

11S 球蛋白酶解产物功能特性及对猪肉肠品质的影响研究

仇超颖, 段春红, 王 臻, 潘思轶*
(华中农业大学食品科学技术学院, 湖北 武汉 430070)

摘 要: 以中豆 36 为原料, 提取 11S 球蛋白, 用胰蛋白酶进行水解。研究不同水解度酶解产物的乳化性、持水性、持油性等功能特性, 比较不同水解度产物添加到猪肉肠中对其质构及得率等的影响。结果表明水解度为 12% 时, 11S 球蛋白酶解产物的乳化活性及乳化稳定性最高并且对肉肠质构特性和得率影响最佳。

关键词: 11S 球蛋白; 酶解; 功能特性; 猪肉肠; 质构

Functional Properties of 11S Globulin Hydrolysates and Their Effects on Pork Sausage Quality

QIU Chao-ying, DUAN Chun-hong, WANG Zhen, PAN Si-yi*
(College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: 11S globulin extracted from soybean Zhongdou 36 was enzymatically modified with trypsin. The water absorption capacities, oil absorption capacities, emulsifying activities and emulsion stabilities of the hydrolysates at different degrees of hydrolysis were evaluated. The effects of the hydrolysates added into pork sausage on its texture and yield were investigated. The results showed that emulsifying activity, emulsion stability of 11S globulin hydrolysate are the highest at the degree of hydrolysis 12 %, and the pork sausage added with the hydrolysate shows the best quality with the highest yield.

Key words: 11S globulin; enzymatic hydrolysis; functional properties; pork sausage; texture

中图分类号: TS201.21

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)11-0118-04

大豆 11S 球蛋白含量占大豆蛋白总含量的 40% 以上, 它是由酸性多肽(分子量 35000~37000D)和碱性多肽(分子量 20000D)构成的分子量为 300000~380000D 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。11S 球蛋白结构紧密, 内部藏有大量疏水基团, 外侧亲水基团聚集, 具有独特的功能性质。

大豆 11S 球蛋白既可作为食品的组分, 也可作为添加剂, 具有比 7S 球蛋白较好的胶凝特性^[1], 能提高和改善原有食品的质构特性及口感。胰蛋白酶是特异性内切酶, 与人体消化系统内酶相似, 故水解产物可能更适于人体吸收, 用胰蛋白酶对 11S 球蛋白进行改性, 能改善其某些功能特性。

许多研究证明, 大豆蛋白对肉制品有提高其某些功能特性的能力。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。本实验研究胰蛋白酶酶

解 11S 球蛋白水解产物的功能特性及对猪肉肠品质的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

中豆 36 市售; 猪后腿肌肉和猪肥膘 市售; 胰蛋白酶 北京诺科美科技有限公司。

1.2 仪器

TA-XTPplus 质构仪 英国 Texture Technologies Corp.; 1-4LD 型冷冻干燥机 德国 CHRIST 公司; 均质仪 上海医疗器械五厂; 722 型紫外可见分光光度仪 上海欣茂仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 猪肉肠的制备方法

基本配方: 后腿肉 56%; 猪肥膘 25%; 冰水 15%;

收稿日期: 2007-11-30

基金项目: 国家“863”计划项目(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)

作者简介: 仇超颖(1988-), 女, 本科生, 研究方向为食品科学与工程。E-mail: yingyingqiu10@163.com

* 通讯作者: 潘思轶(1964-), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品生物技术。E-mail: pansiyi@mail.hzau.edu.cn

食盐 2%；大豆 11S 球蛋白 2%。

将后腿肌肉和猪肥膘解冻，用绞肉机分别绞碎，将后腿肌肉、冰水、11S 球蛋白和食盐在小型斩拌机上斩拌 1min 后，加入猪肥膘，继续斩拌 4min，注意不要使温度超过 15℃。将肉糜灌入肠衣中，用线绳将两端绑紧，置于 80℃ 的水浴中加热 30min，然后用自来水将其冷却至室温，并在 4℃ 环境中保存备用^[6]。

