

# 热处理时间对鸭肉肌原纤维蛋白凝胶的风味吸附能力影响

周昌瑜<sup>1</sup>, 蒋娅婷<sup>1</sup>, 曹锦轩<sup>1</sup>, 王颖<sup>1</sup>, 陈银基<sup>2</sup>, 潘道东<sup>1</sup>, 孙杨赢<sup>1</sup>, 欧昌荣<sup>1</sup>

(1. 宁波大学海洋学院, 浙江省动物蛋白精深加工重点实验室, 浙江宁波 315211)

(2. 南京财经大学食品科学与工程学院, 江苏南京 210046)

**摘要:** 为了弄清热处理时间对肌原纤维蛋白凝胶的风味吸附能力影响, 本文建立了肌原纤维蛋白与几类常见的肉类挥发性风味化合物(醇类、醛类、酮类、酯类)相互作用体系, 研究了 80 °C 热处理 0~20 min 过程中肌原纤维蛋白凝胶表面疏水性、二级结构、风味吸附能力的变化。结果表明, 肌原纤维蛋白凝胶风味吸附能力的改变主要集中在加热 0~5 min, 在该时段内, 肌原纤维蛋白凝胶对戊醇、己醇、2-丁酮、2-庚酮及乙酸乙酯的吸附能力显著增强 ( $p < 0.05$ ); 其表面疏水性显著升高 ( $p < 0.05$ ),  $\alpha$ -螺旋结构相对含量从 37.48% 降至 33.44% ( $p < 0.05$ ),  $\beta$ -折叠结构由 31.15% 增至 36.26% ( $p < 0.05$ ),  $\beta$ -转角结构由 20.54% 降低至 15.52% ( $p < 0.05$ ), 无规则卷曲 16.12% 降低至 14.78%。热处理导致肌原纤维蛋白凝胶风味吸附能力的改变可能是由于其使得疏水基团暴露、二级结构发生了改变。

**关键词:** 热处理; 疏水性; 二级结构; 吸附; 风味化合物

文章编号: 1673-9078(2016)3-218-224

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.3.035

## The Effects of Heat Treatment Time on the Absorption Capacity of Duck Myofibrillar Protein Gels on Flavor Compounds

ZHOU Chang-yu<sup>1</sup>, JIANG Ya-ting<sup>1</sup>, CAO Jin-xuan<sup>1</sup>, WANG Ying<sup>1</sup>, CHEN Yin-ji<sup>2</sup>, PAN Dao-dong<sup>1</sup>, SUN Yang-ying<sup>1</sup>, OU Chang-rong<sup>1</sup>

(1.School of Marine Sciences, Ningbo University, Key Laboratory of Animal Protein Food Deep Processing Technology of Zhejiang Province, Ningbo 315211, China) (2.College of Food Science and Engineering of NJUE, Nanjing 210046, China)

**Abstract:** In this study, to understand the effect of heat treatment time on the absorption capacity of myofibrillar protein gel on flavor compounds, a myofibrillar protein gel-flavor compound (alcohols, aldehydes, ketones, and esters) interaction system was established, and the changes in the surface hydrophobicity, secondary structure, and absorption capacity of myofibrillar protein gels during the heat treatment at 80°C for 20 min were studied. The results showed that the changes in the absorption capacity of myofibrillar protein gels mainly occurred during the first five minutes of the heat treatment. During this period, the absorption capacities of myofibrillar protein gels on amyl alcohol, hexanol, 2-butanone, 2-heptanone, and ethyl acetate significantly increased ( $P < 0.05$ ) and the surface hydrophobicity of myofibrillar protein gels markedly increased ( $P < 0.05$ ). The relative content of  $\alpha$ -helix structure decreased significantly ( $P < 0.05$ ) from 37.48 to 33.44%. The relative content of  $\beta$ -sheet and random coil structure was significantly reduced from 20.54 and 16.12% to 15.52 and 14.78%, respectively ( $P < 0.05$ ). However, the relative content of  $\beta$ -turn structure increased significantly ( $P < 0.05$ ) from 31.15 to 36.26% and the content of random coil decreased from 16.12% to 14.78%. The changes in the absorption capacity of myofibrillar protein gels are likely due to the changes in the secondary structures and the exposure of hydrophobic groups by heat treatment.

**Key words:** absorption; flavor compounds; heat treatment; hydrophobicity; secondary structure

收稿日期: 2015-05-17

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31471681); 宁波市创新团队(2012B82017); 国家农业科技成果转化资金项目(2013GB2C200191); 现代农业产业技术体系(CARS-43-17)

作者简介: 周昌瑜(1990-), 男, 硕士研究生

通讯作者: 曹锦轩(1982-), 男, 博士, 副研究员

风味是决定消费者选购食品的最重要感官品质之一<sup>[1]</sup>。在肉类食品挥发性风味化合物形成过程中, 蛋白质不仅能降解成游离氨基酸及其他风味前体物质, 还能参与美拉德反应。除此以外, 蛋白质还能通过与不同的风味化合物结合从而改变食品顶空风味化合物的浓度, 其作用机理是蛋白质通过分子键、疏水

