白酒对浙东白鹅肌原纤维蛋白结构的影响

雒宏琳[1]，潘道东[1,2]，孙杨赢[1]，曹锦轩[1]，吴振[1]，曾小群[1]
（1.宁波大学浙江省动物蛋白食品加工技术重点实验室，浙江宁波 315211）
（2.南京师范大学食品科学与营养系，江苏南京 210097）

摘要：以浙东大白鹅为原料，拉曼光谱技术为主要分析手段，研究白酒体积分数对浙东白鹅胸脯肉肌原纤维蛋白结构的影响。结果显示，随着白酒体积分数的增大，肌原纤维蛋白溶解度增大（p<0.05），表面疏水性降低（p<0.05）。在白酒体积分数较低时形成的凝胶特性较好，其微观结构很均匀，随着白酒体积分数的进一步增大，凝胶网络孔径变大，蛋白凝胶保水性显著降低(p<0.05)。随着白酒体积分数的增大，二硫键的三种构象之间发生了转变；对照组中酰胺Ⅰ带的主峰出现在 1655 cm^{-1}，α-螺旋的含量为 40.45%；而当体积分数为 2%时，1668 cm^{-1} 成为主峰（无规卷曲），α-螺旋和 β-折叠含量显著下降（p<0.05），无规卷曲显著上升为 31.58%（p<0.05）。结果表明白酒能够影响肌原纤维蛋白的结构和凝胶特性。

关键词：浙东白鹅；白酒；肌原纤维蛋白；蛋白结构；拉曼光谱
文章篇号：1673-9078(2016)9-69-76 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.9.011

Effect of Distilled Spirit on the Structural Changes of Myofibrillar Protein from Zhedong Goose Meat

LUO Hong-lin[1], PAN Dao-dong[1,2], SUN Yang-ying[1], CAO Jin-xuan[1], WU Zhen[1], ZENG Xiao-qun[1]
(1.Key Laboratory of Animal Protein Food Processing Technology of Zhejiang Province, Ningbo University, Ningbo 315211, China) (2. Food Science & Nutrition Department of Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

Abstract: Raman spectroscopy was applied to study the structural changes caused by the volume fraction of distilled spirit on myofibrillar proteins extracted from Zhedong goose breast meat. The results indicated that increasing the volume fraction of the distilled spirit caused the solubility of myofibrillar protein to increase (p<0.05) and the surface hydrophobicity to decrease (p<0.05). As evidenced by scanning electron microscopy, a good gel property and a uniform microstructure were obtained when the volume fraction of the distilled spirit was low; however, with increasing volume fraction of the distilled spirit, the gel network pore size was increased and the water-holding capacity of proteins was decreased significantly (p<0.05). The increase in the volume fraction of distilled spirit caused conversions among the three conformations of the disulfide bond. For the control group, the main amide I Raman band was found at 1655 cm^{-1}, with an α-helix of 40.45%. At a 2% volume fraction, the main band was found at 1668 cm^{-1} (random coil), the relative contents of the α-helix and β-sheet decreased significantly (p<0.05), and the random coil content increased significantly (34.40%) (p<0.05). This indicates that distilled spirit can affect the structure and gel properties of myofibrillar protein.

Key words: Zhedong goose meat; distilled spirit; myofibrillar protein; protein structure; Raman spectroscopy

糟醉肉制品是我国东南沿海传统的特色风味食品，通常采用酒糟或者白酒进行腌制而得。郑小乐[1]等人选用酒糟来发酵鹅肉，研制的糟鹅具有独特的风味。糟醉制品甜咸和谐、醇香浓郁、回味悠长，其风味一部分是由微生物发酵而产生[2]，另一部分是白酒赋予了糟醉制品独特的醇香味[3]。白酒作为烹饪酒在宋代已经作为烹饪辅料被广泛应用于肉的烹制当中，可以起到去腥除膻，调味增香的作用[4]。白酒用于肉制品能增香主要是以下几个方面，首先白酒发酵过程中产生的氨基酸，还有是因为醇类物质可与肉中的脂肪酸发生酯化反应，另外醇类物质是一种有机溶剂，可以溶解肉中有一些有特殊气味的有机物质。鹅肉是一种高蛋白、低脂肪和胆固醇的肉类，其蛋白质的含量高达 22.3%，高于其它禽畜肉[5]。肌原纤维蛋白约占肌肉总蛋白的 55~65%，在肉品加工过程中起着关键作用[6]。蛋白质的功能特性如凝胶度、凝胶持水性、热稳定性等，与蛋白质的空间结构及蛋白构象密切相

收稿日期：2015-10-28
基金项目：国家农业科技成果转化资金(2014GB2C220153)；宁波市科技局创新基金(2013C910017)；国家水禽产业体系基金（CARS-43-17）
作者简介：雒宏琳(1989-)，女，在读硕士，研究方向：畜产品加工
通讯作者：潘道东（1964-），男，教授，研究方向：畜产品加工

关[7]。研究发现蛋白质的构象发生变化会显著影响其风味，任何改变蛋白质构象的因素，如蛋白质种类、介质条件都会影响蛋白质风味成分的作用，进而影响风味品质[8]。白酒中的主要成分为水和乙醇，还有少量氨基酸以及微量有机物。乙醇属于有机物，在蛋白质变性方面有影响。目前国内外对糟醉制品的研究多限于工艺研究和宏观品质方面，鲜有对蛋白质结构方面的系统研究。鉴于此，本文旨在阐述不同白酒浓度对浙东白鹅肌原纤维蛋白溶解度、表面疏水性、凝胶特性、凝胶微观结构以及凝胶二级结构的差异，为糟醉肉制品的生产提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

浙东白鹅，浙江象山大白鹅（日龄 360 d、体重为 5±0.5 kg，放血去毛取鹅胸脯肉，于-80 ℃冰箱存放，半个月内用完。）白酒为食用级，配料为水、高粱，酒精度为 56%（体积分数），主要成分是乙醇、水及其他香味物质。其它化学分析试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

