



蛋白氧化 及对肉制品品质和功能性的影响

崔旭海¹, 孔保华²

(1. 枣庄学院 生命科学系, 山东 枣庄 277160; 2. 东北农业大学 食品学院, 哈尔滨 150030)

摘要: 肉蛋白氧化及功能性和品质变化目前已经引起国内外关注。本文从氨基酸残基侧链的改变、羧基衍生物的产生、蛋白质聚合物的形成三方面阐述了肉中蛋白氧化的机理, 同时对氧化给肉蛋白品质和功能性带来的影响进行了概括性论述。

关键词: 蛋白氧化; 肉制品; 品质; 功能性

Protein Oxidation and the Effects of Oxidation on Muscle Food Quality and Functional Properties

CUI Xuhai¹, KONG Baohua²

(1. Department of Life Science, Zaozhuang University, Shandong Zaozhuang 277160,

2. College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin, 150030, China)

Abstract: At present, muscle protein oxidation, functional properties changes and muscle quality were widely aroused attention at home and abroad. In the paper, the mechanism of protein oxidation were expounded from three aspects, which were modification of amino acid residue side chains, generation of carbonyl derivatives and formation of protein polymers. The effects of oxidation on muscle food quality and functional properties of muscle protein were generally discussed.

Key words: protein oxidation; muscle food; quality; functional properties

中图分类号: TS201 文献标识码: A 文章编号: 1001-8123(2008)11-0027-05

0 前言

肉制品在加工和储藏过程中, 氧化是导致其品质破坏的一个重要原因。动物肉、禽肉、海产品等对氧化过程的敏感性主要是因为: 各种肌肉组织中含有高浓度的不饱和脂肪酸、亚铁血红素、金属催化剂和各种其它的促氧化因子^[1]。在氧化的肉制品中, 肌肉品质的降低通常具有几个特征: 变味、变色、营养成分的破坏、可能产生一些毒性化

合物^[2]。然而, 这些令人不快的氧化变化已经被广泛研究, 但在肉制品加工和贮藏条件下由氧化引起的肌肉理化性质改变的原因还没有被明确证实。例如, 有氧化迹象的肉制成的产品通常表现出较差的质地和持水能力。近来在生物学上的研究已经发现: 肌肉中许多细胞内和细胞膜蛋白很容易被一些脂氧化、金属或酶催化的氧化反应和其它一些化学和生物过程等产生的活性氧自由基所

收稿日期: 2008-10-31

基金项目: 国家自然科学基金项目(30871818)。

作者简介: 崔旭海 (1979-) 男, 山东枣庄学院, 讲师, 博士, 从事畜产品的研究与开发工作。电话: 13969476600, Email: cuixuhai2003@163.com

通讯作者: 孔保华 教授, Email: kongbh65@hotmail.com, 13903605962

攻击^[3,4]。这些发现可能为推断肉制品体系中,蛋白氧化和肉品质的可能关系上提供有用的洞察。但是当蛋白质被暴露在氧化胁迫条件后,蛋白质在尸僵后肌肉中(包括动物肉、禽肉和鱼肉)的状态,绝大多数还是未知的。尤其考虑到经蛋白氧化后对加工肉制品的质地的影响,特别是针对那些碎肉和重组肉制品更易受影响。

目前的研究已经显示:蛋白质这些理化性质的改变是肉制品中凝胶性、乳化性、粘性、溶解性和水合作用发生改变的首要原因^[5]。肉制品品质变化,作为蛋白氧化导致功能性改变的一个必然结果,在国外的研究中有过一些报道^[6,7],但很多氧化机制还不是很清楚。因此,研究氧化对肉制品品质的影响具有重要意义。

1 蛋白氧化的机制

肌肉组织中含有高浓度的易被氧化的脂类、亚铁血红素、过渡态的金属离子和各种氧化酶。这些物质或者作为产生 ROS 和非氧自由基的前体物质或者作为它们的催化剂。通常情况,ROS 自由基包括:·OH, O₂·⁻, RS· 和 ROO·, 非自由基物质有 H₂O₂ 和 ROOH, 还有其他一些活性的醛基和酮基^[3]。因此在肉制品中,蛋白氧化能与任何一种氧化促进因素相联系。氧化的脂类和蛋白氧化的出现被证实是由自由基链式反应引起的,这与脂肪氧化是相似的,同样包括:起始、传递、终止三个阶段^[8]。表 1 列出了脂类氧化产生的自由基引发蛋白质产生自由基、形成聚合物和蛋白质-脂类复合物出现的一些可能作用机制。自由基对蛋白质进行进攻的位置既包括氨基酸侧链也包括肽链骨架,这种攻击经常导致蛋白质发生聚合作用和片段化。

