

4 种多糖对鲢鱼肌球蛋白结构和乳化性的影响

黄香兰^{1,2}, 石林凡^{1,2}, 杨 葵^{1,2}, 翁武银^{1,2}, 任中阳^{1,2*}

(¹集美大学海洋食品与生物工程学院 福建厦门 361021

²鳗鲡产业现代技术教育部工程研究中心 福建厦门 361021)

摘要 以鲢鱼肌球蛋白为原料,分别与壳聚糖、 ι -卡拉胶、 κ -卡拉胶和 λ -卡拉胶复合,研究不同多糖添加量(0~1%)对肌球蛋白-多糖复合物结构和乳化性的影响。采用紫外-可见分光光度计、荧光光谱仪、傅里叶红外光谱仪、纳米粒度电位仪、接触角分析仪等分析多糖-肌球蛋白体系的结构特征和功能特性。结果表明,随多糖添加量的增加,肌球蛋白的浊度呈上升趋势,当多糖添加量为 1.00% 时,肌球蛋白-多糖复合物的浊度分别由 0.22 增加至 0.30, 0.28, 0.34, 0.40, 表面疏水性也呈相同变化趋势。4 种多糖均会使肌球蛋白中 α -螺旋和 β -折叠与 β -转角之间发生不同程度转化。随着壳聚糖与 λ -卡拉胶添加量的增多,肌球蛋白接触角分别从 125.43 和 129.08 减小至 98.53 和 116.25, 在 κ -卡拉胶含量大于 0.5% 时,肌球蛋白接触角呈上升趋势。添加 ι -卡拉胶肌球蛋白具有相同的变化趋势,表明肌球蛋白和多糖形成的大分子可能重排,导致内部的疏水区域发生改变。在 4 种多糖添加量为 0.5% 时,肌球蛋白的乳化稳定性较好,其中 κ -卡拉胶更有利于肌球蛋白的乳化稳定性。结论:适量多糖可改善鲢鱼肌球蛋白乳化稳定性,为多糖-鲢鱼蛋白质复合乳化的应用提供理论基础。

关键词 鲢鱼; 肌球蛋白; 多糖; 蛋白结构; 乳化性

文章编号 1009-7848(2025)01-0093-10 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2025.01.009

鲢鱼产量高,是我国主要的淡水养殖鱼类之一,具有易养殖,生长速度快,成本低等特点^[1]。鲢鱼富含水分和蛋白质,品质易劣变^[2]。目前,随着鲢鱼产量的日益增加,作为中国主要的低值鱼类之一,其精深加工和综合利用至关重要。作为鱼肉的主要蛋白质,肌球蛋白功能特性直接影响鱼肉制品的品质,如肉糜制品的硬度、弹性、风味和保水性等^[3]。肌球蛋白的两亲性有利于形成界面蛋白膜,降低油水界面张力,提高乳状液体系的物理稳定性^[4]。目前,蛋白质乳液在食品领域广泛应用。影响蛋白质乳化性的因素主要有添加物、物理条件、离子强度等^[5]。其中,多糖作为一类生物大分子,可以通过分子间相互作用力,增加蛋白质乳液体系黏度,提高乳液稳定性^[6]。有研究发现,添加海藻酸钠会使蛋白质分子间静电排斥力增强,从而防止

肌原纤维蛋白聚集,提高其乳液分散体的稳定性^[7]。

然而,多糖和蛋白质之间的作用效果往往受多糖种类和黏度等的影响,导致其乳化性的差异。了解不同种类多糖和肌球蛋白之间的相互作用,对于改善肌球蛋白的乳化性质至关重要。壳聚糖是唯一的天然阳离子多糖,可与蛋白质形成复合颗粒,从而稳定皮克林乳液^[8]。有研究表明,采用添加 0.1% 多糖(瓜尔胶、壳聚糖)与高强度超声处理可以提高低盐肌球蛋白乳液稳定性^[9]。卡拉胶是一种高黏度大分子硫基阴离子多糖,根据硫酸酯结合形态的不同主要分为 κ -型、 ι -型、 λ -型 3 种形式。Shimoni 等^[10]研究发现 ι -卡拉胶与乳铁蛋白复合可以提高乳液稳定性。然而,目前关于多糖对肌球蛋白结构性质和乳化性的影响有待深入研究。本研究通过探究多糖种类及添加量对肌球蛋白结构和乳化特性的影响,为多糖在乳化型鱼肉制品中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

花鲢,厦门新华都购物广场有限公司。现场宰杀后置于冰盒中拿回实验室,纯水洗净后,用自封

收稿日期: 2024-01-26

基金项目: “十四五”国家重点研发计划重点专项(2021YFD210020202, 2021YFD210020404);福建省自然科学基金面上项目(2021J01835);福建省中青年教育科研项目(JAT200268);福建省种业创新与产业化项目(2021FJSCZY01)

第一作者: 黄香兰,女,硕士生

通信作者: 任中阳 E-mail: rzy0529@jmu.edu.cn

袋封装, -24 °C 冷冻贮藏。

氯化钾、六水合氯化镁、尿素、溴酚蓝(Bromophenol blue, BPB), 西陇科学股份有限公司; 壳聚糖(黏度 100~200 mPa·s, 脱乙酰度 ≥95%)、乙酸镁、ATP、β-巯基乙醇、5,5'-二巯基双-2-硝基苯甲酸 [5,5-Dithio bis-(2-nitrobenzoic acid), DTNB], 上海麦克林生化科技有限公司; κ-卡拉胶、ι-卡拉胶、λ-卡拉胶, 默克化工技术(上海)有限公司; EGTA, 上海捷瑞生物工程有限公司; 甘氨酸, 美国 Sigma 公司; 十二烷基磺酸铵(Sodium dodecyl sulfate, SDS), 美国 Bio-Rad 公司; 三羟甲基氨基甲烷 [Tris (hydroxymethyl)aminomethane, Tris], 美国 Bio-Rad 公司; 所有分离用有机溶剂均为国产分析纯级。

1.2 仪器与设备

紫外-可见分光光度计, 上海元析仪器有限公司; 高速冷冻离心机, 美国 Beckman 公司; 荧光光谱仪, 美国 Agilent 公司; 傅里叶红外光谱仪, 美国赛默飞世尔科技公司; 纳米粒度电位仪, 英国 Malvern 公司; 接触角分析仪, 东莞市晟鼎精密仪器有限公司; 冷冻干燥机, 日本 Yamato 科学株式会社。