相互作用及物理吸附等多种方式对风味化合物起到缓释作用,从而调节蛋白质类食品的风味<sup>[2,3]</sup>。

蛋白质与风味化合物之间的作用取决于蛋白质与风味化合物两者的自身特性以及外界环境的影响。蛋白质的种类、构象、浓度,风味化合物的链长、疏水性及官能团等分子特性对两者间的相互作用都有显著影响。Pérez-Juan 等<sup>[4]</sup>研究了肌肉蛋白的构象及浓度对其与西班牙火腿典型风味成分吸附作用的影响,刘士健<sup>[5]</sup>测定了猪肉盐溶蛋白对醛酮类、酯类及酚类化合物的吸附作用,探究化合物分子量、结构等对其与盐溶蛋白作用的影响。Tan 等<sup>[6]</sup>结合化合物分子特性建立并验证了牛血清蛋白与风味化合物作用模型。此外,作为肉品加工中常用手段,热处理能形成肉类食品特有的风味,过度热处理也会导致风味丧失及蒸煮味的形成。热处理在改善蛋白质吸附风味物质能力中有着重要的作用,目前关于热处理改善蛋白质吸附风味能力的研究主要集中在乳清蛋白、酪蛋白、 $\beta$ -乳球蛋白、大豆蛋白、牛血清蛋白等蛋白上。肌原纤维蛋白作为一种蛋白复合体系,热处理使其形成肌原纤维蛋白凝胶,改变了肌原纤维蛋白的空间构象和表面疏水性,对风味化合物的吸附能力也随之改变。肌原纤维蛋白对风味物质的吸附作用已经被证实,但热处理后形成的肌原纤维蛋白凝胶对风味化合物的吸附能力变化仍不清楚,有待进一步研究。

浙江麻鸭具有品种优良、育肥周期短、蛋白含量丰富的特点,是作为提供肌原纤维蛋白的良好原料。本文以鸭肉肌原纤维蛋白为对象,选择了醇类、醛类、酮类和酯类 17 种肉品典型风味化合物,建立了肌原纤维蛋白-风味化合物作用复合体系,对热处理过程中肌原纤维蛋白表面疏水性和二级结构的变化及风味物质吸附能力的变化进行了研究,旨在弄清热处理后,肌原纤维蛋白凝胶对风味化合物的吸附能力变化。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料及前处理

选用 60 日龄左右的浙江麻鸭,由浙江宁波市江南家禽育种有限责任公司提供,于当地屠宰场宰后,取其鸭胸肉,剔除脂肪及结缔组织后,贮存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 备用。

### 1.2 试剂与仪器

#### 1.2.1 试验试剂

1-戊醇, 1-辛烯-3-醇, 1-己醇, 1-辛醇, 2-甲基丁醛, 戊醛, 己醛, 辛醛, 癸醛, 2-丁酮, 2-庚酮, 2-

辛酮, 2-壬酮, 乙酸乙酯, 丁酸乙酯, 己酸乙酯, 乙酸辛酯, 均为色谱纯,纯度 $>98\%$ ,购置于国药集团。

#### 1.2.2 试验仪器及设备

固相微萃取装置,美国 Supelco 公司; SpectraMax 190 全波长酶标仪,美国 MD 公司; GC-MS QP2010 气相色谱质谱联用仪,日本岛津; inVia-Reflex 拉曼光谱仪,法国 Renishaw 公司

## 1.3 试验方法

### 1.3.1 肌原纤维蛋白提取

肌原纤维蛋白提取参照曹锦轩等<sup>[7]</sup>方法,稍作改动。鸭胸肉去除脂肪和结缔组织,剪碎后放入 5 倍体积的焦磷酸盐饱和缓冲液(100 mM KCl, 2 mM  $\text{MgCl}_2$ , 2 mM EDTA-2Na, 1 mM DTT, 2 mM  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ , 10 mM Maleate; pH 6.8),在冰上以 10000 r/min 匀浆 18 s,每 6 s 间隔一次。匀浆液以 3070 r/min 冷冻离心 15 min 收集沉淀,将沉淀物重新分散在 5 倍体积的肌原纤维蛋白提取液(100 mM KCl, 2 mM  $\text{MgCl}_2$ , 2 mM EDTA-2Na, 1 mM DTT, 10 mM Maleate; pH 6.8)中,再次以 3070 r/min 冷冻离心 10 min 收集沉淀,重复三次。所得的沉淀最后用 15 mM 的 Tris-HCl 缓冲液(pH 7.0)洗涤四次即为纯化的肌原纤维蛋白,置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下保存。蛋白浓度用双缩脲法测定,用牛血清蛋白做蛋白浓度标准曲线。

### 1.3.2 风味化合物储备液制备

风味化合物用适量 1,2-丙二醇溶解,用双蒸水调整溶液中各化合物终浓度为 800 mg/kg,密封后置于 $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。加入到试验样品中的各化合物浓度分别为:1-戊醇, 1-辛烯-3-醇, 1-己醇, 1-辛醇, 2-丁酮, 乙酸乙酯, 乙酸辛酯为 1 mg/kg; 2-庚酮, 2-辛酮, 2-壬酮, 2-甲基丁醛, 戊醛, 己醛, 辛醛, 癸醛, 丁酸乙酯, 己酸乙酯为 0.5 mg/kg。

