

NaCl 对热诱导牛肉肌原纤维蛋白氧化及消化率的影响

祝超智¹, 陈画¹, 张秋会¹, 许龙¹, 余小颖¹, 赵改名^{1*}, 祁兴山²

(1. 河南农业大学食品科学技术学院, 郑州 450002; 2. 驻马店综合试验站, 驻马店 463005)

摘要: **目的** 分析不同盐浓度下肌原纤维蛋白氧化和消化率变化规律。**方法** 以加热后的牛肉肌原纤维蛋白为研究对象, 探究不同 NaCl 浓度(0、0.2、0.4、0.6、0.8 mol/L)对其氧化程度的影响, 并采用体外模拟消化试验, 分析不同 NaCl 浓度对热诱导牛肉肌原纤维蛋白(85°C水浴)消化率的影响。**结果** NaCl 会造成肌原纤维蛋白氧化且可显著提高肌原纤维蛋白消化率。当 NaCl 浓度从 0 逐渐增加到 0.8 mol/L 时, 肌原纤维蛋白消化率表现为先升高后降低的趋势, 当浓度达到 0.4 mol/L 时其消化率达到最高的 79.78%, 较 0 mol/L 的 55.37% 提高了 0.45 倍。羰基、活性巯基、多肽释放量和游离氨基酸的含量也保持相同趋势, 在 NaCl 浓度达到 0.4 mol/L 时, 羰基含量高达 7.95 nmol/mg prot, 活性巯基含量高达 0.42 mmol/g, 多肽含量达到最高 3.475 mg/mL, 游离氨基酸含量达到 4740.23 μg/mL。**结论** NaCl 会造成蛋白质氧化, 适度的 NaCl 可以促进热诱导牛肉肌原纤维蛋白的消化吸收, NaCl 浓度为 0.4 mol/L 时消化率达到最高。该结果对研究低钠肉制品具有一定指导意义。

关键词: 食盐; 肌原纤维蛋白; 蛋白质氧化; 体外模拟消化; 蛋白质消化率

Effect of NaCl on the digestibility of heat-induced beef myofibrillar protein

ZHU Zhi-Chao¹, CHEN Hua¹, ZHANG Qiu-Hui¹, XU Long¹,
YU Xiao-Ling¹, ZHAO Gai-Ming^{1*}, QI Xing-Shan²

(1. College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;
2. Zhumadian Comprehensive Test Station, Zhumadian 463005, China)

ABSTRACT: Objective To analyze the changes of myofibrillin oxidation and digestibility under different salt concentrations, and explore the oxidation degree of beef products with different salt content and its influence on digestion. **Methods** Heating beef myofibrillar protein was used to explore the effect of NaCl on the degree of oxidation, and *in vitro* simulated digestion assays were used to analyze the effects of different NaCl concentrations (0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mol/L) on the digestibility of heat-induced beef myofibrillar protein (85°C water bath). **Results** NaCl could cause myofibrillin oxidation and significantly increase myofibrillin digestibility. When the NaCl concentration gradually increased from 0 to 0.8 mol/L, the digestibility of myofibrillar protein showed a trend of first increasing and then decreasing, and when the concentration reached 0.4 mol/L, its digestibility reached the highest 79.78%, which was 0.45 times higher than 55.37% of 0 mol/L. The content of carbonyl, active sulfhydryl, free amino acids

基金项目: 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系资助(CARS-37)、国家自然科学基金项目(31701626)

Fund: Supported by the Ministry of Finance and Ministry of Agriculture and Rural Affairs: Supported by National Modern Agricultural Industry Technology System (CARS-37), and the National Natural Science Foundation of China (31701626)

*通信作者: 赵改名, 博士, 教授, 主要研究方向为肉类加工与质量控制。E-mail: gmzhao@126.com

*Corresponding author: ZHAO Gai-Ming, Ph.D, Professor, College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China. E-mail: gmzhao@126.com

and the release of peptides also maintained the same trend, carbonyl content was up to 7.95 nmol/mg prot, and active sulfhydryl was up to 0.42 mmol/g, with the content of polypeptides reaching a maximum of 3.475 mg/mL and the content of free amino acids reaching 4740.23 $\mu\text{g/mL}$ at a concentration of 0.4 mol/L. **Conclusion** NaCl can cause protein oxidation, moderate NaCl can promote the digestion and absorption of beef myofibrillar protein, and the digestibility is the highest when the NaCl concentration is 0.4 mol/L. The results have certain guiding significance for the study of low-sodium meat products.

KEY WORDS: salt; myofibrillar protein; protein oxidation; *in vitro* simulated digestion; protein digestibility

0 引言

牛肉富含蛋白质、微量元素及共轭亚油酸,氨基酸组成接近人体需求,深受消费者喜爱^[1]。牛肉的主要蛋白是肌原纤维蛋白,占肌肉中蛋白质总量的 50%~60%。肌原纤维蛋白是构成肌肉纤维的重要成分,其结构和性质是影响肉制品品质的主要因素^[2]。蛋白质质量是衡量食物营养价值的常用指标,一般以食物中氨基酸组成、蛋白质含量和食物在人体内消化分解所产生必需氨基酸的数量及其利用率来评判^[3]。如果人体摄入的食物中有大量的蛋白质未被消化,那这些未消化的蛋白质可能会进入盲肠与结肠,被肠道菌群发酵后产生苯酚等诱变物质,从而增加人类罹患肠癌等疾病的概率^[4],由此,在研究肉类本身蛋白质含量和种类的同时,还应进一步探索蛋白质的消化利用率。