1.3 方法

1.3.1 肌球蛋白的提取 参考 Shi 等^[11]的方法略有改动。取鲢鱼背部碎肉 200 g, 加入 10 倍体积的缓冲液 A (0.1 mol/L KCl, 20 mmol/L Tris-HCl, pH 7.5), 均质 2 min, 4 °C 下放置 15 min 后过滤, 4 °C 下 9 000×g 离心 15 min, 收集沉淀。加入 5 倍体积的缓冲液 B (0.45 mol/L KCl, 5 mmol/L β-巯基乙醇, 0.2 mol/L Mg(CH₃COO)₂, 1 mmol/L EGTA, 20 mmol/L Tris-HCl, pH 6.8) 和 ATP 使终浓度达到 10 mmol/L, 在 4 °C 放置 90 min, 9 000×g 离心 15 min。收集的上清液用 7 倍体积的 1 mmol/L KHCO₃ 稀释, 在 4 °C 下放置 8 h, 9 000×g 离心 15 min, 收集沉淀。沉淀溶解于 2.5 倍体积的缓冲液 C (0.5 mol/L KCl, 5 mmol/L β-巯基乙醇, 20 mmol/L Tris-HCl, pH 7.5), 混匀, 在 4 °C 放置 10 min。加入 5 倍的 1 mmol/L KHCO₃, 并添加 MgCl₂ 至 10 mmol/L, 在 4 °C 下静置过夜, 9 000×g 离心 15 min, 所得固体即为肌球蛋白, 冻干备用。

1.3.2 肌球蛋白-多糖复合溶液的制备 参考

Zhou 等^[12]方法略作修改。称取 0.5 g 冻干肌球蛋白于 50 mL 水化过夜制成 10 mg/mL 肌球蛋白溶液, 壳聚糖、κ-卡拉胶、ι-卡拉胶、λ-卡拉胶分别以质量分数 0.25%、0.5%、0.75%、1% 的比例添加到 10 mg/mL 的肌球蛋白溶液中, 调 pH 值至 7.0, 10 000 r/min 下将上述溶液均质 1 min, 冻干备用。

1.3.3 浊度测定 根据梁雯雯等^[13]的方法略作修改。将肌球蛋白-多糖复合液用去离子水稀释成 1 mg/mL, 充分混匀后, 利用紫外-可见分光光度计于波长 320 nm 处测其吸光度, 以吸光度表示蛋白质浊度。

1.3.4 表面疏水性测定 参考 Li 等^[14]的方法并略作修改。10 mg/mL 肌球蛋白-多糖复合液用去离子水稀释至 5 mg/mL, 取 2 mL 悬浮液与 200 μL 溴酚蓝溶液 (1 mg/mL) 充分混合。对照组为 2 mL 去离子水与 200 μL 溴酚蓝溶液的混合溶液。10 000 r/min 离心 15 min, 上清液稀释 50 倍后, 利用紫外-可见分光光度计在波长 595 nm 处测定其吸光值。表面疏水基团含量计算如下:

$$\text{表面疏水基团含量}(\mu\text{g}) = 200 \times (A_0 - A_s) / A_0 \quad (1)$$

式中: A_0 和 A_s 分别为对照组和样品的吸光度。

1.3.5 内源荧光光谱测定 参考 Li 等^[15]方法稍作修改。将肌球蛋白-多糖复合液用去离子水稀释成 1 mg/mL, 利用荧光光谱仪进行测定。激发波长为 283 nm, 激发和发射狭缝宽度均设置为 5 nm, 发射波长扫描范围为 300~500 nm。

1.3.6 FTIR 参考 Liu 等^[16]的方法略有改动。称取冻干的肌球蛋白-多糖复合物 1 mg, 在玛瑙钵中研磨 1 min, 再加入 0.1 g 溴化钾研磨 5 min, 压力为 25 MPa, 时间 2 min。利用傅里叶红外光谱仪 (Fourier infrared spectrometer, FTIR) 测定, 扫描范围为 400~4 000 cm⁻¹。

1.3.7 接触角的测定 参考吴昱春等^[17]的方法稍作修改。称取 0.1 g 冻干的肌球蛋白-多糖复合物, 压片机在 24 MPa 下维持 30 s 压片, 压片放入油相, 超纯水滴滴到压片上, 计时 3 min, 利用接触角分析仪记录液滴图像并计算接触角。

1.3.8 乳化性的测定 参考马思丽等^[18]的方法并略作修改。10 g/L 肌球蛋白悬浮液和大豆油按体

积比 1:1 混合, 22 000 r/min 均质 2 min。0.05 mL 乳液用 SDS 溶液 (1 mg/mL) 稀释 1 000 倍, 在 0 min 和 20 min 用紫外-可见分光光度计在波长 500 nm 处测定其吸光度, SDS 溶液作对照。根据以下公式计算乳化活性 (Emulsifying activity index, EAI) 和乳化稳定性 (Emulsifying stability index, ESI):

$$\text{EAI}(\text{m}^2/\text{g}) = (2.303 \times 2 \times A_0 \times N) / (c \times \Phi \times 10000) \quad (2)$$

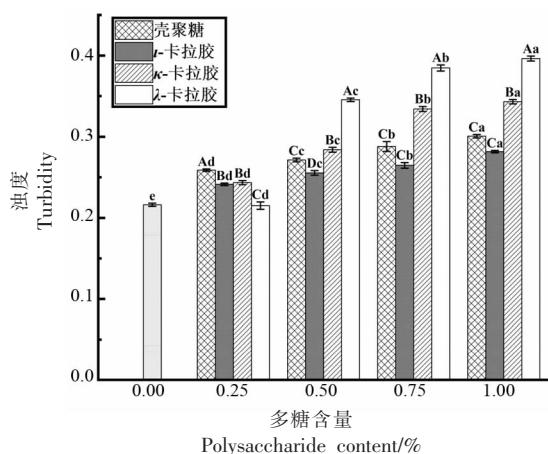
$$\text{ESI}(\%) = 20 \times A_0 / (A_0 - A_{20}) \quad (3)$$

