

超高压诱导鱼糜凝胶性能的研究

周爱梅, 林丽英, 梁燕, 张风, 杨慧, 刘欣, 陈永泉

(华南农业大学食品学院, 广东广州 510642)

摘要: 本文研究了压力对六齿金线鱼鱼糜凝胶的凝胶特性、溶解度、电泳和 TCA-可溶性肽含量的影响, 并与热处理的结果对比。研究表明, 压力诱导凝胶的凝胶强度随压力增大而增大, 600MPa 处理的凝胶强度达到最大值为 429.775 g·cm, 比热处理凝胶高 23.03%。与热处理样相比, 压力诱导凝胶的硬度、咀嚼性较低, 内聚性较高, 弹性在 200MPa 以上时较高, 持水性较好, 白度较低。压力诱导凝胶的溶解度高于热处理凝胶, SDS-PAGE 显示其肌球蛋白重链较深, 表明压力会使内源性转谷氨酰胺酶的活性降低, 不利于形成 ϵ -(γ -谷氨酰)赖氨酸键。压力诱导凝胶的 TCA-可溶性肽含量低于热处理凝胶, 表明压力可抑制引起鱼糜凝胶劣化的内源性水解蛋白酶的活性。结果表明, 超高压处理有利于形成柔软、有弹性和凝胶强度高的凝胶; 对内源性水解蛋白酶活性的抑制作用可能是超高压改善其凝胶特性的主要原因之一。

关键词: 超高压; 六齿金线鱼; 鱼糜; 凝胶

文章编号: 1673-9078(2013)9-2058-2062

Gelling Properties of the Surimi Induced by Ultra-high Pressure

ZHOU Ai-mei, LIN Li-ying, LIANG Yan, ZHANG Feng, YANG Hui, LIU Xin, CHEN Yong-quan

(College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Effect of pressures on the textural properties, solubility, SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and TCA-soluble peptides of gels from threadfin bream (*Nemipterus bleekeri*) surimi were investigated and compared with heat-induced surimi gels. According to the result, the increased gel strength of surimi gels was observed with the increasing of the pressure. Surimi gels induced by pressure 600 MPa possessed the highest gel-strength of 429.775 g·cm, being 23.03% higher than that of the heat-induced gel. Pressure-induced surimi gels had significant lower hardness and chewiness but higher cohesiveness than heat-induced gels. Higher springiness could be achieved when pressure was beyond 200 MPa. Pressure-induced surimi gels had higher water-holding ability but lower whiteness than heat-induced gels. Higher solubility and MHC band intensity of surimi gels treated with pressurization were observed than those of gels treated with heating, indicating that endogenous transglutaminase might be inactivated under pressurization and thus result in the decrease of ϵ -(γ -glutanyl) lysine linkage formation. The content of TCA-soluble peptide of pressure-induced gels were lower than that of heat-induced gels, suggesting the endogenous proteolysis protease in surimi which could result in gel-weakening might be inactivated by high pressure. The above results demonstrated that tender surimi gels with higher springiness and gel strength could be induced by high pressure, which might be due to its inhibitory effect on the activity of the endogenous proteolysis proteinase in surimi.

Key words: ultra-high pressure; threadfin bream; surimi; gelatin

六齿金线鱼 (*Nemipterus hexodon*), 金线鱼科、金线鱼属, 隶属于鲈形目, 主要分布于印度—西太平洋的热带和亚热带海域, 是典型的暖水种。同时也是我国南海重要的经济鱼类, 产量较高, 具有重要经济价值。六齿金线鱼是继阿拉斯加鳕鱼后第二大鱼糜制品的原料, 尽管其产品的数量大、价值高, 但是关于其凝胶性质方面的研究很有限^[1]。六齿金线鱼在鱼糜工业中的运用主要依赖于其他鱼种的研究信息, 比如

收稿日期: 2013-03-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31101311)

