

5-28-2020

## Effect of $\text{CaCl}_2$ on water holding capacity and microstructure of tilapia myosin gel under the low salt condition

FENG Rui

*College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang, Guangdong 524088, China ; Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Safety, Zhanjiang, Guangdong 524088, China ; Guangdong Provincial Engineering Technology Research Center of Marine Food, Zhanjiang, Guangdong 524088, China*

HONG Peng-zhi

*College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang, Guangdong 524088, China ; Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Safety, Zhanjiang, Guangdong 524088, China ; Guangdong Provincial Engineering Technology Research Center of Marine Food, Zhanjiang, Guangdong 524088, China ; Southern Marine Science and Engineering Guangdong Laboratory (Zhanjiang), Zhanjiang, Guangdong 524025, China*

YANG Ping

*College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang, Guangdong 524088, China ; Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Safety, Zhanjiang, Guangdong 524088, China ; Guangdong Provincial Engineering Technology Research Center of Marine Food, Zhanjiang, Guangdong 524088, China ; Southern Marine Science and Engineering Guangdong Laboratory (Zhanjiang), Zhanjiang, Guangdong 524025, China*  
Follow this and additional works at: <https://www.ifoodmm.cn/journal>

 Part of the [Food Science Commons](#)  
See next page for additional authors

### Recommended Citation

Rui, FENG; Peng-zhi, HONG; Ping, YANG; and Chun-xia, ZHOU (2020) "Effect of  $\text{CaCl}_2$  on water holding capacity and microstructure of tilapia myosin gel under the low salt condition," *Food and Machinery*. Vol. 36: Iss. 5, Article 8.

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2020.05.008

Available at: <https://www.ifoodmm.cn/journal/vol36/iss5/8>

This Fundamental Research is brought to you for free and open access by Food and Machinery. It has been accepted for inclusion in Food and Machinery by an authorized editor of Food and Machinery.

---

## Effect of $\text{CaCl}_2$ on water holding capacity and microstructure of tilapia myosin gel under the low salt condition

### Authors

FENG Rui, HONG Peng-zhi, YANG Ping, and ZHOU Chun-xia

# CaCl<sub>2</sub> 对低盐罗非鱼肌球蛋白凝胶持水性和微观结构的影响

Effect of CaCl<sub>2</sub> on water holding capacity and microstructure of tilapia myosin gel under the low salt condition

冯 瑞<sup>1,2,3</sup>

洪鹏志<sup>1,2,3,4</sup>

杨 萍<sup>1,2,3,4</sup>

周春霞<sup>1,2,3,4</sup>

FENG Rui<sup>1,2,3</sup>

HONG Peng-zhi<sup>1,2,3,4</sup>

YANG Ping<sup>1,2,3,4</sup>

ZHOU Chun-xia<sup>1,2,3,4</sup>

(1. 广东海洋大学食品科技学院, 广东 湛江 524088; 2. 广东省水产品加工与安全重点实验室,

广东 湛江 524088; 3. 广东省海洋食品工程技术研究中心, 广东 湛江 524088;

4. 南方海洋科学与工程广东省实验室[湛江], 广东 湛江 524025)

(1. College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang, Guangdong 524088,

China; 2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Safety, Zhanjiang,

Guangdong 524088, China; 3. Guangdong Provincial Engineering Technology Research Center of Marine Food,

Zhanjiang, Guangdong 524088, China; 4. Southern Marine Science and Engineering Guangdong Laboratory

[Zhanjiang], Zhanjiang, Guangdong 524025, China)

**摘要:**以罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)肌球蛋白为研究对象,在不同盐浓度(1,50,150,600 mmol/L NaCl)下,考察适量添加 CaCl<sub>2</sub> 对肌球蛋白热诱导凝胶持水性、微观结构及化学作用力的影响。结果表明,低盐浓度(1~150 mmol/L NaCl)下,热诱导肌球蛋白纤维迅速聚集,体系呈弱的不透明凝胶,链状交联的凝胶网络结构粗糙、孔隙极大,持水性低,疏水相互作用是维持凝胶的主要化学作用力。当 CaCl<sub>2</sub> 添加量为 10 mmol/L 时,有利于凝胶化过程中肌球蛋白分子结构部分展开,氢键相互作用减弱, $\alpha$ -螺旋部分转化成 $\beta$ -折叠,分子间二硫交联作用增强( $P<0.05$ ),形成致密有序的三维网状结构,持水性显著提高( $P<0.05$ ),且 1 mmol/L NaCl 浓度下的改善效果更明显。因此,添加适量的 CaCl<sub>2</sub> 可有效改善低盐条件下肌球蛋白的凝胶性能。

**关键词:**罗非鱼;肌球蛋白;CaCl<sub>2</sub>;低盐浓度;热诱导凝胶;持水性;微观结构

**Abstract:** Myosin was extracted from tilapia (*Oreochromis niloticus*) and the heat-induced gel was prepared, and the effect of

CaCl<sub>2</sub> addition on the water holding capacity, microstructure and chemical interactions of myosin gel was investigated under different salt conditions (1,50,150,600 mmol/L NaCl). The effects and mechanisms of Ca<sup>2+</sup> on thermal gel properties of myosin were determined under the low salt conditions. Experimental results showed that under the conditions of low salt concentration (1~150 mmol/L NaCl), there were weak opaque gels due to a rapid aggregation of myosin filaments during heating. These myosin gels exhibited a cross-linked network with coarse cross-linked strands and large cavities, and the water holding capacity of gels was low. Hydrophobic interactions were responsible for the heat-induced gel formation of myosin. During the gelation process, the addition of 10 mmol/L CaCl<sub>2</sub> promoted the unfolding of myosin and caused  $\alpha$ -helices to partially turn into  $\beta$ -sheets with the reduced hydrogen bond interactions, thus resulted in stronger disulfide linkages between myosin molecules ( $P<0.05$ ), which contributed to the ordered and dense three-dimensional network with significantly improved water holding capacity of myosin gel ( $P<0.05$ ). Moreover, this improvement was more obvious at 1 mmol/L NaCl. Therefore, an appropriate amount of CaCl<sub>2</sub> can effectively improve the gel properties of myosin under low salt conditions.

