pH 对羊血浆蛋白热诱导凝胶特性的影响

倪娜[1,2]，王振宇[1]，陈立娟[1]，徐薇薇[1]，潘晗[1]，高远[1]，张德权[1]
（1.中国农业科学研究院农产品加工研究所/农业部农产品加工重点实验室，北京 100193）
（2.内蒙古民族大学生命科学学院，内蒙古通辽 028000）

摘要：采用质构、动态流变分析等方法，研究了 pH 对羊血浆蛋白热诱导凝胶特性的影响。研究结果表明，pH 对羊血浆蛋白热诱导凝胶特性具有显著影响（$P<0.05$）。pH 5.0 时，羊血浆蛋白热诱导凝胶硬度最小且保水性较差，微观结构粗糙、松散、孔径较大，为典型的颗粒状凝胶结构；pH 8.6 时，热诱导凝胶的硬度、保水性最大，且具有致密有序的微观结构，是典型的良好线状凝胶。pH 5.0 和 8.6 时羊血浆蛋白热胶凝过程中储能模量—温度曲线均呈现"稳定于 0 Pa 附近后骤升"的两段式变化；pH 5.0 时，羊血浆蛋白的变性温度为 71.5 ℃，pH 8.6 时为 80.9 ℃，与其凝胶点温度一致。SDS-PAGE 电泳结果表明球蛋白与白蛋白聚集体是形成羊血浆蛋白凝胶体的主要蛋白，其中 pH 5.0 时，部分 51 kU 的蛋白质先以二聚体、再以多聚体的形式进行聚集。本研究表明 pH 可以调控和改变羊血浆蛋白热诱导凝胶。

关键词：羊血浆蛋白；热诱导凝胶；pH；凝胶特性；微观结构
文章篇号：1673-9078(2015)7-160-166 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.7.026

Effect of pH on the Gel Properties of Lamb Plasma Protein during Heat-induced Gelation

NI Na[1,2], WANG Zhen-yu[1], CHEN Li-juan[1], XU Wei-wei[1], PAN Han[1], GAO Yuan[1], ZHANG De-quan[1]
(1.Institute of Agro-products Processing Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Agro-products Processing, Ministry of Agriculture, Beijing 100193, China) (2.College of Life Science, Inner Mongolia University for the Nationalities, Tongliao 028000, China)

Abstract: The effect of pH on the heat-induced gel properties of lamb plasma proteins under various pH conditions was investigated by texture and rheology analysis. The pH had a significant impact on each of the properties tested. The lowest water-holding capacity and hardness were observed at pH 5.0, which resulted in a typical particulate gel with a coarse and disordered microstructureas well as large holes (based on diameter) in the network. The highest water-holding capacity and hardness of the lamb plasma proteins were both detected at pH 8.6, which resulted in a typical fine-stranded gel with a compact and ordered microstructure. The storage modulus vs temperature curve of the heat-induced gelation included two segments, stabilizing at 0 Pa and then increasing. The denaturation temperatures of the lamb plasma protein were 71.5 ℃ at pH 5.0 and 80.9 ℃ at pH 8.6. The temperature corresponded to that of the gelation point obtained from rheology analysis for the respective pH value. Based on SDS-PAGEpattems, globins and albumin aggregates are the main structural blocks of the gels, for gels, and part of proteins with MW of 51 kU aggregated to form dimers, aggregates, finally 3-dimentional network of gels at pH 5.0. This work indicated that the performance of Lamb Plasma Protein gels can be improved via the modulation of pH values.

Key words: plasma protein; heat-induced gel; pH; gel properties; microstructure

中国是世界上最大的羊肉生产国与消费国，2013 年产量为 408 万 t[1]，屠宰加工过程中产生了大量羊血副产物。然而，我国羊血资源的利用率极低，除在内蒙古等地有少量羊血被制成羊血豆腐、羊血肠等全血凝胶产品外，多数屠宰企业将血液直接排放掉，宝贵的蛋白质资源被大量浪费。

血浆蛋白是血液分离产品之一，目前我国的羊血浆蛋白开发利用形式主要是喷粉后用于饲料，而在食品中的应用较少。作为一种廉价易得、性能优良、营养丰富的蛋白质资源，血浆蛋白表现出良好的加工特性，如凝胶性、乳化性和发泡性等[2]。近年来，人们对血浆蛋白加工特性研究的关注越来越多，例如改善

收稿日期：2014-08-17
基金项目：国家农业科技创新工程；国家现代肉羊产业技术体系项目（CARS-39）；内蒙古民族大学科学研究项目（NMD1211）
作者简介：倪娜(1983-)，女，讲师，博士研究生，研究方向：肉品科学与副产物加工利用
通讯作者：张德权（1972-），男，博士，研究员，研究方向：肉品科学

