

姜黄提取物对牦牛肌原纤维蛋白抗氧化性及凝胶特性的影响

卢海立¹, 屈莎¹, 唐善虎¹, 李思宁¹, 蔡寅川², 郝刚^{1*}

(1. 西南民族大学食品科学与技术学院, 四川成都 610041)

(2. 四川阿坝州工业经济研究所, 四川汶川 623000)

摘要: 该研究在羟基自由基氧化体系诱导牦牛肉肌原纤维蛋白 (Myofibrillar Protein, MP) 氧化过程中加入姜黄提取物, 探索姜黄提取物对氧化蛋白质理化性质及结构的影响, 以及对 MP 凝胶结构和消化率的影响。研究表明: 姜黄提取物质量浓度 <200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 对氧化 MP 的羰基、巯基含量, 溶解度、持水性等无显著影响 ($P>0.05$); 当姜黄质量浓度在 200~800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 氧化 MP 的羰基含量下降为 7.44 nmol/mg, 巯基含量、溶解度、白度、持水性、凝胶强度增大, 各含量的最大值分别为 41.6 nmol/mg、29.79%、81.37、90.44%、59.32, 姜黄提取物对蛋白氧化有明显的抑制作用; 但随着浓度继续升高, 姜黄提取物中的酚类物质能破坏蛋白分子结构, 使凝胶性能受到破坏, 姜黄提取物添加后对牦牛肉 MP 凝胶的体外消化率无显著影响 ($P<0.05$)。姜黄提取物在 200~800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 质量浓度范围内在牦牛肉 MP 氧化中表现出较好的抗氧化活性, 为牦牛肉抗氧化提供一定的理论依据。

关键词: 姜黄提取物; 牦牛肉; 肌原纤维蛋白; 抗氧化

文章编号: 1673-9078(2024)09-288-295

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.9.0828

Effects of Turmeric Extract on the Antioxidant Activity and Gel Properties of Yak Myofibrillar Protein

LU Haili¹, QU Sha¹, TANG Shanhu¹, LI Sining¹, CAI Yinchuan², HAO Gang^{1*}

(1. College of Food Science and Technology, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China)

(2. The Research Institute of Industrial Economy of Aba, Wenchuan 623000, China)

Abstract: In this study, turmeric extract was added during the oxidation process of yak myofibrillar protein (MP) induced by the hydroxyl radical oxidation system, to study the effects of the turmeric extract on the physicochemical properties and structure of oxidized protein, as well as the structure and digestibility of MP gel. The research results showed that when the concentration of turmeric extract was lower than 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, the turmeric extract had no significant effect on the carbonyl and thiol contents, solubility, and water-holding capacity of the oxidized MP ($P>0.05$); When the concentration of turmeric was 200~800 $\mu\text{g}/\text{mL}$, the carbonyl content of the oxidized MP decreased to

引文格式:

卢海立, 屈莎, 唐善虎, 等. 姜黄提取物对牦牛肌原纤维蛋白抗氧化性及凝胶特性的影响[J]. 现代食品科技, 2024, 40(9):288-295.

LU Haili, QU Sha, TANG Shanhu, et al. Effects of turmeric extract on the antioxidant activity and gel properties of yak myofibrillar protein [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(9): 288-295.

收稿日期: 2023-07-10

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项 (2023NYXXS070)

作者简介: 卢海立 (1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与安全, E-mail: luhl99@foxmail.com

通讯作者: 郝刚 (1978-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 蛋白质化学研究, E-mail: indianahg@hotmail.com

7.44 nmol/mg, and the sulfhydryl content, solubility, whiteness, water retention and gel strength increased, with the maximum values being 41.6 nmol/mg, 29.79%, 81.37, 90.44%, and 59.32, respectively. The turmeric extract significantly inhibited protein oxidation; However, as the concentration of the turmeric extract continued to increase, the phenolic substances in the turmeric extract could destroy the molecular structure of protein and the properties of gel. The addition of turmeric extract had no significant effect on the *in vitro* digestibility of yak meat MP gel ($P < 0.05$). The turmeric extract showed good antioxidant activity during yak meat MP oxidation in the mass concentration range of 200~800 $\mu\text{g/mL}$, which provides a certain theoretical basis for yak meat antioxidation.

Key words: turmeric extract; yak meat; myofibrillar protein; antioxidant

肌原纤维蛋白 (Myofibrillar Protein, MP) 是肉类主要的蛋白质组成部分, 肉类的加工性能、风味特性以及营养价值由肌原纤维蛋白的水合性质、空间结构和功能关系所决定。在加热等因素的影响下, 肌原纤维蛋白分子展开, 通过共价交联和非共价相互作用进行有序的聚合, 形成多维网状凝胶结构从而对肉制品造成影响^[1]。蛋白氧化同样会导致肌原纤维的结构发生变化, 肉制品的持水性下降、质构变差, 造成肉的嫩度不足和汁液流失等不良影响。蛋白质的溶解度、构象、疏水性以及对蛋白酶的敏感性会因为蛋白质氧化而发生改变, 同时, 可消化性也会降低从而导致肉制品营养价值下降。因此需要更加深入的去研究蛋白质氧化机制, 充分认识蛋白质氧化给肉制品带来的不利影响, 继而采取可行的措施去抑制氧化, 稳定肉品品质。

