

多糖对罗非鱼鱼糜凝胶化行为的影响

姜鹏飞, 于文静, 朱凯悦, 李双, 董秀萍, 温成荣, 鲍志杰, 孙娜*

(国家海洋食品工程技术研究中心 大连工业大学食品学院 辽宁大连 116034)

摘要 为了改善未漂洗鱼糜凝胶强度差、易劣化等问题,分析不同添加量的卡拉胶、魔芋胶和壳聚糖 3 种离子型多糖对罗非鱼未漂洗鱼糜凝胶的物性学、低场核磁共振、流变学、显微成像等的影响。结果表明:在白度方面,与空白相比(47.81),添加不同多糖(卡拉胶、壳聚糖、魔芋胶)后白度最大值依次为 93.07,80.88,73.95,卡拉胶效果最佳,且 3 种多糖添加量均在 1%时白度值最大。与空白相比(88.18%),添加 1%卡拉胶后持水性最高(92.51%)。低场核磁共振中 T_{22} 弛豫峰峰面积结果显示,卡拉胶的不易流动水含量较高,表明其凝胶网络更致密、有序。在质构方面,与未加多糖的空白组相比,添加卡拉胶能够显著增加鱼糜硬度($P<0.05$),当添加量分别为 0.5%,1%,2%时,硬度分别增加了 155.44,1 168.21,2 252.2 g;咀嚼性依次增加了 93.53,700.99,1 108.22,且研究表明多糖添加量 $\geq 1\%$ 时,能显著提高鱼糜质构特性。在凝胶强度方面,卡拉胶的凝胶强度表现出较大的提升,并且与空白组样品(1 585.54 g·mm)的凝胶强度相比,添加量为 2%时鱼糜凝胶达到 3 765.35 g·mm。流变学特性表明:在恒温阶段,3 种多糖均可提高鱼糜凝胶的储能模量(G')。蛋白质二级结构表明添加卡拉胶和壳聚糖可以改变鱼糜蛋白的构象。通过伊红染色微观观察得出,随着多糖添加量的增加,多糖相呈现的区域越来越大,3 种多糖中添加卡拉胶的蛋白相区域鱼糜凝胶微观结构较致密。电泳图谱表明卡拉胶的添加并未引起条带颜色的变化,推测多糖在鱼糜凝胶中主要起填充作用。综上所述,添加卡拉胶更有利于促进罗非鱼鱼糜凝胶网络的形成,改善其凝胶品质。

关键词 罗非鱼; 鱼糜; 多糖; 凝胶特性

文章编号 1009-7848(2023)01-0087-13 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.01.009

罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 是一种淡水鱼,作为世界水产业重点培养的养殖鱼类,被誉为未来动物性蛋白质的主要来源之一。我国现已发展成为全球最大的罗非鱼生产国和出口国^[1]。据联合国粮农组织(FAO)统计,2019 年我国罗非鱼产量为 164.17 万 t^[2]。罗非鱼生长速度快、产量高、肌肉加工性能好,极具市场潜力,作为鱼糜生产的主要淡水鱼来源之一^[3]。目前,有文献报道未漂洗鱼糜存在凝胶强度差,凝胶易劣化等问题,国内外研究者已开展较多的研究工作,通过优化加工工艺(超高压、微波、超声辅助等)^[4-5]或添加外源物,如某些非肌肉蛋白质^[6]、淀粉、盐类^[7-8]和酶制剂^[9]等来改善鱼糜凝胶品质。

多糖是地球上极为丰富的天然生物高聚物,通常具有显著的流变学特性,如增稠性、稳定性和胶凝性。由于其具有无毒、广泛的可获得性和可再

生性等特点,因此作为食品品质改良剂,将其越来越多地应用于食品加工领域^[10-11]。研究显示,与单一蛋白质凝胶体系相比,多糖-蛋白质复合凝胶通常具有更优异的成胶性能和更稳定的凝胶结构^[12-13]。因此,多糖-蛋白质复合凝胶被广泛应用于鱼糜加工。然而,多糖种类繁多、结构性质各异,根据带电性的不同可分为阳离子多糖(壳聚糖)、阴离子多糖(如卡拉胶、结冷胶等)和中性多糖(如可得然胶、魔芋胶等)^[14]。不同离子型的多糖结构和性质不同,与蛋白质的复合成胶性能也存在差异,将导致最终产品品质的不同。本研究以罗非鱼为研究对象,分别加入不同添加量的卡拉胶、魔芋胶和壳聚糖 3 种离子型多糖,制备多糖-未漂洗罗非鱼鱼糜。利用物性学、流变学、低场核磁共振技术、显微成像技术等方法,探究 3 种多糖对未漂洗罗非鱼鱼糜凝胶的影响。

收稿日期: 2022-01-20

基金项目: 国家重点研发计划“蓝色粮仓科技创新”重点专项(2019YFD0902000); 辽宁省农业重大专项(2020JH1/10200001)

第一作者: 姜鹏飞,男,硕士,高级工程师

通信作者: 孙娜 E-mail: sunna1215@126.com

1 材料和方法

1.1 材料与试剂

冷冻罗非鱼片,海南翔泰渔业有限公司;卡拉胶、魔芋胶、壳聚糖,北京宝希迪有限公司。

1.2 仪器与设备

测色仪(UltraScan PRO),美国 HunterLab 公司;物性仪(TA.XT.plus),英国 SMS;核磁共振成像分析仪(MesoQMR23-060H),苏州纽迈电子科技有限公司;双目生物显微镜(WF10X),扬州精辉试验机械有限公司;流变仪(CP5000),常州德杜精密仪器有限公司;傅里叶变换红外光谱仪(FTIR-650S),天津港东科技股份有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 样品处理方法 冷冻罗非鱼片于 4℃的冷藏冰箱缓化 12 h,使用斩拌机将罗非鱼肉进行第 1 次斩拌,时间为 5 min,加入 3%的 NaCl,再进行第 2 次斩拌,时间为 5 min,以使鱼肉中的盐溶性蛋白充分溶出,添加不同的多糖后,最后再斩拌 5 min。整个试验过程温度需在 10℃环境中,将斩拌好的鱼糜灌入直径 26 mm、长度 50 mm 的胶原蛋白肠衣,用棉线封口。熟制采用两段加热法,分别是 40℃加热 30 min,90℃加热 20 min。加热完成后置于冰水中冷却至室温,4℃冰箱中放置过夜,以备后续试验。

