

pH 对大黄鱼肌原纤维蛋白结构性质及乳化性的影响

任中阳^{1,2,3}, 崔雅清¹, 陈玉峰^{3,4*}, 石林凡^{1,2}, 郝更新^{1,2},
杨 燊^{1,2}, 邱绪建^{1,2}, 刘淑集⁵, 翁武银^{1,2*}

(1. 集美大学海洋食品与生物工程学院, 福建 厦门 361021;

2. 集美大学, 厦门市海洋功能食品重点实验室, 福建 厦门 361021;

3. 浙江工业大学, 浙江省深蓝渔业资源高效开发利用重点实验室, 浙江 杭州 310014;

4. 浙江工业大学食品科学与工程学院, 浙江 杭州 310014;

5. 福建省水产研究所, 福建 厦门 361000)

摘要: 为深入探究大黄鱼肌原纤维蛋白 (MP) 的乳化性, 以满足大黄鱼蛋白质高值化开发利用的需求。实验探究了不同 pH 对大黄鱼 MP 结构性质及其乳化性的影响。采用 pH 分别为 2、4、6、8、10、12 的低盐磷酸缓冲液处理大黄鱼 MP, 通过 SDS-PAGE 分析大黄鱼 MP 降解情况, 利用接触角测量仪和荧光分光光度计考察其疏水性变化。将不同 pH 下大黄鱼 MP 溶液与大豆油以体积比为 1:1 的比例经高速均质制备乳液, 并对其乳滴电位、粒径以及乳液的乳析指数进行测定, 综合分析在不同 pH 下乳液的稳定性。SDS-PAGE 电泳结果表明, 在 pH 4 时, 大黄鱼 MP 条带颜色较浅, 在 pH 6~12 时, 肌球蛋白重链条带基本消失, 肌动蛋白条带颜色逐渐加深, 且在浓缩胶顶部出现了高分子聚集物。对接触角和荧光光谱的综合分析表明, 大黄鱼 MP 疏水性随 pH 增加而增加。对不同 pH 下 MP 乳液特性分析显示, 在 pH 8 时, 乳滴带负电且 Zeta 电位绝对值大[(49.63±1.52) mV]、粒径较小、乳液稳定性较好, 而 pH 12 条件下容易出现破乳, 不利于乳液的稳定。在 pH 8 时, 大黄鱼 MP 结构更有利于提升乳液稳定性。研究表明, 在弱碱性条件下更有利于大黄鱼 MP 形成稳定的乳液体系。pH 对大黄鱼 MP 结构性质和乳化性的影响探究, 有望为大黄鱼 MP 在食品工业中的开发利用提供理论依据。

关键词: 大黄鱼; 肌原纤维蛋白; pH; 疏水性; 乳化性

中图分类号: S 986.1; TS 201.7

文献标志码: A

大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 具有肉质鲜美、蛋白含量高、胆固醇少等特点, 深受广大消费者的喜爱^[1]。其主要分布于黄海、东海、台湾海峡及南海北部, 是中国四大海水经济鱼类之一^[2]。

大黄鱼作为中国特色水产养殖产品, 是我国最具优势的出口水产品之一^[3]。2019 年, 我国养殖大黄鱼年产量达到 22.55 万 t, 2020 年产量提升至 25.4 万 t^[4-5]。为提升大黄鱼附加值, 深入了解大黄

收稿日期: 2021-11-10 修回日期: 2022-04-13

资助项目: 福建省自然科学基金 (2021J01835); 福建省种业创新与产业化项目 (2021FJSCZY01); 国家重点研发计划 (2021YFD210020204); 福建省海洋功能食品工程技术研究中心开放基金 (Z821311); 福建省教育厅中青年教育科研项目 (B20278); 集美大学科研启动项目 (ZQ2020011); 浙江省深蓝渔业资源高效开发利用重点实验室开放基金 (SL2021005)

第一作者: 任中阳 (照片), 从事水产品加工与综合利用研究, E-mail: rzy0529@jmu.edu.cn

通信作者: 陈玉峰, 从事食品营养与胶体研究, E-mail: yfchen1989@zjut.edu.cn;

翁武银, 从事水产品加工与综合利用研究, E-mail: wwymail@jmu.edu.cn



鱼肌原纤维蛋白 (myofibrillar protein, MP) 结构和功能特性非常必要。

MP 是鱼肉的重要组成部分, 占肌肉蛋白总量的 60%~70%。关于采用不同处理方式如超高压处理、辐照处理、pH 处理、外源物添加等研究鱼肉 MP 的结构组成和功能性质等已有大量报道^[6]。张登科等^[7]对养殖大黄鱼 MP 的处理压力和保压时间的研究表明, 其最大发射波长峰值随着压力增大而变大。张晗等^[8]对花鲈 (*Lateolabrax japonicus*) MP 表面疏水性的研究表明, 其随电子束辐照剂量上升先增大后减小。Kristinsson 等^[9]研究不同 pH 下大西洋鳕 (*Gadus morhua*) 肌肉蛋白功能性质, 结果表明酸和碱处理提高了 MP 的乳化性能, 这与表面疏水性有关, 疏水性越高越有利于蛋白质与非极性油滴表面相互作用。何青^[10]对不同 pH 下猪肉 MP 的聚集状态分析表明, MP 颗粒的微观形态呈纤维状和不规则聚集状态。在 pH 对 MP 相关功能性质的研究中, 主要集中在凝胶特性方面, 通过改变 pH 得到组织良好、相对有序致密的凝胶网络^[11-12]。