酚类化合物广泛存在水果、蔬菜、中草药等物质中, 其具有抗菌、抗炎、抗过敏、抗血栓等广泛的生物活性^[2], 植物来源的酚类化合物越来越多的作为天然抗氧化剂广泛使用于肉类加工中, 相比合成抗氧化剂, 天然抗氧化剂更安全。在氧化过程中 $\cdot\text{OH}$ 氧化被认为是蛋白和脂质氧化的主要发起者, 我们在前期实验中发现 $\cdot\text{OH}$ 氧化使得蛋白发生交联、溶解度降低、氨基酸侧链结构发生变化以及功能特性发生改变^[3]。在前人的研究中已经证明酚类物质可以延缓肉类的脂质氧化^[4], 也可以通过共价键和非共价键与蛋白发生相互作用, 改变蛋白质结构, 从而改善食品中蛋白质的功能特性^[5]。酚类物质作为抗氧化剂参与物理化学反应机理多样, 因此值得深入研究。本研究以姜黄提取物作为抗氧化剂, 探究 $\cdot\text{OH}$ 氧化后姜黄提取物的添加对牦牛肉 MP 理化性质以及 MP 凝胶性能的影响。

1 材料与设备

1.1 实验材料与试剂

牦牛肉购于四川省阿坝州红原县自然放牧区, 宰杀后冷却排酸, 快速冷冻后低温运回实验室 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。

姜黄提取物、EGTA (乙二醇双(2-氨基乙基)四乙酸)、2,4-二硝基苯肼 (DNPH)、 $\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、 FeCl_3 、抗坏血酸、 H_2O_2 、EDTA (乙二胺四乙酸)、三氯乙酸, 成都科隆化学有限公司; 盐酸胍、Tris, 德国 BioFroxx 公司; 5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸) (DTNB)、胃蛋白酶 (3 000 U/mg)、胰蛋白酶 (250 U/mg), 上海源叶生物。

1.2 仪器与设备

冷冻离心机 5804R, 德国 Eppendorf 公司; 高速匀浆机 T-25, 德国 IKA 公司; 紫外分光光度计 UV1810S, 上海佑科仪器仪表有限公司; 电泳仪 PowerPacTMBasic, 美国 Bio-Rad 公司; 电泳槽 Mini-PROTEAN Tetra System, 美国 Bio-Rad 公司; 色差仪 CM-700d, 日本 KONICAMINOLTA; 质构分析仪 TA.XT-Plus, Stable Micro Systems。

1.3 试验方法

1.3.1 肌原纤维蛋白的提取

参考 Donkeun 等^[6]的方法从牦牛背最长肌中分离提取 MP。在 4 倍体积的分离缓冲液 (0.1 mol/L NaCl, 20 mmol/L 磷酸盐缓冲液, 2 mmol/L MgCl_2 , 1 mmol/L EGTA, pH 值 7.0) 中加入切碎的样品, 混合匀浆于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、2 000 g 离心 15 min, 弃去上清液,

重复洗涤沉淀 2 次。重复上述操作, 将分离缓冲液换为 4 倍体积 0.1 mol/L NaCl 溶液, 其余操作不变, 并在最后 1 次离心前用 3 层纱布过滤, 最后得到的 MP 存放至 4 °C, 于 48 h 内利用。采用双缩脲法测定蛋白质浓度。

1.3.2 植物提取物的添加及氧化处理

参考曹云刚^[7]MP 蛋白用 15 mmol/L PIPES 缓冲液 (含 0.6 mol/L NaCl, pH 值 6) 稀释至所需浓度, 将不同体积的姜黄提取物溶液 (15 mmol/L, 溶于 PIPES) 分别加入 MP 蛋白溶液中, 搅拌均匀后加入 Feton 氧化体系 (10 μmol/L FeCl₃, 0.1 mmol/L 抗坏血酸, 5 mmol/L H₂O₂), 在 4 °C 条件下氧化 24 h。蛋白终质量浓度为 15 mg/mL 用于羰基、巯基等理化性质的测定和 40 mg/mL 用于凝胶特性的测定, 用 1 mmol/L EDTA (终浓度) 终止氧化。未加提取物及氧化剂但含有 EDTA 的蛋白溶液作为对照。

1.3.3 蛋白凝胶的制备

将蛋白溶于 1 mmol/L 的磷酸缓冲液 (含 0.1 mol/L NaCl, V/V) 中, 蛋白质量浓度调整到 40 mg/mL, 分别取 20 mL、5 mL 蛋白溶液到密封样品瓶中, 水浴加热, 25 °C 线性升温至 80 °C, 保温 20 min 取出, 冷却后置于冰箱 4 °C 存放过夜^[8]。

1.3.4 羰基

参照 Oliver 等^[9]测定肌原纤维蛋白中羰基的方法, 在离心管中放入 1 mL 质量浓度为 4 mg/mL 的 MP 溶液, 同时加入 1 mL 10 mmol/L 的 2,4-二硝基苯肼 (DNPH), 对照组加入 1 mL 2 mol/L 的 HCl 溶液。20 °C 下避光反应 1 h 后加入 1 mL 20% 三氯乙酸 (TCA) 溶液混匀离心 (12 000 g), 弃上清液, 用 1 mL 乙酸乙酯:乙醇 (1:1, V/V) 清洗沉淀 3 次。加入 4 mL 6 mol/L 盐酸胍溶液, 水浴 37 °C 保温 15 min 以溶解沉淀, 离心 3 min 后除去不溶物, 在 370 nm 处测上清液吸光值。使用分子吸光系数 22 000 M⁻¹cm⁻¹ 计算羰基含量, 羰基含量表示为 nmol/mg 蛋白。

$$C = \frac{A}{c \times D \times 22\,000} \times 10^6 \times n \quad (1)$$

式中:

C —羰基含量;

A —样品吸光值;

c —MP 质量浓度, mg/mL;

D —比色光径, cm;

n —稀释倍数。

1.3.5 巯基

参考 Ellman^[10]的方法进行测定。测定活性巯基含量时, 向 1 mL MP 溶液 (2~4 mg/mL) 中添加 9 mL 0.02 mol/L Tris-HCl 缓冲溶液 (含 2 wt.% SDS、10 mmol/L EDTA, pH 值 6.8) 和 1 mL Ellman 试剂 (含 0.2 mol/L 磷酸缓冲液、0.1 wt.% DTNB, pH 值 8.0, V/V) 并混匀。4 °C 放置 1 h 后测其在 412 nm 波长处的吸光度。巯基含量 (nmol/mg 蛋白) 使用摩尔吸光系数 13 600 M⁻¹·cm⁻¹ 计算。

测定总巯基含量时, 向 1 mL MP 溶液 (2~4 mg/mL) 中加入 9 mL 0.02 mol/L Tris-HCl 缓冲溶液 (含 8 mol/L 尿素、2 wt.% SDS、10 mmol/L EDTA, pH 值 6.8) 和 1 mL Ellman 试剂混合均匀, 40 °C 水浴 25 min, 其余操作与测定活性巯基含量相同。

$$S = \frac{A}{c \times 13\,600} \times 10^6 \times n \quad (2)$$

式中:

S —巯基含量

A —样品吸光度;

c —MP 质量浓度, mg/mL;

n —稀释倍数。

1.3.6 溶解度

将 1 mg/mL 的 MP 样液于 4 °C 离心 (5 000 g) 10 min, 上清液的蛋白浓度采用双缩脲法测定。溶解度表示为离心前后蛋白质浓度的比值。

1.3.7 SDS-PAGE

参考 Wang 等^[11]的方法, 略作修改。将含有 (不含有) 5% β-ME 的样品缓冲液 (0.5% 溴酚蓝、4% SDS、2% 甘油、10% β-ME, pH 值 6.8, V/V) 与不同氧化程度的 MP 与混合, 同时把 MP 质量浓度调至 1.0 mg/mL。以 12% 分离胶, 5% 浓缩胶, 电极缓冲液为 Tris-甘氨酸缓冲液 (含 0.1% SDS, pH 值 8.3, V/V), 考马斯亮蓝 R-250 染色液 (含 0.15% 考马斯亮蓝 R-250、50% 乙醇、10% 冰醋酸, V/V) 染色; 用含 50% 乙醇、10% 冰醋酸的洗脱液脱色。

1.3.8 白度

参考李银等^[12]的方法测定蛋白凝胶的白度值。将在冰箱放置过夜的蛋白凝胶在室温下放置 30 min 后, 测定其 L^* 、 a^* 和 b^* 值, 样品测定 3 次。其中 L^* 表示亮度值; a^* 表示红度值 (正值表示偏红, 负值表示偏绿); b^* 表示黄度值 (正值表示偏黄, 负值表示偏蓝)。测前用标准白 ($L^*=25.60$,

$a^*=-0.30$, $b^*=0.27$) 校正色差计。

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

式中:

W —凝胶白度值。

1.3.9 凝胶强度

用质构仪对蛋白凝胶质构进行测定, 采用 P/50 探头, P5 探头 (直径 5 mm), 物性参数设定为触发力 5 g, 探头下压距离 10 mm, 测前速度 1.0 mm/s, 测试速度 0.5 mm/s, 测后速度 1.0 mm/s。一次测定过程中探头下压两次, 硬度是第一次压缩时的最大峰值^[13]。

1.3.10 持水性

持水性测定方法参考 Delles 等^[14]的方法。称取 5 g 凝胶样品记为 M_1 , 用滤纸包好放入 10 mL 离心管中, 3 000 r/min 离心 10 min 后称量凝胶质量记为 M_2 。

$$E=\frac{M_1}{M_2}\times 100\% \quad (4)$$

式中:

E —持水性 (WHC), %。

1.3.11 体外消化

参考 Ma 等^[15]的方法, 取 5.0 g 冷却过夜后的凝胶及相应流出液, 磨碎加入至 37 mL 10 mmol/L HCl 溶液中, 均质 30 s (7 500 r/min), 随后加入 8 mL 1 mg/mL 猪胃蛋白酶溶液。所得混合物终浓度为: 蛋白质量浓度 4 mg/mL, 胃蛋白酶浓度 4% m/m (以蛋白含量为基准), pH 值 2.0。在 37 °C 水浴锅中酶解 1 h。调节 pH 值为 7.5 以灭活胃蛋白酶结束反应。随后加入相应剂量的猪胰酶溶液 (质量分数 4%, 以蛋白含量为基准, pH 值 7.5) 水浴 37 °C 保温消化 2 h。分别在反应 30、60、90、120 和 180 min 时取样 1 mL 于 2 mL 离心管内。将等体积的 30% TCA 溶液分别加入不同反应时长的消化液中, 混匀以沉淀蛋白并终止反应后存放于 4 °C 冰箱过夜, 室温离心 10 min (10 000 g)。弃去上清液, 将 1 mL 1 mol/L NaOH 加入离心管中使蛋白沉淀复溶, 采用双缩脲法测定其蛋白浓度。体外消化率的定义如下:

$$D=\frac{C_t-C_p}{C_t}\times 100\% \quad (6)$$

式中:

D —体外消化率, %;

C_t —总蛋白浓度;

C_p —TCA 沉淀蛋白浓度。

1.3.12 数据分析

数据处理和差异显著性分析采用 Excel、Origin 和 SPSS 软件进行, 用 Excel 2019 软件做数据统计与计算; 运用 SPSS 20 软件中的描述统计计算平均数和标准差, 用 DUNCAN 多重比较对数据进行显著性分析 ($P<0.05$ 表示差异显著), 利用 Origin 2022 软件作图, 所有实验均重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 羰基含量分析

羰基是评价蛋白氧化程度一个重要指标, 如图 1 所示, 对照组蛋白羰基含量为 7.18 nmol/mg, 与对照组相比, 氧化但未加姜黄提取物的羰基含量显著上升 ($P<0.05$), 含量为 8.44 nmol/mg, 在加入抗氧化剂后, 羰基含量呈先上升后下降再上升的趋势, 当姜黄提取物含量较少时, 对羰基含量无显著性影响 ($P>0.05$)。但随着姜黄质量浓度的继续增加, 羰基含量开始下降, 当其质量浓度为 800 $\mu\text{g/mL}$ 时, 羰基下降至最小, 为 7.44 nmol/mg, 且显著降低 ($P<0.05$), 说明姜黄能有效抑制 $\cdot\text{OH}$ 氧化带来的负面效果, 这可能是由于在 $\cdot\text{OH}$ 氧化系统中, 多酚类物质被氧化成醌衍生物, 消耗了氧, 通过减少蛋白与 $\cdot\text{OH}$ 接触的方式阻止了它对蛋白的攻击, 有效阻碍了自由基链反应^[16]。随着姜黄质量浓度继续升高, 羰基含量开始上升, 即蛋白氧化程度加深, 高浓度的酚类物质与蛋白相互作用, 破坏了蛋白的分子结构促进了蛋白的氧化^[17]。

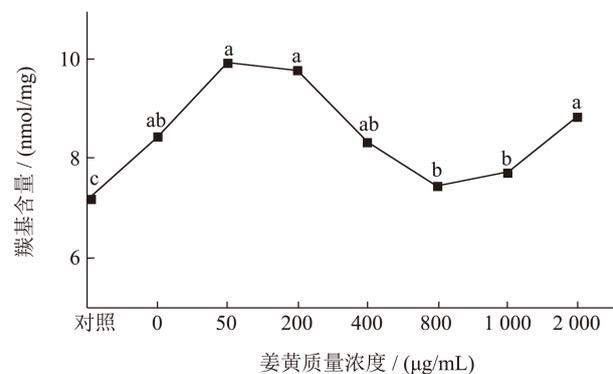


图 1 添加不同质量浓度姜黄对氧化后肌原纤维蛋白羰基含量的影响

Fig.1 Effects of different concentrations of turmeric on the carbonyl content of myofibrillar protein after oxidation

注: a、b、c 表示各因素之间的差异显著性, $P<0.05$ 表示差异性显著, $P>0.05$ 表示差异性不显著。下同。

2.2 巯基含量分析

MP 含有丰富的 SH 基团, 易被 ·OH 攻击, 氧化转化为分子内和分子间的二硫键^[18]。如图 2 所示, 对照组巯基含量分别为 35.55 nmol/mg (游离巯基)、42.89 nmol/mg (总巯基), 在未添加姜黄的情况下, 氧化使 MP 巯基含量显著降低 ($P < 0.05$), 含量为 31.60 nmol/mg、39.33 nmol/mg, 再加入姜黄提取物后, 在低浓度下对巯基含量无显著性影响 ($P > 0.05$), 即对 MP 氧化无抑制作用, 随着姜黄质量浓度增加, 巯基含量开始回升, 对比未加姜黄提取物处理组, 巯基含量明显增加, 进一步证明姜黄提取物对于牦牛肉 MP 有显著的抗氧化作用, 但随着其质量浓度进一步增加, 巯基含量显著下降 ($P < 0.05$)。出现这种情况的原因可能是: 多酚类物质在高浓度情况下氧化形成的醌类物质与蛋白表面的巯基发生相互作用生成巯基-醌化合物使得巯基含量下降^[19]。