1.3.2 白度的测定 将样品切成直径 2.5 mm、高 25 mm 的圆柱体。采用色差计测定样品的 L^* 、 a^* 和 b^* 值,每组样品平行测定 3 次,计算其白度值,按公式(1)计算:

$$\text{白度} = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}} \quad (1)$$

1.3.3 持水特性(Water holding capacity, WHC)测定 参照尚珊等^[15]的方法,将 5 g(W_0)的样品用滤纸包裹,使用离心机于 6 500×g、10℃下离心 10 min,离心后样品去除滤纸后称重,记 W_1 。每组样品测定 4 次,取平均值。按公式(2)计算:

$$\text{WHC} = [1 - (W_0 - W_1) / W_0] \times 100 \quad (2)$$

式中,WHC——持水率(%); W_0 ——样品的原始质量(g); W_1 ——样品离心后的质量(g)。

1.3.4 低场核磁共振技术(Low field nuclear magnetic resonance, LF-NMR)测定 将 4 g(直径 25 mm,高 10 mm)的样品放入 40 mm 的核磁管内,测定样品的自旋-自旋弛豫时间(T_2),参数设置为 $P_1=23 \mu\text{s}$, $P_2=44 \mu\text{s}$, $\text{SW}=100 \text{ kHz}$, $\text{Tw}=3 000$, $\text{NECH}=10 000$,利用核磁共振弛豫时间反演拟合软件得到 T_2 图像。

1.3.5 鱼糜凝胶的核磁共振成像(Magnetic reso-

nance imaging, MRI) 采用 T_2 加权成像,通过成像软件中的多层自旋回波(SE)序列来实现。 T_2 加权成像的重复时间 $\text{TR}=2 000 \text{ ms}$,回波时间 $\text{TE}=20 \text{ ms}$ 。

1.3.6 质地剖面分析 参考 Jiao 等^[16]方法稍作修改,样品大小为直径 25 mm、高 10 mm,探头选取 P50,参数设置为:测前速率为 1 mm/s,测试速率为 1 mm/s,测后速率为 1 mm/s,下压比例为 50%,触发力为 5 g,2 次压缩间隔时间为 5 s,每个样品测 6 次,取平均值。

1.3.7 凝胶强度测定 凝胶强度测试选取 P/5s 球形探头,参数设置为:测前速率为 1 mm/s,测试速率为 1 mm/s,测后速率为 1 mm/s,下压比例为 50%,触发力为 5 g,每个样品测 6 次,取平均值。

1.3.8 流变特性测定 参照黄颖等^[17]的方法,采用鱼糜糊进行测定,测试条件为变温扫描:振荡频率 1 Hz,在 1%应变下,温度从 25℃升温到 40℃,40℃保持 30 min,温度从 40℃升温到 90℃,90℃保持 20 min,升温速率为 1℃/min,测定频率扫描过程中储能模量(G')和耗能模量(G'')的变化。

1.3.9 傅里叶红外光谱(Fourier infrared spectroscopy, FTIR)分析 根据 Oujifard 等^[18]的方法,先将样品冷冻干燥,然后将其研磨至粉末,取粉末与无水氯化钾按照质量比 1:100 充分研磨混匀,再于压片机下压成透明薄片,最后使用 FTIR 进行样品扫描并采集图谱,采集完成后使用软件 OMNIC 8.2.0.387 对图谱进行分析。

1.3.10 切片染色观察 参照梁峰^[19]的方法稍作修改,将鱼糜凝胶修整为 $\pi 25 \text{ mm}^2 \times 10 \text{ mm}$ 的圆柱,放入一次性塑料包埋框中并固定,将其经过质量分数 80%,95%,100%的乙醇进行梯度脱水,再分别用二甲苯/无水乙醇混合液和二甲苯进行透明。在烘箱中倒入预熔的石蜡,进行浸蜡操作,待其冷却后将蜡块修整,然后使用切片机制片,切成厚约 7 μm 的蜡带,随后进行脱蜡,洗脱,采用苏木素-伊红(HE)溶液染色 90 s,随后在显微镜下观察拍照。

1.3.11 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoreses, SDS-PAGE)测定 称取样品 2 g,加入 18 mL 的 5%SDS 溶液,在 10 000 r/min 的匀浆机

下均质 1 min,放入 85 °C 水浴锅保温 1 h。样品冷却后用离心机在 4 °C, 6 100×g 条件下离心 15 min,取上清液。电泳条件为:分离胶浓度 15%,浓缩胶 4%。上样量为 10 μL,时间 1.5 h。电极缓冲液:Tris 3.0 g,甘氨酸 14.4 g,SDS 1.0 g,加去离子水定容到 1 000 mL。

1.3.11 统计分析 采用 Origin 9.0 软件作图、SPSS 25.0 对数据进行统计分析, $P < 0.05$ 表示差异显著。

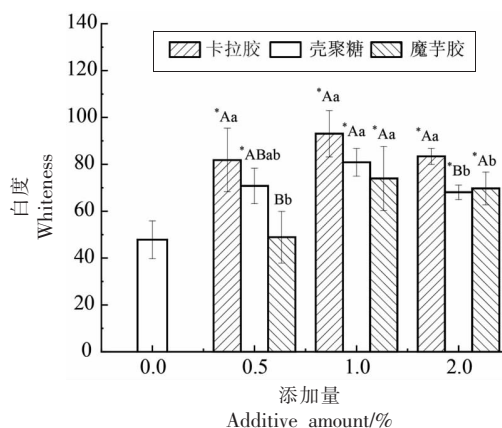
2 结果与分析

2.1 3 种多糖对罗非鱼鱼糜凝胶白度的影响

随着多糖添加量的提升,罗非鱼鱼糜凝胶的白度均呈先增加后降低趋势,在添加量为 1% 时白度最大。与空白组样品相比,当添加不同量的卡拉胶和壳聚糖时,白度值均显著增加,可能是由于多糖极易填充到鱼糜凝胶缝隙中,使得光线在通过凝胶结构时发生折射,进而影响罗非鱼鱼糜凝胶白度^[20]。而添加魔芋胶后,与空白样品相比,在添加量为 0.5% 时变化不显著($P > 0.05$),继续增大添加量,在 1% 时白度最大,而在添加量为 2% 与 1% 时差异不显著($P > 0.05$),对鱼糜凝胶白度的影响较小,这可能是因为魔芋胶本身颜色较浅,对鱼糜凝胶白度影响不大。在添加量相同的组间,卡拉胶的白度均大于其它 2 种多糖,这可能是因为加入卡拉胶之后凝胶强度较好,从而形成的网络结构较致密,导致光的散射增大,因此白度较大^[21]。上述结果表明,添加卡拉胶后对改善罗非鱼鱼糜凝胶色泽的效果最好。

