

金属离子对蛋白质凝胶化行为的影响研究进展

邵瑶瑶¹, 赵 燕^{2,3}, 徐明生¹, 徐丽兰¹, 汪 雄¹, 涂勇刚^{1,*}

(1. 江西农业大学 江西省天然产物与功能食品重点实验室, 江西 南昌 330045; 2. 南昌大学 食品科学与技术国家重点实验室, 江西 南昌 330047; 3. 南昌大学 生物质转化教育部工程研究中心, 江西 南昌 330047)

摘 要: 凝胶化行为是蛋白质的主要功能特性之一。蛋白质凝胶化的形成受到多种理化因素影响, 其中金属离子是影响蛋白质凝胶化行为的主要因素之一。本文在阐述蛋白质凝胶化行为形成机理的基础上, 综述了金属离子对蛋白质凝胶的微观结构、物化特性、聚集行为、分子构象和主要分子作用力的影响, 并对其研究价值进行了展望, 为进一步深入研究金属离子对蛋白质凝胶化的影响机理及提高蛋白质凝胶制品的加工特性提供理论指导。

关键词: 金属离子; 蛋白质; 凝胶化; 聚集; 分子构象

A Review of Effects of Metal Ions on Gelation Behavior of Protein

SHAO Yaoyao¹, ZHAO Yan^{2,3}, XU Mingsheng¹, XU Lilan¹, WANG Xiong¹, TU Yonggang^{1,*}

(1. Jiangxi Key Laboratory of Natural Products and Functional Food, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 2. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China; 3. Engineering Research Centre of Biomass Conversion, Ministry of Education, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: Gelation is one of the main functional properties of protein. The gel formation of protein is affected by many physicochemical factors, and metal ion is one of the major factors affecting protein gelation behavior. The mechanism of the gel formation of protein is elaborated in this paper. Additionally, this article reviews the effects of metal ions on the microstructure, physicochemical characteristics, aggregation behavior, molecular conformation and main molecular forces of protein gels and the value of protein gelation for researchers is predicted in order to provide a theoretical guidance for further researches of the mechanism of action metal ions on protein gelation and the improvement of protein gel products.

Key words: metal ions; protein; gelation; aggregation; molecular conformation

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201705048

中图分类号: TS253.4

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2017) 05-0299-06

引文格式:

邵瑶瑶, 赵燕, 徐明生, 等. 金属离子对蛋白质凝胶化行为的影响研究进展[J]. 食品科学, 2017, 38(5): 299-304.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201705048. <http://www.spkx.net.cn>

SHAO Yaoyao, ZHAO Yan, XU Mingsheng, et al. A review of effects of metal ions on gelation behavior of protein[J]. Food Science, 2017, 38(5): 299-304. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201705048. <http://www.spkx.net.cn>

蛋白质是一种最常见的可用于食品加工的原料, 具有如起泡性、乳化性和凝胶性等多种加工功能特性, 其中蛋白质的凝胶性能够将蛋白质溶液“固化”形成一定秩序的三维网状结构, 从而使蛋白质凝胶具有独特的质构特性。与此同时, 这种网状结构可以吸附水分、脂肪、风味物质等食品成分, 因此在豆腐、酸奶、果冻、皮蛋等凝胶食品的加工中应用广泛^[1-4]。

蛋白质凝胶产品特性的不同取决于产品中的蛋白质

变性程度和蛋白质含量^[5]。金属离子对蛋白质上述两种情况均会产生影响。一方面由于金属离子所带正电荷量和直径大小不同, 可改变蛋白质间静电排斥力或屏蔽蛋白质的电荷, 使吸引力和排斥力处于平衡状态, 显著影响蛋白质-蛋白质、蛋白质-溶剂之间的相互作用, 从而影响蛋白质的变性展开和聚集过程^[6-8]。另一方面, 离子强度对蛋白质溶解度有显著影响^[9], 导致产品中的蛋白质含量发生变化, 从而影响蛋白质凝胶特性。此外, 金属离

收稿日期: 2016-06-28

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目 (31460400; 31360398); 江西省杰出青年人才资助计划项目 (20162BCB23031); 江西省青年科学家培养对象计划项目 (20153BCB23028); 江西省科技支撑计划项目 (20151BBF60022)

作者简介: 邵瑶瑶 (1993—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品加工与贮藏。E-mail: 1416265035@qq.com

*通信作者: 涂勇刚 (1979—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为蛋品科学与技术。E-mail: tygy1212@aliyun.com

子对蛋白质凝胶中主要化学作用力和蛋白质分子间巯基二硫键交换反应均有重要的贡献。因此,在蛋白质食品凝胶的生产过程中,金属离子作为诱导剂极为常见,如豆腐加工中使用的卤水、腌制皮蛋使用的硫酸铜或硫酸锌、奶酪加工中使用的氯化钙等^[10-12]。