中国传统肉制品种类丰富,不同处理工艺有着不同加工温度和 NaCl 添加量。这些都可能引起分子结构等物理化学特性发生改变^[5],促使蛋白质氧化进而影响蛋白质的消化率^[6],韦婕好^[7]发现不同加热温度(50~90℃)热处理的羊肉制品蛋白质体外消化率均高于热处理前,并且随加热终点温度的升高,蛋白质结构先伸展后聚集,蛋白质的消化率呈现先增大后降低的趋势,江连洲等^[8]在模拟大豆蛋白体外消化试验中也发现,随着温度的升高(70~85℃), α -螺旋的含量逐渐增加,蛋白质在 85℃时结构最为舒展且消化率最高。食盐可以使肉制品的水分活度降低,从而对肉制品中微生物生长起到抑制作用,避免由于微生物的生长导致食品腐败以及一系列安全问题,高盐食物的保质期通常较长,如风味腊肉等^[9]。但钠摄入量过高会增加人罹患心血管疾病或者肾脏病的风险^[10],成人每天的食盐摄入量不应超过 6 g,但据调查,中国人每天的食盐摄入量约为 12 g,日常饮食中,人体摄入的钠 20%来自肉类和肉类产品,一般肉制品盐含量为 2%左右,即 0.4 mol/L 左右,干腌肉制品甚至高达 6%~12%,即 1.2 mol/L^[11]。因此,降低肉制品中 NaCl 含量已成为一个重要问题^[12]。但需要注意的是,食盐会促使肉制品产生物理、化学和生物作用,有助于特定风味的产生,这些过程中伴随着强烈的蛋白质水解^[13]。ZOCZOWSKA-KUJAWSKA 等^[13]研究发现不同盐含量的鹿肉在贮藏过程中蛋白质降解指数不同,张维悦^[14]研究发

现 NaCl 浓度在 0.2 mol/L 以下时,蛋白质性质无显著变化,当 NaCl 浓度逐渐从 0.4 mol/L 增大到 0.8 mol/L 时蛋白质会发生氧化。DU 等^[15]研究南京干腌鸭加工过程中肌原纤维蛋白的结构和消化率的变化时也发现 NaCl 可能导致肌原纤维蛋白结构变化从而对其消化率产生影响。已有研究表明 85℃加热最利于肌原纤维蛋白消化,但 NaCl 对热处理肌原纤维蛋白消化率的影响尚无相关研究,低钠肉制品是否利于消化有待探究。基于此,本研究以牛肉肌原纤维蛋白为研究对象,选用低温肉制品常用的 85℃作为加热条件,探究不同 NaCl 浓度对其消化率的影响,以期为进一步提升肉类蛋白质消化率提供研究思路,也为低钠肉类食品的食用价值提供了一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜牛里脊购于河南省郑州市伊赛牛肉丰路店。

酒石酸钾钠、氯化钠、氯化钾、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、叠氮化钠(NaN_3)、氯化镁、乙二醇二乙醚二胺四乙酸($\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_{10}$)、Triton X-100、三氯乙酸(trichloroacetic acid, TCA, $\text{C}_2\text{HCl}_3\text{O}_2$)、浓硫酸、盐酸、硫酸铜($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)、硼酸、甲基红指示剂($\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$)、溴甲酚绿指示剂($\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{Br}_4\text{O}_5\text{S}$)、氢氧化钠、醋酸钠、无水乙醇、TritonX-100(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);胃蛋白酶(250 U/mg,北京 Solarbio 科技有限公司);胰蛋白酶(250 U/mg)、胆汁盐(美国 Sigma 公司);乙腈(色谱纯,天津赛孚瑞科技有限公司);正己烷(色谱纯,天津大茂化学试剂厂);羰基检测试剂盒、巯基检测试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

1.2 仪器与设备

Waters 515 高压高效液相色谱仪(美国 Waters 公司);DW-86L288 低温冰箱(海尔集团公司);BPG-9156A 精密鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);UV-2600 紫外可见分光光度计[岛津(上海)实验器材有限公司];HHS-21-8 电热恒温水浴锅(上海博讯医疗生物仪器股份有限公司);AE224 电子分析天平(精度 0.1 mg,上海舜宇恒平科学仪器有限公司);Beckman Allegra 64R 高速冷冻离心机

[贝克曼库尔特商贸(中国)有限公司]; AESAP 1068 拍击式均质机(法国 AES Chemunex 公司); GI20 体外模拟消化系统(澳大利亚 NI 公司 Nutra Scan); Kjeltec 2300 全自动凯氏定氮仪(海能未来技术集团股份有限公司); Agilent Waters2695 正相色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)[月旭科技(上海)股份有限公司]。

1.3 试验方法

1.3.1 牛肉肌原纤维蛋白的提取

参考 PARK 等^[16]方法, 称取 50 g 牛肉, 用绞肉机绞成肉糜, 加入 4 倍体积磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L KCl、20 mmol/L Na₂HPO₄-NaH₂PO₄、2 mmol/L MgCl₂、1 mmol/L C₁₄H₂₄N₂O₁₀、1 mmol/L NaN₃, pH=7.0)溶解均质 120 s, 离心(1000×g, 4°C, 10 min), 取沉淀重复上述操作一次。沉淀加入 4 倍体积的含 1% TritonX-100 的上述磷酸盐缓冲液, 均质 120 s, 用两层纱布过滤, 1500×g 离心 10 min, 重复一次, 沉淀用 4 倍体积的 0.1 mol/L KCl 溶液洗涤 2 次, 用 4 倍体积的去离子水洗涤一次。得到无盐的肌原纤维蛋白, 密封冷藏待测。

