

马氏珠母贝肌肉提取蛋白热变性动力学

郑惠娜, 章超桦^{*}, 秦小明, 吉宏武, 黄锦华

(广东省水产品加工与安全重点实验室, 广东普通高等学校水产品深加工重点实验室,
国家贝类加工技术研发分中心(湛江), 广东海洋大学食品科技学院, 湛江 524088)

摘要: 为进一步了解水产蛋白的受热影响规律, 更好利用它们的机能特性, 该文研究热处理过程中马氏珠母贝肌肉提取蛋白(水溶性蛋白和盐溶性蛋白)的变性动力学, 水溶性蛋白和盐溶性蛋白可分别用反应级数为 1.1 和 1.3 的方程较好地描述。研究表明, 在 60、70、80、90 和 100℃ 条件下水溶性蛋白变性的 D 值(90%蛋白变性所需时间)分别为 33 333、12 500、3 333、1 667 和 769 s, 而盐溶性蛋白热变性 D 值为 50 000、12 500、5 000、2 000 和 1 250 s; 水溶性蛋白和盐溶性蛋白的 Z 值(D 值降低 90% 的温度变化)分别为 24.1 和 25.0℃, 变性活化能分别为 101.83 和 112.78 kJ/mol, 盐溶性蛋白比水溶性蛋白更为耐热。研究结果为进一步开发利用马氏珠母贝肌肉蛋白提供参考。

关键词: 动力学, 蛋白, 热效应, 马氏珠母贝, 水溶性蛋白, 盐溶性蛋白

doi: 10.3969/j.issn.1002-6819.2013.05.031

中图分类号: TS254.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6819(2013)-05-0237-06

郑惠娜, 章超桦, 秦小明, 等. 马氏珠母贝肌肉提取蛋白热变性动力学[J]. 农业工程学报, 2013, 29(5): 237-242.

Zheng Huina, Zhang Chaohua, Qin Xiaoming, et al. Kinetics of heat denaturation of proteins extracted from *Pinctada martensii* meat[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2013, 29(5): 237-242. (in Chinese with English abstract)

0 引言

马氏珠母贝(珍珠贝, *Pinctada martensii*)是中国南方海水珍珠养殖的主要品种。目前, 采珠后的马氏珠母贝肉除一部分鲜销供食用外, 大部分作为废弃物而被丢弃, 其加工利用程度非常低。然而, 研究显示马氏珠母贝肉蛋白质含量高(74.9%/干基), 是食品蛋白质的良好来源^[1]。

近年来, 随着研究的深入, 食品蛋白质在加工、贮藏中受热的影响规律已成为人们关注焦点。特别是一些热加工方式对动物肌肉蛋白结构、酶解特性等均具有显著的影响^[2-3]。热处理是食品加工过程中重要的加工工艺, 在加热和受热过程中食品中的各

种成分均会发生明显的变化。蛋白质是食品中最重要的成分, 它不仅具有营养上的重要意义, 而且还往往决定了食品的质构和风味, 具有很多的机能特性。肌肉蛋白质一般分成肌浆蛋白, 肌原纤维蛋白及结缔组织或基质蛋白^[4]。Tornberg 等^[5]研究表明, 加热变性的肌浆蛋白与纤维蛋白之间形成凝胶, 使得纤维蛋白聚合, 能够改变肉的嫩度。目前, 水产蛋白组成及其热变性研究相对较少, 贝类蛋白的相关研究更是空白。因此, 研究蛋白质的热变性动力学, 掌握蛋白质的热变化, 对于更好地利用它们的机能特性, 制取人们爱好的优质新型食品具有重大的现实意义。

本研究在先前提取马氏珠母贝肌肉水溶性蛋白和盐溶性蛋白研究^[6]基础上, 进一步研究 2 种提取蛋白的热变性动力学, 以期为进一步开发利用马氏珠母贝肌肉蛋白提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

马氏珠母贝(秋季, 贝龄 24-30 个月, 个体大小 8~10 cm)购于湛江市东风市场; 新鲜贝肉去壳、去内脏, 取闭壳肌, 清洗干净, 进行蛋白组分的分离制备^[6]。

1.2 试剂与仪器

试剂: Folin-酚蛋白定量试剂盒, 牛血清白蛋

收稿日期: 2012-12-06 修订日期: 2013-01-11

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金资助(编号: CARS-48-07B), 广东省教育厅育苗工程(自然科学)项目资助(编号: 1109240); 广东省自然科学基金资助(编号: S2011040000255)

