

# 高压均质处理对不同浓度肌原纤维蛋白水悬液理化特性及蛋白结构的影响

李雨枫<sup>1,2</sup>, 薛思雯<sup>1,2</sup>, 衣晓坤<sup>3</sup>, 陈星<sup>1,2</sup>, 李鸣<sup>1,2</sup>, 徐幸莲<sup>1,2,\*</sup>

(1.南京农业大学食品科技学院 国家肉品质量安全控制工程技术研究中心 江苏南京 210095;

2.江苏省肉类生产与加工质量安全控制协同创新中心 江苏南京 210095;

3.山东省烟台市东方海洋科技股份有限公司 山东烟台 246003)

**摘要:**以鸡肉中的肌原纤维蛋白(Myofibrillar proteins, MP)为对象,研究103 MPa压力条件下高压均质(High pressure homogenization, HPH)对不同浓度(5、10、15 mg/mL)MP水悬液理化性质和蛋白结构的影响。结果表明:HPH可以显著提高不同浓度MP在水中的溶解性( $P < 0.05$ ),改善MP水悬液的分散性、流变性等理化特性,破坏蛋白结构。随着MP浓度增加,MP水悬液溶解度下降、稳定性变差( $P < 0.05$ );高浓度的MP在HPH处理过程中可能会发生蛋白聚集,导致水悬液中蛋白粒径增大,表观粘度变大,流动性降低;MP水悬液二、三级结构改变,表面疏水性降低,巯基含量上升, $\alpha$ -螺旋增加, $\beta$ -折叠下降,从而影响其溶解性;其中5 mg/mL的MP水悬液经过HPH处理后溶解性较好,溶解度达到88.39%,在4℃条件下放置9 d后仍然能保持79.08%的溶解度。本研究为食品行业中肉蛋白的深加工提供了参考依据。

**关键词:**肌原纤维蛋白, 高压均质, 溶解性, 稳定性, 蛋白结构

## Effects of High Pressure Homogenization on Physicochemical Properties and Protein Structure of Myofibrillar Protein Aqueous Suspensions with Different Concentrations

LI Yu-feng<sup>1,2</sup>, XUE Si-wen<sup>1,2</sup>, YI Xiao-kun<sup>3</sup>, CHEN Xing<sup>1,2</sup>, LI Ming<sup>1,2</sup>, XU Xing-lian<sup>1,2,\*</sup>

(1.National Center of Meat Quality and Safety Control, College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

2.Jiangsu Collaborative Innovation Center of Meat Production and Processing, Quality and Safety Control, Nanjing 210095, China;

3.Shandong Oriental Ocean Science Technology Company, Yantai 246003, China)

**Abstract:** Chicken myofibrillar proteins (MPs) were used to study the effects of high pressure homogenization (HPH) on the physicochemical properties and protein structure of MP water suspension with different concentrations (5, 10, 15 mg/mL) under 103 MPa pressure. The results showed that HPH could significantly improve the solubility of MP in water at different concentrations ( $P < 0.05$ ), improve the dispersion and rheological properties of MP water suspension, and destroy the protein structure. With the increase of MP concentration, the solubility and stability of MP water suspension decreased ( $P < 0.05$ ). Protein aggregation might occur during HPH treatment of high concentration MP, which resulted in the increase of protein particle size, the increase of apparent viscosity and the decrease of fluidity in water suspension. The secondary and tertiary structure of MP water suspension changed, the surface hydrophobicity decreased, the content of sulfhydryl group increased, the  $\alpha$ -helix increased and the  $\beta$ -folding decreased, which affected the solubility of MP water suspension. The solubility of MP water suspension of 5 mg/mL was better after HPH treatment, which reached 88.39%. The solubility of MP water suspension was still 79.08% after 9 d at 4℃. This study provided a reference for the further processing of meat protein in food industry.

**Key words:** myofibrillar proteins; high pressure homogenization; solubility; stability; protein structure

中图分类号: TS251.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2019)21-0001-07

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2019.21.001

引文格式: 李雨枫, 薛思雯, 衣晓坤, 等. 高压均质处理对不同浓度肌原纤维蛋白水悬液理化特性及蛋白结构的影响[J]. 食品工业科技, 2019, 40(21): 1-6, 12.

收稿日期: 2019-01-13

作者简介: 李雨枫(1993-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 肉品加工及质量安全控制, E-mail: yufeng1029@foxmail.com。

\* 通讯作者: 徐幸莲(1962-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 肉品加工及质量安全控制, E-mail: xlxu@njau.edu.cn。

基金项目: 国家自然科学基金(31671875); 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-41)。

肉类蛋白营养丰富,包含人类所需的所有必需和非必需氨基酸,其消化率远高于大豆蛋白等植物蛋白,属于优质的人体蛋白质补充剂<sup>[1-2]</sup>。肌原纤维蛋白(Myofibrillar proteins,MP)是肌肉蛋白中最主要的蛋白质,大约占肌肉蛋白的50%左右<sup>[3]</sup>。一般认为,MP属于盐溶性蛋白,仅在高盐浓度下有较高的溶解性,在水溶液中溶解性差<sup>[4]</sup>。在肉品加工中,MP溶解性直接影响产品加工特性,如粘结性、乳化性和凝胶型等<sup>[5-6]</sup>。因此,MP溶解性是开发新配方肉类产品一个重要的功能特性。由于肉类蛋白在水或者低离子强度溶液条件下微溶或不溶解,因此相比于牛奶和植物蛋白等,肉类蛋白在食品加工中利用程度相对较低,产品形式单一,提高肉类蛋白在水或者低离子强度溶液中的溶解度很有必要。

