

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

徐永霞¹, 赫雪丽¹, 尹一鸣¹, 赵洪雷¹, 李学鹏¹, 王明丽², 周小敏³, 励建荣^{1*}

(¹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

国家鱼糜及鱼糜制品加工技术研发分中心 辽宁锦州 121013

²蓬莱京鲁渔业有限公司 山东烟台 265600

³浙江兴业集团有限公司 浙江舟山 316120)

摘要 研究酵母 β -葡聚糖与鲑鱼肌球蛋白的相互作用,及其对蛋白质风味吸附能力的影响。采用 Zeta 电位分析、荧光、紫外、拉曼光谱及气质谱联用技术,研究不同酵母 β -葡聚糖添加量对肌球蛋白结构及风味结合能力的影响。结果表明,随着酵母 β -葡聚糖添加量的增加,肌球蛋白的溶解度、Zeta 电位绝对值、表面疏水性和活性巯基含量均呈先升高后降低的趋势,内源荧光强度逐渐下降,紫外吸收峰强度逐渐增强。酵母 β -葡聚糖添加量在 0~2%时, α -螺旋含量显著降低($P < 0.05$),而 β -折叠含量显著增加($P < 0.05$);当添加量大于 2%时, α -螺旋含量又逐渐升高, β -折叠含量逐渐降低。添加酵母 β -葡聚糖促使肌球蛋白结构展开,增强了蛋白质与所选风味物质的结合能力,而当其添加量超过 2%,结合能力增加不显著。

关键词 肌球蛋白; 酵母 β -葡聚糖; 蛋白结构; 风味吸附

文章编号 1009-7848(2022)10-0108-08 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.10.012

鱼糜制品具有高蛋白、低脂肪、高营养、食用方便等特点,深受消费者的喜爱,已成为我国水产加工食品中不可或缺的一部分。近年来,我国鱼糜加工业发展迅速,2019年,鱼糜制品产量达到139.4万^[1]。鲑鱼又名蓝点马鲛,是我国重要的海洋经济鱼类之一,主要分布于我国渤海、东海和黄海等地。目前鲑鱼以鲜销和冻品为主,为提升其经济价值,常将鲑鱼制成冷冻鱼糜,然而,其肌肉中红肉含量较高,制成的鱼糜色泽较暗,且存在腥味重、凝胶性差等问题,严重影响其凝胶品质^[2]。诸多研究表明,在鱼糜制品中添加外源添加剂,如多糖(淀粉、食用胶体)、外源蛋白和酚类物质等,可以有效改善鱼糜制品的凝胶特性^[3-5]。

随着人们生活水平的提高和饮食观念的改变,对鱼糜制品的品质也提出更高的要求,低盐、低糖和高膳食纤维的鱼糜制品逐渐成为研究热点。酵母 β -葡聚糖是从酵母细胞壁中得到的一种天然功能性多糖,可作为膳食纤维食用,具有增强

免疫力,调节血脂,降低血糖,改善肠道菌群等多种功能活性,其中以 β -1,3/-1,6 结合的 β -葡聚糖具有最高的生物活性^[6]。目前,酵母 β -葡聚糖在食品中主要应用于保健食品、乳制品、功能性饮料、烘焙等行业^[7]。酵母 β -葡聚糖常被用来改善食品的质地,近年来有研究表明,酵母 β -葡聚糖应用在鱼糜制品中能够增强其凝胶特性,且具有一定的去腥作用^[8-10]。Zhang 等^[10]报道酵母 β -葡聚糖不仅能够改善白鲢鱼鱼糜凝胶特性和感官品质,还能够吸附并减少鱼体产生的异味化合物的释放。酵母 β -葡聚糖作为一种天然多糖,与蛋白质相互作用后蛋白分子构象发生改变,进而影响蛋白质的功能特性。肌球蛋白约占鱼肉总蛋白含量的30%,是形成鱼糜凝胶网络结构的关键蛋白,对鱼糜制品的凝胶品质起至关重要的作用。然而,目前关于酵母 β -葡聚糖与鱼肌球蛋白分子间的互作机制及其对蛋白质风味吸附能力的影响尚不明确。

鉴于此,本文以鲑鱼为研究对象,选取鱼肉中5种典型腥味化合物(戊醛、己醛、庚醛、辛醛和1-辛烯-3-醇),研究不同酵母 β -葡聚糖添加量对肌球蛋白溶解度、Zeta 电位、二级结构、巯基、疏水性等及风味结合能力的影响,从分子水平揭示酵母 β -葡聚糖与肌球蛋白相互作用及对蛋白质风味吸附

收稿日期: 2021-10-19

基金项目: 国家自然科学基金区域创新发展联合基金重点项目(U20A2067);辽宁省自然科学基金面上项目(2021-MS-315)

