

其抑制率为 90.5%，芦丁和槲皮素在同浓度下的抑制率分别为 81.7% 和 82.3%。

2.3 蜂胶对已发生脂质过氧化反应的抑制作用

将卵黄脂蛋白多不饱和脂肪酸受 Fe^{2+} 诱导氧化修饰 2h 后，过氧化产物有较明显的增加，此时分别加入不同剂量的蜂胶、芦丁和槲皮素，然后继续在 37℃ 水浴中温育 4h，测定过氧化产物的光密度值，计算对已发生脂质过氧化反应的抑制率，结果见图 3。

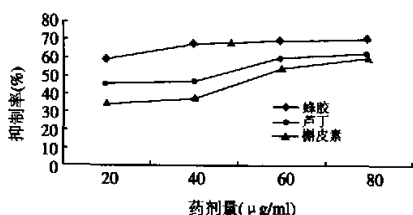


图3 蜂胶对已发生脂质过氧化反应的抑制作用

从图 3 可以看出，蜂胶、芦丁、槲皮素对已受 Fe^{2+} 诱导的卵黄脂蛋白多不饱和脂肪酸的过氧化反应均有延缓和抑制作用，蜂胶的抑制作用较芦丁和槲皮素明显。

3 讨论

在 37℃ 温育条件下， Fe^{2+} 可诱导多不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应，对细胞膜和生物大分子造成氧化损伤，其反应机理至今仍不是十分清楚。当反应体系中预先加入黄酮类化合物后，脂质过氧化反应明显被抑制，该方法已在药物和保健食品功能成分筛选中得到了广泛的应用。蜂胶中含有多种生物黄酮化合物，占蜂胶总重量的 13% 以上，主要有槲皮素、桑黄素、高良姜素、山萘素、洋槐黄素等。本研究表明，蜂胶对 Fe^{2+} 诱导的卵

黄脂蛋白多不饱和脂肪酸的过氧化反应有很强的抑制作用，其抑制作用明显高于芦丁和槲皮素。预先用 Fe^{2+} 诱导卵黄脂蛋白多不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应，然后在反应体系中加入蜂胶提取液，发现蜂胶对已经发生的脂质过氧化反应有明显的延缓和抑制作用，最大抑制率为 69%，高于同剂量芦丁和槲皮素的抑制率。

黄酮类化合物是广泛存在于植物中的多酚抗氧化剂，Herterg 等根据流行病学调查^[1]，分析了黄酮类物质摄入量与冠心病发生、发展的关系，结果表明，黄酮类物质摄入量与冠心病的例数及心肌梗塞的发生率呈负相关。黄酮类化合物在预防动脉粥样硬化病方面也得到了证实。蜂胶中含有丰富的黄酮类化合物，它们在抗脂质过氧化反应中可能具有相乘效应，这在本实验中也得到了初步的证明。另外，蜂胶中可能存在着抗氧化活性比芦丁和槲皮素更强的物质，有待进一步深入研究。

参考文献：

- [1] Stephen bedwell, Rogert dean, Wendy Jessup. The action of defined oxygen-centred free radicals on hmanlow-density lipoprotein[J]. Biochem J, 1989, 262: 707.
- [2] 陈媛, 周玫. LDL 的抗氧化修饰和氧化修饰 LDL 的组成和结构变化. 生物物理学报, 1993, 9(2): 334.
- [3] 阎道广, 周玫, 陈媛. 芦丁和槲皮素对低密度脂蛋白氧化修饰的抑制作用. 生物物理学报, 1995, 11(1): 105-108.
- [4] 曹伟, 尉亚辉, 郭斌. 用化学发光法研究蜂胶对氧自由基的抑制作用. 光子学报, 2002, 31(2): 162-164.
- [5] 曹伟. 陕西师范大学博士学位论文, 2001. 20.
- [6] 张尔先, 余利君, 周意琳. Fe^{2+} 诱发脂蛋白 PUFA 过氧化体系及对若干天然产物抗氧化作用的评价[J]. 生物化学与生物物理学报, 1996, 28(2): 218.

