

鱼肉和猪肉的微观结构与基本组成的比较研究

刘茹^{1,2,3}, 尹涛^{1,2,3}, 熊善柏^{1,2,3,*}, 谢笔钧¹

(1. 华中农业大学食品科学技术学院, 湖北 武汉 430070; 2. 国家大宗淡水鱼加工技术研发分中心, 湖北 武汉 430070; 3. 湖北省水产品加工工程技术研究中心, 湖北 武汉 430070)

摘要: 以鲢鱼和猪的背部肌肉为原料, 采用扫描电镜和凝胶电泳等方法对两种肌肉的微观结构和基本组成进行比较研究。结果表明: 鱼肉的肉质较猪肉的细腻, 两种肉的必需氨基酸占总氨基酸的比例都高于40%。鱼肉的盐溶性蛋白高于猪肉的, 而水溶性蛋白、不溶性蛋白和脂肪含量均低于猪肉的。凝胶电泳显示, 两种肌肉中蛋白质含量最高的都是肌球蛋白, 其次是肌动蛋白, 差别较大的是56kD和48kD的两条蛋白带。全蛋白中疏水性氨基酸含量显著高于肌球蛋白的, 鱼肉肌球蛋白的酸性氨基酸含量低于猪肉肌球蛋白的。

关键词: 鲢鱼; 猪肉; 微观结构; 基本组成; 氨基酸

Comparative Studies on Microstructure and Basic Components of Fish and Pork

LIU Ru^{1,2,3}, YIN Tao^{1,2,3}, XIONG Shan-bai^{1,2,3,*}, XIE Bi-jun¹

(1. College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;
2. The Sub Centre (Wuhan) of National Technology and R&D of Conventional Freshwater Fish Processing, Wuhan 430070, China;
3. Aquatic Product Engineering and Technology Research Center of Hubei Province, Wuhan 430070, China)

Abstract: The microstructures of silver carp and pork dorsal muscles were explored using scanning electron microscopy and gel electrophoresis. Meanwhile, their basic components were comparatively measured. Fish had more delicious muscle than pork. Both the essential-to-total amino acids ratios of fish and pork was more than 40%. Compared with pork, fish was richer in salt-soluble protein, and less in water-soluble protein, insoluble protein and fat. Myosin was the predominant protein in muscles from both species followed by actin. The contents of the 56 kD protein and 48 kD proteins showed a great difference between muscles from both species. Hydrophobic amino acids were more in the total proteins of muscles from both species than in myosin. Fish myosin contained less hydrophilic amino acids than pork myosin.

Key words: silver carp; pork; microstructure; basic component; amino acid

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)13-0049-04

鱼肉和猪肉是我国人民饮食中重要的动物蛋白来源, 两种肉糜的凝胶性能存在很大的差异^[1-2], 而肉品质与肌肉的组成、结构密切相关^[3]。肌肉的基本组成不仅会影响其食用价值, 而且关系到加工的工艺条件和肉制品的质量等问题。肌肉的基本组成通常包括水分、蛋白质、脂肪和灰分等, 各成分含量因动物品种不同而有差异。肌肉中的蛋白质特别是盐溶性蛋白质与肌肉的收缩、死后僵硬、肌肉弹性和肉糜制品凝胶强度等密切相关, 蛋白质组成决定了凝胶形成过程中蛋白质的交联和结构重组的程度, 进而影响凝胶的形态、硬度

和弹性^[4]。肌球蛋白是形成肉糜凝胶的关键盐溶性蛋白质, 直接影响肉糜制品的质地和保水性等^[5-7], 其他蛋白质如肌动蛋白、肌浆蛋白、肌基质蛋白等尽管自身不能形成凝胶, 但是会影响肌球蛋白凝胶的黏弹性, 水溶性蛋白质因含有诱发凝胶劣化的蛋白酶和促进凝胶形成的活性物质而影响凝胶形成能力^[8]。鱼肉和猪肉的凝胶性能的不同是否与它们的微观结构和基本组成有关尚未见报道。