作者简介: 徐永霞(1983—),女,博士,教授

通信作者: 励建荣 E-mail: lij6491@163.com

能力的影响规律,为开发优质、营养健康的鱼糜制品提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

酵母 β -葡聚糖(纯度 $\geq 85.0\%$),安琪酵母股份有限公司;冰鲜鲑鱼,锦州市林西路水产市场,平均质量($2\ 500 \pm 50$)g。

戊醛、己醛、庚醛、辛醛和1-辛烯-3-醇均为色谱纯,美国Sigma公司;ATP- Na_2 为分析纯,北京索莱宝科技有限公司;Tris、乙酸镁等均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

MiniProtean3 凝胶电泳仪,美国Bio-Rad公司;UV-2550 紫外-可见分光光度计,岛津仪器有限公司;Nano-ZS90 激光粒度分析仪,英国马尔文公司;Trace 1300-ISQ 7000 气质联用仪,赛默飞世尔科技有限公司;50/30 μm DVB/CAR/PDMS 固相微萃取头,美国Supelco公司;LabRAM HR Evolution 拉曼光谱仪,HORIBA公司;970CRT 荧光分光光度计,上海精密科学仪器有限公司;BiofugeStratos 高速冷冻离心机,美国Thermo公司。

1.3 试验方法

1.3.1 肌球蛋白的提取及SDS-PAGE分析 取鲑鱼背部肌肉,参照Park等^[1]的方法提取肌球蛋白。采用双缩脲法测定肌球蛋白的浓度,利用SDS-PAGE 凝胶电泳对肌球蛋白进行成分分析,并通过Quantity One 软件进行扫描与分析。

1.3.2 肌球蛋白-酵母 β -葡聚糖样品的制备 用20 mmol/L Tris-HCl 缓冲液(含0.5 mol/L NaCl, pH 7.0)将肌球蛋白的质量浓度调至20 mg/mL,然后以溶液中肌球蛋白质量为基准向其中分别添加0,1%,2%,3%,4%的酵母 β -葡聚糖,充分混匀后用于各项指标的测定。

1.3.3 风味物质储备液的制备 将戊醛、己醛、庚醛、辛醛和1-辛烯-3-醇溶于适量的20 mmol/L Tris-HCl 缓冲液(含0.5 mol/L NaCl, pH 7.0)中,超声2 min后,用缓冲液定容,使溶液中各风味物质最终质量浓度为2 000 mg/L,密封后置于4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱储存备用。

1.3.4 Zeta 电位的测定 将样品中蛋白质量浓度稀释至0.1 mg/mL,注入弯曲毛细管样品池,采用Nano-ZS90 激光粒度分析仪进行Zeta电位的测定。设定参数:溶剂为水,测定温度25 $^{\circ}\text{C}$,平衡2 min。

1.3.5 表面疏水性的测定 参考Xu等^[2]的方法,并稍加修改。样品用Tris-HCl 缓冲液稀释,使其蛋白质量浓度分别达到0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mg/mL。取4 mL样品,加入50 μL ANS 避光反应10 min,然后测定其荧光强度。测定条件激发波长374 nm,狭缝5 nm,荧光扫描范围300~500 nm,表面疏水性为肌球蛋白浓度相对于荧光强度所作曲线的斜率。

1.3.6 活性巯基的测定 将样品中蛋白质量浓度调至4 mg/mL,取0.5 mL样品,加入4.5 mL 92 mmol/L pH 8.0的甘氨酸缓冲液(含1%Tris,4 mmol/L EDTA)混合,充分混匀后加入0.5 mL 10 mmol/L DTNB 缓冲液,置于4 $^{\circ}\text{C}$ 静置1 h,在412 nm 波长下测定其吸光度。蛋白中活性巯基含量的计算公式如下:

$$\text{活性巯基含量}(\text{mol}/10^5\text{g}) = \frac{412 \text{ nm 处吸光值} \times \text{蛋白稀释倍数}}{\epsilon \times \text{蛋白质量浓度}(\text{mg}/\text{mL})} \times 10^5 \quad (1)$$

式中, ϵ ——13 600 L/(mol \cdot cm)为巯基摩尔消光系数。

1.3.7 荧光光谱测定 参考Cao等^[3]的方法略加修改。将样品中蛋白浓度稀释至0.1 mg/mL进行荧光光谱测定。测试条件:EX/EM 缝宽5 nm,激发波长295 nm,发射波长320~460 nm,高速扫描1 min,灵敏度3。

1.3.8 紫外光谱测定 将样品中蛋白质量浓度调至0.5 mg/mL,以Tris-HCl 缓冲液作空白对照,在190~400 nm 波长范围内进行高速扫描,得到紫外光谱图。