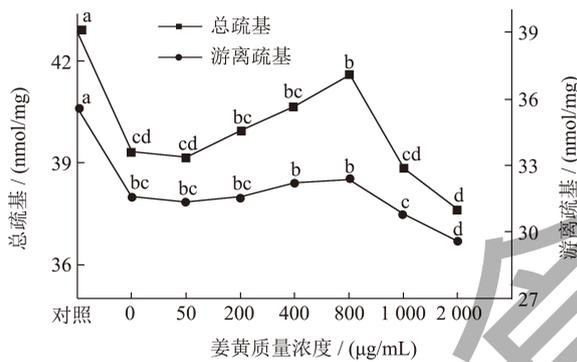


图 2 添加不同质量浓度姜黄对氧化后肌原纤维蛋白游离巯基含量的影响

Fig.2 Effect of adding different concentrations of turmeric on sulfhydryl content of oxidized myofibrillar protein

2.3 溶解度分析

蛋白质的溶解性对食品品质、风味、营养价值均有影响, 是进行食品加工的先决条件^[20]。如图 3 所示, 与对照组相比氧化处理但未加姜黄的组溶解度显著下降 ($P < 0.05$), 氧化后蛋白结构进一步展开, 促进蛋白之间的交联, 形成不溶性聚集体, 使得氧化后蛋白溶解度降低。加入低质量浓度的姜黄提取物对溶解度无显著影响 ($P > 0.05$), 随着姜黄浓度的增加, 溶解度相比与未加提取物的组溶解度显著增加 ($P < 0.05$), 溶解度上升, 在 800 nmol/mg 时达到最大值, 为 29.79%, 这是由于加入姜黄提取物后, 蛋白交联减少, 使得聚集体减少, 溶解度回升。当姜黄质量浓度大于 800 µg/mL 时溶解度下降, 无显著影响 ($P > 0.05$)。

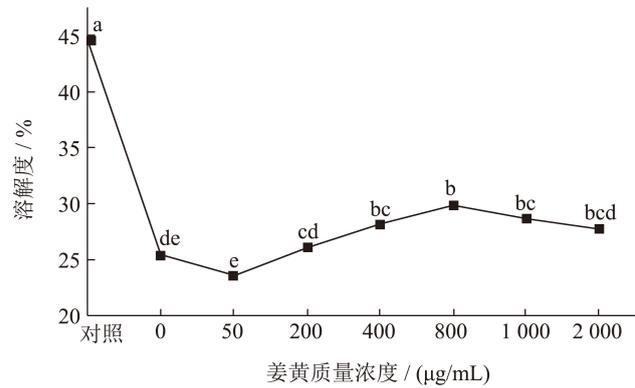


图 3 添加不同质量浓度姜黄对氧化后肌原纤维蛋白溶解度的影响

Fig.3 Effect of adding different concentrations of turmeric on the solubility of oxidized myofibrillar protein

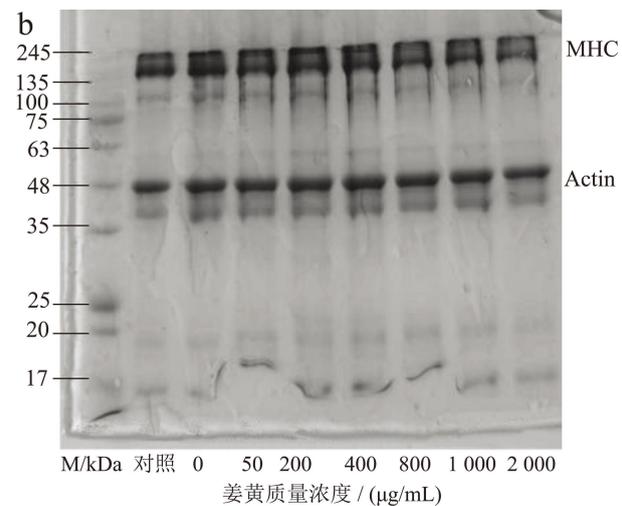
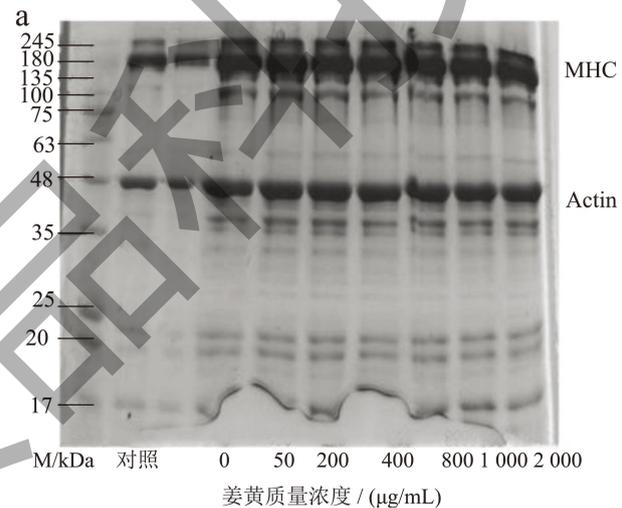


图 4 添加不同质量浓度姜黄对氧化后肌原纤维蛋白交联的影响

Fig.4 Effects of adding different concentrations of turmeric on myofibrillar protein crosslinking after oxidation

