木薯淀粉对猪肉盐溶蛋白凝胶特性的影响

栗俊广[1]，蒋爱民[2]，白艳红[1]，张华[1]，吴月[1]
（1.郑州轻工业学院食品与生物工程学院，河南郑州 450000）（2.华南农业大学食品学院，广东广州 510640）

摘要：研究了添加木薯淀粉对猪肉盐溶蛋白凝胶功能特性的影响。用质构仪、流变仪和离心法测定了凝胶质构、动态流变和保水性的变化，用低场核磁共振仪和扫描电镜分析了凝胶的水分状态和微观结构变化。结果表明，添加木薯淀粉不仅改善了猪肉盐溶蛋白凝胶的质构和保水性能，还改变了凝胶成型温度，单独盐溶蛋白凝胶储能模量在 72 ℃时已达到最大值，添加木薯淀粉凝胶储能模量在 80 ℃达到最大值；当木薯淀粉添加量为 1.5%时，凝胶的硬度、弹性和保水性均达到最大，分别为 379.02 g、0.85 和 85.16%，低场核磁共振分析表明添加 1.5%木薯淀粉提高了凝胶的结合水和不易流动比例，从而提高了凝胶的保水性能，扫描电镜观察发现此时木薯淀粉主要通过填充效应贯穿在盐溶蛋白分子空隙之间，使凝胶更加紧密和有序。

关键词：盐溶蛋白；木薯淀粉；流变性质；低场核磁共振
文章篇号：1673-9078(2016)11-123-127 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.11.019

Effect of Cassava Starch on the Gel Properties of Pork Salt-soluble Muscle Proteins

LI Jun-guang[1], JIANG Ai-min[2], BAI Yan-hong[1], ZHANG Hua[1], WU Yue[1]
(1.School of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450000, China)
(2.School of Food Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The effect of cassava starch (CS) on the gel functional properties of porcine salt-soluble muscle proteins (SSMP) was investigated. Changes in texture, dynamic rheological properties, and water-holding capacity (WHC) of the gel were determined using a texture analyzer, rheometer, and centrifugation, respectively. Changes in water distribution and microstructure were analyzed by low-field nuclear magnetic resonance (LF-NMR) and scanning electron microscopy (SEM), respectively. The results showed that addition of cassava starch improved the textural properties and WHC of porcine SSMP gel. Gel-forming temperature changed, with maximum storage modulus (G′max) values of SSMP and CS-SSMP at 72 ℃ and 80 ℃, respectively. Additionally, maximum gel hardness, springiness, and WHC were determined as 379.02 g, 0.85, and 85.16%, respectively, with the addition of 1.5% cassava starch. LF-NMR results indicated that the ratio of bound and immobile water in the gel increased with the addition of 1.5% cassava starch, thus enhancing the WHC of the gels. SEM results showed that cassava starch was present in the interstitial spaces of the protein network via a filling effect, which made the network microstructure of the gel more compact and orderly.

Key words: salt-soluble muscle proteins; tapioca starches; rheological property; low field-nuclear magnetic resonance

肉是人类蛋白质、脂肪和维生素等营养物质的重要来源，肉类食品在人们的膳食结构中占有重要的位置。在肉制品加工中，为了提高出品率、降低成本或改善产品的品质，常采用添加外源性物质的方法，其中淀粉是凝胶肉制品生产的重要添加物，常被用作增稠剂来改善肉制品的组织结构，或者作为赋形剂和填充剂来改善产品的外观形状和出品率[1,2]。

收稿日期：2015-12-24
基金项目：郑州轻工业学院博士基金项目（2014BSJJ030）；“十三五”国家重点研发计划(22016YFD0400400)
作者简介：栗俊广(1987-)，男，博士，讲师，研究方向：畜禽产品加工与质量安全控制

