

# 草菇提取物对牛肉蛋白风味吸附能力的影响

李依伦<sup>1,2</sup>, 沈双伟<sup>1,2</sup>, 青正龙<sup>1,2</sup>, 刘学铭<sup>2</sup>, 唐道邦<sup>2</sup>, 程镜蓉<sup>2\*</sup>, 阮栋<sup>3</sup>, 朱明军<sup>1,4\*</sup>

(1. 喀什大学生命与地理科学学院, 新疆喀什 844000) (2. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 农业农村部功能食品重点实验室, 广东省农产品加工重点实验室, 广东广州 510610) (3. 广东省农业科学院动物科学研究所, 畜禽育种国家重点实验室, 农业农村部华南动物营养与饲料重点实验室, 广东省畜禽育种与营养重点实验室, 广东广州 510640) (4. 华南理工大学生物科学与工程学院, 广东广州 510006)

**摘要:** 为了研究草菇 (*Volvariella volvacea*, *VV*) 对牛肉蛋白风味吸附能力的影响, 该实验用不同添加量 (0%、1%、3%、9%, *m/m*) 的草菇提取物 (*VV*) 处理牛肉肌原纤维蛋白 (Myofibrillar Protein, *MP*), 分析处理前后 *MP* 在结构、颗粒性质、聚集状态及其吸附牛肉和草菇中常见挥发性风味物质能力的变化规律。实验结果显示, 随着草菇提取物浓度的增加, *MP* 的荧光猝灭效应愈发显著, *MP* 颗粒的粒径和 Zeta 电位分别从 3 654 nm 和 -24.1 mV 减小到 2 588 nm 和 -28.17 mV。此外, 由于草菇提取物修饰后 *MP* 疏水基团的暴露及表面电荷的增加, 促进了其对 1-辛烯-3-醇、d-柠檬烯、糠醛硫醇和 2-噻吩甲醛等特征风味物质的吸附。该研究结果表明, 草菇提取物可以改变 *MP* 的结构、组分含量及其风味吸附能力。

**关键词:** 草菇提取物; 肌原纤维蛋白; 结构; 风味吸附

文章编号: 1673-9078(2023)07-154-161

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.7.0598

## Effect of *Volvariella volvacea* Extract on Flavor Adsorption Capacity of Beef Protein

LI Yilun<sup>1,2</sup>, SHEN Shuangwei<sup>1,2</sup>, QING Zhenglong<sup>1,2</sup>, LIU Xueming<sup>2</sup>, TANG Daobang<sup>2</sup>, CHENG Jingrong<sup>2\*</sup>, RUAN Dong<sup>3</sup>, ZHU Mingjun<sup>1,4\*</sup>

(1. The College of Life and Geographical Sciences, Kashi University, Kashi 844000, China) (2. Institute of Sericulture and Agricultural Products Processing, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Functional Food, Ministry of Agriculture and Rural Areas, Guangdong Key Laboratory of Agricultural Products Processing, Guangzhou 510610, China) (3. Institute of Animal Science, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science in South China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, State Key Laboratory of Livestock and Poultry Breeding, Guangdong Key Laboratory of Animal Breeding and Nutrition, Guangzhou 510640, China) (4. School of Biological Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China)

**Abstract:** To study the effect of *Volvariella volvacea* (*VV*) on the flavor adsorption capacity of beef protein, beef myofibrillar proteins (*MP*) were treated with different addition amounts of *VV* (0%, 1%, 3% or 9%) in this experiment. The structure, particle characteristics, aggregation state of *MP* and its ability to adsorb the volatile flavor substances commonly found in beef and *VV* before and after the *MP* treatment were

引文格式:

李依伦, 沈双伟, 青正龙, 等. 草菇提取物对牛肉蛋白风味吸附能力的影响[J]. 现代食品科技, 2023, 39(7): 154-161.

LI Yilun, SHEN Shuangwei, QING Zhenglong, et al. Effect of *Volvariella volvacea* extract on flavor adsorption capacity of beef protein [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(7): 154-161.

收稿日期: 2022-05-12

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31972074); 广东省农业科学院食品营养与健康研究中心建设运行经费 (XTXM 202205); 广东省农产品加工技术研发中试公共服务平台产业支撑能力提升与服务体系建设资助项目 (粤财农〔2021〕170号)

作者简介: 李依伦 (1997-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 农产品加工, E-mail: 2499935296@qq.com; 共同第一作者: 沈双伟 (1995-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 农产品加工, E-mail: shuangwei\_shen@163.com

通讯作者: 程镜蓉 (1988-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 农产品加工, E-mail: chengjingrong@gdaas.cn; 共同通讯作者: 朱明军 (1969-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 发酵工程, E-mail: mjzhu@scut.edu.cn

analyzed. The experimental results showed that as the concentration of *VV* extract increased, the fluorescence quenching effect of MP became more significant, and the particle size and Zeta potential of MP particles decreased from 3 654 nm and -24.1 mV to 2 588 nm and -28.17 mV, respectively. In addition, the exposure of hydrophobic groups and the increase of surface charge in the MP due to the modification induced by the *VV* extract promoted the adsorption of 1-often-3-ol, d-limonene, furfural thiol, and 2-thiophene carboxaldehyde by the modified MP increased significantly. The results of this study indicated that the *VV* extract could alter the structure, component content and flavor adsorption capacity of MP.