表 1 蛋白质被氧化的脂类催化发生氧化的可能作用机制 (L=lipid; P=protein)

引发	L→L·
传递	L·+O ₂ →LOO·
抽氢	LOO·+P→LOOH+P·(-H)
延伸	LOO·+P→LOOP
复合	·LOOP+P+O ₂ →·POOLP
聚合	P·P·+P·+P→P·P·P·+P·P·P·

1.1 氨基酸残基侧链的改变

从理论上说,所有氨基酸侧链都易遭受自由基和非自由基 ROS 攻击。然而事实上所用的氨基酸对 ROS 都有不同的敏感性。表 2 列出了一些蛋白质中可氧化的氨基酸残基和它们相应的氧化产物。半胱氨酸可能是最易受影响的氨基酸残基,通常它

是第一个被氧化的。其它含硫氨基酸,如蛋氨酸也易被氧化形成蛋氨酸亚砷衍生物^[9]。有活性侧链的氨基酸(如巯基、硫醚、氨基、咪唑环、吡啶环)尤其易受一些氧化的脂类及其衍生物的氧化引发。因此,半胱氨酸、蛋氨酸、赖氨酸、精氨酸、组氨酸和色氨酸等残基通常是经脂氧化产生的 ROS 攻击的目标。其它易受影响的氨基酸包括:缬氨酸、丝氨酸和脯氨酸。电子旋转共振(ESR)已经被用来检测蛋白质和氨基酸自由基,作为蛋白氧化的直接证明^[9]。

表 2 氨基酸残基侧链的氧化即产物

氨基酸	氧化产物
精氨酸	谷氨酸半醛
半胱氨酸	-S-S-, -SOH, -SOOH
组氨酸	2-氧-组氨酸, 4-OH-谷氨酸, 天冬氨酸, 天冬酰胺
亮氨酸	3-, 4- 和 5-OH 亮氨酸
蛋氨酸	蛋氨酸亚砷, 蛋氨酸砷
苯丙氨酸	2-, 3- 和 4-羟基苯丙氨酸, 2, 3-二羟基苯丙氨酸
酪氨酸	3, 4-二羟基苯丙氨酸, 酪氨酸-酪氨酸交联, 3-硝基酪氨酸
色氨酸	2-, 4-, 5-, 6- 和 7-羟基色氨酸, 甲酰犬尿氨酸, 3-犬尿氨酸, 硝基色氨酸
脯氨酸	2-氨基-3-酮基丁酸
谷氨酸	谷氨酸半醛, 2-吡咯烷, 4- 和 5-OH 脯氨酸, 焦谷氨酸
赖氨酸	羧酸, 丙酮酸衍生物
	α-氨基己二酰基半醛

1.2 羰基衍生物的产生

羰基的形成(醛基和酮基)是被氧化蛋白质中的一个显著变化。因为羰基集团的浓度是蛋白质被氧化的明显标记,且相对较容易测量^[10],因此它被广泛使用来测量在不同的氧化胁迫下,蛋白质被氧化破坏的程度。蛋白质的羰基物质能够通过以下四种途径产生:(1)氨基酸侧链的直接氧化(2)肽骨架的断裂(3)和还原糖反应(4)结合非蛋白羰基化合物。如表 2 所示:精氨酸、赖氨酸、脯氨酸和苏氨酸等残基的侧链氧化能够产生羰基衍生物。尤其脱氨反应,可能是产生蛋白质羰基的主要反应。

无论它们来自蛋白质还是非蛋白质物质,蛋白质的羰基都是高度活性的基团。当来自被氧化蛋白的羰基集团被引进到来自其它蛋白的(如来自赖氨酸残基的自由氨基)电子密度紧密靠近的基团时,它能与亲核物质反应生成共价交联^[11]。通过羰基-氨基反应生成的希夫碱,蛋白质分子之间的交联促进了蛋白质的聚合作用、聚集作用、被氧化蛋白的不溶性和其它一些剧烈的变化,这些变化尤其在浓缩的(低水分活度)肉制品中更为明显^[12]。

