波和红外加热处理组由于升温速度较快可能导致其脂肪氧化水平以及羰基氧化水平要弱于水浴处理组^[18]。

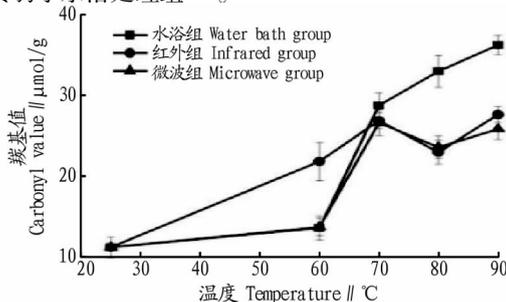


图2 不同加热方式和温度对鸭肉肌原纤维蛋白羰基值的影响

Fig.2 Effects of different heating modes and temperatures on carbonyl value of myofibrillar proteins in duck meat

2.3 肌原纤维蛋白巯基值的变化 由图3可知,巯基含量随着温度的上升呈现出先下降后上升的趋势,在60~80℃时相比对照组(25℃)巯基含量明显下降(P<0.05),80~90℃又明显上升(P<0.05),表明天然蛋白质中包埋有许多疏水基团和巯基,当温度升高,巯基基团暴露,部分被空气中的氧气氧化,产生二硫键,导致巯基含量下降^[19],当温度过高肌原纤维蛋白二级结构被破坏,二硫键断裂,导致巯基含量上升。

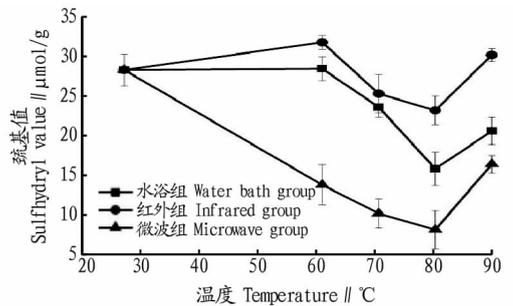


图3 不同加热方式和温度对鸭肉肌原纤维蛋白巯基值的影响

Fig.3 Effects of different heating modes and temperatures on sulfhydryl value of myofibrillar proteins in duck meat

2.4 鸭肉物性的变化 由图4可知,鸭肉在经过3种不同加热方式处理后,硬度都随温度上升而呈现增大的趋势。微波和红外加热组在60℃时相比对照组(25℃)硬度差异不显著,且红外加热组在60~90℃硬度增加不显著;微波加热组

在 60~70 °C 硬度增加显著 ($P<0.05$), 70~90 °C 硬度增加不显著; 而水浴加热组在 60 °C 时相比对照组硬度明显提高 ($P<0.05$) 且在 60~90 °C 硬度增加显著 ($P<0.05$), 说明加热会使鸭肉硬度逐渐变大, 可能是由于温度升高导致鸭肉肌原纤维蛋白结构发生变化, 蛋白质变性形成不可逆凝胶, 这与苏伟等^[20] 研究不同加热温度对三穗鸭肉品质的影响结果相一致; 而不同加热方式对鸭肉的硬度变化影响有明显的差异, 可能是由于加热时热能的传递方式不同导致的, 水浴加热组

是通过热对流完成热量的传递, 而微波和红外加热组是通过热辐射来完成热量的传递; 同时随着温度的升高, 弹性整体呈现增大的趋势, 水浴组和微波组在 60~80 °C 相比对照组呈现增大趋势 ($P<0.05$), 在 80~90 °C 趋于不变, 这也许是由于随着温度的升高, 肌原纤维蛋白形成凝胶, 导致弹性增大后又趋于平衡, 而红外组 60~80 °C 呈现减小的趋势 ($P<0.05$), 80~90 °C 呈现增大的趋势 ($P<0.05$), 这可能是由于红外加热, 热渗透慢导致凝胶形成迟缓。