肉制品质构、增强保水性、抑制蛋白质降解与替代添加剂等[3,4]。

在血浆蛋白的上述功能特性中，热诱导凝胶性在肉制品加工中尤为重要。热诱导凝胶是蛋白质在加热作用下二、三、四级结构改变，发生变性和聚集，当聚集影响到一定程度时形成了电镜下可见的、三维网状的凝胶结构。凝胶结构作为保持水分、脂肪和其它风味成分的基质，有助于改善肉制品的质构，同时血浆蛋白形成的凝胶基质也是形成血豆腐等全血凝胶制品性质的主要原因[5]。热诱导血浆蛋白所表现出的凝胶特性是许多相关因素共同作用产生的结果，蛋白质本身的物理化学性质（如分子大小、形状、化学组成、结构）和外界因素（如蛋白质浓度、pH、离子强度、温度、溶剂组成以及是否存在还原剂等），均对其凝胶特性具有影响[6]。目前，关于血浆蛋白凝胶特性研究主要集中在各种外界因素对血浆蛋白凝胶特性的影响，以及血浆蛋白加热过程中的蛋白质变化上，研究对象涉及猪、牛、禽类等动物[3-7]，尚未见有关羊血浆蛋白热诱导凝胶性的报道。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

原料：羊全血采自于内蒙古某公司，选用敖汉细毛羊羔羊 6 只，经集约化舍饲养殖至 6 个月，进行标准化屠宰。使用洁净的容器进行羊全血收集，并添加 1/10 体积的 3.8%（*m/V*）的柠檬酸钠溶液抗凝，4 ℃运输、保藏 1 d，使用两层纱布过滤后，于 4 ℃、3000×g 下离心 20 min，重复一次，上清液即为血浆。冷冻干燥（-18 ℃）过夜后得到羊血浆蛋白冻干粉[8]。

主要仪器：LGJ-25C 冷冻干燥机，北京四环科学仪器厂；TA-XT2i/5 质构分析仪，英国 Stable Micro System 公司；H-7500 型扫描电镜，日本 Hitachi 公司；TXF200-S12 可编程恒温循环水浴，英国 Grant 公司；CR22GII 高速冷冻离心机，日本 Hitachi 公司；MCR301 流变仪，奥地利 Anton Paar 有限公司；Q200 差示扫描量热仪，美国 TA Instrument 公司；HI9916 型 pH 计，HANNA Instrument 公司；T10Basic 均质器，德国 IKA 集团；Mini-Protein Ⅲ型凝胶电泳系统，美国 Bio-Rad 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 羊血浆蛋白热诱导凝胶制备

将羊血浆蛋白粉溶于磷酸盐缓冲液（0.6 M NaCl，50 mM Na_2HPO_4/NaH_2PO_4，pH 5.0、6.2、7.4、8.6、9.8），蛋白质浓度为 40 mg/mL。用 1 M NaOH 或 HCl 将体系调整至试验所需 pH，并磁力搅拌 10 min，分装入直径 25 mm 的密封样品瓶，置于 25 ℃水浴中保温 10 min 后，再以 1.0 ℃/min 线性升温至 85 ℃，保温 20 min 使之形成凝胶，冷却后存放于 4 ℃冰箱过夜，再进行后续指标的测定。

1.2.2 保水性分析

采用离心法测定热诱导凝胶的保水性[9]，制备好的凝胶样品称重后，于 4 ℃下 1000 g 离心 10 min，去除离出水分，记录空离心管质量及离心前后离心管与凝胶的总质量。凝胶保水性按式（1）计算：

$$WHC(\%)=\frac{CG-ML}{CG}\times 100 \quad (1)$$

其中 ML 为离心过程中水分损失重量，CG 为离心前蛋白凝胶重量。

1.2.3 硬度、弹性的测定

参考 Li 等[10]的方法，将制备好的凝胶样品于室温下平衡 30 min，使用质构剖面分析法测定凝胶的硬度、弹性等。探头型号为 P/0.5R（圆柱形），参数设定为测前速度 1.0 mm/s，测试速度 0.5 mm/s，测后速度 1.0 mm/s，探头深入距离 5 mm，最小感应力 5 g，数据获取速率 200 pps。

1.2.4 扫描电镜观察

凝胶样品取小块，用 3%戊二醛溶液于 4 ℃下固定 24 h 后，1%锇酸固定 15 min，再用磷酸缓冲液清洗，经乙醇梯度脱水、乙酸异戊酯置换、二氧化碳临界点干燥、真空离子溅射喷金后放入扫描电镜下进行微观结构观察，加速电压为 15.0 kV[11]。