1.3 蛋白质聚合物的形成

由 ROS 和其它氧化试剂引起蛋白氧化的其中一个主要结果就是,通过共价和非共价作用蛋白

质聚合物的形成。氧化诱导的蛋白质分子的展开使非极性残基不断暴露,这导致与蛋白质的疏水性相关。另外,在氧化体系中和蛋白质-脂肪的复合物一样,氢键也有助于蛋白质聚合物的形成。另一方面,通过自由基链式反应形成的蛋白质聚合物可能被共价结合,因此不可分离。可能是因为氨基酸残基侧链易遭受自由基攻击,和邻近的来自其它蛋白的活性氨基酸残基产生共价交联。在乳中ROS-调节的蛋白质-蛋白质的交联衍生物的形成通常遵循以下机制:(1)靠半胱氨酸的巯基氧化形成二硫键连接(2)靠两个氧化的酪氨酸残基的络合作用(3)靠一个蛋白质的醛基和另一个蛋白质赖氨酸残基的 ϵ -NH₂相互作用(4)靠二醛(一种双功能试剂,例如丙二醛和脱氢抗坏血酸)的形成,在两个蛋白质中两个 ϵ -NH₂(赖氨酸残基的)交联的产生(5)靠蛋白质自由基的浓缩形成蛋白交联。上述几种产生蛋白交联的可能途径已经获得许多研究报道的试验数据支持^[13-15]。因为许多功能性质都依赖个体蛋白之间的相互联系,肌肉蛋白的聚合和聚集靠氧化过程所促进,这在肉制品加工中具有很重要的意义。

1.4 肽的分裂

许多由ROS体系产生的蛋白氧化的研究,已经显示:聚合物形成的同时,也发生肽键断裂的作用。一些由氧化诱导的肽键断裂机制已经被提出。根据Garrison的报道^[16],靠羟自由基($\cdot$ OH)对谷氨酸和天门冬氨酸残基的攻击,能够引发肽键的断裂。从上面两个氨基酸残基的侧链碳原子中提取氢,最终导致了肽片断的形成。在依赖 $\cdot$ OH的脯氨酸残基向2-吡咯烷酮转换过程中,也能发生蛋白质的断裂。

2 氧化对蛋白溶解性的影响

在肉制品体系中,水是含量最丰富的成分(高水分活度),蛋白质之间的交联形成低聚物、多聚物,最终形成肉眼可见的聚集体而不是形成分子断裂物,这已经得到证实。因此,蛋白质溶解性的降低时常被使用,作为肌肉蛋白品质遭受氧化破坏的标记。从热力学角度上,蛋白溶解性的降低是一种平衡移动的结果,即蛋白分子内相互作用和蛋白-水相互作用的平衡移动,这已经得到证实,在这里蛋白分子间相互作用被促进,与此同时蛋白-水的相互作用被削弱。因此,蛋白质的有序三级结构的损失、在自由基攻击下蛋白质间交联的形成除了作为表面疏水性增加的原因外,也是蛋

白溶解性降低的主要原因。也就是,涉及到被氧化蛋白质的交联的作用力,正如以前章节讨论的那样,包括共价键和非共价键。尤其,已经发现蛋白质-蛋白质之间通过双功能的丙二醛的相互作用是肉和肉制品中蛋白溶解性降低的主要原因^[17]。

3 氧化对蛋白营养品质的影响

因为肉提供了重要的膳食蛋白来源,所以从营养学角度上,肉暴露在氧化胁迫状态时的状态引起了人们很大兴趣。尤其,因为肌球蛋白是构成肉蛋白的主要成分,所以它在理化性质上的变化可能转化为在肉和肉制品营养品质上的变化。一方面,因为一些必须氨基酸残基(如赖氨酸和蛋氨酸),特别易受自由基的攻击,所以可以想象到当肉和肉制品暴露在强氧化条件时,由于这些氨基酸的损失要降低其品质。然而,还不知道氨基酸的破坏对肉制品营养产生明显影响的程度。另一方面,由于蛋白构象的展开和肽键向蛋白酶靠近趋势的增加,自由基引发的蛋白质变性通常导致水解敏感性的提高^[18,19]。

