

酶法糖基化修饰对玉米醇溶蛋白部分结构 及流变学性质的影响

Effect of enzymatic glycosylation modification on partial
structural and rheological properties of zein

曲悦^{1,2} 王晓杰^{1,2} 刘晓兰^{1,2} 丛万锁^{1,2}

QU Yue^{1,2} WANG Xiao-jie^{1,2} LIU Xiao-lan^{1,2} CONG Wan-suo^{1,2}

(1. 齐齐哈尔大学食品与生物工程学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006;

2. 黑龙江省普通高校农产品加工重点实验室, 黑龙江 齐齐哈尔 161006)

(1. College of Food and Biological Engineering, Qiqihar University, Qiqihar, Heilongjiang 161006, China;

2. Heilongjiang Key Laboratory of Agricultural Products Processing, Qiqihar, Heilongjiang 161006, China)

摘要:为了提高玉米醇溶蛋白的生物利用率,用谷氨酰胺转氨酶(TGase)和低聚氨基葡萄糖对玉米醇溶蛋白进行酶法糖基化修饰,研究了TGase催化的低聚氨基葡萄糖的共价结合反应对玉米醇溶蛋白部分结构性质及流变学性质的影响。试验结果表明,与玉米醇溶蛋白相比,低聚氨基葡萄糖的共价结合使玉米醇溶蛋白的游离巯基含量降低 32.37 $\mu\text{mol/g}$,热变性温度和变性焓分别增加 11 $^{\circ}\text{C}$ 和 72.3 J/g,即糖基化反应使玉米醇溶蛋白的热稳定性增加。在剪切速率为 1~100 s^{-1} 条件下,糖基化玉米醇溶蛋白分散液的表现黏度最高,并表现出剪切稀化的特性。在剪切频率 0.1~10 Hz 时,交联玉米醇溶蛋白和糖基化玉米醇溶蛋白分散液的弹性模量(G')均大于黏性模量(G''),表现为类固体特征。

关键词:玉米醇溶蛋白;低聚氨基葡萄糖;转谷氨酰胺酶;游离巯基;流变学性质

Abstract: In order to improve the bioavailability of zein, which was modified by using the microbial transglutaminase and chitosan. Effects of the enzymatic glycosylation modification on the partial structural and rheological properties of zein were studied. Compared to original zein, the free sulfhydryl groups of the glycosylated zein decreased by 32.37 $\mu\text{mol/g}$, the denaturation temperature and the denaturation enthalpy of the glycosylated zein increased by 11 $^{\circ}\text{C}$ and

72.3 J/g, respectively. These results suggest that thermal stability of the zein was increased by enzymatic glycosylation reaction. At shearing rate ranging from 1 to 100 s^{-1} , the dispersions of zein and cross-linked as well as glycosylated zein exhibited shear thinning behaviour, and apparent viscosity of three samples was significantly increased by the enzymatic glycosylation. Meanwhile, the elasticity modulus (G') of the glycosylated zein and cross-linked one were higher than viscous modulus (G''), and their flow behavior presented as a solid-like character at frequencies of 0.1~10 Hz.

Keywords: zein; chitosan; transglutaminase; the free sulfhydryl groups content; rheological properties

玉米蛋白粉(Corn Gluten Meal, CGM)是湿法玉米淀粉加工中产量最大的副产物。CGM 中含有 4 种溶解性不同的蛋白质,含量约为 62%~71%。其中,醇溶性玉米蛋白的含量为 65%~68%,碱溶性谷蛋白的含量为 22%~33%,是 CGM 中 2 种主要蛋白质^[1-2]。玉米醇溶蛋白和谷蛋白在水相中溶解性差的特点严重限制了玉米蛋白在食品工业中的应用^[2]。如果能对玉米蛋白进行改性,使其溶解性等功能性质显著改善,则玉米蛋白将有机会应用于食品工业中。

在食品工业中,普遍采用非酶褐变的美拉德反应(Maillard reaction)去改善食物中蛋白质的溶解性等加工特性和抗氧化等生理功能特性^[3-5]。但是,该反应存在反应时间长、反应温度高、营养成分利用率下降、会产生致突变物(如丙烯酰胺、呋喃、羟甲基糠醛)等缺点。

