

pH 对肌原纤维蛋白二级结构及其热诱导凝胶特性的影响

费英¹, 韩敏义^{1,2}, 杨凌寒¹, 周光宏¹, 徐幸莲¹, 彭增起¹

(¹南京农业大学食品科技学院/农业部农畜产品加工与质量控制重点开放实验室, 南京 210095; ²河北科技大学生物科学与工程学院, 石家庄 050018)

摘要: 【目的】研究 pH 对猪肉肌原纤维蛋白二级结构 α -螺旋及其热诱导凝胶硬度、保水性及微观结构的影响。【方法】采用圆二色谱 (circular dichroism, CD) 测定不同 pH 下, 猪肉肌原纤维蛋白 α -螺旋含量的变化; 用物性测试仪测定相应 pH 下肌原纤维蛋白热诱导凝胶的硬度, 用离心法测定其保水性, 同时利用扫描电镜拍摄其微观结构。【结果】随着 pH 偏离肌原纤维蛋白等电点 (pI) 向中性范围靠近, 其 α -螺旋含量及其热诱导凝胶的保水性都逐渐增大; 而凝胶硬度在 pH 6.0 时达最大值; 在远离等电点的中性条件下, 肌原纤维蛋白凝胶具有较高有序性的微观结构, 而且结构均匀, 酸性条件下凝胶的微观结构有序性低, 不均匀, 且存在聚合物。【结论】猪肉肌原纤维蛋白 α -螺旋含量与其热诱导凝胶保水性呈正相关关系; 蛋白含天然结构 α -螺旋较多时, 凝胶微观结构比较有序, 反之, 凝胶微观结构比较粗糙。

关键词: 猪肉肌原纤维蛋白; pH; α -螺旋; 硬度; 保水性; 微观结构

Studies on the Secondary Structure and Heat-Induced Gelation of Pork Myofibrillar Proteins as Affected by pH

FEI Ying¹, HAN Min-yi^{1,2}, YANG Ling-han¹, ZHOU Guang-hong¹, XU Xing-lian¹, PENG Zeng-qi¹

(¹Key Laboratory of Meat Processing and Quality Control, Ministry of Education/College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095; ²College of Bioscience and Bioengineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018)

Abstract: 【Objective】 The objective is to study the effect of pH on the secondary structure, α -helix of pork myofibrillar protein, and the hardness, water holding capacity (WHC) and microstructure of its heat-induced gel. 【Method】 The α -helix of pork myofibrillar protein under different pH were measured by circular dichroism (CD), and the hardness, WHC and microstructure of the heat-induced gel were determined by texture analyzer, centrifugation method and scanning electron microscope (SEM), respectively. 【Result】 The α -helix of pork myofibrillar protein and WHC of its heat-induced gel increased with pH away from pI, the hardness reached its maximum when pH was 6.0, the gel had a uniform and orderly microstructure in neutral, while it had disorderly and uneven microstructure with polymer in the acidic. 【Conclusion】 The α -helix of myofibrillar protein is positive correlated with the WHC of its heat-induced gelation, and the gel has an orderly microstructure with more α -helix, while rough microstructure with less α -helix.

Key words: pork myofibrillar protein; pH; α -helix; hardness; water holding capacity; microstructure

0 引言

【研究意义】肌原纤维蛋白是肌肉中具有重要生

物学功能的盐溶性蛋白, 主要是由肌球蛋白、肌动蛋白、肌动球蛋白和调节蛋白 (原肌球蛋白、肌钙蛋白) 等形成的结构蛋白质群, 其热诱导凝胶对肉制品的功

收稿日期: 2009-05-22; 接受日期: 2009-07-22

基金项目: 国家自然科学基金 (30771526)

作者简介: 费英, 硕士研究生。Tel: 025-84395939; Fax: 025-84395939; E-mail: feifeifeishaoye@126.com。通信作者周光宏, 教授。Tel: 025-84395939; Fax: 025-84395939; E-mail: ghzhou@njau.edu.cn