作者简介: 郑惠娜(1979-), 女(汉), 福建漳州人, 副教授, 博士, 主要从事水产贝类高值化利用研究。湛江 广东省水产品加工与安全重点实验室, 广东普通高等学校水产品深加工重点实验室, 国家贝类加工技术研发分中心(湛江), 广东海洋大学食品科技学院, 524088。Email: margaretpaper@126.com

*通信作者: 章超桦(1956-), 男(汉), 福建龙岩人, 教授, 博士, 博士生导师, 主要从事海洋生物资源高值化利用研究。湛江 广东省水产品加工与安全重点实验室, 广东普通高等学校水产品深加工重点实验室, 国家贝类加工技术研发分中心(湛江), 广东海洋大学食品科技学院, 524088。Email: zhangchpaper@126.com

白均购自北京鼎国昌盛生物技术有限公司，其他试剂均为分析纯；

仪器：pH-25 数显 pH 酸度计，上海康仪仪器有限公司；UXZ200H 岛津托盘电子分析天平，日本岛津公司；Milli-Q Biocel 超纯水系统，美国 Millipore 公司；T18 basic 高速分散机，德国 IKA 公司；Sigma 3K3 离心机，德国 Brawn Biotech International 公司；HH-6 电热恒温水浴锅，上海博迅实业有限公司医疗设备厂；UV8000 紫外可见分光光度计，上海元析仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 马氏珠母贝肌肉水溶性蛋白的提取

水溶性蛋白提取参考文献[6]。称取一定质量绞碎的马氏珠母贝肌肉（100 g）于玻璃烧杯中（1 000 mL），加入 400 mL 去离子水采用高速分散机以 13 000 r/min 匀浆 20 min，然后×10 000 g 离心 20 min，收集上清液，重复提取 2 次，合并上清液即为水溶性蛋白。

1.3.2 马氏珠母贝肌肉盐溶性蛋白的提取

盐溶性蛋白提取参考文献[6]。将上述提取水溶性蛋白后的沉淀以 1：2（mg/L）加入 1 mol/L NaCl（0.1 mol/L pH 值 7.4 磷酸盐）缓冲溶液，采用高速分散机以 13 000 r/min 匀浆 20 min，然后×10 000 g 离心 20 min，收集上清液，重复提取 2 次，合并上清液即为盐溶性蛋白，沉淀为不溶性基质蛋白。

1.3.3 提取蛋白热处理及变性率测定

取 25 支玻璃试管，分别加入 5 mL 样品，每 5 支一组，分别置于 60、70、80、90、100℃下水浴加热 1、5、10、20、30 min 后迅速冷却，4 000 r/min 离心 20 min，取上清液，采用福林酚比色法测定溶液中蛋白含量，平行测定 3 次取平均值。根据下面公式计算蛋白质热变性率^[7]。

变性率=

$$\frac{\text{加热前样品蛋白质质量}-\text{加热后样品上清液中蛋白质质量}}{\text{加热前样品蛋白质质量}} \times 100\%$$

1.3.4 蛋白质热变性动力学描述

蛋白质热变性速率可以用下式描述： $-dC/dt=kC_n$ 。其中， k 为变性反应速率常数； C 为 t 时刻未变性蛋白质浓度，mg/L； n 为反应级数。

当 $n=1$ 时， $\ln(C_t/C_0)=-kt$ 。此时，反应的速率常数 k 即为 k_1 。

当 $n \neq 1$ 时， $(C_t/C_0)^{1-n}=1+(n-1)kC_0^{n-1}t=1+(n-1)k_n t$ 。其中表观反应速率常数 $k_n=kC_0^{n-1}$ 。

所以当 $n \neq 1$ 时，反应的速率常数还取决于起始浓度。符合 1 级反应的蛋白质变性过程， $\ln(C_t/C_0) \sim t$

应该为直线；不符合 1 级反应的蛋白质变性过程 $(C_t/C_0)^{1-n} \sim t$ 应该为直线。由此可以计算出变性反应的速率常数 $k^{[8]}$ 。

蛋白质变性反应速率常数与温度的关系可采用 Arrhenius 方程表示： $k=Ae^{-Ea/RT}$ ，其中 A 为阿列纽斯 (Arrhenius) 常数， Ea 为表观活化能，kJ/mol； R 为气体常数，J/(mol·K)； T 为绝对温度，K。两边取对数，得： $\ln k=\ln A-Ea/RT$ ，也即 $\ln k \sim 1/T$ 应该为直线，根据斜率可以计算出变性反应活化能 Ea 。再通过下式，可以依次计算出蛋白质热变性过程中的其他几个热力学参数：

