

文章编号:1009-038X(2001)02-0122-06

谷氨酰胺转胺酶对大豆7S蛋白质及肌球蛋白凝胶性质的影响

江波, 周红霞

(无锡轻工大学食品学院, 江苏无锡 214036)

摘要:大豆7S蛋白与肌球蛋白经谷氨酰胺转胺酶(TGase)作用后,产物的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)结果表明,两者均可在分子间生成共价键,形成相对分子质量较大的聚合物。10 g/dL肌球蛋白溶液加入10 U/g的TGase,于35℃、pH 7.0的条件下反应90 min,体系的凝胶强度较对照组有了很大提高。10 g/dL大豆分离蛋白质溶液与0.02 U/mg的TGase在37℃下保温150 min后,体系粘度增加了150 mPa·s,而5 g/dL的肌球蛋白加酶并于10℃下保温180 min后,其粘度值提高了600 mPa·s。

关键词:谷氨酰胺转胺酶;大豆7S蛋白;肌球蛋白;凝胶强度;粘度

中图分类号:Q 629.72

文献标识码:A

Properties of Soybean 7S Globulin and Myosin Polymerized by Transglutaminase

JIANG Bo, ZHOU Hong-xia

(School of Food Science and Technology, Wuxi University of Light Industry, Wuxi 214036, China)

Abstract: Biopolymers were prepared by cross-linking soybean 7S globulin and myosin with transglutaminase (TGase). SDS-PAGE showed that high-molecular-weight components were formed, which indicated that intermolecular covalent bonds were created through ϵ (γ -glutamyl)lysine cross-links. The gel strength was significantly enhanced after 10% myosin solution was incubated with TGase (10 U/g protein) at 35℃, pH 7.0 for 90 min. Soybean protein isolate (10%) solution was incubated with TGase (0.02 U/mg protein) for 150 min and the viscosity of the system increased by 150 mPa·s. Furthermore, the viscosity of 5% myosin with TGase treatment at 10℃ for 180 min increased by 600 mPa·s.

Key words: transglutaminase (TGase); soybean 7S globulin; myosin; gel strength; viscosity

谷氨酰胺转胺酶(Transglutaminase, EC 2.3.2.13),简称TGase,是一种催化蛋白质分子间或分子内形成 ϵ (γ -谷氨酰基)赖氨酸共价键的酶,它可

催化酪蛋白、乳球蛋白、肌球蛋白、大豆蛋白等蛋白质的谷氨酰胺残基上的 γ -酰胺基和赖氨酸残基上 ϵ -氨基相连接,使其形成 ϵ (γ -谷氨酰基)赖氨酸共

收稿日期 2000-08-31 修订日期 2000-12-22.

作者简介:江波(1962-),男,江苏无锡人,工学博士,副教授.

万方数据

价键,从而改变蛋白质的结构和功能性质,赋予食品蛋白质特有的质构和口感^[1]。Matheis 和 Whitaker^[2]的研究表明,蛋白质之间发生交联后可以改善食品质构、溶解性、起泡性、乳化性等功能性质,同时赖氨酸受到保护,防止美拉德反应的发生。Moto-ki 等^[3]研究了 α_{s1} -酪蛋白、 κ -酪蛋白等蛋白质经该酶交联后体系的溶解性、乳化性以及乳化稳定性,结果显示上述蛋白质经交联后,蛋白质的功能性质均有改善。在食品工业中,利用该酶可提高肉制品及蛋白制品的多项功能性质。

1989 年 Ando^[4]等发现放线菌(*Streptoverticillium*)可生产谷氨酰胺转胺酶,且该酶和动物来源的酶相比,其作用 pH、温度、底物专一性具有较广的范围^[4],酶制剂的成本亦较低,因而它在食品工业中的应用日益扩大。目前我国也已开展对微生物产谷氨酰胺转胺酶的研究工作。

目前我国肉类年总产量达 6 200 万 t,其中猪肉产量为 4 300 万 t,分别占世界总产量的 29% 及 49.2%,是世界第一肉类生产国,也是肉类产品消费总量最多的国家。肉制品加工中的剔骨肉及碎肉经 TGase 重组后,可完全被利用,并可恢复或达到与普通肉相同的功能性质。对于普通肉制品, TGase 也可改善其品质,提高产品质量和附加值,从而生产出优质肉制品。因此,在肉制品中应用 TGase 可提高原料肉的利用率及改善肉制品的品质,这将对我国肉制品工业的发展产生极大的促进作用。

