

马铃薯淀粉-卵清蛋白-肌球蛋白互作对肌球蛋白凝胶的影响

刘珍¹, 王金厢¹, 李学鹏^{1*}, 励建荣¹, 高瑞昌², 张宇昊³, 杨青⁴, 位正鹏⁴, 季广仁⁵

(¹渤海大学食品科学与工程学院 国家鱼糜及鱼糜制品加工技术研发分中心 辽宁锦州 121013

²江苏大学食品与生物工程学院 江苏镇江 212013

³西南大学食品科学学院 重庆 400715

⁴荣成泰祥食品股份有限公司 农业部冷冻调理海洋食品加工重点实验室 山东威海 234309

⁵锦州笔架山食品有限公司 辽宁锦州 121007)

摘要 以金线鱼肌球蛋白为原料,添加 10%不同复配比例的马铃薯淀粉(PS)-卵清蛋白(OVA),研究其与肌球蛋白间的相互作用及其对肌球蛋白凝胶特性的影响。采用粒径、Zeta 电位、巯基、表面疏水性和紫外光谱分析 PS-OVA-肌球蛋白混合体系中组分的相互作用,进一步结合流变行为、分子间作用力、微观结构等揭示 PS-OVA-肌球蛋白互作对肌球蛋白凝胶的影响。结果表明,添加 10%的 PS-OVA 复配物后,PS-OVA-肌球蛋白混合体系的紫外吸光度、总巯基含量和表面疏水性分别增加了 5.53%、24.28%和 17.53%,净电荷减小 40.75%,表明 PS-OVA-肌球蛋白混合体系中存在疏水作用、氢键、二硫键等非共价作用和共价作用,促使肌球蛋白构象变化。同时,随着外源复配物中 PS 的增加和 OVA 的减少,PS-OVA-肌球蛋白混合凝胶的凝胶强度、硬度、 β -折叠含量和储能模量分别先增加了 7.68%、20.10%、11.03%和 12.07%后又下降至 0.94%、7.77%、0.08%和 4.99%。当 PS-OVA 复配比为 3:7 时,混合体系的紫外吸光度最高,净电荷最小,粒径、巯基含量和表面疏水性最大;加热后 3:7 的 PS-OVA 组混合凝胶的凝胶强度、硬度和 β -折叠含量最高,且凝胶网络结构最致密、均匀。结论:质量比(3:7)的 PS-OVA 复配可促进混合体系中组分的相互作用,通过疏水作用、氢键、二硫键等促进蛋白分子的交联聚集,填充肌球蛋白凝胶网络,从而改善肌球蛋白的凝胶特性。

关键词 马铃薯淀粉; 卵清蛋白; 肌球蛋白; 相互作用; 凝胶特性

文章编号 1009-7848(2024)07-0128-10 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2024.07.013

鱼糜是一种浓缩的肌原纤维蛋白,可以加工成各种形式的产品,如鱼丸、鱼肠和鱼饼^[1]。这些鱼肉制品因细腻的口感和丰富的营养价值而备受消费者青睐。肌球蛋白约占鱼肌肉蛋白的三成,是构建鱼糜凝胶网络结构的主要蛋白质。为了生产多样化、质地更佳、消费者接受度更高的鱼糜制品,生产中常通过添加植物蛋白、多糖、蛋白酶等物质来改善产品品质。例如 Fang 等^[2]和 Li 等^[3]通过引入谷氨酰胺转氨酶增强鱼糜凝胶中蛋白质的交联。Zhao 等^[4]和 Yan 等^[5]通过加入改性淀粉和魔芋葡甘露聚糖改善鱼糜凝胶特性。在生产鱼糜制品时,淀粉常被用于外源添加物,它可以在鱼糜体系中吸水膨胀,起到非活性填料的作用,从而明显改善鱼糜制品的口感、质地^[6]。Fan 等^[7]在草鱼肌原纤

维蛋白中添加木薯淀粉颗粒,通过对水分的吸收和填充作用来增加肌原纤维蛋白基质浓度,改善蛋白凝胶特性。此外,添加外源蛋白也是改善鱼糜制品凝胶特性的有效途径,动、植物蛋白可通过自身的凝胶作用或其含有的抑制内源蛋白酶活性的成分来改善鱼糜的凝胶性能^[8-9]。例如 Kudre 等^[10]添加黑豆分离蛋白和绿豆分离蛋白作为蛋白酶抑制剂来抑制沙丁鱼鱼糜蛋白的水解。

近年来,淀粉、蛋白质以及两者的组合因固有的生物材料特性,包括生物相容性、无毒性、生物降解性而被广泛用作生物材料,以改善食品的质地、结构、保质期和稳定性^[11]。马铃薯淀粉(Potato starch, PS)的支链淀粉含量高,占 73%~79%,表现出比其它植物淀粉更高的峰值黏度、溶解度和更佳的糊状透明度,在食品、造纸、医药等领域得到广泛应用^[6,12]。蛋清是提供人类营养需求的重要蛋白质资源,具有优良的发泡和胶凝特性,被广泛应用于食品工业中。卵清蛋白(Ovalbumin, OVA)是由 385 个氨基酸组成的分子质量约为 45 ku 的典

收稿日期: 2023-07-30

基金项目: 国家自然科学基金区域创新发展联合基金重点支持项目(U20A2067)

第一作者: 刘珍,女,硕士生

通信作者: 李学鹏 E-mail: xuepengli8234@163.com

型球蛋白,是蛋清中含量最丰富的蛋白质,占蛋清蛋白质的一半以上(55%~65%),是蛋清绝大多数功能特征的来源^[13-14]。近年来,各领域中关于组分间相互作用的研究成果层出不穷,逐渐成为热点,对鱼糜混合体系的相关研究也包含在内。以往的研究主要关注二元或多元混合体系的表现特性,比如凝胶特性、质构特性、乳化性、体外消化特性等,而对不同物质分子之间相互作用机制的研究尚不完善。因此,本研究将PS和OVA复配添加到鱼肌球蛋白中,构建混合体系模型,探究分子水平上不同物质分子的相互作用及其对凝胶特性的影响,为高质量多元体系产品研发提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜速冻金线鱼,购于厦门市水产店铺,尾重120~160 g。卵清蛋白(生物试剂,纯度≥80%),上海伊卡生物技术有限公司;马铃薯淀粉(生物试剂,水分≤20%,灼烧残渣≤0.6%)、ATP-Na₂(分析纯级)、牛血清白蛋白标准品,北京索莱宝科技有限公司;其余试剂均为国产分析纯级。

