

# 冷冻猪肉丸中大豆分离蛋白结构变化及共存物对其功能性的影响研究

朱秀清<sup>1</sup>, 杨宏哲<sup>1</sup>, 王玲<sup>2</sup>, 王子玥<sup>1</sup>, 刘燕清<sup>1</sup>, 吕铭守<sup>1</sup>, 曲敏<sup>1\*</sup>

(1. 哈尔滨商业大学食品工程学院, 黑龙江省谷物食品与综合加工重点实验室, 哈尔滨 150076;

2. 东北农业大学食品学院, 哈尔滨 150086)

**摘要: 目的** 研究冷冻条件(-18 °C, 2 d)下大豆分离蛋白(soybean protein isolate, SPI)结构变化以及猪肉丸中共存物(猪脂肪、SPI 替代瘦肉量、淀粉和食盐)对 SPI 功能特性的影响。**方法** 采用巯基、二硫键含量及表面疏水性分析冷冻条件对 SPI 结构影响, 通过保水性、保油性及乳化特性变化研究冷冻条件猪肉丸中共存物对 SPI 功能特性的影响。**结果** 冷冻处理后 SPI 游离巯基含量下降 0.75 μmol/g, 暴露巯基、二硫键含量分别增加了 1.83、6.45 μmol/g, 表面疏水性由 192.76 增至 699.93。添加 10%猪脂肪、15% SPI 替代瘦肉量、20%淀粉和 2%食盐, SPI 共存体系获得最佳保水性、保油性, 分别添加 30%猪脂肪、15% SPI 替代瘦肉量、15%淀粉和 2%食盐, SPI 共存体系获得最佳乳化特性。**结论** 冷冻条件对 SPI 结构变化影响显著, 且猪肉丸中 SPI 共存物含量影响共存体系的保水性、保油性及乳化特性; 为 SPI 在冷冻肉制品中应用提供参考依据。

**关键词:** 冷冻; 大豆分离蛋白; 共存物; 结构; 功能特性

## Study on the structure change of soy protein isolate in frozen pork balls and the effect of coexisting substances on its functionality

ZHU Xiu-Qing<sup>1</sup>, YANG Hong-Zhe<sup>1</sup>, WANG Ling<sup>2</sup>, WANG Zi-Yue<sup>1</sup>, LIU Yan-Qing<sup>1</sup>,  
LV Ming-Shou<sup>1</sup>, QU Min<sup>1\*</sup>

(1. Department of Food Engineering, Heilongjiang Key Laboratory of Grain Food and Comprehensive Processing, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China; 2. School of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

**ABSTRACT: Objective** To study the structural changes of soy protein isolate (SPI) and the effects of pork pellets (pig fat, SPI substitution for lean meat, starch and salt) on the functional properties of SPI under freezing conditions (-18 °C, 2 d). **Methods** The effects of freezing conditions on the structure of SPI were analyzed by sulfhydryl group, disulfide bond content and surface hydrophobicity. The effects of common substances on SPI functional properties were studied by water retention, oil retention and emulsifying properties. **Results** After freezing treatment, the free sulfhydryl content of SPI decreased by 0.75 μmol/g, the exposed sulfhydryl and disulfide bond content increased by 1.83 and 6.45 μmol/g, respectively, and the surface hydrophobicity increased from 192.76 to 699.93. Adding 10% pig fat, 15% SPI instead of lean meat, 20% starch and 2% salt, the SPI coexistence system

基金项目: 黑龙江省“百千万”工程科技重大专项(2019ZX08B01)

Fund: Supported by Heilongjiang Province “Hundreds of Millions” Project Science and Technology Major Special Project (2019ZX08B01)

\*通讯作者: 曲敏, 教授, 主要研究方向为新型植物蛋白与食品添加剂。E-mail: qumin777@126.com

\*Corresponding author: QU Min, Professor, Harbin University of Commerce, 138 Tongda street, Daoli District, Harbin 150030, China. E-mail: qumin777@126.com

obtained the best water retention and oil retention. When 30% pig fat, 15% SPI instead of lean meat, 15% starch and 2% salt were added respectively, the SPI coexistence system obtained the best emulsifying properties. **Conclusion** The freezing conditions have a significant effect on the structure of SPI, and the content of SPI in pork balls affects the water retention, oil retention and emulsifying properties of the coexisting system, which provides reference for the optimization of the production process of frozen meat products.

**KEY WORDS:** frozen; soybean protein isolate; coexisting substances; structure; functional characteristics

## 1 引言

大豆中的蛋白质含量丰富, 一般为 40%左右<sup>[1]</sup>, 在全球对蛋白质需求不断增长的现状下, 大豆蛋白作为一种包含了人类正常生长发育所必需的所有氨基酸的蛋白质而备受重视, 其丰富的营养价值及功能特性使其成为人类日常饮食中重要的优质植物蛋白来源<sup>[2]</sup>。大豆分离蛋白(soybean protein isolate, SPI)是以低温脱溶大豆粕为原料生产的一种全价蛋白类食品添加剂, 具有多种功能特性, 如: 保水性、吸油性、乳化性、起泡性以及凝胶性<sup>[3]</sup>等, 由于其具有显著提高产品的硬度<sup>[4]</sup>、胶黏性、咀嚼性和回复性的优势, 故其作为植物蛋白添加剂在肉制品的加工中<sup>[5]</sup>应用广泛。

随着食品工业的快速发展, 冷冻食品成为消费市场上的潮流和趋向, 其优势在于冷冻条件下能较好地控制食品的品质<sup>[6]</sup>。随着加工条件的变化, 大豆蛋白组分的变化, 从而使其功能特性。大豆蛋白经冷冻处理后, 由于分子间二硫键的形成, 导致疏水性提高<sup>[7]</sup>, 大豆蛋白在溶液中变得部分不溶<sup>[8]</sup>。Pikal 等<sup>[9]</sup>研究发现在冻藏过程中, 蛋白质分子间由于氢键、疏水键、二硫键、盐键等的形成而聚集变性, 从而导致盐溶性蛋白的溶解度下降。已有研究表明, 冷冻对大豆分离蛋白保水保油性<sup>[10]</sup>、乳化特性及质构特性<sup>[11]</sup>、凝胶性<sup>[12]</sup>等均有影响。例如我国传统食品猪肉丸<sup>[13]</sup>在其加工制作中, 除添加 SPI 外, 由于其产品多在冷冻条件下保存, 常伴随添加猪脂肪、淀粉、食盐等共存物<sup>[14-17]</sup>。但目前研究主要围绕冷冻条件对 SPI 的功能特性的影响<sup>[12,18,19]</sup>, 而关于冷冻条件下共存物对 SPI 功能特性的影响研究尚少, 故本研究探讨了冷冻环境下 SPI 巯基、二硫键、表面疏水性等结构变化以及不同含量下的猪脂肪等共存物对 SPI 的保水保油性及乳化特性的影响, 从而为 SPI 的改性应用于冷冻猪肉丸中生产提供一定的理论依据。