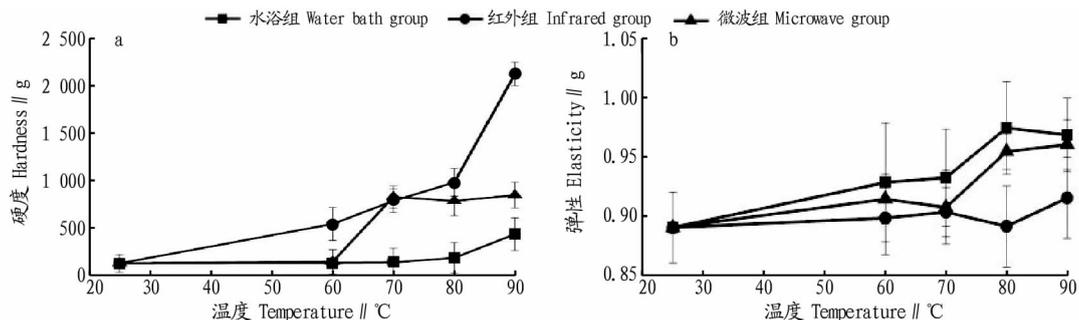


图 4 不同加热方式和温度对鸭肉硬度 (a) 和弹性 (b) 的影响

Fig.4 Effects of different heating methods and temperature on hardness (a) and elasticity (b) of duck meat

2.5 鸭肉颜色的变化 由图 5 可知, 鸭肉的 L^* 值呈现缓慢增长的趋势, 红外加热组在 70~80 °C 增加相对显著 ($P<0.05$), 水浴和微波加热组在 60~80 °C 增加显著 ($P<0.05$), 在 80~90 °C 都不显著 ($P>0.05$), 加热组 L^* 值总体高于对照组且随着温度升高而升高, L^* 值与样品的水分含量相关, 随着加热时间的延长, 鸭肉中的水分逐渐减少, 使肉品的 L^* 值升

高^[21]。 b^* 值呈现先增大后减小的趋势, 70 °C 之后变化的没有规律。 a^* 值与鸭肉中肌红蛋白的状态有关, 氧合肌红蛋白为鲜红色, 而高铁肌红蛋白为褐色, 随着加热时间的延长, 样品中的氧合肌红蛋白含量增加, 导致鸭肉的 a^* 下降, 后期由于鸭肉内部的肌红蛋白与氧结合生成氧合肌红蛋白, 导致鸭肉 a^* 上升^[22]。

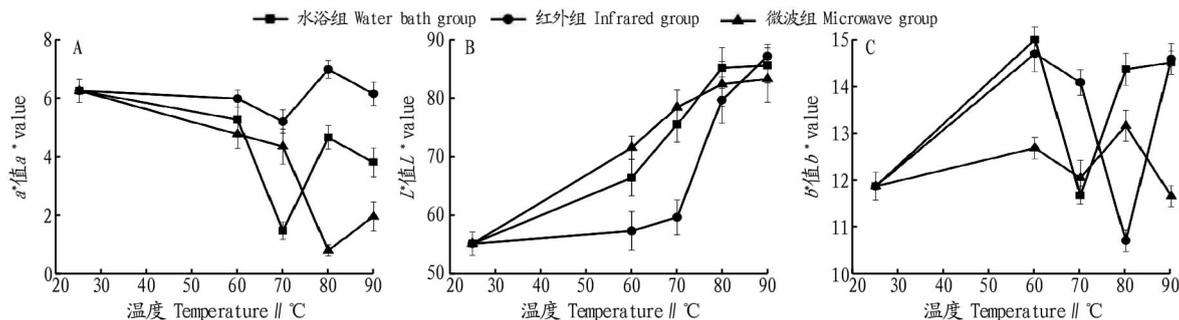


图 5 不同加热方式和温度对鸭肉 a^* 值 (A)、 L^* 值 (B) 和 b^* 值 (C) 的影响

Fig.5 Effects of different heating modes and temperatures on the values of a^* (A), L^* (B) and b^* (C) of duck meat

2.6 鸭肉 pH 的变化 由图 6 可知, 鸭肉的 pH 随着温度的升高整体呈现上升的趋势, 在 60~70 °C 相对于对照组呈现显著上升的趋势 ($P<0.05$), 在 70~90 °C pH 增加不明显, 且红外组相对于水浴和微波组呈现下降的趋势, 这可能是由于鸭在宰后体内乳酸的积累使得肌肉的 pH 下降, 而加热使得部分乳酸随着水分流失, 也许会造成 pH 的上升; 此外, 鸭肉经过加热, 蛋白质会变性, 结构发生改变, 游离氨基增多等可能会导致 pH 升高^[10], 也可能因为热处理导致蛋白质构象的变化, 从而使蛋白质肽链中酸性基团受到包埋造成 pH 升高^[23]; 红外组 70 °C 后 pH 下降可能是因为红外组相对于水浴和微波组水分流失少。