1.3.2 样品前处理

使用双缩脲法将肌原纤维蛋白质量浓度调整为 20 mg/mL, 分别加入 NaCl, 使其浓度达到 0、0.2、0.4、0.6、0.8 mol/L, 混合均匀, 于 4°C 条件下静置一夜。将样品置于 85°C 恒温水浴锅中水浴加热 30 min, 静置冷却至室温待测。

1.3.3 羰基、活性巯基含量测定

羰基含量的测定采用羰基检测试剂盒提供的方法并结合酶标仪进行测定。活性巯基含量采用巯基检测试剂盒和酶标仪测定。计算出的摩尔消光系数为 13600 L/(mol/cm)。

1.3.4 体外模拟消化

参照 MINEKUS 等^[17]的方法并稍作改动。将加热样品含口腔模拟消化液(simulated stomatic fluid, SSF), 1:1 (m/V)] 分别以 9600 r/min 均质 2×30 s, 13400 r/min 均质 2×30 s, 每

次均质间隔 30 s。向样品中加入等体积的胃模拟消化液(simulated gastric fluid, SGF), 混匀, 用 HCl 调节 pH 至 3.0。将胃蛋白酶预混溶液加入样品中, 以确保胃蛋白酶浓度为 2000 U/mL, 混合物在 37°C 下连续摇动孵育 2 h。反应结束后, 加入 1 mol/L 氢氧化钠以灭活胃蛋白酶, 调节 pH 至 7.0±0.1。然后与等体积的小肠模拟消化液(simulated intestinal fluid, SIF)混合, 加入胰蛋白酶, 确保胰蛋白酶浓度为 100 U/mL, 在 37°C 下保持 2 h。分别在消化的 0、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 h 取样, 将样品溶液在沸水浴中加热 5 min 以灭活酶。消化所需的口腔、胃、肠模拟液的配制见表 1。

1.3.5 蛋白质消化率的测定

取消化液, 按照 1:1 (m/m) 加入 5% 的 TCA 溶液, 静置沉淀 30 min, 4°C 条件下 11000×g 离心 15 min 后收集沉淀, 将沉淀置于 50°C 烘箱中烘干, 对其蛋白质含量进行测定。

蛋白质含量的测定方法参照 GB 5009.5—2016《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》中的半微量凯氏定氮法, 稍作改动。每个样品重复检测 3 次。消化率按公式(1)计算:

$$DT=(M_1-M_0)/M_0\times 100 \quad (1)$$

其中: DT 表示不同盐浓度条件下消化后蛋白质的消化率, %; M_0 表示消化前样品的蛋白含量, g/L; M_1 表示消化后中样品的蛋白含量, g/L。

1.3.6 多肽含量的测定

参照 ZHAO 等^[18]的方法并进行适当改进, 用双缩脲法对样品中的多肽含量进行测定。取消化液各 0.5 mL, 按照 1:1 (m/m) 加 30% 的 TCA 溶液, 静置 5 min, 4°C 条件下 4000×g 离心 15 min。取上清液, 用 5% 的 TCA 溶液将上清液定容至 10 mL。取 3 mL 定容后的溶液, 加入 2 mL 双缩脲试剂, 混匀后避光反应 10 min, 在 4°C, 2000 r/min 条件下离心 15 min, 离心后取其上清液在 540 nm 处测吸光度。

表 1 电解质储备溶液配制

Table 1 Electrolyte reserve solution configuration

盐	累计的浓度		SSF (pH=7)		SGF (pH=3)		模 SIF (pH=7)	
	g/L	mol/L	累积添加 (1.25×)/mL	最终盐浓度 (mmol/L)	累积添加 (1.25×)/mL	最终盐浓度 (mmol/L)	累积添加 (1.25×)/mL	最终盐浓度 (mmol/L)
KCl	37.3	0.5	15.1	15.1	6.9	6.9	6.8	6.8
KH ₂ PO ₄	68.0	0.5	3.7	3.7	0.9	0.9	0.8	0.8
NaHCO ₃	84.0	1.0	6.8	13.6	12.5	25	42.5	85
MgCl ₂ (H ₂ O) ₂	30.5	0.15	0.5	0.15	0.4	0.12	1.1	0.33
(NH ₄) ₂ CO ₃	48.0	0.5	0.06	0.06	0.5	0.5	-	-
HCl	-	6.0	0.09	1.10	1.3	15.6	0.7	8.4
CaCl ₂ (H ₂ O) ₂	44.1	0.3	0.025	1.50	0.05	0.15	0.04	0.6
NaCl	117.0	2.0	-	-	11.8	47.2	9.6	38.4

注: -表示无此项。

1.3.7 游离氨基酸含量的测定

参考高向阳等^[19]的方法并适当修改,取消化液各 3 mL,分别向其中加入 3 mL 10%的 TCA 溶液,静置沉淀 12 h,4°C条件下 11000×g 离心 15 min,离心后收集上清液。

柱前衍生:取 0.4 mL 上清液于离心管中,向其中加入 0.2 mL 稀释 5 倍的衍生剂 A 液和 0.2 mL 衍生剂 B 液,摇匀后将样品置于烘箱中,50°C条件下加热 45 min,取出后冷却至室温,向其中加入 0.4 mL 正己烷,摇匀后静置 30 min,取澄清的下层液,用孔径为 0.45 μm 有机膜过滤后进行高效液相色谱分析。

色谱条件:柱温:37°C;流速:1 mL/min,检测波长:254 nm;色谱柱:Agilent Waters2695 正相色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相 A: $V_{0.1 \text{ mol/L 醋酸钠溶液}}:V_{\text{乙腈}}=93:7$;流动相 B: $V_{\text{水}}:V_{\text{乙腈}}=20:80$,波长:254 nm;进样量:5 μL。

