



谷氨酰胺转氨酶 及其在肉品加工中的应用

王顺峰, 戚士初, 潘超, 朱斌

(南京雨润食品有限公司技术中心, 江苏 南京 210041)

摘要: 谷氨酰胺转氨酶是一种能催化赖氨酸的 ϵ -氨基与谷氨酸的 γ -羟酰胺基形成共价键而导致蛋白质聚合的酶。本文综合已有文献对谷氨酰胺转氨酶的来源、性质、作用机理及在肉品加工中的应用进行了阐述, 并对其作用产物的生物利用性进行了探讨。

关键词: 谷氨酰胺转氨酶; 肉品加工; 应用

Transglutaminase and Its Application in Meat Processing

Wang Shun-feng, Qi Shi-chu, Pan Chao, Zhu Bin

(Technical Center of Nanjing Yurun Food Co.Ltd., Jiangsu Nanjing 210041, China)

Abstract: Transglutaminase is an enzyme that catalyzes covalent cross-link formation and promotes polymerization of proteins through intermolecular- ϵ (γ -glutamyl)lysine cross-links. Source, chemical property, functional mechanism of transglutaminase and its application on meat processing were reviewed in this paper. Bioavailability of products catalyzed by transglutaminase is also discussed.

Key words: Transglutaminase; Meat processing; Application

中图分类号: TS201.1 文献标识码: B 文章编号: 1001-8123(2008)07-0042-04

谷氨酰胺转氨酶(Transglutaminase, TG)又称转谷氨酰胺酶, 是一种能催化赖氨酸的 ϵ -氨基与谷氨酸的 γ -羟酰胺基形成共价键而导致蛋白质聚合的酶。由于聚合后的蛋白质常表现出比聚合前更优良的功能特性, 因此利用转谷氨酰胺酶改良蛋白质, 提高肉制品质量日益成为食品界研究的热点。

我国肉类总产量居世界第一位, 肉制品仅占肉类总产量的 6% 左右, 而国外发达国家则占到 40%—50%^[1], 这说明我国在肉制品深加工方面还具有很大的潜力。如何开发新型优质肉制品已成为我国肉类科技工作者的一项重要课题。转谷氨酰胺酶作为一种新型蛋白质的功能改良剂, 在肉制品加工中正日益显示出重要作用。

收稿日期: 2008-03-13

1 谷氨酰胺转氨酶的来源与生产方法

TG 最初从天竺鼠肝脏中提取, 后来在哺乳动物的组织器官、鱼类及植物体中也都分离得到^[2]。由于来源不易和分离纯化过程复杂, 该酶的价格昂贵, 从而对该酶的研究和使用也仅仅局限于实验室中。Ando 从 *Streptovorticium* sp. 菌株中获得了具有活性的该酶。通过微生物发酵法生产谷氨酰胺转氨酶, 是一种获得大量廉价该酶的方法, 这使得谷氨酰胺转氨酶可以应用在食品加工中^[3]。

TG 可分两大类, 一类来自于哺乳动物组织中(如肝脏), 另一类来自于酶发酵。肝脏 TG 分子量为 $(75 \sim 80) \times 10^3$ 道尔顿, 分为 I、II 型, 活性中心含有 Lys 残基, 表达活性依赖 Ca^{2+} ; 酶发酵谷氨酰胺转氨酶 (MTG) 分子量为 40×10^3 道尔顿, 活性中心也含有 Lys 残基但活性中心不依赖 Ca^{2+} 序列^[4]。

TG 的生产方法有动植物组织提取法和微生物发酵法。

(1) 动植物组织提取法

以豚鼠肝脏为原料,经分离萃取而得,其一般工艺流程为:豚鼠肝脏→匀浆→离心→二次离心→过滤→季铵乙基-交联葡聚糖离子交换→羟基磷灰石→亲和层析→肝脏TG。

(2) 微生物发酵法

工艺流程为:发酵液→离心→取上清液→超滤→取浓缩液→CG-50离子交换树脂→收集活性部分→再次通过CG-50离子交换树脂→收集活性部分→稀释(降低导热性)→通过蓝琼脂糖柱→MTG(被活化了174倍)。