基于金属离子在蛋白质凝胶食品中的广泛应用,本文对金属离子对蛋白质凝胶化行为的影响方面进行综述,以期对提高蛋白质凝胶制品的加工特性提供理论指导。

1 蛋白质凝胶化行为

蛋白质凝胶的形成可分为3个过程。第一步蛋白质分子在热、压力、酸、碱等条件下发生不同程度的变性展开,变性程度又与pH值、温度、离子强度、离子种类和压力等环境因素皆有关。第二步蛋白质-蛋白质和蛋白质-溶剂间形成一定的相互作用,部分展开的分子链间相互连接。第三步蛋白质发生聚集,形成较大分子的凝胶体。蛋白质分子构象和分子间相互作用的变化均会对蛋白质分子链的连结和聚集产生显著影响,从而影响凝胶网络结构的形成和致密程度^[13]。

凝胶化是变性蛋白质分子在一定作用力条件下有序地发生聚合,最终形成一个持续网状结构的过程。一般而言,蛋白质凝胶网络骨架的形成依赖于氢键、疏水相互作用和一些静电相互作用等非共价键和二硫键等共价键^[5]。由于蛋白质种类、外界环境和形成并维持蛋白质凝胶的作用力种类和数量的不同,形成的凝胶特性会有显著的差异。外界环境如pH值、温度、压力和离子强度等外部因素均会在一定程度上影响内部因素如疏水性、静电相互作用和二硫键,从而进一步影响凝胶网络结构的形成,其中金属离子是影响蛋白质凝胶化行为的主要因素之一^[13]。

2 金属离子对蛋白质凝胶微观结构和物理化学特性的影响

对各类蛋白质凝胶的研究中发现,金属离子的种类和浓度均对蛋白质凝胶的微观结构和一些物理化学特性如持水性、风味、色泽和质构均有显著影响。

2.1 凝胶微观结构

在对凝胶微观结构的研究发现,金属离子浓度的变化对网络结构有影响,低浓度的(<0.1 mol/L)一价金属离子促使细密的束状结构形成,金属离子浓度大于0.1 mol/L时,凝胶网络结构变得混乱无秩序^[14]。同时发现,金属离子种类的不同对蛋白质分子凝胶的聚集过程和网络的交联程度影响也有很大的差异。二价离子如钙和锌的存在使凝胶网状结构更为宽松且不规则。相比铅离子而言,蛋白质

分子通过盐桥发生高度聚合,金属离子种类决定蛋白质聚集的程度和模式,从而影响凝胶网状结构的致密程度^[15]。与此同时,也有研究表明二价或多价金属离子对蛋白质分子聚合的影响较一价金属离子更显著,减少凝胶网络交联,导致网络结构的疏松和不均匀^[16-17]。

2.2 凝胶持水性

在一定的离子浓度范围内,增加离子浓度,能明显增加蛋白质的凝胶性和持水性,同时离子强度对于蛋白质的水吸收度、溶胀和溶解度也有较大的影响^[18]。但是,极高浓度金属离子的加入使蛋白质形成的凝胶网络结构混乱从而降低蛋白质凝胶的持水性^[19-20]。低浓度盐能使蛋白质形成的凝胶呈纤细丝状,添加较高浓度的盐则能使之形成颗粒状结构,凝胶结构类型的不同,导致凝胶的持水能力、渗透能力、质地和外观也会有较显著的变化^[21]。总体上讲,金属离子在一定浓度范围内促进蛋白质形成好的网状结构,有利于凝胶“网住”水分,但高浓度的金属离子尤其是二价金属离子易使蛋白质凝结,不利于凝胶网络结构的形成,凝胶更易失水。

2.3 凝胶风味与色泽

目前,金属离子对凝胶色泽和风味的研究极其薄弱,其研究范围目前也仅限于皮蛋。Ganasen等^[22]在研究皮蛋凝胶的过程中发现,皮蛋的风味与腌制液中所添加金属离子种类有关,添加锌离子产生的风味物质种类和数量比铅和钙离子多。但由于相关文献鲜见报道,对于金属离子影响皮蛋凝胶风味物质的形成机理尚不清楚。金属离子对蛋白质的变性和凝聚过程均有影响,可能会对皮蛋腌制过程中形成各种不同的肽、氨基酸和氨产生影响,从而导致皮蛋风味不同。Ganasen等^[15]还研究了金属离子对皮蛋蛋白颜色的影响,添加低浓度锌离子、钙离子和铅离子的皮蛋蛋白凝胶相较于钾离子和镁离子有着更高的 L^* 值(亮暗)和 a^* 值(红绿), L^* 值可能是由于蛋白质发生了较高程度的聚合反应导致较高的光散射效应,而 a^* 值的变化则可能是这3种金属离子更易促使美拉德反应从而形成棕色色素。此外,皮蛋中含硫氨基酸降解生成硫离子和硫化氢,与铜离子和铁离子等结合形成含硫化合物,会产生不同的颜色。然而,皮蛋颜色的产生极其复杂,其中包含的蛋白质种类复杂多样,金属离子与多种物质之间复杂的相互作用影响还有待进一步深入研究。

