

# 胡柚皮粉对带鱼肌原纤维蛋白凝胶特性的影响

刘文娟, 木尼热, 吴春华, 李珊, 胡玥, 胡亚芹

(浙江大学食品与营养系, 馥莉食品研究院, 浙江省农产品加工技术研究重点实验室, 浙江省食品加工技术与装备工程中心, 浙江杭州 310058)

**摘要:** 本文研究胡柚皮粉对肌原纤维蛋白凝胶特性的影响并分析凝胶特性变化的机理。90 °C直接加热或者先40 °C预热后再90 °C加热, 添加胡柚皮粉的凝胶样品的凝胶强度显著增加。在胡柚皮粉的添加量 5%时, 凝胶强度达到最大值。这一结果在 40 °C预热后再 90 °C加热的水浴方式中更加明显。凝胶样品的白度值随胡柚皮粉添加量的增加而显著降低。保水性却随着胡柚皮粉添加量的增加呈增加趋势。在胡柚皮粉的添加水平较低时, 随着量的增加, 弹性、内聚性和咀嚼性增加显著, 之后在添加水平较高时变化不明显。硬度和胶着性在胡柚皮粉的添加量 8%时达到最大值。在胡柚皮粉的添加量 5%时, 凝胶样品的口感和质地评价最高, 色泽和滋味的评价较低。添加量 3%时总评价最高。SDS-PAGE 的电泳图谱中可见明显交联的条带, 在还原处理的样品中, 交联强度随着胡柚皮粉添加量的增加而显著增加。

**关键词:** 胡柚皮粉; 肌原纤维蛋白; 凝胶特性; SDS-PAGE 电泳

文章编号: 1673-9078(2015)1-77-83

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.1.015

## Effect of *Citrus Changshan-huyou* Peel Powder on the Gelling Properties of Hairtail (*Trichiurus Lepturus*) Myofibrillar Protein

LIU Wen-juan, Munire, WU Chun-hua, LI Shan, HU Yue, HU Ya-qin

(Department of Food Science and Nutrition, Fuli Institute of Food Science, Zhejiang Key Laboratory for Agro-Food Processing, Zhejiang R & D Center for Food Technology and Equipment, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

**Abstract:** Effects of *citrus changshan-huyou* peel powder on the gelling properties of hairtail myofibrillar protein and the mechanism of changes in gel forming characteristics were investigated. The samples were either heated to 90 °C directly or preheated to 40 °C followed by heating to 90 °C. The gel strength increased significantly when *citrus changshan-huyou* peel powder was added to the samples. The maximum gel strength was obtained when the concentration of *citrus changshan-huyou* peel powder became 5% (m/m). This result was more significant for the samples preheating to 40 °C prior to treatment at 90 °C in a water bath. The whiteness value significantly decreased while the water holding capacity increased as the amount of *citrus changshan-huyou* peel powder added to the samples increased. At lower concentrations of added *citrus changshan-huyou* peel powder, the springiness, cohesiveness, and chewiness of the gel increased significantly as the amount of *citrus changshan-huyou* peel powder increased. However, no further change was observed at higher concentrations of added *citrus changshan-huyou* peel powder. The maximum hardness and gumminess for the gel were obtained in samples with 8% *citrus changshan-huyou* peel powder. The samples with 5% *citrus changshan-huyou* peel powder received the highest mouth-feel and texture scores; however, they received low scores for color and taste. The highest total sensory evaluation score was obtained for samples with 3% *citrus changshan-huyou* peel powder. Cross-linked protein bands were observed in the profile of the SDS-PAGE pattern. In reduced samples, the cross-linking strength significantly increased with increasing amounts of *citrus changshan-huyou* peel powder.

**Key words:** *citrus changshan-huyou* peel powder; myofibrillar protein; gelling properties; sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis

带鱼 (*Trichiurus lepturus*) 是中国东海四大海洋

收稿日期: 2014-06-22

基金项目: 国家科技支撑项目 (2012BAD38B09)

作者简介: 刘文娟 (1988-), 女, 硕士, 水产品贮藏与保鲜方向

通讯作者: 胡亚芹 (1972-), 女, 博士, 副教授, 水产品贮藏与保鲜加工方向

经济鱼类之一, 渔获量非常大, 而且价格低廉。目前浙江、福建沿海, 以带鱼作为原料加工冷冻鱼糜及其制品较为常见。冷冻鱼糜是一种高质量的鱼肉肌原纤维蛋白的浓缩产物, 为鱼肉经漂洗去除色素、脂肪、水溶性物质后所得。这种浓缩的肌原纤维蛋白经加盐, 辅料后擂溃装模, 加热后可制成具有弹性的鱼肉凝胶

制品,如鱼糕、鱼丸、仿真蟹肉、虾仁、扇贝、仿鱼翅等。但是由于带鱼肌原纤维蛋白的凝胶性能较差,它的开发利用受到很大限制。所以,随着鱼种储量的日益下降和人们对于鱼肉需求的不断增长,如何改善带鱼肌原纤维蛋白的凝胶特性越来越受到生产者的关注。