2.2 3 种多糖对罗非鱼鱼糜凝胶持水性的影响

如图 2 所示,添加不同多糖的罗非鱼鱼糜凝胶持水性趋势各有不同。与空白组相比,添加 0.5%~2.0% 卡拉胶的鱼糜凝胶持水性均显著升高($P < 0.05$),而且随着添加量的增加,鱼糜凝胶持水性呈先增加后降低的趋势,在添加量为 1% 时,呈现最大的持水性。卡拉胶是亲水胶体,分子结构中存在许多亲水基团,这些基团可以与水结合聚集到凝胶网络结构中,鱼糜凝胶网络结构对水分的保持与鱼糜凝胶的强度呈正相关^[22]。对于添加魔芋胶的鱼糜凝胶来说,随着魔芋胶添加量的增加,鱼糜凝胶持水性的增加速率呈先较平缓而后



注:不同的大写字母表示同一种多糖中不同添加量之间差异显著,小写字母不同表示同一添加量下不同多糖之间差异显著;*表示与空白组差异显著,下同。

图 1 不同添加量下 3 种多糖罗非鱼鱼糜凝胶的白度值
Fig.1 The whiteness value of three kinds of polysaccharide tilapia surimi gel under different supplemental levels

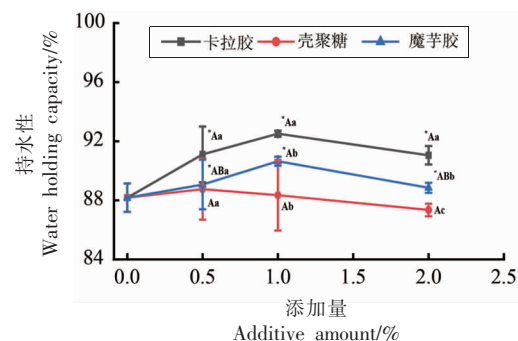


图 2 不同添加量 3 种多糖罗非鱼鱼糜凝胶的持水性
Fig.2 Water holding capacity of tilapia surimi gel with different polysaccharide contents

变大的趋势,且在添加量为 1% 时持水性达到最高;这与 Jian 等^[3]研究结果较为一致,其研究发现当魔芋胶添加量超过 1.5% 后,鱼糜凝胶的保水性增加不显著。添加壳聚糖后,鱼糜凝胶持水性与空白组差异不显著($P > 0.05$)。由此可见,添加卡拉胶后,罗非鱼鱼糜凝胶持水性最高,其次是魔芋胶,最低的是壳聚糖。

2.3 3 种多糖对罗非鱼鱼糜凝胶水分分布及组成的影响

LF-NMR 能够反映热诱导鱼糜凝胶水分内部的流动性^[23]。由图 3 观察可知,添加 3 种多糖的罗非鱼鱼糜凝胶在 T_2 弛豫时间分布均出现了 3 个峰, T_{21} 、 T_{22} 和 T_{23} ,分别对应着结合水、不易流动水

和自由水。 T_{21} (0.1~1 ms)代表能与大分子表面极性基团相结合的单层水, T_{22} (10~300 ms)代表束缚在凝胶网络中的水, T_{23} (300~1 000 ms)代表存在于鱼糜凝胶网络结构以外的可以任意流动的自由水^[24]。3种多糖的 P_{21} 、 P_{22} 和 P_{23} 的峰面积比例如表1所示。

凝胶持水性结果显示,添加卡拉胶与魔芋胶均可提高鱼糜凝胶的持水性,而添加壳聚糖后鱼糜凝胶持水性不存在明显差异,因此为了避免使用离心法对鱼糜凝胶持水性测定所造成的误差,通过核磁共振技术来预测鱼糜凝胶保水性,测定

其 T_2 值,观察其水分分布及组成^[25]。结果表明:数据中显示 P_{21} 弛豫峰的峰面积不存在显著性差异,并且所占的比例几乎可以忽略,因此对鱼糜凝胶持水性影响较小。而影响最大的是 P_{22} 弛豫峰峰面积,从表中可以看出卡拉胶的不易流动水含量较高,表明其凝胶网络更致密、有序,其次是魔芋胶,而壳聚糖的不易流动水含量较低,自由水含量较高,可能是由于不易流动水转化成了自由水。鱼糜凝胶水分分布和组成分析结果表明,卡拉胶可以有效改善凝胶品质。

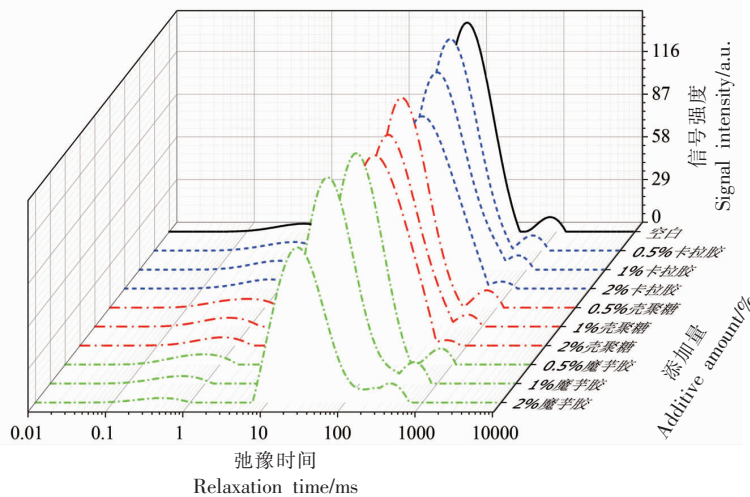


图3 不同添加量3种多糖罗非鱼鱼糜凝胶的水分分布

Fig.3 Water distribution of surimi gels of three kinds of polysaccharides in tilapia with different supplemental levels

表1 卡拉胶对罗非鱼鱼糜凝胶峰面积比例的影响

Table 1 Effect of κ -carrageenan on the proportion of gel peak area of tilapia surimi

添加量/%	峰面积比例/%		
	P_{21}	P_{22}	P_{23}
空白	3.54 ± 0.17^b	92.57 ± 0.15^c	3.89 ± 0.62^a
0.5%卡拉胶	3.18 ± 1.46^b	94.06 ± 1.74^a	2.77 ± 0.28^{ab}
1%卡拉胶	4.1 ± 0.46^a	93.6 ± 0.45^b	2.30 ± 0.07^b
2%卡拉胶	4.02 ± 0.73^a	95.02 ± 0.82^a	0.96 ± 0.24^c

