糖基化鹰嘴豆分离蛋白对肌原纤维蛋白凝胶特性的影响

韩雪[1,2]，姚力丹[1]，崔冰冰[1]，许旭[1]，何向丽[1*]

（1.郑州轻工业大学河南省冷链食品质量安全控制重点实验室，河南郑州 450001）

（2.漯河市食品安全事务服务中心，河南漯河 462000）

摘要：为开发高品质植物蛋白-动物蛋白复合产品，该研究通过热处理对鹰嘴豆分离蛋白（Chickpea Protein Isolate，CPI）进行糖基化改性，考察了添加不同质量分数（1%、5%、10%）CPI 对肌原纤维蛋白（Myofibrillar Protein，MP）凝胶特性的影响。结果表明：添加 CPI 使 MP 的白度值、蒸煮损失率显著降低，溴酚蓝结合量显著增加，水分分布中弱结合水（T_{22}）增加，自由水（T_{23}）减少，尤其在 CPI 经过糖基化后效果更加明显，在糖基化 CPI 添加量 10%水平下，比未添加 CPI 的 MP 凝胶的蒸煮损失率下降 43.98%，溴酚蓝结合量增高 49.98%，伪彩图红色特征更明显，激光共聚焦发现凝胶微观结构更为致密。此外，添加 CPI 使 MP 凝胶质构特性显著降低（P<0.05），但是经糖基化改性后，CPI 对 MP 凝胶质构的影响效果显著优于未糖基化 CPI。动态流变学显示所有样品凝胶弹性大幅增加，表明 CPI 与 MP 的混合体系凝胶化增强。综上，糖基化 CPI 更有利于改善 MP 凝胶性能和保水性，为进一步开发新型植物蛋白-动物蛋白复合体系提供理论依据。

关键词： 鹰嘴豆分离蛋白；糖基化；肌原纤维蛋白；凝胶特性

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.9.0857

Effect of Glycosylated-Chickpea Protein Isolate on the Gel Characteristics of Myofibrillar Protein

HAN Xue[1,2], YAO lidan[1], CUI Bingbing[1], XU Xu[1], He Xiangli[1*]

(1.Henan Provincial Key Laboratory for Quality Control of Cold Chain Food Safety, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China)(2.Food Safety Service Centre of Luohe City, Luohe 462000, China)

Abstract: To develop high-quality plant protein-animal protein composite products, chickpea protein isolate (CPI) was modified via glycation through heat treatment. The gel properties of myofibrillar protein (MP) were then investigated after the addition of the modified CPI at mass fractions of 1%, 5%, and 10%, based on the mass of MP. The results indicated that the addition of CPI significantly reduced the whiteness value and cooking loss rate of MP, significantly increased the binding amount of bromocresol blue, and increased the amount of weakly bound water (T_{22}) in the water distribution while reducing the amount of free water (T_{23}). The effect was more pronounced especially after the CPI underwent glycosylation. At the 10% addition level of glycosylation CPI, the cooking loss rate of the MP gel was decreased by 43.98% compared to the MP gel without CPI addition, the binding amount of bromophenol blue was increased by 49.98%, the red feature of the pseudo-color image was more obvious, and the laser confocal microscopy (LSCM) revealed that the microstructure of the gel was more dense. Furthermore, the addition of CPI significantly reduced the gel properties of MP (P<0.05). However, the effect of glycosylated CPI on the gel properties of MP was significantly better than that of the unglycosylated CPI. Dynamic rheology showed that the gel elasticity of all samples was increased significantly, indicating that the gelation of MP-CPI composite system was enhanced. In conclusion, glycosylated CPI was more conducive to improving the performance of MP gel, providing a theoretical basis for the further development of new plant protein-animal protein composite systems.

Key words: Chickpea protein isolate; glycosylation; myofibrillar protein; gel properties

收稿日期：2025-06-20；修回日期：2025-09-22；接受日期：2025-09-26

基金项目：河南省科技攻关项目（252102111043；252102320256）；河南省市场监督管理局科技计划项目（HNSCJGK202473；HNSCJGK202474）

作者简介：韩雪（1990-），女，硕士，工程师，研究方向：食品质量安全与控制，E-mail：lhayhx@163.com

通讯作者：何向丽（1991-），女，博士，讲师，研究方向：肉制品加工与质量控制，E-mail：xiang777791@163.com

肌原纤维蛋白（Myofibrillar Protein，MP）是肌肉组织中重要的结构蛋白，其组成包括肌球蛋白、肌动球蛋白、肌动蛋白、原肌球蛋白、原肌球蛋白等成分，约占肌肉总蛋白的 50%~60%[1]。在肉制品加工中，MP 凝胶特性直接影响肉制品的质地、口感和稳定性。MP 凝胶形成易受（肌动蛋白、肌球蛋白、肌肉的类型等）固有因素和（加热、外源添加剂、压力等）外界因素影响[2]。目前超声波辅助处理[3]、高压[4]等技术已经用于改善肉糜凝胶特性，这些技术通常需要较高成本。添加植物蛋白不仅改善 MP 凝胶的特性，还能节约成本，满足消费者对植物蛋白肉等健康饮食的追求，受到研究者和食品企业的关注。例如，Somjid 等[5]在马鲛鱼中添加大豆分离蛋白，研究发现可以显著提高马鲛鱼肉糜的凝胶特性、蛋白质结构和微观结构。Yoon 等[6]在太平洋鳕鱼添加不同含量的马铃薯分离蛋白，研究发现肉糜保水性、凝胶强度、凝胶破断力、白度等都显著提高。

鹰嘴豆分离蛋白（Chickpea Protein Isolate，CPI）是一种优质植物蛋白质，具有氨基酸比例均衡[7]、高生物利用率[8]、低致敏性[9]等营养特性，此外，还具有抗氧化、降血脂等生理功能[10]。然而，植物细胞壁的复杂性和抗因子的存在[11]，导致其溶解性、乳化性、凝胶性等功能特性受到多种因素的限制。因此，在食品工业应用中一般需对其改性，提高功能特性。目前主要有物理（如高压均质[12]、超声波处理[13]等）、化学（如琥珀酰化、乙酰化、糖基化）和酶法[14]（如转谷氨酰胺酶交联）等改性方法对 CPI 的结构进行优化。