焓 $\Delta H=Ea-RT$ ，

熵 $\Delta S=R[\ln A-\ln(k_B/h_p)-\ln T]$ 。

式中， k_B 为波兹曼常数，J/K； h_p 为普朗克常数，J·s。

活化自由能 $\Delta G=\Delta H-T\Delta S$

2 结果与分析

2.1 提取蛋白热变性率

图 1 结果显示，在热处理温度范围内，2 种蛋白的热变性率均随着温度的不断上升及热处理时间的延长而加快。水溶性蛋白分别在 90℃ 条件下热

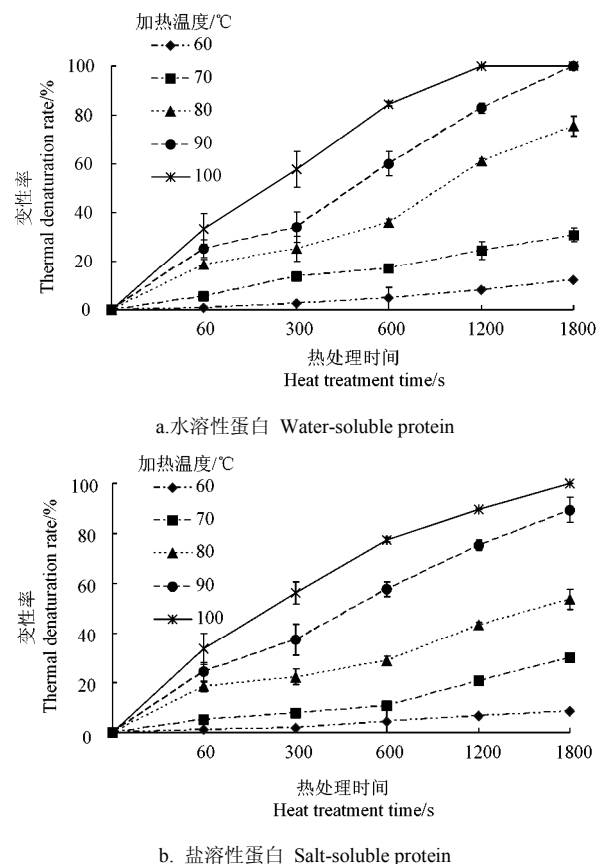


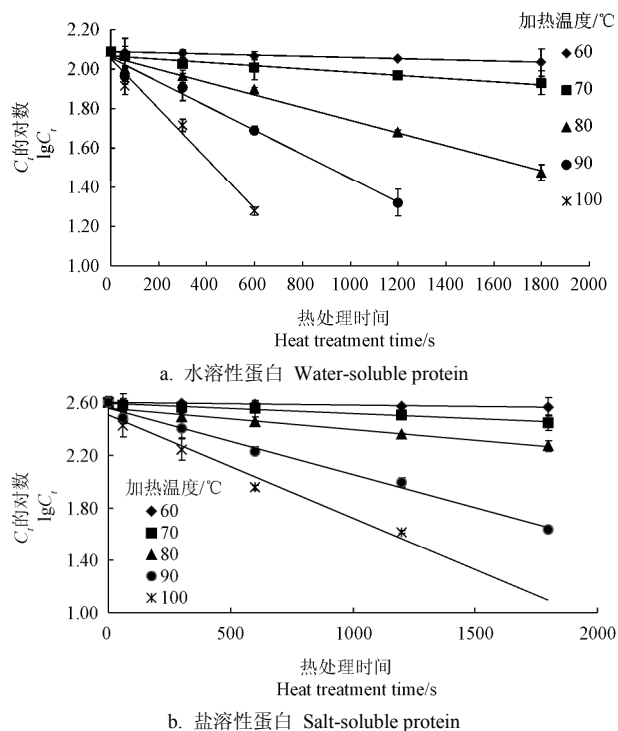
图 1 温度及热处理时间对水溶性蛋白和盐溶性蛋白热变性率的影响

Fig.1 Effects of temperatures and heat treatment times on water-soluble protein and salt-soluble protein thermal denaturation rate

处理 30 min、100℃条件下热处理 20 及 30 min 后热变性率达到 100%。盐溶性蛋白在 100℃条件下热处理 30 min 后热变性率达到 100%。

