

易林,安玥琦,张晗玮,等. 鲢和青鱼转谷氨酰胺酶诱导下肌球蛋白凝胶特性的研究[J]. 华中农业大学学报, 2023, 42(4): 254-261.
DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2023.04.029

鲢和青鱼转谷氨酰胺酶诱导下 肌球蛋白凝胶特性的研究

易林,安玥琦,张晗玮,熊善柏

华中农业大学食品科学技术学院/国家大宗淡水鱼加工技术研发分中心(武汉)/
长江经济带大宗水生生物产业绿色发展教育部工程研究中心,武汉 430070

摘要 为探究不同品种淡水鱼转谷氨酰胺酶(transglutaminase, TGase)对肌球蛋白凝胶特性的影响,以鲢和青鱼肌球蛋白为试验对象,分别测定鲢转谷氨酰胺酶(silver carp transglutaminase, STG)和青鱼转谷氨酰胺酶(black carp transglutaminase, BTG)作用下肌球蛋白在低温凝胶化后溶解度、蛋白聚集、流变学特性、穿刺特性和微观形貌的变化。结果显示:与未加酶组相比,添加2种TGase后均可催化鲢或青鱼肌球蛋白交联形成更多的 ϵ -(γ -Glu)-Lys异肽键,导致肌球蛋白重链(myosin heavy chain, MHC)的聚集程度增加,蛋白浊度值及平均粒径显著增大($P < 0.05$),肌球蛋白凝胶的弹性模量(G')明显增大,凝胶破断力和破断距离显著提升($P < 0.05$),蛋白网络结构增强。在提升同种肌球蛋白凝胶特性方面,BTG的催化交联作用强于STG;而BTG的比酶活(12.67 U/mg)低于STG的比酶活(14.34 U/mg),且无论是否添加TGase,青鱼肌球蛋白的凝胶特性始终高于鲢肌球蛋白。综上,不同品种淡水鱼凝胶特性的差异并非主要由TGase的活性差异所导致,而与其肌球蛋白的来源密切相关。

关键词 转谷氨酰胺酶;肌球蛋白;凝胶特性;流变学特性;凝胶网络结构

中图分类号 TS254.4 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2023)04-0254-08

我国淡水渔业资源丰富,2021年淡水鱼养殖产量高达2 640.28万t,位居世界第一^[1]。渔业生产快速增长的同时也带动了淡水鱼糜制品产业的发展,鲢、草鱼、青鱼等低值淡水鱼成为鱼糜及鱼糜制品加工的重要原料。然而,不同品种淡水鱼糜凝胶特性差异显著,肉食性青鱼鱼糜的凝胶形成能力要优于鲢、草鱼等滤食性或草食性鱼类。这与鱼糜凝胶化阶段,内源性转谷氨酰胺酶(TGase)诱导的肌球蛋白交联反应密切相关。Araki等^[2]研究发现鲤TGase对不同鱼类肌球蛋白聚合速率的影响差异显著。Binsi等^[3]试验发现不同海水鱼TGase作用下,比目鱼肌球蛋白凝胶强度、肌球蛋白重链(MHC)聚集程度与TGase的活性呈正相关。贾丹^[4]在对比7种淡水鱼糜的化学组成和凝胶特性的研究中也发现,鱼糜的谷氨酸和赖氨酸含量、TGase活性与鱼糜凝胶强度密切相关。但有关青鱼与其他淡水鱼TGase

对肌球蛋白凝胶特性的作用差异鲜有报道,且不同品种淡水鱼糜凝胶特性的差异是否主要由TGase活性差异或肌球蛋白来源导致的,目前尚不清楚。

因此,本研究以鲢和青鱼肌球蛋白为对象,分析在鲢转谷氨酰胺酶(STG)和青鱼转谷氨酰胺酶(BTG)作用下肌球蛋白凝胶化后溶解度、蛋白聚集、流变学特性、穿刺特性和微观形貌的变化及差异,以明确不同品种淡水鱼糜的凝胶特性存在差异的原因,旨在为淡水鱼糜凝胶的品质调控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

新鲜鲢(约2 kg/尾)、青鱼(约4 kg/尾)购于华中农业大学校内农贸市场,将其放置在水箱中保活运至实验室后,于低温间宰杀,取鱼背部白肉备用。

牛血清蛋白、N,N-二甲基酪蛋白(DMC)、丹酰尸

收稿日期: 2023-05-29

基金项目:国家现代农业产业技术体系(CARS-45-28)

易林, E-mail: 15082451376@163.com

通信作者:熊善柏, E-mail: xionsb@mail.hzau.edu.cn

胺等分析纯试剂购于美国 Sigma-Aldrich 公司; 三羧甲基氨基甲烷(Tris)、碳酸钠、酒石酸钾钠、五水硫酸铜、硫酸铵、氯化钠、氯化钙、盐酸、氯化钾、醋酸镁、碳酸氢钾、氯化镁、十二烷基硫酸钠(SDS)、三氯乙酸(TCA)、尿素、氢氧化钠、叠氮钠、ATP二钠盐(ATP- Na_2)等分析纯试剂购于国药集团化学试剂有限公司; 甘氨酸、蛋白质上样缓冲液、次高分子标准蛋白(Marker)均为电泳纯, 购于 Biosharp 公司; 考马斯亮蓝 R-250、 β -巯基乙醇, 购于美国 Amresco 公司。