为了提高肉类蛋白的利用程度,开发其加工潜力,许多研究人员尝试利用不同的方法,如超声波<sup>[7]</sup>、蛋白糖基化<sup>[8-9]</sup>和低盐洗脱<sup>[10]</sup>等新技术来改善MP的溶解性,但是由于这些方法步骤繁琐,并且容易引起加工特性劣变,故在工业生产中受限。高压均质(High pressure homogenization,HPH)是一种新型的食品加工技术,此项技术已经被广泛应用于生物、医药、食品、化工等行业。在高压作用下,流体物料通过具有特殊内部构造的均质腔,同时受到高速剪切、高频震荡、空穴作用和对流碰撞等物理作用,从而起到很好的超微化、微乳化、均一化和杀菌的效果<sup>[11-13]</sup>。理论上,通过HPH的物理作用能够打破MP高度交联的复杂结构,对MP进行物化改性,能够实现MP的水溶性。已有研究表明,不同次数和压力的HPH处理可以对植物蛋白的蛋白结构<sup>[14-17]</sup>、理化特性产生不同的影响,从而提高植物蛋白在食品加工中的利用程度<sup>[18-20]</sup>。在前期研究中<sup>[13]</sup>,发现对5 mg/mL的MP悬浊液进行103 MPa、2次HPH处理,能够打破MP高度有序的复杂结构,改变MP的理化特性,从而改善MP的水溶性。蛋白质是人体补充营养的重要来源,而蛋白浓度是食品加工中的一项重要理化指标,蛋白浓度的不同会影响体系的凝胶特性、溶解性和乳液稳定性等加工特性。5 mg/mL浓度的MP水悬液并不能满足食品加工的需要,同时,当MP在水中浓度提高时,HPH处理对不同浓度MP在水中溶解性的影响及其调控规律还尚不清楚,因此开展HPH对不同浓度MP水悬液溶解性的调控规律研究很有必要。

在前期研究的基础上,为了使MP达到较好的HPH处理效果,本实验通过103 MPa压力下,4次HPH循环分别对5、10、15 mg/mL的MP水悬液进行处理,对处理后的MP水悬液溶解性、稳定性、粒径、流变特性、二级结构和三级结构的变化进行测定,探究HPH处理对不同浓度MP理化性质及结构的影响和规律,以期为肉蛋白的在食品中的进一步开发利用提供一定的参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

冷冻鸡胸肉 江苏省南京市苏果超市;羟甲基

氨基甲烷(Tris base)、盐酸、牛血清蛋白(BSA)、聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)、氢氧化钠、5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)(DTNB)、8-苯胺基-1-萘磺酸(ANS)等(均为分析纯) 国药集团化学试剂有限公司。

GM 200 粉碎仪 德国 Retsch 仪器有限公司; T25 匀浆机 德国 IKA 仪器有限公司; Mini Debee 超高压均质机 美国 Bee 仪器有限公司; Z5(130 μm) 金刚石喷嘴 美国 Genizer 仪器有限公司; J26SXP 落地式离心机 美国 Beckman 仪器有限公司; Nano ZS 90 纳米激光粒度仪 英国马尔文仪器有限公司; MCR 301 流变仪 澳大利亚 Anton Paar 有限公司; Dimension Icon 原子力显微镜 美国 Bruker 有限公司; Imager Scanner III EU-88 扫描仪 日本 Epson 公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 肌原纤维蛋白(MP)的提取 根据 Stefansson 等<sup>[10]</sup>的方法稍作修改,采用水洗法提取肌原纤维蛋白。取冷冻鸡胸肉在4℃下放置12 h解冻,随后去除其结缔组织和脂质。将鸡胸肉放入粉碎仪,以3000 r/min的速度处理10 s,用去离子水将肉糜(100 g)混合,洗涤四次,每次洗涤前用匀浆机均质2 min。将每次洗涤后的肉糜与水(1:100,W/V)混合,静置10 min,以18000×g转速离心20 min,收集沉淀物,在第三次洗涤后,将离心前的悬浊液用三层纱布过滤,以去除多余的结缔组织和脂质。最后一次洗涤、离心后,沉淀物即为肌原纤维蛋白(MP)。所有操作均在4℃条件下进行。

1.2.2 高压均质(HPH)处理 用双缩脲法测定提取后的MP浓度为60 mg/mL,用去离子水将MP浓度稀释至5、10、15 mg/mL备用,用匀浆机在8000 r/min转速下处理6次,每次处理20 s,每次间隔10 s。用配备有Z5型号喷嘴的超高压均质机将样品在4℃、103 MPa压力下循环4次HPH处理,以未经过HPH处理的样品为对照组。处理后将所有样品装入无菌袋保存,为了防止微生物污染对实验结果产生影响,添加0.02%的叠氮化钠(NaN<sub>3</sub>)作为防腐措施<sup>[21]</sup>,所有样品于4℃冰箱存储备用。

1.2.3 溶解度的测定 参考Chen等<sup>[13]</sup>的方法,并作修改。将经过处理后的样品在4℃,20000×g转速下离心20 min,离心后收集上清液,用双缩脲法测定离心后的上清液蛋白浓度和离心前MP悬浊液蛋白浓度。溶解度以离心后的上清液蛋白质浓度相对于离心前MP悬浊液蛋白浓度的百分比表示,溶解度计算公式为:

$$\text{溶解度}(\%) = \frac{\text{上清液蛋白浓度}}{\text{MP悬浊液蛋白浓度}} \times 100$$

1.2.4 稳定性的测定 将经过HPH处理后的MP水悬液在4℃条件下放置9 d,在第0、3、6、9 d分别测定其溶解度并进行记录,每个样品平行测定3次。

1.2.5 粒径分布的测定 根据Chen等的方法<sup>[13]</sup>,并作修改。使用Nano ZS 90 纳米激光粒度仪对MP在水中的粒径进行测定。将5、10、15 mg/mL的MP水悬液浓度同时稀释至0.5 mg/mL,置于1 cm光程石