**Key words:** *Volvariella volvacea* extract; myofibrillar protein; structure; flavor absorption

肉制品是人类蛋白质的重要补充源。随着人们生活不断的改善,人们对肉制品的摄取量不断地升高。肉制品的风味是影响肉制品感官品质的重要因素,直接影响着消费者的购买取向<sup>[1]</sup>。蛋白质的降解是肉制品风味形成的重要途径之一,蛋白质的降解可产生游离氨基酸和 5'-核苷酸,这些呈味物质的释放以及蛋白质对某些风味化合物的吸附与释放能力是改变肉制品的风味的重要途径。通常,蛋白质对风味物质吸附和解析能力与其结构息息相关<sup>[2]</sup>。蛋白质结构的变化会导致蛋白分子间作用力的改变,从而影响风味化合物与蛋白的结合能力<sup>[3]</sup>。

食用菌因其丰富的鲜味成分,作为肉制品风味调节剂被广泛应用于肉类工业中。大量研究表明,食用菌可以改变肉类蛋白的结构,对其风味有着积极的影响。例如, França 等<sup>[4]</sup>发现了香菇提取物可以改变牛肉的风味及口感,添加了香菇提取物的牛肉中天冬氨酸和谷氨酸浓度增加,感官评价中鲜味显著提高。Takako 等<sup>[5]</sup>利用灰树花 (*Grifolafrondosa*) 的提取液处理牛肉块后发现,牛肉蛋白质的水解程度加深,呈味氨基酸(尤其是谷氨酸)释放量增加,牛肉的风味得到了改善。Kang 等<sup>[6]</sup>利用金针菇处理鸡胸肉 MP 发现,金针菇粉末促进了鸡肉蛋白的降解和风味肽的形成,有助于改善鸡肉的风味。以上研究均说明食用菌可以通过改变肉类蛋白结构改变肉制品风味,二者间的潜在关系和影响机制还鲜有研究报道。

草菇是深受人们喜爱的食用菌之一,广泛分布于热带和亚热带地区。目前,草菇作为辅料已被应用于肉制品加工中,并被证实可丰富肉制品的口感和风味<sup>[7,8]</sup>,但关于草菇对肉类 MP 结构及其与风味吸附能力的影响还有待研究。因此,本文拟使用不同浓度草菇提取物作用于牛肉 MP,选择草菇和牛肉中特征风味物质(辛醛(Octanal)、苯甲醛(Benzaldehyde)、苯乙醛(Benzenacetaldehyde)、2-庚酮(2-Heptanone)、1-辛烯-3-醇(1-Octen-3-ol)、D-柠檬烯(D-Limonene)、噻唑(Thiazole)、2,4-二甲基噻唑(2,4-Dimethylthiazole)、糠硫醇(Furfuryl Mercaptan)和 2-噻吩甲醛(2-Thenaldehyde))<sup>[8,9]</sup>,探究草菇提取

物处理前后 MP 结构及其与以上风味物质吸附能力的变化关系,以丰富食用菌改善肉糜风味的机理。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料准备

选择光柄菇科真菌草菇 (*Volvariella volvacea* (Bull.:Fr.) Sing) 子实体草菇,牛外脊肌肉(水牛, *Bubalus bubalis*) 作为本研究的原材料。将实验所用的草菇 37 °C 下烘干,粉碎草菇,获得干粉后用 20 目聚乙烯筛子去除未完全粉碎的草菇,将过筛后的草菇干粉放在 4 °C 冰箱储存备用;新鲜牛肉搅碎后用于肌原纤维蛋白的提取。

### 1.2 试剂与仪器

#### 1.2.1 实验试剂

辛醛、苯甲醛、苯乙醛、2-庚酮、1-辛烯-3-醇、D-柠檬烯、噻唑、2,4-二甲基噻唑、糠硫醇和 2-噻吩甲醛均为色谱纯,纯度>98%,购于国药集团。

#### 1.2.2 实验仪器与设备

T25D 均质机,德国 IKA 集团;FluoroMax-3 荧光分光光度仪,广东威尔信实业有限公司;电子扫描电镜,日立 SN-3400;ZENN3600 粒径仪,英国马尔文仪器有限公司;57328-U 固相萃取装置,美国 Supelco 公司;GC-MS 6890N/5975B 气相色谱联用仪,美国 Aglient 公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 草菇提取物制备

不同质量分数的草菇提取物(1%、3%、9%)通过将 0.1、0.3、0.9 g 草菇干粉分别加入 PBS(0.5 mol/L)溶液中,室温下充分震荡(30 min)后离心过滤获得。其中,PBS 溶液作为对照,记做 0%草菇提取物。

#### 1.3.2 牛肉肌原纤维蛋白(MP)的提取

牛外脊肉剔除可见的脂肪和结缔组织后,使用搅碎机将其破碎成肉糜。称取 25 g 肉糜加入 100 mL 的僵直液(0.1 mol/L NaCl, 23.1 mmol/L Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>,