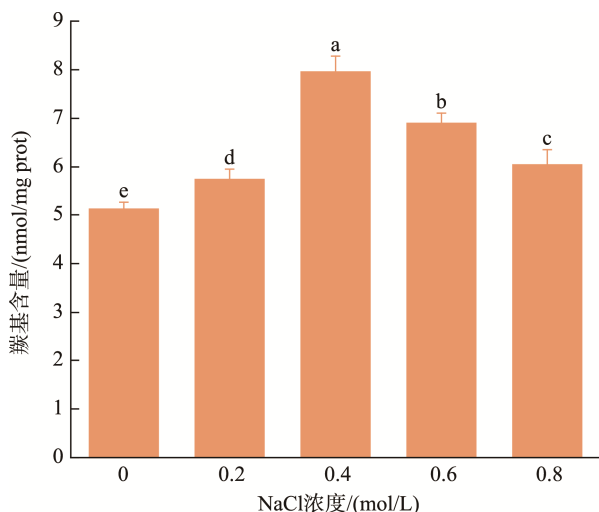
1.4 数据分析

每个指标检测重复 3 次,以平均值±标准误差的形式来表示检测结果,采用 SPSS 16.0 软件对所得数据进行单因素方差分析($P<0.05$ 表示具有显著性差异),使用 Origin 2022 软件作图分析。

2 结果与分析

2.1 NaCl 对热诱导肌原纤维蛋白羰基含量的影响

蛋白质氧化是指某些特定的氨基酸残基在活性氧的作用下发生反应,导致蛋白质的结构改变,增强其对氧化物的亲和力,使其容易发生水解、聚合和交联,造成蛋白质功能的丧失^[20]。蛋白质中羰基的形成是蛋白质发生氧化的显著标志之一,羰基含量可以反映出蛋白质氧化程度。如图 1 所示,在 85°C 加热时,NaCl 在 0~0.4 mol/L 时,羰基含量显



注:不同小写字母表示组间差异显著($P<0.05$),图 2 同。

图 1 NaCl 对热诱导肌原纤维蛋白羰基含量的影响

Fig.1 Effects of NaCl on the carbonyl content of heat-induced myofibrillar proteins

著增加,0.4 mol/L 时达到最高为 7.95 nmol/mg prot,提示 NaCl 促进了蛋白质氧化。而当 NaCl 浓度大于 0.4 mol/L 时,羰基含量出现显著降低。原因可能是高离子浓度加剧了蛋白质的聚集和沉淀导致羰基基团被包埋在分子内部,或促进了羰基基团的分解导致其含量的降低^[21]。

2.2 NaCl 对热诱导肌原纤维蛋白活性巯基含量的影响

巯基是具有反应活性的功能性基团,通过测定活性巯基含量就可以反映出蛋白质的变性程度^[22]。如图 2 所示,加热温度为 85°C 时,活性巯基含量随着 NaCl 浓度的升高而呈先显著增加后显著降低的趋势,在 0.4 mol/L 时达到最大值 0.42 mmol/g。LI 等^[23]报道了肌原纤维蛋白在盐溶液和氧化环境中可能会展开。说明 NaCl 可以促进活性巯基位点的暴露从而促进蛋白质氧化。但当 NaCl 浓度超过 0.4 mol/L 时,活性巯基含量随着盐浓度的增加显著降低($P<0.05$),可能是在加热环境中一些暴露于蛋白质表面的半胱氨酸残基中的游离巯基很容易被羟基自由基攻击生成二硫键。也可能是因为高温下,蛋白质之间发生了除结构展开外其他的复杂交互作用,例如蛋白质分子内及分子间形成-S-S-键,蛋白质相互结合,抵消了 NaCl 造成的蛋白质变性、结构展开程度^[24],也可能是由于大量活性巯基暴露于分子表面后在高温和高离子强度下被分解变性^[25]。

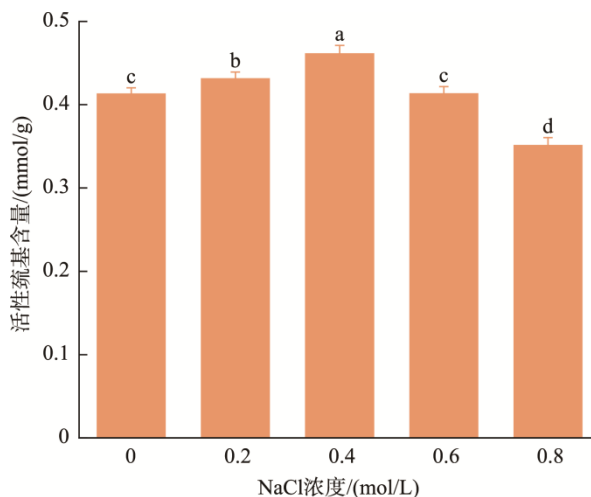


图 2 NaCl 对热诱导肌原纤维蛋白活性巯基含量的影响

Fig.2 Effects of NaCl on the activity sulfhydryl content of heat-induced myofibrillar proteins

2.3 NaCl 浓度对肌原纤维蛋白消化率的影响

NaCl 对热诱导肌原纤维蛋白消化率的影响如图 3 所示。当 NaCl 浓度为 0~0.4 mol/L 时肌原纤维蛋白的消化率随着 NaCl 浓度的增加显著增加($P<0.05$),在 0.4 mol/L 时达到最大,胃消化后蛋白质消化率从 41.41%增大至 50.38%,当 NaCl 升高至 0.8 mol/L 时,胃消化阶段消化率降至 42.56%。经肠消化的蛋白质消化率与胃消化阶段趋于一致,