1.2.5 动态流变分析

使用流变仪在振动模式下测定代表性 pH 体系下羊血浆蛋白热凝胶过程中所产生的力学变化。将样品置于已校正好的流变仪平台上，并将盖板表面用硅油密封，以防止水分蒸发。所选夹具为 φ25 mm 的平行板，平行板间距为 1 mm。在恒定振荡频率 1.0 Hz、应变为 1%的条件下进行温度扫描，升温扫描范围为 25℃~85 ℃，升温速率为 1.0 ℃/min，测定升温过程中储能模量 G′的变化[11]。

1.2.6 差示扫描量热分析

使用差示扫描量热仪（DSC）分析代表性 pH 体系下羊血浆蛋白的热稳定性。DSC 测试条件为温度扫描范围 25 ℃~105 ℃，升温速率 5 ℃/min，使用 Q20 空铝盒作为空白对照，使用仪器自带软件分析蛋白的热变性温度（T_{max}）与热焓（ΔH）。

1.2.7 电泳分析

收集代表性 pH 条件下热诱导过程中的各阶段凝

胶样品，将 2 g 羊血浆蛋白样品装于试管中，按 1.2.1 中所述程序进行热诱导升温，期间选取 8 个取样点，对应的温度分别为 25、35、45、55、65、75、85 ℃（在此温度下分别保温 0 和 20 min）。每管样品中加入 5%的 SDS 溶液 8 mL，使用 IKA 分散器 20000 r/min 均质 1 min，85 ℃水浴保温 1 h，再分别使用等体积的还原性上样缓冲液（含 100 mM DTT 以还原二硫键）与非还原性上样缓冲液（不含 DTT）在沸水浴中处理 5 min，离心 15000 g、10 min 以去除大分子聚合物，再进行 SDS-PACE 电泳。电泳条件为 12%分离胶、4%浓缩胶，上样量 20 μg。谱图中各条带蛋白的指认主要参考 Dàvila 等[6]关于血浆蛋白的报道。分子量标准蛋白（Thermo 公司）的分子量范围为 5~250 kU。

1.2.8 统计分析

实验重复 3 次。采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析，用 ANOVA 进行方差分析，LSD 进行显著性检验（P<0.05）。使用 Origin 8.6 软件绘图，同一条曲线中相同的小写字母表示差异不显著（P> 0.05）。

2 结果与讨论

2.1 pH 对羊血浆蛋白热诱导凝胶保水性的影响

保水性反映凝胶基质对其中水分的保留能力，pH 对羊血浆蛋白热诱导凝胶保水性的影响如图 1 所示。羊血浆蛋白热诱导凝胶的保水性随 pH 增加基本呈上升趋势；当 pH 高于 8.6 时，凝胶的保水性虽略有下降，但与 pH 6.2、7.4 两个处理相比差异并不显著（P>0.05）。在 pH 5.0 时，保水性值最低，为 68.53%（P<0.05）。

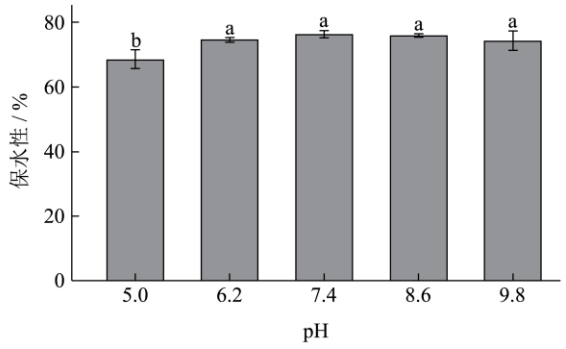


图 1 pH 对羊血浆蛋白热诱导凝胶保水性的影响

Fig.1 Effect of pH on the water-holding capacity of heat-induced lamb plasma protein gels

研究结果与 Dàvila 等[6,7]的结果相似，当蛋白质近等电点时保水性相对较差，而 pH 近中性或远离等电点时保水性相对较好。血浆蛋白主要由血清白蛋白和多种球蛋白组成，其中白蛋白是血浆中含量最为丰富的蛋白质，约占蛋白质总量的 50%~60%，其等电点约为 4.8 左右[6]。因此，当 pH 为 5.0 时，血浆中大部分蛋白质处于等电点附近，蛋白质所带净电荷几乎为零，缺少维持凝胶空间结构稳定的静电排斥力，周围水分子缺少氢键结合位点，水合作用表面积相对较少，蛋白质与水之间的相互作用较弱，导致该 pH 下的保水性较差[12]。