2.4 凝胶质构

许多学者已对金属离子协同诱导下的蛋白质凝胶强度进行了大量的研究。Boyer等^[23]对不同浓度离子条件下形成的兔肉肌原纤维蛋白凝胶的硬度进行测定,低离子强度(0.2 mol/L KCl, pH 6.0)促进蛋白质溶液形成较软的凝胶,而逐步增加离子强度(0.6 mol/L KCl)会使凝胶硬度增加。对于兔肌原纤维盐溶性蛋白质来讲,凝胶硬度会提高的原因可能是随着离子强度增加,蛋白质

的溶解度增加,更多蛋白质可以参与凝胶的形成,改善凝胶质构。在其他蛋白质如鱼蛋白加工形成鱼糜的过程中,金属离子的添加在一定程度上增加鱼糜凝胶强度。Ramirez等^[24]发现氯化钙对凝胶的机械特性产生显著影响,添加浓度增大到一定程度时,形成的鱼糜凝胶破断力达到最大。添加钙离子可以使鱼肉蛋白凝胶强度显著增大,是因为钙离子可以激活鱼肉蛋白中的谷氨酰胺转氨酶促进谷氨酸残基中的 γ -羧基酰胺基团与其他氨基酸残基之间交联作用的发生,形成共价键从而使凝胶网状结构更牢固^[25]。金属离子的种类对蛋白质凝胶硬度的影响各不相同,黄群等^[26]探究了多种金属离子对鸭蛋清蛋白凝胶的影响,钠、钙和镁离子在一定浓度范围内对鸭蛋清凝胶硬度均有显著的促进作用,但二价的锌离子和亚铁离子随着浓度的提高对凝胶的硬度起着一定程度上的抑制作用,钾离子浓度变化对凝胶硬度则无显著影响。

表1 金属离子对蛋白质凝胶微观结构和物化特性的影响
Table 1 Effects of metal ions on the microstructure and physicochemical properties of protein gels

离子类型	微观结构	持水性	风味与色泽比较	质构
Pb	致密,均匀 ^[15]		对风味和L*值和a*值影响大 ^[15,22]	
Zn	低浓度时结构细密,高浓度时结构混乱疏松无规则 ^[15]	低浓度时有助于蛋白质稳定,高浓度降低持水性 ^[19]	同上 ^[15,22]	降低强度 ^[26]
Ca	低浓度时结构细密,高浓度时结构混乱,空洞大 ^[15]	同上 ^[20]	同上 ^[15,22]	提高凝胶破断力 ^[24]
K	促进蛋白质随机聚集,凝胶表面疏松 ^[14]	同上 ^[18]	对风味和L*值和a*值影响小 ^[15,22]	低浓度时形成软凝胶,高浓度时形成凝胶硬度大 ^[23]
Na	促进蛋白质随机聚集,凝胶表面疏松 ^[16]	同上 ^[19]	对风味和L*值和a*值影响小 ^[15,22]	一定浓度范围内提高硬度 ^[26]

通过不同金属离子对不同蛋白质凝胶微观结构以及物化特性的比较(表1),金属离子的种类和强度对于凝胶的微观结构、持水性和硬度等特性方面均有较大影响,并且随着蛋白质成分越复杂,金属离子对于蛋白质凝胶的影响也越大。确定金属离子对多种蛋白质凝胶硬度均有十分显著的影响,这对实际生产中改善凝胶品质有重要的意义。此外,研究多种金属离子的复配作用有利于蛋白质凝胶制品新品种的开发,多方面满足消费者需。目前,关于金属离子对蛋白质凝胶的风味及色泽变化的研究甚少,其复杂的作用机理也仅是一些推测。蛋白质凝胶作为食品,消费者的选择与其风味和色泽均有很大关系,通过对金属离子添加量和种类的调节,定向调控蛋白质凝胶产品的风味和色泽尚有待深入研究。

3 金属离子对蛋白质凝胶聚集行为的影响

3.1 蛋白质聚集类型

蛋白质分子发生聚集现象是蛋白质凝胶形成的表征

之一。根据聚集方式的不同,凝胶大致可以分成两类,一类是凝结块(不透明)凝胶,另一类是透明凝胶。聚集的类型与蛋白质的分子的形态有很大关系,除此之外,金属离子也是改变凝聚类型的主要因素。Nakamura等^[27]对大豆球蛋白的研究中发现,在低离子浓度的条件下,形成的大豆蛋白凝胶网络结构呈现出致密有序的“念珠串状”,一旦环境中的离子浓度较高时,则形成的凝胶是随机聚集且粗糙的。而变性蛋白分子随机凝聚的程度越高更可能形成凝结核而非凝胶^[28]。金属离子主要通过影响蛋白质分子变性展开和重新聚合的速率来影响凝胶生成类型^[29]。凝胶网络具有一定程度上的秩序,如果蛋白质分子发生变性的速率相较聚集的速率快,蛋白质分子发生有序地聚合。一旦蛋白质分子的变性速率小于或等于其随意聚集的速率,蛋白质会形成无序粗糙的凝胶结构。Harwalkar^[30]和Lakemond^[31]等在卵转铁蛋白和大豆球蛋白的研究中均发现,金属离子如铁、铝等离子可通过与蛋白质紧密结合、提高变性所需温度、提高蛋白质变性展开速率、降低蛋白质聚集速率,从而有利于有序交联网络的形成。

