

文章编号:1671-1513(2012)03-0026-04

# 猪肉盐溶蛋白提取条件的优化研究

刘野, 宋焕禄

(北京工商大学食品学院, 北京 100048)

**摘要:**为提高猪肉盐溶蛋白的提取率,分别对 NaCl 溶液浓度、MgCl<sub>2</sub> 溶液浓度、NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 添加量和 pH 值 4 个因素进行单因素实验和正交试验. 利用考马斯亮蓝法测定猪肉盐溶液中的蛋白含量. 按 L<sub>9</sub>(3)<sup>4</sup> 正交表进行正交试验,利用 SPSS16.0 软件进行正交分析,结果表明,猪肉盐溶蛋白的优化提取条件为:NaCl 溶液浓度 0.8 mol/L, MgCl<sub>2</sub> 溶液浓度 0.04 mol/L, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 添加量 4 g/kg, pH 值 7.0.

**关键词:**猪肉; 正交试验; 盐溶蛋白; 优化

**中图分类号:** TS 251.5

**文献标志码:** A

猪肉盐溶蛋白主要包括肌原纤维蛋白和肌浆蛋白等,是影响肉制品保水性及结构特性的主要肌肉蛋白质<sup>[1-2]</sup>. 由于这些蛋白质形成热诱导凝胶的能力是肉制品加工中最重要的功能特性,对肉制品的工艺特性和感官品质具有重要的影响<sup>[3]</sup>.

目前关于盐溶蛋白质的研究主要集中在凝胶特性方面. 赵春青等<sup>[2]</sup>研究表明,肌球蛋白是猪背最长肌盐溶蛋白中最重要的功能性蛋白,并且含肌球蛋白较多的盐溶蛋白凝胶的质地,组织状态较好,网状结构均匀、致密;同时均匀、细致、平滑的凝胶网络结构有助于保水性的提高. 靳红果等<sup>[4]</sup>认为,NaCl 和 pH 值对牛背最长肌盐溶蛋白质凝胶保水性和凝胶强度具有显著影响, MgCl<sub>2</sub> 仅对凝胶破断应力影响较大. 亢春雨等<sup>[5]</sup>研究了鸡胸肉盐溶蛋白的凝胶保水性和超微结构的关系,得到了与猪肉盐溶蛋白同样的结论. 虽然前人在研究盐溶蛋白质凝胶特性的同时也有关于盐溶蛋白提取条件优化的报道,但不同种类的肉以及同一种类不同部位的肉中盐溶蛋白的结构和含量不尽相同. 本研究主要考察 NaCl 溶液浓度、MgCl<sub>2</sub> 溶液浓度、NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 添加量和 pH 值对猪通脊盐溶蛋白提取的影响,并通过正交试验对提取条件进行优化.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

猪外脊(通脊)瘦肉,购于北京超市发连锁超市

航天桥店,剔除原料肉中可见脂肪和结缔组织,绞碎成肉馅,置于 -15℃ 冷冻备用. 实验前常温解冻,每 15 g 分为一份.

牛血清白蛋白,美国 Sigma 公司. NaCl、MgCl<sub>2</sub>、NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、考马斯亮蓝、浓 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>、乙醇、盐酸、NaOH 均为分析纯.

PHS-3D 型 pH 计,上海精科雷磁仪表厂; JJ-2 型组织破碎匀浆机,江苏金坛市荣光机械制造有限公司; CR-22G 型高速冷冻离心机,日本日立公司; GS53 型紫外可见分光光度计,上海棱光科学技术有限公司; BSA224S-CW 型分析天平,德国赛多利斯集团.

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 猪肉盐溶蛋白的提取

参照白艳红等<sup>[6]</sup>的方法略作修改:取 15 g 猪通脊肉馅,放入 250 mL 锥形瓶中,加入 180 mL NaCl 溶液,10 mL MgCl<sub>2</sub> 溶液,加入 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 粉末,用玻璃棒搅拌 10 min,调整不同的 pH 值,将混合溶液放入组织破碎匀浆机,在最低转速下匀浆 3 min 后,常温静置 4 h. 在 4℃, 10 000 r/min,离心 20 min. 上清液用四层纱布过滤,所得滤液即为猪肉盐溶蛋白粗提液.

