

改性大豆分离蛋白对法兰克福香肠品质的影响

Effects of enzyme modified SPI on texture and antioxidant activity of frankfurters

金牧¹ 何志勇¹ 熊幼翎¹ 黄小林² 陈洁¹

JIN Mu¹ HE Zhi-yong¹ XIONG You-ling¹ HUANG Xiao-lin² CHEN Jie¹

(1. 江南大学食品科学与技术国家重点实验室, 江苏 无锡 214122;

2. 益海一嘉里集团食品技术研究所, 河北 秦皇岛 066206)

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China;

2. Food Technology Research Institute, Yihai-Kerry Oils & Grains Group, Qinghuangdao, Hebei 066206, China)

摘要:采用酶水解和酶交联的方法对 SPI 进行改性, 制备能够提高法兰克福香肠的持水性和贮存稳定性的功能性食用蛋白配料。通过应用全质构分析和色差的方法, 考察添加改性蛋白的香肠品质, 用 TBARS 反应物的含量来监测改性蛋白对香肠在储藏过程中的脂肪氧化稳定性的影响。结果表明: SPI 水解交联产物可以显著 ($P < 0.05$) 抑制法兰克福香肠脂肪氧化的发生, 显著 ($P < 0.05$) 降低香肠的蒸煮损失, 显著 ($P < 0.05$) 提高香肠的质构品质。采用碱性蛋白酶水解 SPI 至水解度 4 后停止水解, 再用谷氨酰胺转氨酶交联 2 h 获得的改性蛋白, 以 2% 的量添加到法兰克福香肠中, 其防止香肠蒸煮损失和抗氧化效果显著。

关键词:大豆分离蛋白; 水解; 交联; 法兰克福香肠; 质构; 抗氧化

Abstract: The SPI was modified with enzymatic hydrolysis and crosslinking to make the food ingredients for improving the texture and antioxidant activity of frankfurters. Texture profile analysis (TPA) and colorimeter were used to evaluate the quality of frankfurters. TBARS value was measured to evaluate the degree of lipid oxidation. The results showed that TGase cross-linked SPI hydrolysate in frankfurters could inhibit the oxidation of frankfurters ($P < 0.05$) and decrease the cooking loss ($P < 0.05$) compared with control significantly. TPA values showed the hardness, springiness, Gumminess, Chewiness values of TGase cross-linked SPI hydrolysate added sausages compared with control could be improved obviously ($P < 0.05$). The result suggested that the sausage added with modi-

fied SPI, which was hydrolyzed to DH = 4 by Alcalase and was continuously cross-linked with TGase for 2 hours, could prevent the oxidation and cooking loss significantly.

Keywords: SPI; Hydrolysis; TG cross-linking; Frankfurter; TPA; Antioxidant activity

大豆分离蛋白 (SPI) 作为一种植物蛋白, 因胆固醇含量低、营养价值高等特点, 受到了消费者的青睐; 同时因其良好的功能性质和较低的成本, 而常作为非功能性填充料或功能性添加剂广泛应用于肉制品加工中。如何应用大豆分离蛋白和其他食品添加剂或配料, 来维持或提高肉制品应有的风味、口感、质构、保水保油性、货架期等, 一直是肉制品加工研究的重点。

目前, 大豆分离蛋白作为一种功能性添加剂的研究报道众多, 且很多报道称天然未变性大豆分离蛋白添加到法兰克福香肠中并没有增强香肠的质构。Feng 等^[1]报道添加 2% SPI 的香肠的质构与未添加 SPI 的香肠的质构没有显著性差异; Chin 等报道^[2]添加 2.2% SPI 的香肠的硬度、弹性、咀嚼性没有发生变化。由于法兰克福香肠的中心温度只需要达到 72 °C, 此温度下, 天然 SPI 的结构并没有或只发生了很小程度的改变, 使得 SPI 与肌肉蛋白间的相互作用力很小, 不能改善香肠的质构^[3, 4]。

酶水解作为一种高效的蛋白质结构修饰方法, 可以有效的打开蛋白的结构, 降低其分子量, 暴露出更多的带电基团与疏水性基团, 为 SPI 与肌肉蛋白间更好的相互作用提供了可能。但是酶水解 SPI 仍然存在一些潜在的问题, 如水解度太低则不能有效地打开蛋白的结构; 水解度太高则容易产生苦味肽, 影响风味, 蛋白的乳化性也会降低, 不利于持水持

基金项目: 国家“863”课题 (编号: 2006AA10Z325); 教育部新世纪优秀人才培养计划 (编号: NCET-07-0377); 益海集团项目“植物蛋白性质研究”