英比色杯中,在 25 °C 条件下进行测量,从而得到平均粒度(Z-average)和粒径分布。

1.2.6 流变特性的测定 使用 MCR30 流变仪对经过 HPH 处理后的 MP 水悬液流变特性进行测定<sup>[25]</sup>。测量间距 0.5 mm,测量前将样品在流变仪上平衡 30 s,以获得 25 °C 的理想温度,记录随着剪切速率从 1 s<sup>-1</sup> 升高到 1000 s<sup>-1</sup> 的范围内时粘度的变化曲线。

1.2.7 表面疏水性的测定 根据 Zhong 等<sup>[26]</sup>、Cao 等<sup>[27]</sup>的方法并作修改,对经过 HPH 处理后的 MP 在水中表面疏水性进行测定,使用 8-苯胺基-1-萘磺酸(ANS)测试表面疏水性。向 2 mL 样品(去离子水稀释至 1 mg/mL)中加入 10 μL 15 mmol/L ANS 溶液(0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH7.0)。在避光条件下,孵育 20 min;使用 380 nm 的激发波长和 410~570 nm 的发射波长在 5 nm/s 扫描下测定其荧光强度。表面疏水性表示为荧光强度(任意单位, a.u.)。

1.2.8 活性巯基含量的测定 根据 Chen 等<sup>[28]</sup>的方法并进行修改,测定 MP 在水中的活性巯基(SH)含量。将经过 HPH 处理后的 MP 水悬液用去离子水稀释至 1 mg/mL,将 50 μL DTNB 溶液(20 mmol/L 磷酸盐缓冲液, pH8.0)中加入 4 mL 样品(1 mg/mL),并在 25 °C 条件下孵育 20 min,通过 Microplate Reader 分光光度计在 412 nm 测定混合物的吸光度。使用 13600 M<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup> 的摩尔消光系数计算巯基的含量,每个压力水平重复试验三次。巯基含量(μmol/100 mg)的计算公式为:

$$\text{巯基含量}(\mu\text{mol}/100\text{ mg}) = \frac{A_{412} \times D \times 10^5}{13600 \times C_{\text{蛋白}}}$$

式中: A<sub>412</sub> 为吸光度; D 为稀释倍数; C<sub>蛋白</sub> 为肌原纤维蛋白浓度。

1.2.9 圆二色谱(CD)分析 使用 Jasco J-715 分光偏振计进行圆二色谱(CD)测定。将经过 HPH 处理后的 MP 水悬液稀释至 0.3 mg/mL,随后转移至 0.1 cm 光径的石英皿中。在 25 °C 下以 20 nm/min 的扫描速率在 200~240 nm 的范围内测量分子椭圆率。使用 Jasco J-715 旋光偏振计提供的蛋白质二级结构计算程序测定样品二级结构的百分比。

### 1.3 数据处理

所有数据均重复实验 3 次,数据统计使用 SAS 软件,单因素方差分析分析组间差异性, P < 0.05 为显著差异。采用 Origin 2017 软件进行绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 HPH 处理对不同浓度 MP 水悬液溶解性的影响

由图 1 可知,未经过 HPH 处理的样品,溶解度较低(23.49%~31.77%),MP 在水中的溶解性较差<sup>[26]</sup>,并且不同浓度 MP 水悬液的溶解度之间没有显著性差异(P < 0.05),说明浓度的不同对未经 HPH 处理的 MP 在水中的溶解性没有明显影响。经过 HPH 处理后,不同浓度 MP 水悬液的溶解度均显著提高(P < 0.05),其中浓度为 5 mg/mL 的 MP 水悬液溶解性最好,达到 88.39%,这与 Chen 等<sup>[13]</sup>的研究结果相

符。物料在经过 HPH 时,会受到高速剪切、空穴作用、对撞冲击等机械作用,MP 蛋白分子结构展开,疏水基团更多地暴露出来,导致表面电荷增加,从而提高其溶解性<sup>[13]</sup>。随着 MP 水悬液浓度的增加,其溶解度显著降低(P < 0.05),造成这种现象的原因可能是由于当高浓度的 MP 悬浊液通过 HPH 作用腔时,由于蛋白质密度较大,蛋白质在均质腔中直接碰撞概率大大提高,容易形成蛋白质聚集,影响其溶解性<sup>[11]</sup>。

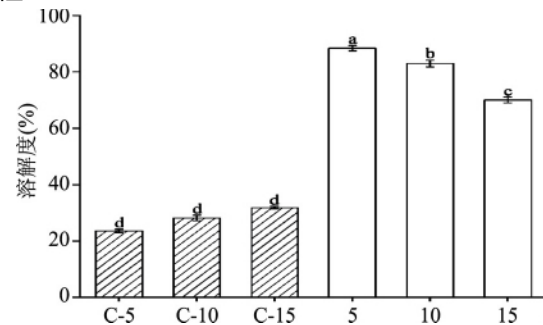


图 1 HPH 处理对不同浓度水悬液中 MP 溶解性的影响

Fig.1 Effect of HPH treatment on MP solubility in water suspensions with different concentrations