4.3 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 1.1 mmol/L EDTA-2Na; pH 值 7), 10 000 r/min 均质 1 min 后 4 000 r/min 离心 5 min, 保留沉淀。再次加入 100 mL 僵直液, 重复上述步骤三次, 最后保留沉淀。沉淀中加入 100 mL 0.1 mol/L 的 NaCl 溶液, 使用上述条件均质并离心, 重复操作 3~5 次, 每次保留上清液。所得上清液经两层纱布过滤, 收集所有滤液, 调整滤液 pH 值至 6 左右, 静置 10 min (以出现絮状沉淀为准), 4 000 r/min 离心 5 min, 收集膏状残留物, 所得膏状沉淀视为纯化后的 MP, 加入 0.5 mol/L PBS (含 0.5 mol/L NaCl, pH 值 7.4) 溶液 5~10 mL 溶解沉淀。所得 MP 置于 100 mL 离心杯中均质, 混匀后保存于碎冰中备用, 并于 48 h 内使用。

### 1.3.3 MP 样品制备

将 1.0 g 的 MP 加入 4.0 mL 草菇提取物中, 旋转混匀, 10 000×g 离心均质 30 s, 4 °C 条件下静置 12 h。混合液 12 000×g 离心 20 min, 弃上清, 并用 4 倍质量的 0.5 mol/L 的 PBS 洗涤沉淀, 重复离心洗涤 3 次, 将最终样品用 0.5 mol/L PBS 稀释为 5 mg/mL 的浓度, 4 °C 保存, 用于后续研究。以牛血清白蛋白为标准品, 采用双缩脲法<sup>[10]</sup>测定蛋白质含量。

### 1.3.4 内源性色氨酸荧光检测

用 0.5 mol/L PBS 将样品蛋白质浓度稀释至 0.1 mg/mL, 并在 295 nm 的激发波长下记录 300~400 nm 的发射光谱值。激发间距为 5 nm, 发射间距为 5 nm, 数据收集速率为 500 nm/min, 空白组为 0.5 mol/L PBS, 并从每个样品结果中扣除空白。每组样本测试三次。

### 1.3.5 SDS-PAGE 电泳

通过 SDS-PAGE 分析草菇提取物对 MP 的影响<sup>[11]</sup>。实验参数设置: 电压为恒压模式, 第一阶段电压设为 40 V, 第二阶段电压设为 80 V, 设置完毕后开始电泳, 待蓝色指示带位移动至凝胶底部, 停止电泳。蛋白 SDS-PAGE 图像使用 Image J-WIN64 软件进行灰度定量分析。图片类型: 8-bit, 背景消减: 50 pixels。定量结果用条带的积分灰度值表示。

### 1.3.6 MP 粒径和 Zeta 电位检测

用 ZENN 3600 马尔文粒径仪测定 MP 的粒径和 Zeta 电位。用 0.5 mol/L PBS 将样品稀释至 1 mg/mL, 并向比色皿中添加 1 mL 用于粒径测定; 用蒸馏水将样品稀释至 0.1 mg/mL, 取 1 mL 加入电位皿中, 测量样品的电位值。每个样品测定三次, 结果以平均值±标准偏差表示。

### 1.3.7 风味吸附能力测定

#### 1.3.7.1 气质联用样品制备

将辛醛、苯甲醛和苯乙醛等风味物质分别溶解于

少量甲醇中, 再用蒸馏水稀释各组物质。最终获得 50 mg/kg 苯甲醛, 2 500 mg/kg 苯乙醛, 250 mg/kg 辛醛, 150 mg/kg 2-庚酮, 500 mg/kg 1-辛烯-3-醇, 2 500 mg/kg D-柠檬烯, 2 000 mg/kg 噻唑, 100 mg/kg 2,4-二甲基噻唑, 100 mg/kg 糠硫醇, 200 mg/kg 2-噻吩甲醛, 空白组设为 0.5 mol/L PBS 溶液。用 5 mL 草菇提取物处理 MP, 然后放置于 20 mL 顶空萃取瓶中, 每组加入 200 μL 上述浓度的风味化合物, 其中, 对照组为 5 mL PBS。样本漩涡震荡 10 s, 4 °C 下平衡 10 h, 用于后续实验。

#### 1.3.7.2 顶空固相微萃取 (Solid Phase Headspace Extraction; SPME)

将固相微萃取针插入顶空萃取瓶中, 并将内部萃取探针 75 μmol/L (CAR/PDMS) 伸出, 以提取游离风味化合物。萃取温度为 35 °C, 萃取时间为 30 min, 然后将萃取纤维针插入进样口 (220 °C) 解吸 5 min, 不进行部分进样。

#### 1.3.7.3 气相色谱-质谱 (GC-MS) 条件参数

升温程序: 38 °C 保温 4 min, 以 5 °C/min 的速率升温至 130 °C 后, 以 15 °C/min 的速率继续升温至 180 °C, 进样口温度 250 °C; 载气: 高纯氦; 流速: 1 mL/min。质谱条件: 电子轰击 (EI) 离子源; 电子能量: 70 eV; 离子源温度: 230 °C; 扫描范围: 29~400 m/z; 色谱柱: DB624 (30 m×0.25 mm×1.4 μm), 通过 MassHunter 谱库对 GC-MS 得到的峰谱进行定性, 正负匹配度大于 80 (最大值为 100) 为有效结果。计算游离风味化合物比例的公式如下:

$$R = \frac{A_s}{A_c} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

R——游离风味化合物比例, %;

A<sub>c</sub>——空白组中自由风味化合物的峰面积;

A<sub>s</sub>——实验组中自由风味化合物的峰面积。

### 1.3.8 数据分析

在实验过程中, 每组实验需要重复测量 3 次, 结果以平均值±标准偏差表示。实验数据处理和绘图软件为 Excel 2010 (Microsoft) 和 Origin 9.0 (Originlab), 使用 SPSS 22 (IBM) 软件分析显著性差异 (P<0.05) 和 Pearson 相关性。