## 2 材料与amp;方法

### 2.1 仪器与试剂

AL204 型分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; HH-S 电热恒温水浴锅(北京市永光明医疗仪器厂); 3K-15 型台式高速冷冻离心机(德国 Sigma 公司);

DHG-9240A 型电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司); TU-1901 双光束紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司); BC-169 海尔双王子电冰箱(青岛海尔电冰箱股份有限公司)。

大豆分离蛋白、大豆油(哈高科大豆食品有限责任公司); 玉米淀粉(黑龙江龙凤玉米开发有限公司); 食盐、猪脂肪、猪里脊均为市售。

$\beta$ -巯基乙醇(分析纯, 美国 Amresco 公司); Tris、Ellman 试剂、5,5'-二硫代二硝基苯甲酸盐(dithio-bis-nitrobenzoic acid, DTNB)、1-苯胺基-8-萘磺酸(8-anilino-1-naphthalenesulfonic acid, ANS)、甘氨酸(分析纯, 美国 Sigma 公司); 硫酸铜、硫酸钾、硫酸、无水碳酸钠、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、氢氧化钠等(分析纯, 天津市富宇精细化工有限公司)。

### 2.2 实验方法

#### 2.2.1 大豆分离蛋白基本成分的测定

蛋白质含量测定参照 GB 5009.5-2016《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》<sup>[20]</sup>; 粗脂肪含量测定参照 GB 5009.6-2016《食品安全国家标准 食品中脂肪的测定》<sup>[21]</sup>; 灰分测定参照 GB 5009.4-2016《食品安全国家标准 食品中灰分的测定》<sup>[22]</sup>; 水分测定参照 GB 5009.3-2016《食品安全国家标准 食品中水分的测定》<sup>[23]</sup>; 粗纤维含量的测定参照 GB/T 5009.10-2003《植物类食品中粗纤维的测定》<sup>[24]</sup>。

#### 2.2.2 大豆分离蛋白—共存物体系冷冻样品的制备

SPI—猪脂肪体系: 首先将市售新鲜猪脂肪绞碎, 再将 SPI(SPI 与水按照料液比 1:12 进行混匀, 下同)与猪脂肪按照质量比 9:1、8:2、7:3、6:4 的比例进行混合并制成猪肉丸形态; SPI 替代瘦肉体系: 将市售新鲜猪里脊、猪脂肪分别绞碎, SPI 按照 5%、10%、15%、20%、25% 的质量比例替代一部分猪瘦肉, 再与猪脂肪进行混合, SPI、瘦肉的总量与猪脂肪按照比例 5:1(模拟制作猪肉丸的原料比例)进行混合并制成猪肉丸形态; SPI—淀粉体系: 淀粉按照共存体系总重的 10%、15%、20%、25%、30% 的比例与 SPI 混合并制成丸状; SPI—食盐体系: 食盐按照总重的 1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、3.0%、3.5% 的比例进行添加, 并与 SPI 进行混合并制成丸状。将制好的共存样品于室温下静置 20 min 后送入冰箱内-18℃冷冻 2 d 后, 将冷冻后的共存样品在水中解冻, 备用。

### 2.2.3 巯基和二硫键含量的测定

在冷冻温度为-18℃、冷冻 2 d 的条件下,考察冷冻处理对 SPI 的游离巯基、暴露巯基、二硫键和表面疏水性的影响。根据 Ellman 提出的理论<sup>[25]</sup>,参照 Beveridge 等<sup>[26]</sup>的计算公式和 Tang 等<sup>[27]</sup>采用的 DNTB 滴定的方法测定。

游离巯基含量的测定:将待测的 SPI 干燥样品 40 mg 溶于 8 mL Tris-甘氨酸缓冲溶液中(Tris 0.086 mmol/L, 甘氨酸 0.09 mol/L, EDTA 4 mmol/L, pH 8.0),制成浓度为 5 mg/mL 的样品溶液,再加入 100 μL Ellman 显色剂(4 mg DTNB 溶于 1 mL 的缓冲溶液中),在室温下(20℃)反应 1 h,反应结束后在 5000 r/min 条件下离心 30 min,取离心后的上清液在 412 nm 下测定吸光值,以不添加样品的溶液作为空白,以  $13600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  消光系数计算巯基含量。

总巯基含量的测定:取待测的 SPI 干燥样品 5 mg 溶于 0.2 mol/L Tris-HCl(含 8 mol/L 尿素, 2%SDS, 10 mmol/L EDTA, pH 6.8)缓冲溶液中配成 0.5 mg/mL 的样品溶液,均匀混合,并加入 0.5 mL 0.1% DTNB(0.1 g DTNB 溶于 100 mL 0.2 mol/L Tris-HCl, pH 8.0 缓冲液)中,4℃避光反应 1 h,于 412 nm 处测定吸光值。

游离巯基、总巯基含量依据 Beveridge 等<sup>[26]</sup>提出的公式进行计算:

$$\text{巯基含量}(\mu\text{mol/g}) = 73.53A_{412}/C$$

其中  $73.53 = 10^6/1.36 \times 10^4$ ,  $1.36 \times 10^4$  为摩尔消光系数;  $A_{412}$  为 412 nm 条件下的吸光值;  $C$  为样品的蛋白质浓度, mg/mL。

暴露巯基是指在 SPI 未变性的状态下,埋藏于蛋白质分子内部与外界极性环境不相互作用的巯基基团。暴露巯基、二硫键含量通过下式进行计算:

暴露巯基含量( $\mu\text{mol/g}$ ) = 总巯基含量 - 游离巯基含量;