能特性如硬度、保水性、质地等有着十分密切的关系^[1]。蛋白质的生物功能取决于其特定的三维结构(二级结构)^[2]。肌原纤维蛋白热不可逆凝胶形成过程中,蛋白质发生变性聚集,其实质是蛋白质分子中的次级键被破坏,引起蛋白质天然结构解体,其二级结构发生一定变化^[3],而所制凝胶呈现一定的保水性、质构特性(硬度等)以及一定的微观结构,其两者间可能具有一定相关性。【前人研究进展】圆二色(circular dichroism, CD)是一种简单和快捷的获得生物大分子结构的手段。圆二色现象是由光学活性物质对左右圆偏振光的吸光率之差引起的^[4]。蛋白质或多肽是由氨基酸通过肽键连接而成的,其主要的生物学活性生色基团是肽链骨架中的肽键、芳香氨基酸残基及二硫键^[4]。其 CD 谱远紫外区段(190—250 nm),主要生色团是肽键,这一波长范围的 CD 谱包含着生物大分子主链构象的信息;在近紫外区(250—300 nm),占支配地位的生色团是芳香胺基侧链,这一区域可以给出“局域”侧链间相互作用的信息^[5]。根据所测蛋白质或多肽的远紫外 CD 谱,能反映出蛋白质或多肽链二级结构的信息,从而揭示蛋白质或多肽的二级结构。在 CD 谱上, α -螺旋结构在靠近 192 nm 有一正的谱带^[4],在 222 和 208 nm 处表现出两个负的肩峰谱带^[4,6],是 α -螺旋结构的特征峰,通过峰值的改变可以看出 α -螺旋结构的变化。圆二色谱是研究稀溶液中蛋白质结构的方法^[4],要求蛋白浓度比较低,而蛋白凝胶形成需要有比较高的浓度,然而 Choi 和 Ma^[7]同时利用圆二色谱和拉曼光谱研究普通荞麦中球蛋白的构象,前者取较低的蛋白浓度(0.01%),后者取较高的蛋白浓度(5%),结果发现利用圆二色谱与拉曼光谱所测得的结果相一致。【本研究切入点】pH 能影响凝胶形成过程中蛋白质之间的变化,通过改变氨基酸侧链电荷分布,降低或增加蛋白质和蛋白质相互作用,从而对蛋白结构和凝胶功能性质产生影响。在蛋白质天然二级结构中, α -螺旋占主要地位,本试验主要是用圆二色谱测定猪肉肌原纤维蛋白随 pH 变化时,其二级结构 α -螺旋的变化,同时测定相应 pH 条件下,肌原纤维蛋白热诱导凝胶所呈现的质构、保水性及微观结构,确定其相互关系。目前国内尚未见关于肌原纤维蛋白在此方面研究的报道。【拟解决的关键问题】探讨肌原纤维蛋白二级结构(α -螺旋)含量变化,与其热诱导凝胶质构(硬度)、保水性和电镜微观结构相关关系,找出 α -螺旋与凝胶功能特性间的关系,以利于更好地了解其凝胶机制,为以后开发高品质凝胶肉制品提供

理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 主要试验材料与试剂

猪肉腰大肌:购于南京苜蓿园大街农贸市场,剔除可见结缔组织和脂肪,切碎,真空包装,贮存于-20℃直到蛋白质提取。

所用试剂最低纯度为分析纯。

1.2 主要仪器与设备

圆二色谱仪:J-810,日本 JASCO 公司;落地式高效冷冻离心机:Avanti J-E,美国 Beckman Coulter 公司;物性测试仪:TA.XT2i,英国 Stable Micro Systems 公司;扫描电镜:S-3000N,日本 Hitachi 公司;高速组织打碎机:Waring Blender 8010ES,美国 Waring 公司;高速匀浆机:Ultra Turrax T25 BASIS,德国 IKA 公司;pH 计:HANNA,葡萄牙;紫外分光光度计:UV-2450,日本岛津公司。

1.3 试验方法

1.3.1 肌原纤维蛋白的提取 肌原纤维蛋白的提取参照韩敏义^[8]的方法。所得肌原纤维蛋白浓度用双缩脲法测定^[9],以牛血清蛋白作标准曲线,计算蛋白质浓度。

1.3.2 肌原纤维蛋白圆二色谱样品及其热诱导凝胶制备 用磷酸缓冲液(0.6 mol·L⁻¹ NaCl, 50 mmol·L⁻¹ Na₂HPO₄/NaH₂PO₄, pH 6.0)将肌原纤维蛋白浓度分别调整到 0.08 mg·mL⁻¹和 40 mg·mL⁻¹,并且将整体离子强度调整到 0.6 mol·L⁻¹ NaCl,用 1 mol·L⁻¹ HCl 或 NaOH 将蛋白样品的 pH 分别调整到 5.0、5.5、6.0、6.5 和 7.0,其中 0.08 mg·mL⁻¹样品用于圆二色谱 α -螺旋的测定,40 mg·mL⁻¹样品置于水浴锅以大约 1℃/min 速率从 20—70℃线性升温,而后在 70℃保温 20 min 形成凝胶,于 4℃冷库冷却过夜,进行质构、保水性测定和电镜拍摄。