2.7 鸭肉持水力的变化 肉的嫩度和营养成分等食用品质与持水性紧密相关, 同时持水性也决定着肉品的最终感官质

量。由图 7 可知, 鸭肉经过不同加热方式的处理后, 相比对照组 (25 °C) 持水力总体呈现下降趋势, 且水浴和微波组在 60~70 °C 下降显著 ($P<0.05$), 而红外组在 70~90 °C 下降显著 ($P<0.05$), 这可能是在加热过程中发生氧化, 使得氨基酸侧链基团和肽键被破坏, 从而导致部分蛋白质通过共价交联形成聚集体, 这就会导致肌原纤维蛋白水合能力受到影响, 使得一些结合水转换成自由水而逸出^[10], 且由于红外相对于水浴和微波热渗透慢导致水分流失的速度不同。

2.8 相关性分析 由表 2 可知, 硬度与 α 螺旋含量呈现极显著负相关 ($P<0.01$); 弹性与无规卷曲含量呈现极显著正相关 ($P<0.01$), 与羰基值和巯基值呈显著正相关 ($P<0.05$), 与 α 螺旋呈显著负相关 ($P<0.05$), 这可能是因为 α 螺旋结构相对有序, 分子间的空隙较少, 不能容纳更多的水分, 而转化成无

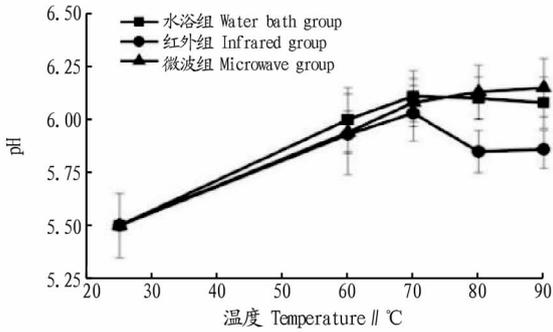


图6 不同加热方式和温度对鸭肉 pH 的影响

Fig.6 Effects of different heating modes and temperatures on pH of duck meat

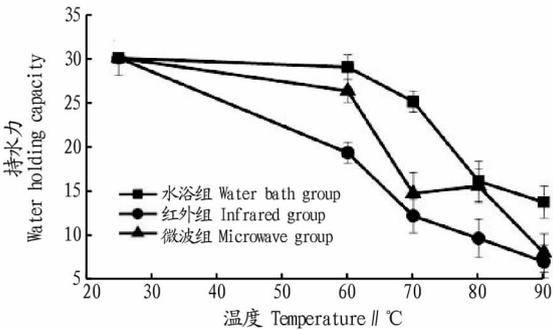


图7 不同加热方式和温度对鸭肉持水力的影响

Fig.7 Effect of different heating methods and temperature on the water holding capacity of duck meat

规卷曲时,分子间水分变多,因此弹性变大,硬度也上升;与羰基和巯基相关可能是由于加热使得蛋白质巯基转化成二硫键形成致密的蛋白质网络结构使得弹性变大^[24]; L^* 值与持水力呈现极显著负相关($P<0.01$),与 α 螺旋呈显著负相关,与巯基值呈显著正相关($P<0.05$),这可能是因为随着加热时间的延长,蛋白质样品中的水分逐渐减少,使鸭肉的 L^* 值升高^[21],与 α 螺旋和巯基相关说明蛋白质二级结构或空间结构也影响着鸭肉的色泽; a^* 值与羰基值呈现极显著负相关($P<0.01$),肌肉食品中含有很多助氧化的亚铁血红素蛋白肌红蛋白或者血红蛋白也会引起蛋白氧化,肉品中肌红蛋白和氧继续作用生成氧化型肌红蛋白时,肉呈现褐色, Fe^{2+} 变为 Fe^{3+} 随后鸭肉的 a^* 值下降,而 Fe^{3+} 是肌肉蛋白氧化的起始因子,促进蛋白质发生氧化生成羰基^[25];持水力与羰基值呈显著负相关,与 α 螺旋呈显著正相关($P<0.05$),可能是因为蛋白质氧化导致肌原纤维完整性被破坏,暴露出的内部基团使蛋白质聚集的可能性增大,蛋白质之间相互聚集,从而使持水性降低,羰基含量升高;羰基值和巯基值与 α 螺旋呈显著负相关,与 β 转角、无规卷曲呈正相关($P<0.05$), β 折叠、 β 转角、无规卷曲之间也是呈正相关($P<0.01$),说明加热使得蛋白质结构从有序向无序转变^[26]。