TA-XT2i 质构分析仪，StableMicro System 公司；inVia-Reflex 拉曼光谱仪，法国 Renishaw 公司；Allerga 高速冷冻离心机，贝克曼库尔特有限公司；M 200 全波长酶标仪，美国 Tecan 公司；XHF-D 高速分散器，宁波新芝生物科技股份有限公司；S3400 N 扫描电镜，日本日立公司；FD-1D-80 真空冷冻干燥机，北京博医康实验仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 肌原纤维蛋白的提取

将-80 ℃保存的鹅胸肉先在-40 ℃冰箱中过夜解冻，之后在 4 ℃冰箱中彻底解冻。肌原纤维蛋白的提取参照 Sun 等的方法[9]，做适当的修改。提取的肌原纤维蛋白(Myofibrillar protein，MP)在 4 ℃保存，48 h 内用完。将 MP 配制为适当蛋白浓度的溶液，分别添加不同体积的白酒，并用玻璃棒在冰浴上搅拌均匀,进行各指标测定。

1.3.2 蛋白溶解度的测定

参考 Kingsley[10]等的方法并作适当的修改,取一定量的 MP 沉淀,加入一定体积的 PBS(0.6 M NaCl，pH 6.5)在冰浴上使其分散，尽量避免产生气泡。用上述缓冲液调整蛋白浓度为 2.5 mg/mL，在 4 ℃下放置 1 h，5000 r/min 的条件下离心 15 min（4 ℃），取上清液，用双缩脲法测定 MP 的浓度，溶解度表示为离心前后蛋白浓度的百分比。

溶解度（%）=离心后上清液蛋白浓度/离心前蛋白浓度×100

1.3.3 表面疏水性的测定

参考 Chelh 等的方法[11]，用 15 mM PIPES（0.6 M NaCl，pH 7.0）缓冲液将 MP 浓度稀释为 10 mg/mL。取 1 mL 蛋白悬浮液加入 200 μL 1 mg/mL 的溴酚蓝溶液，涡旋混匀，冷冻离心(2000 g，15 min)。取上清稀释十倍，在 595 nm 波长下测定样品溶液吸光度，以不含 MP 的缓冲液为空白组。

1.3.4 蛋白凝胶的制备（Myofibrillar protein gels，MP gels）

用 30 mM PIPES 的缓冲溶液（0.6 M NaCl，pH 7.0）调整 MP 浓度至 50 mg/mL，加入到 25 mm×50 mm 称量瓶中，水浴加热，从 20 ℃线性升温（0.5 ℃/min）到 70 ℃，保温 20 min，随后取出放入冰浴中冷却 30 min，置于 4 ℃冰箱过夜，备用。

1.3.5 凝胶保水性

称取约 2 g MP gels 放入离心管，在 8000 g/min 4℃的条件下离心 15 min，对离心前后蛋白凝胶和试管进行称量,每个样品重复三次。

1.3.6 凝胶质构分析

参照 Dondero 的方法[12]，略有改动，测试之前将凝胶置于室温下 30 min。采用 TA-XT2i 质构分析仪测定 MP gels 的质构特性。质构分析参数设置为：TPA 模式，测试探头(P/5)，测前速度 l.0 mm/s，测试速度 l.0 mm/s，刺穿距离 5 mm，感应力 5 g，停留时间 5 s。利用仪器自带软件得到 MP gels 的相关质构参数：粘性、硬度、弹性、咀嚼性。每个指标重复测定 5 次，取平均值。

1.3.7 凝胶微观结构

扫描电子显微镜观察凝胶结构的变化，样品的制备参考 Han 的方法[13]，将制备好的 MP gels 切成 0.3×0.3×0.2 cm 的小块，用 2.5%的戊二醛(0.1 M PBS，pH 7.2)固定 2 d，用磷酸盐缓冲溶液(pH 7.2)清洗 3 次，每次 20 min，接着用各梯度浓度的乙醇进行逐级脱水（30、50、70、80、90 和 95%各一次，100%三次，每次 15min）；最后用叔丁醇置换 3 次，每次 20 min；置换后的样品冷冻干燥，喷金，扫描。S3400 N 扫描电镜在 15.0 kV 电压下放大 2000 倍观察凝胶微观结构。

1.3.8 拉曼光谱分析

拉曼光谱的测定参照 Chen 的方法[14]，将 MP gels 样品放置在载玻片上，用 20 倍聚焦镜头聚焦，

inVia-Reflex 拉曼光谱扫描范围在 400~4000 cm^{-1}。用 Labspec 软件分析图谱，并以苯丙氨酸的单基取代苯基环在 1003±0.5 cm^{-1} 伸缩振动强度作为内标进行归一化[15]。用 peakfit 4.12 软件对拉曼光谱进去傅立叶去卷积处理，参考 Susi[16]的方法计算蛋白的二级结构含量。

1.3.9 数据统计分析

每个试验重复 3~5 次。数据统计分析采用 SAS 8.0 分析软件，并用 Duncan multiple-range test 进行分析比较，当 $p<0.05$ 时为差异显著。