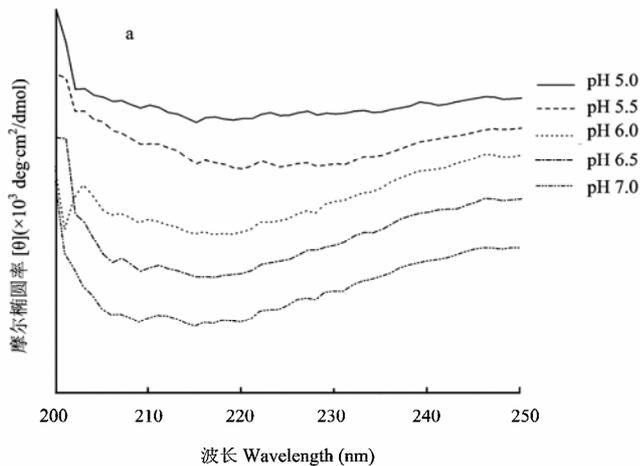
1.3.3 圆二色谱的测定 将制备好的肌原纤维蛋白样品装于光路长度为 0.1 cm 的样品槽,扫描波段为 190—250 nm,扫描速度为 100 nm/min,利用水浴锅将样品线性升温加热到 80℃,保温 20 min,进行测定。光谱共累计扫描 3 次取平均值,同时扫描缓冲液,通过差减除去缓冲液信号。 α -螺旋含量通过 DichroWeb 网站(<http://dichroweb.cryst.bbk.ac.uk/html/home.shtml>)软件计算而得^[10],使用的算法为 K2D^[11],使用的参考蛋白为 SP175 (Optimized for 190—240 nm # Less nm required),取蛋白平均残基浓度 M_{rw} 为 110

$\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, 计算波长范围为 200—250 nm。每个样品共测定 3 个重复。

1.3.4 物性测定 制备的肌原纤维蛋白凝胶用物性测试仪测定硬度, 探头型号: P5 5 mm Dia Cylinder Stainless。参数设定为: 测前速度: $2\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$, 测定速度: $1\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$, 距离: 10.0 mm, 数据获得速率: 200 pps。每个处理测定 3 个重复。

1.3.5 保水性测定 凝胶保水性的测定基于 Kocher 和 Foegeding 的离心法^[12], 按照韩敏义^[8]的参数进行测定。将制备的肌原纤维蛋白凝胶称重后, 于 $0\text{--}4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下经 $10\ 000\times\text{g}$ 离心 10 min, 去除离出的液体, 记录空离心管的重量以及离心前后离心管与凝胶的总重。根据下列公式计算凝胶保水性:

$$\text{WHC} (\%) = \frac{W_2 - W}{W_1 - W} \times 100\%$$



式中 W 为离心管重, W_1 为离心前离心管与凝胶重, W_2 为离心去液体后离心管与凝胶重。每个处理测定 3 个重复。

1.3.6 微观结构的观察 将制备 24 h 的肌原纤维蛋白凝胶, 切块后经 2.5% 戊二醛溶液固定, 清洗, 乙醇梯度脱水, 乙酸异戊酯置换, 干燥, 粘样, 镀膜后于扫描电镜 (scanning electron microscope, SEM) 观察微观结构, 加速电压为 20.0 kV。

1.3.7 统计分析 用 SAS 8.12 进行相关分析和方差分析, 如果方差分析效应显著, 使用 Duncan multiple range test 进行多重比较 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 圆二色谱测定 pH 对肌原纤维蛋白 α -螺旋的影响 不同 pH 下肌原纤维蛋白 α -螺旋变化见图 1。

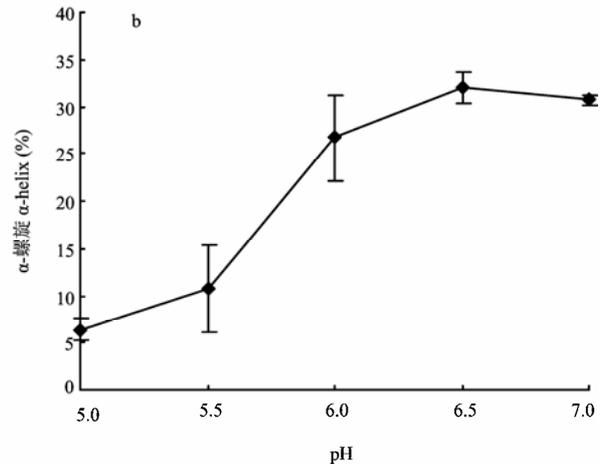


图 1 pH 对肌原纤维蛋白 CD 谱图 (a) 和 α -螺旋结构含量 (b) 的影响

Fig. 1 Effect of pH on CD spectra (a) and the α -helix content (b) of myofibrillar protein

在中性 pH 时 (pH 7.0), CD 谱在 208 和 222 nm 处出现两个小峰, 是 α -螺旋结构的特征峰。将 pH 偏离中性会降低 208 和 222 nm 处的负极摩尔椭圆度^[4,6], 说明 α -螺旋结构的丢失。

由图 1 可见, 随着 pH 偏离肌原纤维蛋白等电点范围 (肌原纤维蛋白等电点约为 $5\text{--}5.2$ ^[13,25]), 向中性条件靠近时, 肌原纤维蛋白的 α -螺旋呈现升高趋势。pH 6.5 时 α -螺旋含量达到最高值, 为 32.0%; pH 5.0 时达最低值, 为 6.3%。pH 7.0、6.5、6.0 和 pH 5.5、5.0 这两组差异显著 ($P < 0.05$), pH 7.0 的 α -螺旋含量介于 pH 6.5 和 6.0 之间。Liu 等利用圆二色谱研究

