

欧姆加热不同电压与终温对羊肉蛋白质降解及肉品品质的影响

卢忆, 戴妍, 杜新, 戴瑞彤

(中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘要: 本文研究了欧姆加热不同电压及终温对羊肉半膜肌蛋白质的影响及其与肉色、保水性等基本质量指标之间的相关性。羊肉半膜肌分别以 10 V/cm 与 20 V/cm 加热至中心温度 50 °C、60 °C、80 °C、100 °C, 测定肉色、蒸煮损失, 并进行差示量热扫描(DSC)及可溶性肌浆蛋白 SDS-PAGE 电泳。结果表明: 20 V/cm 组样品与 10 V/cm 组相比, 颜色较浅, 蒸煮损失较高 ($p < 0.05$), 肌浆蛋白变性程度高 ($p < 0.05$)。肌浆蛋白溶解性与肉色指标以及可蒸煮损失之间具有显著相关性, 其中红度值 a^* 与可溶性肌浆蛋白含量显著正相关, 而蒸煮损失 CL 与之显著负相关。对以 10 V/cm 与 20 V/cm 加热至 95 °C 后储藏 7 d 的样品, 测定其羰基含量、巯基含量、非血红素铁含量以及丙二醛含量, 发现 20 V/cm 组样品在储藏期间氧化程度显著 ($p < 0.05$) 高于 10 V/cm 的样品, 表明 10 V/cm 处理的样品具有较好的品质。

关键词: 欧姆加热; 蛋白质降解; 氧化; 肉色; 保水性

文章编号: 1673-9078(2015)11-196-202

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.11.031

Effect of Different Voltages and End-point Temperatures on Protein Degradation in Lamb Meat and Meat Quality during Ohmic Heating

LU Yi, DAI Yan, DU Xin, DAI Rui-tong

(College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: The effect of different heating voltages and end-point temperatures (EPTs) of ohmic heating on the proteins in the lamb semimembranosus muscle and their correlations with quality indicators, including meat color and water holding capacity were studied. Lamb semimembranosus muscle samples were ohmically heated to internal temperatures of 50, 60, 80, and 100 °C with voltages of 10 V/cm and 20 V/cm, respectively. Differential scanning calorimetry (DSC) and SDS-PAGE were used to determine the protein denaturation. The results showed that compared to the 10 V/cm groups, the 20 V/cm groups exhibited lighter color and higher cooking loss ($p < 0.05$ at 100 °C) and a higher degree of sarcoplasmic protein denaturation ($p < 0.05$). Sarcoplasmic protein solubility showed a strong correlation with cooking loss and meat color indicators. The a^* values and cooking loss values were positively and negatively correlated with the soluble sarcoplasmic protein concentration, respectively. Samples were also ohmically heated to 95 °C with the voltages of 10 V/cm and 20 V/cm, respectively, followed by seven-day storage. Subsequently, carbonyl, sulfhydryl, non-heme iron, and malondialdehyde contents were measured. The 20 V/cm group presented a higher degree of oxidation than the 10 V/cm group, indicating that the sample treated with 10V/cm presented a relatively good quality.

Key words: ohmic heating; protein degradation; oxidation; meat color; water holding capacity

欧姆加热, 又名电阻加热, 是一种新型加热技术, 其应用在近 20 年来得到了迅猛的发展。与传统加热方式(对流加热、热传导、热辐射)相比, 欧姆加热具有加热速度快, 加热产出高, 温度分布均匀, 食品营养物质及颜色保存性较好等优点, 目前被广泛应用于

投稿日期: 2015-01-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31271894)

作者简介: 卢忆(1990-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 肉制品加工

通讯作者: 戴瑞彤(1966-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 肉制品加工与贮藏

食品解冻、预热、杀菌、烹饪、提取等领域^[1,2]。

欧姆加热对肉制品影响的研究目前多集中在肉色、微生物杀灭、质构、感官特性、脂肪氧化及产品毒性等方面^[1]。一些研究发现欧姆加热与传统水浴加热相比, 产品色泽较均匀但更浅、更偏棕黄^[3], 蒸煮损失小, 保水性好, 贮藏期脂肪氧化程度低^[4,5]。对其质构研究虽然结果存在不一致, 但总体上可被感官评价小组所接受^[1]。也有研究表明, 欧姆加热制品中金属迁移率在安全范围内, 且杂环胺与多环芳烃生成率显著低于传统高温加热方法(油炸、烟熏、烧烤)^[6]。

少量研究者对比了不同电压对于欧姆加热肉制品的影响,发现电压对肉色具有轻微的影响^[3],而对于脂肪氧化以及质构特点则具有显著的影响^[2,7]。

肌肉蛋白质(主要包括肌浆蛋白与肌原纤维蛋白)与肉的色泽、质构、保水性等品质指标密切相关。在欧姆加热过程中,蛋白质的变性、降解与氧化势必影响肉的品质。在使用交流电的欧姆加热系统中,电压直接影响到热产生速率与电子交换速率^[6,7],从而可能对蛋白质变性氧化产生影响,并进一步影响肉制品质量品质。因此,本文的目的是研究欧姆加热不同电压及加热终温对肌浆蛋白、肌原纤维蛋白变性与氧化的影响以及与肉色、蒸煮损失等基本质量指标之间的关系,为研究欧姆加热对肉制品品质影响的机理奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 欧姆加热设备