1.2 主要仪器

K600(3205)型食品料理机, 德国博朗公司; AvantiJ-2型高速冷冻离心机, 美国贝克曼公司; T80高速分散均质机, 德国 IKT 公司; UV-1750型紫外-可见分光光度计, 日本岛津公司; F-4600型荧光光度计, 日本日立公司; AKTA pure L蛋白多糖分离纯化系统, 美国思拓凡公司; AR2000ex 动态流变仪, 美国 TA 公司; JSM-6390LV 场发射扫描电子显微镜, 天美(中国)科学仪器有限公司; DYY-6C 电泳仪, 美国 Bio-Rad 公司; NanoZs 纳米粒度电位分析仪, 英国马尔文仪器有限公司; TA-XT Plus 物性分析仪, 英国 Stable Micro System 公司。

1.3 TGase 的制备及酶活测定

以 1:10 料液比将鱼肉与缓冲液(20 mmol/L Tris、5 mmol/L NaCl、5 mmol/L EDTA、2 mmol/L DTT、0.01% NaN_3 混合, pH 7.5)混合, 斩拌破碎为鱼浆, 8 000 r/min 均质 2 min, 低温振荡 30 min 后离心, 取上清液, 沉淀以 1:10 的料液比复溶, 进行二次提取, 合并 2 次提取的上清液即为 TGase 粗酶液。

TGase 粗酶液的纯化参考 Zhang 等^[5]的方法并稍作修改, 将鲢和青鱼 TGase 粗酶液经 80% 的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 盐析, 透析脱盐, 再用聚乙二醇 20000 浓缩后, 取 5 mL 盐析液依次过 Q-Sepharose FF、Sep-hacryl S-200 HR 层析柱, 收集酶活组分即为纯酶液, 4 °C 低温贮藏备用。

TGase 的活性测定参考 Hemung 等^[6]和 Wor-ratao 等^[7]的方法, 测得 STG 和 BTG 的比酶活分别为 14.34、12.67 U/mg。

1.4 肌球蛋白的提取

参考高霞等^[8]的方法提取肌球蛋白。肌球蛋白浓度测定采用 Lowry 法^[9], 以牛血清蛋白为标准品制作标准曲线。

1.5 不同 TGase 作用下肌球蛋白样品的制备

参考魏莉^[10]的方法并稍作修改, 用缓冲液(20

mol/L Tris-HCl、0.5 mol/L NaCl)将总钙离子浓度调整到 40 mmol/L, BTG 和 STG 添加量为 10 U/mg 蛋白, 肌球蛋白浓度要求见具体的测试指标, 以不添加 TGase 的鲢和青鱼肌球蛋白为空白组。若仅流变学测试样品则不单独进行加热处理, TGase 加入肌球蛋白后立即进行升温流变测试, 其余指标样品均采取 40 °C、60 min 加热处理, 待样品冷却后立即进行测试。

1.6 凝胶溶解度的测定

肌球蛋白质量浓度调整至 20 mg/mL, 参考 Ben-jakul 等^[11]的方法测定凝胶样品溶解度。凝胶溶解度可反映肌球蛋白在低温凝胶化过程中 ϵ -(γ -Glu)-Lys 异肽键的形成。

1.7 浊度的测定

肌球蛋白质量浓度调整至 1 mg/mL, 测定加热后样品在 320 nm 处的吸光值, 即为样品的浊度。浊度可反映蛋白质的聚集行为。

1.8 粒径分布与平均粒径测定

采用动态光散射测定肌球蛋白溶液中微粒的大小与分布, 以量化肌球蛋白凝胶化后的聚集程度。将肌球蛋白质量浓度调整至 0.2 mg/mL, 参考 Wei 等^[12]的方法, 采用 NanoZs 纳米粒度电位分析仪测定肌球蛋白的粒径分布与平均粒径。

1.9 SDS-PAGE 实验

肌球蛋白质量浓度调整为 20 mg/mL, 参考贾丹等^[13]的方法, 并稍作修改。取 1 g 凝胶与 9 mL 5% SDS 混合均质, 于 85 °C 水浴 1 h, 离心取上清液。将上清液的蛋白质量浓度调整至 2 mg/mL, 以 4:1 比例与还原型上样缓冲液混合后, 95 °C 金属浴 5 min, 冷却后用于上样, 上样体积为 10 μL 。SDS-PAGE 可反映 TGase 对肌球蛋白组分的影响。

1.10 动态流变学特性的测定

鱼糜凝胶形成过程中的黏弹性可以通过弹性模量 G' 和损耗因子 $\tan\delta$ 表征。肌球蛋白质量浓度调整至 20 mg/mL, 参考 Xue 等^[14]的方法并稍作修改。采用 AR2000ex 动态流变仪测定 20~90 °C 升温过程中样品 G' 和 $\tan\delta$ 的变化, 升温速率为 2 °C/min。