作者简介: 周爱梅 (1971-), 女, 博士, 副教授, 食品化学及水产品加工
并列第一作者: 林丽英 (1987-), 女, 硕士研究生, 食品化学与营养

阿拉斯加鳕鱼 (冷水鱼), 但是暖水鱼的属性与冷水鱼的属性有很大的区别, 因此研究六齿金线鱼鱼糜的凝胶特性对实际生产加工有很重要的作用。

目前鱼糜凝胶化的主要方法是热处理, 但热加工方法对于改善鱼糜凝胶特性仍不够理想。超高压对蛋白质等生物大分子具有独特的物理改性作用。它能影响蛋白质分子中的氢键、疏水相互作用、静电相互作用等, 从而改变蛋白质的空间结构和功能特性, 进而导致蛋白质变性、聚集或凝胶化^[3]。超高压技术在鱼糜加工中的研究国外开始得比较早, 始于上个世纪八十年代。众多研究表明, 高压诱导的蛋白凝胶比热诱导蛋白凝胶具有更好的光泽度、平滑度、柔软度以及

更高的弹性^[3]。而且,超高压有助于缩短鱼糜凝胶化时间,减少热敏性成分的损失以及不良风味的形成^[4]。在超高压诱导鱼糜形成凝胶的机理方面,国内外学者也进行了一定的探索,但现有研究不深入、不系统,仍有很多科学问题尚未阐述清楚。

因此,本文以六齿金线鱼鱼糜为研究对象,研究不同压力处理对六齿金线鱼糜凝胶特性的影响,并探讨其凝胶机理,可为超高压在鱼糜生产中的实际应用提供有益的参考。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

冷冻六齿金线鱼鱼糜-20℃贮藏,购于泰国宋卡 Man A Frozen Foods 公司;食盐 市售食用级;其他试剂均为市售分析纯。

FX-20DU 超高压设备,英国 Stansted fluid power 公司;TA-XT2 质构仪,英国 Stable Micro Systems 公司;JP7100F 全自动测色色差仪,日本 Juki 公司;Mini-Protein II 稳压稳流型电泳仪,美国 Bio-Rad 公司;Dura-TopTM μ P 高速台式冷冻离心机,美国 FTS systems。

1.2 试验方法

1.2.1 鱼肠的制备^[5]

冷冻鱼糜用高速组织捣碎机斩拌 1 min,添加 2.5% 食盐,并用冰水将鱼糜水分含量调至 80%,继续斩拌 4 min,在砧板上赶气后用 Biscuit Maker 将鱼糜填充至肠衣。整个过程温度应控制在 10℃ 以下。

1.2.2 热处理

采用二段加热法(40℃/30 min 后再采用 90℃/20 min 加热),加热后立即将鱼肠置于冰水中冷却,再将其置于 4℃ 放置 12 h,然后进行凝胶特性分析。

1.2.3 超高压处理

将鱼肠分别于 200 MPa、400 MPa、600 MPa 下保压 30 min,取出后迅速冰水冷却,4℃ 冰箱中放置 12 h 后进行凝胶特性分析。

1.3 测定方法

将制备好的鱼肠平衡至室温,切成直径 30 mm、高 25 mm 的柱形体,进行凝胶强度及质构测定。

1.3.1 凝胶强度测定^[6]

凝胶强度测试选用探头型号为 P/5,测试模式为压缩力模式。压缩为 60 mm/min,变形量为 15 mm。测定破断强度和凹陷深度,凝胶强度(g·cm)=破断强度

(g)×凹陷深度(cm)。

1.3.2 质构的测定^[7]

对样品硬度、弹性、内聚性和咀嚼性进行测定。质构特性测试选用的探头型号为 P/50,测试模式为 TPA。具体测试参数为:下压速度 5 mm/s,压缩变形率 50%,表面感应力为 99.0 g,两次压缩之间的停留时间 1 s。

1.3.3 色差测定^[6]

将样品切成厚 3 mm 的圆片,室温下用 WSC-S 颜色色差仪测定样品色度,仪器采用标准白板校正。L*表示样品的亮度,+a*表示样品偏红,-a*表示样品偏绿;+b*表示样品偏黄,-b*表示样品偏蓝。

$$\text{白度} = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$$

1.3.4 持水性能测定^[6]