猪 PSE 肉与正常肉肌动球蛋白的生化特性比较研究

陈 艳, 丁玉庭, 邹礼根

(浙江工业大学生物与环境学院, 浙江 杭州 310014)

摘 要: 本文对 PSE 肉和正常猪肉肌动球蛋白的生化特性进行了比较研究。通过在不同的冷藏时间、加热温度和保温时间下对其超沉淀、SH 基数量和 ATP 敏感度等生化特性进行比较研究。结果表明：猪 PSE 肉肌动球蛋白对热敏感温度发生在 35~45℃，同时发现其肌动球蛋白 ATP 酶活性及热稳定性比正常猪肉低。

收稿日期：2003-06-11

基金项目：浙江省自然科学基金资助项目(20019)

作者简介：陈艳(1978-)，女，硕士研究生，研究方向：食品生物技术。

关键词: 正常猪肉; PSE 肉; 肌动球蛋白; 生化特性

Comparative Studies on Actomyosin Biochemical Characteristics Between Normal and PSE Pork Muscle

CHEN Yan, DING Yu-ting, ZOU Li-geng

(College of Biology and Environment, Zhejiang Technology University, Hangzhou 310014, China)

Abstract: The objective of this study is to investigate the comparison of biochemical characteristics between the actomyosin from normal pork muscle and that of PSE during freezing storage at 5℃, keeping in varies temperature and storing at 35℃. The study of muddydegree, the number of -SH and ATP-sensitivity indicates that the intense reaction of PSE actomyosin starts at 35~45℃ and the stability of PSE declines.

Key words: fresh pork; PSE; actomyosin; biochemical characteristics

中图分类号: TS251.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2004)01-0036-04

猪肉质量不仅关系到消费者安全、营养和感官特性需要,而且还关系到肉制品工业的发展。但在猪肉生产中最易发生 PSE 肉现象(即发白 pale、松软 soft 和表面汁液渗出 exudative 肉)。PSE 的产生是猪肉的 pH 效应和温度效应作用的结果^{[1][2]},其中包括 pH 下降速率最终 pH 和冷却方式等因素。某些猪屠宰后,胴体温度又高,因此,糖酵解的加速产生比其他正常肉更低的 pH 和更严重蛋白质变性,致使持水性下降^[2]和光学特性改变^[3]。

虽然 PSE 肉和正常肉一样具有安全可食性,但其营养价值、商品价值和食品风味欠佳。对于正常猪肉与 PSE 肉肌动球蛋白生化特性的比较研究尚未见报道。因此,搞好猪肉品质的基础理论研究,将为提高肉质的控制途径和方法提供科学依据,并对推动猪肉加工的基础理论和应用研究具有重大意义;

本研究以 PSE 肉和正常猪肌肉为材料,比较研究其各项生化特性指标和热稳定性之间的差异。

1 材料与方法

1.1 材料

PSE 肉、正常猪肉,皆为宰杀后 3h 左右的猪后腿瘦肉。

1.2 方法

1.2.1 肌动球蛋白的制备^{[4][9]}

猪肌肉用预先冷却的绞肉机绞碎后称取 25g,加入 50mmol/ml, pH=7.5 的冷却磷酸缓冲液 100ml,放匀质机中匀浆(1500r/min, 3min),静置抽提 20min, 1500r/min 离心 10min 后弃上清,所得沉淀加入上述缓冲液依照上述方法重复三次。最后将离心所得沉淀物加 3 倍容量的 0.45mol/L pH=7.5 的 KCl-磷酸缓冲液, 1500r/min 匀浆 15s,滴加 0.5mol/L Na₂HPO₄ 溶液,调 pH 为 7.5,冰箱(4℃)抽提 20h。将提取物 4000r/min 离心 20min,取上清液以 80 目滤布过滤得提取液。

提取液中加入 10 倍体积的冷却蒸馏水,搅匀,调 pH 为 6.5~6.6,冰箱放置 30min,用虹吸管吸去上清, 4000r/min 离心 20min 并收集沉淀。加 3mol/L KCl 溶液,调 KCl 浓度为 0.6mol/L 将提取液匀浆 30s(1500r/min),离心(4000r/min, 15min),取上清液 4℃保存。

1.2.2 肌动球蛋白浓度测定

肌动球蛋白浓度测定以牛清蛋白为标准液,采用半微量双缩脲法。

1.2.3 肌动球蛋白超沉淀的测定^[1]

取 0.5mol/L pH=7.0, Tris-Maleate 缓冲液 0.15ml,蒸馏水 2.50ml 与肌动球蛋白溶液 0.30ml 混合,在 660nm 下测吸光度。在混合液中加入 0.015ml 上述 ATP 溶液搅匀,每隔 1min 在 660nm 下测吸光度。空白液以蒸馏水代替。

1.2.4 -SH 基的测定^[5]

分别在 0℃冷藏 5d, 30~55℃保温 30min 和 35℃保温 15~90min,随后测定 -SH 基数量。

1.2.5 ATP 敏感度测定^[6]

分别在 0℃冷藏 5d, 30~55℃保温 30min 和 35℃保温 15~90min,随后测定 ATP 敏感度。

2 结果与讨论

2.1 正常肉与 PSE 肉肌动球蛋白超沉淀现象差别

肌动球蛋白在 Ca²⁺(Mg²⁺)和 ATP 作用下产生脱水收缩的现象叫超沉淀现象,是体外研究肌肉收缩的一种模型。当样品发生超沉淀时溶液的浊度和吸光度增加,这是肌动蛋白和肌球蛋白相互作用的结果。肌球蛋白 B 中含有收缩蛋白、调节蛋白和相关酶,属一种收缩蛋白体系,并与肌肉收缩关系密切^[3]。