2 结果与讨论

2.1 白酒对肌原纤维蛋白溶解度的影响

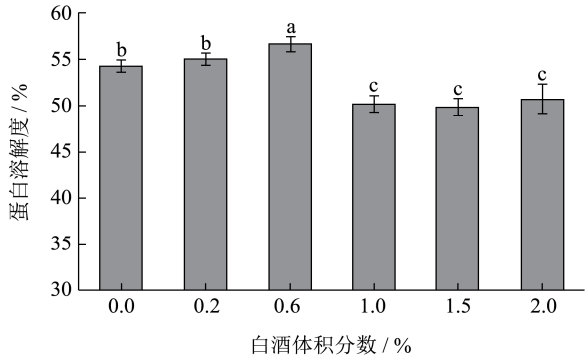


图 1 白酒对肌原纤维蛋白溶解度的影响

Fig.1 Effect of the distilled spirit on myofibrillar protein solubility

注：图中不同字母表示在 $p=0.05$ 水平上差异显著，下同。

白酒对 MP 溶解度的影响见图 1。由图 1 可知，MP 的溶解度呈先增大后减小的趋势。对照组 MP 的溶解度为 54.53%，当白酒体积分数达到 0.6%时，其溶解度增加到 56.67%（$p<0.05$），当白酒体积分数为 1.5%，溶解度下降为 49.05%（$p<0.05$）。溶剂类型对蛋白质的溶解度有一定的影响。MP 是一种盐溶蛋白，白酒中的主要成分是乙醇和水，这两种物质都是强极性分子，在液态状态下可以通过氢键作用以不同的缔合结构存在。MP 中加入低浓度白酒后，由于氢键的作用，使其溶解度增大，但随着白酒体积分数的进一步增大，水的介电常数降低了，使得蛋白质之间的静电斥力降低，溶解度呈下降的趋势。马林[17]等人在研究牛血清蛋白中发现，在低浓度的醇溶液中能增强蛋白质的稳定性，溶解度增加。

2.2 白酒对肌原纤维蛋白表面疏水性的影响

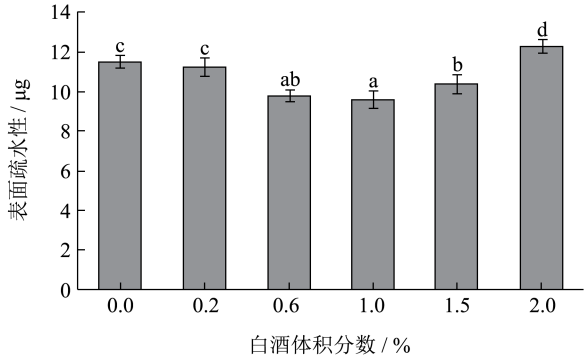


图 2 白酒对肌原纤维蛋白表面疏水性的影响

Fig.2 Effect of the distilled spirit on myofibrillar protein hydrophobicity

蛋白质表面疏水性是与外界极性水环境相连的蛋白质表面疏水性基团数量的一个重要标志，而且对蛋白构象、结构的稳定性以及蛋白的功能特性具有重要的作用，它是维持蛋白质三级构象结构的主要作用力[18]。白酒对 MP 表面疏水性的变化见图 2。从图 2 中可以看出, 随着白酒体积分数的增加，MP 的表面疏水性呈先下降后上升的趋势。当白酒体积分数从 0 增到 0.6%时，表面疏水性下降为 9.80 μg（$p<0.05$）。随着白酒体积分数的增加，表面疏水性上升到 12.24 μg（$p<0.05$）。这可能是由于蛋白质内部的疏水性基团逐渐暴露，使得表面疏水性增大。另一方面可能是由于蛋白质溶解度与表面疏水性负相关。

2.3 白酒对肌原纤维蛋白凝胶特性的影响

表 1 白酒对蛋白凝胶持水性和质构特性的影响

Table 1 Effect of the distilled spirit on WHC and textural properties of MP gels

白酒浓度%	硬度/g	弹性	黏性	咀嚼性/g	WHC/%
0	185.49±6.13^{b}	0.56±0.03^{a}	0.34±0.03^{b}	56.69±4.81^{b}	75.6±2.31^{ab}
0.2	188±5.01^{b}	0.62±0.05^{a}	0.35±0.04^{b}	76.58±6.29^{a}	76.58±1.75^{a}
0.6	203.38±8.44^{a}	0.63±0.07^{a}	0.39±0.04^{a}	76.53±4.42^{a}	78.66±1.41^{a}
1	184±10.02^{b}	0.55±0.11^{ab}	0.31±0.04^{bc}	43.09±3.77^{b}	73.46±1.97^{b}
1.5	184.66±7.56^{b}	0.54±0.02^{ab}	0.28±0.03^{c}	42.14±3.98^{c}	68.47±1.36^{c}
2	147.06±7.18^{c}	0.47±0.02^{b}	0.27±0.01^{c}	35.03±3.52^{d}	64.23±1.29^{d}

注：同列中标注相同字母表示差异不显著($p>0.05$)。

白酒对 MP gels 质构特性及保水性的影响见表 1。由表 1 可知，随着白酒体积分数的增加，凝胶的质构特性指标(硬度、弹性、黏性及咀嚼性)呈先增后减的趋势。这与王婵秋[19]等人的研究结果相一致。白酒中乙醇成分提供的氢键作用使得凝胶特性增强，随着其浓度的增大，MP 发生变性，参与成胶的蛋白量减少，从而使凝胶强度降低[20]。与凝胶质构特性结果相似，MP 凝胶的保水性也随白酒体积分数的增加呈先增加后降低的趋势(表 1)。与对照组相比，当白酒浓度增加到 0.6%时，MP 凝胶保水性为 78.66% (p>0.05)，而当白酒体积分数继续增大，凝胶保水性开始降低(p<0.05)。蛋白凝胶中的水分主要是通过蛋白水合作用和毛细管作用束缚在凝胶网络中的。王婵秋[19]等人的研究结果表明，在大豆分离蛋白中适当添加乙醇可以有效改善大豆蛋白凝胶的强度。