2.2 pH 对羊血浆蛋白热诱导凝胶硬度与弹性的影响

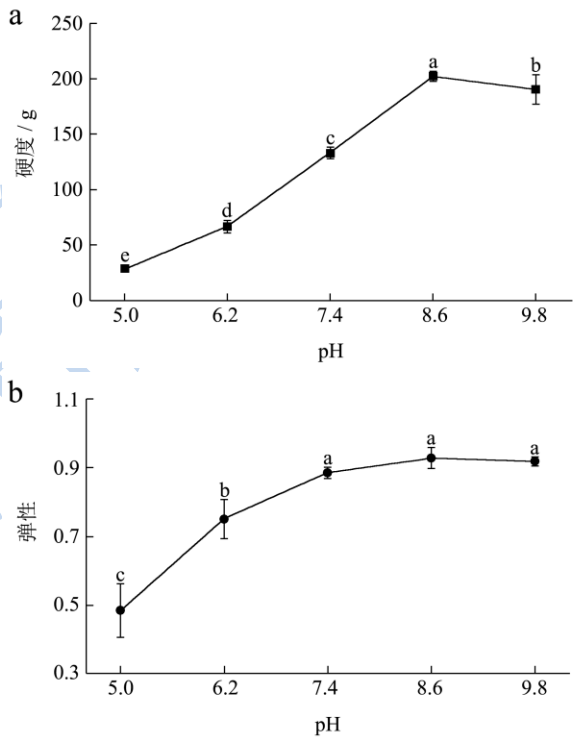


图 2 pH 对羊血浆蛋白热诱导凝胶质构的影响

Fig.2 Effect of pH on the texture of heat-induced lamb plasma protein gels

不同 pH 下羊血浆蛋白凝胶硬度与弹性如图 2 所示。由图 2a 可知，羊血浆蛋白热诱导凝胶的硬度先随着 pH 升高而增加，而后略有下降。pH 5.0 时，凝胶硬度最小，为 27.94 g，显著小于其它各处理（P<0.05）；当 pH 升高至 8.6 时，凝胶硬度最大，为 202.13 g，显著高于其它各处理（P<0.05）；但当 pH 继续升高至 9.6 时，凝胶硬度反而有所下降，下降至 190.29 g，显著低于 pH 8.6 处理（P<0.05）。羊血浆蛋白凝胶弹性随 pH 的变化总体呈上升趋势（图 2b），其最高值同样出现在 pH 7.5，且与 pH 7.4、9.8 三处理间的差异并不显著（P>0.05）；其最小值也出现在 pH 5.0，且与其它

pH 处理相比差异显著（P<0.05）。

羊血浆蛋白热诱导凝胶中硬度随 pH 的变化趋势与其它动物不同，猪、鸭血血浆蛋白在 pH 5.5 至中性 pH 范围内，硬度随 pH 增加均呈上升趋势[6,7]，牛血浆蛋白在 pH 6.0~9.0 的范围内，pH 9.0 时的凝胶强度最高[13]；而羊血浆蛋白的凝胶硬度值在 pH 8.6 时最大，pH 9.8 时有所下降，这可能是由于极端 pH 时蛋白质负电荷过多导致分子间静电排斥力过高，影响了蛋白质的聚集，无法形成硬度良好的凝胶。此外，蛋白质来源、体系条件、凝胶特性的评定方法不同，也可能影响凝胶的形成及最终的质构特性。

综合分析不同 pH 下羊血浆蛋白热诱导凝胶的质构与保水性结果，得到 2 个代表性 pH：pH 5.0 时，凝胶体的硬度、弹性与保水性均最差；pH 8.6 时，凝胶体的保水性最好，且硬度、弹性最大。要明确两种代表性性凝胶的差异产生原因，需要分析热诱导升温过程中的蛋白质变化，以及凝胶微细结构间的差异。

2.3 羊血浆蛋白热诱导凝胶的微观结构

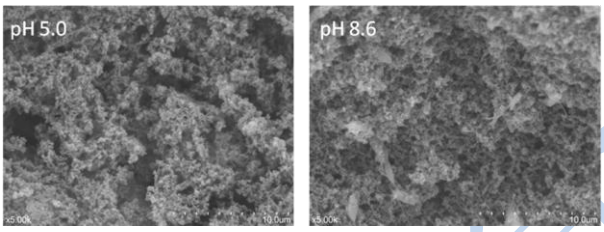


图 3 代表性 pH 下羊血浆蛋白热诱导凝胶的微观结构（×5000）

Fig.3 Scanning electron micrograph (magnification, ×5000) of heat-induced lamb plasma protein gels for representative pH values

图 3 为代表性 pH 下羊血浆蛋白热诱导凝胶微观结构的扫描电镜图。pH 5.0 时，可见凝胶结构较为粗糙、无序，并形成了大量的缝隙或非闭合孔洞，孔洞周围可见有较多的断裂，凝胶基质非常松散；同时，电镜图中并未观察到明显的丝状蛋白质交联，蛋白质以颗粒状形式聚集在一起。pH 8.6 时，可见凝胶呈现出明显有序的多孔状三维网络结构，且凝胶基质中未见大的断裂，仅有由蛋白质交联形成的极小的网状小孔，网络结构更为均匀、致密，且丝状交联的数量与 pH 5.0 相比明显增加。

