

超声波辅助没食子酸对鲈鱼肌原纤维蛋白结构特性的影响

李颖畅¹, 师丹华¹, 赵淞民¹, 朱永丽¹, 邹倩^{1,2}, 仪淑敏¹, 励建荣^{1*}

(¹渤海大学食品科学与工程学院 生鲜农产品贮藏加工及安全控制技术国家地方联合工程研究中心 辽宁锦州 121013

²大连工业大学 海洋食品精深加工关键技术省部共建协同创新中心 辽宁大连 116034)

摘要 通过拉曼光谱、内源荧光光谱、表面疏水性、差示热量扫描(DSC)、动态流变和电泳分析,以海鲈鱼肌原纤维蛋白为对象,研究 0,1,2,4,6 mg/g 的没食子酸在超声波辅助下,对海鲈鱼肌原纤维蛋白结构的影响。结果表明,没食子酸与超声波协同作用能改变鲈鱼肌原纤维蛋白的二级结构。未超声处理时,当没食子酸的添加量从 0 mg/g 增至 2 mg/g,肌原纤维蛋白的 α -螺旋含量从 52.81% 升至 74.68%, β -折叠从 21.3% 降至 5%,同时, β -转角和无规则卷曲含量下降;当没食子酸的含量继续增加时, α -螺旋含量呈降低的趋势。超声处理后,随着没食子酸含量增加, α -螺旋含量也增加,当没食子酸的添加量为 2 mg/g 时, α -螺旋含量最高达 80%。同时,荧光强度降低,表面疏水性显著增加($P < 0.05$),肌原纤维蛋白热变性温度提高,冷变值和流变性能增加,蛋白质的三级结构及凝胶性能发生改变。超声波辅助没食子酸能够改变蛋白质的结构,从而促进肌原纤维蛋白形成更具有黏弹性的凝胶网络结构,蛋白质凝胶性能得到显著增强。

关键词 肌原纤维蛋白; 海鲈鱼; 超声波; 没食子酸; 结构特性

文章编号 1009-7848(2023)07-0088-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.07.010

海鲈鱼(*Lateolabrax japonicus*), 又称咸水鲈鱼,其蛋白质、不饱和脂肪酸含量丰富^[1-2]。海鲈鱼肌肉中肌原纤维蛋白含量丰富,约占总蛋白的 60%~70%,具有多种功能特性,如凝胶性、持水性等。同时,肌原纤维蛋白的结构及特性的变化会直接影响鱼糜制品的质地与风味,是鱼糜制品的重要成分之一^[3]。

没食子酸(3, 4, 5-三羟基苯甲酸),具有抗氧化、抗菌、抗炎、抗过敏、抗癌等生理功效^[4-5]。据报道,适量的没食子酸可以改变肌原纤维蛋白荧光特性,暴露出更多的活性基团,使得表面疏水性、巯基和溶解度增加^[6]。胡熠等^[7]研究没食子酸对海鳗肌原纤维蛋白氧化的抑制作用,结果表明没食子酸使肌原纤维蛋白的表面疏水性显著上升($P < 0.05$),二级结构发生改变,添加 0.15% 的没食子酸能有效抑制蛋白质氧化,并改善蛋白凝胶性能。Pan 等^[8]发现添加 5 $\mu\text{mol/g}$ 的没食子酸使日本鲈鱼肌原纤维蛋白的储能模量急剧增加,而添加 125 $\mu\text{mol/g}$ 的没食子酸明显降低了储能模量。

超声波通过空化效应及机械效应改变生物大分子的结构和功能特性^[9],在食品保鲜以及加工等方面的应用备受关注。常海霞等^[10]研究发现,随着超声时间的延长,表面疏水性呈上升趋势,内源荧光呈下降趋势,超声波促进蛋白结构的展开。Madadlou 等^[11]发现超声处理后的酪蛋白胶凝点的 pH 值降低,酪蛋白的凝结点延迟,凝胶弹性增强,硬度增大,同时产生了具有更多互连结构和更小的不可区分颗粒的凝胶,当超声处理 120 min 时,凝胶性能较好。李秀霞等^[12]发现超声波辅助冷冻能有效降低蛋白的氧化程度,同时增加蛋白质的热稳定性,使得其在冻藏期间结构更加稳定。Liu 等^[13]指出超声波处理可以提高鲑鱼肌球蛋白的溶解度,使其分布更加均匀,而长时间的高强度超声处理会导致肌球蛋白的氧化和降解。Chen 等^[14]研究表明,超声波使肌球蛋白的结构随应力的变化而变化,同时使肌球蛋白结构发生改变,影响其乳化性质。李可等^[15]研究发现超声波处理后肌原纤维蛋白 α -螺旋相对含量从 22.1% 降至 17.7%,而 β -折叠从 39.4% 升至 43.3%,同时 β -转角和无规则卷曲相对含量也呈显著上升的趋势。

目前,没食子酸与超声波协同处理对鲈鱼蛋白结构特性的影响鲜有报道。本文通过拉曼光谱、差示热量扫描(DSC)、动态流变特性、荧光光谱、

收稿日期: 2022-07-24

基金项目: 国家自然科学基金区域创新发展联合基金重点项目(U20A2067)

作者简介: 李颖畅,女,博士,教授

通信作者: 励建荣 E-mail: lijr6491@163.com

表面疏水性、SDS-PAGE 电泳分析,探究不同浓度的没食子酸协同超声波处理对海鲈鱼肌原纤维蛋白结构的影响,从而改善肉制品品质,对凝胶类肉制品的生产与加工具有指导意义。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

海鲈鱼:体质量(1 000±50) g、平均体长(30±1)cm,购自辽宁省锦州市科技路水产批发市场。冰乙酸、尿素、磷酸氢二钾、2-硝基苯甲酸、磷酸二氢钾均为分析纯级,天津市风船化学试剂科技有限公司;对苯二酚、溴酚蓝、三氯乙酸、氯化钠、Tris、盐酸胍、电泳 maker 蛋白、25%戊二醛、乙二胺四乙酸二钠、β-巯基乙醇、盐酸、ATP、氯化钾、没食子酸,北京索莱宝科技有限公司。

