

表儿茶素没食子酸酯与菊粉复配对鲈鱼肌球蛋白的影响

师丹华, 魏冰, 闫焕, 李红燃, 李颖畅*, 励建荣

(渤海大学食品科学与工程学院 生鲜农产品贮藏加工及安全控制技术国家地方联合工程研究中心 辽宁锦州 121013)

摘要 以鲈鱼肌球蛋白为研究对象,通过分析浊度、粒径、电位、溶解度、活性巯基、二聚酪氨酸含量等,探究不同质量分数(0.1%,0.2%,0.3%,0.4%)的表儿茶素没食子酸酯复配多糖(1%的菊粉)对鲈鱼肌球蛋白特性的影响。结果表明,随着表儿茶素没食子酸酯质量分数的增加,浊度与粒径呈先下降后上升的趋势,电位、溶解度、活性巯基含量呈先上升后降低的趋势,而二聚酪氨酸的变化趋势则与之相反。添加 0.2%表儿茶素没食子酸酯与 1%菊粉的鲈鱼肌球蛋白,浊度与粒径最小,粒径降低到 279 nm; 电位绝对值、溶解度以及活性巯基值最大, 电位绝对值以及活性巯基分别为 6.37 mV,24.34 nmol/mg prot; 二聚酪氨酸含量最低。因此,不同质量分数的表儿茶素没食子酸酯与 1%的菊粉协同作用可改善鲈鱼肌球蛋白的理化性质,研究结果为多酚协同多糖改善鱼糜凝胶特性提供了理论依据。二聚酪氨酸的含量表明,多酚协同多糖还可以增加肌球蛋白的抗氧化性。

关键词 表儿茶素没食子酸酯; 菊粉; 肌球蛋白; 理化性质

文章编号 1009-7848(2024)07-0138-09 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.07.014

鲈鱼,是一种重要的经济鱼类,其营养丰富,含有大量人体所需要的蛋白质、脂肪酸等^[1]。据 2021 年渔业统计年鉴统计,鲈鱼淡水养殖产量达 6.2 万 t,同比增长 29.66%,位居第一^[2]。作为高产经济型鱼类,加工和销售方式也趋于多样化,将鲈鱼加工成鱼糜制品,不仅可以拓宽消费渠道,满足消费者需求,也能增加食品多样性。肌球蛋白是鱼糜凝胶形成的主要蛋白,在鱼糜制品加工过程中,为了提高和改善鱼糜制品的凝胶特性,通常加入添加剂。不同添加剂对肌球蛋白的影响不同,模拟凝胶形成过程中多酚与多糖的协同作用对肌球蛋白性质的影响,可为凝胶的形成提供理论基础。

儿茶素由表儿茶素(EC)、表儿茶素没食子酸酯(ECG)、表没食子儿茶素(EGC)和表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)4 种物质组成,其中 EC、EGC、EGCG 在鱼糜凝胶方面的应用广泛,与蛋白相互作用的研究较为深入,而 ECG 在鱼糜制品中的应用较少,对鱼糜凝胶性能的影响需进一步探究。ECG 为一种酚类物质,分子式为 C₂₂H₁₈O₁₀,相对分子质量为 442.4^[3],具有抗氧化性^[4],能与蛋白

质发生相互作用,从而改变蛋白的理化性质^[5]。研究表明 ECG 能改变 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的构象,使酶活性降低,对餐后血糖的改善具有重要作用^[6]。另一项研究发现,ECG 能有效抑制蛋白质的糖基化,降低糖基化最终产物的形成^[7]。菊粉又称菊糖,是一种功能性多糖,在莴苣、大蒜、洋葱中含量丰富^[8]。菊粉是由 D-呋喃果糖分子以 β -(2,1)糖苷键连接而成的线性直链多糖,具有促进肠道益生菌存活,抑制有害菌的生长,以及免疫调节,降低血糖、血脂等多种生物活性,在乳制品、肉制品、面制品、饮料、豆制品等中应用广泛^[9]。其持水性较高,可改善鱼糜制品品质。同时,菊粉可以抑制蛋白的冷冻变性^[10],增强蛋白结构的稳定性^[11]。Guo 等^[12]研究表明不同分子质量和不同添加浓度的菊粉可提高醇溶蛋白和麦谷蛋白凝胶结构特性,增强蛋白的热稳定性。

目前已有单独添加多酚以及多糖对蛋白理化性质的影响报道,然而关于多酚结合多糖对肌球蛋白的影响鲜有报道。本研究以鲈鱼肌球蛋白为试验对象,研究不同浓度的表儿茶素没食子酸酯与菊粉对肌球蛋白溶液浊度、溶解度、粒径、电位、活性巯基、Ca²⁺-ATP 酶活、二聚酪氨酸含量的影响,探讨表儿茶素没食子酸酯与菊粉协同作用对鲈鱼肌球蛋白的影响,为鱼糜制品加工提供技术支持。

收稿日期: 2023-07-29

基金项目: 国家自然科学基金联合基金项目(U20A2067)