式中: A_0 为测定的新鲜稀释乳液的吸光度; N 为稀释因子, 数值为 500; c 为溶液的蛋白质质量浓度, g/mL, 数值为 0.1; Φ 为大豆油占乳液的体积分数, 数值为 50%; A_{20} 为稀释乳液 20 min 后的吸光度。

2 结果与分析

2.1 多糖对肌球蛋白浊度的影响

浊度是衡量蛋白质结构特性的一个重要指标。蛋白质和多糖之间产生复合作用时, 随着溶液 pH 值和蛋白质/多糖比例的不同, 复合物溶液的浊度也会发生变化^[19]。由图 1 可知, 4 种多糖在同一添加量的条件下, 浊度差异均显著 ($P < 0.05$)。随着多糖添加量的增加, 肌球蛋白浊度均呈上升趋势, 当多糖添加量为 1.00% 时, 4 种多糖浊度分别



注: 不同大写字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$); 不同小写字母代表组内差异显著 ($P < 0.05$)。

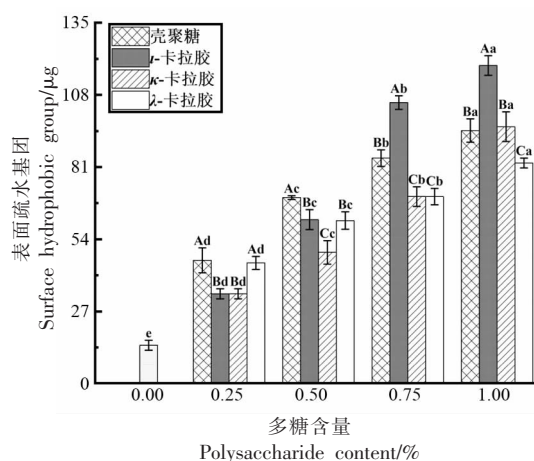
图 1 多糖对肌球蛋白浊度的影响

Fig.1 Effect of polysaccharide on myosin turbidity

由 0.22 增加至 0.30, 0.28, 0.34, 0.40。表明多糖增加使肌球蛋白发生聚集, 聚集后粒径变大, 吸光度变大, 浊度增加^[20]。壳聚糖是阳离子多糖, 添加壳聚糖混合体系浊度增加, 这是由于带负电荷的蛋白质和带正电荷的壳聚糖之间的静电吸引程度增强形成大的聚集体, 这表明蛋白质和多糖之间的相互作用导致浑浊度增加^[21]。Chen 等^[22]研究发现结合高压处理可以显著提高肌球蛋白-κ-卡拉胶的浊度, 与本研究结果相似。当多糖添加量大于 0.5% 时, λ-卡拉胶浊度高于其它 3 种多糖, 这是因为 λ-卡拉胶的糖苷单元是由 3 个硫酸根基团构成, 平均电荷密度高于 κ-卡拉胶和 ι-卡拉胶^[23]。

2.2 多糖对肌球蛋白表面疏水性的影响

表面疏水性是蛋白质的重要特性之一。表面疏水性可以反映蛋白疏水基团的暴露与掩埋, 同时疏水相互作用力是维持蛋白三级结构的主要作用力, 表面疏水性的增大通常代表着蛋白质发生变性, 氧化加剧, 折叠部分解开, 导致内部疏水性氨基酸残基暴露^[24]。多糖对肌球蛋白表面疏水性的影响, 如图 2 所示。在同一多糖添加量条件下, 肌球蛋白的表面疏水性差异均显著 ($P < 0.05$), 随着 4 种多糖添加量的增加, 肌球蛋白的表面疏水性均增加。当多糖添加量大于 0.5% 时, ι-卡拉胶表面疏水性显著大于其它 3 种多糖, 这是由于 ι-



注: 不同大写字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$); 不同小写字母代表组内差异显著 ($P < 0.05$)。

图 2 多糖对肌球蛋白表面疏水性的影响

Fig.2 Effect of polysaccharide on surface hydrophobicity of myosin

卡拉胶是有规则的双螺旋型的构象^[23],添加量增加,蛋白质间的疏水相互作用增强。研究表明添加多糖会诱导肌球蛋白结构伸展,蛋白质内部的疏水基团暴露,从而使其表面疏水性增加^[24]。杨振^[25]研究发现,随魔芋胶添加量的增加,鲤鱼肌纤维蛋白的表面疏水性也呈逐渐增大的趋势,这与本试验研究结果相似。

2.3 多糖对肌球蛋白内源荧光的影响

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,可表征蛋白质分子三级结构的变化^[26]。由图3可知,随着复合体系多糖含量增加,肌球蛋白内源荧光强度均呈逐渐增大趋势,表明多糖与肌球蛋白混合使其三级结构发生变化,位于蛋白质内部的芳香族氨基酸分子的侧链基团暴露,肌球蛋白分子中色氨

酸残基的微环境发生了改变,使得其内源荧光强度上升^[27]。添加壳聚糖和 κ -卡拉胶的肌球蛋白溶液的荧光强度高于对照组,而添加 ι -卡拉胶和 λ -卡拉胶的肌球蛋白溶液的荧光强度均低于对照组。这可能是因为 ι -卡拉胶和 λ -卡拉胶分别与肌球蛋白通过静电相互作用形成复合物,蛋白质分子上的色氨酸残基在结合中被掩盖^[28]。结合表面疏水性结果分析,添加壳聚糖和 κ -卡拉胶使肌球蛋白结构伸展,疏水的色氨酸残基暴露,蛋白质结构从紧实转变成松散,三级结构发生改变^[29]。而添加 ι -卡拉胶和 λ -卡拉胶使肌球蛋白结构展开,色氨酸残基暴露,由于 ι -卡拉胶和 λ -卡拉胶的硫酸酯基较多,促进蛋白质静电相互作用,造成分子再聚集,进一步导致更多色氨酸残基被包埋于疏水区域,蛋白结构发生改变^[30]。

