

# SDS-PAGE 电泳法对微波加热猪肉终点温度的鉴定及其品质特性的研究

韩忠<sup>1</sup>, 罗嫚<sup>1</sup>, 唐相伟<sup>2</sup>, 张天义<sup>1</sup>, 张斌<sup>1</sup>, 李燕<sup>2</sup>, 曾新安<sup>1</sup>, 高文宏<sup>1</sup>, 孙大文<sup>1</sup>

(1. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640) (2. 广东美的厨房电器制造有限公司, 广东佛山 528311)

**摘要:** 在食品烹饪的应用方面, 微波加热技术具有节约时间、无异味和营养成分保留率高等特点, 是一种理想的烹饪技术。本研究以猪背最长肌切成 5 cm×5 cm×1.5 cm 的方块为材料, 用聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE 电泳) 法对微波和水浴加热的样品进行蛋白变性终点温度鉴定, 并对加热至终点温度之后的样品从蒸煮损失、色差、持水能力、剪切力及加热至终点所耗电量进行对比分析及方差分析和显著性分析。结果表明, 对于变频微波炉, 900 W 与 700 W 加热均需 70 s, 500 W 加热需 120 s, 而对于非变频微波炉, 100% 功率加热需 80 s, 80% 功率加热需 100 s, 50% 功率加热需 140 s。在此基础上, 对加热至终点温度之后的样品品质及加热至终点所耗电量进行对比分析, 得出 700 W 功率加热的样品质量最佳, 消耗电能最少。

**关键词:** SDS-PAGE 电泳; 微波加热; 终点温度; 猪肉

文章编号: 1673-9078(2014)6-181-185

## Identification of the Thermal Denature of Pork Protein by SDS-PAGE and the Qualities of the Pork

HAN Zhong<sup>1</sup>, LUO Man<sup>1</sup>, TANG Xiang-wei<sup>2</sup>, ZHANG Tian-yi<sup>1</sup>, ZHANG Bin<sup>1</sup>, LI Yan<sup>2</sup>, ZENG Xin-an<sup>1</sup>, GAO Wen-hong<sup>1</sup>, SUN Da-wen<sup>1</sup>

(1. School of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. Guangdong Midea Kitchen Appliances Manufacturing Co., Ltd, Foshan 528311, China)

**Abstract:** The application of microwave heating in food cooking can not only save time but also make food with more nutrition and less off-flavors, which is an ideal method for cooking. The longest back muscle of pig was cut into 5 cm × 5 cm × 1.5 cm cube, and three pieces of pork were studied each time, then the SDS-PAGE method was applied in appraising protein thermal denature. Meanwhile, cooking loss, chromatic aberration, water-holding capacity, shearing force and power consumption during heating of the processed samples were analyzed. Variance and significant analysis of the results were also conducted. The results showed that for the variable frequency microwave oven, the heating time of the pork under the power of 900 W and 700 W were both 70 s, and the heating time for the power of 500 W was 120 s. For the non variable frequency microwave oven, heating time was 80 s, 100 s, 140s for the power of 100%, 80%, and 50%, respectively. Finally, it was concluded that the quality of the samples heated by the power of 700 W was best, and the consumption of electricity was the lowest.

**Key words:** poly acrylamide gelelectrophoresis; microwave heating; end-point temperature; pork

微波加热的原理是利用极性分子在交变电场中反复交变极化摩擦, 产生大量的摩擦热, 从而完成电磁能向热能的转换。微波具有良好的穿透能力和吸收能力, 它可以穿过陶瓷器皿、玻璃制品、耐热塑料器皿等安全容器, 被物料吸收, 具有速度快、能效高、无

收稿日期: 2014-2-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31301559), 中央高校科研业务项目 (2013ZM0025), 华工大-美的微波食品联合研究项目

作者简介: 韩忠 (1981-), 男, 博士, 助理研究员, 主要从事食品绿色加工研究

通讯作者: 孙大文 (1960-), 男, 博士, 教授, 主要从事食品绿色加工研究

污染、易于控制等优点。随着人们生活水平的不断提高, 微波炉逐渐地走进了千家万户, 人们对微波食品的要求也越来越高, 各大企业也正在开发更智能的微波炉和更营养的微波食品来满足人们的要求。