1.2 仪器与设备

Fluoromax-4NIR 荧光分光光谱仪,法国HORIBA公司;SORVALL Stratos 冷冻高速离心机,美国Thermo公司;UV-2550 紫外可见光分光光度计,岛津仪器(苏州)有限公司;Varian 640-IR 傅里叶变换红外光谱仪,德国瓦瑞安公司;S-4800 冷场发射扫描电镜,日本日立公司;Nano-ZS90 激光粒度仪,英国马尔文公司;TA.XT plus 质构仪,Stable Micro Systems公司;Discovery HR-1 流变仪,美国TA仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 金线鱼肌球蛋白的提取 新鲜速冻金线鱼于4℃解冻后,取背脊肉绞碎,参考Park等^[15]的方法提取肌球蛋白。通过SDS-PAGE凝胶电泳分析蛋白成分。

1.3.2 PS-OVA-肌球蛋白混合体系的制备 用20 mmol/L Tris-HCl(含0.6 mol/L NaCl,pH 7.0)缓冲液将肌球蛋白质量浓度调整为60 mg/mL,添加占肌球蛋白质量10%的外源物质,外源物质中PS与OVA分别以0:0(对照组),0:10,3:7,5:5,

7:3,10:0的质量比复配,充分混匀后,即为混合体系(置于4℃冰箱,3 d内使用)。采用水浴加热(40℃,30 min;90℃,20 min)制备热诱导凝胶,凝胶经冰水冷却后,4℃冷藏过夜,以备用于后续试验。

1.3.3 混合体系的粒径 采用Nano-ZS90激光粒度仪测定混合体系的粒径。

1.3.4 混合体系的Zeta电位 采用Nano-ZS90激光粒度仪测定混合体系的电位。

1.3.5 混合体系的巯基含量 参考Yongsawat-digul等^[16]的方法测定总巯基的含量。测定活性巯基含量时,将混合体系与pH 7.0的磷酸盐缓冲溶液(内含10 mmol/L EDTA,0.6 mol/L氯化钾)混合,加入DTNB试剂后,4℃反应1 h,其余同总巯基含量的测定。计算公式如下:

$$\text{SH}(\text{mol}/10^5 \text{ g}) = \frac{A \times D}{13600C} \quad (1)$$

式中:A为波长412 nm处的吸光值;D为稀释倍数;C为蛋白质量浓度,mg/mL。

1.3.6 混合体系的表面疏水性 参考Benjakul等^[17]的方法并修改。将添加不同复配比PS-OVA的肌球蛋白用20 mmol/L Tris-HCl(含0.6 mol/L NaCl,pH 7.0)缓冲液梯度稀释至0.1,0.05,0.025,0.0125 mg/mL;吸取16 mL稀释后溶液,加入200 μL 8 mmol/L ANS(用50 mmol/L pH 7.0的磷酸盐缓冲液配制)后混匀,避光反应10 min,测定其荧光强度,表面疏水性记为S₀-ANS。

1.3.7 混合体系的紫外-可见光色谱 将肌球蛋白质量浓度调整至0.5 mg/mL,以稀释用缓冲液进行空白调零。测定条件:扫描范围为240~360 nm,高速扫描模式,采样间隔设定为1.0 nm。

1.3.8 混合体系凝胶的凝胶强度和全质构 参照刘珍等^[18]的方法。高度为20 mm的圆柱形凝胶用于测定TPA和凝胶强度。测定参数:P/50和P/5S探头,形变量45%,接触力10 g,测试速度1 mm/s。

1.3.9 混合体系凝胶的流变特性 参考Sun等^[19]的方法并稍作修改。其中,升温范围为25~90℃。

1.3.10 混合体系凝胶的化学作用力 参考Gómez-Guillén等^[20]的方法并稍作修改。称取1 g切碎的凝胶样品,分别与9 mL的0.05 mol/L NaCl(SA)、0.6 mol/L NaCl(SB)、0.6 mol/L NaCl+

1.5 mol/L 尿素(SC)、0.6 mol/L NaCl+8 mol/L 尿素(SD) 和 0.6 mol/L NaCl+8 mol/L 尿素+0.05 mol/L β -巯基乙醇(SE)混合,均质,4 °C反应 1 h,离心(8 000 r/min,4 °C)20 min,取上清并测定其蛋白浓度。离子键、氢键、疏水相互作用和二硫键分别用 SB 和 SA、SC 和 SB、SD 和 SC 以及 SE 和 SD 的蛋白质含量之差表示。

1.3.11 混合体系凝胶的傅里叶变换红外光谱 冻干的蛋白凝胶粉末样品与 KBr 按 1:100 的比例混均压片,400~4 000 cm^{-1} 波数范围内扫描红外光谱。

1.3.12 混合体系凝胶的微观结构 凝胶切成 5 mm×5 mm×3 mm 大小的薄片,薄片的固定、脱水、喷金处理和测定条件同先前的方法^[18]。

1.4 数据分析

试验重复 3 次。数据使用 IBM SPSS Statistics 25.0 和 Origin 9.0 进行统计分析和作图,结果以“平均值±标准差”表示,Duncan 多重比较检验各均值的差异显著性($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 肌球蛋白的 SDS-PAGE 图谱分析

如图 1 所示,提取的金线鱼肌球蛋白主要由肌球蛋白重链(MHC)、原肌球蛋白(Tm)和肌球蛋白轻链(MLC)组成,仅在 48 ku 处残留少量的肌动蛋白(Actin),对试验结果无影响。此结果和 Yuan 等^[21]对鳙鱼肌球蛋白的提取结果相似。

