

不同压力条件下蛋清蛋白结构和凝胶性的比较分析

吕静, 刘亚平, 党润卿, 金永国, 马美湖

(华中农业大学食品科技学院, 国家蛋品加工技术研发分中心, 湖北武汉 430070)

摘要: 针对传统蛋制品中卤蛋、咸蛋、皮蛋需要较长加工时间的问题, 为提高加工效率和产品质量, 本研究选择常压、高压、脉动压三种加工方式, 在无盐和含盐的条件下对鸡蛋进行处理, 对比分析蛋清含盐量、表面疏水性、一级和二级结构变化以及蛋清蛋白的凝胶特性。发现脉动压处理后蛋清的含盐量是未处理的 2.10 倍; 压力、温度和盐的共同作用使表面疏水性增加, 其中, 脉动压处理后酰胺 II 带波长红移至 1520 cm^{-1} , α -螺旋和无规则卷曲含量减少, β -折叠含量增多; NaCl 会降低蛋清的凝胶性, 与高压处理对比, 脉动压能够相对改善 NaCl 带来的不利影响; 脉动压处理后的蛋清凝胶的弹性提高至 1.02, T_{21} 弛豫时间降低至 25.79 ms、微观结构得到较大改善。因此, 脉动压可以提高蛋制品的加工效率和质量, 为其投入生产应用提供一定的理论依据。

关键词: 脉动压; 蛋清蛋白; 微观结构; 凝胶

文章编号: 1673-9078(2020)06-46-53

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.6.1208

Comparative Analysis of the Structure and Gelation of Egg White Protein under Different Pressure Conditions

LYU Jing, LIU Ya-ping, DANG Run-qing, JIN Yong-guo, MA Mei-hu

(College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: For traditional egg products, marinated egg, salted eggs, and preserved eggs usually require a long processing time. To improve processing efficiency and product quality, three processing methods were selected: atmospheric pressure, high pressure, and pulsed pressure in this study. Under salt-free and salt-containing conditions, the salt content of egg whites, surface hydrophobicity, changes in primary and secondary structure, and gel characteristics of egg white proteins were compared and analyzed. It was found that the salt content of egg white after pulsed pressure treatment was 2.10 ± 0.23 times of that of the untreated; The combined effect of pressure, temperature and salt increased the surface hydrophobicity of egg white proteins, the wavelength of amide II band red-shifted to 1520 cm^{-1} after pulsating pressure treatment, the content of α -helix and random curl decreased, and the content of β -sheet increased; NaCl treatment can reduce the gelability of egg whites, Compared with high pressure treatment, pulsed pressure can relatively improve the adverse effects of NaCl; The Springiness of the egg white gel after pulsed pressure treatment was increased to 1.02, the T_{21} relaxation time was reduced to 25.79 ms, and the microstructure was greatly improved. Therefore, the pulsed pressure can improve the processing efficiency and quality of egg products, and provide a certain reference for its application in production.

Key words: pulsed pressure; egg white protein; microstructure; gel properties

引文格式:

吕静,刘亚平,党润卿,等.不同压力条件下蛋清蛋白结构和凝胶性的比较分析[J].现代食品科技,2020,36(6):46-53

LYU Jing, LIU Ya-ping, DANG Run-qing, et al. Comparative analysis of the structure and gelation of egg white protein under different pressure conditions [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(6): 46-53

在传统蛋制品生产过程中, 如何提高生产效率和产品质量一直是工业化生产过程中的重难点, 各种各样的辅助加工手段已经被开发出来, 其中压力则是一种常用的辅助手段。不仅应用于蛋制品, 作为促进蛋

收稿日期: 2019-12-08

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31571784)

作者简介: 吕静 (1995-), 女, 硕士生, 研究方向: 畜产品加工理论与技术

通讯作者: 马美湖 (1957-), 男, 教授, 研究方向: 肉类蛋品科学研究

白凝胶增加肉类嫩度的方法, 高压处理还被广泛运用到食品加工的方方面面。铃木^[1]等研究发现 100 MPa 至 300 MPa 的压力处理可以提高肉的嫩度, Sikes^[2]等发现 400 MPa 压力有利于蛋白质溶解来增强结合作用, 并通过部分蛋白质展开产生胶凝作用。Cao 等人研究发现高压可能诱导水渗入蛋白质内部并引起蛋白质链“水合”, 这可能会影响蛋白质的变性, 展开和聚集^[3]。

事实上,仅高压处理虽然会引起蛋白质的变性和胶凝,但由于压力下诱导胶凝作用的主要化学作用力是非共价键,所以一般只会形成不稳定的弱凝胶^[4]。为增强凝胶性,热处理常作为辅助方法常与高压加工一起处理肉蛋制品。Zheng^[5]等研究发现高压和加热同时处理肌原纤维蛋白时,高压通过抵抗热诱导的蛋白变性和胶凝作用来改变凝胶特性;而高压在加热之前处理时,通过促进蛋白变性来改变凝胶特性。