第一作者: 师丹华,女,硕士生

通信作者: 李颖畅 E-mail: liyingchangy@sina.com

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鲈鱼,辽宁省锦州市科技路水产市场,平均体长(30±1)cm,体质量(1 000±50)g。

磷酸氢二钾、磷酸二氢钾、盐酸、乙二胺四乙酸二钠、尿素、2-硝基苯甲酸、亚硫酸钠、乙醇,均为分析纯级,天津市风船化学试剂科技有限公司;三羟甲基氨基甲烷(Tris)、氯化钠、氯化钾、氯化镁、乙酸镁、碳酸氢钾、盐酸、顺丁烯二酸(马来酸)、β-巯基乙醇、乙二醇双(2-氨基乙基醚)四乙酸(EGTA)、表儿茶素没食子酸酯、BCA 蛋白浓度测定试剂盒、TNBS、L-亮氨酸等,分析纯级,上海源叶集团(上海)科技有限公司;菊粉(食品级,平均聚合度 20),广州围谷科技有限公司。

1.2 仪器与设备

Nano-90 Plus 纳米粒度分析仪,美国 Brookhaven 仪器有限公司;UV-2550 紫外可见分光光度计,岛津仪器(苏州)有限公司;SORVALL Stratos 冷冻高速离心机,美国 Thermo 公司;MS105DU 分析天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;FSH-2A 型均质机,常州越新仪器制造有限公司;970 CRT 荧光分光光度计,上海精密科学仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 肌球蛋白的提取及浓度测定 肌球蛋白提取参考 Park 等^[13]的方法,并稍加修改。用 BCA 试剂盒测定蛋白含量。

1.3.2 肌球蛋白-多酚-菊粉复合体系的制备 采用 20 mmol/L Tris-HCl 缓冲液(含 0.5 mol/L NaCl, pH 7.0)将肌球蛋白质量浓度调至 50 mg/mL,向其中分别添加质量分数为 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4% 的 ECG 与质量分数为 1% 的菊粉。充分混合后,用 Tris-HCl 将样品中肌球蛋白质量浓度稀释到 5 mg/mL,采用两段式加热处理样品,用于测定各项指标。

1.3.3 浊度测定 将肌球蛋白质量浓度调成 1 mg/mL, 25 °C 下放置 20 min,用紫外分光光度计在波长 350 nm 下测定吸光度值^[14]。

1.3.4 溶解度测定 将 5 mg/mL 的肌球蛋白溶液加入到 2 mL 离心管中,10 000×g, 4 °C 离心 20 min 后,测定上清液中蛋白浓度。溶解度为离心后上清

液中蛋白浓度与离心前蛋白浓度的比值^[15]。

1.3.5 粒径测定 将肌球蛋白质量浓度稀释至 0.5 mg/mL,采用粒度仪测定样品中粒径分布情况^[16]。

1.3.6 电位测定 将样品中蛋白质量浓度稀释至 0.1 mg/mL,采用 Nano-ZS90 激光粒度分析仪进行 Zeta 电位的测定。

1.3.7 活性巯基测定 取 0.5 mL 蛋白质量浓度为 5 mg/mL 的溶液,每管加入 4.5 mL 的 50 mmol/L 磷酸盐缓冲液(包括 0.6 mol/L KCl, 10 mmol/L EDTA, pH 7.0)。混合均匀后加入 0.5 mL DTNB, 4 °C 反应 60 min,于波长 412 nm 处测定其吸光度^[17]。

$$\text{活性巯基含量}(\text{nmol/mg prot}) = \frac{A \times d \times 10^6}{c \times \varepsilon} \quad (1)$$

式中:A 为波长 412 nm 处的吸光度值;d 为肌球蛋白稀释倍数;c 为待测液肌球蛋白质量浓度,mg/mL;ε 为分析吸光系数,13 600 L/(mol·cm)。

1.3.8 二聚酪氨酸含量测定 将蛋白质量浓度调整为 0.5 mg/mL,利用荧光分光光度计测定,发射波长选择 420 nm,激发波长选择 325 nm,狭缝宽度均为 15 nm。二聚酪氨酸含量利用所测定的吸光值除以蛋白浓度获得,为相对荧光值,二聚酪氨酸含量与相对荧光值成正比,单位为(Arbitrary units, 简写 au)^[18]。

$$\text{相对荧光值} = \frac{A_{\text{样品}}}{\rho} \quad (2)$$

式中:ρ 为蛋白质溶液质量浓度,mg/mL。

1.3.9 Ca²⁺-ATP 酶活性测定 Ca²⁺-ATP 酶活性采用试剂盒测定。

1.4 数据处理与分析

采用 Excel 软件对数据进行统计,结果以“平均值±标准差”表示,采用 SPSS 19.0 软件通过 Duncan 法进行显著性分析,以 P<0.05 表示差异显著,采用 Origin 8.5 软件作图。