**Keywords:** *Oreochromis niloticus*; myosin; calcium chloride; low salt concentration; heat-induced gel; water holding capacity; microstructure

**基金项目:**广东省现代农业产业技术体系创新团队建设项目(编号:2019KJ150);南方海洋科学与工程广东省实验室(湛江)资助项目(编号:ZJW-2019-07)

**作者简介:**冯瑞,女,广东海洋大学在读硕士研究生。

**通信作者:**周春霞(1979—),女,广东海洋大学副教授,博士。

E-mail: chunxia.zhou@163.com

收稿日期:2020-03-13

肌球蛋白是肌肉蛋白的主要功能成分,占鱼肉肌原

纤维蛋白的 55%~60%<sup>[1]</sup>,经热处理可以形成凝胶,在鱼糜制品加工中起关键作用<sup>[2]</sup>。肌球蛋白凝胶形成过程涉及蛋白质分子的展开、聚集和交联,最终通过增强蛋白质分子间相互作用形成稳定的三维网络结构,从而决定产品的持水性和质构特性<sup>[3]</sup>。而肌球蛋白是盐溶性蛋白,在体外低盐(<0.2 mol/L NaCl)溶液中容易自发聚集成纤维<sup>[4-5]</sup>,热诱导肌球蛋白分子无法有效解离/展开,由纤维之间的相互作用形成聚集体,凝胶特性较差<sup>[6]</sup>。凝胶制作通常需 2%~3% 的盐溶解肌球蛋白,促进蛋白质分子展开,增加分子间相互作用,诱导凝胶网络结构的形成<sup>[7]</sup>,因此,鱼糜制品生产过程中需添加一定量的食盐(NaCl)来保证产品的安全性,还可以改善其质地和风味。而膳食中过量摄入钠会导致血压升高,增加心血管和肾脏疾病的风险<sup>[8]</sup>。

目前,常见的改善低钠条件下鱼糜制品凝胶性的方法有:使用与 NaCl 相似的其他氯化盐作为替代品,或使用蛋白质、水化胶体、转谷氨酰胺酶等凝胶增强剂<sup>[9-11]</sup>。研究<sup>[12-14]</sup>表明,二价阳离子( $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  等)通过与蛋白质分子带负电的羧基之间的盐桥作用,诱导蛋白质的交联,改善鱼糜凝胶的功能特性,其效果与离子类型和浓度有关。 $\text{Ca}^{2+}$  是霍夫迈斯特序列中使蛋白质不稳定的阳离子<sup>[15]</sup>,会促进蛋白质的展开,增强热处理过程中相邻蛋白质分子间疏水相互作用和二硫交联,进一步促进钙桥的形成,从而改变其凝胶性能<sup>[16-18]</sup>。此外, $\text{Ca}^{2+}$  也可能激活内源性转谷氨酰胺酶的活性,催化特定的酰基转移反应,通过  $\epsilon$ -( $\gamma$ -谷氨酰)赖氨酸交联形成更强的鱼糜凝胶网络<sup>[19]</sup>。经  $\text{Ca}^{2+}$  诱导展开的肌球蛋白再进行适当的高压处理(<300 MPa)会导致分子进一步展开,增强分子间共价和非共价相互作用,形成致密有序的肌球蛋白凝胶网络结构,但强的高压处理(500 MPa)会导致肌球蛋白过度变性,破坏蛋白质与水的相互作用<sup>[20]</sup>。

试验拟以罗非鱼肌球蛋白为研究对象,在几种典型盐浓度(1,50,150,600 mmol/L NaCl)下,考察  $\text{CaCl}_2$  添加量对肌球蛋白热诱导凝胶持水性和微观结构的影响,探讨适量钙离子对低盐肌球蛋白凝胶性能的改善及机理,为新型低盐水产蛋白凝胶制品的开发提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

鲜活罗非鱼:取其背部白肉、分装、-75℃ 贮藏备用,市售;

氯化钾、六水合氯化镁、硫酸铵、乙二胺四乙酸二钠:分析纯,广州化学试剂厂;

5-腺苷三磷酸二钠盐(ATP)、二硫苏糖醇(DTT)、马来酸:广州齐云生物科技有限公司;

乙二醇-双-(2-氨基乙醚)四乙酸(EGTA):分析纯,上

海源叶生物科技有限公司;

快速 Lowry 法蛋白含量测定试剂盒:上海荔达生物科技有限公司;

无水氯化钙:分析纯,广州市金华大化学试剂有限公司;

$\beta$ -巯基乙醇:分析纯,上海麦克林生化科技有限公司。

### 1.2 主要仪器设备

高速冷冻离心机:Avanti J-26sxp 型,美国贝克曼公司;

紫外分光光度计:Cary 60 型,安捷伦科技(中国)有限公司;

恒温水浴锅:TU-20HT 型,英国比比科技有限公司;

傅里叶红外光谱仪:TENSOR27 型,德国布鲁克公司;