2 谷氨酰胺转胺酶的性质及作用机理

谷氨酰胺转胺酶是一种球状单体蛋白,亲水性高,对热稳定。大多数金属离子对该酶活性无影响或影响不大,但是 Zn^{2+} 对其有很强的抑制作用。该酶活性易受PCMB(五氯硝基苯)、N-乙基-顺丁烯二酰亚胺抑制,但EGTA(乙二醇双四乙酸)可消除其活性。微生物发酵产生的谷氨酰胺转胺酶较动物来源的该酶有许多优点,主要为:pH适应范围广、不依赖 Ca^{2+} 、稳定性强、催化交联程度高^[5],另外微生物谷氨酰胺转胺酶属于胞外酶,提取时不需要破壁,易于分离纯化。不同来源的谷氨酰胺转胺酶的性质如下表1^[6]。

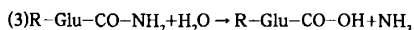
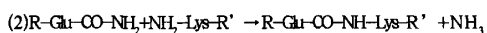
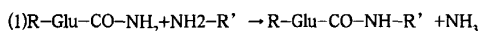
表1 不同来源的谷氨酰胺转胺酶的性质

Table 1 Properties of TG from different sources

	茂原链 轮丝菌	灰肉链 轮丝菌	肉桂链 轮丝菌	S-8112	豚鼠肝脏
最适pH值	6-7	6-7	6-7	6-7	6
最适反应温度(℃)	55	45	45	50	50-55
pH值稳定范围	5-9	6-8	5-9	5-10	6-7.5
温度40℃残存活力(%)	88	86	80	*	96
温度50℃残存活力(%)	74	56	53	*	40
分子量	38000	41000	41000	37863	90000
等电点	9.0	9.7	98	9.0	4.5
残存活力(%) 0mmol/L CaCl ₂	99	98	100	100	0
残存活力(%) 1mmol/L CaCl ₂	100	100	99	100	39
残存活力(%) 5mmol/L CaCl ₂	100	100	98	100	100

* 未查到

谷氨酰胺转胺酶是一种催化酰基转移反应的转移酶,其作用机理如下:



在其作用过程中,以 γ -羧酸酰胺基作为酰基供体,而酰基受体有以下几种:(1)可催化在蛋白质以及肽键中谷氨酰胺残基的 γ -羧酸酰胺基和伯胺之间的酰基基转移反应。利用该反应可以将一些限制性氨基酸引入蛋白质中,提高蛋白质的额外营养价值。(2)可与多肽链中赖氨酸残基的 ϵ -氨基作用,形成蛋白质分子内和分子间的 ϵ -(γ -谷氨酰)赖氨酸异肽键,使蛋白质分子发生交联,从而改善食物的质构,改善蛋白质的溶解性、起泡性、乳化性等许多物理性质。(3)当不存在伯胺时,水会成为酰基受体,谷氨酰胺残基发生水解脱去氨基生成谷氨酸。由于谷氨酰胺是不带电荷的中性氨基酸,而谷氨酸是带负电荷的酸性氨基酸,因此水解必然导致蛋白质的性质变化,从而改变蛋白质的等电点和溶解度^[7]。

3 谷氨酰胺转胺酶对肌肉蛋白质的作用

肌球蛋白和肌动蛋白作为肌原纤维的重要组成部分,是使肌肉具有保水性和粘结性的两种重要的功能蛋白质,其中尤以肌球蛋白最为重要^[8]。在受热的情况下,肌球蛋白分子之间以及肌动蛋白分子间形成二硫键,并且在分子疏水基的相互作用下形成复杂的热诱导凝胶空间网络结构,而二硫键和疏水基便作为这一网络上的连接点。肌原纤维蛋白热诱导凝胶的形成,使得肉制品具有了弹性、切片性、保水性等品质特征^[8]。在加入转谷氨酰胺酶的肌肉蛋白凝胶体系中,由于其催化横向结合反应使得谷氨酰胺残基和赖氨酸残基结合形成 ϵ -(γ -谷氨酰)赖氨酸。形成的GL肽键不仅构成凝胶网络上新的连接点,而且具有比二硫键更强的连接力,从而能够使凝胶具有更强的稳定性,赋予制品更加优良的品质^[9]。