pH 对 MP 乳化特性影响的研究大部分集中在猪肉^[13]、鸡肉^[14]和部分鱼类如鳕^[9]等方面。周心雅等^[15]研究兔肉 MP 性质, 结果表明随 pH 接近等电点, 其氢键稳定性降低, 二级结构变化, 内部疏水性氨基酸暴露, 蛋白三级结构展开, 导致乳化活性减小。郭延娜等^[16]研究在不同 pH 条件下猪肉 MP 的乳化性质, 结果表明等电点附近 (pH 值 5~6) 无法形成稳定乳液, 而在 pH 值 6~7 形成明显的水包油结构。选择合适的 pH 对于大黄鱼 MP 制备乳液的稳定性尤为重要。乳液可作为运输系统, 用于封装、保护和释放稳定性差的功能性成分, 其中脂溶性营养物质可以溶解在油脂中, 被人体消化吸收^[17]。此外, 在极端酸性和碱性条件下, 也可以将破乳技术应用于冷萃取鱼油^[18]。然而, 目前针对不同 pH 下大黄鱼 MP 乳化性的研究有限, 有待进一步研究以满足大黄鱼蛋白质高值化开发利用的需求。

通过不同 pH 处理大黄鱼 MP, 对其 Zeta 电位、接触角以及内源荧光性进行分析。以不同 pH 处理的大黄鱼 MP 和大豆油为原料制备乳液, 对乳液的形貌、电位以及稳定性进行分析。分析 pH 对 MP 结构及乳化性的影响, 为开发大黄鱼产品提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

大黄鱼购于厦门市新华都购物广场, 去头、去尾、去内脏、去皮, 纯水清洗干净, 取背部肌肉切块, 自封袋包装, -24 °C 冷冻保藏。十二烷基硫酸钠 (SDS) 购于 Sigma 公司。其他化学试剂均为分析纯。实验过程中操作人员严格遵守伦理规范, 并按照集美大学伦理委员会制定的规章制度执行。

1.2 仪器与设备

Vanti J-26S 高速冷冻离心机, 美国 Beckman 公司; UV-2600A 紫外分光光度计, 上海元析仪器有限公司; SDC-200 光学接触角测量仪, 东莞市晟鼎精密仪器有限公司; Cary Eclipse 荧光分光光度计, 美国 Agilent 公司; Zetasizer Nano-ZS90 纳米粒度电位仪, 英国 Malvern 公司; S-4800 电子扫描显微镜, 日本东京日立制造所。

1.3 实验方法

MP 提取 参考 Cao 等^[19]MP 提取的方法, 并略作修改。取冷冻大黄鱼背部肌肉, 加入 4 倍体积低盐磷酸缓冲液 (0.02 mol/L Na₂HPO₄、0.02 mol/L NaH₂PO₄、0.05 mol/L NaCl, pH 7.5) 漂洗 3 次, 离心 (9500 r/min, 15 min, 4 °C) 弃上清液取沉淀。沉淀与 4 倍质量的高盐磷酸缓冲液 (0.02 mol/L Na₂HPO₄、0.45 mol/L NaCl, pH 7.5) 混合均匀, 浸提 12 h。混合物离心 (9500 r/min, 15 min, 4 °C), 弃沉淀取上清液。上清液加入 10 倍质量的冷凝水, 静置 3 h 后离心 (9500 r/min, 15 min, 4 °C), 沉淀即为 MP, 冻干备用。

MP 溶液及乳液制备 称取 0.5 g MP, 分别溶于 pH 为 2、4、6、8、10、12 的 50 mL 低盐磷酸缓冲液中。取 10 g/L 不同 pH 处理的 MP 溶液与大豆油按照体积比 1 : 1 混合, 经 20000 r/min 高速均质 2 min, 4 °C 冷藏备用。

SDS-PAGE 参考 Fang 等^[20]SDS-PAGE 电泳的方法, 并略作修改。将 2 g/L 蛋白悬浮液经 10000 r/min 离心 10 min, 取上清液。测定条件: 10% 分离胶、4% 浓缩胶、上样量 10 μL, 利用 8 mA 恒定电流运行 15 min, 再采用 16 mA 恒定电流至终点。用考马斯亮蓝 R-250 染色 24 h, 采用脱色液 (10% 甲醇, 30% 乙酸) 脱色 45 min 至背景清晰。

接触角的测定 参考 Ren 等^[21] 接触角的测定方法, 并略作修改。不同 pH 处理的 MP 溶液冻干, 取冻干样品 0.25 g, 压片机 25 MPa 压制成片。测定条件: MP 压片置于油相, 1 μ L 超纯水液滴吸附至压片表面, 计时 2 min, 利用接触角测量仪测定分析。

内源荧光性的测定 参考闫春子等^[22] 内源荧光性的测定方法, 并略作修改。MP 溶液用高盐缓冲液稀释至 0.5 g/L。测定条件: 激发波长 295 nm, 激发和发射狭缝宽度为 2.5 nm, 波长扫描范围为 300~400 nm, 扫描速率为 600 nm/min。

乳液微观形貌及 Zeta 电位 参考丁俭等^[23] 乳液微观形貌的观察方法, 并略作修改。测定条件: 吸取 1 滴乳液, 滴于载玻片上, 盖上盖玻片后于光学显微镜下, 用 40 倍物镜进行乳液液滴的形貌观察。参考王旭等^[24] 乳液 Zeta 电位的测定方法, 并略作修改。测定条件: 将制备的 MP 悬液及乳液稀释 100 倍, 采用纳米粒度电位仪测定其电位。

