

## 鼠曲草提取物-焦磷酸钠对热诱导的猪肌原纤维蛋白凝胶特性的影响

常海军, 胡渝, 石源伟, 周文斌, 熊杰

重庆工商大学, a. 食品科学与工程学院; b. 重庆市特色农产品加工储运工程技术研究中心, 重庆 400072

**摘要:**目的 研究鼠曲草提取物(*Gnaphalium affine* extract, GAE)协同焦磷酸钠(Sodium pyrophosphate, PP)对猪肌原纤维蛋白(Myofibrillar Proteins, MPs)凝胶特性的影响。方法 在模拟 Fenton 氧化体系中,以猪肉肌原纤维蛋白为研究对象,添加不同浓度水平的鼠曲草提取物和焦磷酸钠制备热诱导猪肌原纤维蛋白凝胶,通过分析凝胶蒸煮得率、保水性、白度、强度、质构、流变学特性和凝胶微观结构等特性变化,研究不同浓度鼠曲草提取物与焦磷酸钠协同抗氧化诱导的交联模式变化对猪肌原纤维蛋白凝胶特性的影响。结果 当添加 0.2 mg/g 蛋白的 GAE 与 1 mM 的 PP 时,MPs 凝胶蒸煮得率升高了 8.66%、保水性提高了 5.48%,凝胶白度提高了 5.01%,均显著高于 GAE 单独添加的情况( $P < 0.05$ );添加 GAE 后导致部分凝胶网络结构破坏,而适量 PP 的存在可有效修饰 GAE 对肌原纤维蛋白结构的破坏,显著提高凝胶强度、硬度和粘弹性( $P < 0.05$ ),改善蛋白氧化对凝胶性能的破坏,强化蛋白凝胶体系;GAE 与 PP 同时存在时,凝胶储能模量( $G'$ )和损耗模量( $G''$ )都高于 PP 单独存在时。通过凝胶微观结构观察,过量 PP 的存在导致蛋白凝胶网络结构严重塌陷,获得较粗糙且较多孔隙的凝胶结构。结论 适量浓度的 GAE 与 PP 复配对于 MPs 凝胶特性产生协同调控作用。

**关键词:**肌原纤维蛋白;鼠曲草提取物;焦磷酸钠;凝胶特性

中图分类号:TS251.1 文献标识码:A doi:10.16055/j.issn.1672-058X.2026.0002.002

### Effects of *Gnaphalium affine* Extract and Sodium Pyrophosphate on the Gel Properties of Heat-induced Pork Myofibrillar Proteins

CHANG Haijun, HU Yu, SHI Yuanwei, ZHOU Wenbin, XIONG Jie

a. School of Food Science and Engineering; b. Chongqing Engineering Research Center for Processing, Storage and Transportation of Characterized Agro-Products, Chongqing Technology and Business University, Chongqing 400072, China

**Abstract: Objective** This study investigates the effects of *Gnaphalium affine* extract (GAE) and sodium pyrophosphate (PP) on the gel properties of pork myofibrillar proteins (MPs). **Methods** In a simulated Fenton oxidation system, pork myofibrillar proteins were used as the research subject. Heat-induced pork MP gels were prepared by adding different concentrations of GAE and PP. By analyzing the changes in characteristics such as the cooking yield, water-holding capacity, whiteness, gel strength, texture, rheological properties, and microstructure of the gels, the effects of the changes in cross-linking patterns induced by the synergistic antioxidant action of different concentrations of GAE and PP

收稿日期:2024-03-05 修回日期:2024-05-18 文章编号:1672-058X(2026)02-0010-08

基金项目:重庆市自然科学基金面上项目(cstc2019jcyj-msxmX0472, CSTB2024NSCQ-MSX0807);重庆市教委科学技术研究计划重大项目(KJZD-M202500801);重庆市教委科学技术研究计划重点项目(KJZD-K202200806)。

作者简介:常海军(1980—),男,博士,副教授,从事肉制品加工与质量控制研究。Email:changhj909@163.com。

引用格式:常海军,胡渝,石源伟,等.鼠曲草提取物-焦磷酸钠对热诱导的猪肌原纤维蛋白凝胶特性的影响[J].重庆工商大学学报(自然科学版),2026,43(2):10-17.

CHANG Haijun, HU Yu, SHI Yuanwei, et al. Effects of *Gnaphalium affine* extract and sodium pyrophosphate on the gel properties of heat-induced pork myofibrillar proteins [J]. Journal of Chongqing Technology and Business University (Natural Science Edition), 2026, 43(2): 10-17.

on the gel properties of pork myofibrillar proteins were investigated. **Results** Compared with adding GAE alone, the addition of 0.2 mg/g protein GAE combined with 1 mM PP significantly improved MPs gel properties: cooking yield increased by 8.66%, water-holding capacity by 5.48%, and whiteness by 5.01% ( $P < 0.05$ ). While GAE addition partially disrupted the gel network structure, an appropriate level of PP effectively mitigated this structural damage. The GAE-PP combination significantly enhanced gel strength, hardness, and viscoelasticity ( $P < 0.05$ ), counteracting the negative effects of protein oxidation and reinforcing the protein gel system. Gels containing both GAE and PP exhibited higher storage modulus ( $G'$ ) and loss modulus ( $G''$ ) than those with PP alone. Microstructural analysis further revealed that excessive PP caused severe network collapse, resulting in a coarser, more porous gel structure. **Conclusion** The combination of GAE and PP at appropriate concentrations exerts a synergistic regulatory effect on the gel properties of pork myofibrillar proteins.