注: a、b 分别表示 +βME、-βME 后同质量浓度姜黄对氧化后 MP 交联的影响。

2.4 SDS-PAGE分析

植物多酚对蛋白氧化交联的影响较为复杂，一方面，多酚可清除自由基，阻止蛋白氧化交联，另一方面多酚的氧化产物醌类物质又可以与蛋白发生反应，诱导蛋白共价交联。如图4所示，在 $-\beta$ -ME条件下，随着姜黄质量浓度从200 $\mu\text{g/mL}$ 增加至800 $\mu\text{g/mL}$ 时，MHC条带强度增强，说明姜黄总体上阻止了MHC蛋白分子的氧化交联。当姜黄质量浓度为1 000 $\mu\text{g/mL}$ 和2 000 $\mu\text{g/mL}$ ，MHC条带强度有所降低，较高浓度条件下，姜黄提取物里的多酚类物质氧化形成的醌类衍生物诱导蛋白交联聚集的影响更占优势。在 $+\beta$ -ME情况下，大部分MHC条带随姜黄提取物质量浓度的提高而增强，说明巯基是姜黄多酚氧化产物醌类物质的主要反应位点，醌与蛋白质硫醇、 ϵ -NH₂基团之间形成巯基-醌加合物^[5]，在 β -ME的还原作用下，氧化交联的MHC被还原释放出来。

2.5 白度值分析

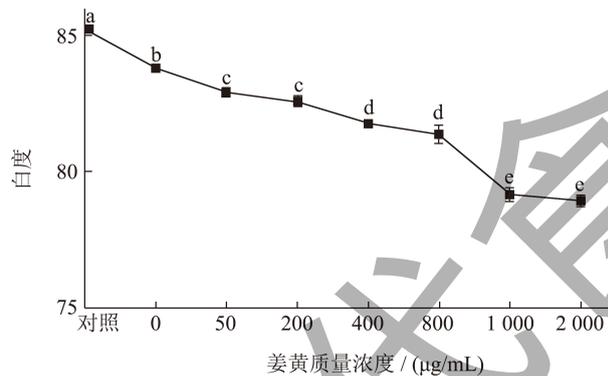


图5 添加不同质量浓度姜黄对氧化后肌原纤维蛋白白度的影响

Fig.5 Effects of adding different concentrations of turmeric on the whiteness of myofibrillar protein after oxidation

2.6 凝胶强度分析

如图6所示，氧化后蛋白凝胶强度显著降低 ($P < 0.05$)，当姜黄提取物含量较小时对凝胶强度无显著影响 ($P > 0.05$)，随着提取物浓度增加，蛋白凝胶强度显著上升 ($P < 0.05$)，最大达到59.32，当质量浓度大于800 $\mu\text{g/mL}$ 时凝胶强度开始下降。当姜黄浓度过高时无法对蛋白产生保护作用，使得其持水性、溶解度降低，干扰或诱导分子间的相互作用。过多的酚类物质使得蛋白沉淀，溶解度降低，使得参与成胶的蛋白含量降低^[21]，致使蛋白凝胶强

度降低。在50~800 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度条件下，未氧化的蛋白通过二级结构和肽键之间的非共价交联来提高MP凝胶强度，部分氧化的蛋白可以通过巯基向二硫键的转化增强MP凝胶强度^[22]，也可以通过诱导氢键和疏水相互作用来改善凝胶强度^[23]。在凝胶形成过程中，在高温环境和自由基诱导下多酚和蛋白分子形成共价和非共价相互作用，减弱了蛋白氧化使得蛋白凝胶强度增强^[24]。

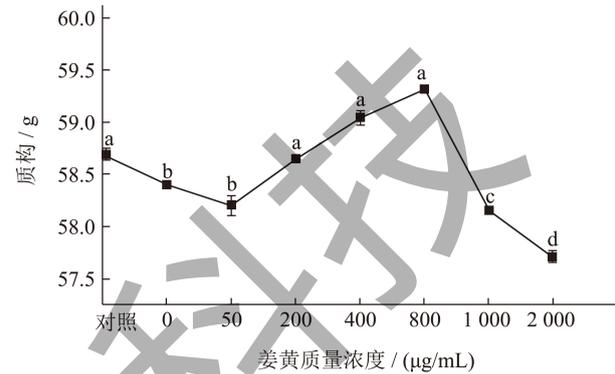


图6 添加不同质量浓度姜黄对氧化后肌原纤维蛋白强度的影响

Fig.6 Effect of adding different concentrations of turmeric on the strength of oxidized myofibrillar protein

2.7 持水性分析

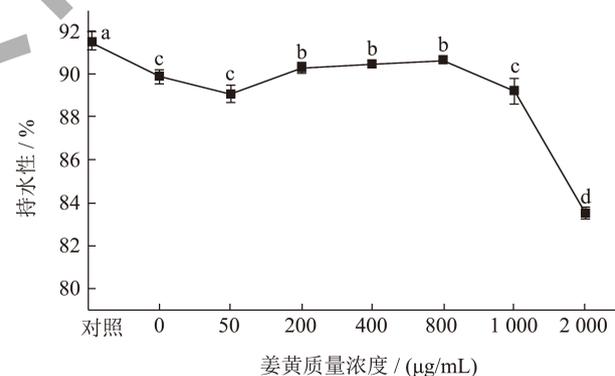


图7 添加不同质量浓度姜黄对氧化后肌原纤维蛋白持水性的影响

Fig.7 Effect of adding different concentrations of turmeric on water retention of oxidized myofibrin