当 NaCl 浓度升高至 0.4 mol/L 时肠阶段消化率从 55.37% 升至 79.78%, 而后随着 NaCl 浓度的增加逐渐降低。其原因主要是由于离子浓度的改变促使蛋白质氧化变性, 破坏了其内部的网络结构从而影响了消化酶与酶切位点结合^[2]。肌原纤维蛋白是盐溶性蛋白, 适当浓度的 NaCl 会提高肌原纤维蛋白的溶解度, 当 NaCl 浓度超过 0.4 mol/L 时, 由于静电屏蔽效应造成盐析, 从而导致蛋白质溶解度降低^[26]。白明昧等^[27]对大豆蛋白分子的研究表明, 蛋白质的溶解度与其体外消化率呈现出极其显著的正相关关系。ZHANG 等^[28]研究发现, NaCl 不仅能够促进肌原纤维蛋白氧化, 而且动态地改变了肌原纤维蛋白的氧化稳定性、展开/聚集行为。结合羰基、活性巯基含量的变化发现, 低浓度的盐可促使蛋白质部分展开, 而高浓度的盐使肌原纤维蛋白空间结构重排加快, 通过氧化形成更不可逆的聚集体, 特别是伴随加热时。因此在 0~0.4 mol/L 的范围内, 较高的溶解度及蛋白质在轻度氧化作用下的结构展开, 使先前隐藏在内部的裂解位点暴露在分子表面, 这使其更利于胃蛋白酶、胰蛋白酶与蛋白质上的特异性位点结合, 从而对蛋白质的消化性有促进作用^[29]。

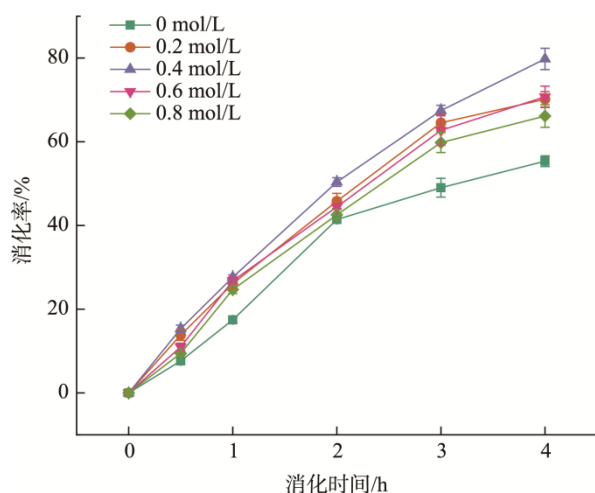


图 3 NaCl 浓度对热诱导肌原纤维蛋白消化率的影响
Fig.3 Effects of NaCl concentration on the digestibility of heat-induced myofibrillar proteins

表 2 NaCl 浓度对热诱导肌原纤维蛋白消化产物多肽释放量的影响(mg/mL)

Table 2 Effect of NaCl concentration on polypeptide release of heat-induced myofibrillar proteins digestive products (mg/mL)

盐浓度/(mol/L)	消化时间/h					
	0	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0
0	0.360±0.005 ^c	2.402±0.020 ^c	2.643±0.020 ^c	2.738±0.021 ^c	2.936±0.011 ^d	3.026±0.012 ^c
0.2	0.520±0.008 ^d	2.544±0.007 ^c	2.731±0.013 ^c	2.825±0.010 ^c	3.123±0.013 ^b	3.239±0.012 ^c
0.4	0.596±0.020 ^a	2.737±0.001 ^a	2.978±0.015 ^a	3.178±0.015 ^a	3.348±0.036 ^a	3.475±0.021 ^a
0.6	0.550±0.012 ^b	2.607±0.031 ^b	2.795±0.018 ^b	2.890±0.018 ^b	3.071±0.077 ^b	3.280±0.061 ^b
0.8	0.530±0.002 ^c	2.513±0.010 ^d	2.700±0.021 ^d	2.800±0.021 ^d	2.906±0.042 ^c	3.120±0.017 ^d

注: 同一列小写英文字母上标不同表示存在显著性差异($P<0.05$)。

在 NaCl 浓度为 0.4~0.8 mol/L 时盐析作用导致溶解度降低, 蛋白质的氧化变性程度过大, 促使蛋白质聚集, 从而掩埋消化酶的特异性识别位点, 导致蛋白质的消化率降低。

由图 3 可知, 对照组(85°C, 不加盐)经胃消化后蛋白质消化率为 41.41%, 经肠消化后蛋白质消化率显著升高至 55.37% ($P<0.05$); 加盐处理胃消化和肠消化后蛋白质消化率均显著大于对照组($P<0.05$), 表明 NaCl 可在一定程度上促进肌原纤维蛋白的消化, 增加肉样蛋白质消化率。根据韩晓弟等^[30]的研究, NaCl 对消化道的蛋白酶活力有显著影响, 随着 NaCl 浓度的增加, 胃蛋白酶活性也随之增加。猜测 NaCl 浓度为 0.4 mol/L 时, 盐不仅可以促进蛋白质变性, 同时也可以使胃蛋白酶活性增强, 故此 NaCl 浓度下蛋白质消化率数值均比较高。