糖基化改性是一种绿色有效的植物蛋白改性方法，不需要添加任何化学试剂，通过 Maillard 反应将碳水化合物共价连接到蛋白质上的化学修饰过程，从而改变蛋白质的功能特性[15]，Li 等[16]研究得出经糖基化后乳清分离蛋白起泡性、乳化性能和稳定性都得到了改善。Zhu 等[17]发现豌豆分离蛋白和多糖糖基化后可以增加蛋白质-水之间的相互作用，提高溶解性和乳化性。贾伟祎等[11]研究发现糖基化改性有利于改善 CPI 结构和功能性质。相关研究表明，糖基化后植物蛋白可显著改善其溶解性、乳化性、凝胶性等性质[18,19]，在食品应用中具有重要的研究前景。目前将糖基化的 CPI 用于改善 MP 的凝胶特性的报道还很少见。因此，本文研究糖基化 CPI 对改善 MP 凝胶特性的影响，不仅为开发新型植物蛋白-动物蛋白复合体系提供理论依据，同时为改善肉制品品质提供新的思路和方法。

1 材料与方法

1.1 原料

卡布里鹰嘴豆，购于宁夏自治区固原市；鸡胸肉，购于丹尼斯超市；氯化钠、氯化镁、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠，购于国药试剂公司；葡萄糖、乙二醇双（2-氨基乙基醚）四乙酸（Ethylenebis(Oxyethylenenitrilo)Tetraacetic acid，EGTA）、溴酚蓝、十二烷基硫酸钠（Sodium Dodecyl Sulfate，SDS），购于上海麦克林试剂公司；牛血清蛋白，购于阿拉丁试剂公司。以上试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器设备

Lab-1-50 冷冻干燥机， 北京博医康实验仪器有限公司；HH-42 水浴锅，常州国华电器有限公司；AB265-S 分析天平，梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司；PHS-3C pH 计，上海雷磁仪器厂；DF-101S 磁力搅拌器，河南省予华仪器有限公司；T25 数显型高速匀浆机，德国 IKA 公司；TU-1810 紫外可见分光光度计，北京普析通用仪器有限责任公司；Invia Raman 激光共聚焦显微拉曼光谱仪，英国雷尼绍公司；NMI20 低场核磁共振仪，纽迈电子科技（苏州）有限公司；CS-10 色差仪，杭州彩谱科技有限公司；TA-XT Plus 质构分析仪，英国 Stable Micro System 公司；T18 高速匀浆机，德国 IKA 公司；Discovery 流变仪，美国 TA 仪器公司；TG16-WS 高速离心机，常州市万合仪器制造有限公司；AvantiJ-26S XPI 大容量高速冷冻离心机，美国 Beckman Coulter 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 CPI 的制备

参考 Wang 等[20]的方法，将鹰嘴豆在 50 ℃下烘干至质量恒定，含水量为 3.91%，粉碎过 80 目筛。将鹰嘴豆原粉与正己烷按照质量体积比 1:8（*m/V*）混合均匀，搅拌 2~3 h 获得沉淀，重复上述步骤后将收集的沉淀置于通风橱 12 h 后得脱脂粉。将脱脂粉与去离子水按照质量体积比 1:8（*m/V*）混合，用 2 mol Ł$^{-1}$ 的 NaOH 将 pH 值调至 9.0，在 6 000 r·min^{-1} 下离心 15 min，取上清液后用 1mol/L 的 HCI 将 pH 值调至 4.9，在 6 000 r·min^{-1} 下离心 15 min，获取沉淀后将 pH 值调至 7.0 透析。将透析后的样品置于冷冻干燥机预冻 3 h，后抽真空至箱体真空度达约 40 Pa

后，拧紧阀门，继续冷冻干燥 15 h 后即获得 CPI 样品，具体成分：蛋白质（76.36±3.82%）、水分（7.63±0.69%）、脂肪（2.14±0.57%）、灰分（3.62±0.43%）。

1.3.2 糖基化 CPI 的制备

糖基化 CPI 的制备过程参照王松[21]报道的方法并稍作修改。精确称取等质量的 CPI 与葡萄糖（质量比 1:1）于洁净烧杯中，加入适量去离子水调节至蛋白质浓度为 8%。使用保鲜膜将烧杯密封后，置于 70 ℃的恒温水浴锅中反应 4 h，然后取出样品进行冷冻干燥，测定冻干产物的蛋白质含量，备用。

1.3.3 MP 的提取

所有操作均在 4 ℃低温环境下完成。实验步骤如下：（1）预处理：剔除鸡胸肉可见的结缔组织和脂肪后，将鸡胸肉组织切块并通过绞肉机粉碎；（2）初次提取：按 1:4（*m/V*）比例加入提取缓冲液（10 mmol·L^{-1} Na_2HPO_4·12 H_2O/NaH_2PO_4·2H_2O、2 mmol·L^{-1} $MgCl_2$·6H_2O、0.1 mol·L^{-1} NaCl、1 mmol·L^{-1} EGTA，pH 值 7.0），采用高速匀浆机间歇处理（30 s 工作/30 s 暂停，共 1 min）；（3）粗提物制备：匀浆液经单层纱布过滤后，2 000×*g* 离心 15 min，保留沉淀；（4）重复提取：重复步骤初次提取与粗提物制备两次；（5）纯化：沉淀物以 1:4（*m/V*）比例重悬于洗涤液（0.1 mol·L^{-1} NaCl、10 mmol·L^{-1} Na_2HPO_4·12H_2O/NaH_2PO_4·2H_2O），相同条件匀浆后离心；（6）终处理：重复洗涤步骤两次，末次离心前采用三层纱布过滤；（7）保存：纯化后的 MP 于 4 ℃保存，48 h 内完成后续实验。然后用双缩脲法对蛋白质浓度进行测定。

1.3.4 CPI 与 MP 的复合

分别称取 2.4 g 糖基化 CPI 与非糖基化的 CPI 分别加入 60 mL 缓冲液（0.1 mol·L^{-1} NaCl、10 mmol·L^{-1} Na_2HPO_4·12H_2O/NaH_2PO_4·2H_2O，pH 值 7.0）中，在磁力搅拌器上搅拌过夜。将 MP 分散到一定体积的缓冲液中，使其分离物的浓度调整至 40 mg·mL^{-1}，随后将提取的 MP 与糖基化 CPI 按适当比例（分别向 MP 中添加 1%、5%、10%的糖基化 CPI 与非糖基化的 CPI）混合，对复合蛋白进行各指标测定。