注:不同上标字母表示同一指标存在显著性差异(P < 0.05); C-5: Control, 5 mg/mL; C-10: Control, 10 mg/mL; C-15: Control, 15 mg/mL; 5: HPH 处理, 5 mg/mL; 10: HPH 处理, 10 mg/mL; 15: HPH 处理, 15 mg/mL。图 3、图 7 同。

### 2.2 HPH 处理对不同浓度 MP 水悬液稳定性的影响

将经过 HPH 处理后的 MP 水悬液进行为期 9 d 的储藏,每 3 d 测定样品溶解度,得到不同浓度 MP 水悬液溶解度的变化如图 2 所示。由图 2 可知,未经过 HPH 处理的 MP 水悬液在贮藏期间一直保持着较低的溶解度,随着贮藏时间的延长,没有明显变化。经过 HPH 处理后,不同浓度 MP 水悬液的溶解度均显著提高(P < 0.05),浓度为 5 mg/mL 的 MP 水悬液溶解度显著高于其他处理浓度(P < 0.05),在 0~6 d 时,其溶解度无显著性变化(P > 0.05),而在 6~9 d 时显著降低(P < 0.05),在第 9 d 时,5 mg/mL 的溶解度为 79.08%;浓度为 10 mg/mL 的 MP 水悬液溶解度在第 0~9 d 时显著下降(P < 0.05),浓度为 15 mg/mL 的 MP 水悬液在第 3 d 时的溶解度与 0 d 时相比显著下降(P < 0.05),3~6 d 无显著性变化(P > 0.05),在第 9 d 时显著低于第 3 d(P < 0.05)。有研究表明,浓度为 5 mg/mL 的 MP 水悬液经过 103 MPa、2 次 HPH 的处理后溶液的均一性得到显著改善,同时在 14 d 的贮藏过程中几乎不会产生蛋白质沉淀现象<sup>[13 27-28]</sup>,与本研究结果一致,这是由于当蛋白浓度较低时,水悬液的流动性更强,可以用更快的速度通过 HPH 均质阀,破碎更为完全,颗粒分布更加均匀,从而提高其稳定性。但是,当 MP 的浓度增加时,MP 水悬液中的蛋白质密度也随之增加,物料通过 HPH 均质腔时,剪切、碰撞等机械作用对蛋白质分子的破坏不完全,导致蛋白质分子在水悬液中分散不均匀,从而在贮藏过程中聚集、沉淀,使 MP 水悬液稳定性



下降<sup>[14 29-30]</sup>。

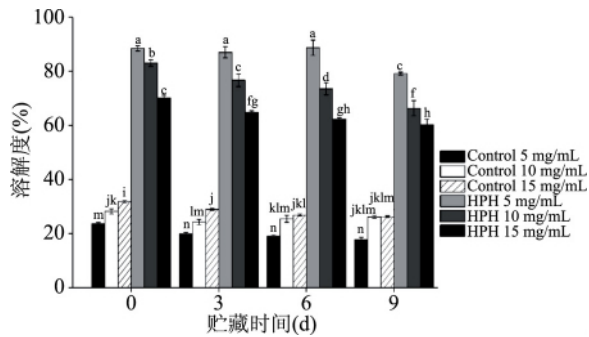


图2 HPH处理对不同浓度MP水悬液稳定性的影响

Fig.2 Effect of HPH treatment on stability of

MP water suspension with different concentrations

注:不同上标字母表示同一指标存在显著性差异( $P < 0.05$ )。

### 2.3 HPH处理对不同浓度MP水悬液粒径的影响

HPH处理对不同浓度MP水悬液粒径的影响如图3和图4所示。由图3可知,与经过HPH处理的样品相比,未经处理的样品具有更大的粒径<sup>[16]</sup>。MP水悬液浓度越高,粒径越大,说明溶液中蛋白的粒径大小随着MP水悬液浓度的提高而显著增加( $P < 0.05$ )。经过HPH处理后,各处理组MP水悬液的粒径显著降低( $P < 0.05$ ),其中5 mg/mL的MP水悬液平均粒径最低(263.4 nm)。与之相比,经过处理后的10、15 mg/mL MP水悬液具有较大的粒径( $P < 0.05$ ),分别达到366.3、400.7 nm,并且两者之间没有显著性差异( $P > 0.05$ )。由图4可知,随着MP水悬液浓度的提高,粒径分布峰有向大粒径分布的趋势,10、15 mg/mL的MP水悬液之间没有明显的区别。未经过HPH处理时,MP悬浊液中可能还存在一些高度有序状态的肌原纤维蛋白,导致粒径较大。MP悬浊液通过HPH均质腔,受到一系列流体力学上的剪切作用、空穴作用、碰撞作用等,蛋白质结构被破坏成更小的片段,导致粒径减小。随着MP浓度的增加,蛋白质在HPH均质腔中的相互作用加强,可能导致均质腔内部压力上升,同时据研究报道,当压力增加时,HPH处理比较容易使蛋白质产生聚集<sup>[19, 31-32]</sup>。故高浓度的蛋白可能会影响HPH均质腔中压力的作用效果,从而影响其粒度特性。

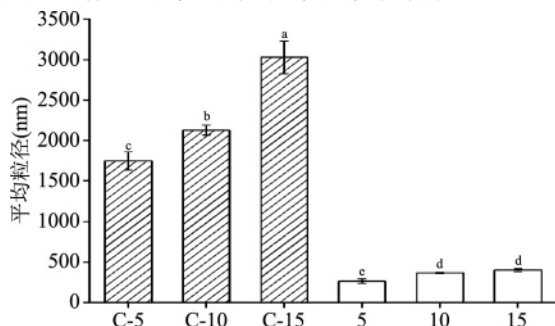


图3 HPH处理对不同浓度水悬液中MP的Z-平均粒径的影响

Fig.3 Effect of HPH treatment on Z-average particle size of MP in water suspensions with different concentrations