代表性 pH 下羊血浆蛋白形成了两种微观形态十分典型的凝胶，Langton 等[14]将这两种凝胶分别命名为较低 pH时的颗粒状凝胶和较高pH时的良好线状凝胶。此结果与 Wang 等[7]的报道相似，当 pH 升高至 6.0 时，猪、鸭血浆均呈现良好的线状凝胶，而在较低 pH（pH 5.5）时，形成无序的、孔洞较大的颗粒状凝胶。两种代表性的微观凝胶结构可解释不同 pH 下羊血浆蛋白的保水性差异：低 pH 时距离等电点较近，蛋白质所带电荷较少，其聚集速率远高于变性速率，形成了以蛋白聚集体为主的颗粒状凝胶，当给凝胶施加以外力（离心力）时，粗糙、大孔洞的凝胶结构无法存留住水分，因此低 pH 时保水性较低；反之，pH 偏离等电点较远时，线状凝胶网络更为均匀、致密，孔洞直径小，可通过毛细管作用使水分得以有效保留[12]。

2.4 羊血浆蛋白热诱导过程中的流变学特性

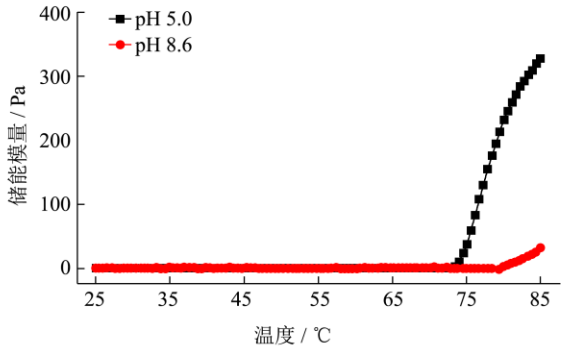


图 4 代表性 pH 下羊血浆蛋白热诱导凝胶形成过程中储能模量的变化

Fig.4 Variation in the storage modulus during the formation of heat-induced lamb plasma proteins gels for two representative pH values

由图 4 可知，羊血浆蛋白凝胶化过程经历两个阶段，储能模量（G′）值起初稳定维持在 0 Pa 左右，而当温度超过 70 ℃时，储能模量开始显著上升，这一 G′值平稳在 0 Pa 而后骤升的现象与大多数研究结果相一致[6,7,15]。储能模量－温度曲线上 G′高于 1 Pa 时的温度为凝胶点[6]，pH 5.0 时，血浆蛋白溶液的凝胶点为 72.4 ℃左右，而 pH 8.6 时约为 80.1 ℃，比 pH 5.0 明显增高（P<0.05），此结果也与猪血浆蛋白流变特性一致[6]。

热胶凝结束时，pH 5.0 的羊血浆蛋白终止储能模量为 326 Pa，远高于 pH 8.6 处理（32.2 Pa）（P <0.05），这一结果与其它文献报道并不完全一致。王鹏等[5]的研究表明，猪血浆蛋白在 80 ℃保温阶段的终止储能模量数值随 pH（5.5~7.5）增加而升高（P<0.05），但相同条件下不同 pH 的鸭血浆蛋白则无显著差异（P>0.05）。D àvila[6]的流变学数据显示，pH 7.5 的猪血浆蛋白的终止储能模量最高，而 pH 4.5 与 pH 6.0 时则相差不大。值得说明的是，尽管组成动物血浆的主要成分均为血清白蛋白和多种球蛋白，但其蛋白质组成、结构仍有差异，静电特性、分子空间结构以及

自由巯基反应能力的不同导致了各组分间的相互作用不同，再加之各研究采取的实验条件、测定方法、测试条件也有所不同，从而表现出不同的流变特性[6]。

2.5 羊血浆蛋白热诱导凝胶形成过程中的热变性规律

将代表性 pH 下羊血浆蛋白样品进行了 DSC 分析，得到其热变性温度和相应的热焓变化如表 1 所示。pH 5.0 和 8.6 时羊血浆蛋白的 DSC 曲线上均能得到两个吸热峰，第一个吸热峰对应的温度（T_{max1}）分别为 61.26 ℃与 59.38 ℃，两者之间差异显著（$P < 0.05$），对应热焓（ΔH_1）之间差异极显著（$P < 0.01$），且 pH 5.0 时的吸热峰较为微弱。第二个吸热峰对应的温度（T_{max2}）分别为 71.50 ℃和 80.91 ℃，两者之间差异极显著（$P<0.01$），对应热焓（ΔH_2）之间差异显著（$P<0.05$）。pH 8.6 时吸热峰对应的温度、热焓远高于 pH 5.0，这表明在此 pH 下蛋白质的稳定性较好，受热伸展变性时需要吸收更多的热量。此结果与 Dàvila 等[6]的报道相似，猪血浆蛋白在 pH 7.5 时有一较宽的变性峰，位置在 75 ℃以上，且 pH 4.5 时并未出现明显的变性峰，推测在此温度下蛋白质变性主要是由酸性条件引起而非加热效应。由于本研究中在较低 pH 时也检测到了极微弱的变性峰，高 pH 时也检测到了 60 ℃附近的变性峰，差别可能来自于血浆蛋白种类、pH 以及所选的升温程序不同。