扫描电子显微镜:JEM-7610-F 型,日本电子株式会社。

### 1.3 方法

1.3.1 肌球蛋白的提取 参照 Hwang 等<sup>[21]</sup>的方法并改进。取新鲜搅碎的鱼肉 500 g,加入 2 500 mL 磷酸盐缓冲液 A (20 mmol/L  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ — $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , pH 7.0, 0.02%  $\text{NaN}_3$ ), 20 000 r/min 高速匀浆 30 s,浸提 15 min, 5 500 r/min 离心 10 min,取沉淀重复上述过程 2 次,合并沉淀,加入 3 倍体积的提取液 B (0.45 mol/L KCl, 5 mmol/L ATP, 7.5 mmol/L  $\text{MgCl}_2$ , 0.15 mmol/L DTT, pH 6.4),搅打 15 min, 10 000 r/min 离心 10 min,用 4 层纱布过滤,滤液用 9 倍蒸馏水稀释,静置 10 min, 6 000 r/min 离心 10 min,取沉淀。加入 1/5 倍体积的缓冲液 C (0.12 mol/L Tris-马来酸, 3 mol/L KCl, 0.6 mmol/L DTT, pH 7.5),混匀,放置 2 h,再加入 1/10 倍体积的溶液 D (0.11 mol/L ATP, 55 mmol/L  $\text{MgCl}_2$ , 5.5 mmol/L EGTA, pH 7.5),搅拌 1 h。加入硫酸铵至其饱和度为 40%, 10 000 r/min 离心 15 min,取上清液,继续加入硫酸铵至饱和度为 45%, 10 000 r/min 离心 15 min,取沉淀。于透析液 E (20 mmol/L PBS, 0.6 mol/L KCl, 0.1 mmol/L DTT, pH 7.0) 中透析至无  $\text{SO}_4^{2-}$  检出, 50 000 r/min 高速离心 60 min,所得上清液即为肌球蛋白溶液,采用 Lowry 法试剂盒检测蛋白含量。以上所有操作均在 4℃ 下进行。

1.3.2 肌球蛋白溶液及其热诱导凝胶的制备 将提取的肌球蛋白溶液分成 4 组,分别用不同盐浓度(1,50,150,600 mmol/L NaCl)的磷酸盐缓冲液(20 mmol/L  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ — $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , pH 7.0)透析 24 h (4℃),采用 Lowry 法试剂盒检测其蛋白含量,并用对应盐浓度的透析液调节至蛋白浓度为 20 mg/mL,即为各离子强度下的肌球蛋白溶液。取上述肌球蛋白溶液 20 mL,加入 10 mmol/L  $\text{CaCl}_2$ ,水浴升温(20~80℃, 1℃/min)处理,

80 ℃保温 30 min,迅速冷却,4 ℃保存过夜,48 h 内使用。以不添加 CaCl<sub>2</sub> 的肌球蛋白体系为对照组。

1.3.3 浊度的测定 将 1.3.2 透析后的各肌球蛋白溶液稀释至 1.0 mg/mL,加入 10 mmol/L CaCl<sub>2</sub>,以不添加 CaCl<sub>2</sub> 的肌球蛋白体系为对照组。水浴升温处理(20~80 ℃,1 ℃/min),每隔 10 ℃取样,参照 Hemung 等<sup>[17]</sup>的方法进行浊度的检测。

1.3.4 凝胶持水性的检测 参照文献<sup>[18]</sup>。

1.3.5 扫描电子显微镜(SEM)观察 取制备好的凝胶样品用刀片切成 1 mm 厚度的小片,采用戊二醛溶液固定、磷酸盐缓冲液洗涤,然后依次进行乙醇脱水、叔丁醇置换、冷冻干燥和喷金<sup>[11]</sup>,加速电压 8 kV 下放大 10 000 倍观察。

1.3.6 凝胶化学作用力的测定 参照 Hwang 等<sup>[22]</sup>的四段溶解法并稍作修改。其 4 种溶液分别为 0.6 mol/L NaCl(S1)、0.6 mol/L NaCl+1.5 mol/L 尿素(S2)、0.6 mol/L NaCl+8 mol/L 尿素(S3)、0.5 mol/L β-巯基乙醇+0.6 mol/L NaCl+8 mol/L 尿素(S4)。取制备好的肌球蛋白凝胶样品 2 g,加入 20 mL S1,5 000 r/min 匀浆 2 min,4 ℃放置 1 h,10 000 r/min 离心 25 min,上清液 V<sub>1</sub> 于 4 ℃保存,所得沉淀 1 加入 20 mL S2,匀浆、静置、离心处理得上清液 V<sub>2</sub> 和沉淀 2,沉淀中加入 20 mL S3,同上处理得上清液 V<sub>3</sub> 和沉淀 3,沉淀中加入 20 mL S4,同上处理后得上清液 V<sub>4</sub>。上述各步离心得上清液分

别加入等体积的 20%三氯乙酸溶液,10 000 r/min 离心 15 min,去上清液,沉淀分别用 2 mL NaOH 溶液(1 mol/L)溶解,采用 Lowry 试剂盒测定其蛋白质含量。离子键、氢键、疏水相互作用和二硫键的贡献分别用溶解于 S1、S2、S3、S4 的蛋白含量与匀浆的蛋白含量的比值表示。

1.3.7 傅里叶变换红外光谱测定及二级结构分析 将凝胶样品冷冻干燥后粉碎,称取约 1 mg 的样品与溴化钾混合压片,较低空气湿度下收集红外光谱(4 000~400 cm<sup>-1</sup>),分辨率 4 cm<sup>-1</sup>。使用 OMNIC 7.3 和 Peakfit Version 4.12 软件对酰胺 I 带(1 700~1 600 cm<sup>-1</sup>)图谱进行基线校正、平滑、去卷积处理,并通过 Gaussian 曲线拟合,得到肌球蛋白凝胶样品的二级结构含量<sup>[23]</sup>。