**Keywords:** myofibrillar protein; *Gnaphalium affine* extract; sodium pyrophosphate; gel property

肉类及其肉制品在加工、运输、销售和贮存等过程中,蛋白质容易受到加工环境(氧气)和机械过程(绞碎、斩拌及混匀等)中接触到的铁离子、铜离子等金属离子的影响而加速氧化,导致营养物质流失,从而影响肉制品品质<sup>[1]</sup>。

肌原纤维蛋白是肌肉中含量最高的蛋白,占肌肉总蛋白含量的55%~60%,是形成肌纤维的盐溶性结构蛋白群,主要包括肌球蛋白、肌动蛋白、原肌球蛋白、肌钙蛋白等<sup>[2-3]</sup>。这类蛋白对肉制品的凝胶性能、流变学特性、保水性、乳化性、质构等品质起着至关重要的作用<sup>[4]</sup>。MPs加热形成凝胶的过程实际上是热力学诱导蛋白变性的过程,随着温度的升高,蛋白结构逐渐展开并通过蛋白质分子间作用力,进而相互交联聚集,最后形成呈乳白色且具有黏弹性的三维网络结构,即肌原纤维蛋白凝胶<sup>[5]</sup>。在各类肉制品中,凝胶类肉制品因为其种类多样化、营养价值高、方便食用性等特点受到广大消费者的青睐<sup>[6]</sup>。

为符合大众“绿色、营养、健康、安全”的消费观,肉品抗氧化研究领域正积极挖掘天然抗氧化剂。天然抗氧化剂因其安全性能,受到广泛研究且逐渐替代了合成抗氧化剂在肉制品中的应用,其可来源于天然可食用的物质,如果蔬、香辛料、中药材等<sup>[7]</sup>。利用天然多酚类物质来改善肌原纤维蛋白凝胶特性的影响机制是目前研究的热点。鼠曲草(*Gnaphalium affine* D. Don),又名清明草,是我国清明时节最为常见的传统野菜,其茎叶具有化痰止咳,祛风除湿,解毒等药用价值<sup>[8]</sup>。据相关研究表明,鼠曲草醇提取物含有丰富的黄酮类和多酚类物质<sup>[9]</sup>,对油脂的氧化具有一定的抑制作用<sup>[10]</sup>。有研究表明,鼠曲草提取物是一种优良的自由基清除剂,具有清除超氧阴离子和羟基自由基的作用,清除效果强于标准自由基清除剂 Vitamin E<sup>[11]</sup>。UDDIN等<sup>[12]</sup>在

一种鼠曲草植物丝棉草(*G. luteoalbum* L.)的甲醇粗提取物中发现,其酚含量高达115.96 mg/g,同时其甲醇粗提取物具有很强的抗氧化活性,可用作抗氧化剂的天然药材。前期研究发现,GAE富含黄酮类化合物和酚类化合物,并表现出较强的清除自由基的能力,尤其是对·OH的清除能力<sup>[13]</sup>,能有效抑制MPs氧化<sup>[9]</sup>。与此同时,磷酸盐具有提高肉pH值、提高肉离子强度和螯合金属离子等特性,常用于改善加工肉品质,包括保水性、蒸煮损失、氧化稳定性、色泽和风味等<sup>[14]</sup>。CAO等<sup>[15]</sup>研究发现焦磷酸钠与儿茶素偶联可协同增强MPs的氧化稳定和凝胶性能。尚坤<sup>[16]</sup>研究发现经三聚磷酸钠和焦磷酸钠磷酸化后的蛋白溶解度、凝胶特性、乳化特性均得到显著增加。目前,对于鼠曲草提取物协同焦磷酸钠调控猪肌原纤维蛋白凝胶的研究甚少。

因此,本研究创建Fenton氧化体系模拟氧化环境,研究鼠曲草提取物与焦磷酸钠对肌原纤维蛋白凝胶特性是否具有协同效应,为天然植物多酚在凝胶肉类制品中应用提供一定的理论依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与试剂

新鲜的猪背最长肌购于重庆市人人乐超市,剔除明显的脂肪组织,切成50 g小块后真空密封,于-20℃条件下贮藏。新鲜鼠曲草采摘于四川省广安市邻水县,经过晾晒后密封,于干燥处贮藏。

氯化钠(NaCl)、磷酸钠( $\text{Na}_3\text{PO}_4$ )、氯化镁( $\text{MgCl}_2$ )、硅油、戊二醛、无水乙醇、叔丁醇,成都市科龙化工试剂厂;哌嗪-1,4-二乙磺酸(PIPES)、乙二醇二乙醚二胺四乙酸(EGTA)、L-抗坏血酸、牛血清蛋白(BSA,纯度96%)、水溶性维生素E(Trolox,纯度97%),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;三氯化铁( $\text{FeCl}_3$ )、双氧水( $\text{H}_2\text{O}_2$ ),上海阿达玛斯试剂有限公司。

所有试剂均为分析纯。

## 1.2 仪器与设备

MM12B 绞肉机(广东省韶关市大金食品机械厂); LGJ-10 冷冻干燥机(北京松源华兴科技发展有限公司); DGG-9076A 电热恒温鼓风干燥箱(上海齐欣科学仪器有限公司); V2000 可见分光光度计(上海舜宇恒平科学仪器有限公司); TGL-20 高速冷冻离心机(四川蜀科仪器有限公司); CR400 色差仪(日本美能达公司); Ultra-Turrax T25 高速均质匀浆机(德国 IKA-WERKE); pHs-3C+酸度计(成都世纪方舟科技有限公司); TA-XT Plus 质构仪(英国 Stable Micro Systems 公司); S-8020 扫描电镜(日本 Hitachi 公司); MARS40(哈克)旋转流变仪(赛默飞世尔科技有限公司)。

## 1.3 方法

### 1.3.1 鼠曲草提取物的制备

参照 CHANG 等<sup>[13]</sup>所描述的方法。为了制备鼠曲草提取物,首先将贮藏备用的干鼠曲草置于 60 °C 条件下烘干 4 h。烘干后,将其粉碎并过 100 目筛网。取 50 g 干鼠曲草粉与 1 000 mL 70% 乙醇溶液混合,在 45 °C 条件下,超声波(40%)辅助提取 80 min,提取液减压抽滤,滤液在 60 °C 条件下进行真空浓缩至 100 mL。最后,经 48 h 冷冻干燥得到鼠曲草提取物,将其保存在棕色干燥皿中。