2.2 提取蛋白热变性的 D 值和 Z 值

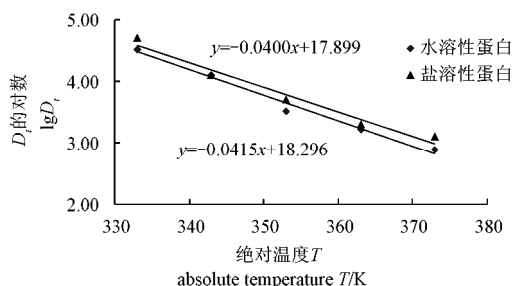
D 值指在恒定温度下 90%蛋白变性所需时间，通过 $\lg C_t$ 对 t 作图求得（回归方程斜率的倒数）。而 Z 值是指 D 值降低 90%的温度变化，体现了温度对 D 值的影响，通过 $\lg D_t$ (D_t 为 t 温度下的 D 值) 对 T 作图求得（回归方程斜率的倒数）^[8]。图 2 显示了水溶性蛋白和盐溶性蛋白质量浓度对数 $\lg C_t$ 与热处理时间 t 的作图结果。根据图中直线斜率可计算出在 60, 70, 80, 90 和 100℃不同温度下水溶性蛋白和盐溶性蛋白热变性的 D 值，并以 $\lg D_t \sim T$ 作图（图 3），根据直线斜率计算出在 60~100℃温度范围内水溶性和盐溶性蛋白热变性的 Z 值（表 1）。



注：C_t 为 t 温度下的蛋白浓度，mg/L。

图 2 温度对水溶性蛋白和盐溶性蛋白热变性的影响

Fig.2 Effects of temperatures on water-soluble protein and salt-soluble protein thermal denaturation



注：D_t 为 t 温度下的 D 值

图 3 $\lg D_t \sim T$ 曲线

Fig.3 $\lg D_t \sim T$ Curve

表 1 提取蛋白热变性反应 D, Z 值

温度/℃	水溶性蛋白 D 值/s	盐溶性蛋白 D 值/s
60	33 333±383 ^a	50 000±659 ^f
70	12 500±156 ^b	12 500±158 ^b
80	3 333±115 ^c	5 000±119 ^b
90	1 667±54 ^d	2 000±40 ⁱ
100	769±27 ^e	1 250±38 ^j
Z 值/℃	24.1	25.0

注：标识不同字母数值表示具有显著性差异 (P<0.05)。

表 1 结果显示：在 60、70、80、90 和 100℃不同温度下加热，水溶性蛋白热变性反应的 D 值分别为 33 333、12 500、3 333、1 667 和 769 s，而盐溶性蛋白热变性 D 值为 50 000、12 500、5 000、2 000 和 1 250 s，除 70℃加热温度下 2 种蛋白的热变性反应 D 值无差异外，其他加热温度条件下，马氏珠母贝肌肉盐溶性蛋白热变性反应的 D 值均较之水溶性蛋白大，说明马氏珠母贝盐溶性蛋白比水溶性蛋白更为耐热，而 70℃加热温度下盐溶性蛋白的热变性反应 D 值与水溶性蛋白无差异可能与盐溶性蛋白在 65~70℃条件下容易形成凝胶，导致盐溶性蛋白溶解性下降有关^[9-10]。贝肌肉水溶性蛋白主要含有肌浆蛋白、球蛋白和肌白蛋白等部分，大多数的水溶性蛋白分子量在 1~10 万范围内，分子形状近似球形；盐溶性蛋白主要是肌原纤维蛋白包括肌球蛋白、肌动蛋白、肌动球蛋白等^[11-13]。蛋白质的变性反应十分复杂，随温度的不同，同时会发生许多反应。特别是不同的热处理条件对蛋白质变性过程中肽链的展开及蛋白质的凝聚反应的强度不同^[14-15]。在热处理过程中，水溶性蛋白多肽链的热稳定性较低，较先展开。有关水产鱼蛋白及鸡肉蛋白水溶性蛋白和盐溶性蛋白耐热性研究也得到了同样的结论^[16-17]。

2.3 提取蛋白热变性速率常数

根据 $(C_t/C_0)^{1-n} = 1 + (n-1)k_n t$ ，分别假设 $n=0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.5, 2.0$ ，以 $(C_t/C_0)^{1-n}$ 对 t 作图，求出拟合直线的决定系数。水溶性蛋白和盐溶性蛋白拟合直线的决定系数如表 2、3 所示；当 $n=1$ 时的决定系数，是以 $\ln(C_t/C_0)$ 对 t 作图所得拟合直线的结果。