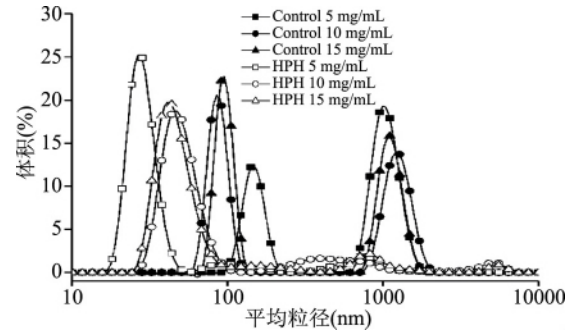


图4 HPH处理对不同浓度MP水悬液粒径分布的影响

Fig.4 Effect of the HPH treatment on particle size distribution of MP water suspension with different concentrations

### 2.4 HPH处理对不同浓度MP水悬液流变特性的影响

MP水悬液的表现粘度如图5所示。结果表明,随着剪切速率的增加,所有处理组的表现粘度下降,呈现假塑性流体特征。经过HPH处理后,不同浓度样品的粘度都较未处理之前有所下降,这与Chen等<sup>[13]</sup>和钟俊桢等<sup>[20]</sup>的研究结果相符。5 mg/mL的处理组具有最低的粘度,与未处理之前相比,表现粘度下降最为明显;而15 mg/mL的处理组经过HPH处理后粘度变化幅度不大,同时随着剪切速率的增加,表现粘度逐渐与未处理的样品接近。研究表明,蛋白分散体的流动行为可以受颗粒尺寸和尺寸分布以及颗粒形状和颗粒变形性的影响<sup>[33-35]</sup>。在未处理的样品中具有高粘度、完整的肌原纤维蛋白片段,其中大的蛋白颗粒与大分子相互纠缠,增加了溶液流动的阻力<sup>[13]</sup>。在本研究中,5 mg/mL的MP水悬液经过HPH处理后粒径最小,说明大部分蛋白结构都被破坏,具有较小的蛋白颗粒,所以表现粘度较低,流动性较好。然而,在较高浓度(10、15 mg/mL)的MP水悬液中还存在着许多较大的、未被破坏的完整肌原纤维蛋白片段以及蛋白质聚集体,这会导致粒径的增加以及颗粒尺寸的不均,从而影响其流动能力。

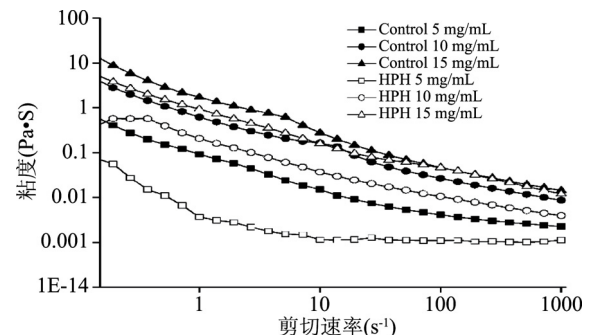


图5 HPH处理对不同浓度MP水悬液流变特性的影响

Fig.5 Effect of HPH treatment on rheological properties of MP water suspension with different concentrations

### 2.5 HPH处理对不同浓度MP水悬液表面疏水性的影响

MP水悬液表面疏水性的变化如图6所示。未经HPH处理的样品之间的表面疏水性没有明显区

别,疏水基团含量较少。经过 HPH 处理后,不同浓度的 MP 水悬液的表面疏水基团明显增加,其中 15 mg/mL 样品表面疏水基团明显少于 5、10 mg/mL 的样品,并且 5、10 mg/mL 样品之间差别不明显。在 HPH 处理之前,疏水基团大多数紧密包埋在球状区域内,与荧光探针的接触受到抑制<sup>[32,36]</sup>,导致疏水含量较低。在 HPH 处理的过程中,MP 受到高静压、剪切力、碰撞等机械力作用,蛋白质发生去折叠现象,部分二硫键的产生被抑制,促进了蛋白质结构的展开,疏水基团暴露并且相互作用,从而导致表面疏水性的提高<sup>[29,31,37]</sup>。随着浓度增加到 15 mg/mL 时,可能由于 HPH 处理过程中高浓度蛋白溶液中蛋白质更易发生聚集<sup>[37]</sup> 粒径增大,同时这种聚集阻止了疏水基团的暴露,导致与 5、10 mg/mL 的样品相比,疏水性较低。但是由图 3 的结果发现,10、15 mg/mL 样品的平均粒径没有显著差异,这可能是因为浓度提高时,大部分疏水基团都包埋在了蛋白质分子之间,使疏水性较低。而 5 mg/mL 的样品由于其粒径较小,水悬液内部的颗粒分散更加均匀,HPH 处理的强剪切力对蛋白质内部隐藏的疏水基团进行切割,更多的疏水基团暴露出来,导致疏水性增加明显<sup>[32,41]</sup>,蛋白质表面电荷发生改变,使水化作用增强,从而提高其溶解性<sup>[18,39]</sup>。

