

猪肉高剂量辐照工艺及其营养变化

侯铮迟 孙大宽 秦宗英 金江 朱莲娣 姚思德 盛康龙
(中国科学院上海应用物理研究所 上海 201800)

摘要 高剂量的电离辐射辐照可有效杀灭食品载带的微生物病原体,以确保食品安全并延长保存期。本工作研究了新鲜猪里脊肉的高剂量 γ 射线辐照工艺,通过蛋白酶热钝化、真空包装和低温辐照等工艺,可将辐照过程中所产生的化学反应的影响降至最小。对辐照猪肉的蛋白质 SDS (凝胶电泳)、氨基酸和维生素分析表明,在 (-20 ± 5) 温度下进行45kGy辐照,猪肉样品的蛋白质无重大损伤,仅发生很小的结构变化,氨基酸基本维持不变,维生素B1和B2的保留率分别为22%和61%。

关键词 辐射加工,热钝化,真空包装,低温辐照,凝胶电泳

中图分类号 O644.2

肉类食品是人们的主要食品,为人体提供动物蛋白、脂肪、矿物质和维生素等必需营养。我国肉类食品人均消费为47kg,其中猪肉占31kg。近年来,世界各地在家畜家禽养殖和肉类产品流通过程中,各类严重影响人类健康的传染病的爆发频次和危害程度,均显上升趋势。这一问题提示我们,在肉类食品生产中应进一步强化科学管理;同时也必须采用先进的科学技术,提高肉类产品的卫生质量,确保它们的食用安全性。

食品辐照能有效杀灭食品载带的各类病原体,是保障食品卫生质量和食用安全的新工艺。1995年3月,美国食品药品监督管理局(FDA)批准了航天计划的44kGy冷冻肉辐照。1997年12月,又批准了4.5kGy冷却肉辐照和7.0kGy冷冻肉辐照。经辐照处理的肉类食品已进入超市,并被消费者接受。我国卫生部于1997年6月颁布了2.5kGy辐照冷冻包装肉类食品卫生标准。然而,这一剂量水平的肉类食品辐照,仅能对大肠杆菌、沙门氏菌等致病菌对电离辐射抗性不强的病原体作一般程度的控制。要对肉类食品作更为广谱的病原体控制,应进行更高剂量的肉类食品辐照处理。由于残留蛋白酶的活性影响,低剂量辐照处理的肉制品的货架期有限。对肉类食品作蛋白酶热钝化处理再进行高剂量辐照,可杀灭包括肉毒杆菌和病毒在内的所有病原体,也可使肉类食品有长期稳定的货架期。

当然,我们必须关注肉类食品辐照处理后的组

织结构变化和营养损失。

低脂肪肉是一个复杂的生物体系,其典型组分为:水75%、蛋白质19%、脂肪2.5%、碳水化合物1.2%、无机物2.3%,还有微量的非蛋白氮和维生素^[1]。蛋白质在电离辐射作用下辐解,产生脱氨、脱羧、二硫键还原、巯基氧化、氨基酸支链降解和肽键变化,电离辐射也能引起多肽键裂解和蛋白质凝聚。Lacroix等^[2]在冷却条件下 (3 ± 2) 对不同包装的猪肉样品进行6kGy⁶⁰Co γ 射线辐照,在长达6周的时间内,分析辐照猪肉样品的蛋白质含量和氢硫基释放,并未发现低剂量辐照对其蛋白质有影响。

本工作对猪肉的高剂量 γ 射线辐照的辐照工艺和营养损失、感官品质变化与挥发性有机物等^[3],作了较为系统的研究。本文报道其辐照工艺和营养成分测定结果。

1 材料和方法

为使肉类食品受高剂量 γ 射线辐照后,也能将蛋白质的辐射化学效应降至最低程度,采用热钝化和隔绝氧气的低温辐照等措施。肉类样品辐照前,将其作蛋白酶和自溶酶钝化处理,以减少辐照产生的异味,增加储存的稳定性。对肉样品进行真空包装,以减少辐照过程中的氧化反应。肉样品在冷冻态下辐照,以减少其所含水分的辐射化学反应,这对维生素B1(V_{B1})很重要。 V_{B1} 是一种自由基清

上海市科学技术委员会(023912073)资助

第一作者:侯铮迟,男,1963年1月出生,1988年在中国科学院上海应用物理所获硕士学位,辐射化学专业,研究员
通讯联系人:盛康龙

收稿日期:初稿 2004-09-10,修回 2004-11-02

除剂,室温辐照时与水自由基反应而被大量消耗,甚至被完全消耗。在深度冷冻状态下辐照肉类食品,自由基在低温条件下难以迁移, V_{BI} 消耗最小。

1.1 样品处理和包装

市售新鲜无骨猪里脊肉,剔除筋键、筋膜,绞成肉浆,在 (72 ± 3) 烘箱中处理 1h,冷却至 4℃,进行真空包装。真空包装袋材料系外层为尼龙、内层为聚乙烯的复合膜,该膜材料的氧渗透率为 $15.5\text{cm}^2/24\text{h}25^\circ\text{C}$ 。真空封口压力 0.1MPa。封口样品置于 -25°C 冷柜保存备用。