表 2 水溶性蛋白热变性过程中不同反应级数下决定系数 (R²)

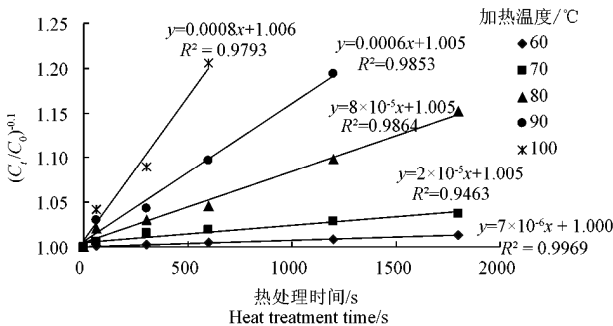
反应级数	加热温度/℃					均值
	60	70	80	90	100	
0	0.9957	0.9170	0.9500	0.9112	0.8984	0.9345
1.0	0.9968	0.9439	0.9868	0.9849	0.9797	0.9784
1.1	0.9969	0.9463	0.9864	0.9853	0.9793	0.9789
1.2	0.9969	0.9486	0.9852	0.9846	0.9774	0.9785
1.3	0.9970	0.9508	0.9833	0.9826	0.9741	0.9775
1.5	0.9971	0.9552	0.9776	0.9757	0.9642	0.9773
2.0	0.9972	0.9650	0.9531	0.9454	0.9272	0.9576

表 3 盐溶性蛋白热变性过程中不同反应级数下
决定系数 (R^2)

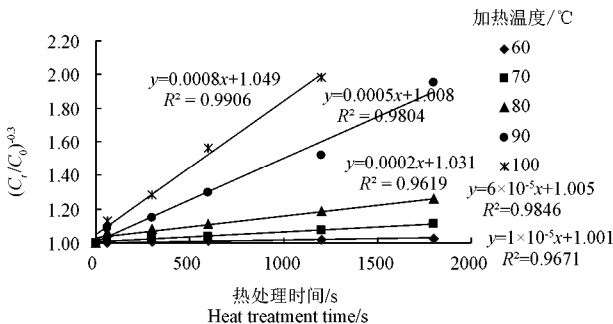
Table 3 Coefficient of determination of salt-soluble protein thermal denaturation process under different reaction orders

反应级数	加热温度/°C					均值
	60	70	80	90	100	
0	0.9625	0.9823	0.8946	0.8843	0.7789	0.9005
1.0	0.9661	0.9849	0.9511	0.9891	0.9668	0.9716
1.1	0.9664	0.9848	0.9550	0.9884	0.9769	0.9743
1.2	0.9668	0.9847	0.9586	0.9855	0.9848	0.9760
1.3	0.9671	0.9846	0.9619	0.9804	0.9906	0.9770
1.5	0.9678	0.9841	0.9676	0.9646	0.9960	0.9760
2.0	0.9695	0.9820	0.9763	0.9022	0.9796	0.9619

综合考虑不同温度下不同反应级数下的拟合结果,对于马氏珠母贝水溶性蛋白,当 $n=1.1$ 时,拟合曲线的决定系数均值 R^2 最较大,故确定水溶性蛋白热变性反应为 1.1 级反应。对于马氏珠母贝盐溶性蛋白,当 $n=1.3$ 时,拟合曲线的决定系数均值 R^2 最大,因此确定盐溶性蛋白热变性反应为 1.3 级反应。决定系数值高及纵坐标截距接近 1 是判断反应级数是否合适的主要依据。本研究中, $n=1.1$ 和 $n=1.3$ 分别对于水溶性蛋白和盐溶性蛋白描述的热变性动力学较合适。水溶性蛋白 $(C_t/C_0)^{-0.1} \sim t$ 和盐溶性蛋白 $(C_t/C_0)^{-0.3} \sim t$ 如图 4 所示。进一步可计算出不同温度下水溶性蛋白和盐溶性蛋白的变性速率常数及热变性速率方程参数见表 4。



a. 水溶性蛋白 Water-soluble protein ($n=1.1$)



b. 盐溶性蛋白 Salt-soluble protein ($n=1.3$)