近来利用胃蛋白酶、胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶的许多试验研究表明,被氧化修饰的肌球蛋白的消化率能被增加或降低,这要依赖氧化的程度和是否在消化过程中有还原化合物的出现^[20]。通常肌球蛋白在较温和的条件下(如,不促进过度的交联或不溶性聚合物的形成)被氧化,显示出酶消化率的提高,这发生在一个还原的环境中^[20]。被氧化肌球蛋白与非氧化肌球蛋白相比,水解敏感性的提高已经被证实,因为酶处理后产生无数低分子量的肽。在没有还原剂时,同非氧化的肌球蛋白样品相比被消化的肌球蛋白将含有更多非降解的肌球蛋白碎片,并且在用胰蛋白酶处理的样品中这表现的尤其显著。还不清楚是否对大量基本氨基酸残基的破坏,如赖氨酸和精氨酸(其周围肽键被胰蛋白酶断裂)与肌球蛋白消化率的改变相关。在引起肌球蛋白分子通过非二硫键连接(如用较强的ROS产生体系,例如H₂O₂/血红素混合物产生的)形成交联的条件下,被氧化的蛋白(多聚物)是高度抵制消化酶的蛋白水解的。因此,氧化对肌肉蛋白营养品质的影响是由具体条件决定的,在这些条件下蛋白质的理化性质发生改变,同时它也包括蛋白质被消化的条件。

4 氧化修饰对蛋白功能性的影响

肌肉蛋白的氧化修饰和随之导致的它们理化

性质的改变如前所述,不可避免的将引起功能性的变化。在氧化胁迫条件下,已经观察到了肉制品的这些变化。在肉制品加工中,氧化诱导蛋白变化的三阶段之间的相互关系已经被 Xiong (1997) 详细讨论^[20]。因此,氧化对肌肉蛋白功能性的影响和它们对肉质量产生的影响,在没有适当考虑前提下是不能被定义的;并且还要参照在个体蛋白分子内和分子间发生的具体的理化反应。在肉和肉制品中,蛋白质最重要的功能性包括那些在蒸煮食品中,有助于质构特征和结构性质形成的性质。因此,胶凝作用和肉颗粒间的结合作用(它来源于了蛋白-蛋白之间的相互作用和蛋白基质-水之间的相互作用)、乳化作用(它主要指蛋白质-脂肪的相互作用),和水合作用或持水能力(主要受蛋白质-水的相互作用控制)都是肉制品中最重要的功能性质。因此,影响这些功能性质的因素包括氧化,对蒸煮肉制品质量性质的提高或破坏起着主要作用。

在肉中的三种蛋白质中(肌浆蛋白、肌原纤维蛋白、肉基质蛋白),肌原纤维蛋白对肉制品的功能性起着主要的作用,因此它们成为氧化敏感性研究的中心。被氧化的肌原纤维蛋白显示出的功能性行为明显不同于加抗氧化剂的对照组。确切功能性质的变化,它可能是有益的也可能是有害的,这要依赖氧化过程和条件(例如,氧化剂的类型和浓度、氧化时间的长短)。对脂肪和蛋白质氧化总的抑制,也不总是使蛋白质产生较好的功能性质。然而,抗氧化剂促进了蛋白-蛋白的相互作用(如脱氢抗坏血酸),通常能提高功能性质。早期的研究结果表明:蛋白氧化的复杂本质与肉制品功能性直接相关^[21]。

在活体动物的肌肉组织中,蛋白质的氧化变化发生在新鲜的或加工的肉制品中,包括蛋白侧链基团和次级结构/四级结构的改变修饰。氧化修饰的蛋白显示出功能性的变化,这已经在凝胶形成能力,肉的结合能力,乳化能力,溶解性,粘度和持水能力中的变化得到证实。为了一个适当产物的形成和加工方案的产生,我们应适当控制蛋白修饰的程度和类型,以此取得较具体的蛋白功能性。这可能靠选择具体的氧化强化剂或抗氧化剂(如,抗坏血酸,或者是更经济的异构体,异抗坏血酸),它能抑制脂肪氧化(因此,阻止了不良风味的形成)并且同时改变了蛋白的功能性。这已经被证明对开发肌肉蛋白的功能性是很有用的。

对于用氧化强化剂和抗氧化剂处理的原料,靠改变培养时间和控制加工和储藏过程中的气体环境,肉蛋白的功能性也能被提高。在模拟体系中蛋白氧化产生的任何一种有益效果被证实商业化上实现之前,目前更多的研究应该被进行。此外,肉蛋白氧化产生的潜在毒物学分枝也必须被充分评估^[21]。

