

生姜蛋白酶和猕猴桃蛋白酶对干腌羊火腿 蛋白质降解的影响

阿尔祖古丽·阿卜杜外力, 玉素甫·苏来曼, 巴吐尔·阿不力克木
(新疆农业大学食品科学与药学学院, 新疆乌鲁木齐 830052)

摘要: 为了促进干腌羊火腿肌肉蛋白质降解, 加快其风干成熟进程, 缩短加工周期, 提高羊火腿的品质, 在干腌羊火腿中添加生姜蛋白酶和猕猴桃蛋白酶。以带骨鲜羊后腿肉为试验材料, 分别设计一个对照组和两个试验组; 对照组不采取处理, 而试验组分别添加 0.05% 的生姜蛋白酶和猕猴桃蛋白酶, 并在相应条件下进行风干成熟, 检测干腌羊火腿的总氮 (Total nitrogen, TN) 含量、非蛋白氮 (Non-protein nitrogen, NPN) 含量和蛋白质降解指数 (Proteolysis index, PI) 等蛋白质降解指标, 并通过 SDS-PAGE (聚丙烯酰胺凝胶电泳) 分析了干腌羊火腿肌肉蛋白质的降解情况。结果表明, 与对照组相比, 猕猴桃蛋白酶处理组和生姜蛋白酶处理组的 TN 含量风干成熟后分别增加了 1.2 倍和 1.3 倍、NPN 含量分别增加 1.5 倍和 1.7 倍、PI 分别上升 1.2 倍和 1.3 倍; SDS-PAGE 分析结果表明, 生姜蛋白酶降解肌肉蛋白的效率较猕猴桃蛋白酶强。通过蛋白质降解指数和 SDS-PAGE 电泳结果可知, 生姜蛋白酶对肌肉蛋白的降解程度比猕猴桃蛋白酶大。

关键词: 生姜蛋白酶; 猕猴桃蛋白酶; 干腌羊火腿; 蛋白质降解; SDS-PAGE 电泳

文章编号: 1673-9078(2018)12-104-110

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.12.016

Effect of Zingibain and Actinidin on Protein Degradation of Dry-cured Mutton Ham

AERZUGULI Abu-duwaili, YSUFU Su-laiman, BATUER Abuli-kemu

(Department of Food Science and Pharmacy of Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

Abstract: In order to promote the degradation of muscle protein of dry-cured mutton ham, accelerate the process of air-drying, shorten the processing cycle, and improve the quality of mutton ham, zingibain and actinidin were added in dry-cured mutton ham. The fresh mutton hind leg meat with bone were used as experimental materials, and a control group and two test groups were designed respectively for the experiment. The control group did not take the treatment, and the experimental group added 0.05% of zingibain and actinidin respectively, and dried under the corresponding conditions; and the protein degradation indicators such as Total nitrogen (TN) contents, Non-protein nitrogen (NPN) and Proteolysis index (PI) of dry-cured mutton ham were measured. SDS-PAGE (polyacrylamide gel electrophoresis) was used to analyze the degradation of muscle protein in dry-cured mutton ham. The results showed that compared with the control group, the TN content of the actinidin treatment group and the zingibain treatment group increased by 1.2 times and 1.3 times respectively after dry ripening, the NPN content increased by 1.5 times and 1.7 times respectively, and the PI increased by 1.2 times and 1.3 times respectively; SDS-PAGE analysis showed that the protein degradation efficiency of zingibain was better than actinidin. The Proteolysis index and SDS-PAGE electrophoresis results showed that the degradation degree of muscle protein of zingibain was higher than actinidin.

Key words: zingibain; actinidin; dry cured mutton ham; protein degradation; SDS-PAGE

生姜蛋白酶在食品工业中的应用主要是嫩肉剂、

收稿日期: 2018-08-17

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目 (31260381); 国家科技计划项目 (2014BAD04B0)

作者简介: 阿尔祖古丽·阿卜杜外力 (1992-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 畜产品加工

通讯作者: 巴吐尔·阿不力克木 (1968-), 男, 教授, 研究方向: 肉品加工与质量控制

酒澄清剂、乳制品凝固剂以及大豆蛋白粉等食品添加剂^[1,2]。生姜蛋白酶用于肉制品嫩化, 不仅可以提高嫩度, 还可以使其具有良好的风味, 它是通过降解肌原纤维, 导致肌原纤维的断裂而提高肉类的嫩度^[3,4]。俞沛初等^[5]通过对鸡肉、牛肉中添加不同剂量生姜汁实验, 初步探明生姜汁对肉类有明显的致嫩效果。唐晓珍^[6]报道了生姜汁和生姜蛋白酶对猪肉的嫩化效果, 并指出生姜汁可以直接在肉类嫩化中应用, 确定了生