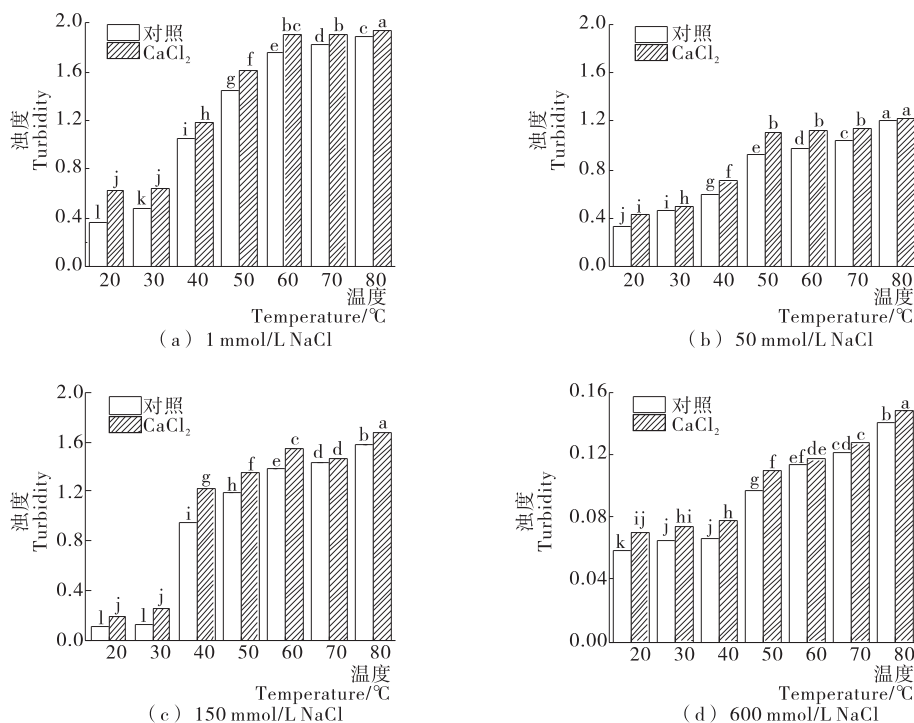
## 1.4 统计分析

所有试验重复 3 次,使用 SPSS 22 软件进行方差分析(ANOVA),并通过 Duncan 的多范围检验显著性差异(P<0.05)。

## 2 结果与分析

### 2.1 CaCl<sub>2</sub> 对热处理过程中肌球蛋白体系浊度的影响

由图 1 可知,肌球蛋白体系的浊度随盐浓度的增大逐渐下降(P<0.05)。低离子强度(1,50 mmol/L NaCl)下,肌球蛋白溶解性差,体系明显浑浊<sup>[24]</sup>,随着升温处理的进行,浊度持续增加(P<0.05),且升温至 40 ℃时浊度



字母不同表示差异显著(P<0.05)

图 1 不同离子强度下 CaCl<sub>2</sub> 对罗非鱼肌球蛋白溶液热处理过程中浊度的影响

Figure 1 Effect of CaCl<sub>2</sub> addition on the turbidity of tilapia myosin solution during heat treatment



增加已非常明显,体系热稳定性差。生理离子强度(150 mmol/L NaCl)下,未经热处理的肌球蛋白溶液已基本澄清,当处理温度 $\geq 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,溶液明显变得浑浊,且变化比 50 mmol/L NaCl 下的聚集更明显。这表明生理离子强度下部分解离的肌球蛋白分子比低离子强度下的纤维结构更容易展开和变性,大量疏水基团暴露导致分子间通过疏水相互作用聚集。当 NaCl 浓度为 600 mmol/L 时,肌球蛋白溶解,分子以单体或寡聚物形式存在,体系澄清透明,且在升温处理过程中溶液保持澄清,肌球蛋白分子展开和聚集达到平衡,肌球蛋白重链头部聚合,分子聚集不明显。

添加  $\text{CaCl}_2$  后,不同盐浓度下肌球蛋白体系浊度增加( $P<0.05$ ),且热处理过程中浊度增大尤为明显( $P<0.05$ ),表明适量  $\text{CaCl}_2$  对肌球蛋白体系有较好的交联聚集效果,可能与  $\text{Ca}^{2+}$  存在下肌球蛋白分子间的盐桥作用及不同盐浓度下分子的热变性聚集有关。低盐浓度(1, 150 mmol/L)下,热处理升温至  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  时,肌球蛋白结构伸展并开始变性聚集, $\text{Ca}^{2+}$  的盐桥作用导致分子间热聚集增强,继续升温至  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$  时,变性的肌球蛋白由于分子间共价和非共价相互作用进一步聚集,体系浊度继续增大( $P<0.05$ )。高盐浓度(600 mmol/L)下,热诱导肌球蛋白单体分子展开的速度大于聚集速度, $\text{Ca}^{2+}$  诱导肌球蛋白聚集不明显,与低浓度  $\text{CaCl}_2$  对鱼肌球蛋白溶液浊度的影响类似<sup>[17]</sup>。

## 2.2 $\text{CaCl}_2$ 对肌球蛋白凝胶持水性的影响

由图 2 可知,随着盐浓度的增加,肌球蛋白热凝胶形成能力增强,持水性增加( $P<0.05$ ),透明度增大,表明不同盐浓度下形成的凝胶三维网络结构以及分子聚集方式和聚集体的大小可能不同。低离子强度(1, 50 mmol/L NaCl)下,肌球蛋白溶解性差,热处理过程中分子不能充分展开和相互作用,分子表面疏水性增加不明显<sup>[25]</sup>,纤维