持水性是指蛋白质凝胶持留水不让其流动的能力；增加持水性意味着更多的水可以与蛋白质结合或储存在凝胶网结构中^[25]。持水性对于凝胶类产品的产量和储藏稳定性有重要影响，持水性越高，凝胶出水性越小^[26]。如图7所示，在氧化条件下，持水性显著下降 ($P < 0.05$)，加入姜黄提取物后对提高蛋白凝胶持水性有显著影响 ($P < 0.05$)，但姜黄

含量较少时,对保水性无显著影响 ($P < 0.05$),当其质量浓度在 200~800 $\mu\text{g/mL}$ 时持水性上升,上升至 90.63% 后持水性显著下降。姜黄提取物可以作为抗氧化剂减弱羟自由基对 MP 分子的损伤与聚集,特别是蛋白在形成凝胶前的无序氧化聚集,此外多酚物质与 MP 分子之前产生共价相互作用,提高了分子之间的交联,增强凝胶强度,使得蛋白凝胶持水性提高。但当姜黄提取物过多时,大量的多酚类物质使得蛋白聚集沉淀,溶解度下降,凝胶结构强度下降,使得蛋白凝胶持水性降低。

2.8 体外消化分析

食品在吸收前会在消化道进行消化,这个过程

会改变物质的生物活性。本研究模拟 MP 凝胶的体外消化情况,建立胃蛋白酶-胰蛋白酶消化系统,研究氧化及抗氧化物对蛋白凝胶消化的影响。如表 1 所示,加热前羟自由基氧化对凝胶消化率无显著影响,姜黄提取物可与蛋白通过共价或非共价键结合以提高抗氧化性,但对 MP 凝胶的消化率影响并不显著 ($P > 0.05$),未有促进或抑制作用,整个消化系统结束后,蛋白凝胶消化率均高于 90%,说明凝胶易于消化。虽然试验中加入姜黄素量差对消化影响不大,但之前有研究表明茶多酚可以促进食品蛋白和鸡蛋的消化^[27],与食物消化呈现一定相关性,因此植物多酚对蛋白消化率的影响具有深入研究的必要。

表 1 热凝胶在不同时间下的体外消化率
Table 1 *In vitro* digestibility of hot gel at different times

样品	消化时间/min				
	30	60	90	120	180
对照	80.9 ± 0.04 ^{aC}	85.6 ± 0.33 ^{aB}	90.6 ± 0.05 ^{aA}	90.8 ± 0.12 ^{aA}	90.9 ± 0.1 ^{aA}
0	80.1 ± 0.11 ^{aC}	85.5 ± 0.01 ^{aB}	94.8 ± 0.04 ^{aA}	94.7 ± 0.17 ^{aA}	94.4 ± 0.04 ^{aA}
50	80.6 ± 0.05 ^{aC}	85.4 ± 0.08 ^{aB}	93.7 ± 0.13 ^{aA}	93.9 ± 0.06 ^{aA}	93.5 ± 0.16 ^{aA}
200	80.4 ± 0.27 ^{aC}	85.2 ± 0.07 ^{aB}	94.8 ± 0.21 ^{aA}	94.7 ± 0.14 ^{aA}	94.4 ± 0.08 ^{aA}
400	80.8 ± 0.42 ^{aC}	85.1 ± 0.04 ^{aB}	94.2 ± 0.09 ^{aA}	93.6 ± 0.11 ^{aA}	93.3 ± 0.23 ^{aA}
800	80.5 ± 0.06 ^{aC}	85.9 ± 0.01 ^{aB}	93.8 ± 0.17 ^{aA}	94.4 ± 0.03 ^{aA}	94.1 ± 0.09 ^{aA}
1 000	80.0 ± 0.09 ^{aC}	85.4 ± 0.11 ^{aB}	93.6 ± 0.06 ^{aA}	94.2 ± 0.12 ^{aA}	94.1 ± 0.31 ^{aA}
2 000	80.2 ± 0.17 ^{aC}	85.0 ± 0.07 ^{aB}	93.5 ± 0.05 ^{aA}	93.8 ± 0.20 ^{aA}	93.6 ± 0.05 ^{aA}

注:对照:未氧化样品,0:氧化样品,50、200、400等:氧化条件下,分别加入 50、200、400 $\mu\text{g/mL}$ 等的姜黄提取物;a表示不同处理组(同一列)的显著差异 ($P < 0.05$),A~C表示不同时间下(同一行)相同处理组的差异显著 ($P < 0.05$)。

3 结论

加入姜黄提取物后,在低质量浓度下 ($< 200 \mu\text{g/mL}$),对 MP 的羰基、巯基溶解度、持水性、强度无显著影响;随着姜黄浓度的增加,羰基含量下降,下降为 7.44 nmol/mg,巯基、溶解度、凝胶白度、持水、强度值增大,增大为 41.6 nmol/mg、29.79%、81.37、90.44%、59.32,此时,姜黄提取物对蛋白有明显的保护作用;但当姜黄质量浓度过高时 ($> 800 \mu\text{g/mL}$) 破坏蛋白分子结构,羰基含量上升、巯基、溶解度降低;凝胶性能也遭到破坏,持水性、白度、强度值降低,高质量浓度的姜黄会促进蛋白氧化。姜黄的添加对牦牛肉 MP 凝胶的消化率无显著影响。姜黄提取物在一定质量浓度范围内 (200~800 $\mu\text{g/mL}$) 对氧化后的肌原纤维