肌原纤维蛋白经热诱导后发生凝胶化,其机理是蛋白质分子内分子间通过离子键,氢键,疏水性相互作用以及二硫键和非二硫共价键等化学结合作用发生交联<sup>[1]</sup>。这一过程对凝胶的强度、持水性、硬度及粘着性等质构特性起着决定性作用<sup>[2]</sup>。然而肌原纤维蛋白的交联过程受很多物质的影响,例如多糖<sup>[3]</sup>,动植物源蛋白质<sup>[4]</sup>、脂肪酸<sup>[5]</sup>、多酚<sup>[6]</sup>以及一些酶类<sup>[7]</sup>等。

其中,已有研究表明咖啡酸,儿茶素,丹宁酸,阿魏酸可以作为天然的新型交联剂用于改善鱼肉蛋白质凝胶及蛋白质膜的特性<sup>[8-9]</sup>。这些多酚类物质广泛存在于植物组织中,具有抗氧化,抑菌,抗癌,降低胆固醇等重要的作用<sup>[10-11]</sup>,多见于谷物的外壳,果皮,咖啡豆,茶叶和块茎等较坚硬的组织部位,与食品体系具有良好的兼容性<sup>[12]</sup>。Maqsood等人<sup>[13]</sup>报告称多酚类物质具有天然、无毒、安全、来源广泛等优点,可作为新型添加剂应用于改善鱼肉及其鱼肉制品的质构特性。胡柚皮中富含酚酸、黄酮酮糖苷等多种酚类化合物<sup>[14]</sup>。在食品加工过程中,胡柚皮往往未得到充分加工利用而被废弃,不仅造成资源浪费而且污染环境。目前已有研究直接将即溶咖啡和白葡萄汁作为多酚的来源加入鱼肉蛋白凝胶中制备可食用膜,用于改善膜的强度等特性<sup>[15]</sup>。而以胡柚皮粉作为多酚来源用于改善鱼肉肌原纤维蛋白凝胶特性的研究鲜有报道。

本文以冷冻带鱼糜作为试验原料,研究胡柚皮粉对带鱼肌原纤维蛋白凝胶特性的影响,并分析凝胶特性发生变化的机理。旨在改善带鱼肌原纤维蛋白的凝胶特性,提高带鱼在食品工业生产中的附加值,同时实现胡柚皮的综合利用。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料

冷冻带鱼肉糜,象山南方水产食品有限公司提供,-80℃冷冻备用;木薯淀粉,食品级,广西岑溪市三角淀粉有限责任公司;新鲜胡柚皮;宽分子量SDS-PAGE蛋白标品(200 ku肌球蛋白、116.25 kuβ-半乳糖苷酶、97.4 ku兔磷酸化酶B、66.2 ku牛血清蛋白、45 ku卵清蛋白、31 ku牛碳酸酐酶、21.5 ku胰蛋白酶抑制剂、14.4 ku溶菌酶、6.5 ku抑蛋白酶肽),美

国BIO-RAD公司。

### 1.2 主要仪器与设备

UMC5真空斩拌机,德国Stephan公司;GB204万分之一电子天平,瑞士Mettler Toledo仪器有限公司;DHS-20A快速水分测定仪,深圳市冠业电子科技有限公司;FSH-2可调高速匀浆机,江苏东鹏仪器制造有限公司;CT3质构仪,美国Brookfield公司;EPS-300垂直电泳仪,上海天能科技有限公司;标准型pH计-PB-10,上海金鹏分析仪器有限公司;烘箱;WSC-S色差计,上海精密科学仪器有限公司;TA.XT Express型物性测定仪,英国Stable Micro Systems公司;Q-250A3研磨机,上海冰都电器有限公司;HH-10水浴锅,金坛市科杰仪器厂。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 制备胡柚皮粉

新鲜胡柚皮清洗干净,置于烘箱中60℃低温烘干20h,然后用研磨机粉碎,过40目筛后,密封,常温避光保存以备用。

#### 1.3.2 制备凝胶

冷冻带鱼糜流水解冻3h,切成边长1cm的鱼糜小块,后空播5min;添加食盐2.5%,盐播30min;按照0%、1%、3%、5%、8%的浓度梯度添加胡柚皮粉,调节水分含量至80%,淀粉10%,播溃15min;10℃以下进行操作。播溃好的鱼糜装入直径30mm、长30mm的不锈钢圆环内,两端密封后水浴加热。一段加热直接90℃水浴25min,二段加热采用先40℃预热35min后90℃水浴25min的方法。加热后冰水冷却20min,4℃冷藏12h。

#### 1.3.3 胡柚皮粉成分测定

##### 1.3.3.1 总酚测定

准确称取1克胡柚皮粉加入6mL80%甲醇混合均匀,超声提取30分钟,然后于5000r/min。

下离心10分钟,取上清液过滤,滤渣用7~8mL80%甲醇重复提取、离心、过滤,用少量80%甲醇洗涤滤渣并过滤,合并提取液用80%甲醇定容至10mL。参照Singleton等人<sup>[16]</sup>的方法并有所改动。取1mL80%甲醇提取液,用蒸馏水稀释至10mL,加1mL福林酚试剂,混匀后加5mL5%碳酸钠溶液,混匀后室温放置60分钟,加蒸馏水至25mL,750nm下测吸光值。以没食子酸为标样作标准曲线,总酚含量用没食子酸当量GAE(gallic acid equivalent)表示。