作者简介: 金牧 (1985-), 男, 江南大学食品科学与技术国家重点实验室硕士研究生。

通讯作者: 陈洁。E-mail: chenjie@jiangnan.edu.cn

收稿日期: 2009-11-03

油。谷氨酰胺转氨酶(TGase)作为一种连接酶,可以有效的提高蛋白的分子量,经 TGase 交联的蛋白具有良好的乳化性、持水性和凝胶性^[5]。目前,尚未有将两种酶处理方法结合起来对蛋白进行改造,并将其应用于食品加工中的报道。

本试验将酶水解和酶交联结合,采用先水解后交联的方式对 SPI 进行改造,以期获得良好的功能性食品配料,并将其应用于法兰克福香肠中,重点考察法兰克福香肠质构的变化及储藏稳定性。

1 材料与方 法

1.1 材 试与试剂

新鲜猪肉:2 号肉;

大豆:台湾 292 品种;

食盐:市售;

碱性蛋白酶:西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司;

谷氨酰胺转氨酶(TGase):泰兴一鸣生物制品有限公司;

正己烷、乙醇、氢氧化钠、硫酸铜、硫酸钾、酒石酸钾钠、氯化钠、牛血清白蛋白、硫代巴比妥酸(TBA)、叔丁基羟基茴香醚(BHA)、三氯乙酸(TCA);国药集团化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器与设备

高速冷冻离心机:Avanti J-26 XP,美国 Beckman 公司;

冷冻干燥机:Martin Christ 公司;

磁力搅拌器:KMO-2basic 型,广州仪科实验室技术有限公司;

电子天平:JB5374-91 型,梅特勒-托利多仪器有限公司;

pH 计:梅特勒-托利多仪器有限公司;

质构仪:TA-XT Plus,英国 Stable Micro Systems 公司;

紫外光可见分光光度计:UV-2800H 型,尤尼柯(上海)仪器有限公司;

BJRJ-12T 台式绞肉机, BVPI-500TS 真空包装机,

BYXX-50 烟熏炉:嘉兴艾博不锈钢机械工程有限公司;

TB-46 灌肠机:永康市泰宝电器五金厂。

1.3 方 法

1.3.1 SPI 的提取 称取 1 kg 大豆于 25 ℃烘箱中 24 h 烘干,磨粉机去皮、粉碎。所得豆粉用正己烷-乙醇(3:1)混合溶剂脱脂,自然挥发,所得脱脂豆粕用 10 倍水溶解,然后用 2 M 的 NaOH 将 pH 调至 8.0,室温下连续搅拌 2 h,并用 2 M 的 NaOH 将 pH 保持在 8.0。溶液用冷冻离心机在 13 500 g 的离心力下离心 20 min,取上清液,用 2 M 的 HCl 将 pH 调至 4.5,然后再用冷冻离心机在 3 300 g 的离心力下离心 20 min,取底部沉淀。底部沉淀用 10 倍的水复溶,并将 pH 调到 7,放入冷冻干燥机去除水分。所得 SPI 粉末用双缩脲法测浓度,粉末经真空包装后放在 4 ℃冰箱中保存。

1.3.2 SPI 水解 将 SPI 配成 5% 的水溶液,25 ℃下搅拌 30 min,开启水浴,待蛋白溶液温度升至 50 ℃时用 2 M 的 NaOH 调节溶液 pH 至 8.0,按酶/底=1/100(V:W)添加碱性蛋白酶,同时滴加 0.5 M 的 NaOH 控制溶液的 pH 始终在 8.0。通过 pH-Stat 法计算获得所需要的水解度(DH)时需要滴加的碱的体积,实现对水解度的控制。当蛋白溶液达到目标水解度时将溶液放在 80 ℃水浴中灭酶 15 min,待溶液完全冷却后,在 2 500 g 的离心力下离心 10 min,取上清液,密封,放入冰箱冷藏,备用。

1.3.3 TGase 酶交联 蛋白液在 55 ℃水浴中放置 15 min,用 1 M 的 NaOH 或 HCl 溶液调节蛋白液的 pH 至 7.0。按 10 U/g·蛋白的量添加 TGase 酶。分别反应 0,0.5,1,2,3 h 后将蛋白液取出放入 80 ℃水浴灭酶 15 min,冷却后密封放入 4 ℃冰箱储存。