1.3.9 拉曼光谱测定 参照Alix等^[4]的方法,将蛋白样品经真空冷冻干燥后进行拉曼光谱的测定。测定参数:激发波长532 nm,狭缝200 μm ,功率120 mW,曝光时间60 s,获取功率120 $\text{cm}^{-1}/\text{min}$,扫描范围400~3 600 cm^{-1} 。以苯丙氨酸($1\ 003 \text{ cm}^{-1}$)为标准进行归一化。

1.3.10 肌球蛋白与风味物质结合能力的测定

参考徐永霞等^[15]的方法,并稍加修改。蛋白液样品用 Tris-HCl 缓冲液调到质量浓度为 5 mg/mL,取 10 mL 样品加入 20 mL 顶空瓶中,添加风味物质储备液并调至质量浓度为 1 mg/L,密封摇匀后置于 30 °C 恒温振荡吸附 1 h,然后采用固相微萃取(SPME)-气相色谱-质谱法(GC-MS)测定振荡平衡后试样中各风味化合物的顶空浓度。

SPME 条件:将装有样品的顶空瓶放在 40 °C 磁力搅拌器中加热平衡 10 min,用已活化好的萃取头顶空吸附 20 min 后取出,插入 GC 进样口解析 5 min。

GC 和 MS 参数条件和徐永霞等^[15]的一致。肌球蛋白对风味化合物的结合能力用相对百分比表示:

$$\text{结合能力(\%)} = \frac{\text{空白组峰面积} - \text{样品组峰面积}}{\text{空白组峰面积}} \times 100 \quad (2)$$

1.4 数据分析

每组试验均重复 3 次,运用 SPSS 19.0 软件进行方差分析(ANOVA)和 Duncan 检验,使用 Origin 9.0 软件绘图,GC-MS 数据处理利用 NIST11/Wiley 7.0 标准质谱库进行鉴定。若无特殊说明,数据均表示为“平均值±标准差”形式,肩标上不同字母表示为差异显著($P < 0.05$)。

2 结果与分析

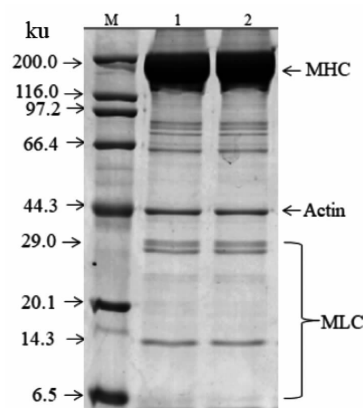
2.1 肌球蛋白 SDS-PAGE 分析

肉类肌球蛋白一般由 2 条重链和 4 条轻链组成,重链分子质量约为 200 ku,轻链分子质量约为 20 ku^[16]。鲛鱼肌球蛋白凝胶电泳结果如图 1 所示。由图可见,在 200 ku 处有 1 条明显的条带,为肌球蛋白重链(MHC),在 25 ku 和 14 ku 处的条带为肌球蛋白轻链,此外在 44.3 ku 处有 1 条肌动蛋白条带。此结果与 Yuan 等^[17]提取的花鲢鱼肌球蛋白组成结果相似。

2.2 Zeta 电位的变化

Zeta 电位可以反映蛋白表面电荷的变化,以及蛋白质的热聚集行为,可用来表征蛋白溶液体系的稳定性。当蛋白表面所带电荷较多,分子间相互排斥,难以聚集,系统稳定性增强,此时表现为较大的 Zeta 电位绝对值^[18]。酵母 β -葡聚糖对肌球

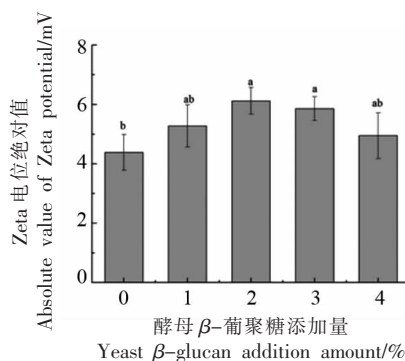
蛋白溶液 Zeta 电位绝对值的影响如图 2 所示。由图可见,随着酵母 β -葡聚糖不断增加,Zeta 电位绝对值呈先上升后下降的趋势,而差异不显著。当酵母 β -葡聚糖添加量在 0~2% 范围内,酵母 β -葡聚糖的添加可能使蛋白结构展开,蛋白表面同性电荷增多,使蛋白分子间相互排斥作用增强,减少蛋白分子之间的聚集,从而使蛋白溶液的 Zeta 电位绝对值增加^[19];随着酵母 β -葡聚糖添加量的进一步增大,肌球蛋白表面极性环境发生变化,导致溶液不稳定。肌球蛋白与酵母 β -葡聚糖相互作用可能导致蛋白表面所带的负电荷被屏蔽,使蛋白分子间的静电斥力减弱,促进了蛋白分子间的相互聚集,从而使蛋白溶液的 Zeta 电位绝对值降低^[20]。