肌球蛋白二级结构发现, 当 pH 从 7.0 降到 5.5 时, α -螺旋含量很明显地从 87.4% 降到 15.8%^[14]。

α -螺旋结构主要是由多肽链上羰基 ($-\text{CO}$) 和氨基 ($-\text{NH}-$) 之间的氢键稳定^[15-16]。肌原纤维蛋白的等电点约为 $5\text{--}5.2$, 这说明在中性条件下, 蛋白是呈负电荷的, 降低 pH 可能会增加蛋白间因为电荷中和而产生的静电作用, 从而影响氢键的稳定性^[16]。静电作用和氢键稳定性的变化会依次引起在酸性条件下 α -螺旋的丢失^[14]。

2.2 pH 对肌原纤维蛋白凝胶保水性的影响

不同 pH 下肌原纤维蛋白热诱导凝胶保水性见图 2。

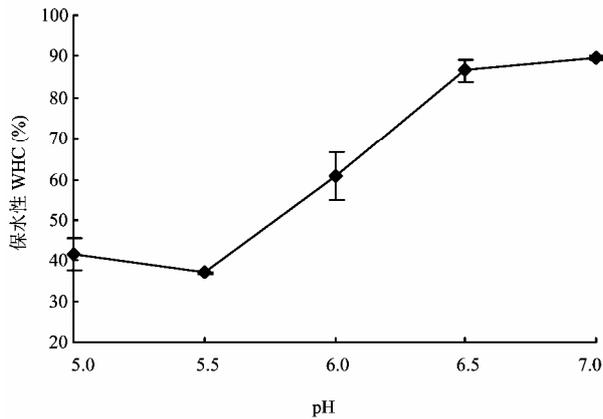


图 2 pH 对肌原纤维蛋白热诱导凝胶保水性的影响

Fig. 2 Effect of pH on the WHC of myofibrillar protein heat-induced gel

pH 远离等电点逐渐升高时, 凝胶保水性随之提高, pH 7.0、6.5 保水性较高, 分别达到 89.74%和 86.65%, pH 6.0 介于中间, pH 5.0、5.5 保水性较低, 分别为 41.64%和 37.10%, 这 3 组之间差异达显著 ($P < 0.05$)。

在热诱导凝胶形成过程中, 肌原纤维蛋白主要成分肌球蛋白经过变性聚集而后相互交联形成有序三维网状结构, 并把水包含在其中^[8]。本试验所得结果主要归因于 pH 对肌原纤维蛋白净电荷的影响以及其肌丝间静电斥力的程度, 而这些决定了凝胶的保水性^[17]。当 pH 高于等电点时, 负极增加的负电荷网络会引起凝胶网络中肌球蛋白分子间的静电斥力, 同时净电荷的增加为周围水分子提供了更多氢键结合位点^[18], 增大了水合作用表面积^[14,18]。高 pH 时, 保水性提高主要归因于蛋白质与水相互作用增多。也有人认为, 当 pH 增大时, 肌原纤维伸展, 从而使保水性提高^[13]。

2.3 pH 对肌原纤维蛋白凝胶质构的影响

由图 3 可见, 在 pH 6.0 时, 凝胶硬度最大, 为 75.48 g, pH 5.0 时达最小值, 27.91 g。pH 6.0、6.5, pH 5.5、7.0, pH 5.0 这 3 组之间差异显著 ($P < 0.05$)。

pH 6.0、6.5 的硬度比中性条件时大, 可能是由于 pH 在 6.0 和 6.5 时, 静电斥力比 pH 7.0 时小, 从而使蛋白疏水作用和二硫键作用增大; 在肌原纤维蛋白等电点范围, 由于蛋白-蛋白间作用增强^[19], 聚合加快, 易获得弱和容易渗水的凝胶, 凝胶硬度降低^[20], 在接近等电点时, 肌原纤维蛋白可能在未加热之前即发生了部分解离, 加热后的蛋白溶液表现为有聚合物存在

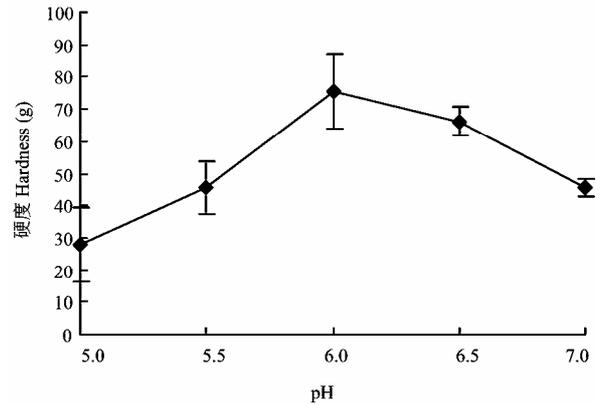


图 3 pH 对肌原纤维蛋白热诱导凝胶硬度的影响

Fig. 3 Effect of pH on the hardness of myofibrillar protein heat-induced gel

的棉絮状, 可能是加热使蛋白质发生了凝聚^[21]。

2.4 pH 对肌原纤维蛋白凝胶微观结构的影响

由基于 SEM 技术得到的凝胶微观结构图可见, 在接近等电点的酸性条件 pH 5.0 和 5.5 时, 肌原纤维蛋白热诱导凝胶具有很多棒块状或颗粒状聚合物, pH 5.0 时无明显的凝胶孔洞, pH 5.5 时凝胶孔径不均一, 使酸性条件下的凝胶网状结构比较粗糙、无序; 而当 pH 偏离等电点逐渐增大时, 凝胶网络结构趋于有序, 逐渐形成多孔且孔径均一的细致结构, 其中 pH 6.0 的孔径比 pH 6.5 和 7.0 的稍小 (图 4)。