但过高的压力同样需要非常严格的生产条件,生产成本也因此而升高,并不能更好的优化传统蛋制品的工业生产方式。与高压处理不同,脉动压加工中使用的最高压力远低于超高压的一般压力。作为一种间歇式加压的循环加工方法,脉动压通过改变压力大小产生压力差,促进盐等小分子物质在食品中的渗透^[6],可以有效缩短加工时间,增加渗透效率^[7]。脉动压加工在生产应用中也已经有了一些应用,王石泉^[8]等人用脉动压结合超声波的方法进行了咸蛋的快速腌制,郭策^[9]、王俊钢^[10]等人对脉动压技术腌制皮蛋进行过工艺优化,这些文献都证明了脉动压对提高生产效率和产品的质量具有积极作用,但造成这一结果的原因和机制目前却没有相关文献报道。因此,本研究采用常压、高压、脉动压三种加工方法,分别在无盐和含盐的腌制液中对鲜蛋进行加工,通过分析蛋清含盐量、表面疏水性、一级结构和二级结构,以及蛋清蛋白凝胶的保水率、质构变化和微观结构,对比分析三种不同的加工方式对蛋清凝胶造成的影响及其机制,为脉动压加工蛋制品提供科学的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鸡蛋采购自武汉九峰养鸡场;氯化钠(食品级);考马斯亮蓝 R-250;牛血清白蛋白(分析纯);8-苯胺-1-萘磺酸(8-Anilino-1-naphthalenesulfonic acid, ANS)国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

分析天平 AR2140,美国 Ohaus 公司;Mli-Q 超纯水系统,40L Milford 公司;高速分散均质机, FJ-200 上海标本厂;真空冷冻干燥机 Alpha 1-4 LSC,德国 Christ 公司;电子盐度计 AZ8371,台湾衡欣;荧光分光光度计 RF-5301 pc,日本岛津仪器公司;傅里叶变换红外光谱仪 IS50,美国尼高力仪器公司;CD 圆二色光谱仪 J-1500,日本 Jasco 公司;台式扫描电子显微镜 TM3030,日本 Hitachi 公司。

1.3 方法

1.3.1 样品制备

挑选重量为(55±5)g的鸡蛋,清洗干净并晾干,将其放入脉动压腌制釜中,使溶液刚好淹没鸡蛋,腌制液分为不含 NaCl 的溶液和含有 1.5% NaCl 的溶液共两种^[11],温度为 45 °C,总加工时间为 36 h。压力调节介质为空气,其中加压速度为 5 kPa/s,减压速度为 60 kPa/s。根据刘成江等人的实验条件进行调整后^[11],不同样品处理条件如下:

常压组的压力条件为 1 kPa。

高压组的压力条件为 180 kPa。

脉动压组的压力循环条件为常压 1 kPa 保持 5 min,高压 180 kPa 保持 25 min。

将处理好的样品在 4 °C 的条件下存储过夜,其中一部分取出分离得到蛋清液备用,另一部分于 90 °C 的条件下加热 45 min 得到蛋清凝胶备用。

1.3.2 含盐量的测定

将分离后的蛋清用超纯水稀释至 1 mg/mL,在 25 °C 的条件下,使用电子盐度计测量溶液中的含盐量,所有分析在相同实验条件下进行三次。

1.3.3 表面疏水性的测定

根据 Benjakul 等人的方法测定蛋白质表面疏水性^[12],使用 8-苯胺-1-萘磺酸(ANS)作为探针。将 4 mL 蛋白溶液(浓度范围为 0 至 0.30 mg/mL)加入到 20 μL、8 mmol/L 的 ANS 溶液(50 mmol/L 磷酸盐缓冲液, pH 7.0),涡旋震荡充分混合,避光反应 15 min。使用荧光分光光度计测定激发波长为 374 nm 和发射波长为 485 nm 处的荧光强度,荧光强度对蛋白质浓度曲线的初始斜率是蛋白质分子的表面疏水性。

1.3.4 结构分析

1.3.4.1 凝胶电泳测定

根据 BCA 法测定蛋白质浓度,将蛋清稀释至最终蛋白质浓度为 2 mg/mL。将稀释的样品与 SDS-PAGE 样品缓冲液混合(1:4, V/V)并煮沸 5 min。浓缩胶和分离胶分别为 4%和 10%。将制备的样品(10 μL)和标准蛋白质标记物(10 μL)上样到凝胶上。电泳在堆积凝胶中在 80 V 的电压下进行,在分离凝胶中在 120 V 下进行。在电泳完成后,使用考马斯亮蓝 R250 对凝胶进行染色,使用 25%乙醇和 8%乙酸的混合物进行脱色^[13]。

1.3.4.2 红外光谱分析

将分离出的蛋清液进行冷冻干燥去除水分,然后把样品在玛瑙研钵中研磨成均匀的细粉,选择 ATR 模式,使用 FT-IR 扫描 40~4000 cm⁻¹ 整个条带,扫描中

以 4 cm^{-1} 的分辨率收集自动信号, 每次样品测量重复 3 次。使用 OMNIC 6.0 软件对数据收集后进行光谱数据分析^[14]。

1.3.4.3 圆二色光谱分析

通过 Jasco-J1500 光谱仪进行采集, 将经过冷冻干燥后磨匀的样品粉末充分溶解于超纯水中, 调整浓度为 0.2 mg/mL 。扫描范围 $190\text{ nm}\sim 250\text{ nm}$, 分辨率: 0.0005 mdeg , 杂散光: 小于 0.0003% (200 nm), 扫描速度 50 nm/s 。样品池为 0.1 cm 石英比色皿, $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下测量, 所有分析在相同实验条件下进行三次^[15]。