表 1 代表性 pH 下羊血浆蛋白的热变性温度

Table 1 The denaturation temperatures of lamb plasma proteins for representative pH values

	T_{max1}	ΔH_1/(J/g)	T_{max2}	ΔH_2/(J/g)
pH 5.0	61.26±0.65	0.37±0.20	71.50±0.39	2.61±0.96
pH 8.6	59.38±0.10	2.51±0.05	80.91±2.62	14.56±4.49
显著性(P)	*	**	**	*

注：*P<0.05（差异显著）；**P<0.01（差异极显著）；NS: P>0.05（差异不显著）。

两处理中峰 2 的热变性温度均高于 70 ℃，且具有较大的热焓，这表明羊血浆蛋白的热稳定性较好，且在此处发生的蛋白质热变性需要吸收较多的热量。与图 4 对比发现，pH 5.0 时凝胶点为 72.4 ℃，与其峰 2 的热变性温度 71.50 ℃接近，而 pH 8.6 时的凝胶点在 80.1 ℃左右，恰好与其峰 2 的热变性温度 80.91 ℃符合。DSC 分析也再次印证了流变学结果，表明 pH 改变使蛋白质的热稳定性变化，导致其产生不同的热变性状态，形成凝胶的能力发生改变。同时，pH 5.0 的羊血浆蛋白因其热稳定性较差、焓变较低，凝胶化过程开始较早；且温度高于 70℃时，羊血浆蛋白热变性过程开始与其凝胶化过程同步。此结果与 Dàvila 等[6]的报道相似，当 pH 降低时，血浆蛋白溶液的热稳定性与凝胶点都较低。

2.6 羊血浆蛋白热诱导凝胶形成过程中的热聚集与共价键变化规律

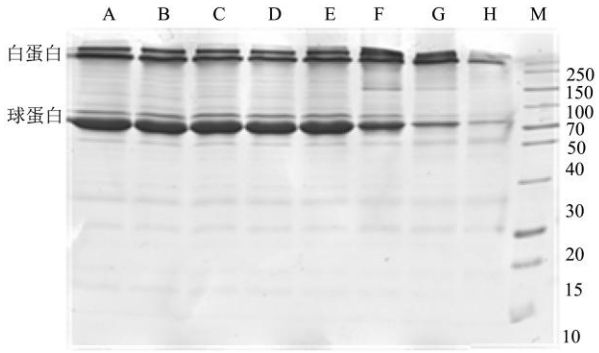
图 5 为代表性 pH 下羊血浆蛋白热诱导凝胶形成过程中蛋白质的 SDS-PAGE 图谱。由其热诱导过程的还原性电泳图谱（图 5 下）可知，羊血浆蛋白中含有两个主要条带，其分子量分别在 66 kU 和 51 kU 附近，对应为血清白蛋白和一些球蛋白。与其它动物血浆蛋白相似，66 kU 的白蛋白是羊血浆的主要成分，但羊血浆蛋白中 51 kU 左右的球蛋白含量高于其它动物血浆蛋白[6]。

当 pH 5.0（图 5 左下）时，还原性电泳图中泳道 A~G 的条带组成相同，仅 H 泳道的各条带亮度均有所减少。溶解样品的还原性缓冲液可断裂除非二硫共价键以外的所有化学键，此现象说明 pH 5.0 时凝胶形成过程涉及了非二硫共价键作用，这些非二硫共价键形成的大分子聚集体被保留在了上样前的离心沉淀中。该泳道中白蛋白的条带亮度减弱最明显，其次为 51 kU 附近的球蛋白，这表明低 pH 下、85 ℃的持续加热导致了凝胶中非二硫共价键的形成。当 pH 8.6（图 5 右下）时，图中泳道 A~H 的条带组成相同，且未见有条带组成或含量发生变化。这说明在高 pH 下，凝胶的形成并未涉及非二硫共价键。