注:小写字母不同表示同一列中不同组间数据差异显著($P < 0.05$),下同。

表2 壳聚糖对罗非鱼鱼糜凝胶峰面积比例的影响

Table 2 Effect of chitosan on the proportion of gel peak area of tilapia surimi

添加量/%	峰面积比例/%		
	P_{21}	P_{22}	P_{23}
空白	3.54 ± 0.17^b	92.57 ± 0.15^b	3.89 ± 0.62^a
0.5%壳聚糖	4.71 ± 0.37^a	92.1 ± 0.26^b	3.19 ± 0.24^b
1%壳聚糖	3.02 ± 0.16^b	93.07 ± 0.20^a	3.92 ± 0.13^a
2%壳聚糖	3.13 ± 0.10^b	93.45 ± 0.07^a	3.42 ± 0.03^b

表 3 魔芋胶对罗非鱼鱼糜凝胶峰面积比例的影响

Table 3 Effect of konjac gum on the proportion of gel peak area of tilapia surimi

添加量/%	峰面积比例/%		
	P_{21}	P_{22}	P_{23}
空白	3.54 ± 0.17^b	92.57 ± 0.15^b	3.89 ± 0.62^a
0.5%魔芋胶	3.53 ± 0.56^b	94.20 ± 0.64^a	2.27 ± 0.08^c
1%魔芋胶	$4.23 \pm 0.24_a$	93.54 ± 0.39^a	2.23 ± 0.16^c
2%魔芋胶	3.54 ± 0.37^b	93.74 ± 0.32^a	2.72 ± 0.06^b

2.4 3种多糖对罗非鱼鱼糜凝胶样品水质子密度(伪彩色图像)的影响

核磁共振成像是在强磁场中利用氢原子激发射频脉冲所产生的磁共振现象,通过空间编码技术对氢原子发出的射频信号相关的质子密度、弛豫时间等参数进行变换,最终由计算机生成图像的技术^[26]。图像中红色越深,表明质子密度越高^[27]。图4为罗非鱼鱼糜凝胶样品的MRI图像,通过观察其颜色分布,可以直观比较 T_2 的水分分布情况。从图中可以观察到空白组样品体积分布不均,鱼糜呈现的孔洞较大,水分保持较差。随着多糖添加量的增加,鱼糜凝胶中的红色部分面积逐渐缩小,表示氢质子的信号强度逐渐下降,其中壳聚糖的水分质子密度最低,并且体积在缩小,水分减少趋势是由外向内减少。而添加卡拉胶和魔芋胶的试验组鱼糜凝胶水分质子密度相对较高,这可能与鱼糜凝胶的含水量有关,一般来说,含水率与水分质子密度呈正比^[28],此MRI结果与上述的持水性结果一致。

2.5 3种多糖对罗非鱼鱼糜凝胶质构的影响

质构特性是评价鱼糜凝胶感官品质的重要参数,它可以间接反映出蛋白质基质的结构完整性以及与其它成分的结合状态^[29]。3种多糖的添加均影响了罗非鱼鱼糜凝胶的质构特性,而弹性特性无明显变化,见图5c。硬度及咀嚼性的变化如图5a、5b所示。与未添加多糖的空白组相比,添加卡拉胶能够显著增加鱼糜凝胶硬度($P<0.05$),当添加量为0.5%,1%,2%时,硬度分别增加了155.44,1168.21,2252.2g;咀嚼性依次增加了93.53,700.99,1108.22,说明不同添加量的卡拉胶均能显著提高鱼糜的硬度及咀嚼性。而添加壳聚糖与魔芋胶时,在添加量为0.5%时,并没有提高鱼糜的硬度及咀嚼性,在添加量为1%时,硬度及咀嚼

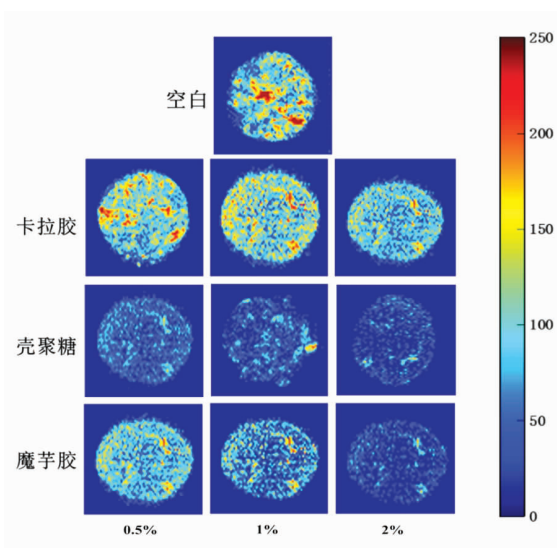


图4 不同添加量3种多糖罗非鱼鱼糜凝胶样品水质子密度
Fig.4 Sub-density of water quality of three kinds of polysaccharide surimi gel samples of tilapia

性分别增加了281.14,336.43g和172.86,333.14;添加量为2%时,分别增加了1006.46,617.45g和712.91,427.16。这表明多糖的加入使得鱼糜在发生相同形变时所产生的应力增大^[30],并保持鱼糜凝胶结构的紧密连接,口感得以改善,且多糖添加量 $\geq 1\%$ 能显著提高鱼糜凝胶质构特性。由数据可知,加入卡拉胶后,罗非鱼鱼糜凝胶硬度、咀嚼度的提升效果最佳。

2.6 3种多糖对罗非鱼鱼糜凝胶强度的影响

从图6a可以看出,添加3种多糖后,罗非鱼鱼糜凝胶的破断力出现显著变化,均随着添加量的增加逐渐增加,尤其是添加卡拉胶后,其破断力显著增强。与空白组相比,添加卡拉胶的鱼糜凝胶破断力显著高于其它2种多糖($P<0.05$),在2%时达到最大值(490.60g),其次是壳聚糖(409.27g),最低为魔芋胶(268.51g)。不同多糖对鱼糜凝胶破

断距离的影响略有不同,见图 6b,不同添加量下的卡拉胶和壳聚糖的破断距离均高于空白组样品,而魔芋胶组随着添加量的增加,破断距离呈不断下降趋势。Zhang 等^[31]研究结果表明当多糖浓度较高时,可能会发生热力学不相容的现象,会与鱼糜凝胶中的蛋白出现相分离,分为多糖相和蛋白