2.4 白酒对肌原纤维蛋白凝胶微观结构的影响

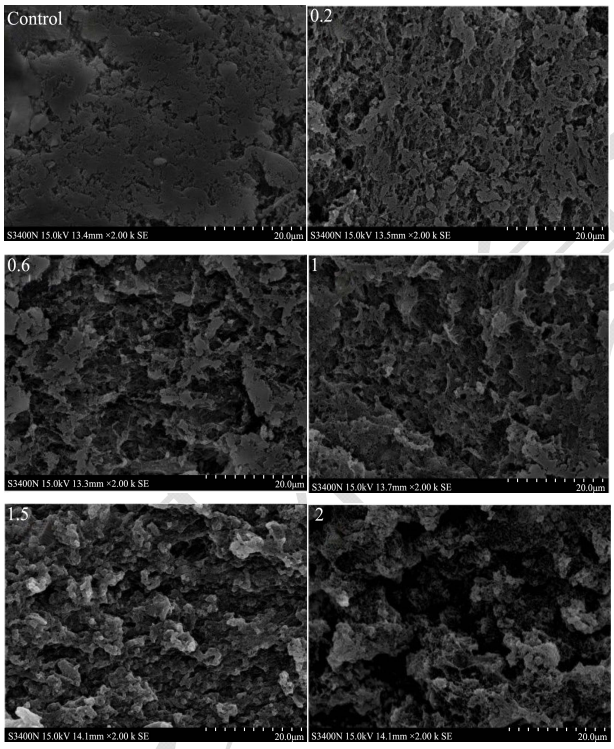


图 3 肌原纤维蛋白凝胶结构扫描电镜图（放大倍数 2000×）

Fig.3 Scanning electron microscopy images of myofibrillar protein gels (magnification 2000×)

MP gels 微观结构如图 3 所示。对照组蛋白形成的凝胶网状结构致密、空隙较小、且分布均匀；而试验组 MP 形成的凝胶结构粗糙，空隙较大，且分布不均匀的凝胶网络；白酒对 MP gels 的微观结构有很大的影响。与空白组 MP gels 相比，1%的白酒对凝胶微观结构破坏程度较轻微；当其体积分数增加至 1.5%时，凝胶网络出现明显的坍塌, 表面开始变得粗糙；当浓度进一步增大时，凝胶网络结构遭破坏程度加剧，2%组凝胶微观结构的网孔更多且孔径更大，大面积的孔壁发生断裂，网络结构破坏严重，且更不均匀。研究表明，蛋白凝胶特性的好坏取决于蛋白质分子伸展及交联的相对速率，当蛋白质伸展速率高于交联速率时，蛋白质分子得以充分伸展，从而彼此相互作用形成有序的凝胶结构；反之则形成粗糙的凝胶网络[21]。这可能是由于随着白酒浓度的增大，导致热诱导凝胶形成过程中蛋白过度交联，阻止活性功能基团的有序结合，最终阻碍有序凝胶网络的形成[22]。空隙的加大也会显著影响凝胶的保水性及质构特性(表 1)。

2.5 白酒对肌原纤维蛋白凝胶结构的影响

通过分析蛋白质拉曼光谱谱图的特征峰的峰位、峰强以及峰面积，可以衡量蛋白质二、三级结构以及水分区域的构象的变化。图 4a（400~200 cm^{-1}）和 4b（2600~3600 cm^{-1}）是经不同体积分数白酒处理形成 MP gels 的拉曼光谱图。

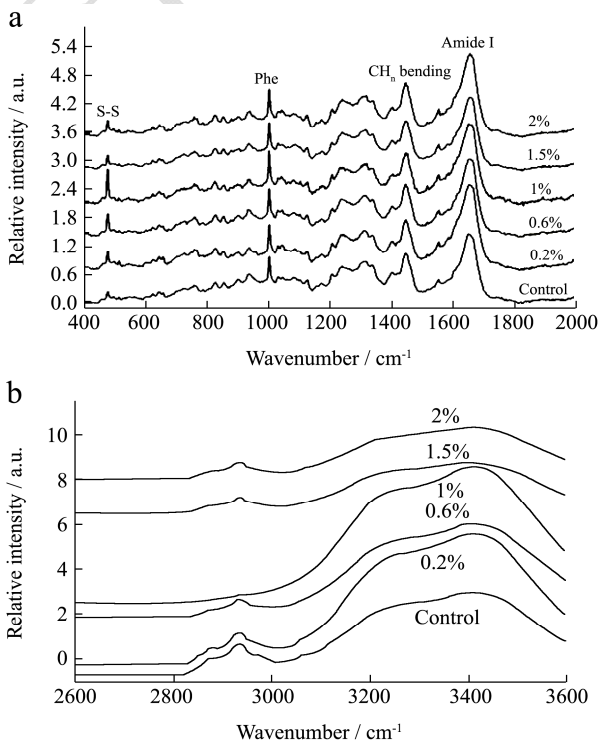
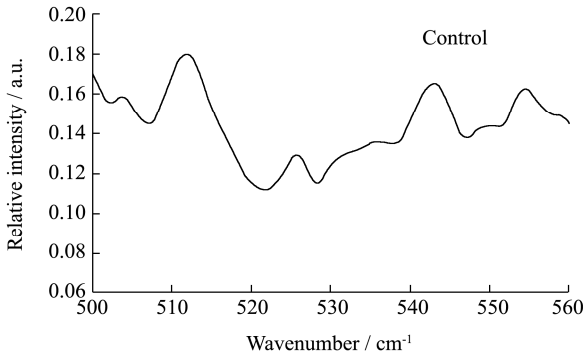


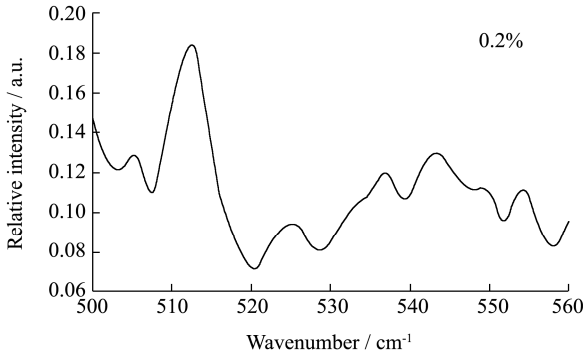
图 4 不同白酒体积分数下的肌原纤维蛋白凝胶拉曼光谱

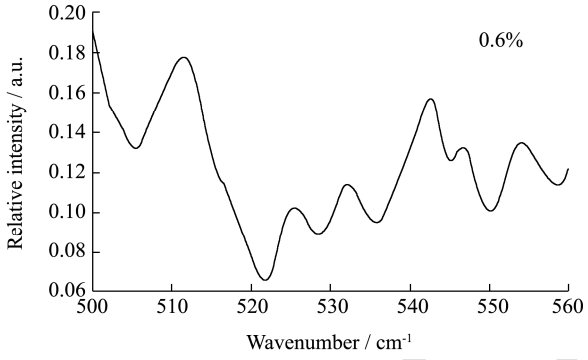
Fig.4 Raman spectra of MP gels at different volume fractions of distilled spirit