注:M 代表 Marker;1 和 2 代表提取的肌球蛋白条带。

图 1 鲛鱼肌球蛋白电泳图

Fig.1 The SDS-PAGE patterns of *Scomberomorus niphonius* myosin



注:不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),下同。

图 2 酵母 β -葡聚糖添加量对肌球蛋白 Zeta 电位的影响

Fig.2 Effects of yeast β -glucan addition amount on the Zeta potential of myosin

2.3 表面疏水性的变化

表面疏水性是蛋白质的重要特性之一,与蛋白质的三级结构变化水平密切相关。酵母 β -葡聚糖对肌球蛋白表面疏水性的影响如图 3 所示。可以看出,随着酵母 β -葡聚糖添加量的增大,表面疏水性呈先上升后下降的趋势,当酵母 β -葡聚糖添加量为 2% 时,蛋白表面疏水性达到最大。这可能是因为酵母 β -葡聚糖的添加诱导肌球蛋白结构伸展,蛋白内部的疏水基团暴露,从而使其表面疏水性增加。然而,当酵母 β -葡聚糖添加量超过 2% 时,混合体系中多糖的浓度进一步升高,两种聚合物分子倾向于互相排斥,导致酵母 β -葡聚糖与蛋白质双相混合体系发生相分离,引起蛋白质的聚集;此外随着酵母葡聚糖浓度的升高,混合体系中亲水性羟基增多,可能会阻止 ANS 与肌球蛋白疏水基团的结合,从而导致表面疏水性降低^[21]。

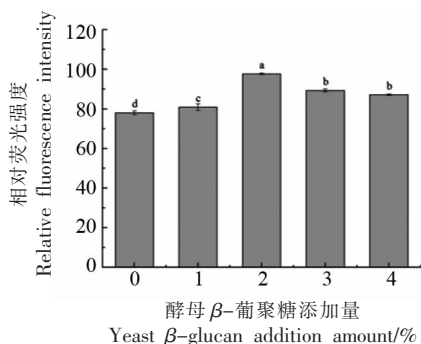


图 3 酵母 β -葡聚糖添加量对肌球蛋白表面疏水性的影响

Fig.3 Effects of yeast β -glucan addition amount on the surface hydrophobicity of myosin

2.5 荧光光谱分析

肌球蛋白的球状头部和棒状尾部含有大量的色氨酸残基,其内源荧光强度的变化可以反映色氨酸等芳香族氨基酸残基的暴露情况,进而能够表征蛋白质分子三级结构的变化^[23]。图 5 显示了不同添加量的酵母 β -葡聚糖对肌球蛋白的内源荧光光谱图的影响。由图可知,与天然肌球蛋白相比,酵母 β -葡聚糖的添加使肌球蛋白的内源荧光强度下降,且发射波长发生一定的红移。肌球蛋白处于天然状态时,其色氨酸残基通常包埋在蛋白质的内部,因此具有较高的荧光强度。酵母 β -葡聚糖的添加诱导肌球蛋白结构展开,内部的色氨酸残基暴露出来,导致肌球蛋白所处微环境极性

2.4 活性巯基的变化

活性巯基是蛋白结构中活性最强的基团,当蛋白质构象发生改变时,埋藏在内部的巯基会暴露出来,因此活性巯基的含量变化直接影响蛋白质结构的稳定性^[22]。由图 4 可知,当酵母 β -葡聚糖的添加量为 0~2% 时,蛋白溶液中活性巯基含量随其添加量的增加而显著增大 ($P < 0.05$),当酵母 β -葡聚糖添加量超过 2% 时,增加不显著 ($P > 0.05$)。这一结果与表面疏水性的变化趋势相似。适量的酵母 β -葡聚糖可促进肌球蛋白分子结构的展开,暴露出更多的活性巯基;而酵母 β -葡聚糖的添加量超过 2% 时,可能因为酵母 β -葡聚糖浓度过高与蛋白质之间发生相分离,促使蛋白质分子之间相互交联、聚集,暴露出的活性巯基重新被包埋于分子内部,导致其含量又降低。

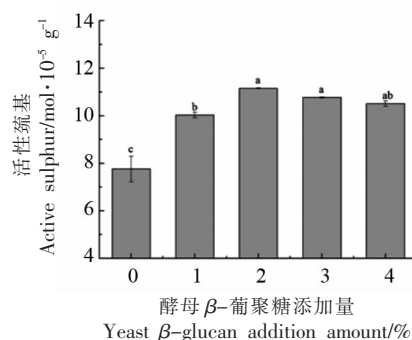


图 4 酵母 β -葡聚糖添加量对肌球蛋白活性巯基的影响

Fig.4 Effects of yeast β -glucan addition amount on active sulphhydryl groups of myosin