乳液稳定性的测定 参考 Ren 等^[25] 测定乳液稳定性的方法, 并略作修改。制备好的乳液立即取 10 mL 于比色管中, 测量乳液总的高度和底端乳清层的高度。乳析指数 (creaming index, CI, %) 计算公式:

$$CI = (H_0 - H_t) / H_0 \times 100\%$$

式中, H_0 为乳化后初始阶段乳液总高度 (cm), H_t 为乳化后 t 时刻乳化层高度 (cm)。

数据分析 用 SPSS Statistics 17.0 软件进行数据分析。采用单因素分析中 Duncan 氏两两比较法进行差异显著性分析 ($P < 0.05$), 结果用平均值 \pm 标准偏差表示。

2 结果

2.1 pH 处理对大黄鱼 MP 结构性质的影响

pH 对 MP 的 Zeta 电位影响 不同 pH 处理大黄鱼 MP 的 Zeta 电位结果显示, 等电点位于 pH 4~6, 在等电点左侧, pH 越接近等电点, Zeta 电位绝对值越小; 在等电点右侧, pH 6~12 Zeta 电位绝对值较大, 可达 36.15 mV; 在 pH 12 时 Zeta 电位绝对值相对 pH 10 有所降低 (图 1)。

pH 对 MP 的 SDS-PAGE 影响 不同 pH 处理大黄鱼 MP 后 SDS-PAGE 电泳结果显示, 经不同 pH 处理后, MP 发生不同程度的降解 (图 2)。从上到下依次为副肌球蛋白、肌动蛋白、原肌球

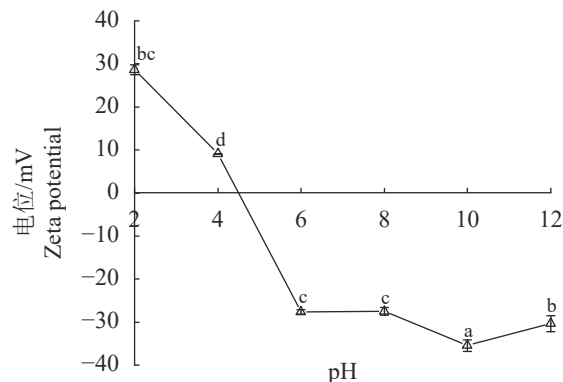


图 1 pH 处理大黄鱼肌原纤维蛋白 Zeta 电位

不同字母代表差异显著 ($P < 0.05$), 图 3 和图 6 同。

Fig. 1 Zeta potential of myofibrillar proteins of *L. crocea* treated at different pH values

Lowercase letters indicate significant differences between different samples, $P < 0.05$, the same as Fig. 3 and Fig. 6.

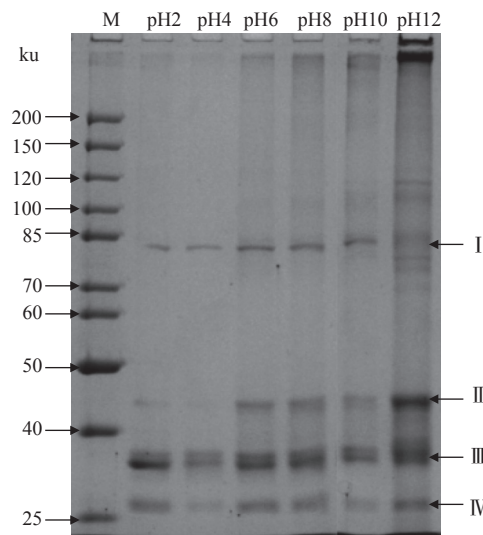


图 2 pH 处理大黄鱼肌原纤维蛋白 SDS-PAGE 电泳图

M: 蛋白质标准物质 200; I~IV 分别代表副肌球蛋白、肌动蛋白、原肌球蛋白和肌球蛋白轻链。

Fig. 2 SDS-PAGE of myofibrillar proteins of *L. crocea* treated at different pH values

M: Marker 200; I-IV represent paramyosin, actin, tropomyosin and troponin, respectively.

蛋白和肌球蛋白轻链, 该结果与 Wang 等^[26] 的研究基本一致。在等电点右侧, pH 增加, 凝胶顶部多聚体逐渐加深, 碱性条件下 MP 更易聚集, 且 200 ku 处无明显条带。

pH 对 MP 接触角的影响 在 pH 2~8 下, 接触角均小于 90° 且变化不明显, 表现为亲水性。随 pH 继续增加, MP 接触角增大, 接触角在 pH 10 和 pH 12 时均大于 90° , MP 表现为明显的疏水性 (图 3)。

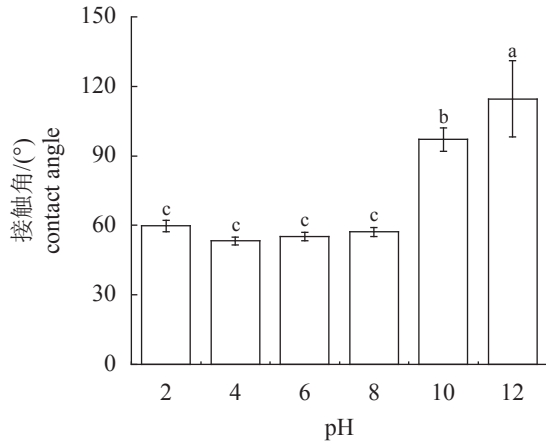


图3 pH对MP接触角的影响

Fig. 3 Effect of pH on contact angle of myofibrillar proteins

pH对MP内源荧光性的影响 进一步通过荧光光谱分析不同pH处理MP后内源荧光的变化,在等电点左侧,pH越接近等电点,荧光强度越低,发射波长红移(从331到340 nm)。在等电点右侧,随着pH增加,荧光强度逐渐增加,发射波长先蓝移后红移(从337到332 nm,再到337 nm)(图4)。