1.3.2 大豆 11S 球蛋白的提取方法

采用 Thanh V H 等的方法提取 11S 和 7S^[2]。

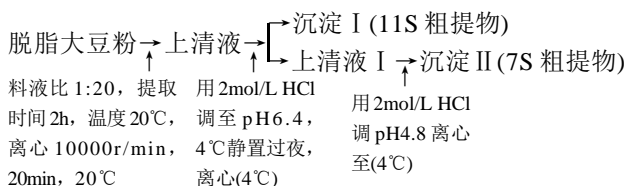


图1 Thanh 法分步提取大豆 11S 和 7S 球蛋白工艺

Fig.1 Methods of extraction of 7S and 11S globulin in soybean by Thanh

1.3.3 大豆 11S 球蛋白的酶法水解

一定浓度的大豆 11S 球蛋白溶液，用适当蒸馏水溶解，在 90℃ 下加热 10min，冷却至酶反应适宜温度，加入 0.6mol/L NaOH，调至所需 pH 值，放入已调好温度的水解反应器中，加入准确称取的胰蛋白酶水解，并缓慢搅拌，反应中用 0.6mol/L NaOH 保持 pH 值恒定为 9，到水解预定时间后，调 pH 值至 7，放入 90℃ 水浴锅中，加热 10min，钝化蛋白酶，标记冷藏备用^[5]。

1.4 测定方法

1.4.1 蛋白质吸油性测定^[3]

取 0.4g 样品于 10ml 刻度离心管中，加 6ml 色拉油，每隔 5min 搅拌 30s，30min 后于 2000r/min 离心 25min，析出未被吸附的油，通过总油与未被吸附油体积之差，按下述公式计算吸附油的能力：

$$\text{吸油性}(\text{ml/g}) = (6 - \text{析出油的体积}) / 0.4$$

1.4.2 蛋白质持水性测定^[3]

取 0.2g 样品和 6ml 水置于 10ml 刻度离心管中，用细金属丝搅拌混合 1min，静置 10min，使样品分散于水中，40℃ 水浴 30min，1600r/min 离心 25min，读出游离水的体积，按下述公式计算持水性：

$$\text{持水性}(\text{ml/g}) = (\text{加入水的总体积} - \text{游离水体积}) / 0.5$$

1.4.3 蛋白质乳化活性及乳化稳定性的测定^[4]

取 0.0180g 样品于 80ml 小烧杯中，加入 18ml 水、6ml 油，于 30000r/min 均质 1min，分别在均质后 0、10min 取均质样品 100μl 加入到 10ml 0.1% 的十二烷基磺酸钠(SDS)溶液中，以 0.1% SDS 液为空白，于波长 500nm 处，测定其吸光度。用 Tang 的方法测定其乳化活性及乳化稳

定性，公式如下：

$$\text{乳化活性(EAI)} = \frac{2.303 \times 2 \times A_{500} \times \text{稀释倍数}}{c \times \phi \times L}$$

$$\text{乳化稳定性(ES)} = \frac{\text{EAI}_{\max} \times t}{\text{EAI}_{\max} - \text{EAI}_{\min}}$$

式中，EAI 为单位质量蛋白质的乳化表面积(m²/g)；c 为样品溶解液中蛋白质浓度(0.001g/ml)；EAI_{min} 为乳浊液放置 10min 后的 EAI 值；φ 为油相所占的分数，本实验为 1/4；EAI_{max} 为乳浊液形成后最大的 EAI，本实验中指 0min 时的 EAI 值；L 为比色皿的光径(10⁻²m)；t 为两次测定乳化活性的时间间隔，在此 t=10min。

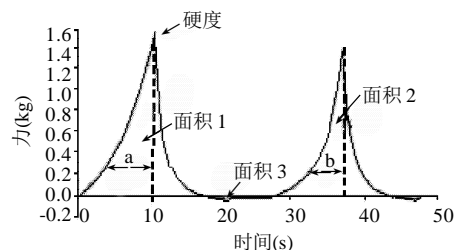
1.4.4 猪肉肠得率的测定

$$\text{猪肉肠得率}(\%) = \frac{W_0}{W_3 - W_2 - W_1} \times 100$$

式中，W₀ 为水浴加热并吸干表面析出的水和脂肪后，肉凝胶重量；W₁ 为线绳重量；W₂ 为肠衣重量；W₃ 为放入水浴前猪肉肠总重。

1.4.5 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^[7]。猪肉肠切成 2cm 高的肉块。采用型号为 P/36R 探头对样品进行连续两次 70% 的挤压。测定条件如下：测前速度：2mm/s；测试速度：2mm/s；测后速度：2mm/s；压缩程度：70%；停留时间：5s；数据采集速率：200pps；触发值：5g。



面积 2/面积 1：内聚性；b/a：弹性。

图2 猪肉肠凝胶 TPA 测试曲线

Fig.2 Texture profile curve of pork sausage

由 TPA 曲线，可得到如下参数：硬度、弹性、内聚性、回复性和咀嚼性。硬度定义为第一次压缩破坏凝胶所需的力，其值为第一次挤压过程中的峰值；内聚性定义为第二次挤压与第一次挤压正力面积之比；弹性定义为凝胶经过压缩后恢复的高度，其值为第二次挤压开始到达到峰值的时间与第一次的时间之比；回复性定义为第一次挤压时探头回复开始到 X 轴的面积与第一次挤压的全面积之比。

