

# $\gamma$ -聚谷氨酸对鸡肉肌原纤维蛋白功能特性的影响

## Effects of $\gamma$ -polyglutamic acid on functional properties of chicken myofibrillar protein

白登荣<sup>1</sup> 董唯<sup>1</sup> 齐昕宇<sup>1</sup> 尚永彪<sup>1,2,3</sup>

BAI Deng-rong<sup>1</sup> DONG Wei<sup>1</sup> QI Xin-yu<sup>1</sup> SHANG Yong-biao<sup>1,2,3</sup>

(1. 西南大学食品科学学院, 重庆 400715; 2. 农业部农产品贮藏保鲜质量安全评估实验室(重庆), 重庆 400715; 3. 重庆市特色食品工程技术研究中心, 重庆 400715)

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China; 2. Ministry of Agriculture Preservation Quality and Safety Assessment Laboratory(Chongqing), Chongqing 400715, China; 3. Chongqing Specialty Food Engineering Research Center, Chongqing 400715, China)

**摘要:** 将不同浓度的  $\gamma$ -聚谷氨酸 ( $\gamma$ -polyglutamic acid,  $\gamma$ -PGA) 添加到鸡肉肌原纤维蛋白 (myofibrillar protein, MP) 中, 研究  $\gamma$ -PGA 对鸡肉 MP 功能特性的影响。结果表明: 随着  $\gamma$ -PGA 浓度的增大, MP 表面疏水性呈先减小后增大的趋势, 且在  $\gamma$ -PGA 浓度为 0.6‰ 时达到最小值; 溶解度、乳化性、凝胶硬度、弹性和保水性呈先增大后减小的趋势, 且在  $\gamma$ -PGA 浓度为 0.6‰ 时分别达到最大值, 而  $\gamma$ -PGA 对凝胶白度值影响较小。流变学性质变化表明,  $\gamma$ -PGA 对 MP 凝胶的形成有一定的促进作用。通过 SDS-PAGE 研究发现,  $\gamma$ -PGA 与 MP 之间存在交联作用。

**关键词:**  $\gamma$ -聚谷氨酸; 鸡肉; 肌原纤维蛋白; 功能特性

**Abstract:** Different concentration of  $\gamma$ -polyglutamic acid were added to chicken myofibrillar protein, and the effects of  $\gamma$ -polyglutamic acid on the function of chicken myofibrillar protein were studied. The study found that with the increase of the concentration of  $\gamma$ -polyglutamic acid, surface hydrophobicity of myofibrillar protein first decreases and then increases, and reached the minimum when the concentration of  $\gamma$ -polyglutamic acid was 0.6‰; the solubility, emulsification, the gelatin of hardness, springiness and water holding capacity were first increases and then decreases, and respectively reached the maximum when the concentration of  $\gamma$ -polyglutamic acid was 0.6‰, but  $\gamma$ -polyglutamic acid on gelatin whiteness had little effect. The change of rheological properties indicated that  $\gamma$ -PGA had a certain effect on the formation of myofibrillar protein gelatin. SDS-PAGE studies indicated that the cross-linking reaction between

$\gamma$ -polyglutamic acid and myofibrillar protein.

**Keywords:**  $\gamma$ -polyglutamic acid; chicken; myofibrillar protein; functional properties

鸡肉是中国第二大肉类消费品<sup>[1]</sup>, 因其具有“一高三低”的营养特点而深受消费者的青睐<sup>[2]</sup>。肌原纤维蛋白是肌肉中重要的盐溶性蛋白, 其功能特性与肉制品的乳化性、硬度、黏弹性、保水性等质构和感官品质密切相关<sup>[3]</sup>。鸡肉是西式肉制品加工中常用的原料, 然而在实际生产加工过程中发现其肉糜制品凝胶特性较差, 严重影响了鸡肉制品的深加工水平<sup>[4-5]</sup>。目前, 对于改善肉糜制品凝胶特性的研究较多, 如加入添加剂<sup>[6-7]</sup>或优化凝胶制备的工艺<sup>[8-9]</sup>, 这些方法或技术虽然对肉糜制品凝胶特性有一定的改善作用, 但也存在成本高、可操作性差<sup>[10]</sup>、作用效果不理想及营养损失严重等问题。

$\gamma$ -聚谷氨酸 ( $\gamma$ -Polyglutamic acid,  $\gamma$ -PGA) 是由 *L*-谷氨酸 (*L*-Glu) 和 *D*-谷氨酸 (*D*-Glu) 单体通过  $\gamma$ -酰胺键连接而成的阴离子多肽型聚合物<sup>[11-12]</sup>。目前, 在中国  $\gamma$ -PGA 虽尚未被批准作为食品添加剂, 但很多学者在食品领域还是做了较多的研究。如  $\gamma$ -PGA 能够促进小肠对矿物质的吸收、降解谷氨酸单体以被人体吸收利用, 目前日本已将其列入促进矿物质吸收的保健成分表中<sup>[13]</sup>; 在淀粉类食品中添加  $\gamma$ -PGA 可以防止淀粉老化, 改善组织结构、维持外形<sup>[14]</sup>; 在果汁和饮料中, 低浓度的  $\gamma$ -PGA 可以缩短高强度甜味剂 (如阿斯巴甜) 的甜味持续时间, 改善味觉平衡<sup>[15]</sup>; 在沙拉酱和冰淇淋等食品中, 添加  $\gamma$ -PGA 可以提高产品的乳化稳定性<sup>[16]</sup>。此外,  $\gamma$ -PGA 还可以遮掩 KCl 的苦味, 将  $\gamma$ -PGA 与一定量的 KCl 复合, 可以制成含钠量低的美味食盐<sup>[17]</sup>。通过  $\gamma$ -PGA 改变食品的生理、物理特性以及味觉的功能已得到广泛研