微生物来源的谷氨酰胺转氨酶(transglutaminase, TGase)是一种不依赖 Ca^{2+} 、可以催化蛋白质(或多肽)分子之间发生共价交联的酰基转移酶,广泛应用于肉制品等加工业。TGase 催化的酰基转移反应中,谷氨酰胺残基上的甲酰

基金项目:黑龙江省自然科学基金项目(编号:C201332);黑龙江省省属高等学校基本科研业务费科研项目(粮头食尾)(编号:LTSW201719);植物性食品加工技术黑龙江省优势特色学科资助项目(编号:YSTSXX201819)

作者简介:曲悦,女,齐齐哈尔大学在读硕士研究生。

通信作者:王晓杰(1980—),女,齐齐哈尔大学副教授,硕士。

E-mail: wangxiaojie80@163.com

收稿日期:2018-05-06

胺基提供乙酰基供体,赖氨酸残基上的 ϵ -氨基提供乙酰基受体^[6]。当乙酰基受体由氨基葡萄糖、氨基半乳糖和低聚氨基葡萄糖等含有伯胺基团的糖提供时,则发生了蛋白质的酶法糖基化修饰。用TGase催化大豆分离蛋白/酪蛋白与氨基葡萄糖/低聚氨基葡萄糖发生糖基化反应时,供体蛋白质的部分物化性质被显著改善,如溶解性、凝胶性和流变学性质等^[7-9]。与美拉德反应相比,酶法糖基化的反应温度更温和、反应时间更短,且不会产生美拉德反应中所生产的致突变物,显示出良好的应用优势与前景。

玉米蛋白的氨基酸组成特点决定其适合作为TGase的催化底物。但迄今为止,未见用TGase和低聚氨基葡萄糖对玉米醇溶蛋白进行改性的相关文献报道。本课题组已经用反相高效液相色谱法和红外光谱法证实了在TGase催化下,低聚氨基葡萄糖共价结合到玉米醇溶蛋白分子上^[10],并建立了玉米醇溶蛋白与低聚氨基葡萄糖之间的TGase酶法糖基化反应体系。在前期研究基础上,本试验拟以玉米醇溶蛋白为原料,研究低聚氨基葡萄糖的共价结合对玉米醇溶蛋白部分结构性质及流变学性质的影响,为进一步研究糖基化修饰玉米醇溶蛋白的结构与其生理活性之间的关系提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

低聚氨基葡萄糖:相对分子质量1.5 kDa,青岛博智汇力生物科技有限公司;

TGase:酶活力1 000 U/g,泰兴市一鸣生物制品有限公司;

5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)(DTNB):色谱级,上海Sangon有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

数显恒温水浴振荡器:SHZ-A型(往复式),江苏金坛医疗仪器厂;

低速常温离心机:CR21GⅢ型,日立集团;

高级旋转流变仪:Kinexus型,英国马尔文公司;

差示扫描量热仪:Q-20型,美国TA仪器有限公司;

真空冷冻储存箱:LD-53型,美国Millrock公司;

紫外可见分光光度计:DU800型,贝克曼库尔特商贸(中国)有限公司;

超低温冷冻冰箱:BM515型,法国FROILABO集团。

1.2 方法

1.2.1 玉米醇溶蛋白的提取 参考文献[11]。

1.2.2 糖基化玉米醇溶蛋白和交联玉米醇溶蛋白的制备

参考文献[12],修改如下:按照酰基供体与酰基受体的摩尔比为1:3,向玉米醇溶蛋白悬浮液(底物浓度3%)中加入低聚氨基葡萄糖,用2 mol/L NaOH将反应初始pH调整至7.7,按照60 U/g蛋白的加酶量加入TGase(为了增加酶的分散性,可事先将TGase配制成1 mL的溶液),在37℃下反应8 h。在此期间,每隔1 h检测1次pH,使反应体系