分别在正常肉与 PSE 肉的肌动球蛋白中加入 ATP 后均有超沉淀现象。正常肉试样中加入 ATP 1min 后肌动球蛋白

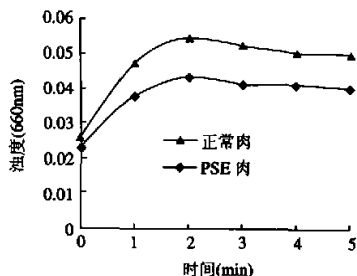


图1 肌球蛋白的超沉淀浊度的测定

从液体表面脱水,看到透明上清液;3min后纵横向开始收缩,5min后沉淀缩成柱状,超沉淀结束。PSE肉也有上述现象,但柱状沉淀相对疏松,更容易自然塌陷。

从图1可知,PSE肉超沉淀光密度始终小于正常肉,且二者在2min前都呈上升趋势,2min后平稳下降,说明PSE肉肌球蛋白超沉淀产物少,肌球蛋白B含量较少,反应活性低,肌肉收缩性能比正常肉差,有部分蛋白质变性。

2.2 不同条件对-SH基数量影响

肌肉蛋白质中,-SH基影响ATPase活性,参与肌肉收缩,蛋白质结构稳定性、易变性以及酶,催化作用等都是由于-SH基和二硫键引起的,因此-SH可作为衡量蛋白质变性程度的指标。冷藏过程中PSE肉肌球蛋白暴露于分子表面的SH基数量比正常肉多,疏水性大,表面-SH基不稳定,易氧化成二硫键^[2]。

而正常肉-SH基数量变化趋于平稳,性质较稳定(图2)。PSE肉肌球蛋白的-SH基在30~40℃之间升高,蛋白质结构解链,分子构象松散,-SH基与试剂反应增加,而后高温变性,大量疏水基团包括-SH基转移至分子表面,氧化成-S-S-键,-SH基数量减少。正常肉-SH基数量变化幅度较小(图3)。PSE肉肌球蛋白-SH基在15~16min上升较快,-SH基氧化为S-S键,而正常肉-SH基数量在15~30min有所上升,随时间延长随后缓慢下降,比PSE肉稳定(图4)。