1.3.5 复合蛋白凝胶的制备

参照王博等[22]的方法，将蛋白质以 40 mg·mL^{-1} 的浓度溶解于 0.6 mol·L^{-1} NaCl 溶液中，使用高速匀浆机以 10 000×*g* 的转速处理 60 s 使其充分混匀。随后在 500×*g* 下离心 3 min 去除气泡。将处理后的样品放入 10 ml 密封的烧杯中，置于恒温水浴锅中，以 25 ℃为起始温度，加热至 80 ℃，并在 80 ℃下保持 30 min。热处理完成后立即冰浴冷却，最后转移至 2~4 ℃冰箱冷藏 12 h 进行凝胶熟成。在进行各项测试前，需将凝胶样品取出并在室温条件下平衡 30 min 以确保温度均匀。其中，向 MP 中添加 1%的非糖基化 CPI，简称为 1% C，向 MP 中添加 5%的非糖基化 CPI，简称为 5% C，向 MP 中添加 10%的非糖基化 CPI，简称为 10% C，向 MP 中添加 1%的糖基化 CPI，简称为 1% G，向 MP 中添加 5%的糖基化 CPI，简称为 5% G，向 MP 中添加 10%的糖基化 CPI，简称为 10% G，空白对照为质量浓度为 40 mg·mL^{-1} MP 组。

1.3.6 复合蛋白凝胶白度值的测定

采用色差仪测定凝胶的 L^*值、a^*值、b^*值，白度值（*V*）按照公式（1）计算：

$$V = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + (a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (1)$$

式中：

V——凝胶白度值，%;

*L**——蛋白凝胶亮度值（0 代表黑色，100 代表白色）;

*a**——蛋白凝胶红绿偏差值（*a**为正时表示红色，*a**为负时表示绿色）;

*b**——蛋白凝胶的黄度偏差值（*b**为正时表示黄色，*b**为负时表示蓝色）。

1.3.7 复合蛋白凝胶质构的测定

采用质构剖面分析法对复合蛋白凝胶的力学特性进行测定。待测样品在 25 ℃环境下平衡 30 min 后，使用物性分析仪进行检测[22]。仪器参数设置为：测试前速率为 5 mm·s^{-1}，测试速率为 2 mm·s^{-1}，测试后速率为 5 mm·s^{-1}，下压距离为凝胶高度的 50%，引发力为 5 g，探头型号选择 $P_{0.5}$。每组样品重复测定 6 次，结果取算术平均值作为最终数据，该测试方法可准确评估凝胶的硬度、弹性等关键质构特性。

1.3.8 复合蛋白凝胶蒸煮损失的测定

凝胶蒸煮损失的测定参考 Jin 等[23]报道的方法并适当优化。准确称取 6.00 g（W_1）待测凝胶样品。样品经 500×*g*

离心 3 min 后，置于恒温水浴中，以 25 ℃为起始温度，加热至 80 ℃，并在 80 ℃下保持 30 min。随后将样品转移至 4 ℃冷藏 12 h 使其充分凝胶化。次日取出凝胶，倒置于滤纸上 20 min 沥除游离水分，再次称重（W_2）。每个实验组设置 6 个平行样，按公式（2）计算蒸煮损失（A）：

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

式中：

A——蛋白凝胶加热后水分损失率，%;

W_1——蛋白凝胶加热前样品质量，g;

W_2——蛋白凝胶加热后样品质量，g。

1.3.9 流变特性的测定

依据 Kang 等[24]的方法进行测定，并略有修改。采用 40 mm 平板夹具，上下夹具间隙为 0.6 mm，通过施加 1%的应变且恒定频率为 0.1 Hz 进行温度扫描。从 20 ℃以 5 ℃ min^{-1} 的升温速率加热至 80 ℃。样品裸露表面用甲基硅油密封。分别计算弹性模量 G'与损耗模量 G''作为温度的函数。

1.3.10 复合蛋白表面疏水性的测定

蛋白质表面疏水性的测定参照 Chelh 等[25]建立的溴酚蓝结合法。取 3 mg mL^{-1} 蛋白溶液 1 mL 与 1 mg mL^{-1} 溴酚蓝溶液 200 μL 混合，室温磁力搅拌 10 min 后，7 000 r min^{-1} 离心 15 min。收集上清液用缓冲液稀释 10 倍，于 595 nm 处测定吸光度值（A_1）。空白组制备采用 20 mmol L^{-1} 磷酸盐缓冲液（pH 值 6.0）代替蛋白溶液，其余步骤相同，测得吸光度（A_0）。按公式（3）计算溴酚蓝结合量（B），以此表征蛋白质表面疏水性程度。

$$B=\frac{A_0-A_1}{A_0}\times 200\,\mu g \quad (3)$$

式中：

B——蛋白溶液溴酚蓝结合量，μg;

A_0——空白组样品上清液吸光度;

A_1——蛋白溶液上清液的吸光度;

200 μg——测定中加入溴酚蓝总质量。

1.3.11 复合蛋白凝胶水分分布的测定

采用低场核磁共振技术测定复合凝胶的水分分布特性，实验方法基于 Han 等[26]的研究方案。使用 NM120 型核磁共振分析仪进行测试，具体参数设置如下：测定温度控制在（32.00±0.01）℃，共振频率 18 MHz，累计扫描次数 16 次，回波数 12 000 个，重复采样间隔时间 100 ms，半回波时间 200 μs。通过测定横向弛豫时间（T_2）来表征水分子的迁移性及其与凝胶基质的结合状态。

1.3.12 复合蛋白凝胶激光共聚焦的测定

将复合蛋白凝胶切成大约 5 mm×5 mm×1 mm 的薄片，然后吸取 20 μL 染料，染料用异硫氰酸荧光素（FITC，0.01%二甲基亚砜溶解）染色复合蛋白凝胶[27]，将凝胶置于避光环境中静置 10 min，确保染料充分渗透，然后取适量染色完成的凝胶样品，平铺于洁净载玻片表面，用激光共聚焦显微镜（Confocal Laser Scanning Microscopy，CLSM）在 488 nm 激发波长下使用 40×的目镜，观察超薄复合蛋白凝胶的微观结构。

1.4 数据统计分析

本实验重复 3 次，运用 SPSS 统计分析软件进行单因素方差分析，组间显著性分析采用 Duncan 多重检验法，采用 Origin 2024 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 不同 CPI 添加量对 MP 凝胶白度和蒸煮损失的影响