2.2 PS-OVA-肌球蛋白混合体系的粒径

粒径可表征溶液中平均颗粒的大小,当蛋白质交联、聚集时,粒径就会增大^[18]。由图 2 可知,与对照组相比,加入 PS-OVA 复配物后,混合体系的粒径呈先减小后略微增大最后明显减小的趋势,原因可能是添加过多的淀粉对肌球蛋白产生了稀释效应,阻碍蛋白分子的交联,且 PS 和肌球蛋白自组装颗粒在水相体系中容易沉降,导致上部溶液粒径变小。此外,在 PS-OVA 复配比为 3:7 时,粒径最大,表明 3:7 的 PS-OVA 复配比最有利于 PS、OVA 和肌球蛋白之间发生相互作用,诱导肌球蛋白头部展开,通过疏水相互作用等聚集成簇,生成粒径较大的聚集体^[22]。Gao 等^[23]也发现了肌球蛋白低温自组装可引起粒径变大。

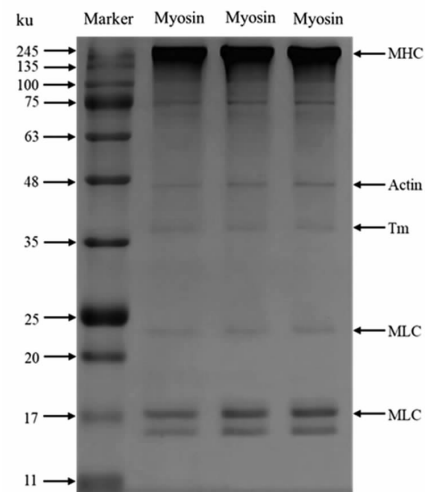
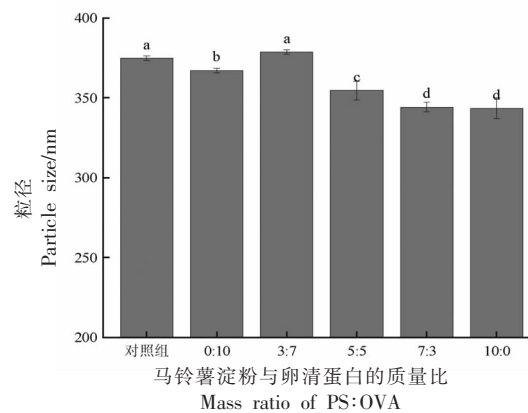


图 1 肌球蛋白的 SDS-PAGE 图

Fig.1 The SDS-PAGE image of myosin



注:不同字母表示差异显著($P<0.05$),下同。

图 2 PS-OVA-肌球蛋白混合体系平均粒径的变化

Fig.2 Change of average particle size of the PS-OVA-myosin mixture system

2.3 PS-OVA-肌球蛋白混合体系的电位

Zeta 电位可用于判断溶液的稳定性,其数值会影响蛋白质的聚集态^[24]。由图 3 可知,加入 PS-OVA 复配物后,混合体系的电位绝对值显著低于对照组($P<0.05$),净电荷随着 PS 的增加、OVA 的减少呈先下降后上升的趋势。整体净电荷下降的原因可能是由于蛋白的低温交联聚集和外源添加物对表面电荷的掩蔽作用,使表面电荷向内转移埋藏在内部,导致净电荷下降。PS-OVA 复配比超过 3:7 后,净电荷上升可能是由于带负电的 PS 添加引入的净负电荷,以及蛋白结构展开时暴露出的一些带电荷氨基酸^[25]。较弱的表面电荷强度有

利于促进蛋白质的聚集^[26]。复配比 3:7 的 PS-OVA 组的表面电荷最小,说明 PS-OVA 复配比为 3:7 时,最有利于蛋白的聚集,组分相互作用较强。

2.4 PS-OVA-肌球蛋白混合体系的总巯基和活性巯基

巯基是蛋白结构中具有高度反应性的基团,对于蛋白空间结构的稳定至关重要,可分为活性巯基和隐藏巯基^[27],常用于表征蛋白质的结构变化。由图 4 可知,与对照组相比,添加 PS-OVA 复配物增加了体系巯基含量,原因可能是外源 PS-OVA 复配物诱导肌球蛋白结构展开,暴露出更多的巯基,且加入的 OVA 本身含有巯基。Cao 等^[28]研究认为,肌球蛋白分子结构的变化会暴露出更多的内部活性巯基,导致表面活性巯基数量增加。随着复配物中淀粉的增加,巯基含量先逐渐增加后逐渐减少。PS-OVA 复配比 $\leq 3:7$ 时,巯基含量呈上升趋势,可能是由于巯基的暴露程度和添加量高于巯基氧化程度;复配比大于 3:7 后,巯基含量呈下降趋势,原因可能是 OVA 占比减少,二硫键的形成以及过量的淀粉再次埋藏暴露出的巯基。在 PS:OVA=3:7 时,总巯基含量和活性巯基含量之差最大,说明 3:7 复配组具有最高的二硫键形成能力和蛋白质变性程度,与粒径、电位的结果一致。

2.5 PS-OVA-肌球蛋白混合体系的表面疏水性

表面疏水性反映了蛋白质分子表面疏水残基的数量及蛋白的聚集情况^[29],而疏水基团的变化被认为是揭示蛋白质结构变化的重要指标^[30]。正常情况下,疏水残基埋藏在蛋白质分子内部,外部疏水残基较少^[29]。由图 5 可知,添加 PS-OVA 混合物后,体系的表面疏水性增强,并且随着体系中淀粉的增加,表面疏水性呈先逐渐增强后逐渐减弱最后略微增强的趋势,表明 PS、OVA 的添加诱导肌球蛋白分子结构展开,内部隐藏的疏水基团暴露,引起表面疏水性增强,而疏水相互作用进一步促进蛋白的聚集。有研究者认为,蛋白质中疏水性氨基酸的暴露导致分子表面疏水性增强,间接表征蛋白质分子构象的变化,可用于评估构象变化程度^[31]。复配比 3:7 以下时,表面疏水性呈增强趋势,可能是由于高占比的 OVA 引入的疏水基团和蛋白结构展开暴露出的疏水基团;PS:OVA>3:7