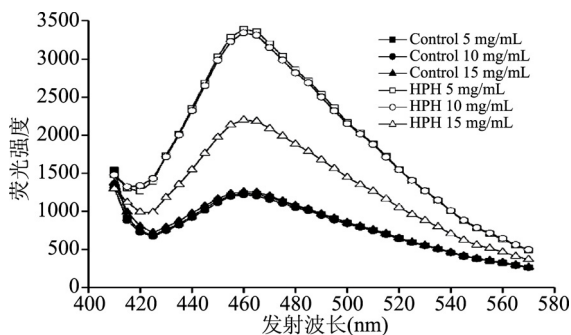


图 6 HPH 处理对不同浓度 MP 水悬液表面疏水性的影响  
Fig.6 Effect of HPH treatment on surface hydrophobicity of MP water suspension with different concentrations

### 2.6 HPH 处理对不同浓度 MP 水悬液活性巯基含量的影响

巯基是 MP 中重要的功能基团,其含量变化反映了 MP 蛋白结构的改变<sup>[18]</sup>。MP 水悬液的活性巯基含量变化如图 7 所示。经过 HPH 处理后,不同浓度 MP 水悬液的活性巯基含量均显著性增加 ( $P < 0.05$ ),其中,5 mg/mL 处理组的活性巯基含量 ( $11.73 \mu\text{mol}/100 \text{mg}$ ) 显著低于其他处理组 ( $P < 0.05$ ) 并且处理组的巯基含量随着 MP 浓度的增加而增加。有研究表明,HPH 处理时产生的剧烈机械作用会造成蛋白质结构的改变以及蛋白质的变性<sup>[40]</sup> 同时,蛋白质分子展开后可能会诱导巯基以及疏水基团从蛋白质分子内部暴露出来,使活性巯基含量增加。当 MP 水悬液浓度较低时,蛋白质展开变得松散,蛋白质的表面积与体积之比增加,表面电荷分布增强,水化作用增强,因此增加了蛋白质的溶解性<sup>[41]</sup>;同时,由于蛋白颗粒新形成的界面在热力学上

不稳定,导致巯基基团发生重折叠,使其包埋在蛋白质分子内部,随后二硫键的断裂和巯基的氧化、包埋形成对立面,使巯基的氧化和包埋占主导<sup>[22]</sup>,所以 MP 浓度较低时,活性巯基含量较少。

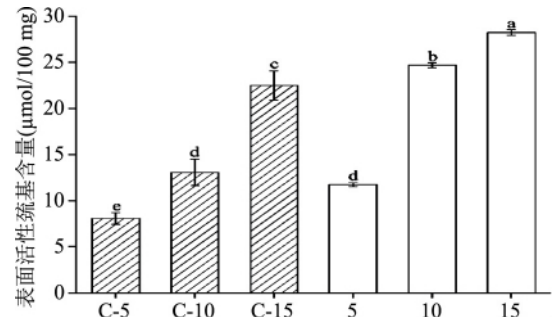


图 7 HPH 处理对不同浓度 MP 水悬液活性巯基含量的影响  
Fig.7 Effect of HPH treatment on active sulfhydryl content of MP water suspension with different concentrations

### 2.7 圆二色谱(CD)分析

HPH 处理对不同浓度 MP 水悬液的二级结构影响如表 1 所示。由表 1 可知,经过 HPH 处理后,所有处理组均呈现  $\alpha$ -螺旋降低,  $\beta$ -折叠、 $\beta$ -转角和无规卷曲结构增加的现象,5 mg/mL 样品的  $\alpha$ -螺旋降低最为明显。据文献报道,HPH 处理会诱导蛋白质部分结构的展开,且对结构改变起主导作用<sup>[17]</sup>。肌原纤维蛋白中  $\alpha$ -螺旋的缺失可能导致分子间相互作用的变化,从而破坏蛋白组装过程,导致 MP 在水中的溶解度增加<sup>[25]</sup>。在本研究中,当蛋白浓度为 5 mg/mL 时,蛋白质之间的作用力较小,从而导致其结构更易于展开,使溶解度增加。随着浓度的提升,蛋白在 HPH 处理过程中受到的压力可能也会随之提高,而据研究表明<sup>[38]</sup>,均质压力提升会导致蛋白质之间相互作用加强,同时在疏水作用下,一部分蛋白质重新聚集、组装,  $\alpha$ -螺旋也会随之增加。同时  $\beta$ -转角被认为是蛋白分子排列有序的产物<sup>[38]</sup>,说明经过 HPH 处理后,MP 在水中的均匀性以及蛋白构象稳定性有所提升,而本研究中,经过 HPH 处理后所有样品的  $\beta$ -转角都有明显提升,与相关研究结果一致。

表 1 圆二色谱分析 MP 水悬液的二级结构组成

Fig.1 Analysis of the secondary structural compositions of MP water suspension by circular dichroism

	二级结构(%)			
	$\alpha$ -螺旋	$\beta$ -折叠	$\beta$ -转角	无规卷曲
Control 5 mg/mL	58.9	10.0	11.9	19.2
Control 10 mg/mL	58.5	10.6	12.0	18.9
Control 15 mg/mL	54.3	14.4	12.0	19.3
HPH 5 mg/mL	31.9	17.9	16.8	33.4
HPH 10 mg/mL	41.5	12.4	16.0	30.1
HPH 15 mg/mL	44.3	11.1	15.6	29.0

### 3 结论

本文通过 HPH 处理不同浓度 MP 水悬液,并对其理化特性以及蛋白结构进行测定,发现在一定的浓度范围内(5~15 mg/mL),HPH 处理可以显著提高不同浓度 MP 在水中的溶解性(最高达到 88.39%),