作者利用制备的微生物 TGase,将其作用于分离制备得到的大豆 7S 蛋白质和肌球蛋白,研究酶作用条件及凝胶后的多项功能性质,为该酶在火腿肠、香肠、鱼肉制品等肉制品中应用作充分的技术准备。

1 材料与方法

1.1 材料

Tris、苯甲基氧化碳酰-L-谷氨酰胺甘氨酸(CBZ-Gln-Gly)、十二烷基硫酸钠(SDS)及氧肟酸为 Sigma 公司产品;电泳试剂丙烯酰胺(Acr)、N,N'-甲叉双丙烯酰胺(Bis)、四甲基乙二胺(TEMED)为 Merck 公司产品;食品级大豆分离蛋白质为黑龙江三江集团产品;新鲜猪肉由市场购得;TGase 由保存菌种培养、分离制得;其它材料均为食品级、生化级或 AR 以上级试剂。

1.2 产酶菌株及培养条件

1.2.1 产酶菌株 轮枝链霉菌(*Streptoverti-*

cillium)SK 4.002,为无锡轻工大学食品科学研究所保藏菌株。

1.2.2 斜面培养基 高氏一号培养基。

1.2.3 发酵基础培养基 甘油 20 g/L,酵母膏 2 g/L,蛋白胨 50 g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 2 g/L, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 2 g/L, pH 7.0,于 121 °C 下灭菌 20 min。

1.2.4 培养条件 取一环培养 8 d 的斜面孢子,接入装有 25 mL 发酵培养基的 250 mL 的三角瓶中,于 30 °C、210 r/min 条件下培养 4 d。培养液中 TGase 活性为 5.0 U/mL,所得培养液经相对分子质量 10 000 的膜超滤,收集截留液,冷冻干燥后备用。

1.3 谷氨酰胺转胺酶活性的测定方法

参照文献^[5]的方法进行。

1.3.1 试剂的配制

试剂 A:含有 0.2 mol/L Tris-盐酸缓冲液(pH 6.0)、0.1 mol/L 羟胺、0.01 mol/L 还原型谷胱甘肽以及 0.03 mol/L CBZ-Gln-Gly 的混合溶液。

试剂 B:将 3 mol/L 盐酸、12% 三氯乙酸及 5% $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ (溶解于 0.1 mol/L 盐酸中)等体积混合。

在 2 mL 试剂 A 中加入 0.2 mL 酶液,在 37 °C 下反应 10 min,加入 2 mL 试剂 B,终止反应并形成红色铁化合物。离心后取上清液于 525 nm 处测定吸光值,对照组用失活的酶液代替。

1.3.2 标准曲线的制作 分别配制 0.2、4、8、16、32 $\mu\text{mol/mL}$ 的氧肟酸,取各浓度溶液 0.2 mL,分别加入 2 mL 试剂 A 和试剂 B,于 525 nm 处测定吸光值,并对氧肟酸浓度($\mu\text{mol/mL}$)作图。

1.3.3 酶活的定义 在 37 °C、pH 6.0 的条件下反应 1 min 生成 1 μmol 氧肟酸的量定义为 1 个活力单位。

1.4 蛋白质含量的测定

凯氏定氮法、福林酚法^[6]。

1.5 蛋白质的提取

1.5.1 大豆 7S 蛋白质的提取 参照 Thanh 和 Shibasaki^[7]的方法。

1.5.2 肌球蛋白的提取 按照 Dndziak 等^[8]的方法进行。

1.6 谷氨酰胺转胺酶作用于蛋白质的条件

1.6.1 大豆 7S 蛋白质的反应条件 取 1 mL 10 g/L 大豆 7S 蛋白质溶液,加入 0.2 U 谷氨酰胺转胺酶,于 37 °C 水浴中分别保温 30、60、90 min 后立即进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)检测,对照组为失活酶液加入大豆 7S