### 1.3.2 肌原纤维蛋白的提取

参照 PARK 等<sup>[17]</sup>的研究方法并稍做修改,整个提取过程需在低温环境下进行操作(0~4 °C),配制 pH 为 7.0 的僵直缓冲溶液(10 mmol/L 磷酸钠,0.1 mol/L NaCl,2 mmol/L MgCl<sub>2</sub> 和 1 mmol/L EGTA)。将解冻(4 °C,4 h)的猪肉切成小块后置于绞肉机中绞碎,然后将绞碎的肉泥于 5 倍体积的僵直缓冲液中稀释,使用高速分散器进行匀浆处理 1 min。将匀浆后的提取液进行冷冻离心(6 000 r/min,10 min,4 °C),弃上清液,所得沉淀再次加入僵直缓冲液中稀释,此步骤需重复 3 次。为获得无结缔组织的蛋白,沉淀还需加入 5 倍体积 0.1 mol/L NaCl 溶液稀释,并再次匀浆,随后纱布过滤,并调整 pH 为 7.0,最后进行冷冻离心,得到的肌原纤维蛋白于 48 h 内使用。蛋白质浓度采用周非白文中的双缩脲法测定<sup>[18]</sup>,以牛血清白蛋白为标准物。

### 1.3.3 GAE/PP 的添加及氧化处理

将不同体积的 GAE 和 PP 溶液加入 MPs 蛋白膏中,用 Fenton 氧化体系溶液(30 μmol/L FeCl<sub>3</sub>,100 μmol/L 抗坏血酸,3 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,溶解于 15 mmol/L PIPES 缓冲液)将其稀释为 40 mg/mL,充分混匀后在 4 °C 条件下氧化 12 h,通过加入 1 mmol/L Trolox 终止氧化反应。未氧化对照组(NonOx)用 PIPES 缓冲液稀释;氧化对照组(Ox)用上述相同氧化体系溶液稀释。具体的样品设置

如表 1 所示。

表 1 实验样品设置

Table 1 Settings of experimental samples

组别	处理方法
NonOx	不添加 GAE/PP+PIPES 缓冲液+Trolox 溶液
Ox	不添加 GAE/PP+ Fenton 氧化体系+Trolox 溶液
Ox+G	添加 0.2(mg/g 蛋白) GAE+ Fenton 氧化体系+ Trolox 溶液
Ox+P1	添加 1mM PP +Fenton 氧化体系+Trolox 溶液
Ox+P1+G	添加 0.2(mg/g 蛋白)GAE+1mM PP +Fenton 氧化体系+Trolox 溶液
Ox+P2	添加 2mM PP +Fenton 氧化体系+Trolox 溶液
Ox+P2+G	添加 0.2(mg/g 蛋白) GAE+2 mM PP +Fenton 氧化体系+Trolox 溶液

### 1.3.4 热诱导凝胶制备

参考付渊<sup>[19]</sup>的方法并稍做修改。首先将 2.3.3 中各组 MPs 样品置于恒温水浴锅中,逐渐升温至 80 °C 并保温 10 分钟。随后,将凝胶样品迅速转移至冰水浴中进行冷却,得到 MPs 凝胶样品储存在 4 °C 条件下过夜。进行凝胶品质的测定前,需将凝胶样品取出置于室温下平衡 1 h。

### 1.3.5 凝胶品质测定

(1) 凝胶蒸煮得率。准确称量蒸煮前离心管和 MPs 溶胶总重量,记为  $W_1$ (g),加热后除去水分称总重量,记为  $W_2$ (g),凝胶蒸煮得率( $C$ )按式(1)计算:

$$C = \frac{W_2}{W_1} \times 100\% \quad (1)$$

(2) 凝胶保水性测定。参考 MA<sup>[20]</sup>的方法并稍做修改。称取 5 g 2.3.3 中 MPs 样品于 20 ml 离心管中,按 2.3.4 中的描述的方法获得凝胶,在 4 °C,10 000 r/min 的条件下离心 10 min 除去水分,称重,试验重复 3 次,凝胶保水性  $W_{HC}$  按式(2)计算:

$$W_{HC} = \frac{W_1 - W}{W_2 - W} \times 100\% \quad (2)$$

式(2)中: $W_1$  为离心除水后离心管和凝胶总重(g); $W_2$  为离心前离心管和凝胶总重(g); $W$  为空离心管质量(g)。

(3) 凝胶白度测定。用色差计测定色差值,每个凝胶样品平行测定 3 次,计算平均值, $L^*$  为亮度值、 $a^*$  为红度值(正值偏红,负值偏绿)、 $b^*$  为黄度值(正值偏黄,负值偏蓝),凝胶白度( $W$ )按式(3)计算:

$$W = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}} \quad (3)$$

(4) 凝胶强度测定。参考曹云刚<sup>[14]</sup>的方法稍做修改。用质构分析仪测定凝胶强度,程序设定为 RETURN TO START,选择 2 mm/s 的测试前速率;

1 mm/s 的测试速率;2 mm/s 的测试后速率;下压距离 6 mm;引发力 5 g;探头型号 P/0.5。

(5) 凝胶质构测定。参考徐幸莲<sup>[21]</sup>的方法并稍做修改。凝胶质构用质构分析仪测定,程序设定为 TPA,选择 2 mm/s 测前速率;1 mm/s 测中速率;1 mm/s 测后速率;压缩比定 50%;引发力 5 g;探头型号 P/75。

(6) 凝胶动态流变学测定。将各组样品在 4 ℃, 1 000 r/min 条件下经离心 30 s 脱气后备用。在振荡温度扫描测试模式下,安装 P20/Ti-01210465 型转子,测试前在测试台上均匀涂布样品并赶掉气泡。具体测试参数设置如下:振荡频率为 0.1 Hz,最大应力为 2%,上下板狭缝为 1 mm,以 2.1 ℃/min 的升温速率进行加热,记录升温曲线(20~80 ℃),为防止在加热过程中蛋白溶液的蒸发,刮边后需在边缘涂上硅油。各组重复测定 3 次,测定指标包括流变储能模量  $G'$  和损耗模量  $G''$ 。

(7) 凝胶微观结构观察。参考 JIA 等<sup>[22]</sup>的方法,将凝胶切割为  $2 \times 2 \times 2 \text{ mm}^3$  的小块,用 10 mL pH=6.8 的戊二醛溶液(2.5% (v/v) 溶于 10 mmol/L PBS) 对凝胶进行固定 24 h,用 pH 为 6.8 的磷酸缓冲液(0.1 mol/L PBS) 清洗 10 min,重复清洗 3 次;然后依次用 50%、70%、80%、90% 和 100% 的乙醇溶液梯度脱水 3 次,每次脱水时间为 10 min;用 100% 乙醇与叔丁醇以 1:1 的比例进行置换 15 min;置换后的样品转移到样品台,进行 36 h 的冷冻干燥处理。最后,通过离子溅射仪在样品表面镀上一层 10 nm 厚的金属膜,观察微观结构(电压 15.0 kV,放大倍数 2 000 倍)。