2 结果与分析

2.1 不同添加量的 ECG 与菊粉对鲈鱼肌球蛋白浊度的影响

蛋白质的聚集程度与浊度相关,当肌球蛋白发生聚集,首先蛋白质颗粒变大,随后聚集,当聚

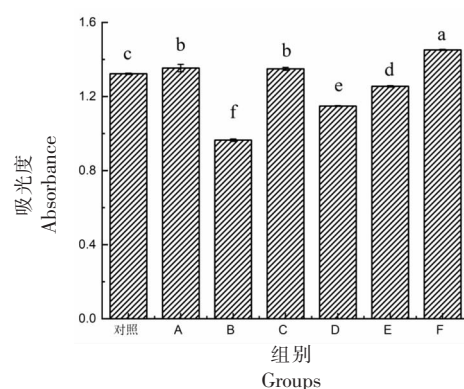
集到一定程度时会发生光散射,使浊度增加^[19]。从图1可以看出,单独添加1%的菊粉其浊度增加,而单独添加0.2%的ECG浊度降低,与对照组相比,差异显著。这是由于菊粉作为多糖,在形成凝胶过程中,自身会随温度升高黏性增加,因此会加速蛋白质聚集,而ECG作为多酚类物质,羟基含量丰富,ECG具有的羟基与蛋白侧链的极性残基形成氢键,促进肌球蛋白溶解^[20],使浊度下降。Xu等^[21]通过研究酵母 β -葡聚糖对肌球蛋白热聚集的影响,发现浊度下降,与本文结果一致。当不同质量分数的ECG与菊粉共同作用后,浊度呈现先降低后升高的趋势;与单独添加1%的菊粉相比,除添加0.3%ECG+1%菊粉以外,其它添加量组的浊度均减小;当添加0.2%的ECG时,浊度值最小。这可能是因为ECG与菊粉协同作用使肌球蛋白结构改变,部分降解成小分子后重新发生聚集。于楠楠^[22]发现卡拉胶的加入能降低肌球蛋白的浊度。

2.2 不同添加量的 ECG 与菊粉对鲈鱼肌球蛋白粒径的影响

粒径可以直观反映蛋白质的聚集程度,对蛋白质的结构与功能产生影响。如图2所示,单独添加1%的菊粉粒径增大,而单独添加0.2%的ECG粒径最低。当菊粉与ECG复配时,随着ECG质量分数的增加,蛋白质的粒径呈现先降低后升高的趋势,说明复配后可以有效减小溶液中蛋白分子粒径。Liu等^[23]发现绿原酸-乳铁蛋白-右旋糖酐形成的三元共轭物乳状液滴的平均粒径明显小于纯蛋白质的乳状液滴的平均粒径。当ECG的添加量小于0.2%时,粒径下降,此时溶液中可溶性蛋白质增多,蛋白质与多糖多酚相互作用形成的聚集体粒径适中;当ECG的添加量大于0.2%时,粒径显著增大,可能是由于ECG与蛋白质反应生成巯基醌或氨基醌等加成产物,使得蛋白质过度交联,加速蛋白质的聚集^[24]。粒径的变化趋势与浊度相一致。

2.3 不同添加量的 ECG 与菊粉对鲈鱼肌球蛋白溶解度的影响

蛋白质溶解度可以反映凝胶形成过程中非二硫共价键的变化^[25],与肉类制品的功能特性相关。当蛋白质的溶解度较高时,肉类制品的凝胶性、保



注:图中不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。对照:肌球蛋白;A:肌球蛋白+1%菊粉;B:肌球蛋白+0.2%ECG;C:肌球蛋白+0.1%ECG+1%菊粉;D:肌球蛋白+0.2%ECG+1%菊粉;E:肌球蛋白+0.3%ECG+1%菊粉;F:肌球蛋白+0.1%ECG+1%菊粉,下同。

图1 不同添加量的 ECG 与菊粉作用对鲈鱼肌球蛋白浊度的影响

Fig.1 Effect of different additions of ECG and inulin on the turbidity of myosin in *Lateolabrax japonicus*

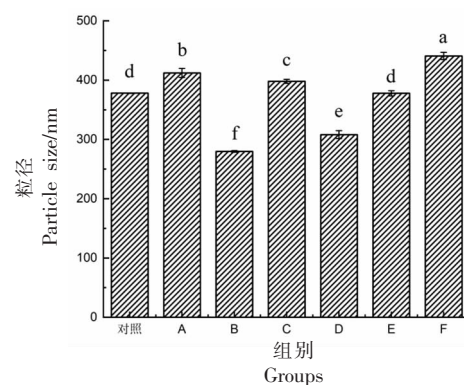


图2 不同添加量的 ECG 与菊粉作用对鲈鱼肌球蛋白粒径的影响

Fig.2 Effect of different additions of ECG and inulin on the particle size of myosin in *Lateolabrax japonicus*

水性等功能性质良好^[26]。图3为不同添加量的ECG与1%菊粉作用对鲈鱼肌球蛋白溶解度的影响。与对照组相比,单独或者复合添加ECG与菊粉,肌球蛋白的溶解度均增加,且与对照组差异显著。说明加入ECG与菊粉能促进蛋白质的溶解。这可能是因为菊粉作为一种多糖,能使蛋白质的净电荷发生变化并产生亲水性残基,同时电位的变化进一步表明蛋白质表面电荷的变化情况^[21]。Liu等^[27]发现在低离子强度的介质中,鲢鱼肌原纤维蛋白的溶解度随着魔芋葡甘露聚糖的加入显著