本实验以鲢鱼和猪的背部肌肉为原料, 研究两种肌肉的微观结构和基本组成的异同, 测定肌肉中总蛋白质和肌球蛋白的氨基酸组成, 并分析其营养品质。

收稿日期: 2011-06-30

基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-46-23); 科技人员服务企业行动项目(2009GJD10003); 华中农业大学人才科研启动项目(52204-08075)

作者简介: 刘茹(1982—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为动物性食品加工与贮藏。E-mail: liuru@mail.hzau.edu.cn

* 通信作者: 熊善柏(1963—), 男, 教授, 博士, 研究方向为水产品加工及贮藏工程。E-mail: xionsgb@mail.hzau.edu.cn

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鲢鱼(*Hypophthalmichthys titrix*), 个体质量约为1500g, 购自华中农业大学菜市场, 将鲜活鲢迅速拿回实验室, 宰杀取肉, 暂时不用的置于5℃的冰箱里保存, 所有实验均用当天的新鲜鱼肉。猪肉(里脊肉)采自湖北白猪, 购于中百超市。

次高分子质量标准蛋白(电泳纯) 上海升正生物技术有限公司; 三羟甲基氨基甲烷(Tris)、牛血清白蛋白均为生化试剂 国药集团化学试剂有限公司; 其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

扫描电子显微镜 日本Jeol公司; 高速冷冻离心机 贝克曼库尔特实验室系统有限公司; 氨基酸自动分析仪 日本Hitachi公司; 200 数字凝胶成像分析系统 美国Kodak公司。

1.3 方法

1.3.1 基本组分的测定

参考文献[9]的方法, 水分含量测定采用105℃干燥恒质量法, 灰分测定采用马福炉挥发恒质量法, 粗脂肪测定采用索氏抽提法, 粗蛋白质含量测定采用微量凯氏定氮法。

1.3.2 水溶性蛋白质含量测定

参考文献[10]的方法, 取2g绞碎肉糜用低盐磷酸缓冲液(0.05mol/L KCl-0.01mol/L NaH₂PO₄-0.03 mol/L Na₂HPO₄) 在5℃条件下抽提4h, 于4000r/min离心10min, 取上清液用Lowry法^[11]测定蛋白质含量。

1.3.3 盐溶性蛋白质含量测定

参考文献[10]的方法, 取2g绞碎肉样加入3倍肉糜质量的高盐磷酸缓冲液(0.5mol/L KCl-0.01 mol/L NaH₂PO₄-0.03mol/L Na₂HPO₄; I=0.6 mol/L, pH 7.5)于5℃浸提20h, 于12000r/min离心10min, 取上清液, 用Lowry法^[11]测定蛋白质含量。

1.3.4 肌球蛋白的提取

鲢鱼肌球蛋白的提取参见文献[7]的方法, 猪肉肌球蛋白的提取参见文献[6]的方法。

1.3.5 氨基酸组成分析

将样品用6mol/L HCl于110℃水解24h, 采用氨基酸自动分析仪测定氨基酸含量。

1.3.6 营养价值评价方法

根据FAO/WHO1973年建议的氨基酸评分标准模式(% , 以干基计)^[12]和全鸡蛋蛋白质的氨基酸模式(% , 以干基计)分别按以下公式计算氨基酸评分(AAS), 化学评分(CS)和必需氨基酸指数(EAAI)^[13-14]。

$$AAS = \frac{\text{样品氨基酸含量}/\%}{\text{FAO/WHO 评分标准模式中同种氨基酸含量}/\%} \quad (1)$$

$$CS = \frac{\text{样品氨基酸含量}/\%}{\text{全鸡蛋蛋白质中同种氨基酸含量}/\%} \quad (2)$$

$$EAAI = \sqrt[n]{\frac{100a}{ae} \times \frac{100b}{be} \times \frac{100c}{ce} \cdots \frac{100j}{je}} \quad (3)$$

式中: n 为比较的必需氨基酸个数; a 、 b 、 $c \cdots j$ 为蛋白质的必需氨基酸含量/%; ae 、 be 、 $ce \cdots je$ 为全鸡蛋蛋白质的必需氨基酸含量/%。