2 结果与分析

2.1 不同水解度 11S 球蛋白酶解产物吸油性和持水性

比较

吸油性是指蛋白质在一定条件下承受热加工后保持油脂的能力。其吸油性的高低取决于大豆蛋白的亲脂能力,尤其是疏水性残基的数量和结构。由图3可知,随水解度的增大吸油性呈现先增大后减小的趋势,当水解度小于9%时,吸油性随着水解度的增大而增大,当水解度大于9%时,吸油性随着水解度的增大而减小。水解度为9%的水解产物吸油性最好。

持水性是指蛋白质在一定条件下承受热加工后保持水分的能力,包括蛋白质溶胀,黏度增加,形成凝胶等一系列物理化学反应。其影响因素包括蛋白分子的大小、形状、空间构象等^[8]。由图4可见,不同水解度大豆的11S蛋白持水性存在差异,随水解度增加持水性呈下降趋势。

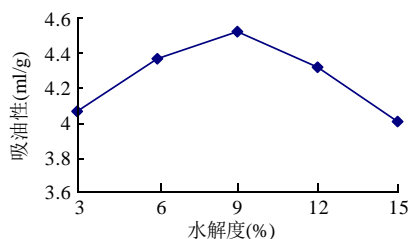


图3 不同水解度11S球蛋白吸油性比较

Fig.3 Oil absorption capacities of 11S globulin hydrolysates at different degrees of hydrolysis

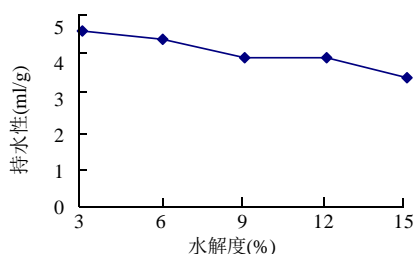


图4 不同水解度11S球蛋白持水性比较

Fig.4 Water absorption capacities of 11S globulin hydrolysates at different degrees of hydrolysis

2.2 不同水解度11S球蛋白的酶解产物乳化活性及乳化稳定性比较

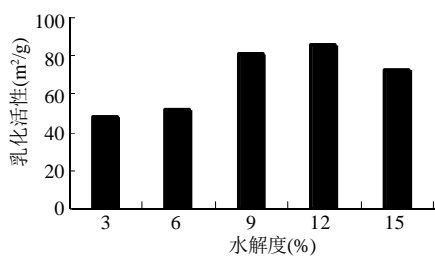


图5 不同水解度11S球蛋白乳化活性比较

Fig.5 Emulsifying activities of 11S globulin hydrolysates at different degrees of hydrolysis

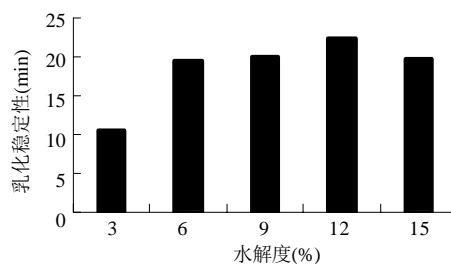


图6 不同水解度11S球蛋白乳化稳定性比较

Fig.6 Emulsifying stabilities of 11S globulin hydrolysates at different degrees of hydrolysis

由图5可以看出,不同水解度的大豆11S球蛋白乳化活性不同,12%水解度的酶解蛋白乳化性最好,这可能是因为11S球蛋白水解后疏水基团逐渐暴露,相对增加了蛋白质的疏水部分,以及电荷的数目增加,阻止了油滴的靠近,使乳化活性增加。

图6表明,不同水解度的11S球蛋白酶解产物乳化稳定性不同,随着水解度的增大,酶解蛋白的乳化稳定性呈先增大后减小的趋势,水解度为12%的酶解产物的乳化稳定性最高。有研究表明,大豆球蛋白的乳化能力与疏水性和结构不稳定性有关^[9]。

2.3 不同水解度11S球蛋白的酶解产物对猪肉肠品质的影响

2.3.1 不同水解度11S球蛋白的酶解产物对猪肉肠质构的影响

表1 不同水解度11S球蛋白对猪肉肠TPA参数的影响

Table 1 Effects of 11S globulin hydrolysates at different degrees of hydrolysis on textural parameters of pork sausage