蛋白质溶液并在同样条件反应。

1.6.2 肌球蛋白质的反应条件 取 1 mL 10 g/L 肌球蛋白溶液,加入 1 U 谷氨酰胺转胺酶,于 10 ℃ 水浴中分别保温 30,60,90 min 后立即进行 SDS-PAGE 检测,以失活酶液作为对照组^[9]。

1.7 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳

采用 Laemmli^[10]报道的 SDS-Tris-甘氨酸不连续缓冲体系。取不同保温时间下样品溶液 0.2 mL 与 1 mL 样品处理液(内含 2% SDS,10% 甘油,5% 巯基乙醇,0.002% 溴酚蓝及 0.01 mol/L Tris-HCl 缓冲液),沸水中加热 5 min 后,等量上样(10 μL)^[9]。电泳在恒流条件(10 mA)下进行。大豆 7S 蛋白聚合物的电泳采用 3% 浓缩胶,10% 分离胶;肌球蛋白聚合物的电泳采用 3% 浓缩胶,5% 分离胶。

1.8 蛋白质凝胶的形成条件及凝胶强度的测定

采用 Lloyd 材料试验机测定样品的凝胶强度,凝胶强度用凝胶的破坏力来表示。室温下穿刺凝胶实验操作如下:15 mL 样品装于 25 mL 烧杯中,样品直径 30 mm,探头直径 13 mm,探头下行速度 120 mm/min,当压缩至样品高度 60% 处探头返回。根据压力-形变图,曲线的第一个峰值即为破坏力(N),破坏力和形变位置的乘积定义为凝胶强度(N×mm),而未形成凝胶的样品,因观察不到峰值,故可将破坏力视为零^[11]。

1.8.1 底物质量浓度对凝胶形成的影响 分别配制 2,4,6,8,10 g/dL 的肌球蛋白溶液,各取 15 mL,按 10 U/g 蛋白质加入 TGase,于 37 ℃ 水浴中反应 1 h,然后于 85 ℃ 水浴灭酶 20 min 后冷却至室温,5 ℃ 下放置 16 h,测其凝胶强度,以失活酶液组为对照^[11]。

1.8.2 反应温度对凝胶形成的影响 取 15 mL 10 g/dL 肌球蛋白溶液,按 10 U/g 蛋白质加入 TGase,分别于 5,20,35,50,65 ℃ 水浴中反应 1 h,然后于 85 ℃ 水浴灭酶 20 min 后冷却至室温,5 ℃ 下放置 16 h,测其凝胶强度,以加入失活的酶液试验组为对照^[11]。

1.8.3 pH 对凝胶形成的影响 用 1 mol/L HCl 或 1 mol/L NaOH 分别调节肌球蛋白溶液的 pH 至 5.0,6.0,7.0,8.0,9.0,10.0。取各 pH 溶液(10 g/dL)15 mL,按 10 U/g 蛋白质加入 TGase,37 ℃ 水浴中反应 1 h,然后于 85 ℃ 水浴灭酶 20 min 后冷却至室温,5 ℃ 下放置 16 h,测其凝胶强度^[11]。

1.8.4 反应时间对凝胶形成的影响 取 15 mL 10 g/dL 肌球蛋白溶液,按 10 U/g 蛋白质加入 TGase,分别于 37 ℃ 水浴中反应 20,40,60,120,150,180

min,然后于 85 ℃ 水浴中灭酶 20 min 后冷却至室温,5 ℃ 下放置 16 h,测其凝胶强度^[11]。

1.9 蛋白质体系粘度性质的测定

蛋白质溶液体系的表观粘度的测定采用 Haake-Viscometers 粘度仪,选用 MV II 转子,转子转速为 128 r/min,在一定温度下测其在剪切速率为 115 r/s 时的表观粘度,每个样品测 3 次,取其平均值。计算公式如下: $D = M \cdot n$, $\eta = G \cdot S / n$

其中 D 为剪切速率(r/s),体系常数 M 为 0.9 (min/s), n 为转速(r/min), η 为粘度(mPa·s),体系常数 G 为 4 171, S 为转速所对应的响应值。

