

螺蛳腹足肌蛋白的研究

夏树华, 王 璋

江南大学食品学院, 江苏无锡 214036

摘要:以螺蛳的腹足肌部分为研究对象,从粘度、构象变化、氨基酸组成、提取以及增溶等几个角度对其中的蛋白质组分进行了探讨。结果表明,螺蛳肉粉溶液在 pH11处存在一个粘度峰值;腹足肌中蛋白质的二级结构随 pH 的升高会变得较为松散;可通过粉碎、超声波处理、高速分散及碱溶等多种方法增加螺蛳腹足肌中蛋白组分的溶解度。

关键词:螺蛳,腹足肌蛋白

AbstractThe foot muscle protein of *Bellamya purificata* mud snail was investigated. The viscosity the conformation change the amino acids constitution the alkaline extraction and solubilization of the foot muscle protein were researched. The results showed that the solution of meat powder had maximum viscosity at pH11. The conformation of protein was getting loose with increasing pH. Blending ultrasonic extraction ultra-dispersing and alkali treatment increased the solubility of the foot muscle protein.

Key words*Bellamya purificata* foot muscle protein

中图分类号: TS201.2²1 文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2006)01-0132-04

螺蛳广泛分布于我国长江流域,是一种受到普遍欢迎的贝壳类水产。螺蛳是田螺科若干小型种的通称,其中最常见也是我们常食用的是梨形环棱螺(*Bellamya purificata*)¹,它的腹足肌是通常食用的部分,即靠近螺蛳外壳开口处致密而富有弹性的肌肉组织,而卷曲在螺壳尖端深处较柔软的部分是它的消化及生殖等器官。螺蛳的价值主要体现在其具有很高的食用价值、药用价值、营养价值及饲用价值。从食品角度来讲,螺蛳肉是一种高蛋白低脂肪的肉类,是一种有待开发和利用的优质动物性食品及饲料资源,但目前国内外鲜见把螺蛳作为食品资源而进行的全面而深入的研究。本研究中首先对螺蛳

的软体部分的基本成分进行全面分析,然后将其中的腹足肌部分分离出来,用碱提酸沉法提取出螺蛳蛋白加以分析,并对螺蛳肉粉的增溶条件进行了探讨。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

螺蛳 从无锡青山市场购得的新鲜螺蛳,去壳得到软体部分(得肉率约 25%),然后手工将腹足肌部分分离出来(得肉率约为 15%),储存于-20℃的冰柜中备用。

NDJ-79型旋转式粘度计 同济大学机电厂; KQ2200DB型数控超声波发生器 昆山市超声仪器有限公司;JASCO J-500C圆二色谱仪。

1.2 实验方法

1.2.1 螺蛳肉基本成分分析 螺蛳肉的基本成分采用常规方法测定²。

1.2.2 螺蛳蛋白的提取与分析

1.2.2.1 原料预处理 将螺蛳肉腹足肌在组织捣碎机内匀浆,再经冷冻干燥,用中药粉碎机打成细粉备用。

1.2.2.2 分析碱性条件下螺蛳肉粉溶液体系的粘度及组成 取一定量的螺蛳肉粉溶于 100mL水中,使蛋白质浓度为 5%,在 60℃下保温,加入固体 NaOH 调至不同 pH,用旋转粘度计测体系粘度。

1.2.2.3 碱提螺蛳蛋白等电点的测定 取一定量的螺蛳肉粉溶于 100mL水中,使蛋白质浓度为 5%,加入 NaOH 调 pH 至 11,搅拌 30min,10500×g 离心 30min,从上清液中每个样品取 10mL,调酸至不同 pH,然后以 7200×g 离心 20min,每个样品再取上清液,分别定容至 20mL,用福林-酚法测其蛋白含量。蛋白质浓度的最低点对应的 pH 即为螺蛳蛋白等电点。

1.2.2.4 碱提酸沉法制备螺蛳蛋白 取一定量的螺蛳肉粉溶于水中,使蛋白质浓度为 2.5%,加入 NaOH 分别调至 pH10、pH11 和 pH12,10500×g 离心 30min,