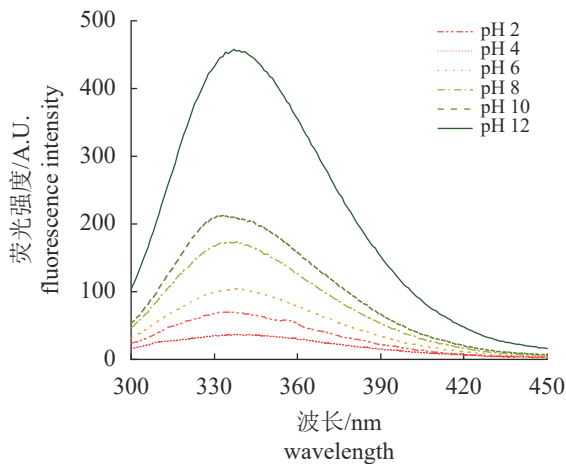


图4 pH对MP内源荧光强度的影响

Fig. 4 Effect of pH on endogenous fluorescence intensity of myofibrillar proteins

2.2 pH对大黄鱼MP乳化特性的影响

pH对MP乳液微观形貌的影响 不同pH处理大黄鱼MP后新鲜乳液微观形貌的结果显示,在等电点左侧乳滴较大且不均匀。而在等电点右侧,pH 6~10时,乳滴粒径逐渐减小且大小趋于均匀,pH 12时乳滴较小,彼此间出现明显的絮凝(图5)。

pH对MP乳液Zeta电位的影响 不同pH处理大黄鱼MP制备的乳液Zeta电位,在等电点左侧乳液带正电,接近等电点时,乳液电位绝对值降低;在等电点右侧乳液带负电,随着pH增加,乳液电位绝对值呈先上升后下降趋势(图6)。该结果与MP的Zeta电位(图1)相一致。

pH对MP乳液稳定性的影响 不同pH处理对大黄鱼MP乳液稳定性的结果显示,乳液在静置10 d后,乳析指数基本稳定(图7)。在等电点左侧,乳析指数较大,乳液稳定性较差。在等电点右侧,随pH值(6~12)增加,乳析指数先减后增,乳液稳定性在pH 8下稳定性较好。在pH 12时,MP可能过度交联聚集,导致乳液稳定性下降,13 d后出现破乳(图7)。

3 讨论

3.1 pH处理对大黄鱼MP结构性质的影响

pH对MP电位的影响 Zeta电位是指胶体分散体电动势,绝对值越大意味着静电斥力越大,与溶解度有关^[27]。在等电点附近,MP表面带电荷较少,静电相互作用最小,可能是由于范德华力和氢键促进蛋白凝聚导致溶解度下降^[28]。在等电点右侧,随pH增加,MP表面携带负电荷越多,Zeta电位绝对值越大。而在pH 12时Zeta电位绝对值略微降低,可能是由于MP发生变性使表面暴露电荷减少。

pH对MP SDS-PAGE的影响 SDS-PAGE电泳能直观地呈现鱼肉MP的降解和变性情况^[29]。碱处理导致蛋白质变性聚合形成大分子质量聚集体^[30]。在等电点左侧,凝胶顶部无聚集体,200 ku处肌球蛋白重链条带消失,小分子质量蛋白条带加深,可能是由于肌球蛋白重链发生了降解。pH 4下MP电泳条带颜色较浅可归因于接近等电点使其蛋白浓度降低所致。与先前报道相符,与酸性条件相比,肌动蛋白在碱性条件下蛋白条带有加深趋势^[31]。

pH对MP接触角的影响 三相接触角(θ)可用于标识MP的亲疏水性,一定程度反映MP在油水界面的分布、乳液的类型和稳定性^[32]。天然蛋白质分子中,亲水基团一般暴露在外并且可与水相互作用,疏水基团则位于蛋白分子内部^[33]。碱处理后,肌原纤维蛋白构象变化,可能由于疏水基团暴露在外导致疏水性增加。

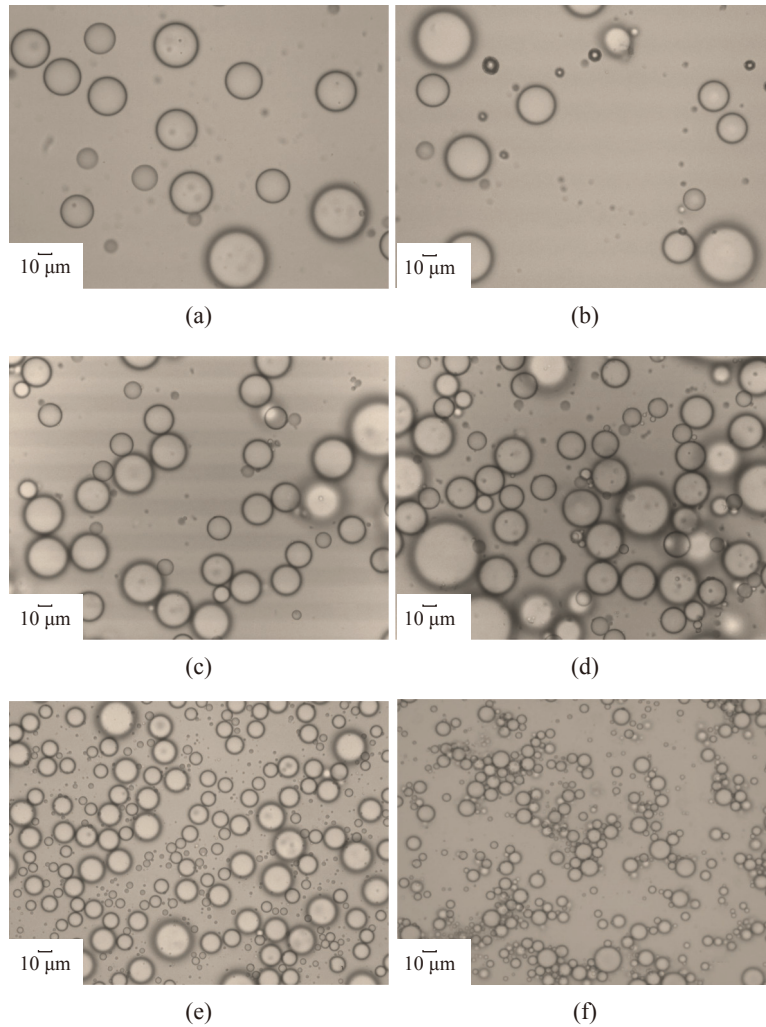


图 5 pH 处理大黄鱼肌原纤维蛋白乳液的显微观察 (40×)