#### 1.2.2 猪肉盐溶蛋白浓度的测定

采用 Bradford 法进行猪肉盐溶蛋白浓度的测定<sup>[7]</sup>. 称取 0.1 g 考马斯亮蓝 G250 溶于 50 mL 95% 乙醇中,加入 100 mL 浓 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>,加蒸馏水定容到 1 000 mL. 取牛血清白蛋白标准溶液,按照表 1 制作标准曲线,如图 1.

表1 蛋白质标准曲线制作对照表  
Tab.1 Control table of standard curve of protein

试剂	管号						
	1	2	3	4	5	6	7
$V_{\text{标准蛋白液}}/\text{mL}$	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.6	0.8
$V_{0.9\% \text{ NaCl}}/\text{mL}$	1.0	0.9	0.8	0.7	0.6	0.4	0.2
$V_{\text{考马斯亮蓝染液}}/\text{mL}$	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
$\rho_{\text{蛋白质}}/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	0	10	20	30	40	60	80

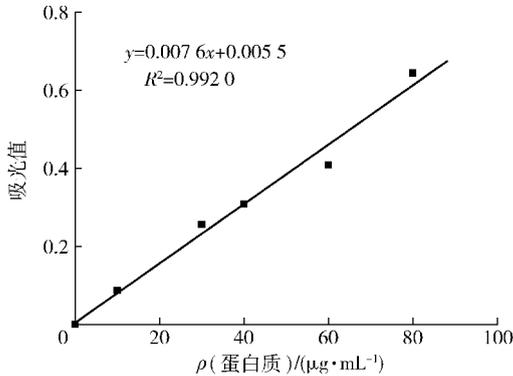


图1 蛋白质标准曲线

Fig.1 Standard curve of protein

### 1.3 单因素实验

#### 1.3.1 不同 NaCl 浓度的提取实验

在  $\text{MgCl}_2$  溶液浓度为  $0.02 \text{ mol/L}$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  添加量为  $3 \text{ g/kg}$ , pH 值为  $6.5$  的条件下,比较不同 NaCl 浓度( $0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 \text{ mol/L}$ )对猪肉盐溶蛋白提取效果的影响。

#### 1.3.2 不同 $\text{MgCl}_2$ 浓度的提取实验

在 NaCl 溶液浓度为  $0.6 \text{ mol/L}$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  添加量为  $3 \text{ g/kg}$ , pH 值为  $6.5$  的条件下,比较不同  $\text{MgCl}_2$  浓度( $0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 \text{ mol/L}$ )对猪肉盐溶蛋白提取效果的影响。

#### 1.3.3 不同 $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 添加量的提取实验

在  $\text{MgCl}_2$  溶液浓度为  $0.02 \text{ mol/L}$ , NaCl 溶液浓度为  $0.6 \text{ mol/L}$ , pH 值为  $6.5$  的条件下,比较不同  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  添加量( $1, 2, 3, 4, 5 \text{ g/kg}$ )对猪肉盐溶蛋白提取效果的影响。

#### 1.3.4 不同 pH 值的提取实验

在  $\text{MgCl}_2$  溶液浓度为  $0.02 \text{ mol/L}$ , NaCl 溶液浓度为  $0.6 \text{ mol/L}$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  添加量为  $3 \text{ g/kg}$ , 比较不同 pH 值(用  $0.1 \text{ mol/L}$  HCl 和 NaOH 溶液分别将提取液 pH 值调节为  $5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5$ )对猪肉盐溶蛋白提取效果的影响。

### 1.4 正交试验设计

为进一步优化猪肉盐溶蛋白提取的较佳参数,

在单因素实验的基础上,采用 SPSS16.0 软件设计  $L_9(3)^4$  正交表进行正交试验。

## 2 结果与讨论

### 2.1 单因素实验结果分析

#### 2.1.1 NaCl 浓度对猪肉盐溶蛋白提取效果的影响

通过 1.3.1 中实验,发现猪肉盐溶蛋白的浓度随着 NaCl 浓度的升高呈现先升高后下降的趋势( $P < 0.05$ ),并且在 NaCl 溶液浓度为  $0.6 \text{ mol/L}$  的条件下,猪肉盐溶蛋白的提取率最高,见图 2。这可能是由于盐浓度改变氨基酸侧链电荷分布,改变盐溶蛋白在溶液中的存在状态,从而降低或增加蛋白质和蛋白质之间的相互作用,进而影响其溶解性<sup>[8]</sup>。因此,选取 NaCl 溶液浓度为  $0.4, 0.6$  和  $0.8 \text{ mol/L}$  三个水平进行正交试验。