4 谷氨酰胺转胺酶在肉制品加工中的应用

谷氨酰胺转胺酶作为一种新型的蛋白酶制剂可以催化蛋白质分子内的交联、分子间的交联、蛋白质和氨基酸之间的连接以及蛋白质分子内谷氨酰胺基的水解,提高蛋白质的营养价值,赋予蛋白质特有的质构和口感。因此,谷氨酰胺转胺酶在肉制品加工中得到了广泛的应用,1989年日本味之素公司最先推出食品级酶制剂,直接推动了谷氨酰胺转胺酶在肉制品加工中的应用^[10]。

4.1 提高原料利用率

肉制品是人们获得蛋白质的重要来源,而肉

制品加工是食品加工业中的一个重要部分。由于肉制品的高价格和人们对蛋白质充分利用的需要,人们总是希望能利用动物体的一切可利用部分制成肉制品,其中面临的一个问题是如何将一些低价值的碎肉进行重组,改善其外观、结构、风味,以提高营养价值和市场价值。谷氨酰胺转氨酶由于可以形成蛋白质分子内和分子间的交联,因而在肉制品重组中得到广泛的应用,这也是目前利用该酶最多的行业。

由于谷氨酰胺转氨酶催化的在蛋白质分子内和分子间形成的异肽键属于共价键,在一般的非酶催化条件下很难断裂,所以用该酶处理碎肉使成型后虽经冷冻、切片、烹饪等也不会重新散开。肉类蛋白质之间发生交联后,使得肉制品更加富有弹性,形成良好的口感,而且该酶对肉制品的其他风味不会产生影响。Sakamoto 和 Soeda 应用谷氨酰胺转氨酶处理碎肉,将碎肉、淀粉、调味料和谷氨酰胺转氨酶混合,成型,从而做成肉丸、烧麦等,可以大大地提高肉的利用率,且外观、质地、风味、口感也得到了极大的改善^[11]。

4.2 提高产品出率

肉制品的保水性是一项重要的质量指标,它不仅影响制品的色香味、营养成分、多汁性、嫩度等食用品质,而且具有重要的经济价值。利用肌肉系水力这一潜能,在加工过程中可以添加水分,提高出品率。J.F.Kerry 以禽胸脯肉为原料,加入大豆蛋白和转谷氨酰胺酶,制成肉饼,测定其蒸煮损失,利用响应曲面法分析试验结果发现随着转谷氨酰胺酶添加量的增加,蒸煮损失呈逐渐下降的趋势^[12]。分析其原因,主要是 $\epsilon - (\gamma - \text{谷氨酰})$ 赖氨酸的 GL 肽键提高了制品中凝胶网络的稳定性,使凝胶抗热能力增强,从而产品能够在热处理中降低蒸煮损失,提高产品出率。此外利用转谷氨酰胺酶处理香肠制品,可以避免香肠脱水收缩现象的发生^[13]。

4.3 改善肉制品的质构

良好的质构不仅是评定产品质量的重要指标,而且是影响消费者选择的关键因素,因此生产者常采用腌制、滚揉、斩拌以及添加淀粉等填料来改善肉制品的品质,以期获得良好的弹性、切片性。为了证实转谷氨酰胺酶用于肉制品中所呈现的良好功能特性,在原有工艺不变的情况下,将不同剂量的转谷氨酰胺酶制剂应用于火腿中,测定其抗断强度和凹度,与对照组比较发现,添加 0.2%—0.5% 的转谷氨酰胺酶制剂,即可达到明显改善