欧姆加热采用实验室自制欧姆加热设备,包括加热单元、温控箱和供电箱。加热单元由一个聚四氟乙烯管和两个不锈钢电极构成。其中聚四氟乙烯管长 16 cm,内径 4.2 cm,厚 1.5 cm,具有三个侧孔(距一侧边缘距离分别为 4、8、12 cm),用于温度测定。两不锈钢电极可通过螺纹固定在聚四氟乙烯管两侧,旋紧后电极间距为 10 cm。为保持与电极充分接触,加热时需将肉样填满加热单元,所需肉样重为 170±10 g,加热后得到一个高约 10 cm、直径约 4 cm 的圆柱状熟肉样品。

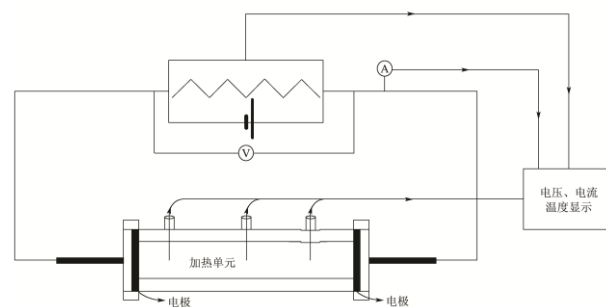


图 1 欧姆加热设备示意图

Fig.1 Schematic diagram of the ohmic heating device

温控箱由外部具有玻璃套的热电偶与数字温度显示屏构成,加热时热电偶通过侧孔插入至肉样中心轴位置,当三个热电偶读数均达到指定温度时,立即切断电源。供电箱功率为 3.5 kW,可调节电压(0~250 V)、频率(0~50 Hz),加热时所用频率为 50 Hz。

1.2 样品准备

样品取自 24 只 7 个月龄的内蒙古巴美羊,屠宰后,冷却 24 h,取其两后腿上的半膜肌,共 48 块,去除可见结缔组织与脂肪后,每块重量 210±20 g。每一半膜肌单独用于一次欧姆加热(需 170±10 g),剩余肉样(约 30 g)不作处理而作为对照组(NT)。共有 16 组欧姆加热组(OH),其中来自同一只羊胴体的两块半膜肌被分别用于 10 V/cm(OH 10)与 20 V/cm(OH 20)处理组。对于每一指标的测定,取三个平行值(来自同一半膜肌),实验做三次重复(分别来自三只羊的半膜肌),即每一数据均为 9 个值的平均值。NT 肉样的分配与此类似。参数水平与指标测定如表 1 所示。

表 1 处理组的加热条件与测定指标

Table 1 The heating condition and measurement indices of treatment group

羊数	半膜肌数	电压	终温	加热后处理	测定的指标
12	24	10 V/cm,	50, 60, 80,	真空包装后,流水冷却至 15℃,在 4℃下储藏 12 h 后测定	蒸煮损失,肉色,肌浆蛋白提取, SDS-PAGE 电泳, DSC
		20 V/cm	100℃		
12	24	10 V/cm,	95℃	用透氧 PVC 膜包装后,流水冷却至 15℃,在 4℃下储藏 1、3、5、7 d	羰基含量,巯基含量,非血红素铁含量,丙二醛含量

其中, L_0^* , a_0^* , b_0^* 为 NT 组 L^* 、 a^* 、 b^* 值

$$H = \tan^{-1}(b^*/a^*)$$

$$S = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

1.3.2 蒸煮损失 (Cooking Lose, CL)

蒸煮损失 (CL) 是样品在加热过程中损失的水质量占样品加热前生重的百分比。准确记录加热前样品重量 m_1 , 加热后,将样品取出,冷却至室温后擦干表面水分,测定其质量 m_2 。

$$CL = [(m_1 - m_2) / m_1] \times 100\%$$

1.3.3 差示量热扫描 (DSC)

1.3 指标测定

1.3.1 肉色

使用校准后的色差计(美能达 CR-400, D65 光源),于欧姆加热所得柱状样品的新鲜横切面上随机选取 6 点进行肉色测定,得到基本指标 L^* (亮度值), a^* (红度值), b^* 值(黄度值),并计算 ΔE (色差)、 H (色彩角)、 S (色度)值,公式如下^[4]:

$$\Delta E = [(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2]^{1/2} = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

参照 Dai 等^[5], 将样品切成边长约 0.5 cm 的立方体小肉块, -20 °C 下冷冻备用。测定时, 使用双层刀片从冻肉样上切取重 10 mg \pm 2 mg 的薄片, 用镊子均匀平铺在铝箔盒底部, 以配套铝箔盖密封, 并以空密封铝箔盒做对照。在差示量热扫描仪 (Q2000, 美国 TA 仪器公司) 上进行测定。扫描温度范围为 25 °C~110 °C, 升温速度 5 °C/min。扫描结束后处理所得图像, 记录吸热峰顶点所对应的温度为 T_d , 并作为发生变性反应的温度点。记录吸热峰峰面积为 ΔH , 并作为变性反应焓值。

1.3.4 肌浆蛋白质提取

样品肌浆蛋白提取方法参照 Marcos 等^[9]。将样品绞碎, 称取适量碎肉样品与肌浆蛋白提取液 (20 mmol/L 三羟甲基氨基甲烷, 2 mM EDTA, 4 mM $MgCl_2$, 10 μ L/mL 蛋白酶抑制剂混合物, 调节 pH 为 7.5) 混合匀浆 30 s, 在 4 °C 1500 g 条件下离心 20 min, 取上清液。采用考马斯亮蓝试剂盒 (美国伯乐生命科学产品有限公司) 测定其中蛋白浓度, 记为 SP (Sarcoplasmic Protein), 单位为 mg/g 肉。剩余提取液分装后于 -20 °C 下冷冻保存, 以备电泳使用。