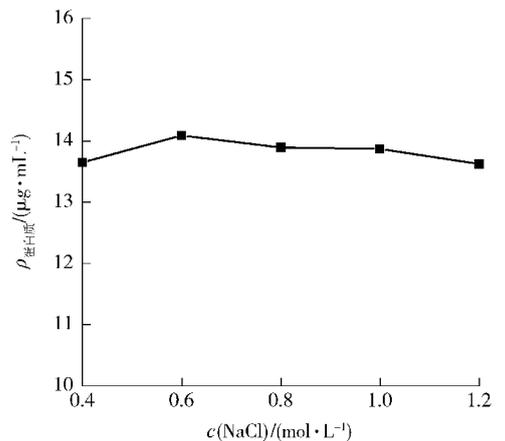


图2 NaCl 浓度对盐溶蛋白提取效果的影响

Fig.2 Effect of NaCl concentration on salt soluble protein extract

#### 2.1.2 $\text{MgCl}_2$ 浓度对猪肉盐溶蛋白提取效果的影响

通过 1.3.2 中实验,发现猪肉盐溶蛋白的提取浓度随着  $\text{MgCl}_2$  浓度的增大呈现先升高后降低的趋势( $P < 0.05$ ),并且在  $\text{MgCl}_2$  溶液浓度为  $0.02 \text{ mol/L}$  的条件下,猪肉盐溶蛋白的提取率最高,见图 3。  $\text{Mg}^{2+}$  具有增大蛋白质凝胶保水性的能力,  $\text{MgCl}_2$  浓度的

提高可以使猪肉盐溶蛋白更容易与水结合,从而增加其溶解性,使提取率升高<sup>[9]</sup>. 而当  $Mg^{2+}$  浓度过高又导致猪肉盐溶蛋白的氨基酸侧链电荷的变化,使蛋白质与蛋白质之间的作用增强,使提取率降低. 因此,选取  $MgCl_2$  溶液浓度为 0, 0.02 和 0.04 mol/L 三个水平进行正交试验.

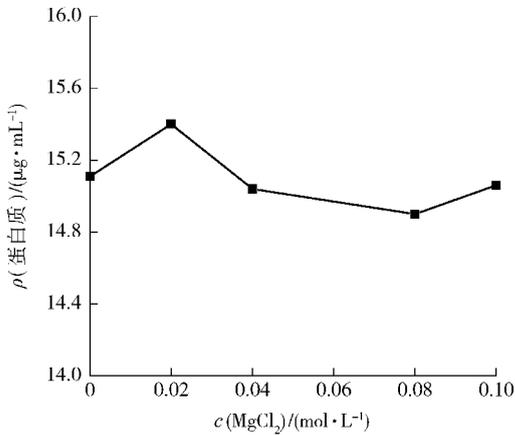


图3  $MgCl_2$  浓度对盐溶蛋白提取效果的影响

Fig. 3 Effect of  $MgCl_2$  concentration on salt soluble protein extract

### 2.1.3 $NaH_2PO_4$ 添加量对猪肉盐溶蛋白提取效果的影响

通过 1.3.3 实验,发现猪肉盐溶蛋白的提取浓度随着  $NaH_2PO_4$  添加量的增大呈现先升高后降低的趋势( $P < 0.05$ ),并且当  $NaH_2PO_4$  添加量为 3 g/kg 的条件下,猪肉盐溶蛋白的提取率最高,见图 4.  $NaH_2PO_4$  同样对蛋白质的保水性和流变性产生一定影响,它的添加会与  $Mg^{2+}$  产生协同效应,增加猪肉盐溶蛋白的溶解性,但其浓度过高同样会对蛋白质的溶解起到抑制作用. 因此,选取  $NaH_2PO_4$  添加量为 2, 3 和 4 g/kg 三个水平进行正交试验.