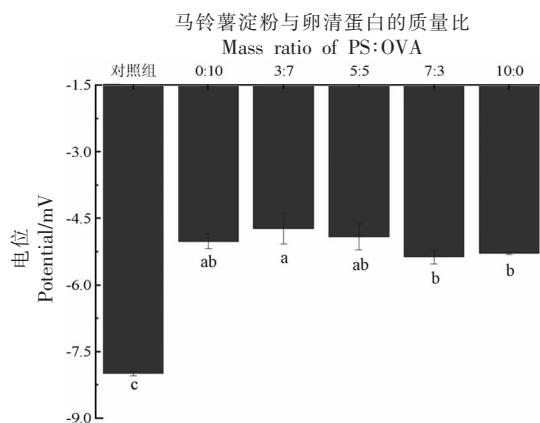


图 3 PS-OVA-肌球蛋白混合体系电位的变化

Fig.3 Change of zeta potential of the PS-OVA-myosin

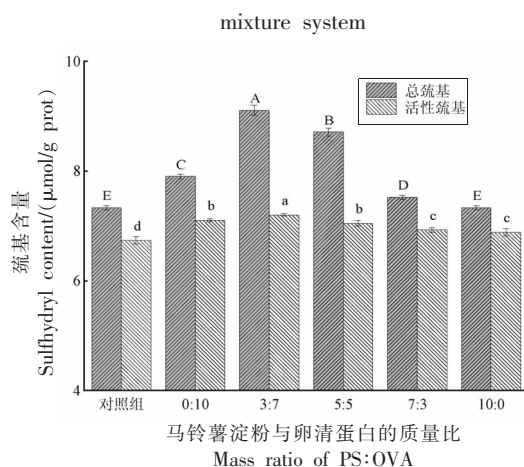


图 4 PS-OVA-肌球蛋白混合体系巯基含量的变化

Fig.4 Changes of sulfhydryl content of the PS-OVA-myosin mixture system

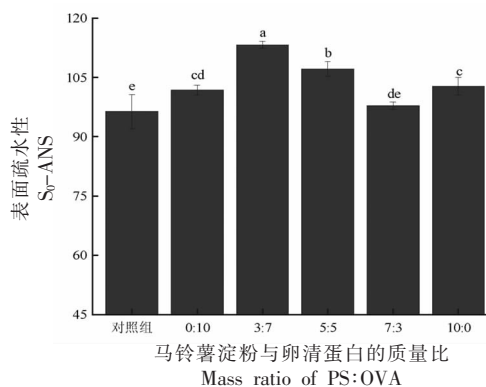


图 5 PS-OVA-肌球蛋白混合体系表面疏水性的变化

Fig.5 Change of surface hydrophobicity of the PS-OVA-myosin mixture system

后,表面疏水性逐渐减弱,可能是因为淀粉占比增加,蛋白的聚集以及过量的淀粉再次埋藏疏水基

团。PS:OVA=3:7组的表面疏水性最强,有利于蛋白的聚集,与疏基、电位结果一致。

2.6 PS-OVA-肌球蛋白混合体系的紫外-可见光谱

紫外光谱用于检测发色基团(芳香族氨基酸侧链)的变化,从而揭示蛋白质构象^[32]。由图6可知,未加热的肌球蛋白仅在波长275 nm处有一个特征峰,与对照组相比,添加PS-OVA复配物使得混合体系的特征峰峰值增加,且随着体系中淀粉占比的增加,峰值呈先增大后减小最后略微增大的趋势,最大吸收峰峰值分别在275,274,273,274,274,275 nm,先发生蓝移后发生红移,表明添加PS-OVA复配物使得蛋白分子结构展开,内部芳香族氨基酸残基暴露,蛋白分子发生交联生成聚集体^[33]。PS-OVA复配比 $\leq 3:7$ 时,特征峰峰值上升,是由于添加高占比OVA引入的芳香族氨基酸和肌球蛋白内部芳香族氨基酸残基的暴露导致;当PS-OVA复配比 $>3:7$ 时,特征峰峰值下降,可能是由于芳香族氨基酸侧链暴露于更加极性的环境中,以及过量的淀粉导致部分非极性芳香族氨基酸残基被掩蔽^[33]。此外,在PS-OVA复配比为3:7时,特征峰峰值最大,且明显发生蓝移,表明在该复配比例下,混合体系中的蛋白发色基团暴露严重且蛋白发生了有效聚集。

2.7 PS-OVA-肌球蛋白混合凝胶的凝胶强度和质构特性

如表1所示,与对照组相比,随着PS-OVA复配物中PS的增加及OVA的减少,混合凝胶的凝胶强度、咀嚼度呈先下降后上升再下降最后略微上升的趋势,硬度和胶着度呈先上升后下降最后

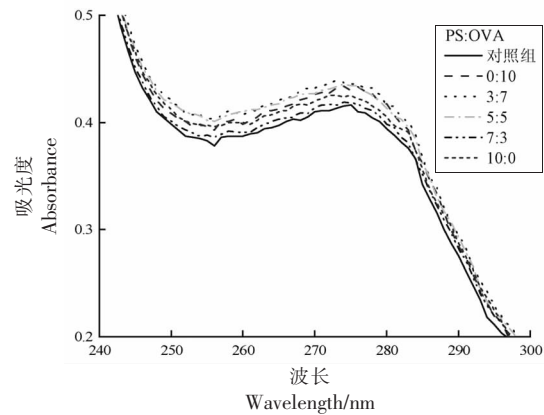


图6 PS-OVA-肌球蛋白混合体系紫外吸收光谱的变化

Fig.6 Change of UV absorption spectra of the PS-OVA-myosin mixture system

上升的趋势,且硬度、胶着度、咀嚼度、回复性等质构指标均高于或与对照组无显著性差异。在PS-OVA复配比为3:7时,混合凝胶的凝胶强度、硬度、胶着度和咀嚼度最大,较对照组分别提升了7.68%,20.10%,18.05%,18.64%,可能是由于高占比的具有较好凝胶特性的OVA和适量PS的填充效应,加热后不同分子间的相互作用增强,导致形成致密的微观网络结构,而单一过量的外源物质会稀释肌球蛋白,阻碍肌球蛋白的交联^[6,34];当PS-OVA复配比为10:0时,凝胶强度的上升和质构特性的再次改善可能是由于淀粉的强吸水性和基质填充效应。综上,PS-OVA复配比为3:7时,肌球蛋白凝胶质构特性和凝胶强度的改善效果最佳,与未加热时混合体系的组分相互作用结果一致。