1.9.1 大豆分离蛋白质(SPI)体系粘度的测定条件 配制 10 g/dL 的 SPI 溶液,按 0.02 U/mg 蛋白质加入 TGase,于 37 ℃ 下分别反应 30,60,90,120,150 min,37 ℃ 下测其粘度的变化,对照组加入失活的酶液^[12,13]。

1.9.2 肌球蛋白体系粘度的测定条件 配制 5 g/dL 肌球蛋白溶液,按 0.02 U/mg 蛋白质加入 TGase,10 ℃ 下分别反应 30,60,90,120,150,180,200 min,于 10 ℃ 下测其粘度变化,对照组加入失活的酶液^[12,13]。

2 结果与讨论

2.1 谷氨酰胺转胺酶对蛋白质聚合的影响

2.1.1 大豆 7S 蛋白聚合物的形成 谷氨酰胺转胺酶可以催化蛋白质分子间或分子内的共价交联,但只有分子间的交联才可增加蛋白质相对分子质量。大豆 7S 蛋白经 TGase 作用后,产物的 SDS-PAGE 结果见图 1。随着 TGase 作用时间的延长,单体大豆 7S 蛋白在逐渐减少,形成了相对分子质量较大的聚合物,电泳图谱显示此聚合物无法进入 10 g/dL 的分离胶。即使将分离胶浓度降为 5 g/dL,结果依旧(图谱未列出),这说明聚合物是由于分子间的交联而形成的。由于样品溶解液中含有巯基乙醇及 SDS,表明此大分子聚合物并非由二硫键和氢键结合而成,而是在分子间形成了共价键。

2.1.2 肌球蛋白聚合物的形成 肌球蛋白经 TGase 作用后产物的 SDS-PAGE 图谱表明(见图 2)。随着酶作用时间的延长,单体肌球蛋白逐渐减少,与此同时形成了相对分子质量较大的聚合物,反应 30 min 后形成的聚合物可以部分进入 5 g/dL 的分离胶。反应 60 min 后,进入分离胶的聚合物在减少,未进入分离胶的聚合物在增加。当反应时间延长至 90 min 时,虽然单体蛋白在逐渐减少,但形

成的聚合物已有部分无法被样品处理液所溶解,因此未进入浓缩胶的大分子带有减少现象,此结果说明大分子聚合物是随着酶作用时间的延长而逐渐形成的.该结果也表明, TGase 在较低温度下(10℃)即可催化肌球蛋白聚合,这对实际生产中低温肉制品的品质改善将起到重要的作用.

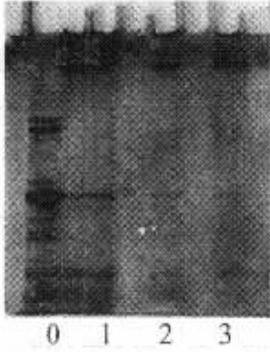


图 1 TGase 催化大豆 7S 蛋白聚合物的电泳图

Fig.1 SDS - FAGE pattern of TGase - catalyzed soy-bean 7S globulin

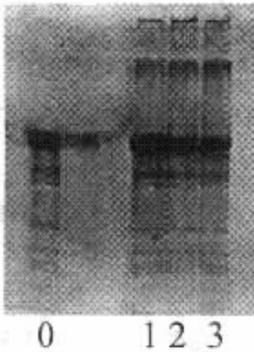


图 2 TGase 催化肌球蛋白聚合物的形成

Fig.2 Formation of myosin polymers subjected to TGase treatment

2.2 反应条件对凝胶形成的影响

2.2.1 底物浓度对凝胶形成的影响 按 1.8.1 所述方法进行测定,结果见图 3.结果表明,随着底物浓度的增加, TGase 催化所形成的凝胶强度也逐渐增强;而低蛋白浓度下形成的凝胶很弱,不在所用材料仪的测量量程范围内.蛋白质的凝胶化主要取决于其内在结构、分子性质、净电荷和相对分子质量,同时还与蛋白质的浓度有关.蛋白质凝胶的形成机制一般认为是蛋白质-蛋白质和蛋白质-溶剂的相互作用以及邻近肽链之间的吸引力和排斥力平衡的结果.在蛋白质浓度较低时,蛋白质-溶剂相互作用占优势,体系不易凝结成凝胶.蛋白质形成网络结构主要依赖于体系中的相互作用,如:氢键、疏水键和静电相互作用,二硫键的形成与交换也可使分子间的网络得到加强^[14]. TGase 可以催化蛋白质分子间形成 ϵ -(γ -谷氨酰基)赖氨酸共

价键,它的强度是氢键和疏水键的 20 倍^[15].