### 1.3.3 热处理对肌原纤维蛋白风味吸附作用影响

使用 15 mM, pH 7.0, Tris-HCl 缓冲溶液调整肌原纤维蛋白浓度为 4.0 mg/mL,取 5 mL 蛋白质溶液加入 15 mL 顶空样品瓶中,样品在 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下分别进行热处理 0 min、0.5 min、1 min、2 min、5 min、10 min、20 min 后,于冰浴中立即冷却,添加风味化合物储备液调整至设定浓度,密封摇匀,置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下冷藏吸附 12 h。空白组用相同体积的 Tris-HCl 缓冲溶液代替蛋白液,每组分别进行三次重复试验。

### 1.3.4 GC-MS 分析

蛋白质-风味化合物作用分析采用 SPME-GC-MS 方法。将冷藏吸附后样品置于 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下振动平衡 2 h 后,

选用 75  $\mu\text{m}$  CAR/PDMS 萃取头在 25  $^{\circ}\text{C}$  下顶空吸附 30 min 后气相进样。萃取头第一次使用前在 280  $^{\circ}\text{C}$  老化 2 h。

GC-MS 条件: 吸附完成后萃取头在 220  $^{\circ}\text{C}$  下解析 5 min, 不分流进样, 以氦气为载气, 选用 vocol 毛细管柱[60 m  $\times$  0.32 mm (i.d)  $\times$  1.8  $\mu\text{m}$ ]对风味成分进行分离。GC 升温程序: 柱温在 35  $^{\circ}\text{C}$  保持 3 min, 以 3  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升至 40  $^{\circ}\text{C}$ , 再以 5  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升至 210  $^{\circ}\text{C}$ , 保持 15 min。质谱离子源温度为 200  $^{\circ}\text{C}$ , 检测电压为 0.9 kV, 扫描质量范围 45~600。各风味成分的质谱数据与 NIST、WILEY 7.0 进行比对定性, 对鉴定化合物进行峰面积归一化定量分析。

### 1.3.5 肌原纤维蛋白表面疏水性测定

用 20 mM 的磷酸缓冲溶液调整蛋白浓度为 5 mg/ml 后, 用于蛋白表面疏水性测定。对蛋白溶液进行热处理后, 参考 Chelh 等<sup>[8]</sup>方法, 取 1 mL 蛋白悬浮液加入 200  $\mu\text{L}$  1 mg/mL 的溴酚蓝溶液, 涡旋振荡混匀 10 min, 以 4350 r/min 离心 15 min 取上清液于 595 nm 测定吸光值。空白为用 20 mM 的磷酸缓冲溶液代替蛋白溶液。表面疏水性按下述公式计算:

$$\text{BPB bound } (\mu\text{g}) = 200 \mu\text{g} \times (\text{OD}_{\text{control}} - \text{OD}_{\text{sample}}) / \text{OD}_{\text{control}}$$

### 1.3.6 肌原纤维蛋白拉曼光谱分析

用 15 mM, pH 7.0, Tris-HCl 缓冲溶液调整蛋白浓度为 40 mg/mL。将肌原纤维蛋白样品平放于洁净载玻片上, 选用 20 倍长聚焦镜头聚焦测试。具体条件: 532 nm 氩离子激光器, 功率 12 mW, 扫描范围 500~2100  $\text{cm}^{-1}$ , 分辨率 1  $\text{cm}^{-1}$ , 每个样品扫描 30 次。数据处理采用 Labspec 软件对结果谱图进行基线校正及平滑处理, 以苯丙氨酸的单基取代苯基环在 1003  $\text{cm}^{-1}$  伸缩振动强度作为内标进行归一化。蛋白质二级结构 ( $\alpha$ -螺旋、无规则卷曲、 $\beta$ -折叠、 $\beta$ -转角及其他结构) 含量计算参考 Susi 等<sup>[9]</sup>的方法, 利用 PeakFit4.12 软件结合傅里叶去卷积处理进行曲线拟合定量分析蛋白质酰胺 I 带。

### 1.3.7 数据处理与分析

蛋白质-风味化合物作用强弱用溶液中化合物自由比例表示: 化合物自由比例 100% 表示空白溶液中风味化合物顶空浓度,  $A_c$  为空白溶液中风味化合物的峰面积,  $A_s$  为蛋白样品溶液中风味化合物的峰面积。

$$\text{溶液中化合物自由比例} = A_s / A_c * 100\%$$

蛋白风味化合物吸附能力 =  $(A_c - A_s) / A_c = 1 - \text{溶液中化合物自由比例}$

热处理的蛋白质对各风味化合物吸附作用, 蛋白质表面疏水性及二级结构含量变化是否有显著变化,

采用 SAS 8.0 中 one-way ANOVA 的 Duncan's Multiple Range Test 模型进行统计学分析, 差异显著性水平  $p < 0.05$ 。