相,最终导致鱼糜凝胶破断距离下降。凝胶强度是破断力和破断距离的乘积,是评价鱼糜制品凝胶特性的重要指标^[32]。图 6c 显示了 3 种多糖对鱼糜凝胶强度的影响。与未添加多糖的空白组样品比较,卡拉胶和壳聚糖的凝胶强度都有显著的提高 ($P<0.05$)。不同添加量的魔芋胶并未引起凝胶强

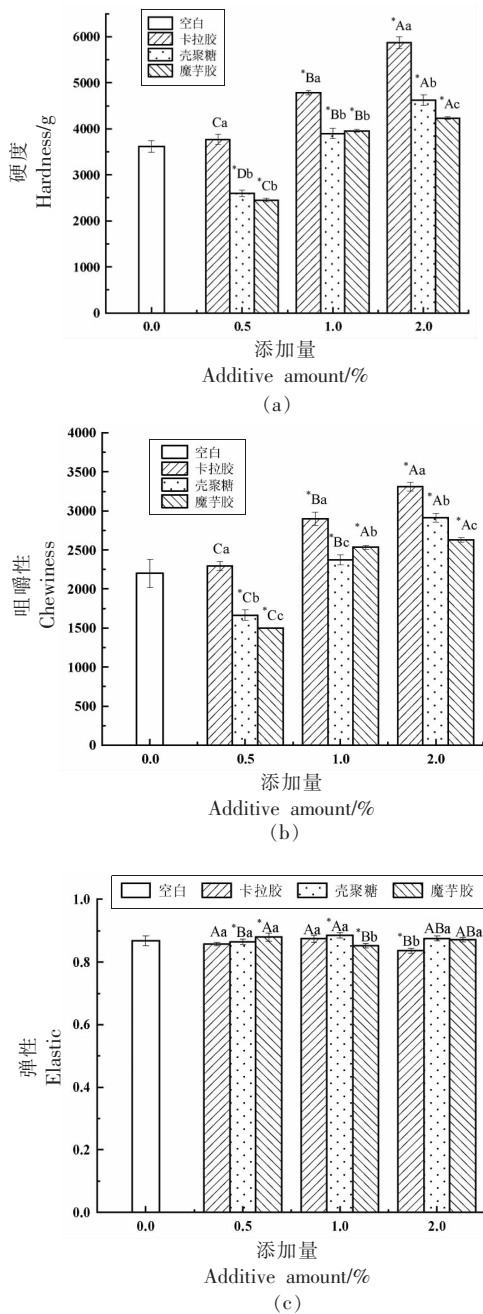


图 5 不同添加量 3 种多糖罗非鱼鱼糜凝胶质构
Fig.5 Gelation of tilapia surimi with different amounts of polysaccharide

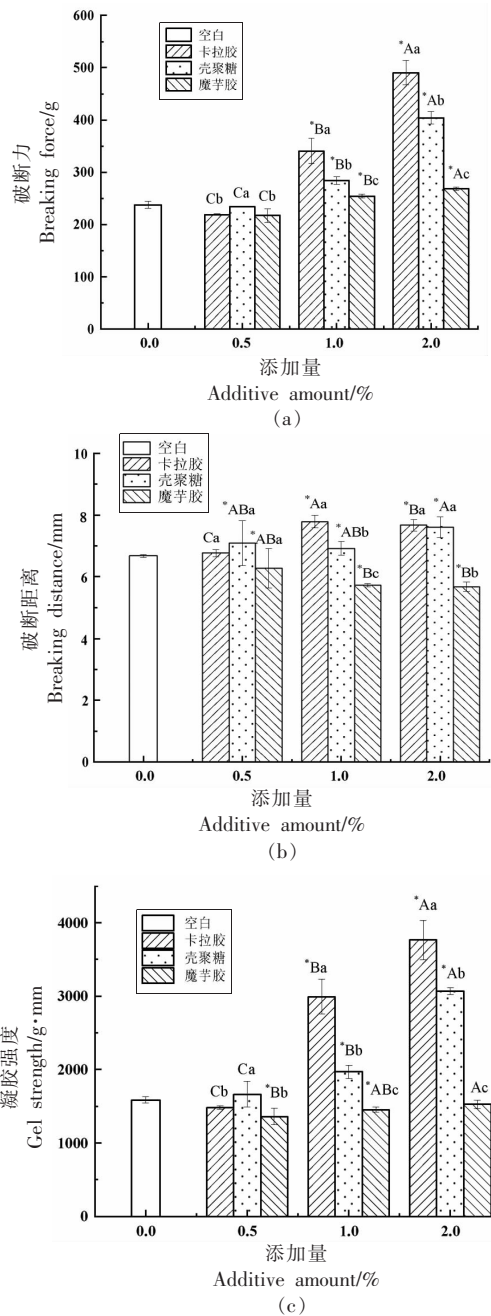


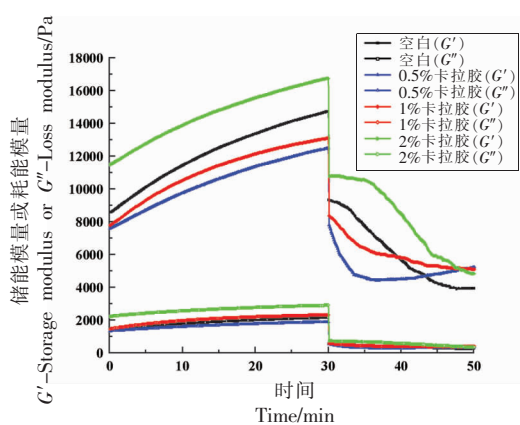
图 6 不同添加量 3 种多糖罗非鱼鱼糜凝胶强度
Fig.6 Gelation strength of tilapia surimi with three polysaccharides added at different levels

度的增加($P>0.05$)。贾丽娜^[33]研究发现无论哪一种加热温度,分子质量为 923.8 ku 的魔芋胶与肌原纤维蛋白形成的复合凝胶凝胶强度显著低于空白组,可能由于魔芋胶的添加,魔芋胶与肌原蛋白发生反应,导致蛋白内部结构发生变化,蛋白间的相互作用变弱。在添加量相同的组间,添加量为 0.5% 时,不同多糖的鱼糜凝胶强度之间的差异不显著($P>0.05$),而继续增加多糖,卡拉胶的凝胶强度表现出较大的提升,并且与空白组样品 1 585.54 $\text{g}\cdot\text{mm}$ 的凝胶强度相比,添加量为 2% 的鱼糜凝胶达到 3 765.35 $\text{g}\cdot\text{mm}$,凝胶强度显著提高($P<0.05$)。3 种多糖,添加卡拉胶凝胶强度最大,与质构的研究结果一致。