1.2 仪器与设备

MS105DU 分析天平,上海精密科学仪器有限公司;Q2000 差示扫描量热仪,美国 TA 仪器有限公司;UV-2550 紫外可见分光光度计,上海菁华科技有限公司;LKQ-400KDE 超声波,昆山市超声仪器有限公司;Mini Protean 3 凝胶电泳仪,美国 Bio-Rad 公司;abR AM HR Evolution 拉曼光谱仪,HORIBA 公司;Discovery HR-1 流变仪,美国 TA 仪器有限公司;Milli-Q 超纯水系统,美国 Millipore 公司;GS-800 拍照系统,英国 Syngene 公司;SORVALL Stratos 冷冻高速离心机,美国赛默飞世尔科技有限公司;970 CRT 荧光分光光度计,上海菁华科技仪器有限公司。

1.3 方 法

1.3.1 肌原纤维蛋白的提取及浓度测定 参考李学鹏等^[6]的方法,提取后蛋白浓度采用双缩脲法测定蛋白含量。

1.3.2 复合体系的制备 参考张慧芸等^[7]的方法,使得体系中蛋白最终质量浓度为 40 mg/mL,没食子酸的终浓度为 0,1,2,4,6 mg/g。制备未超声组、400 W 超声波处理组(超声处理 20 min),每一个浓度均制备 10 mL。

1.3.3 拉曼光谱扫描 参考 Alix 等^[8]的方法,调节焦距后将蛋白样品置于载玻片上进行拉曼光谱测定。检测参数如下:激发波长 514.5 nm;光栅

600 g/mm;狭缝 200 μm;显微物镜 50 倍长焦距;激光出射功率 100 mW;积分时间 30 s;重复 3 次。

1.3.4 内源荧光光谱扫描 准确量取 1 mg/mL 的多酚-蛋白溶液 2.5 mL,加入 9 mL 20 mmol/L、pH 7.2 的磷酸盐缓冲液。测定条件:激发波长 280 nm,发射波长扫描范围 300~400 nm,灵敏度为 2,狭缝均为 10 nm^[9]。

1.3.5 表面疏水性测定 参考 Chen 等^[20]方法并作修改。多酚-蛋白溶液质量浓度为 5 mg/mL,取 1 mL 于 90 °C 水浴加热 30 min,冰浴冷却 10 min 后,加入 0.2 mL 溴酚蓝(1 mg/mL)溶液,4 000 r/min 离心 15 min。空白组用 1 mL 磷酸盐缓冲溶液(Tris-HCl-NaCl)替代多酚-蛋白液,其余同上。将样品组所得上清液稀释合适倍数后,于波长 595 nm 处测定空白、样品的吸光度值。表面疏水性计算公式:

$$\text{溴酚蓝结合量}(\mu\text{g})=200\times\frac{A_{\text{空白组}}-A_{\text{样品组}}}{A_{\text{空白组}}} \quad (1)$$

1.3.6 差示热量扫描(DSC) 蛋白质量浓度 40 mg/mL,将样品置于不锈钢铝坩埚内,用分析天平准确记录每组样品的质量(5~10 mg),对坩埚进行压片密封,待测。测试条件:平衡时间 2 min,样品以 5 °C/min 的速率从 5 °C 升温到 90 °C。用仪器自带的 Pyris-11 软件对焓变(ΔH)和变性温度(T_d)进行分析计算^[13]。

1.3.7 动态流变测定 参照 Chen 等^[21]的方法,并略作修改。配制 5 mL 用于流变特性测定的样品,质量浓度为 40 mg/mL 的多酚-蛋白溶液。取多酚-蛋白 1 mL 加到流变仪的载物台上,平衡 2 min,以升温速率 5 °C/min 由 20 °C 升至 80 °C,流变仪设定条件:直径 50 mm 平行板,狭缝 200 μm,频率 0.1 Hz。应变力为 0.5%的条件下,在动态模量模式下测定。

1.3.8 聚丙烯酰胺凝胶电泳 参考 Xiong 等^[22]的方法并略作修改。取 10 μL 多酚蛋白溶液电泳,电泳结束后用考马斯亮蓝染色 1 h,再用脱色液(体积分数 50%的甲醇,体积分数 10%的冰乙酸)脱色,直至蛋白条带清晰。最后利用 GS-800 系统观察蛋白条带情况并拍照。

2 结果与分析

2.1 没食子酸与超声波协同作用对鲈鱼蛋白拉曼光谱的影响

拉曼光谱可以通过峰的形状和强度等得到蛋白结构的变化^[23],波数范围在 $1\ 600\sim 1\ 700\text{ cm}^{-1}$ 酰胺 I 带可分析蛋白质二级结构,其中 α -螺旋波数范围为 $1\ 650\sim 1\ 660\text{ cm}^{-1}$,无规则卷曲波数范围为 $1\ 660\sim 1\ 665\text{ cm}^{-1}$, β -折叠波数范围为 $1\ 665\sim 1\ 680\text{ cm}^{-1}$,波数 $1\ 680\text{ cm}^{-1}$ 附近是 β -转角^[24],蛋白二级结构的含量通过对应峰的峰面积进行计算。不同添加量的没食子酸协同超声处理对肌原纤维蛋白拉曼光谱图及二级结构相对含量的影响如图 1、图 2 所示。当没食子酸的添加量为 0 mg/g 时, α -螺旋含量为 52.8% , β -折叠含量为 58.3% , β -转角

含量为 15.6% ,无规则卷曲含量为 10.4% 。当没食子酸的添加量小于 2 mg/g 时,随着没食子酸含量的增加, α -螺旋值呈上升趋势,而 β -折叠等变化趋势与之相反。当没食子酸添加量为 2 mg/g , α -螺旋含量最高达 74.69% ,此时 β -折叠为 4.54% 。当没食子酸含量进一步增加, α -螺旋含量降低到 63.7% ,而无规则卷曲等含量上升。这是因为适量的没食子酸可以与蛋白质发生交联,同时能防止蛋白质过度氧化或过度交联形成醌类物质^[6]。贾娜等^[25]研究表明没食子酸的添加可以使氢键作用力增强, α -螺旋含量增加,维持蛋白质结构的稳定。Li 等^[26]同样研究发现经表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)和谷氨酰胺转氨酶(TGase)处理后,增加了 α -螺旋的含量,蛋白结构变得更加有序,本