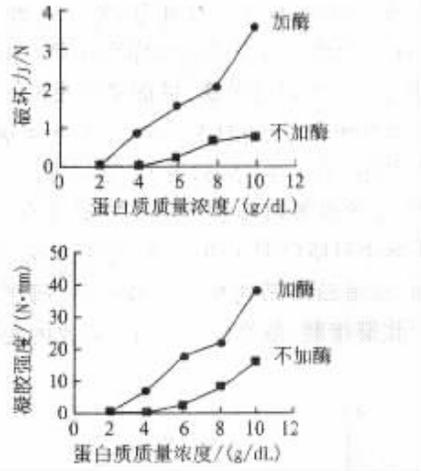


图 3 肌球蛋白浓度对凝胶强度的影响

Fig.3 Effect of myosin concentration on gel strength

2.2.2 反应温度对凝胶形成的影响 按 1.8.2 所述方法进行测定,反应温度对凝胶强度的影响如图 4 所示.以肌球蛋白为底物时,最大的凝胶强度出现在 35℃左右. Ando 等人曾报道^[4],以氧肟酸为底物时,微生物 TGase 在 pH 7.0 时,酶的最适反应温度为 40℃.随着温度的升高或降低,酶活力均呈下降趋势.在以肌球蛋白为底物时也出现类似的结果,这主要与酶的热稳定性有关.在一定的温度范围内,酶活力随反应温度的升高而增加,超过一定温度时,酶失活速度超过催化反应速度,从而导致其活性降低.

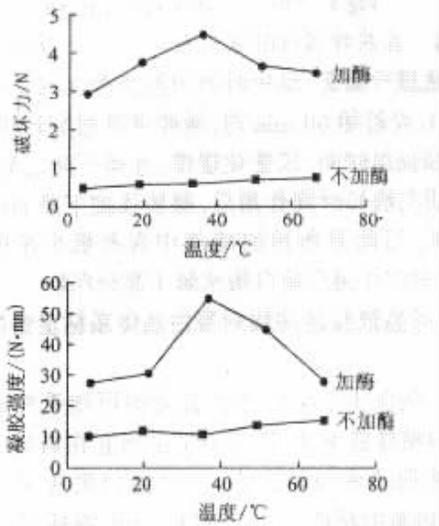


图 4 反应温度对凝胶强度的影响

Fig.4 Effect of temperature on gel strength

2.2.3 反应 pH 对凝胶形成的影响 按 1.8.3 所述方法进行测定.肌球蛋白体系所形成的凝胶最大破坏力出现在 pH 7.0.当 pH 高于或低于此值时,凝胶强度均呈下降趋势(图 5).体系 pH 改变后的凝

胶强度变化与酶的稳定性有关,在极端的 pH 下,酶易失活,从而导致其活性降低.另一方面,改变体系的 pH 还会影响蛋白质相互作用过程中的疏水作用和静电作用之间的平衡,进而影响凝胶的网状结构和凝胶性质^[14].当 pH 5.0 时,正处于肌球蛋白的等电点(pI 为 5.4~5.6)附近,蛋白质分子所带净电荷较少,造成蛋白质相互吸引的疏水作用占优势,故肌球蛋白形成了凝结核,无法形成有序的网状结构,且蛋白质结构相对比较紧密,酶很难与所作用的肽键接触,故在此条件下,形成的凝胶强度很弱.