注: C_0 为起始蛋白浓度, mg/L。

图 4 水溶性蛋白和盐溶性蛋白热变性过程的 $(C_t/C_0)^{-0.1} \sim t$ 和 $(C_t/C_0)^{-0.3} \sim t$ 图

Fig.4 $(C_t/C_0)^{-0.1} \sim t$ and $(C_t/C_0)^{-0.3} \sim t$ in water-soluble protein and salt-soluble protein thermal denaturation process

表 4 不同温度下水溶性蛋白和盐溶性蛋白热变性参数
Table 4 Thermal denaturation parameters of water-soluble protein and salt-soluble protein under different temperatures

温度/°C	绝对温度/K	K 值($\times 10^{-3}$)		截距 B		决定系数 R^2	
		水溶性蛋白	盐溶性蛋白	水溶性蛋白	盐溶性蛋白	水溶性蛋白	盐溶性蛋白
60	333	0.007	0.007	1.003	1.002	0.9969	0.9671
70	343	0.020	0.039	1.005	1.005	0.9463	0.9846
80	353	0.078	0.066	1.005	1.003	0.9864	0.9619
90	363	0.196	0.329	1.006	1.009	0.9853	0.9804
100	373	0.294	0.527	1.007	1.050	0.9793	0.9906

表 4 结果显示水溶性蛋白和盐溶性蛋白分别在反应级数为 1.1 和 1.3 时,拟合曲线的决定系数值及纵坐标截距均接近 1。

2.4 提取蛋白热变性活化能

依表 4 中数据,再以 $\ln k \sim 1/T$ 作图(图 5),通过活化能数值,可计算出一些热力学参数,例如:活化热焓的改变、活化熵的改变和活化自由能的变化值(表 5) [18-19]。

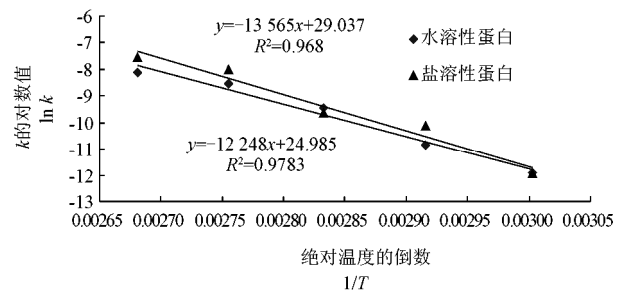


图 5 温度对提取蛋白热变性速率的影响

Fig.5 Effects of temperatures on extracted protein denaturation rate

表 5 水溶性蛋白和盐溶性蛋白热变性热力学参数

Table 5 Thermodynamic parameters of water-soluble protein and salt-soluble protein thermal denaturation

温度/°C	$Ea/(kJ \cdot mol^{-1})$		$\Delta H/(kJ \cdot mol^{-1})$		$\Delta G/(kJ \cdot mol^{-1})$		$\Delta S/(kJ \cdot mol^{-1}) \times 10^{-2}$	
	水溶性蛋白	盐溶性蛋白	水溶性蛋白	盐溶性蛋白	水溶性蛋白	盐溶性蛋白	水溶性蛋白	盐溶性蛋白
60	101.83	112.78	99.06	110.01	111.76	111.50	-3.815	-0.448
70	101.83	112.78	98.98	109.93	112.15	111.55	-3.839	-0.472
80	101.83	112.78	98.90	109.85	112.53	111.60	-3.863	-0.496
90	101.83	112.78	98.81	109.76	112.92	111.65	-3.887	-0.519
100	101.83	112.78	98.73	109.68	113.31	111.70	-3.909	-0.542

注: Ea 为表观活化能; ΔH 为热变性前后焓变; ΔS 为热变性前后熵变; ΔG 为活化自由能。

由表 5 数据可看出,马氏珠母贝水溶性蛋白和盐溶性蛋白在热变性反应中,在研究温度范围内,其变性反应活化能 Ea 分别是 101.83 与 112.78 kJ/mol。对于本研究系统计算所得到的熵变均为负值,即以水溶性蛋白与盐溶性蛋白本身作为研究系统,由于蛋白质在溶液中的舒展状态比凝固状态混乱度要高,因此其热变性是熵值变小的过程,这与其他蛋白热

变性研究有所差异^[8,20-21],可能是由于不同系统或不同性质蛋白其熵变有所不同。由于本研究系统熵变为负值,因此,计算所得活化自由能随着温度的上升有所提高,但提高幅度非常小。