## 2 结果与讨论

### 2.1 热处理对肌原纤维蛋白表面疏水性的影响

蛋白质的表面疏水性是其与外界极性水环境接触的疏水性基团数量的重要标志, 可以监测到蛋白质在不同理化状态下的轻微变化, 因此成为估计蛋白质变性的参数之一。随着加热的进行, 肌原纤维蛋白的表面疏水性变化如图 2.1 所示: 加热前期 (0~5 min), 蛋白表面疏水性显著升高 ( $p < 0.05$ ), 在加热 10 min 时出现显著下降 ( $p < 0.05$ ), 而与加热 2 min 时差异不显著, 之后趋于稳定。Chelh<sup>[8]</sup>研究显示: 随着加热温度的上升和加热时间的延长, 肌原纤维蛋白的表面疏水性不断升高, Yongsawatdigul 等<sup>[10]</sup>发现热处理对肌动球蛋白的表面疏水性有类似作用。本实验和以上研究均说明热处理可以使蛋白结构发生一定伸展, 暴露于蛋白质表面的疏水性基团增多。

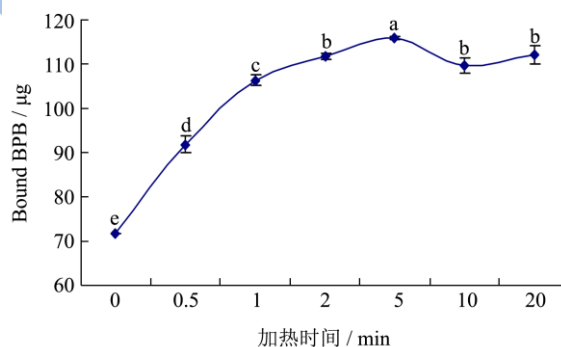


图 1 肌原纤维蛋白热处理过程中表面疏水性变化

Fig.1 Changes in the surface hydrophobicity of myofibrillar proteins during heat treatment

注: 不同字母表示有显著性差异 ( $p < 0.05$ )。

### 2.2 热处理对肌原纤维蛋白二级结构的影响

酰胺 I 带 (1600~1700  $\text{cm}^{-1}$ ) 是反映蛋白质二级结构的主要谱带, 本实验中, 对热处理过程中肌原纤维蛋白的酰胺 I 带进行傅里叶去卷积处理和曲线拟合, 得到图 2, 蛋白质酰胺 I 带被分成 10~12 个小峰, 每个小峰均代表不同的二级结构。张玉林<sup>[11]</sup>等根据现有文献对拉曼光谱酰胺 I 带中蛋白质二级结构的特征峰进行归纳:  $\alpha$ -螺旋结构特征峰出现在 1650~1665  $\text{cm}^{-1}$  范围内;  $\beta$ -折叠结构特征峰主要出现在 1670~1680



cm<sup>-1</sup> 和 1620~1632 cm<sup>-1</sup>; β-转角结构的特征峰出现在 1635~1639 cm<sup>-1</sup> 和 1680~1690 cm<sup>-1</sup>, 无规则卷曲结构的特征峰主要在 1640~1645 cm<sup>-1</sup>, 1666~1670 cm<sup>-1</sup>, 其他结构包括氨基酸侧链特征峰等分布在 1604~1607 cm<sup>-1</sup> 和 1609~1619 cm<sup>-1</sup> 范围。

对拟合后得到的谱图进行定量分析, 得到肌原纤维蛋白热处理过程中二级结构相对含量的变化 (表 1)。加热 0~1 min 内, α-螺旋结构相对含量在 0.5 min 时出现显著下降 ( $p < 0.05$ ), 1 min 后从 37.48% 降低至 31.66%, 与此同时, 蛋白质 β-转角和无规则卷曲结构出现显著增加 ( $p < 0.05$ ), β-折叠结构相对含量无显著变化 ( $p > 0.05$ ), β-转角结构则从 15.85% 增加至 20.54%, 无规则卷曲结构从 15.52% 增至 16.76%; 加热 2 min 时, α-螺旋结构出现一定程度增加, 但增加幅度低于下降幅度, 之后无显著变化, β-折叠结构出现显著增加 ( $p < 0.05$ ), 从 1 min 的 31.67% 增至 5 min 时的 36.26%, 之后无显著变化, 相反, β-转角和无规则卷曲结构出现显著下降 ( $p < 0.05$ ), 其中 β-转角结构从 1 min 时的 20.54% 降低至 15.52%, 无规则卷曲结构从 16.12% 降至 14.39%, 之后无显著差异。Sun 等在研究广式香肠加工中肌原纤维蛋白结构变化指出, 在香肠加工初期时 α-螺旋结构是肌原纤维蛋白的主要二级结构, 随着香肠进入后续加热干燥阶段 α-螺旋结构的含量逐渐降低; 香肠在加工六小时后 β-折叠结构的含量逐渐增加, 成为广式香肠肌原纤维蛋白中主要二级结构。Bertram 等研究表明, 热处理改变了肌原纤维蛋白二级结构, 增加了 β-折叠结构的含量。Beattie 等研究烤牛肉的品质时指出, 肌原纤维蛋白 α-螺旋结