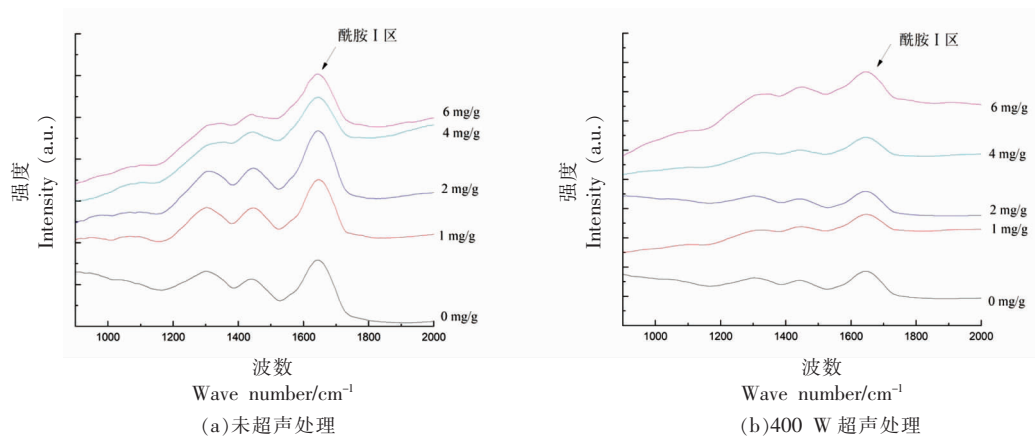


图 1 没食子酸与超声波协同作用对鲈鱼蛋白拉曼光谱的影响

Fig.1 Effect of synergistic of gallic acid and ultrasound on Raman spectra of *Lateolabrax japonicus* protein

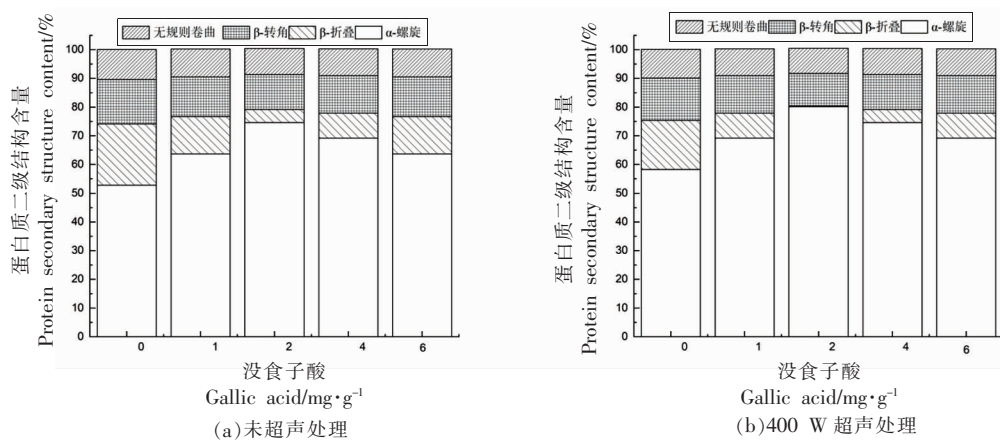


图 2 没食子酸与超声波协同作用对鲈鱼蛋白酰胺 I 带二级结构含量的影响

Fig.2 Effect of synergistic of gallic acid and ultrasound on secondary structure from amide I region of *Lateolabrax japonicus* protein

文研究结果与其一致。当 400 W 超声处理后,各组的 α -螺旋含量分别为 58.28%, 69.22%, 80.19%, 74.69%, 69.22%; β -折叠分别为 17.11%, 8.73%, 0.32%, 4.54%, 8.73%, α -螺旋较未超声处理时有所上升, β -折叠较未超声处理时有所下降。李可等^[15]表明 450W 的超声处理会破坏氢键,使蛋白结构由有序转变为无序,本文研究结果与其不同,可能由于添加没食子酸的作用不同,以及超声波频率选择不同产生的差异。而刁小琴等^[27]研究发现,在合适的超声功率下,超声波处理能引起蛋白质结构的改变,使分子内和分子间的氢键增强,本试验研究结果与之相一致。

2.2 没食子酸与超声波协同作用对鲈鱼蛋白内源荧光光谱的影响

蛋白质中内源性荧光基团色氨酸对微环境变化很敏感。当色氨酸的微环境发生变化时,最终使

蛋白质的荧光强度发生猝灭或者增强,进一步表明蛋白质构象发生改变^[28]。如图 3 所示,随着没食子酸含量的增加,内源荧光强度降低,出现荧光猝灭,与此同时,不同质量浓度没食子酸处理的肌原纤维蛋白最大荧光峰发生了红移。有研究表明,咖啡酸使 MP 的发射波长从 336 nm 红移到 349 nm,表明没食子酸使蛋白分子展开,色氨酸残基暴露分子表面,其所处微环境发生改变^[29]。400 W 超声处理后,2,4,6 mg 没食子酸组的荧光强度有所增加,可能是因为蛋白中某些色氨酸残基由于聚合、聚集或肽-肽缔合,导致相对荧光强度增加^[30]。Huang 等^[31]研究发现经过超声波处理的类萌发素蛋白样品的荧光强度增加。Ma 等^[32]报道在 80 W, 20 kHz 下,超声处理碱性蛋白酶 4 min 后,其荧光强度增加。

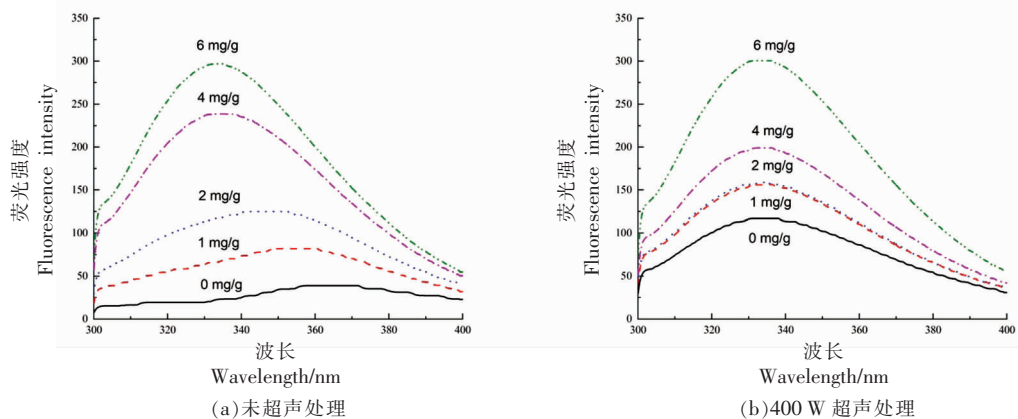


图 3 没食子酸与超声波协同作用对鲈鱼蛋白荧光强度的影响

Fig.3 Effect of synergistic of gallic acid and ultrasound on fluorescence intensity of *Lateolabrax japonicus* protein