的pH始终维持在7.7。反应液置于85℃水浴锅中处理5 min钝化TGase,冷却至室温。为了除去反应体系中未参加反应的低聚氨基葡萄糖,用截断分子质量2 000 Da的透析袋在4℃透析48 h。透析后的样品经冷冻干燥48 h后即成为糖基化玉米醇溶蛋白。交联玉米醇溶蛋白的制备方法同上,区别仅在于反应体系中不加入低聚氨基葡萄糖。

1.2.3 玉米醇溶蛋白及其糖基化修饰产物游离巯基含量的测定 参考文献[11]。

1.2.4 玉米醇溶蛋白及其糖基化修饰产物热变性温度和变性焓的测定 利用差示扫描量热仪测定。精确称取2.5 mg样品放入铝盒中,压盖密封后置于DSC仪器的样品支持器上,以密封空铝盒作为对照。测定条件:氮气压力0.05 MPa,升温速率10℃/min,温度范围20~180℃。

1.2.5 玉米醇溶蛋白及其糖基化修饰产物流变学性质的测定

(1) pH对糖基化玉米醇溶蛋白表观黏度的影响:在底物浓度为10%的条件下,分别将糖基化玉米醇溶蛋白分散液的pH值调整至6.0,7.0,8.0,8.5,9.0,然后进行表观黏度的测定,比较不同pH值对糖基化玉米醇溶蛋白表观黏度的影响。

(2) 表观黏度的测定:配制底物浓度均为10%(蛋白基)的蛋白质分散液,放在4℃冰箱中静置过夜,使样品充分水合。用高级旋转流变仪测定,测定条件:夹具PU60型;剪切速率1~100 s⁻¹;温度25℃。

(3) 黏弹特性的测定:按1.2.5(2)方法制备蛋白质分散液,通过低振幅振荡试验确定3种样品在线性黏弹区的应力振幅值;然后在夹具PU60型、剪切频率0.1~10.0 Hz、应力振幅值0.12%、温度25℃条件下进行频率扫描,分析3种样品分散液的弹性模量(G')和黏性模量(G'')。

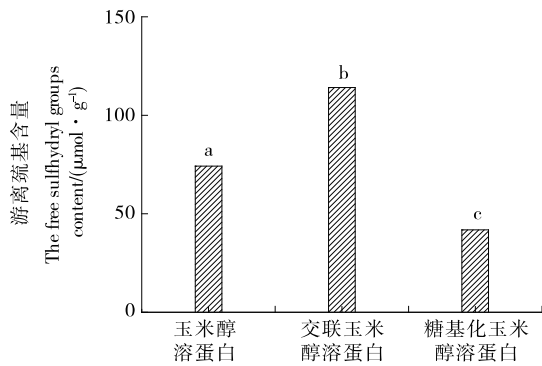
1.2.6 数据的统计学分析 应用SPSS 19.0统计软件中的LSD和Duncan检验对数据进行差异显著性分析。

2 结果与讨论

2.1 TGase糖基化修饰对玉米醇溶蛋白部分结构性质的影响

2.1.1 TGase糖基化修饰对玉米醇溶蛋白游离巯基含量的影响 游离巯基是一个影响蛋白质抗氧化活性和乳化行为的重要参数^[11]。糖基化修饰过程会引起蛋白质游离巯基和二硫键之间的相互转化,通过测定游离巯基含量的变化情况可以预测蛋白质在结构方面的变化程度。采用Ellman's分光光度法测定3种样品的游离巯基含量,试验结果见图1。

由图1可以看出,与原玉米醇溶蛋白相比,交联玉米醇溶蛋白的游离巯基含量增加,可能是TGase催化的分子内交联作用使球状玉米醇溶蛋白的结构伸展^[13],原包埋在分子内部的含硫氨基酸残基上的巯基暴露到分子表面,导致游离巯基含量增加;TGase催化的糖基化反应使玉米醇溶蛋白的游离巯基含量降低,可能有以下两方面的原因:①糖基化过程中与玉米醇溶蛋白共价结合的长链低聚氨基葡萄糖分子,产生了空间位阻,屏蔽了部分游离巯基;②虽然含有巯基的



不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)