构转变为 β-折叠结构增加了牛肉的嫩度。我们的试验结果与 Sun、Bertram 等研究具有相似性, 说明热处理导致, 肌原纤维蛋白凝胶化和二级结构的改变。实验结果还显示这些二级结构含量的变化集中发生在加热 0~5min 内。

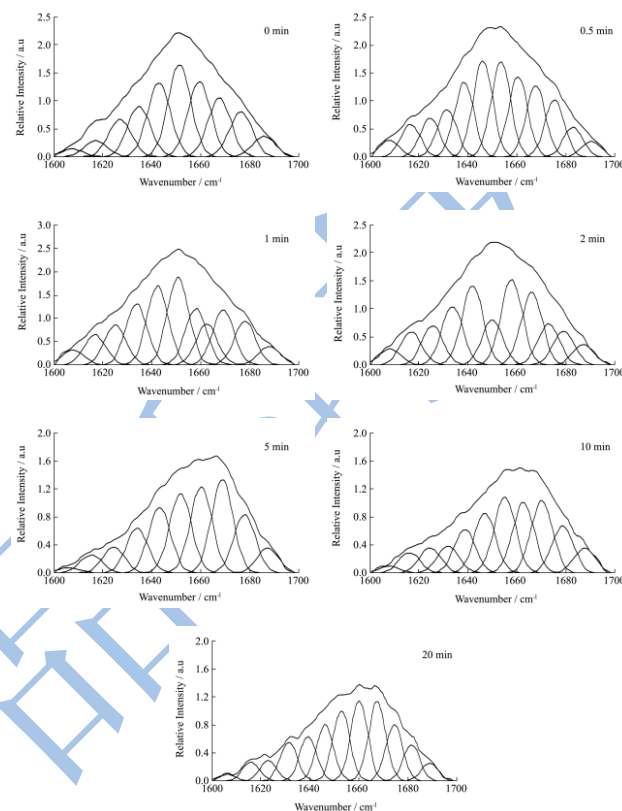


图 2 肌原纤维蛋白热处理过程中酰胺 I 带去卷积变化图  
Fig.2 Deconvoluted and curve-fitted Raman amide I bands of myofibrillar proteins during heat treatment

表 1 肌原纤维蛋白热处理过程中二级结构相对含量变化

Table 1 Changes in the relative secondary structure content changes of myofibrillar proteins during heat treatment

二级结构	相对含量/%						
结构	0/min	0.5/min	1/min	2/min	5/min	10/min	20/min
α-螺旋	37.48±0.66 <sup>a</sup>	32.28±0.88 <sup>cd</sup>	31.66±0.72 <sup>d</sup>	33.36±0.46 <sup>bc</sup>	33.44±0.29 <sup>bc</sup>	33.29±1.00 <sup>bc</sup>	33.71±0.84 <sup>b</sup>
β-折叠	31.15±0.10 <sup>e</sup>	31.88±0.78 <sup>c</sup>	31.67±0.50 <sup>c</sup>	33.34±0.25 <sup>b</sup>	36.26±0.86 <sup>a</sup>	36.19±0.60 <sup>a</sup>	35.35±1.32 <sup>a</sup>
β-转角	15.85±0.20 <sup>cd</sup>	19.08±0.36 <sup>b</sup>	20.54±0.47 <sup>a</sup>	18.91±0.48 <sup>b</sup>	15.52±1.01 <sup>d</sup>	15.16±0.10 <sup>d</sup>	16.58±0.46 <sup>c</sup>
无规则卷曲	15.52±0.77 <sup>bc</sup>	16.76±0.27 <sup>a</sup>	16.12±0.25 <sup>ab</sup>	14.39±0.54 <sup>d</sup>	14.78±0.87 <sup>cd</sup>	15.38±0.48 <sup>bcd</sup>	14.36±0.72 <sup>d</sup>

注: 所有数据表示为平均值±标准差, 同行中标注不同字母具有显著性差异 ( $p < 0.05$ )。

### 2.3 热处理对蛋白质风味吸附作用影响

如图 3a、b 所示, 热处理对肌原纤维蛋白对不同风味化合物的吸附作用具有不同影响, 这种影响集中出现在进行热处理的前 5 min, 之后蛋白对风味化合物的作用都处于相对稳定状态。如图 3a, 对醇类化合物, 热处理前, 戊醇和己醇的自由比例大于 100%, 这说明肌原纤维蛋白释放了这两种醇类化合物; 热处

理后, 肌原纤维蛋白凝胶对原本无吸附作用的戊醇和己醇表现出一定的吸附作用, 加热 0.5~1 min 后两者的自由比例下降了 10% 左右; 反之, 随着加热的进行蛋白对 1-辛烯-3-醇和辛醇的吸附能力显著降低 ( $p < 0.05$ ), 加热 1 min 后, 二者的自由比例从 75% 上升至 98%, 在 2 min 和 10 min 时分别增至 100%, 肌原纤维蛋白凝胶的吸附能力趋近于零。Tan 等研究牛血清蛋白对醇类化合物的吸附时发现, 牛血清蛋白对