姜蛋白酶嫩化猪肉的最适条件。Naveena 等^[7]研究了姜汁对印度水牛肉的嫩化效果,结果表明,姜汁处理增加了肉样胶原蛋白溶解度,促进了肌浆蛋白以及肌原纤维蛋白的分解,降低了剪切力,肌肉蛋白质的电泳图中蛋白条带数量减少,表明生姜蛋白酶具有广泛的蛋白水解能力。孙国梁等^[8]研究了生姜蛋白酶对牛肉的嫩化效果试验,对酶用量、pH 值、处理温度、处理时间进行了测试,结果表明,生姜蛋白酶对牛肉的嫩化效果十分显著,通过正交试验确定生姜蛋白酶对牛肉嫩化的最佳工艺条件:酶用量为 0.06%,pH 为 7.0,处理温度为 50℃,处理时间为 2 h。

猕猴桃蛋白酶可用作为嫩肉剂、酒澄清剂等,也可用于新鲜奶酪的生产^[9];而且它可以代替木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶用作啤酒澄清剂^[10]。近年来,有些学者已报道,猕猴桃蛋白酶在肉类嫩化的初步应用,并研究证明猕猴桃蛋白酶比木瓜蛋白酶具有更好的嫩化效果^[11,12];Aminlari 等^[13]研究猕猴桃蛋白酶对牛肉的影响,发现猕猴桃蛋白酶对牛肉作用比其他植物巯基蛋白酶要温和。Han 等^[14]研究发现用猕猴桃汁对腌肉制品具有嫩化效果。猕猴桃蛋白酶还具有助于防止果冻凝固、美容祛斑等功能^[15]。目前,市场上的嫩肉粉主要由菠萝蛋白酶、木瓜蛋白酶、生姜蛋白酶以及无花果蛋白酶制作而成的,均含巯基肽链内切酶,具有蛋白酶和酯酶的活性,有较广泛的特异性,对动植物蛋白、多肽、酯、酰胺等有较强水解能力以及合成功能,能把蛋白水解物合成为类蛋白质^[16]。但国内对于猕猴桃蛋白酶的研究鲜少,因此对猕猴桃蛋白酶的研究利用,不仅可以开发利用天然资源,也为其在食品领域的应用提供理论依据,增加新的酶源。

干腌羊火腿是通过选料,经修整腿坯、低温腌制、洗脱、风干、发酵和成熟等一系列过程制作而成,并其独特的风味日益受消费者欢迎。但因产品加工周期长、成本高、受特殊地区气候条件限制,会影响火腿工业化生产。目前有关干腌火腿的研究主要集中在改善其生产工艺和内原酶对其风味的影响方面^[17];而利用外源酶,提高其嫩度并缩短加工成熟期的研究尚未报道。

本实验以新鲜绵羊后腿为材料,添加生姜蛋白酶和猕猴桃蛋白酶等植物蛋白酶,通过检测 TN 含量、NPN 含量和 PI 等蛋白质降解指标,结合 SDS-PAGE 电泳分析其对肌肉蛋白质降解的影响,为日后干腌羊火腿的工业化生产以及工艺改进提供理论支撑。

1 材料与方

1.1 材料与试剂

原料肉:选用新疆巴什拜羊,6~9 月龄公羊鲜后腿,由新疆谢利盖畜牧有限公司购置。

生姜蛋白酶(酶活力 ≥ 800 U/mg)和猕猴桃蛋白酶(酶活力 ≥ 500 U/mg),购自上海鼓臣生物技术有限公司。

药品试剂:二水合磷酸二氢钠、十二水合磷酸氢二钠、磷酸二氢钾、氯化镁、氯化钾、EGTA、迭氮钠、Triton-X-100、氯化钠、Tris、盐酸、甘油、SDS、 β -巯基乙醇、溴酚蓝、甲醇、冰醋酸、考马斯亮蓝 R-250、丙烯酰胺、甲叉双丙烯酰胺、过硫酸铵,TEMED 等。

1.2 仪器与设备

85-2A 双向恒温磁力搅拌器,金坛市医疗仪器厂;DK-8D 电热恒温水槽,上海一恒科技有限公司;BECKMAN Avanti-J-26S XPI 落地式高速冷冻离心机,美国 Beckman Coulter 有限公司;FSH-2 可调高速匀浆机,武汉格莱莫检测设备有限公司;Food ALYT D4000 凯氏定氮仪,德国 OMNILAB-LABORZENTRUM GmbH & Co.KG 公司;DYY-7C 型电泳仪,北京市六一仪器厂;TY-80R 脱色摇床,金坛市医疗仪器厂;200L-1200L 真空滚揉机,诸城信通食品机械有限公司。