### 2.1.4 pH 值对猪肉盐溶蛋白提取效果的影响

由 1.3.4 实验,发现猪肉盐溶蛋白的提取浓度随着 pH 值的升高而增大( $P < 0.05$ ),并且在 pH 值为 6.5 的条件下,猪肉盐溶蛋白的提取率最高,见图 5. 这可能是由于高 pH 值使肌原纤维蛋白质偏离其等电点,蛋白质的净电负荷增加,蛋白质和水之间的相互作用加强,蛋白质和蛋白质之间的相互作用减弱,使蛋白质的溶解度增大,提取更充分. 因此,选取 pH 值为 6.0, 6.5 和 7.0 三个水平进行正交试验.

## 2.2 正交试验结果分析

基于单因素提取猪肉盐溶蛋白的实验结果,设计  $L_9(3)^4$  正交试验,如表 2.

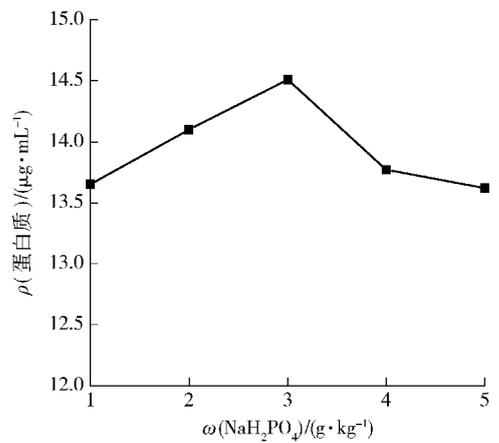


图4  $NaH_2PO_4$  添加量对盐溶蛋白提取效果的影响

Fig. 4 Effect of  $NaH_2PO_4$  content on salt soluble protein extract

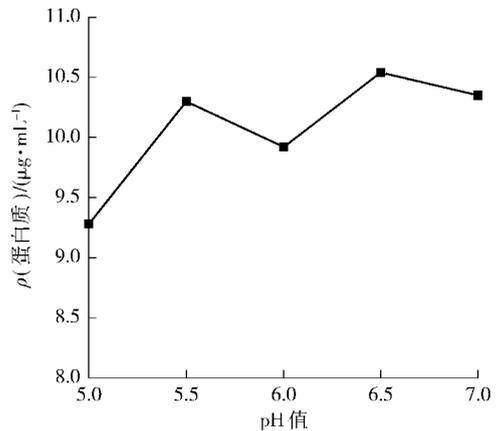


图5 pH 值对盐溶蛋白提取效果的影响

Fig. 5 Effect of pH on salt soluble protein extract

表2 正交试验因素水平表

Tab. 2 Level of factors of orthogonal design

因素与水平	A	B	C	D
	$c(NaCl)/(mol \cdot L^{-1})$	$c(MgCl_2)/(mol \cdot L^{-1})$	$\omega(NaH_2PO_4)/(g \cdot kg^{-1})$	pH
1	0.4	0	2	6.0
2	0.6	0.02	3	6.5
3	0.8	0.04	4	7.0

由方差分析可知,  $NaH_2PO_4$ 、 $MgCl_2$ 、 $NaCl$  和 pH 四个因素均对猪肉盐溶蛋白提取效果有显著影响( $P$  值均小于 0.01), 见表 3. 由极差分析可知, 各因素对猪肉盐溶蛋白提取效果影响的大小顺序为:  $R_{NaH_2PO_4} > R_{MgCl_2} > R_{NaCl} > R_{pH}$ , 表明对蛋白浓度影响由大到小的顺序是  $NaH_2PO_4$ 、 $MgCl_2$ 、 $NaCl$  和 pH 值, 见表 4. 通过极差分析表可以得到猪肉盐溶蛋白提取条件的优化组合为  $NaCl$  浓度 0.8 mol/L,  $MgCl_2$  浓度 0.04 mol/L,  $NaH_2PO_4$  添加量 4 g/kg, pH 值 7.0.