##### 1.3.3.2 果胶测定

称取一定量的干柑橘皮粉末,装入100mL的烧

杯中,加入一定 pH 的盐酸溶液,按照质量与体积比配制成一定的料液比,并放入电热恒温水浴锅内,加热到一定温度,在搅拌条件下保持一定时间后,将溶液加热至 90 ℃左右,用 2 层纱布过滤,收集滤液并降温至 35~40 ℃,在搅拌下加入 5% 的酒石酸乙醇(100 mL 95% 的乙醇和 5 g 的酒石酸配置而成),至果胶成海绵状完全沉淀出来,真空浓缩,再用一定浓度的乙醇沉淀,干燥后称重。

### 1.3.3.3 粗纤维的测定

称胡椒粉 5 g 移入 250 mL 锥形瓶中,加入 100 mL 煮沸的 1.25% 硫酸,加热使微沸,保持体积恒定,维持 30 min,每隔 5 min 摇动锥形瓶一次,以充分混合瓶内的物质。

取下锥形瓶,立即用亚麻布过滤,再用沸水洗涤至洗液不呈酸性,再用 100 mL 煮沸的 1.25% 氢氧化钾溶液,将亚麻布上的残留物洗入原锥形瓶内加热微沸 30 min 后,取下锥形瓶,立即以亚麻布过滤,以沸水洗涤 2 次~3 次后,再用 30 mL 石油醚洗涤 2~3 次,用少量乙醇将滤渣移入已干燥称量的坩埚中,在 105 ℃ 烘箱中烘干后称量。

## 1.3.4 指标测定

### 1.3.4.1 凝胶强度的测定

4 ℃ 冷藏的热凝胶样品于室温下孵育 1 h,切成长 25 mm,直径 30 mm 的尺寸,以质构仪测定凝胶强度,每组 10 个平行样。选用直径 5 mm 的球形探头,测试模式为压缩力模式,测前速度 2.0 mm/s,测试速度 1.0 mm/s,回复速度 2.0 mm/s,变形量 20 mm,感应力 5 g,下压次数为 1 次。记录质构仪中显示的破断力和破断距离。凝胶强度 (g cm) 即为破断力 (g)

与破断距离 (cm) 的乘积。

### 1.3.4.2 持水性的测定

在热凝胶样品中间部分切取厚 5 mm,重  $m_1$  的薄片,置于上下各 3 层的定性滤纸中间,在其上加压 10 kg 的重物,保持 2 min 后,称重  $m_2$ 。持水性 (%) =  $m_2/m_1 \times 100$ 。

### 1.3.4.3 白度的测定

用色差计测定热凝胶样品的  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$  值。白度值计算公式:  $W = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$ 。 $L^*$  表示明度,  $a^*$  和  $b^*$  表示色度。 $a^*$  正值表示偏红, 负值表示偏绿;  $b^*$  正值表示偏黄, 负值表示偏蓝。每组样品 10 个平行样,取平均值进行计算。

### 1.3.4.4 质构的测定

4 ℃ 冷藏的样品于室温下孵育 1 h,将样品切成直径 30 mm,高 25 mm 的圆柱体,置于质构仪载物板上,选用直径为 5 mm 圆柱形探头,测定模式为质构分析模式,测试速率为恒定的 1 mm/s,探头下压 2 次。使用 Texture Expert Exceed version 1.22 程序进行数据的采集与分析,获得硬度、弹性、内聚性、粘着性和咀嚼性等质构参数。

### 1.3.4.5 感官评价

参照李德宝<sup>[17]</sup>的评价标准制定带鱼肌肉蛋白凝胶的感官评价标准,如表 1。将样品切成 5 mm 厚的薄片,请接受过培训的食品专业人士 7 人,根据表 1 的感官评定标准进行评定。每项都以 10 分计,每一项的权重为色泽 0.3、质地 0.15、组织状态 0.3、滋味 0.25。评分越高,效果越好。以 7 位评定员的平均分为各指标的评分。其总分的计算公式为:总评分 =  $\sum X_i Y_i$  (i=1, 2, 3... n) (其中 X 为评定指标, Y 为评定权重)。

表 1 感官评价标准

Table 1 Sensory evaluation standards

| 评价项目 | 评价标准                          |                                   |  |   |
|------|-------------------------------|-----------------------------------|--|---|
|      | 极好(9~10)                      | 较好(6~8)                           | 一般(3~5)                                | 不合格(0~2)                                |
| 色泽   | 白皙均匀,光泽莹润                     | 较白,自然光泽                           | 颜色略深,无明显光泽                             | 颜色偏黄,暗淡                                 |
| 质地   | 切片表面光滑洁净,气孔小且分布均匀指压无出水现象且立即复原 | 切片表面较为光滑,指压出水甚微压痕复原缓慢,密实成型较好,孔径均一 | 切片表面略为粗糙,指压有出水现象压痕不易复原,成型性较差,有少量不均匀小气孔 | 切片表面很粗糙,且可见有水分析出,指压出水现象严重易断裂,成浆状,松软无密实感 |
| 口感   | 软硬适中,富有弹性,咀嚼性非常好,无颗粒感         | 弹性较好,有一定的咀嚼性,稍有颗粒感                | 弹性较差,咀嚼性较差,有颗粒感                        | 非常软,不耐咀嚼,无弹性,有明显的颗粒感                    |
| 滋味   | 有带鱼特有的鲜香味,且余香长久浓郁             | 稍有带鱼的鲜香味,可口                       | 几乎无带鱼肉鲜香味                              | 无鱼肉鲜味,有异味                               |