醇类化合物无明显的吸附作用。Zhou 等研究大豆蛋白对醇类化合物的吸附作用具有相似性, 并指出, 这种微弱的吸附作用很可能是由于醇类易溶于水, 蛋白与水竞争和醇类化合物的结合位点。我们的试验结果显示, 肌原纤维蛋白凝胶对醇类化合物仅有微弱的吸附, 这很可能是由于醇类化合物易溶于水, 水与肌原纤维蛋白凝胶共同竞争和醇类化合物的结合位点。

如图 3b, 热处理后, 醛类化合物自由比例上升, 肌原纤维蛋白凝胶对醛类的吸附作用总体呈现降低趋势。热处理对蛋白质的 2-甲基丁醛吸附能力无显著影响 ( $p < 0.05$ ), 仅在加热 0.5~1 min 时略有降低; 随着热处理的进行, 肌原纤维蛋白凝胶对戊醛、己醛、辛醛及癸醛的吸附能力显著降低。加热 0.5~1 min 时, 戊醛和己醛的自由比例大幅度上升, 蛋白质吸附能力显著降低 ( $p < 0.05$ ), 之后处于稳定状态; 辛醛和癸醛的自由比例在加热 0.5~5 min 持续上升, 蛋白质对两者的吸附能力显著下降 ( $p < 0.05$ ), 在 5~20 min 保持稳定。Reiners 等研究  $\beta$ -乳球蛋白和醛类化合物作用时指出,  $\beta$ -乳球蛋白对醛类化合物有明显的吸附作用。Shimizu 等指出  $\beta$ -乳球蛋白对醛类化合物的吸附作用与  $\beta$ -乳球蛋白的结构变化密切相关。Tan 等指出蛋白对醛类化合物的吸附受到蛋白结构和醛的氢原子数、沸点的影响。我们的试验结果显示, 热处理显著影响肌原纤维蛋白对醛类化合物的吸附。热处理抑制了肌原纤维蛋白对醛类化合物的吸附, 这可能是由于热处理引起肌原纤维蛋白结构的改变。

如图 4a 为热处理对肌原纤维蛋白与酮类吸附作用的影响。与戊醇和己醇相似, 热处理前, 2-丁酮自由比例大于 100%, 这说明肌原纤维蛋白释放了 2-丁酮; 热处理后, 蛋白凝胶对 2-丁酮出现明显的吸附作用, 随着热处理时间延长, 吸附作用不断增强, 5~20 min 时作用大小稳定在 20% 左右; 加热 0.5~1 min 时, 蛋白对 2-庚酮的吸附作用有轻微减弱, 2~20 min 时作用逐渐增强, 但这种影响并不显著 ( $p > 0.05$ ); 2-辛酮和 2-壬酮的自由比例在加热 0.5 min 和 1 min 时显著升高 ( $p < 0.05$ ), 说明蛋白对二者的吸附作用显著降低, 之后维持稳定状态。Gianelli 等研究发现, 多肽对 2-戊酮没有吸附作用。Pérez-Juan 等研究肌动球蛋白和 G-肌动蛋白对 2-戊酮的吸附时, 发现这两种蛋白对 2-戊酮仅有微弱的吸附作用, 作者还发现冷冻变性后的肌动球蛋白对 2-戊酮的吸附作用增强。Tan 等研究牛血清蛋白对酮类化合物的吸附作用时发现, 牛血清蛋白对酮类化合物的吸附作用弱于对醛类化合物的吸附, 他们还指出, 蛋白对酮类化合物的吸附受到碳原子数、链长及分支程度的影响。我们的试验结果显示,

热处理肌原纤维蛋白后的肌原纤维蛋白凝胶对 2-丁酮有明显的吸附作用, 而对 2-辛酮和 2-壬酮吸附作用显著降低, 这种吸附能力的差异很可能是由于酮类碳原子数不同。

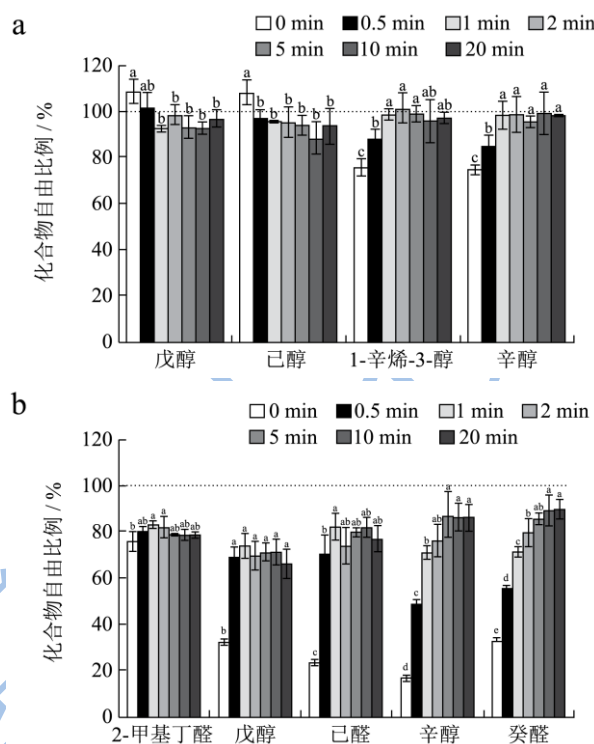


图 3 a、3b 热处理后肌原纤维蛋白凝胶分别对醇类、醛类化合物吸附作用

Fig.3 a and 3b Changes in the absorption capacity of myofibrillar protein gels on alcohols and aldehydes after heat treatment