二硫键(S-S)含量( $\mu\text{mol/g}$ ) = (总巯基含量 - 游离巯基含量)/2。

### 2.2.4 表面疏水性的测定

采用 ANS 荧光探针法<sup>[28]</sup>,将 SPI 样品 100 mg 溶于 20 mL 磷酸盐缓冲液(0.01 mol/L、pH 7.0)中,然后用同一磷酸盐缓冲液稀释(采用 Lowry 法测定蛋白质浓度在 0.0125~0.1 mg/mL 之间)。取一定量的 ANS 固体,溶于相同的 pH 7.0 的磷酸缓冲液中,制成 8.0 mmol/L 的 ANS 溶液,取 25 μL 的 ANS 溶液添加到 5 mL 的样品溶液中,避光反应 15 min。在激发波长 390 nm,发射波长 490 nm 条件下测定样品荧光强度,以样品浓度和荧光强度作图,斜率即为表面疏水性。

### 2.2.5 保水性测定

将一定量待测样品 2 g(指大豆分离蛋白—共存物体系物质冷冻样品,下同),在低温下烘干至恒质量,再向其中加入过量的水,搅拌均匀,室温下放置 30 min,再在离心机中以 4000 r/min 的转速离心 10 min 后去除分离出来的水。保水性以每克共存体系样品(干质量)吸附水的克数表示,计算公式如式(1)所示。

$$\text{保水性}(\text{g/g}) = \frac{\text{离心分离后残留物质量/g} - \text{试样干质量/g}}{\text{试样干质量/g}} \quad (1)$$

### 2.2.6 保油性测定

1 g 待测样品中加 5 mL 大豆油,用玻棒搅拌均匀,静置 30 min 后在 4000 r/min,离心 10 min 记下游离油的体积,结果以每克蛋白质吸附油的体积数表示,计算公式如式(2)所示。

$$\text{保油性}(\text{mL/g}) = \frac{5 - \text{离心后油的体积/mL}}{\text{试样质量/g}} \quad (2)$$

### 2.2.7 乳化性及乳化稳定性测定

将样品配制成 0.5 g/100 mL 的溶液。取 40 mL 配制好的样品溶液,再加入 14 mL 大豆油,用高速匀浆机在 10000 r/min 的条件下处理 1 min,立刻从该乳化液底部取 50 μL,加入到 5 mL 的缓冲溶液中(0.1 mol/L 的磷酸缓冲溶液, pH 7.0),混匀,在 500 nm 波长测定其吸光度。按照式(3)计算乳化性。在上述乳化液的基础上,间隔 10 min 后,从底部取 50 μL 乳化液,加入到 5 mL 的缓冲溶液中(0.1 mol/L 的磷酸缓冲溶液, pH 7.0),混匀,在 500 nm 波长测定其吸光度,按照式(4)计算乳化稳定性。

$$\text{乳化性}(\text{mL/g}) = \frac{2 \times 2.303 \times A_0 \times n}{10\,000 \times \phi \times \rho} \quad (3)$$

式中:  $A_0$  为 500 nm 波长处吸光度;  $n$  为稀释倍数;  $\rho$  为样品质量浓度/(g/100 mL);  $\phi$  为 0.25。

$$\text{乳化稳定性}(\text{min}) = \frac{A_0 \times 10}{A_0 - A_{10}} \quad (4)$$

式中:  $A_0$  为 0 min 时 500 nm 波长处吸光度;  $A_{10}$  为间隔 10 min 后的吸光度。

### 2.2.8 数据处理及分析

所有数据均通过 3 次平行实验得到;采用 SPSS 17.0 进行相关分析;采用 OriginPro 2018 进行作图处理。

## 3 结果与分析

### 3.1 大豆分离蛋白的成分分析结果

由表 1 可知, SPI 的蛋白质含量(干基)可达到 90%以上,

表 1 大豆分离蛋白成分分析结果( $n=3$ )  
Table 1 Composition analysis of soy protein isolate ( $n=3$ )

成分	水分	粗脂肪	蛋白质	灰分	粗纤维
含量/%	3.42±0.17	0.07±0.02	90.51±0.23	5.24±0.11	0.26±0.08

注:表中数据为平均值±标准差。

含量丰富, 因此研究蛋白质结构的变化, 对提高和改善 SPI 在食品应用中的功能性具有重要意义。

### 3.2 冷冻对 SPI 巯基、二硫键含量及表面疏水性的影响

由图 1 可知, SPI 经冷冻处理后, 与未冷冻的对照组样品相比游离巯基减少, 由 5.17  $\mu\text{mol/g}$  减小到 4.42  $\mu\text{mol/g}$ , SPI 的暴露巯基增加, 由 5.35  $\mu\text{mol/g}$  增加到 7.18  $\mu\text{mol/g}$ ; 二硫键含量由 18.63  $\mu\text{mol/g}$  增加到 25.08  $\mu\text{mol/g}$ , 表明较低的冷冻温度能够改变大豆蛋白游离巯基含量, 并且促使游离巯基含量朝着减小的趋势变化, 且冷冻后的 SPI 结构上主要以二硫键的形式存在。游离巯基含量减少的原因是大豆蛋白中的巯基具有较强的极性, 能够借助氢键与分子间相互作用, 把极性的水分子吸附到蛋白分子周围, 在冷冻冻结作用下, 水分子的氢键断裂, 破坏了水分子与巯基之间的平衡作用, 游离在蛋白表面的巯基失去依靠, 进而转换为二硫键或形成其他的作用力<sup>[29]</sup>。暴露巯基的含量增加是由于蛋白肽链因冷冻作用而得到充分伸展, 内部巯基大量暴露, 冷冻作用下 SPI 的游离巯基减少和暴露巯基增多, 是因为在冷冻过程中发生缓慢氧化, 巯基重新形成二硫键, 导致冷冻后检测到的二硫键含量大于未冷冻的 SPI。

当 SPI 经冷冻处理后, 表面疏水性由 192.76 增至 699.93, 说明冷冻能够增加 SPI 的表面疏水性, 这与 Noh<sup>[30]</sup> 等的结论一致。Noh 等认为大豆蛋白的氨基酸侧链疏水性残基是通过疏水键相互结合于蛋白质分子中心, 形成疏水性区域, 在冷冻变性作用下, 蛋白疏水性区域内的氨基酸侧链疏水性残基暴露出来, 通过 ANS 荧光检测, 冷冻后的蛋白质分子的荧光强度明显增强。