### 1.3.4.6 肌原纤维蛋白的提取

按照 Lefever 等<sup>[18]</sup>的方法提取带鱼肉糜中的肌原纤维蛋白。准确称取带鱼肉糜 5 g,按质量体积比 1:10 与缓冲液 A (20 mmol/L 磷酸盐缓冲液,含有 100

mmol/L NaCl, 1 mmol/L EDTA, pH 7.0) 混合均匀,匀浆 (15000 r/min, 60 s),离心 (2 ℃, 5000 r/min, 10 min),取沉淀。再加入 5 倍体积缓冲液 A,相同条件下离心取沉淀,重复以上操作两次,最终得到肌原纤

维蛋白。

### 1.3.4.7 SDS-PAGE 凝胶电泳

取 2 g 提取到的肌原纤维蛋白, 按照梯度 0, 1%, 3%, 5%, 8% 添加胡柚皮粉, 经加热处理后, 4 °C 冷藏 12 h。将冷藏的样品取出室温放置回温 1 h, 采用还原和非还原两种方法处理样品。称取样品 0.3 g, 溶解于 15 mL 脲缓冲液(内含 20 mM Tris, 8 M 脲, 2% SDS 和 2% β-巯基乙醇, pH=8)中, 匀浆(10000 r/min, 5 min), 然后煮沸 2 min, 室温下摇荡 12 h, 调整蛋白浓度为 4 mg/mL。根据 Laemmli<sup>[19]</sup>的方法, 分离胶浓度为 10%, 浓缩胶浓度为 5%, 蛋白质标准品与待测样品上样量均为 20 μL, 进行垂直板恒流电泳, 考马斯亮蓝染色, 脱色保存。

## 1.4 数据处理

所有实验至少重复 3 次, 使用 Excel 2010、SPSS V13.0 以及 Matlab 7.0 进行数据处理和显示显著性分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 胡柚皮粉组成成分

经测定, 胡柚皮中总酚的含量为 32.14±2.11 mg/g, 果胶的含量为 114.73±4.58 mg/g, 粗纤维的含量为 86.46±4.96 mg/g。另外, 胡柚皮中还含有类胡萝卜素和精油等。

### 2.2 凝胶强度

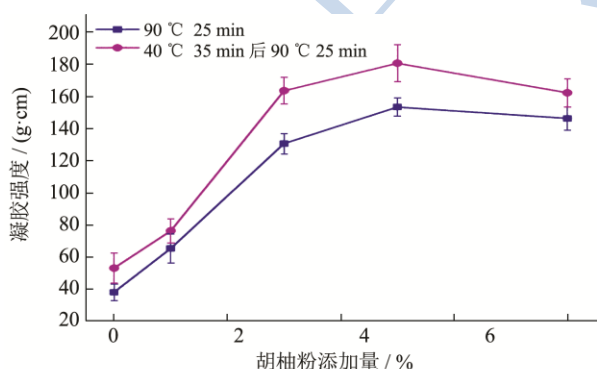


图 1 胡柚皮粉对带鱼肌原纤维蛋白凝胶强度的影响

Fig.1 Effect of *citrus changshan-huyou* powder on the strength of gels from hairtail myofibrillar protein

从图 1 可以看出, 与直接 90 °C 加热相比, 样品经 40 °C 预热后再 90 °C 加热处理, 其凝胶强度明显增加。这主要是由于内源性谷氨酰胺转氨酶(TGase)在 40 °C 预热的过程中活性较高, 可以催化肌原纤维蛋白分子内和分子间通过非共价二硫键发生交联, 形成致密的

三维网络结构, 从而使 40 °C 预热的样品获得更高的凝胶强度<sup>[20-21]</sup>。与空白样品相比, 添加胡柚皮粉后样品的凝胶强度明显增加, 且随着添加量的增加呈显著增加的趋势, 在添加量 5% 时凝胶强度达到最大值。这一变化趋势在经过预热的样品中更加明显。这可能是由于酚类化合物可以与蛋白质侧链上的氨基酸发生共价结合, 蛋白质之间以酚类化合物作为桥梁形成交联, 且这种交联作用比较稳定, 从而添加胡柚皮粉后形成的蛋白凝胶具有更高的凝胶强度<sup>[8]</sup>。Ou 等人研究报道阿魏酸及其氧化物可以与蛋白质侧链的酪氨酸, 赖氨酸, 半胱氨酸反应并使蛋白质分子间分子内发生交联, 作为一种交联剂应用于食品加工, 可以改善蛋白质凝胶或者蛋白质膜的特性<sup>[9]</sup>。当胡柚皮粉的添加量达到 8% 时, 样品的凝胶强度出现下降趋势, 这可能是由于胡柚皮粉的添加量过高时, 胡柚皮粉中含量较高的果胶和粗纤维不能与带鱼的肌原纤维蛋白相互作用, 反而使蛋白质的浓度相对降低, 减少了多酚类物质与蛋白质作用的位点造成的。