pH 会影响蛋白质分子的离子化作用和净电荷值, 从而影响蛋白分子间的吸引力和排斥力以及蛋白分子与水分子的结合能力^[21]。酸性条件下的凝胶微观结构有序性低于接近中性条件的凝胶微观结构, 聚合物较多的原因可能是, 离等电点较近时, 蛋白分子间减小的静电斥力有利于其相互间疏水作用的增强, 蛋白与水的作用减弱, 而蛋白与蛋白作用增强, 在热诱导变性聚集前, 蛋白已发生部分解聚, 之后的热作用又促进解聚分子的重新结合, 从而使蛋白分子混乱、无序; 而接近中性条件的蛋白在合适的热作用下充分变性, 聚集, 形成细致紧密的网络结构。

2.5 pH、 α -螺旋、保水性和硬度相关性分析结果

pH、 α -螺旋、保水性和硬度相关性结果见表。

由表可见, α -螺旋、pH 与保水性三者彼此都显著相关 ($P < 0.05$)。

3 讨论

蛋白质二级结构不管在溶液还是凝胶状态, 都会

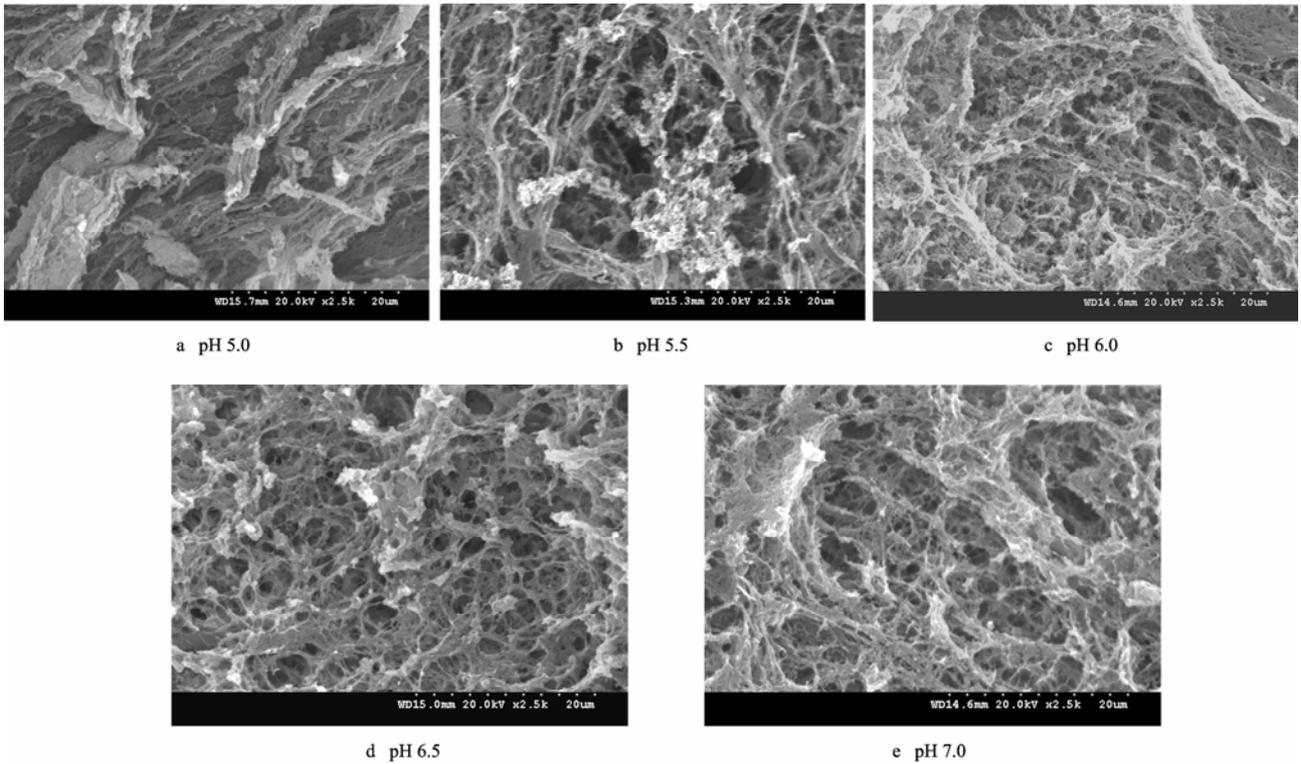


图 4 pH 对肌原纤维蛋白热诱导凝胶微观结构的影响
 Fig. 4 Effect of pH on the microstructures of myofibrillar protein heat-induced gel