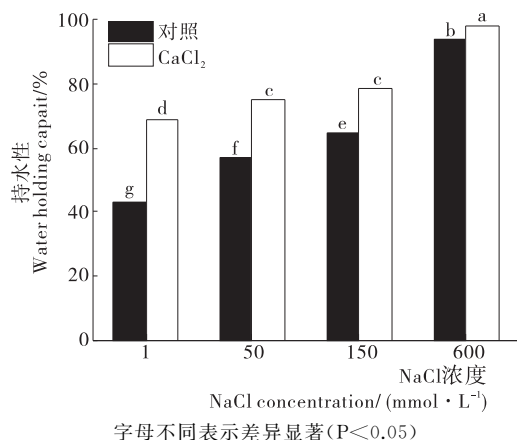


图 2  $\text{CaCl}_2$  对罗非鱼肌球蛋白热诱导凝胶持水性的影响  
Figure 2 Effect of  $\text{CaCl}_2$  addition on the water holding capacity of heat-induced gel from tilapia myosin

迅速聚集形成大的颗粒聚集体,此时持水性极差,热诱导肌球蛋白体系呈不透明弱凝胶,具有较强的流动性。随着离子强度的增加,解离的肌球蛋白分子与水分子的相互作用增强,肌球蛋白溶解性增大,受热后其结构更容易展开,分子表面疏水性增加,体系的热凝胶形成能力增强。当 NaCl 浓度为 150 mmol/L 时,体系可以形成硬凝胶,透明度增加,持水性 $>60\%$ 。当 NaCl 浓度为 600 mmol/L 时,低温热处理导致肌球蛋白重链头部聚合,总巯基含量下降,在高温条件下肌球蛋白尾部有序聚集,形成规则的网络结构,截留水分的能力增强,此时持水性达 94.23%。

添加  $\text{CaCl}_2$  后,不同离子强度下肌球蛋白热诱导凝胶的持水性显著增大( $P<0.05$ ),表明  $\text{Ca}^{2+}$  的添加有利于蛋白质分子的展开和(或)聚集,肌球蛋白分子间相互作用增强,且低盐条件下改善尤为明显。当 NaCl 浓度为 1 mmol/L 时,添加  $\text{CaCl}_2$  后肌球蛋白凝胶的持水性提高了 26%;当 NaCl 浓度为 150 mmol/L 时,添加  $\text{CaCl}_2$  后肌球蛋白凝胶的白度增加,肉眼观察即可识别出凝胶色差的变化;当 NaCl 浓度为 600 mmol/L 时,添加  $\text{CaCl}_2$  后肌球蛋白凝胶的持水性达 98%。添加  $\text{CaCl}_2$  后不同离子强度下肌球蛋白热诱导形成不透明凝胶,表明  $\text{Ca}^{2+}$  存在时肌球蛋白分子聚集的速度大于展开的速度<sup>[26-27]</sup>。低盐条件下, $\text{Ca}^{2+}$  存在导致纤维的肌球蛋白分子部分展开和分子间紧密聚集,分子间通过强的相互作用形成不透明凝胶,硬度较大<sup>[28]</sup>;高盐条件下,肌球蛋白分子充分展开,高温时的  $\text{Ca}^{2+}$  诱导肌球蛋白尾部有序聚集,凝胶透明度下降,白度和持水性增加。因此,适量添加  $\text{CaCl}_2$  能明显改善凝胶的持水性。

## 2.3 $\text{CaCl}_2$ 对肌球蛋白凝胶微观结构的影响

由图 3 可知,当 NaCl 浓度为 1~150 mmol/L 时,肌球蛋白溶解度差,热诱导肌球蛋白纤维快速聚集形成粗糙的交联链,凝胶微观结构孔径较大,呈现清晰而不规则的网络结构,对水分子的截留能力差<sup>[29]</sup>,其中 50 mmol/L NaCl 下的凝胶网络孔径最大,与浊度结果一致;当 NaCl 浓度为 600 mmol/L 时,肌球蛋白分子充分展开并有序聚集,热诱导凝胶呈固态结构,表面平滑均匀,但仍存在较大的孔洞,与纯的鱼肌球蛋白热凝胶微观结构类似<sup>[30]</sup>。添加  $\text{CaCl}_2$  后,不同盐浓度下肌球蛋白热诱导凝胶微观结构显示清晰的紧密交叉连接,细腻均匀的网络结构形成,凝胶孔径极小,因此凝胶的持水性和白度增加,且 1, 150 mmol/L NaCl 下的凝胶微观结构改善尤为明显,进一步表明适量添加  $\text{Ca}^{2+}$  能诱导肌球蛋白分子展开和变性。