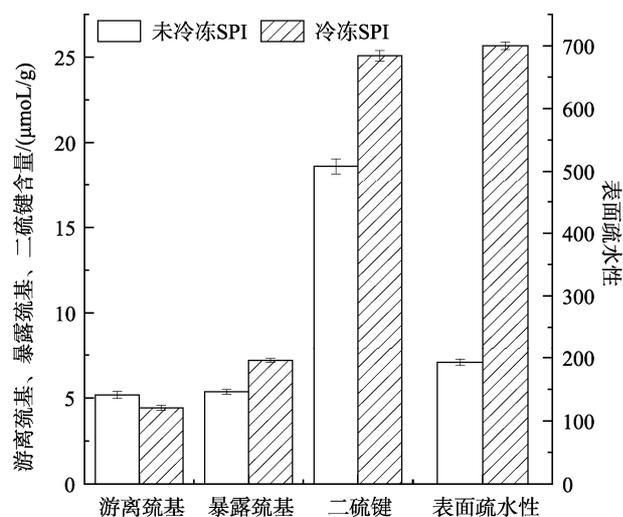


图 1 冷冻处理对 SPI 游离巯基、暴露巯基、二硫键和表面疏水性的影响 ( $n=3$ )

Fig.1 Effects of freezing treatment on SPI free sulfhydryl, exposed sulfhydryl, disulfide bond and surface hydrophobicity ( $n=3$ )

### 3.3 猪脂肪对 SPI 共存体系功能性的影响

#### 3.3.1 猪脂肪含量对 SPI 共存体系保水保油性的影响

如图 2 所示, 随着猪脂肪含量的增加, 共存体系的保水保油性显著减小, 且保油性比保水性变化更为明显, 当猪脂肪含量由 9:1 (SPI:猪脂肪) 增加到 6:4 时, 保水性由 2.83 g/g 降至 2.21 g/g, 保油性由 1.08 mL/g 降至 0.71 mL/g, 且保水性保油性均低于 Zhu 等<sup>[31]</sup>报道的商业 SPI 的保水性 3.55 g/g 和保油性 2.43 mL/g。

由以上结果可知, 猪脂肪含量越少, 冷冻环境下共存体系保水保油性越好, 其原因是在 SPI 的冷冻共存体系中, 脂肪含量越大, 包裹在大豆蛋白分子表面的脂肪含量越多, 脂肪的包裹作用限制了 SPI 冷冻变性过程中肽链伸展, 使得埋藏在蛋白分子内部的大量非极性基团不能有效的暴露在表面与脂肪结合, 从而减小了 SPI 与油脂的结合能力, 即降低了 SPI 的保油性, 还限制了水分子与蛋白表面极性基团之间的相互作用, 水分子接近蛋白分子的机会减少, 进而减小了 SPI 与水的结合能力, 即降低了共存体系的保水性。综合以上结果, 在 SPI 的冷冻共存体系中, 选择猪脂肪的含量为 9:1 较为合适。

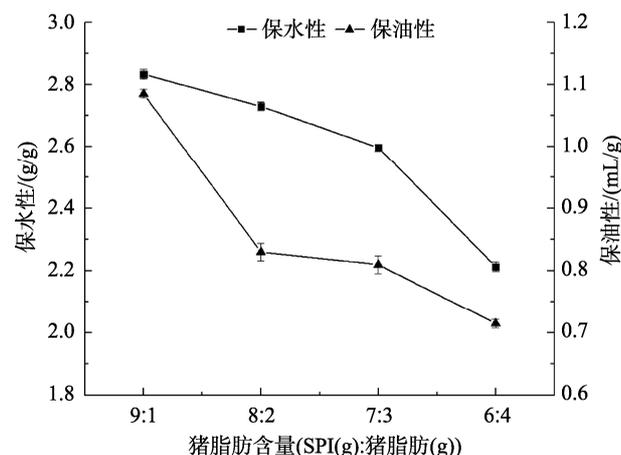


图 2 猪脂肪对 SPI 共存体系保水保油性的影响 ( $n=3$ )

Fig.2 Effects of pork fat content on water-holding and oil-holding capacity of SPI coexisting system ( $n=3$ )

#### 3.3.2 猪脂肪含量对 SPI 共存体系乳化特性的影响

由图 3 所示, 猪脂肪含量不同时, 共存体系的乳化性和乳化稳定性差别较大。猪脂肪含量低于 7:3 (SPI:猪脂肪) 时, 冷冻后共存体系的乳化性和乳化稳定性均随着猪脂肪添加量的增加而提高, 在猪脂肪含量为 30% 时, 乳化性和乳化稳定性最好。当猪脂肪含量 > 30% 时, 共存体系的乳化性和乳化稳定性明显下降 ( $P < 0.05$ ), 且乳化性的下降程度大于乳化稳定性。根据上述结果, SPI 经冷冻后, 二硫键含量增加以及表面疏水性的增强, Li 等<sup>[32]</sup>通过研究发现, SPI 的乳化特性与其表面疏水性的变化之间呈正相关; 共存体系中猪脂肪与 SPI 的添加比例为 7:3 时, 能够保证冷

冻共存体系下 SPI 较好的乳化特性从而提升共存体系的乳化能力。

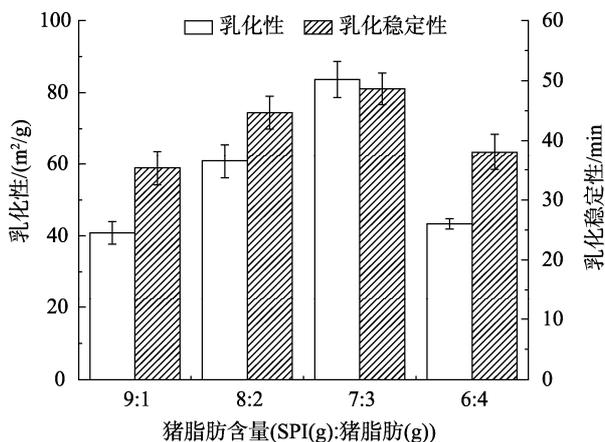


图 3 猪脂肪含量对 SPI 共存体系乳化特性的影响( $n=3$ )