白度值是评价蛋白凝胶的光学特性和外观质量关键指标，其变化通常与蛋白质的变性程度、网络结构紧密度等因素有关[28]。由表 1 所示，与 MP 组白度值（79.56%）相比，C 组和 G 组均导致凝胶白度值显著降低（P<0.05），且随着 CPI 添加量（1%~10%）增加，白度值呈下降趋势，C 组白度值从 79.33%下降到 78.92%，G 组的白度值从 78.85%下降到 78.03%。此外，在相同添加量下，G 组白度值始终显著低于 C 组（P<0.05）。白度值下降可能是 CPI 本身的淡黄色泽，影响白度值[22]，糖基化改性过程中伴随美拉德反应会导致褐变[29,30]，从而一步降低白度值。王博等[22]研究得出随着糖基化大豆分离蛋白的添加，MP 凝胶白度值逐渐降低。Zhang 等[31]认为肉制品加工过程中，Maillard 反应会产生美拉德反应产物，这些物质通常带有颜色，可能导致产品白度降低。Mi 等[32]将大豆分离蛋白与谷氨酰胺转氨酶联合添加至栉孔扇贝凝胶中导致白度下降。因此，添加糖基化 CPI 可能会对肉制品的感官颜色产生更明显的影响，应用于植物基模仿肉产品具有重要实践意义。

表 1 不同 CPI 添加量对 MP 凝胶白度和蒸煮损失的影响

Table 1 Effects of varying concentrations of glycosylated CPI on the whiteness and cooking lossof MP gels

组别	白度值/%	蒸煮损失/%
MP	79.56±0.01^{a}	10.30±0.01^{a}
1% C	79.33±0.01^{b}	9.29±0.01^{ab}
5% C	79.20±0.01^{c}	8.79±0.01^{bc}
10% C	78.92±0.00^{d}	8.08±0.00^{cd}
1% G	78.85±0.01^{e}	7.57±0.00^{d}
5% G	78.45±0.01^{f}	7.13±0.01^{d}
10% G	78.03±0.02^{g}	5.77±0.01^{e}

注：同列右肩不同的小写字母表示具有显著差异（P<0.05），下同。

蒸煮损失是评价蛋白凝胶持水能力的的关键指标。由表 1 所示，相较于 MP 组，C 组 G 组均能显著降低凝胶蒸煮损失（P<0.05），且随着 CPI 添加量（1%~10%）增加，蒸煮损失率逐渐降低，10% C 组蒸煮损失降至 8.08%，10% G 组降至 5.77%，相比 MP 组分别下降了 21.55%、43.98%。在相同添加量下，G 组的蒸煮损失率显著低于 C 组，尤其在 10%添加量下，G 组比 C 组降低 28.59%。蒸煮损失的降低可能是添加 CPI 增强了体系的亲水性，促进了形成更致密、稳定的蛋白质网络结构[33]，糖基化改性进一步强化了这一效果，增强了蛋白质分子亲水性、蛋白与蛋白相互作用，有效的减少蒸煮损失。Onder 等[7]认为 CPI 具有较高的持水性。Chen 等[34]认为经糖基化改性的大豆分离蛋白，可以显著提高其持水性和乳化性，从而减少肉制品的的蒸煮损失。因此，糖基化改性能更有效地改善 MP 复配凝胶的持水性，显著降低蒸煮损失。特别是 10% G 表现出更优的保水效果，有助于提高产出率，增加产品的经济性。

2.2 不同 CPI 添加量对 MP 凝胶质构的影响

表 2 不同 CPI 添加量对 MP 凝胶质构特性的影响

Table 2 Effects of CPI addition levels on the texture properties of MP gels

组别	硬度/g	弹性/mm	咀嚼性	内聚性
MP	284.95±14.79^{a}	0.99±0.01^{a}	67.55±7.85^{a}	0.23±0.02^{a}
1% C	216.89±5.74^{d}	0.93±0.03^{c}	44.33±2.86^{cde}	0.19±0.01^{bc}
5% C	196.86±12.55^{e}	0.92±0.00^{cd}	41.39±2.85^{de}	0.18±0.01^{cd}
10% C	163.00±7.16^{f}	0.90±0.02^{d}	36.97±2.79^{e}	0.16±0.01^{d}
1% G	269.75±11.64^{ab}	0.96±0.01^{ab}	58.84±4.94^{b}	0.22±0.01^{a}
5% G	260.58±13.85^{bc}	0.94±0.01^{bc}	52.07±5.83^{bc}	0.20±0.00^{b}
10% G	244.93±10.01^{c}	0.93±0.01^{c}	46.39±10.96^{cd}	0.19±0.03^{bc}

由表 2 所示，1% G 与 MP 组的硬度无明显差异（P＞0.05），但显著高于 C 组（P<0.05），且呈现出随着 CPI 添加的增加而显著降低的趋势（P<0.05），此外，在相同添加量下，G 组的硬度显著高于 C 组。弹性、咀嚼性、内聚性方面也呈现类似趋势。这说明 CPI 的添加减弱了 MP 凝胶的形成，相比较，糖基化 CPI 增强了 MP 凝胶形成的能力。这可能是因为 CPI 的添加提高了凝胶的持水性（与表 1 蒸煮损失相对应），使已凝胶化 MP 中含有更

多被截留的水分，使凝胶宏观上感觉更加柔软，凝胶强度降低，从而表现为质构数值降低。Choi 等[35]研究米糠纤维对猪肉盐溶性蛋白质的技术影响，结果表明随着米糠纤维添加量（0.1%~2%）增加，提升了猪肉盐溶性蛋白的保水性，然后，随着米糠纤维量增加，猪肉盐溶性蛋白质构特性逐渐下降。