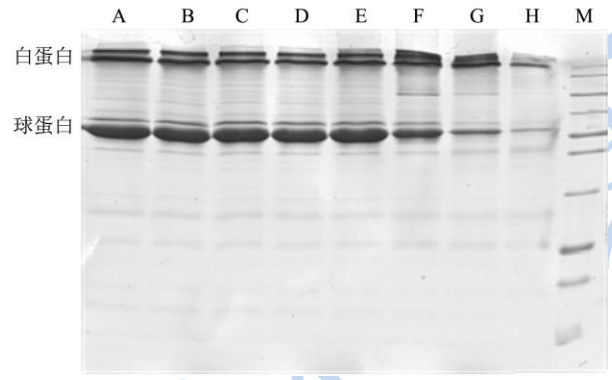
当 pH 5.0（图 5 左上）时，非还原性电泳图中泳道 A~E 的条带组成相同，其亮度均并无明显差异；当温度升高至 75 ℃时（F 泳道），可见 51 ku、54 ku 条带亮度明显降低，至热诱导过程结束（H 泳道）时，54 ku 条带几乎不可见。同时，75 ℃时（F 泳道）有约 100 ku 的新条带生成，而后该条带消失（H 泳道）；由其分子量推测，此条带应为由部分 51 ku 球蛋白生成的二聚体。最上方的条带（分子量远大于 250 ku，根据还原性电泳推断为白蛋白聚集体），在 H 泳道时消失。上述现象表明 pH 5.0 时，羊血浆蛋白热诱导凝胶的形成涉及了二硫键作用，同时 51 ku 球蛋白和白蛋白聚集体是通过二硫键形成凝胶体的主要蛋白；其中部分 51 ku 球蛋白先以二聚体、再以多聚体的形式进行聚集。

当 pH 8.6（图 5 右上）时，非还原性电泳图中泳道 A~D 的条带组成相同，且各条带亮度均并无明显差异；当温度升高至 65 ℃时（E 泳道），可见 51 ku、

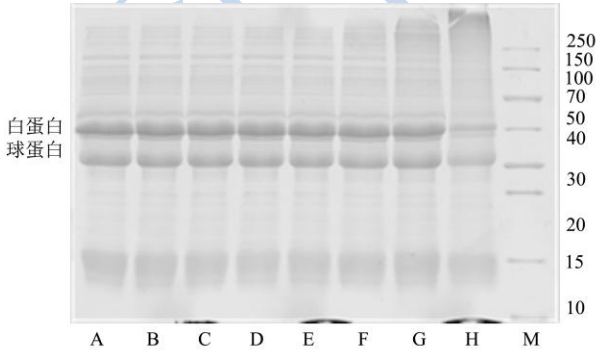
54 ku 两条带亮度有明显降低；至热诱导温度升高至85 ℃（G 泳道）时，51、54 ku 两条带几乎不可见，同时，白蛋白聚集体条带也消失，泳道中仅保留一条大分子量聚集体的条带；至热诱导结束（H 泳道）时，已无明显的蛋白质条带。这表明 pH 8.6 时，羊血浆蛋白热诱导凝胶的形成涉及了二硫键作用，通过二硫键形成凝胶体的主要蛋白包括 51 ku、54 ku 的球蛋白和白蛋白聚集体，且后期涉及几乎所有蛋白质。与 pH 5.0 相比，pH 8.6 时蛋白质聚集的发生温度提前约 10 ℃，且蛋白质聚集程度较为剧烈，至热诱导结束，几乎所有蛋白质都参与形成了凝胶体。



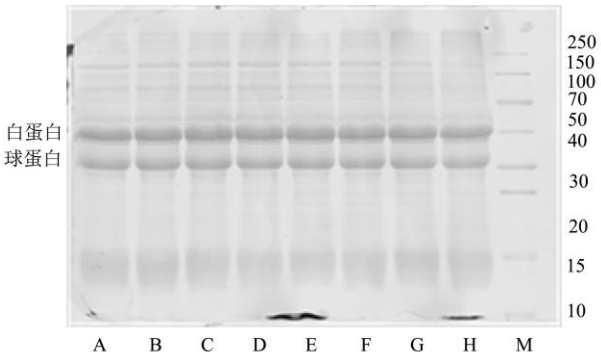
pH=5.0



pH=8.6



pH=5.0



pH=8.6

图 5 代表性 pH 下羊血浆蛋白热诱导凝胶形成过程中的 SDS-PAGE 图谱

Fig.5 SDS–PAGE analysis under non-reducing conditions of lamb plasma proteins at pH 5.0 and 8.6 heated from 25 ℃ to 85 ℃ (top) and under reducing conditions of the supernatants of the same solutions after centrifugation (bottom)

注：各图中泳道由左至右依次为分子量标准蛋白(M)，25 ℃ (A)、35 ℃ (B)、45 ℃ (C)、55 ℃ (D)、65 ℃ (E)、75 ℃ (F)、85 ℃(G)、85 ℃保持 20 min (H)；上方两图为非还原性条件，下方两图为还原性条件时的相同样品。