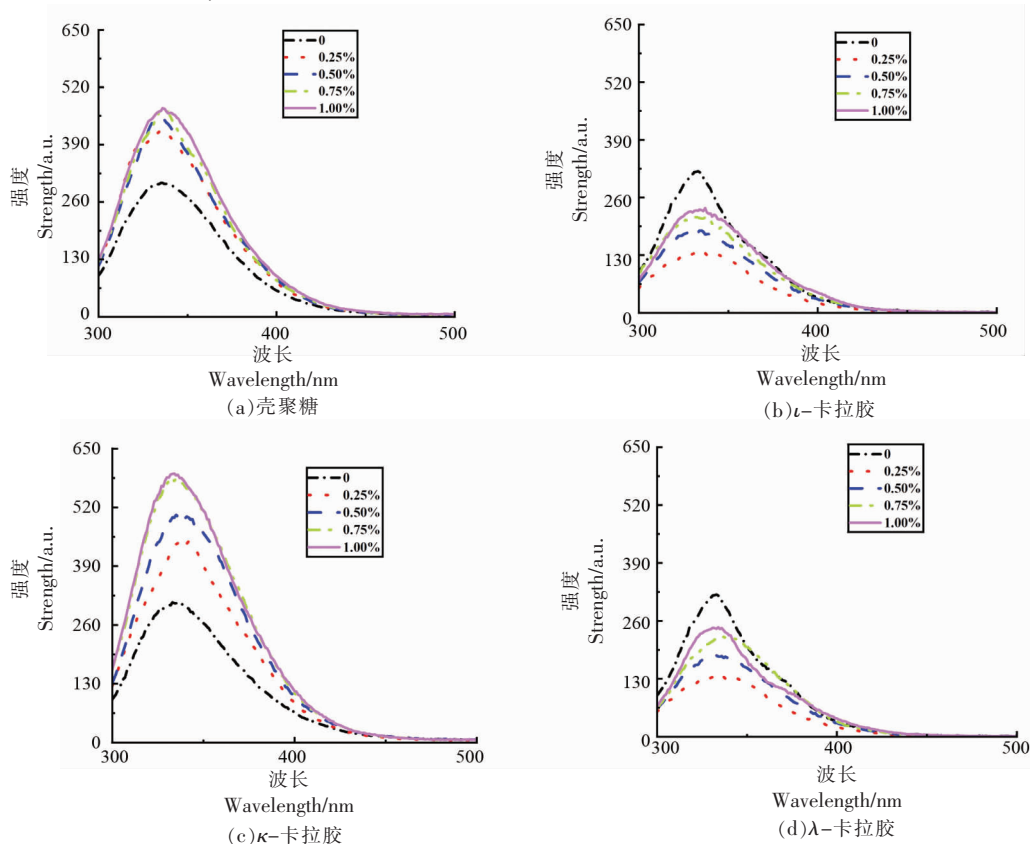


图3 多糖对肌球蛋白内源荧光的影响

Fig.3 Effect of polysaccharide on endogenous fluorescence of myosin

2.4 多糖对肌球蛋白二级结构的影响

FTIR 可反映蛋白质二级结构的变化和蛋白质的变性程度。鲢鱼肌球蛋白/多糖复合的主要吸

收峰有酰胺 A 带、酰胺 B 带、酰胺 I 带、酰胺 II 带和酰胺 III 带,如图4所示。酰胺 A 带为 O-H 伸缩振动,酰胺 B 带表示肌球蛋白的 CH₃ 和 CH₂ 官能

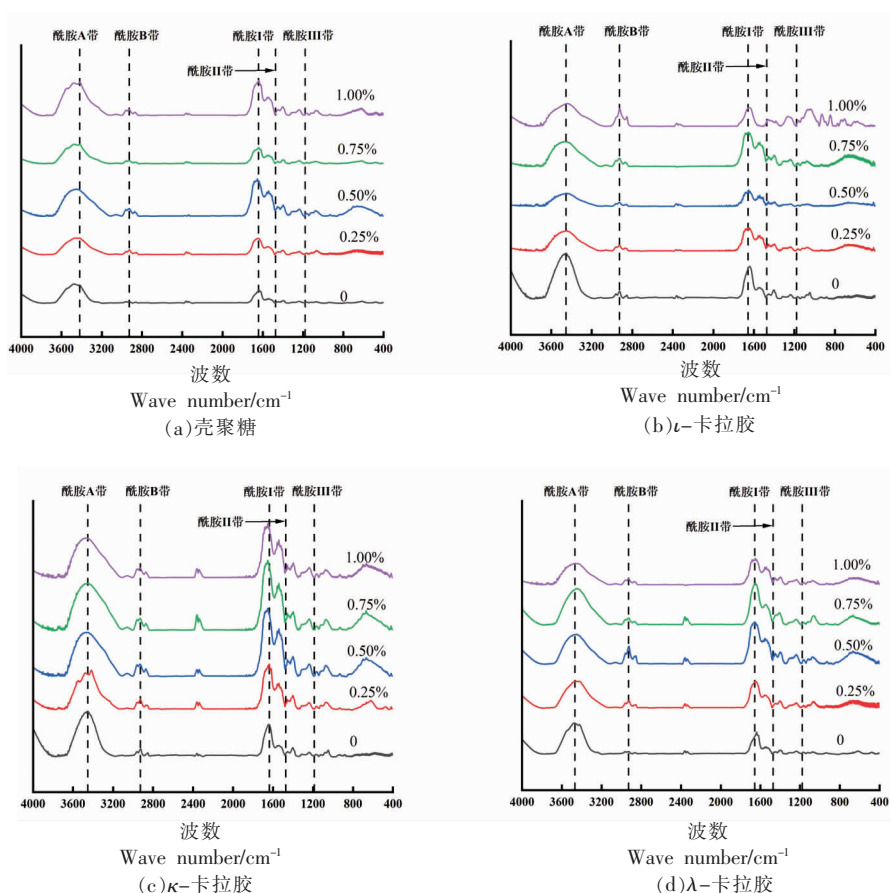


图 4 多糖对肌球蛋白二级结构影响的傅里叶红外光谱

Fig.4 FTIR of the effect of polysaccharide on myosin secondary structure

团的 C-H 伸缩振动峰,酰胺 I 带的振动主要是由 C=O 拉伸振动引起,而酰胺 II 带为 N-H 弯曲振动和 C-N 拉伸振动,酰胺 III 带是由肽键的 C-N 伸缩振动得到^[31]。肌球蛋白/多糖混合物的二级结构比例反卷积分析和峰值拟合结果,如图 5 所示。随壳聚糖含量增加,肌球蛋白中 α -螺旋和 β -折叠含量先上升后下降, β -转角含量呈下降趋势。随 ι -卡拉胶添加量增多, α -螺旋和 β -折叠与 β -转角之间发生了转化。添加 κ -卡拉胶的肌球蛋白二级结构变化与添加壳聚糖呈现相似的变化趋势。随 λ -卡拉胶添加量增多,肌球蛋白的 α -螺旋和 β -折叠呈下降趋势, β -转角则相反。 α -螺旋和 β -折叠结构是蛋白质与多糖结合相互作用的主要结构区域。 α -螺旋是紧密而无空腔的结构,是维持蛋白质结构稳定性的重要结构, β -折叠 β -转角和无规则卷曲与 α -螺旋结构相比,它们的紧密程度和构象稳定性明显较差,而蛋白质的柔韧条件明显改