图 1 玉米醇溶蛋白及其糖基化修饰产物的游离巯基含量
Figure 1 The free sulfhydryl groups content of zein and cross-linked as well as glycosylated zein

氨基酸暴露在蛋白质表面,但由于形成的糖基化蛋白结构性质不稳定,随着糖基化反应程度进一步加深,使得暴露的巯基之间形成新的二硫键,致使修饰产物巯基含量下降。游离巯基含量的变化说明了 TGase 催化的糖基化反应使蛋白质的构象发生变化,使得其功能特性也会发生相应的变化。另外,一些研究^[14]结果表明,巯基含量与乳化活性具有显著的相关性,糖基化玉米醇溶蛋白乳化活性的降低可能与其游离巯基含量下降有关。

2.1.2 糖基化修饰对玉米醇溶蛋白热变性温度和变性焓的影响 DSC 通过测量在以恒定速率加热时与分子热变性相关的热能改变测定稳定性,热跃迁中点(T_m)越高,分子越稳定。对玉米醇溶蛋白及其 2 种糖基化修饰产物进行 DSC 测定,以表征 TGase 催化的糖基化反应对玉米醇溶蛋白热稳定性的影响,试验结果见图 2 和表 1。

由表 1 可以看出,TGase 催化的糖基化修饰使玉米醇溶蛋白的变性温度和总变性焓均发生了不同程度的上升,在整体上提高了玉米醇溶蛋白的热稳定性。与玉米醇溶蛋白相比,分子内交联反应使玉米醇溶蛋白的变性温度和总变性焓变化不显著,可能与玉米醇溶蛋白的氨基酸组成有关。TGase 催化的交联反应以赖氨酸残基上的 ϵ -氨基为乙酰基受体,而玉米醇溶蛋白中赖氨酸含量低,导致交联反应发生几率低,对玉米醇溶蛋白的热稳定性影响较小。糖基化反应

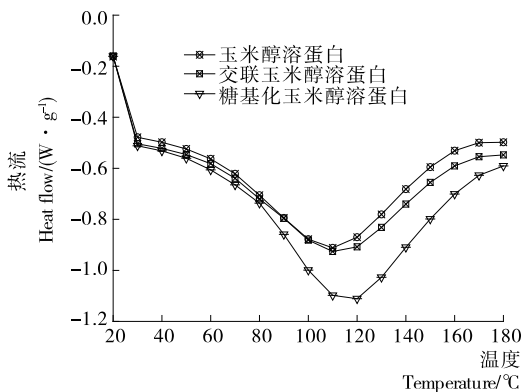


图 2 玉米醇溶蛋白及其糖基化修饰产物的 DSC 曲线
Figure 2 DSC profile of zein and its glycosylated products

表 1 玉米醇溶蛋白及其糖基化修饰产物的变性温度和热变性焓[†]

Table 1 The denaturation peak temperature and thermodenaturation enthalpy of zein and its glycosylated products

样品	变性温度/°C	总变性焓/(J·g ⁻¹)
玉米醇溶蛋白	108.52±2.54 ^a	162.45±8.98 ^b
交联玉米醇溶蛋白	112.08±0.91 ^a	160.60±11.31 ^b
糖基化玉米醇溶蛋白	119.52±12.60 ^a	234.75±23.93 ^a

[†] 不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

使玉米醇溶蛋白的变性温度提高了 11 °C,总变性焓提高了 72.3 J/g,可能是与玉米醇溶蛋白共价结合的长链低聚氨基葡萄糖分子阻止了蛋白分子之间的相互靠近和作用,进而抑制了蛋白质的变性和聚集沉淀,与迟玉杰等^[15]的研究结论相一致。

2.2 糖基化修饰对玉米醇溶蛋白流变学性质的影响

2.2.1 pH 对糖基化玉米醇溶蛋白表观黏度的影响 蛋白质只有处于溶解状态时才能表现出良好的功能特性,因此,糖基化玉米醇溶蛋白只有处于良好的溶解状态才能表现出良好的表观黏度。蛋白质的溶解性受 pH 影响较大,在高于或低于等电点的 pH 条件下,会对蛋白质的溶解性产生有益的作用。为了防止样品中不溶性颗粒对蛋白质表观黏度测定的影响,在剪切速率为 1~100 s⁻¹ 条件下,测定在不同 pH 条件下的蛋白分散液的表观黏度,结果见图 3。