猪肉是我国居民食用最多的肉类, 新鲜猪瘦肉的蛋白质含量约为 20%, 高于大部分谷物食物蛋白质含量, 猪肌肉蛋白质中含人体所必需的 8 种氨基酸<sup>[1-3]</sup>, 因此将猪肉作为微波加热的研究对象, 为以后微波食品的开发提供基础数据和理论依据。

加热时间与加热方式不同, 肉制品发生降解与变性的程度也不相同, 从而影响了肉品的持水能力、嫩

度、质构特性<sup>[4]</sup>。肉制品热处理必须达到一定的加热温度并在该温度维持一定的时间才能达到对病原微生物的杀灭, 确保其安全性。较低的热加工温度可使肉制品得到较好的口感和较少的营养损失, 但可能无法彻底杀灭肉制品中的病原菌和毒素, 因此需要建立简便有效的终点温度快速检测方法, 既达到卫生要求, 又顾及生产者利益, 并获得生产过程中的最佳工艺点。日本官方承认的蛋白质终点温度检测方法是聚丙烯酰胺凝胶电泳法, 而我国检验检疫部门尚未开展此工作。SDS-PAGE 凝胶电泳法是鉴定蛋白质加热终点温度的传统方法<sup>[5-6]</sup>, 其优点为灵敏度高、重复性好、易于操作且不需要精密仪器, 可用于生产实践中。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

猪背最长肌 (购于广州市五山世纪联华超市)。

### 1.2 主要仪器设备

美的变频微波炉 (EV923KF8-NS), 美的非变频微波炉 (EG025LC-NSH), 均由广东美的厨房电器制造有限公司提供; 色彩色差计, CR-400, 柯尼卡美能达公司; 高速冷冻离心机, JW-3021HR, 安徽嘉文仪器装备有限公司; 质构仪, instron5944, 英斯特朗公司; 双垂直电泳仪, DYCZ-24DN, 北京市六一仪器厂; 电能无线计量插座, JNX-2000, 深圳市景信达实业有限公司。

### 1.3 样品前处理

表 1 微波加热的功率与时间

Table 1 Different powers and time of microwave heating

微波功率	非变频微波炉, 型号 EG025LC-NSH			变频微波炉, 型号 EV923KF8NS		
	100%	80%	50%	900 W	700 W	500 W
处理时间/S	50	70	120	40	50	90
	60	80	130	50	60	100
	70	90	140	60	70	110
	80	100	150	70	80	120

将猪背最长肌切成 5 cm×5 cm×1.5 cm 的方块, 分别进行沸水浴与微波加热处理。沸水浴加热时间分别为 2 min~6 min。微波加热条件如表 1 所示。

微波加热时每次处理 3 块样品, 由左至右依次放置在微波炉炉腔的中间位置。

### 1.4 蒸煮损失的测定

将预处理样品称重, 记为  $W_1$ , 沸水浴与微波加热处理后称重, 记为  $W_2$ 。由蒸煮损失及产品得率定义可得:

$$\text{蒸煮损失}/\%=(W_1-W_2)/W_1\times 100\%$$

$$\text{产品得率}/\%=1-\text{蒸煮损失}/\%$$

### 1.5 色差的测定

使用柯尼卡美能达色彩色差计对样品进行色差测定, 三次测定后求平均值。

### 1.6 剪切力的测定

参照农业部行业标准-NY/T1180-2006《肉嫩度的测定 剪切力测定法》进行, 猪肉加热后, 顺肌肉纤维方向将肉切为截面积 1 cm×1 cm、长度大于 2 cm 的长方体。

### 1.7 持水能力的测定

参照 Graham 与 Bouton 的方法<sup>[7-8]</sup>并略做修改, 将样品切成 1 cm×1 cm×1 cm 的方块, 称其质量  $W_3$ , 将样品用滤纸包裹后放入底部塞入少量棉花的离心管内, 在 8000 g 的离心力作用下离心 5 min, 称其质量  $W_4$ 。则由肉制品的持水能力的定义有:

$$\text{肉制品持水能力}=(W_3-W_4)/W_3\times 100\%$$

### 1.8 SDS-PAGE 电泳法鉴定猪肉加热的终点

#### 温度

参照方绍庆<sup>[9]</sup>等提取猪肉蛋白质的方法, 将 2 g 加热处理后的样品于研钵中, 加入 20 mL 0.5 mol/L (Ph 7.8) 的 Tris-HCl 缓冲液研磨成稀糊状, 静置后取 1 mL 上清液, 8000 r/min 离心 10 min, 取上清 100  $\mu$ L 与 25  $\mu$ L 的上样缓冲液混匀后进样 10  $\mu$ L。