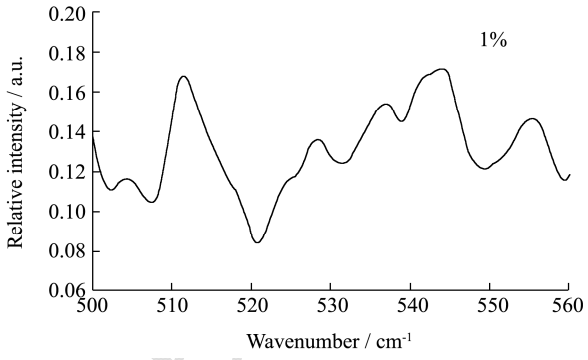
注：a, 400~2000 cm^{-1}；b，2600~3600 cm^{-1}。

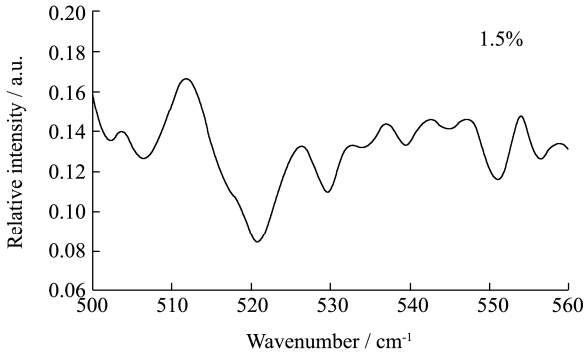
2.5.1 二硫键变化











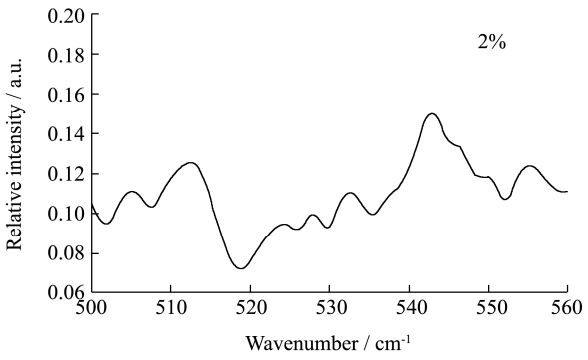


图 5 不同白酒体积分数下的肌原纤维蛋白凝胶拉曼光谱（500～560 cm^{-1}）

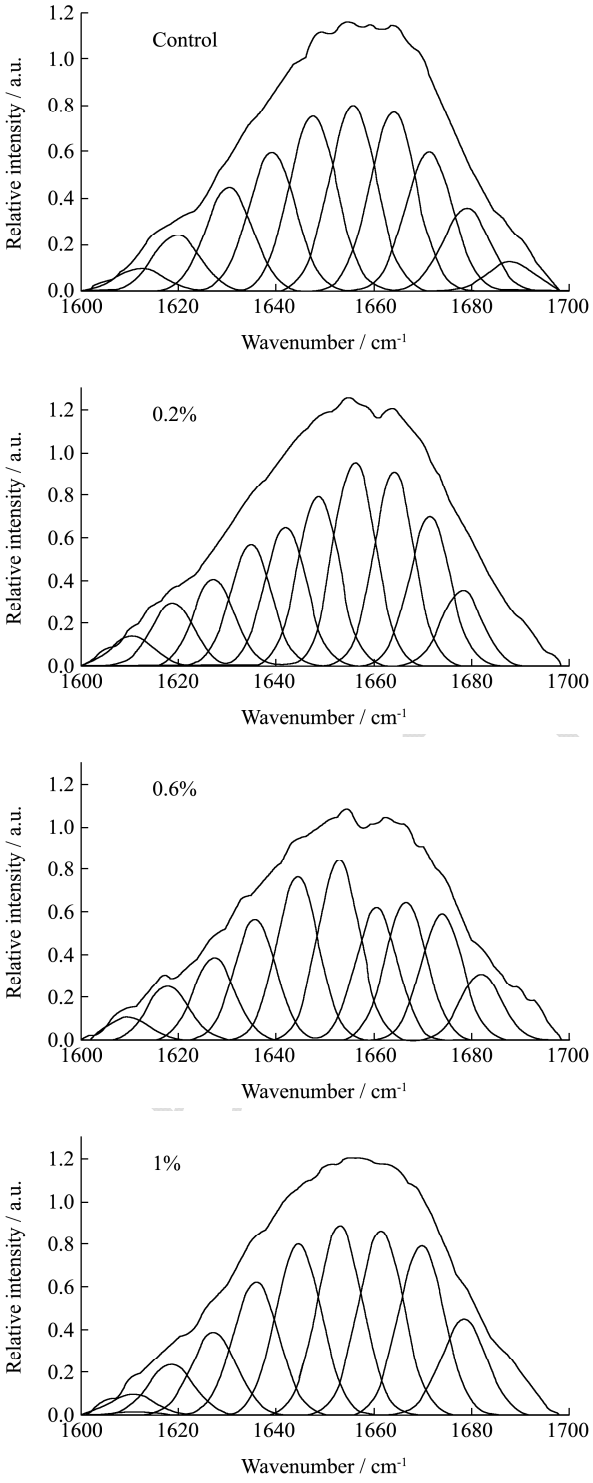
Fig.5 Raman spectra of MP gels at different volume fractions of distilled spirit (500~560 cm^{-1})