1.11 穿刺特性的测定

肌球蛋白的质量浓度调整为 20 mg/mL, 参考程梦颖等^[15]的方法并略作修改。将冷却后的凝胶切成高度为 20 mm 的圆柱体, 用 TA-XTPlus 的 P/0.25S 探头进行破断测试, 压缩距离设为 10 mm, 每个样品做 4~6 个平行测定, 测试过程中的最大力即为破断

力,对应的压缩距离为破断距离。破断力和破断距离可分别表征蛋白凝胶硬度和弹性的变化。

1.12 微观形貌观察

肌球蛋白质量浓度调整至 20 mg/mL,参考 Yin 等^[16]的方法采用场发射扫描电子显微镜观察凝胶样品的微观形貌。

1.13 数据统计与分析

试验重复 3 次,除穿刺特性平行测定 4~6 次外,其余指标数据均平行测定 3 次。采用 SPSS Statistics 25.0 软件对试验数据进行方差检验 (ANOVA) 和显著性检验 (Duncan's),采用 Origin 2018 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 鲢、青鱼 TGase 对肌球蛋白凝胶溶解度的影响

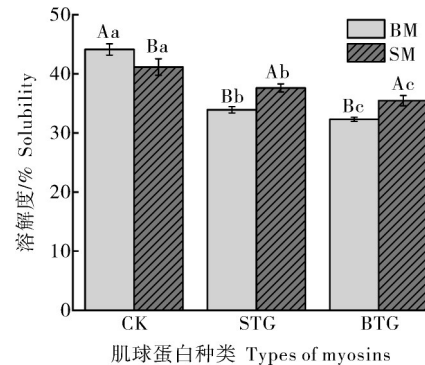
STG/BTG 作用鲢和青鱼肌球蛋白凝胶的溶解度如图 1 所示。相比于空白组,添加 STG 或 BTG 后,青鱼肌球蛋白凝胶的溶解度分别下降 23.07%、26.78%,鲢肌球蛋白凝胶的溶解度则分别下降 8.63%、13.81%,说明 2 种 TGase 均可以催化鲢或青鱼肌球蛋白分子发生交联形成更多的 ϵ -(γ -Glu)-Lys 键,导致蛋白凝胶的溶解度显著下降。当以 BTG 为催化酶或青鱼肌球蛋白为底物时,凝胶溶解度下降更为显著 ($P < 0.05$),推测是 BTG 或青鱼肌球蛋白的结构更有利于交联反应的发生。

2.2 鲢、青鱼 TGase 对肌球蛋白浊度的影响

图 2 为 STG/BTG 作用下鲢和青鱼肌球蛋白的浊度。与空白组相比,添加 STG 或 BTG 可显著增加鲢或青鱼肌球蛋白的浊度,STG、BTG 作用下青鱼肌球蛋白浊度分别是空白组的 1.26、1.61 倍,鲢肌球蛋白浊度分别为空白组的 1.27、1.51 倍。这可能是由于低温凝胶化过程中,肌球蛋白头部通过疏水相互作用聚集,尾部受热展开向外,TGase 的加入促使肌球蛋白分子尾部交联形成 ϵ -(γ -Glu)-Lys 键,蛋白聚集程度增大,进而引起浊度值增加。对于同种肌球蛋白,BTG 对肌球蛋白浊度的提升效果显著大于 STG ($P < 0.05$),而无论是否添加 TGase,青鱼肌球蛋白的浊度显著大于鲢肌球蛋白 ($P < 0.05$)。

2.3 鲢、青鱼 TGase 对肌球蛋白粒径的影响

图 3 为 BTG/STG 作用下鲢和青鱼肌球蛋白的粒径分布及平均粒径,可见未添加酶时,低温凝胶



CK 为未添加 TGase 的空白组;BM、SM 分别为青鱼肌球蛋白、鲢肌球蛋白;不同大写字母表示同一处理下 BM 与 SM 之间存在显著差异 ($P < 0.05$);不同小写字母表示不同 TGase 处理下同种肌球蛋白存在显著差异 ($P < 0.05$)。下同。CK represents the blank group without TGase; BM, SM represent the myosin from black carp, silver carp, respectively. Different capital letters mean significant differences between BM and SM under the same treatment ($P < 0.05$). Different lowercase letters mean significant differences in myosins under different TGase treatments ($P < 0.05$). The same as below.