增加,当糖的添加量过大时,溶解度下降。Nishimura 等^[28]研究表明添加麦芽糖的肌原纤维蛋白溶解度从 10% 增加到 60%。而 ECG 能增加溶解度可能是因为 ECG 本身含有很多羟基基团,能与蛋白质侧链基团反应,使得溶解度增加。周扬等^[26]研究发现迷迭香酸能增加肌球蛋白溶解度。添加不同质量分数的 ECG 后,蛋白质溶解度呈先上升后下降的趋势,0.2% ECG 与 1% 的菊粉协同作用时,蛋白质溶解度最大,且与添加 0.1%, 0.3%, 0.4% ECG 各组间差异显著。研究表明,溶解度的变化与浊度变化趋势相反,主要是不同溶解度下分子间相互作用不同,高溶解度下的蛋白质分子间的静电排斥作用大于疏水相互作用^[29]。

2.4 不同添加量的 ECG 与菊粉对鲈鱼肌球蛋白 Zeta 电位的影响

Zeta 电位值与蛋白溶液的稳定性以及蛋白质的热聚集性相关。蛋白质侧链分布有羟基、羧基等亲水基团,其表面所带的电荷与亲水基团所带的电荷数量以及类型有关,蛋白表面所带电荷越多,分子相互排斥增强,使得其难以聚集,蛋白质稳定性增强,因此当溶液中电荷数量以及类型发生改变时,整个溶液的 Zeta 电位值发生改变^[30]。不同质量分数的 ECG 与 1% 的菊粉对鲈鱼肌球蛋白 Zeta 电位的影响如图 4 所示,单独添加 0.2% 的 ECG 与单独添加 1% 的菊粉电位绝对值,与对照组相比差异不显著。而不同质量分数的 ECG 与 1% 菊粉复合后,添加 0.1% ECG+1% 菊粉组电位绝对值,与对照组相比差异也不显著,其余 3 组复合后,电位绝对值均与对照组差异显著,且随着 ECG 质量分数的增加,电位绝对值呈现先上升后下降的趋势。当 ECG 的添加量小于 0.2% 时,加入的 ECG 含有负电荷,使得蛋白表面相同类型的电荷增加,电位绝对值增加,蛋白质稳定性增强;添加 0.2% ECG 与 1% 的菊粉电位绝对值最大,说明此时蛋白质稳定性最强;然而 ECG 的添加量大于 0.2% 时,电位绝对值下降,这可能是因为 ECG 表面所带的电荷与蛋白质表面的电荷相互作用后,加速蛋白质的聚集,使得蛋白稳定性降低^[31]。Zhao 等^[32]发现大豆分离蛋白-表没食子酸儿茶素没食子酸-果胶三元复合物能增加大豆分离蛋白的电位值。赫雪丽等^[33]表明随着酵母 β -葡聚糖添加量的增加,电位值出

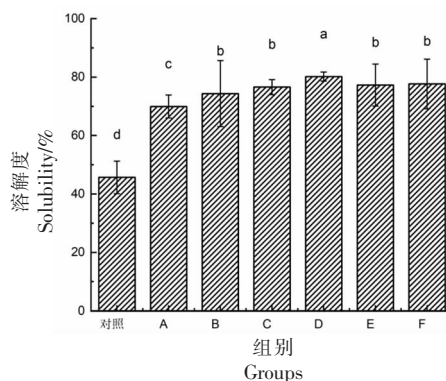


图 3 不同添加量的 ECG 与菊粉作用对鲈鱼肌球蛋白溶解度的影响

Fig.3 Effect of different additions of ECG and inulin on the solubility of myosin in *Lateolabrax japonicus*

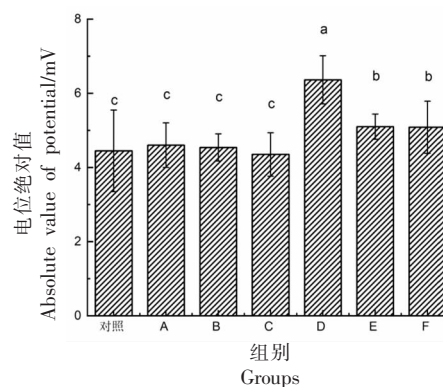


图 4 不同添加量的 ECG 与菊粉作用对鲈鱼肌球蛋白电位的影响

Fig.4 Effect of different additions of ECG and inulin on myosin potential of *Lateolabrax japonicus*

现先上升后下降的趋势。

2.5 不同添加量的 ECG 与菊粉作用对鲈鱼肌球蛋白活性巯基的影响

活性巯基对蛋白质的稳定构象起重要作用。图 5 为不同质量分数的 ECG 与 1% 的菊粉对活性巯基的影响。与对照相比,单独添加 1% 的菊粉与单独添加 0.2% 的 ECG 活性巯基含量增加,说明菊粉与 ECG 能改变蛋白质的结构,暴露出更多的活性基团。复合添加不同质量分数的 ECG 后,随着 ECG 含量的增加,活性巯基含量分别达到 22.75, 24.39, 24.01, 19.92 nmol/mg prot, 呈现先上升后下降的趋势,当添加 0.2% ECG+1% 菊粉的活性巯基含量最大。据报道,肌球蛋白头部两种类型的 SH 基团,即 SH1 和 SH2,存在于肌球蛋白的头