### 2.3 白度值

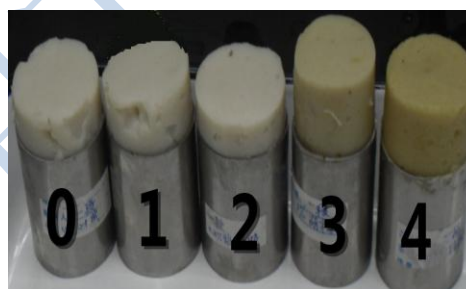


图 2 胡柚皮粉对带鱼肌原纤维蛋白凝胶白度的影响

Fig.2 Effect of *citrus changshan-huyou* powder on the whiteness of gels from hairtail myofibrillar protein

注: 0: 空白; 1: 含 1% 胡柚皮粉; 2: 含 3% 胡柚皮粉; 3: 含 5% 胡柚皮粉; 4: 含 8% 胡柚皮粉。

从表 2 的结果可知, 不同的加热方式下, a\*、b\* 的值都随着胡柚皮粉添加量的增加而显著增大, 同时, L\* 随着添加量的增加而显著减小, 说明凝胶样品的色泽随着胡柚皮粉的添加变得偏黄。从白度值可以看出, 添加胡柚皮粉后, 白度值明显下降。在直接 90 °C 加热的样品中, 当胡柚皮粉的添加量在 8% 时, 样品的白度值只有 59.79, 而经预热后又 90 °C 加热的样品白度值为 58.67。一方面, 胡柚皮粉本身呈黄色, 与带鱼肌原纤维蛋白混合后, 随着胡柚皮粉添加量的增加, 蛋白的色泽也会变得越来越偏黄; 另一方面, 经 40 °C 预热的样品, 与直接 90 °C 加热的样品相比, 其加热时间更长, 更易发生褐变使样品色泽变暗。从图 2 可以直观的看出, 当胡柚皮粉的添加量在 5%~8% 时, 凝

胶样品的色泽发生明显的变黄变暗现象。而胡柚皮粉的添加量低于 5% 时, 与空白相比, 色泽相差不明显。

## 2.4 持水性

从表 2 的结果可以看出, 与空白样品相比, 添加胡柚皮粉后, 样品的持水力显著增加, 且随着添加量的增加而呈现逐渐增加的趋势。蛋白质的分子间和分子内发生交联形成致密的三维网络结构, 可以包含大量的水分<sup>[22]</sup>。胡柚皮粉中富含的多酚类物质可以与蛋白质侧链氨基酸发生交联或作为桥梁连接不同的蛋白

质分子<sup>[8-9]</sup>, 从而使得带鱼的肌原纤维蛋白凝胶结构变得更加致密, 持水力更强。与 90 °C 直接加热的样品相比, 经 40 °C 预热的样品持水力更强。这可能是由于内源性 TGase 催化肌原纤维蛋白交联形成了更加致密的凝胶结构, 从而锁持更多水分<sup>[23]</sup>。两种不同的加热方式下, 凝胶样品都在胡柚皮粉添加量 8% 时得到最大持水力, 前者为 93.79, 后者为 94.71。

## 2.5 质构特性

表 2 胡柚皮粉对带鱼肌原纤维蛋白凝胶色泽和持水性的影响

Table 2 Effect of citrus changshan-huyou powder on the color and water holding capacity of gels from hairtail myofibrillar protein

| 加热方式                           | 胡柚皮粉/% | L*                       | a*                      | b*                      | whiteness               | 持水力/%                   |
|--------------------------------|--------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 40 °C 35 min                   | 0      | 71.69±0.23 <sup>a</sup>  | 2.95±0.35 <sup>a</sup>  | 13.26±0.29 <sup>a</sup> | 68.60±0.51 <sup>a</sup> | 85.94±1.27 <sup>a</sup> |
|                                | 1      | 71.21±0.37 <sup>a</sup>  | 3.99±0.63 <sup>b</sup>  | 14.33±0.45 <sup>b</sup> | 67.59±0.37 <sup>b</sup> | 90.19±0.84 <sup>b</sup> |
|                                | 3      | 70.54±0.21 <sup>b</sup>  | 5.22±0.57 <sup>c</sup>  | 15.87±0.67 <sup>c</sup> | 66.13±0.49 <sup>c</sup> | 92.07±0.62 <sup>c</sup> |
|                                | 5      | 69.42±0.42 <sup>c</sup>  | 7.64±0.48 <sup>d</sup>  | 16.94±0.31 <sup>d</sup> | 64.22±0.62 <sup>d</sup> | 92.54±0.58 <sup>c</sup> |
|                                | 8      | 66.14±0.57 <sup>d</sup>  | 9.86±0.61 <sup>e</sup>  | 19.31±0.55 <sup>e</sup> | 59.79±1.19 <sup>e</sup> | 93.79±0.61 <sup>d</sup> |
| 40 °C 35 min 后<br>90 °C 25 min | 0      | 71.78±0.36 <sup>a</sup>  | 3.25±0.52 <sup>a</sup>  | 13.87±0.34 <sup>a</sup> | 68.39±0.47 <sup>a</sup> | 89.62±1.33 <sup>a</sup> |
|                                | 1      | 70.89±0.38 <sup>b</sup>  | 5.36±0.78 <sup>b</sup>  | 14.41±0.61 <sup>a</sup> | 67.08±0.52 <sup>a</sup> | 91.59±0.75 <sup>b</sup> |
|                                | 3      | 70.12±0.46 <sup>bc</sup> | 7.84±0.66 <sup>c</sup>  | 16.35±0.37 <sup>b</sup> | 65.05±0.83 <sup>b</sup> | 93.25±0.58 <sup>c</sup> |
|                                | 5      | 69.57±0.24 <sup>c</sup>  | 9.61±0.49 <sup>d</sup>  | 17.63±0.77 <sup>c</sup> | 63.54±0.76 <sup>c</sup> | 94.71±0.79 <sup>d</sup> |
|                                | 8      | 65.84±0.97 <sup>d</sup>  | 11.42±0.58 <sup>e</sup> | 20.27±0.84 <sup>d</sup> | 58.67±1.24 <sup>d</sup> | 95.3±0.42 <sup>d</sup>  |