在拉曼光谱中，蛋白质 S-S 伸缩振动的位置出现在 500~550 cm^{-1}，二硫键在此范围内有三种构象，在 510 cm^{-1} 附近是扭式-扭式-扭式(gauche-gauche-gauche)构象，在 525 cm^{-1} 附近是扭式-扭式-反式(gauche-gauche-trans)构象，在 540 cm^{-1} 附近是反式-扭式-反式(trans-gauche-trans)构象[23]。图 5 是不同体积分数的白酒处理后的 MP gels 在 500~560 cm^{-1} 的拉曼光谱图。从图中可以看出，对照组中二硫键的三种构象都存在，其中全扭曲构象峰强度最强。当白酒体积分数范围在 0~0.6%时，510 cm^{-1} 附近的扭式-扭式-扭式构象的强度变化不明显，而其他两种构象强度有所降低。当其体积分数继续增大时，扭式-扭式-扭式的强度开始降低，而扭式-扭式-反式和反式-扭式-反式的强度有所上升，说明二硫键的三种构象发生了转变。而当白酒体积分数达到 2%时，二硫键的三个构象都遭到了破坏。

2.5.2 二级结构的变化

如图 4a 所示，MP gels 的拉曼光谱在 1655 cm^{-1} 附近有一个特征峰，即为酰胺Ⅰ带，其主要由 C=O 平面伸缩振动以及轻微的 N-H 的平面弯曲振动引起[24]。本实验参考 Susi[16]的方法，利用 Peakfit 软件对酰胺 I 条带进行傅里叶去卷积并结合曲线拟合来定量分析 MP gels 二级结构含量的变化。如图 6 所示，MP gels 的酰胺Ⅰ带被分成 10~12 个小峰，每个峰代表不同的二级结构（α-螺旋、β-折叠、β-转角和无规卷曲），二级结构的相对含量见图 7。从图 6 可知，对照组中酰胺Ⅰ带的主峰出现在 1655 cm^{-1}，当白酒体积分数小于 1%时，主峰位置变化不大，而当其达到 1.5%时，1655 cm^{-1} 和 1668 cm^{-1} 成为主峰，而当其为 2%时，1668 cm^{-1} 成为主峰（无规卷曲）。由图 7 可知，对照组中 α-螺旋含量高达 40.45%，β-折叠、β-转角以及无规则卷曲含量分别为 35.91%、6.38%和 17.25%，当白酒体积分数为 0.6%时，α-螺旋、β-折叠含量下降（p<0.05），β-

转角含量上升（p<0.05），无规卷曲含量上升（p>0.05）；在 1%时，无规卷曲含量显著升高（p<0.05)；在 2%时，α-螺旋含量为 34.40%，β-折叠含量为 19.76%，β-转角含量上升为 14.97%，无规则卷曲含量高达 31.58%（p<0.05)。研究表明醇可以提供自己的羟基或羰基上的氢或氧去形成氢键，从而破坏了蛋白质中原有的氢键，使蛋白质变性。蛋白质变性后的最大特点就是，构象从有规律的 α-螺旋、β-折叠变成无规卷曲构象[25~26]，与本实验结果相类似。



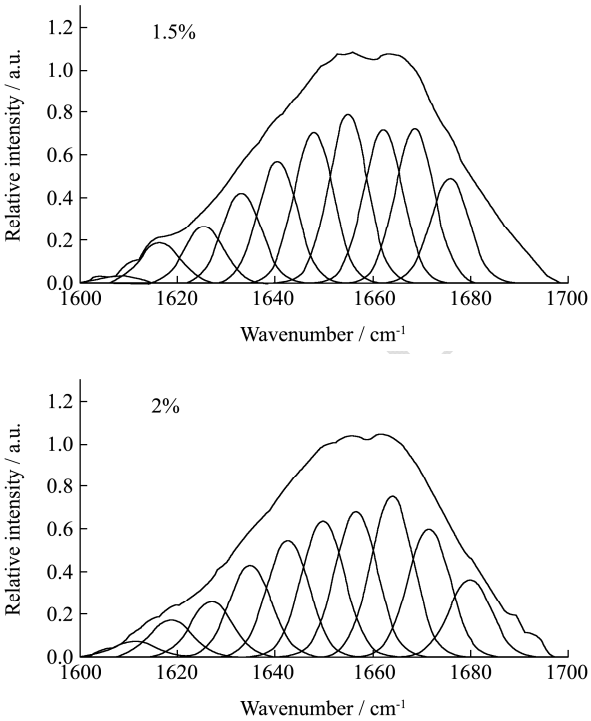


图 6 不同白酒体积分数下肌原纤维蛋白凝胶酰胺 I 去卷积变化图

Fig.6 Deconvolved and curve-fitted Raman bands of amide I of the myofibrillar protein gel

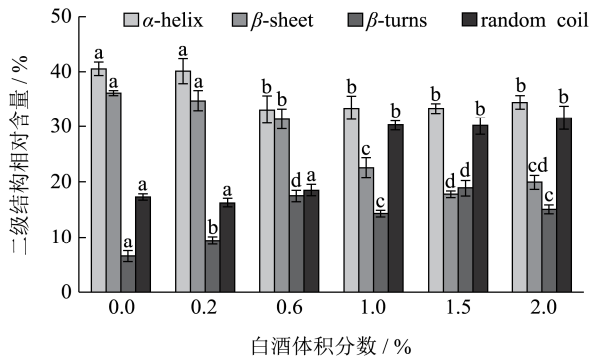


图 7 白酒对肌原纤维蛋白凝胶二级结构相对含量

Fig.7 Secondary structure fractions estimated from the amide band as a function of the volume fraction of distilled spirit

2.5.3 蛋白三级结构的变化

760 cm^{-1} 的拉曼光谱谱带可用于色氨酸（Trp）微环境变化的表征。由表 2 可知，MP gels 760 cm^{-1} 谱带的强度随着白酒体积分数的增加呈先增后减的趋势。这可能是 Trp 残基从包埋的疏水环境随着变成极性环境，从而导致 760 cm^{-1} 谱带强度下降。