3 结论

pH 对羊血浆蛋白热诱导凝胶特性具有显著影响（P<0.05）。在 pH 8.6 时，热诱导凝胶的硬度、保水性最大，且具有致密有序的微观结构，是典型的良好线状凝胶结构；在近等电点（pH 5.0）时，凝胶硬度最小且保水性较差，微观结构粗糙、松散、孔径较大，是典型的颗粒状凝胶结构。不同 pH 条件下羊血浆蛋白凝胶形成过程中的流变学特性不同，温度高于 70 ℃时，羊血浆蛋白的热变性过程与其凝胶化过程基本同步。羊血浆蛋白热诱导过程中不同 pH 的蛋白质变性、聚集的方式存在差异，形成了保水、质构等功能特性各异的凝胶。

参考文献

[1] 中国国家统计局.2013 年国民经济和社会发展统计公报[EB/OL].http://www.stats.gov.cn/tjsj/zxfb/201402/t20140224_514970.html, 2014-02-24

China's National Bureau of Statistics. Statistical Communique of the People's Republic of China on the 2013 National Economic and Social Development [EB/OL]. http://www.stats.gov.cn/tjsj/zxfb/201402/t20140224_514970.

html, 2014-02-24.

[2] 倪娜,王振宇,陈丽,等.血浆蛋白功能特性及其在肉制品中的应用研究进展[J].农产品加工,2012,11:132-135
NI Na, WANG Zhen-yu, CHEN Li, et al. Review on functional properties of plasma protein and its application in meat product [J]. Academic Periodical of Farm Products Processing, 2012(11): 132-135

[3] Yu X, Chen C G, Cai K Z, et al. Combined effects of blood plasma powder, agar, and microbial transglutaminase on physicochemical and textural properties of pork muscle gels [J]. Food Sciencen and Biotechnology, 2012, 21: 941-950

[4] Hurtado S, Saguer E, Toldrà M, et al. Porcine plasma as polyphosphate and caseinate replacer in frankfurters [J]. Meat Science, 2012, 90: 624-628

[5] 王鹏.血液蛋白的凝胶性质及其对肌原纤维蛋白凝胶的影响[D].南京:南京农业大学,2010
WANG Peng. Study on characteristics of blood protein gelation and its influence on formation of myofibrillar protein gel [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2010

[6] Dàvila E, Parés D, Cuvelier G, et al. Heat-induced gelation of porcine blood plasma proteins as affected by pH [J]. Meat Science, 2007, 76:216-225

[7] Wang P, Xu X, Huang M, et al. Effect of pH on heat-induced gelation of duck blood plasma proteins [J]. Food Hydrocolloids, 2013, 35: 324-331

[8] Saguer E, Alvarez P A, Sedman J, et al. Study of the denaturation/aggregation behavior of whole porcine plasma and its protein fractions during heating under acidic pH by variable- temperature FTIR spectroscopy [J]. Food Hydrocolloids, 2013, 33(2): 402-414

[9] Sun J, Wu Z, Xu X L, Li P. Effect of peanut protein isolate on functional properties of chicken salt-soluble proteins from breast and thigh muscles during heat-induced gelation [J]. Meat Science, 2012, 91(1): 88-92

[10] Li Y, Kong B, Xia X. Structural changes of the myofibrillar proteins in common carp (*Cyprinus carpio*) muscle exposed to a hydroxyl radical-generating system [J]. Process Biochemistry, 2013, 48(5-6): 863-870

[11] Wu M G, Xiong Y L, Chen J. Rheology and microstructure of myofibrillar protein-plant lipid composite gels: Effect of emulsion droplet size and membrane type [J]. Journal of Food Engineering, 2011, 106(4): 318-324

[12] Liu R, Zhao S M, Liu Y M, et al. Effect of pH on the gel properties and secondary structure of fish myosin [J]. Food Chemistry, 2010, 121(1): 196-202

[13] 孟晓霞,彭增起,靳红果,等.牛血浆蛋白凝胶特性研究[J].食品研究与开发,2012,33(5):157-160
MENG Xiao-xia, PENG Zeng-qi, QIN Hong-guo, et al. Study on gel properties of bovine plasma proteins [J]. Food Research and Development, 2012, 33(5): 157-160

[14] Langton M, Hermansson A M. Fine-stranded and particulate gels of β-lactoglobulin and whey protein at varying pH [J]. Food Hydrocolloids, 1992, 5(6): 523-539

[15] 唐建凤.加热方式对血浆流变学及质构性质的影响[J].食品研究与开发,2012,33(12):104-107
TANG Jian-feng. Effect of heating styles on the characteristics of texture and rheological property of blood plasma [J]. Food Research and Development, 2012, 33(12): 104-107

[16] 倪晨,石彦国.血清蛋白质加热凝胶的形成[J].中国食品学报, 2004,4(2):58-61
NI Chen, SHI Yan-guo. Heat-induced gelation of serum proteins [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2004, 4(2): 58-61