持水性对肉制品品质有重要影响，它直接关系到肉的凝胶强度、多汁性和口感。传统的方法（如离心法、加压损失法）都是通过物理作用破坏肉制品的结构反映其保水能力，而低场核磁共振作为一种快速无损的检测技术，可以在不破坏物体结构的状态下分析水分子中H质子的流动和分布，得到样品中水的移动性和分布的信息[3]。近年来，众多研究报道低场核磁共振技术能有效分析肉制品的水分状态、分布及加工过程中动态迁移变化规律，且发现自旋-自旋弛豫时间(T_2)与肉制品的保水性、质构品质以及感官评定等指标有很高的相关性[4,5]。

肌肉盐溶蛋白质的热诱导凝胶特性是肉制品加工

中最重要的功能特性之一，它对肉制品的质构和感官品质具有极其重要的作用。淀粉是肉制品加工中常用添加剂，淀粉对于肌肉盐溶性蛋白持水能力、质构与色泽等性质的影响也有研究[6]，然而，关于淀粉对肌肉盐溶蛋白凝胶水分状态变化情况和凝胶成型温度影响的研究却鲜有报道。本文研究了木薯淀粉添加量对猪肉盐溶蛋白热诱导凝胶质构、动态流变性能和保水能力的影响，对比分析了单独蛋白凝胶和添加最适量木薯淀粉蛋白凝胶的水分状态和微观结构变化，为木薯淀粉在肉制品中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

猪肉选择背最长肌部位，剔除筋键和脂肪后，切成小块装于-18 ℃以下冻藏，使用前于4 ℃条件下解冻12 h；木薯淀粉产自香港宏力国际有限公司，不含蛋白质、脂肪和钠盐。氯化钠和氢氧化钠等试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器与设备

5804R 高速冷冻离心机，德国 Eppendorf 公司；TA-XTi2 物性分析仪，英国 Stable Micro Systems 公司；MCR101 流变仪，奥地利安东帕公司；NMR PQ00l 分析仪，上海纽迈电子有限公司公司；XL-30-ESEM 扫描电子显微镜，荷兰 FEI 公司；PHS-3C 精密 pH 计，上海雷磁仪器厂；FJ-200 型高速分散均质机，上海标本厂。

1.3 实验方法

1.3.1 盐溶蛋白热凝胶的制备

(1)猪肉盐溶蛋白的提取参照Chen等[7]人的方法。蛋白质浓度用双缩尿法测定，用牛血清白蛋白做蛋白质浓度标准曲线。

(2)蛋白凝胶的制备：调节盐溶蛋白浓度为 30 mg/mL，加入不同质量的木薯淀粉，添加量分别为蛋白溶液质量的 0.5%、1.0%、1.5%和 2%，匀浆后调节 pH 值至 6.2，4 ℃冰箱静置 12 h，将溶液分装于密封的凝胶盒中，水浴加热至 80 ℃，升温速度 1 min/℃，形成凝胶后取出放在 4 ℃冰箱冷却待用。

1.3.2 保水性的测定[8]

取制备好的凝胶经 3000 r/min 离心 3 min 后，称总重，去除离心出的水分，再称重，然后计算保水性(WHC)。

保水性=$(m_1-m)/(m_2-m)\times100\%$

式中：m_1，离心管+去水后凝胶质量/g；m_2，离心管+凝胶总质量/g；m，离心管质量/g。

1.3.3 凝胶质构测定

4 ℃冷藏的凝胶样品于室温下静置 1 h，将样品切成直径 30 mm，高 20 mm 的圆柱体，置于质构仪载物板上，质构仪参数如下：探头选择 P/36R，测试前速度 1.0 mm/s，测试速度 1.0 mm/s，测试后速度 1.0 mm/s，试样变形 50%，两次压缩中停顿 5 s，每个测试有 3 个重复。

1.3.4 流变测定

参考 Westphalen 等[9]的方法，略有改动。将未加热液态凝胶样品均匀置于 MCR 101 流变测试平台，液体石蜡密封。测试条件：采用平行板，上板直径 40 mm，频率 1 Hz，狭缝 1.5 mm，升温速率 1 ℃/min，线性升温范围 20~90 ℃。