2.3 不同 CPI 添加量对 MP 流变特性的影响

流体在外力作用下产生的变形叫做流变学特性，其中储能模量（*G'*）和损耗模量（*G"*）是衡量样品流变特性的主要指标[36]，储能模量（*G'*）代表着凝胶弹性，损耗模量（*G"*）凝胶的黏性。不同 CPI 添加量对 MP 加热（20~80 ℃）过程中 *G'*和 *G"*的影响如图 1 所示，所有实验组 G'与 G"具有相似的温度流变曲线，即先升高再降低再升高，在加热过程中所有实验组的 *G'*>*G"*，说明样品弹性大于黏性，为溶胶或凝胶。在 20~50 ℃的范围内，所有实验组 *G'* 均呈现持续上升的趋势，且当温度升至 52~54 ℃时，*G'*值增长速率显著提升并出现最大值。这可能是肌球蛋白头部结构发生热诱导变性和弹性凝胶网络开始构建[36]。在 54~60 ℃范围内，*G'*出现了显著的下降趋势，并在 60 ℃左右时达到最低点，这一现象可能与温度的升高有关，主要是肌球蛋白尾部的变性和去折叠破坏了弱凝胶结构[37]，这种结构变化导致蛋白质的流动性得到提升。在 70 ℃左右，*G'*又迅速上升，表明凝胶结构形成且蛋白质完全变性，蛋白质发生交联和聚集，说明 MP 溶液在加热过程中可转化为三维凝胶[38]。G 组的 *G'*均高于 C 组与 MP 组，在 10% G 时 *G'*最大。蒙志明[39]研究藜麦蛋白对低钠盐体系中猪肉肌原纤维蛋白凝胶特性的影响，发现藜麦蛋白填充在 MP 受热形成的三维网格结构中。王莉莎[40]研究植物油与肌原纤维蛋白乳化复合凝胶的结构特性发现油脂颗粒填充 MP 蛋白网络孔隙，形成更多物理交联点，*G'*上升。从 20~80 ℃加热过程中，*G"*与 *G'*的变化趋势类似，呈现先上升后下降再上升的规律。G 组最终的 *G"*高于 C 组和 MP 组，且随着 CPI 的添加量增加，*G"*显著增加。贾子璇等[41]认为大豆分离蛋白经糖基化改性后引入了糖链，分子运动阻力和黏度增加。郑雁等[29]研究得出鹰嘴豆蛋白粉的添加可以改善面团的流变学特性。

Debusca 等[42]研究膳食纤维对鱼胶蛋白凝胶的理化性质的影响，研究得出添加 8/100 g 膳食纤维时，鱼胶凝胶的质构中弹性、内聚力降低，而流变特性中 *G'*明显上升，约是未添加膳食纤维添鱼胶蛋白凝胶 *G'*数值 5 倍。

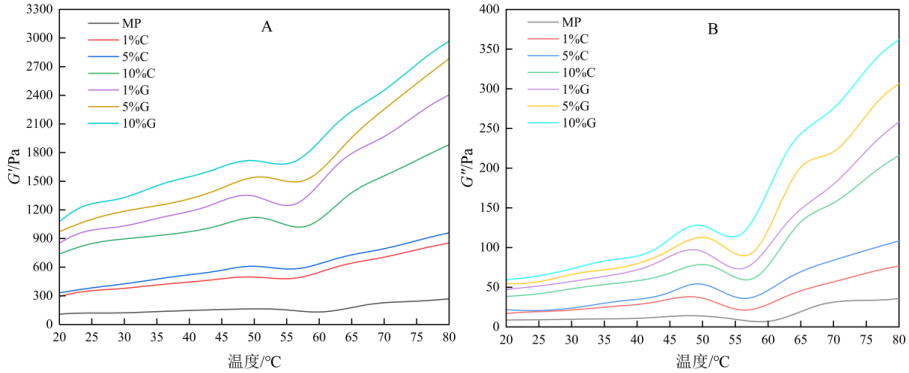

图 1 不同 CPI 添加量对 MP 储能模量（*G'*）和损耗模量（*G"*）的影响

Fig.1 Effects of CPI addition levels on storage modulus (*G'*) and loss modulus (*G"*) of MP

2.4 不同 CPI 添加量对 MP 表面疏水性的影响

表面疏水性是蛋白质重要的结构性质[23]。结构解析研究表明，蛋白质三维构象中特定区域的非极性氨基酸残基会选择性分布于分子表面，这些暴露的疏水结构域通过疏水相互作用参与并调控多种分子识别过程，这种由表面暴露疏水基团形成的特性被统称为蛋白质的表面疏水性。由图 2 可知，随着 CPI 添加量（1%~10%）增加，C 组和 G 组蛋白复合体系的表面疏水性呈现显著上升趋势（*P*<0.05）。在相同添加量下，G 组溴酚蓝结合量明显比 C 组溴酚蓝结合量高，且 10% G 组溴酚蓝结合量（30.34 μg）比 10% C 组溴酚蓝结合量（24.72 μg）增高 22.73%，比 MP 组溴酚蓝结合量（20.23 μg）增高 49.98%。贾子璇等[41]研究得出大豆蛋白-肌原纤维蛋白复合凝胶经糖基化改性后显著增加了 SPI 的二硫键含量并降低了 SPI 的游离巯基含量。这种差异可能由于糖基化改性引起的分子构象改变，未糖基化改性 CPI 的疏水区域多包埋于分子内部，而糖基化处理导致蛋白质结构展开，使原本隐藏的疏水基团暴露，从而显著增强表面疏水性[42]。糖基化改性能有效调控蛋白质热诱导凝胶疏水相互作用。