表1 不同比例的PS-OVA复配物对肌球蛋白凝胶强度和质构特性的影响

Table 1 Effect of different ratios of PS-OVA on the gel strength and texture properties of myosin gel

PS:OVA	凝胶强度/g·mm	硬度/g	弹性	黏聚性	胶着度/g	咀嚼度/g	回复性
对照组	1 083.10 ± 6.96 ^c	242.52 ± 4.36 ^c	0.94 ± 0.03 ^a	0.76 ± 0.02 ^{ab}	183.46 ± 3.80 ^c	171.75 ± 5.32 ^b	0.42 ± 0.01 ^{ab}
0:10	1 055.70 ± 12.36 ^d	249.36 ± 0.74 ^{bc}	0.91 ± 0.01 ^a	0.76 ± 0.00 ^{ab}	189.08 ± 1.46 ^{bc}	171.36 ± 2.88 ^b	0.41 ± 0.00 ^b
3:7	1 166.32 ± 13.58 ^a	291.26 ± 4.89 ^a	0.94 ± 0.03 ^a	0.74 ± 0.01 ^b	216.58 ± 2.02 ^a	203.77 ± 7.24 ^a	0.42 ± 0.00 ^{ab}
5:5	1 102.87 ± 9.90 ^b	253.57 ± 14.06 ^{bc}	0.94 ± 0.02 ^a	0.76 ± 0.00 ^{ab}	192.85 ± 10.60 ^{bc}	181.91 ± 11.70 ^b	0.43 ± 0.00 ^{ab}
7:3	1 078.78 ± 6.15 ^c	242.32 ± 8.70 ^c	0.94 ± 0.04 ^a	0.77 ± 0.01 ^a	186.41 ± 6.68 ^c	174.47 ± 2.73 ^b	0.43 ± 0.01 ^a
10:0	1 093.32 ± 11.90 ^{bc}	261.37 ± 7.47 ^b	0.93 ± 0.02 ^a	0.76 ± 0.01 ^{ab}	198.51 ± 7.28 ^b	185.02 ± 10.96 ^b	0.42 ± 0.01 ^{ab}

注:同列上标字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。

2.8 PS-OVA-肌球蛋白混合凝胶的动态流变特性

储能模量(G')表示样品的弹性趋势,损耗模量(G'')表示样品的黏性趋势。从图 7 可以看出,对照组的 G' 曲线转变峰在 39.3 °C,之后 G' 值迅速下降,表明肌球蛋白头部结构变化,变性的蛋白质分子相互作用形成弱凝胶网络;加热温度在 50 °C 以上, G' 值变大,尾部结构变化,形成弹性凝胶网络^[35]。添加不同比例 PS-OVA 复配物组样品的 G'

整体变化趋势和对照组相同,说明混合凝胶中仍以肌球蛋白为主体。不同组 G'' 与 G' 的变化趋势相似,在加热过程中, G'' 值 $< G'$ 值,说明凝胶的弹性大于黏性^[6,36]。随着复配物中 PS 占比的增加,OVA 占比的减少,两种模量值均呈“W”形变化趋势;在 PS-OVA 复配比为 3:7 和 10:0 时, G' 值与 G'' 值较大,表明 PS-OVA 复配比为 3:7 或 10:0 时,肌球蛋白凝胶的黏弹性较好,此结果和表 1 结果一致。

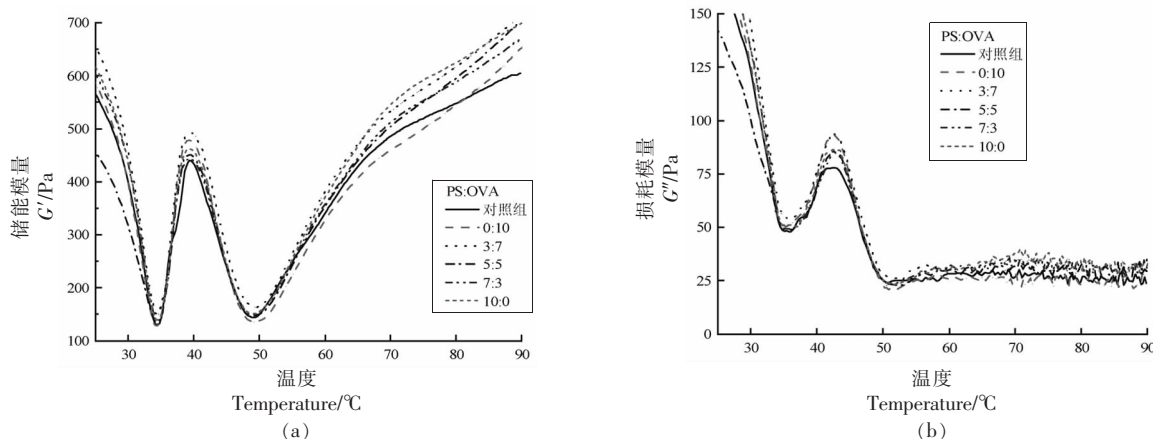


图 7 PS-OVA-肌球蛋白混合体系的储能模量(G')和损耗模量(G'')的变化

Fig.7 Change of storage modulus (G') and loss modulus (G'') of the PS-OVA-myosin mixture system

2.9 PS-OVA-肌球蛋白混合凝胶的化学作用力

由图 8 可知,混合凝胶中的化学作用力以疏水相互作用和二硫键为主,而离子键、氢键占比较小,与曾添^[37]的结果一致。蛋白质受热变性,结构展开,暴露出更多的活性基团,包括巯基和疏水基团,疏水作用力促进蛋白的聚集,体系熵值下降,进一步促进分子间相互作用,改善凝胶特性^[6,38];巯基和二硫键的转化,有利于蛋白分子的共价交联,进而影响凝胶的形成。离子键含量的减少有利于形成弹性凝胶结构^[39];氢键通过稳定水分来改善凝胶性。如图 8 所示,与对照组相比,随着 PS-OVA 复配物中 PS 的增加及 OVA 的减少,疏水相互作用表现出先增加后减少最后增加的趋势,二硫键含量呈先减少后增加再减少的趋势,离子键含量呈现不同程度的下降,氢键含量呈现不同程度的上升。3:7~5:5 复配组离子键和氢键含量出现降低趋势,可能是因为蛋白质间的静电吸引力增强,以及加热过程中离子键、氢键的断裂^[40],疏水相互作用和二硫键含量的增加是由于适宜比例