1.3.5 Low Field-NMR 自旋-自旋弛豫时间测定

参照李银[10]的方法并略有修改，NMR 弛豫测量在纽迈 NMR PQ00l 台式核磁共振分析仪上进行。测试条件为：质子共振频率为 21.6 MHz，测量温度为 32 ℃。大约 2 g 样品放入直径 15 mm 核磁管，而后放入分析仪中。自旋-自旋弛豫时间 T_2 用 CPMG 序列进行测量。所使用参数为：τ-值（90 °脉冲和 180 °脉冲之间的时间）为 200 μs，重复扫描 32 次。得到的图为指数衰减图形，每个测试有 3 个重复。

1.3.6 扫描电镜分析

凝胶微观结构观察参考M M Farouk等[11]的方法，略有改动。取蛋白凝胶样品切片成（5 mm×5 mm×3 mm）小块，置于 2.5%的戊二醛溶液在温度 4 ℃下固定过夜，倒掉固定液，用 0.1 M、pH 7.0 的磷酸缓冲液漂洗样品三次，每次 15 min。再用 50%、70%、80%、90%和 95%五个梯度浓度的乙醇溶液对样品进行脱水处理，每个浓度处理 10 min，再用 100%的乙醇处理两次，每次 20 min。用乙醇与醋酸异戊酯的混合液(*V*/*V*=1/1)处理样品 30 min，再用纯醋酸异戊酯处理样品两次，采用二氧化碳临界点干燥，真空离子溅射镀金，在 4000 倍扫描电镜下观察样品。

2 结果与讨论

2.1 木薯淀粉对盐溶蛋白凝胶质构性质的影响

木薯淀粉对猪肉盐溶性蛋白凝胶硬度和弹性的影响如图 1 和图 2 所示。结果表明，在 0 到 1.5%范围内，

随着木薯淀粉添加量增大，盐溶蛋白凝胶的硬度和弹性呈增大趋势，当木薯淀粉添加量为 1.5%时，硬度和弹性均达到最大值，分别为 379.02g 和 0.85，是未添加淀粉盐溶蛋白凝胶的 1.33 和 1.05 倍。当木薯淀粉添加量超过 1.5%时，凝胶的硬度和弹性均呈现降低趋势，说明适量添加木薯淀粉能改善蛋白凝胶的质构，过量添加则会引起蛋白凝胶质构性能变差。