1.3.4 香肠的制作 将新鲜的 2 号猪肉用绞肉机分别将肥肉和瘦肉绞细,肥肉、瘦肉、盐、水、碎冰、蛋白按比例称好^[6](详见表 1)。用斩拌机将其斩拌均匀,温度不超过 15 ℃,然后放入自动灌肠机中灌肠,最后转移至烟熏炉中,先在 60 ℃下蒸 30 min 再在 85 ℃下蒸至中心温度为 72 ℃。待香肠冷却到 25 ℃时,将其盛放到 1 次性餐盘中,并用保鲜膜包好,放入 4 ℃冰箱保存。共有 5 种不同的样品:① 空白样,不添加蛋白;② 添加不经过水解和交联的 SPI;③ 添加不经过水解但是交联 2 h 的 SPI(制备方法如 1.3.3);④ 添加水解度为 4%但不交联的 SPI;⑤ 添加水解度为 4%且经过交联 2 h 的 SPI(制备方法:采用 1.3.2 方法制备水解度为 4%的水解 SPI,然后采用 1.3.3 方法交联 2 h)。

表 1 法兰克福香肠制作配方[†]

Table 1 The formula of frankfurters

配方/g	0%蛋白	2%蛋白
肥+瘦	713	713
蛋白	0	20
水	172	152
冰	100	100
盐	15	15
总计	1 000	1 000

[†] 配方中肥:瘦=0.429

1.3.5 香肠的全质构分析(TPA) 将香肠剥去肠衣后切成 20 mm 高的圆柱体,在质构仪上以直径为 36 mm 的探头压缩 2 次,压缩比为 60%,压缩速度为 5.0 mm/min,每个样品做 6 次平行,取平均值。

1.3.6 硫代巴比妥酸反应物(TBARS)含量的测定 参考文献^[7],略修改。精确称取 0.4 g 香肠放入 25 mL 具塞试管中,依次加入 3 滴 BHA 溶液,3 mL TBA 溶液,17 mL TCA

-HCl 溶液,混合均匀后放入沸水中 30 min,避光自然冷却。取 5 mL 上清液与 5 mL 氯仿振荡 1 min,放入离心机,在 3 000 g 的离心力下离心 10 min,小心吸取上层液体在 532 nm 下测定吸收值,TBARS 值按式(1)计算:

$$TBARS(mg/kg) = (A_{532}/W_s) \times 9.48 \quad (1)$$

式中:

A_{532} ——溶液在 532 nm 下的吸光值;

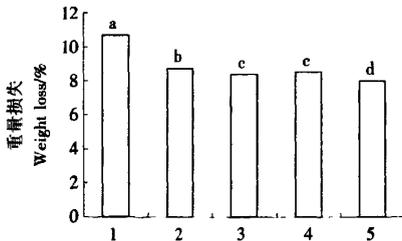
W_s ——样品的重量, g;

9.48——常量,由稀释因子和红色 TBA 反应产物的摩尔消光系数得来。

2 结果与讨论

2.1 改性 SPI 对于降低香肠蒸煮损失的效果

将 SPI 及其改性产物以 2% 的添加量添加到法兰克福香肠中,其对香肠蒸煮损失的影响结果见图 1。图 1 的数据表明,与不添加 SPI 的香肠相比,添加了天然 SPI 及其改性产物的香肠的持水性均有显著改善($P < 0.05$)。而与天然 SPI 的效果相比,无论是采用轻度酶解、TGase 交联或者是先酶解再交联改性,改性产物均比天然 SPI 能够更好的保持香肠的水分($P < 0.05$)。其中添加了先酶解再交联的 SPI 改性产物的香肠,蒸煮损失最少,与空白相比,水分损失减少了 25.26%,与添加了天然 SPI 的香肠相比,水分损失减少了 9%。



a,b,c,d 表示在同一列内不同上标的数值间存在显著性差异 ($P < 0.05$);1.空白:不添加 SPI;2.未经过水解和交联的 SPI;3.未经过水解但交联 2 h 的 SPI;4.水解度为 4%,不经过交联的 SPI;5.水解度为 4%且交联 2 h 的 SPI

图 1 添加 SPI 及其水解交联产物对香肠蒸煮损失的影响

Figure 1 The effects of SPI and its hydrolyzed and cross-linked products on the cooking loss of frankfurters

该试验结果与 Wang 等^[8]报道相符,认为天然蛋白和水解蛋白都有降低肉品蒸煮损失的趋势,但只有水解蛋白可以显著的降低肉品的蒸煮损失。事实上,SPI 经过酶水解后,大豆球蛋白降解为多种不同的亚基,表现极性基团与带电基团会增加,这可能使得蛋白与水之间的相互作用力增强,从而导致持水性增加,在香肠中的宏观表现为蒸煮损失减少。