2.3 没食子酸与超声波协同作用对鲈鱼蛋白表面疏水性的影响

疏水性对蛋白质构象与功能特性起关键作用^[20]。没食子酸添加量和超声处理对肌原纤维蛋白表面疏水性的影响如图 4 所示,随着没食子酸质量浓度的增加,使得蛋白质的疏水性氨基酸暴露,与溴酚蓝结合的更多,表面疏水性显著增强 ($P < 0.05$),同时内源荧光光谱的猝灭进一步表明蛋白结构改变,使得包埋于蛋白内部的氨基酸暴露在表面。Cao 等^[19]研究不同浓度的绿原酸(0, 6, 30, 150 $\mu\text{mol/g pro}$)对猪肉肌原纤维蛋白结构的影响,发现绿原酸的添加可以显著增加蛋白的表

面疏水性。本研究结果与其一致。Kroll 等^[33]也发现蛋白与多酚作用后,表面疏水性增加。超声 400 W 处理时,表面疏水性高于未超声组。有研究发现,高强度超声使得埋藏于蛋白质内部疏水基团内卷程度降低,基团暴露到表面,表面疏水性增强,表明超声波能促进蛋白质的展开^[34]。Hu 等^[35]用超声波处理大豆分离蛋白后,表面疏水性增加,Shen 等^[36]通过超声处理热聚集后的乳清蛋白,也证实了相同的结果。

2.4 没食子酸与超声波协同作用对鲈鱼蛋白差示热量扫描(DSC)的影响

DSC 可以反映蛋白质结构稳定性,在蛋白质

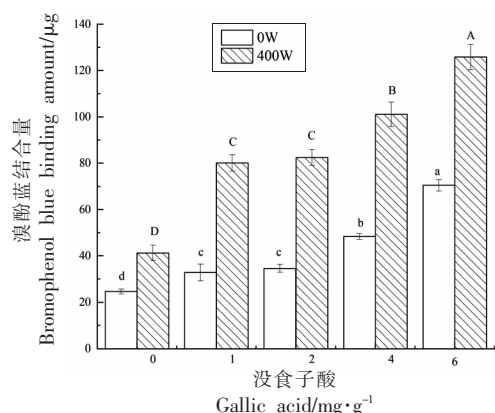


图4 没食子酸与超声波协同作用对鲈鱼蛋白表面疏水性的影响

Fig.4 Effect of synergistic of gallic acid and ultrasound on surface hydrophobicity of *Lateolabrax japonicus* protein

热变性的研究中应用广泛。蛋白质在吸热过程中,分子间作用力被破坏,蛋白质变性,当达到变性温度时,就会出现对应吸收峰,因此DSC中点温度(T_{max})和焓变值(ΔH)的变化可以反映蛋白质结构

表1 未超声处理鲈鱼蛋白热变性中点温度和焓变
Table 1 Thermal denaturation midpoint temperature and enthalpy of *Lateolabrax japonicus* protein without ultrasound treatment

没食子酸添加量/ mg·g ⁻¹	$T_{max}/^{\circ}\text{C}$	$\Delta H/\text{J}\cdot\text{g}^{-1}$
0	52.45	0.1529
1	52.67	0.2031
2	52.73	0.3558
4	52.60	0.1749
6	52.52	0.0702

的变化, T_{max} 和 ΔH 越高,则蛋白质的热稳定性越强^[37]。图5为超声波辅助下海鲈鱼肌原纤维蛋白DSC扫描曲线图,表1、表2是肌原纤维蛋白的热变性温度(T_{max})和焓变值(ΔH)变化。由图5及表1、2可知,超声处理前、后,随着没食子酸含量的增加,蛋白热变性温度和焓变值呈先上升后降低的趋势,当没食子酸的添加量为2 mg/g时, T_{max} 与 ΔH 值最大,说明此时蛋白质结构最稳定,与 α -螺旋的变化趋势一致。有研究表明热变性温度的改变是由蛋白质侧链基团修饰、交联及其与酚类化合物的相互作用引起的^[38]。经超声波辅助处理后,没食子酸的添加量为1,2 mg/g时,热变性温度有所上升,当没食子酸的添加量大于2 mg/g时,焓变值有所上升,说明超声处理能加速蛋白质的变性和聚集,改变蛋白质结构的稳定性,从而改变肌原纤维蛋白变性所需要的温度和能量。蔡路韵等^[1]发现超声波辅助解冻处理会加速鱼肉肌球蛋白的变性,本文结果与其相一致。

表2 400 W 超声辅助处理鲈鱼蛋白热变性中点温度和焓变
Table 2 Thermal denaturation midpoint temperature and enthalpy of *Lateolabrax japonicus* protein on 400 W ultrasound

没食子酸添加量/ mg·g ⁻¹	$T_{max}/^{\circ}\text{C}$	$\Delta H/\text{J}\cdot\text{g}^{-1}$
0	52.20	0.1479
1	53.07	0.1632
2	53.31	0.3647
4	52.53	0.1931
6	52.32	0.1896