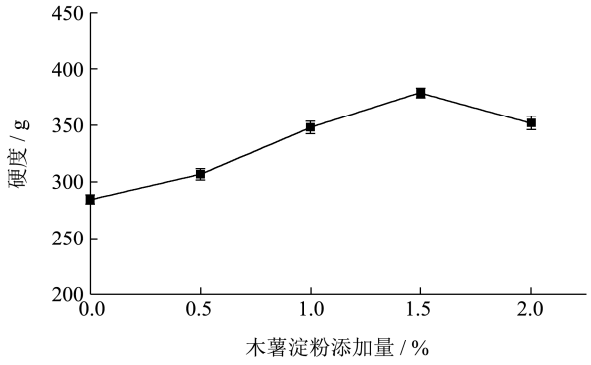


图 1 木薯淀粉对盐溶蛋白凝胶硬度的影响

Fig.1 Effect of cassava starch on the hardness of SSMP gel

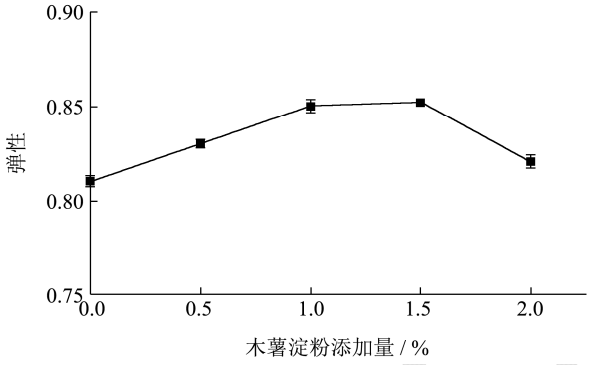


图 2 木薯淀粉对盐溶蛋白凝胶弹性的影响

Fig.2 Effect of cassava starch on the springiness of SSMP gel

2.2 木薯淀粉对盐溶蛋白凝胶流变性质的影响

木薯淀粉添加量对 PLD 盐溶性蛋白的储能模量有显著影响（p<0.05）。从图 3 可以看出，木薯淀粉对于盐溶蛋白凝胶的储能模量整体作用趋势是一致的，随着淀粉浓度的增加，体系的储能模量呈现先增加后降低的趋势，当木薯淀粉添加量为蛋白液的 1.5%时，凝胶体系的储能模量最大。在 20~40 ℃范围内，添加木薯淀粉对蛋白体系储能模量改变并不明显，但随着温度的继续升高，添加木薯淀粉组逐渐表现出更高的储能模量，这可能与分子热运动引起的蛋白变性和淀粉糊化有关。

从储能模量随温度的变化趋势研究发现，添加木薯淀粉不仅提高了盐溶蛋白凝胶的储能模量，还提高了盐溶蛋白凝胶的最适加热温度。单独蛋白凝胶在 72±1 ℃时凝胶强度已经达到最高点，继续加热储能模量不再增大，而添加了木薯淀粉的凝胶体系的储能模量直到 80±1 ℃左右达到最高点，这可能是由于淀粉的糊化改变了蛋白热诱导的凝胶成型温度。吴满刚[12]研究发现，水溶液中木薯淀粉的糊化温度为 68.7±0.4 ℃，而 0.6 M 的 NaCl 溶液体系中，糊化温度增大为 76.9±0.1 ℃，表明盐溶液会引起淀粉糊化温度的升高，而淀粉的糊化也会影响到 SSMP 凝胶强度的变化，凝胶温度在接近或者超过淀粉的糊化温度时，淀粉才能充分膨胀，对凝胶体系起到支撑效应。

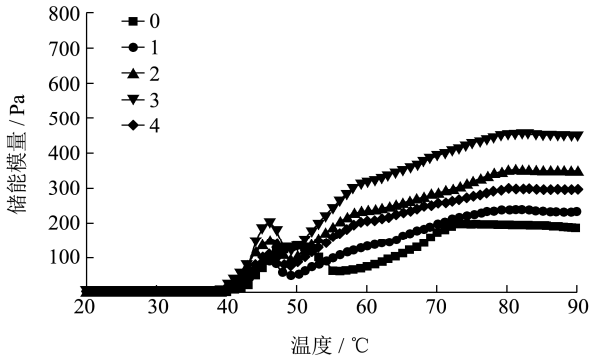


图 3 木薯淀粉添加量对盐溶蛋白凝胶储能模量的影响

Fig.3 Effect of cassava starch on the average storage modulus (G') of SSMP gel

注：0，未添加木薯淀粉；1，添加 0.5%木薯淀粉；2，添加 1.0%木薯淀粉；3，添加 1.5%木薯淀粉；4，添加 2.0%木薯淀粉。

2.3 木薯淀粉对盐溶蛋白凝胶保水性的影响

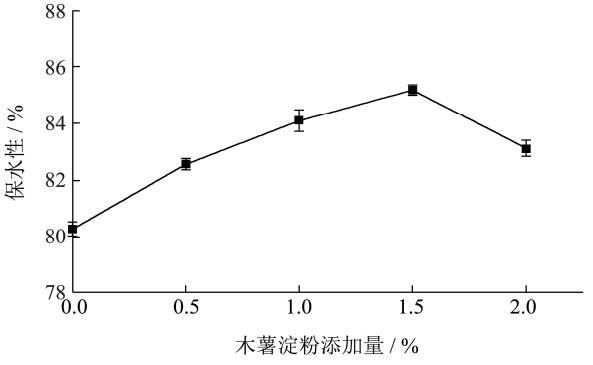


图 4 木薯淀粉对肌肉盐溶蛋白凝胶保水性的影响

Fig.4 Effect of cassava starch on the WHC of SSMP gel

在肉以及肉制品生产加工中，蛋白质结合水的能力决定了保水性，保水性对肉的嫩度、多汁性和颜色都有较大影响，是客观评价肉以及肉制品的重要指标。木薯淀粉盐与溶性蛋白的复配凝胶，不仅改善了凝胶的强度，其保水性也发生了显著的变化。图 4 结果显示，木薯淀粉的添加量对盐溶性蛋白保水性影响呈现