## 2 结果与讨论

### 2.1 内源性色氨酸荧光

内源性色氨酸荧光通常用于反映蛋白构象变化。正常状态下, MP 处于折叠状态, 色氨酸主要分布于

蛋白质内部的疏水结构中，处在激发态的色氨酸会表现出较高的荧光强度；当 MP 处于部分折叠或者展开状态，色氨酸残基会分布于蛋白质分子表面，激发态的内源性色氨酸荧光强度也会降低<sup>[12]</sup>。图 1 显示了样品内源性色氨酸的荧光图像。由图可见，MP 内源荧光强度随着提取物浓度的增加而降低，其中，未经草菇提取物处理的样品荧光强度最高，随着草菇提取液浓度的增加，MP 表现出递增的荧光猝灭效应。这表明草菇提取物可以会使 MP 蛋白结构展开，导致 MP 内部的色氨酸残基的外露。这一方面是由于草菇提取物中的内源酶具有促进 MP 氧化和酶解的作用<sup>[8]</sup>；随着草菇提取物浓度的增加，氧化和酶水解的程度加剧，导致 MP 结构内部色氨酸的逐渐暴露，内源性荧光强度的逐渐降低。与此同时，草菇提取物中水溶性多糖、蛋白质、氨基酸等物质的介入也是造成 MP 内源荧光强度变化的重要成因。例如，Cao 等<sup>[13]</sup>也发现食用菌多糖（香菇多糖）会与蛋白结合，促进蛋白质结构的展开，致使其内源性色氨酸荧光强度下降。李玲等<sup>[14]</sup>也发现氧化引起的蛋白质结构变化会导致蛋白质内源性色氨酸的强度下降。李倩等<sup>[12]</sup>还发现，随着储藏时间的延长，MP 氧化强度增加，导致 MP 内源性色氨酸的荧光强度逐渐降低。

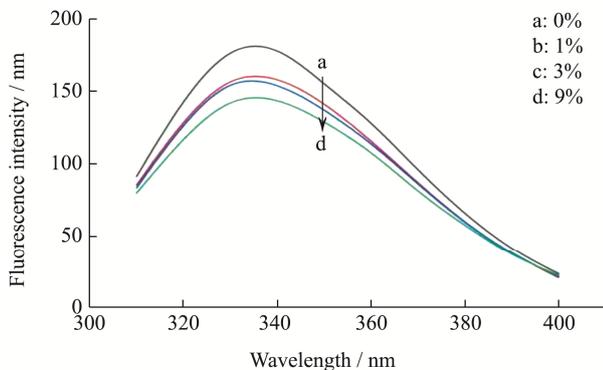


图 1 草菇提取物对 MP 内源性色氨酸荧光强度的影响

Fig.1 The effect of VV extracts on the endogenous tryptophan fluorescence of MP

## 2.2 SDS-PAGE 电泳

图 2 描述了草菇提取物及不同浓度草菇提取物处理后 MP 的 SDS-PAGE 条带变化。其中未处理的肌原纤维蛋白，在点样孔中聚合物较少，而添加草菇提取物的肌原纤维蛋白点样孔中聚合物较多，这主要是因为草菇提取物促进了肌原纤维蛋白结构的展开，在活性氧的作用下容易形成不溶性聚集体<sup>[8,15]</sup>。MP 的组分主要分布于 30~270 ku，根据文献对这些组分条带进行了辨认<sup>[16-18]</sup>。发现位于 175~270 ku 之间的肌球蛋白重链（MHC）条带、95~130 ku 之间的  $\alpha$ -辅肌动蛋白

( $\alpha$ -Actinin) 条带、37~52 ku 之间的肌钙蛋白 T (TnT) 和原肌球蛋白 (Tm) 条带、30~37 ku 之间的肌球蛋白轻链 1 (MLC1) 和肌球蛋白轻链 2 (MLC2) 条带均发生了变化。前期研究<sup>[8,15]</sup>表明，草菇提取物中含有丰富的蛋白酶，其与 MP 结合后会诱发蛋白质的适度酶解，提高牛肉蛋白的嫩度。与该结论相一致，本研究中发现，除了肌动蛋白 (Actin) 条带外，随着草菇提取物浓度的提高，这些条带逐渐变得暗淡。这再次证实草菇提取液促进 MP 中蛋白组分的降解。