将样品切成 0.5 cm 厚并称其质量 m_1 ,放在 3 张滤纸上,并用 3 张滤纸覆盖,然后在正上方施加 5 kg 的质量并保持 2 min,压榨完后取出样品称其质量 m_2 ,按下式计算压出水分含量 w 。

$$w/\% = (m_1 - m_2) / m_1 \times 100。$$

1.3.5 溶解度测定

溶解度的测定参考 Benjakul^[8]的方法。

1.3.6 TCA-可溶性肽的测定

TCA-可溶性肽的测定参考 Rawdkuen^[9]的方法。

1.3.7 SDS-PAGE 电泳实验

SDS-PAGE 电泳实验参考 Balange^[10]的方法。

1.4 数据分析方法

采用 SPSS 16.0 统计软件对数据差异的显著性进行分析, $p < 0.05$ 被认为差异有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 超高压对鱼糜凝胶强度的影响

由图 1 可知,随压力的升高,鱼糜凝胶的破断强度先增加后略有减少,并在 400 MPa 时达到最大值,与热处理凝胶无显著差异($p > 0.05$);凹陷深度随着压力的增大显著增大,400 MPa 时凹陷深度显著高于热处理样($p < 0.05$);凝胶强度随着压力的增大显著增大,600 MPa 时凝胶强度达到最大值 429.775 g·cm,比热处理凝胶高 23.03%。由此可知,超高压可诱导鱼糜形成凝胶,增大压力有利于形成更高的凝胶强度,压力到达 400 MPa 时凝胶强度优于热处理。

鱼肉中的肌原纤维蛋白是形成凝胶的主要成分,随着处理压力的增大,会发生肌球蛋白的变性,包括蛋白质构型改变与肽链的解开,同时超高压处理可使

蛋白质分子结构中暴露更多的巯基基团, 巯基含量的增加促使蛋白质凝胶性能得到改善^[8]。高压处理也能解聚肌动蛋白和肌球蛋白, 并能提高肌原纤维蛋白溶解性, 当压力足够大时, 可能会影响物质分子间结合形式, 导致键的破坏和重组, 从而使大分子功能特性发生变化, 形成凝胶网络结构, 改善凝胶特性^[11]。

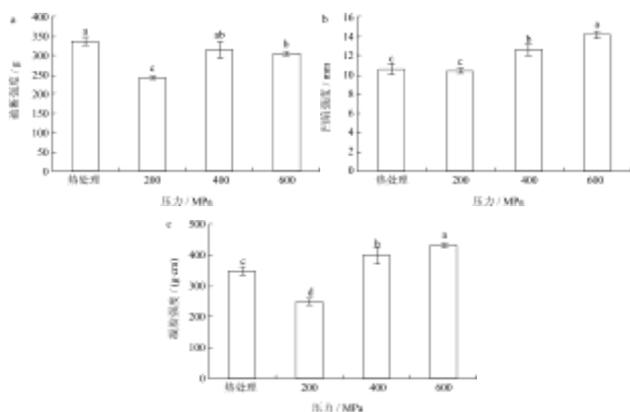


图1 六齿金线鱼在不同压力下的破断强度(a)、凹陷深度(b)和凝胶强度(c)的变化

Fig.1 Breaking force, deformation and gel strength of gels from threadfin bream surimi prepared under different pressure

注: 字母 a、b、c、d、e 表示差异的显著性 (p<0.05)。

2.2 超高压对对鱼糜凝胶质构的影响

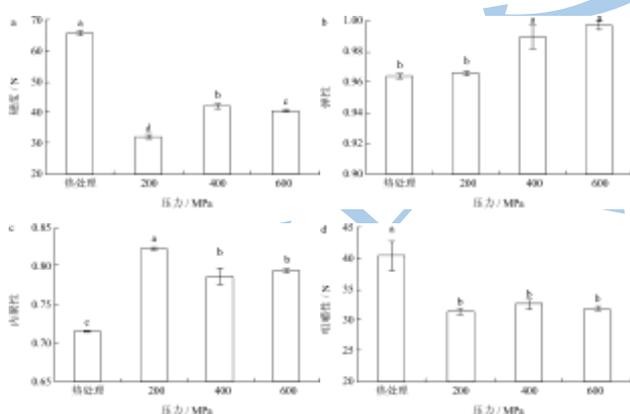


图2 六齿金线鱼糜在不同压力下的硬度(a)、弹性(b)、内聚性(c)和咀嚼性(d)的变化

Fig.2 Hardness, springiness, cohesiveness and chewiness of gels from threadfin bream surimi prepared under different pressure