2.2 SPI 及其改性产物对香肠质构的影响

SPI 及其改性产物对香肠质构的影响见表 2。与未添加

SPI 的空白相比,添加了蛋白的香肠的硬度、胶黏性、咀嚼性均显著提高($P < 0.05$)。从硬度指标看,添加了 SPI 及其改性产物的香肠的硬度均显著高于未添加组,而添加了改性产物的香肠的硬度又显著高于添加天然 SPI 的香肠。这个结果与产物的持水性比较一致。

表 2 SPI 及其改性产物对香肠质构的影响[†]

Table 2 The effects of SPI and its enzymatic modified products on the texture of frankfurters

参数	添加物				
	1	2	3	4	5
硬度	1 763.13 ^a	2 496.25 ^b	3 001.90 ^c	2 797.10 ^c	2 837.70 ^c
弹性	0.784 ^a	0.814 ^a	0.806 ^a	0.813 ^a	0.832 ^b
黏聚性	0.452 ^{ab}	0.508 ^{bc}	0.528 ^c	0.50 ^{bc}	0.41 ^a
胶黏性	809.07 ^a	1 271.20 ^b	1 537.79 ^c	1 454.47 ^{bc}	1 303.08 ^b
咀嚼性	625.86 ^a	964.93 ^b	1 342.1 ^d	1 180.31 ^c	1 097.21 ^c
回弹性	0.218 ^a	0.263 ^{ab}	0.306 ^b	0.254 ^{ab}	0.236 ^a

[†] a,b,c 表示在同一列内不同上标的数值间存在显著性差异 ($P < 0.05$);1.空白:不添加 SPI;2.未经过水解和交联的 SPI;3.未经过水解但交联 2 h 的 SPI;4.水解度为 4%,不经过交联的 SPI;5.水解度为 4%且交联 2 h 的 SPI

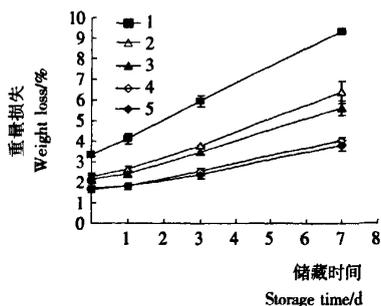
前人研究^[9]表明,经碱性蛋白酶水解的水解产物中含有大量的 11S 片段,具有相当数量的带电基团和疏水性基团,11S 片段与完整的 11S 化合物相比更容易和肌球蛋白相结合,形成强的凝胶。另外有报道^[1],水解蛋白与肌肉蛋白形成的凝胶结构细腻、致密,孔洞较少。

上述结果也进一步说明,经过轻度水解并交联的大豆蛋白改性产物,其结构与天然 SPI 相比确实发生了很大变化,不仅能够影响其添加到香肠后的产物的持水性,而且还影响产物质构。

2.3 SPI 及其改性产物对香肠储藏过程中氧化稳定性的影响

肉制品在氧化初期形成的低浓度的醛类化合物对肉的美好风味有促进作用^[10],但是随着氧化的进行,酮、醛、醇等小分子物质富集,形成不良的哈败味。TBARS 值可用来反映脂肪氧化后期终产物(丙二醛)的量。有大量的研究^[6, 11~13]显示,大豆蛋白以及水解产物对于控制氧化有一定的帮助。但有关水解产物交联后是否会影响产物的抗氧化性的报道很少。

由图 2 可知,添加了 SPI 及其改性产物的香肠的 TBARS 值显著($P < 0.05$)低于空白组,而添加了水解或者水解交联产物的香肠的 TBARS 值显著($P < 0.05$)低于天然 SPI 或者天然 SPI 的交联产物的香肠的 TBARS 值。在存储的第 7 天,第 5 组香肠的 TBARS 值为 3.8 mg/kg,而第 1 组香肠的 TBARS 值为 9.36 mg/kg,降低了 56.70%,第 2 组香肠的 TBARS 值为 6.41 mg/kg,降低了 40.72%。



1.空白;不添加SPI; 2.未经过水解和交联的SPI; 3.未经过水解但交联2h的SPI; 4.水解度为4%,不经过交联的SPI; 5.水解度为4%且交联2h的SPI

图2 SPI及其改性产物对4℃储存过程中香肠样品TBARS值的影响

Figure 2 The effects of SPI and its enzymatic modified products on the TBARS of frankfurters stored at 4℃