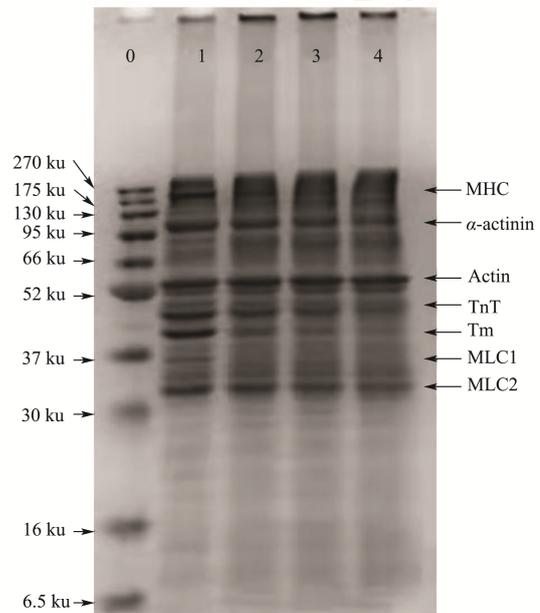


图 2 不同浓度草菇提取物处理后 MP 的 SDS-PAGE 图像

Fig.2 SDS-PAGE images of MP with different concentrations of VV extract

注：0 泳道为标准蛋白（6.5~270 ku），1~4 泳道为 0%、1%、3%和 9%草菇提取物处理后 MP。MHC 为肌球蛋白重链；Actin 为肌动蛋白； $\alpha$ -Actinin 为  $\alpha$ -辅肌动蛋白；TnT 为肌钙蛋白 T；Tm 为原肌球蛋白；MLC-1 为肌球蛋白轻链-1；MLC-2 为肌球蛋白轻链-2。

表 1 为 MP 组分条带的灰度值积分计算。随着草菇提取物浓度的提高，条带的灰度值随之下降。由泳道中蛋白质分布情况可知，草菇提取物中的内源酶可能会对 MP 进行部分酶解。在图 2 中，与对照组（1 泳道，未添加草菇提取物）相比，草菇提取物处理组（2、3 和 4 泳道）在 16 ku 附近出现的小分子条带数量较多，且实验组总的积分灰度值小于对照组（表 1），这再次说明草菇提取物中存在降解 MP 的作用的物质<sup>[19]</sup>。此外，相较对照组，各实验组点样孔中多聚体的数量均明显增加，且与各泳道点样孔处积分灰度值结果一致。在之前的研究中发现<sup>[8]</sup>，草菇含有丰富的蛋白酶其能水解肉蛋白并促进肽链的释放，从而使蛋白质更容易被氧化，并且草菇中的氧化

酶可以诱发 MP 分子内二硫键的形成, 改变 MP 蛋白结构, 进一步影响其风味吸附能力, 由此可知, 草菇

提取物主要通过蛋白酶解和蛋白质的氧化聚集来影响 MP 的结构。

表 1 SDS-PAGE 条带积分灰度值

Table 1 Integral gray value of SDS-PAGE stripe

项目	泳道 1 (0%, IV)	泳道 2 (1%, IV)	泳道 3 (3%, IV)	泳道 4 (9%, IV)
点样孔	5 012	11 410	11 553	10 401
MHC	14 803	11 685	10 883	10 407
$\alpha$ -Actinin	19 113	13 153	10 683	11 632
Actin	25 340	25 186	24 768	25 162
TnT	22 854	17 814	16 180	15 847
Tm	7 718	6 675	6 565	6 426
MLC-1	7 430	6 292	6 127	6 061
MLC-2	16 482	14 265	12 801	13 010
总积分灰度值	118 752	106 480	99 560	98 946

注: MHC 为肌球蛋白重链, Actin 为肌动蛋白,  $\alpha$ -Actinin 为  $\alpha$ -辅肌动蛋白, TnT 为肌钙蛋白 T, Tm 为原肌球蛋白, MLC-1 为肌球蛋白轻链-1, MLC-2 为肌球蛋白轻链-2。

### 2.3 粒径变化

表 2 MP 溶液平均粒径、颗粒分布系数和 Zeta 电位

Table 2 Mean particle size, PDI and Zeta potential of MP solution

提取物质量分数/%	平均粒径/nm	颗粒分布系数	Zeta 电位/mV
0	3 654.67±354.56 <sup>d</sup>	0.15±0.10 <sup>a</sup>	-24.1±0.36 <sup>b</sup>
1	3 159.67±54.84 <sup>c</sup>	0.33±0.22 <sup>b</sup>	-23.03±0.45 <sup>a</sup>
3	2 962.33±86.27 <sup>b</sup>	0.45±0.08 <sup>c</sup>	-27.57±0.65 <sup>c</sup>
9	2 588.00±79.93 <sup>a</sup>	0.34±0.13 <sup>b</sup>	-28.17±0.31 <sup>d</sup>

注: 同列右肩不同的小写字母表示同列比较具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

粒径分布图展示了不同组蛋白质颗粒大小的分布情况, 通过对比分析, 可以得到 MP 蛋白质分子之间的聚集行为的变化。表 2 展示了不同浓度草菇提取物处理条件下 MP 的粒径。由表可知, MP 粒径大小随草菇提取物浓度的升高而降低, 对照组的粒径最大 (3 654.67 nm), 9%草菇提取物处理后 MP 的粒径最小 (2 588 nm)。MP 粒径大小变化与 SDS-PAGE 电泳条带变化结果一致, 再次证实草菇提取物可以降解 MP, 使之粒径下降。颗粒分布系数 (Particle Dispersion Index, PDI) 通常用于表征颗粒的均一程度, PDI 值越小则表明体系中颗粒粒径分布越均匀<sup>[20]</sup>。如表 2 可见, 随着草菇提取物浓度增加, MP 溶液的 PDI 值逐渐升高, 说明草菇提取物处理加速了蛋白颗粒的聚集, 使颗粒分布不均匀, 这与 SDS-PAGE 结果一致。草菇提取物处理后 MP 组分主要集中在 MHC、 $\alpha$ -Actinin、