**基金项目:** 四川省科技支撑计划 (编号: 2016NZ0003-05)

**作者简介:** 白登荣, 男, 西南大学在读硕士研究生。

**通信作者:** 尚永彪 (1964—), 男, 西南大学教授, 博士。

E-mail: shangyb64@sina.com

**收稿日期:** 2017-04-06

究,但目前关于  $\gamma$ -PGA 对肉制品品质影响的研究还鲜有报道,不同浓度  $\gamma$ -PGA 下对蛋白质功能性质的影响及其机理仍不明确。本试验拟研究不同浓度  $\gamma$ -PGA 对肌原纤维蛋白(myofibrillar protein, MP)的功能特性的影响,以期为  $\gamma$ -PGA 在肉制品生产中的应用提供一定的理论依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与试剂

冷冻鸡胸肉:购买于北碚永辉超市,剔除可见脂肪及结缔组织后真空包装(每袋约 200 g),于  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  冷冻储藏备用。使用前取一定量的鸡胸肉放入  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱解冻  $10\sim 12\text{ h}$ ,加入冰水斩拌成肉糜后用于肌原纤维蛋白的提取。

$\gamma$ -PGA:食品级,分子量为 700 kD,pH 值  $5.0\sim 7.0$ ,南京轩凯生物科技有限公司;

$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 、牛血清蛋白、 $\text{CuSO}_4$ 、尿素、KCl、NaCl、EDTA:分析纯,成都市科龙化工试剂厂;

酒石酸钾钠:分析纯,宁波大川精细化工有限公司;

SDS、BIOSHARP、溴酚蓝:分析纯,北京鼎国生物技术有限责任公司;

大豆油:食品级,益海嘉里食品有限公司。

### 1.2 仪器与设备

酸度计:PHS-4C<sup>+</sup>型,成都世纪方舟科技有限公司;

内切式匀浆机:XHF-D型,宁波新芝生物科技股份有限公司;

台式高速离心机:5810型,德国 Eppendorf 公司;

色差仪:UltraScan PRO型,美国 HunterLab 公司;

质构仪:CT-3型,美国 Brookfield 公司;

流变仪:HR-1型,美国 TA 公司;

电泳槽:Mini-PROTEAN<sup>®</sup>型,美国 BIO-RAD 公司。

### 1.3 试验方法

1.3.1 MP 的提取 参照文献[18]。

1.3.2 MP 溶解度的测定 参照文献[19]。

1.3.3 MP 乳化性的测定 取一定量的 MP 添加到  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  磷酸盐缓冲溶液( $0.6\text{ mol/L NaCl}$ 、 $0.05\text{ mol/L Na}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{pH } 6.5$ )中,在  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  下  $2800\text{ r/min}$  匀浆  $24\text{ s}$ ,调节蛋白质质量浓度为  $1\text{ mg/mL}$ ,加入不同浓度( $0\%$ 、 $0.3\%$ 、 $0.6\%$ 、 $0.9\%$ 、 $1.2\%$ )的  $\gamma$ -PGA 混匀后,调节 pH 为  $6.5$ ,在  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  下反应  $1\text{ h}$ 后,参照文献[20]的方法进行乳化性的测定,并以相同条件下不同浓度( $0.2\%$ 、 $0.4\%$ 、 $0.6\%$ 、 $0.8\%$ 、 $1.0\%$ 、 $1.2\%$ )  $\gamma$ -PGA 的乳化性为对照。

1.3.4 MP 表面疏水性的测定 参照文献[21]。

1.3.5 MP 热诱导凝胶的制备 将一定量的 MP 添加到  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  的磷酸盐缓冲溶液( $0.6\text{ mol/L NaCl}$ 、 $0.05\text{ mol/L Na}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{pH } 6.5$ )中,在  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  下  $2800\text{ r/min}$  匀浆  $24\text{ s}$ ,调节蛋白质溶液质量浓度为  $40\text{ mg/mL}$ ,加入不同浓度( $0\%$ 、 $0.3\%$ 、 $0.6\%$ 、 $0.9\%$ 、 $1.2\%$ )的  $\gamma$ -PGA 混匀后,调节 pH 为  $6.5$ , $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  反应  $1\text{ h}$ ,然后取  $7\text{ mL}$  样液于  $10\text{ mL}$  的离心管中,先  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  水浴加热  $0.5\text{ h}$ ,再  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$  水浴加热  $0.5\text{ h}$ ,形成凝胶后迅速冷却,然后将其置于  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱  $12\text{ h}$ 后,待测。

1.3.6 凝胶硬度和弹性的测定 将凝胶样品在室温下平衡  $30\text{ min}$ 后,使用质构仪对其凝胶硬度和弹性进行测定。探头类型:TA5,其他测定参数参照文献[22]。