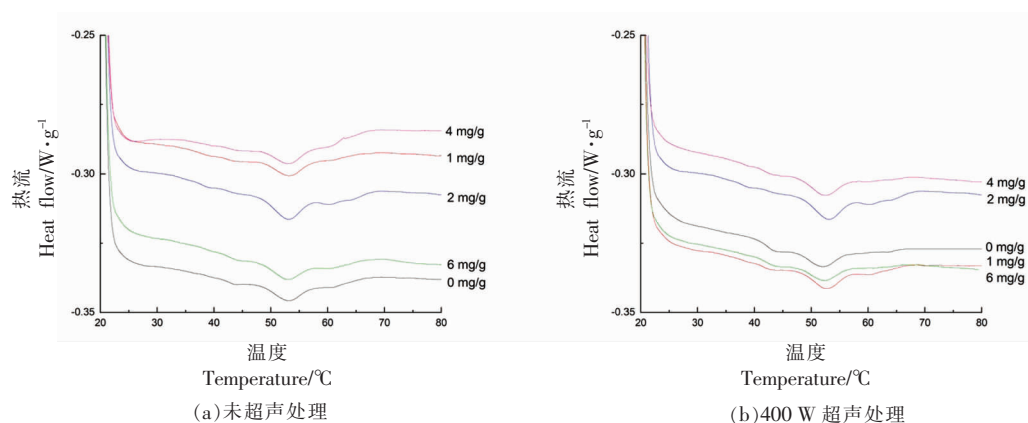


图5 没食子酸与超声波协同作用对鲈鱼蛋白DSC的影响

Fig.5 Effect of synergistic of gallic acid and ultrasound on DSC of *Lateolabrax japonicus* protein

2.5 没食子酸与超声波协同作用对鲈鱼蛋白动态流变的影响

没食子酸与超声波协同作用对鲈鱼蛋白动态流变的影响如图 6 所示。通过对 20 ℃ 到 80 ℃ 储能模量 G' 与损耗模量 G'' 变化趋势的分析, 评定肌原纤维蛋白在形成凝胶过程中弹性与黏性性能的变化^[39]。由图 6 可知, 温度对流变性能的影响经历了 3 个阶段, 当温度在 35~40 ℃ 之间, G' 随着温度的升高而升高, 在 40 ℃ 达到第 1 个峰值, 这可能是因为肌球蛋白头部结构变性后聚集, 形成了凝胶结构^[40]。当温度在 50~55 ℃ 之间, 由于肌球蛋白的尾与尾的相互作用出现凝胶劣化, 使得 G' 随温度升高而降低。当温度大于 55 ℃ 时, G' 随温度升高而升高并且逐渐趋于平缓, 这是因为此阶段大多数的蛋白质结构已经展开, 分子间进一步交联

形成二硫键, 形成了稳定且具有弹性的凝胶网络结构^[41]。损耗模量 G'' 随温度的变化趋势与储能模量 G' 变化趋势基本一致。在整个变化过程中, 不同浓度没食子酸处理组储能模量 G' 始终高于未添加没食子酸组, 说明不同浓度没食子酸的添加有助于蛋白凝胶的形成。Li 等^[20]发现 EGCG 与 TG 酶可以提高肌原纤维蛋白的储能模量, 使得凝胶更具有弹性。400 W 超声波处理后, 所有处理组的储能模量的变化更加有序, 对没食子酸的剂量依赖性更小。这可能是因为超声处理使得蛋白质结构展开, 粒径减小, 从而促进加热过程中的进一步交联, 改善流变性能, 形成弹性更好的凝胶网络结构^[9]。王静宇等^[42]研究表明 200 W 超声处理可以改善蛋白的流变性能。

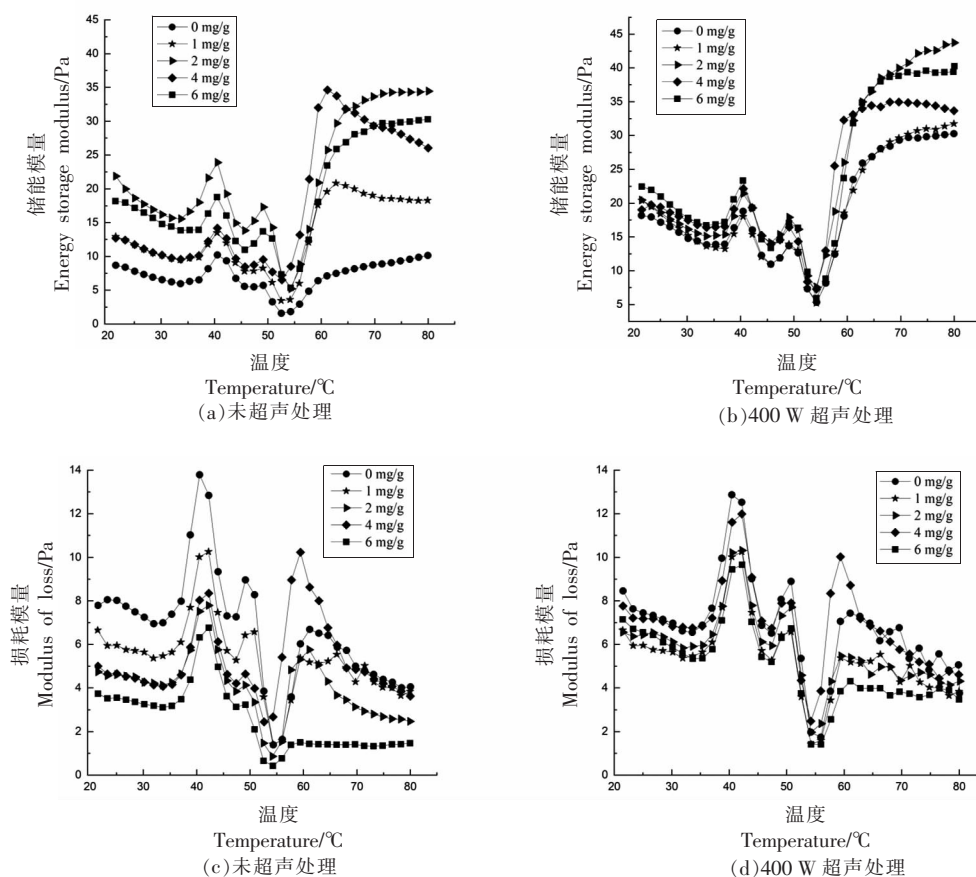


图 6 没食子酸与超声波协同作用对鲈鱼蛋白流变特性的影响

Fig.6 Effect of synergistic of gallic acid and ultrasound on dynamics rheological properties of *Lateolabrax japonicus* protein