出先升高后降低的趋势，当木薯淀粉的添加量为 1.5%时，凝胶的保水性最高，达到 85.16%，比未添加提高了 4.4%，随着木薯淀粉添加量继续增大，凝胶保水能力逐渐降低。木薯淀粉加热时会发生糊化现象，吸收水分，当适量添加时，引起持水性的增加，而当淀粉添加量过大时，其可能与蛋白竞争水分，而盐溶蛋白的凝胶三维网络结构不足以将糊化的淀粉分子包裹在其中，淀粉吸水膨胀作用反而会破坏蛋白网络结构，导凝胶持水性能变差，降低肉制品的感官品质。

综上所述，当添加量为 1.5%时，木薯淀粉对猪肉盐溶蛋白热诱导凝胶的质构、流变性和保水性的改善效果最为理想，因此，选择此添加量的凝胶样品进行水分状态和微观结构的分析。

2.4 低场 NMRT2 弛豫时间分析凝胶水分状态分布变化

表 1 添加木薯淀粉对盐溶性蛋白凝胶 T_{21}、T_{22}和 T_{23}峰面积百分数的影响

Table 1 Effect of cassava starch on the peak area percentages of T_{21}, T_{22}, and T_{23} of SSMP gel

峰面积处理组	T_{21}/%	T_{22}/%	T_{23}/%
SSMP	0.45±0.01[a]	73.19±0.43[a]	26.36±0.14[a]
1.5%TS-SSMP	0.80±0.05[b]	83.35±0.23[b]	15.85±0.14[b]

注：a、b 在同列字母中，相同表示差异不显著，不同则表示差异显著（p<0.05）。

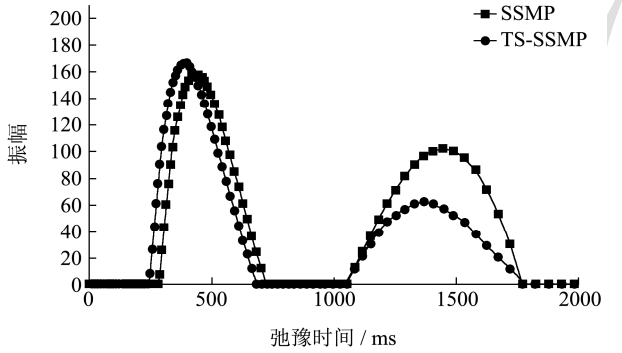


图 5 添加木薯淀粉对盐溶性蛋白凝胶横向弛豫时间(T_2)的影响

Fig.5 Effect of cassava starch on the transverse relaxation time (T_2) of SSMP gel

表 1 和图 5 显示了添加 1.5%木薯淀粉对 SSMP 热诱导凝胶峰面积百分数和 T_2 弛豫时间的影响。分析结果表明，添加木薯淀粉对 SSMP 凝胶的 T_2 弛豫时间分布具有显著的影响（p<0.05）。对 CPMG 脉冲序列得到的衰减曲线进行多指数拟合后，发现两组凝胶的 T_2 在 0.1 ms~2000 ms 的弛豫时间分布上均出现了 3 种峰，分别用 T_{21}、T_{22} 和 T_{23} 表示，分别对应于样品中水分的三种状态结合水 T_{21}、不易流动水 T_{22} 和自由水 T_{23}[13]。

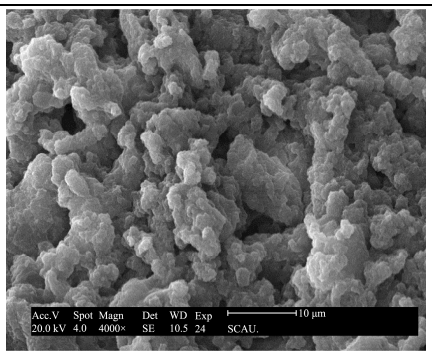
两组凝胶的三个峰面积趋势相同，都是第一个峰的面积所占比例都相对最小，第二个峰的面积最大。说明不易流动水占的比例最多，自由水比例次之，结合水的比例很低。虽然添加 1.5%木薯淀粉提高了蛋白凝胶体系的结合水的比例，但结合水总量均只有不到 1%，说明结合水在体系凝胶中所占的比例极小，不是凝胶中水分的主要存在形态。