产品品质的效果。在改善切片性上,将转谷氨酰胺酶用于脱骨火腿中,即使降低添加蛋白用量,产品的原始风味和切片性仍然能够很好地保持^[14]。

4.4 拓宽原料的来源

PSE 肉是一种异常肉,常见于猪肉、火鸡肉,在牛、羊肉中处理不当也会发生。此种肉颜色苍白,组织脆弱,肌肉持水性差,大大限制了在生产中的应用。美国的 Milkowski 利用谷氨酰胺转氨酶处理 PSE 肉用于生产肉制品已取得专利^[15]。实验证明,这种方法特别适合对猪肉或火鸡胸脯肉进行处理,然后加工成罐装或其它包装的火腿,产品的粘结能力、保水性大大提高,赋予了制品结实的质构。

血液作为肉中的天然营养成分,一般应用于生化制药方面,而很少用于肉制品中,主要是由于血液中成分不稳定,易氧化变质,进而影响产品的质量。谷氨酰胺转氨酶可以与血液中血红蛋白结合,重新添加到肉制品中,不仅可以改善制品的色泽,还可以作为抗氧化剂使产品品质维持稳定,延长货架期,此外也最大限度地保留了肉中的天然营养成分^[16]。

4.5 生产低盐低脂肪的保健肉制品

对不同类型肉制品的研究表明,应用谷氨酰胺转氨酶不仅可以减少食盐、硝酸盐、磷酸盐类添加剂的使用,还可以在不影响产品感官质量的前提下,减少或不添加外源性蛋白及其它粘结剂、填充剂、增味剂等品质改良剂,从而使原料的天然本味得以保留。例如在生产低盐维也纳香肠时,分别加入不同剂量的食盐和转谷氨酰胺酶制剂,结果表明,即使食盐用量降到普通香肠的 25%,产品仍能获得同样的弹性^[17],说明转谷氨酰胺酶能大大增强凝胶效果,弥补低盐造成的凝胶减弱,使产品具有与高盐同样的质构特征。用转谷氨酰胺酶取代磷酸盐,同样可以取得理想的效果。实验表明,转谷氨酰胺酶添加量不同,对磷酸盐的取代作用不同^[18],因此在实际生产中可通过控制转谷氨酰胺酶的用量,调整产品的弹性。此外,经转谷氨酰胺酶处理后的肉制品的色泽度也随着酶的添加量呈直线上升。对低脂食品的需求,推动了对脂肪取代物的研究。实验发现转谷氨酰胺酶交联蛋白质可作为脂肪的取代物。Novo 公司以生产肉制品常用的乳化剂—酪蛋白钠为原料,经转谷氨酰胺酶作用

生产的脂肪取代物应用于色拉米肠中,可取代50%的脂肪,而产品原有质构、风味不变^[19]。

5 营养评价

有人发现 ϵ -(γ -谷氨酰)赖氨酸的肽键非常稳定,可以抵御胃中蛋白水解酶的作用,因此对 ϵ -(γ -谷氨酰)赖氨酸的生物利用性提出质疑^[20]。Katsuya seguro等人利用分离到的 γ -谷氨酰转肽酶作用于 ϵ -(γ -谷氨酰)赖氨酸对营养价值进行了分析讨论^[21]。 γ -谷氨酰转肽酶是一种膜酶,广泛存在于肠的刷毛边层、胰脏的腺泡、弹性上皮细胞、胆管表皮等组织,在人及高等动物体内具有较高的活性,它能够分解 ϵ -(γ -谷氨酰)赖氨酸,释放谷氨酸和赖氨酸参与人体的代谢过程。以牛肾中提取的 γ -谷氨酰转肽酶为例,作用于经肽酶和蛋白酶彻底水解的经转谷氨酰胺酶交联的鱼糜,结果发现 γ -谷氨酰转肽酶能完全分解 ϵ -(γ -谷氨酰)赖氨酸^[22]。因此可以得出结论:经转谷氨酰胺酶催化形成的 ϵ -(γ -谷氨酰)赖氨酸并没有降低蛋白营养价值,氨基酸可以完全被人体分解利用。