注: 表中的数据为平均值±标准差, 字母表示差异的显著性(p<0.05)。

表 3 胡柚皮粉对带鱼肌原纤维蛋白凝胶质构特性的影响

Table 3 Effect of citrus changshan-huyou powder on the textural properties of hairtail myofibrillar protein

| 胡柚皮粉/% | 硬度/g                     | 弹性                      | 内聚性                     | 胶着性/g                     | 咀嚼性/g                    |
|--------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|
| 0      | 192.36±9.67 <sup>a</sup> | 0.33±0.16 <sup>a</sup>  | 0.41±0.11 <sup>a</sup>  | 55.98±5.97 <sup>a</sup>   | 43.24±5.54 <sup>a</sup>  |
| 1      | 239.58±8.64 <sup>b</sup> | 0.48±0.11 <sup>ab</sup> | 0.56±0.06 <sup>ab</sup> | 120.64±12.36 <sup>b</sup> | 87.51±8.47 <sup>b</sup>  |
| 3      | 307.45±6.37 <sup>c</sup> | 0.75±0.12 <sup>bc</sup> | 0.69±0.04 <sup>b</sup>  | 227.69±20.25 <sup>c</sup> | 162.37±6.93 <sup>c</sup> |
| 5      | 396.51±5.59 <sup>d</sup> | 0.81±0.09 <sup>c</sup>  | 0.76±0.01 <sup>c</sup>  | 278.45±11.34 <sup>d</sup> | 189.65±5.78 <sup>d</sup> |
| 8      | 465.88±8.46 <sup>e</sup> | 0.77±0.05 <sup>c</sup>  | 0.73±0.03 <sup>c</sup>  | 301.62±9.67 <sup>e</sup>  | 185.62±9.48 <sup>d</sup> |

注: 表中的数据为平均值±标准差, 字母表示差异显著性(P<0.05), 加热方式: 40 °C 35 min后90 °C 25 min。

由表 3 可以看出, 硬度和胶着性随着胡柚皮粉添加量的增加而逐渐增加, 且变化趋势明显。而弹性和内聚性随胡柚皮粉添加量增加而增加的趋势的相对缓慢, 在胡柚皮粉添加量 5% 时达到最大值, 而当柚粉添加量增大到 8% 时, 弹性和内聚性的大小未再发生明显的变化。咀嚼性随胡柚皮粉添加量的增加而明显增加, 在胡柚皮粉添加量 5% 时取得最大值, 胡柚皮粉添加量继续增加, 咀嚼性的大小变化不大。

## 2.6 感官评价

从图 3 结果可以看出, 随着胡柚皮粉添加量的增加, 口感和质地的得分越来越高, 添加量 5% 时得到

最优评分, 分别为 7 分和 8 分。而色泽和滋味则随着胡柚皮粉添加量的增加逐渐减低, 添加量 8% 时得到最差评分, 分别为 3 分和 4 分。色泽的感官评价结果与表 2 和图 2 显示的结果相一致, 主要是由于胡柚皮粉本身的黄色影响了带鱼肌原纤维蛋白本身的色泽, 使得凝胶样品发黄变暗。另外, 胡柚皮粉味苦, 与肌原纤维蛋白混合制成凝胶后影响鱼肉本身的香味, 所以, 添加胡柚皮粉后, 滋味评价不良。综合色泽、质地、口感、滋味四大因素, 感官评价得分最高的是胡柚皮粉水平在 3% 的凝胶样品。这一结果与测定的含 3% 胡柚皮粉的凝胶样品的凝胶强度(图 1), 白度(图 2), 持水性(表 2)等指标结果相符。

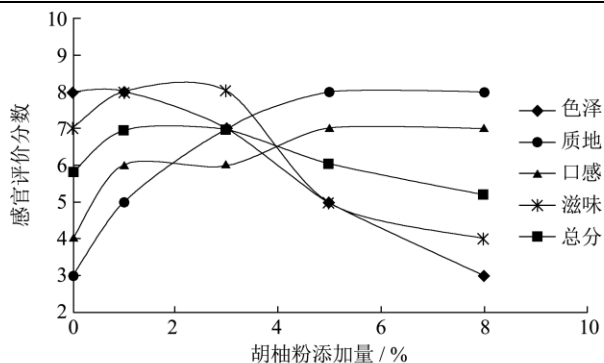


图3 胡柚皮粉对带鱼肌原纤维蛋白凝胶感官评价得分的影响

Fig.3 Effect of *citrus changshan-huyou* powder on the sensory evaluation scores of gels from hairtail myofibrillar protein