1.3.7 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)

肉糜样品的处理参考文献[6]的方法。取3g肉糜加入5g/100mL SDS后采用高速分散均质机均质, 再于85℃的水浴中保温1h来溶解样品中的蛋白质, 随后在8000r/min离心20min取上清液, 并用Lowry法^[11]测定上清液中蛋白质的含量, 用于SDS-PAGE分析。对于提取出的蛋白质可直接测其蛋白质含量, 用于SDS-PAGE分析。电泳操作参照Laemmli法^[15]。采用5%浓缩胶和7.5%分离胶, 以考马斯亮蓝R-250染色, 用醋酸甲醇溶液进行脱色。

1.3.8 肌肉的微观结构观察

将样品切成小块, 用质量分数3.5%戊二醛固定液浸泡24h, 再用0.1mol/L磷酸缓冲液(pH7.2)浸泡清洗15min, 重复3次。用1g/100mL锇酸固定1~2h至样品变黑, 再用0.1mol/L磷酸缓冲液(pH7.2)浸泡清洗15min, 重复3次。加入质量分数20%二甲亚砜(DMSO)浸泡过夜, 采用液氮迅速冷却后进行冷冻干燥, 干燥好的样品再用IB-3离子溅射仪镀金, 最后用JSM-6390 PLV型扫描电子显微镜观察其微观结构。

1.3.9 数据统计分析

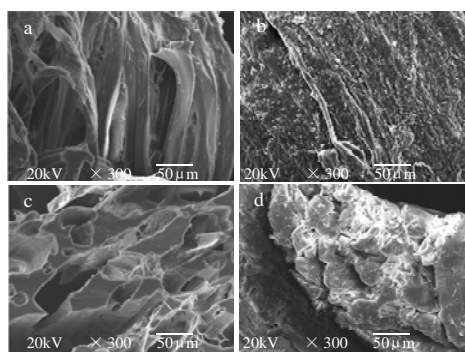
所有数据均采用Excel 2003作图, SAS V8.1软件进行分析, 用ANOVA进行方差分析(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 2000), 显著性检验方法为LSD, 显著性水平 $\alpha = 0.05$ 。有关数据为3次以上平均值。

2 结果与分析

2.1 鱼肌肉和猪肌肉的微观结构

肌肉由肌纤维和结缔组织膜聚集而成的肌束构成, 而肌纤维是一个多核细胞, 由许多平行排列的肌原纤维组成, 在肌原纤维之间充满着肌浆^[3]。由图1可知, 两种肌肉的微观结构存在着明显的差异。鱼肉的纵切面和横切面都较猪肉的细腻, 且鱼肌纤维间存在较大的间

隙,猪肉的肌纤维排列得相对紧凑些。较大的间隙有利于保持更多的水分,这可能是鱼肉较猪肉细腻、柔软的原因之一。



a. 鱼肌肉纵切面; b. 猪肌肉纵切面; c. 鱼肌肉横切面; d. 猪肌肉横切面。

图1 鱼肌肉和猪肌肉的微观结构($\times 300$)

Fig.1 Microstructures of fish and pork muscles ($\times 300$)

2.2 鱼肉和猪肉的基本组成

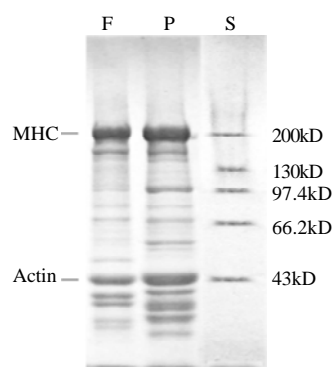
表1 鱼肉和猪肉的基本组成

Table 1 Basic components of fish and pork muscles

原料	水分含量/%	蛋白质含量/%				粗脂肪含量/%	灰分含量/%
		水溶性	盐溶性	不溶性	总和		
鱼肉	77.66	5.51	8.54	4.60	18.65	2.48	1.21
猪肉	74.31	5.93	7.49	6.45	19.87	4.44	1.38