## 2.4 $\text{CaCl}_2$ 对肌球蛋白凝胶化学作用力的影响

由图 4 可知,0.6 mol/L NaCl—8 mol/L 尿素溶液(S3)中肌球蛋白凝胶溶解度最高( $P<0.05$ ),其次为二硫

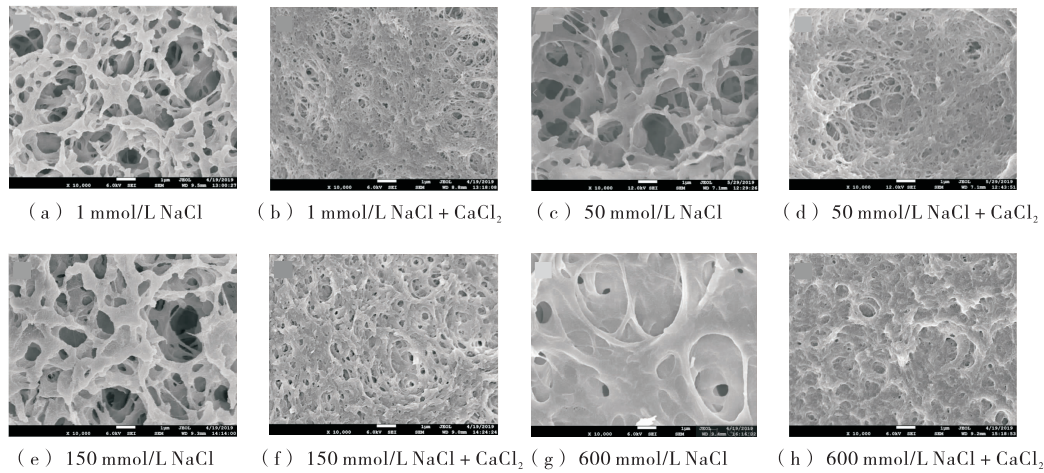


图3 CaCl<sub>2</sub> 对罗非鱼肌球蛋白热诱导凝胶扫描电镜图的影响

Figure 3 Effect of CaCl<sub>2</sub> addition on scanning electron microscope photograph of heat-induced gel from tilapia myosin

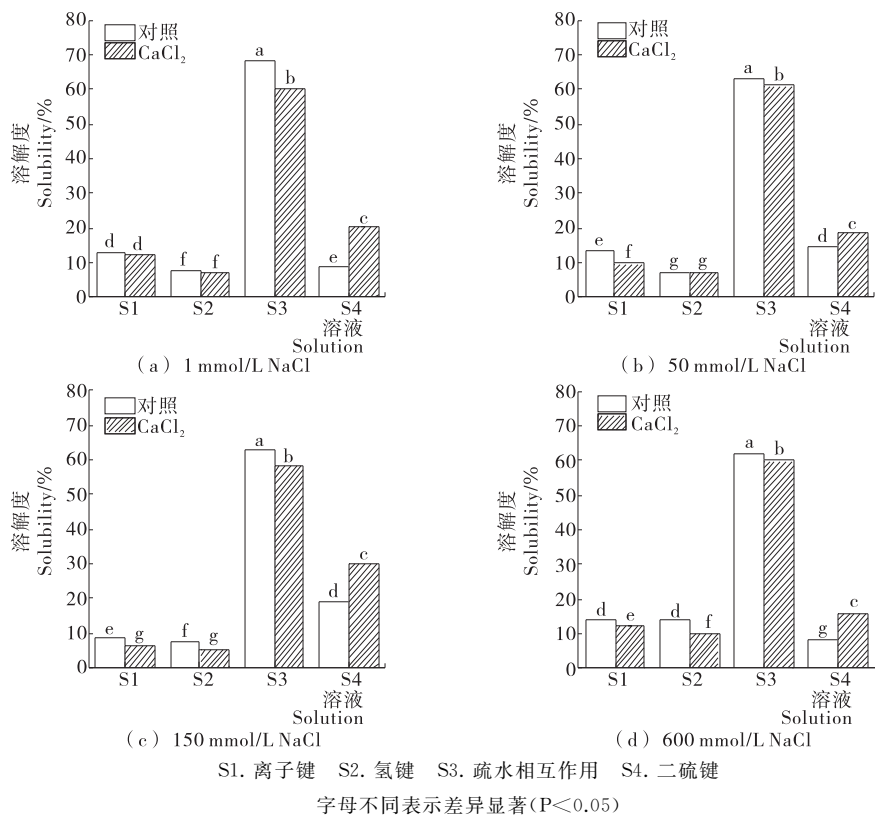


图4 CaCl<sub>2</sub> 对罗非鱼肌球蛋白凝胶化学作用力的影响

Figure 4 Effect of CaCl<sub>2</sub> on chemical interactions of heat-induced gel from tilapia myosin

键,离子键和氢键所占比例较小,表明分子间疏水相互作用和二硫键是维持肌球蛋白热诱导凝胶的主要化学作用力。低盐浓度(1~150 mmol/L NaCl)下,肌球蛋白热诱导凝胶二硫键比例随盐浓度的增加显著升高(P<0.05),主要是由于盐离子的作用加快了肌球蛋白分子结构的部分展开,热诱导分子内部疏水基团和巯基逐渐暴露,分子

间疏水相互作用增强,分子明显聚集;随着热处理温度的升高,巯基氧化成二硫键,导致不可逆的凝胶网络结构形成。高盐浓度(600 mmol/L NaCl)下,肌球蛋白呈单体, $\alpha$ -螺旋含量较高,相应的热凝胶中离子键和氢键含量高,二硫键含量降低,体系呈透明软凝胶,弹性模量和凝胶硬度下降,与微观结构结果基本一致。添加 CaCl<sub>2</sub> 后,肌球蛋白

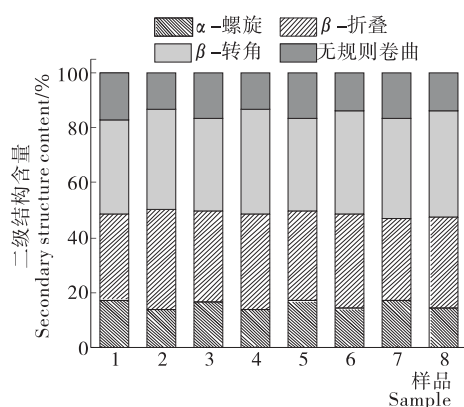
热凝胶的主要化学作用力仍为疏水相互作用和二硫交联,但二硫键所占比例明显升高( $P<0.05$ ),疏水相互作用比例下降( $P<0.05$ ),离子键和氢键所占比例降低,且 1 mmol/L NaCl 下的二硫键含量增加最明显。因此,适量添加  $\text{Ca}^{2+}$  能促进热处理过程中肌球蛋白分子结构及化学作用力的变化,其改进效果与凝胶持水性和微观结构一致。