5 研究展望

以上报道的许多蛋白质功能性与氧化之间的关系,好多都是偶然发现,还没有研究试图建立氧化蛋白质的特有的化学变化及其功能性之间的关系,或探讨通过控制一定的条件,利用氧化提高蛋白质的一些功能性^[21]。关于蛋白质氧化引起功能性变化的机理现在还不了解,仍需要进行进一步的基础性研究。另外,氧化蛋白质化学和结构变化之间的关系,以及在肉制品加工条件下氧化引起的蛋白质功能性质的变化仍需大量的研究。

参考文献

- [1] Johns A M, Birkinshaw L H, Ledward D A. Catalysts of lipid oxidation in meat products[J]. Meat Science, 1989, 25: 209-220.
- [2] Kanner J. Oxidative processes in meat and meat products: quality implications[J]. Meat Science, 1994, 36: 169-189.
- [3] Butterfield D A, Stadtman E R. Protein oxidation processes in aging brain[J]. Advances in Cell Aging Gerontol, 1997, 2: 161-191.
- [4] Gao X., Jayaraman S, Gursky O. Mild oxidation promotes and advanced oxidation impairs remodeling of human high-density lipoprotein in vitro[J]. Journal of Molecular Biology, 2008, 376: 997-1007.
- [5] Parkington J K, Xiong Y L, Blanchard S P, Xiong S. Functionality changes in oxidatively/antioxidatively washed beef heart surimi during frozen storage[J]. Journal of Food Science, 2000, 65: 796-800.
- [6] Sante-Lhoutellier V, Aubry L, Gatellier P. Effect of oxidation on in vitro digestibility of skeletal muscle myofibrillar proteins. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55: 5343-5348.
- [7] Ooizumi T, Xiong Y L. Hydroxyl radical oxidizing destabilizes subfragment-1 but not the rod of myosin in chicken myofibrils[J]. Food Chemistry, 2008, 106: 661-668.

- [8] Schaich K M. Free radical initiation in proteins and amino acids by ionizing and ultraviolet radiations and lipid oxidation[J]. III: Free radical transfer from oxidizing lipids. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1980, 13:189-244.
- [9] Vogt W. Oxidation of methionine residues in proteins: Tools, targets, and reversal[J]. Free Radical Biology Medicine, 1995, 18:93-105.
- [10] Levine R L, Garland D, Oliver C N. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins[J]. Methods in Enzymology, 1990, 186: 464-477.
- [11] Feeney R E, Blankenhorn G, Dixon B F. Carbonyl-amine reactions in protein chemistry[J]. Advances in Protein Chemistry, 1975, 29:135-203.
- [12] Xiong Y L, Decker E A. Alternations of muscle protein functionality by oxidative and antioxidative processes[J]. Journal of Muscle Foods, 1995, 6:139-160.
- [13] Buttkus H. The reaction of myosin with malonaldehyde [J]. Journal of Food. Science, 1967, 32:432-434.
- [14] Decker E A, Xiong Y L, Calvert J T, Crum A D, Blanchard S P. Chemical, physical and functional properties of oxidized turkey white muscle myofibrillar proteins [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1993, 41:186-189.
- [15] Srinivasan S, Xiong Y L. Sulfhydryls in antioxidant-washed beef heart surimi[J]. Journal of Muscle Foods, 1997, 8: 251-263.
- [16] Garrison W M. Reaction mechanisms in the radiolysis of peptides, polypeptides, and proteins[J]. Chemical Reviews, 1987, 87:381-398.
- [17] Buttkus H. The reaction of myosin with malonaldehyde [J]. Journal of Food. Science, 1967, 32:432-434.
- [18] Agarwal A, Sohal R S. Aging and proteolysis of oxidized proteins[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1994, 309: 24-28.
- [19] Meucci E, Mordente A, Martorana G E. Metal-catalyzed oxidation of human serum albumin: conformational and functional changes[J]. Journal of Biological Chemistry, 1991, 266:4692-4699.
- [20] Liu G, Xiong Y L. Thermal denaturation and in vitro digestibility of oxidized myosin[M]. IFT Annual Meeting: Book of Abstracts, 1997, Abst No.56-4.
- [21] Xiong Y L. Protein oxidation and implications for muscle food quality[M]. Antioxidants in Muscle Foods. Edited by Eric Decker, Cameron Faustman, and Clemente J. Lopez-Bote, 2000, 85-111.

您的包装能否确保产品的质量安全?

肉眼看得见的问题 您来解决
肉眼看不到的问题 Labthink 来解决



The advertisement features a collage of food products including HoneySuckle White, Italian Style, and HoneySuckle White. In the background, a person in a lab coat is working in a laboratory setting with various equipment.

Labthink