部,当蛋白质的结构发生改变,使埋藏在内部的疏水基团以及巯基基团暴露出来^[34]。Huang等^[35]研究表明添加绿原酸、迷迭香酸能增加肌球蛋白的活性巯基,且绿原酸活性巯基含量的增加高于迷迭香酸。随着 ECG 质量分数的进一步增加,活性巯基含量下降,减少的巯基并没有完全转化为二硫键,而是部分生成巯基酮加合物,从而加速蛋白质聚集^[36]。Pan等^[37]表明随着没食子酸浓度的增加,活性巯基含量降低,与本文结果一致。

2.6 不同添加量的 ECG 与菊粉对鲈鱼肌球蛋白二聚酪氨酸含量的影响

蛋白质中含有酪氨酸,被 ROS 攻击后,不同酪氨酸自由基反应生成二聚酪氨酸,因此二聚酪氨酸的含量可以反映蛋白被氧化的程度^[38]。不同质量分数的 ECG 与 1% 的菊粉对鲈鱼肌球蛋白二聚酪氨酸含量的影响如图 6 所示。与对照组相比,单独添加或者复合添加菊粉与 ECG 时,二聚酪氨酸的含量均降低,与对照组差异显著。随着 ECG 含量的增加,二聚酪氨酸的含量呈现先下降后上升的趋势,当添加 0.2% ECG+1% 菊粉,二聚酪氨酸含量最小,说明此时蛋白氧化程度降低,阻止自由基攻击酪氨酸残基,减少二聚酪氨酸的生成;而 ECG 质量分数继续增加时,二聚酪氨酸含量增加,可能是因为 ECG 形成醌自由基,进一步与酪氨酸残基反应所致。Li等^[39]表明添加不同浓度的没食子酸使海鲈鱼肌原纤维蛋白二聚酪氨酸的含量降低。

2.7 不同添加量的 ECG 与菊粉对鲈鱼肌球蛋白 Ca²⁺-ATP 酶活性的影响

肌球蛋白分子由球状头部和纤维状尾部组成,头部具有 ATP 酶活性,ATP 酶能将 ATP 水解成 ADP 和无机磷酸,无机磷酸的释放量可以根据钼酸铵比色法确定,从而最终确定鲈鱼肌球蛋白中 ATP 酶活性。图 7 为不同添加量的 ECG 与 1% 菊粉作用对鲈鱼肌球蛋白 ATP 酶活性的影响,不同质量分数的 ECG 与 1% 的菊粉协同处理鲈鱼肌球蛋白后,Ca²⁺-ATP 酶活性呈现先升高后降低的趋势。添加 0.4% ECG+1% 菊粉与对照组差异不显著,其余各组均与对照组差异显著。当添加 0.2% ECG+1% 菊粉,ATP 酶活性达到最大值 0.17 U/mg prot,与各组差异显著。Liu等^[23]发现魔芋低聚葡甘

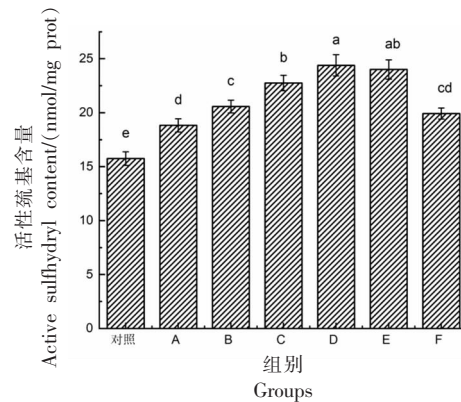


图 5 不同添加量的 ECG 与菊粉作用对鲈鱼肌球蛋白活性巯基的影响

Fig.5 Effect of different additions of ECG and inulin on the active sulfhydryl groups of myosin in *Lateolabrax japonicus*

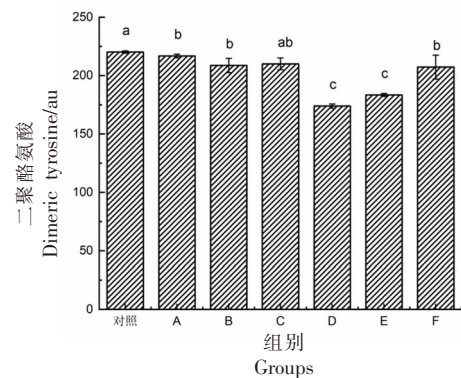


图 6 不同添加量的 ECG 与菊粉作用对鲈鱼肌球蛋白二聚酪氨酸含量的影响

Fig.6 Effect of different additions of ECG and inulin on myosin dimeric tyrosine content of *Lateolabrax japonicus*