注: 字母 a、b、c、d、e 表示差异的显著性 (p<0.05)。

结果如图2所示。由图可知, 超高压鱼糜凝胶的硬度均显著低于热处理凝胶 (p<0.05), 在 400 MPa 时硬度达到最大值; 弹性则在 400 MPa 时显著高于热处理凝胶 (p<0.05); 超高压鱼糜凝胶的内聚性显著大于热处理凝胶 (p<0.05), 且在 200 MPa 达到最大值; 咀嚼性均显著低于热处理凝胶 (p<0.05), 且不同压力

样品的咀嚼性无显著差异。结果表明, 与热处理相比, 合适的超高压处理可改善鱼糜的凝胶质构, 使其形成柔软、有弹性、硬度适中的凝胶。这是由于高压处理可以使样品体积缩小, 结构紧凑, 有利于内部键的架构, 使内部键强度更大, 从而形成比热处理更致密的凝胶结构^[11], 宏观上表现为内聚性更高, 弹性更好。

2.3 超高压对鱼糜凝胶色差的影响

表1 六齿金线鱼糜在不同压力下的色差变化

Table 1 Color of gels from threadfin bream surimi prepared under different pressure

压力 / MPa	L*	a*	b*	白度
Control	83.90±0.24 ^a	-2.45±0.04 ^d	6.12±0.05 ^a	82.60±0.22 ^a
200	71.33±0.32 ^d	-4.50±0.07 ^a	-0.28±0.18 ^d	71.13±0.35 ^b
400	76.91±0.25 ^c	-4.33±0.05 ^b	0.91±0.18 ^c	76.49±0.25 ^c
600	80.46±0.18 ^b	-4.01±0.04 ^c	2.05±0.24 ^b	79.95±0.19 ^d

注: 字母 a、b、c、d、e 表示差异的显著性 (p<0.05)。

由表1可以看出, 亮度值 L* 和黄值 b* 均随压力的增大而显著增大, 均低于热处理凝胶 (p<0.05); 红值 a* 随着压力的增大而显著减小, 都高于热处理凝胶 (p<0.05); 白度也随压力的上升而显著增大 (p<0.05), 但均低于热处理凝胶。根据优质鱼糜凝胶的标准, 即高亮度、低黄度、高白度, 超高压鱼糜凝胶的白度不如热处理凝胶, 超高压处理中, 600 MPa 处理可获得色差最好的鱼糜凝胶。

超高压引起鱼糜凝胶色泽变化的原因可能是: 超高压导致肌红蛋白中球蛋白变性, 或者超高压可能导致肌红蛋白中的亚铁血红素被取代或失去, 致使 L* 增加; 超高压处理使鱼糜中 O₂ 的分压减少, 肌红蛋白和氧合肌红蛋白均有向高铁肌红蛋白转化的倾向, 促使鱼糜凝胶中高铁肌红蛋白含量增加, 而凝胶中高铁肌红蛋白含量的升高又将导致红值 a* 降低^[12]。

2.4 超高压对鱼糜凝胶持水性的影响

结果如图3所示。鱼糜凝胶的持水性用可压出水分含量表征, 可压出水分含量越多, 持水性越差; 反之, 持水性越好。

图3表明, 超高压鱼糜凝胶的可压出水分含量均显著低于热处理凝胶 (p<0.05), 且随压力增大无显著变化。可压出水分含量减少, 反映所形成的鱼糜凝胶网络结构的持水能力强。结果说明, 超高压处理有助于改善鱼糜的凝胶网络结构, 提高其持水性, 这和超高压对鱼糜凝胶质构的影响是一致的。