由表1可知,鱼肉和猪肉的水分含量分别为77.66%和74.31%,总蛋白含量分别为18.65%和19.87%,鱼肉盐溶性蛋白含量高于猪肉的,而水溶性蛋白和不溶性蛋白含量均低于猪肉的。盐溶性蛋白与肌肉的弹性和肉糜制品的凝胶强度等密切相关,水溶性蛋白中含有大量的蛋白水解酶,其存在会影响到鱼糜制品的弹性^[16],而不溶性蛋白包括各种弹性硬蛋白和胶原在内的、不能用水或中性盐溶液提取的各种结缔组织蛋白,尽管它自身不能形成凝胶,但可填充于盐溶性蛋白形成的凝胶网络中,增强凝胶强度。虽然猪肉的盐溶性蛋白质含量低于鱼肉的,但其凝胶形成能力明显高于鱼肉的^[1],这与其较高的不溶性蛋白质含量有较大的关系。鱼肉与猪肉中盐溶性蛋白、不溶性蛋白和水溶性蛋白含量的差异可能是导致它们凝胶性能不同的原因之一。

鱼肉和猪肉的脂肪含量分别为2.48%和4.44%,脂肪在一定程度上能增强产品的风味和改善口感。刘世禄等^[17]认为,在一定范围内肌肉脂肪的含量与肉的风味呈正相关关系,鱼体肌肉脂肪含量在3.5%~4.5%时才会有良好的适口性,鲢鱼肉风味欠佳可能与其脂肪含量较低有关。



F. 鱼肉蛋白质; P. 猪肉蛋白; S. 标准蛋白。

图2 鱼肉和猪肉中蛋白质的电泳图谱

Fig.2 SDS-PAGE of intact proteins from fish and pork muscles

鉴于蛋白质重要的功能特性,对鱼肉和猪肉蛋白作了SDS-PAGE,其结果见图2。鱼肉和猪肉的蛋白质的主要成分类似,密度最大的都是肌球蛋白重链(MHC)带,其次是肌动蛋白(Actin)带。经电泳成像分析仪分析发现,猪肉中含有一种约56kD的蛋白带在鱼肉中几乎没有检测到,而鱼肉中约48kD的蛋白带在猪肉中也未检测到,此外,在含量上差别较大的还有分子质量约为97kD和小于43kD的蛋白质,这些差异可能都会影响鱼肉和猪肉的凝胶性能。

2.3 鱼肉和猪肉蛋白质的氨基酸组成分析

表2 鱼肉和猪肉蛋白质的氨基酸组成

Table 2 Amino acid composition of fish and pork proteins

氨基酸	鱼肉蛋白质氨基酸含量/%		猪肉蛋白质氨基酸含量/%	
	全蛋白	肌球蛋白	全蛋白	肌球蛋白
Asp	10.16	10.51	12.53	9.75
Glu	10.60	22.91	6.72	24.20
Gly	1.56	2.79	2.34	2.98
Ala*	6.45	4.45	6.95	6.53
Ser	4.33	4.27	4.42	4.32
Pro*	3.87	2.43	4.30	1.71
Tyr	4.78	3.32	4.35	2.21
His	9.93	1.21	9.49	1.88
Arg	6.41	7.73	7.15	7.51
Val*	5.68	5.66	5.85	4.32
Thr	2.17	4.36	1.80	4.86
Met*	3.27	3.68	3.02	3.25
Lys	10.20	10.38	10.99	10.05
Ile*	5.30	3.68	5.53	3.82
Leu*	10.27	8.63	10.12	8.58
Phe*	5.03	4.00	4.42	4.02
Trp*	—	—	—	—
Cys	—	—	—	—
EAA	51.85	41.60	51.22	40.78
NEAA	48.15	58.40	48.78	59.22
E/T/%	51.85	41.60	51.22	40.78
E/N	1.08	0.71	1.05	0.69
疏水性氨基酸	39.86	32.52	40.19	32.24
亲水性氨基酸	60.14	67.48	59.81	67.76
酸性氨基酸	20.76	33.42	19.26	33.95
碱性氨基酸	16.61	18.10	18.14	17.56