收稿日期: 2005-06-17

作者简介:夏树华(1977-),女,博士研究生,研究方向:生物技术在食品中的应用。

取上清液调至所测等电点,离心后将沉淀冷冻干燥。

1.2.2.5 比较不同 pH 条件下提取的螺蛳蛋白的构象 取所得螺蛳蛋白粉末溶于相应 pH 的 5mmol/L 的 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaOH}$ 缓冲液中,并分别在同样的缓冲液中透析,稀释至 $20\mu\text{g/mL}$,使用 JASCO J-500C 圆二色谱仪进行测定。测定时采用 0.1cm 光径石英比色皿,扫描波长为远紫外区 $192\sim 250\text{nm}$,扫描 5 次,测定温度 20°C ,灵敏度为 20mdeg ,扫描速率为 100nm/min ,按 Chen 和 Yang 的方法计算二级结构的构象单元含量³。

1.2.2.6 分析原料及螺蛳蛋白的氨基酸组成 称样品于水解管中,加入 $8\text{mL } 6\text{NHCl}$,抽真空,封口, 110°C 水解 24h。转移定容后过滤,取滤液在加 NaOH 的真空干燥器中蒸干,加盐酸溶解,上机测定。色谱条件: $4.0\times 125\text{mmC18}$ 柱;柱温 40°C ;流速 1.0mL/min ;检测波长 $338\text{nm}, 262\text{nm}$ Pro;流动相 A: 20mmol 醋酸钠液, B: 20mmol 醋酸钠液 甲醇 乙腈 = $1:2:7$ (v/v/v)。

1.2.3 确定螺蛳肉增溶条件 从原料预处理和样品溶解两个环节来提高螺蛳肉在水中的分散性及溶解性。原料预处理见 1.2.2.1。在样品溶解这一环节中,调节肉粉溶液体系的 pH,同时加入高速分散和超声波处理步骤,以离心后上清液中蛋白得率作为衡量指标。

蛋白得率 = $\frac{\text{提取液中的蛋白质量}}{\text{原料中总的蛋白质量}} \times 100\%$

蛋白质含量测定采用微量凯氏定氮法³。

2 结果与讨论

2.1 螺蛳肉的基本成分

以螺蛳软体部分为原料进行基本成分分析,结果如表 1 所示。

表 1 螺蛳肉中各基本成分含量(除水分外都以干重计)

样品	成分(%)				
	蛋白质	糖原	总脂肪	灰分	水分
全螺肉	55.69	21.81	2.73	19.08	80.87
腹足肌部分	59.58	22.86	0.65	16.48	78.82
其余部分(消化及生殖器官)	48.69	20.12	5.12	23.91	82.84

从表 1 中可看出,螺蛳肉的蛋白质含量高达 55.69%,脂肪含量仅为 2.73%,是一种高蛋白低脂肪的肉类,此外糖原含量达到 21.81%。腹足肌部分的蛋白质和糖原含量较高,而脂肪、灰分及水分均较低,因此本实验采用螺蛳的腹足肌部分作为分析的原料。

2.2 螺蛳蛋白的提取与分析

2.2.1 碱性条件下螺蛳肉粉溶液体系的粘度及组成 经测定,螺蛳肉粉溶液体系粘度随 pH 的不同呈现出如图 1 所示的变化曲线。

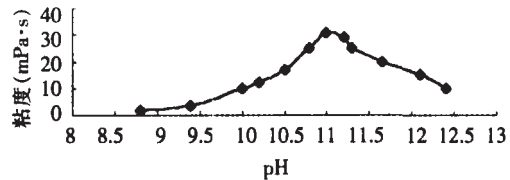


图 1 60°C 下 5%(蛋白质浓度)螺蛳肉粉溶液体系粘度随 pH 的变化曲线

从图 1 可以看出,螺蛳腹足肌肉粉的水溶液呈弱碱性,自然 pH 为 8.8,随 pH 的升高体系粘度不断加大,在 pH 11 处达到一粘度峰值(高达 $35\text{mPa}\cdot\text{s}$),此后继续加碱则体系粘度不断下降。对于蛋白质来讲,在高 pH 的溶液环境中会带较高的负电荷,这会引起强烈的分子内静电斥力,进而导致蛋白质分子的肿胀和展开,这一点在下面圆二色谱的测定结果中也得到了证实,这在宏观上会导致体系粘度的增大。而一般认为,长时间热碱提取蛋白会导致蛋白的非特异性水解,尤其是弹性蛋白及其组分交联的降解⁴。可以认为,过于强烈的热碱条件也会导致类似的结果,这也许能解释体系在高于 pH 11 时粘度的下降。