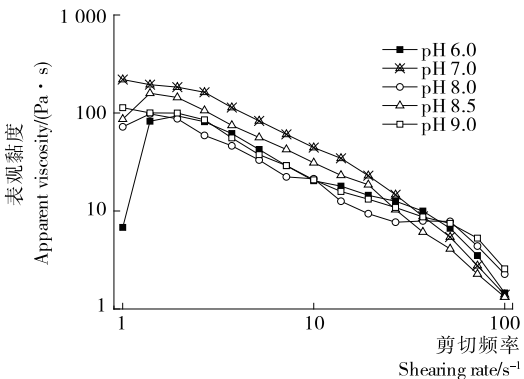


图 3 pH 对糖基化玉米醇溶蛋白分散液表观黏度的影响
Figure 3 Effect of pH on the apparent viscosity of the aqueous dispersions of the glycosylated zein

由图 3 可以看出,在底物浓度均为 10% 条件下,在 pH 值为 6.0 时,糖基化玉米醇溶蛋白分散液的表观黏度值最低;在碱性 pH 8.0~9.0 值条件下,低剪切频率时,分散液的表观黏度呈先上升后降低的趋势,在高剪切频率时,分散液的表观黏度有波动,曲线不光滑,可能是分散液中的不溶性颗粒对表观黏度的测量产生了影响。pH 值为 7.0 时,分散液的表观黏度最大,曲线光滑下降,没有波动,说明此条件下样品的溶解性最高,避免了分散液中不溶性颗粒对玉米醇溶蛋白表观黏度测量的影响。因此,选择底物浓度 10%、pH 7.0 的条件进行糖基化玉米醇溶蛋白表观黏度的测定。

2.2.2 糖基化修饰对玉米醇溶蛋白表观黏度的影响 将3种玉米醇溶蛋白样品配置成底物浓度为10%(蛋白基)的分散液,并调节pH值为7.0,在此条件下测定3种玉米醇溶蛋白样品的表观黏度,试验结果见图4。

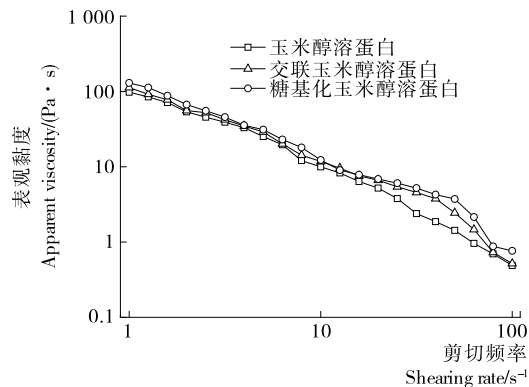


图4 玉米醇溶蛋白及其糖基化修饰产物表观黏度随剪切频率的变化曲线

Figure 4 Apparent viscosity of the aqueous dispersions of zein and cross-linked as well as glycosylated zein

由图4可以看出,在剪切速率 $1\sim 100\text{ s}^{-1}$ 时,糖基化玉米醇溶蛋白的表观黏度最大,而交联玉米醇溶蛋白的表观黏度大于玉米醇溶蛋白,并且3种样品的表观黏度均随着剪切频率的增加而逐渐下降,为假塑性流体所特有的剪切稀化现象。

在氨基糖不存在的条件下, TGase 催化蛋白质分子内的交联反应(乙酰基受体由赖氨酸残基上的 ϵ -氨基提供),形成了分子质量和体积较大的蛋白质聚合物,增加了蛋白质分散液的表观黏度,与 Song 等^[16-17]的研究结果一致。在氨基糖存在的条件下, TGase 催化的糖基化反应使低聚氨基葡萄糖与玉米醇溶蛋白共价结合,糖分子改善了玉米醇溶蛋白的溶解性,增加了反应体系中蛋白质之间的相互作用,进而增加了表观黏度。另外,与玉米醇溶蛋白共价结合的糖分子使溶液的黏度增加,对糖基化玉米醇溶蛋白表观黏度的增加具有促进作用。因此,糖基化玉米醇溶蛋白的分散液表现出最高的表观黏度。