图 1 STG/BTG 作用下肌球蛋白凝胶的溶解度

Fig. 1 Solubility of myosin gel catalyzed by STG or BTG

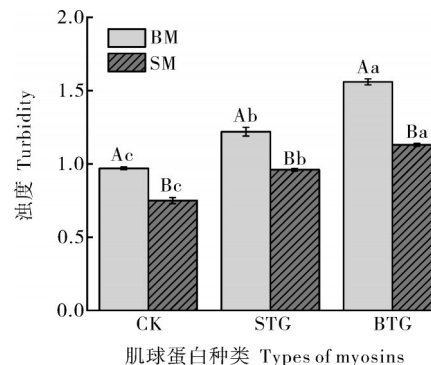


图 2 STG/BTG 作用下肌球蛋白的浊度

Fig. 2 Turbidity of myosin catalyzed by STG or BTG

化后的青鱼肌球蛋白平均粒径显著大于鲢肌球蛋白 ($P < 0.05$),说明青鱼肌球蛋白在热诱导过程中变性伸展更为充分,其交联聚集速率更快。加入 STG 或 BTG 后,鲢和青鱼肌球蛋白的粒径分布均往粒径增大的方向偏移,鲢肌球蛋白的平均粒径分别增加 10.82%、21.42%,青鱼肌球蛋白的平均粒径分别增加 18.05%、32.48%,表明 2 种 TGase 均可促使鲢或青鱼肌球蛋白发生交联聚集。就提升蛋白平均粒径而言,BTG 的作用显著强于 STG ($P < 0.05$),当青鱼肌球蛋白为底物时,蛋白的粒径更大,聚集程度更高,这与浊度的变化规律保持一致。

2.4 鲢、青鱼 TGase 对肌球蛋白凝胶 SDS-PAGE 图谱的影响

STG/BTG 作用下鲢和青鱼肌球蛋白凝胶的

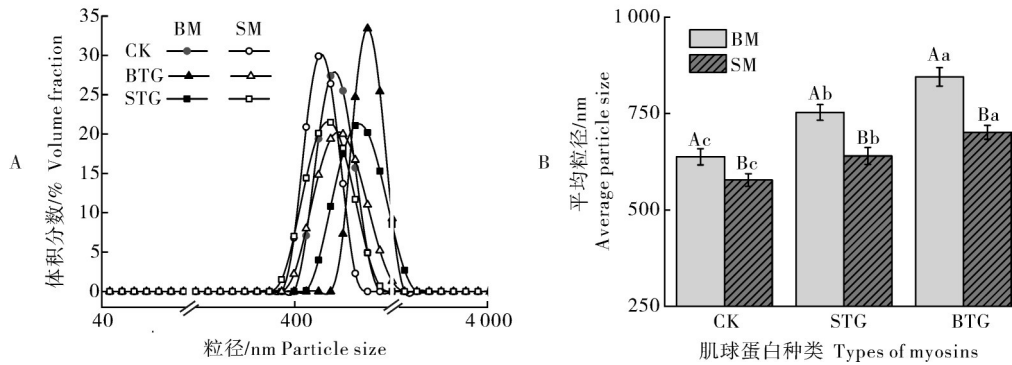


图3 STG/BTG作用下肌球蛋白的粒径分布(A)与平均粒径(B)

Fig. 3 The size distribution (A) and average particle size (B) of myosin catalyzed by STG or BTG

SDS-PAGE图谱及主要蛋白含量如图4所示。由图4A可知,空白组鲢和青鱼肌球蛋白点样口均有高分子质量蛋白出现,这是由于MHC作为肌球蛋白的主要成分,在热诱导过程中会发生交联与聚集,形成高分子质量蛋白质,因无法进入浓缩胶而堆积在点样孔。与空白组相比,添加TGase后MHC的条带强度明显减弱,同时泳道上方点样口的颜色加深,说明STG、BTG可促进鲢或青鱼MHC分子内和分子间通过 ϵ -(γ -Glu)-Lys键共价交联形成大分子蛋白聚

集体,这与溶解度的变化趋势(图1)相符。进一步采用Image J软件对蛋白条带占比进行分析,由图4B、4C可知,STG作用下鲢和青鱼MHC含量分别下降6.15%、10.70%,而高分子质量蛋白分别上升7.82%、13.49%;BTG作用下鲢和青鱼MHC含量分别下降15.85%、22.30%,而高分子质量蛋白分别上升14.53%、28.60%。由此可见,以BTG为催化酶或青鱼肌球蛋白为底物时,MHC交联生成了更多的 ϵ -(γ -Glu)-Lys键,蛋白聚集程度更明显。

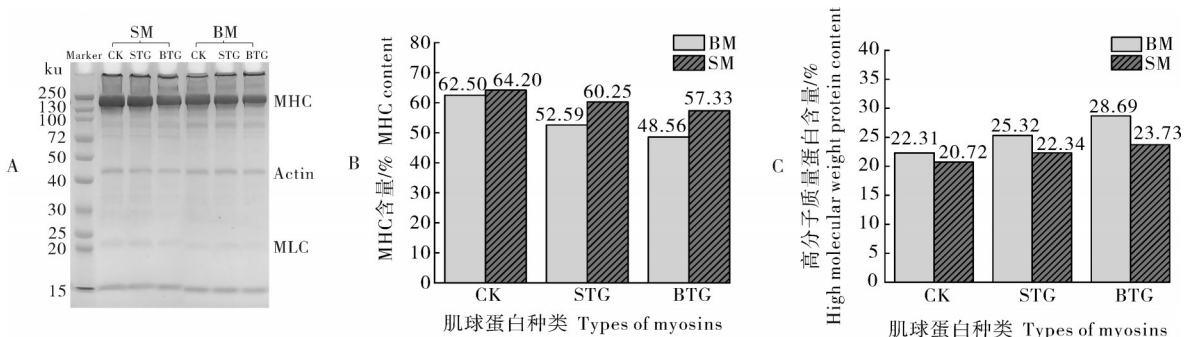


图4 STG/BTG作用下肌球蛋白凝胶的SDS-PAGE图谱(A)及MHC含量(B)、高分子质量蛋白含量(C)