并且随着浓度的增加,溶解效果呈现下降趋势;处理后的样品在4℃条件下放置9d后仍然能保持最高79.08%的溶解度,具有较好的稳定性。同时,经过HPH处理的MP水悬液的分散性、流动能力等理化特性得到显著提升,蛋白二、三级结构被破坏,处理效果随着MP浓度的升高而下降。5mg/mL的MP水悬液经过HPH处理后具有更好的水溶性,当浓度提高时,与5mg/mL相比,10、15mg/mL的MP水悬液的粒径有增大的趋势,造成样品流动能力下降,同时疏水性下降,活性巯基含量上升, $\alpha$ -螺旋结构增加,这可能与高浓度MP在HPH处理时容易产生蛋白质的聚集有关。因此,HPH处理对MP在水中溶解性的改善效果随着MP浓度的提高而降低,为新型低盐肉制品的开发提供了新的思路,但是要实现较高浓度的MP在水中的溶解,仍需进一步研究。

### 参考文献

- [1]Pereir A M ,Vicente A F. Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet[J]. Meat Science 2013 93(3): 586-592.
- [2]Williams P. Nutritional composition of red meat [J]. Nutrition & Dietetics 2007 64(s4): S113-S119.
- [3]Hayakawa T ,Ito T ,Wakamatsu J ,et al. Myosin is solubilized in a neutral and low ionic strength solution containing 1-histidine [J]. Meat Science 2009 82(2): 151-154.
- [4]Ganesan Krishnamurthy ,Chang H S ,Hultin H O ,et al. Solubility of chicken breast muscle proteins in solutions of low ionic strength [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry , 1996 44(2): 408-415.
- [5]Taneja A ,Ye A ,Singh H. Influence of protein concentration on the stability of oil-in-water emulsions formed with aggregated milk proteins during spray drying [J]. Dairy Science & Technology 2015 95(3): 279-293.
- [6]Takai E ,Yoshizawa S ,Ejima D ,et al. Synergistic solubilization of porcine myosin in physiological salt solution by arginine [J]. International Journal of Biological Macromolecules , 2013 , 62: 647-651.
- [7]Ito Y ,Tatsumi R ,Wakamatsu J I ,et al. The solubilization of myofibrillar proteins of vertebrate skeletal muscle in water [J]. Animal Science Journal 2015 74(5): 417-425.
- [8]Katayama S ,Junji Shima A ,Saeki H. Solubility improvement of shellfish muscle proteins by reaction with glucose and its soluble state in low-ionic-strength medium [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry 2002 50(15): 4327-4332.
- [9]Saeki H ,Inoue K. Improved solubility of carp myofibrillar proteins in low ionic strength medium by glycosylation [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry , 1997 45(9): 3419-3422.
- [10]Stefansson G ,Hultin H O. On the solubility of cod muscle proteins in water [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry , 1994 42(12): 2656-2664.
- [11]Dumay E ,Chevalier L D ,Picart P L ,et al. Technological aspects and potential applications of (ultra) high-pressure homogenisation [J]. Trends in Food Science & Technology 2013 , 31(1): 13-26.
- [12]Villay A ,Lakkis D F F ,Picton L ,et al. Comparison of polysaccharide degradations by dynamic high-pressure homogenization [J]. Food Hydrocolloids 2012 27(2): 278-286.
- [13]Chen X ,Xu X ,Zhou G. Potential of high pressure homogenization to solubilize chicken breast myofibrillar proteins in water [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies , 2016 33: 170-179.
- [14]Liu H ,Kuo M. Ultra high pressure homogenization effect on the proteins in soy flour [J]. Food Hydrocolloids , 2016 , 52: 741-748.
- [15]Song X ,Zhou C ,Fu F ,et al. Effect of high-pressure homogenization on particle size and film properties of soy protein isolate [J]. Industrial Crops & Products 2013 43(1): 538-544.
- [16]沙小梅 ,胡姿姿 ,涂宗财 ,等. 高压微射流压力对大豆蛋白-大豆多糖体系功能性质的影响 [J]. 农业工程学报 2016 , 32(17): 281-286.
- [17]姜梅 ,董明盛 ,芮昕 ,等. 高压均质和热处理对豆乳蛋白质溶解性的影响 [J]. 食品科学 2013 34(21): 125-130.
- [18]张晶 ,丁芳 ,邹晴晴 ,等. 高压均质对大米蛋白功能特性及物化特性的影响 [J]. 食品与机械 2016(6): 9-12.
- [19]雷莉 ,赵强 ,范婷 ,等. 高压微射流处理对白木通籽分离蛋白结构及流变性质的影响 [J]. 现代食品科技 2015(2): 145-150.
- [20]钟俊桢 ,刘成梅 ,刘伟 ,等. 动态高压微射流技术对乳清蛋白性质的影响 [J]. 食品科学 2009 30(17): 106-108.
- [21]王喜波 ,徐晔晔 ,于洁 ,等. 高压均质对大豆蛋白柔性和乳化性的影响及其相关性分析 [J]. 农业机械学报 2018(6): 362-367.
- [22]涂宗财 ,姜颖 ,陈钢 ,等. 动态超高压微射流对花生球蛋白结构和功能性质的影响 [J]. 食品工业科技 2009 30(12): 73-75.
- [23]Bian G ,Xue S ,Xu Y ,et al. Improved gelation functionalities of myofibrillar protein from pale soft and exudative chicken breast meat by nonenzymatic glycation with glucosamine [J]. International Journal of Food Science and Technology , 2018 , 53(8): 2006-2014.
- [24]Khiari Z ,Pietrasik Z ,Gaudette N J ,et al. Poultry protein isolate prepared using an acid solubilization/precipitation extraction influences the microstructure ,the functionality and the consumer acceptability of a processed meat product [J]. Food Structure 2014 2(1-2): 49-60.
- [25]Zhao Y ,Wang P ,Zou Y ,et al. Effect of pre-emulsification of plant lipid treated by pulsed ultrasound on the functional properties of chicken breast myofibrillar protein composite gel [J]. Food Research International 2014 58(4): 98-104.
- [26]Zhong J ,Liu X ,Wei D ,et al. Effect of incubation temperature on the self-assembly of regenerated silk fibroin: A study using AFM [J]. International Journal of Biological Macromolecules , 2015 76: 195-202.
- [27]Cao Y ,Xia T ,Zhou G ,et al. The mechanism of high pressure-induced gels of rabbit myosin [J]. Innovative Food Science & Technology 2013 31(1): 13-26.