Fig.3 Effects of pork fat on emulsifying property of SPI coexisting system ( $n=3$ )

### 3.4 SPI 替代瘦肉量对 SPI 共存体系功能性的影响

#### 3.4.1 SPI 替代瘦肉量对 SPI 共存体系保水保油性的影响

在模拟冷冻猪肉丸体系中,采用 SPI 替代一部分猪瘦肉,通过大豆分离蛋白自身的保水保油性,来增强肉制品的保水保油性,同时提高猪肉丸制品营养的成分。

如图 4 所示,冷冻后共存体系的保水保油性与 SPI 替代瘦肉量非正相关。随着 SPI 替代瘦肉量的增加,保水性先增加后减小,当 SPI 替代瘦肉量为 5%~15%,保水性随着替代量的增加而增加,在 15%时,达到最大值 2.96 g/g, SPI 替代瘦肉量大于 15%时,共存体系的保水性迅速下降,说明 SPI 含量过高,不利于在肉制品中的应用,我国目前还没有明确的规定 SPI 在肉制品中的最大添加量,但是 SPI 在肉制品中的添加量,应根据产品的性能,综合考虑。图 4 中,共存体系保油性随 SPI 替代瘦肉量的增加而逐渐增大,当替代量范围为 5%~15%时,保油性由 0.81 mL/g 增至 1.32 mL/g,变化显著( $P<0.05$ ),当 SPI 替代量瘦肉量超过 15%时,曲线呈水平状态,保油性变化不显著( $P>0.01$ )。说明继续增加 SPI 替代瘦肉的量,不能增强肉丸体系的保油性。虽然 SPI 自身具有良好的保油性,但是在肉制品中添加量过高或过低时,都不利于其功能性的发挥。所以选择 SPI 与瘦肉之间合理的比例,对于提高肉丸体系的保水保油性有重要意义。综上所述,在冷冻肉制品生产中,可以选择 SPI 替代猪瘦肉量为 15%,以保证肉制品保水保油性取得最好效果。

#### 3.4.2 SPI 替代瘦肉量对 SPI 共存体系乳化特性的影响

如图 5 所示,随着 SPI 替代瘦肉量的增加,冷冻后共存体系的乳化性和乳化稳定性均呈现先增加后减小的变化趋势,在 15%替代量时,乳化性和乳化稳定性均达到最大,

分别为 60.83 m<sup>2</sup>/g 和 35.43 min。从图 5 中得出,当 SPI 替代瘦肉量从 10%增加到 15%时,乳化性和乳化稳定性的变化程度都较小,表明共存体系中 SPI 替代瘦肉量在 10%~15%这个范围内时,肉制品的乳化特性将会得到明显的改善,这一结果与 Das 等<sup>[33]</sup>得出结论相符。所以,为了获得共存体系在冷冻肉制品中良好的乳化特性,应该选择 SPI 替代瘦肉量为 10%~15%。

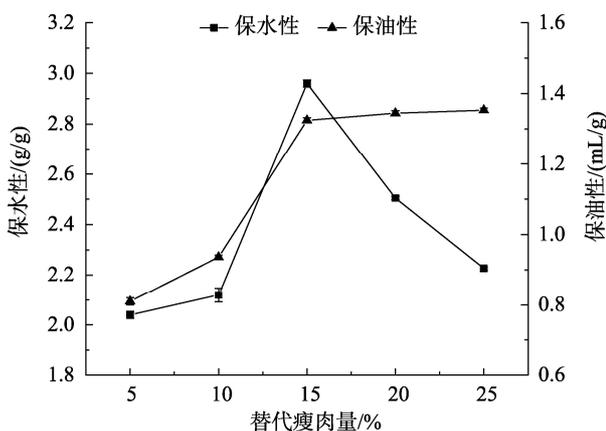


图 4 SPI 替代瘦肉量对 SPI 共存体系保水保油性的影响( $n=3$ )

Fig.4 Effects of SPI instead of lean meat content on water-holding and oil-holding capacity of SPI coexisting system ( $n=3$ )

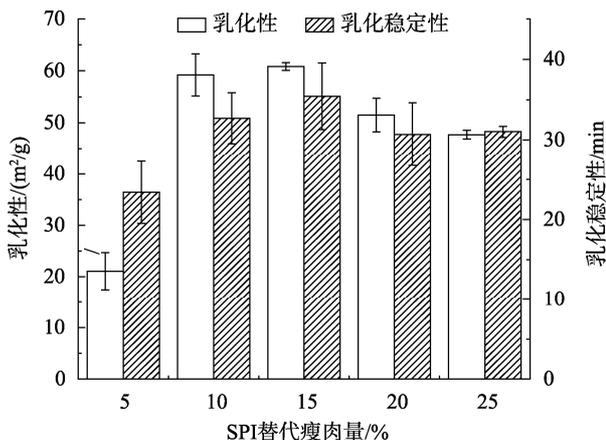


图 5 SPI 替代瘦肉量对 SPI 共存体系乳化特性的影响( $n=3$ )

Fig.5 Effects of SPI instead of lean meat on emulsifying property of SPI coexisting system ( $n=3$ )

### 3.5 淀粉对 SPI 共存体系功能性的影响

#### 3.5.1 淀粉对 SPI 共存体系保水保油性的影响

如图 6 所示,随着淀粉含量的增加, SPI-淀粉体系保水性先增加后减小,淀粉含量低于 15%时,保水性的增幅较大,当淀粉含量从 10%增加至 15%时,保水性由 2.14 g/g 提高至 2.95 g/g,显著的提高了 0.81 g/g( $P<0.05$ );随着淀粉含量的继续增加,保水性增幅明显减小,淀粉含量为 15%~20%时,曲线的变化平缓,此范围内的淀粉含量对共

存体系保水性的影响较小。当淀粉含量为 20%~30%时, 保水性明显降低( $P<0.01$ )。可知, 选择淀粉含量为 15%~20%时, 冷冻肉制品的共存体系的保水性较好。Majzoobi 等<sup>[34]</sup>研究发现淀粉与 SPI 在不同的配比下可表现出不同的胶凝特性。