1.3.5 肌浆蛋白 SDS 凝胶电泳

肌浆蛋白 SDS-PAGE 电泳方法参照 Marcos 等^[9]。肌浆蛋白质样液室温解冻后, 以 1:1 的比例与变性剂 (10% 甘油, 2% SDS, 1% β -巯基乙醇以及 0.05% 溴酚蓝溶解于 0.1 M Tris-盐酸缓冲液, pH 为 6.8) 混合, 充分振荡, 于 95 °C 水浴中保温 5 min, 使蛋白充分变性。采用 12.5% 分离胶, 4% 浓缩胶制胶, 以 10 kDa~230 kDa 预染蛋白作为标记物, 每一泳道加入 15 μ L 样品, 进行恒电流电泳 (15 mA/胶), 时间约为 1.5 h。电泳结束后, 将胶片用染色液 (1 g/L 考马斯亮蓝 R-250) 染色 1 h, 随后在脱色液 (120 ml/L 甲醇, 75 ml/L 醋酸) 中震荡脱色 12 h。

1.3.6 羰基含量测定

首先进行肌原纤维蛋白提取。取适量碎肉样品置于肌原纤维蛋白提取液 (1.5 M NaCl, 0.025 M KCl, 3 mM $MgCl_2$, 4 mM 乙二胺四乙酸二钠, 1mM 苯基甲基磺酰基氯化物, pH 6.5) 中, 于 4 °C 下静置提取 30 min。匀浆后离心 (5500 g, 10 min), 弃去上清液, 沉淀物用 0.05 M KCl, 5 M 2-巯基乙醇溶液洗涤 3 次后制成悬浮液。采用紫外分光法 (280 nm, 牛血清蛋白作为标准) 测定悬浮液中的蛋白质浓度。

将悬浮液充分振荡混匀后, 取等量分装于两管中, 一管中加入 2 M 盐酸溶液作为空白管, 另一管中加入

2,4-二硝基苯肼 (DNPH) 溶液 (0.2% DNPH 溶解于 2M 盐酸溶液) 作为测定管, 室温下避光放置 30 min, 其间不断搅动。加入沉淀剂 (10% TCA, 5 mL) 后进行离心 (4000 g, 10 min), 所得沉淀物用乙醇与乙酸乙酯 1:1 混合溶液洗涤 4 次后, 溶解于盐酸胍溶液 (6 M 盐酸胍溶解于 20 mM 磷酸盐缓冲液) 中。测定 DNPH 处理组和盐酸对照组在 370 nm 下的吸光度差值, 根据蛋白质胍在该波长下的摩尔吸光系数 (21.0 $mmol^{-1} cm^{-1}$) 计算得到样品羰基含量, 单位为 nmol/mg 蛋白质。

1.3.7 巯基含量测定

取适量碎肉样与提取液 (5% SDS, 0.1 M Tris, 调节 pH 至 8.0) 混合匀浆 30 s。匀浆液于 80 °C 水浴 30 min 后, 以 4000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 紫外分光法 (280 nm, 牛血清蛋白作为标准) 测定其中蛋白浓度。在空白管中加入 0.5 mL 5% SDS 溶液, 2 ml 0.1 M Tris 缓冲液 (pH 8.0) 以及 0.5 mL 10 mM DTNB, 振荡混匀。测定管中, 将 0.5 mL 5% SDS 溶液替换为 0.5 ml 样品提取液, 其他成分一致。读取测定管与空白管溶液在 412 nm 下吸光度值差, 则根据该波长下黄色络合物摩尔吸光系数 (14.0 $mmol^{-1} cm^{-1}$) 即可计算得到样品中巯基含量, 单位为 nmol/mg 蛋白质。

1.3.8 非血红素铁含量测定

非血红素铁含量测定参照 Schricker 等^[10]所改进的方法。取适量碎肉样品置于混合酸液 (40% 三氯乙酸溶液与 6 M 盐酸溶液等量混合) 中, 65 °C 恒温水浴 20 h。冷却后离心 (4000 r/min, 10 min), 取上清液, 用原子吸收分光光度计测定其中铁元素含量, 以 mg/g 肉计。

1.3.9 丙二醛 (MDA) 含量测定

丙二醛测定使用南京建成生物试剂有限公司生产的丙二醛测定试剂盒进行。取 1 \pm 0.2 g 肉样, 溶于 5 mL 5% 三氯乙酸溶液中, 均质 30 s。加入 0.5 mg/mL 的二丁羟基甲苯 (BHT) 溶液 0.5 mL, 离心 (1600 g, 15 min), 取上清液, 加入 0.2% 的硫代巴比妥酸 (TBA) 溶液 2 mL, 于 95 °C 下水浴中加热 30 min。冷却后, 加入 2 mL (50%) 乙酸溶液, 于 532 nm 下比色。结果以 mg 丙二醛/g 肉表示。