1.3.5 凝胶性分析

1.3.5.1 低场核磁(LF-NMR)检测

根据 Li 等人的方法进行一些修改^[16], 将 1 g 蛋清凝胶置于圆柱形玻璃管(直径 25 mm)中, 磁体-探头选择 NMI20-015V-I, 回波时间、等待时间和扫描次数分别设置为 0.4 ms 、 4000 ms 和 8 。使用 MultiExp Inv Analysis 软件, 以及同时迭代重建(SIRT)算法, 将 T_2 弛豫曲线拟合为多指数曲线, 得到弛豫时间及峰值等数据, 所有分析在相同实验条件下进行三次。

1.3.5.2 凝胶保水性(WHC)的测定

将制备好的蛋白凝胶在 10000 r/min 离心 10 min (温度控制在 $0\sim 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下), 记录离心前后样品的重量, 重复三次, 按如下公式计算蛋清蛋白凝胶的离心损失^[5]。

$$\text{离心损失}/\% = \frac{m_0 - m_1}{m_0} \times 100\%$$

式中: m_0 -离心前蛋清凝胶的质量/g; m_1 -离心后蛋清凝胶的质量/g。

1.3.5.3 凝胶质构特性的测定

将形成凝胶之后的蛋清切成 $1\times 1\times 0.5\text{ cm}^3$ 的方块, 使用 P36R 圆柱形探头, 测定前速度为 5 mm/s , 测定速度 1 mm/s , 测定后速度 5 mm/s , 压缩率为 50% , 应用 TPA 程序进行凝胶结构的测定, 对质构曲线通过软件分析得到硬度、内聚性、弹性等参数, 所有分析在相同实验条件下进行 5 次^[14]。

1.3.5.4 凝胶的微观结构分析

将蛋白凝胶切成合适的小块, 然后于冷冻干燥仪中去除水分, 将样品通过导电胶固定在托盘上, 喷金后使用扫描电镜观察^[5]。

1.4 数据分析

所有数据采用 Origin 9.1 软件进行作图分析, SPSS 21.0 软件进行单因素方差分析, Duncan 多重比较。

2 结果与讨论

2.1 不同处理条件下蛋清的含盐量

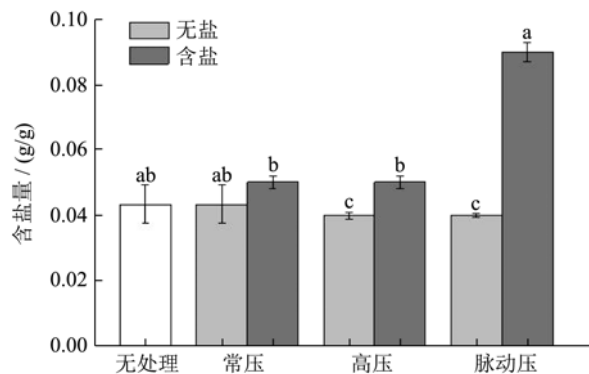


图1 不同加工条件下蛋清的含盐量

Fig.1 Salt content of egg white under different processing conditions

注: 图中小写字母不同表示具有显著性差异 ($p<0.05$)。

盐作为一种小分子物质, 相对于其他物质, 通过鸡蛋壳膜渗透进蛋清中比较容易, 是评估加工蛋制品过程中一个重要的渗透指标^[17]。在不同的压力处理条件下, 盐的渗透效果如图 1 所示, 无盐组的含盐量差距不大; 在含盐组中, 常压和高压处理后的蛋清含盐量没有明显差异 ($p>0.05$), 可见在一定的条件下, 单纯的提高压力并不能促进盐的渗透。而脉动压处理后的蛋清含盐量显著性提高 ($p<0.05$), 达到了 0.09 g/g , 是无处理对照组的 2.10 倍, 高压处理组的 1.80 倍。这是因为加压虽然可以提高食盐的传质速率, 但当蛋内外压力达到平衡后, 就等同于常压腌制, 而脉动压则会因为加压和泄压的循环, 一直保持蛋内外的压力差, 在加压时促进食盐的渗透, 在泄压阶段加速水分和气体的渗出, 同时保证气孔畅通^[8]。陈石头^[7]等人采用脉动压腌制 $2\sim 3\text{ d}$, 蛋清最高含盐量达到了 7.56% , 发现脉动压的间歇式加压的循环加工方式是造成高渗透效果的主要原因, 与本实验的结果一致。

2.2 不同处理条件下蛋清的表面疏水性

通常极性氨基酸残基会在水性介质中包围住非极性残基, 然后形成疏水核, 疏水残基的暴露是蛋白质聚集体形成的先决条件和蛋白质变性的指标^[18]。与对照组相比, 处理组的表面疏水性都显著性增加 ($p<0.05$), 这是由温度、NaCl、压力共同作用的结果, 其中在 $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的条件下, 含盐常压组的表面疏水性最高, 达到了 791.98 , 这可能是受到 NaCl 的影响, 与钠离子对蛋白质分子的屏蔽作用有关, Huang 等人发

现钠离子会使分子间静电排斥作用的减少,更多的蛋白质疏水基团暴露在外面,使鸭蛋蛋清的表面疏水性随着腌制时间的增加而增加^[13]。但本实验中,高压和脉动压处理后蛋清的表面疏水性却低于常压处理的,这可能是由于压力会使蛋白展开得较少。Zheng 等人^[5]在高压条件 200 MPa, 温度 75 °C 的条件下,对肌原纤维蛋白处理 35 min,发现其表面疏水性比常压加热处理后的要低,与本实验的结果相符,这说明压力与温度共同作用时,确实会对蛋白的凝胶结构带来一些特殊的影响。