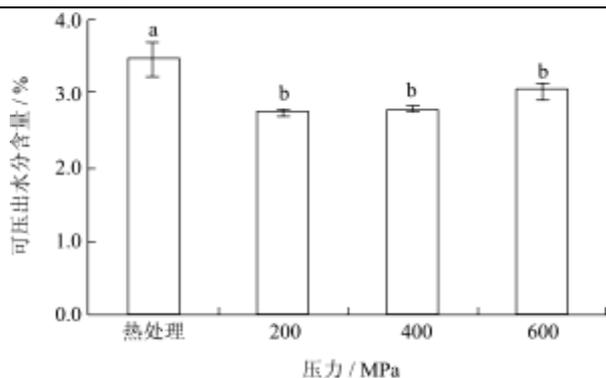


图3 六齿金线鱼糜在不同压力下的持水性的变化

Fig.3 Expressible moisture content of gels from threadfin bream surimi prepared under different pressure

注：字母 a、b、c、d、e 表示差异的显著性 ($p < 0.05$)。

2.5 超高压对鱼糜凝胶溶解度的影响

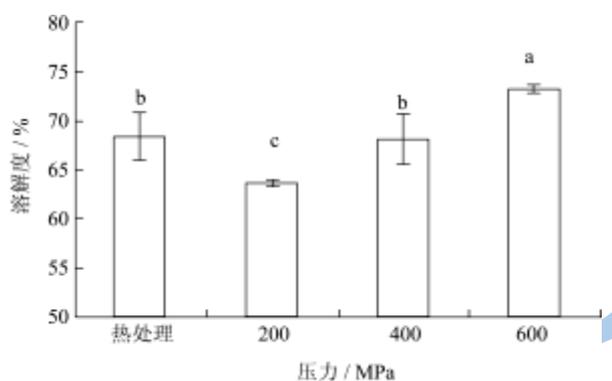


图4 六齿金线鱼糜在不同压力下的溶解度的变化

Fig.4 Solubility of gels from threadfin bream surimi prepared under different pressure

注：字母 a、b、c、d、e 表示差异的显著性 ($p < 0.05$)。

不同压力处理对六齿金线鱼糜凝胶溶解度的影响如图4所示。由图可知，超高压诱导形成的鱼糜凝胶的溶解度均显著大于热处理凝胶 ($p < 0.05$)，且压力越大，溶解度越高。溶解度实验中所用的溶剂含 SDS、尿素及 β -巯基乙醇，能够将鱼糜凝胶中除了 ϵ -(γ -谷氨酰)赖氨酸键外的所有化学键断开^[8]。 ϵ -(γ -谷氨酰)赖氨酸键是由鱼糜中的内源性转谷氨酰胺酶 (TGase) 催化肌球蛋白形成的。它对鱼糜凝胶网络的形成起重要作用。在混合溶剂中的溶解度越低，表明鱼糜凝胶网络结构中该键形成越多。结果说明，超高压鱼糜凝胶中的 ϵ -(γ -谷氨酰)赖氨酸键的形成程度不如热处理凝胶。这一方面可能是因为超高压处理抑制了鱼糜中的内源性 TGase 的酶活；另一方面可能是因为温度因素造成的，六齿金线鱼内源性 TGase 在 45 °C 时活性最高，而超高压过程中温度一般控制在 30 °C，因此不利于 TGase 发挥作用。由此说明，超高压对鱼糜凝胶的改善可能不是通过此酶起作用。

2.6 超高压处理对鱼糜凝胶 SDS-PAGE 图谱的影响

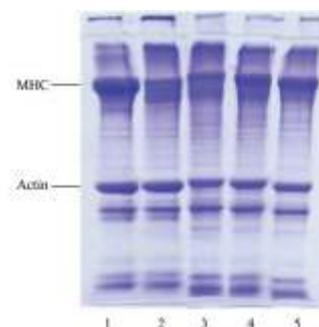


图5 六齿金线鱼糜在不同压力下 SDS-PAGE 图谱

Fig.5 SDS-PAGE of gels from threadfin bream surimi prepared under different pressure