2.6 没食子酸与超声波协同作用对鲈鱼蛋白 SDS-PAGE 电泳的影响

从 SDS-PAGE 电泳图能够观察到蛋白质之间交联、聚集与降解等情况。未超声处理和超声处理下,没食子酸对肌原纤维蛋白 SDS-PAGE 电泳图谱的影响如图 7 所示,图中 MP 显示肌球蛋白重链(MHC,200 ku)和肌动蛋白(Actin,45 ku)等主要亚基的典型图谱。当没食子酸添加量从 0 到 2 mg/g 时,肌球蛋白重链(MHC)和肌动蛋白(Actin)条带颜色变浅,这是因为适量的没食子酸能促进二硫键的形成,增加蛋白结合^[43]。有研究表明,二硫键是低浓度的多酚诱导聚集的主要作用力,当多酚浓度过高时,MP 形成的作用力由二硫

键转变为多酚介导的共价交联^[44]。当没食子酸的含量继续增加时,条带颜色变深,可能是因为没食子酸与蛋白过度交联形成醌类物质^[6],使得堆积在顶部的醌类聚合物增多,对蛋白结构产生不利影响,Cao 等^[38]的研究表明蛋白与多酚具有剂量依赖性关系,本文结果与其相一致。400 W 超声波处理后条带颜色加深变宽,并且浓缩胶及分离胶顶部大分子聚合物也明显增多。说明超声波处理后,加速蛋白质结构的展开,暴露出更多的基团,增加蛋白之间发生交联,使得蛋白质分子质量发生改变,本文结果与 Pan 等^[8]研究发现超声波处理可增加 MP 的聚集和交联一致。

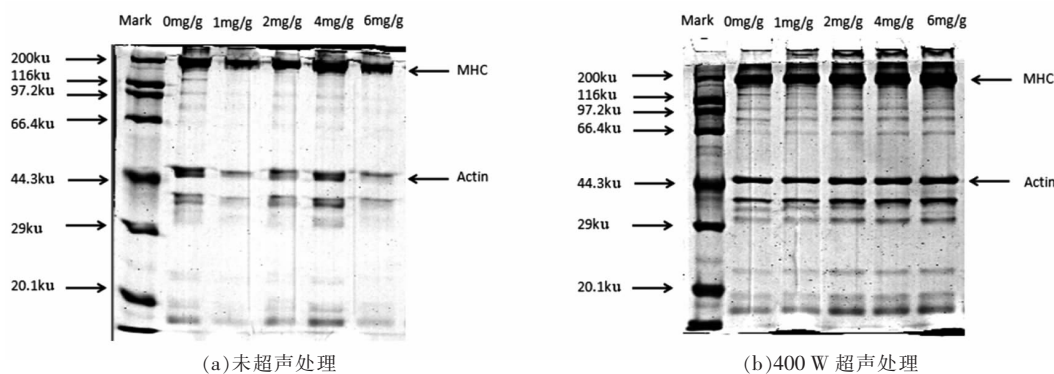


图 7 没食子酸与超声波协同作用对鲈鱼蛋白 SDS-PAGE 电泳图谱的影响

Fig.7 Effect of synergistic of gallic acid and ultrasound on SDS-PAGE of *Lateolabrax japonicus* protein

3 结论

通过分析拉曼光谱、荧光光谱、表面疏水性、蛋白热稳定性、流变学特性、SDS-PAGE 电泳指标,研究没食子酸协同超声波处理对海鲈鱼肌原纤维蛋白结构的影响。超声处理前、后,当没食子酸的添加量为 0 mg/g, α -螺旋含量为 52.8%, β -折叠含量为 58.3%, β -转角含量为 15.6%,无规则卷曲含量为 10.4%。随着没食子酸含量的增加, α -螺旋值上升到 74.69%后出现降低的趋势,而 β -折叠等变化趋势与之相反。超声处理后, α -螺旋转化为无规则卷曲与 β -折叠,其含量呈先升高后下降的趋势, β -折叠与 α -螺旋变化趋势相反,当没食子酸的添加量为 2 mg/g 时, α -螺旋含量最高。内源荧光光谱、表面疏水性的结果表明,肌原纤维蛋白

的三级结构发生改变,随着没食子酸含量的增加,荧光强度增强,表面疏水性显著增加($P < 0.05$)。DSC、流变以及电泳图谱表明肌原纤维蛋白凝胶特性发生改变,随着没食子酸含量的增加,蛋白的热变性温度提高,蛋白热稳定性增强,当没食子酸的添加量为 2 mg/g 时,热稳定性最高,焓变值最大。流变学特性显示蛋白储能模量提高,形成的凝胶网络更具有黏弹性,使得肌原纤维蛋白凝胶性能得到提高。

参 考 文 献

- [1] 蔡路昀,许晴,曹爱玲.不同超声辅助解冻方式对海鲈鱼肌原纤维蛋白的影响[J].食品与发酵工业,2020,46(20):5-12.