3 结论

马氏珠母贝水溶性蛋白和盐溶性蛋白热变性动力学分析表明,随着热处理温度的提高,2种提取蛋白的热变性 D 值均不断下降,说明其热变性率不断加快。除70℃条件外,不同温度下盐溶性蛋白热变性 D 值均较之水溶性蛋白大,说明盐溶性蛋白比水溶性蛋白更为耐热。由于结构及组成存在差异,马氏珠母贝水溶性蛋白与盐溶性蛋白热变性动力学描述的反应级数不同,分别为1.1级和1.3级。在60~100℃范围内,其变性反应活化能分别为101.83与112.78 kJ/mol。对于整个研究系统蛋白热变性是熵值变小的过程,因此本研究系统所得到的熵变均为负值。本研究结果将为马氏珠母贝肌肉蛋白的高值化利用提供参考。

[参 考 文 献]

- [1] 章超桦, 吴红棉, 洪鹏志, 等. 马氏珠母贝肉的营养成分及其游离氨基酸组成[J]. 水产学报, 2000, 24(2): 180—184.
Zhang Chaohua, Wu Hongmian, Hong Pengzhi, et al. Nutrients and composition of free amino acid in edible part of *Pinctada martensii*[J]. Journal of Fisheries of China, 2000, 24(2): 180—184. (in Chinese with English abstract)
- [2] 张亚琦, 高昕, 许加超, 等. 鲍鱼热风、晾晒干燥的比较试验[J]. 农业工程学报, 2008, 24(1): 296—299.
Zhang Yaqi, Gao Xin, Xu Jiachao, et al. Comparative study on natural drying and hot-air drying of abalone[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2008, 24(1): 296—299. (in Chinese with English abstract)
- [3] 赵谋明, 周雪松, 林伟锋, 等. 鸡肉蛋白热处理与酶解特性的关系研究[J]. 农业工程学报, 2006, 22(6): 169—172.
Zhao Mouming, Zhou Xuesong, Lin Weifeng, et al. Effect of heating treatment on the properties of enzymatic hydrolysis of chicken protein[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2006, 22(6): 169—172. (in Chinese with English abstract)
- [4] Birkeland, S, Bjerkeng B. Extractabilities of astaxanthin and protein from muscle tissue of Atlantic salmon (*Salmo salar*) as affected by brine concentration and pH[J]. Food Chemistry, 2004, 85(4): 559—568.
- [5] Tornberg E. Effects of heat on meat proteins implication structure and quality of meat products[J]. Meat Science, 2005, 70(3): 493—508.
- [6] Huina Zheng, Chaohua Zhang, Xiaoming Qin, et al. Study on the protein fractions extracted from the muscle tissue of *Pinctada martensii* and their hydrolysis by pancreatin[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2012, 47(10): 2228—2234.
- [7] 何忠效主编. 生物化学实验技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [8] Cao Jingsong, Wang Xiaoqing, Zheng Huina. Comparative studies on thermoresistance of protein G-binding region and antigen determinant region of immunoglobulin G in acidic colostrum whey[J]. Food and Agricultural Immunology, 2007, 18(1): 17—30.
- [9] Baxter S R, Skonberg D I. Gelation properties of previously cooked minced meat from Jonah crab (*Cancer borealis*) as affected by washing treatment and salt concentration[J]. Food Chemistry, 2008, 109(2): 332—339.
- [10] Graziano G, Catanzano F, Barone G, et al. Prediction of the heat capacity change on thermal denaturation of globular proteins[J]. Thermochimica Acta, 1998, 321(1/2): 23—31
- [11] 须山三千三, 鸿巢章二, 等编. 水产食品学[M]. 日本: 恒生社厚生阁, 1987.
- [12] Vega-Warner V, Merkel RA, Smith DM. Composition, solubility and gel properties of salt soluble proteins from two bovine muscle types[J]. Meat Science, 1999, 51(3): 197—203.
- [13] Xiong Y L. Role of myofibrillar proteins in water-binding in brine-enhanced meats[J]. Food Research International, 2005, 38(3): 281—287
- [14] Law A J R, Leaver J. Effect of protein concentration on rates of thermal denaturation of whey protein in milk [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997, 45(11): 4255—4261.
- [15] Dickow J A, Kaufmann N, Wiking L, et al. Protein denaturation and functional properties of Lenient Steam Injection heattreated whey protein concentrate[J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2012, 13: 178—183.
- [16] 孙丽, 夏文水. 蒸煮对金枪鱼肉及其蛋白质热变性的影响[J]. 食品与机械, 2010, 26(1): 22—25.
- [17] 郁浩, 王志耕, 吴洪义, 等. 微波能强度与鸡胸肉中蛋白质变性的关系[J]. 食品工业科技, 2012, 33(17): 131—138.
Yu Hao, Wang Zhigeng, Wu Hongyi, et al. The relationship between microwave energy intensity and protein denaturation of chicken breast[J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(17): 131—138.