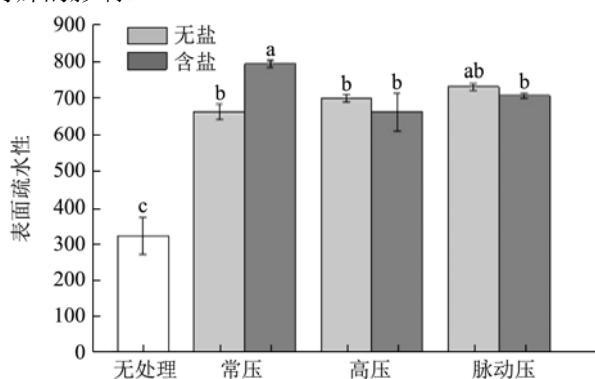


图 2 不同加工条件下蛋清的表面疏水性

Fig.2 Surface hydrophobicity of egg white under different processing conditions

注: 图中小写字母不同表示具有显著性差异 ($p < 0.05$)。

2.3 不同处理条件下蛋清的结构分析

在热处理的条件下,天然蛋白质先转化为变性蛋白质,然后通过分子间 β -折叠相互作用,构建高分子量的不溶性聚集体。蛋清蛋白的热凝胶主要受二硫键、离子相互作用和疏水相互作用的影响^[19]。

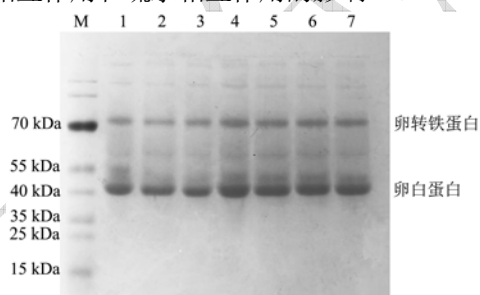


图 3 不同加工条件下蛋清的 SDS-PAGE 图

Fig.3 SDS-PAGE patterns of egg white under different processing conditions

注: M: Marker; 1: 无处理; 2: 脉动压含盐; 3: 高压含盐; 4: 常压含盐; 5: 常压无盐; 6: 高压无盐; 7: 脉动压无盐。

通过 SDS-PAGE 分析不同加工方式对蛋清蛋白条带的影响,如图 3 所示,蛋白质的分子量主要分布在 46 ku 和 78 ku 附近,分别对应于卵白蛋白和卵转铁蛋

白^[20]。无盐处理以及含盐常压处理组的电泳条带与无处理对照组没有明显差异,由 2.1 可知这几组蛋清中的含盐量也与无处理对照组没有非常大的差异。在高压含盐与脉动压含盐组的蛋清蛋白条带中,40 至 55 ku 之间条带灰度值降低, Huang 等人在 25 °C 用 15% NaCl 与 2% NaOH 腌制鸭蛋 12 d 时的电泳图上也出现了现象类似^[11],但其认为盐对蛋清蛋白的组成影响很小,本实验的温度条件为 45 °C,不能忽略温度和盐共同作用时带来的影响,由图可知,相同压力条件处理时,温度和蛋清中含盐量的多少可能会对蛋白的结构带来一定的影响。

通过红外光谱分析,进一步探究了蛋清蛋白质的结构变化情况,如图 4 所示,红外光谱图呈现出几个特征吸收峰:酰胺 I 带(1600~1700 cm^{-1})和酰胺 II 带(1480~1575 cm^{-1})^[21]。其中酰胺 I 带主要反映了 C=O 的伸缩振动,酰胺 II 带反映了 C-N 的伸缩振动和 N-H 的弯曲振动,且都与蛋白质的二级结构有关^[19]。在无处理对照组蛋清的红外光谱图上,可以观察到在 1636 cm^{-1} 附近有一个特征峰,处理组样品在该处的波数都有微小的变化,这表明了微弱的 α -螺旋向 β -折叠的转化^[22],并显示出热量诱导蛋白质分子的聚集。与无处理对照组相比,无盐处理组的酰胺 II 波长发生微弱的红移,含盐处理组的酰胺 II 则有较为明显的红移,从 1515 cm^{-1} 移动到 1520 cm^{-1} ,表明了 β -折叠含量的增加,酰胺 III 带的波长在 1392 cm^{-1} 附近,没有发生明显变化。可以看出含盐组中高压与脉动压处理后的蛋清蛋白结构相对发生较大的变化,这与电泳得到的结果相一致。