表3 正交试验方差分析结果

Tab.3 Variance analysis of orthogonal experiment

因素	离差平方和	自由度	F值	P值
A	1.093	2	127.999	<0.01
B	1.294	2	151.605	<0.01
C	1.821	2	213.283	<0.01
D	0.137	2	16.021	<0.01
系统误差	0.034	8		

表4 正交试验结果与分析

Tab.4 Results and analysis of orthogonal experiment

序号	A	B	C	D	$\rho$ (蛋白质)/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
1	2	1	3	3	14.15
2	2	3	1	2	13.37
3	3	3	3	1	14.38
4	2	2	2	1	12.99
5	1	3	2	3	13.17
6	1	1	1	1	12.99
7	3	2	1	3	13.08
8	3	1	2	2	13.45
9	1	2	3	2	13.01
均值1	13.06	13.53	13.15	13.45	
均值2	13.50	13.03	13.20	13.28	
均值3	13.64	13.64	13.85	13.47	
极差	0.58	0.61	0.70	0.19	

### 3 结论

单因素实验和正交试验的研究表明,在猪肉盐溶蛋白提取过程中,NaCl浓度、MgCl<sub>2</sub>浓度、NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>添加量和pH值均是影响提取效果的主要因素.通过方差分析得出,猪肉盐溶蛋白提取的优化条件是A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>D<sub>3</sub>,即NaCl浓度为0.8 mol·L<sup>-1</sup>,MgCl<sub>2</sub>浓度为0.04 mol·L<sup>-1</sup>,NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>添加量为4 g·kg<sup>-1</sup>,pH值为7.0.方差分析表明,NaCl浓度、MgCl<sub>2</sub>浓度、NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>添加量和pH值均有极显著影

响( $P < 0.01$ ).

猪肉盐溶蛋白的保水性和凝胶性对于肉制品品质的提升可起到重要的作用.作为品质改良剂,猪肉盐溶蛋白在肉制品加工中的应用有着广阔前景,因此对其提取条件进行优化具有重要意义.

#### 参考文献:

- [1] 彭增起.肌肉盐溶蛋白质溶解性和凝胶特性研究[D].南京:南京农业大学,2005.
- [2] 赵春青,李继红,彭增起.猪肉盐溶蛋白质热诱导凝胶功能特性的研究[J].食品工业科技,2005(8):84-87.
- [3] Wang S F, Smith D M, Steffe J F, et al. Effect of pH on the dynamic rheological properties of chicken breast salt-soluble protein during heat-induced gelation[J]. Poultry Science, 1990, 69: 2220-2227.
- [4] 靳红果,彭增起,周光宏.牛肉盐溶蛋白质热诱导凝胶特性研究[J].食品科学,2008,29(8):95-99.
- [5] 亢春雨,赵春青.鸡胸肉盐溶蛋白热诱导凝胶保水性和超微结构的研究[J].食品科学,2007,28(1):50-53.
- [6] 白艳红,张小燕,赵电波,等.提取条件对猪肉盐溶蛋白凝胶强度影响的研究.食品科技,2009(6):104-107.
- [7] 魏群.基础生物化学实验[M].3版.北京:高等教育出版社,2010.
- [8] 刘安军,王莹,郑捷,等.鳕鱼盐溶蛋白提取条件优化及其在鱼糜制品加工中的变化[J].现代食品科技,2010,26(10):1104-1107.
- [9] Chang H S, Hultin H O, Dagher S M. Effect of MgCl<sub>2</sub>/Sodium pyrophosphate on chicken breast muscle myosin solubilization and gelation [J]. Food Biochemistry, 2001, 25(5):459-474.

## Optimization of Extraction Conditions for Salt Soluble Pork Protein

LIU Ye, SONG Huan-lu

(School of Food and Chemical Engineering, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

**Abstract:** In order to improve the extraction rate, single factors including NaCl and MgCl<sub>2</sub> concentration, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> content, and pH, and orthogonal experiments were applied to optimize the extraction conditions. Bradford method was selected to determined salt soluble protein content in pork. After orthogonal experiment, the preferred condition by variance analysis was 0.8 mol/L NaCl, 0.04 mol/L MgCl<sub>2</sub>, 4 g/kg NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, and pH 7.0.

**Key words:** pork; orthogonal experiment; salt soluble protein; optimization

(责任编辑:叶红波)