#### 1.4 数据分析处理

每组试验重复 3 次,数据整理和作图使用 Origin 8.0,使用 SPSS 19.0 进行 ANOVA 分析数据的显著性差异,差异显著水平  $\alpha$  为 0.05。

## 2 结果与分析

### 2.1 凝胶蒸煮得率、凝胶保水性和凝胶白度

如图 1 所示,MPs 经氧化后其热诱导凝胶的蒸煮得率、保水性和白度均显著降低( $P < 0.05$ ),分别降低了 10.62%、3.83% 和 2.75%。氧化弱化了维持凝胶结构稳定的作用力,造成无序的凝胶网络结构,因此凝胶强度及凝胶质构变差的同时其蒸煮得率及保水性也受凝胶结构松塌而降低,凝胶白度降低可能是受铁离子颜色影响<sup>[23]</sup>。添加 GAE 后,凝胶蒸煮得率在氧化基础上升高了 4.74%,保水性无显著变化( $P > 0.05$ )。因受 GAE 与铁离子螯合或 GAE 被氧化为相应醌类物质所产生的颜色影响,获得颜色偏暗绿的凝胶,所测凝胶白度显著降低了 5.12% ( $P < 0.05$ )。曾有研究表明蛋白质变性可导致凝胶白度的变化<sup>[24]</sup>。P1、P1+G、P2 和 P2+G 存在时,与氧化对照相比,凝胶蒸煮得率、保水性

均显著升高( $P < 0.05$ ),蒸煮得率分别升高了 9.29%、13.40%、10.50% 和 7.85%,保水性分别升高了 7.80%、5.89%、4.27% 和 4.38%。PP 的存在有利于改善蛋白氧化对凝胶性能的破坏,此处与凝胶强度及凝胶质构所测结果吻合,凝胶网络系统越紧密,网络结构锁水能力更强,凝胶强度更强的同时凝胶蒸煮得率和保水性更佳<sup>[23]</sup>。PP 改变了蛋白质电荷密度,使蛋白间静电斥力增加,产生更大的空间截留更多的水分,因而凝胶保水性较好。同时由于 PP 的存在,凝胶白度也显著提高( $P < 0.05$ )。尤其是 P1+G 存在时,MPs 凝胶蒸煮得率、保水性及凝胶白度均显著高于 GAE 单独存在时( $P < 0.05$ ),分别提高了 8.66%、5.48% 和 5.01%,但 2 mM PP 存在时,凝胶蒸煮得率和保水性都略低于 1 mM PP 存在组。

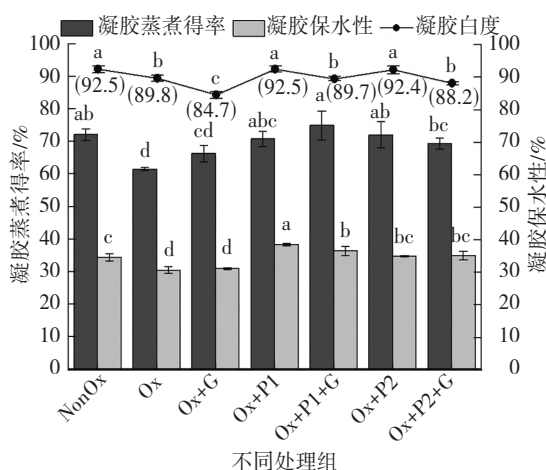


图 1 氧化及 GAE/PP 的添加对 MPs 凝胶蒸煮得率、保水性及白度的影响

Fig. 1 Effects of oxidation and GAE/PP addition on cooking yield, water-holding capacity and whiteness of MPs gel

### 2.2 凝胶强度和凝胶质构

如图 2 所示,氧化后 MPs 的凝胶强度显著降低( $P < 0.05$ ),与未氧化组相比降低了 33.40%。同时如表 2 所示其质构各参数都降低,尤其是咀嚼性和胶黏性破坏程度更大,说明蛋白质氧化后其凝胶质构较差,凝胶被破坏。曾有研究报道,热诱导的 S-S 键被认为是蛋白质凝胶基质结构的重要支撑力,因此氧化导致的 MPs 凝胶质地变差可能是因为 MPs 中-SH 含量的降低,从而导致加热过程中无序的聚集取代了有序交联<sup>[25-26]</sup>。添加 GAE 后,在氧化的基础上 MPs 凝胶强度、硬度、弹性、胶黏性进一步降低,可能是因为 GAE 的存在改变了 MPs 的氨基酸侧链或是与蛋白质加合聚集影响了蛋白热诱导凝胶的网络结构,导致部分凝胶网络结构被破坏<sup>[27]</sup>。Ox+P1+G 组的 MPs 凝胶强度、硬度、弹性、胶黏性均高于 GAE 单独存在时,且凝胶强度略高于氧化对照组。这是因为 PP 的存在使蛋白体系

的离子强度增强,热诱导形成凝胶过程中蛋白结构展开促进疏水作用,有利于蛋白质分子间形成二硫键及其他共价键,促进蛋白交联<sup>[28-30]</sup>,有效调和 GAE 与 MPs 的相互作用,改善凝胶强度和质构,从而获得更稳定的凝胶系统。然而,2 mM PP 的存在并未获得更为坚固的凝胶网络结构,反而凝胶强度、硬度、弹性和回弹性均显著降低( $P < 0.05$ ),可能是因为 PP 浓度过高导致较多的肌球蛋白溶解,磷酸基团占据了蛋白分子间隙,阻碍了蛋白间的交联,进而导致凝胶网络结构坍塌破裂,获得较软的蛋白凝胶,说明适宜浓度的 PP 才有利于凝胶成型。尚坤也曾研究报道高离子强度水平下不利于肌原纤维蛋白结构展开,减弱了非极性基团之间的疏水相互作用,对凝胶的形成有抑制作用<sup>[16]</sup>。