1.3.10 数据统计

使用 SPSS17.0, 进行方差分析与相关性分析。

2 结果与讨论

表2 欧姆加热及未处理组羊肉样品肉色、蒸煮损失、可溶性肌浆蛋白含量以及 DSC 图谱峰值温度与焓值

Table 2 Color, cooking loss, enthalpy value, sarcoplasmic protein solubility, and DSC analysis of NT and OH lamb semimembranosus

muscle samples						
指标	NT		50/°C	60/°C	80/°C	100/°C
L*	40.56±0.80	OH10	47.52±0.57 ^{ax}	53.28±1.57 ^{ax}	51.97±2.38 ^{ax}	47.73±2.54 ^{ax}
		OH20	41.27±2.51 ^{ax}	52.73±1.70 ^{bx}	54.70±1.51 ^{bx}	51.30±1.79 ^{bx}
a*	18.47±1.80	OH10	16.79±1.72 ^{cx}	15.17±1.85 ^{bcx}	10.61±1.80 ^{abx}	6.50±1.29 ^{ax}
		OH20	14.83±2.24 ^{ax}	12.19±1.29 ^{ax}	6.86±1.27 ^{bx}	6.23±1.13 ^{bx}
b*	13.75±1.83	OH10	11.76±1.50 ^{ax}	13.10±2.16 ^{ax}	15.47±0.93 ^{ax}	14.57±1.46 ^{ax}
		OH20	13.14±0.49 ^{ax}	13.73±1.17 ^{ax}	14.91±1.21 ^{ax}	14.61±1.03 ^{ax}
ΔE		OH10	5.37±2.27 ^{ax}	12.86±2.17 ^{bx}	17.01±0.99 ^{bx}	16.33±2.03 ^{bx}
		OH20	11.23±0.97 ^{ax}	14.73±2.31 ^{ax}	16.72±2.61 ^{ax}	14.66±2.63 ^{ax}
H	36.54±1.71	OH10	35.43±6.10 ^{ax}	40.71±4.64 ^{abx}	55.86±5.67 ^{bcx}	65.54±6.37 ^{cx}
		OH20	42.21±3.34 ^{ax}	48.47±5.41 ^{ax}	64.88±5.72 ^{bx}	66.69±5.15 ^{bx}
S	23.07±2.48	OH10	20.77±0.57 ^{ax}	20.18±2.38 ^{ax}	18.94±0.89 ^{ax}	16.17±0.82 ^{ax}
		OH20	19.88±1.99 ^{bx}	18.54±0.10 ^{abx}	16.58±0.59 ^{abx}	16.01±0.53 ^{ax}
CL/%	-	OH10	6.50±0.78 ^{ax}	9.75±1.17 ^{ax}	14.35±1.71 ^{bx}	30.25±3.61 ^{cx}
		OH20	7.74±0.93 ^{ax}	12.58±1.50 ^{by}	21.23±2.54 ^{by}	38.67±4.62 ^{cy}
SP/(mg/g)	31.30±2.22	OH10	25.59±3.15 ^{cx}	21.10±1.57 ^{cx}	12.83±2.57 ^{bx}	5.21±0.64 ^{ax}
		OH20	20.40±2.86 ^{cx}	10.92±1.02 ^{by}	4.18±1.48 ^{ay}	2.22±0.26 ^{ay}
Td ₁	48.77±0.57	OH10	NP	NP	NP	NP
		OH20	NP	NP	NP	NP
ΔH ₁	0.71±0.33	OH10	NP	NP	NP	NP
		OH20	NP	NP	NP	NP
Td ₂	61.01±0.74	OH10	65.16±0.03 ^{cx}	62.88±0.02 ^{bx}	NP	NP
		OH20	62.84±0.02 ^{cy}	62.65±0.02 ^{by}	NP	NP
ΔH ₂	0.98±0.35	OH10	1.55±0.01 ^{cx}	0.46±0.01 ^{bx}	NP	NP
		OH20	0.84±0.01 ^{cy}	0.76±0.03 ^{by}	NP	NP
Td ₃	78.23±0.11	OH10	77.98±0.20 ^{cx}	77.89±0.05 ^{bcx}	77.60±0.01 ^{bx}	NP
		OH20	77.88±0.14 ^{cx}	77.51±0.03 ^{by}	77.30±0.15 ^{by}	NP
ΔH ₃	0.72±0.01	OH10	1.69±0.01 ^{dx}	0.56±0.05 ^{cx}	0.43±0.05 ^{bx}	NP
		OH20	0.53±0.05 ^{cy}	0.37±0.01 ^{by}	0.36±0.03 ^{bx}	NP

注: a-d表示相同电压不同温度处理组数值中标有不同字母为差异显著, $p < 0.05$; x-y表示相同温度不同电压处理组数值中标有不同字母为差异显著, $p < 0.05$; CL蒸煮损失 (Cooking loss); SP肌浆蛋白含量 (Sarcoplasmic protein); NP未检测到放热/吸热峰。

表3 相关性分析

Table 3 Correlation analysis

	L*	a*	b*	H	C	ΔE	CL	SPS
L*	1	-0.331	0.467*	0.365	-0.133	0.876**	0.927**	-0.434*
a*		1	-0.523**	-0.957**	0.798**	-0.669**	0.154	0.781**
b*			1	0.736**	0.055	0.558**	-0.771**	-0.535**
H				1	0.595**	0.675**	0.483*	-0.796**
S					1	-0.415*	0.747**	0.560**
ΔE						1	0.363	-0.642**
CL							1	-0.832**
SP								1