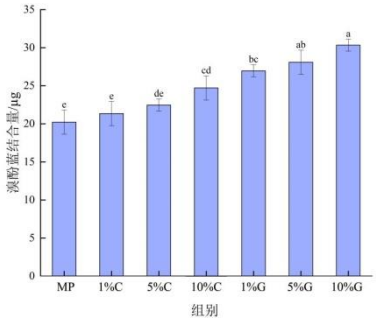

图 2 不同 CPI 添加量对 MP 表面疏水性的影响

Fig.2 Effects of CPI addition on surface hydrophobicity of MP

注：图中不同小写字母代表差异显著（P <0.05）。

2.5 不同 CPI 添加量对 MP 凝胶水分分布的影响

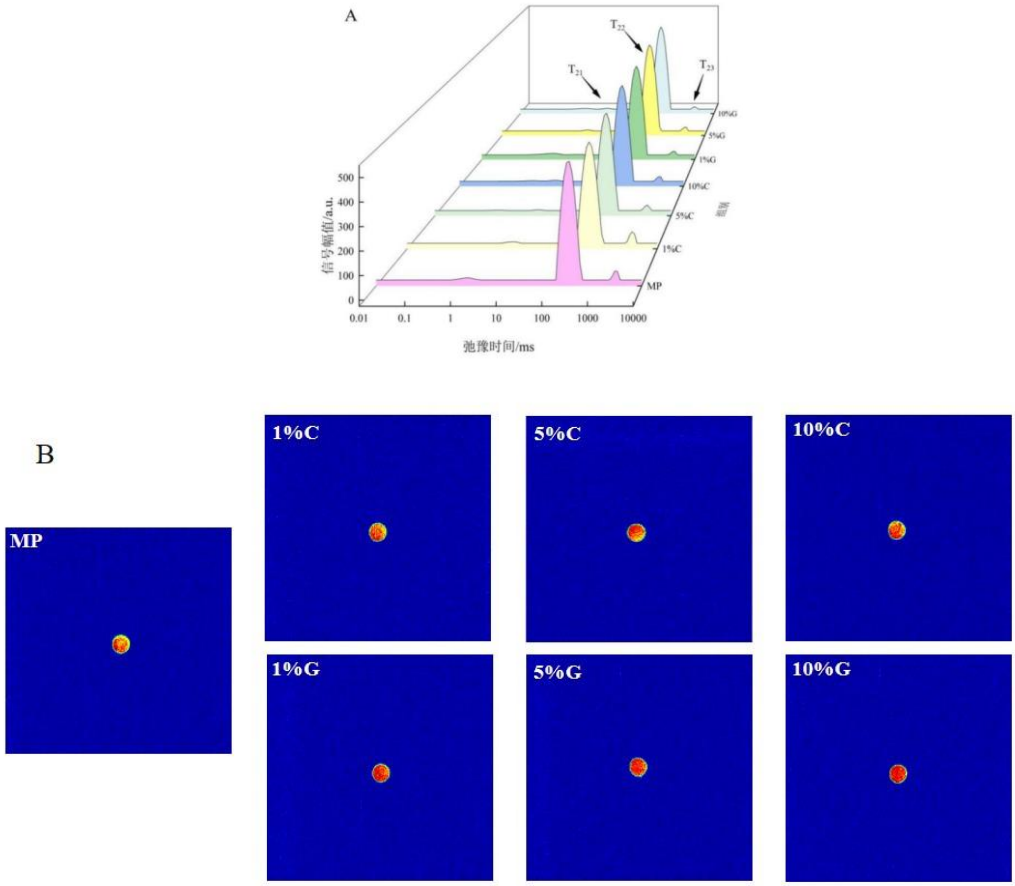

图 3 不同 CPI 添加量对 MP 凝胶 T_2 弛豫时间典型曲线（A）和伪彩图（B）的影响

Fig.3 Effects of CPI addition levels on T_2 relaxation time profiles (A) and pseudocolor maps (B) of MP gels

低场核磁共振技术是一种高效的非侵入性的检测手段，可以分析凝胶中水分含量和动态变化[43]。由图 3A 可知，蛋白凝胶样品的 T_2 弛豫时间曲线图中都具有三个特征峰（T_{21}、T_{22}、T_{23}）主要集中在 0.04~10 ms（T_{21}），100~500 ms（T_{22}），1 500~3 300（T_{23}），分别代表深层结合水、弱结合水、自由流动的水。各样品主要是弱结合水。由图 3 可知，与 MP 相比，随着 CPI 添加量（1%~10%）增加，C 组和 G 组 T_{22} 和 T_{23} 减少，伪彩图均比 MP 组红，说明添加了 CPI 后，复合凝胶中的水分子与蛋白质亲缘关系更加密切。刘骁等[44]研究得出添加 CPI 后鱼丸的自由水比例最低。在相同添加量下，G 组 T_{23} 值比 CPI 组小，伪彩图更红，10% G 自由水 T_{23} 最小，伪彩图最红，这与表 1 蒸煮损失相对应，在 10% G 时，蒸煮损失最低。可能是由于蛋白质结构变化可能导致暴露更多的带电基

团（NH_4^+，COO^-）[45]，提高复合蛋白凝胶对游离水的保留能力，促进 MP 中更稳健的凝胶网络结构的形成。Zhao 等[38]研究得出随着 CPI 添加量增加，猪肉 MP 自由流动的水逐渐减少。因此，糖基化 CPI 可以增加肌原纤维凝胶中弱结合水（T_{22}），减少自由水（T_{23}），从而限制了凝胶网络中水的流动性，并将更多的水困在凝胶网络中。

2.6 不同 CPI 添加量对 MP 凝胶激光共聚焦的影响

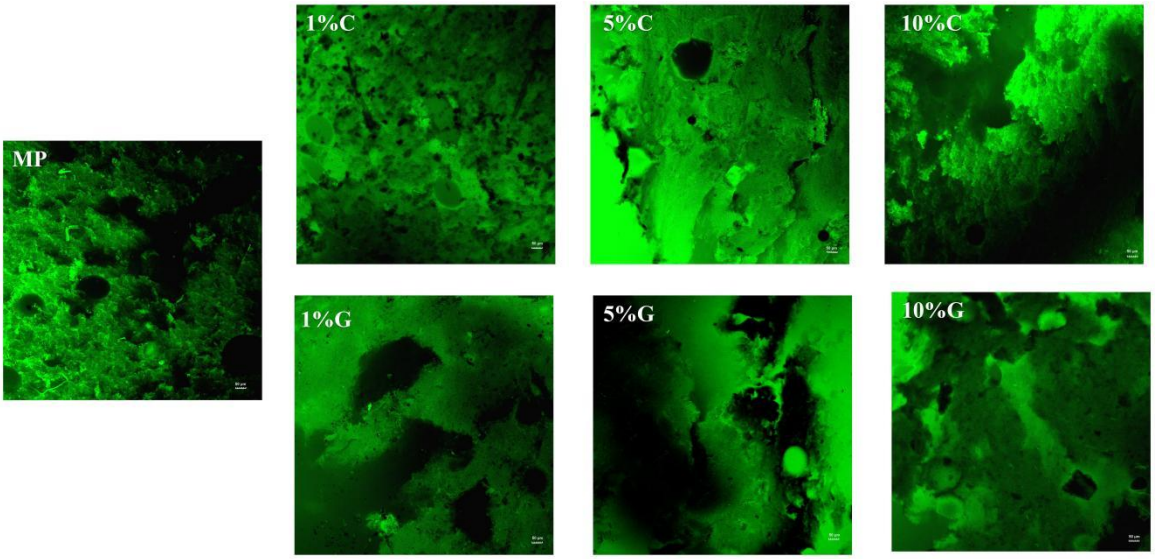

图 4 不同 CPI 添加量对 MP 凝胶激光共聚焦的影响

Fig.4 Effects of CPI addition levels on the microstructure of MP gels analyzed by laser confocal microscopy