### 2.7 带鱼肌原纤维蛋白凝胶的 SDS-PAGE 电泳图谱

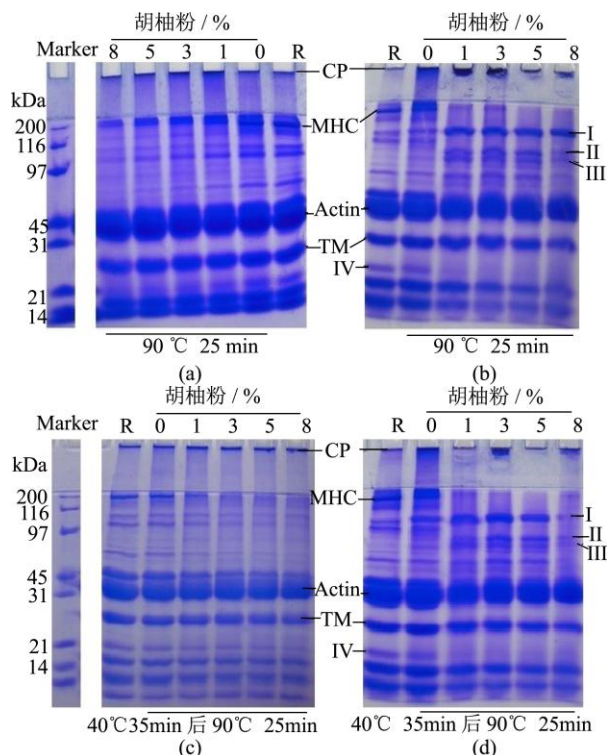


图4 胡柚皮粉对带鱼肌原纤维蛋白凝胶 SDS-PAGE 电泳图谱的影响

Fig.4 Effect of *citrus changshan-huyou* powder on the SDS-PAGE profile of gels from hairtail myofibrillar protein

注: R: 未经加热处理的肌原纤维蛋白; CP: 交联蛋白; MHC: 肌球蛋白重链; Actin: 肌动蛋白; TM: 原肌球蛋白; I,II,III,IV: 不同的蛋白质条带; (a)、(c):经还原处理的样品; (b)、(d):非还原处理的样品。

在还原处理的带鱼肌原纤维蛋白凝胶样品中,如图4(a)、(c),随着胡柚皮粉添加量的逐渐增加,MHC条带逐渐减弱,而CP条带强度明显增加。这说明胡

柚皮粉能够促进肌球蛋白重链间发生交联,形成分子量更高的蛋白质,且胡柚皮粉添加量越大,这种促进作用越明显。这可能是胡柚皮粉中所含的多酚类物质与带鱼肌原纤维蛋白质之间相互作用的结果。Prodpran 等人<sup>[8]</sup>报道酚类化合物可以与蛋白质侧链上的氨基酸发生共价结合,蛋白质之间以酚类化合物作为桥梁形成交联,且这种交联作用比较稳定,蛋白质经还原处理后二硫键会被还原打开生成二硫键,但是通过酚类化合物形成的共价键不会变化。而胡柚皮粉中所含的果胶和粗纤维不具有酚类化合物的活性基团,很难与蛋白质分子形成这种稳定的共价键。在非还原处理的凝胶样品中,如图4(b)、(d),与未添加胡柚皮粉的空白样品相比较,添加胡柚皮粉后,MHC条带明显减弱,CP条带明显增强。特别是当胡柚皮粉的添加量为1%和3%时,在上样孔处可见明显的条带。与还原处理样品的结果一致,这主要是由胡柚皮粉所含的多酚类物质促进了肌球蛋白重链的交联引起的。但是与还原处理的凝胶样品相比,添加相同水平的胡柚皮粉,在非还原处理的凝胶样品中MHC的保留更少。这说明部分MHC条带的交联是通过二硫键作用形成的。另外,在非还原处理的样品中,添加胡柚皮粉后,可见条带I、II、III明显增强,而条带IV明显减弱。这可能是由于胡柚皮粉中的多酚类物质可以通过氢键等较弱的化学结合力与蛋白质相互作用,使得小分子的蛋白质之间相互结合形成分子量更高的蛋白质。综合以上结果说明胡柚皮粉中所含的多酚类化合物可以通过氢键等较弱的化学结合力以及共价键等较强的化学结合力与带鱼的肌原纤维蛋白相互作用,形成更加致密的三维网络凝胶结构,使得凝胶的强度(图1),弹性(表3),持水力(表2)等指标得到改善。