增强,产生荧光猝灭作用,使荧光强度下降。此外,随着酵母 β -葡聚糖添加量的增加,肌球蛋白荧光强度逐渐降低,且发生明显的红移现象。这是由于含有多羟基的酵母 β -葡聚糖的加入,可能使色氨酸微环境的极性增强,导致荧光强度进一步降低^[24]。

2.6 紫外光谱分析

紫外吸收光谱可以反映蛋白质分子中芳香族氨基酸侧链所处微环境的变化情况,是表征蛋白质三级结构的常用方法之一。在一定的波长范围内,色氨酸、酪氨酸等芳香族氨基酸所带显色基团吸收光子后能够发生电子能级跃迁,产生紫外吸收光谱^[25]。不同添加量的酵母 β -葡聚糖对肌球蛋白紫外光谱的影响如图 6 所示。从图中可以看出,

天然肌球蛋白在 274 nm 波长附近存在较强的吸收峰,通常认为是由肽链上酪氨酸和色氨酸等芳香杂环的 $\pi-\pi^*$ 跃迁引起的^[26],且当酵母 β -葡聚糖添加量不断增加时,该吸收峰强度明显增强。这

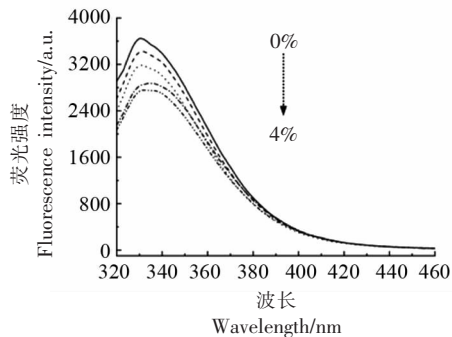


图5 酵母 β -葡聚糖添加量对肌球蛋白内源荧光的影响

Fig.5 Effects of yeast β -glucan addition amount on the intrinsic fluorescence of myosin

2.7 拉曼光谱分析

拉曼光谱可以用于监测蛋白质肽链的骨架振动、氨基酸侧链周围微环境的变化情况,其中酰胺 I 区(1 600~1 700 cm^{-1})的谱带信息与蛋白质主链的构象及其二级结构的含量密切相关^[27]。不同添加量的酵母 β -葡聚糖对肌球蛋白二级结构相对含量的影响如表 1 所示。由表可知,天然的鲑鱼肌球蛋白中 α -螺旋结构的相对含量最高,达到 68.32%,它们之间通过分子内的羰基氧和氨基氢之间形成的氢键来维持蛋白质的结构,表明鲑鱼肌球蛋白分子具有良好的致密性。随着酵母 β -葡聚糖添加量的增加, α -螺旋含量呈先下降后上升

可能是由于酵母 β -葡聚糖与肌球蛋白相互作用导致蛋白构象发生改变,使内部的色氨酸和酪氨酸等基团暴露于蛋白分子表面,从而增强了紫外吸收强度。这一结果与内源荧光光谱结果相一致。

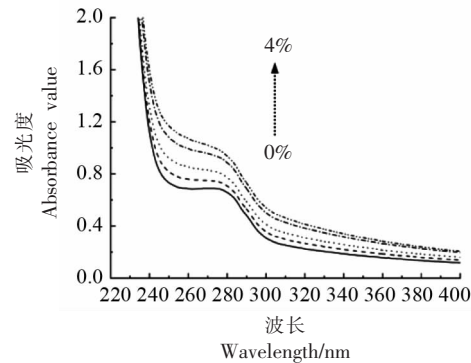


图6 酵母 β -葡聚糖添加量对肌球蛋白紫外吸收光谱的影响

Fig.6 Effects of yeast β -glucan addition amount on the UV absorption spectra of myosin

的趋势,当酵母 β -葡聚糖添加量增至 2%时, α -螺旋含量显著下降至 57.77%,而 β -折叠、 β -转角和无规则卷曲的含量变化则与之相反,这是由于酵母 β -葡聚糖能够促进肌球蛋白结构展开,使 α -螺旋向 β -折叠和 β -转角转变。据研究报道, β -折叠结构因具有较大的表面积而有利于形成氢键^[28],因此, β -折叠含量的增加可能会增强酵母 β -葡聚糖与蛋白间的相互作用。然而,当酵母 β -葡聚糖添加量大于 2%时,可能由于酵母 β -葡聚糖浓度过高,导致多糖和蛋白质两相混合体系发生相分离,使蛋白质逐渐聚合,重新形成 α -螺旋结构,从而使其含量上升。