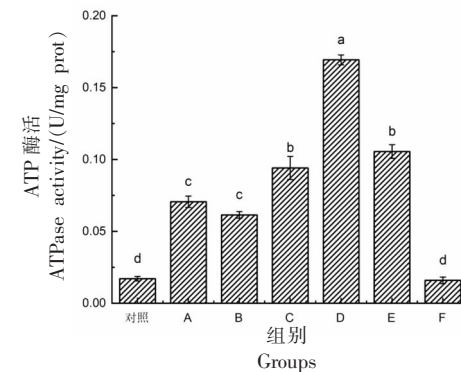


图 7 不同添加量的 ECG 与菊粉作用对鲈鱼肌球蛋白 ATP 酶活性的影响

Fig.7 Effect of different additions of ECG and inulin on myosin Ca²⁺-ATPase activity of *Lateolabrax japonicus*

露聚糖在冻干过程中对维持鲑鱼肌原纤维蛋白 ATP 酶活性具有保护作用,能显著减少 ATP 酶活性的损失。而添加 0.4%ECG+1%菊粉使 ATP 酶活性降低到最低值,一方面可能是由于赖氨酸的过度修饰,另一方面可能与肌球蛋白头部构象完全发生改变,从而使蛋白过度交联。研究表明,在肌球蛋白中,ATP 酶活性与活性赖氨酸的含量相关,赖氨酸残基的化学修饰能改变 Ca^{2+} -ATP 酶活性,从而使得 Ca^{2+} -ATPase 失活^[40]。同时肌球蛋白头部过度交联也会降低 ATP 酶活性^[41]。

3 结论

单独添加 1%的菊粉显著增加了肌球蛋白浊度、粒径、溶解度、活性巯基、 Ca^{2+} -ATP 酶活性。单独添加 0.2%的 ECG 降低了肌球蛋白的浊度、粒径、二聚酪氨酸含量,而使得溶解度、活性巯基、 Ca^{2+} -ATP 酶活性增加。不同添加量的 ECG 与 1%菊粉复合时,都能降低二聚酪氨酸的含量,增加肌球蛋白的溶解度、电位值、巯基含量,提高肌球蛋白的 Ca^{2+} -ATP 酶活性。随着 ECG 质量分数的不断增加,各指标出现不同的变化趋势。当 ECG 的添加量小于 0.2%时,溶解度、电位值、巯基含量与 Ca^{2+} -ATP 酶活性先升高,ECG 的添加量为 0.2%时,各指标达到最大值,ECG 的添加量大于 0.2%时,各指标的含量出现下降趋势。因此,ECG 与菊粉的添加能改变肌球蛋白的理化性质,同时,在应用过程中,需要控制 ECG 的添加量,适量的 ECG 能使肌球蛋白的理化性质达到最佳状态,而过量的 ECG 则对肌球蛋白有不利影响。

参 考 文 献

- [1] CAI L Y, WUX S, LI X X, et al. Effects of different freezing treatments on physicochemical responses and microbial characteristics of Japanese *Lateolabrax japonicus* (*Lateolabrax japonicus*) fillets during refrigerated storage[J]. LWT-Food Science and Technology, 2014, 59(1): 122-129.
- [2] 王丹, 吴反修. 2021 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2021: 25.
WANG D, WU F X. China fisheries statistical year book[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2021: 25.
- [3] BABICH H, KRUPKA M E, NISSIM H A, et al. Differential *in vitro* cytotoxicity of (-)-epicatechin gallate (ECG) to cancer and normal cells from the human oral cavity[J]. Toxicology in Vitro, 2005, 19 (2): 231-242.
- [4] WANG S B, CHEN D, DOU P, et al. Study of the green tea polyphenols catechin-3-gallate (CG) and epicatechin-3-gallate (ECG) as proteasome inhibitors[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2004 (12): 3521-3527.
- [5] 彭林, 马良, 戴宏杰, 等. 多酚与肌原纤维蛋白相互作用机制及其对蛋白特性的影响研究进展[J]. 食品科学, 2020, 41(11): 239-246.
PENG L, MA L, DAI H J, et al. Recent progress in understanding the interaction mechanism between polyphenols and myofibrillar protein and its effects on protein properties[J]. Food Science, 2020, 41 (11): 239-246.
- [6] WU X Q, HU M M, HU X, et al. Inhibitory mechanism of epicatechin gallate on α -amylase and α -glucosidase and its combinational effect with acarbose or epigallocatechin gallate[J]. Journal of Molecular Liquids, 2019(290): 1-20.
- [7] WU X Q, ZHANG G W, HU X, et al. Inhibitory effect of epicatechin gallate on protein glycation[J]. Food Research International, 2019(122): 230-240.
- [8] LI S Y, LEI D, CAI J, et al. Complexation of maltodextrin-based inulin and green tea polyphenols via different ultrasonic pretreatment [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021(74): 1-10.
- [9] 李焯, 罗登林, 向进乐, 等. 菊粉的性质功能及在食品中的应用进展[J]. 中国粮油学报, 2021, 36 (4): 8-12.
LI X, LUO D L, XIANG J L, et al. Physicochemical properties, functions and applications of inulin in food: A review[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils, 2021, 36(4): 8-12.
- [10] 仪淑敏, 姬颖, 叶贝贝, 等. 菊粉对冻藏过程中白鲢鱼鱼糜肌原纤维蛋白的冷冻保护作用[J]. 食品科学, 2020, 41(21): 16-21.
YI S M, JI Y, YE B B, et al. Cryoprotective effects of Inulin on myofibrillar protein in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) surimi during frozen storage[J]. Food Science, 2020, 41(21): 16-21.
- [11] 吴鹏, 张坤生, 陈金玉, 等. 菊粉对虾蛄磷酸化肌原纤维蛋白特性的影响[J]. 食品工业科技, 2018,