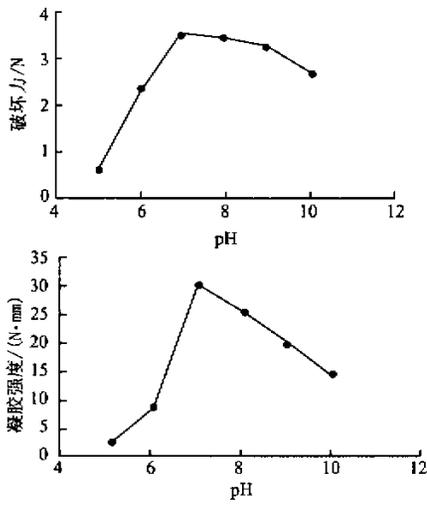


图5 pH对凝胶强度的影响

Fig.5 Effect of pH on gel strength

2.2.4 反应时间对凝胶形成的影响 按 1.8.4 所述方法进行测定.反应时间对凝胶强度的实验表明(图6),在起始 60 min 内,凝胶强度增加较快,之后再增加保温时间,其变化缓慢,并呈下降趋势.肌球蛋白与酶长时间作用后,凝胶强度下降的原因尚未十分明确,可能是所用的酶液中含有极少量的蛋白酶,长时间作用后蛋白酶水解部分底物.

2.3 谷氨酰胺转氨酶对蛋白质体系粘度性质的影响

一些液体或半固体类食品的可接受性取决于产品的粘度或稠度,溶液的粘度与它在剪切力作用下所受到的流动阻力有关.当蛋白质应用于食品时,其溶液的粘度是一个重要的功能指标^[14].

2.3.1 10%大豆分离蛋白(SPI)体系的粘度变化

TGase 添加量为 0.02 U/mg 蛋白质,反应温度 37 °C, pH 7.5.蛋白质溶液的粘度性质是一些变量之间复杂相互作用的表观形式,这些变量包括在水合状态时蛋白质分子的大小、形状、蛋白质-溶剂相互作用、流体动力学体积和分子柔性.一般来讲,

相对分子质量比较大的蛋白质,其粘度也较大^[14].TGase 对 SPI 体系的粘度影响见图 7.随着保温时间的延长,体系粘度逐渐增加,而不加酶的体系粘度在整个反应阶段几乎没有变化.当加酶体系反应至 120 min 时,体系粘度达到最大值,再增加保温时间,粘度反而有所下降,可能原因如前所述.以上结果表明,由于加入 TGase,使得体系中蛋白质相互聚合,随着聚合物的相对分子质量增加,表观直径变大,因而导致体系粘度增加.

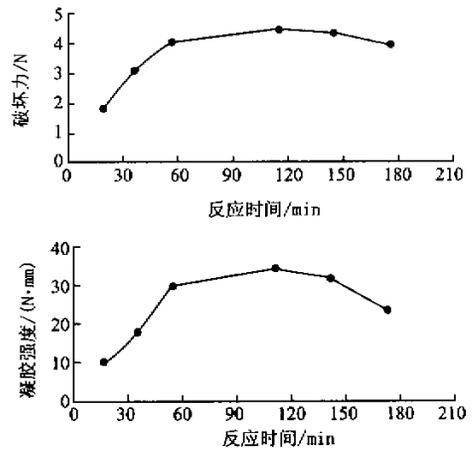


图6 反应时间对凝胶强度的影响

Fig.6 Effect of reaction time on gel strength

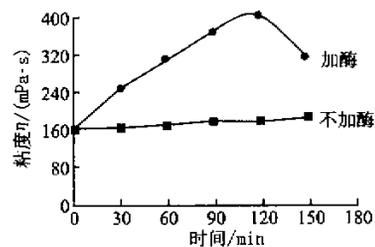


图7 TGase对10%SPI体系粘度的影响

Fig.7 Effect of TGase on viscosity of 10% SPI system

2.3.2 5%肌球蛋白体系的粘度变化 TGase 添加量为 0.02 U/mg 蛋白质,反应温度 10 °C, pH 7.0.谷氨酰胺转氨酶对肌球蛋白体系的粘度影响如图 8 所示.随着保温时间的延长,体系粘度逐渐增加,至 180 min 时达到最大值.再增加保温时间,粘度变化趋于平缓,而不加酶的体系粘度几乎没有变化.与 SPI 体系相比,肌球蛋白体系的粘度增加幅度较大,主要是因为肌球蛋白相对分子质量较大,可被 TGase 作用的残基也较多,而 SPI 是由相对分子质量较小的各种蛋白组成,故前者的粘度增加值要高于后者.