(a)-(f) 分别为在 pH 2、4、6、8、10 和 12 下 MP 制备的乳液。

Fig. 5 Microscopic observation of myofibrillar protein emulsions of *L. crocea* treated at different pH values

(a)-(f) represent emulsions prepared by MP at pH 2, 4, 6, 8, 10 and 12, respectively.

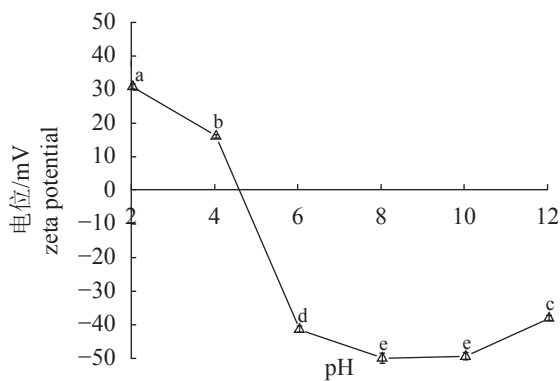


图 6 pH 对 MP 乳液的 Zeta 电位的影响

Fig. 6 Effect of pH on Zeta potential of myofibrillar protein emulsions

pH 对 MP 内源荧光性的影响 蛋白质的内源荧光性主要来源于色氨酸, 色氨酸对微环境

的改变极其敏感^[34]。最大发射波长小于 330 nm, 表明色氨酸基团位于蛋白质分子内部非极性环境中; 最大发射波长大于 330 nm, 表明色氨酸位于蛋白质分子外部极性环境中^[22]。在等电点左侧, 接近等电点, 蛋白发生聚集, 色氨酸包埋在蛋白质分子内部; 在等电点右侧, 随 pH 增加, 蛋白质分子排列顺序发生变化, 三级结构展开, 色氨酸向外部极性环境逐渐暴露, 导致内源荧光强度增加^[35]。该结果表明, MP 内部空间结构发生变化, 内部疏水氨基酸暴露在蛋白表面, 这与接触角的结果相一致 (图 3)。

3.2 pH 对大黄鱼 MP 乳化特性的影响

pH 对 MP 乳液微观形貌的影响 显微镜常用于观察乳滴, 直观反映乳滴的颗粒大小和分

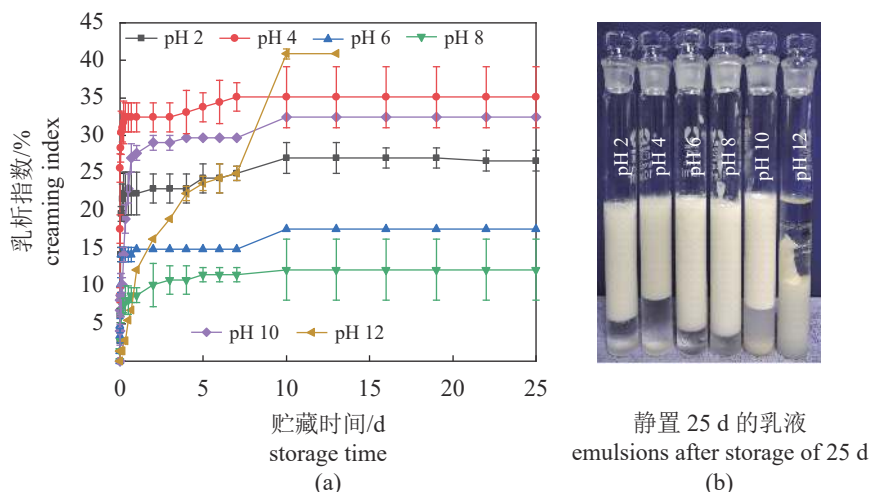


图7 pH处理对MP乳液乳析指数的影响

Fig. 7 Creaming index of myofibrillar protein emulsions of *L. crocea* treated at different pH values

散情况。Liu等^[36]研究新鲜乳液经1% SDS溶液处理后的粒径分布, 结果表明1% SDS可以使油滴在乳液中保持分离, 乳滴大小可以反映蛋白质的乳化能力, 乳滴粒径越小, 乳化能力越强。由此可以判断, 在等电点左侧MP的乳化能力较差; 在等电点右侧, pH 4~8时MP的乳化能力逐渐增强, 随着pH值继续增加, 乳滴粒径继续减小, 同时聚集程度不断加深, 在pH 12稳定的乳液中出现明显聚集。

pH对MP乳液Zeta电位的影响 乳液液滴表面带电量可在一定程度上反映乳滴的稳定性^[37]。电位的绝对值越大, 油滴间的静电斥力越大, 阻止乳滴间发生聚集, 从而有利于乳液的稳定性^[38]。乳滴粒径减小导致表面积更大, 分散粒子表面显示更多电荷, 从而导致乳液Zeta电位绝对值增加^[39]。在pH 8时, 乳液的Zeta电位绝对值达到最大值 $[(49.63 \pm 1.52) \text{ mV}]$ 。在pH 12时, 乳滴发生聚集, 可能是由于MP颗粒通过静电相互作用所致。

pH对MP乳液稳定性的影响 从宏观角度, 通常利用乳析指数表征乳液的稳定性变化, 乳析指数越小乳液越稳定^[38]。Kurt^[40]研究pH对乳液稳定性的影响, 结果表明pH值远离等电点时净电荷增加, 促使乳液稳定性增加。大黄鱼MP乳液Zeta电位远离蛋白等电点, 乳滴表面MP彼此间的静电排斥有利于乳液的稳定性。通过不同pH下乳液在不同贮藏时间的外观观察, 观察到乳液的乳化程度和破乳现象, 与以上乳液特性分析相一致。