1.3 方法

1.3.1 干腌羊火腿加工及制样

鲜羊后腿(2.5~3.0 kg 左右)→冷却修整(去除可见脂肪并修胚)→腌制(3%食盐、0.01%亚硝酸钠、0.5%蔗糖,4~8℃,3 d)→酶处理(分三组,每组 3 个重复,一组为对照组(注射 10 mL 蒸馏水作对照),一组注射 0.05%的猕猴桃蛋白酶,一组注射 0.05%的生姜蛋白酶,注射前将两个蛋白酶粉末分别溶解在 10 mL 蒸馏水中,用医用注射器注射,并滚揉,50℃下处理 1.5 h)→浸泡洗刷(4℃的水,浸泡 2 h)→吊挂风干(前期风干:10~12℃、RH 80%~85%、风速 0.8 m/s、5 d,中期风干:10~12℃、RH 75%~80%、风速 0.8 m/s、7 d,后期风干:14~15℃、RH 75%~85%、风速 0.8 m/s、8 d)→成熟(16~18℃、RH 70%~75%、风速 0.5 m/s、7 d)→成品

以上过程共需 30 d。

1.3.2 取样阶段

以羊腿股二头肌为取样点,每组分别从原料腿(0 d)、腌制结束(3 d)、风干前期(8 d)、风干中期(15 d)、风干后期(23 d)、成熟期(30 d)等六个工艺点取样,置于-20℃冷冻保藏,以备各指标的测定。

1.3.3 肌浆蛋白的提取

肌浆蛋白的提取参考 Molina I 等^[18]的方法: 准确称取 5 g 肉样, 加入 15 mL 0.2 mol/L, pH 6.5 的 PBS (甲液: $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 31.21 g/L; 乙液: $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 71.64 g/L; 甲:乙=1:2) 混合均匀, 在冰浴条件下 4000 r/min 匀浆 10 min 后, 再 10000 r/min 4 °C 离心 20 min, 上清液即为肌浆蛋白提取液。

1.3.4 肌原纤维蛋白的提取

参考 Fadda S 等^[19]的方法并略作修改。第一步: 取 5 g 肉样剪碎于 50 mL 离心管中, 加 15 mL 标准盐溶液 (100 mmol/L KCl、20 mmol/L KH_2PO_4 、2 mmol/L $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、2 mmol/L EGTA、1 mmol/L NaN_3) 匀浆 20 s, 2000 r/min 离心 15 min, 弃上清 (含 CAF 和肌浆蛋白), 此步骤重复 4 次; 第二步: 向沉淀中加 15 mL 标准盐溶液+1% Triton X-100 匀浆 10 s, 离心 4000 r/min 离心 10 min, 弃上清取沉淀, 并重复 3 次; 第三步: 沉淀中加入 10 mL, 0.01 mol/L KCl 溶液, 用玻璃棒剧烈搅拌, 4000 r/min 离心 10 min, 重复 3 次; 第四步: 沉淀中加入 8 倍体积的 100 mmol/L NaCl 溶液, 剧烈震荡, 使沉淀悬浮于溶液中, 4000 r/min 离心 5 min, 取沉淀, 重复两次; 沉淀即为肌原纤维蛋白。

1.3.5 蛋白质降解指数的测定

蛋白质水解指数(PI): 是指 NPN 占 TN 的百分比。
TN 含量测定: 参照 GB5009.5-2016 凯氏定氮法。
NPN 含量测定: 参考朱健辉^[20]的方法, 并略作修改。将样品自然解冻后, 剔除可见脂肪和结缔组织, 切碎, 称取 5 g 左右 (精确到 0.01 g) 于 50 mL 离心管中, 加入 40 mL 蒸馏水, 高速匀浆机匀浆 3 次, 于 4 °C 下放置 1 h 后, 3000 r/min 离心 15 min, 用快速滤纸过滤, 取 10 mL 滤液加入等体积的 10% 三氯乙酸混合均匀, 室温静置 30 min, 2500 r/min 离心 15 min, 过滤, 取 10 mL 滤液用凯氏定氮消化。

1.3.6 SDS-PAGE 电泳

取肌原纤维沉淀加入 2 倍体积的蒸馏水, 用高速匀浆机匀浆 15 min, 4 °C 过夜。分别取肌浆蛋白和肌原纤维蛋白样品 400 μL , 加入 100 μL 5×的 SDS-PAGE 样品处理液 (10 mL 0.06 mol/L Tris-HCl, pH 6.8, 5 mL 甘油, 1 g SDS, 2.5 mL β -巯基乙醇, 0.05 mg 溴酚蓝, 加蒸馏水定容至 50 mL), 混匀, 在沸水中煮沸 5 min, 冷藏备用, 在使用前再加热 2 min。

分离胶浓度为 12%, 浓缩胶浓度为 5%, 进样量为 10 μL , 电泳槽中加入电泳缓冲液 (Tris 3.04 g、甘氨酸 14.42 g、SDS 1 g、用蒸馏水溶解、调 pH 8.3 后定容至 1000 mL), 开始电压为 80 V, 进入分离胶后电压加大至 170 V, 需 1~2 h。