善^[32]。4 种多糖加入会使肌球蛋白中 α -螺旋和 β -折叠与 β -转角之间发生转化,这与汤嘉慧等^[33]研究结果相似。二级结构变化说明 4 种多糖促进了肌球蛋白构象转变,使肌球蛋白结构展开,有利于和多糖发生相互作用^[34]。

2.5 多糖对肌球蛋白接触角的影响

在宏观上通常用接触角表示亲疏水性,接触角越大表明疏水性越强。由表 1 可知,随壳聚糖含量增加,肌球蛋白接触角越来越小,表明壳聚糖会促使肌球蛋白亲水性增强。 λ -卡拉胶添加也呈现相同的趋势。这是由于壳聚糖的羟基和蛋白质的氨基与水分子之间存在很强的氢键,引起蛋白质的空间结构重新排列,促使极性基团暴露,增加其亲水性^[35]。而随 κ -卡拉胶添加量增多,肌球蛋白接触角逐渐下降,当 κ -卡拉胶含量大于 0.5% 时,肌球蛋白接触角呈上升趋势, ι -卡拉胶添加肌球蛋白具有相同的变化趋势。 ι -卡拉胶和 κ -卡拉胶都

是螺旋型的构象,添加量过大会引起疏水性增加。周燕子^[36]研究发现,在 κ -卡拉胶高浓度下(0.75%~1%)肌球蛋白表面疏水性上升,这与本试验结果

相似。多糖添加后表面疏水性显著升高(图2),表明肌球蛋白和多糖形成的大分子可能重排,导致内部的疏水区域发生改变。

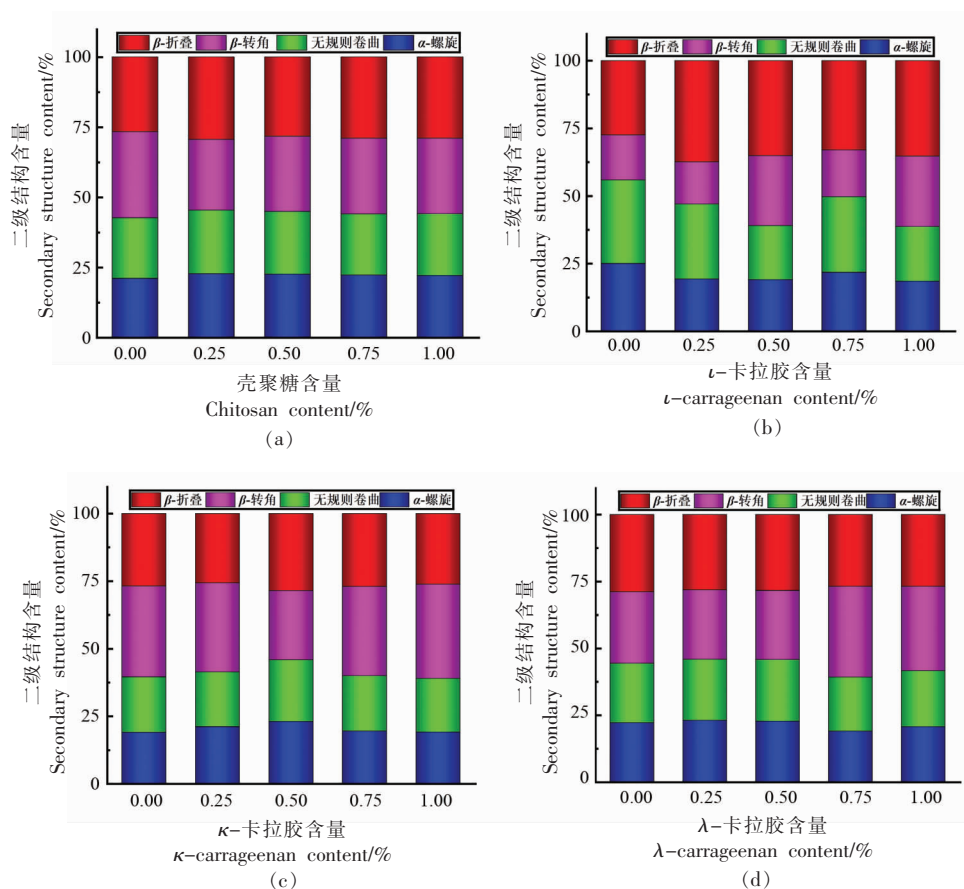


图5 多糖对肌球蛋白二级结构的影响

Fig.5 Effect of polysaccharide on myosin secondary structure

表1 多糖对肌球蛋白接触角的影响

Table 1 Effect of polysaccharide on myosin contact angle

多糖含量/%	接触角/ $^{\circ}$			
	壳聚糖	ι -卡拉胶	κ -卡拉胶	λ -卡拉胶
0	125.43 \pm 2.01	122.22 \pm 2.53	127.31 \pm 0.64	129.08 \pm 0.61
0.25	122.22 \pm 2.53	117.69 \pm 0.79	116.26 \pm 1.23	128.64 \pm 1.23
0.50	115.11 \pm 0.41	109.28 \pm 0.90	113.89 \pm 2.97	126.26 \pm 4.60
0.75	107.34 \pm 1.84	124.01 \pm 0.69	116.15 \pm 5.28	124.43 \pm 3.44
1.00	98.53 \pm 0.99	122.97 \pm 2.85	125.46 \pm 0.67	116.25 \pm 2.03