表 2 氧化及 GAE/PP 的添加对 MPs 凝胶质构特性的影响(平均值±标准差,  $n=3$ )

Table 2 Effects of oxidation and GAE/PP addition on texture properties of MPs gel (mean ± standard deviation,  $n=3$ )

组别	质构参数					
	硬度/g	弹性	凝聚性	胶黏性	咀嚼性	回弹性
NonOx	459.37±79.04 <sup>a</sup>	0.31±0.01 <sup>a</sup>	0.27±0.04 <sup>a</sup>	127.65±36.79 <sup>a</sup>	39.84±12.72 <sup>a</sup>	0.04±0.01 <sup>cd</sup>
Ox	387.43±9.77 <sup>ab</sup>	0.27±0.02 <sup>abc</sup>	0.22±0.02 <sup>b</sup>	86.64±10.82 <sup>b</sup>	23.05±2.95 <sup>b</sup>	0.03±0.01 <sup>d</sup>
Ox+G	257.66±118.43 <sup>bc</sup>	0.22±0.00 <sup>c</sup>	0.23±0.00 <sup>b</sup>	58.92±28.23 <sup>bc</sup>	13.14±5.96 <sup>b</sup>	0.06±0.01 <sup>abc</sup>
Ox+P1	301.33±126.04 <sup>bc</sup>	0.30±0.05 <sup>ab</sup>	0.20±0.02 <sup>b</sup>	61.95±29.26 <sup>bc</sup>	19.54±12.37 <sup>b</sup>	0.06±0.01 <sup>a</sup>
Ox+P1+G	368.13±31.81 <sup>ab</sup>	0.26±0.02 <sup>bc</sup>	0.22±0.00 <sup>b</sup>	82.28±6.06 <sup>b</sup>	21.30±2.73 <sup>b</sup>	0.06±0.01 <sup>a</sup>
Ox+P2	211.41±71.23 <sup>c</sup>	0.23±0.03 <sup>c</sup>	0.21±0.03 <sup>b</sup>	45.18±15.9 <sup>bc</sup>	10.55±4.96 <sup>b</sup>	0.06±0.01 <sup>ab</sup>
Ox+P2+G	202.95±57.14 <sup>c</sup>	0.23±0.01 <sup>c</sup>	0.20±0.03 <sup>b</sup>	38.76±7.60 <sup>c</sup>	8.96±1.62 <sup>b</sup>	0.05±0.01 <sup>bcd</sup>

注:同列不同小写字母表示各指标的平均值差异显著( $P < 0.05$ )。

### 2.3 凝胶流变特性分析

如图 3 所示,未氧化 MPs 样品的  $G'$  值在 50 °C 呈现明显的初始增加,加热升温至 62 °C 时出现第一个转变峰,此时归因于蛋白质的变性与聚集,继续升温至 73 °C 出现第二个转变峰,从 62 °C 到 73 °C 时, $G'$  值急剧降低可归因于轻度肌球蛋白变性,随后  $G'$  值再次急剧增加可归因于蛋白或复合物发生永久的不可逆变性形成稳定的蛋白凝胶。氧化后 MPs 样品的  $G'$  曲线整体明显低于未氧化组,说明轻度氧化会改变蛋白构象,导致形成的凝胶弹性降低,这可能与蛋白氧化改变了氨基酸侧链有关。添加 0.2 mg/g 蛋白 GAE 组的两个转变峰明显高于氧化对照组,尤其是加热终点的  $G'$  值,升高更为明显,甚至高于未氧化组,说明添加 GAE 可有效增强 MPs 凝胶弹性,有利于凝胶网络的形成,这可能是 GAE 与 MPs 相互作用,促进了肌球蛋白头部-头部,尾部-尾部相互作用,加强了蛋白交联聚集,从而形成更加致密的凝胶网络结构,此外加上 GAE 具有抵抗 MPs 氧化的效果,可进一步促进蛋白与 GAE 相互作用。添加 1 mM PP 的 MPs 的  $G'$  曲线整体急剧降低,但还存在第一个转

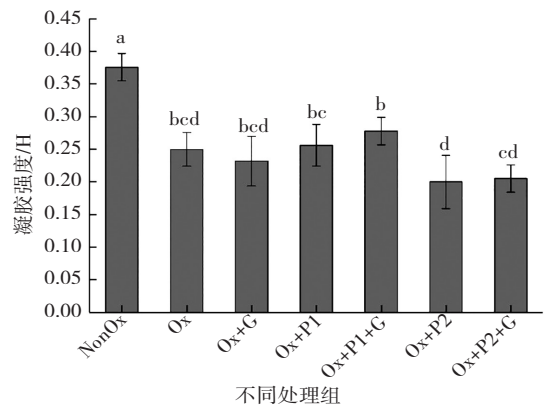
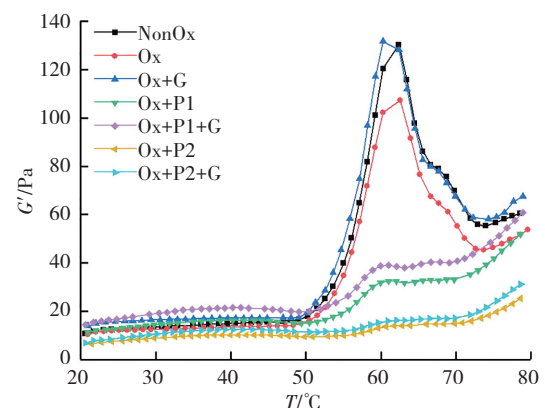
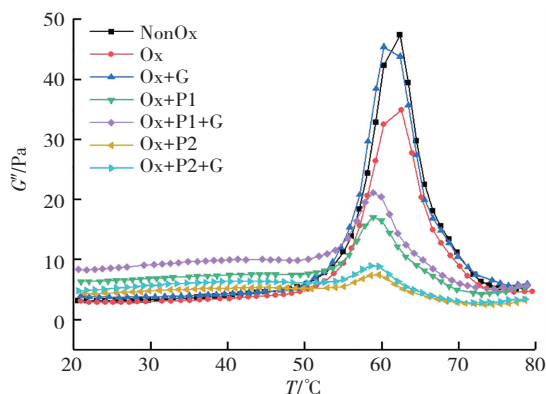