3 结论

随着温度的升高,硬度、 L^* 、羰基值、无规卷曲呈显著上升的趋势($P<0.05$), a^* 、持水力、 α 螺旋呈显著下降的趋势($P<0.05$),说明不同的加热方式和温度对肌原纤维蛋白结构

表2 不同加热方式条件下各指标之间的相关性

Table 2 Correlation between indexes under different heating conditions

指标 Index	硬度 Hardness	弹性 Elasticity	L^* 值 L^* value	a^* 值 a^* value	pH	持水力 Water holding capacity	羰基值 Carbonyl value	巯基值 Sulfhydryl value	α 螺旋 α -helix	β 折叠 β folding	β 转角 β corner	无规卷曲 Random crimp
硬度 Hardness	1.000	0.694	0.530	-0.388	0.607	-0.834	-0.439	-0.601	-0.962**	0.535	0.434	0.427
弹性 Elasticity		1.000	0.575	-0.375	0.418	-0.937*	0.886*	0.887*	-0.889*	0.661	0.637	0.905**
L^* 值 L^* value			1.000	-0.531	0.529	-0.981**	0.618	0.890*	-0.926*	0.486	0.593	0.473
a^* 值 a^* value				1.000	-0.651	0.649	-0.961**	-0.322	0.481	-0.165	-0.294	-0.331
pH					1.000	-0.899*	0.707	-0.507	-0.495	0.322	0.326	0.456
持水力 Water holding capacity						1.000	-0.841*	0.797	0.861*	-0.691	-0.698	-0.594
羰基值 Carbonyl value							1.000	0.883*	-0.886*	0.747	0.886*	0.882*
巯基值 Sulfhydryl value								1.000	-0.826*	0.786	0.893*	0.873*
α 螺旋 α -helix									1.000	-0.768	-0.694	-0.605
β 折叠 β folding										1.000	0.966**	0.978**
β 转角 β corner											1.000	0.985**
无规卷曲 Random crimp												1.000

注: * 表示显著相关($P<0.05$); ** 表示极显著相关($P<0.01$)

Note: * indicates significant correlation($P<0.05$); ** indicates extremely significant correlation ($P<0.01$)

和肉品质产生显著的影响。微波和水浴加热由于传热速度快,热凝胶形成迅速,导致硬度和弹性迅速升高,且水分流失较快,持水力下降迅速。相关性结果显示,硬度与 α 螺旋呈极显著的负相关($P<0.01$),弹性与无规卷曲呈极显著正相关($P<0.01$), L^* 值与持水力呈极显著负相关($P<0.01$), a^* 值与羰基值呈极显著负相关($P<0.01$),说明鸭肉肌原纤维蛋白质二级结构在加热过程中发生重排,螺旋结构减少,无序结构

增多,分子间能容纳更多水分,导致鸭肉的硬度和弹性升高;肌红蛋白氧化促进肌原纤维蛋白质氧化生成羰基,导致 a^* 值下降。综上所述,说明不同加热方式和温度对鸭肉肌原纤维蛋白结构产生显著影响,导致鸭肉的品质发生变化,通过对比研究 3 种加热方式对鸭肉肌原纤维蛋白结构和肉品质的影响,不仅可以改善鸭肉的品质,还为开发新型肉制品熟化方式提供理论指导。