表 pH、 α -螺旋、保水性和硬度相关性
 Table The correlation among pH, α -helix, WHC and hardness

	螺旋 Helix	保水性 WHC	硬度 Hardness
酸碱度 pH (r)	0.92873	0.93968	0.46923
酸碱度 pH (p)	0.0226	0.0176	0.4253
螺旋 Helix (r)		0.92977	0.72107
螺旋 Helix (p)		0.0221	0.1692
保水性 WHC(r)			0.43059
保水性 WHC (p)			0.4692

随 pH 的改变而改变^[22-24]。在本试验中,猪肉肌原纤维蛋白 α -螺旋随 pH 降低而减少,与 Liu 等^[14]所测猪肉肌球蛋白 α -螺旋变化趋势一致,是因为肌原纤维蛋白主要是以肌球蛋白为主,肌球蛋白的变化起主要作用。肌原纤维蛋白 α -螺旋在 pH 6.5 时达最高值,32.0%,在 pH 7.0 时达 30.7%,而 Liu 等测得的肌球蛋白 α -螺旋含量在 pH 7.0 时为 87.4%,可能是由于他们测定肌球蛋白 α -螺旋的条件是 15℃,而本试验测定条件是 80℃,而温度对蛋白质二级结构也有很大影响,这与 Liu 关于温度对肌球蛋白影响的结论相一致^[14]:将肌球蛋白 (pH 7.0) 从 5℃升温到 90℃,蛋白 α -螺旋含量从 87.7%降到 36.0%,本试验中肌原纤维蛋白

(pH 7.0) α -螺旋在 80℃时的值比 36.0%略低,可能是因为测定条件和样品差异等引起。

本试验所测凝胶保水性与猪肉肌球蛋白凝胶保水性结果一致,当 pH 5.5 升到 7.0 时,猪肉肌球蛋白凝胶保水性显著提高 ($P < 0.05$),从 31.2%到 73.0%,在 pH 7.0—9.0 间达到最大保水性 (72%—73%)^[14]。猪肉肌原纤维蛋白凝胶的保水性在 pH 5.4—7.0 时也显著提高^[25]。与低 pH (6.4—6.8) 相比,鸡胸肉凝胶在较高 pH (7.0—7.4) 时保持水的能力更好^[26],结果与本试验结果类似。这种保水性从等电点范围向中性条件逐渐增大的趋势,主要归因于静电斥力以及蛋白-水作用的增强。

Ishiproshi 等通过测定兔肌球蛋白热诱导凝胶在不同温度点的剪切力研究 pH 和盐浓度对其凝胶的影响,也发现在 60—70℃时, pH 6.0 形成凝胶最强^[27]。Xiong 等通过穿刺试验,发现鸡胸肉肌原纤维在 pH 6.0 时形成凝胶最强,而腿肉肌原纤维在 pH 5.5 时最强^[28]。Lefevre 等利用应变振动测试证明肌原纤维蛋白在 pH 5.6 时形成的凝胶比在 pH 6.0 时的强,主要是通过静电增强疏水作用和二硫键作用引起的^[29]。Westphalen 等通过流变测试发现猪肉肌原纤维蛋白在 pH 5.6 和 6.0 时形成的凝胶较强, G' 分别为 1 860 和 1 311 Pa,

pH 6.5 和 7.0 时都较弱^[18]。本试验也发现, 肌原纤维蛋白凝胶硬度从 pH 5.0 到 7.0 呈现先升高后降低的变化, 在 pH 6.0 时达最大值, 凝胶强度随 pH 的变化趋势, 与 Xiong 的试验相吻合: 研究 pH 对鸡胸肉匀浆物凝胶特性, 发现鸡胸肉凝胶强度从 pH 5.8 到 6.3 呈升高趋势, 从 6.6 起又呈降低趋势^[30], 其另外的研究也证明, 鸡胸肉肌原纤维蛋白从 pH 6.0 到 7.0 形成凝胶强度降低^[31]。

热引起的蛋白质凝胶经两步完成: 第一步是原生态蛋白质受热而变性展开; 第二步是展开的蛋白质因聚合作用而形成较大分子的凝胶体。凝胶基质的结构和物理化学特性取决于变性和聚集的相对速率。蛋白质聚集的速率相对于展开的速率越慢, 变性链可以更好定向, 这就有利于形成更细致的凝胶网络。当蛋白质聚集的速率高于展开的速率时, 就形成粗糙、无序的凝胶结构或凝结核^[32]。离等电点较近时, 蛋白-蛋白作用增强, 聚集速率快, 所以形成粗糙的微观结构, 而在接近中性条件时, 静电斥力以及蛋白与水相互作用使多肽链保持在分离状态^[32], 蛋白分子充分展开, 之后的热作用使蛋白缓慢聚集, 变性链定向有序, 从而使凝胶微观网络结构细致均匀。