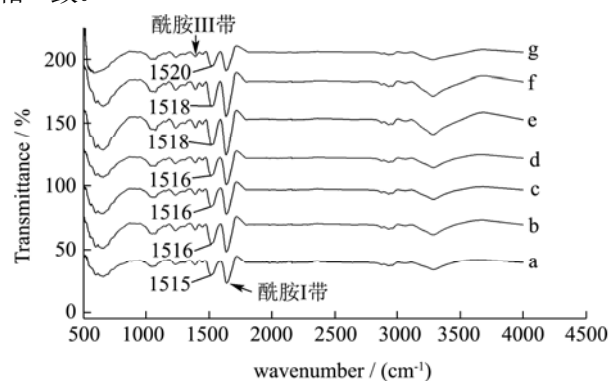


图 4 不同加工条件下蛋清的红外光谱图

Fig.4 FT-IR spectra of egg white under different processing conditions

注: a 为无处理对照组; b、c、d 分别为无盐时常压、高压、脉动压处理组; e、f、g 分别为含盐时常压、高压、脉动压处理组。

利用圆二色光谱分析不同加工条件下蛋清蛋白二级结构的变化,如图 5 所示,200~240 nm 范围内有一

个宽负带,在 200~202 nm 之间是光谱中的零交叉点,这表明样品中都富含 β -折叠结构^[23],与红外光谱得到的结果相一致。未处理组样品在 210 nm 处有一个负峰,而高压无盐、高压含盐和脉动压含盐处理后蛋清光谱的负峰出现明显红移,这表明其中的 α -螺旋和无规则卷曲含量的减少。可能是由于压力变化,蛋清中的含盐量增加,破坏了蛋清蛋白中的氢键, Li 等人发现在 NaCl 存在时热处理会降低蛋清蛋白的有序的二级结构,从而导致蛋白质的变性^[24]; Hang 等人发现加热也会导致 α -螺旋和无规则卷曲减少, β -折叠增多^[25]。因此在温度与盐的共同作用下,导致 β -折叠的含量增加,蛋清的二级结构发生改变。在无盐组中,两种压力条件处理后蛋清的二级结构变化程度要比常压处理的低,温度与压力表现出一种类似拮抗的作用,与疏水性表现出来的结果相似。在含盐组中,脉动压处理后的蛋清有着更高的含盐量,但二级结构变化程度却比高压处理后的蛋清要低,可能是脉动压加工方式更能抵抗温度与盐带来的影响。

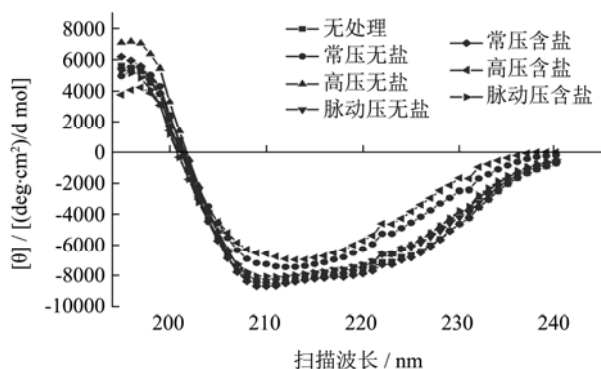


图5 不同加工条件下蛋清的圆二色谱图

Fig.5 Circular dichroism spectra of egg white under different processing conditions

2.4 不同处理条件下蛋清的凝胶性分析

硬度常作为凝胶结构的一个重要指标,内聚力则通常被用作凝胶保证完整网络结构能力的表现^[26],较高的弹性和内聚力值反应了凝胶网络结构的完整性和强度较高^[27]。无盐组质构分析如 6a 图所示,无处理对照组的弹性为 0.98,脉动压处理后为 1.02,显著性提高 ($p < 0.05$),可以看出适当的压力可以改善凝胶质构,且脉动压的效果更为明显。但在含盐组这一结果却有所不同,如 6b 图所示,高压与脉动压处理后蛋清凝胶的硬度分别为 519.25 g 和 504.74 g,二者之间没有明显差距 ($p > 0.05$),但与无处理对照和常压组相比硬度显著性降低 ($p < 0.05$)。与无盐组相比,造成这一差异的原因可能是 NaCl 的影响, Maissa 等人发现盐的存在会破坏蛋清凝胶网络的连通性,使凝胶结构对

应变的抵抗力降低^[28],由 2.1 的数据可知含盐组中脉动压处理后蛋清的含盐量是高压处理的 1.8 ± 0.08 倍,但两种加工方法得到的蛋清凝胶硬度却没有明显差异 ($p < 0.05$),可能是脉动压会对 NaCl 带来的影响具有一定的抵抗作用,也有可能是脉动压对蛋清凝胶确实具有一定的改善效果。

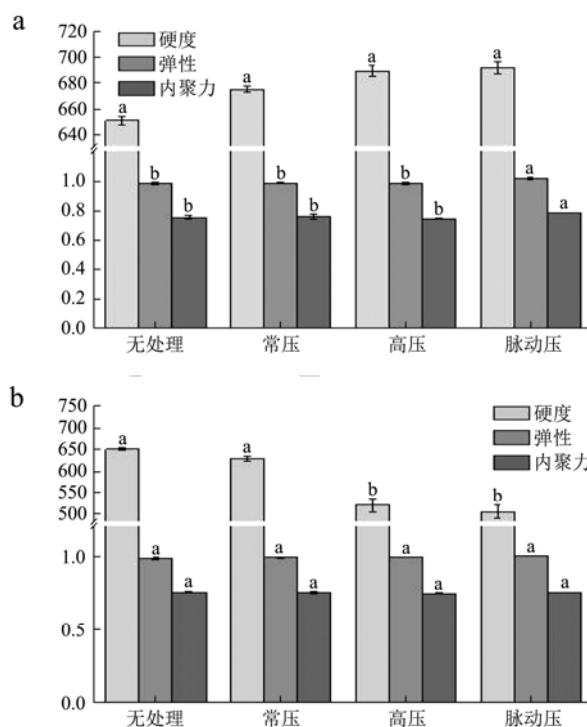


图6 不同加工条件下蛋清蛋白的硬度、弹性和内聚力的变化
Fig.6 Changes in hardness, springiness and cohesiveness of egg white under different processing conditions