表 1 酵母 β -葡聚糖添加量对肌球蛋白二级结构的影响

Table 1 Effects of yeast β -glucan addition amount on the secondary structures of myosin

YG 添加量/%	相对含量/%			
	α -螺旋	β -折叠	β -转角	无规则卷曲
0	68.32 \pm 0.99 ^a	9.14 \pm 0.77 ^c	13.09 \pm 0.16 ^c	9.45 \pm 0.06 ^c
1	62.93 \pm 0.41 ^b	13.34 \pm 0.32 ^b	13.95 \pm 0.06 ^b	9.78 \pm 0.03 ^b
2	57.77 \pm 0.50 ^c	17.36 \pm 0.39 ^a	14.77 \pm 0.08 ^a	10.10 \pm 0.03 ^a
3	59.65 \pm 2.64 ^{bc}	15.90 \pm 2.06 ^{ab}	14.47 \pm 0.42 ^{ab}	9.99 \pm 0.16 ^{ab}
4	60.94 \pm 3.05 ^{bc}	14.89 \pm 2.37 ^{ab}	14.26 \pm 0.48 ^{ab}	9.91 \pm 0.19 ^{ab}

2.8 结合能力的变化

蛋白质的构象决定其风味结合能力,蛋白质与多糖相互作用会使蛋白质的构象发生改变,从

而影响其风味结合能力。如图 7 所示,1-辛烯-3-醇、戊醛、己醛、庚醛和辛醛与天然鲑鱼肌球蛋白的结合能力分别为 14.90%、16.98%、18.71%、

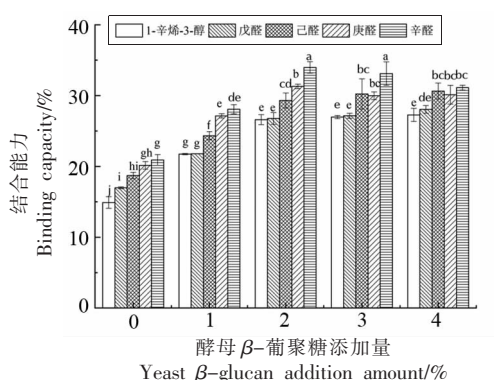


图7 酵母 β -葡聚糖添加量对肌球蛋白与风味物质结合能力的影响

Fig.7 Effects of yeast β -glucan addition amount on the binding capacity of myosin to flavor compounds

20.14%, 20.91%。随着醛类化合物碳链长度的增加,其结合能力随之增大($P < 0.05$),这是由于碳链越长,分子疏水性增大,拥有更多的风味结合位点,从而与蛋白质的结合能力增强^[29]。此外,1-辛烯-3-醇与蛋白质的结合作用要弱于醛类物质,这是由于醇类物质具有较强的极性,主要通过氢键作用与蛋白质相结合,而与蛋白质间产生的疏水相互作用较弱,因此结合能力较差^[30]。

随着酵母 β -葡聚糖添加量的增加,肌球蛋白与5种风味物质的结合能力均有不同程度的上升,当酵母 β -葡聚糖添加量为2%时,肌球蛋白对1-辛烯-3-醇、戊醛、己醛、庚醛和辛醛的吸附能力分别提高了11.70%, 9.78%, 10.60%, 11.15%, 13.08%。当添加量超过2%时,结合能力增加不显著($P < 0.05$)。酵母 β -葡聚糖的适量添加诱导蛋白质结构展开,埋藏于内部的疏水基团和巯基暴露出来,使蛋白质拥有更多的疏水性结合位点,从而使其风味结合能力增强;而添加过量的酵母 β -葡聚糖可能促使蛋白质聚集,使暴露的疏水性结合位点被重新包埋,导致蛋白质的风味结合能力降低。此外,酵母 β -葡聚糖具有的羟基结构可能增强与风味物质间的氢键相互作用,同时其具有的多孔海绵状结构对风味吸附也具有促进作用^[1]。

3 结论

本试验研究了酵母 β -葡聚糖与鲑鱼肌球蛋白的相互作用及其对蛋白质与特征腥味物质结合能力的影响。结果表明,随着酵母 β -葡聚糖添加

量的增加,肌球蛋白的溶解度、Zeta 电位绝对值、表面疏水性和活性巯基含量均呈先增加后降低的趋势,肌球蛋白的紫外吸收峰强度逐渐增强,内源荧光强度逐渐下降;当酵母 β -葡聚糖添加量为0~2%时, α -螺旋含量显著下降,而 β -折叠、 β -转角和无规卷曲含量显著增加,当添加量超过2%时, α -螺旋含量又升高, β -折叠等二级结构含量降低,然而都不显著;肌球蛋白对5种腥味物质的结合能力随酵母 β -葡聚糖添加量的增加呈先增强后减弱的趋势,当酵母 β -葡聚糖添加量超过2%时,结合能力增加不显著。