电泳结束后, 取出凝胶于染色液 (甲醇:冰醋酸:水=4:1:5, 0.1% 考马斯亮蓝 R-250) 中, 并置于摇床上染色 40 min。

染色完后倒掉废液加入脱色液 (甲醇:冰醋酸:水=1:1:8), 在脱色摇床上进行脱色至背景清晰。

1.3.7 数据统计与分析

采用 Microsoft Excel 软件进行数据统计分析, 用 SPSS19.0 软件进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 不同酶处理对蛋白质降解指数的影响

2.1.1 对 TN 含量的影响

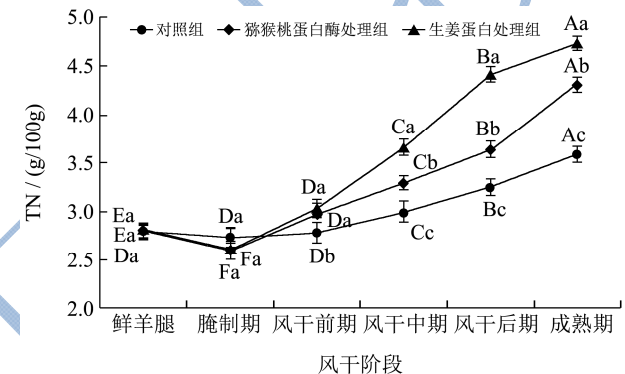


图1 在风干过程中干腌羊火腿 TN 含量的变化

Fig.1 Changes in total nitrogen content of dry-cured mutton ham during drying processing

注: 大写字母表示组内显著性差异, 小写字母表示组间显著性差异, 不同字母表示显著差异 ($p < 0.05$)。下图同。

由图 1 可知, 随着风干阶段的延长, 各组干腌羊火腿 TN 含量总体呈上升趋势。腌制期各组 TN 含量呈下降趋势, 这可能是上盐过程中水溶性蛋白不断流失所引起的; 而在后期加工过程中逐渐回升, 这是与 Buscaillon^[21]的研究结果一致。猕猴桃蛋白酶处理组和生姜蛋白酶处理组羊火腿的 TN 含量显著高于对照组, 说明外源植物蛋白酶可以促进羊火腿肌肉蛋白质的降解^[22]。干腌羊火腿到成熟期时, 对照组、猕猴桃蛋白酶处理组和生姜蛋白酶处理组 TN 含量分别为 3.59 g/100 g、4.32 g/100 g 和 4.73 g/100 g, 其中生姜蛋白酶处理组 TN 含量最高, 是对照组的 1.3 倍, 差异显著 ($p < 0.05$); 其次是猕猴桃蛋白酶处理组, 是对照组的 1.2 倍; 说明生姜蛋白酶对干腌羊火腿肌肉蛋白质降解的影响比猕猴桃蛋白酶要大。

2.1.2 对 NPN 的影响

随着风干阶段的延长, 各组干腌羊火腿 NPN 氮含量呈上升趋势 (图 2)。猕猴桃蛋白酶处理组和生姜蛋白酶处理组干腌羊火腿 NPN 含量显著高于对照组,

说明外源植物蛋白酶能促进蛋白质降解成小肽和游离氨基酸,使 NPN 呈现逐渐增加趋势^[23]。干腌羊火腿到成熟期时,对照组、猕猴桃蛋白酶处理组、生姜蛋白酶处理组的 NPN 含量从鲜羊腿的 0.20 g/100 g 分别上升为 0.59 g/100 g、0.90 g/100 g、0.99 g/100 g。由此可知,生姜蛋白酶处理组 NPN 含量比其余两组要高,是对照组的 1.7 倍;猕猴桃蛋白酶处理组 NPN 含量为对照组的 1.5 倍;说明两种植物蛋白酶都能不同程度促进蛋白质降解成小肽和游离氨基酸,从而增加 NPN 含量;且生姜蛋白酶的降解速度较猕猴桃蛋白酶快。

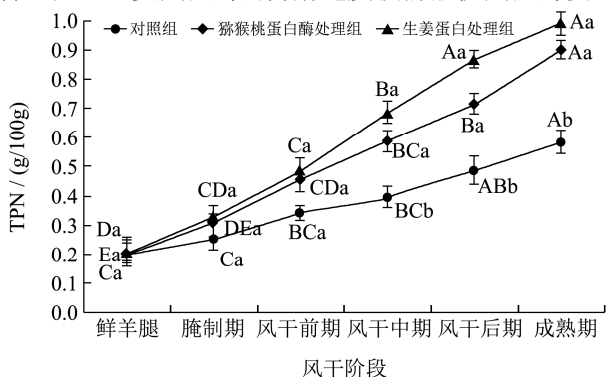


图2 在风干过程中干腌羊火腿 NPN 含量的变化

Fig.2 Changes in non-protein nitrogen content of dry-cured mutton ham during drying processing