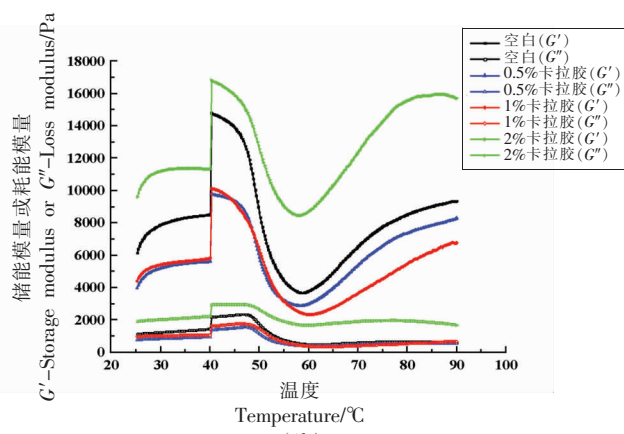
2.7 3 种多糖对罗非鱼鱼糜凝胶流变性质的影响

流变学特性是指在外力作用下鱼糜的黏弹性变化,通常储能模量 G' 可以作为鱼糜凝胶形成的指标,能反映鱼糜凝胶形成过程中三维网络结构的形成^[34]。由图 7 可以看出,鱼糜中的损耗模量 G'' 随温度变化的增速慢于储能模量 G' ,而趋势基本

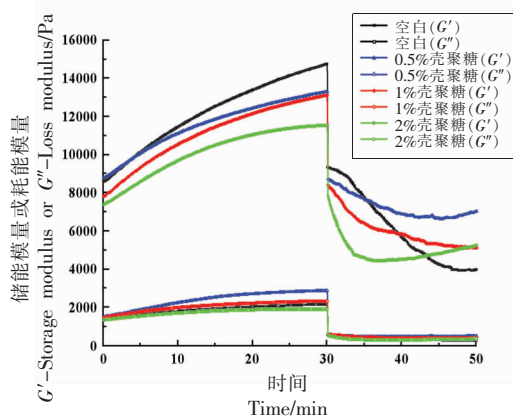
一致,因此主要以分析弹性特性为主。在相同的温度范围内,所有试验组的 G' 值的变化趋势基本保持一致,均出现先上升后下降再升高的趋势。从图 7(1a)、(2a)、(3a) 中可以看出,与空白值(3 959.41 Pa)相比,添加 3 种多糖后均能提高罗非鱼糜凝胶最终的储能模量,说明多糖的添加可以提高未漂洗鱼糜的流变学特性。而由图 7(1b) 可以看出,相对于空白组,在升温过程中只有添加 2% 卡拉胶才能使鱼糜 G' 提高。一般来说, G' 值越大,凝胶强度越强,这与凝胶强度的测试结果一致。由图 7(2b) 可得不同壳聚糖鱼糜凝胶 G' 均低于空白组。然而,随着温度 G' 的升高,2% 的壳聚糖明显高于其它两种多糖组与空白组,这说明高温更有利于鱼糜形成凝胶。由图 7(3b) 可以看出添加魔芋胶的试验组与其它多糖组趋势一致,然而其 G' 与空白组较为接近,说明直接添加魔芋胶并不利于凝胶内部结构的形成。原因可能是因为黏性很强的魔芋胶易于填充在鱼糜蛋白间,导致与鱼糜蛋白接触机会减少,从而阻碍凝胶网络结构的形成^[35]。



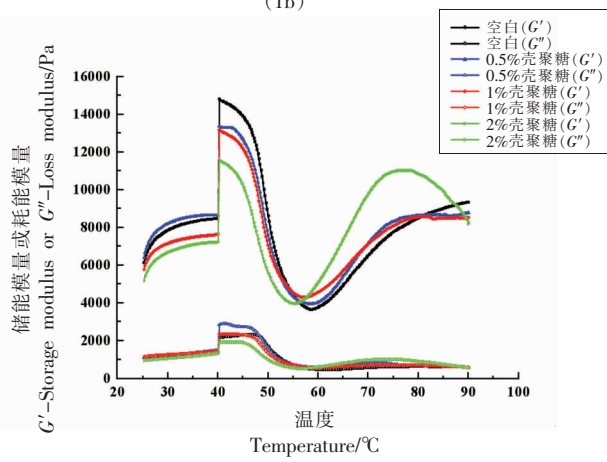
(1a)



(1b)



(2a)



(2b)

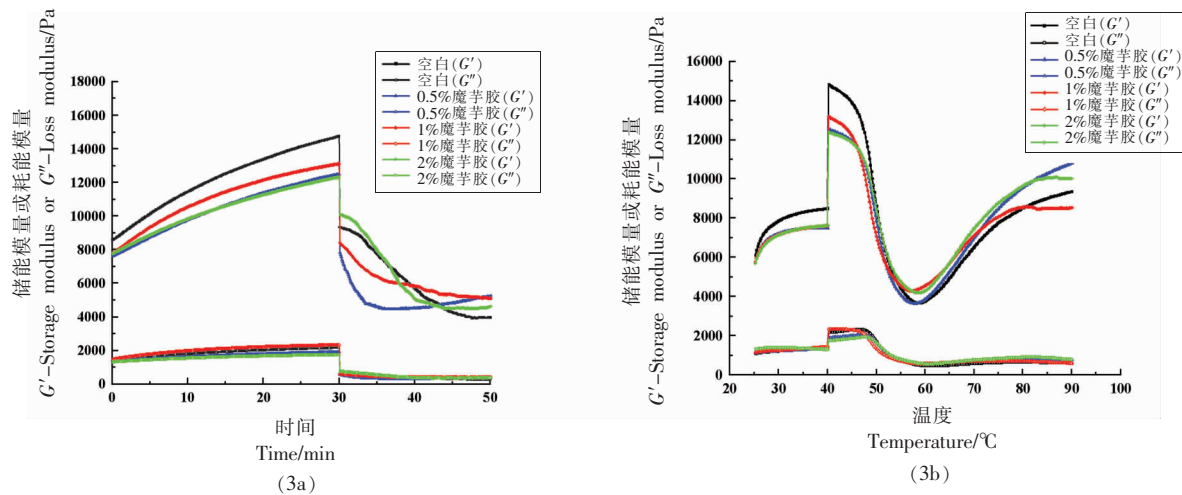


图7 3种多糖对罗非鱼鱼糜凝胶流变性质的影响。(a)升温过程;(b)恒温过程—前30 min为40 °C,后20 min为90 °C

Fig.7 Effect of three kinds of polysaccharides on rheological properties of tilapia surimi gel. (a) the heating process; (b) constant temperature process—40 °C for the first 30 min and 90 °C for the second 20 min