浓缩胶浓度为 4%, 分离胶浓度为 12%。

### 1.9 耗电量的测定

使用 JNX-2000 电能无线计量插座测定微波加热所消耗的电量。

### 1.10 数据分析

各组实验数据均重复 3 次, 用 SPSS 10.0 进行统计分析<sup>[10]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 SDS-PAGE 电泳法鉴定蛋白质的终点温

度

样品沸水浴 2 min~6 min 后及低分子量标准蛋白（从下至上依次为 14.4、20.1、31、43、66.2、97.4 KDa，以下谱图类似）的 SDS-PAGE 图谱如图 1 所示。

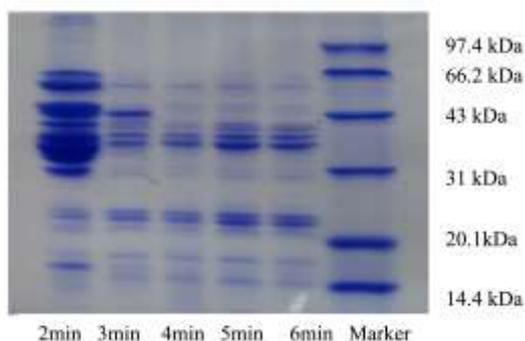


图 1 沸水浴加热 2~6 min 时的电泳图谱

Fig.1 The electrophoretogram of boiling water heating detected by SDS-PAGE

由图 1 可知，当沸水浴 3 min 以后猪肉蛋白的 SDS-PAGE 电泳图谱不再变化，说明此时已达到猪肉蛋白质的终点温度。分子量为 34 kDa 与 37 kDa 的肌联蛋白为热稳定蛋白<sup>[6]</sup>，另外分子量在 20.1~31 kDa 之间也有两种热稳定性蛋白，这些热稳定性蛋白在猪肉加热至终点温度后仍然存在。

样品经不同微波处理后及低分子量标准蛋白的 SDS-PAGE 图谱如图 2 所示。

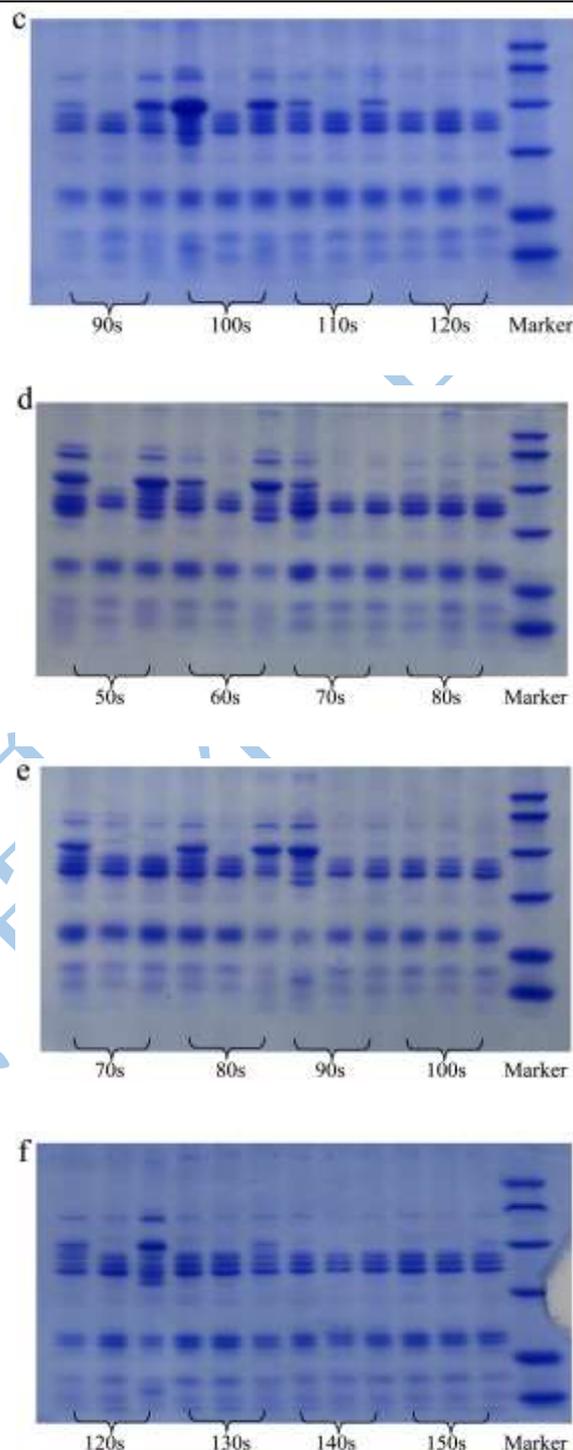
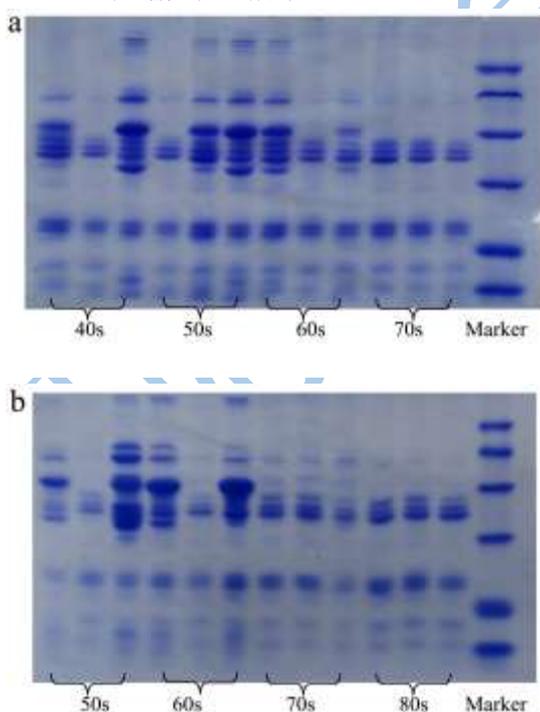