通过 CLSM 能够更直观地展现出复合蛋白凝胶的粒径大小[27]，反应稳定状况。图 4 中染成绿色的区域代表复合蛋白凝胶的蛋白质。由图 4 所示，所有样品均呈现多孔的三维网络结构。随着 CPI 添加量（1%~10%）增加，C 组和 G 组网络结构比 MP 组更加致密，且 G 组孔隙更小，可能是植物蛋白和 MP 混合后可以将单一分离蛋白的结构交织在一起并形成一个致密而均匀的空间结构，进而增强肌原纤维蛋白凝胶的微观结构[44]。这与其表 1 蒸煮损失和图 3 水分分布结果趋于一致，可能是微观结构的优化使得水分被有效地截留在凝胶网格中，从而改善了整体的保水性能。此外，1% C 组和 5% C 组明显比 MP 组凝胶更加致密，说明恰当的添加量使 CPI 与 MP 充分结合，形成均一混合凝胶体系，在 10% C 出现看似是阴影部分，可能是足够量多的 CPI 可形成单独的聚集体，从而极大地促进了 10% C 配方中混合凝胶粘弹性的增强，使图片出现看似是阴影。Pan 等[46]研究得出糖基化改性增强了大豆分离蛋白与鱼肉蛋白之间的交联，增加了凝胶网络的密度，使其更加紧密。因此，糖基化改性诱导了 CPI 的结构变化，极性基团的暴露有助于增强与 MP 的相互作用，形成更加致密的凝胶网络结构，将水分子保留在蛋白质凝胶中并减少水分损失[47]，从而提高了保水性，降低蒸煮损失。形成了更为致密的网络结构，增强复配体系凝胶的稳定性。

3 结论

该研究分析了不同质量分数（1%、5%、10%）的 CPI 对 MP 凝胶性能的影响，旨在为开发高品质动-植物复合蛋白凝胶产品提供理论依据和技术支持。研究结果表明随着 CPI 添加量的增加，复合凝胶的白度值和蒸煮损失率均显著降低，溴酚蓝结合量明显上升。10% G 组蒸煮损失率降低了 43.98%，溴酚蓝结合量增高了 49.98%。添加糖基化的 CPI 可显著提高 MP 凝胶的性能。低场核磁共振分析表明，糖基化 CPI 的加入使凝胶体系中弱结合水（T_{22}）比例增加，自由水（T_{23}）比例减少，显示出持水性能的增强。微观结构观察进一步证实，糖基化的 CPI 可促进 MP 形成更为致密均匀的三维网络结构。然而，质构分析显示，添加 CPI 降低了 MP 凝胶的质构数值，但是 G 组明显优于 C 组，且 1% G 组与 MP 凝胶的质构数值差异不显著。流变学结果表明，弹性储能模量 G'显著上升，说明糖基化 CPI 可通过分子间相互作用增强 MP 的凝胶化过程。综上所述，糖基化改性 CPI 能够通过增强蛋白质间交联、改善水分分布行为及微观结构稳定性，有效提升 MP 的凝胶性能。在实际应用中，建议将植物蛋白

添加量控制在较低水平，以实现功能性与质构特性的平衡。本研究为动-植物蛋白复合凝胶制品的发展提供了新思路，后续可围绕产品感官品质调控和工业化应用开展深入研究。

参考文献

[1] ZARKASDAS G C, KARATZAS C D, ZARKADAS C G. Assessing the myofibrillar and connective tissue protein contents and protein quality of beef tripe [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1996, 44(9): 2563-2572.

[2] 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, 2010, 10(1): 33-51.

[3] 李可,李三影,张瑞,等.超声辅助碱法提取对类PSE鸡肉蛋白提取率和功能特性的影响[J].肉类研究,2021,35(10):1-7.

[4] GUO Z, LI Z, WANG J, et al. Gelation properties and thermal gelling mechanism of golden threadfin bream myosin containing CaCl2 induced by high pressure processing [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 95: 43-52.

[5] SOMJID P, PANPIPAT W, CHEONG L Z, et al. Comparative effect of cricket protein powder and soy protein isolate on gel properties of Indian Mackerel surimi [J]. Foods, 2022, 11(21): 3445.

[6] YOON W B, PARK J W, JUNG H. Effects of potato protein isolated using ethanol on the gelation and anti-proteolytic properties in Pacific whiting surimi [J]. Foods, 2022, 11(19): 3114.

[7] ONDER S, KARACA A, OZCELIK B, et al. Exploring the amino-acid composition, secondary structure, and physicochemical and functional properties of chickpea protein isolates [J]. ACS Omega, 2022, 8(1): 1486-1495.

[8] BOYE J I, AKSAY S, ROUFIK S, et al. Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultrafiltration and isoelectric precipitation techniques [J]. Food Research International, 2010, 43(2): 537-546.

[9] XU W, MCCLEMENTS D J, XU Z, et al. Optimization of emulsion properties of chickpea protein and its application in Food [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2024, 101(10): 971-980.

[10] BOUKID F. Chickpea (Cicer arietinum L.) protein as a prospective plant-based ingredient: A review [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2021, 56(11): 5435-5444.

[11] 贾伟祎,李甜甜,郑思羽,等.糖基化改性对鹰嘴豆分离蛋白结构及功能性质的影响[J].食品工业科技,2025,46(15):115-125.

[12] 崔露平.鹰嘴豆蛋白的改性及乳液稳定性研究[D].阿拉尔:塔里木大学,2024.

[13] 贾尚羲,张怡雪,石盼盼,等.不同时长超声波处理对鹰嘴豆分离蛋白乳化液稳定性的影响[J].轻工学报,2024,39(5):40-49.

[14] 卢家维,李甜甜,吴淼,等.琥珀酰化改性对鹰嘴豆分离蛋白结构和功能特性的影响[J].食品与发酵工业,2024, 50(17): 169-177.

[15] KUREBAYASHI Y, TAKEUCHI H. Special Issue: New Insights into Protein Glycosylation [J]. Molecules, 2023, 28(7): 3263.