1.3.7 凝胶保水性的测定 参照文献[23]。

1.3.8 凝胶白度值的测定 参照文献[18]。

1.3.9 MP 流变学性质的测定 取一定量的 MP 于  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  磷酸盐缓冲液( $0.6\text{ mol/L NaCl}$ 、 $0.05\text{ mol/L Na}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{pH } 6.5$ )中,于  $2800\text{ r/min}$  匀浆  $30\text{ s}$ ,调节蛋白质质量浓度为  $40\text{ mg/mL}$ ,然后加入不同浓度( $0\%$ 、 $0.3\%$ 、 $0.6\%$ 、 $0.9\%$ 、 $1.2\%$ )的  $\gamma$ -PGA 混匀后,调节 pH 为  $6.5$ , $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  反应  $1\text{ h}$ 。流变仪具体参数设置参照文献[24]。

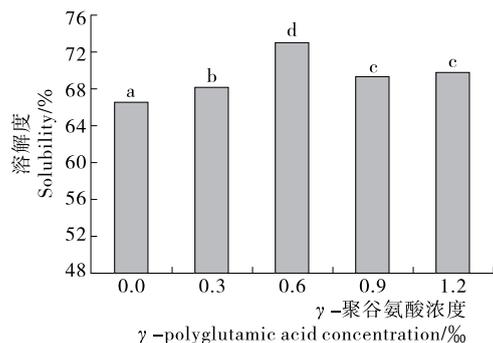
1.3.10 肌原纤维蛋白 SDS-PAGE 取一定量的 MP 用  $0.6\text{ mol/L NaCl}$ ( $\text{pH } 6.5$ )溶液调节蛋白质质量浓度为  $2\text{ mg/mL}$ ,加入不同浓度( $0\%$ 、 $0.3\%$ 、 $0.6\%$ 、 $0.9\%$ 、 $1.2\%$ )的  $\gamma$ -PGA 混匀后,调节 pH 为  $6.5$ ,在  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  下反应  $1\text{ h}$ 后进行电泳样品的制备。具体操作参照文献[25]。

1.3.11 数据处理 所有试验设置 3 个平行样,结果取平均值。所得数据用 Excel 2016 和 Origin 8.0 软件处理,用 SPSS Statistics 17.0 软件对数据进行显著性( $P<0.05$ )分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 $\gamma$ -PGA 对 MP 溶解度的影响

为消除了因加入  $\gamma$ -PGA 而引起的 pH 值的变化,本试验控制了体系  $\gamma$ -PGA 的 pH 值为  $5.0\sim 7.0$ ,以考察  $\gamma$ -PGA 的其他性质对蛋白质功能特性的影响。由图 1 可知,随着  $\gamma$ -PGA 浓度的增大,MP 溶解度呈先增大后减小的趋势。添加  $\gamma$ -PGA 后各处理组的溶解度均显著大于对照组( $P<0.05$ ),且在  $\gamma$ -PGA 浓度  $0.6\%$ 时,MP 溶解度最大,与对照组相比,溶解度增大了  $6.36\%$ ,可能是  $\gamma$ -PGA 对体系中的极性和非极性残基的电荷平衡产生了影响,添加  $\gamma$ -PGA 后蛋白质分子表面所带的负电荷数目增多,在静电斥力作用下蛋白质与水分子之间的结合力增强,从而使蛋白质溶解度提高。 $\gamma$ -PGA 浓度在  $0.6\%\sim 0.9\%$ 时,MP 的溶解度明显减小( $P<0.05$ ),当  $\gamma$ -PGA 浓度进一步增大时,较  $0.9\%$ 的蛋白样品相比溶解度变化不明显( $P>0.05$ ),可能是  $\gamma$ -PGA 浓度过高时, $\gamma$ -PGA 侧链上存在大量活性较高的游离羧基与蛋白质的



不同字母表示差异显著( $P<0.05$ )

图 1  $\gamma$ -PGA 对 MP 溶解度的影响

Figure 1 Effect of  $\gamma$ -polyglutamic acid on solubility of myofibrillar protein

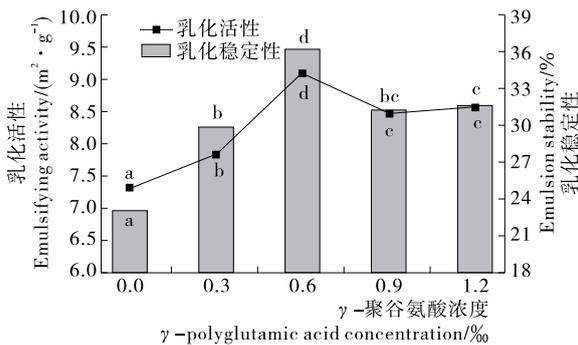
亲水基团发生竞争,疏水相互作用促使蛋白质周围的水分子发生重排,蛋白质-水之间的结合力减小,从而使蛋白质产生凝聚,溶解度有所降低<sup>[26]</sup>。