注: *P<0.05, **P<0.01。

2.1 肉色指标与蒸煮损失

肉色是消费者对生肉产品新鲜度及熟肉制品“熟度”判断的重要指标,对消费者的购买决策有着至关重要的影响。亮度值 L^* , 红度值 a^* 与黄度值 b^* 是肉色测定的三个基本指标。色彩角 H 值是针对于肉色定义的指标,规定红色为 0° ,黄色为 90° 。色度 S 值是描述颜色深度的指标,显示了色彩被黑色所调和的程度。总色差 ΔE 值是对肉色整体变化程度的估计。

由表 2,当加热温度为 80°C 和 100°C 时, 20 V/cm 组与 10 V/cm 组相比, L^* 值更高,但差异不显著 ($p>0.05$)。加热过程中肉色 L^* 的上升被认为与蛋白质聚凝所引起的结构变化有关,这些变化包括球蛋白变性、肌浆蛋白沉淀、血红素被取代或释放等^[9]。 20 V/cm 组较高的 L^* 值,可能与 20 V/cm 条件下快速加热所导致的蛋白质剧烈变性有关。与 10 V/cm 相比, 20 V/cm 还具有更低的 a^* 值与 S 值,但同样不具显著性 ($p<0.05$)。

Bozkurt 等^[3]分别使用 $20、30、40\text{ V/cm}$ 电压将牛肉肉糜加热至 70°C ,发现不同电压组 L^* 值、 a^* 无显著差异,但同样观察到了高电压处理组 a^* 值低的现象。这一现象可能与高电压组较高的肌红蛋白氧化程度相关,需进一步研究。

蒸煮损失 (CL) 反映样品在加热过程中的水分损失量。对于肉制品,当温度升高时,肌动蛋白与肌球蛋白发生变性,肌纤维结构改变,水分被挤压排出,

导致汁液损失。本实验中,蒸煮损失随着加热终温的上升而持续增加,在 80°C 与 100°C 之间增加最为显著 ($p<0.05$)。终温大于 50°C 时, 20 V/cm 组 CL 值显著 ($p<0.05$) 高于 10 V/cm 组 (表 2)。其原因可能是 20 V/cm 组的快速升温导致了肌原纤维蛋白(肌球蛋白与肌动蛋白)更为剧烈的变性,从而导致了更多的汁液损失。此外,有研究表明,电流的传导会导致肌肉瞬时膨胀,此现象在高电压下表现更加明显。本实验中观察到了同样的瞬时膨胀现象(电流接通后,肉样迅速从侧孔中溢出),而这种膨胀使得脂肪与水分更容易被排出^[3]。Shirsat 等^[11]使用 $3、5、7\text{ V/cm}$ 电压将肉糜乳状液加热至 $15\sim 73^\circ\text{C}$,指出欧姆加热低电压组具有更强的保水性,与本实验结论一致。

2.2 肌浆蛋白溶解度与 SDS 凝胶电泳

肌浆蛋白占肌肉总蛋白的 $30\sim 34\%$,为可溶性蛋白,主要包含糖分解相关酶类,肌酸激酶以及肌红蛋白。研究表明,肌浆蛋白对于肉色、保水性、嫩度、凝胶性以及乳化性等肌肉品质指标具有显著影响^[9]。

由表 2 可以看出,肌浆蛋白溶解度受加热终温以及加热电压的显著影响。随着加热终温的上升,可溶性肌浆蛋白含量显著 ($p<0.05$) 下降。终温为 $60\sim 100^\circ\text{C}$ 时, 20 V/cm 组可溶性肌浆蛋白含量显著 ($p<0.05$) 低于 10 V/cm 组。肌浆蛋白溶解性下降是其变性形成不溶性聚凝物导致的, 20 V/cm 组较低的肌浆蛋白溶解性说明在该处理条件下肌浆蛋白变性更严重。

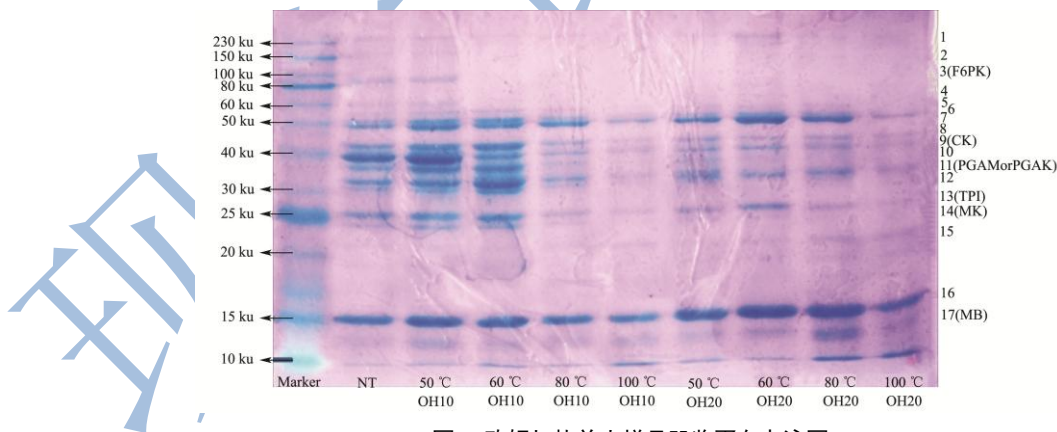


图 2 欧姆加热羊肉样品肌浆蛋白电泳图

Fig.2 SDS-PAGE patterns of sarcoplasmic samples from OH lamb semimembranosus muscles and NT sample