图 2 不同微波加热猪肉的电泳图谱

Fig.2 The electrophoretograms of pork samples by different microwave heating

注：a：900 W 功率加热 40 s 至 70 s 时的电泳图谱，b：700 W 功率加热 50 s 至 80 s 时的电泳图谱，c：500 W 功率加热 90 s 至 120 s 时的电泳图谱，d：100%功率加热 50 s 至 80 s 时的电泳图谱，e：80%功率加热 70 s 至 100 s 时的电泳图谱，

f: 50% 功率加热 120s 至 150s 时的电泳图谱。

随着微波加热时间的延长,猪肉可溶性蛋白中的热不稳定化学键开始断裂,蛋白质变性。由图 2 可得以下结论:无论是变频微波炉的连续加热还是非变频微波炉的间歇式加热,每一组同时处理的三个样品中间的样品最先达到蛋白质的变性温度,左边的其次,右边的样品达到蛋白质变性温度最迟;分子量为 34 kDa 与 37 kDa 的肌联蛋白为热稳定蛋白,在实验条件下持续加热这两种蛋白质不变性,43 kDa 的 G-肌动蛋白的热稳定性次之,是变性蛋白质中热稳定性最强的蛋白之一;不同功率加热猪肉至蛋白质的变性温度所需时间不同,对于变频微波炉而言,900 W 与 700 W 加热均需 70s,500 W 加热需要 120s,对于非变频品微波炉而言 100% 功率加热需要 80 s,80% 功率加热需要 100 s,50% 功率加热需要 140 s。

由图 1 与图 2 可知,微波加热与传统的水浴加热相比,猪肉蛋白达到变性温度时所含的热稳定性蛋白种类相同含量相同,微波加热并没有使原有的蛋白质结构发生变化。

## 2.2 蒸煮损失和持水能力

如图 3 显示了不同加热方式使猪肉蛋白达到变性温度时的蒸煮损失与持水能力的变化。

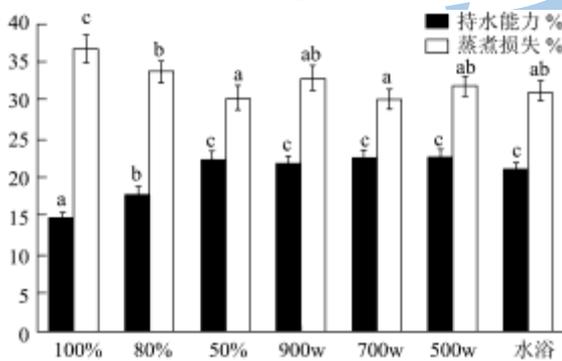


图 3 不同加热方式对猪肉的蒸煮损失和持水能力的影响  
Fig.3 Influences of different heating methods on cooking loss and water holding capacity