TnT 和 Tm 等蛋白组分, 而提取物对 Actin 并未显示出明显降解作用。蛋白组分粒径可能由蛋白质的氧化聚集和酶解作用共同造成, 氧化聚集造成颗粒粒径的增大, 而酶解造成粒径减小。当草菇提取物浓度低时, 氧化作用强于酶解效应, 氧化聚集致使 PDI 增大, 当提取物浓度增加, 颗粒被酶解变小, PDI 相对减小。数据表明, 3%草菇提取物作用时 MP 分布最为不均一; 9%草菇提取物作用时 PDI 值反而出现了降低, 这可能与高浓度草菇提取物产生的高酶解作用有关, 使得大分子 MHC 和  $\alpha$ -Actinin 被水解得更充分, 从而使粒径分布变得更均一。

### 2.4 Zeta 电位

Zeta 电位用于表征胶体分散系的稳定性, 当 Zeta 电位的绝对值越高时, 则表明体系越稳定, 体系中的分子或分散粒子越小; 反之, 则体系越不稳定<sup>[21]</sup>。表 2 为不同浓度草菇提取物处理后 MP 的 Zeta 电位变化情况。由图表可知, 当提取物的浓度为 1%时, Zeta 电位绝对值 (23.03 mV) 最低, 甚至低于对照组。继续提高提取物的浓度, MP 溶液的 Zeta 电位的绝对值随之增加, 电位的增加可能与草菇提取物对 MP 的促氧化作用有关<sup>[22]</sup>; 另一方面, 草菇提取液处理后使 MP 蛋白质表面碱性氨基酸减少或乙酸残基数量增加<sup>[23]</sup>, 最终导致蛋白质表面所带负电荷增加。此外, 草菇提取物对 MP 酶解作用使蛋白内部包埋的疏水性氨基酸暴露在表面, 造成蛋白表面电离基团数目的增加也是该变化的重要成因<sup>[24]</sup>。这些结果表明草菇提取物可以促使 MP 溶液体系更加稳定。

## 2.5 风味吸附

蛋白与风味化合物的作用通常有两种表现形式，即吸附与释放。判断的标准与游离风味化合物的百分比含量有关，当其百分比含量低于 100%时，则为表现为对该风味物质的吸附作用；当其百分比含量高于 100%时，则为蛋白质对该风味物质的释放作用<sup>[3]</sup>。如图 3 所示，对照组 MP 溶液体系中游离辛醛、苯乙醛、2-庚酮、1-辛烯-3-醇、D-柠檬烯、噻唑、2,4-二甲基噻唑、糠硫醇和 2-噻吩甲醛的百分比明显低于 100%，这表明 MP 对以上 9 种风味化合物具有明显的吸附作用，这与周昌瑜等<sup>[3]</sup>、Zhou 等<sup>[24]</sup>、Maria 等<sup>[25]</sup>的研究结果相一致。与之相反的是，游离苯甲醛的百分比含量超过 100%，这表明 MP 对苯甲醛具有释放能力。与之前文献报道类似，Tan 等<sup>[26]</sup>特发现，牛血清蛋白对芳香族苯甲醛的吸附作用比具有相同碳数的饱和化合物庚醛弱得多。这可能是由于苯甲醛的芳香性质使苯甲醛极性略强，与蛋白质的相互作用弱于非极性化合物<sup>[26]</sup>。同时，相对于侧链上的醛基团，苯甲醛分子更大的芳香环可能通过位阻效应阻止苯甲醛与蛋白的结合<sup>[27]</sup>。而苯乙醛与苯甲醛只相差一个-CH<sub>2</sub>-，MP 对苯乙醛的吸附能力却远大于苯甲醛，这可能是由于芳香环造成的空间位阻效应被苯乙醛更长的支链抵消造成的<sup>[28]</sup>。

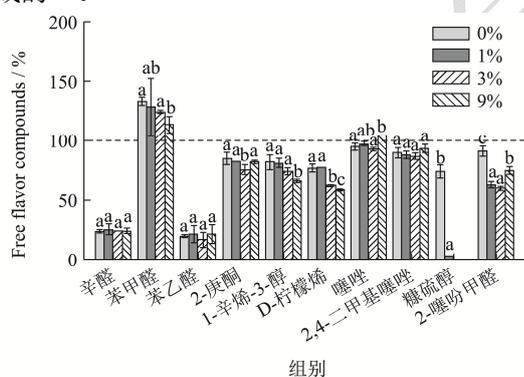


图 3 草菇处理后 MP 对风味化合物的吸附

Fig.3 Adsorption of MP to flavor compounds after VV treatment

注：图中不同的小写字母表示同列比较具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

如图 3，随着草菇提取物浓度的升高，游离的苯甲醛、2-庚酮、1-辛烯-3-醇、D-柠檬烯、糠硫醇和 2-噻吩甲醛等风味化合物百分比随着草菇提取物浓度的升高而降低，这表明草菇提取物能强化 MP 对以上风味吸附的作用。其中，下降最为显著的风味化合物是糠硫醇，结果显示，在 3%和 9%草菇提取物处理后的 MP 实验组中已经检测不到糠硫醇，这表明其已经被