2.1.3 对 PI 的影响

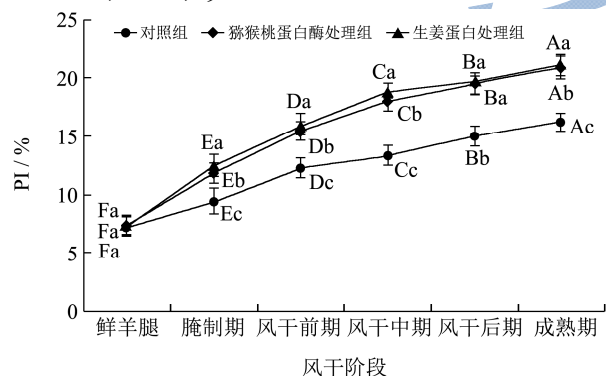


图3 在风干过程中干腌羊火腿 PI 的变化

Fig.3 Changes in proteolysis index of dry-cured mutton ham during drying process

由图3可知,随着风干阶段的延长,干腌羊火腿 PI 呈上升趋势。猕猴桃蛋白酶处理组和生姜蛋白酶处理组干腌羊火腿 PI 显著高于对照组,并在各阶段差异显著 ($p < 0.05$)。干腌羊火腿到成熟期时,对照组、猕猴桃蛋白酶处理组、生姜蛋白酶处理组的 PI 从鲜羊腿的 7.18% 分别上升为成熟期的 16.30%、20.83%、21.06%等;与对照组相比,猕猴桃蛋白酶处理组和生姜蛋白酶处理组分别上升了 1.27 倍和 1.29 倍;说明两种蛋白酶都在不同程度上提高了干腌羊火腿的 PI,而且生姜蛋白酶处理组的降解程度较大^[24]。

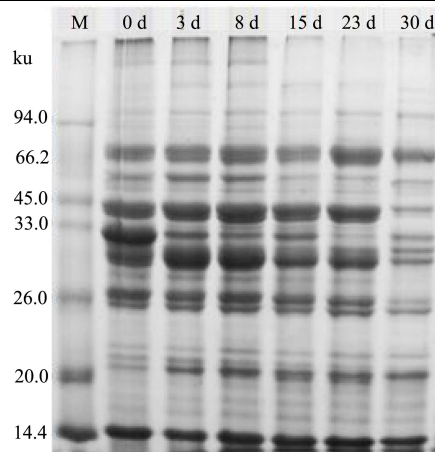


图4 风干过程中对照组干腌羊火腿肌浆蛋白的 SDS-PAGE 电泳图

Fig.4 SDS-PAGE of sarcoplasmic protein of dry cured mutton ham of control group during drying process

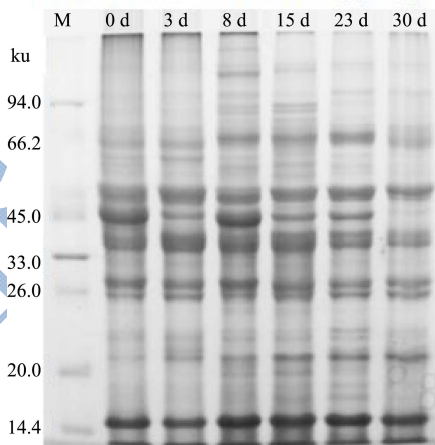


图5 风干过程中猕猴桃蛋白酶处理组干腌羊火腿肌浆蛋白的 SDS-PAGE 电泳图

Fig.5 SDS-PAGE of sarcoplasmic protein of dry cured mutton ham of actinidin treatment group during drying process

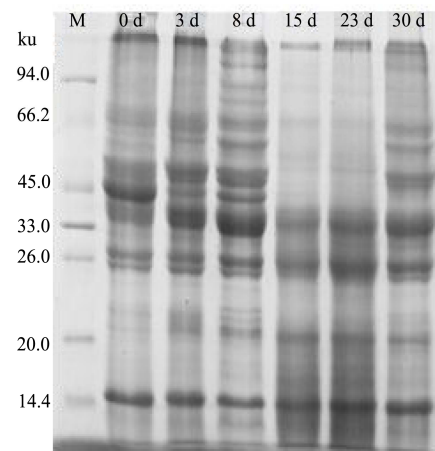


图6 风干过程中生姜蛋白酶处理组干腌羊火腿肌浆蛋白的 SDS-PAGE 电泳图

Fig.6 SDS-PAGE of sarcoplasmic protein of dry cured mutton ham of zingibain treatment group during drying process