2.2.3 糖基化修饰对玉米醇溶蛋白黏弹特性的影响 食品的结构、品质与黏弹特性密切相关。在确定应力值为0.12%、剪切频率范围为 $0.1\sim 10.0\text{ Hz}$ 的条件下,测定3种玉米醇溶蛋白样品分散液的 G' 和 G'' ,试验结果见图5。

从图5可以看出,在测定的剪切频率范围内,玉米醇溶蛋白分散液由类液体特征(剪切频率 $0.14\sim 0.72\text{ Hz}$)转变为类固体特征(剪切频率 $1\sim 10\text{ Hz}$),表明玉米醇溶蛋白的交联程度很弱,处于半流体状态。TGase 催化的糖基化修饰在一定程度上改变了玉米醇溶蛋白的黏弹特性。在剪切频率为 0.19 Hz 时,交联玉米醇溶蛋白的 G' 和 G'' 值相等;在频率 $0.19\sim 1.00\text{ Hz}$ 时, G' 高于 G'' ,且两者均随着剪切频率的增加而逐渐增加;在频率 $1\sim 10\text{ Hz}$ 时, G' 和 G'' 的值变化幅度较小,说明体系形成了凝胶^[18]。在剪切频率 $0.1\sim 10.0\text{ Hz}$ 时,糖基化玉米醇溶蛋白的 G' 和 G'' 均随剪切频率的增加而增加,且 G' 始终高于 G'' ,表现为类固体特征,说明糖基化反应

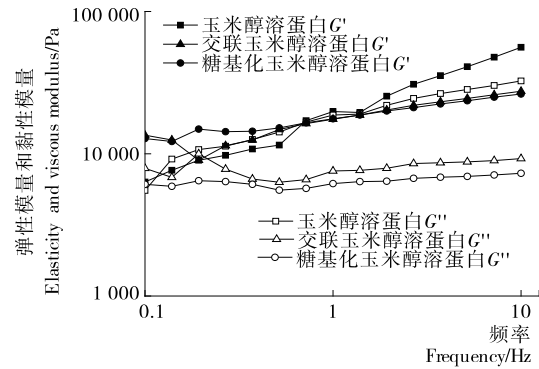


图5 玉米醇溶蛋白及其糖基化修饰产物的黏弹性模量随剪切频率的变化曲线

Figure 5 Elasticity modulus and viscous modulus of the aqueous dispersions of zein and its glycosylated products

促使玉米醇溶蛋白具有更好的增稠作用。

3 结论

针对玉米醇溶蛋白水溶性差的特点,本试验利用具有多羟基结构的低聚氨基葡萄糖分子对玉米醇溶蛋白进行糖基化改性,以期在改善玉米醇溶蛋白的溶解性的同时,改善玉米醇溶蛋白的结构和功能等性质。游离巯基含量和热学性质的测定结果表明, TGase 催化的低聚氨基葡萄糖的共价结合反应使玉米醇溶蛋白的热稳定性增加。在剪切速率为 $1\sim 100\text{ s}^{-1}$ 条件下,糖基化玉米醇溶蛋白分散液的表观黏度最高,并表现出剪切稀化的特性。在剪切频率 $0.1\sim 10.0\text{ Hz}$ 时,糖基化玉米醇溶蛋白分散液的 G' 均大于 G'' ,表现为类固体特征。说明与玉米醇溶蛋白和交联玉米醇溶蛋白相比,低聚氨基葡萄糖的共价结合反应可以在一定程度上改善玉米醇溶蛋白的结构性质和流变学性质。