综上所述, 从大黄鱼MP的开发利用出发, 本研究在不同pH(2~12)条件下处理大黄鱼MP, 对其结构性质和乳化稳定性进行分析。在pH 12时, MP发生聚集, 导致绝对值略微降低。碱性条件下MP更易聚集, 其内部空间结构发生变化, 疏水氨基酸暴露在蛋白表面, 疏水性增加。本研究表明, 在pH 8下乳液稳定性较好, 而在pH 12下乳液贮藏13 d后蛋白变性聚集, 导致乳液失稳出现破乳。利用pH处理可以达到改善大黄鱼MP加工特性的目的, 为今后其在食品工业中的加工应用提供指导依据。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] 吴燕燕, 陶文斌, 郝志明, 等. 含盐量对腌制大黄鱼鱼肉品质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(21): 102-109.
Wu Y Y, Tao W B, Hao Z M, et al. Effects of different salt concentration on the quality of cultured large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(21): 102-109 (in Chinese).
- [2] 王笑涵, 姜卉, 吴海涛, 等. 大黄鱼卵分离蛋白乳液的构筑及其体外消化规律[J]. 食品科学, 2020, 41(18): 8-13.
Wang X H, Jiang H, Wu H T, et al. Construction and *in vitro* digestion properties of *Larimichthys crocea* roe protein isolate-stabilized emulsion[J]. Food Science, 2020, 41(18): 8-13 (in Chinese).

- [3] 杨华, 陆森超, 张慧恩, 等. 超高压处理对养殖大黄鱼风味及品质的影响[J]. 食品科学, 2014, 35(16): 244-249.
Yang H, Lu S C, Zhang H E, *et al.* Effects of high hydrostatic pressure processing on the flavor and quality of cultured yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. Food Science, 2014, 35(16): 244-249 (in Chinese).
- [4] 徐鹏, 柯巧珍, 苏永全, 等. 大黄鱼种质资源保护与利用现状及建议[J]. 水产学报, 2022, 46(4): 674-682.
Xu P, Ke Q Z, Su Y Q, *et al.* Protection and utilization status and prospect of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) germplasm resources[J]. Journal of Fisheries of China, 2022, 46(4): 674-682 (in Chinese).
- [5] 俞存根, 严小军, 蒋巧丽, 等. 东海岱衢族大黄鱼资源变动的原因探析及重建策略[J]. 水产学报, 2022, 46(4): 616-625.
Yu C G, Yan X J, Jiang Q L, *et al.* Cause analysis of resources change and reconstruction strategy of *Larimichthys crocea* Daiqu group in the East China Sea[J]. Journal of Fisheries of China, 2022, 46(4): 616-625 (in Chinese).
- [6] 卢涵. 鲮鱼肉低温贮藏过程中蛋白氧化、组织蛋白酶活性与品质变化规律的研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2017.
Lu H. Protein oxidation, cathepsins activity and the quality changes of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) during low-temperature storage[D]. Beijing: China Agricultural University, 2017 (in Chinese).
- [7] 张登科, 张慧恩, 朱艳杰, 等. 超高压处理对养殖大黄鱼肌原纤维蛋白结构的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(9): 61-67.
Zhang D K, Zhang H E, Zhu Y J, *et al.* Effect of high hydrostatic pressure treatment on myofibrillar protein structure of cultured large yellow croaker[J]. Food Science, 2019, 40(9): 61-67 (in Chinese).
- [8] 张晗, 高星, 宣仕芬, 等. 电子束辐照对鲈鱼肉肌原纤维蛋白生化特性及其构象的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(13): 81-86.
Zhang H, Gao X, Xuan S F, *et al.* Effect of electron beam irradiation on biochemical properties and structure of myofibrillar protein from *Lateolabrax japonicus* meat[J]. Food Science, 2019, 40(13): 81-86 (in Chinese).
- [9] Kristinsson H G, Hultin H O. Effect of low and high pH treatment on the functional properties of cod muscle proteins[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(17): 5103-5110.
- [10] 何青. 猪肉肌原纤维蛋白颗粒稳定高内相 Pickering 乳液的制备及营养输送特性研究 [D]. 锦州: 渤海大学, 2020.
He Q. Preparation and nutrient delivery characteristics of high internal phase Pickering emulsion stabled by pork myofibrillar particles[D]. Jinzhou: Bohai University, 2020 (in Chinese).
- [11] Zheng S Y, Chen X T, Wu J N, *et al.* Effect of pH on gelling properties of myofibrillar protein in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. Journal of Biobased Materials and Bioenergy, 2019, 13(2): 264-268.
- [12] Du X, Zhao M N, Pan N, *et al.* Tracking aggregation behaviour and gel properties induced by structural alterations in myofibrillar protein in mirror carp (*Cyprinus carpio*) under the synergistic effects of pH and heating[J]. Food Chemistry, 2021, 362: 130222.
- [13] Hong G P, Min S G, Chin K B. Emulsion properties of pork myofibrillar protein in combination with microbial transglutaminase and calcium alginate under various pH conditions[J]. Meat Science, 2012, 90(1): 185-193.
- [14] Li L Y, Zhao X, Xu X L. Trace the difference driven by unfolding-refolding pathway of myofibrillar protein: emphasizing the changes on structural and emulsion properties[J]. Food Chemistry, 2022, 367: 130688.
- [15] 周心雅, 贺稚非, 李洪军, 等. 酸碱度对兔肉肌原纤维蛋白功能性质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(11): 172-179.
Zhou X Y, He Z F, Li H J, *et al.* Effect of pH on the functional properties of rabbit myofibrillar protein[J]. Food and Fermentation Industries, 2017, 43(11): 172-179 (in Chinese).
- [16] 郭延娜, 吴菊清, 周光宏, 等. 匀浆机转速、pH值和肌原纤维蛋白质浓度对肌原纤维蛋白质乳化特性的影响[J]. 江苏农业学报, 2010, 26(6): 1371-1377.
Guo Y N, Wu J Q, Zhou G H, *et al.* Effect of speed of homogenizer, pH value and myofibrillar protein concentration on emulsifying properties of myofibrillar proteins[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2010, 26(6): 1371-1377 (in Chinese).
- [17] Tang Y, Jiang H, Wu H T, *et al.* Fabrication and physicochemical characterization of *Pseudosciaena crocea* roe protein-stabilized emulsions as a nutrient delivery