3.2 浊度——聚集体含量

浊度反映蛋白质聚集的程度,蛋白质聚集后颗粒直径变大,较大粒径的聚集体与光线发生漫反射,溶液浊度升高。凝胶中可溶性聚集体的含量,随着添加金属离子种类和浓度的不同而产生显著变化。通过对肉肌原纤维蛋白研究发现,随着MgCl₂浓度的添加,蛋白质溶液的浊度会逐渐减小;随着CaCl₂添加量的增大,蛋白质溶液的浊度增大;然而随着FeCl₂浓度增大,蛋白质溶液的浊度呈现先增大后减小的趋势^[32]。添加的金属离子种类不同,肌球蛋白的聚集形态和大小不同,与金属离子在凝胶离子序的位置有关。金属离子除了对肌原纤维蛋白聚集有影响之外,也对乳球蛋白和蛋清蛋白有较大影响。近十几年来,金属离子对 β -乳球蛋白聚合的研究报道较多,发现Ca²⁺、Zn²⁺和Cu²⁺均能在一定浓度范围内促进蛋白的聚合,并推测可能形成蛋白质-金属离子聚集体,或者是改变了蛋白质分子间的静电斥力和疏水相互作用,诱导分子间的聚合^[33-36]。Hongsprabhas等^[37]在蛋清凝胶动力学机制的研究中发现,添加不同浓度的氯化钙使冷固化蛋清凝胶的聚合程度不同。因此,不同类型的金属离子其表面张力不同,与蛋白质间的作用点和作用力各不相同,形成聚集体的大小和疏松性也不一致。

3.3 表面疏水性

蛋白质是由氨基酸按一定顺序排列组成的,大量疏水基团包埋在天然蛋白质分子中,其中一些疏水性氨基酸侧链却分布在蛋白质的表面,使蛋白质分子表面具有一定的疏水性。金属离子促使蛋白质表面疏水性下降,蛋白质更易发生聚集形成凝胶。研究发现,添加金属离子

腌制的蛋清蛋白表面疏水性下降,是因为金属离子使蛋白质极性表面失水,增大蛋白质分子间引力和减小分子间的负电荷排斥作用,促进蛋白质分子间的疏水聚集^[38-40]。孔保华等^[41]通过不同盐对鲤鱼肌原纤维蛋白的研究,发现氯化钠能显著降低肌原纤维蛋白的表面疏水性,进而使蛋白质的溶解度增大。因此,在鱼类制品的生产中,利用肌原蛋白更易溶于盐溶液中的特性,进而提高盐溶性蛋白质含量,增强鱼糜制品的凝胶形成能力。

除此之外,在凝胶的结构中,金属离子对蛋白质表面疏水性与疏水相互作用的影响可能呈现出相反的变化趋势,疏水相互作用是变性蛋白质分子重新折叠的主要推动力,疏水相互作用越大,折叠越多,表面的疏水残基被再度折叠起来,呈现出表面疏水性下降。

综上所述,金属离子通过影响蛋白质分子聚集速率来影响凝胶形成的类型,并且金属离子的类型和浓度的不同对蛋白质分子聚集形态和程度的影响不同(表2)。金属离子可以通过降低蛋白质表面疏水性、增大蛋白质在溶液中的溶解度,使蛋白质浓度增加从而促进蛋白质分子发生的疏水性聚集。

表2 金属离子对蛋白质凝胶聚集的影响

Table 2 Effects of metal ions on the aggregation behavior of protein gels

金属离子种类	聚集类型	浊度	表面疏水性
Na	低浓度时致密有序的“念珠串状”,高浓度时随机聚集且粗糙 ^[27]	影响不大 ^[33]	疏水性下降 ^[41]
Mg		浊度减小 ^[33]	同上 ^[41]
Zn		促进聚集,浊度升高 ^[35]	同上 ^[41]
Ca		浊度增大 ^[33]	同上 ^[42]
Fe	利于有序聚集 ^[31-32]	浊度先增大后减小 ^[33]	

4 金属离子对蛋白质凝胶分子作用力的影响

静电相互作用、氢键、疏水相互作用和二硫键等分子间相互作用是形成和维持蛋白质凝胶的主要作用力。天然蛋白质在凝胶形成的过程发生变性聚集,不同类型分子间作用力在凝胶形成的多个过程中发挥各自不同的作用。