## 2.2 $\gamma$ -PGA 对 MP 乳化性的影响

由图 2 可知,随着  $\gamma$ -PGA 浓度的增大,MP 的乳化活性(EAI)和乳化稳定性(ESI)均呈先增大后减小的趋势。在  $\gamma$ -PGA 浓度  $< 0.6\%$  时,EAI 值和 ESI 值随着  $\gamma$ -PGA 浓度的增大显著增大( $P < 0.05$ );在  $\gamma$ -PGA 浓度为  $0.6\%$  时 EAI 值和 ESI 值分别达到最大值,即乳化效果最好,与对照组相比,EAI 值和 ESI 值分别增加了 24.48%,10.06%;在  $\gamma$ -PGA 浓度  $> 0.6\%$  时,EAI 值和 ESI 值有所减小,与  $\gamma$ -PGA 浓度为  $0.6\%$  时相比差异显著( $P < 0.05$ )。有研究<sup>[27]</sup>表明,蛋白质的乳化能力与其溶解度有关,蛋白质溶解度越高,溶液中能参与乳化的蛋白质分子就越多,因此乳化性就越好。随着  $\gamma$ -PGA 浓度的增加,蛋白质溶解度逐渐增大,分布在油水界面的蛋白质浓度相对较高,乳化油滴界面膜的厚度及强度增大,油滴稳定性增加,从而使蛋白质的乳化性增大。此外,乳化液是一种热力学不稳定状态,在乳化过程中部分蛋白质之间相互靠近形成胶束,进而提高蛋白质的乳化性,随着  $\gamma$ -PGA 浓度的增大,体系中  $-COO^-$  数量相对增多,静电斥力增强,双电层和溶液界面膜的厚度增加,同时有利于胶束的形成,因此蛋白质乳化性得到提高,然而当  $\gamma$ -PGA 浓度过高时会增加蛋白从油水界面向水相体系的通过量,压缩胶状分散体的离散双电层,破坏静电复合物的形成,油滴之间易产生聚集,从而导致蛋白质的乳化性能有所降低<sup>[28]</sup>。通过与图 3 比较可知,蛋白质乳化性的提高并不是  $\gamma$ -PGA 乳化性与蛋白质乳化性的简单叠加,而是通过  $\gamma$ -PGA 对蛋白质乳化性的增效作用来实现的。

## 2.3 $\gamma$ -PGA 对 MP 表面疏水性的影响

由图 4 可知,随着  $\gamma$ -PGA 浓度的增大,MP 表面疏水性呈先减小后增大的趋势。在  $\gamma$ -PGA 浓度为  $0.6\%$  时,表面疏水性达到最小值,与对照组相比,表面疏水性减小了 8.27%。有研究<sup>[29]</sup>发现,蛋白质的表面疏水性与溶解度及  $\alpha$ -螺旋结构含量呈负相关关系,蛋白质的溶解度取决于蛋白质分子的亲水性和疏水性的平衡。一方面,当在  $0\% \sim 0.6\%$  时,蛋白



不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ )

图 2  $\gamma$ -PGA 对 MP 乳化性的影响

Figure 2 Effects of  $\gamma$ -polyglutamic acid on emulsifying of myofibrillar protein

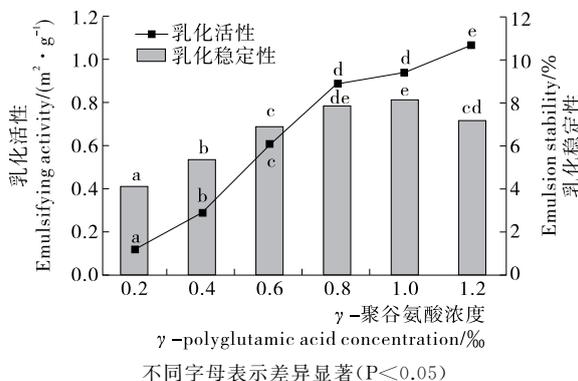
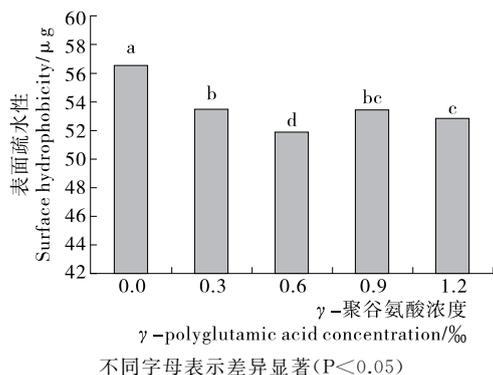


图 3 不同浓度  $\gamma$ -PGA 乳化性的变化

Figure 3 Changes of emulsifying properties of  $\gamma$ -polyglutamic acid at different concentrations



不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ )

图 4  $\gamma$ -PGA 对 MP 表面疏水性的影响

Figure 4 Effect of  $\gamma$ -polyglutamic acid on surface hydrophobicity of myofibrillar protein

质的溶解度随  $\gamma$ -PGA 浓度增大而逐渐增大,此时蛋白质分子表面存在的疏水性残基逐渐减小,表面疏水性降低。另一方面, $\gamma$ -PGA 中  $\alpha$ -螺旋含量较高,一定浓度的  $\gamma$ -PGA 使体系中  $\alpha$ -螺旋结构含量增多,从而使分子内部暴露的疏水位点减小,蛋白质的表面疏水性逐渐降低<sup>[29]</sup>。当  $\gamma$ -PGA 浓度较高时,MP 溶解度降低,疏水基团在蛋白内部暴露程度增大,MP 表面疏水性也随之增大。