### 3 结论

正如 SDS-PAGE 电泳图谱所显示的结果,胡柚皮粉中所含的多酚类化合物可以通过氢键等较弱的化学结合力以及共价键等较强的化学结合力与带鱼的肌原纤维蛋白相互作用,使肌原纤维蛋白分子内分子间形成更加致密的三维网络凝胶结构。从而添加胡柚皮粉后,带鱼肌原纤维蛋白凝胶的强度,持水力,硬度,弹性,咀嚼性,内聚性等质构特性都显著增加。但当胡柚皮粉的添加量过高时,这种增强作用变得不明显或出现减弱的趋势,这可能与过高的添加量对肌原纤维蛋白质的稀释作用有关。另外,胡柚皮粉本身的黄色给凝胶样品的白度值带来了不良影响,而且由于胡柚皮粉味苦,与带鱼肌原纤维蛋白混合制成凝胶后,会影响凝胶的滋味。因此,将胡柚皮粉应用于改善带

鱼肌原纤维蛋白的凝胶特性仍有一定的局限性, 需要进一步的改良和优化。

### 参考文献

- [1] T C Lanier, P Carvajal, J Yongsawatdigul. Surimi seafood: Surimi gelation chemistry. J.W. Park (Ed.), Surimi and surimi seafood (2nd ed.), CRC Press, Boca Raton, FL (2005), pp. 435-489
- [2] Yasui T, Ishioroshi M, Samejima K. Effect of actomyosin on heat induced gelation of myosin [J]. Agri. Biol. Chem., 1982, 46: 1049-1059
- [3] Liu J, Wang X, Ding Y. Optimization of adding konjac glucomannan to improve gel properties of low-quality surimi [J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 92(1): 484-489
- [4] Ali J. A comparative study on effect of egg white, soy protein isolate and potato starch on functional properties of common carp (*Cyprinus carpio*) surimi gel [J]. Journal of Food Processing & Technology, 2012
- [5] Shi L, Wang X, Chang T, et al. Effects of vegetable oils on gel properties of surimi gels [J]. LWT-Food Science and Technology, 2014, 57(2): 586-593
- [6] Cao N, Fu Y, He J. Mechanical properties of gelatin films cross-linked, respectively, by ferulic acid and tannin acid [J]. Food Hydrocolloids, 2007, 21(4): 575-584
- [7] Chanarat S, Benjakul S. Impact of microbial transglutaminase on gelling properties of Indian mackerel fish protein isolates [J]. Food Chemistry, 2013, 136(2): 929-937
- [8] Prodpran T, Benjakul S, Phatcharat S. Effect of phenolic compounds on protein cross-linking and properties of film from fish myofibrillar protein [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2012, 51(5): 774-782
- [9] Ou S, Kwok K C. Ferulic acid: pharmaceutical functions, preparation and applications in foods [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2004, 84(11): 1261-1269
- [10] Spanos G A, Wrolstad R E. Phenolics of apple, pear, and white grape juices and their changes with processing and storage. A review [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1992, 40(9): 1478-1487
- [11] Trugo L C, Macrae R. Chlorogenic acid composition of instant coffees [J]. Analyst, 1984, 109(3): 263-266
- [12] Cao N, Fu Y, He J. Mechanical properties of gelatin films cross-linked, respectively, by ferulic acid and tannin acid [J]. Food Hydrocolloids, 2007, 21(4): 575-584
- [13] 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
- [14] 徐贵华,叶兴乾,徐国能,等.微波处理对胡柚皮酚酸,黄酮糖苷含量及抗氧化性的影响[J].中国食品学报,2007, 7(5): 69-74
- XU Gui-hua, YE Xing-qian, XU Guo-neng, et al. Effect of microwave treatment on the phenolic acids and flavanone glycosides contents and antioxidant capacity in huyou peels [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2007, 7(5): 69-74
- [15] Strauss G, Gibson S M. Plant phenolics as cross-linkers of gelatin gels and gelatin-based coacervates for use as food ingredients [J]. Food Hydrocolloids, 2004, 18(1): 81-89
- [16] Singleton V L, Orthofer R, Lamuela-Raventos R M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent [J]. Methods in Enzymology, 1999, 299: 152-178
- [17] 李德宝,肖宏艳,曾庆孝.冻结速率对罗非鱼鱼肠品质的影响[J].食品工业科技,2010,31(5):17-20
- LI De-bao, XIAO Hong-yan, ZENG Qing-xiao. Effect of different freezing rates on the gel properties of tilapia (*Sarotherodon nilotica*) sausage [J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 31(5): 17-20
- [18] Lefevre F, Fauconneau B, Thompson J W, et al. Thermal denaturation and aggregation properties of Atlantic salmon myofibrils and myosin from white and red muscles [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(12): 4761-4770
- [19] Laemmli U K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 [J]. Nature, 1970, 227: 680-684
- [20] Lanier T C, Yongsawatdigul J, Carvajal-Rondanelli P. Surimi Gelation Chemistry 4 [J]. Surimi and Surimi Seafood, 2013: 101
- [21] Yin T, Reed Z H, Park J W. Gelling properties of surimi as affected by the particle size of fish bone [J]. LWT-Food Science and Technology, 2014, 58(2): 412-416
- [22] Chanarat S, Benjakul S. Effect of formaldehyde on protein cross-linking and gel forming ability of surimi from lizardfish induced by microbial transglutaminase [J]. Food Hydrocolloids, 2013, 30(2): 704-711
- [23] Chanarat S, Benjakul S. Comparative study on protein cross-linking and gel enhancing effect of microbial transglutaminase on surimi from different fish [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2012, 92(4): 844-852

现代食品科技