图 2 为欧姆加热不同电压和终点温度羊肉样肌浆蛋白电泳图。在 $10\sim 230\text{ ku}$ 分子量范围内每一泳道共检测出 17 组分子量不同的条带,其中 $80\sim 100\text{ ku}$ 、 $30\sim 40\text{ ku}$ 、 $20\sim 25\text{ ku}$ 范围内的条带随终温上升而明显减弱或消失,且 20 V/cm 组的条带强度明显弱于 10 V/cm 组。在所有检测到的条带中,条带 8、9、11、

13、14 随终温与电压变化最为显著,根据分子量推断,其最可能分别对应于 CK(肌酸激酶, 40 KDa), PGAM 或 PGAK(磷酸甘油酸变位酶或磷酸甘油酸激酶, $31\sim 33\text{ ku}$), TPI(磷酸丙糖异构酶, 26 ku) 以及另外两种未知蛋白质。前人研究同样发现 CK, PGAK 与 TPI 在肉制品加工过程中会发生电泳条带减弱的现象

[4,12], 说明这些蛋白质在肉制品加工过程中易变性且可能与肉制品品质变化有一定关联。20 V/cm 组较浅的电泳条带同样说明了 20 V/cm 条件下肌浆蛋白发生了更严重的变性。

从表 3 可以看出, 各肉色指标 (a*、b*、L*、H、S、 ΔE) 均与可溶性肌浆蛋白含量具有极显著 ($p < 0.01$) 相关性, 其中 L* 值与 b* 值为负相关, 而 a* 值和 S 值为正相关, 表明当可溶性肌浆蛋白含量减少时, 肉色由红向白转变, 与 Choi^[12] 等的实验结果一致, 其原因可能是肌浆蛋白的沉淀使肉的红色变浅。此外, CL 值与可溶性肌浆蛋白含量极显著 ($p < 0.01$) 负相关, 即可溶性肌浆蛋白含量减少时, 样品保水性下降。

2.3 差示量热扫描 (DSC)

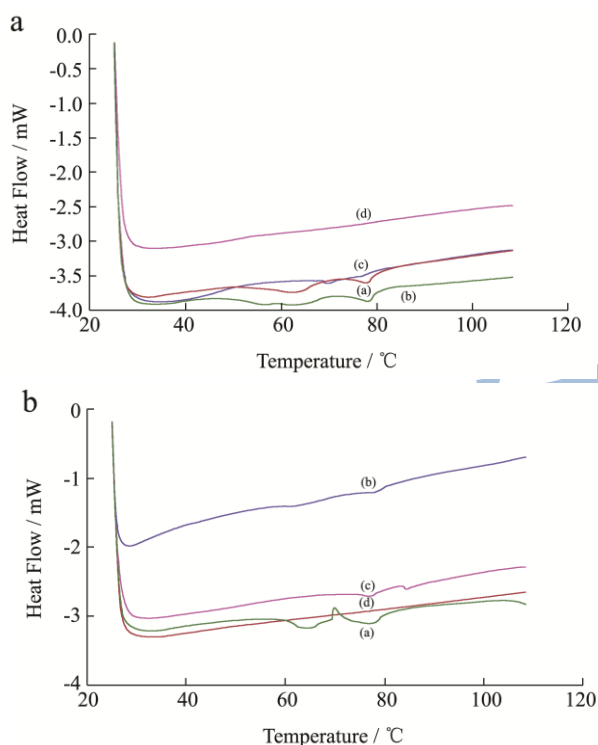


图 3 欧姆加热羊肉 DSC 图谱

Fig 3 Differential scanning calorimetry thermogram of OH lamb semimembranosus muscle samples

注: a: 10 V/cm, (a) 50 °C, (b) 60 °C, (c) 80 °C, (d) 100 °C;

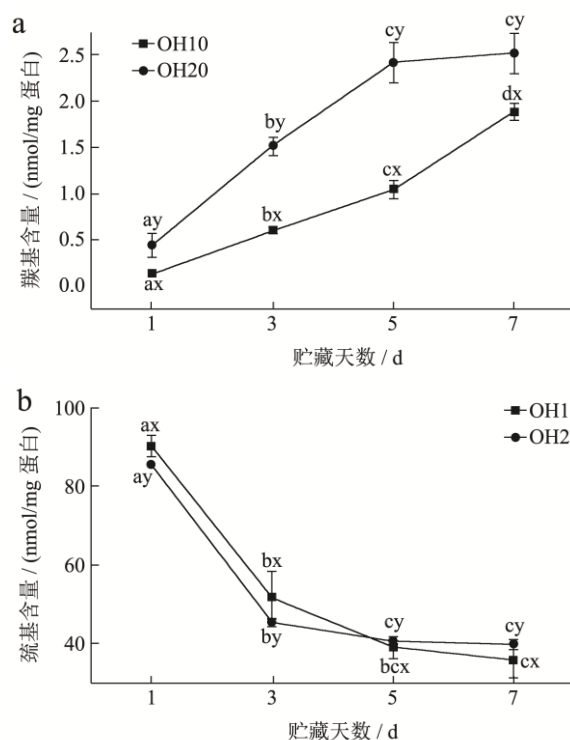
b: 20 V/cm (a) 50 °C, (b) 60 °C, (c) 80 °C, (d) 100 °C。