注：1、新鲜鱼糜；2、热处理鱼糜凝胶；3、200 MPa；4、400 MPa；5、600 MPa。

如图5所示，与新鲜鱼糜相比，经超高压处理和热处理后，肌球蛋白重链带 (MHC) 均有所下降，且在浓缩胶和分离胶顶端上出现大分子蛋白 ($M_w > 200$ u)。超高压处理和热处理相比，热处理 MHC 较浅，沉积在浓缩胶的蛋白条带较深。不同压力处理相比，200 MPa 处理 MHC 较 400 MPa 和 600 MPa 处理的浅，但 200 MPa 处理的分离胶顶端的蛋白条带较 400 MPa 和 600 MPa 处理的深。

研究表明，肌球蛋白是形成鱼糜凝胶网络结构的最重要的蛋白质，而 MHC 是肌球蛋白分子中参与凝胶的最主要部分^[13]。鱼糜蛋白的凝胶能力与 MHC 的共价交联程度呈正相关性。已有研究表明，MHC 的交联与 TGase 活性有很大关系，TGase 活性强有助于蛋白分子的交联，故 MHC 较浅。大分子蛋白 ($M_w > 200$ u) 的出现可能是因为肌球蛋白在 TGase 作用下交联形成了大分子，部分大分子不能通过聚丙烯酰胺凝胶而沉积在浓缩胶，部分大分子则留在分离胶顶端。热处理的静置温度 (40 °C 处理 30 min) 有利于 TGase 发挥作用，因此 MHC 带较浅。200 MPa 下 TGase 活性强于 400 MPa 和 600 MPa 时，故蛋白分子交联的程度较大。因此可推断，超高压可能会抑制 TGase 活性及超高压过程中的温度不适于 TGase 发挥作用，故使 MHC 交联程度较小，这与溶解度实验结果一致。

2.7 超高压对鱼糜凝胶 TCA-可溶性肽的影响

超高压对鱼糜凝胶 TCA-可溶性肽含量的影响如图6所示。由图可知，超高压鱼糜凝胶的 TCA-可溶性肽含量显著低于热处理凝胶 ($p < 0.05$)，且随着压力

的增大, TCA-可溶性肽含量下降越显著 ($p<0.05$)。内源性水解蛋白酶类能够引起鱼糜肌原纤维蛋白(尤其是肌球蛋白)的分解, 引起凝胶劣化^[4]。一般采用 TCA-可溶性肽含量表征蛋白的水解程度。内源性蛋白酶的活性越强, 水解程度越强, 则 TCA-可溶性肽含量越高。Benjakul 等研究发现, 六齿金线鱼糜中的引起凝胶劣化的内源性水解蛋白酶的活性非常高^[4]。结果表明, 超高压可显著抑制鱼糜中的内源性水解蛋白酶的活性, 而且压力越大, 对酶活的抑制越大。因此, 对内源性水解蛋白酶活性的抑制作用可能是超高压改善六齿金线鱼糜凝胶特性的主要原因之一。

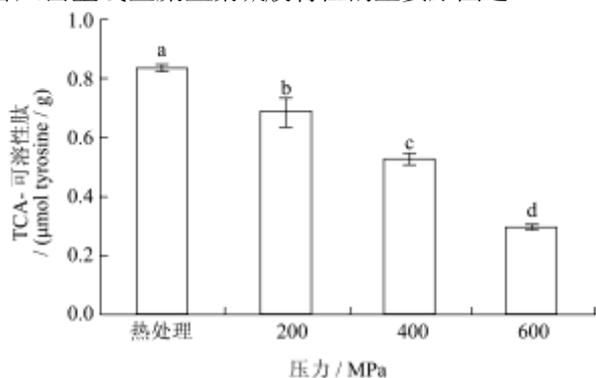


图6 六齿金线鱼糜在不同压力下处理的TCA-可溶性肽含量的变化

Fig.6 TCA-soluble peptide of gels from threadfin bream surimi prepared under different pressure