参考文献

- [1] GIOIA L D, CUQ B, GUILBERT S. Effect of hydrophilic plasticizers on thermomechanical properties of corn gluten meal[J]. Cereal Chemistry, 1998, 75(4): 514-519.
- [2] WANG Xiao-jie, ZHENG Xi-qun, KOPPARAPU N K, et al. Purification and evaluation of a novel antioxidant peptide from corn protein hydrolysate[J]. Process Biochemistry, 2014, 49(9): 1562-1569.
- [3] YANG S Y, LEE S H, PYO M C, et al. Improved physicochemical properties and hepatic protection of Maillard reaction products derived from fish protein hydrolysates and ribose[J]. Food Chemistry, 2017, 221(4): 1979-1988.
- [4] MENGÍBAR M, MIRALLES B, HERAS Á. Use of soluble chitosans in Maillard reaction products with β -lactoglobulin. Emulsifying and antioxidant properties[J]. LWT-Food Science and Technology, 2017, 75(1): 440-446.
- [5] CORTÉS Yáñez D A, GAGNETEN M, LEIVA G E, et al. Antioxidant activity developed at the different stages of Maillard reaction with milk proteins [J]. LWT-Food Science and Technology, 2018, 89(3): 344-349.

(下转第29页)

- teins in postmortem porcine muscle with pH decline rate and time differences[J]. *Proteomics*, 2011, 11(20): 4 063-4 076.
- [17] 李兰会, 孙丰梅, 黄娟, 等. 宰后肉品 pH 值与嫩度[J]. *肉类工业*, 2006(12): 28-30.
- [18] 潘晓建, 文利, 彭增起, 等. 宰前热应激对肉鸡胸肉 pH、氧化和嫩度、肉色及其关系的影响[J]. *江西农业学报*, 2007(5): 91-95.
- [19] 马晓冰, 苏琳, 林在琼, 等. 不同品种肉羊肌肉的糖酵解潜力及其与肉品质的相关性[J]. *食品科学*, 2015, 36(15): 1-4.
- [20] KHLIJI S, VAN de Ven R, LAMB T A, et al. Relationship between consumer ranking of lamb color and objective measures of color[J]. *Meat Science*, 2010, 85(2): 224-229.
- [21] LAWRIE R A. Obituary[J]. *Meat Science*, 1988, 24(3): 233.
- [22] ROWE L J, MADDOCK K R, LONERGAN S M, et al. Influence of early postmortem protein oxidation on beef quality[J]. *Journal of Animal Science*, 2004, 82: 785-793.
- [23] TANG Jia-li, FAUSTMAN C, LEE S, et al. Effect of glutathione on oxymyoglobin oxidation[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(6): 1 691-1 695.
- [24] LIANG Rong-rong, ZHU He, MAO Yan-wei, et al. Tenderness and sensory attributes of the longissimus lumborum muscles with different quality grades from Chinese fattened yellow crossbred steers[J]. *Meat Science*, 2015, 112: 52.
- [25] MILLER M F, CARR M A, RAMSEY C B, et al. Consumer thresholds for establishing the value of beef tenderness[J]. *Journal of Animal Science*, 2001, 79(12): 3 062.
- [26] HUGHES J M, OISETH S K, PURSLOW P P, et al. A structural approach to understanding the interactions between colour, water-holding capacity and tenderness [J]. *Meat Science*, 2014, 98(3): 520-532.
- [27] 魏燕超, 刘满顺, 刘永峰. 宰后成熟过程中羊肉食用品质及蛋白稳定性的变化研究[J]. *食品与发酵工业*, 2018, 44(6): 8-11.
- [28] 罗欣, 周光宏. 电刺激和延迟冷却对牛肉食用品质的影响[J]. *中国农业科学*, 2008, 41(1): 188-194.
- [29] VEERAMUTHU G I, SAMS A R. Postmortem pH, myofibrillar fragmentation, and calpain activity in pectoralis from electrically stimulated and muscle tensioned broiler carcasses[J]. *Poultry Science*, 1999, 78: 272-276.
- [30] HUFF-LONERGAN S L. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes[J]. *Meat Science*, 2005, 71: 194-204.
- [31] CHEN Li-juan, LI Xin, NI Na, et al. Phosphorylation of myofibrillar proteins in postmortem ovine muscle with different tenderness[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2016, 96(5): 1 474-1 483.
- [32] PRATES J A M, RIBERIRO A M R, CORREIA A D. Role of cysteine endopeptidases (EC 3. 4. 22) in rabbit meat tenderisation and some related changes [J]. *Meat Science*, 2001, 57(3): 283-290.
- [33] 阎乃珺. 动态高压微射流对小麦面筋蛋白性质和结构的影响[D]. 广州: 华南理工大学, 2013: 7.
- [34] 曾淑薇, 李吉, 熊善柏, 等. 磷酸盐对草鱼肌原纤维蛋白结构的影响[J]. *食品科学*, 2014, 35(23): 48-51.
- [35] LIN Wan-ling, ZENG Qing-xiao, ZHU Zhi-wei, et al. Relation between protein characteristics and TPA texture characteristics of crisp grass carp (*Ctenopharyngodon idellus* C. et V) and grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. *Journal of Texture Studies*, 2012, 43(1): 1-11.
- [36] 陈琳. Caspase-3 在鸡肉成熟过程中的作用以及与 calpain 的互关系研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2011: 52.