Fig. 4 The SDS-PAGE(A), MHC content(B) and high molecular weight protein content(C) of myosin gel catalyzed by STG or BTG

2.5 鲢、青鱼 TGase 对肌球蛋白凝胶流变学特性的影响

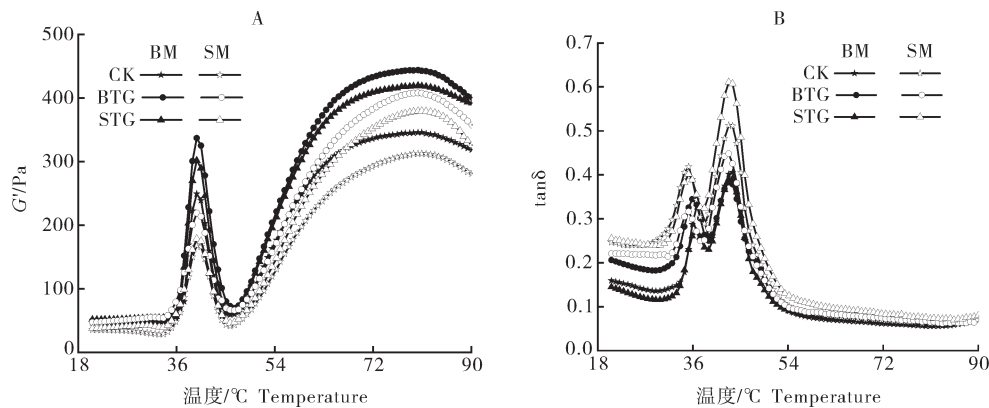
由图5可知,在20~36℃,G'基本保持不变,而tanδ下降后又迅速上升。当温度超过36℃时,G'急剧上升,tanδ则下降。在40℃附近所有蛋白凝胶G'均达到第1个峰值,与空白组相比,添加TGase的鲢和青鱼肌球蛋白具有更高的G'。在40~47℃,各试验组均呈现G'急剧下降、tanδ上升的趋势。在47~80℃,随着温度的升高,G'再次大幅增加至第2个峰值,tanδ逐步下降,TGase作用下肌球蛋白的G'较未加酶组显著增加,超过80℃后,G'略微下降,tanδ趋

于稳定,在0.6~0.8(tanδ<1),说明肌球蛋白凝胶的弹性占主导地位。整体而言,在20~90℃的升温范围,添加2种TGase均显著提升了鲢或青鱼肌球蛋白从溶胶转变为凝胶过程中的G',表明肌球蛋白凝胶弹性增强,当以BTG为催化酶或青鱼肌球蛋白为底物蛋白时,肌球蛋白凝胶G'较大,tanδ较小。

2.6 鲢、青鱼 TGase 对肌球蛋白凝胶穿刺特性的影响

STG/BTG作用下鲢和青鱼肌球蛋白凝胶的破断力(A)与破断距离(B)如图6所示。

未加酶时,青鱼肌球蛋白凝胶的破断力和破断

图5 STG/BTG作用下热诱导肌球蛋白凝胶的 G' (A)和 $\tan\delta$ (B)Fig. 5 G' (A) and $\tan\delta$ (B) of heat-induced myosin gel catalyzed by STG or BTG

距离大于鲢肌球蛋白凝胶,说明青鱼肌球蛋白的凝胶形成能力较好。添加2种TGase后,鲢和青鱼肌球蛋白凝胶的破断力与破断距离均显著提升($P < 0.05$),说明添加任一种来源的TGase,均可提高鲢或青鱼肌球蛋白的凝胶强度。对同一肌球蛋白,BTG处理后凝胶的破断力与破断距离显著大于STG处理

组($P < 0.05$),而在相同TGase作用下,青鱼肌球蛋白凝胶的破断力与破断距离显著大于鲢肌球蛋白处理组($P < 0.05$)。

结果表明,以BTG为催化酶或青鱼肌球蛋白为底物时,肌球蛋白凝胶强度更大,这与 ϵ -(γ -Glu)-Lys键的含量变化趋势一致。

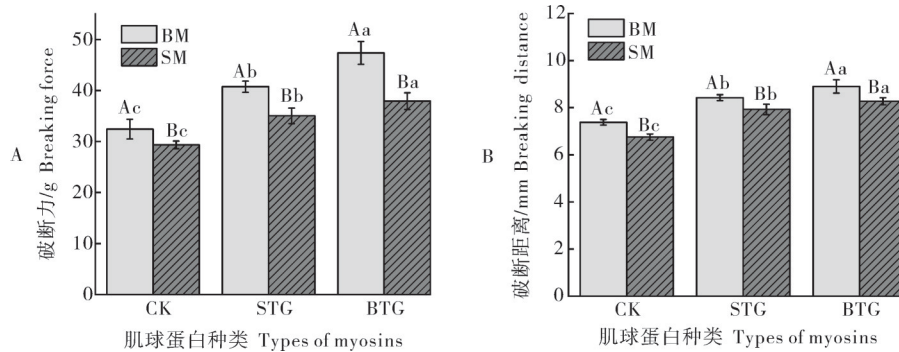


图6 STG/BTG作用下肌球蛋白凝胶的破断力(A)与破断距离(B)