参考文献

- [1] 臧大存. 鸭肉嫩度影响因素及变化机制的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2007: 7-8.
- [2] ZHANG M H, WANG D Y, HUANG W, et al. Apoptosis during postmortem conditioning and its relationship to duck meat quality[J]. Food chemistry, 2013, 138(1): 96-100.
- [3] 孔保华. 畜产品加工贮藏新技术[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 11-12.
- [4] 周琪. 微波对牛肉品质影响的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010: 1-2.
- [5] 黄鸣, 黎锡流, 李泽坤. 微波与远红外线加热在食品加工中的应用[J]. 广州食品工业科技, 2002, 18(2): 60-63.
- [6] KHAN M A, ALI S, ABID M, et al. Improved duck meat quality by application of high pressure and heat: A study of water mobility and compartmentalization, protein denaturation and textural properties[J]. Food research international, 2014, 62(8): 926-933.
- [7] 张帆. 反复冻融、解冻方法及加热方式对鸭肉品质影响的研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2016: 6-9.
- [8] TOLDRÁ F, FLORES M. The role of muscle proteases and lipases in flavor development during the processing of dry-cured ham [J]. Critical reviews in food science and nutrition, 2008, 38(4): 331-352.
- [9] SHARIFZADEH S, CLEMMENSEN L H, BORGGAARD C, et al. Supervised feature selection for linear and non-linear regression of $L^* a^* b^*$ color from multispectral images of meat[J]. Engineering applications of artificial intelligence, 2014, 27(1): 211-227.
- [10] 李学鹏, 王祺, 周凯, 等. 丙烯醛氧化对大黄鱼肌肉组织和肌原纤维蛋白结构性质的影响[J]. 现代食品科技, 2014, 30(10): 1-7.
- [11] LARSEN D, QUEK S Y, EYRES L. Evaluating instrumental colour and texture of thermally treated New Zealand King Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and their relation to sensory properties[J]. LWT-Food Science and Technology, 2011, 44(8): 1814-1820.
- [12] XIONG Y L, BREKKE C J. Gelation properties of chicken myofibrils treated with calcium and magnesium chlorides[J]. Journal of muscle foods, 1991, 2(1): 21-36.
- [13] BEVERIDGE T, TOMA S J, NAKAI S. Determination of SH- and SS-
- groups in some food proteins using Ellman's reagent[J]. Journal of food science, 2004, 39(11): 49-51.
- [14] OLIVER C N, AHN B W, MOERMAN E J, et al. Age-related changes in oxidized proteins [J]. Journal of biological chemistry, 1987, 262(12): 5488-5491.
- [15] 叶锋, 安英格, 秦德志, 等. 羟基磷灰石结晶对牛血清白蛋白二级结构影响的光谱研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2007, 27(2): 321-324.
- [16] OKUNO A, KATO M, TANIUCHI Y. The secondary structure of pressure- and temperature-induced aggregates of equine serum albumin studied by FT-IR spectroscopy[J]. Biochimica et biophysica acta, 2006, 1764(8): 1407-1412.
- [17] 郭丽萍, 熊双丽, 黄业传. 超高压结合热处理对猪肉蛋白质相互作用力及结构的影响[J]. 现代食品科技, 2016, 30(2): 196-204.
- [18] 戴妍. 欧姆加热对猪肉蛋白质降解、氧化以及凝胶特性的影响[D]. 北京: 中国农业大学, 2014: 90-96.
- [19] BULAJ G. Formation of disulfide bonds in proteins and peptides[J]. Biotechnology advances, 2005, 23(1): 87-92.
- [20] 苏伟, 陈旭, 易重任, 等. 不同加热温度对三穗鸭肉品质的影响[J]. 广东农业科学, 2013, 40(12): 125-129.
- [21] 李升升, 靳义超. 加热介质和时间对牦牛肉品质的影响[J]. 食品与机械, 2017, 33(10): 174-178.
- [22] CLAUSEN I, JAKOBSEN M, ERTBJERG P, et al. Modified atmosphere packaging affects lipid oxidation, myofibrillar fragmentation index and eating quality of beef[J]. Packaging technology & science, 2009, 22(2): 85-96.
- [23] 马汉军. 高压和热结合处理对僵直后牛肉品质的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2004: 34-36.
- [24] CUI C, ZHOU X S, ZHAO M M, et al. Effect of thermal treatment on the enzymatic hydrolysis of chicken proteins[J]. Innovative food science & emerging technologies, 2009, 10(1): 37-41.
- [25] 李春强. 肌原纤维蛋白的氧化程度对谷氨酰胺转氨酶催化交联作用的影响及其机理研究[D]. 无锡: 江南大学, 2013: 30-45.
- [26] 郭丽萍. 超高压结合热处理对猪肉蛋白质氧化、结构及特性的影响[D]. 绵阳: 西南科技大学, 2016: 51-60.