## 2.4 $\gamma$ -PGA 对 MP 凝胶硬度和弹性的影响

MP 热诱导凝胶的硬度和弹性可以反映蛋白质形成凝胶的能力,蛋白质凝胶的形成主要受内部因素(如化学作用力、官能团等)和外部因素(如离子强度、温度、pH 等)的影响,这些因素的改变都会导致蛋白质的二、三、四级结构发生改变,最终对蛋白质的凝胶特性产生影响<sup>[30]</sup>。由图 5 可知,MP 凝胶硬度和弹性随着  $\gamma$ -PGA 浓度的增大呈先增大后减小的趋势。在  $\gamma$ -PGA 浓度为  $0.6\%$  时,凝胶硬度和弹性达到最大值,与对照组相比,凝胶硬度和弹性分别增加了 61.11%,13.10%,可能是一定浓度的  $\gamma$ -PGA 水溶液在加热过程中产生多肽链的随机断裂,在内源酶的催化作用下,暴露出的 Glu 残基与蛋白质中的 Lys 残基发生交联,形成的三维网络结构变得更加有序,从而使凝胶硬度和弹性逐渐提高<sup>[31]</sup>。在  $\gamma$ -PGA 浓度  $0.9\% \sim 1.2\%$  时,凝胶硬度和弹性有所减小,但与对照组相比,仍呈显著( $P < 0.05$ )增加的趋势。

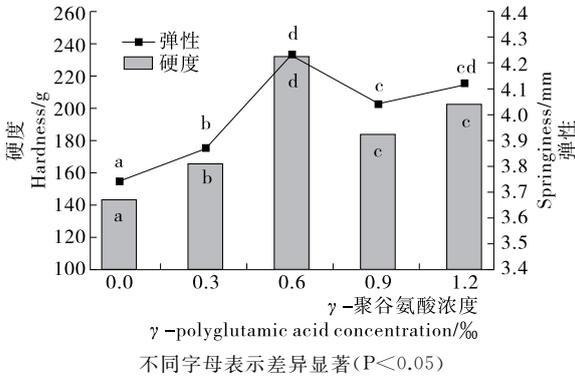


图5 γ-PGA对MP凝胶硬度和弹性的影响

Figure 5 Effect of γ-polyglutamic acid on the hardness and springiness of myofibrillar protein gelatin

过高浓度的γ-PGA反而会使凝胶硬度和弹性有所降低,可能是此时底物浓度已经饱和,过高浓度的γ-PGA和蛋白质分子之间发生过度交联,破坏了凝胶网络结构的均一性。

2.5 γ-PGA对MP凝胶保水性的影响

由图6可知,MP凝胶保水性随着γ-PGA浓度的增大呈先增大后减小的趋势。在γ-PGA浓度为0.6%时,凝胶保水性最好,与对照组相比提高了8.18%。有研究<sup>[32]</sup>表明,肉制品中的水分主要依靠蛋白质之间的静电相互作用、毛细管张力和氢键来维持。一定浓度的γ-PGA能够提高凝胶保水性,可能是添加γ-PGA后MP分子表面所带的负电荷数目增多,静电斥力作用使蛋白质分子间的作用力减弱,而蛋白质与水分子之间的作用力增强。此外,MP凝胶的形成主要是由蛋白质分子间的相互作用产生的,肌球蛋白是MP的主要成分,在离子强度较高时,肌球蛋白会以单分子状态存在,在热诱导凝胶形成过程中,一定浓度的γ-PGA使MP充分伸展,不易聚集,蛋白质颗粒较小,加热过程中γ-PGA可与肌球蛋白之间最大程度地发生交联或聚合,并形成有序的三维网状结构,使凝胶孔隙更加均匀,网络结构更加紧密,从而将更多的水分包埋或被结合在凝胶结构中<sup>[33]</sup>。随着γ-PGA浓度的进一步增大,凝胶保水性有所降低,可能是较高浓度的γ-PGA与蛋白质之间过度交联,造成凝胶网络结构混乱无序,蛋白质与水分子之间的相互作用减弱,从而使凝胶保水性下降。

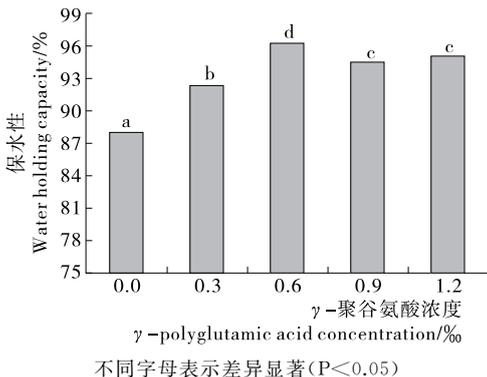


图6 γ-PGA对MP凝胶保水性的影响

Figure 6 Effect of γ-polyglutamic acid on water holding capacity of myofibrillar protein gelatin

2.6 γ-PGA对MP凝胶白度值的影响

由图7可知,随着γ-PGA浓度的增大,凝胶白度值呈逐渐减小的趋势。在γ-PGA浓度<0.6%时,与对照组相比,凝胶白度值变化较小(P>0.05);在γ-PGA浓度>0.6%时,凝胶白度值随着γ-PGA浓度的增大呈明显(P<0.05)的减小趋势,且在γ-PGA浓度为1.2%时,凝胶白度值达到最小值,与对照组相比,白度值仅降低了1.09%。γ-PGA对凝胶白度值的影响可能有3个方面的原因:①随着γ-PGA浓度的增大,在凝胶制备过程中Maillard反应的速率加快,生成的有色物质影响凝胶白度值的提高;②随着γ-PGA浓度的增大,蛋白质浓度增加,其与蛋白质之间的交联作用增强,凝胶微观结构变得更加致密,从而影响光的折射率;③一定浓度的γ-PGA使凝胶的保水性提高,凝胶样品表面的游离水减少,从而降低了与白度值正相关的L\*值<sup>[34]</sup>76。Soottawat等<sup>[33]</sup>报道称凝胶白度值的变化与保水性有关,高的水分含量会导致凝胶白度值降低,与本试验的研究结果基本一致。总体来看,γ-PGA对凝胶白度值的影响并不大,可能也与γ-PGA自身的颜色有关。