差示量热扫描 (DSC) 法是目前研究蛋白质在加热过程中构象变化最常用的方法之一, 对其图谱进行分析可以得到构象变化所对应的温度以及吸/放热量, 从而进行变性程度的鉴定。图 3 是欧姆加热羊肉样与未加热羊肉样的 DSC 图谱。NT 组 DSC 曲线具有三个明显的变性峰, 其峰值温度分别为 48.77 °C, 61.01 °C 以及 78.23 °C, 最有可能对应于肌球蛋白 (40~60 °C)、肌浆蛋白或胶原蛋白 (60~70 °C) 以及

肌动蛋白 (70~80 °C) 的变性反应。肌球蛋白变性峰在加热终温为 50 °C 以上时消失; 加热终温为 80 °C 以上时, 仅剩余一个变性峰; 100 °C 时, 无变性峰出现 (表 2, 图 2)。随着加热终温上升, 变性焓值 ΔH 显著 ($p < 0.05$) 下降, 且 T_d 值 (T_{d2} 、 T_{d3}) 变小, 这与 Thorarinsdottir 等^[13] 的实验结果相一致。终温为 50~80 °C 时, 20 V/cm 组 ΔH 值与 T_d (T_{d2} 、 T_{d3}) 值显著 ($p < 0.05$) 低于 10 V/cm 组, 说明其样品中存在的未变性蛋白在二次加热中变性温度更低、吸热量更小, 很可能是因为在一次加热 (欧姆加热) 中蛋白质变性程度更大、变性比例更高。

2.4 蛋白质与脂肪氧化

肌肉蛋白质在肉类加工与贮藏过程中受到氧自由基的攻击而产生氧化损伤, 氨基酸侧链上的 NH 或 NH_2 基团与 OH 发生反应而形成羰基、酪氨酸交联生成二酪氨酸、半胱氨酸中的游离巯基则形成二硫键, 进而导致高分子量蛋白聚合物的形成。蛋白质氧化损伤可引起一系列生物化学特性的改变, 如蛋白质溶解性降低、凝胶性下降、乳化稳定性降低以及保水性下降等。肉制品高温加热以及其后贮藏过程中的氧化活动还会使血红素分子破裂, 导致铁从卟啉环中释放, 变为非血红素铁。而非血红素铁是肌肉系统中最重要氧化促进剂之一, 其含量的升高又进一步促进氧化进程。丙二醛为脂肪氧化的二级产物, 其含量是反映脂肪氧化程度的重要指标。



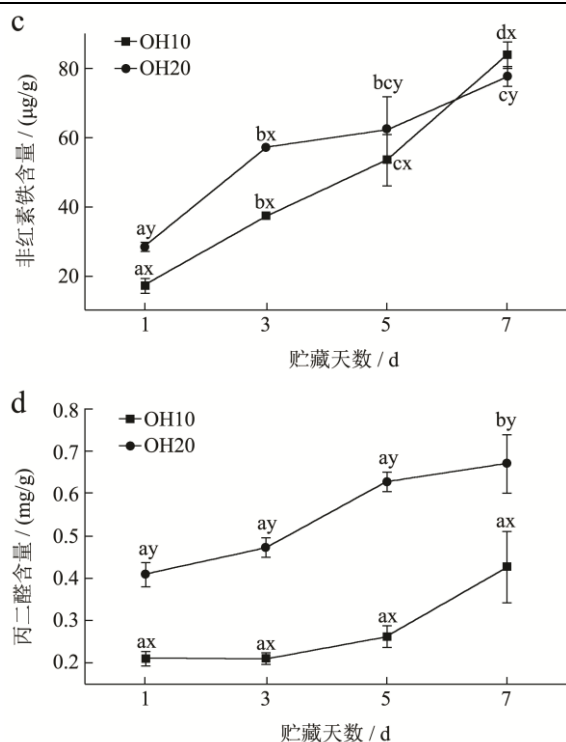


图4欧姆加热羊肉在7天贮藏期内(a)羰基, (b)巯基, (c)非血红素铁, (d)丙二醛含量变化

Fig.4 Changes of carbonyl content (a), thiol content (b), non heme iron content (c), and MDA content (d) of OH lamb semimembranosus muscle samples after a seven-day storage

图4是在10 V/cm与20 V/cm条件下加热至95℃的羊肉样品在7 d贮藏时间内的(a)羰基, (b)巯基, (c)非血红素铁以及(d)丙二醛含量的变化。随着贮藏时间的延长, 羰基含量、非血红素铁含量与丙二醛含量显著 ($p < 0.05$) 上升, 巯基含量显著 ($p < 0.05$) 下降, 表明在7 d贮藏期内, 蛋白质与脂肪氧化产物不断积累。20 V/cm组与10 V/cm组相比, 在对应贮藏时间处具有显著较高的羰基含量与丙二醛含量(1、3、5、7 d), 较高的非血红素铁含量(1、5 d)以及较低游离巯基含量(1、3、5 d), 说明在7 d贮藏时间内, 20 V/cm组样品呈现出更高的氧化水平。这可能与其较快的升温速度以及较大的电子交换量有关。快速升温导致了反应速度的加快, 而电流传导时发生的电子交换可能会通过激发自由基产生或细胞膜损伤而影响氧化反应, 使氧化程度升高。Piette等^[7]分别用2.90 V/cm, 3.45 V/cm以及4.68 V/cm的电压将博洛尼亚肠加热至70℃, 并与烟熏加热对比, 发现欧姆加热样品具有显著更高的氧化还原电位, 且高电压组硫代巴比妥酸值显著高于低电压组, 这与本实验的结论相一致。Will等^[14]报道了加入相同氧化抑制剂条件下欧姆加热牛肉饼与气流式加热的牛肉饼相比具有显著更高的硫代巴比妥酸值, 并认为这是由于欧姆加热系统中的电