图 6 中的保油性曲线显示, 淀粉含量低于 15%时, SPI-淀粉体系保油性的变化趋势与保水性相反, 在淀粉含量 10%~15%范围内, 保油性只提高了 0.04 mL/g, 曲线的增幅缓慢, 几乎趋于水平状态, 各个水平之间的差异不显著( $P>0.01$ ); 当淀粉含量由 15%增至 20%时, 保油性由 1.59 mL/g 增加了 0.92 mL/g( $P<0.05$ ), 在淀粉含量为 20%时, 保油性达到最大值 2.51 mL/g; 而淀粉含量超过 20%时, 保油性显著降低( $P<0.01$ )。Felker 等<sup>[35]</sup>曾研究发现不同比例的玉米淀粉与大豆油之间的油滴粒径存在显著变化, 会对玉米淀粉的保油性产生影响。本研究结果得出, 选择淀粉添加量为 20%时, SPI-淀粉冷冻共存物体系的保油性最好。

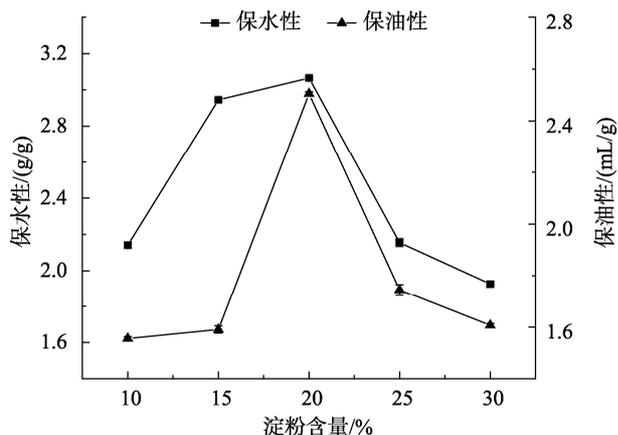


图 6 淀粉含量对 SPI 共存体系保水保油性的影响( $n=3$ )

Fig.6 Effects of starch content on water-holding and oil-holding capacity of SPI coexisting system ( $n=3$ )

### 3.5.2 淀粉对 SPI 共存体系乳化特性的影响

由图 7 可知, 在冷冻温度为  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 冷冻 2 d 的条件下, 不同的淀粉含量对冷冻共存体系的乳化特性影响存在差异, 玉米淀粉添加量低于 15%时, 冷冻后 SPI-淀粉共存体系的乳化性和乳化稳定性随着玉米淀粉添加量的增加而变大, 淀粉含量为 15%时, 乳化性和乳化稳定性均达到最大值, 分别为  $72.1\text{ m}^2/\text{g}$  和  $41.5\text{ min}$ ; 在玉米淀粉含量超过 15%时, 体系的乳化性和乳化稳定性明显下降。刘婷婷等<sup>[36]</sup>通过研究发现, 多糖有利于增加乳状液体系的表现粘度, 从而导致动态缠结网络结构的增加, 使得乳状液不易发生聚集, 从而提高体系的乳化特性。淀粉在肉制品中应用时, 存在粘度大、颗粒大、口感粗糙等问题, 若不能很好地控制淀粉在肉丸中的使用量, 做出来的产品口味差, 粉感较强, 产生明显的淀粉味; 特别是低温环境中更易导致产品回生及析水现象发生, 即乳化效果不好。因此本研究结果得出,

在冷冻猪肉丸中控制淀粉的添加量为 15%, 可以使淀粉大分子有效的与肉丸体系中的脂肪进行包埋和吸附作用, 取得较理想的乳化效果。

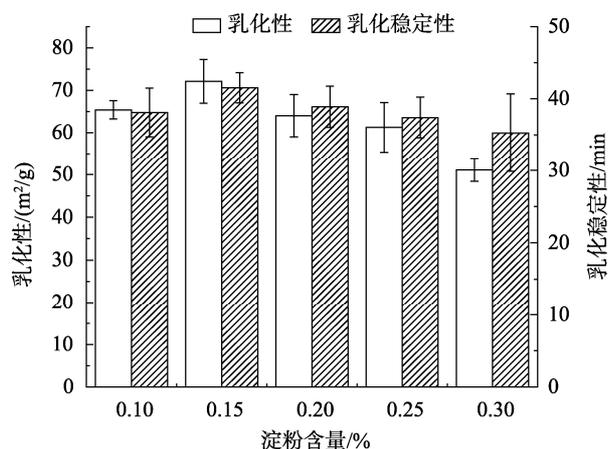


图 7 淀粉含量对 SPI 共存体系乳化特性的影响( $n=3$ )

Fig.7 Effects of starch content on emulsifying property of SPI coexisting system ( $n=3$ )

## 3.6 食盐对 SPI 共存体系功能性的影响

### 3.6.1 食盐含量对 SPI 共存体系保水保油性的影响

由图 8 可知, 随着食盐浓度的增加, SPI-食盐共存体系保水性和保油性均呈现先增加后减小的趋势, 其中食盐浓度对共存体系保水性曲线的变化比较平缓, 结果表现为食盐含量对冷冻共存体系的保水性影响不显著( $P>0.05$ ); 随食盐浓度的增加, 保油性曲线的斜率变化较大, 不同食盐含量的水平之间对保油性的影响差异显著( $P<0.01$ )。其中, 食盐含量为 1.5%时, 保油性达到最大值 1.61 mL/g, 食盐含量为 2.0%时, 保水性达到最大值为  $3.36\text{ g/g}$ 。Park 等<sup>[37]</sup>等曾研究发现钙盐与大豆分离蛋白的交联作用可形成具有刚性三维结构的膜。

目前, 市场上的肉丸产品中, 通常添加一定量的食盐, 来提高肉丸体系的离子强度, 食盐能够有效改善肉丸中功能性添加剂 SPI 的吸收水分的能力, 从而显著提高肉丸体系的保水性。由图 8 结果可知, 为了保证添加 SPI 的冷冻肉制品体系具有良好的保水保油性, 应该控制食盐的添加量不超过 2.5%, 这也符合当下健康饮食的低盐要求。

### 3.6.2 食盐含量对 SPI 共存体系乳化特性的影响

由图 9 所示, 当食盐含量在 2%以下时, SPI 的乳化特性随食盐含量的增加而增加, 当食盐含量为 2.0%时, 冷冻共存体系的乳化性和乳化稳定性最好, 分别可达到  $80.20\text{ m}^2/\text{g}$  和  $37.30\text{ min}$ , 且食盐含量 2.0%与 1.0%之间的差异显著( $P<0.05$ ), 而食盐含量为 2.0%与 1.5%时, 乳化性和乳化稳定性的差异均不显著( $P>0.05$ ); 当食盐含量超过 2.0%时, 乳化性和乳化稳定性减小。表明食盐含量与 SPI 共存体系的乳化性和乳化稳定性呈正相关关系, 随着食盐