1.2 低温辐照与蓄冷器

样品辐照在中国科学院上海应用物理所辐照基地的 ^{60}Co 辐照装置上进行。该装置为双栅板源,五辐照通道,源活度为 $6.2\times 10^{15}\text{Bq}$ 。采用多次循环辐照的运行模式进行样品的低温高剂量辐照。用 $K_2(\text{Ag}_2)\text{Cr}_2\text{O}_7$ 剂量计监测样品吸收剂量,剂量率为 0.76kGy/h ,实验所需的高剂量辐照长达数 10h。

为在如此之长的时间内保持样品的低温辐照条件,研制了蓄冷剂与蓄冷器。以聚丙烯酸水溶液为基质,用适量碱金属盐中和,再进行辐射交联,制成凝胶状蓄冷剂。将蓄冷剂灌注入 $34\text{cm}\times 17\text{cm}\times 3\text{cm}$ 尼龙盒中,封口而成蓄冷器(见图1)。试验结果表明,该蓄冷器蓄冷效果良好,初始温度为 -25°C 蓄冷器,6h后其温度为 -16°C 。这一时间长度约为吊架辐照的一个循环周期,每个辐照周期更换一次蓄冷器,可使样品在整个实验过程中保持低温。蓄冷器可反复冷却与使用。



Fig.1 The freeze retainer size, $34\text{cm}\times 17\text{cm}\times 3\text{cm}$

样品辐照容器为 $41\text{cm}\times 28\text{cm}\times 27\text{cm}$ 纸板箱,内壁衬以发泡苯乙烯板。箱内均匀排布已预冷冻的样品与蓄冷器,再预冷 $(-25^\circ\text{C})24\text{h}$ 。样品箱置于吊架中辐照,辐照过程中的抽样温度测试表明,样品温度可控制在 (-20 ± 5) 范围内。

1.3 样品分析方法

1.3.1 蛋白质 SDS 凝胶电泳分析 取里脊肉浆

15g,放入 150mL 萃取缓冲液中($0.01\text{mol/L Na}_2\text{PO}_4$, 0.6mol/L NaCl , 1.0mmol/L MgCl_2 和 0.02% 叠氮钠, $\text{pH}7.0$)。用均化器均化 1min (12000r/min),在 4°C 温度下搅拌 1h (200r/min),离心分离 (9000r/min)。上清液经玻璃纤维过滤即得蛋白质萃取液,对萃取液进行 SDS (十二烷基磺酸钠)凝胶电泳分离,考马斯染色后扫描,用软件分析扫描得到的目标带含量。该蛋白质 SDS 凝胶电泳分析由中国科学院上海生命科学院生化与细胞学所蛋白质组学研究分析中心进行。

1.3.2 氨基酸测定 (1)色氨酸(Cys): 6N NaOH 水解, 110°C , 18h; 比色法测定, $\lambda = 545\text{nm}$ 。(2)蛋氨酸(Met): 6N HCl 水解, 110°C , 18h; 用日立 835-50 型氨基酸分析仪测定。(3)半胱氨酸(Trp): 过甲酸氧化, 6N HCl 水解, 110°C , 12h; 用日立 835-50 型氨基酸分析仪测定。该氨基酸测定由中国科学院上海生命科学院生化与细胞学所进行。

1.3.3 维生素测定 由上海市预防医学研究院根据 G/T12390-1990, G/T12391-1990 测定。

2 结果和讨论

2.1 蛋白质

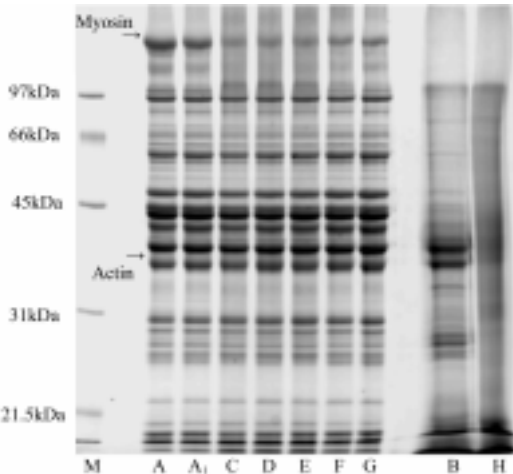
蛋白质含有氢、氮、碳和硫等元素,是细胞构成的主要成分。肉类食品的总有机氮主要来自于蛋白质,仅有少量非蛋白质组分的有机氮。肉类食品的蛋白质包括其蛋白酶。肉类食品的蛋白质种类繁多,但构成蛋白质的氨基酸主要有 24 种常见的 α 氨基酸。蛋白质的构型可被辐射、热、酸、碱、有机溶剂等各种因素改变。