- 39(13): 8–13.
- WU P, ZHANG K S, CHEN J Y, et al. Effect of inulin on the properties of mantis shrimp phosphorylated myofibril protein[J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(13): 8–13.
- [12] GUO Z H, LIU M, YANG B, et al. Effects of inulins with various molecular weights and added concentrations on the structural properties and thermal stability of heat-induced gliadin and glutenin gels[J]. LWT – Food Science and Technology, 2021(149): 1–9.
- [13] PARK J, LANIER T C. Scanning calorimetric behavior of tilapia myosin and actin due to processing of muscle and protein purification[J]. Journal of Food Science, 1989, 54(1): 49–51.
- [14] 韦诚, 段珍珍, 常荣, 等. 酸肉发酵过程中蛋白质的变化及对消化特性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(11): 97–104.
- WEI C, DUAN Z Z, CHANG R, et al. Changes of protein in sour meat during fermentation and its effects on digestive characteristics[J]. Food and Fermentation Industries, 2018, 44(11): 97–104.
- [15] LI S Y, ZHENG Y D, XU P, et al. *L*-lysine and *L*-arginine inhibit myosin aggregation and interact with acidic amino acid residues of myosin: The role in increasing myosin solubility[J]. Food Chemistry, 2018(242): 22–28.
- [16] SHIMADA M, TAKAI E, EJIMA D, et al. Heat-induced formation of myosin oligomer-soluble filament complex in high-salt solution[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 73: 17–22.
- [17] YONGSAWATDIGUL J, PAKA J W. Thermal denaturation and aggregation of threadfin bream actomyosin[J]. Food Chemistry, 2003, 83(3): 409–416.
- [18] DAVIES K J. Protein damage and degradation by oxygen radicals. I. general aspects[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1987, 262(20): 9895–9901.
- [19] JIA D, YOU J, HU Y, et al. Effect of CaCl₂ on denaturation and aggregation of silver carp myosin during setting[J]. Food Chemistry, 2015, 185: 212–218.
- [20] XUE H, TU Y, ZHANG G, et al. Mechanism of ultrasound and tea polyphenol assisted ultrasound modification of egg white protein gel[J]. Ultra Sonochem, 2021(81): 105857.
- [21] XU Y X, YIN Y M, WANG R, et al. Effect of deacetylated konjac glucomannan on heat-induced structural changes and flavor binding ability of fish myosin[J]. Food Chemistry, 2021(365): 130540.
- [22] 于楠楠. 盐和多糖对鱼糜凝胶形成的影响与机制[D]. 无锡: 江南大学, 2017.
- YU N N. Effect of salts and polysaccharides on the formation of surimi gel and the mechanism[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017.
- [23] LIU F G, MA C C, GAO Y X, et al. Development of polyphenol-protein-polysaccharide ternary complexes as emulsifiers for nutraceutical emulsions: Impact on formation, stability, and bioaccessibility of β -carotene emulsions[J]. Food Hydrocolloids, 2016(61): 578–588.
- [24] PAN J F, LIAN H, JIA H, et al. Dose affected the role of gallic acid on mediating gelling properties of oxidatively stressed Japanese seerfish myofibrillar protein[J]. Food Science and Technology, 2020(118): 1–8.
- [25] 刘芳芳, 林婉玲, 李来好, 等. 海鲈鱼糜加工及凝胶形成过程中蛋白质的变化机理[J]. 食品科学, 2020, 41(14): 15–22.
- LIU F F, LIN W L, LI L H, et al. Mechanism underlying protein changes during processing and gelation of sea bass surimi[J]. Food Science, 2020, 41(14): 15–22.
- [26] 周扬, 陈雪珂, 戴宏杰, 等. 溶液体系中迷迭香酸与肌球蛋白的相互作用及其对蛋白理化特性的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(12): 14–21.
- ZHOU Y, CHEN X K, DAI H J, et al. Interaction of rosmarinic acid with myosin in aqueous buffer solution and its effect on protein physicochemical properties[J]. Food Science, 2020, 41(12): 14–21.
- [27] LIU S L, ZHAO P C, LIU J H, et al. Physicochemical and functional properties of silver carp myofibrillar protein glycosylated with konjac oligo-glucomannan[J]. Food Hydrocolloids, 2017(67): 216–223.
- [28] NISHIMURA K, MURAKOSHI M, KATAYAMA S, et al. Antioxidative ability of chicken myofibrillar protein developed by glycosylation and changes in the solubility and thermal stability[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2011(75): 247–254.
- [29] 梁雯雯, 杨天, 郭建, 等. 升温方式对鲢鱼肌球蛋白结构和理化性质的影响[J]. 食品科学, 2021, 42(21): 24–31.