2.2.2 碱提螺蛳蛋白的等电点 螺蛳中的蛋白质是多种蛋白的混合物,没有确切的等电点。但可以肯定,当 pH 处于某一点时,蛋白质分子所带的净电荷最少,此时蛋白质的溶解度最小,该 pH 可称为近似等电点。经测定,碱提螺蛳蛋白的等电点为约 $\text{pH}4.7\sim 0.1$ 。

2.2.3 不同 pH 条件下提取的螺蛳蛋白的构象 本实验中主要采用提高 pH 来增大螺蛳肉的溶解度,而高 pH 对蛋白质在溶液中的结构和状态有很大影响,而且蛋白质的二级结构与蛋白质的酶解过程和生物活性密切相关,因而有必要研究 pH 对螺蛳蛋白二级结构的影响。圆二色谱(CD)用于研究蛋白质二级结构是比较成熟和常规化的方法,对于样品预处理的要求不太复杂,即使绝对结构完全不知道,CD 谱仍可以监测蛋白质分子在外界条件诱导下发生的构象变化。螺蛳蛋白是一种混合蛋白,研究的目的是其构象随外界 pH 的变化,这与 CD 的特点十分契合。对不同 pH 条件下提取的螺蛳蛋白的构象进行圆二色谱测定,所得图谱如图 3。根据图 3 计算得螺蛳蛋白在碱性环境中二级结构的变化趋势,如表 2 所示。从图 2 中可以看出,在相对较低的 pH 环境中,螺蛳蛋白中紧密度较高的 α -螺旋部分的比例较高,随 pH 的升高,这一比例明显下降,而 β -折叠所占比例则大幅度上升, pH 12 碱提样品的谱图已显示出明显的 β -折叠特征。这说明,随 pH 的升高,由于静电力的作用,螺蛳蛋白的二级结构逐渐松散,肽链展开,从较为有序转向较为无序,这种变化再结合水合作用可促进蛋白质的溶解。这可以从分子结构上解释下面关于螺蛳蛋白的溶解度随 pH 的升高而不断增加的实验结果。

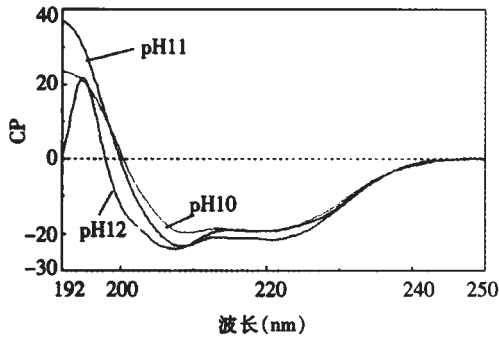


图2 不同pH条件下提取的螺蛳蛋白的圆二色谱图

表2 不同pH下提取的样品中不同构象的比例

二级结构(%)	提取 pH		
	10	11	12
α-螺旋	28.3	28.8	13.2
β-折叠	27.9	37.6	48.7
β-转角	11.7	0.7	6.1
无规卷曲	32.2	33.0	32.0

构象比例分析结果如表2。

2.2.4 原料及碱提酸沉蛋白的氨基酸组成分析 对原料(即螺蛳腹足肌部分)及经碱提酸沉得到的螺蛳蛋白的氨基酸进行了分析,其组成基本相似。螺蛳腹足肌中必需氨基酸(EAA)的含量较高(尤其是亮氨酸和赖氨酸,分别达88.6和75.2mg/g蛋白质),以FAO/WHO的人体必需氨基酸均衡模式计算出螺蛳腹足肌中必需氨基酸指数(EAAI)高达92.6,可以认为螺蛳腹足肌蛋白具有优良的营养价值。此外,原料中谷氨酸、天门冬氨酸、精氨酸、丙氨酸、甘氨酸等鲜味氨基酸的含量也较高(共计495.8mg/g蛋白质),这是螺蛳肉味道鲜美的重要原因。