- CAI L Y, XU Q, CAO A L. Effects of different ultrasound-assisted thawing methods on the myofibrillar protein of the sea bass (*Perca fluviatilis*) [J]. Food and Fermentation Industry, 2020, 46(20): 5-12.
- [2] SIDHU K S. Health benefits and potential risks related to consumption of fish or fish oil [J]. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2003, 38(3): 336-344.
- [3] 陈艳, 丁玉庭, 邹礼根, 等. 鱼糜凝胶过程的影响因素分析 [J]. 食品研究与开发, 2003, 24(3): 12-15.
- CHEN Y, DING Y T, ZHOU L G, et al. Analysis of influencing factors of surimi gel process [J]. Food Research and Development, 2003, 24(3): 12-15.
- [4] FAN X J, LIU S Z, LI H H, et al. Effects of *Portulaca oleracea* L. extract on lipid oxidation and color of pork meat during refrigerated storage [J]. Meat Science, 2019, 147: 82-90.
- [5] 彭林, 马良, 戴洪杰, 等. 多酚与肌原纤维蛋白相互作用机制及其对蛋白特性的影响研究进展 [J]. 食品科学, 2020, 41(19): 239-246.
- PENG L, MA L, DAI H J, et al. Recent progress in understanding the interaction mechanism between polyphenols and myofibrillar protein and its effects on protein properties [J]. Food Science, 2020, 41(19): 239-246.
- [6] PAN J F, LIAN H, JIA H, et al. Dose affected the role of gallic acid on mediating gelling properties of oxidatively stressed Japanese seefish myofibrillar protein [J]. Food Science and Technology, 2020(118): 1-8.
- [7] 胡熠, 张进杰, 唐艳, 等. 没食子酸对海鳗肌原纤维蛋白氧化及凝胶特性的影响 [J]. 核农学报, 2019, 33(11): 115-122.
- HU Y, ZHANG J J, TANG Y, et al. Effect of gallic acid on the oxidation and gelation properties from *Muraenesox cinereus* Meat [J]. Journal of Nuclear Agriculture Sciences, 2019, 33(11): 115-122.
- [8] PAN J F, LIAN H L, JIA H, et al. Ultrasound treatment modified the functional mode of gallic acid on properties of fish myofibrillar protein [J]. Food-Chemistry, 2020(320): 1-10.
- [9] SORIA A C, VILLAMIEL M. Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: A review [J]. Trends in Food Science & Technology, 2010, 21(7): 323-331.
- [10] 常海霞, 石燕, 王辉, 等. 超声波对草鱼肌肉肌原纤维蛋白溶液理化特性的影响 [J]. 食品科学, 2015, 5(36): 56-60.
- CHANG H X, SHI Y, WANG H, et al. Effect of ultrasonic treatment on physico-chemical properties of myofibrillar protein from grass carp [J]. Food Science, 2015, 5(36): 56-60.
- [11] MADADLOU A, EMAM-DJOMEH Z, MOUSAVI M E, et al. Acid-induced gelation behavior of sonicated casein solutions [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2010, 17(1): 153-158.
- [12] 李秀霞, 刘孝芳, 刘宏影, 等. 超声波辅助冷冻与低温速冻对海鲈鱼冰晶形态及冻藏期间鱼肉肌原纤维蛋白结构的影响 [J]. 中国食品学报, 2021, 21(10): 169-176.
- LI X X, LIU X F, LIU H Y, et al. Effects of ultrasound-assisted freezing and cryogenic quick freezing on ice crystal morphology and myofibrin structure of sea bass (*Lateolabrax japonicus*) during frozen storage [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(10): 169-176.
- [13] LIU R, LIU Q, XIONG S B, et al. Effects of high intensity ultrasound on structural and physico-chemical properties of myosin from silver carp [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2017, 37: 150-157.
- [14] CHEN J H, ZHANG X, CHEN Y, et al. Effects of different ultrasound frequencies on the structure, rheological and functional properties of myosin: Significance of quorum sensing [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2020, 69: 1-16.
- [15] 李可, 李三影, 扶磊, 等. 低频高强度超声波对鸡胸肉肌原纤维蛋白性质的影响 [J]. 食品科学, 2020, 41(23): 122-129.
- LI K, LI S Y, FU L, et al. Effect of low-frequency and high-intensity ultrasound treatment on characteristics of chicken breast myofibrillar protein [J]. Food Science, 2020, 41(23): 122-129.
- [16] 李学鹏, 陈杨, 王金厢, 等. 冷藏大菱鲆新鲜度评价辅助蛋白指标和指示物 [J]. 中国食品学报, 2018, 18(4): 199-208.
- LI X P, CHEN Y, WANG J X, et al. Studies on the auxiliary evaluation indexes and indicators of freshness for refrigerated turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(4): 199-208.
- [17] 张慧芸, 吴静娟, 郭新宇. 多酚对猪肉肌原纤维蛋

- 白氧化和凝胶特性的影响[J]. 食品科学, 2016, 37(21): 43-47.
- ZHANG H Y, WU J J, GUO X Y. Effect of polyphenols on oxidation and gelation properties of pork myofibrillar protein[J]. Food Science, 2016, 37(21): 43-47.
- [18] ALIX A J, PEDANOU G, BERJOT M. Fast determination of the quantitative secondary structure of proteins by using some parameters of the Raman amide I band[J]. Journal of Molecular Structure, 1988, 174: 159-164.
- [19] CAO Y G, XIONG Y L. Chlorogenic acid-mediated gel formation of oxidatively stressed myofibrillar protein[J]. Food Chemistry, 2015, 180: 235-243.
- [20] CHEN H I, GATELLIER P, SANTÉ-LHOUELLE V. Technical note: A simplified procedure for myofibril hydrophobicity determination [J]. Meat Science, 2006, 74(4): 681-683.
- [21] CHEN X, LI Y, ZHOU R, et al. L-histidine improves water retention of heat-induced gel of chicken breast myofibrillar proteins in low ionic strength solution[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2016, 51(5): 1195-1203.
- [22] XIONG Y L, PARK D, OIZUMI T. Variation in the cross-linking pattern of porcine myofibrillar protein exposed to three oxidative environments[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(1): 153-159.
- [23] XU X L, HAN M Y, FEI Y, et al. Raman spectroscopic study of heat-induced gelation of pork myofibrillar proteins and its relationship with textural characteristic[J]. Meat Science, 2011, 87(3): 159-164.
- [24] JIA G, NIRASAWA S, JI X, et al. Physicochemical changes in myofibrillar proteins extracted from pork tenderloin thawed by a high-voltage electrostatic field[J]. Food Chemistry, 2018, 240: 910-916.
- [25] 贾娜, 刘丹, 宋立, 等. 没食子酸抑制猪肉肌原纤维蛋白氧化及其与蛋白的交联作用[J]. 中国食品学报, 2019, 19(1): 18-25.
- JIA N, LIU D, SONG L, et al. The inhibition effect of gallic acid on oxidation of pork myofibrillar proteins and the crosslinking interaction between gallic acid and proteins[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2019, 19(1): 18-25.
- [26] LI J L, YU X Y, YIN T, et al. Interaction of myofibrillar proteins and epigallocatechin gallate in the presence of transglutaminase in solutions [J]. Food Function, 2021, 10(39): 1-34.
- [27] 刁小琴, 关海宁, 乔秀丽, 等. 超声处理对肌原纤维蛋白凝胶特性和结构的影响[J]. 食品工业, 2020(2): 197-200.
- DIAO X Q, GUAN H N, QIAO X L, et al. Effect of ultrasound on gel properties and structure of pork myofibrillar protein[J]. The Food Industry, 2020(2): 197-200.
- [28] BASAK S, CHATTOPADHYAY K. Fluorescence correlation spectroscopy study on the effects of the shape and size of a protein on its diffusion inside a crowded environment[J]. Langmuir, 2013, 29(47): 14709-14717.
- [29] CHENG J R, ZHU M J, LIU X M. Insight into the conformational and functional properties of myofibrillar protein modified by mulberry polyphenols[J]. Food Chemistry, 2020, 308: 1-7.
- [30] TANG C, YANG X Q, CHEN Z, et al. Physicochemical and structural characteristics of sodium caseinate biopolymers induced by microbial transglutaminase[J]. Journal of Food Biochemistry, 2005, 29(4): 402-421.
- [31] HUANG N, CHENG X, HUW, et al. Inactivation aggregation secondary and tertiary structural changes of germin-like protein in *Satsuma mandarine* with high polyphenol oxidase activity induced by ultrasonic processing [J]. Biophysical Chemistry, 2015, 197: 18-24.
- [32] MA H, HUANG L, JIA J, et al. Effect of energy-gathered ultrasound on alcalase[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2011, 18(1): 419-424.
- [33] KROLL J, RAWEL H M. Reactions of plant phenols with myoglobin: Influence of chemical structure of the phenolic compounds[J]. Journal of Food Science, 2001, 66(1): 48-58.
- [34] 韩格, 孔保华. 功率超声对肌原纤维蛋白功能特性及肉品品质的影响研究进展[J]. 食品科学, 2021, 43(13): 361-369.
- HAN G, KONG B H. Effect of power ultrasound on the functional properties of myofibrillar protein and meat quality: A Review[J]. Food Science, 2021, 43(13): 361-369.
- [35] HU H, WAN L, TIAN M, et al. The effect of