参 考 文 献

- [1] 农业部渔业渔政管理局. 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2020: 89.
Ministry of Agriculture Fisheries and Fisheries Administration. China Fishery Statistical Yearbook [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2020: 89.
- [2] 李文协, 李学鹏, 刘慈坤, 等. 臭氧水漂洗对鲑鱼鱼糜品质及肌原纤维蛋白氧化的影响[J]. 食品工业科技, 2020, 41(16): 7-15.
LI W X, LI X P, LIU C K, et al. Effects of ozone water rinsing on the qualities and oxidation of surimi myofibrillar proteins of Spanish mackerel surimi[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(16): 7-15.
- [3] 米红波, 李政翰, 李岩, 等. 外源添加物在鱼糜制品中的应用研究进展[J]. 食品工业科技, 2019, 40(15): 349-355.
MI H B, LI Z H, LI Y, et al. Research progress of the application of exogenous additives in surimi products[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(15): 349-355.
- [4] ZHANG J, LIU L, JIANG Y, et al. High-moisture extrusion of peanut protein-carrageenan/sodium alginate/wheat starch mixtures; Effect of different exogenous polysaccharides on the process forming a fibrous structure[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 99: 105311.
- [5] YANG X, LI A, LI D, et al. Applications of mixed polysaccharide-protein systems in fabricating multi-structures of binary food gels—A review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 109: 197-210.

- [6] TEPARIĆ R, MRŠA V. Proteins involved in building, maintaining and remodeling of yeast cell walls [J]. *Current Genetics*, 2013, 59(4): 171–185.
- [7] 刘蓝天, 何艳, 邵现磊, 等. 酵母 β -葡聚糖的研究进展及应用[J]. *食品工业*, 2017(7): 238–242.
LIU L T, HE Y, SHAO X L, et al. The research advance and application of β -glucan from yeast[J]. *The Food Industry*, 2017(7): 238–242.
- [8] 黄晶晶, 张慧敏, 赵丽媛, 等. 酵母葡聚糖的前处理及其对白鲢鱼肉的去腥效果[J]. *食品科学*, 2020, 41(20): 54–60.
HUANG J J, ZHANG H M, ZHAO L Y, et al. Yeast glucan pretreatment and its deodorization effect for silver carp mince[J]. *Food Science*, 2020, 41(20): 54–60.
- [9] ZHANG H, WU D, HUANG Q, et al. Adsorption kinetics and thermodynamics of yeast β -glucan for off-odor compounds in silver carp mince [J]. *Food Chemistry*, 2020, 319: 126232.
- [10] ZHANG H, XIONG Y, BAKRY A M, et al. Effect of yeast β -glucan on gel properties, spatial structure and sensory characteristics of silver carp surimi[J]. *Food hydrocolloids*, 2019, 88: 256–264.
- [11] 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.
- [12] XU Y, YIN Y, 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(15): 130540.
- [13] CAO Y, XIONG Y. Chlorogenic acid-mediated gel formation of oxidatively stressed myofibrillar protein [J]. *Food Chemistry*, 2015, 180: 235–243.
- [14] ALIX A J, PEDANOU G, BERJOT M. Fast determination of the quantitative secondary structure of proteins by using some parameters of the Raman amide I band [J]. *Journal of Molecular Structure*, 1988, 174: 159–164.
- [15] 徐永霞, 王瑞, 李学鹏, 等. 热处理对鱼肌原纤维蛋白结构及腥味物质结合能力的影响[J]. *中国食品学报*, 2020, 20(9): 131–138.
XU Y X, WANG R, LI X P, et al. Effects of heat treatment on the structure of myofibrillar protein and binding ability with fishy odor compounds[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2020, 20(9): 131–138.
- [16] MARTÍNEZ-ARELLANO I, FLORES M, TOLDRÁ F. The ability of peptide extracts obtained at different dry cured ham ripening stages to bind aroma compounds[J]. *Food Chemistry*, 2016, 196: 9–16.
- [17] YUAN L, LIU Y, GE J, et al. Effects of heat treatment at two temperatures on the myosin cluster of bighead carp for gel formation[J]. *CyTA—Journal of Food*, 2017, 15(4): 574–581.
- [18] 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.
- [19] BOUZID H, RABILLER-BAUDRY M, PAUGAM L, et al. Impact of zeta potential and size of caseins as precursors of fouling deposit on limiting and critical fluxes in spiral ultrafiltration of modified skim milks[J]. *Journal of Membrane Science*, 2008, 314(1/2): 67–75.
- [20] 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.
- [21] 张雪, 张震, 邹建, 等. 鹰嘴豆蛋白与卡拉胶互作体系表征及其功能性研究[J]. *食品科技*, 2020, 45(12): 245–250.
ZHANG X, ZHANG Z, ZOU J, et al. Characterization and functional study of the interaction between chickpea protein and carrageenan [J]. *Food Science and Technology*, 2020, 45(12): 245–250.
- [22] ZHANG T, XUE Y, LI Z, et al. Effects of ozone-induced oxidation on the physicochemical properties of myofibrillar proteins recovered from bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*) [J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2015, 8(1): 181–190.
- [23] DAI H, CHEN X, PENG 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.