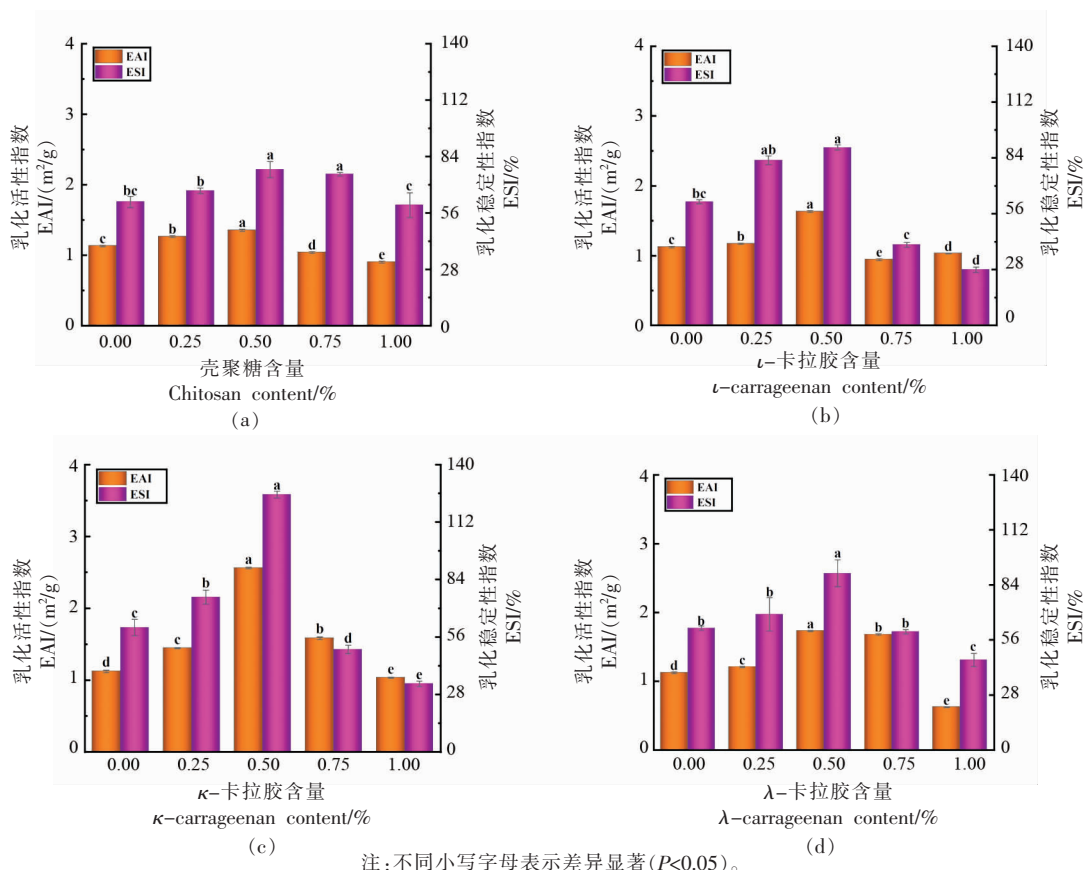
2.6 多糖对肌球蛋白乳化性的影响

EAI 和 ESI 是评价蛋白质乳化性能的常用指标,分别反映了形成乳状液的能力及其稳定性^[37]。4种多糖对肌球蛋白乳化活性的影响,如图6所示。随着4种多糖添加量的增加,肌球蛋白的EAI

均呈先上升后下降的趋势,4种多糖添加量为0.5%时,肌球蛋白的EAI达到最大值,而高添加量的多糖导致其EAI下降。这可能是由于分子间相互结合聚集,阻碍了蛋白质快速到达并吸附在油水界面上^[6]。随着多糖含量的增多,肌球蛋白的

ESI 也呈先上升后下降的趋势,可能是因为一定浓度范围内多糖含量的增加使蛋白质乳液体系黏度升高进而限制油滴聚集,提高了乳液的稳定性。然而,多糖含量过多,使连续相中未吸附的多糖含量升高,进而引发乳液液滴间桥接絮凝,导致蛋白质

乳液失稳^[38]。在多糖添加量为 0.5% 时, κ -卡拉胶/肌球蛋白乳液稳定性高于其它 3 种多糖,这可能是因为一定浓度 κ -卡拉胶可以增加肌球蛋白乳液体系黏度及界面厚度,防止乳滴聚集,从而提高其稳定性^[39]。



注:不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

图 6 多糖对肌球蛋白乳化性的影响

Fig.6 Effect of polysaccharide on emulsification of myosin

3 结论

添加壳聚糖、 ι -卡拉胶、 κ -卡拉胶、 λ -卡拉胶均可以改善肌球蛋白乳化性质,随多糖添加量的增加,肌球蛋白浊度、表面疏水性、内源荧光强度均呈上升趋势。多糖会诱导肌球蛋白结构伸展,蛋白质内部的疏水基团暴露,从而增加其表面疏水性。添加 4 种多糖会不同程度促使肌球蛋白中 α -螺旋和 β -折叠与 β -转角之间发生相互转化。壳聚糖与 λ -卡拉胶的添加使肌球蛋白接触角减小。而当 ι -卡拉胶和 κ -卡拉胶含量大于 0.5% 时,肌球蛋白接触角则呈上升趋势。4 种多糖在不同程度改变了肌球蛋白的乳化性能,其中添加 0.5% κ -

卡拉胶的肌球蛋白乳化稳定性高于添加其它 3 种多糖。相关研究结果可以为构建肌球蛋白-多糖复合乳液提供数据支撑,有助于拓宽肌球蛋白在食品领域的应用。

参 考 文 献

- [1] 陈日春. 鲢鱼鱼鳞酶溶性胶原蛋白提取工艺的优化[J]. 中国食品学报, 2014, 14(1): 129-133.
CHEN R C. Optimization of conditions for extraction pepsin-soluble collagen from the scale of silver carp (*Hypophthalmichthys Molitrix*)[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2014, 14