4.1 静电相互作用

蛋白质凝胶的形成与蛋白质间静电排斥力有着十分重要的联系,金属离子的加入会和带相反电荷的蛋白质基团相互作用,从而形成一个电子集团双电层,削弱了蛋白质分子间的静电斥力,从而进一步促进蛋白质-蛋白质、蛋白质-溶剂间的相互作用,最终形成“半固态”的凝胶基质。Yasuda等^[42]认为,单价和二价金属离子都能屏蔽带负电荷蛋白质分子间的静电相互作用。但由于二价较一价离子带正电荷数多,所以一般添加低浓度二价金属离子就能达到高浓度单价离子掩蔽蛋白质负电荷的效果,因此同样浓度条件下,二价金属离子形成离子键

的能力比单价离子更强。Park^[43]在钙离子对鱼糜凝胶的研究中发现,钙离子可以与相邻鱼蛋白分子间形成蛋白质-钙-蛋白质交联物从而形成具有一定强度的鱼糜凝胶,在原始pH值(约7.0)条件下,鱼糜中的肌原纤维蛋白是带负电的,Ca²⁺能在相邻蛋白质分子间的负电位置与蛋白质发生配位形成离子键。

4.2 氢键

氢键是一类在凝胶体系中数量极大的弱偶极键,是蛋白质分子形成蛋白凝胶以及维持凝胶网络结构稳定的一种重要分子作用力。有关凝胶形成过程中氢键的变化研究较多,但金属离子在凝胶形成过程中对蛋白质分子中氢键影响的研究却甚少。在对肌原纤维蛋白凝胶的研究中发现,一价和二价金属离子对凝胶中静电相互作用和疏水相互作用产生了巨大的影响,但对氢键的含量影响较小^[44]。然而在二级结构中却发现,有大量的氢键在 α -螺旋和 β -折叠结构中, β -转角和无规卷曲中无氢键等相互作用^[45]。许多研究表明金属离子可以破坏 α -螺旋结构,促进 β -折叠结构的形成。氢键的键能较弱,在凝胶形成过程中极易发生断裂和重建,因此氢键含量即使没有变化也不能否定氢键在凝胶形成过程中的重要作用。通过测定 α -螺旋结构和 β -折叠结构含量的变化,也许更能体现出氢键的动态变化。与此同时,找寻新的有效方法直接测定结构中的氢键含量尚有待研究。

4.3 疏水相互作用

疏水相互作用与凝胶的形成直接相关,在维持蛋白质三级结构上,疏水相互作用发挥着主要的作用。根据Larsson等^[46]利用拉曼光谱对C—H键的峰位置和强度变化的测定,得出C—H键周围环境的变化可能与加入不同浓度的氯化钠后蛋白质凝胶的疏水相互作用有关。金属离子不仅会影响蛋白质-溶剂间的疏水相互作用,还会影响蛋白质-蛋白质间的疏水交互作用。Thawornchinsombut^[47]发现在鱼糜凝胶的加工过程中,由于高浓度盐的加入,水分子会优先与金属离子结合,蛋白质周围的水分重新排列,蛋白质间的疏水相互作用加强,从而导致蛋白质功能性质的变化。与此同时,由于加入氯化钠改变凝胶内部的静电力和疏水相互作用使蛋白质构象发生变化,导致蛋清蛋白质凝胶功能特性的变化^[48]。金属离子在蛋白质凝胶形成过程中可使蛋白质的疏水相互作用和分子构象发生巨大变化,可以肯定这是金属离子协同诱导蛋白质凝胶形成的必要条件。

4.4 二硫键

蛋白质或者肽中如果含有大量的半胱氨酸残基,可以在变性蛋白质分子二级结构中形成二硫键,对稳定蛋白质凝胶结构起着较大的作用。不同金属离子对凝胶中二硫键的影响不同。陈立德^[44]发现增加镁离子和亚铁离子添加量对二硫键含量的变化和蛋白凝胶强度均无显著

影响,影响凝胶强度的主要作用力也不是二硫键,但随着钙离子添加量的增大,蛋白凝胶的二硫键含量显著增大,可见钙离子对二硫键的形成有重要意义。然而就目前的研究而言,加入钙离子促使凝胶二硫键含量增多的具体原因尚不明确。除此之外,金属离子尤其是活泼的金属离子的添加会使二硫键的含量下降。另外,也有研究表明二硫键含量的动态变化与蛋白质中含硫氨基酸的含量有关,李树青等^[49]发现皮蛋在腌制的过程中,蛋清物质中的含硫氨基酸可以降解产生硫离子。金属离子能与含硫氨基酸中的巯基和降解产生的硫离子结合形成稳定的络合物,消耗了巯基数量,阻止了巯基发生氧化转化形成二硫键,最终导致二硫键含量减少。

由金属离子对4种作用力影响的研究可知,金属离子浓度对作用力影响不是十分显著,二价金属离子相较一价金属离子对蛋白质作用力影响更大。其中钙离子对静电相互作用和二硫键的含量变化均有较大影响。