(上接第 161 页)

$$Y = 3.74 + 0.12X_1 + 0.14X_2 + 0.47X_3 + 0.057X_1X_2 - 0.0025X_1X_3 + 0.02X_2X_3 - 0.19X_1^2 - 0.41X_2^2 - 0.45X_3^2$$

通过 Design-Expert V8.0.6 软件求偏微分方程得到最佳条件为水料比 40, 浸提时间 2.26 h, 浸提温度 95.21 °C (为方便实际操作取 95 °C), 粗多糖得率为 3.82%。为检验该优化工艺的可靠性, 采用上述最优提取条件进行验证性试验, 得到金针菇多糖产量的验证值为 4.02%, 与理论值相近, 说明该优化条件可信。因此, 利用 Box-Behnken 试验设计优化金针菇子实体多糖提取工艺是有效可行的。

3 结论

通过单因素和 Box-Behnken 响应面试验得到金针菇子实体多糖的最佳提取工艺条件为水料比 40, 浸提时间 2.26 h, 浸提温度 95 °C, 在此工艺条件下, 粗多糖得率为 3.82%。通过与其他提取方法比较, 该工艺具有较高的提取率, 冯昆等^[15]在最优条件下提取金针菇子实体多糖得率为 1.54%。采用热水浸提和乙醇沉淀法提取金针菇子实体多糖工艺简单、费时少且成本低, 利用 Box-Behnken 试验设计得到金针菇子实体多糖提取条件多糖得率高, 具有推广应用的价值, 可为工业化生产提供必要的技术支持, 后期将进一步对金针菇多糖组成结构和抑菌活性展开研究。

参考文献

- [1] 韩乐, 韩伟, 张美彦, 等. 金针菇子实体有机溶剂提取物的生物活性[J].

- 菌物学报, 2016, 35(2): 178-187.
- [2] 许昭仪, 李浩, 张平. 金针菇生活史各阶段核相研究[J]. 菌物学报, 2015, 34(3): 386-393.
- [3] 高琼, 邓志峰, 迟全勃, 等. 食用菌居家栽培产品的研究[J]. 北方园艺, 2015(5): 148-150.
- [4] 安琪, 吴雪君, 吴冰, 等. 不同碳源和氮源对金针菇降解木质纤维素酶活性的影响[J]. 菌物学报, 2015, 34(4): 761-771.
- [5] 米青荣, 刘贵巧, 王秋敏, 等. 邯郸市金针菇品种资源调查及优良品种筛选试验[J]. 北方园艺, 2015(20): 130-133.
- [6] 周素娟, 张晓娜. 食用菌保健功能及保健食品应用与开发[J]. 中国食用菌, 2015, 34(1): 4-6.
- [7] 李文香, 樊铭聪, 张圣杰, 等. 金针菇多糖组成的探讨与分析[J]. 中国食用菌, 2015, 34(2): 60-65.
- [8] 张占军, 张艳艳. 多糖分子修饰研究进展[J]. 食品工业, 2017, 38(5): 253-257.
- [9] PANG X B, YAO W B, YANG X B, et al. Purification, characterization and biological activity on hepatocytes of a polysaccharide from *Flammulina velutipes* mycelium[J]. Carbohydrate polymers, 2007, 70: 291-297.
- [10] 叶敏. 金针菇多糖的提取及清除羟自由基活性研究[J]. 毕节学院学报, 2011, 29(4): 90-94.
- [11] 王玉峰, 王曼, 尹鸿萍. 金针菇菌丝体中多糖的分离、结构鉴定及免疫学活性[J]. 中国天然药物, 2008, 6(4): 312-315.
- [12] LEUNG M Y K, FUNG K P, CHOY Y M. The isolation and characterization of an immunomodulatory and anti-tumor polysaccharide preparation from *Flammulina velutipes* [J]. Immunopharmacology, 1997, 70: 255-263.
- [13] 王卫国, 张任伟, 李瑞静, 等. 金针菇多糖的生理功能及其应用研究进展[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2016, 37(1): 120-128.
- [14] 黄琼, 马仲文, 赖鹏强. 金针菇多糖抑菌作用的研究[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(1): 10-12.
- [15] 冯昆, 张东杰, 张润铮, 等. 金针菇多糖提取条件的优化[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2005, 17(5): 73-76.