随着 pH 由中性范围向等电点接近时, 肌原纤维蛋白 α -螺旋含量逐渐减少, 与凝胶保水性变化趋势保持一致, 由表中相关系数可见两者呈显著正相关关系。这说明蛋白含有越少天然结构 (α -螺旋), 则不利于其凝胶保水性的提高。

当 pH 达到等电点时, 静电斥力的减小和疏水基团的暴露, 引起二级结构改变, α -螺旋含量减少, 并且蛋白-蛋白非共价键作用引起无规则聚集, 从而形成比较弱的凝胶^[33-34]。所以在接近等电点时, 凝胶的硬度较低。凝胶含有较多 α -螺旋时形成的凝胶比较有黏性, 而并非强度更大^[14]。

此外, α -螺旋的含量与凝胶微观结构也有一定关系, 由图可见, 含有越多有序结构 α -螺旋, 蛋白变性聚集缓慢, 这与凝胶的三维结构形成相关, 使凝胶微观结构比较有序, 而 α -螺旋含量越少时, 凝胶微观结构比较粗糙^[21]。另外, 由凝胶的微观结构可以看出, 肌原纤维蛋白凝胶在 pH 接近中性范围时有较多孔洞且孔径较大, 多孔及孔径的增大有利于水分的保留, 而凝胶保水性的增加与保留水移动性减小也有关^[8], 说明其不易流失, 反之, 在接近肌原纤维蛋白等电点范围时, 蛋白聚集速率较快, 凝胶结构孔洞较少且孔径较小, 无法容纳更多的水。

4 结论

pH 对肌原纤维蛋白二级结构 α -螺旋具有显著的影响。随着 pH 偏离肌原纤维蛋白等电点范围向中性范围接近, 蛋白对天然二级结构 α -螺旋的保持也越多, 此时, 凝胶的保水性也随之上升, 及微观结构趋于有序, 这说明蛋白的基础结构决定了凝胶的功能特性, 它们之间存在很强的相关性。

致谢: 感谢中国科技大学生命科学学院罗昭锋老师和周宏敏老师对 CD 测试的支持。

References

- [1] Westphalen A D, Briggs J L, Lonergan S M. Influence of muscle type on rheological properties of porcine myofibrillar protein during heat-induced gelation. *Meat Science*, 2006, 72: 697-703.
- [2] 鄂书林. 蛋白质结构和功能的紫外共振喇曼光谱研究. *发光学报*, 2002, 23(5): 440-444.
E S L. Ultraviolet resonance raman spectroscopy study of protein structure and function. *Chinese Journal of Luminescence*, 2002, 23(5): 440-444. (in Chinese)
- [3] 卢 雁, 张玮玮, 王公轲. FTIR 用于变性蛋白质二级结构的研究进展. *光谱学与光谱分析*, 2008, 28(1): 88-93.
Lu Y, Zhang W W, Wang G K. Progress in study of secondary structure of denaturated protein by FTIR. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2008, 28(1): 88-93. (in Chinese)
- [4] 黄汉昌, 姜招峰, 朱宏吉. 紫外圆二色光谱预测蛋白质结构的研究方法. *化学通报*, 2007(7): 501-506.
Huang H C, Jiang Z F, Zhu H J. The methods of protein conformation predicted by UV-circular dichroism. *Chemistry Online*, 2007(7): 501-506. (in Chinese)
- [5] McPhie P. Circular dichroism studies on proteins in films and in solution: estimation of secondary structure by g-factor analysis. *Analytical Biochemistry*, 2001, 293: 109-119.
- [6] Greenfield N J. Review methods to estimate the conformation of proteins and polypeptides from circular dichroism data. *Analytical Biochemistry*, 1996, 235: 1-10.
- [7] Choi S M, Ma C Y. Structural characterization of globulin from common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) using circular dichroism and Raman spectroscopy. *Food Chemistry*, 2007, 102: 150-160.
- [8] Han M Y, Zhang Y J, Fei Y, Xu X L, Zhou G H. Effect of microbial transglutaminase on NMR relaxometry and microstructure of pork myofibrillar protein gel. *European Food Research and Technology*,