- system[J]. *Journal of Food Science*, 2019, 84(6): 1346-1352.
- [18] Abdollahi M, Undeland I. A novel cold biorefinery approach for isolation of high quality fish oil in parallel with gel-forming proteins[J]. *Food Chemistry*, 2020, 332: 127294.
- [19] Cao M J, Jiang X J, Zhong H C, *et al.* Degradation of myofibrillar proteins by a myofibril-bound serine proteinase in the skeletal muscle of crucian carp (*Carasius auratus*)[J]. *Food Chemistry*, 2006, 94(1): 7-13.
- [20] Fang Q, Shi L F, Ren Z Y, *et al.* Effects of emulsified lard and TGase on gel properties of threadfin bream (*Nemipterus virgatus*) surimi[J]. *LWT*, 2021, 146: 111513.
- [21] Ren Z Y, Chen Z Z, Zhang Y Y, *et al.* Functional properties and structural profiles of water-insoluble proteins from three types of tea residues[J]. *LWT*, 2019, 110: 324-331.
- [22] 闫春子, 夏文水, 许艳顺. 超高压对草鱼肌原纤维蛋白结构的影响[J]. *食品与生物技术学报*, 2018, 37(4): 424-428.
- Yan C Z, Xia W S, Xu Y S. Effect of high hydrostatic pressure processing on myofibril protein structure of grass carp fillets[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2018, 37(4): 424-428 (in Chinese).
- [23] 丁俭, 隋晓楠, 王婧, 等. 超声处理大豆分离蛋白与壳聚糖复合物对O/W型乳液稳定性的影响[J]. *食品科学*, 2018, 39(13): 74-80.
- Ding J, Sui X N, Wang J, *et al.* Effect of ultrasonic treatment on stability of oil-in-water (O/W) emulsion containing soybean protein isolate-chitosan complex[J]. *Food Science*, 2018, 39(13): 74-80 (in Chinese).
- [24] 王旭, 马宁宁, 李昕, 等. 亚麻籽胶-大豆分离蛋白乳液液滴聚集体的制备及其流变特性[J]. *中国食品学报*, 2019, 19(5): 93-100.
- Wang X, Ma N N, Li X, *et al.* Fabrication and rheological properties of heteroaggregated emulsion of oppositely charged flaxseed gum-coated and soy protein-coated oil droplets[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2019, 19(5): 93-100 (in Chinese).
- [25] Ren Z Y, Chen Z Z, Zhang Y Y, *et al.* Effect of heat-treated tea water-insoluble protein nanoparticles on the characteristics of Pickering emulsions[J]. *LWT*, 2021, 149: 111999.
- [26] Wang H F, Yang Z, Yang H J, *et al.* Comparative study on the rheological properties of myofibrillar proteins from different kinds of meat[J]. *LWT*, 2022, 153: 112458.
- [27] 彭媛媛, 王昱圭, 汤雪纤, 等. pH值对低酯果胶/酪蛋白酸钠复合体系流变及结构特性的影响[J]. *食品科学*, 2019, 40(6): 35-40.
- Peng Y Y, Wang Y G, Tang X Q, *et al.* Effect of pH value on rheological and structural properties of low methoxyl pectin/sodium caseinate composite system[J]. *Food Science*, 2019, 40(6): 35-40 (in Chinese).
- [28] 吴丽萍, 冷小京, 孙雁, 等. 动态光散射和透射电镜法研究pH和NaCl对丝胶蛋白微观结构的影响[J]. *光谱学与光谱分析*, 2010, 30(5): 1391-1395.
- Wu L P, Leng X J, Sun Y, *et al.* Analysis of the effects of pH and salt on the conformation of the sericin particles by DLS and TEM measurements[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2010, 30(5): 1391-1395 (in Chinese).
- [29] 李来好, 孙蕾蕾, 黄卉, 等. 冰藏奥尼罗非鱼片组织蛋白酶与品质变化的相关性分析[J]. *水产学报*, 2015, 39(4): 589-597.
- Li L H, Sun L L, Huang H, *et al.* Correlation analysis of cathepsins and quality variations of tilapia (*Oreochromis niloticus* ♂ × *O. aureus* ♀) fillets during iced storage[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2015, 39(4): 589-597 (in Chinese).
- [30] 赵雪, 邹玉峰, 韩敏义, 等. 酸碱处理技术在肌肉蛋白质分离加工中的应用[J]. *食品工业科技*, 2016, 37(11): 395-399.
- Zhao X, Zou Y F, Han M Y, *et al.* A review of the application of isoelectric solubilization/precipitation method in meat protein separation and processing[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2016, 37(11): 395-399 (in Chinese).
- [31] Azadian M, Moosavi-Nasab M, Abedi E. Comparison of functional properties and SDS-PAGE patterns between fish protein isolate and surimi produced from silver carp[J]. *European Food Research and Technology*, 2012, 235(1): 83-90.
- [32] Linke C, Drusch S. Pickering emulsions in foods-opportunities and limitations[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2018, 58(12): 1971-1985.