图 2 氧化及 GAE/PP 的添加对 MPs 凝胶强度的影响  
Fig. 2 Effects of oxidation and GAE/PP addition on the strength of MPs gel

变峰,第二个转变峰消失,说明 1 mM PP 的存在会导致凝胶弹性急剧下降,严重影响蛋白的凝胶性能,尤其是 2 mM PP 存在时, $G'$  曲线更低,甚至两个典型转变峰都消失,这可能是因为 PP 会解离肌动球蛋白,导致蛋白构象发生变化,蛋白交联性能降低,导致凝胶性能降低。然而,GAE 与 PP 同时存在时, $G'$  曲线都略高于 PP 单独存在时,说明 GAE 一定程度上可与 MPs 相互作用,阻止部分肌动球蛋白的解离。



(a) 储能模量( $G'$ )



(b) 损耗模量 ( $G''$ )

图 3 氧化及 GAE/PP 的添加对 MP's 储能模量 ( $G'$ ) 和损耗模量 ( $G''$ ) 的影响

Fig. 3 Effects of oxidation and GAE/PP addition on energy storage modulus ( $G'$ ) and loss modulus ( $G''$ ) of MP's

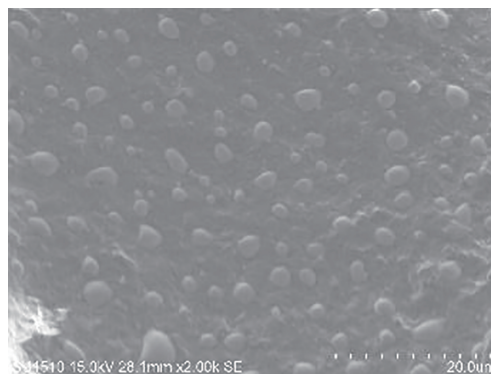
损耗模量 ( $G''$ ) 的变化趋势与储能模量 ( $G'$ ) 基本一致,损耗模量 ( $G''$ ) 明显低于储能模量 ( $G'$ ),说明在加热形成凝胶过程中弹性的作用远高于黏度。氧化导致 MP's 凝胶弹性下降的同时,其黏度也随之下降,GAE 的存在同样促使 MP's 凝胶具有同未氧化组一样的黏度,PP 的存在也相应急剧降低了 MP's 凝胶的黏度,PP 浓度越高,凝胶黏度越低,但凝胶仍然存在转变峰。与  $G'$  曲线的变化趋势一致,GAE 与 PP 同时存在时的  $G''$  值明显高于 PP 单独存在时的  $G''$  值。由此表明,损耗模量与储能模量的变化呈正相关。

综上所述,添加 GAE 不会破坏 MP's 凝胶特性,反而有利于形成更加致密的凝胶体系,提高了氧化环境下 MP's 的凝胶弹性和黏度,此处与质构所测结果吻合。然而,PP 存在时严重影响了 MP's 凝胶特性,储能模量急剧下降,破坏了 MP's 凝胶特性,弹性和黏度都相应降低。CAO 等<sup>[15]</sup>曾报道 PP 的存在会显著降低  $G'$  值,进而降低凝胶弹性,这可能是因为 PP 促进了肌球蛋白分解为肌球蛋白和肌动蛋白,或是 PP 的存在提高了 MP's 的绝对电位。徐幸莲等<sup>[31]</sup>曾研究报道磷酸盐 (TSPP 与 SPP) 存在时会改变蛋白质的电荷密度,提高离子强度,偏离等电点,导致蛋白间的电荷互斥在蛋白间形成更大的空间,进而阻碍了蛋白加热变性阶段的凝聚。此外,磷酸盐可能还会对影响凝胶热稳定性的肌球蛋白头部的 ATPase 活性产生一定的影响。

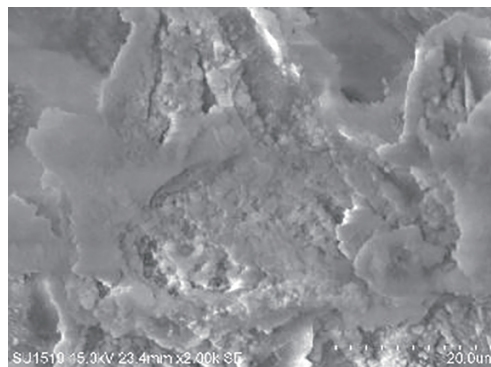
#### 2.4 凝胶微观结构

利用扫描电子显微镜 (SEM) 放大 2000 倍观察凝胶微观结构的变化。如图 4 所示,未氧化的 MP's 凝胶呈现平整、均匀、连续、致密的结构,氧化后出现大块聚集体,凝胶结构明显变粗糙且不规则,同时聚集体之间可见明显孔隙,氧化后蛋白凝胶结构的恶化主要与氧化导致的蛋白聚集有关<sup>[18]</sup>。孔隙的存在也就解释了氧

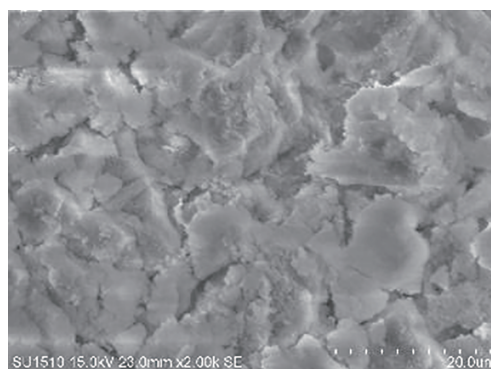
化后蛋白凝胶保水性及凝胶强度的弱化。在氧化对照的基础上,GAE 的存在促进了更多蛋白质的交联聚集,凝胶结构呈碎片化且孔隙增多,这可能与 GAE 中的酚类物质与 MP's 相互作用形成“巯基-醌”或“氨基-醌”加合物有关<sup>[32]</sup>。