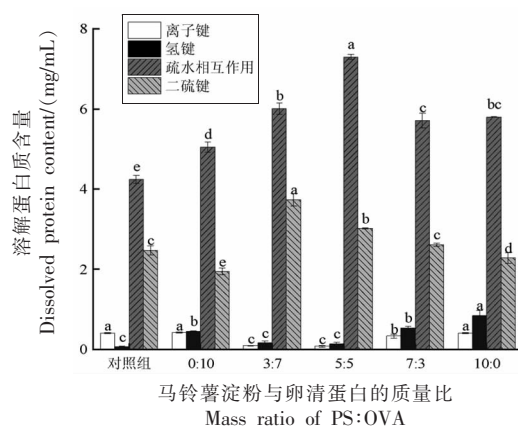


图 8 PS-OVA-肌球蛋白混合凝胶化学作用力的变化

Fig.8 Changes of chemical forces of the PS-OVA-myosin mixture gel

的 PS、OVA 复配促进了疏水基团、巯基的暴露,以及肌球蛋白和 OVA 分子间二硫键的形成。总之,发现 PS:OVA 为 3:7 和 5:5 组的二硫键含量最高,疏水相互作用较大,离子键含量较低,表明该比例下,混合凝胶整体的分子间作用力较有利于

稳定凝胶网络结构,提高凝胶强度,与表面疏水性、疏基的结果一致。

2.10 PS-OVA-肌球蛋白混合凝胶的蛋白质构象

利用 PeakFit 软件对红外光谱图的酰胺 I 带 ($1600\sim 1700\text{ cm}^{-1}$) 进行处理后,得到蛋白质二级结构相对含量。有研究发现 β -折叠与 α -螺旋的比例越大,凝胶中不易流动水和结合水含量越高,蛋白质聚集度越高,凝胶保水性和凝胶强度更好^[6,41]。如图 9 所示,添加不同复配比的 PS-OVA 复配物,使得混合凝胶的 β -折叠与 α -螺旋的比例呈先增大后减小的趋势,且均大于或与对照组无显著差异。在 PS-OVA 复配比为 3:7 时, β -折叠与 α -螺旋的比例最大, β -折叠含量占比最大,表明该复配比下,蛋白聚集程度最高,最有利于凝胶特性的改善,而过多淀粉的添加会阻碍蛋白的交联。适宜比例的 PS-OVA 复配能促使 α -螺旋更大程度的转化为 β -折叠,从而形成凝胶特性较优的凝胶。

2.11 PS-OVA-肌球蛋白混合凝胶的微观结构

由图 10 可知,空白对照组的凝胶网络孔径大,表面粗糙;而添加 10% 的 PS-OVA 复配物后,可观察到结构中大孔洞数量明显减少,表面变得平滑,网络结构更加致密、均匀。此外,随着复配物中 PS 的增加,凝胶网络结构呈现出由松散变得致

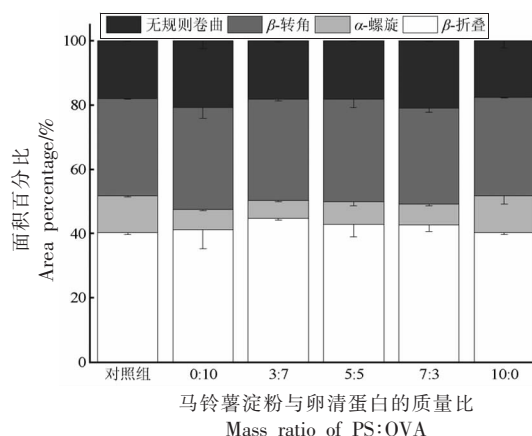


图 9 不同比例的 PS-OVA 对肌球蛋白凝胶二级结构百分比的影响

Fig.9 Effect of different ratios of PS-OVA on the secondary structure percentage of myosin gel

密最后变得略微松散的趋势,可能是由于单一过量的 PS 或 OVA 会稀释肌球蛋白,阻碍肌球蛋白的交联^[34],适宜的 PS-OVA 复配会促进蛋白-蛋白、蛋白-淀粉间的相互作用,形成致密的凝胶网络结构。在 PS:OVA=3:7 时,凝胶的微观结构较为致密均匀,有利于持水性和凝胶强度的改善,与前文试验结果一致。

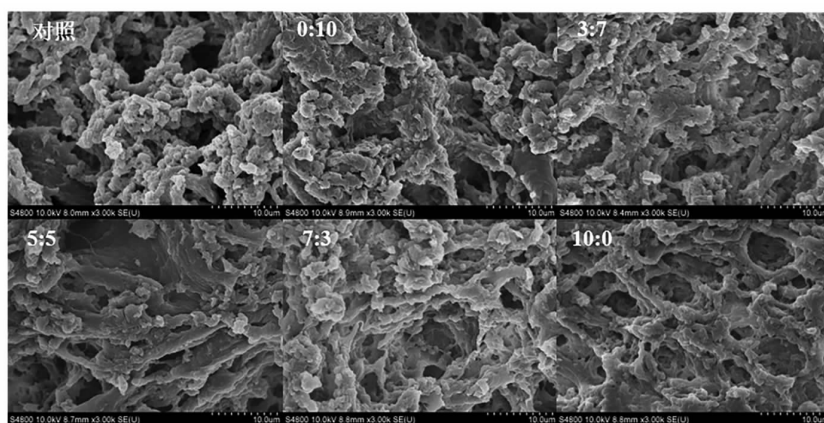


图 10 不同比例的 PS-OVA 对肌球蛋白凝胶微观结构的影响

Fig.10 Effect of different ratios of PS-OVA on the microstructure of myosin gel

3 结论

适宜复配比例的 PS-OVA 有效促进了其与肌球蛋白的组分相互作用,进一步改善了 PS-OVA-肌球蛋白复合体系的凝胶特性。其中,质量比为 3:7 的 PS-OVA 复配可增加混合体系的粒径,诱导