酪氨酸（Tyr）残基侧链的双带 850 cm^{-1} 和 830 cm^{-1}，其强度的比值可以表征酪氨酸微环境和酚羟基所形成的氢键的变化[27]。当其比值大于 1 时表明蛋白的酪氨酸残基暴露；当比值在 0.7 与 1.0 之间表明 Tyr 掩埋在蛋白质分子内部。由表 2 可知，对照组中 I_{850}/I_{830}

为 1.02，表明酪氨酸暴露在蛋白质表面，经过不同的白酒体积分数处理后，其值在 0.88 到 0.99 之间，表明酪氨酸被掩埋在分子内部。这可能是 MP 由于疏水性作用导致酪氨酸被掩埋在分子内部。王平[28]等人运用拉曼光谱技术发现，随着乙醇浓度的增加，血红蛋白 I_{850}/I_{830} 的值不断降低，说明乙醇能够改变血红蛋白的分子构象。刘玉芳[29]研究表明 Alcalase 的荧光光谱在乙醇溶液中发生了不同程度的红移，荧光强度均减小，说明在极性的乙醇溶液中 Trp 残基趋向蛋白质分子表面，而 Tyr 残基被掩蔽到分子内部。事实上，醇作用于生物分子的机理仍不清楚，主要有两种观点：(1)认为醇直接或间接键合到大分子基团上作为配体；(2)认为改变了溶剂水的特性[30]。

1450 和 2935 cm^{-1} 的拉曼光谱谱带可分别用来表征 CH_3CH_2, CH 的弯曲振动和脂肪族 CH 的伸缩振动，脂肪族残基疏水作用会导致光谱强度下降[31]。由表 2 可知，MP 1450 cm^{-1} 谱带的强度随着白酒体积分数的增加无明显变化，2935 cm^{-1} 谱带的强度从 0.2%到 1%下降（p<0.05）。

表 2 白酒浓度对鹅肉肌原纤维蛋白凝胶拉曼光谱归一化强度变化

Table 2 Normalized intensity of some Raman spectral bands of myofibrillar protein gels as a function of the volume fraction of distilled spirit

	I_{760}	$I_{850/830}$	I_{1450}	I_{2935}	I_{3410}
0	0.35±0.02^{a}	1.02±0.08^{a}	1.06±0.09^{a}	2.35±0.34^{ab}	5.01±0.71^{a}
0.2	0.43±0.03^{ab}	0.92±0.06^{bc}	1.03±0.03^{a}	2.93±0.12^{a}	7.68±0.31^{b}
0.6	0.46±0.06^{b}	0.90±0.05^{abc}	0.99±0.04^{a}	2.37±0.52^{ab}	8.03±0.75^{b}
1	0.45±0.1^{b}	0.99±0.02^{abc}	1.04±0.07^{a}	1.85±0.35^{b}	9.11±0.74^{b}
1.5	0.39±0.04^{ab}	0.97±0.03^{abc}	1.01±0.02^{a}	1.8±0.02^{b}	3.57±0.33^{a}
2	0.38±0.01^{ab}	0.88±0.04^{c}	1.04±0.03^{a}	1.93±0.59^{b}	4.12±0.73^{a}

注：同列中标注相同字母表示差异不显著(p>0.05)。

2.5.4 水分结构变化

从蛋白质拉曼光谱中不仅可以得到蛋白质二、三级结构的相关信息，而且还可以得到水分结构相关的信息。在拉曼光谱中分子的 O-H 伸缩振动条带主要出现在 3100~3500 cm^{-1}（图 4b），O-H 伸缩振动与水分子内振动的氢原子有关[32]。由表 2 可知，从 0 到 1%，3410 cm^{-1} 谱带强度从 5.01 增加到 9.11（p<0.05），1.5%~2%时又下降（p<0.05）。这可能是因为水分子内的氢键被削弱了，导致其相对强度下降。

3 结论

研究发现适当体积分数的白酒可以提高 MP 的溶解度，降低表面疏水性，改善凝胶特性和凝胶保水性。随着白酒体积分数的增加，MP 凝胶拉曼光谱条带发生了变化，白酒对二硫键构象的改变有一定的作用。通过分析酰胺 I 带蛋白凝胶二级结构，发现主峰发生了偏移，二级结构相对含量发生了显著变化，无规卷曲的相对含量显著上升。研究结果可作为传统糟醉制品开发的依据。白酒对 MP 蛋白结构与功能特性之间的关系还有待进一步研究。

参考文献

[1] 郑小乐,陈力巨,曾王敏.软包装即食糟鹅块的研制[J].肉类工业,2005,11:22-23
ZHENG Xiao-le, CHEN Li-ju, ZENG Wang-min. The development of the flexible packaging instant goose block [J]. Meat Industry, 2005, 11: 22-23

[2] 谭汝成,曾令彬,熊善柏,等.调配和杀菌条件对酒糟鱼品质的影响[J].食品开发与机械,2008,5:85-88
TAN Ru-cheng, ZENG Ling-bin, XIONG Shan-bo, et al. Effect of seasoning and sterilization conditions on quality of drunk fish [J]. Food Science and Technology, 2008, 5: 85-88

[3] 徐大伦,薛长湖,杨文鸽,等.响应面分析法优化糟醉带鱼的糟醉工艺[J].食品工业科技,2013,34(4):310-313
XU Da-lun, XUE Chang-hu, YANG Wen-ge, et al. Optimization of vinasse conditions for hairtail by response surface mmethodology [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(4): 310-313

[4] 杨莹.宋代烹饪技术研究[D].郑州:河南大学,2012
YANG Ying. The cooking skills of song dynasty [D]. Zhengzhou: Henan University, 2012

[5] 郑晓.浙东白鹅肉品特性的分析及鹅肉肠的开发研究[D].宁波:宁波大学,2013
ZHENG Xiao. The study on meat characteristics of zhedong goose and research of goose sausage [D]. Ningbo: Ningbo University, 2013

[6] Xiong Y L. Role of myofibrillar proteins in water-binding in brine-enhanced meats [J]. Food Research International, 2005,