含量的变化, 乳化性和乳化稳定性表现出相同的变化趋势。根据上述结果, 在冷冻肉制品中, 应选择食盐添加量为 2.0%, 能够使 SPI 共存体系在冷冻肉制品中发挥较好的乳化特性, 获得肉制品良好的品质。

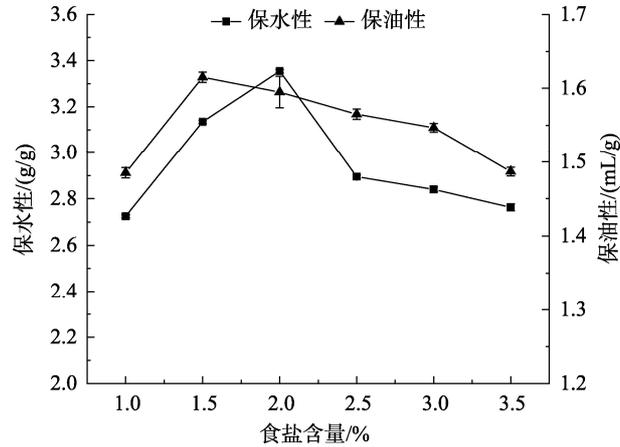


图 8 食盐含量对 SPI 共存体系保水保油性的影响( $n=3$ )

Fig.8 Effects of salt content on water-holding and oil-holding capacity of SPI coexisting system ( $n=3$ )

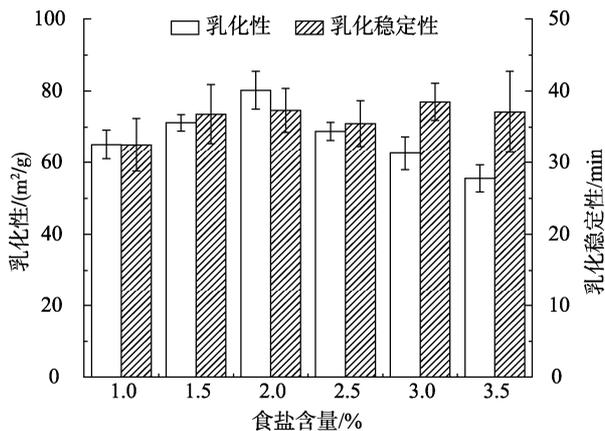


图 9 食盐含量对 SPI 共存体系乳化特性的影响( $n=3$ )

Fig.9 Effects of salt content on emulsifying property of SPI coexisting system ( $n=3$ )

## 4 结论

综上所述, 冷冻处理使 SPI 间的氢键作用力减弱, 游离巯基通过二硫键的作用发生键合, 促进了 SPI 中氨基酸侧链疏水性残基的暴露, 其在冷冻猪肉丸体系中保水性、保油性、乳化性受猪脂肪、淀粉、盐等共存物的影响, 在冷冻猪肉丸的制备中 SPI 可以替代 15%猪瘦肉, 而不影响其食用效果。因此在冷冻肉制品加工中 SPI 的应用将在保持肉制品品质的同时降低成本, 并提供良好的植物蛋白来源, 对于冷冻肉制品具有重要的应用价值。

## 参考文献

- [1] 石彦国. 食品挤压与膨化技术[M]. 北京: 科学出版社, 2011.  
Shi YG. Food extrusion and expansion technology [M]. Beijing: Science Press, 2011.
- [2] Milica N, Perović ZD, Knežević J, *et al*. Improved recovery of protein from soy grit by enzyme-assisted alkaline extraction [J]. *J Food Eng*, 2020, (276): 109894.
- [3] Martins VB, Netto FM. Physicochemical and functional properties of soy protein isolate as a function of water activity and storage [J]. *Food Res Int*, 2006, 39(2): 145–153.
- [4] 张明成. 酶水解结合酶交联处理改善大豆分离蛋白功能特性及其在肉制品中的应用[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2015.  
Zhang MC. Improvement of functional properties of soy protein isolate by enzymatic hydrolysis combined with enzyme crosslinking and its application in meat products [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2015.
- [5] Daud BA, Naseem AC, Abubakr SE. Assessment of pregelatinized sorghum and maize starches as superior multi-functional excipients [J]. *J Pharm Innov*, 2016, 11(2): 143–155.
- [6] Chatavithree P, Piewthongngam K, Pathumnakul S. Scheduling a single machine with concurrent jobs for the frozen food industry [J]. *Comp Ind Eng*, 2015, (90): 158–166.
- [7] Noh EJ, Kang C, Hong ST, *et al*. Freezing of soybeans influences the hydrophobicity of soy protein [J]. *Food Chem*, 2006, 97(2): 212–216.
- [8] Zhao JY, Dong FJ, Li YY, *et al*. Effect of freeze-thaw cycles on the emulsion activity and structural characteristics of soy protein isolate [J]. *Process Biochem*, 2015, 50(10): 1607–1613.
- [9] Pikal-Cleland KA, Carpenter JF. Lyophilization-induced protein denaturation in phosphate buffer systems: Monomeric and tetrameric beta-galactosidase [J]. *J Pharm Sci*, 2001, 90(9): 1255–1268.
- [10] 许慧, 王玲, 朱秀清, 等. 低温冷冻条件对大豆分离蛋白功能性的影响 [J]. *食品科学*, 2014, 35(15): 49–53.  
Xu H, Wang L, Zhu XQ, *et al*. Effect of low temperature freezing conditions on functional properties of soy protein isolate [J]. *Food Sci*, 2014, 35 (15): 49–53.
- [11] 王丽丽. 冷冻处理对大豆质构及豆浆品质特性的影响[D]. 北京: 中国农业大学, 2014.  
Wang LL. Effects of freezing treatment on soybean texture and soybean milk quality characteristics [D]. Beijing: China Agricultural University, 2014.
- [12] 姚美伊, 郭顺堂. 冷冻大豆分离蛋白凝胶的功能性分析[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(18): 99–102.  
Yao MY, Guo ST. Functional analysis of frozen soy protein isolate gels [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2012, 33 (18): 99–102.
- [13] 邓小顺. 速冻猪肉丸加工工艺及其添加剂的应用研究[D]. 南宁: 广西大学, 2013.  
Deng XS. Study on the processing technology of quick-frozen pork balls and the application of additives [D]. Nanning: Guangxi University, 2013.
- [14] 汪倩, 姜万舟, 任思婕, 等. 燕麦麸添加量对燕麦麸猪肉丸品质的影响 [J]. *食品科学*, 2016, 37(23): 70–77.  
Wang Q, Jiang WZ, Ren SJ, *et al*. Effect of oat bran addition on the quality of oat bran pork balls [J]. *Food Sci*, 2016, 37(23): 70–77.
- [15] 李龙祥, 赵欣欣, 夏秀芳, 等. 食盐对调理重组牛肉制品品质及水分