- [24] 贾娜, 谢振峰, 李儒仁, 等. 迷迭香提取物与 NaCl 协同改善肌原纤维蛋白凝胶特性[J]. 食品科学, 2018, 39(3): 28–33.
- JIA N, XIE Z F, LI R R, et al. Synergistic improvement of myofibrillar protein gel properties by combination of rosemary extract and NaCl[J]. Food Science, 2018, 39(3): 28–33.
- [25] WANG K, LUO S, ZHONG X, et al. Changes in chemical interactions and protein conformation during heat-induced wheat gluten gel formation[J]. Food Chemistry, 2017, 214: 393–399.
- [26] 由耀辉, 熊林颖, 陈虹, 等. 单宁酸与大豆分离蛋白相互作用研究[J]. 中国油脂, 2019, 44(10): 55–59.
- YOU Y H, XIONG L Y, CHEN H, et al. Interaction between tannic acid and soy protein isolate[J]. China Oils and Fats, 2019, 44(10): 55–59.
- [27] 张兴, 杨玉玲, 马云, 等. pH 对肌原纤维蛋白及其热诱导凝胶非共价键作用力与结构的影响[J]. 中国农业科学, 2017, 50(3): 564–573.
- ZHANG X, YANG Y L, MA Y, et al. Effects of pH on the non-covalent forces and structure of myofibrillar protein and heat induced gel[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2017, 50(3): 564–573.
- [28] 邓楚君. 乳铁蛋白、姜黄素、酵母 β -葡聚糖二元及三元复合物的结构特征及自组装机制研究[D]. 新乡: 河南科技学院, 2019.
- DENG C J. Structural characteristics and self-assembly mechanism of the binary and ternary complexes by lactoferrin, curcumin and oat β -glucan[D]. Xinxiang: Henan Institute of Science and Technology, 2019.
- [29] WEEL K G, BOELRIJK A E, BURGER J J, et al. Effect of whey protein on the *in vivo* release of aldehydes[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(16): 4746–4752.
- [30] KÜHN J, CONSIDINE T, SINGH H. Binding of flavor compounds and whey protein isolate as affected by heat and high pressure treatments[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(21): 10218–10224.

Interaction between Yeast β -Glucan and Myosin and Its Effect on Flavor Adsorption Properties of Protein

Xu Yongxia¹, He Xueli¹, Yin Yiming¹, Zhao Honglei^{1*}, Li Xuepeng¹,
Wang Mingli², Zhou Xiaomin³, Li Jianrong^{1*}

¹College of Food Science and Engineering, National & Local Joint Engineering Research Center of Storage, Processing and Safety Control Technology for Fresh Agricultural and Aquatic Products, National R&D Branch Center of Surimi and Surimi Products Processing, Bohai University, Jinzhou 121013, Liaoning

²Penglai Jinglu Fishery Co., Ltd., Yantai 265600, Shandong

³Zhejiang Xingye Industrial Group Co., Ltd., Zhoushan 316120, Zhejiang

Abstract The interaction between yeast β -glucan and myosin and its effects on flavor adsorption capacity of myosin were investigated in the present study. The effects of yeast β -glucan with different additive amounts on the structures of myosin and flavor binding capacity were determined by Zeta potential analysis, UV spectra, fluorescence spectroscopy, Raman spectroscopy and gas chromatography–mass spectrometry technology. The results showed that, with the increase of yeast β -glucan, the solubility, absolute value of zeta potential, surface hydrophobicity and active sulfhydryl content of myosin increased firstly and then decreased. The intrinsic fluorescence intensity of myosin decreased gradually, while the intensity of the UV absorption increased gradually. When the additive level of yeast β -glucan was 0–2%, the α -helix content decreased significantly ($P < 0.05$), while the content of β -sheet increased significantly ($P < 0.05$). When the additive level was more than 2%, the content of α -helix increased gradually and the β -sheet decreased. The incorporation of yeast β -glucan promoted the unfolding of myosin structure, enhancing the binding ability of protein and selected flavor compounds. When the additive amount of yeast β -glucan exceeded 2%, the flavor binding ability of protein was not significantly increased.

Keywords myosin; yeast β -glucan; protein structure; flavor adsorption