完全吸附。这可能是与草菇提取物中存在酶解 MP 的物质造成的<sup>[19]</sup>。随着草菇提取物浓度的提高，MP 的酶解水平提高，酶解后的 MP 中巯基的氨基酸残基(如半胱氨酸)与糠硫醇上的巯基作用，增加其吸附能力<sup>[29]</sup>。MP 的蛋白结构决定其吸附能力，由于蛋白的构象改变而导致的疏水基团的增多、静电结合力的改变以及与风味化合物结合位点的变化，都影响着蛋白质的风味吸附能力<sup>[23,30]</sup>。疏水性相互作用影响 MP 对风味物质吸附能力的重要因素。吕彤等<sup>[31]</sup>认为，肌球蛋白与醛类物质的相互作用主要由疏水性相互作用、氢键及巯基基团决定，肌球蛋白与酮类物质的相互作用除了取决于风味物质的结构外，疏水性相互作用也发挥重要作用。MP 结构的改变主要取决于草菇提取物的酶解和促氧化作用<sup>[8]</sup>，结构的改变使得 MP 内部疏水基团与醛类和酮类风味化合物发生反应，增加其吸附能力。草菇提取物处理后 MP 对 2-噻吩甲醛的吸附明显增强也可能归因于此。但研究发现，草菇提取物处理前后的 MP 对辛醛、苯乙醛、噻唑和 2,4-二甲基噻唑的吸附能力并无明显差别，这可能是由于 MP 对辛醛和苯乙醛吸附已经达到饱和，而噻唑及 2,4-二甲基噻唑中的氨基和甲基基团与 MP 只存在微弱的静电吸附，所以并无观察到 MP 对其吸附能力增强。影响蛋白结构和风味吸附的因素有很多，其中，殷小钰等<sup>[32]</sup>对 pH 值、氧化和加工方式对蛋白结构的影响与蛋白风味吸附能力的关系进行了较为详细的阐述。另一方面，草菇提取物促使 MP 组分的酶解，减小蛋白粒径，增加蛋白的相对表面积及表面电荷，这些结果都可能成为 MP 对相关风味化合物的吸附能力变化的重要因素。

表 3 相关性分析

Table 3 Pearson correlation analysis

项目	Zeta 电位	平均粒径
Zeta 电位	1	0.804**
平均粒径	0.804**	1
辛醛	0.238	-0.690
苯甲醛	0.507	0.465
苯乙醛	0.090	0.083
2-庚酮	0.425	0.452
1-辛烯-3-醇	0.823**	0.802**
D-柠檬烯	0.668*	0.578*
噻唑	-0.318	-0.404
2,4-二甲基噻唑	-0.097	-0.016
糠硫醇	0.452	0.791**

注：\*\*表示在 0.01 水平(双侧)上显著相关；\*表示在 0.05 水平(双侧)上显著相关。

与此同时, Pearson 相关性分析(表 3)结果表明,游离的 1-辛烯-3-醇百分比与 Zeta 电位和粒径分布的相关性分别为 0.823 ( $P<0.05$ ) 和 0.802 ( $P<0.05$ );游离的 D-柠檬烯百分比与 Zeta 电位和粒径分布的相关性分布为 0.668 ( $P<0.05$ ) 和 0.578 ( $P<0.05$ );游离的糠硫醇百分比与平均粒径的相关性为 0.791 ( $P<0.05$ ), 表明这三种风味物质和 MP 的 Zeta 电位和粒径大小有较强的相关性。这些结果表明, 草菇提取物对 MP 的结构改变可以间接影响 MP 对风味吸附的能力, 促进牛肉 MP 对特征风味物质(2-庚酮、1-辛烯-3-醇、d-柠檬烯、糠醛硫醇和 2-噻吩-甲醛)的吸附。

### 3 结论

本研究采用草菇提取物处理牛肉 MP, 探讨草菇提取物对 MP 结构、组成和风味吸附能力的影响。研究发现, 草菇提取物能促进 MP 的聚集和降解, 导致 MP 的荧光猝灭效应, 造成蛋白平均粒径减小, 表面电荷增加。由于草菇提取物对 MP 的适度促氧化和酶解作用, 草菇提取物处理后牛肉 MP 对特征风味物质(2-庚酮、1-辛烯-3-醇、d-柠檬烯、糠醛硫醇和 2-噻吩-甲醛)吸附能力增加。本研究试图从 MP 结构变化的角度分析草菇对 MP 风味吸附能力的影响机制, 其研究结果有助于丰富人们对食用菌改善肉制品风味的认识, 为食用菌在风味肉制品开发中的应用提供理论依据。