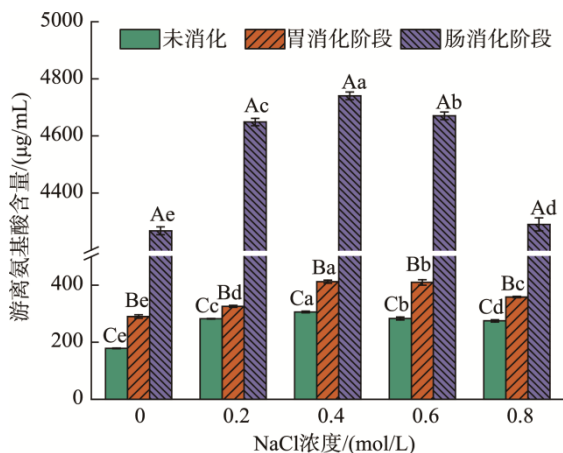
2.4 NaCl 浓度对热诱导肌原纤维蛋白消化产物多肽释放量的影响

蛋白质在酶的作用下, 肽键逐渐断裂, 随之多肽不断被释放^[31]。PUGLIESE 等^[32]的研究发现, 多肽是蛋白质失去空间结构产生的。胃、肠消化阶段中不同时间所取的样品中多肽含量可间接反映出肌原纤维蛋白的消化情况。由表 2 可知, 随着 NaCl 浓度的增加, 消化液中的多肽含量呈现先上升后下降的趋势, 其中不加盐时, 消化产生的多肽量最低, 仅有 3.026 mg/mL, NaCl 浓度达到 0.4 mol/L 时, 多肽含量数值最大, 达到 3.475 mg/mL, 而当 NaCl 浓度继续升高到 0.6 mol/L、0.8 mol/L 时, 多肽含量分别变为 3.280 mg/mL、3.120 mg/mL。且未进行消化时, 0.4 mol/L NaCl 浓度的消化液中多肽含量已经是最高, 说明在消化前 NaCl 使蛋白质的结构发生改变, 从而促进肌原纤维蛋白多肽的释放。

随着消化时间的不断增加, 多肽含量显著增加 ($P<0.05$)且与消化率基本一致。胃蛋白酶和胰蛋白酶的裂解位点具有特异性^[33], 因此在这两种酶的联合作用下, 可能会产生更多的多肽。与胃蛋白酶消化相比, 胰蛋白酶消化后的多肽含量增加缓慢, 如 0.4 mol/L 盐浓度下, 胃消化开始的前 30 min, 多肽释放量增加了 3.6 倍, 而在消化的 3~4 h, 即肠消化的最后 1 h, 多肽释放量仅增加了 3.8%。这可能是由于消化时间的延长造成部分肽片段分解为游离氨基酸, 导致肽含量的增加比消化率慢^[34-35]。

2.5 NaCl 浓度对热诱导肌原纤维蛋白消化产物游离氨基酸释放量的影响

在蛋白质消化过程中,游离氨基通过肽键断裂被暴露出来,游离氨基酸释放量可以用来评估蛋白质消化的程度^[36]。由图 4 可知,经胃蛋白酶水解后,游离氨基酸的总量显著增加。然而,经肠道消化后,游离氨基酸含量再次显著增加,几乎是胃消化过程的 100 倍。这表明,大量的大分子蛋白质成分在胃中被分解并转移到肠道,在肠道被进一步分解为游离氨基酸和短链肽进而被人体吸收^[37]。在胃、肠消化阶段,游离氨基含量随着 NaCl 浓度的不断增加而显著增加($P<0.05$),在 0.4 mol/L 时达到最大值 4740.23 $\mu\text{g/mL}$,然后逐渐下降。这种现象可以归因于蛋白质的聚集,干扰了蛋白酶对氨基酸的识别。蛋白质消化率结果与游离氨基酸的结果一致。且相对于 0 mol/L 时,各未经消化的游离氨基酸含量也均显著增加($P<0.05$),表明 NaCl 可能会促进肌原纤维蛋白加热过程中的部分降解。



注:不同小写字母表示不同 NaCl 浓度处理组之间存在显著性差异($P<0.05$),不同大写字母表示不同消化阶段间存在显著差异($P<0.05$)。

图 4 NaCl 浓度对热诱导肌原纤维蛋白消化产物游离氨基酸含量的影响

Fig.4 Effects of NaCl concentration on free amino acid content of heat-induced myofibrillar proteins digestive products

3 讨论与结论

本研究以牛肉肌原纤维蛋白为研究对象,分析 NaCl 浓度对 85°C 加热条件下蛋白氧化和消化率的影响,发现 NaCl 会造成肌原纤维蛋白的氧化并显著提高肌原纤维蛋白的消化率,且不同的 NaCl 浓度对牛肉肌原纤维蛋白的消化率影响显著,在 0.4 mol/L 时消化率最高。NaCl 浓度由 0 mol/L 升高到 0.8 mol/L 的过程中,肌原纤维蛋白的羰基、活性巯基含量、消化率、多肽释放量、游离氨基酸含

量均随着盐浓度的升高先升高,在盐浓度达到 0.4 mol/L 时达到最大值,随后开始降低,均始终高于浓度为 0 mol/L 时,说明 NaCl 促进了 85°C 热诱导后的牛肉肌原纤维蛋白的氧化同时对消化可以起到促进作用,且 0.4 mol/L 为消化的最适盐浓度。当 NaCl 浓度超过 0.4 mol/L 时,蛋白质的严重氧化、聚集甚至分解使其消化受到抑制,从而降低肉制品营养价值。由此推测,NaCl 对蛋白质消化率的影响可能的原因有:食盐提高了肌原纤维蛋白的溶解度,离子浓度的改变促使肉中蛋白质氧化变性,破坏了其内部的网络结构,从而影响了消化酶与酶切位点结合。因此后续可进一步增加蛋白质结构、氧化及多肽的分析,以及消化产物外观形态等指标的观测,探究 NaCl 对蛋白质消化率的影响机制。