- (1): 129–133.
- [2] 贾世亮, 杨月, 贾志芳, 等. 低分子质量壳寡糖对鲢鱼冷藏过程中鱼肉品质及菌相的影响[J]. 肉类研究, 2022, 36(11): 17–22.
JIA S L, YANG Y, JIA Z F, et al. Effects of low-molecular-mass chitosan oligosaccharides on the quality and microbiota of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during chilled storage[J]. Meat Research, 2022, 36(11): 17–22.
- [3] YUAN L, KONG Y F, LENG W J, et al. L-glutamic acid affects myosin aggregation and the physical properties of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) surimi gels [J]. Food Bioscience, 2021, 40(1): 100886.
- [4] 李媛媛, 刘骞, 汪海棠, 等. 阿拉伯树胶-肌原纤维蛋白共建乳液体系的物理稳定性[J]. 食品科学, 2017, 38(11): 182–189.
LI Y Y, LIU Q, WANG H T, et al. Physical stability of complex emulsion systems containing myofibrillar protein and different concentrations of Arabic gum[J]. Food Science, 2017, 38(11): 182–189.
- [5] LI C Q, XIONG Y L, CHEN J. Protein oxidation at different salt concentrations affects the cross-linking and gelation of pork myofibrillar protein catalyzed by microbial transglutaminase [J]. Journal of Food Science, 2013, 78(6): 823–831.
- [6] 缪雨雁, 曹燕, 立静芝, 等. 不同黏度多糖阿拉伯胶和瓜尔胶对肌原纤维蛋白乳化性质的影响[J]. 食品科学, 2023, 44(6): 57–64.
MIAO Y Y, CAO Y, LI J Z, et al. Effects of arabic gum and guar gum, polysaccharides with different viscosity, on the emulsifying properties of myofibrillar protein [J]. Food Science, 2023, 44(6): 57–64.
- [7] ZHAO N, ZOU H N, SUN S, et al. The interaction between sodium alginate and myofibrillar proteins: The rheological and emulsifying properties of their mixture [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 161: 1545–1551.
- [8] DONG Y, WEI Z H, WANG Y M, et al. Oleogel-based Pickering emulsions stabilized by ovotransferrin-carboxymethyl chitosan nanoparticles for delivery of curcumin[J]. LWT, 2022, 157: 113121.
- [9] GAO T X, ZHAO X, LI R, et al. Synergistic effects of polysaccharide addition-ultrasound treatment on the emulsified properties of low-salt myofibrillar protein[J]. Food hydrocolloids, 2022, 123: 107143.
- [10] SHIMONI G, LEVI C S, TAL S L, et al. Emulsions stabilization by lactoferrin nano-particles under *in vitro* digestion conditions[J]. Food Hydrocolloids, 2013, 33(2): 264–272.
- [11] SHI T, LIU H, SONG T, et al. Use of L-arginine-assisted ultrasonic treatment to change the molecular and interfacial characteristics of fish myosin and enhance the physical stability of the emulsion[J]. Food Chemistry, 2021, 342: 128314.
- [12] ZHOU Y Z, CHEN C G, CHEN X, et al. Contribution of three ionic types of polysaccharides to the thermal gelling properties of chicken breast myosin [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(12): 2655–2662.
- [13] 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, 2021, 42(21): 24–31.
- [14] LI K, FU L, ZHAO Y Y, et al. Use of high-intensity ultrasound to improve emulsifying properties of chicken myofibrillar protein and enhance the rheological properties and stability of the emulsion [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 98: 105275.
- [15] LI R, GUO M Y, LIAO E, et al. Effects of repeated freezing and thawing on myofibrillar protein and quality characteristics of marinated Enshi black pork [J]. Food Chemistry, 2022, 378: 131994.
- [16] LIU J H, FANG C H, XU X, et al. Structural changes of silver carp myosin glycosylated with konjac oligo-glucomannan: Effects of deacetylation [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 91(6): 275–282.
- [17] 吴昱春, 陈小草, 张琦, 等. Pickering乳液稳定机理及其在食品中的应用研究进展[J]. 食品科学, 2021, 42(7): 275–282.
WU Y C, CHEN X C, ZHANG Q, et al. Stability mechanism of Pickering emulsion and its application in food industry: A review [J]. Food Science, 2021, 42(7): 275–282.
- [18] 马思丽, 杨波, 李亚蕾, 等. 羟自由基氧化对牛肌原纤维蛋白结构与乳化性能的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(6): 8–16.
MA S L, YANG B, YANG Y L, et al. Effect of