### 2.5 肌球蛋白二级结构的变化分析

研究<sup>[31]</sup>表明, $\alpha$ -螺旋是鱼糜蛋白质的主要构象,鱼糜凝胶中肌球蛋白的  $\alpha$ -螺旋结构部分转化为  $\beta$ -折叠、 $\beta$ -转角和无规卷曲结构,其中  $\beta$ -折叠和无规卷曲结构是维持鱼糜凝胶的主要蛋白质构象,且  $\beta$ -折叠结构对凝胶强度的贡献最大。由图 5 可知,肌球蛋白分子包含棒状尾部和球状头部,棒状尾部由  $\alpha$ -螺旋构成。未经热处理的肌球蛋白分子以  $\alpha$ -螺旋结构为主,且随盐浓度的增加(1~600 mmol/L NaCl)肌球蛋白  $\alpha$ -螺旋含量增加。添加  $\text{CaCl}_2$  后,凝胶中肌球蛋白  $\alpha$ -螺旋结构含量降低,而  $\beta$ -折叠和无规卷曲结构含量增大,且低盐条件下变化更加明显。1 mmol/L NaCl 条件下添加  $\text{CaCl}_2$  后,凝胶肌球蛋白  $\alpha$ -螺旋比例从 17.51% 下降到 13.72%, $\beta$ -折叠比例从 31.06% 增加到 36.70%,表明  $\text{CaCl}_2$  的作用有利于低盐条件下肌球蛋白凝胶的形成,与  $\text{Ca}^{2+}$  诱导肌球蛋白凝胶二级结构的变化结果类似<sup>[17]</sup>。因此,适量添加  $\text{CaCl}_2$  可诱导热处理过程中肌球蛋白分子结构展开, $\alpha$ -螺旋结构转化成  $\beta$ -折叠结构,分子间相互作用增强,明显改善低盐条件下肌球蛋白凝胶的网络结构及持水性。

## 3 结论

试验表明,不同盐浓度(1, 50, 150, 600 mmol/L NaCl)下,肌球蛋白热诱导凝胶的微观结构和持水性能存



1~8 分别为 1 mmol/L NaCl、1 mmol/L NaCl +  $\text{CaCl}_2$ 、50 mmol/L NaCl、50 mmol/L NaCl +  $\text{CaCl}_2$ 、150 mmol/L NaCl、150 mmol/L NaCl +  $\text{CaCl}_2$ 、600 mmol/L NaCl、600 mmol/L NaCl +  $\text{CaCl}_2$

图 5  $\text{CaCl}_2$  对热诱导凝胶中肌球蛋白二级结构的影响

Figure 5 Effect of  $\text{CaCl}_2$  addition on the secondary structure of myosin in heat-induced gel

在差异。但适量添加  $\text{Ca}^{2+}$  可诱导不同盐浓度下肌球蛋白分子部分展开和变性,热处理过程中更多的疏水基团和交联位点暴露,肌球蛋白分子  $\alpha$ -螺旋结构部分转化成  $\beta$ -折叠结构,进一步促进钙桥及分子间疏水相互作用和二硫键的形成,肌球蛋白分子有序交联形成致密均匀的三维凝胶网络结构,凝胶持水性显著提高( $P<0.05$ ),且低盐条件下改善更明显。

### 参考文献

- [1] LANIER T C, YONGSAWATDIGUL J, CARVAJAL-RONDANELLI P. Surimi gelation chemistry[M]// PARK J W. Surimi and surimi seafood. 3rd ed. Boca Raton: CRC Press, 2013: 101-140.
- [2] WANG Guang, LIU Man-man, CAO Li-wei, et al. Effects of different NaCl concentrations on self-assembly of silver carp myosin[J]. Food Bioscience, 2018, 24: 1-8.
- [3] CAO Hong-wei, JIAO Xi-dong, FAN Da-ming, et al. Microwave irradiation promotes aggregation behavior of myosin through conformation changes [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 96: 11-19.
- [4] HAYAKAWA T, ITO T, WAKAMATSU J, et al. Myosin filament depolymerizes in a low ionic strength solution containing L-histidine[J]. Meat Science, 2010, 84(4): 742-746.
- [5] 周春霞, 时娇娇, 付苇娜, 等. 赖氨酸和精氨酸对三种离子强度下罗非鱼肌球蛋白溶解度及构象的影响[J]. 现代食品科技, 2016, 32(12): 99-104.
- [6] NÚÑEZ-FLORES R, CANDO D, JAVIER BORDERÍAS A, et al. Importance of salt and temperature in myosin polymerization during surimi gelation [J]. Food Chemistry, 2018, 239: 1 226-1 234.
- [7] WANG Jian-yi, LI Zhi-yu, ZHENG Bao-dong, et al. Effect of ultra-high pressure on the structure and gelling properties of low salt golden threadfin bream (*Nemipterus virgatus*) myosin[J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 100: 381-390.
- [8] DELAHAYE F. Should we eat less salt? [J]. Archives of Cardiovascular Diseases, 2013, 106(5): 324-332.
- [9] VERMA A K, BANERJEE R. Low-sodium meat products: Retaining salty taste for sweet health[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2012, 52(1): 72-84.
- [10] INGUGLIA E S, ZHANG Z, TIWARI B K, et al. Salt reduction strategies in processed meat products: A review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2017, 59: 70-78.
- [11] CAI Lu-yun, FENG Jian-hui, CAO Ai-ling. Effect of partial substitutes of NaCl on the cold-set gelation of grass carp myofibrillar protein mediated by microbial transglutaminase[J]. Food and Bioprocess Technology, 2018, 11(10): 1 876-1 886.