注: 字母 a、b、c、d、e 表示差异的显著性 ($p<0.05$)。

3 结论

超高压能改善六齿金线鱼糜的凝胶特性, 凝胶强度随压力的增大而增大, 形成凝胶的硬度、咀嚼性较低, 内聚性和弹性较高, 持水性高, 白度较低。超高压会抑制能促进凝胶形成的内源性转谷氨酰胺酶的活性, 不利于 ϵ - $(\gamma$ -谷氨酰)赖氨酸键的形成, 超高压能显著抑制能引起凝胶劣化的内源性水解蛋白酶的活性。因此, 超高压对内源性水解蛋白酶的抑制作用可能是超高压处理能改善其鱼糜凝胶特性的主要原因之一。

参考文献

[1] Yongsawatgigul J, Worratao A, Park J W. Effect of Endogenous Transglutaminase on Threadfin Bream Surimi Gelation [J]. Journal of Food Science, 2002, 67(9): 3258-3263

[2] Messens W, Camp J V, Huyghebaert A. solubility physicalchemical properties DSC TEM [J]. Trends in Food Science and Technology, 1997, 8: 107-112

[3] Chung Y C, Gebrehiwot A, Farkas D, et al. Gelation of surimi

by high hydrostatic pressure [J]. Journal of Food Science, 1994, 59(3): 523-524, 543

- [4] 周爱梅, 黄文华, 刘欣, 等. 转谷氨酰胺酶对鳙鱼鱼糜凝胶特性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2003, 8: 27-31
- Zhou A M, Huang W H, Liu X, et al. The Effect of Transglutaminase on the Gel Properties of Bighead (Aristichthy nobilis) Surimi [J]. Journal of Food and Fermentation Industries, 2003, 8: 27-31
- [5] Balange A K, Benjakul S, Maqsood S. Gel strengthening effect of wood extract on surimi produced from mackerel stored in ice [J]. Journal of Food Science, 2009, 74(8): 619-627
- [6] Maqsood S, Benjakul S, Balange A K. Effect of tannic acid and kiam wood extract on lipid oxidation and textural properties of fish emulsion sausages during refrigerated storage [J]. Journal of Food Chemistry, 2012, 130(2): 408-416
- [7] Benjakul S, Visessanguan W, Chantarasuwan C. Effect of porcine plasma protein and setting on gel properties of surimi produced from fish caught in Thailand [J]. Journal of Food Science and Technology, 2004, 37(2): 177-185
- [8] Rawdkuen S, Sai-Ut S, Khamsom S, et al. Biochemical and gelling properties of tilapia surimi and protein recovered using an acid-alkaline process [J]. Journal of Food Chemistry, 2009, 112(1): 112-119
- [9] Balange A, Benjakul S. Enhancement of gel strength of bigeye snapper (Priacanthus tayenus) surimi using oxidised phenolic compounds [J]. Journal of Food Chemistry, 2009, 113: 61-70
- [10] 胡飞华. 梅鱼鱼糜超高压凝胶化工艺及凝胶机理的研究[D]. 浙江: 浙江工商大学, 2010
- Hu F H. Study on the Gelation Process and Mechanism of Collichthys Lucidus Surimi Gel Induced by Ultra-High Pressure [D]. Zhe jiang: Zhe jiang Gong shang University, 2010
- [11] Claude C J, Joseph C. Effects of high pressure on meat: A review [J]. Meat Science, 1997, 46(3): 211-236
- [12] Haejung A, Margo Y P, Seymour T A. Roles of endogenous enzymes in surimi gelation [J]. Trends in Food Science & Technology, 1996, 10(7): 321-327
- [13] 陆海霞. 秘鲁鱿鱼肌原纤维蛋白质凝胶特性的研究[D]. 浙江: 浙江工商大学, 2009
- Lu H X. Study on Myofibrils and Myofibrils Gel Properties of Jumbo Squid (Dosidicus Gigas) [D]. Zhe jiang: Zhe jiang Gong shang University, 2009