肌球蛋白结构发生变化,导致疏基、疏水基团暴露,进而影响三者之间的相互作用。同时,也发现添加 3:7 的 PS-OVA 增加了混合体系的凝胶强度、质构特性和储能模量,且加热后形成的凝胶网络结构更致密、均匀,这可能与 PS-OVA-肌球蛋

白凝胶中增加的疏水相互作用、二硫键和 β -折叠含量密切相关。总之,在10%的外源物质添加量下,当PS-OVA复配质量比为3:7时,PS-OVA-肌球蛋白混合体系中的组分相互作用有利于改善热诱导肌球蛋白的凝胶特性,为高品质、低成本鱼糜制品的生产提供了参考。

参 考 文 献

- [1] OKITA A, TAKAHASHI K, ITAKURA M, et al. A novel soft surimi gel with functionality prepared using alcalase for people suffering from dysphagia[J]. Food Chemistry, 2021, 344: 128641.
- [2] FANG M X, XIONG S B, YIN T, et al. *In vivo* digestion and absorption characteristics of surimi gels with different degrees of cross-linking induced by transglutaminase (TGase) [J]. Food Hydrocolloids, 2021, 121: 107007.
- [3] LI Y, XIONG S B, YIN T, et al. The gastric digestion kinetics of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) surimi gels induced by transglutaminase[J]. Food Chemistry, 2019, 283: 148-154.
- [4] ZHAO X Y, WANG X F, ZENG L J, et al. Effects of oil-modified crosslinked/acetylated starches on silver carp surimi gel: Texture properties, water mobility, microstructure, and related mechanisms[J]. Food Research International, 2022, 158: 111521.
- [5] YAN W L, YIN T, XIONG S B, et al. Gelling properties of silver carp surimi incorporated with konjac glucomannan: Effects of deacetylation degree [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 191: 925-933.
- [6] LI X X, FAN M C, HUANG Q L, et al. Effect of micro- and nano-starch on the gel properties, microstructure and water mobility of myofibrillar protein from grass carp [J]. Food Chemistry, 2022, 366: 130579.
- [7] FAN M C, HUANG Q L, ZHONG S Y, et al. Gel properties of myofibrillar protein as affected by gelatinization and retrogradation behaviors of modified starches with different crosslinking and acetylation degrees[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 96: 604-616.
- [8] LUO K, SHEN H X, PAN D D, et al. Gel properties of surimi from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) as affected by heat treatment and soy protein isolate[J]. Food Hydrocolloids, 2008, 22(8): 1513-1519.
- [9] 王丽丽, 杨文鸽, 徐大伦, 等. 外源添加物对鱼糜及其制品凝胶性能影响的研究[J]. 核农学报, 2015, 29(10): 1985-1990.
WANG L L, YANG W G, XU D L, et al. Effects of exogenous additives on gel properties of surimi and its products[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2015, 29(10): 1985-1990.
- [10] KUDRE T, BENJAKUL S, KISHIMURA H. Effects of protein isolates from black bean and mung bean on proteolysis and gel properties of surimi from sardine (*Sardinella albella*) [J]. LWT-Food Science and Technology, 2013, 50(2): 511-518.
- [11] DONG D, CUI B. Fabrication, characterization and emulsifying properties of potato starch/soy protein complexes in acidic conditions [J]. Food Hydrocolloids, 2021, 115: 106600.
- [12] GUI Y F, ZOU F X, ZHU Y, et al. The structural, thermal, pasting and gel properties of the mixtures of enzyme-treated potato protein and potato starch [J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 154: 112882.
- [13] SUN Y, JIN H B, SUN H H, et al. A comprehensive identification of chicken egg white phosphoproteomics based on a novel digestion approach [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(34): 9213-9222.
- [14] HAN K, LIU Y F, LIU Y Y, et al. Characterization and film-forming mechanism of egg white/pullulan blend film [J]. Food Chemistry, 2020, 315: 126201.
- [15] PARK J W, 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.
- [16] YONGSAWATDIGUL J, PARK J W. Thermal denaturation and aggregation of threadfin bream actomyosin [J]. Food of Biological Chemistry, 2003, 83(3): 409-416.
- [17] BENJAKUL S, VISESSANGUAN W, CHANTARASUWAN C. Effect of high-temperature setting on gelling characteristic of surimi from some tropical fish [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2004, 39(6): 671-680.
- [18] 刘珍, 王金厢, 李学鹏, 等. 大豆分离蛋白与金线