注: a 为无盐组, b 为含盐组, 图中小写字母不同表示具有显著性差异 ($p < 0.05$)。

为深入了解压力条件和 NaCl 对蛋清凝胶中水分变化的影响,对同样品的 LF-NMR T_2 弛豫时间进行分析,其中 T_{21} 代表在 10~50 ms 的弛豫时间范围内的不易流动水^[29],较长的弛豫时间 (T_2) 表明水与大分子的结合较为疏松,反之则更紧密^[30]。在无盐组中,常压处理后 T_{21} 的弛豫时间从无处理对照组的 32.91 ms 增加到了 34.31 ms,可以看出 45 °C 处理 36 h 可能会让蛋白凝胶中不易流动水的结合变得疏松,而高压和脉动压处理会让 T_{21} 的弛豫时间分别减少到 31.94 ms 和 25.79 ms,更快的弛豫时间表明水分受到更多的限制并且自由度更低,压力处理会让水与蛋白质分子的结合更为紧密,其中脉动压的效果更为显著 ($p < 0.05$),这说明脉动压处理对不易流动水的结合具有更好的促进作用。在含盐组中,高压和脉动压处理后 T_{21} 弛豫时间为 32.44 ms 和 33.43 ms,与无处理对照的差别不大 ($p > 0.05$),这可能是 NaCl 含量增多所

导致的, Li 等人使用不同浓度的钠盐处理蛋清后,发现蛋清蛋白受钠盐诱导后水合能力会降低,并且会降低蛋白凝胶结构的持水能力^[16]。脉动压处理后的蛋清蛋白中的含盐量明显高于高压处理的 ($p<0.05$),但二者的 T_{21} 弛豫时间差别不大,这也与质构和持水性的结果一致,再次证明 NaCl 会对凝胶结构造成一定的不利影响,而一定的压力则会对蛋白的凝胶具有改善作用,其中脉动压的效果更为明显。

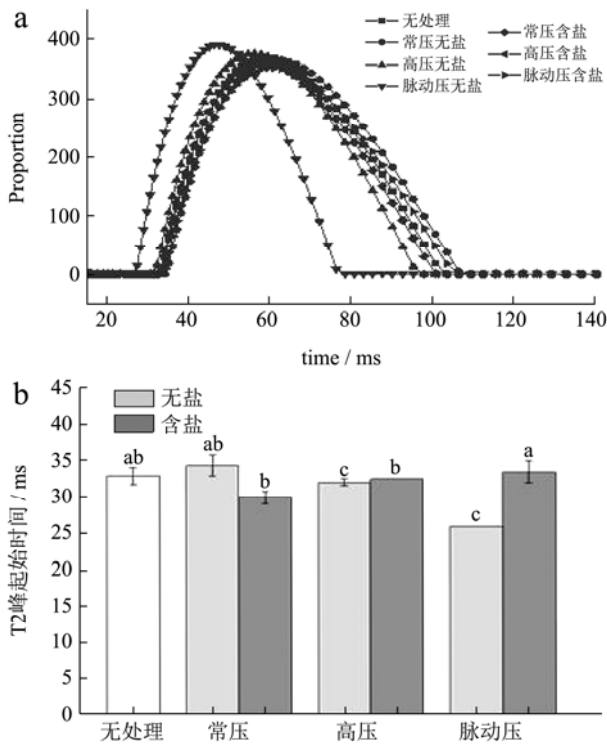


图 7 不同加工条件下蛋清蛋白的 T_2 弛豫时间变化

Fig.7 Changes in T_2 relaxation time of egg white protein under different processing conditions

注: a 为 T_{21} 峰顶点图, b 为 T_{21} 峰起始时间趋势图, 图中小写字母不同表示具有显著性差异 ($p<0.05$)。

离心损失可以更为直观地观察不同处理条件对凝胶的持水性带来的影响,是热诱导蛋白凝胶最重要的功能特征之一^[31],数值越低则凝胶的持水性越好,反之则说明蛋白分子的水合能力不高。如图 8 所示,无盐组中,无处理对照组的离心损失为 9.54%,脉动压处理后的蛋清凝胶离心损失为 6.49%,持水能力显著性提高 ($p<0.05$)。含盐组中,高压和脉动压处理后蛋清蛋白的离心损失分别为 17.56%和 13.88%,和无处理对照相比持水能力显著性降低 ($p<0.05$),与质构及低场核磁的数据相一致,再次证明了 NaCl 会降低蛋清凝胶的持水性。且含盐组中,脉动压处理后蛋清蛋白的离心损失低于高压处理的,在含盐量前者高于后者的情况下,说明面对 NaCl 的影响时,脉动压具有一定的抵抗或者延缓作用,这与质构得到的结果一致。

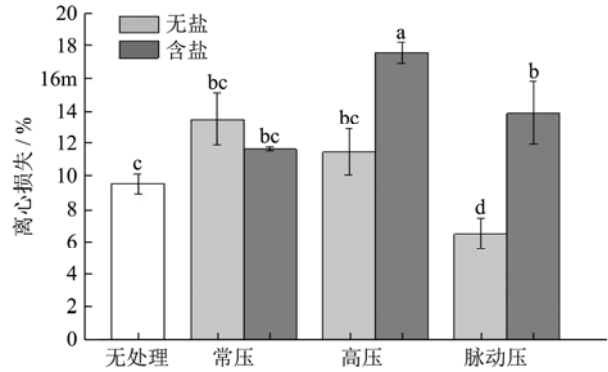


图 8 不同加工条件下蛋清蛋白的持水性

Fig.8 Water holding capacity of egg white protein under different processing conditions