2.8 3种多糖对罗非鱼鱼糜凝胶蛋白二级结构的影响

研究蛋白质二级结构的常用方法之一就是傅里叶红外光谱技术。由图8a可以看出,添加不同多糖的鱼糜凝胶吸收峰的位置差异较小,而特征峰形存在一定变化。其中二级结构中最有研究意义的区域是酰胺I带,包括 β -折叠(1 610~1 640 cm^{-1})、无规则卷曲(1 640~1 650 cm^{-1})、 α -螺旋(1 650~1 658 cm^{-1})和 β -转角(1 660~1 670 cm^{-1})。图8中的柱状图是不同波长所对应的二级结构以及根据各特征峰的面积计算出的二级结构的含量。

添加多糖后,鱼糜凝胶的蛋白构象发生了变化。由图8(1b)可知,鱼糜样品在卡拉胶添加量为0.5%和1%, α -螺旋含量为0%,与空白组相比, β -折叠含量依次增加了2.63%和6.43%,无规则卷曲结构含量依次增加了0.85%和3.87%, β -转角含量依次减少了6.06%和13.25%。由于 β -折叠的稳定性高于 α -螺旋,因此含有较高 β -折叠含量的凝胶及其质构特性更好。2%的卡拉胶鱼糜凝胶蛋白质相对含量与空白组差异不显著,说明2%卡拉胶加入并没有改变蛋白质二级结构。图8(2b)可以发现0.5%~1%的壳聚糖鱼糜凝胶蛋白质二级结构与空白组相比无明显差异,继续增加添加量, α -螺旋的相对含量变为0%,原因可能是蛋白质受热变性之后破坏了蛋白内部的螺旋结构,导致蛋白

结构由不稳定变为稳定,从而使 α -螺旋的含量降低, β -折叠含量增加^[36]。在图8(3b)中添加魔芋胶鱼糜凝胶蛋白质与空白相比, α -螺旋和 β -折叠相对含量呈现减少趋势, β -转角增加,无规则卷曲结构无明显差异。整体来说,添加魔芋胶对鱼糜凝胶的二级结构影响差异不显著。在所有处理组中,多糖的加入改变了鱼糜蛋白的构象,添加卡拉胶更有利于形成凝胶强度更强和持水性更高的鱼糜网络结构。

2.9 3种多糖在罗非鱼鱼糜凝胶中的空间分布

伊红是一种生物染料,染色后可以使细胞质和细胞外基质呈红色。鱼糜样品经过伊红染色之后,红色部分是由肌肉蛋白质所形成的部分,而添加多糖之后呈无色。在加热过程中,多糖可能会与肌肉蛋白相结合,然而当浓度较高时,多糖自身会吸水溶胀,并与肌肉蛋白出现相分离^[19]。因此,此法可以用来观察鱼糜凝胶中蛋白相和多糖相的分布。随着3种多糖添加量的增加,未染色区域面积逐渐增多且逐渐增大,空白组样品未染色区域很少,并且比较均匀,仅有一些小孔隙可能与样品处理中的气泡有关。3种多糖中,添加卡拉胶后红色区域结构较均匀,孔洞数量较少,微观结构较致密,而多糖相部分随着添加量的增加而增大。添加壳聚糖后微观结构中存在孔洞,随着添加量的增多,未染色区域逐渐增大。添加魔芋胶后未染色区域面积最大且最多,此外红色区域呈现的蛋白相

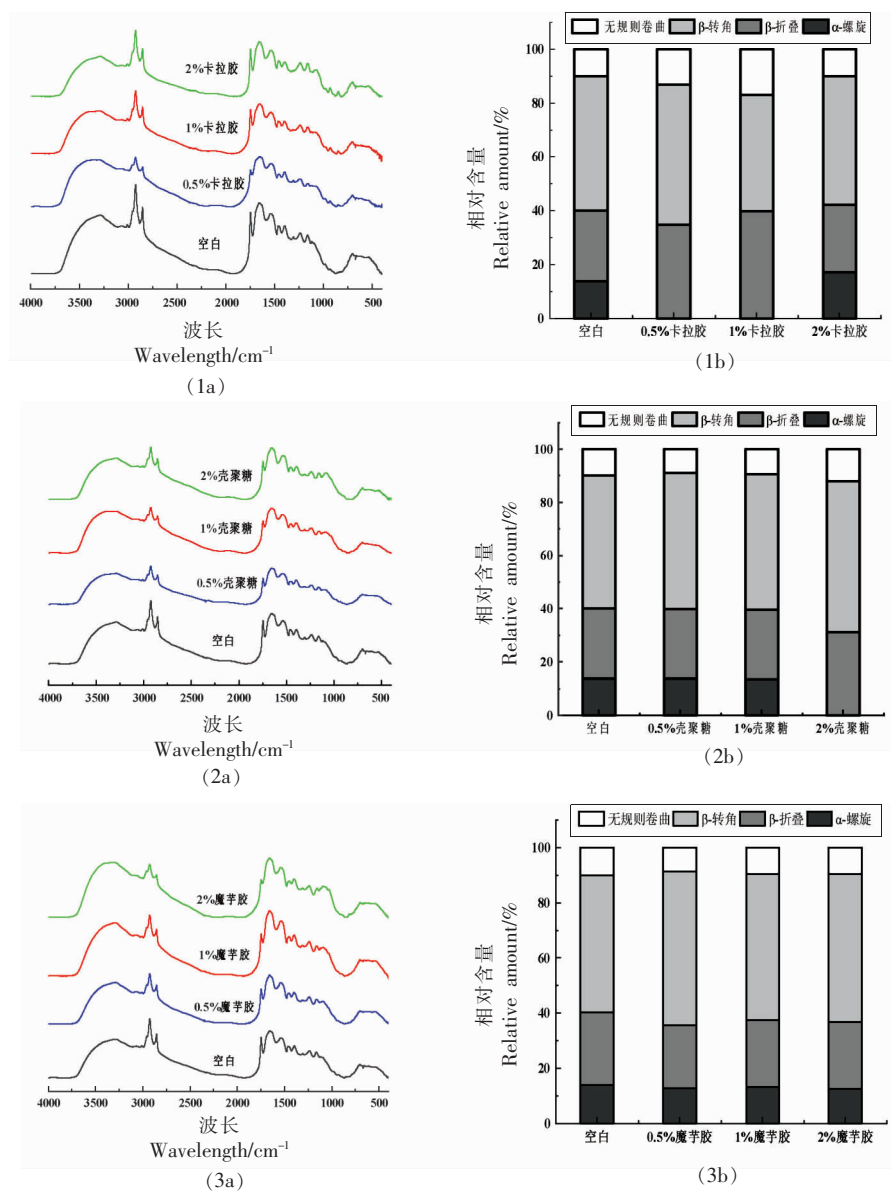


图 8 不同添加量 3 种多糖罗非鱼鱼糜凝胶蛋白二级结构

Fig.8 Secondary structure of gelatinous protein of tilapia surimi with different dosage of three polysaccharides