注:图3~5中相同字母表示0.05水平上差异未达到显著性水平,不同字母表示0.05水平上差异达到显著性水平。

蒸煮损失直接关系到产品得率,蒸煮损失越多,则产品得率越低,损失也就越大;而肌肉的持水率是影响肉制品的颜色、风味、嫩度等的重要指标,肉制品的持水能力越高颜色越好,风味越佳,嫩度越好。另一方面蒸煮损失越多,相对来说持水能力就会越小,人们总是希望得到蒸煮损失少持水能力高的肉制品。从蒸煮损失与持水能力两方面来考虑,由图 3 可知,非变频微波炉(50%)和变频微波炉(700 W)加热

方式要优于传统的水浴加热。方差分析结果表明,对于猪肉的持水力,非变频微波炉(100%和80%)与其他加热方式比较均有显著性差异;对于猪肉的蒸煮损失率,非变频微波炉(50%)和变频微波炉(700 W)的加热方式损失最小,其次是变频微波炉(500 W)与水浴处理组,这四个处理组与其它各组之间差异显著,但它们之间差异不显著。

## 2.3 色差

为了将肉制品的亮度值、红色值与黄色值置于同一图表中,特将亮度值缩小 10 倍后如下图 4 所示。

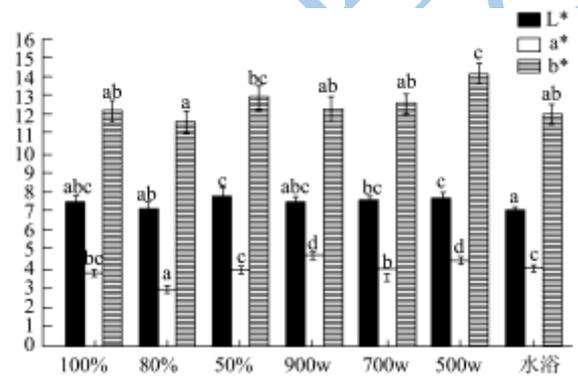


图 4 不同加热方式对猪肉的色差的影响

Fig.4 Influences of different heating methods on achromatic aberration

肉制品的色泽主要取决于肉制品中肌红蛋白的含量与存在状态,L\*、b\*越大,a\*越小则肉制品的色泽越好,越易于被人们接受。由图 4 可知,不同加热方式对肉制品的色泽影响不大,非变频微波炉(50%)和变频微波炉(700 W)加热略优于水浴加热。方差分析结果表明,对于猪肉的亮度值(L\*),非变频微波炉(50%)和变频微波炉(500 W)处理组显著高于其他加热方式组,表现为亮度最佳;对于猪肉的红色值(a\*)不同处理条件之间差异显著,非变频微波炉(80%)处理条件表现出最小红色值;对于猪肉的黄色值(b\*),除了非变频微波炉(50%)外,500 W 处理组与其他各组之间差异显著,即非变频微波炉(50%)和变频微波炉(500 W)处理组表现较鲜艳的黄色值。

## 2.4 剪切力

加热至终点温度时不同加热方式对剪切力的影响如图 5 所示。

剪切力的大小直接与人的口感有关,影响到人们对肉制品最直观的感觉印象。剪切力可以直接的反应肉制品的柔软性、易咀嚼性等,剪切力越小咀嚼性越好。由图 5 可知,除非变频微波炉(100%)外,其它

加热方式均优于水浴加热,这可能是由于水浴加热时自外而内的加热方式,当处于中心位置的蛋白质变形时外部的蛋白质已处于过热状态,肌肉收缩更加紧密,故而剪切力较大,而微波加热是里外同时加热,剪切力较小。方差分析结果表明,变频微波炉(700 W)处理组表现出最小值,与其它各组差异显著,其次是变频微波炉(500 W)与非变频微波炉(80%)处理组。