注: 图中小写字母不同表示具有显著性差异 ($p<0.05$)。

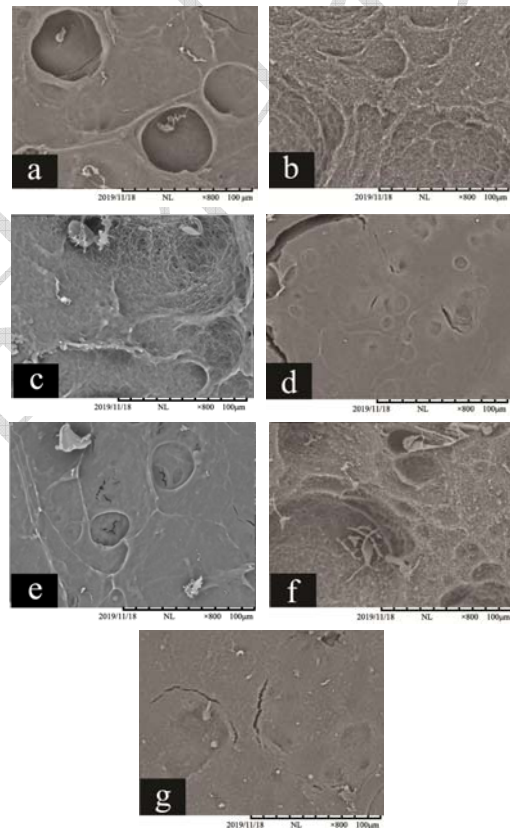


图 9 不同加工条件下蛋清蛋白的扫描电镜图

Fig.9 Scanning electron micrographs of egg white protein under different processing conditions

注: a 为无处理对照组; b、c、d 分别为无盐时常压、高压、脉动压处理组; e、f、g 分别为含盐时常压、高压、脉动压处理组。

图 9 显示了不同条件下诱导的蛋清蛋白凝胶微观结构,可以看到无处理对照组有较为明显的凝胶层叠现象,常压处理的蛋清蛋白凝胶也有类似的现象,但与对照组相比较为粗糙,这可能是加热时间过长导致的,有文献了解到加热速度的快慢影响凝胶的形成^[32],虽然 45 °C 低于蛋清蛋白的变性温度,但长时间

保持这个温度依旧会对凝胶结构造成影响。高压和脉动压处理后的蛋清蛋白凝胶不再出现凝胶层叠的现象,高压处理后的凝胶网络结构更为致密,与对照组相比脉动压处理后的凝胶空隙明显变小,且表面较为平整,具有较好的凝胶微观结构,与质构等数据的结果相一致。

3 结论

本研究主要通过对比分析 NaCl 和不同压力条件对蛋清蛋白的结构与凝胶性的影响,探究合适的加工条件。研究发现 NaCl 会对蛋清蛋白凝胶的持水能力带来不良影响,在和温度、压力的共同作用时,还有可能会对蛋清的二级结构带来影响,使酰胺 II 带发生红移、 α -螺旋和无规则卷曲的含量减少、 β -折叠的含量增多;脉动压可以显著性提高蛋制品中盐的含量,而单纯的高压达不到同样的效果;在相同的条件下,脉动压处理的蛋清蛋白要比高压处理的具有更好的质构、持水性和微观结构,并且脉动压加工可能会相对抵抗 NaCl 带来的不良影响,因此在相同的加工条件下,脉动压处理具有一定的优越性,这为其投入生产加工提供一定的理论支持。

参考文献

- [1] Suzuki A, Watanabe M, Iwamura K, et al. Effect of high pressure treatment on the ultrastructure and myofibrillar protein of beef skeletal muscle [J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1990, 54(12): 3085-3091
- [2] Sikes A L, Tobin A B, Tume R K. Use of high pressure to reduce cook loss and improve texture of low-salt beef sausage batters [J]. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2009, 10(4): 405-412
- [3] Cao Y, Xia T, Zhou G, et al. The mechanism of high pressure-induced gels of rabbit myosin [J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2012, 16: 41-46
- [4] Cando D, Herranz B, A. J. Borderías, et al. Effect of high pressure on reduced sodium chloride surimi gels [J]. *Food Hydrocolloids*, 2015, 51: 176-187
- [5] Zheng H, Han M, Bai Y, et al. Combination of high pressure and heat on the gelation of chicken myofibrillar proteins [J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2019, 52: 122-130
- [6] Jin G, He L, Wang Q, et al. Pulsed pressure assisted brining of porcine meat [J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2014, 22: 76-80
- [7] 陈石头,高振江.脉动压力腌制禽蛋的试验研究[J].*农业工程学报*,2006,22(14):163-166
- [8] CHEN Shi-tou, GAO zhen-jiang. Experimental study on marinating poultry eggs with pulsed pressure [J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2006, 22(14): 163-166
- [9] 王石泉,王树才,张益鹏,等.超声波-脉动压联用快速腌制咸鸭蛋的工艺参数优化[J].*农业工程学报*,2013,29(23):286-292
- [10] WANG Shi-quan, WANG shu-cai, ZHANG yi-peng, et al. Parameter optimization for quickly salted egg by using ultrasonic-pulsed pressure technology [J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2013, 29(23): 286-292
- [11] 郭策,高振江,吴薇.响应曲面法优化脉动压皮蛋加工工艺[J].*食品科技*,2013,8:118-122
- [12] GUO Ce, GAO Zhen-jiang, WU Wei. Response surface methodology for optimizing the processing technology of pulsed pidan [J]. *Food science & Technology*, 2013, 8: 118-122
- [13] 王俊钢,郭安民,李宇辉,等.脉动压技术腌制皮蛋中试工艺研究[J].*食品工业科技*,2016,37(1):263-268.
- [14] WANG Jun-gang, GUO An-ming, LI Yu-hui, et al. Study on the middle experiment technology of pulse pressure processing of pidan [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2016, 37(1): 263-268
- [15] 刘成江,王俊钢,李宇辉,等.脉动压法加工变蛋过程中腌渍液成分变化的研究[J].*中国酿造*,2015,34(6):131-134
- [16] LIU Cheng-jiang, WANG Jun-gang, LI Yu-hui, et al. Variation of curing liquid composition of preserved-eggs by pulse pressure processing [J]. *China Brewing*, 2015, 34(6): 131-134
- [17] Benjakul S, Visessanguan W, Ishizaki S, et al. Differences in gelation characteristics of natural actomyosin from two species of bigeye snapper, *Priacanthus tayenus* and *Priacanthus macracanthus* [J]. *Journal of Food Science*, 2001, 66(9): 1311-1318
- [18] Huang X, Li J, Chang C, et al. Effects of NaOH/NaCl pickling on heat-induced gelation behaviour of egg white [J]. *Food Chemistry*, 2019, 297: 124939
- [19] 吕蕙,马美湖,刘远远.稻秸灰水提物对咸蛋黄理化特性的影响[J].*现代食品科技*,2019,35(4):148-156
- [20] LYU Hui, MA Mei-hu, LIU Yuan-yuan. Effects of straw ash aqueous extracts on physicochemical characteristics of salted egg yolk [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2019, 35(4): 148-156