T_{22} 对应凝胶中的不易流动水。对比两组凝胶体系，不易流动水均占绝大部分，这可能是因为在加热的作用下，盐溶性蛋白质分子发生变性，经分子间和分子内相互作用交联凝聚，反应过程中再与体系中的水通过化学键合而形成凝胶三维空间网络结构，而且体系中的自由水吸附填充在凝胶网络结构中，转变为不易流动水。而添加 1.5%木薯淀粉凝胶的不易流动水的比例显著提高，说明淀粉的加入提高了体系固定自由水的能力，热诱导过程中更多的水分被束缚在凝胶网络结构中，提高了不易流动水比例，从而增强了凝胶的保水能力。

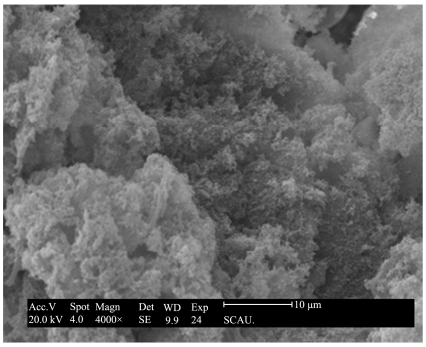
T_{23} 对应凝胶的自由水。自由水是蛋白凝胶中结合最不紧密的水，也是离心等外界处理最易除去的水，该部分水相对百分含量越高则离心等处理时凝胶损失的水越多，蛋白凝胶的保水性也越低[14]。两组凝胶体系中，单独 SSMP 的 T_{23} 峰面积较高而添加 1.5%木薯淀粉的 T_{23} 峰面积较小，说明添加淀粉降低了凝胶的自由水比例，增强了凝胶的持水能力。对比图 4 和图 5 结果表明，凝胶保水性与不易流动水比例呈现正相关而与自由水比例负相关，说明凝胶保水性的提高与增加了体系的不易流动水而降低了自由水比例有关。

2.5 微观结构分析

图 6 中 P_1 和 P_2 分别为单独盐溶蛋白凝胶和 1.5%木薯淀粉盐溶蛋白凝胶网络结构电镜扫描图。对比 P_1 和 P_2 我们可以看出，单独 SSMP 凝胶虽然呈三维立体网络结构，但结构不均匀，表面存在明显的，直径较大的孔洞和空隙，蛋白与蛋白之间呈颗粒状凝集、束状网络较多、有团状结构。添加 1.5%淀粉对蛋白的微观结构带来了改变，但木薯淀粉只是穿插在网络结构中，依靠吸水膨胀后体积的膨大，对蛋白网络有斥力和支撑作用，填补了蛋白之间的孔洞，促进了蛋白与蛋白直接的粘结，使凝胶网络更加紧密和有序，改善了蛋白凝胶网络结构。



P_1:SSMP



P_2: 1.5%TS-SSMP

图 6 木薯淀粉对猪肉盐溶蛋白凝胶微观结构的影响（×4000）

Fig.6 Effect of cassava starch on the microstructure of SSMP gels (×4000)

注：P_1，空白对照（未添加木薯淀粉）盐溶蛋白凝胶；P_2，添加 1.5%木薯淀粉盐溶蛋白凝胶。

3 结论

3.1 添加木薯淀粉能够改善猪肉盐溶蛋白凝胶的质构、保水和流变性质，当木薯淀粉添加量为 1.5%时，凝胶的凝胶硬度、弹性、储能模量和保水性最大。

3.2 动态流变测试显示，单独盐溶蛋白凝胶在 72±1 ℃时凝胶储能模量已经达到最大值，而添加木薯淀粉体系在 80±1 ℃达到最大值，说明添加木薯淀粉不仅改变了凝胶强度，还提高了凝胶体系的凝胶成型温度。