对样品的总氮含量和粗蛋白量测定表明,不同辐照剂量和不同包装形式对蛋白质的影响不明显。我们用 SDS 凝胶电泳对辐照猪肉的蛋白质组分变化作了研究。表 1 列出了进行 SDS 凝胶电泳测试的各类样品。图 2 是它们的 SDS 凝胶电泳图。图 2 显示,蛋白质组分按分子量大小在凝胶柱上迁移至不同距离,经考马斯染色后在凝胶上显示出不同着色的条带。猪里脊肉蛋白质约 20 个条带,分子量分布在 $14\text{—}210\text{kDa}$ 范围内。由条带着色变化可判别辐照剂量对各种蛋白质组分的影响。比较辐照组(样品 C、D、E、F、G)和对照组(样品 A 与 A_1)的凝胶条带色差,随着辐照剂量增加, 200kDa 处的条带着色逐渐趋向消失,其它分子量区域条带着色则无显著变化。辐照组样品的凝胶电泳图中未发现新条带。

Table 1 Pork samples for SDS gel electrophoresis

Samples	M	A,A ₁	C	D	E	F	G	B	H
Dose/kGy	—	0	45	45	30	15	7	—	—
Remarks	(1)	(2)	(3)	(4)	(3)	(3)	(3)	Steamed pork	Canned pork

(1) Marker of the SDS gel electrophoresis, (2) The control (without irradiation), (3) Protein enzyme inactivation at 72 °C before irradiation, (4) Without protein enzyme inactivation

**Fig.2** SDS gel electrophoresis patterns of the pork loin samples

猪肉蛋白质的主要组分是肌原纤维蛋白，由肌球蛋白（Myosin）、肌动蛋白（Actin）和肌动球蛋白（Actomyosin）组成。肌球蛋白占 38%，其重键分子量为 205kDa；肌动蛋白占 13%，分子量为 45kDa。表 2 为辐照组猪肉样品与对照组在 45kDa 和 205kDa 处的凝胶电泳条带的光密度。

Table 2 Relative electrophoresis light density of myosin and actin in pork loin samples

Dose/kGy	0	7	15	30	45
Myosin(205kDa)	12.6	5.93	4.47	4.03	4.03
Actin(45kDa)	15.81	15.20	13.70	12.23	15.13

从表 2 可见，猪肉样品吸收剂量达 7kGy 时，肌球蛋白的相对光密度已下降为对照组的 47.1%，剂量增大，肌球蛋白的相对光密度继续下降，但下降速率趋缓，至 30kGy 后保持为对照组的 32.0% 水平。肌动蛋白的相对光密度变化不明显。蛋白酶钝化与未钝化对肌球蛋白和肌动蛋白的相对光密度影响不大。

Taub 等^[4]曾将猪肉肌球蛋白分离纯化，在 -40°C 温度下辐照，剂量最高为 80kGy。辐照样品的 SDS 凝胶电泳分析表明，肌球蛋白主要肽键相关的条带虽也随剂量递增而趋向消失，但至 80kGy 仍保留有与主要肽键相关的条带。其 SDS 凝胶电泳分析中也未

发现与低分子量或更高分子量有关的新带条。因此，可以认为低温下高剂量辐照猪肉的肌球蛋白并未发生较大的降解或凝聚，但可能使肌球蛋白尺寸发生变化。

值得指出的是，猪肉在其他加工法也有可观的蛋白质损失。作为对照，我们在猪肉 SDS 凝胶电泳分析中增加了两种热加工猪肉样品（蒸煮加工猪肉和罐装午餐肉，见表 1 和图 2 右侧）。比较 A（未辐照），C（45kGy），B（蒸煮加工）和 H（罐装午餐肉）等样品的 SDS 凝胶电泳谱，样品 B 和 H 的高分子量蛋白质组分的变化极为引人注目。样品 B 在自 45 kDa 以上的蛋白质组分全部消失，而样品 H 仅剩 14 kDa 左右低分子量的蛋白质组分。由此可认为，在热加工过程中，猪肉蛋白的色氨酸完全水解。

2.2 氨基酸

蛋白质的组成单位是氨基酸，猪肉蛋白质中含有人体必需的 8 种氨基酸，我们对三种主要的氨基酸，即半胱氨酸(Cys)、蛋氨酸(Met)和色氨酸(Trp)的辐照损失和热加工损失作了实验研究。表 3 列出了不同加工方式对半胱氨酸、蛋氨酸和色氨酸的影响。

从表 3 中可见，经蛋白酶钝化与 45kGy 辐照的猪肉样品基本保持了这三种氨基酸。未经蛋白酶钝化的样品，其半胱氨酸含量下降为新鲜猪肉的 80%。Taub 等^[4]的 -40 °C 辐照实验结果也表明，在实验误差范围内，辐照猪肉的氨基酸比例恒定。因此，亚冷冻态下辐照猪肉，其氨基酸无显著损失。

Table 3 Amino acid contents (in %) in pork loin samples treated by different processing methods

Amino acid	Pork loin samples			
	Fresh	Steamed	Enzyme inactivated	No enzyme inactivation
Cys	0.50	0.51	0.51	0.4
Met	0.51	0.43	0.55	0.52
Trp	0.43	0.09	0.39	0.39