注: 在同一化合物中, 不同字母表示有显著性差异 ( $p < 0.05$ )。

如图 4b, 随着加热进行, 肌原纤维蛋白对酯类化合物的吸附作用发生不同程度的变化。蛋白对乙酸乙酯的吸附作用不断增强, 在 0.5 min 时显著增强 ( $p < 0.05$ ); 蛋白对丁酸乙酯的吸附作用在加热 1 min 时显著降低 ( $p < 0.05$ ), 之后保持稳定; 蛋白对己酸乙酯和乙酸辛酯的吸附作用随加热的进行不断减弱, 其中对己酸乙酯的作用大小在 1 min, 2 min 时显著降低 ( $p < 0.05$ ), 对乙酸辛酯的作用在 0.5 min, 1 min, 2 min, 10 min 和 20 min 时均出现显著降低 ( $p < 0.05$ )。试验结果表明, 肌原纤维蛋白凝胶对酯类化合物用显著的吸附作用, 但其吸附能力受到酯类化合物的种类影响。Tan 等利用牛血清蛋白对酯类化合物的吸附时发现, 随着酯类化合物的碳原子数增加, 牛血清蛋白对酯类化合物的吸附能力增强。Muresan 等研究  $\beta$ -乳球蛋白对酯类化合物的吸附时指出, 蛋白对酯类化合物的吸附能力的不同主要是不同碳原子数的酯具有不

同的疏水性,而蛋白对酯类化合物的吸附,就是依靠这种疏水性被蛋白的配位体吸附。我们的研究发现,肌原纤维蛋白凝胶对己酸乙酯和乙酸辛酯的吸附能力强于乙酸乙酯和丁酸乙酯,这种吸附能力的增强很可能是由于己酸乙酯和乙酸辛酯的碳原子数大于乙酸乙酯和丁酸乙酯,表现出更强的疏水性。

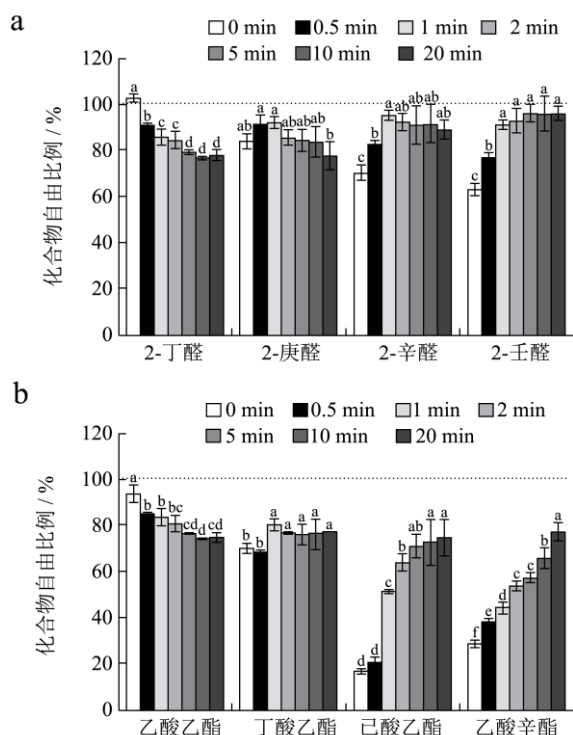


图4 热处理后肌原纤维蛋白凝胶分别对酮类、酯类化合物吸附作用

Fig.4 a and 4b Changes in the absorption capacity of myofibrillar protein gels on ketones and esters after heat treatment

注:在同一化合物中,不同字母表示有显著性差异( $p < 0.05$ )。

大量研究报道,蛋白质构象的变化会导致有效作用位点的改变从而影响其与挥发性化合物的作用<sup>[12, 13]</sup>。热处理导致蛋白质变性包括结构的伸展以及再聚合,在伸展过程中,埋藏于折叠结构内部的作用位点或疏水区域可能暴露出来,与风味化合物发生共价结合或疏水相互作用导致蛋白风味吸附能力增强<sup>[13]</sup>,同时,疏水性残基的暴露也可能导致蛋白质与蛋白质之间相互作用取代其与风味化合物的作用;随后的再聚合过程则可能会导致一些作用位点隐藏或改变,风味化合物被再次释放<sup>[14]</sup>。本研究显示,鸭肉肌原纤维蛋白在热处理过程中,蛋白质凝胶的表面疏水性和二级结构不断发生变化,这些变化集中发生在热处理的5 min内,这与肌原纤维蛋白对各类化合物吸附作用受热处理影响发生变化时间一致,说明蛋白质结构上的