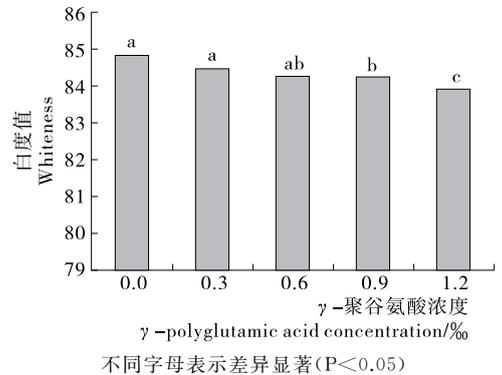


图7 γ-PGA对MP凝胶白度值的影响

Figure 7 Effect of γ-polyglutamic acid on whiteness of myofibrillar protein gelatin

2.7 γ-PGA对MP流变学性质的影响

存储模量(Storage modulus, G')可以反映蛋白质在加热过程中形成弹性凝胶网络结构的能力。由图8可知,γ-PGA对蛋白质G'值的影响可分为3个阶段:第一阶段是随着温度的升高,G'值缓慢增大,在41~43℃时分别出现了第1个峰值,此时MP的黏度达到最大,主要是因为肌球蛋白结构发生变化,三维网状结构初步形成,对照组在43.07℃时G'达最大值(1 082.09 Pa),而添加了γ-PGA的试样在此温度之前就出现了峰值,且其峰值明显高于对照组;第二阶段是G'值随着温度的升高逐渐减小,在48~50℃时达到第2个峰值,在此阶段蛋白质开始变性,已形成的三维网络结构被破坏,导致凝胶弱化<sup>[35]</sup>,加入γ-PGA样品其G'的最小值显著大于对照组的,而且其转变温度低于对照组的;第三阶段是G'值随着温度的升高快速增大,且在71~77℃时达到第3个峰值,此阶段MP的弹性达到最大,主要是受疏水相互作用和二硫键的影响,变性的MP最终形成了不可逆的三维网状结构凝胶,对照组在77.02℃时G'达最大值(19 798.7 Pa),

而  $\gamma$ -PGA 浓度为 0.6% 的样品在 71.18 °C 时  $G'$  达最大值 (127 332 Pa),  $\gamma$ -PGA 浓度为 1.2% 的样品在 72.11 °C 时  $G'$  达最大值 (104 558 Pa), 与对照组相比, 加入  $\gamma$ -PGA 的样品  $G'$  值增大速度较快,  $G'$  值发生转变的温度比对照组低, 且其  $G'$  最大值也显著高于对照组的, 表明  $\gamma$ -PGA 可以降低蛋白质形成凝胶的热变性温度, 提高凝胶的形成能力。此后, 随着温度的继续升高, 加入  $\gamma$ -PGA 的样品其  $G'$  值平缓下降, 而对照组的  $G'$  值下降趋势明显。在 80 °C 时,  $\gamma$ -PGA 浓度为 0.6% 的样品其  $G'$  值 (113 261.6 Pa) 明显大于其他样品的, 与  $\gamma$ -PGA 对 MP 凝胶硬度和弹性的影响结果基本一致。

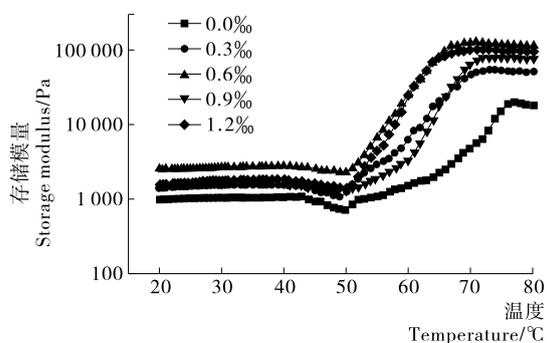
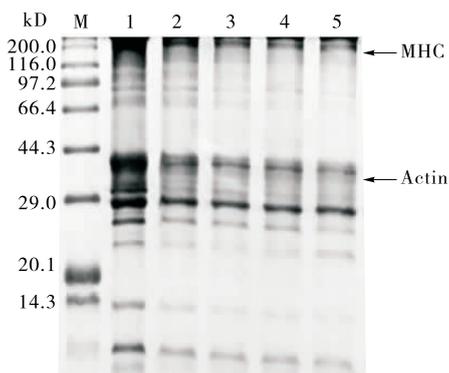


图 8  $\gamma$ -PGA 对 MP 存储模量 ( $G'$ ) 的影响

Figure 8 Effect of  $\gamma$ -polyglutamic acid on storage modulus ( $G'$ ) of myofibrillar protein

### 2.8 $\gamma$ -PGA 对肌原纤维蛋白 SDS-PAGE 图谱的影响

MP 是一个复杂的蛋白集合体系, 在蛋白溶液样品中加入不同浓度的  $\gamma$ -PGA 后, 其电泳条带的变化会有所不同。由图 9 可知, 与对照组的蛋白样品图谱相比, 添加一定浓度  $\gamma$ -PGA 后的蛋白样品其 MHC (分子质量为 200 kD) 条带和 Actin (分子质量为 43 kD) 条带都明显减弱。随着  $\gamma$ -PGA 浓度的增大, MHC、Actin 条带及肌球蛋白轻链 (分子质量为 17~20 kD) 条带都逐渐减弱, 可能是在鸡肉蛋白质中内源酶的催化作用下, 因样品缓冲液中含有 SDS 和  $\beta$ -巯基乙醇等还原剂,  $\gamma$ -PGA 经高温降解后产生的 Glu 残基与蛋白质中的 Lys 残基发生交联反应、形成大分子聚合物, 说明此聚合物