- 鱼肌球蛋白的相互作用对其凝胶特性的影响[J]. 食品工业科技, 2023, 44(16): 122-130.
- LIU Z, WANG J X, LI X P, et al. Effect of interaction between soy protein isolate and *Nemipterus virgatus* myosin on its gel properties[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(16): 122-130.
- [19] SUN L C, LIN Y C, LIU W F, et al. Effect of pH shifting on conformation and gelation properties of myosin from skeletal muscle of blue round scads (*Decapterus maruadsi*)[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 93: 137-145.
- [20] GÓMEZ-GUILLÉN M C, BORDERÍAS A J, MONTERO P, et al. Chemical interactions of nonmuscle proteins in the network of sardine (*Sardina pilchardus*) muscle gels[J]. LWT-Food Science and Technology, 1997, 30(6): 602-608.
- [21] YUAN L, LIU Y A, 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.
- [22] 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, 2015, 73: 17-22.
- [23] GAO X, CAO L W, XIONG S B, et al. Self-assembly kinetics and physicochemical properties of silver carp myosin under conditions with different concentrations and low temperature[J]. Food Science, 2019, 40(1): 1-8.
- [24] LI D, ZHAO Y, WANG X, et al. Effects of (+)-catechin on a rice bran protein oil-in-water emulsion: Droplet size, zeta-potential, emulsifying properties, and rheological behavior[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 98: 105306.
- [25] ALAVI F, EMAM-DJOMEH Z, MOMEN S, et al. Effect of free radical-induced aggregation on physicochemical and interface-related functionality of egg white protein[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 87: 734-746.
- [26] GOUDA M, ZU L L, MA S M, et al. Influence of bio-active terpenes on the characteristics and functional properties of egg yolk[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 80: 222-230.
- [27] BENJAKUL S, SUTTHIPAN N. Muscle changes in hard and soft shell crabs during frozen storage[J]. LWT-Food Science and Technology, 2009, 42(3): 723-729.
- [28] CAO Y Y, XIA T L, ZHOU G H, et al. The mechanism of high pressure induced gels of rabbit myosin [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2012, 16: 41-46.
- [29] 鲁耀彬, 熊光权, 李新, 等. 葡聚糖延缓草鱼肌原纤维蛋白冷冻变性的机理分析[J]. 食品科学, 2016, 37(10): 289-294.
- LU Y B, XIONG G Q, LI X, et al. Cryoprotective effect and mechanism of dextran with different molecular weights on denaturation of myofibrillar protein from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. Food Science, 2016, 37(10): 289-294.
- [30] JU Z Y, HETTIARACHCHY N S, RATH N. Extraction, denaturation and hydrophobic properties of rice flour proteins [J]. Journal of Food Science, 2010, 66(2): 229-232.
- [31] SANTE-LHOUTELLIER V, AUBRY L, GATELLIER P. Effect of oxidation on *in vitro* digestibility of skeletal muscle myofibrillar proteins[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(13): 5343-5348.
- [32] ROSENHECK K, DOTY P. The far ultraviolet absorption spectra of polypeptide and protein solutions and their dependence on conformation[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1961, 47(11): 1775-1785.
- [33] WANG K Q, LUO S Z, ZHONG X Y, et al. Changes in chemical interactions and protein conformation during heat-induced wheat gluten gel formation[J]. Food Chemistry, 2017, 214: 393-399.
- [34] LIN D Q, ZHANG L T, LI R J, et al. Effect of plant protein mixtures on the microstructure and rheological properties of myofibrillar protein gel derived from red sea bream (*Pagrosomus major*)[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 96: 537-545.
- [35] SMYTH A B, SMITH D M, ÓNEILL E. Disulfide bonds influence the head-induced chicken breast muscle myosin[J]. Journal of Food Science, 2010, 63(4): 584-588.
- [36] ZHOU X X, CHEN T, LIN H H, et al. Physicochemical properties and microstructure of surimi treated with egg white modified by tea polyphenols [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 90: 82-89.
- [37] 曾添. 卵清蛋白对蓝圆鲹鱼糜凝胶特性的影响[D].

- 厦门: 集美大学, 2022.
- ZENG T. Effects of ovalbumin on gel properties of blue round scad (*Decapterus Maruadis*) surimi[D]. Xiamen: Jimei University, 2022.
- [38] 李政翰. 玉米淀粉-脂肪酸-带鱼肌球蛋白间的相互作用机制研究[D]. 锦州: 渤海大学, 2020.
- LI Z H. Interaction mechanism of corn starch-fatty acid-hairtail myosin[D]. Jinzhou: Bohai University, 2020.
- [39] 汪坤霞. 莲藕淀粉对鲢鱼鱼糜凝胶特性的影响[D]. 武汉: 华中农业大学, 2017.
- WANG K X. Effects of lotus starch on gelation properties of silver carp surimi[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2017.
- [40] 杨玲玲. 卵白蛋白-大豆分离蛋白对肉糜凝胶特性的影响[D]. 南昌: 江西农业大学, 2020.
- YANG L L. Effect of ovalbumin-soybean protein isolate on gelation characteristics of meat[D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2020.
- [41] MOMEN S, SALAMI M, ALAVI F, et al. The techno-functional properties of camel whey protein compared to bovine whey protein for fabrication a model high protein emulsion[J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 101: 543-550.

Effect of Potato Starch-Ovalbumin-Myosin Interaction on Myosin Gel Properties

Liu Zhen¹, Wang Jinxiang¹, Li Xuepeng^{1*}, Li Jianrong¹, Gao Ruichang², Zhang Yuhao³, Yang Qing⁴, Wei Zhengpeng⁴, Ji Guangren⁵

¹School of Food Science and Engineering, Bohai University, National Research and Development Sub-center for Processing Technology of Surimi and Surimi Products, Jinzhou 121013, Liaoning

²College of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, Jiangsu

³College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715

⁴Rongcheng Taixiang Food Products Co., Ltd, Ministry of Agriculture Key Laboratory of Frozen Prepared Marine Foods Processing, Weihai 234309, Shandong

⁵Jinzhou Bijiashan Food Co., Ltd, Jinzhou 121007, Liaoning)

Abstract In this study, myosin isolated from *Nemipterus virgatus* was added with 10% potato starch (PS)-ovalbumin (OVA) complex with different ratios to study the interactions between PS-OVA and myosin as well as their effects on the gel properties of myosin. The component interactions in the PS-OVA-myosin composite system were determined by particle size, zeta potential, sulfhydryl group, surface hydrophobicity and UV spectra, and the effect of PS-OVA-myosin interactions on myosin gel was further disclosed by rheological behavior, intermolecular forces, microstructure, etc. The results showed that after adding 10% PS-OVA complex, the UV absorbance, total sulfhydryl content and surface hydrophobicity of the PS-OVA-myosin composite system increased by 5.53%, 24.28% and 17.53%, respectively, and the net charge decreased by 40.75%, indicating that there were non-covalent and covalent interactions such as hydrophobic interaction, hydrogen bond, and disulfide bond in PS-OVA-myosin composite system, which promoted the conformational change of myosin. Simultaneously, with the increase of PS and decrease of OVA in the exogenous compound, the gel strength, hardness, β -sheet content and storage modulus of the PS-OVA-myosin composite gel increased by 7.68%, 20.10%, 11.03% and 12.07%, respectively, and then decreased to 0.94%, 7.77%, 0.08% and 4.99%. When the ratio of PS-OVA was 3:7, the composite system had the highest UV absorbance, the smallest net charge, and the largest particle size, sulfhydryl content, and surface hydrophobicity. The gel strength, hardness, and β -sheet content of the composite gel were the highest after heating when the ratio of PS-OVA was 3:7, and the gel network was most compact and homogeneous. Conclusion: The PS-OVA complex with mass ratio of 3:7 could promote the component interaction of the PS-OVA-myosin composite system, facilitate the aggregation and cross-linking of myosin through the interaction forces such as hydrophobic interactions, hydrogen bonds, disulfide bonds, etc., fill the myosin gel network, which further improve the gel properties of myosin.

Keywords potato starch; ovalbumin; myosin; interaction; gel property