Fig. 6 Breaking force (A) and breaking distance (B) of myosin gel catalyzed by STG or BTG

2.7 鲢、青鱼 TGase 对肌球蛋白凝胶微观形貌的影响

BTG/STG处理下鲢和青鱼肌球蛋白凝胶的微观形貌如图7所示。由图7可见,不同TGase作用下肌球蛋白凝胶的微观结构有明显差异。空白组中鲢肌球蛋白凝胶无明显的三维网状结构,主要由蛋白质聚集体团簇而成,且有较大的空腔;青鱼肌球蛋白凝胶表面粗糙,网络结构分布不均匀且存在较多的片状蛋白。添加TGase后,SM+STG、SM+BTG和BM+STG处理组肌球蛋白凝胶的网络结构明显得到改善,但仍存在少许片状蛋白,且孔隙较大;而BM+BTG处理组凝胶孔隙细小且均匀,其三维网状结构更为完整。这与TGase促进肌球蛋白分子内或分子间生成更多的 ϵ -(γ -Glu)-Lys键有关,蛋白间的

交联有利于形成连续而致密的网络结构。整体而言,BTG和STG均可显著改善肌球蛋白的凝胶网状结构,这与图5、图6所示的凝胶弹性模量、破断力和破断距离等指标的提高表现一致。

3 讨论

在鱼糜低温凝胶化阶段,肌球蛋白分子受热后先通过头-头进行聚集,尾部向外伸展,随加热时间的延长,尾部暴露出更多的交联位点^[17]。在TGase作用下,肌球蛋白分子的赖氨酸上的 ϵ -氨基和谷氨酸残基上的 γ -羧酰胺基之间可发生交联反应,生成 ϵ -(γ -Glu)-Lys异肽键,进而改善鱼糜凝胶特性^[18]。本研究结果表明,添加STG/BTG后,蛋白凝胶溶解度和MHC含量明显降低,而高分子质量蛋白含量增

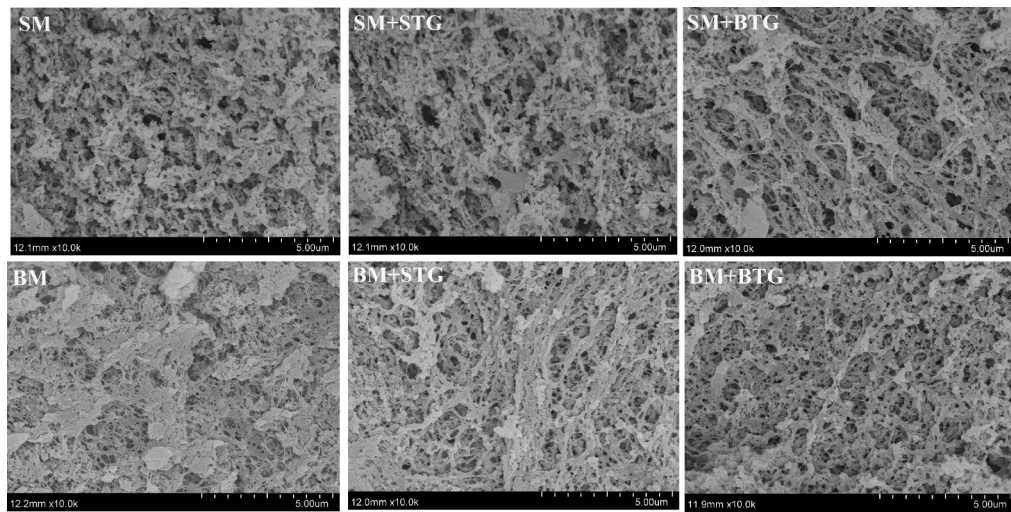


图7 STG/BTG作用下肌球蛋白凝胶的扫描电镜图片(10 000×)

Fig. 7 SEM images of myosin gel catalyzed by STG or BTG(10 000×)