2.2 不同酶处理对肌浆蛋白的影响

由图 4 可知, 对照组干腌羊火腿在风干过程中, 肌浆蛋白发生了降解; 分子量 66.2 ku~26.0 ku 处的蛋白条带逐渐变细, 但变化不大, 而到成熟期 (30 d) 时明显变细; 20.0 ku 处的蛋白条带逐渐变粗; 14.4 ku 处的条带变化不明显。分子量为 66.2 ku 和 45.0 ku 中间出现的条带, 随着风干过程的延长逐渐变弱; 33.0 ku 和 26.0 ku 中间的条带逐渐变暗甚至消失; 26.0 ku~20.0 ku 和 20.0 ku~14.4 ku 中间的出现的条带逐渐变粗、颜色加深, 这与高分子蛋白降解产生新的蛋白片段有关。

由图 5 可知, 在风干过程中, 猕猴桃蛋白酶处理组干腌羊火腿肌浆蛋白发生了降解现象, 而且降解程度较对照组大。整体来看, 猕猴桃蛋白酶处理组干腌羊火腿的蛋白条带较对照组暗; 分子量 66.2 ku~45.0 ku 和 33.0 ku~26.0 ku 中间小的蛋白条带已消失; 45.0 ku~33.0 ku 中间的条带逐渐变细, 到成熟期 (30 d) 时消失; 20.0 ku 附近的条带逐渐变粗; 说明猕猴桃蛋白酶可以降解干腌羊火腿的高分子蛋白成低分子蛋白 [25]。

由图 6 可知, 生姜蛋白酶处理组干腌羊火腿的肌浆蛋白随着风干过程的延长发生了降解, 且降解程度较对照组和猕猴桃蛋白酶处理组。分子量为 62.0 ku 处的蛋白片段逐渐变弱, 并下面出现了小的条带; 45.0 ku 处的蛋白条带逐渐变弱甚至消失; 26.0 ku, 20.0 ku, 14.4 ku 附近条带有所增加; 说明生姜蛋白酶可以对干腌羊火腿肌浆蛋白产生降解作用, 并且降解程度较猕猴桃蛋白酶强。

2.3 不同酶处理对肌原纤维蛋白的影响

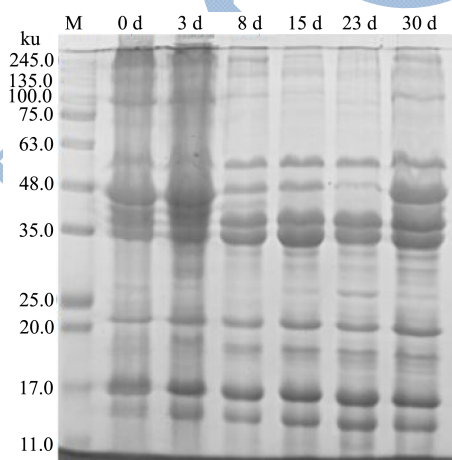


图 7 风干过程中对照组干腌羊火腿肌原纤维蛋白的 SDS-PAGE 电泳图

Fig.7 SDS-PAGE of myofibrillar protein of dry cured mutton ham of control group during drying process

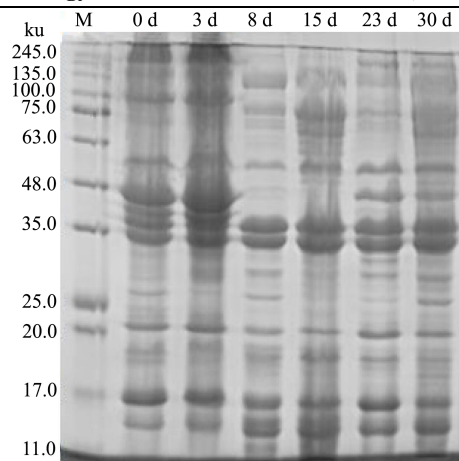


图 8 风干过程中猕猴桃蛋白酶处理组干腌羊火腿肌原纤维蛋白的 SDS-PAGE 电泳图

Fig.8 SDS-PAGE of myofibrillar protein of dry cured mutton ham of actinidin treatment group during drying process

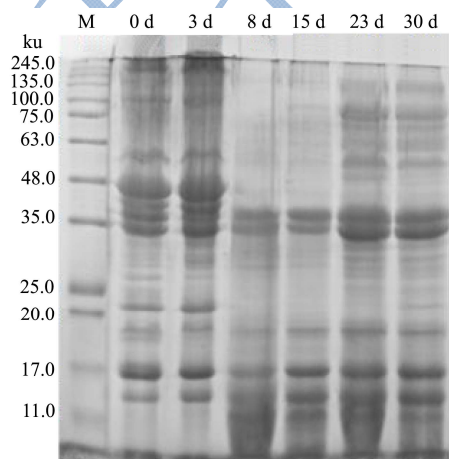


图 9 风干过程中生姜蛋白酶处理组干腌羊火腿肌原纤维蛋白的 SDS-PAGE 电泳图

Fig.9 SDS-PAGE of myofibrillar protein of dry cured mutton ham of zingibain treatment group during drying process