- 布特性的影响[J]. 食品科学, 2017, 38(19): 143–148.
- Li LX, Zhao XX, Xia XF, *et al.* Effects of salt on the quality and water distribution characteristics of reconstituted beef products [J]. Food Sci, 2017, 38(19): 143–148.
- [16] Mohamed K, Morsy EM, Rasha E. Impact of pomegranate peel nanoparticles on quality attributes of meatballs during refrigerated storage [J]. LWT Food Sci Technol, 2018, (89): 489–495.
- [17] Ogutcu M, Gevrek S, Arifoglu N. Physico-chemical, textural, microbial and sensory properties of Turkish tire meatball [J]. J Food Process Preserv, 2018, 42(10): e13768.
- [18] 张泽宇, 张诗雨, 于洁. 等. 超声辅助美拉德反应提高大豆蛋白冻融性质[J]. 中国粮油学报, 2017, 32(6): 63–68.
- Zhang ZY, Zhang SY, Yu J, *et al.* Enhancement of freeze-thaw properties of soybean protein by ultrasonic assisted Maillard reaction [J]. J Chin Cere Oil Assoc, 2017, 32(6): 63–68.
- [19] Wang XD, Chen SC, Cui Q, *et al.* Effect of pH on freeze-thaw stability of glycosylated soy protein isolate [J]. J Oleo Sci, 2019, 68(3): 281–290.
- [20] GB 5009.5-2016 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定[S].  
GB 5009.5-2016 National food safety standard-Determination of protein in foods [S].
- [21] GB 5009.6-2016 食品安全国家标准 食品中脂肪的测定[S].  
GB 5009.6-2016 National food safety standard-Determination of fat in foods. [S].
- [22] GB 5009.4-2016 食品安全国家标准 食品中灰分的测定[S].  
GB 5009.4-2016 National food safety standard-Determination of ash content in food [S].
- [23] GB 5009.3-2016 食品安全国家标准 食品中水分的测定[S].  
GB 5009.3-2016 National food safety standard-Determination of moisture in food [S].
- [24] GB/T 5009.10-2003 植物类食品中粗纤维的测定[S].  
GB/T 5009.10-2003 Determination of crude fiber in plant foods [S].
- [25] Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups [J]. Arch Biochem Biophys, 1959, 82(1): 70–77.
- [26] Beveridge T, Toma SJ, Nakai S. Determination of SH and SS groups in some food proteins using Ellman's reagent [J]. J Food Sci, 1974, (39): 49–51.
- [27] Tang CH. Thermal denaturation and gelation of vicilin-rich protein isolates from three *Phaseolus legumes*: A comparative study [J]. LWT Food Sci Technol, 2008, 41(8): 1380–1388.
- [28] Wagner JR, Sorgentini DA, Anon MC. Relation between solubility and surface hydrophobicity as an indicator of modifications during preparation processes of commercial and laboratory-prepares soy protein isolates [J]. J Agric Food Chem, 2000, (48): 3159–3165.
- [29] 莫重文. 蛋白质化学与工艺性[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007.
- Mo CW. Protein chemistry and technology [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007.
- [30] Noh EJ, Kang C, Hong ST, *et al.* Freezing of soybeans influences the hydrophobicity of soy protein [J]. Food Chem, 2005, 97(2): 212–216.
- [31] Zhu KX, Sun RH, Chen RC, *et al.* Comparison of functional properties and secondary structures of defatted wheat germ proteins separated by reverse micelles and alkaline extraction and isoelectric precipitation [J]. Food Chem, 2010, 123(4): 1163–1169.
- [32] Li J, Wang B, Fan J, *et al.* Foaming, emulsifying properties and surface hydrophobicity of soy proteins isolate as affected by peracetic acid oxidation [J]. Int J Food Prop, 2019, 22(1): 1602540.
- [33] Das AK, Anjaneyulu ASR, Gadekar YP, *et al.* Effect of full-fat soy paste and textured soy granules on quality and shelf-life of goat meat nuggets in frozen storage [J]. Meat Sci, 2008, 80(3): 607–614.
- [34] Majzoobi M, Alishahi A, Farahnaky A. Effects of soy protein isolate on pasting and gelling properties of corn and wheat starches [J]. J Agric Sci Technol, 2018, 20(7): 1394–1406.
- [35] Felker FC, Singh M, Fanta GF. Effect of gluten on soybean oil droplets in jet-cooked starch-oil composites [J]. J Food Process Preserv, 2013, 37(2): 152–162.
- [36] 刘婷婷, 赵文婷, 刘鸿斌. 等. 奇亚籽皮多糖对乳状液聚集稳定性的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(10): 29–37.
- Liu TT, Zhao WT, Liu HC, *et al.* Effect of oiya seed coat polysaccharide on emulsion aggregation stability [J]. Food Sci, 2020, 41(10): 29–37
- [37] Park SK, Rhee CO, Bae DH, *et al.* Mechanical properties and water-vapor permeability of soy-protein films affected by calcium salts and glucono-delta-lactone [J]. J Agric Chem, 2001, 49(5): 2308–2312.

(责任编辑: 李磅礴)

## 作者简介



朱秀清, 硕士, 教授, 主要研究方向为蛋白质化学与大豆加工技术。  
E-mail: xqzhuwang@163.com



曲敏, 教授, 主要研究方向为新型植物蛋白与食品添加剂。  
E-mail: qumin777@126.com