- 2009, 228(4): 665-670.
- [9] Gornall A G, Bardawill C J, David M M. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *Journal of Biological Chemistry*, 1949, 177(2): 751-766.
- [10] Whitmore L, Wallace B A. DICHROWEB, an online server for protein secondary structure analyses from circular dichroism spectroscopic data. *Nucleic Acids Research*, 2004, 32(Web Server Issue): W668-W673.
- [11] Andrade M A, Chacón P, Merelo J J, Morán F. Evaluation of secondary structure of proteins from UV circular dichroism spectra using an unsupervised learning neural network. *Protein Engineering Design and Selection*, 1993, 6(4): 383-390.
- [12] Kocher P N, Foegeding E A. Microcentrifuge-based method for measuring water-holding of protein gels. *Journal of Food Science*, 1993, 58(5): 1040-1046.
- [13] Offer G, Knight P. The structure basis of water-holding in meat: Part 1. Developments in meat science. London: Elsevier Applied Science, 1988: 63-171.
- [14] Liu R, Zhao S M, Xiong S B, Xie B J, Qin L H. Role of secondary structure in the gelation of porcine myosin at different pH values. *Meat Science*, 2008, 80: 632-639.
- [15] Sano T, Ohno T, Otsuka-Fuchino H, Matsumoto J J, Tsuchiya T. Carp natural actomyosin: Thermal denaturation mechanism. *Journal of Food Science*, 1994, 59(5): 1002-1008.
- [16] Damodaran S. Amino acids, peptides, and proteins // *Food Chemistry* (3rd ed.). New York: Marcel Dekker, 1996: 321-429.
- [17] Hamm R. Functional properties of the myofibrillar system and their measurements // *Muscle as Food*. Orlando: Academic Press, 1986: 135-199.
- [18] Westphalen A D, Briggs J L, Lonergan S M. Influence of pH on rheological properties of porcine myofibrillar protein during heat induced gelation. *Meat Science*, 2005, 70: 293-299.
- [19] Sarel O, Famelart M H. Heat induced gelation of acid milk: balance between weak and covalent bonds. *Journal of Dairy Research*, 2003, 70(2): 253-256.
- [20] Saguer E, Fort N, Alvarez P A, Sedman J, Ismail A A. Structure-functionality relationships of porcine plasma proteins probed by FTIR spectroscopy and texture analysis. *Food Hydrocolloids*, 2008, 22: 459-467.
- [21] 张红娟, 陈振昌, 周瑞宝. pH 值对 11S 球蛋白结构与凝胶性的影响. *食品科技*, 2003(5): 26-31.
Zhang H J, Chen Z C, Zhou R B. Effect of temperature on structure and gelling characteristics of yu-25 soybean 11S globulin. *Food Science and Technology*, 2003(5): 26-31. (in Chinese)
- [22] Alain A F, Paquin P, Subirade M. Relationships between conformation of β -lactoglobulin in solution and gel states as revealed by attenuated total reflection Fourier transform infrared spectroscopy. *International Journal of Biological Macromolecules*, 1999, 26: 337-344.
- [23] Boye J I, Ismail A A, Alli I. Effects of physicochemical factors on the secondary structure of β -lactoglobulin. *Journal of Dairy Research*, 1996, 63(1): 97-109.
- [24] Dhanapati N, Ishioroshi M, Yoshida I, Samejima K. Effects of mechanical agitation, heating, and pH on the structure of bovine alpha lactalbumin. *Animal Science and Technology*, 1997, 68(6): 545-554.
- [25] Bertram H C, Kristensen M, Andersen H J. Functionality of myofibrillar proteins as affected by pH, ionic strength and heat treatment - a low-field NMR study. *Meat Science*, 2004, 68: 249-256.
- [26] Kristinsson H G, Hultin H O. Role of pH and ionic strength on water relationships in washed minced chicken-breast muscle gels. *Journal of Food Science*, 2003, 68(3): 917-922.
- [27] Ishiprosi M, Samejima K, Yasui T. Heat-induced gelation of myosin: Factors of pH and salt concentrations. *Journal of Food Science*, 1979, 44: 1280-1284.
- [28] Xiong Y L, Brekke C J. Protein extractability and thermally induced gelation properties of myofibrils isolated from pre and post rigor chicken muscles. *Journal of Food Science*, 1991, 56(1): 210-215.
- [29] Lefevre F, Fauconneau B, Ouali A, Culioli J. Thermal gelation of brown trout myofibrils from white and red muscle: effect of pH and ionic strength. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2002, 82: 452-463.
- [30] Lesiów T, Xiong Y L. Chicken muscle homogenate gelation properties: effect of pH and muscle fiber type. *Meat Science*, 2003, 64: 399-403.
- [31] Xiong Y L. Myofibrillar protein from different muscle fiber types: implications of biochemical and functional properties in meat processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1994, 34(3): 293-320.
- [32] 杨龙江, 南庆贤. 肌肉蛋白质的热诱导凝胶特性及其影响因素. *肉类工业*, 2001(10): 39-42.
Yang L J, Nan Q X. The heat-induced gelation of muscle proteins and the factors affecting them. *Meat Industry*, 2001(10): 39-42. (in Chinese)
- [33] Ju Z Y, Kilara A. Gelation of pH-aggregated whey protein isolate solution induced by heat, protease, calcium salt, and acidulant. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1998, 46(5): 1830-1835.
- [34] Matsudomi N, Rector D, Kinsella J E. Gelation of bovine serum albumin and β -lactoglobulin; effects of pH, salts and thiol reagents. *Food Chemistry*, 1991, 40(1): 55-69.

(责任编辑 曲来娥)