- [15] 叶钰,高金燕,陈红兵,等.超声波加工对蛋清蛋白质结构和凝胶特性的影响[J].食品科学,2018,39(21):52-59
YE Yu, GAO Jin-yan, CHEN Hong-bing, et al. Effect of ultrasonic processing on protein structure and gel properties of egg white [J]. Food science & Technology, 2018, 39(21): 52-59
- [16] Li J, Wang C, Zhang M, et al. Effects of selected phosphate salts on gelling properties and water state of whole egg gel[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 77: 1-7
- [17] 刘丽莉,杨协力,康怀彬,等.高压卤蛋加工工艺优化及其品质变化[J].食品工业科技,2014,10:312-315,328
LIU li-li, YANG xie-li, KANG huai-bin, et al. Optimization of marinated eggs produced by high pressure and changing of egg characteristics [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 10: 312-315,328
- [18] Chelh I, Gatellier P, Véronique Santé-Lhoutellier. Technical note: A simplified procedure for myofibril hydrophobicity determination [J]. Meat Science, 2006, 74(4): 681-683
- [19] Nasabi M, Labbafi M, Mousavi M E, et al. Effect of salts and nonionic surfactants on thermal characteristics of egg white proteins [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 102: 970-976
- [20] 梁艳.鸡蛋清中三种蛋白质的连续化提取研究[D].西安:陕西科技大学,2006
LIANG Yan. Research on continuous isolation of three main proteins from egg white [D].Xi'an: Shaanxi University of Science & Technology, 2006
- [21] Miller L M, Bourassa M W, Smith R J. FTIR spectroscopic imaging of protein aggregation in living cells [J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1828(10): 2339-2346
- [22] Lian X, Zhu W, Wen Y, et al. Effects of soy protein hydrolysates on maize starch retrogradation studied by IR spectra and ESI-MS analysis [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 59: 143-150
- [23] Yi X, Zheng Q, Pan M-H, et al. Liposomal vesicles-protein interaction: Influences of iron liposomes on emulsifying properties of whey protein [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 89: 602-612
- [24] Li J, Li X, Wang C, et al. Characteristics of gelling and water holding properties of hen egg white/yolk gel with NaCl addition [J]. Food Hydrocolloids, 2018, 77: 887-893
- [25] Huang Y, Guo L, Xiong S, et al. Property and structure changes of myofibril protein in pork treated by high pressure combined with heat [J]. Food Science and Technology International, 2016: 1082013216642610
- [26] Chen Z, Li J, Tu Y, et al. Changes in gel characteristics of egg white under strong alkali treatment [J]. Food Hydrocolloids, 2015, 45: 1-8
- [27] Yang Y, Zhao Y, Xu M, et al. Changes in physico-chemical properties, microstructure and intermolecular force of preserved egg yolk gels during pickling [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 89: 131-142
- [28] Khemakhem M, Attla H, Ayadi M A. The effect of pH, sucrose, salt and hydrocolloid gums on the gelling properties and water holding capacity of egg white gel [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 87: 11-19
- [29] Yang Y, Wan M, Ma Y-C, et al. An improved method for tool point dynamics analysis using a bi-distributed joint interface model [J]. International Journal of Mechanical Sciences, 2016, 105: 239-252
- [30] Abdelhedi O, Jemil I, Nasri R, et al. Molecular forces study and microstructure and gelling properties of smooth hound protein gels prepared by heat-induced gelation process: Effect of pH variation on textural and functional properties [J]. Process Biochemistry, 2016, 51(10): 1511-1520
- [31] Puolanne E, Halonen M. Theoretical aspects of water-holding in meat [J]. Meat Science, 2010, 86(1): 151-65
- [32] Xiong Y L, Brekke C J. Protein extractability and thermally induced gelation properties of myofibrils isolated from pre- and postrigor chicken muscles [J]. Journal of Food Science, 1991, 56(1): 210-215