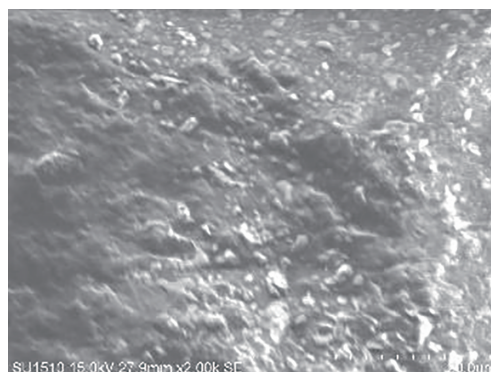
(a) NonOx 凝胶微观结构



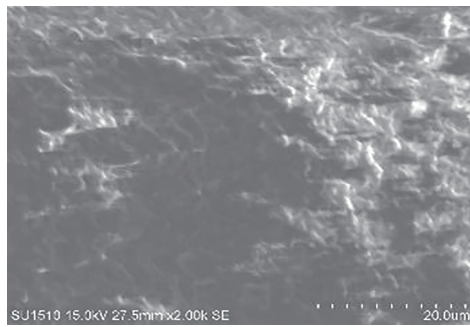
(b) Ox 凝胶微观结构



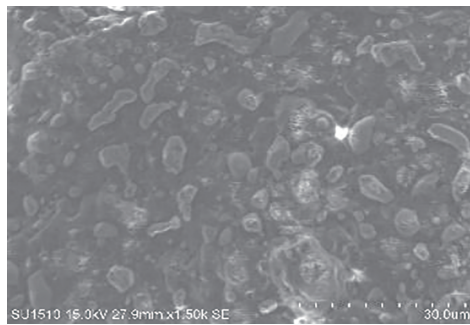
(c) Ox+G 凝胶微观结构



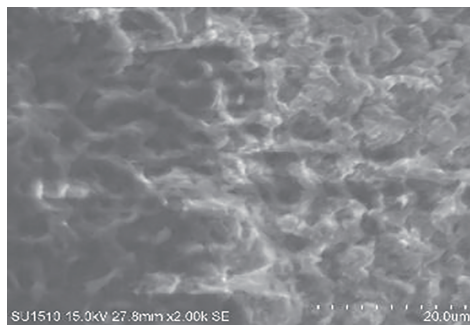
(d) Ox+P1 凝胶微观结构



(e) Ox+P1+G 凝胶微观结构



(f) Ox+P2 凝胶微观结构



(g) Ox+P2+G 凝胶微观结构

图 4 氧化及 GAE/PP 的添加对 MPs 凝胶微观结构的影响  
Fig. 4 Effects of oxidation and GAE/PP addition on the microstructure of MPs gels

1 mM PP 单独存在时,凝胶结构较氧化对照组更为连续和致密,大块团聚体和孔隙减少。可能是因为 PP 螯合铁离子阻碍了氧化对蛋白结构的影响,进而获得较优的凝胶性能。P1+G 存在时呈现的凝胶结构比 GAE 单独存在时的凝胶结构更为连续和致密,说明适量 PP 的存在可有效改善 GAE 对 MPs 凝胶性能的影响,此处也就解释了为何 Ox+P1+G 组的 MPs 凝胶拥有较优的凝胶性能。然而,2 mM PP 的存在并不会改善 GAE 对 MPs 凝胶性能的破坏,与 P1+G 存在时的凝胶结构相比,P2+G 存在时呈现较粗糙且较多孔隙的凝胶结构,可能是因为盐离子强度也会影响蛋白溶解度及交联聚集行为,进而获得较差的凝胶性能,说明适量的盐离子强度才有利于蛋白凝胶性能。

### 3 结论

GAE 和 PP 对 MPs 的氧化稳定性及凝胶特性的调控与 PP 的浓度具有一定的浓度效应。与氧化对照相

比,添加 GAE 会导致 MPs 凝胶的品质进一步降低,但 1 mM PP 与 GAE 共同作用时显著提高了凝胶强度、硬度及黏弹性,获得更佳的蒸煮得率、保水性及白度。相反,添加 2 mM PP 会严重破坏 MPs 凝胶的品质,获得的凝胶空洞增多,凝胶结构粗糙,保水能力大大下降,相应凝胶强度及黏弹性也较差。适量浓度的 GAE 与 PP 复配才对 MPs 氧化、结构及凝胶特性产生协同调控作用。

### 参考文献(References):

- [1] JIA N, ZHANG F, LIU Q, et al. The beneficial effects of rutin on myofibrillar protein gel properties and related changes in protein conformation[J]. Food Chemistry, 2019, 301: 125206.
- [2] 常海军, 周文斌. 畜禽肉制品加工工艺与技术[M]. 哈尔滨: 哈尔滨工程大学出版社, 2018: 56-59.  
CHANG Hai-jun, ZHOU Wen-bin. Processing technology and technology of livestock and poultry meat products[M]. Harbin: Harbin Engineering University Press, 2018: 56-59.
- [3] XIONG Y L. Food Proteins and their Applications[M]. Boca Raton: CRC Press, 2017: 341-392.
- [4] 夏秀芳, 孔保华, 张宏伟. 肌原纤维蛋白凝胶形成机理及影响因素的研究进展[J]. 食品科学, 2009, 30(9): 264-268.  
XIA Xiu-fang, KONG Bao-hua, ZHANG Hong-wei. Research progresses on gel formation mechanism and affecting factors of myofibrillar protein[J]. Food Science, 2009, 30(9): 264-268.
- [5] 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.
- [6] DU J, ZHOU C, XIA Q, et al. The effect of fibrin on rheological behavior, gelling properties and microstructure of myofibrillar proteins[J]. LWT, 2022, 153: 112457.
- [7] KARRE L, LOPEZ K, GETTY K J K. Natural antioxidants in meat and poultry products[J]. Meat Science, 2013, 94(2): 220-227.
- [8] 曹晖. 中药鼠曲草的本草考证[J]. 江西中医学院学报, 1992, 4(2): 42-43, 48.  
CAO Hui. Textual research on the herbal medicine of the traditional Chinese medicine rat-weed[J]. Journal of Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, 1992, 4(2): 42-43, 48.
- [9] 熊杰, 伯朝英, 常海军, 等. 鼠曲草提取物对·OH 诱导的肌原纤维蛋白氧化及结构的影响[J]. 食品工业科技, 2022, 43(3): 72-80.  
XIONG Jie, BO Zhao-ying, CHANG Hai-jun, et al. Effects of the extract of gnaphalium affine on the oxidation and structure of myofibrillar protein induced by ·OH[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(3): 72-80.
- [10] 高浩祥, 薛凡, 何强, 等. 鼠曲草提取物对食用油脂贮藏过程中氧化酸败的抑制及机理研究[J]. 食品工业科技, 2017, 38(4): 148-151, 157.  
GAO Hao-xiang, XUE Fan, HE Qiang, et al. Inhibition and mechanism of Gnaphalium affine extract on the oxidation of edible oil during storage[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(4): 148-151, 157.
- [11] ZENG W C, ZHANG W C, ZHANG W H, et al. The