- hydroxyl radical oxidation on the structure and emulsifying properties of beef myofibrillar protein[J]. Food Science, 2022, 43(6): 8-16.
- [19] MEIGUNI M S M, SALAMI M, REZAEI K, et al. Fabrication and characterization of a succinyl mung bean protein and arabic gum complex coacervate for curcumin encapsulation [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 224: 170-180.
- [20] MIAO W H, NYAISABA B M, KODDY J K, et al. Effect of cold atmospheric plasma on the physicochemical and functional properties of myofibrillar protein from Alaska pollock (*Theragra chalcogramma*)[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2019, 55(2): 517-525.
- [21] ROY J C, SALAÜN F, GIRAUD S, et al. Surface behavior and bulk properties of aqueous chitosan and type-B gelatin solutions for effective emulsion formulation[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 173: 202-214.
- [22] CHEN X, CHEN C G, ZHOU Y Z, et al. Effects of high pressure processing on the thermal gelling properties of chicken breast myosin containing κ -carrageenan[J]. Food Hydrocolloids, 2014, 40: 262-272.
- [23] 李兴飞. 大豆乳清蛋白与多糖的复合作用以及蛋白质组分的选择性提取[D]. 无锡: 江南大学, 2017.
- LI X F. Soybean whey proteins-polysaccharide complexation and the selective extraction of proteins[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017.
- [24] 周昕仪, 游刚, 高可安, 等. 凉粉草多糖对鱼肌球蛋白理化性质和结构特征的影响[J]. 食品科学, 2023, 4(44): 48-56.
- ZHOU X Y, YOU G, GAO K A, et al. Effects of *Mesona chinensis* Benth polysaccharide on the physicochemical properties and structural characteristics of myosin[J]. Food Science, 2023, 4(44): 48-56.
- [25] 杨振. 魔芋粉、转谷氨酰胺酶和大豆分离蛋白对鲤鱼肌原纤维蛋白凝胶特性的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2012.
- YANG Z. Effects of konjac flour, transglutaminase and soybean protein isolate on gel properties of common carp myofibrillar protein[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2012.
- [26] DAI H J, CHEN X K, 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.
- [27] ZHANG L, WANG P, YANG Z Y, et al. Molecular dynamics simulation exploration of the interaction between curcumin and myosin combined with the results of spectroscopy techniques[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 101: 105455.
- [28] 黎钧铸, 黄文晶, 沈汪洋, 等. 卡拉胶/ α -淀粉酶复合冻融稳定性对馒头的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2022, 41(11): 82-89.
- LI J T, HUANG W J, SHEN W Y, et al. Effects of freeze-thaw stability of carrageenan/ α -amylase complex on steamed bread [J]. Food Science And Biotechnology, 2022, 41(11): 82-89.
- [29] 马婕, 杨晓雪, 迟玉杰, 等. 超声处理协同壳聚糖对蛋黄液乳化性质及蛋黄蛋白质结构的影响[J]. 食品科学, 2023, 44(21): 81-89.
- MA J, YANG X X, CHI Y J, et al. Effect of ultrasonic treatment with chitosan on emulsification properties of egg yolk liquid and protein structure of egg yolk[J]. Food Science, 2023, 44(21): 81-89.
- [30] XU H, GAO Z W, HUANG M C, et al. Static stability of partially crystalline emulsions stabilized by milk proteins: Effects of κ -carrageenan, λ -carrageenan, ι -carrageenan, and their blends[J]. Food Hydrocolloids, 2023, 147: 109387.
- [31] PAL G K, SURESH P V. Comparative assessment of physico-chemical characteristics and fibril formation capacity of thermostable carp scales collagen[J]. Materials Science & Engineering C, 2017, 70(2): 32-40.
- [32] 穆利霞. 大豆蛋白-糖接枝改性及其结构与功能特性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2010.
- MU L X. The research of conformation and functional properties of soy protein-saccharide conjugates [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2010.
- [33] 汤嘉慧, 郭全友, 邹咪, 等. κ -卡拉胶/ K^+ 凝胶体系对鱼糜凝胶特性和流变的影响[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(16): 86-92.
- TANG J H, GUO Q Y, ZOU M, et al. Effects of κ -carrageenan/ K^+ gel system on surimi gel properties and rheology [J]. Food and Fermentation Industry, 2020, 46(16): 86-92.
- [34] 王丽杰. 乳清分离蛋白/ λ -卡拉胶相互作用及其复合物功能性研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2019.

- WANG L J. Studies on the interaction of whey protein isolate/ λ -carrageenan and the functional properties of their complex[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2019.
- [35] 张一鸣. 壳聚糖-鳕鱼皮蛋白水解物复合膜的制备及其在猪肉保鲜的应用[D]. 沈阳: 辽宁大学, 2023.
- ZHANG Y M. Preparation of chitosan-cod skin protein hydrolysate composite film and application in pork preservation[D]. Shenyang: Liaoning University, 2023.
- [36] 周燕子. 三种离子特性多糖对肌球蛋白凝胶特性的影响[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2014.
- ZHOU Y Z. Effects of three ionic types of polysaccharide on the thermal gelling properties of myosin [D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2014.
- [37] DAI H J, SUN Y, XIA W Y, et al. Effect of phospholipids on the physicochemical properties of myofibrillar proteins solution mediated by NaCl concentration[J]. LWT, 2021, 141: 110895.
- [38] HUANG H, BELWAL T, AALIM H, et al. Protein-polysaccharide complex coated W/O/W emulsion as secondary microcapsule for hydrophilic arbutin and hydrophobic coumaric acid[J]. Food Chemistry, 2019, 300: 125171.
- [39] 朱秀清, 王婵, 孙禹凡, 等. 多糖对大豆分离蛋白乳液及乳液凝胶性质的影响[J]. 东北大学学报, 2020, 51(2): 45-52.
- ZHU X Q, WANG C, SUN Y F, et al. Effect of polysaccharides on soybean protein isolate emulsion and emulsion gel[J]. Journal of Northeastern University, 2020, 51(2): 45-52.

Effects of Four Kinds of Polysaccharides on Structural and Emulsifying Properties of Silver Carp Myosin

HUANG Xianglan^{1,2}, SHI Linfan^{1,2}, YANG Shen^{1,2}, WENG Wuyin^{1,2}, REN Zhongyang^{1,2*}
¹College of Ocean Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen 361021, Fujian
²Engineering Research Center of the Modern Technology for Eel Industry, Ministry of Education, Xiamen 361021, Fujian)

Abstract Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) was used as a raw material. The effects of four kinds of polysaccharide (0-1%) on the structure and emulsification properties of myosin-polysaccharide complexes were determined after the addition of chitosan, ι -carrageenan, κ -carrageenan and λ -carrageenan, respectively. Ultraviolet-visible spectrophotometer, fluorescence spectrometer, Fourier infrared spectrometer, nanoparticle zetasizer and contact Angle analyzer were used to analyze the structural and functional characteristics of myosin treated by four kinds of polysaccharides. The results showed that the turbidity increased with the increase of polysaccharide content. When the polysaccharide content was 1.00%, the turbidity of myosin-polysaccharide complexes after addition of chitosan, ι -carrageenan, κ -carrageenan and λ -carrageenan increased from 0.22 to 0.30, 0.28, 0.34 and 0.40, respectively, and the surface hydrophobicity also increased. The α -helix and β -sheet of myosin interconverted with β -turn after treating with four kinds of polysaccharides. The contact angle of myosin decreased from 125.43 and 129.08 to 98.53 and 116.25, respectively, with the increase of chitosan and λ -carrageenan addition. When κ -carrageenan content was greater than 0.5%, the contact angle of myosin increased and the addition of ι -carrageenan possessed the same change trend, indicating that the macromolecules formed by myosin and polysaccharides might be rearranged to change the hydrophobic region in the interior. The emulsifying stability of myosin treated with four kinds of polysaccharides reached the peak at the content of 0.5%. Meanwhile, the emulsifying stability of myosin treated with κ -carrageenan was high compared to the others. These results indicate that proper amount of polysaccharide can improve the emulsification stability of silver carp myosin, providing a theoretical basis for the application of polysaccharide-myosin emulsions.

Keywords silver carp; myosin; polysaccharides; protein structure; emulsifying property