变化对其与风味化合物相互作用有一定影响。

### 3 结论

热处理增强了肌原纤维蛋白的表面疏水性、改变了蛋白的二级结构。肌原纤维蛋白凝胶与风味化合物的作用受到化合物种类、链长及分子量等因素影响。肌原纤维蛋白凝胶对四类化合物的吸附能力依次为:酯类>醛类>酮类>醇类。对相同种类的不同化合物,其吸附能力也存在差异:肌原纤维蛋白凝胶对1-辛烯-3-醇和辛醇有明显的吸附作用,对戊醇和己醇无吸附作用,很可能是醇易溶于水,水和肌原纤维蛋白凝胶共同竞争与醇类化合物的作用;蛋白对戊醛、己醛、辛醛的吸附作用高于2-甲基丁醛和癸醛;蛋白对酮类化合物的作用随碳链长度增加逐渐增强;蛋白对分子量较大的己酸乙酯和乙酸辛酯吸附作用高于乙酸乙酯和丁酸乙酯。热处理后,肌原纤维蛋白凝胶对戊醇、己醇、2-丁酮、2-庚酮及乙酸乙酯的吸附能力增强,可能是因为蛋白二级结构的改变,蛋白凝胶暴露出新的作用位点和区域。

### 参考文献

- [1] 曹锦轩,吕彤,王颖,等.脂肪相关酶类在干腌肉制品风味形成过程中的作用[J].现代食品科技,2015,31(1):254-258  
CAO Jin-xuan, LV Tong, WANG Ying, et al. The role of fat related enzymes in the process of dry-cured meat products flavor formation processing [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 31(1): 254-258
- [2] Jeleń HH, Majcher M, Dziadas M. Microextraction techniques in the analysis of food flavor compounds: A review [J]. Analytica Chimica Acta, 2012, 738: 13-26
- [3] Shi X, Li J, Wang S, Zhang L, et al. Flavor characteristic analysis of soymilk prepared by different soybean cultivars and establishment of evaluation method of soybean cultivars suitable for soymilk processing [J]. Food Chemistry, 2015, 185: 422-429
- [4] Pérez-Juan M, Flores M, Toldrá F. Binding of aroma compounds by isolated myofibrillar proteins: effect of protein concentration and conformation [J]. Food Chemistry, 2007, 105(3): 932-939
- [5] 刘士健.壳聚糖与盐溶蛋白对风味化合物吸附能力及其凝胶特性研究[D].重庆:西南大学,2008  
LIU Shi-jian. Effects of chitosan and salt-soluble meat protein on binding ability of volatile compounds and gel property [D]. Chongqing: Southwest University, 2008
- [6] Tan Y, Siebert K. Modeling bovine serum albumin binding of

- flavor compounds (alcohols, aldehydes, esters, and ketones) as a function of molecular properties [J]. *Journal of Food Science*, 2008, 73(1): S56-S63
- [7] 曹锦轩,张玉林,韩敏义,等.腊肉加工过程中肌原纤维蛋白结构的变化[J].*中国农业科学*,2013,46(18):3871-3877  
CAO Jin-xuan, ZHANG Yu-lin, HAN Min-yi, *et al.* Changes of the construction of myofibrillar proteins in Chinese traditional bacon during processing [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2013, 46(18): 3871-3877
- [8] Chelh I, Gatellier P, Sant-éLhoutellier V. Technical note: A simplified procedure for myofibril hydrophobicity determination [J]. *Meat Science*, 2006, 74(4): 681-3
- [9] Susi H, Byler DM. Fourier deconvolution of the amide I Raman band of proteins as related to conformation [J]. *Applied Spectroscopy*, 1988, 42(5): 819-26
- [10] Yongsawatdigul J, Park J. Thermal denaturation and aggregation of threadfin bream actomyosin [J]. *Food Chemistry*, 2003, 83(3): 409-16
- [11] 张玉林,曹锦轩,潘道东,等.成熟过程中活性氧簇(ROS)对肌原纤维蛋白结构的影响[J].*现代食品科技*,2014,30(9):26-32  
ZHANG Yu-lin, CAO Jin-xuan, PAN Dao-dong, *et al.* The effect on structural changes of myofibrillar protein caused by reactive oxygen species in meat ageing process [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2014, 30(9): 26-32
- [12] Zhou F, Zhao M, Su G, *et al.* Binding of aroma compounds with myofibrillar proteins modified by a hydroxyl-radical-induced oxidative system [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(39): 9544-9552
- [13] Pennings B, Boirie Y, Senden JM, *et al.* Whey protein stimulates postprandial muscle protein accretion more effectively than do casein and casein hydrolysate in older men [J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2011, 93(5): 997-1005
- [14] White S, Fox K, Jervis S, Drake M. Influence of heating and acidification on the flavor of whey protein isolate [J]. *Journal of Dairy Science*, 2013, 96(3): 1366-1379