加,说明2种TGase均能促进鲢或青鱼MHC分子内或分子间交联形成更多的 ϵ -(γ -Glu)-Lys键,进而生成不溶性大分子蛋白聚集体,使得蛋白聚集程度增加,蛋白平均粒径与浊度值也随之增加。STG/BTG的添加显著提升了鲢和青鱼肌球蛋白的 G' 。贾丹等^[13]研究发现微生物TGase对鳙鱼糜热凝胶过程中弹性模量的影响相似,这可能是由于加热初期MHC在TGase作用下交联形成的 ϵ -(γ -Glu)-Lys键赋予了肌球蛋白凝胶更高的弹性,蛋白质体系由黏性溶液转变为弹性凝胶。由于MHC分子的交联作用,凝胶网络结构变得致密有序,凝胶内聚力增强,这与破断力与破断距离的变化趋势相符。Li等^[19]研究表明微生物TGase作用下的鲢肌球蛋白凝胶与未加酶的相比具有更为完整的网状结构,这与本研究结果一致。油沙丁鱼、罗非鱼、鲤和大眼鲷肌肉中TGase均可显著提高比目鱼糜的凝胶强度^[3],微生物TGase对鳙鱼糜、鳕鱼糜、红衫鱼糜也有类似作用^[20-21]。值得注意的是,本试验发现就提升同种肌球蛋白凝胶特性而言,BTG的催化交联作用显著强于STG,而酶活测定结果表明,以DMC为底物蛋白时,BTG、STG的比酶活分别为12.67、14.34 U/mg,二者的酶活大小与其诱导肌球蛋白交联的催化能力不相符,分析其原因可能是TGase的催化交联能力主要与底物蛋白相关。

在相同TGase作用下,与鲢肌球蛋白相比,青鱼肌球蛋白形成了更多的 ϵ -(γ -Glu)-Lys键,其聚集程度更高,凝胶的 G' 、破断力与破断距离显著高于鲢肌球蛋白凝胶,三维网络结构更为致密有序,表现出良

好的凝胶特性。这种差异可能与肌球蛋白中赖氨酸、谷氨酸的含量有关,青鱼糜中谷氨酸、赖氨酸的含量高于鲢鱼糜,故TGase对青鱼肌球蛋白有更强的选择性^[4];也有可能是由于热诱导过程中青鱼肌球蛋白构象发生变化,暴露出更多的交联位点,加快了TGase的交联反应速率。Araki等^[2]同样发现鲤TGase作用下不同鱼种MHC的交联特性差异显著,阿拉斯加狭鳕中MHC的聚合速率最快,其次为虹鳟、大马哈鱼、多线鱼、白花鱼、鲤。

综上所述,STG/BTG对鲢或青鱼肌球蛋白的溶解度、蛋白聚集、流变学特性、穿刺特性及微观形貌有显著影响,且相同处理下的不同肌球蛋白的凝胶特性存在差异。当BTG为催化酶或者青鱼肌球蛋白为底物时,肌球蛋白的凝胶特性更好。由于BTG的酶活小于STG,与2种TGase诱导肌球蛋白交联的催化能力不符,可见不同品种淡水鱼糜凝胶特性的差异并非主要由TGase的活性差异所导致,而与肌球蛋白的来源密切相关。

参考文献 References

- [1] 农业农村部渔业渔政管理局. 中国渔业统计年鉴:2022[M]. 北京:中国农业出版社,2022.Fisheries and Fishery Administration Bureau, Ministry of Agriculture and Rural Affairs. China fishery statistics yearbook of 2022[M].Beijing:China Agriculture Press, 2022(in Chinese).
- [2] ARAKI H,SEKI N.Comparison of reactivity of transglutaminase to various fish actomyosins [J].Nippon suisan gakkaiishi, 1993,59(4):711-716.