随着微生物发酵技术的成熟和完善,近几年来谷氨酰胺转胺酶得到了广泛应用,特别是在肉品加工行业。谷氨酰胺转胺酶催化蛋白生成 ϵ -(γ -谷氨酰)赖氨酸,不仅赋予蛋白制品良好的质构,而且开辟了一些新的食品资源,在食品工业中有着广阔的市场前景。

参考文献

- [1] 周光宏,张兰威.畜产品加工学[M].北京:中国农业出版社,2002.
- [2] 王卫.转谷氨酰胺酶在肉制品中的应用[J].食品文摘,1999(5):10-12.
- [3] Ando H,Adachi M, et.al. Purification and Characteristics of A Novel Transglutaminase Derived from Microorganism [M]. Biol Chem,1989(53):2613-2617.
- [4] 王稳航.谷氨酰胺转胺酶在畜产品加工中的应用[J].肉类工业,2002(8):28-31.
- [5] 贺雷雨,李新华,王璋.谷氨酰胺转胺酶及其在食品加工中的应用[J].中国食物与营养,2004(4):32.
- [6] 吕心泉,安辛欣,苏燕来.谷氨酰胺转胺酶在肉制品中的应用研究[J].食品工业科技,2002(4):86-88.
- [7] 周楠迪,陈坚,郑美英,堵国成.谷氨酰胺转胺酶的功能性质及其在食品中的应用方法[J].中国食品添加剂,2000(1):54-59.
- [8] 周光宏.肉品学[M].北京:中国农业出版社.
- [9] Nelson P. M. Reactions and Potential Industrial Applications of Transglutaminase[J].Food Biotechnology,1995(9):119-156.
- [10] 味之素株式会社.改善火腿及香肠的品质—谷氨酰胺转胺酶在肉制品加工工艺上的应用.
- [11] Sakamoto H,Kumazawa Y,Toiguchi S, et.al.[J].Food Sci.,1995(60):305-311
- [12] J.F.Kerry, A.O Donnell,et al.Optimization of Transglutaminase as A Cold Set Binding in Low-Salt Beef and Poultry Comminuted Meat Products Using Response Surface Methodology[M].Congress Proceedings 45th I-CoMST,1999(1):140-141.
- [13] Kobayashi K,Yamanaka S,Tanita Y,et.al. Microbial Process for Producing Transglutaminase[M]. US Patent 6821763 from Patent Storm(2004).
- [14] Chiya k, Jiro S, Katsuoshi Y, et. al. Production of Re-structured Meat Using Microbial Transglutaminase without Salt or Cooking[J]. Food Sci, 1997(3):488-490
- [15] Milkowski A L, Sosnicki A.A Method for Treat PSE Meat with TG[M]. United States Patent US 5928689 (1999).
- [16] 闵连吉.肉类食品工艺学[M].北京:中国商业出版社,1995.
- [17] 谭敬军,等.香肠无硝新方法的研究[J].中国畜产与食品,1997(4):15-18.
- [18] 叶丹英,廖志英.转谷氨酰胺酶在食品加工中的应用[J].2000,21(2):46-49.
- [19] 李增绪.谷氨酰胺转胺酶在食品加工中的应用[J].食品研究与开发,2004,25(4):3-5.
- [20] Beatriz Cancino, Patricia Fuentes, Ulrich Kulozik, et.al. Effect of the protein addition on the structure of set style and stirred yoghurt with and without the use of transglutaminase[J]. Desalination, 2006(20):531-532.
- [21] Noriki Nio, Katsuya Seguro, Yasuo Ariyoshi, et. al. Inhibition of passive cutaneous anaphylaxis by synthetic human immunoglobulin E peptide fragments [J].FEBS Letters, 1992,314(3):229-312.
- [22] J.M. Rodriguez-Nogales. Enhancement of transglutaminase-induced protein cross-linking by preheat treatment of cows' milk[J]. A statistical approach International Dairy Journal, 2006(1): 26-32.