蛋白有保护作用,表现出较好的抗氧化能力。

参考文献

- [1] 韩格,孔保华.功率超声对肌原纤维蛋白功能特性及肉品质影响研究进展[J].食品科学,2022,43(13):361-369.
- [2] JIA X, WANG Y, ZHAO J, et al. Effect of *Glomus mosseae*, cadmium, and elevated air temperature on main flavonoids and phenolic acids contents in alfalfa [J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2023, 30: 44819-44832.
- [3] MAQSOOD S, BENJAKUL S, SHAHIDI F. Emerging role of phenolic compounds as natural food additives in fish and fish products [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2013, 53(2): 162-179.
- [4] 钟玉洁.鱼腥草多酚醇提取物对亚油酸诱导大足黑山羊肉蛋白质氧化损伤的保护机制研究[D].重庆:西南大学, 2022.
- [5] CAO Y G, XIONG Y L. Chlorogenic acid-mediated gel

- formation of oxidatively stressed myofibrillar protein [J]. Food Chemistry, 2015, 180: 235-243.
- [6] DONKEUN P, XIONG Y L. Oxidative modification of amino acids in porcine myofibrillar protein isolates exposed to three oxidizing systems [J]. Food Chemistry, 2006, 103(2): 607-616.
- [7] 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,2017.
- [8] 倪娜,王振宇,韩志慧,等.pH对羔羊背最长肌肌原纤维蛋白热诱导凝胶的影响[J].中国农业科学,2013,46(17): 3680-3687.
- [9] OLIVER C N, AHN B W, MOERMAN E J, et al. Age-related changes in oxidized proteins [J]. The Journal of Biological Chemistry, 1987, 262(12): 5488-5491.
- [10] ELLMAN G L. Tissue sulfhydryl groups [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1959, 82(1): 70-77.
- [11] WANG Z, HE Z, GAN X, et al. Effect of peroxy radicals on the structure and gel properties of isolated rabbit meat myofibrillar proteins [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2018, 53(12): 2687-2696.
- [12] 李银,李侠,张春晖,等.羟自由基导致肉类肌原纤维蛋白氧化和凝胶性降低[J].农业工程学报,2013,29(12):286-292.
- [13] 王洪晶.脂肪氧合酶对大豆分离蛋白聚集及凝胶性质影响研究[D].无锡:江南大学,2006.
- [14] DELLES R M, XIONG Y L. The effect of protein oxidation on hydration and water-binding in pork packaged in an oxygen-enriched atmosphere [J]. Meat Science, 2014, 97(2): 181-188.
- [15] MA Y, XIONG Y L. Antioxidant and bile acid binding activity of buckwheat protein *in vitro* digests [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(10): 4372-4380.
- [16] BERLETT B S, STADTMAN E R. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress [J]. The Journal of Biological Chemistry, 1997, 272(33): 20313-20316.
- [17] WANG S, ZHANG Y, CHEN L, et al. Dose-dependent effects of rosmarinic acid on formation of oxidatively stressed myofibrillar protein emulsion gel at different NaCl concentrations [J]. Food Chemistry, 2018, 243: 50-57.
- [18] NA J, LETIAN W, JUNHUA S, et al. Changes in the structural and gel properties of pork myofibrillar protein induced by catechin modification [J]. Meat Science, 2017, 127: 45-50.
- [19] CAO Y, TRUE A D, CHRN J, et al. Dual role (anti- and pro-oxidant) of gallic acid in mediating myofibrillar protein gelation and gel *in vitro* digestion [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(15): 3054-3061.
- [20] NAVNIT K M, ZDENEK K, MICHAELA W, et al. Recognition of selected monosaccharides by *Pseudomonas aeruginosa* Lectin II analyzed by molecular dynamics and free energy calculations [J]. Carbohydrate Research, 2010, 345(10): 1432-1441.
- [21] HWANG J, LAI K, HSU K. 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.
- [22] WANG L, ZHANG M, FANG Z, et al. Gelation properties of myofibrillar protein under malondialdehyde-induced oxidative stress [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2017, 97(1): 50-57.
- [23] LI J, MUNIR S, YU X, et al. Double-crosslinked effect of TGase and EGCG on myofibrillar proteins gel based on physicochemical properties and molecular docking [J]. Food Chemistry, 2021, 345: 128655.
- [24] CHENG J, LIN Y, TANG D, et al. Structural and gelation properties of five polyphenols-modified pork myofibrillar protein exposed to hydroxyl radicals [J]. LWT, 2022, 156: 113073.
- [25] GUSTAVO H L, DIANINI H K, TANIZE D S A, et al. Cake of brown, black and red rice: Influence of transglutaminase on technological properties, *in vitro* starch digestibility and phenolic compounds [J]. Food Chemistry, 2020, 318 (prepublish): 126480.
- [26] JAILSON P, SATHUVAN M, SARFARAZ A B, et al. Impact of unripe banana flour on water states, rheological behaviour and structural properties of myofibrillar protein composite gel [J]. LWT, 2020, 125(C): 109276-109276.
- [27] SHEN F, NIU F G, LI J H, et al. Interactions between tea polyphenol and two kinds of typical egg white proteins-ovalbumin and lysozyme: Effect on the gastrointestinal digestion of both proteins *in vitro* [J]. Food Research International, 2014, 59: 100-107.