- [3] BINSI P K, SHAMASUNDAR B A. Purification and characterisation of transglutaminase from four fish species: effect of added transglutaminase on the viscoelastic behaviour of fish mince[J]. Food chemistry, 2012, 132(4): 1922-1929.
- [4] 贾丹. 青鱼肌肉蛋白质及其凝胶特性的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2015. JIA D. Study on protein and gelation properties of surimi from black carp [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2015 (in Chinese with English abstract).
- [5] ZHANG Y, HE S, SIMPSON B K. A cold active transglutaminase from antarctic krill (*Euphausia superba*): purification, characterization and application in the modification of cold-set gelatin gel[J]. Food chemistry, 2017, 232: 155-162.
- [6] HEMUNG B O, YONGSAWATDIGUL J. Partial purification and characterization of transglutaminase from threadfin bream (*Nemipterus* spp.) liver[J]. Journal of food biochemistry, 2008, 32(2): 182-200.
- [7] WORRATAO A, YONGSAWATDIGUL J. Purification and characterization of transglutaminase from tropical tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Food chemistry, 2005, 93(4): 651-658.
- [8] 高霞, 曹立伟, 熊善柏, 等. 不同质量浓度鲢鱼肌球蛋白低温自组装动力学及理化性质[J]. 食品科学, 2019, 40(1): 1-8. GAO X, CAO L W, XIONG S B, et al. Self-assembly kinetics and physicochemical properties of silver carp myosin under conditions with different concentrations and low temperature[J]. Food science, 2019, 40(1): 1-8 (in Chinese with English abstract).
- [9] LOWRY O, ROSEBROUGH N, FARR A L, et al. Protein measurement with the folin phenol reagent[J]. Journal of biological chemistry, 1951, 193(1): 265-275.
- [10] 魏莉. 微粒化鱼骨钙对TGase作用下鲢肌球蛋白凝胶特性的影响及其机制[D]. 武汉: 华中农业大学, 2019. WEI L. Effect of micronized fishbone calcium on gelation characteristics of silver carp myosin under TGase and its mechanism[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2019 (in Chinese with English abstract).
- [11] BENJAKUL S, VISESSANGUAN W, TUEKSUBAN J, et al. Effect of some protein additives on proteolysis and gel-forming ability of lizardfish (*Saurida tumbil*) [J]. Food hydrocolloids, 2004, 18(3): 395-401.
- [12] WEI L, CAO L W, XIONG S B, et al. Effects of pH on self-assembly of silver carp myosin at low temperature [J/OL]. Food bioscience, 2019, 30: 100420 [2023-05-29]. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100420>.
- [13] 贾丹, 刘茹, 刘明菲, 等. 转谷氨酰胺酶对鲮鱼糜热诱导凝胶特性的影响[J]. 食品科学, 2013, 34(9): 37-41. JIA D, LIU R, LIU M F, et al. Effect of transglutaminase on heat-induced gel properties of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) surimi [J]. Food science, 2013, 34(9): 37-41 (in Chinese with English abstract).
- [14] XUE S W, YANG H J, YU X B, et al. Applications of high pressure to pre-rigor rabbit muscles affect the water characteristics of myosin gels[J]. Food chemistry, 2018, 240: 59-66.
- [15] 程梦颖, 张海萍, 刘友明, 等. 加热模式对添加葡萄糖氧化酶鲢鱼糜凝胶特性的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(14): 8-13. CHENG M Y, ZHANG H P, LIU Y M, et al. Effect of heating mode on properties of silver carp surimi gel added with glucose oxidase[J]. Food science, 2022, 43(14): 8-13 (in Chinese with English abstract).
- [16] YIN T, PARK J W. Effects of nano-scaled fish bone on the gelation properties of Alaska pollock surimi [J]. Food chemistry, 2014, 150: 463-468.
- [17] 尤娟, 郑文栋, 王敏君, 等. 臭氧氧化对鲢肌球蛋白热聚集的影响[J]. 华中农业大学学报, 2019, 38(6): 1-8. YOU J, ZHENG W D, WANG M J, et al. Effect of ozone oxidation on thermal aggregation of myosin from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2019, 38(6): 1-8 (in Chinese with English abstract).
- [18] CAO H W, FAN D M, JIAO X D, et al. Intervention of transglutaminase in surimi gel under microwave irradiation [J]. Food chemistry, 2018, 268: 378-385.
- [19] LI J L, MUNIR S, YU X Y, et al. Double-crosslinked effect of TGase and EGCG on myofibrillar proteins gel based on physicochemical properties and molecular docking [J/OL]. Food chemistry, 2021, 345: 128655 [2023-05-29]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128655>.
- [20] JIANG S T, HSIEH J F, HO M L, et al. Microbial transglutaminase affects gel properties of golden threadfin-bream and pollack surimi [J]. Journal of food science, 2000, 65(4): 694-699.
- [21] 娄忠伟, 徐坤华, 王潇, 等. 鲮鱼内源性转谷氨酰胺酶特性的研究[J]. 南方水产科学, 2014, 10(6): 72-77. LOU Z W, XU K H, WANG X, et al. Comparison of material characteristics among conventional freshwater fish species [J]. South China fisheries science, 2014, 10(6): 72-77 (in Chinese with English abstract).

Research of gel properties of myosin induced by transglutaminase from silver carp and black carp

YI Lin, AN Yueqi, ZHANG Hanwei, XIONG Shanbai

*College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University/National R&D Branch
Center for Conventional Freshwater Fish Processing/Engineering Research Center of Green
Development for Conventional Aquatic Biological Industry in the Yangtze River
Economic Belt, Ministry of Education, Wuhan 430070, China*

Abstract In order to explore the impact of TGase from different species of freshwater fish on gel properties, the effect of silver carp transglutaminase (STG) or black carp transglutaminase (BTG) on the solubility, protein aggregation, rheological properties, puncture properties, and microscopic morphology of myosin after low-temperature gelation were evaluated. Results showed that the addition of STG/BTG promoted formation of more $\epsilon-(\gamma\text{-Glu})\text{-Lys}$ covalent bonds in myosin heavy chain (MHC) of silver carp or black carp compared with the group without enzyme addition, resulting in more aggregation of MHC. The turbidity and average particle size of myosin, the elastic modulus (G'), breaking force, and breaking distance of myosin gel increased significantly, and the protein network structure was enhanced. In terms of enhancing the gel properties of the same myosin, the catalytic cross-linking effect of BTG was stronger than that of STG, while the activity of BTG (12.67 U/mg) was lower than that of STG (14.34 U/mg), and the myosin gel properties of black carp were always higher than those of silver carp regardless of TGase addition. In conclusion, the essential reason for the differences in gel properties of surimi from different freshwater fish species was the source of myosin rather than the differences in TGase activity.

Keywords transglutaminase; myosin; gel properties; rheological properties; gel network structure

(责任编辑:赵琳琳)