5 金属离子对蛋白质凝胶分子构象的影响

在凝胶形成的过程中,化学作用力变化的同时,蛋白质构象也发生改变,主要表现为 β -折叠、 β -转角和无规卷曲结构这些二级结构以及二硫键等三级结构的变化。金属离子往往通过引起蛋白质分子的分子构象的变化,来改变蛋白质分子的疏水聚集过程。相较于一价离子而言,二价金属离子对蛋清蛋白质分子构象的影响较为显著,基本上与霍夫曼斯特离子序相符。Kato等^[50]通过金属离子对蛋白质分子构象的研究,发现热变性的卵白蛋白凝胶在氯化钠浓度增加的情况下 β -折叠含量增加, α -螺旋含量却减少,金属离子与蛋白质的结合会提高变性温度,温度升高促使蛋白质中的 α -螺旋含量减少, β -折叠含量增加。夏莹^[40]的研究也发现金属盐能够通过对蛋白质分子间静电作用的屏蔽和对溶剂中氢键含量的影响,使蛋白质 α -螺旋、 β -转角和无规卷曲结构完成向 β -折叠结构的转变, β -折叠结构促进蛋白质分子间发生更多的聚集和交联,最终蛋清蛋白分子在热诱导条件下发生变性聚集而形成高分子质量的聚合物。但是,也有研究指出氯化钠的添加对猪肉肌原纤维蛋白凝胶的二级结构含量没有影响^[51],这可能与蛋白质分子种类不同有一定的关系。

二硫键构象的变化对凝胶形成也有影响,利用拉曼光谱研究加盐蛋白质二硫键构象的变化,发现二硫键的构象随着盐浓度的增加而改变^[52]。天然蛋白质间二硫键的类型为扭式-扭式-扭式,形成鱼糜凝胶中二硫键为扭式-扭式-反式,这种蛋白质内二硫键的构象的改变可能更有利于凝胶稳定。

金属离子可通过摧毁蛋白质的 α -螺旋结构引起蛋白质分子构象的变化,伴随着金属盐浓度的增加蛋白质的 α -螺旋结构减少, β -折叠结构增加。二硫键的形成能够增强蛋白质凝胶的之间的交联作用,同时二硫键构象的变化也是凝胶形成不可忽视的一个部分。目前,金属离子对蛋白质分子构象的变化研究只涉及较少种类蛋白质,因此,金属离子对其他种类蛋白质分子构象的变化原因尚缺乏理论研究。

6 结 语

在蛋白质凝胶化过程中,金属离子影响蛋白质分子变性展开、蛋白质线性分子重排和聚集的程度,从而改变蛋白质的分子构象和凝胶的部分化学作用力或与蛋白质分子结合等方式,最终凝胶硬度、微观结构和持水性等特性得到较大程度的改善,其种类和浓度不同效果不同。但是,目前关于金属离子对凝胶风味及色泽的影响研究甚少,对其进一步深入研究可为丰富蛋白质凝胶产品提供理论基础。另外,由于金属离子对蛋白质的作用机理极其复杂,因此关于金属离子对蛋白质凝胶分子作用力、分子构象的影响研究尚不完全清晰,可进一步运用各种现代仪器和化学分析手段阐明其对蛋白质凝胶行为的影响机制。

参考文献:

- [1] TANG C H. Effect of thermal pretreatment of raw soymilk on the gel strength and microstructure of tofu induced by microbial transglutaminase[J]. LWT-Food Science and Technology, 2007, 40(8): 1403-1409. DOI:10.1016/j.lwt.2006.09.006.
- [2] LADJEVARDI Z S, GHARIBZAHEDI S M T, MOUSAVI M. Development of a stable low-fat yogurt gel using functionality of psyllium (*Plantago ovata* Forsk) husk gum[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 125: 272-280. DOI:10.1016/j.carbpol.2015.02.051.
- [3] MOTOYAMA T, ASHIDA S. Mung bean protein gel composition and cheese-like food: WO/2014/156549[P]. 2014-02-10. <http://www.freepatentsonline.com/WO2014156549A1.html>.
- [4] GANASEN P, BENJAKUL S. Chemical composition, physical properties and microstructure of pidan white as affected by different divalent and monovalent cations[J]. Journal of Food Biochemistry, 2011, 35(5): 1528-1537. DOI:10.1111/j.1745-4514.2010.00475.x
- [5] TOTOSAUS A, MONTEJANO J G, SALAZAR J A, et al. A review of physical and chemical protein-gel induction[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2002, 37(6): 589-601. DOI:10.1046/j.1365-2621.2002.00623.x.
- [6] ZHANG Z, YANG Y, TANG X, 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. DOI:10.3136/fstr.21.597.
- [7] 黄友如, 华欲飞, 裴爱泳. 大豆分离蛋白功能性质及其影响因素[J]. 粮食与油脂, 2003(5): 12-15. DOI:10.3969/j.issn.1008-9578.2003.05.004.