- high intensity ultrasonic pre-treatment on the properties of soybean protein isolate gel induced by calcium sulfate[J]. *Food Hydrocolloids*, 2013, 32(2): 303-311.
- [36] SHEN X, FANG T, GAO F, et al. Effects of ultrasound treatment on physicochemical and emulsifying properties of whey proteins pre-and post-thermal aggregation[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 63: 668-676.
- [37] HEMUNG B O, CHIN K B. Effects of fish sarcoplasmic proteins on the properties of myofibrillar protein gels mediated by microbial transglutaminase[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2013, 53(1): 184-190.
- [38] CAO Y G, XIONG Y L, CHEN J. 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.
- [39] 刘鑫. 褐藻胶-鱼肉蛋白质复合凝胶体系流变特性及水分状态的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010.
LIU X. Study on the rheological properties and water states of alginate-fish protein mixture gel system [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2010.
- [40] CHEN X, CHEN C, ZHOU Y, et al. Effects of high pressure processing on the thermal gelling properties of chicken breast myosin containing κ -carrageenan[J]. *Food Hydrocolloids*, 2014, 40: 262-272.
- [41] XIONG Y L, BLANCHARD S P. Myofibrillar protein gelation: Viscoelastic changes related to heating procedures[J]. *Journal of Food Science*, 1994, 59(4): 734-738.
- [42] 王静宇, 杨玉玲, 康大成, 等. 超声波对肌原纤维蛋白热诱导凝胶化学作用力与保水性的影响[J]. *中国农业科学*, 2017, 50(12): 2349-2358.
WANG J Y, YANG Y L, KANG D C, et al. Effects of ultrasound on chemical forces and water holding capacity study of heat-induced myofibrillar protein gel[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2017, 50(12): 2349-2358.
- [43] 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.
CAO Y G. Effect of plant-derived polyphenols on oxidative stability and functional properties of meat-proteins: Mechanism and application [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2016.
- [44] 陈楷文. 没食子酸介导的肌原纤维蛋白可溶性低聚物及其特性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2021.
CHEN K W. Studies on gallic acid-aided soluble myofibrillar protein aggregates and their properties [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2021.

Effect of Gallic Acid on Structural Properties of *Lateolabrax japonicus* Myofibrillar Protein under Ultrasonic Treatment

Li Yingchang¹, Shi Danhua¹, Zhao Songmin¹, Zhu Yongli¹, Zou Qian^{1,2}, Yi Shumin¹, Li Jianrong^{1*}

¹College of Food Science and Technology, Bohai University, National and Local Joint Engineering Research Center for Storage, Processing and Safety Control Technology of Fresh Agricultural Products, Jinzhou 121013, Liaoning

²Collaborative Innovation Center of Seafood Deep Processing, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, Liaoning)

Abstract The effects of different concentrations of gallic acid (0, 1, 2, 4, 6 mg/g) with the aid of ultrasound on the structural properties of myofibrillar proteins of *Lateolabrax japonicus* were investigated. The structure and gel information through Raman spectroscopy, endogenous fluorescence spectroscopy, surface hydrophobicity, differential calorimetric scanning (DSC), dynamic rheology, molecular mass were analyzed. The results showed that ultrasound and gallic acid addition could change the secondary structure of myogenic fibronectin in *Lateolabrax japonicus*. The α -helix content of myogenic fibrillar protein increased from 52.81% to 74.68% and β -folding decreased from 21.3% to 5%. When the addition of gallic acid increased from 0 mg/g to 2 mg/g without ultrasound treatment, the β -turn and irregular curl content decreased; when the gallic acid content continued to increase, the α -helix content showed a decreasing trend. After ultrasonic treatment, the α -helix content increased further, and the highest α -helix content reached 80%, when the gallic acid was added at 2 mg/g. Meanwhile, with the increase of gallic acid, the tertiary structure and gel properties of pro-

teins were changed, the fluorescence intensity was decreased, but the surface hydrophobicity was significantly increased ($P < 0.05$). In addition, the thermal denaturation temperature of myofibrillar proteins, and the enthalpy change and rheological properties were also increased, which showed that ultrasound-assisted gallic acid could change the structure of proteins, thus promoting the formation of more viscoelastic gels of myofibrillar proteins. The protein structure was changed by ultrasound-assisted gallic acid, thus promoting the formation of a more viscoelastic gel network structure, which led to the improvement of protein gel properties.

Keywords myofibrillar protein; *Lateolabrax japonicus*; ultrasound; gallic acid; structural properties