2.3 不同条件对ATP感度的影响

ATP感度是Webber和Portzehl(1952)提出的衡量蛋白质分子聚合度的一个物理指标,蛋白质变性后其感度便

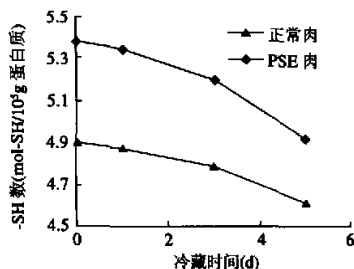


图2 冷藏时间对巯基数量的影响

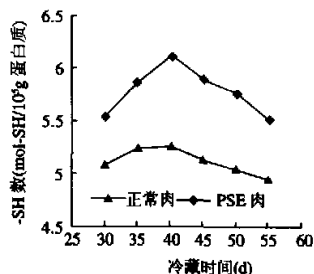


图3 保温温度对巯基数量的影响

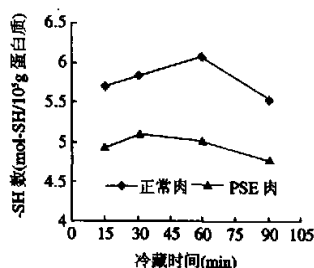


图4 保温温度对巯基数量的影响

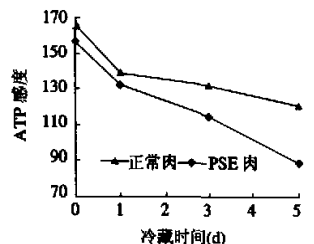


图5 冷藏时间对ATP感度的影响

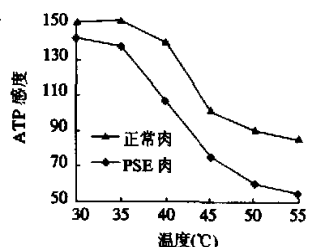


图6 保温温度对ATP感度的影响

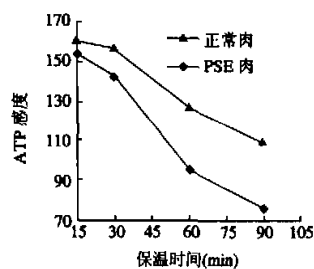


图7 保温时间对ATP感度的影响

随之降低。冷藏情况下,从第一天开始PSE肉的ATP感度下降速率明显低于正常肉,到第五天其ATP感度只有正常肉的70%左右(图5)。保温35℃情况下,ATP感度随保存时间延长而下降,PSE肉ATP感度始终低于正常肉,且下降速度快,说明PSE肉的肌动球蛋白分子的聚合度小,冷藏时变性也比正常肉严重,显示的ATPase活性相对较小(图6)。肌动球蛋白中加ATP后被分解为肌动蛋白和肌球蛋白,分子量减少,粘度下降,加热后,疏水性增大,溶解度减小。肌动球蛋白自由长链由舒展状变成蜷曲状,肌动球蛋白与ATP反应减弱,分子内摩擦减少,表现为宏观感度降低(图7)。由图6知35~45℃之间ATP感度急剧下降,是分子内部变化开始剧烈的阶段。

肌动球蛋白的-SH、ATP感度和超沉淀都在PSE肉和正常肉中有非常好的相关性,其中-SH和ATP感度有极好的变化一致性,都可用来作为猪肉PSE肉和正常肉鉴别的有用指标。

3 结 论

3.1 通过超沉淀观察以及浊度测定说明正常肉肌动蛋白与肌球蛋白作用比PSE肉强。

3.2 随冷藏时间增加,游离-SH越来越少,说明PSE肉易于变性。

3.3 从不同温度、不同时间保温来看,正常肉与PSE肉变化规律基本一致,但PSE肉比正常肉变性敏感。

3.4 正常肉比PSE肉肌动蛋白和肌球蛋白的作用程度强,对ATP反应敏感。

参考文献:

- [1] Van Laack, R L J M, M B Solomon. Biochemistry of lean muscle tissue as related to water-holding capacity[J]. Proc Recip Meat conf, 1994, 47: 91-97.
- [2] Offer G. modeling of the formation of pale, soft, and exudative meat: effects of chilling regime and rate and extent of glycolysis[J]. Meat Sci, 1991, 30: 157-184.
- [3] Goldspink G, J V McLoughlin. The effect of temperature on the solubility of the sarcoplasmic proteins in the relation to colour changes in post-rigor muscle[J]. Ir J Agric Res, 1964, (3): 9-16.
- [4] Herring H K, Cassens R G, Briskey E J. Studies on bovine natural actomyosin: relationship of ATPase and contractility to tenderness of muscle[J]. Journal of Food Science, 1969, 34: 389-391.
- [5] Ramirez, Jose A, Martha O, et al. Fish myosin aggregation as affected by freezing and initial physical state[J]. J Food Sci, 2000, 65(4): 556-560.
- [6] Wolfe E H, Samejima K. Further studies of postmortem aging effects on chicken actomyosin[J]. J Food Sci, 1976, 41: 244-248.
- [7] B C Bowker, A L Grant, J C Forrest, et al. Muscle metabolism and PSE pork[M]. Proceedings of the American Society of Animal Science, 2000.
- [8] Van Laack, R L J M, Slla R G Kauffman. Glycolytic potential of red, soft, exudative pork longissimus muscle[J]. J Anim Sci, 1999, 77: 2971-2973.
- [9] Karlsson A, R E Klont, X Fernandez. Skeletal muscle fibers as factors for pork quality[J]. Livest Prod Sci, 1999, 60: 255-269.

响应曲面法评价环境因子对肉品发酵过程中微生物的影响

李宗军¹, 江汉湖^{2*}

(1. 湖南农业大学食品科技学院, 湖南 长沙 410128; 2. 南京农业大学食品科技学院, 江苏 南京 210095)

摘 要: 用响应曲面试验设计, 研究了盐浓度、水分活度、发酵温度、发酵时间和糖浓度等环境因子对肉品发酵过程中的细菌总数、乳酸细菌、微球菌和酵母菌的影响, 确定了有显著性影响的环境因子, 建立了科学的数学模型。优化了传统酸肉的生产条件, 最佳参数是: 食盐 8%, 水分活度 0.95, 发酵温度 25℃, 发酵时间 25d, 白砂糖 2%。并对最佳工艺发酵 25d 的产品与传统工艺发酵(自然发酵)90d 的产品进行了感官鉴评, 结果没有显著性差异, 新工艺可行。用建立的数学模型对发酵过程中的微生物进行了预测, 结果可靠。这为肉品发酵过程的控制, 提高发酵肉制品的安全性, 缩短生产周期提供了依据, 也是微生物预报的重要基础。

收稿日期: 2003-05-21

* 通讯联系人

基金项目: 国家 863 项目(2002AA248041)

作者简介: 李宗军, 男, 教授, 博士后, 研究方向为食品微生物与生物技术。