- [8] BRYANT C M, MCCLEMENTS D J. Influence of NaCl and CaCl₂ on cold-set gelation of heat-denatured whey protein[J]. Journal of Food Science, 2000, 65(5): 801-804. DOI:10.1111/j.1365-2621.2000.tb13590.x.
- [9] SUN X D, HOLLEY R A. Factors influencing gel formation by myofibrillar proteins in muscle foods[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2011, 10(1): 33-51. DOI:10.1111/j.1541-4337.2010.00137.x.
- [10] ARII Y, TAKENAKA Y. Initiation of protein association in tofu formation by metal ions[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2014, 78(1): 86-91. DOI:10.1080/09168451.2014.877341.
- [11] 卜红宇, 马美湖. 不同锌盐在皮蛋加工中的作用差异[J]. 食品科学, 2011, 32(13): 136-144.
- [12] 尤丽新, 杨柳, 马井喜, 等. 花生乳牛乳新鲜干酪加工工艺优化[J]. 食品科学, 2011, 32(14): 346-349.
- [13] CHEM A. Functionality and protein structure[M]. Washington DC: ACS Press, 1979: 81-103.
- [14] FOGEDING E A, BOWLAND E L, HARDIN C C. Factors that determine the fracture properties and microstructure of globular protein gels[J]. Food Hydrocolloids, 1995, 9(4): 237-249. DOI:10.1016/S0268-005X(95)80254-3.
- [15] GANASEN P, BENJAKUL S. Chemical composition, physical properties and microstructure of pidan white as affected by different divalent and monovalent cations[J]. Journal of Food Biochemistry, 2011, 35(5): 1528-1537. DOI:10.1016/j.lwt.2009.06.007.
- [16] 刘西海. 金属离子对蛋清蛋白质结构的影响研究[J]. 中国家禽, 2012(1): 27-31. DOI:10.3969/j.issn.1004-6364.2012.01.008
- [17] KUHN K R, CAVALLIERI A L F, CUNHA R L D. Cold-set whey protein-flaxseed gum gels induced by mono or divalent salt addition[J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(5): 1302-1310. DOI:10.1016/j.foodhyd.2010.12.005.
- [18] STONE A P, STANLEY D W. Muscle protein gelation at low ionic strength[J]. Food Research International, 1994, 27(2): 155-163. DOI:10.1016/0963-9969(94)90157-0.
- [19] HARWALKAR V R, KALAB M. Thermal denaturation and aggregation of β -lactoglobulin in solution electron microscopic study[J]. Milchwissenschaft, 1985, 40(2): 65-68.
- [20] 徐幸莲. 兔骨骼肌肌球蛋白白热诱导凝胶特性及成胶机制研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2003: 55-69.
- [21] 程鹏. 牛乳清分离蛋白凝胶物化特性及其微观结构的研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2007: 20-24.
- [22] GANASEN P, BENJAKUL S, KISHIMURA H. Effect of different cations on pidan composition and flavor in comparison to the fresh duck egg[J]. Korean Journal For Food Science of Animal Resources, 2013, 33(2): 214-220. DOI:10.5851/kosfa.2013.33.2.214.
- [23] BOYER C, JOANDEL S, OUALI A, et al. Ionic strength effects on heat-induced gelation of myofibrils and myosin from fast-and slow-twitch rabbit muscles[J]. Journal of Food Science, 1996, 61(6): 1143-1148. DOI:10.1111/j.1365-2621.1996.tb10949.x.
- [24] RAMIREZ J A, RODRIGUEZ-SOSA R, MORALES O G, et al. Preparation of surimi gels from striped mullet (*Mugil cephalus*) using an optimal level of calcium chloride[J]. Food Chemistry, 2003, 82(3): 417-423. DOI:10.1016/S0308-8146(02)00594-0.
- [25] YONGSAWATDIGUL J, PARK J W. Linear heating rate affects gelation of Alaska pollock and Pacific whiting surimi[J]. Journal of Food Science, 1996, 61(1): 149-153. DOI:10.1111/j.1365-2621.1996.tb14746.x.
- [26] 黄群, 杨万根, 金永国, 等. 鸭蛋清蛋白凝胶质构特性影响因素研究[J]. 食品科学, 2014, 35(15): 68-71. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201415014.
- [27] NAKAMURA T, UTSUMI S, MORI T. Network structure formation in thermally-induced gelation of glycinin[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1984, 32(2): 349-352. DOI:10.1021/jf00122a042.
- [28] TOMBS M P. Gelation of globular proteins[J]. Faraday Discussions of the Chemical Society, 1974, 57: 158-164. DOI:10.1039/DC9745700158.
- [29] TOMBS M P. Alterations to proteins during processing and the formation of structures[J]. Proteins as Human Food, 1970, 2013: 126-134. DOI:10.1016/B978-0-408-32000-9.50014-0.
- [30] HARWALKAR V R, MA C Y. Thermal analysis of foods[M]. London, New York: Elsevier Science Publishers Ltd., 1990: 126-148.