3.3 当木薯淀粉添加量为 1.5%时，低场核磁共振分析表明凝胶保水性的提高与增加了体系的结合水、不易流动水的比例而降低了自由水比例有关；扫描电镜观察蛋白凝胶网络微观结构发现木薯淀粉填充在盐溶蛋白网络中，填补蛋白分子孔隙，改善了凝胶网络结构。

参考文献

[1] Wu M G, Xiong Y L, Chen J, et al. Rheological and microstructural properties of porcine myofibrillar protein-lipid emulsion composite gels [J]. Journal of Food Science, 2009, 74(4): 207-217

[2] 栗俊广,李增,蒋爱民,等.仙草提取物对贡丸质构特性、食用品质和抗氧化特性的影响[J].现代食品科技,2014,30(3): 76-80
LI Jun-Guang, LI Zeng, JIANG Ai-Min. et al. Effects of hsian-tsao extracts on texture property, sensory quality and antioxidant activity of chinese-style meatball [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(3): 76-80

[3] Gomez-Guillen M C, Montero P, Solas M T. et al. Effect of chitosan and microbial transglutaminase on the gel forming ability of horse mackerel (*Trachurus* spp.) muscle under high pressure [J]. Food Research International, 2005, 38: 103-110

[4] Li X, Ma L Z, Tao Y, et al. Low field-NMR in measuring water mobility and distribution in beef granules during drying process [J]. Advanced Materials Research, 2012, 550: 3406-3410

[5] 吴烨,许柯,徐幸莲,等.低场核磁共振研究 pH 值对兔肌球蛋白热凝胶特性的影响[J].食品科学,2010,31(9):6-11
WU Ye, XU Ke, XU Xing-lian, et al. Effect of pH on gelation properties of rabbit myosin [J]. Food Science, 2010, 31(9): 6-11

[6] Kong C S, Tashiro Y, Ogawa H. Elastic modulus of surimi protein and starch in fish-meat gel with added starch pregelatinized at 2 temperatures [J]. Journal of Food Science, 2001, 66: 1138-1148

[7] Chen H H, Xu S Y, Wang Z. Interaction between axseed gum and meat protein [J]. Journal of Food Engineering, 2007, 80: 1051-1059

[8] Sun J X, Wu Z, Xu X L, et al. Effect of peanut protein isolate on functional properties of chicken salt-soluble proteins from breast and thigh muscles during heat-induced gelation [J]. Meat Science, 2012, 91(1): 88-92

[9] Westphalen A D, Briggs J L, Lonergan S M. Influence of pH on rheological properties of porcine myofibrillar protein during heat induced gelation [J]. Meat Science, 2005, 70: 293-299

[10] 李银,李侠,张春晖,等.利用低场核磁共振技术测定肌原纤维蛋白凝胶的保水性及其水分含量[J].现代食品科技,2013, 29(11):2777-2781
LI Yin, LI Xia, ZHANG Chun-hui. et al. Water-holding capacity and water content of myofibrillar protein gel by low-field nuclear magnetic resonance [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(11): 2777-2781

[11] M M Farouk, D A Frost, G Krsinic. Phase behaviour, rheology and microstructure of mixture of meat proteins and kappa and iota carrageenans [J]. Food Hydrocolloids, 2011,

25: 1627-1636

[12] 吴满刚,熊幼翎,陈洁.不同淀粉对肌原纤维蛋白凝胶强度和微观结构的影响[J].食品工业科技,2010,31(9):95-97
WU Man-gang, XIONG You-ling, CHEN Jie. Effects of starch on the texture and microstructure of myofibrillar protein gels [J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 31(9): 95-97

[13] Han M Y, Zhang Y J, Fei Y, et al. Effect of microbial transglutaminase on NMR relaxometry and microstructure of pork myofibrillar protein gel [J]. European Food Research and Technology, 2009, 228(4): 665-670

[14] Pearce K L, Rosenvold K, Andersen H J, et al. Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes-A review [J]. Meat Science, 2011, 89(35): 111-124

现代食品科技