38(3): 281-287

[7] Aurelia Ionescu, Iuliana Aprodu, Aura Daraba, et al. The effects of transglutaminase on the functional properties of the myofibrillar protein concentrate obtained from beef heart [J]. Meat Science, 2008, 79(2): 278-284

[8] Gianelli M P, Flores M, Toldr F. Interactions of soluble peptides and proteins from skeletal muscle on the release of volatile compounds [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(23) :6828-6834

[9] Sun W, Zhao Q, Zhao M, et al. Structural evaluation of myofibrillar proteins during processing of Cantonese sausage by Raman spectroscopy [J]. Agricultural and Food Chemistry, 2011,59(20): 11070-11077

[10] Agyare K K, Xiong Y L, Addo K. Influence of salt and pH on the solubility and structural characteristics of transglutaminase-treated wheat gluten hydrolysate [J]. Food Chemistry, 2008, 107(3): 1131-1137

[11] Chelh I, Gatellier P, Santé-Lhoutellier V. Technical note: A simplified procedure for myofibril hydrophobicity determination [J]. Meat Science, 2006, 74(4): 681-683

[12] Dondero M, Figueroa V, Morales X, et al. Transglutaminase effects on gelation capacity of thermally induced beef protein gels [J]. Food Chemistry, 2006, 99(3): 546-554

[13] Han M, Wang P, Xu X, et al. Low-field NMR study of heat-induced gelation of pork myofibrillar proteins and its relationship with microstructural characteristics [J]. Food Research International, 2014, 62: 1175-1182

[14] Chen H, Han M. Raman spectroscopic study of the effects of microbial transglutaminase on heat-induced gelation of pork myofibrillar proteins and its relationship with textural characteristics [J]. Food Research International, 2011, 44(5): 1514-1520

[15] Sun W, Zhao Q, Zhao M, et al. Structural evaluation of myofibrillar proteins during processing of Cantonese sausage by Raman spectroscopy [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(20): 11070-11077

[16] Susi H, Byler D M. Fourier deconvolution of the amide I Raman band of proteins as related to conformation [J]. Applied Spectroscopy, 1988, 42(5): 819-826

[17] 马林,刘东群,杨华,等.正丙醇和异丙醇对水溶液中牛血清白蛋白的构象及其荧光光谱的影响[J].化学通报,2008,1: 56-61
MA Lin, LIU Dong-qun, YANG Hua, et al. Effects of 1-propanol and 2-propanol on the conformation and uorescence spectra of bovine serum albumin in aqueous solutions [J]. Chemistry, 2008, 1: 56-61

[18] Chelh I, Gatellier P, Santé-Lhoutellier V. Technical note: A simplified procedure for myofibril hydrophobicity determination [J]. Meat Science, 2006, 74(4): 681-683

[19] 王婵秋,迟玉杰.乙醇-氯化钙和抗坏血酸对大豆分离蛋白凝胶性质的影响[J].中国粮油学报,2010,25(7):39-42
WANG Chan-qiu, CHI Yu-jie. Influence of different chemical factors on gelatin property of soybean protein isolate [J]. Journal of the Chinese Cereals and oils Association, 2010, 25(7): 39-42

[20] Smyth A B, Smith D M, O'Neill E. Disulfide bonds influences the heat-induced gel properties of chicken breast muscle myosin [J]. Journal of Food Science, 1998, 63(4): 584-588

[21] Tornberg E. Effects of heat on meat proteins-Implications on structure and quality of meat products [J]. Meat Science, 2005, 70: 493-508

[22] Chin K B, Go M Y, Xiong Y L. Konjac flour improved textural and water retention properties of transglutaminase -mediated, heat-induced porcine myofibrillar protein gel: Effect of salt level and transglutaminase incubation [J]. Meat Science, 2009, 81(3): 565-572

[23] Xu X L, Han M Y, Fei Y, et al. Raman spectroscopic study of heat-induced gelation of pork myofibrillar proteins and its relationship with textural characteristic [J]. Meat science, 2011, 87(3): 159-164

[24] 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

[25] Kozlowska H, Elkowicz K, Rutkowski A. Thermal inactivation of trypsin inhibitors of soybean preparations added to meat [J]. Meat Science, 1980, 4(2): 95-102

[26] Etienne M, Duee P H, Pastuszewska B. Nitrogen balance in lactating sows fed on diets containingsoybean oil meal or horsebean (*Vicia faba*) as a protein concentrate [J]. Livestock Production Science, 1975, 2(2): 147-156

[27] Li-Chan E C Y. The applications of Raman spectroscopy in food science [J]. Trends in Food Science and Technology, 1996, 7(11): 361-370

[28] 王平,黄耀熊.激光拉曼光谱法研究乙醇对血红蛋白结构的影响[J].中国医学物理学杂志,2011,28(3):2674-2676
WANG Ping, HUANG Yao-xiong. Effect of ethanol on the structure of hemoglobin by raman spectroscopy [J]. Chinese

Journal of Medical Physics, 2011, 28(3): 2674-2676

[29] 刘玉芳.蛋白酶在乙醇溶液中性质及其应用研究[D].无锡:江南大学,2012
LIU Yu-fang. Study on properties and application of proteases in ethanol solution [D].Wuxi: Jiangnan University, 2012

[30] 卢雁,李向荣.蛋白质变性机理与变性时的热力学参数研究进展[J].化学进展,2005,17(5):905-910
LU Yan, LI Xiang-rong. Progress in study of protein denaturation and thermodynamic parameters of denaturation [J]. Progress in Chemistry, 2005, 17(5): 905-910

[31] Chen H, Han M. Raman spectroscopic study of the effects of microbial transglutaminase on heat-induced gelation of pork myofibrillar proteins and its relationship with textural characteristics [J]. Food Research International, 2011, 44(5): 1514-1520

[32] Herrero A M, Carmona P, Cofrades S, et al. Raman spectroscopic determination of structural changes in meat batters upon soy protein addition and heat treatment [J]. Food Research International, 2008, 41(7): 765-772

现代食品科技