- [31] LAKEMON D C M, DE JONGH H H J, PAQUES M, et al. Gelation of soy glycinin; influence of pH and ionic strength on network structure in relation to protein conformation[J]. Food Hydrocolloids, 2003, 17(3): 365-377. DOI:10.1016/S0268-005X(02)00100-5.
- [32] 张彩霞. PSE肉肌原纤维蛋白凝胶性质影响因素的研究[D]. 重庆: 西南大学, 2009: 20-25.
- [33] NAVARRA G, TINTI A, DI FOGGIA M, et al. Metal ions modulate thermal aggregation of beta-lactoglobulin: a joint chemical and physical characterization[J]. Journal of Inorganic Biochemistry, 2014, 137: 64-73. DOI:10.1016/j.jinorgbio.2014.04.003.
- [34] STIRP A, RIZZUTI B, PANTUSA M, et al. Thermally induced denaturation and aggregation of BLG-A: effect of the Cu²⁺ and Zn²⁺ metal ions[J]. European Biophysics Journal, 2008, 37(8): 1351-1360. DOI:10.1007/s00249-008-0346-4.
- [35] MUDGAL P, DAUBERT C R, FOGEDING E A. Effects of protein concentration and CaCl₂ on cold-set thickening mechanism of β -lactoglobulin at low pH[J]. International Dairy Journal, 2011, 21(5): 319-326. DOI:10.1016/j.idairyj.2010.11.014.
- [36] PHAN-XUAN T, DURAND D, NICOLAI T, et al. Heat induced formation of beta-lactoglobulin microgels driven by addition of calcium ions[J]. Food Hydrocolloids, 2014, 34: 227-235. DOI:10.1016/j.foodhyd.2012.09.008.
- [37] HONGSPRABHAS P, BARBUT S. Effects of *N*-ethylmaleimide and CaCl₂ on cold gelation of whey protein isolate[J]. Food Research International, 1997, 30(6): 451-455. DOI:10.1016/S0963-9969(97)00068-9.
- [38] WSZELAKA-RYLIK M, ZIELENKIEWICZ W. Enthalpy changes of salting processes of hen-egg white lysozyme in various electrolyte solutions[J]. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2006, 83(3): 607-610. DOI:10.1007/s10973-005-7414-0.
- [39] YANG S, BALDWIN R E. Functional properties of eggs in foods[M]. Egg Science and Technology. New York: Haworth Press Inc., 1995: 405-463.
- [40] 夏莹. 金属离子腌制对蛋清蛋白结构与特性的影响研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2011: 80-85.
- [41] 孔保华, 李明清, 夏秀芳. 不同盐对鲤鱼肌原纤维蛋白结构和凝胶特性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(3): 50-55.
- [42] YASUDA K, NAKAMURA R, HAYAKAWA S. Factors affecting heat-induced gel formation of bovine serum albumin[J]. Journal of Food Science, 1986, 51(5): 1289-1292. DOI:10.1111/j.1365-2621.1986.tb13107.x.
- [43] PARK J W. Surimi and surimi seafood[M]. 2nd ed. New York: CRC Press, 2005: 237-265.
- [44] 陈立德. 肌原纤维蛋白凝胶作用力影响因素的研究[D]. 重庆: 西南大学, 2010: 100-113.
- [45] 杨万根. 蛋清蛋白水解物的制备, 结构及其生物活性的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2008: 55-57.
- [46] LARSSON K, RAND R P. Detection of changes in the environment of hydrocarbon chains by Raman spectroscopy and its application to lipid-protein systems[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism, 1973, 326(2): 245-255. DOI:10.1016/0005-2760(73)90250-6.
- [47] THAWORNCHINSOMBUT S. Biochemical and gelation properties of fish protein isolate prepared under various pH and ionic strength conditions[D]. Corvallis: Oregon State University, 2004: 7-19.
- [48] NAKAI S. Structure-function relationships of food proteins: with an emphasis on the importance of protein hydrophobicity[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1983, 31(4): 676-683. DOI:10.1021/jf00118a001.
- [49] 李树青, 黄鹏, 王庆玉. 皮蛋加工贮存过程中蛋黄颜色变化机理研究[J]. 食品科学, 1992, 13(2): 18-22.
- [50] KATO A, TAKAGI T. Formation of intermolecular beta-sheet structure during heat denaturation of ovalbumin[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1988, 36(6): 1156-1159. DOI:10.1021/jf00084a007.
- [51] 韩敏义, 李伟峰, 王鹏, 等. 拉曼光谱研究NaCl浓度对猪肉肌原纤维蛋白凝胶硬度的影响[J]. 核农学报, 2014, 28(12): 2192-2199. DOI:10.11869/j.issn.100-8551.2014.12.2192.
- [52] BOURAOUI M, NAKAI S, LI-CHAN E. *In situ* investigation of protein structure in Pacific whiting surimi and gels using Raman spectroscopy[J]. Food Research International, 1997, 30(1): 65-72. DOI:10.1016/S0963-9969(97)00020-3.