2.3 螺蛳肉粉的增溶

由于螺蛳肉是一种复杂的天然底物,水分散性或水溶性(蛋白质分散指数PDI或氮可溶性指数NSI)很差,不利于进一步的酶解和加工。本研究采用多种方法,在无需提取的情况下增加螺蛳蛋白的溶解度。本实验从原料预处理和样品溶解两个环节来解决这一问题。对于前者,主要是通过冷冻干燥和碎粉,提高了水分散性;而在后一环节则是通过调节肉粉溶液体系的pH,加入高速分散(剪切作用)和超声波处理(“空穴”效应)步骤来增加螺蛳肉粉在水中的分散性和溶解性。

关于碱溶时间,有报道认为热碱提取蛋白时处理时间的长短是一个关键,延长处理时间将导致不希望看到的蛋白的非特异性水解,并提出处理时间不应超过45min,本研究中定为40min。单纯从增溶角度来看,料水比越小越有利,但浓度太小不利于后续的酶解或加工,因此确定浓度为5% (以蛋白质计)。所使用的高速分散条件为2400r/min,共三次,每次5s。

除上述条件外,本研究中主要探讨了pH、温度、超声波处理时间等三个因素对蛋白得率的影响,结果见图3,经比较从中可以看出影响最显著的因素为pH。

从图3(a)中看出,超声波和高速分散也可以明显提高蛋白得率,尤其在pH10和pH11时比在pH9和pH12时效果更为显著。出现这种现象的原因是,直接决定蛋白得率的是蛋白的溶解性,而超声波和高速分散主要增加的是蛋白质的分散性而非溶解性。在较低的pH9时螺蛳蛋白的溶解度很低,在这样的基础上单纯分散性的增加对蛋白得率的贡献并不大,而在较高的pH(pH12)时螺蛳蛋白的碱溶程度已经很高,分散性对蛋白得率的影响也不显著。从图3(b)中看出,超声波作用时间超过20min后,蛋白得率的增加明显趋缓。图3(c)中显示出自然pH(pH8.8)条件下螺蛳蛋白在50℃附近溶解度最大。在调至pH10时,溶解度的峰值后移至60℃,这时温度的提高对于蛋白碱溶过程的促进作用占了主导地位。

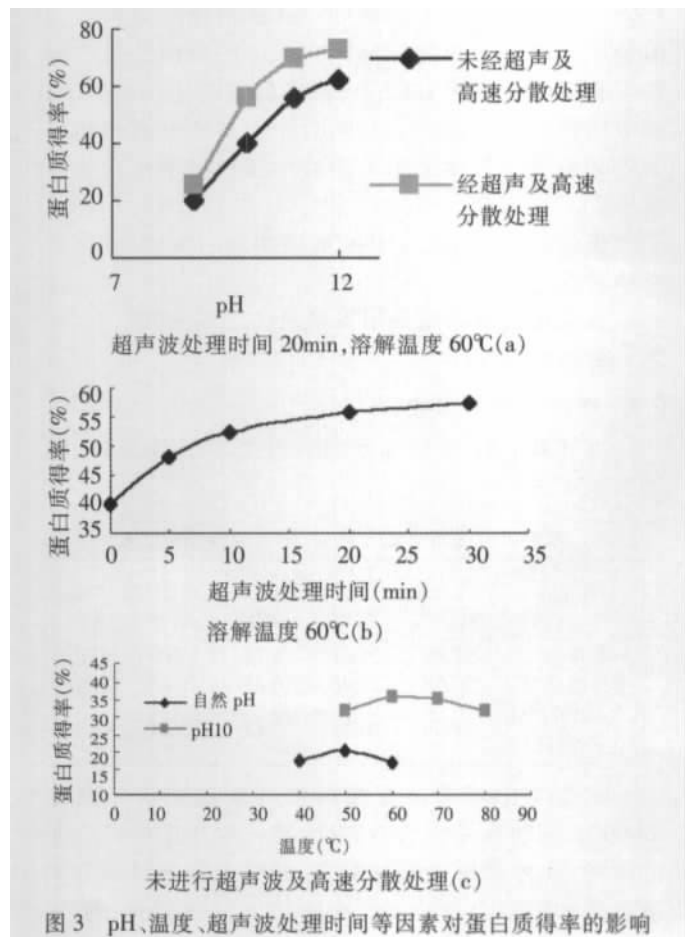


图3 pH、温度、超声波处理时间等因素对蛋白质得率的影响

3 结论

通过对螺蛳腹足肌中蛋白质组分的研究,可以得出如下结论:螺蛳腹足肌肉粉溶液的粘度与pH密切相关,在pH11处达到粘度最大值;螺蛳腹足肌中蛋白质的二级结构随pH的升高会变得较为松散,至