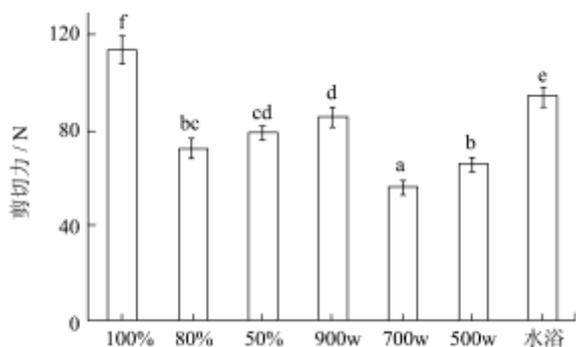


图5 不同加热方式对猪肉的剪切力的影响

Fig.5 Influences of different heating methods on shear force

### 2.5 耗电量

不同微波加热方式加热至终点温度时所耗电量的不同如表2所示。

表2 加热至终点温度时不同微波加热方式所耗的电量

Table 2 The consumption of electricity by different heating methods

微波加热功率	非变频微波炉 (EG025LC-NSH)		变频微波炉 (EV923KF8NS)			
	100%	80%	50%	900W	700W	500W
加热至变性温度时所 需时间/s	80	100	140	70	70	120
加热至变性温度时 所需电量( $\times 10^4$ kW.h)	305	293	287	249	212	299

由表2可知,不同微波加热方式加热至终点温度时所耗电量的多少依次是:700 W<900 W<50%<80%<500 W<100%。对于这几种加热方式而言,变频微波炉(700 W)微波功率加热耗电最少,最节能。

### 3 结论

3.1 采用 SDS-PAGE 电泳法对微波及水浴加热的样品进行终点温度鉴定,得到不同功率加热猪肉至蛋白质的变性温度所需时间不同。对于变频微波炉而言,900 W 与 700 W 加热均需 70 s,500 W 加热需要 120 s,对于非变频品微波炉而言,功率 100%、80%和 50%加热至猪肉变性温度分别需要 80 s、100 s 和 140 s。

在此基础上对加热至终点温度之后的样品从蒸煮损失、色差、持水能力、剪切力及加热至终点所耗电量进行对比和方差分析,最后得出变频微波炉(700 W)功率加热的样品质量最佳,消耗电能最少。

3.2 微波食品因其方便快捷、营养素保留高等的优点具有极其广阔的发展前景,对于微波食品的开发与微波炉的改进来说,这些研究是远远不够的,需要投入更多的人力物力财力,尤其对肉制品及其各种配料之间的相互作用做更深入的研究。

### 参考文献

- [1] Warriss P D. Meat science [M]. Wallingford, UK: CABI Publishing, 2000
- [2] Tomberg E. Effect of heat on meat proteins-implications on structure and quality of meat products [J]. Meat Science, 2005, 70: 493-508
- [3] 管斌.食品蛋白质化学[M].北京:化学工业出版社,2005  
GUAN Bin. Food Protein Chemistry [M]. Beijing, China: CIP Publishing, 2005
- [4] Pospiech E, Greaser M L, Mikolajczak B, et al. Thermal properties of titin from porcine and bovine muscles [J]. Meat Science, 2002, 62: 187-192
- [5] 刘伟,贾晓川,赵良娟,等.猪、牛肉加热终点温度检测方法的研究[J].食品研究与开发,2012,33(6):147-150  
LIU Wei, JIA Xiao-chuan, ZHAO Liang-Juan, et al. Establishment of assay for endpoint temperature of bovine and pork [J]. Food Research and Development, 2012, 33(6): 147-150
- [6] 王振宇,刘欢,马丽珍,等.热处理下的猪肉蛋白质特性[J].食品科学,2008,28(5):73-77  
WANG Zhen-yu, LIU Huan, MA Li-zhen et al. Characteristics of porcine proteins by heat treatment [J]. Food science, 2008, 28(5): 73-77
- [7] Graham R. Trout. Technique for measuring water-binding capacity in muscle foods-a review of methodology [J]. Meat Science, 1988, 23: 235-252
- [8] P E Buton, P V Harris, W R Shorthose. The effects of ultimate pH on ovine muscle:water-holding capacity [J]. Journal of food science, 1972, 37: 351-356
- [9] 方绍庆,鲁闽,陈克卫,等.SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法鉴定动物肌肉蛋白热变性的研究[J].现代食品科技,2006,22(3): 219-221  
FANG Shao-qing, LU Min, CHEN Ke-wei, et al. Study on the thermal denature of animal muscle protein by sds-page [J]. Modern Food Science and Technology, 2006, 22(3): 219-221

[10] 雷建刚,刘敦华,郭进.不同产地枸杞干果品质的差异性研究[J].现代食品科技,2013,29(3):494-497  
LEI Jian-gang, LIU Dun-hua, GUO Jin. Quality differences

of lycium barbarum L dried fruit in different producing areas [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(3): 494-497