注: %氨基酸占总氨基酸的百分比; *, 疏水性氨基酸; EAA. 必需氨基酸; NEAA. 非必需氨基酸; E/T. 必需氨基酸占总氨基酸的百分比; E/N. 必需氨基酸与非必需氨基酸的比值; —. 未检测。

表2列出了鱼肉和猪肉全蛋白及肌球蛋白的氨基酸组成,疏水性氨基酸在两种肌肉全蛋白中约占40%,显著高于肌球蛋白中的(约32%)。疏水性氨基酸主要位于蛋白质分子内部,其疏水相互作用在保持蛋白质的三级结构上起重要作用,影响蛋白质的稳定性。蛋白质受热时,被包埋的非极性多肽暴露出来,从而增强了临近多肽非极性片段的疏水相互作用,平均疏水性影响凝胶的形成过程^[18]和凝胶类型^[19]。有学者指出疏水性氨基酸残基含量高于31.5%的蛋白质可形成凝结型凝胶,而低于31.5%的则形成半透明型凝胶^[19]。由此推测,它们都可以形成凝结型凝胶。蛋白质中酸性氨基酸(Asp、Glu)、中性氨基酸(Gly、Ala、Val、Leu和Ile)和碱性氨基酸(Arg、Lys)比例不同会影响其等电点和净电荷,进而影响其溶液特性和凝胶形成特性。前期研究发现,鱼肉和猪肉肌球蛋白的凝胶性能对pH值具有不同的响应^[6-7],鱼肉肌球蛋白的酸性氨基酸含量低于猪肉肌球蛋白的,而碱性氨基酸含量高于猪肉的,这可能是导致它们的胶凝特性对pH值响应差异的原因之一。

表3 鱼肉和猪肉蛋白质的AAS、CS和EAAI

Table 3 Amino acid scores (AAS), chemical scores (CS) and essential amino acid indices (EAAI) in fish and pork muscles

	FAO/WHO	全鸡蛋	鱼肉全蛋白			猪肉全蛋白		
氨基酸	氨基酸评分	蛋白质	氨基酸	AAS	CS	氨基酸	AAS	CS
	标准模式	评分模式/%	含量/%			含量/%		
Thr*	4.00	4.98	1.33	0.33	0.27	1.11	0.28	0.22
Val	5.00	7.42	3.49	0.70	0.47	3.62	0.72	0.49
Ile	4.00	6.60	3.25	0.81	0.49	3.42	0.86	0.52
Leu	7.00	8.80	6.30	0.90	0.72	6.25	0.89	0.71
Lys	5.50	6.40	6.26	1.14	0.98	6.79	1.24	1.06
Met + Cys	3.50	5.48	2.01	0.57	0.37	1.87	0.53	0.34
Phe + Tyr	6.00	10.08	6.03	1.00	0.60	5.42	0.90	0.54
Trp	1.00	1.70	—			—		
总量	36.00	51.46	28.67			28.48		
EAAI			51.43			49.97		

注:*.第一限制性氨基酸;—,未检测。

对膳食蛋白质的营养评价最关注的是必需氨基酸,特别是赖氨酸和含硫氨基酸。由表3可知,鱼肉全蛋白的赖氨酸含量略低于猪肉的,但都接近鸡蛋蛋白质评分模式,却明显高于FAO/WHO模式。对于以谷物食品为主的膳食者来说,可弥补谷物食品中赖氨酸的不足,从而提高人体对蛋白质的利用率。鲢鱼肉和猪肉全蛋白中必需氨基酸占总氨基酸的比例(E/T)分别为51.85%和51.22%,必需氨基酸与非必需氨基酸的比值(E/N)都高于0.70。根据FAO/WHO理想模式,质量较好的蛋白质的E/T在40%左右、E/N在0.6以上,可见鲢鱼肉、猪肉的蛋白质质量较佳,肉质营养较好。鲢鱼肉和猪肉的AAS第一限制性氨基酸都是苏氨酸,两种肌肉的CS第一限制性氨基酸与AAS的相同,只是评分的数值大小略有差异,根据EAAI,鲢鱼肉的营养价值高于猪肉的。