### 参考文献

- [1] 王德宝,赵丽华,田建军,等.不同发酵剂对发酵香肠中风味物质释放及有害生物胺控制的影响[J].中国食品学报,2019,19(8):89-96.
- [2] Wang K, Amtfield S. Effect of protein-flavor binding on flavor delivery and protein functional properties: A special emphasis on plant-based proteins [J]. Flavour and Fragrance Journal, 2016, 32(2): 92-101.
- [3] 周昌瑜,蒋娅婷,曹锦轩,等.热处理时间对鸭肉肌原纤维蛋白凝胶的风味吸附能力影响[J].现代食品科技,2016,32(3): 218-224.
- [4] França F, Dos Santos Harada-Paderno S, Frasceto R A, et al. Umami ingredient from shiitake (*Lentinula edodes*) by-products as a flavor enhancer in low-salt beef burgers: Effects on physicochemical and technological properties [J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 154: 112724.
- [5] Takako Y, Naoko I, Ichiro O, et al. Tenderizing of meat by using Maitake (*Grifola frondosa*) temperature steam cooking [J]. Journal of Cookery Science of Japan, 2008, 41(3): 176-183.
- [6] Kang G H, Kim S H, Kim J H, et al. Effect of *Flammulina velutipes* on spent-hen breast meat tenderization [J]. Poultry Science, 2012, 91(1): 232-236.
- [7] Wang X, Zhou P, Cheng J, et al. Use of straw mushrooms (*Volvarellae volvaceae*) for the enhancement of physicochemical, nutritional, and sensory profiles of Cantonese sausages [J]. Meat Science, 2018, 146: 18-25.
- [8] Qing Z, Cheng J, Wang X, et al. The effects of four edible mushrooms (*Volvarellae volvaceae*, *Hypsizygus marmoreus*, *Pleurotus ostreatus* and *Agaricus bisporus*) on physicochemical properties of beef paste [J]. LWT - Food Science and Technology, 2021, 135: 110063.
- [9] 孙宝国,刘玉平,郑福平,等.肉味香精中单体香料的香味类型[J].北京工商大学学报(自然科学版),2003,1:1-8.
- [10] 宋宏新,薛建龙,刘立新,等.采用蛋白质定量方法检测掺假牛乳比较研究[J].食品工业,2015,36(4):210-214.
- [11] Li C, Arakawa T. Application of native polyacrylamide gel electrophoresis for protein analysis: Bovine serum albumin as a model protein [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 125: 566-571.
- [12] 李倩,尉立刚,杨钰昆,等.冻藏时间对猪肉中肌原纤维蛋白氧化程度的影响[J].食品与机械,2020,36(1):157-160,165.
- [13] Cao X, Liu D, Bi R, et al. The protective effects of a novel polysaccharide from *Lentinusedodes* mycelia on islet  $\beta$  (INS-1) cells damaged by glucose and its transportation mechanism with human serum albumin [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 134: 344-353.
- [14] 李玲,季慧,段家玉.绿原酸抑制猪肉肌原纤维蛋白氧化及 NDEA 生成的作用研究[J].食品工业科技,2018,39(8):29-33.
- [15] 沈双伟,青正龙,林伟玲,等.草菇对牛肉蛋白结构的修饰效应[J].现代食品科技,2022,38(7):247-255.
- [16] Lee K, Kim H, Kim S, et al. Effects of mushroom extract on textural properties and muscle protein degradation of bovine longissimus dorsi muscle [J]. Bioscience Biotechnology & Biochemistry, 2017, 81(3): 558-564.
- [17] Casaburi A, Aristoy M, Cavellaa S, et al. Biochemical and sensory characteristics of traditional fermented sausages of Vallo di Diano (Southern Italy) as affected by the use of starter cultures [J]. Meat Science, 2007, 76: 295-307.
- [18] Dalmia U, Soyer A. Effect of processing methods and starter culture (*Staphylococcus xylosus* and *Pediococcus pentosaceus*) on proteolytic changes in Turkish sausages (*Sucuk*) during ripening and storage [J]. Meat Science, 2008, 80(2): 345-354.

- [19] 秦惠娟,陈屏,王琦,等.草菇的化学成分、生物活性及栽培现状[J].食品工业,2017,38(3):203-206.
- [20] 宋佩.高钙高蛋白速溶豆粉加工工艺优化研究[D].武汉:武汉轻工大学,2018.
- [21] Wang J, Farrokhpay S. Effects of surface rheology and surface potential on foam stability [J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2016, 488(5): 70-81.
- [22] Bao Y, Boeren S, Ertbjerg P. Myofibrillar protein oxidation affects filament charges, aggregation, and water-holding [J]. *Meat Science*, 2018, 135: 102-108.
- [23] 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.
- [24] Zhou F, Zhao M, Su G, et al. Binding of aroma compounds with myofibrillar proteins modified by a hydroxyl-radical-induced oxidative system [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(39): 9544-9552.
- [25] Maria P, Monica F, Fidel T. Model studies on the efficacy of protein Homogenates from raw pork muscle and dry-cured ham in binding selected flavor compounds [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(13): 4802-4808.
- [26] Tan Y, Siebert K. Modeling bovine serum albumin binding of flavor compounds (alcohols, aldehydes, esters, and ketones) as a function of molecular properties [J]. *Journal of Food Science*, 2007, 73(1): 56-63.
- [27] Kun W, Susan D. Binding of carbonyl flavors to canola, pea, and wheat proteins using GC/MS approach [J]. *Food Chemistry*, 2014, 157(15): 364-372.
- [28] Damodaran S, Kinsella J. Flavor protein interactions. Binding of carbonyls to bovine serum albumin: thermodynamic and conformational effects [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1980, 28(3): 567-571.
- [29] Vege M, Susan B. Detectable odor thresholds of selected lipid oxidation [J]. *Journal of Food Science*, 1995, 60(3): 592-595.
- [30] Kun W, Susan D. Probing the molecular forces involved in binding of selected volatile [J]. *Food Chemistry*, 2016, 211: 235-242.
- [31] 吕彤,林俊杰,周昌瑜,等.热处理强度对猪肉肌球蛋白结构及风味成分吸附特性的影响[J].农业工程学报,2016,32(8): 285-291.
- [32] 殷小钰,刘昊天,邹汶蓉,等.肌肉蛋白与挥发性风味物质的相互作用机制及影响因素研究进展[J].食品科学,2020,41(15):288-294.