进一步分析图2数据,还可以发现,添加未水解的蛋白样品能部分地抑制TBARS的产生,添加水解蛋白的样品抑制TBARS产生的程度要比未水解蛋白好,而在同一水解度下,经过TGase交联的水解蛋白样品抗氧化效果不低于未交联的水解蛋白,这也表明经过交联的水解蛋白的抗氧化性没有遭到破坏。

3 结论

与添加了天然SPI的法兰克福香肠相比,经过改性的SPI产物均可改善香肠的品质。其中添加水解度为4%、交联2h的SPI的香肠其提高持水性和抗氧化能力的综合效果最好。由此,酶水解与酶交联结合使用对SPI进行改造,可得到一种新型的功能性食品配料,将其应用到法兰克福香肠中,可在有效提高香肠品质的同时兼具良好的储藏稳定性。

参考文献

- Feng J, Xiong Y L. Textural properties of pork frankfurters containing thermally /enzymatically modified soy proteins[J]. J. Food Sci., 2003, 68(4): 1 220~1 224.
- Chin K B, Keeton J T, Longnecker M T, et al. Utilization of soy protein isolate and konjac blends in a low-fat bologna (model system)[J]. Meat Sci., 1999(53): 45~57.
- Scilingo A A, Anon M C. Calorimetric study of soybean protein isolates: Effect of calcium and thermal treatments[J]. J. Agric. Food Chem., 1996(44): 3 751~3 756.
- Feng J, Xiong Y L. Interaction of muscle and preheated soy proteins[J]. J. Food Sci., 2002(7): 2 851~2 856.
- 王森, 吴小平. 转谷氨酰胺酶在肉制品中的应用[J]. 食品与机械, 2001(3): 33~35.
- Nieto G, Castillo M, Xiong Y L, et al. Antioxidant and emulsifying properties of alcalase-hydrolyzed potato proteins in meat e-

mulsions with different fat concentrations[J]. Meat Sci., 2009(83): 24~30.

- Kong B, Xiong Y L. Antioxidant activity of zein hydrolysates in a liposome system and the possible mode of action[J]. J. Agric. Food Chem., 2006(54): 6 059~6 068.
- Wang L, Xiong Y L. Inhibition of lipid oxidation in cooked beef patties by hydrolyzed potato protein is related to its reducing and radical scavenging ability[J]. J. Agric. Food Chem., 2003(53): 9 186~9 192.
- Feng J, Xiong Y L. Interaction and functionality of mixed myofibrillar and enzyme-hydrolyzed soy proteins[J]. J. Food Sci., 2003, 68(3): 803~809.
- 唐学燕, 励建荣, 赵爱明, 等. 洋葱对西式香肠品质及储存稳定性的影响[J]. 食品与机械, 2008, 24(2): 29~32.
- Pena-Ramos E A, Xiong Y L. Whey and soy protein hydrolysates inhibit lipid oxidation in cooked pork patties[J]. Meat Sci., 2003(64): 359~363.
- McCarthy T L, Kerry J P, Kerry J F, et al. Evaluation of the antioxidant potential of natural food/plant extracts as compared with synthetic antioxidants and vitamin E in raw and cooked pork patties[J]. Meat Sci., 2001a(57): 45~52.
- McCarthy T L, Kerry J P, Kerry J F, et al. Assessment of the antioxidant potential of natural food and plant extracts in fresh and previously frozen pork patties[J]. Meat Sci., 2001b(57): 177~184.

信息窗

瑞典为食品贴上碳排放标签

瑞典为对抗气候变暖而想出的新招: 给食品贴上碳排放标签, 明示该食品在生长、加工等过程中产生的碳排放量, 以引导消费者选择更加绿色的食品, 最终达到减少温室气体排放的目的。

给食物贴碳排放标签的做法是受到瑞典2005年一个研究成果的启示。该研究认为, 瑞典25%的人均碳排放可最终归因于食品生产。瑞典的农民协会已经开始给各种食品的碳排放量做标注。在瑞典的超市里, 越来越多的食品将被贴上碳排放标签, 明示该食品的“碳排放历史”, 从而引导消费者选择健康的绿色食品, 以减少温室气体排放。

此外, 瑞典最新的《食品指导方针》还建议, 人们减少黄瓜和西红柿的食用量, 因为这两种食物都要在温室大棚里培植, 生长过程中排放的二氧化碳较多。该方针还建议人们用豆制品来代替生产过程中会排放较多二氧化碳的牛肉等肉类食品。瑞典有关专家称, 如果方针中的条例得到严格遵守, 瑞典在食品生产过程中可以减排20%到50%。(来源: CIFST网站)