多维低糖桑椹果酱的研制

汪燕, 方建平

黄冈师范学院生物系食品科学与工程专业, 湖北黄州 438000

摘要:介绍以新鲜桑椹、番茄以及胡萝卜为原料生产多维复合低糖果酱的生产工艺和适宜配方。该多维复合低糖果酱内必需氨基酸种类齐全, 含有多种维生素, 营养均衡, 风味独特, 是一种天然保健食品。

关键词:桑椹, 番茄, 胡萝卜, 低糖果酱

中图分类号: TS255.43 文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2006)01-0135-03

桑椹又名桑枣、桑果、桑粒, 成熟的桑椹营养丰富、油润、清香、酸甜适口, 含有葡萄糖、果糖、果酸、7种维生素、16种人体所需氨基酸及钙、磷、铁、铜、锌等矿物质¹。中医认为, 桑椹性寒, 味甘, 入心、肝、肾三经, 入胃能滋补胃液的缺乏, 入肠能促使肠液分泌, 增进胃肠蠕动, 因而有补益强壮之功。近代科学研究表明, 桑椹含有白藜芦醇抗肿瘤物质, 有抗癌作用²⁻⁴。番茄营养丰富, 可作为缺乏维生素C症的食疗品, 且对高血压、心血管病以及眼底出血等均有一定的疗效, 还具有轻身减肥的作用^{5,6}。胡萝卜被称作“土人参”, 具有保护视力, 促进儿童生长发育, 抑制自由基生长, 提高免疫机能, 防止癌细胞形成及预防心血管疾病的作用⁷。用三种原料合理组合生产低糖果酱, 可以起到优势互补, 营养成分均衡, 提高农副

收稿日期: 2005-05-16 通讯联系人

作者简介: 汪燕(1982-), 女, 江南大学硕士研究生, 研究方向: 食品营养与卫生。

pH12时变为以 β -折叠为主要构象; 可以通过粉碎、超声波处理、高速分散及碱溶等多种方法增加螺蛳腹足肌中蛋白组分的溶解度。

参考文献:

1 曹正光 蒋忻坡 安婴. 河沟螺蛳的增殖研究 J. 水产科技情报 1996 23 3 108-114

产品的利用质量, 提高食品品质之功效。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

番茄 选用九成成熟的果实, 色泽一致, 剔除病果、虫果、烂果以及过青和过熟的果实; 胡萝卜 选用无病虫害、无机械伤、无糖心、纤维少, 心柱细小而无明显粗筋的充分成熟的胡萝卜, 用流动水充分洗涤, 去掉泥沙和杂质; 桑椹 选用八成熟, 无腐烂, 无病虫害的果实; 白砂糖 一级; 柠檬酸、琼脂、明胶、海藻酸钠、CMC-Na 黄原胶 GB2760; NaHCO₃ D-异抗坏血酸 分析纯。

清洗机, 夹层锅, 去皮机, 打浆机, 真空脱气机(290VR), 真空浓缩机, 电子天平, 自动灌装机, 反压灭菌锅, 贴标机等。

1.2 工艺流程

清洗→漂烫→打浆
清洗→去皮→热烫→切块→打浆
清洗→破碎→漂烫→打浆→脱气

→配料→真空浓缩→罐装→封盖
→杀菌→冷却→成品

1.3 操作要点

1.3.1 胡萝卜浆的制备

1.3.1.1 浸碱去皮 6% NaHCO₃ 溶液, 95℃浸 3min, 立即用流动清水冲洗, 去皮处理, 切去青头备用。

1.3.1.2 热烫 采用浓度 0.5%柠檬酸与 0.3% D-异抗坏血酸混合液, 100℃热烫 6min, 可达到风味和胡萝卜素保存率都较为理想的效果。

2 黄伟坤. 食品检验与分析 M. 北京 中国轻工业出版社 1990

3 Chen YH Yang JT Chau K. Determination of the helix and β -form of proteins in aqueous solution by circular dichroism J. Biochemistry 1974 13 6 3350-3359

4 Jackson DSC leary EG. The determination of collagen and elastin J. Meth Biochem Ana lysis 1967 15 25-79