值得注意的是,一般肉制品盐含量为 2% 左右,干腌肉制品甚至高达 6%~12%,在肉制品加工过程中,除了添加大量食盐外,还会加入各种食品添加剂或风味增强剂,其中也会存在小部分钠离子,增加钠盐的摄入量,这使肉中的盐含量远超 0.4 mol/L。因此,在肉类生产加工及人们日常生活中,可以在维持食品安全和色香味形的同时,适度调整 NaCl 浓度,注重低钠饮食,以提高肉制品的营养价值。

参考文献

- [1] DAY L, CAKEBREAD JA, LOVEDAY SM. Food proteins from animals and plants: Differences in the nutritional and functional properties [J]. Trends Food Sci Technol, 2022, 119: 428–442.
- [2] LI S, YE A, SINGH H. Impacts of heat-induced changes on milk protein digestibility: A review [J]. Int Dairy J, 2021, 123: 105160.
- [3] WU P, CHEN XD. On designing biomimic *in vitro* human and animal digestion track models: Ideas, current and future devices [J]. Curr Opin Food Sci, 2020, 35: 10–19.
- [4] FERNANDEZ DA, EPSTEIN MM, BRESSON JL, *et al.* Food proteins: Safety assessment and *in vitro* digestion [J]. Toxicol Lett, 2021, 350: S222.
- [5] 王海帆,熊哲民,王玉洁,等.氯化钠对猪肉肌原纤维蛋白构像及其与辣椒素相互作用的影响[J].食品安全质量检测学报,2023,14(5): 101–107.
- [6] WANG HF, XIONG ZM, WANG YJ, *et al.* Effects of sodium chloride on the configuration of porcine myofibrillar protein and its interaction with capsaicin [J]. J Food Saf Qual, 2023, 14(5): 101–107.
- [7] WANG C, ZHAO F, BAI Y, *et al.* Effect of gastrointestinal alterations mimicking elderly conditions on *in vitro* digestion of meat and soy proteins [J]. Food Chem, 2022, 383: 132465.
- [7] 韦婕好.热加工方式对羊肉制品蛋白质氧化及体外模拟消化性的影响研究[D].成都:西南民族大学,2019.
- [7] WEI JY. Effects of thermal processing on protein oxidation and digestive simulation of mutton products *in vitro* [D]. Chengdu: Southwest University

- for Nationalities, 2019.
- [8] 江连洲, 胡继莹, 张潇元, 等. 不同品种大豆分离蛋白体外消化产物的结构特性[J]. 中国食品学报, 2019, 19(9): 21–36.
- JAING LZ, HU JY, ZHANG XY, *et al.* Structural characteristics of *in vitro* digested products of different soybean protein isolates [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2019, 19(9): 21–36.
- [9] PROMEYRAT A, BAX ML, TRAORÉ S, *et al.* Changed dynamics in myofibrillar protein aggregation as a consequence of heating time and temperature [J]. *Meat Sci*, 2010, 85(4): 625–631.
- [10] KEARNEY PM, WHELTON M, REYNOLDS K, *et al.* Global burden of hypertension: Analysis of worldwide data [J]. *Lancet*, 2005, 365(9455): 217–223.
- [11] 甄宗圆, 陈旭, 万双菊, 等. 肉制品低钠盐工艺研究进展[J]. 肉类研究, 2020, 34(4): 100–106.
- ZHEN ZY, CHEN X, WAN SJ, *et al.* Progress in the development and production of low-sodium meat products [J]. *Meat Res*, 2020, 34(4): 100–106.
- [12] MARIUTTI LRB, BRAGAGNOLO N. Influence of salt on lipid oxidation in meat and seafood products: A review [J]. *Food Res Int*, 2017, 94: 90–100.
- [13] ŻOCHOWSKA-KUJAWSKA J. Effects of fibre type and structure of longissimus lumborum (Ll), biceps femoris (Bf) and semimembranosus (Sm) deer muscles salting with different NaCl addition on proteolysis index and texture of dry-cured meats [J]. *Meat Sci*, 2016, 121: 390–396.
- [14] 张维悦. KCl、CaCl₂ 和氨基酸部分替代 NaCl 对鸭肉蛋白结构和功能特性的影响[D]. 重庆: 西南大学, 2018.
- ZHANG WY. Effect of partial substitution of NaCl by KCl, CaCl₂ and amino acids on structural and functional properties of duck proteins [D]. Chongqing: Southwestern University, 2018.
- [15] DU XJ, SUN YY, PAN DD, *et al.* The effect of structural change on the digestibility of sarcoplasmic proteins in Nanjing dry-cured duck during processing [J]. *Poultry Sci*, 2018, 97(12): 4450–4457.
- [16] PARK D, XIONG YL, ALDERTON AL. Concentration effects of hydroxyl radical oxidizing systems on biochemical properties of porcine muscle myofibrillar protein [J]. *Food Chem*, 2007, 101(3): 1239–1246.
- [17] MINEKUS M, ALMINGER M, ALVITO P, *et al.* A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food-An international consensus [J]. *Food Funct*, 2014, 5(6): 1113–1124.
- [18] ZHAO GM, ZHANG GY, BAI XY, *et al.* Effects of NaCl-assisted regulation on the emulsifying properties of heat-induced type I collagen [J]. *Food Res Int*, 2022, 159: 111599.
- [19] 高向阳, 游新侠, 牛云辉. 柱前衍生-反相高效液相色谱法测定栾果及黄山栾果中的氨基酸含量[J]. 食品工业科技, 2013, 34(16): 49–52, 56.
- GAO XY, YOU XX, NIU YH. Determination of amino acids in *Koelertertia paniculata* fruit and *Koelertertia integrifoliola* Merr fruit by reversed-phase high performance liquid chromatography with precolumn derivatization [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2013, 34(16): 49–52, 56.
- [20] 曹辰辰. 传统中式香肠中优良菌种的筛选及其对发酵香肠抗氧化和品质的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2019.
- CAO CC. The ening of excellent strains in traditional Chinese sausage and their influence on antioxidant and quality of fermented sausages [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2019.
- [21] 张桂艳. 食盐和加热对肌原纤维蛋白与I型胶原蛋白乳化特性的影响[D]. 郑州: 河南农业大学, 2022.
- ZHANG GY. Effect of table salt and heating on emulsifying properties of myofibrillin with type I collagen [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2022.
- [22] 邓思瑶, 杨文鸽, 徐大伦, 等. 电子束辐照对梅鱼鱼糜肌原纤维蛋白结构及凝胶特性的影响[J]. 现代食品科技, 2017, 33(1): 139–144, 172.
- DENG SY, YANG WG, XU DL, *et al.* Effect of electron beam irradiation on the structure and gel characteristics of fibrin [J]. *Mod Food Technol*, 2017, 33(1): 139–144, 172.
- [23] LI C, XIONG YL, CHEN J. Oxidation-induced unfolding facilitates myosin cross-linking in myofibrillar protein by microbial transglutaminase [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(32): 8020–8027.
- [24] 齐宏超. NaCl 对脱水过程中猪肉特性变化的影响研究[D]. 广东: 华南理工大学, 2017.
- QI HC. NaCl Research on the change of pork characteristics during dehydration [D]. Guangdong: South China University of Technology, 2017.
- [25] 张敏. 食盐对猪肉肌原纤维蛋白氧化及功能特性的影响研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2022.
- ZHANG M. The effect of table salt on the oxidation and functional properties of myofibrillin in pork [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2022.
- [26] 周茹, 倪渠峰, 林伟伟, 等. 肌原纤维蛋白溶解度对盐离子浓度的依赖性[J]. 中国食品学报, 2015, 15(3): 32–39.
- ZHOU R, NI QF, LIN WW, *et al.* The dependency of the myofibrils solubility on the ion concentration [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2015, 15(3): 32–39.
- [27] 白明味, 孙泽威, 龙国徽, 等. 热处理对全脂大豆蛋白质分子结构特征、溶解度和体外消化率的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2016, 44(11): 31–38.
- BAI MM, SUN ZW, LONG GH, *et al.* Effect of heat-treatment on molecular structure characteristics, solubility and *in vitro* digestibility of full-fat soybean protein [J]. *J Northwest Agric For Univ (Nat Sci Ed)*, 2016, 44(11): 31–38.
- [28] ZHANG M, LI C, ZHANG Y, *et al.* Impact of salt content and hydrogen peroxide-induced oxidative stress on protein oxidation, conformational/morphological changes, and micro-rheological properties of porcine myofibrillar proteins [J]. *Food Chem*, 2022, 370: 131074.