[16] LI D, JIANG Y, SHI J. Novel Pickering emulsion stabilized by glycosylated whey protein isolate: Characterization, stability, and curcumin bioaccessibility [J]. Food Chemistry: X, 2024, 21: 101186.

[17] ZHU T, MA L, JIANG H, et al. Functional, structural properties of pea protein isolate-xylooligosaccharide glycosylated conjugate and its application in O/W emulsion preparation [J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2023, 17(6): 6135-6143.

[18] XU Y, XU X, XU B. Glycosylation modification: A promising strategy for regulating the functionalities of myofibrillar proteins [J]. Critical reviews in food science and nutrition, 2024, 64(25): 8933-8947.

[19] MIR N A, RIAR C S, SSINGH S. Structural modification in album (Chenopodium album) protein isolates due to controlled thermal modification and its relationship with protein digestibility and functionality [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 103: 105708

[20] WANG Y, WANG Y, Li K, et al. Effect of high intensity ultrasound on physicochemical, interfacial and gel properties of chickpea protein Isolate [J]. LWT, 2020, 129: 109563.

[21] 王松,夏秀芳,黄莉,等.湿法糖基化改性对大豆分离蛋白功能性质的影响[J].食品科学,2014,35(9):38-42.

[22] 王博,伊东,谢梦颖,等.糖基化大豆分离蛋白对肌原纤维蛋白功能特性的影响[J].食品科学,2017,38(7):63-69.

[23] JIN S K, CHOI J S, KIM G D. Effect of porcine plasma hydrolysate on physicochemical, antioxidant, and antimicrobial properties of emulsion-type pork sausage during cold storage [J]. Meat science, 2021, 171: 108293.

[24] KANG Z L , WANG P , XU X L , et al. Effect of a beating process, as a means of reducing salt content in Chinese-style meatballs (kung-wan): A dynamic rheological and raman spectroscopy study [J].Meat Science, 2014. 96(2): 669-674.

[25] CHELH I, GATELIER P, VERONIQU S L. Technical note: A simplified procedure for myofibril hydrophobicity determination [J]. Meat

Science, 2006, 74(4): 681-683.

[26] 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.

[27] 张辉燕,代俊,高志明,等.γ-聚谷氨酸生产菌的筛选及其对乳液稳定性的影响[J].中国食品学报,2024,24(11):86-94.

[28] 于嘉淇,王启明,李薇雨,等.玉米淀粉对麦醇溶蛋白凝胶特性的影响[J].食品与发酵工业,2022,48(2):131-138.

[29] 郑雁,林江涛,岳清华,等.鹰嘴豆蛋白粉的添加对面团及馒头品质的影响[J].现代食品科技,2025,41(1):173-181.

[30] MURATA M. Browning and pigmentation in food through the Maillard reaction [J]. Glycoconjugate Journal, 2020, 38(3): 283-292.

[31] ZHANG S, LIU Y, WU W. Effects of Maillard reaction durations on the physicochemical and emulsifying properties of chickpea protein isolate [J]. Foods, 2025, 14(1): 117.

[32] MI H, ZHAO Y, LI Y, et al. Combining effect of soybean protein isolate and transglutaminase on the gel properties of Zhikong scallop (Chlamys farreri) adductor muscle [J]. LWT, 2021, 138: 110727.

[33] NUÑEZ S M, VALENCIA P, SOL Ś T, et al. Enzymatic hydrolysis of salmon frame proteins using a sequential batch operational strategy: an improvement in water-holding capacity [J]. Foods, 2024, 13(9): 1378.

[34] CHEN J, ZHANG W, CHEN Y, et al. Effect of glycosylation modification on structure and properties of soy protein isolate: A Review [J]. Journal of Food Science, 2024, 89(8): 4620-4637.

[35] CHOI Y S, CHOI J H, HAN D J, et al. Effects of rice bran fiber on Heat-induced gel prepared with pork salt-soluble meat proteins in model System [J]. Meat Science, 2011, 88(1): 59-66.

[36] 袁晶晶.高压均质及热处理改性鹰嘴豆蛋白对减磷猪肉糜凝胶特性的影响机制[D].郑州:郑州轻工业大学,2024.

[37] ZHANG Y, LYU H, WANG Y, et al. Optimizing the formation of myosin/high-density lipoprotein composite gels: PH-dependent effects on heat-induced aggregation [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 268: 131786.

[38] ZHAO D, YAN S, LIU J, et al. Effect of chickpea dietary fiber on the emulsion gel properties of pork myofibrillar protein [J]. Foods, 2023, 12(13): 2597.

[39] 蒙志明.藜麦蛋白对低钠盐调理猪肉饼品质特性的影响及其与肌原纤维蛋白的相互作用[D].太原:山西农业大学,2024.

[40] 王莉莎.植物油与肌原纤维蛋白乳化复合凝胶的结构特性[D].上海:上海海洋大学,2019.

[41] 贾子璇,冉安琪,刘季善,等.工业改性对大豆蛋白结构及大豆蛋白-肌原纤维蛋白复合凝胶的影响[J].食品科学,2020,41(4):67-73.

[42] LIU Y, GUO X, LIU T, et al. Study on the structural characteristics and emulsifying properties of chickpea protein Isolate-citrus pectin conjugates prepared by Maillard Reaction [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 264: 130606.

[43] LU W, WU D, WANG L M, et al. Insoluble dietary fibers from Lentinus edodes stipes improve the gel properties of pork myofibrillar protein: A water distribution, microstructure and intermolecular interactions study [J].Food chemistry, 2023, 411: 135386.

[44] 刘骁,王营娟,赵电波,等.鹰嘴豆分离蛋白对黄河鲤鱼鱼丸凝胶品质的影响[J].食品工业科技,2020,41(22):8-13.

[45] LIU R, LIU Q, XIONG S, et al. Effects of high intensity unltrasound on structural and physicochemical properties of myosin from Silver Carp [J]. Ultrasonics-Sonochemistry, 2017, 37: 150-157.

[46] PAN S, KONG D, CHEN H, et al. Water-resistant and anti-mildew soy protein adhesive with network structures based on reversible boron-oxygen bonds and multiple hydrogen Bonds [J]. Industrial Crops and Products, 2024, 222: 119878.

[47] SINGH A, BENJAKUL S. Proteolysis and its control using protease inhibitors in fish and fish products: a review [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2018, 17(2): 496-509.