水解度 (%)	硬度(kg)	弹性	内聚性	咀嚼性 (kg·mm)	回复性
0	1.55±0.21 ^a	0.49±0.011 ^a	0.18±0.013 ^a	0.047±0.036 ^a	0.14±0.005 ^a
3	1.96±0.12 ^{ab}	0.53±0.014 ^a	0.35±0.011 ^a	0.36±0.039 ^{ab}	0.13±0.013 ^a
6	1.83±0.11 ^b	0.53±0.028 ^b	0.30±0.028 ^a	0.29±0.048 ^c	0.10±0.016 ^b
9	2.07±0.19 ^a	0.54±0.029 ^a	0.33±0.025 ^a	0.37±0.053 ^a	0.13±0.012 ^a
12	2.09±0.14 ^{ab}	0.56±0.030 ^a	0.35±0.025 ^a	0.41±0.051 ^{ab}	0.13±0.013 ^a
15	1.87±0.21 ^{ab}	0.53±0.035 ^a	0.34±0.030 ^{ab}	0.33±0.095 ^{bc}	0.13±0.016 ^a

注: 同一列中字母不相同者差异显著($p < 0.05$)。

猪肉肠的凝胶特性主要从凝胶硬度、弹性、咀嚼性、内聚性和回复性五项凝胶组织结构参数来研究。良好的蛋白凝胶组织应有较好的硬度、弹性及内聚力。由表1可见,与空白相比,在肉肠中添加不同水解度的大豆11S球蛋白酶解产物后,对其质构特性产生的影响不同。随着水解度的增大,其质构特性指标硬度、弹性、内聚性、回复性、咀嚼性均呈现先增大后减小的趋势,当水解度为12%时大豆11S球蛋白对提高猪肉肠的各项指标效果最为显著。

2.3.2 不同水解度的大豆11S球蛋白对猪肉肠得率的影响

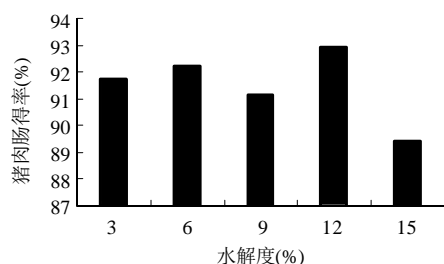


图7 不同水解度大豆11S球蛋白对猪肉肠得率的影响

Fig.7 Effects of 11S globulin hydrolysates at different degrees of hydrolysis on pork sausage yield

由图7可以看出,添加水解度为12%的11S球蛋白的猪肉肠的得率最高。这可能是由于水解度为12%的11S球蛋白有较好的凝胶性,猪肉肠在蒸煮过程中,在肌纤维的外围更易形成一层致密的覆盖膜,会减轻由于肌纤维收缩造成的汁液流失^[10],从而增加猪肉肠的得率。

3 结论

3.1 不同水解度的大豆11S球蛋白酶解产物的功能特性不同。水解度为9%的胰蛋白酶酶解产物的吸油性最好,水解度12%的胰蛋白酶酶解产物的乳化活性、乳

化稳定性最好。

3.2 不同水解度的大豆11S球蛋白酶解产物对猪肉肠质构的影响不同,水解度为12%的11S球蛋白酶解产物对猪肉肠质构影响最好,其肉肠的质构指标和得率均最佳。

参考文献:

- [1] 周瑞宝,周兵.大豆和球蛋白的结构和功能性质[J].中国粮油学报,1998,6(13):39-42.
- [2] THANH V H, OKUBO K, SHIBASAKI K. Major proteins of soybean seeds: A straight forward fractionation and their characterization[J]. J Agric Food Chem, 1976, 24: 1117-1121.
- [3] 江志炜,沈蓓英,潘秋琴.蛋白质加工技术[M].北京:化学工业出版社,2003:1-332.
- [4] 赵国华,明建,陈宗道.酶解大豆分离蛋白乳化特征的研究[J].中国粮油学报,2002,17(2):48-50.
- [5] 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.
- [6] 褚弘斌.大豆蛋白在肉制品中的应用[J].肉类研究,1999(4):39-43.
- [7] 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.
- [8] 华欲飞,顾玉兴.大豆蛋白的吸水和持水性能[J].中国油脂,1999,24(4):64-67.
- [9] KIM C S, KAMIYA S, SATO T, et al. Improvement of nutritional value and functional properties of soybean glycinin by protein engineering[J]. Protein Eng, 1990, 3(8): 725-731.
- [10] 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.