- [33] 常通. 酸碱法提取鳙鱼蛋白及鱼糜凝胶品质的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2014.
Chang T. Extraction of bighead carp muscle proteins and surimi gel quality by pH-shift processing[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2014 (in Chinese).
- [34] Qiu C J, Xia W S, Jiang Q X. Pressure-induced changes of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) myofibrillar protein structure[J]. *European Food Research and Technology*, 2014, 238(5): 753-761.
- [35] Lefevre F, Fauconneau B, Thompson J W, *et al.* Thermal denaturation and aggregation properties of Atlantic salmon myofibrils and myosin from white and red muscles[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(12): 4761-4770.
- [36] Liu F, Tang C H. Emulsifying properties of soy protein nanoparticles: influence of the protein concentration and/or emulsification process[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(12): 2644-2654.
- [37] 刁小琴, 关海宁, 李杨, 等. 高压均质对肌原纤维蛋白乳化特性及结构的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2019, 45(18): 107-112.
- [38] 冯美琴, 刘雯燕, 孙健, 等. 不同NaCl浓度条件下亚麻籽胶对肌原纤维蛋白凝胶作用力及乳化特性的影响[J]. *食品科学*, 2018, 39(22): 26-31.
Feng M Q, Liu W Y, Sun J, *et al.* Effect of flaxseed gum on the gelling forces and emulsifying properties of myofibrillar protein at different NaCl concentrations[J]. *Food Science*, 2018, 39(22): 26-31 (in Chinese).
- [39] Zou Y, Xu P P, Wu H H, *et al.* Effects of different ultrasound power on physicochemical property and functional performance of chicken actomyosin[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 113: 640-647.
- [40] Kurt Ş. Effects of pH and chitosan on beef emulsion properties[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2010, 45(1): 140-146.

Effect of pH on the structural properties and emulsification of myofibrillar proteins of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)

REN Zhongyang^{1,2,3}, CUI Yaqing¹, CHEN Yufeng^{3,4*}, SHI Linfan^{1,2}, HAO Gengxin^{1,2},
YANG Shen^{1,2}, QIU Xujian^{1,2}, LIU Shuji⁵, WENG Wuyin^{1,2*}

(1. College of Ocean Food and Biological Engineering, JiMei University, Xiamen 361021, China;

2. Xiamen Key Laboratory of Marine Functional Food, JiMei University, Xiamen 361021, China;

3. Key Laboratory of Marine Fishery Resources Exploiment & Utilization of Zhejiang Province,
Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China;

4. College of Food Science and Technology, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China;

5. Fisheries Research Institute of Fujian, Xiamen 361000, China)

Abstract: Properties of myofibrillar proteins (MPs) in *Larimichthys crocea* remain to be further studied to meet the high-value development and utilization of MPs. The purpose of this study is to investigate the effect of different pH on the structural and emulsifying properties of myofibrillar protein in *L. crocea*. MP from *L. crocea* was treated with low-salt phosphate buffer at pH 2, 4, 6, 8, 10 and 12, and MP degradation was analyzed by SDS-PAGE. Moreover, the hydrophilicity of MP was investigated by contact angle and fluorescence spectrophotometry. Emulsions were prepared with MP solution at different pH and soybean oil at ratio of 1 : 1 (V/V) by high-speed homogenization. The stability of emulsions was determined by analyzing the droplet potential, particle size and the emulsion index of emulsions. At pH 4, the band color of MP in SDS-PAGE was light. At pH 6-12, the myosin heavy chain band largely disappeared; however, the actin band gradually deepened in color and macromolecular aggregates appeared at the top of band. The comprehensive analysis of contact angle and fluorescence spectrum showed that the hydrophobicity of MP increased with pH. Meanwhile, the MP emulsions were negatively charged with the Zeta potential absolute value of (49.63±1.52) mV and small emulsion droplets at pH 8, exhibiting better stability than MP emulsions at other pH values. However, the MP emulsions showed poor emulsion stability and even demulsification occurred at pH 12. The change of MP structure was beneficial to improve the stability of MP emulsions at pH 8. These results can provide a theoretical basis for the development and application of MP from *L. crocea* in the food industry.

Key words: *Larimichthys crocea*; myofibrillar protein; pH; hydrophobicity; emulsification

Corresponding authors: CHEN Yufeng. E-mail: yfchen1989@zjut.edu.cn;

WENG Wuyin. E-mail: wwymail@jmu.edu.cn

Funding projects: Natural Science Foundation of Fujian Province (2021J01835); Fujian Seed Industry Innovation and Industrialization Project (2021FJSCZY01); National Key Research and Development Program of China (2021YFD210020204); Opening Project of Fujian Provincial Engineering Technology Research Center of Marine Functional Food (Z821311); Young and Middle-aged Teachers Education Research Project of Fujian Education Department (B20278); Scientific Research Foundation of JiMei University in China (ZQ2020011); Key Laboratory of Marine Fishery Resources Exploiment & Utilization of Zhejiang Province (SL2021005)