- antioxidant activity and active component of *Gnaphalium affine* extract[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2013, 58: 311-317.
- [12] UDDIN M S, SALA UDDIN G M, BEGUM M M, et al. Inspection of phytochemical content and *in vitro* antioxidant profile of *Gnaphalium luteoalbum* L.: An unexplored phytomedicine[J]. *Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences*, 2017, 7(3): 136-146.
- [13] CHANG H, SHI Y, XIONG J, et al. Effects of *Gnaphalium affine* extract (GAE) and sodium pyrophosphate (PP) on  $\cdot\text{OH}^-$  induced oxidation and the structure of myofibrillar proteins[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2024, 59(3): 2042-2055.
- [14] 曹云刚. 植物多酚对肉蛋白氧化稳定性和功能特性的影响机理及应用[D]. 无锡: 江南大学, 2016: 5-7.  
CAO Yun-gang. Effect of plant-derived polyphenols on oxidative stability and functional properties of meat proteins: Mechanism and application[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2016: 5-7.
- [15] CAO Y, MA W, HUANG J, et al. Effects of sodium pyrophosphate coupled with catechin on the oxidative stability and gelling properties of myofibrillar protein[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 104: 105722.
- [16] 尚坤. 不同磷酸盐对虾蛄肌原纤维蛋白功能特性的影响及应用[D]. 天津: 天津商业大学, 2019: 7-8.  
SHANG Kun. Effects of different phosphates on functional properties of myofibrillar protein from mantis shrimp and Application[D]. Tianjin: Tianjin University of Commerce, 2019: 7-8.
- [17] PARK D, XIONG Y L, ALDERTON A L. Concentration effects of hydroxyl radical oxidizing systems on biochemical properties of porcine muscle myofibrillar protein[J]. *Food Chemistry*, 2007, 101(3): 1239-1246.
- [18] 周非白. 氧化修饰对猪肉肌原纤维蛋白结构与功能特性的调控研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2016: 13-16.  
ZHOU Fei-bai. Oxidative modification on porcine myofibrillar protein in relation to structural changes and functional properties[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2016: 13-16.
- [19] 付渊. L-精氨酸、L-赖氨酸对鸡胸肉中肌球蛋白凝胶特性的影响[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2016: 9-10.  
FU Yuan. Study on the Influences of L-Lys/L-Arg on the gel properties of chicken breast myosin[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2016: 9-10.
- [20] MA F, CHEN C, ZHENG L, et al. Effect of high pressure processing on the gel properties of salt-soluble meat protein containing  $\text{CaCl}_2$  and  $\kappa$ -carrageenan[J]. *Meat Science*, 2013, 95(1): 22-26.
- [21] 徐幸莲. 兔骨骼肌肌球蛋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: 1-8.  
XU Xing-lian. Study on heat-induced gelation properties and gel forming mechanism of myosin from rabbit skeletal muscles[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2003: 1-8.
- [22] JIA N, WANG L, SHAO J, et al. Changes in the structural and gel properties of pork myofibrillar protein induced by catechin modification[J]. *Meat Science*, 2017, 127: 45-50.
- [23] LI Y, LI X, WANG J Z, et al. Effects of oxidation on water distribution and physicochemical properties of porcine myofibrillar protein gel[J]. *Food Biophysics*, 2014, 9(2): 169-178.
- [24] HWANG J S, LAI K M, HSU K C. Changes in textural and rheological properties of gels from tilapia muscle proteins induced by high pressure and setting[J]. *Food Chemistry*, 2007, 104(2): 746-753.
- [25] XIONG Y L, BLANCHARD S P, OOIZUMI T, et al. Hydroxyl radical and ferryl-generating systems promote gel network formation of myofibrillar protein[J]. *Journal of Food Science*, 2010, 75(2): C215-C221.
- [26] SHEN H, STEPHENELMORE J, ZHAO M, et al. Effect of oxidation on the gel properties of porcine myofibrillar proteins and their binding abilities with selected flavour compounds[J]. *Food Chemistry*, 2020, 329: 127032.
- [27] FENG X, LI C, ULLAH N, et al. Potential biomarker of myofibrillar protein oxidation in raw and cooked ham: 3-nitrotyrosine formed by nitrosation[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 63(51): 10957-10964.
- [28] 陈振家, 郝利平. pH值和离子强度对大豆分离蛋白功能特性的影响[J]. *农产品加工(学刊)*, 2008(4): 8-12.  
CHEN Zhen-jia, HAO Li-ping. The effect of pH value and ionic strength on the functional properties of soybean protein isolate[J]. *Academic Periodical of Farm Products Processing*, 2008(4): 8-12.
- [29] ÇARKCIOĞLU E, ROSENTHAL A J, CANDOĞAN K. Rheological and textural properties of sodium reduced salt soluble myofibrillar protein gels containing sodium triphosphate[J]. *Journal of Texture Studies*, 2016, 47(3): 181-187.
- [30] 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.
- [31] 徐幸莲, 王霞, 周光宏, 等. 磷酸盐对肌球蛋白热凝胶硬度、保水性和超微结构的影响[J]. *食品科学*, 2005, 26(3): 42-46.  
XU Xing-lian, WANG Xia, ZHOU Guang-hong, et al. Effect of phosphates on heat-induced gelation properties of myosin from rabbit skeletal muscles[J]. *Food Science*, 2005, 26(3): 42-46.
- [32] YOU J, LUO Y, WU J. Conjugation of ovotransferrin with catechin shows improved antioxidant activity[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(12): 2581-2587.

责任编辑:陈芳