(上接第 14 页)

- [6] KIELISZEK M, MISIEWICZ A. Microbial transglutaminase and its application in the food industry: A review[J]. *Folia Microbiologica*, 2014, 59(3): 241-250.
- [7] CHEN Lin, ULLAH N, LI Chen-yi, et al. Incorporated glucosamine adversely affects the emulsifying properties of whey protein isolate polymerized by transglutaminase[J]. *Journal of Dairy Science*, 2017, 100(5): 3 413-3 423.
- [8] FU Miao, ZHAO Xin-huai. Modified properties of a glycosylated and cross-linked soy protein isolate by transglutaminase and an oligochitosan of 5 kDa[J]. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 2016, 97(1): 58-64.
- [9] ZHU Chang-yue, WANG Xiao-peng, ZHAO Xin-huai. Property modification of caseinate responsible to transglutaminase-induced glycosylation and crosslinking in the presence of a degraded chitosan[J]. *Food Science & Biotechnology*, 2015, 24(3): 843-850.
- [10] WANG Xiao-jie, ZHENG Xi-qun, LIU Xiao-lan, et al. Preparation of glycosylated zein and retarding effect on lipid oxidation of ground pork[J]. *Food Chemistry*, 2017, 227(7): 335-341.
- [11] 王晓杰, 刘晓兰, 丛万锁, 等. 原料热处理对玉米醇溶蛋白结构性质和酶解效率的影响[J]. *现代食品科技*, 2015, 31(11): 170-176.
- [12] 王晓杰, 刘晓兰, 丛万锁, 等. 低聚氨基葡萄糖糖基化修饰对玉米醇溶蛋白功能性质的影响[J]. *食品科学*, 2018, 39(8): 13-19.
- [13] JIANG Shu-juan, ZHAO Xin-huai. Cross-linking and glucosamine conjugation of casein by transglutaminase and the emulsifying property and digestibility *in vitro* of the modified product[J]. *International Journal of Food Properties*, 2012, 15(6): 1 286-1 299.
- [14] 邵俊花, 吴菊清, 周光宏, 等. 巯基和疏水性对蛋白质乳化及凝胶特性的影响[J]. *食品科学*, 2013, 34(23): 155-159.
- [15] 迟玉杰, 姜剑, 赵薇. 糖基化反应对大豆 7s 球蛋白凝胶流变性质的影响[J]. *农业机械学报*, 2013, 44(3): 167-173.
- [16] SONG Chun-li, ZHAO Xin-huai. Rheological, gelling and emulsifying properties of a glycosylated and cross-linked caseinate generated by transglutaminase [J]. *International Journal of Food Science*, 2013, 48(12): 2 595-2 602.
- [17] BÖNISCH M P, LAUBER S, KULOZIK U. Improvement of enzymatic cross-linking of casein micelles with transglutaminase by glutathione addition[J]. *International Dairy Journal*, 2007, 17(1): 3-11.
- [18] 刘永乐, 李向红, 易翠平, 等. 酸法脱酰胺大米蛋白/葡聚糖体系微结构性质研究[J]. *中国粮油学报*, 2010, 25(10): 1-6.