M. 标准蛋白(marker) 1~5.  $\gamma$ -PGA 浓度分别为 0%, 0.3%, 0.6%, 0.9%, 1.2% MHC. 肌球蛋白重链 Actin. 肌动蛋白

图 9  $\gamma$ -PGA 对肌原纤维蛋白 SDS-PAGE 图谱的影响

Figure 9 Effects of  $\gamma$ -polyglutamic acid on the SDS-PAGE pattern of myofibrillar protein

并不是通过二硫键和氢键形成的, 而是由共价键形成的。当  $\gamma$ -PGA 浓度进一步增大时, MHC、Actin 条带并未随着  $\gamma$ -PGA 浓度的进一步增大而继续减弱, 可能是此时底物浓度已经达到饱和状态。此外, 在凝胶顶部存在着一些颜色很深的条带, 可能是  $\gamma$ -PGA 的分子量很高, 其在高温条件下降解后产生了一些分子量超过 200 kD 的高分子物质, 这些物质在进行凝胶电泳时无法进入到浓缩胶和分离胶中, 从而堆积在凝胶顶部<sup>[36]</sup>。刘文娟<sup>[34]81-82</sup> 在研究  $\gamma$ -PGA 对带鱼蛋白质凝胶特性的影响时发现,  $\gamma$ -PGA 的添加可以使 MHC 条带减弱, CPI 条带显著增强, 与本试验的研究结果基本一致。

### 3 结论

不同  $\gamma$ -PGA 浓度对鸡肉 MP 功能特性的影响不同。随着  $\gamma$ -PGA 浓度的增大, MP 的溶解度、乳化性、凝胶硬度、弹性及保水性呈先增大后减小的趋势, 表面疏水性呈先减小后增大的趋势, 而  $\gamma$ -PGA 对凝胶白度值影响较小; 流变学性质变化表明,  $\gamma$ -PGA 对 MP 凝胶的形成有一定的促进作用; SDS-PAGE 结果表明,  $\gamma$ -PGA 与 MP 能够发生交联反应、形成大分子物质。  $\gamma$ -PGA 对鸡肉 MP 的功能特性有一定的积极作用, 今后在研究过程中可考虑将  $\gamma$ -PGA 和 TGase 等品质改良剂复合使用, 为功能性 (如低盐、低脂) 肉制品及新产品的开发提供了一定的理论依据。

### 参考文献

- [1] 施海东. 论我国肉鸡行业发展[J]. 家禽科学, 2017(1): 4-10.
- [2] 张海峰, 白杰, 张英. 宰后处理方式对鸡肉品质及加工性能的影响[J]. 肉类研究, 2009, 23(8): 32-36.
- [3] 倪学文, 严文莉, 汪芳丽, 等. 魔芋胶对鸡肉和猪肉混合肉糜凝胶特性的影响[J]. 食品工业科技, 2015, 36(8): 305-308.
- [4] 马力量. 超高压及亲水胶体对鸡肉凝胶品质的影响[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2007: 7-10.
- [5] 赵春青, 彭增起. 鸡肉盐溶蛋白质凝胶特性及其影响因素的研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2002: 1-4.
- [6] 唐学燕, 李博, 顾小红, 等. 魔芋葡甘露聚糖对肌肉蛋白质性质的影响[J]. 食品与机械, 2000(4): 25-26.
- [7] 贾娜, 韩齐, 芦嘉莹, 等. 复配食用胶对肌原纤维蛋白功能特性的影响[J]. 中国食品学报, 2014(10): 141-148.
- [8] 王希希, 林超, 李向红, 等. 工艺条件对蛋清鲑鱼鱼糜凝胶特性的影响[J]. 食品与机械, 2016, 32(12): 22-25.
- [9] 董建国, 李茂华, 潘润淑, 等. 超高压和转谷氨酰胺酶联合处理对碎牛肉重组特性的影响[J]. 食品与机械, 2014, 30(2): 184-187.
- [10] BAJOVIC B, BOLUMAR T, HEINZ V. Quality considerations with high pressure processing of fresh and value added meat products[J]. Meat Science, 2012, 92(3): 280-289.
- [11] ISHWAR Bajaj, REKHA Singhal. Poly(glutamic acid)-An emerging biopolymer of commercial interest [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(10): 5 551-5 561.
- [12] ADETORO Ogunleye, ADITYA Bhat, VICTOR U, et al. Poly- $\gamma$ -glutamic acid: production, properties and applications [J]. Microbiology, 2015, 161: 1-17.