子传递所导致的。结合本实验的实验结果可以推断, 使用交流电的欧姆加热系统中电子传递影响氧化程度, 高电压组较高氧化程度可能与其较高的电子传递量有关。

3 结论

3.1 分别采用10 V/cm与20 V/cm电压将羊半膜肌样品进行欧姆加热至终温50℃、60℃、80℃与100℃。在相同加热终温下, 20 V/cm组样品与10 V/cm组相比, 具有较浅白的颜色, 显著较高的蒸煮损失以及较高的肌浆蛋白变性程度 ($p < 0.05$)。可溶性肌浆蛋白SDS-PAGE电泳中, 20V/cm样品在80~100 ku、30~40 ku、20~25 ku范围内条带强度明显弱于10 V/cm组。同时, DSC分析中, 终温在50~80℃范围内的20 V/cm组样品 ΔH 值与 T_d (T_{d2} 、 T_{d3})值显著 ($p < 0.05$) 低于10 V/cm组, 说明20 V/cm组样品比加热至相同终温的10 V/cm样品蛋白质变性程度更高, 这可能是20 V/cm组样品的剧烈升温导致的。

3.2 肌浆蛋白溶解性与肉色指标以及蒸煮损失之间分别具有显著 ($p < 0.05$) 正相关性与负相关性, 即随着可溶性肌浆蛋白含量的减少, 肉色由红向白转变, 保水性下降。分别以10 V/cm与20 V/cm电压将羊肉半膜肌加热至95℃后贮藏7 d, 20 V/cm组样品在贮藏期间呈现显著 ($p < 0.05$) 较高的氧化程度(较高的蛋白质羰基含量、非血红素铁含量、丙二醛含量以及较低的蛋白质巯基含量), 这可能与20 V/cm加热条件下较高的电子交换量有关。综合以上结果可以看出, 相对于20 V/cm处理组, 10 V/cm处理组样品具有较好的品质。

参考文献

- [1] Yildiz-Turp G, Sengun I, Kendirci P, et al. Effect of ohmic treatment on quality characteristic of meat: A review [J]. Meat science, 2013, 93(3): 441-8
- [2] Icier F, Izzetoglu GT, Bozkurt H, et al. Effects of ohmic thawing on histological and textural properties of beef cuts [J]. Journal of food engineering, 2010, 99(3): 360-5
- [3] Bozkurt H, Icier F. Ohmic cooking of ground beef: Effects on quality [J]. Journal of Food Engineering, 2010, 96(4): 481-90
- [4] Dai Y, Miao J, Yuan S-Z, et al. Colour and sarcoplasmic protein evaluation of pork following water bath and ohmic cooking [J]. Meat science, 2013, 93(4): 898-905
- [5] Dai Y, Zhang Q, Wang L, et al. Changes in shear parameters, protein degradation and ultrastructure of pork following water bath and ohmic cooking [J]. Food and Bioprocess

- Technology, 2014, 7(5): 1393-1403
- [6] Sengun IY, Turp GY, Icier F, et al. Effects of ohmic heating for pre-cooking of meatballs on some quality and safety attributes [J]. LWT-Food Science and Technology, 2014, 55(1): 232-239
- [7] Piette G, Buteau M, Halleux DD, et al. Ohmic cooking of processed meats and its effects on product quality [J]. Journal of food science, 2004, 69(2): 71-8
- [8] Soyer A, Özalp B, Dalmış Ü, et al. Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat [J]. Food chemistry, 2010, 120(4): 1025-30
- [9] Marcos B, Kerry JP, Mullen AM. High pressure induced changes on sarcoplasmic protein fraction and quality indicators [J]. Meat Science, 2010, 85(1): 115-20
- [10] Schricker B, Miller D, Stouffer J. Measurement and content of nonheme and total iron in muscle [J]. Journal of Food Science, 1982, 47(3): 740-3
- [11] Shirsat N, Brunton NP, Lyng JG, et al. Water holding capacity, dielectric properties and light microscopy of conventionally and ohmically cooked meat emulsion batter [J]. European Food Research and Technology, 2004, 219(1): 1-5
- [12] Choi Y, Ryu Y, Lee S, et al. Effects of supercritical carbon dioxide treatment for sterilization purpose on meat quality of porcine *longissimus dorsi* muscle [J]. LWT-Food Science and Technology, 2008, 41(2): 317-22
- [13] Thorarinsdottir KA, Arason S, Geirsdottir M, et al. Changes in myofibrillar proteins during processing of salted cod (*Gadus morhua*) as determined by electrophoresis and differential scanning calorimetry [J]. Food Chemistry, 2002, 77(3): 377-85
- [14] Wills TM, Dewitt CAM, Sigfusson H, et al. Effect of cooking method and ethanolic tocopherol on oxidative stability and quality of beef patties during refrigerated storage (oxidative stability of cooked patties) [J]. Journal of Food Science, 2006, 71(3): C109-C14