3 结 论

鲢鱼肉、猪肉的蛋白质质量较佳,肉质营养较好,鲢鱼肉的营养价值略高于猪肉的,且肉质较猪肉的细腻光滑。就盐溶性蛋白而言,鱼肉的高于猪肉的,而水溶性蛋白、不溶性蛋白和脂肪含量均低于猪肉的,两种肌肉中蛋白质含量最高都是肌球蛋白、其次是肌动蛋白,差别较大的是56kD和48kD的两条蛋白带。两种肌肉的全蛋白及肌球蛋白中疏水性氨基酸含量均高于31.5%,说明它们均可形成凝结型凝胶,鱼肉肌球蛋白的酸性氨基酸含量低于猪肉的,而碱性氨基酸含量较猪肉的高。

参考文献:

- [1] LIU Ru, ZHAO Siming, XIE Bijun, et al. Contribution of protein conformation and intermolecular bonds to fish and pork gelation properties [J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25: 898-906.
- [2] LIU Ru, ZHAO Siming, XIONG Shanbai, et al. Studies on fish and pork paste gelation by dynamic rheology and circular dichroism[J]. Journal of Food Science, 2007, 72: E399-E403.
- [3] 周光宏. 畜产品加工学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 40-41.
- [4] RABIEY L, BRITTEN M. Effect of protein composition on the rheological properties of acid-induced whey protein gels[J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23: 973-979.
- [5] RIEBROY S, BENJAKUL S, VISESSANGUAN W, et al. Comparative study on acid-induced gelation of myosin from Atlantic cod (*Gadus morhua*) and burbot (*Lota lota*)[J]. Food Chemistry, 2008, 109: 42-53.
- [6] LIU Ru, ZHAO Siming, XIONG Shanbai, et al. Role of secondary structures in the gelation of porcine myosin at different pH values[J]. Meat Science, 2008, 80: 632-639.
- [7] LIU Ru, ZHAO Siming, LIU Youming, et al. Effect of pH on the gel properties and secondary structure of fish myosin[J]. Food Chemistry, 2010, 121: 196-202.
- [8] 王金余, 刘承初, 赵善贞, 等. 白鲢鱼糜肌球蛋白交联反应和凝胶化最适条件的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(11): 223-227.
- [9] 张水华. 食品分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2004: 68-71.
- [10] 万建荣, 洪玉蓉, 奚印慈, 等. 水产食品化学分析手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1993.
- [11] LOWRY O H, ROSEBROUGH N J, FARR A L, et al. Protein measurement with the folin phenol reagent[J]. Journal of Biological Chemistry, 1951, 193: 265-275.
- [12] PELLET P L, YONG V R. Nutritional evaluation of protein foods [M]. Tokyo: The United National University, 1980: 26-29.
- [13] 杨家坚, 林勇, 梁军能. 斑鳊几种常见天然饵料的营养分析与评价[J]. 湛江海洋大学学报, 2001, 21(1): 19-22.
- [14] 陈意明, 黄钧, 蔡子德, 等. 光倒刺鲃的含肉率和肌肉营养成分分析[J]. 水利渔业, 2001, 21(2): 22-24.
- [15] LAEMMLI U K. Cleavage of structure protein during the assembly of head bacteriophage T4[J]. Nature, 1970, 227: 680-685.
- [16] 王锡昌, 汪之和. 鱼糜制品加工技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1997: 10-76.
- [17] 刘世禄, 王波, 张锡烈, 等. 美国红鱼的营养成分分析与评价[J]. 海洋水产研究, 2002, 23: 25-32.
- [18] RELKIN P. Reversibility of heat-induced conformational changes and surface exposed hydrophobic clusters of β -lactoglobulin: their role in heat-induced sol-gel state transition [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 1998, 22: 59-66.
- [19] SHIMADA K, MATSUSHITA S. Relationship between thermocoagulation of protein amino acid composition [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1980, 28: 413-417.