- LIANG W W, YANG T, GUO J, et al. Effects of heating methods on the structure and physicochemical properties of silver carp myosin[J]. Food Science, 42(21): 24–31.
- [30] 齐宝坤, 李杨, 王中江, 等. 不同品种大豆分离蛋白 Zeta 电位和粒径分布与表面疏水性的关系[J]. 食品科学, 2017, 38(3): 114–118.
- QI B K, LI Y, WANG Z J, et al. Relationship between surface hydrophobicity and zeta potential as well as particle size distribution of soybean protein isolates from different varieties [J]. Food Science, 2017, 38(3): 114–118.
- [31] ZHAO Y, WANG X, LI D, et al. Effect of anionic polysaccharides on conformational changes and antioxidant properties of protein–polyphenol binary covalently–linked complexes[J]. Process Biochemistry, 2019(89): 89–97.
- [32] ZHAO S D, LIN Y F, XU X, et al. Effect of non-covalent and covalent complexation of (–)-epigallocatechin gallate with soybean protein isolate on protein structure and *in vitro* digestion characteristics [J]. 2020, 309: 125718.
- [33] 徐永霞, 赫雪丽, 尹一鸣, 等. 酵母 β -葡聚糖与肌球蛋白互作及对蛋白质风味吸附特性的影响[J]. 中国食品学报, 2021, 22(10): 108–115.
- XU Y X, HE X L, YIN Y M, et al. Interaction between yeast β -glucan and myosin and its effect on flavor adsorption properties of protein[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2022, 22(10): 108–115.
- [34] CHANTARASUWAN C, BENJAKUL S, VISESSANGUAN W. The effects of sodium bicarbonate on conformational changes of natural actomyosin from Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. Food Chemistry, 2011, 129(4): 1636–1643.
- [35] HUANG Y, DU H Y, XIONG S B, et al. Studies on the binding interactions of grass carp myosin with chlorogenic acid and rosmarinic acid[J]. Food and Bioprocess Technology, 2020(13): 1421–1434.
- [36] DAI H J, CHEN X K, LI L, et al. The mechanism of improved myosin gel properties by low dose rosmarinic acid addition during gel formation[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 106: 105869.
- [37] PAN J F, JIA H, LI S J, et al. Ultrasound treatment modified the functional mode of gallic acid on properties of fish myofibrillar protein[J]. Food Chemistry, 2020, 320: 439–445.
- [38] KEPPLER J K, HEYN T R, MEISSNER P M, et al. Protein oxidation during temperature–induced amyloid aggregation of beta–lactoglobulin [J]. Food Chemistry, 2019, 289: 223–231.
- [39] LI Y C, LI Y Y, LI Q Y, et al. Effects of gallic acid by ultrasound on physicochemical properties of *Lateolabrax japonicus* myofibrillar protein[J]. E3S Web of Conferences, 2021, 251: 1–4.
- [40] SAEKI H. Preparation of neoglycoprotein from carp myofibrillar protein by Maillard reaction with glucose: Biochemical properties and emulsifying properties[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997, 45(3): 680–684.
- [41] GONCALVES A A, DE A X, DE P F E R. Development of quality index method (QIM) scheme for spiny lobster stored in ice[J]. Food Control, 2015, 47: 237–245.

Effect of (–)-Epicatechin Gallate and Inulin Complex on Myosin from *Lateolabrax japonicus*

Shi Danhua, Wei Bing, Yan Huan, Li Hongran, Li Yingchang*, Li Jianrong

(College of Food Science and Technology, Bohai University, National and Local Joint Engineering Research Center for Storage, Processing and Safety Control Technology of Fresh Agricultural Products, Jinzhou 121013, Liaoning)

Abstract In order to investigate the effect of (–)-epicatechin gallate (0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%) synergized with polysaccharide (1% inulin) on the characteristics of myosin, turbidity, particle size, zeta potential, solubility, active sulfhydryl group and dimeric tyrosine content were analyzed. The results showed that with the increase of mass fraction of (–)-epicatechin gallate, the turbidity and particle size showed a trend of decreasing and then increasing, while the zeta potential, solubility and active sulfhydryl groups content increased first and then decreased, the change trend of dimeric tyrosine was opposite. When 0.2% (–)-epicatechin gallate and 1% inulin were added, the turbidity and particle size were

the smallest, and the particle size was reduced to 279 nm. The absolute values of potential, solubility, and active sulfhydryl group values were the highest when 0.2% (-)-epicatechin gallate and 1% inulin were added. The absolute potential value and active sulfhydryl group were respectively 6.37 mV, 24.34 nmol/mg prot. The dimeric tyrosine contents were the lowest. Therefore, the synergistic effect of different concentrations of (-)-epicatechin gallate and 1% of inulin improved the physicochemical properties of myosin in *Lateolabrax japonicus*, providing a theoretical basis for the improvement of surimi gel properties, while the dimeric tyrosine indicated that it also increased the antioxidant properties of myosin.

Keywords (-)-epicatechin gallate; inulin; myosin; physicochemical properties