- [12] DING Yu-qin, LIU You-ming, YANG Hong, et al. Effects of CaCl<sub>2</sub> on chemical interactions and gel properties of surimi gels from two species of carps[J]. European Food Research and Technology, 2011, 233(4): 569-576.
- [13] CAO Li-wei, SU Si-si, REGENSTEIN J M, et al. Ca<sup>2+</sup>-induced conformational changes of myosin from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) in gelation[J]. Food Biophysics, 2015, 10(4): 447-455.
- [14] ALI ARFAT Y, BENJAKUL S. Gel strengthening effect of zinc salts in surimi from yellow stripe trevally[J]. Food Bioscience, 2013, 3: 1-9.
- [15] BALDWIN R. How Hofmeister ion interactions affect protein stability[J]. Biophysical Journal, 1996, 71(4): 2 056-2 063.
- [16] JIA Dan, YOU Juan, HU Yang, et al. Effect of CaCl<sub>2</sub> on denaturation and aggregation of silver carp myosin during setting[J]. Food Chemistry, 2015, 185: 212-218.
- [17] HEMUNG BO, YONGSAWATDIGUL J. Ca<sup>2+</sup> affects physicochemical and conformational changes of threadfin bream myosin and actin in a setting model[J]. Journal of Food Science, 2005, 70(8): c455-c460.
- [18] PAN Teng, GUO Hui-yuan, LI Yuan, et al. The effects of calcium chloride on the gel properties of porcine myosin- $\kappa$ -carrageenan mixtures[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 63: 467-477.
- [19] YONGSAWATDIGUL J, SINSUWAN S. Aggregation and conformational changes of tilapia actomyosin as affected by calcium ion during setting[J]. Food Hydrocolloids, 2007, 21(3): 359-367.
- [20] GUO Ze-bin, LI Zhi-yu, WANG Jian-yi, et al. Gelation properties and thermal gelling mechanism of golden threadfin bream myosin containing CaCl<sub>2</sub> induced by high pressure processing[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 95: 43-52.
- [21] HWANG G C, WATABE S, HASHIMOTO K. Changes in carp myosin ATPase induced by temperature acclimation[J]. Journal of Comparative Physiology B, 1990, 160(3): 233-239.
- [22] HWANG J S, LAI K M, HSU K C. Changes in textural and rheological properties of gels from tilapia muscle proteins induced by high pressure and setting[J]. Food Chemistry, 2007, 104(2): 746-753.
- [23] ZHOU Yi-ge, YANG Hong-shun. Effects of calcium ion on gel properties and gelation of tilapia (*Oreochromis niloticus*) protein isolates processed with pH shift method[J]. Food Chemistry, 2019, 277: 327-335.
- [24] 李婷, 周春霞, 冯瑞, 等. 硫酸葡聚糖对低离子强度下罗非鱼肌球蛋白热变性聚集的抑制及其机制[J]. 食品与机械, 2018, 34(12): 5-10.
- [25] 朱潘红, 齐慧红, 李婷, 等. 不同盐浓度下罗非鱼肌球蛋白热诱导凝胶的形成及机理[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(8): 93-98.
- [26] EGELANDSDAL B. Heat-induced gelling in solutions of ovalbumin[J]. Journal of Food Science, 1980, 45(3): 570-574.
- [27] LIU Ru, ZHAO Si-ming, XIONG Shan-bai, et al. Role of secondary structures in the gelation of porcine myosin at different pH values[J]. Meat Science, 2008, 80(3): 632-639.
- [28] ZHANG Zi-ye, YANG Yu-ling, TANG Xiao-zhi, et al. Effects of ionic strength on chemical forces and functional properties of heat-induced myofibrillar protein gel[J]. Food Science and Technology Research, 2015, 21(4): 597-605.
- [29] 戴慧敏, 叶韬, 林琳, 等. 低盐白鲢鱼糜凝胶超高压制备工艺优化及凝胶特性[J]. 食品与机械, 2018, 34(8): 195-202.
- [30] 王培森, 李倩如, 江文韬, 等. 可得然胶对肌球蛋白凝胶冻融稳定性的影响[J]. 食品与机械, 2017, 33(5): 30-35.
- [31] WEI Wei, HU Wei, ZHANG Xian-yi, et al. Analysis of protein structure changes and quality regulation of surimi during gelation based on infrared spectroscopy and microscopic imaging[J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 5566.

## 信息窗

# 加拿大发布食品安全检测公告

2020年5月13日,加拿大食品检验局(CFIA)发布了食品安全检测公告。

加拿大食品检验局监测了化学和微生物危害水平,食物供应中未申报的过敏原和麸质,并制定了风险管理策略。当发现违规情况时,加拿大食品检验局将会采取适当行动,包括通知制造商或进口商、进行进一步

步定向取样或对产品扣押、召回等。

此次食品安全监测公告包括某些食品中的亚硫酸盐(2016—2017)、替餐和营养补充剂中未申报的过敏原和麸质(2016—2017)和冷藏蘸酱和涂抹酱中未申报的过敏原(2016—2017)3部分。

(来源:<http://news.foodmate.net>)