- [13] HO G H, HO T I, HSIEH K H, et al. Gamma-Polyglutamic acid produced by *Bacillus subtilis* (natto): structural characteristics, chemical properties and biological functionalities [J]. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 2006, 53(6): 1 363-1 384.
- [14] KONNO A, TAGUCHI T, YAMAGUCHI T. Bakery products and noodles containing polyglutamic acid: United State, 4888193[P]. 1989-12-19.
- [15] SATO S, KOYAMA M. Inhibitor for sweet aftertaste of high-intensity sweetener: Japanese, 118741[P]. 2010-11-25.
- [16] WANG T L, KAO T H, INBARAJ B S, et al. Inhibition effect of poly( $\gamma$ -glutamic acid) on lead-induced toxicity in mice [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(23): 12 562-12 567.
- [17] SATO S, SATOKAWA H, IWASAKI T, et al. Taste improver: United State, 146491[P]. 2009-11-30.
- [18] 白登荣, 温佳佳, 贺雪华, 等.  $\gamma$ -聚谷氨酸对鸡肉糜凝胶特性的影响[J]. *食品科学*, 2017, 38(15): 158-164.
- [19] AGYARE K K, XIONG You-ling, ADDO K. Influence of salt and pH on the solubility and structural characteristics of transglutaminase-treated wheat gluten hydrolysate [J]. *Food Chemistry*, 2008, 107(3): 1 131-1 137.
- [20] AGYARE K K, ADDO K, XIONG You-ling. Emulsifying and foaming properties of transglutaminase-treated wheat gluten hydrolysate as influenced by pH, temperature and salt [J]. *Food Hydrocolloids*, 2009, 23(1): 72-81.
- [21] CHELH L, GATELLIER P, SANTE-LHOUELLIER V. Technical note: A simplified procedure for myofibril hydrophobicity determination [J]. *Meat Science*, 2006, 74(4): 681-683.
- [22] 徐谓, 李洪军, 徐明悦, 等. 亚麻籽胶对猪、兔肉混合肉糜凝胶特性的影响[J]. *食品工业科技*, 2015, 36(24): 296-300.
- [23] SALVADOR P, TOLDRA M, SAGUER E, et al. Microstructure-function relationships of heat-induced gels of porcine haemoglobin [J]. *Food Hydrocolloids*, 2009, 23(7): 1 654-1 659.
- [24] WESTPHALEN A D, BRIGGS J L, LONERGAN S M. Influence of muscle type on rheological properties of porcine myofibrillar protein during heat-induced gelation [J]. *Meat Science*, 2006, 72(4): 697-703.
- [25] LAEMMLI U K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of Bacteriophage T4 [J]. *Nature*, 1970, 227(5 259): 680-685.
- [26] THAWORNCHINSOMBUT S. Biochemical and gelation properties of fish protein isolate prepared under various pH and ionic strength conditions [D]. United States: Oregon State University, 2004: 8-10.
- [27] ZORBA O, KURT S, GENCCLEP H. The effects of different levels of skim milk powder and whey powder on apparent yield stress and density of different meat emulsions [J]. *Food Hydrocolloids*, 2005, 19(1): 149-155.
- [28] WAGNER J R, GUEGUEN J. Surface functional properties of native, acid-treated and reduced soy glycinin: 2. emulsifying properties [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, 47(6): 2 181-2 187.
- [29] 王中江, 江连洲, 魏冬旭, 等. pH值对大豆分离蛋白构象及表面疏水性的影响 [J]. *食品科学*, 2012, 33(11): 47-51.
- [30] 杨明. 马铃薯淀粉及转谷氨酰胺酶对鲤鱼肌原纤维蛋白功能特性的研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014: 3-4.
- [31] GOTO A, KUNIOKA M. Biosynthesis and hydrolysis of poly (glutamic acid) from *Bacillus subtilis* IFO3335 [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1992, 56(7): 1 031-1 035.
- [32] 吴焯, 许柯, 徐幸莲, 等. 低场核磁共振研究 pH 值对兔肌球蛋白热凝胶特性的影响 [J]. *食品科学*, 2010, 31(9): 6-11.
- [33] SOOTTAWAT B, WONNOP V, SUTTIRAK P. Suwari gel properties as affected by transglutaminase activator and inhibitors [J]. *Food Chemistry*, 2004, 85(1): 91-99.
- [34] 刘文娟. 凝胶增强剂对带鱼肌球蛋白热凝胶形成的影响及机理研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2015.
- [35] 付湘晋, 许时婴, 王璋. 酸碱处理对鲢鱼肌原纤维蛋白热变性, 聚集, 胶凝性质的影响 [J]. *食品科学*, 2008, 29(6): 100-103.
- [36] 魏晓明, 郭晓娜, 朱科学, 等. 谷氨酰胺转氨酶对荞麦面条品质的影响 [J]. *食品与机械*, 2016, 32(3): 188-192.

## 信息窗

## 中东欧国家要求欧盟消除盟内食品“双重标准”

罗马尼亚内幕网9月22日报道, 维谢格拉德四国集团(包括匈牙利、波兰、捷克和斯洛伐克)以及保加利亚、罗马尼亚、克罗地亚和斯洛文尼亚等国的官员要求欧盟消除当前在欧盟市场上存在的双重标准。

匈牙利农业部部长 Sandor Fazekas 表示:“匈牙利及中东欧其他国家的消费者与西欧国家的消费者拥有消费相同肉类的权利。”2016年, 保加利亚、捷克、克罗地亚、斯洛伐克四国经过调研后, 将跨国公司在中东欧地区出售较低

标准食品的事实上报欧委会。罗马尼亚也于2017年7月调查了“双重标准”事。调查结果表明, 在罗销售的9种食品的配料和营养成分不同于在西欧国家出售的相同商品。

欧委会主席容克拟向斯洛伐克、捷克和匈牙利的食品安全部门拨付100万欧元, 专门就食品双重标准一事开展测试。

(来源: 食品伙伴网)