- (in Chinese with English abstract)
- [18] Sanchez L, Peiro J M, Castillo H, et al. Kinetic parameters for denaturation of bovine milk lactoferrin [J]. *Journal of Food Science*, 1992, 57(4): 873–879.
- [19] Frank D, Heinz G K. Reaction kinetics of the denaturation of whey protein in milk [J]. *Journal of food Science*, 1988, 53(1): 258–263.
- [20] 于海燕, 罗永康. 牦牛血中免疫球蛋白热变性动力学的研究[J]. *食品工业科技*, 2007, 28(12): 137–140.
- [21] 张红, 罗永康, 陈铁涛等. 乳铁蛋白热稳定性及热变性动力学的研究[J]. *中国乳品工业*, 2006, 34(4): 20–23.

Kinetics of heat denaturation of proteins extracted from *Pinctada martensii* meat

Zheng Huina, Zhang Chaohua^{*}, Qin Xiaoming, Ji Hongwu, Huang Jinghua

(Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Products Processing and Safety, Key Laboratory of Advanced Processing of Aquatic Products of Guangdong Higher Education Institution, National Research and Development Branch Center for Shellfish Processing (Zhanjiang), College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: South China Sea pearls are well known worldwide, and the pearl oyster *Pinctada martensii* is cultured for pearl production in China. Following the development of the pearl industry, *Pinctada martensii* is now cultured at very large scale specifically for pearl production, with the oyster meat left aside as a typically unused byproduct of the pearl industry. However, Pearl oyster meat is a good source of shellfish protein (74.9% protein/dry basis) at a low cost.

Recently, the influence of food protein processing, storage and heat treatment is an area of growing interest. In particular, some thermal processing has a significant impact on animal muscle protein structure, enzymatic properties etc. Proteins are the most important ingredients in the food. They are not only important in nutrition, but also affect the texture and flavor of the food. Muscle proteins are generally classified into sarcoplasmic proteins, myofibrillar proteins (myosin, actin and actomyosin) and connective tissue or stromal proteins (collagen). This paper studied the kinetics of thermal denaturation of proteins (water-soluble and salt-soluble protein) extracted from *Pinctada martensii* meat in order to understand the thermal denaturation discipline of aquatic protein and make better use of their functional properties. Due to differences in the structure and composition, the two protein fractions denaturation was best described by assuming an apparent reaction order of 1.1 and 1.3, respectively. D values, the time required to reduce the protein by 90%, were 33 333、12 500、3 333、1 667 and 769 s for the water-soluble protein fraction and 50 000、12 500、5 000、2 000 and 1250s for the salt-soluble protein fraction at 60, 70, 80, 90, 100°C respectively. There was significant difference of the two proteins for D value except at 70°C. This may be due to an easier to form gel for the salt-soluble protein under the condition of 65-70°C. The results showed that the thermal denaturation rate of two proteins continued to accelerate in the range of heating temperatures and the salt-soluble protein fraction was more heat-resistant than the water-soluble protein fraction. Protein denaturing reaction is very complicated, and many reactions occur as the temperature changes. The different heat treatment conditions have different effects on the expansion of the peptide chain and protein aggregation in the process of protein denaturation. Similarly, Z values, the degrees necessary to reduce the D value in one logarithmic cycle, were estimated to be 24.1°C for water-soluble protein fraction and 25.0°C for the salt-soluble protein fraction. The denature reactions' activation energy of the water-soluble protein fraction and salt-soluble protein fraction were 101.83 and 112.78 kJ/mol respectively. The entropy value of protein thermal denaturation is a smaller process, and our results are consistent with it. The entropy change of the system is negative.

Therefore, these results will provide the theoretical basis for the data for *Pinctada martensii* meat protein high value utilization. In addition, it is of great practical significance for further development of new high-quality food use of their functional properties.

Key words: kinetics, protein, thermal effects, *Pinctada martensii*, water-soluble protein, salt-soluble protein