由图 7 得知, 对照组干腌羊火腿的肌原纤维蛋白发生了降解, 但降解程度不大。分子量为 63.0 ku~48.0 ku 和 48.0 ku~35.0 ku 中间出现蛋白条带逐渐变粗; 35.0 ku~25.0 ku 中间出现了很多小的蛋白条带; 25.0 ku~20.0 ku、20.0 ku~17.0 ku 和 17.0 ku~11.0 ku 中间产生的蛋白条带逐渐变粗, 颜色也逐渐加深, 说明高分子蛋白降解产生了新的蛋白片段。

由图 8 可知, 随着风干过程的延长, 猕猴桃蛋白酶处理组干腌羊火腿的肌原纤维蛋白发生了降解情况, 而且降解程度明显大于对照组。分子量为 63.0 ku~48.0 ku 和 48.0 ku 附近的蛋白条带逐渐变细; 35.0 ku~25.0 ku 中间的蛋白条带有所增加, 颜色也逐渐变深; 25.0 ku~20.0 ku 中间的蛋白条带逐渐变细;

17.0 ku 附近的蛋白条带逐渐变粗;说明猕猴桃蛋白酶可以降解干腌羊火腿的肌原纤维蛋白。

由图 9 可知, 生姜蛋白酶处理组干腌羊火腿肌原纤维蛋白的降解程度较大, 并且比对照组和猕猴桃蛋白酶处理组高。分子量为 63.0 ku~48.0 ku 的蛋白条带逐渐变弱; 48.0 ku 附近的条带逐渐消失; 35.0 ku~25.0 ku 中间的蛋白条带到风干后期(23 d)和成熟期(30 d)时明显增加; 25.0 ku 附近的蛋白条带逐渐变细甚至消失; 20.0 ku 附近的条带颜色逐渐加深; 17.0 ku~11.0 ku 中间产生的蛋白条带逐渐变粗; 说明生姜蛋白酶处理可以促进干腌羊火腿蛋白质的降解^[26]。

3 结论

生姜蛋白酶和猕猴桃蛋白酶对干腌羊火腿肌肉蛋白质降解的影响显著。通过检测蛋白质降解指标, 并 SDS-PAGE 电泳分析发现, 猕猴桃蛋白酶和生姜蛋白酶都可以促进干腌羊火腿肌肉蛋白质的降解; 研究结果发现, 生姜蛋白酶的降解效率较猕猴桃蛋白酶强。

参考文献

- [1] 高晓东. 多种生姜有效成分的联合提取及生姜蛋白酶的膜分离技术[D]. 泰安: 山东农业大学, 2013
Gao Xiao-dong. Combined extraction of various ginger active ingredients and separation of ginger protease membrane [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2013
- [2] Gonzál b N, Badillo-Corona J A, Aranda-Barradas J S, et al. Production of plant proteases *in vivo* and *in vitro*-a review[J]. *Biotechnology Advances*, 2011, 29(6): 983-996
- [3] 乔园园. 生姜蛋白酶的纯化及其在红葡萄酒澄清中的应用研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2009
Qiao Yuan-yuan. Purification of ginger protease and its application in clarification of red wine [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2009
- [4] KYUNG H, CHOI RICHARD A, LAURSEN. Amino-acid sequence and glycan structures of cysteine proteases with proline specificity from ginger rhizome *Zingiber officinale* [J]. *Eur. J. Biochem*, 2000, 267: 1516-1526
- [5] 俞沛初, 胡一匡, 顾金龙, 等. 生姜汁对肉类致嫩效应初探[J]. *上海交通大学学报(农业科学版)*, 1994, 2: 96-99
YU Pei-chu, HU Yi-kuang, GU Jin-long, et al. The initial effect of ginger juice on meat tenderness [J]. *Journal of Shanghai Jiaotong University, Agricultural Sciences*, 1994, 2: 96-99
- [6] 唐晓珍, 黄雪松, 王明林, 等. 生姜蛋白酶和生姜汁对猪肉嫩化效果的比较[J]. *山东农业大学学报(自然科学版)*, 2003, 34(1): 15-18
TANG Xiao-zhen, HUANG Xue-song, WANG Ming-lin, et al. Comparison of the effects of ginger protease and ginger juice on the tenderization of pigs [J]. *Journal of Shandong Agricultural University*, 2003, 34(1): 15-18
- [7] NAVEENA B M, MENDIRATTA S K. Tenderisation of spent hen meat using ginger extract [J]. *Br Poult Sci*, 2001, 42(3): 344-349
- [8] 孙国梁. 生姜蛋白酶的提取及其在牛肉嫩化中的应用研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2008
SUN Guo-liang. Extraction of ginger protease and its application in beef tenderization [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2008
- [9] Katsaros G I, Tavantzis G, Taoukis P S, et al. Production of novel dairy products using actinidin and high pressure as enzyme activity regulator [J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2010, 11(1): 47-51
- [10] Kaur L, Rutherford S M, Moughan P J, et al. Actinidin enhances gastric protein digestion as assessed using an *in vitro* gastric digestion model [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2010, 58(8): 5068
- [11] 王海丽. 软枣猕猴桃蛋白酶的提取分离与嫩化牛肉效果的研究[D]. 延吉: 延边大学, 2013
WANG Hai-li. Study on the extraction and separation of soft kiwifruit protease and tenderized beef [D]. Yanji: Yanbian University, 2013
- [12] Kaur L, Rutherford S M, Moughan P J, et al. Actinidin enhances protein digestion in the small intestine as assessed using an *in vitro* digestion model [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2010, 58(8): 5074
- [13] Aminlari M, Shekarforoush S S, Gheisari H R, et al. Effect of actinidin on the protein solubility, water holding capacity, texture, electrophoretic pattern of beef, and on the quality attributes of a sausage product [J]. *Journal of Food Science*, 2009, 74(3): 221-6
- [14] Han J, Morton J D, Bekhit A E, et al. Pre-rigor infusion with kiwifruit juice improves lamb tenderness [J]. *Meat Science*, 2009, 82(3): 324
- [15] Hashim M M, Mingsheng D, Iqbal M F, et al. Ginger rhizome as a potential source of milk coagulating cysteine protease [J]. *Phytochemistry*, 2011, 72(6): 458-464
- [16] Kamphuis I G, Drenth J, Baker E N, et al. Thiol proteases: Comparative studies based on the high-resolution structures of papain and actinidin, and on amino acid sequence