- [29] STADTMAN ER, LEVINE RL. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins [J]. *Amino Acids*, 2003, 25(3-4): 207-218.
- [30] 韩晓弟, 于珊珊, 刘莹莹, 等. 盐度对仿刺参蛋白摄入量及蛋白酶活性的影响[J]. *湖北农业科学*, 2017, 56(6): 1096-1098.
HAN XD, YU SS, LIU YY, *et al.* Effects of salinity on protein intake and protease activity of *Apostichopus japonicus* [J]. *Hubei Agric Sci*, 2017, 56(6): 1096-1098.
- [31] 苏荣欣. 蛋白质酶解历程动态特性和多肽释放规律研究[D]. 天津: 天津大学, 2007.
SU RX. Time-dependent nature and peptide release during enzymatic hydrolysis of proteins [D]. Tianjin: Tianjin University, 2007.
- [32] PUGLIESE C, SIRTORI F, ŠKRLEP M, *et al.* The effect of ripening time on the chemical, textural, volatile and sensorial traits of Bicep femoris and semimembranosus muscles of the Slovenian dry-cured ham Kraški pršut [J]. *Meat Sci*, 2015, 100: 58-68.
- [33] FURLONG ST, MAUGER RC, STRIMPLER AM, *et al.* Synthesis and physical characterization of a P1 arginine combinatorial library, and its application to the determination of the substrate specificity of serine peptidases [J]. *Bioorgan Med Chem*, 2002, 10(11): 3637-3647.
- [34] LIU H, LI Q, JIANG S, *et al.* Exploring the underlying mechanisms on NaCl-induced reduction in digestibility of myoglobin [J]. *Food Chem*, 2022, 380: 132183.
- [35] CHEN H, ZHAO G, YU X, *et al.* Exploring *in vitro* gastrointestinal digestion of myofibrillar proteins at different heating temperatures [J]. *Food Chem*, 2023, 414: 135694.
- [36] WEI G, WANG D, WANG T, *et al.* Insights into *in vitro* digestion properties and peptide profiling of Chinese rubbing PDO cheese prepared using different acidification technology [J]. *Food Res Int*, 2022, 158: 111564.
- [37] LI C, YU W, WU P, *et al.* Current *in vitro* digestion systems for understanding food digestion in human upper gastrointestinal tract [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2020, 96: 114-126.

(责任编辑: 郑丽于梦娇)

作者简介



祝超智, 博士, 副教授, 主要研究方向为肉制品加工与质量控制。

E-mail: zhuchaozhi66@163.com



赵改名, 博士, 教授, 主要研究方向为肉类加工与质量控制。

E-mail: gmzhao@126.com