(下转第12页)



the emulsifying properties of myofibrillar proteins [J]. Food and Bioprocess Technology 2013 6(7): 1703-1712.

[22] 宦海珍, 朱文慧, 步营, 等. 微波解冻对秘鲁鱿鱼肌肉品质与蛋白质氧化程度的影响 [J]. 食品工业科技, 2018, 39(5): 30-35, 40.

[23] Kim T H, Choi J H, Choi Y S, et al. Physicochemical properties of thawed chicken breast as affected by microwave power levels [J]. Food Science and Biotechnology, 2011, 20(4): 971.

[24] Zhang B, Ma L K, Deng S G, et al. Shelf-life of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) as affected by weakly acidic electrolyzed water ice-glazing and modified atmosphere packaging [J]. Food Control 2015, 51: 114-121.

[25] 胡亚丽. 罗非鱼肌肉蛋白热变性聚集行为及其抑制 [D]. 湛江: 广东海洋大学, 2015.

[26] 李艳青. 蛋白质氧化对鲤鱼蛋白结构和功能性的影响及

(上接第6页)

Emerging Technologies 2012, 16(39): 41-46.

[28] Chen X, Xu X, Han M, et al. Conformational changes induced by high-pressure homogenization inhibit myosin filament formation in low ionic strength solutions [J]. Food Research International 2016, 85: 1-9.

[29] Chen X, Chen C G, Zhou Y Z, et al. Effects of high pressure processing on the thermal gelling properties of chicken breast myosin containing  $\kappa$ -carrageenan [J]. Food Hydrocolloids 2014, 40: 262-272.

[30] Wang T, Sun X, Raddatz J, et al. Effects of microfluidization on microstructure and physicochemical properties of corn bran [J]. Journal of Cereal Science 2013, 58(2): 355-361.

[31] Yoshikawa Y, Yasuie T, Yagi A, et al. Transverse elasticity of myofibrils of rabbit skeletal muscle studied by atomic force microscopy [J]. Biochemical & Biophysical Research Communications, 1999, 256(1): 13-19.

[32] 毕爽, 李杨, 隋晓楠, 等. 高压均质对大豆蛋白-磷脂复合体系结构及理化/功能性质的影响 [J]. 食品科学, 2017, 38(5): 148-153.

[33] Arzeni C, Martinez K, Zema P, et al. Comparative study of high intensity ultrasound effects on food proteins functionality [J]. Journal of Food Engineering 2012, 108: 463-472.

[34] Jambak A R, Mason T J, Lelas V, et al. Ultrasonic effect on physicochemical and functional properties of alpha-lactalbumin [J]. LWT-Food Science and Technology 2010, 43: 254-262.

其控制技术 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2013.

[27] Gupta P, Khan R H, Saleemuddin M. Induction of 'molten globule' like state in acid-denatured state of unmodified preparation of stem bromelain: Implications of disulfides in protein folding [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2003, 33(4-5): 167-174.

[28] 章银良, 夏文水. 海藻糖对盐渍海鳗肌球蛋白影响的研究 [J]. 食品科学, 2007, 28(7): 39-43.

[29] Zhou A, Benjakul S, Pan K, et al. Cryoprotective effects of trehalose and sodium lactate on tilapia (*Sarotherodon nilotica*) surimi during frozen storage [J]. Food Chemistry, 2006, 96(1): 96-103.

[30] Ogawa M, Ehara T, Tamiya T, et al. Thermal stability of fish myosin [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 1993, 106(3): 517-521.

[35] Zisu B, Bhaskaracharya R, Kentish S, et al. Ultrasonic processing of dairy systems in large scale reactors [J]. Ultrasonics Sonochemistry 2010, 17: 1075-1081.

[36] Zhang Z, Yang Y, Tang X, et al. Chemical forces and water holding capacity study of heat-induced myofibrillar protein gel as affected by high pressure [J]. Food Chemistry, 2015, 188: 111-118.

[37] Chandrapala J, Zisu B, Palmer M, et al. Effects of ultrasound on the thermal and structural characteristics of proteins in reconstituted whey protein concentrate [J]. Ultrasonics Sonochemistry 2011, 18(5): 951-957.

[38] 邢贝贝, 张亭亭, 赵强, 等. 高压微射流处理对米谷蛋白热聚集体性质的影响 [J]. 食品科学, 2019, 40(3): 109-115.

[39] Liu W, Zhang Z Q, Liu C M, et al. The effect of dynamic high-pressure microfluidization on the activity, stability and conformation of trypsin [J]. Food Chemistry, 2010, 123(3): 616-621.

[40] Keerati M, Corredig M. Effect of dynamic high pressure homogenization on the aggregation state of soy protein [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry 2009, 57(9): 3556-3562.

[41] Li Y, Chen X, Xue S, et al. Effect of the disruption chamber geometry on the physicochemical and structural properties of water-soluble myofibrillar proteins prepared by high pressure homogenization (HPH) [J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 105: 215-223.

中国科技核心期刊,  
轻工行业优秀期刊