- information for cathepsins B and H, and stem bromelain [J]. *Journal of Molecular Biology*, 1985, 182(2): 317
- [17] 甘春生.外源酶调控火腿片成熟技术的研究[D].无锡:江南大学,2010
GAN Chun-sheng. Study on the technology of exogenous enzymes regulating the ripening of ham slices [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2010
- [18] Molina I, Toldra F. Detection of proteolytic activity in microorganisms isolated from dry-cured ham [J]. *Journal of Food Science*, 1992, 57(6): 1308-1310
- [19] Fadda S, Sanz Y, Vignolo G, et al. Characterization of muscle sarcoplasmic and myofibrillar protein hydrolysis caused by *Lactobacillus plantarum* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1999, 65(8): 3540-3546
- [20] 朱健辉.不同等级金华火腿蛋白质和脂肪水解产物与挥发性风味物质分析[D].南京:南京农业大学,2005
ZHU Jian-hui. Analysis of protein and fat hydrolysate and hair flavor substances of different grades of Jinhua ham [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2005
- [21] Buscaillon S, Monin G, Cornet M, et al. Time-related changes in nitrogen fractions and free amino acids of lean tissue of fresh dry-cured ham [J]. *Meat Science*, 1994, 37(3): 449
- [22] 王海丽,金清,杨震,等.软枣猕猴桃粗蛋白酶的提取研究[J]. *食品科技*, 2013, 4: 277-280
WANG Hai-li, JIN Qing, YANG Zhen, et al. Extraction of crude protease from kiwifruit of soft jujube [J]. *Food Science and Technology*, 2013, 4: 277-280
- [23] Soriano A, Garcia R A, Gomez E, et al. Lipolysis, proteolysis, physicochemical and sensory characteristics of different types of Spanish ostrich salchichon [J]. *Meat Science*, 2007, 75(4): 661
- [24] 黄冬香,李小华,李林,等.生姜蛋白酶的研究进展及其在食品加工中的应用[J]. *食品工业科技*, 2009, 12: 406-409
HUANG Dong-xiang, LI Xiao-hua, LI Lin, et al. Research progress of ginger protease and its application in food processing [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2009, 12: 406-409
- [25] Wada M, Hosaka M, Nakazawa R, et al. The solubilization of unheated cattle achilles tendon with actinidin under neutral and acidic conditions [J]. *Food Science & Technology International Tokyo*, 2004, 10(1): 35-37
- [26] 黄彩燕,张松山,韩玲,等.植物蛋白酶在肉类嫩化中的应用研究进展[J]. *食品与发酵科技*, 2017, 53(4): 88-91
HUANG Cai-yan, ZHANG Song-shan, HAN Ling, et al. Advances in the application of plant proteases in meat tenderization [J]. *Food and Fermentation Technology*, 2017, 53(4): 88-91