3 结 论

谷氨酰胺转胺酶可催化肌球蛋白和大豆 7S 蛋白分子间的交联, SDS-PAGE 证实, 它由相对分子质量较大的聚合物形成. 高浓度的蛋白质经 TGase 催化后可形成倒置的凝胶, 通过扫描电镜观察, 此凝胶形成了致密的三维网状结构^[16]. 通过对 TGase 影响蛋白质凝胶性质的研究发现, 酶促凝胶的形成与蛋白浓度、pH、温度、反应时间有关. 蛋白质浓度

越大, 形成的凝胶强度越大. 对 10% 肌球蛋白体系而言, 酶的最适作用条件为: 温度 35 ℃, pH 7.0, 反应时间 90 min.

本研究亦表明, TGase 可以改善肉制品中两种主要的蛋白质, 即肉中所含的肌球蛋白和添加的大豆蛋白的粘度性质. 将一定浓度的蛋白质溶液与酶一起保温, 体系的粘度均随保温时间的延长而增大, 而未加酶的体系粘度没有显著变化. 上述结果都证明 TGase 可催化蛋白质分子间的共价交联, 从而提高肉制品质构.

参考文献:

- [1] ZHU Y, RINZEMA A, TRAMPER J. Microbial transglutaminase - a review of its production and application to food processing[J]. *Appl Microbial Biotech*, 1995, 44 : 277~282.
- [2] MATHEIS G, WHITAKER J R. Enzymatic cross-linking of proteins applicable to food[J]. *J Food Biochem*, 1987, 11 : 309~327.
- [3] MOTOKI M, NIO N, TAKINAMI K. Functional properties of food proteins polymerized by transglutaminase[J]. *Agric Biol Chem*, 1984, 48 : 1257~1261.
- [4] ANDO H, ADACHI M, UMEDA K, *et al.* Purification and characteristics of a novel transglutaminase derived from microorganisms[J]. *Agric Biol Chem*, 1989, 53 : 2613~2617.
- [5] ANDO H, MATSURA A, SUSUMU H. Manufacture of transglutaminase with *Streptomyces*[P]. 日本专利: JP 04-10 8381, 1992-04-09.
- [6] 无锡轻工业学院, 大连轻工业学院编. 食品分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1994.
- [7] THANH V H, SHIBASAKI K. Major proteins of soybean seeds: a straight forward fractionation and their characterization[J]. *J Agric Food Chem*, 1976, 24 : 1117~1121.
- [8] DNDZIAK J, FOEGEDING A. Isolation of actomyosin and myosin from post-rigor Turkey breast and thigh[J]. *J Food Sci*, 1988, 53(5): 1281~1288.
- [9] ANDO H, MOTOKI M, NONAKA M, *et al.* Polymerization of several proteins by Ca²⁺-independent transglutaminase derived from microorganisms[J]. *Agric Biol Chem*, 1989, 53(10): 2619~2623.
- [10] LAEMMLI U K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4[J]. *Nature*, 1970, 227 : 680~685.
- [11] SAKAMOTO H, KUMAZAWA T, MOTOKI M. Strength of protein gels prepared with microbial transglutaminase as related to reaction condition[J]. *J Food Sci*, 1994, 59 : 866~871.
- [12] NIO N, MOTOKI M, TAKINAMI K. Gelation of casein and soybean globulins by transglutaminase[J]. *Agric Biol Chem*, 1985, 49(8): 2283~2286.
- [13] NIO N, MOTOKI M, TAKINAMI K. Gelation mechanism of protein solution by transglutaminase[J]. *Agric Biol Chem*, 1986, 50(4): 851~855.
- [14] 王璋, 许时婴, 汤坚. 食品化学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999.
- [15] JOSEPH D, LANIER T C, HAMANN D D. Temperature and pH affect transglutaminase-catalyzed setting of crude fish actomyosin[J]. *J Food Sci*, 1994, 59(5): 1018~1023.
- [16] 周红霞. 微生物谷氨酰胺转胺酶在肉制品中的应用[D]. 无锡: 无锡轻工大学, 2000.

(责任编辑: 李春丽)