结构不均一, 网格孔隙较大, 这也导致添加魔芋胶后, 鱼糜凝胶的破断力和凝胶强度显著降低。也有可能是水分的变化影响罗非鱼鱼糜凝胶结构, 在凝胶形成的过程中, 加入多糖后会与原本鱼糜凝胶中的水分相结合, 这可能也是导致鱼糜凝胶持水性变化的原因^[19]。

2.10 多糖对罗非鱼鱼糜凝胶 SDS-PAGE 电泳图谱的影响

鱼糜以肌球蛋白重链 (MHC) 和肌动蛋白

(Actin) 为主要蛋白^[37]。一般而言, 鱼糜凝胶能力与其主要蛋白的含量呈正相关, 蛋白条带颜色的深浅代表了蛋白含量的高低。图 10 显示了添加不同量卡拉胶的罗非鱼鱼糜凝胶电泳图谱。从图中可以看出, 空白组和试验组的 MHC 和 Actin 条带颜色均未发生明显的变化, 说明卡拉胶不会影响鱼糜凝胶的蛋白组分, 推测卡拉胶可能是以填充剂的形式存在鱼糜凝胶网络结构中, 对于蛋白质之间的交联和聚集影响较小^[22]。汤嘉慧^[22]的研究结果

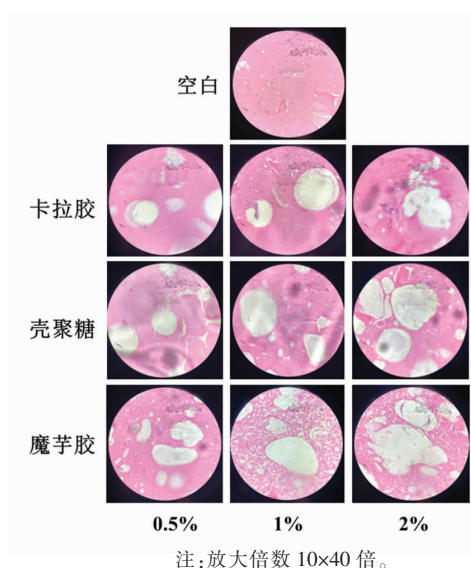


图9 不同添加量3种多糖在罗非鱼鱼糜凝胶中的空间分布

Fig.9 Spatial distribution of three polysaccharides with different supplemental levels in tilapia surimi gel

显示添加卡拉胶和卡拉胶+KCl凝胶体系的鱼糜蛋白电泳条带跟空白对照组一样,加热均导致了MHC条带的消失。说明卡拉胶和卡拉胶+KCl凝胶体系的添加对蛋白质的聚合和降解没有影响,不能抑制蛋白质的降解。王聪^[20]研究了不同含量羟丙基淀粉添加后白鲢鱼糜的凝胶电泳图谱,研究结果显示淀粉的添加未使蛋白条带发生明显变化,说明淀粉可能以填充剂的形式存在于鱼糜凝胶结构中,对于蛋白组分影响不大。

3 结论

不同多糖及其添加量对罗非鱼鱼糜的凝胶特性具有显著影响,3种多糖均可改善鱼糜的凝胶强度、持水性、白度、质构,且卡拉胶在改善鱼糜凝胶特性方面具有更好的效果。在鱼糜凝胶水分分布的研究中显示卡拉胶的添加能充分吸收罗非鱼鱼糜凝胶中的水分,提高鱼糜凝胶的持水性。动态流变特性测定结果表明,在升温阶段添加卡拉胶的罗非鱼鱼糜G'值最大。二级结构的结果显示添加卡拉胶的罗非鱼鱼糜二级结构以稳定的 β -折叠结构为主,微观结构结果表明添加卡拉胶后的罗非鱼鱼糜凝胶具有较好的凝胶网络,组织结构致密,因此卡拉胶的添加能有效增强罗非鱼

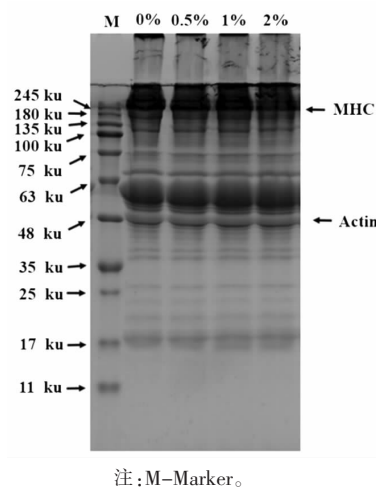


图10 不同添加量卡拉胶罗非鱼鱼糜凝胶蛋白 SDS-PAGE 电泳图谱

Fig.10 SDS-PAGE electrophoresis of gelatine protein of tilapia surimi with different levels of carrageenan

糜凝胶特性。然而,SDS-PAGE电泳结果显示卡拉胶的添加对罗非鱼鱼糜凝胶蛋白组分影响较小。该研究结果可作为后续试验的基础,并为鱼糜产品新原料的开发提供数据支持。

参 考 文 献

- [1] YAN M Y, JIANG X J, WANG G C, et al. Preparation of self-assembled collagen fibrillar gel from tilapia skin and its formation in presence of acidic polysaccharides [J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 233: 115831.
- [2] 赵雲, 桂朗, 陈良标. 罗非鱼产业发展现状[J]. 中国水产, 2020, 10: 46-48.
ZHAO Y, GUI L, CHEN L B. Tilapia industry development status[J]. China Fisheries, 2020, 10: 46-48.
- [3] JIAN W J, WU H Y, WU L L, et al. Effect of molecular characteristics of konjac glucomannan on gelling and rheological properties of tilapia myofibrillar protein[J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 150: 21-31.
- [4] 秦影, 欧昌荣, 汤海青, 等. 鱼糜制品凝胶特性研究进展[J]. 核农学报, 2015, 29(9): 1766-1773.
QIN Y, OU C G, TANG H Q, et al. Research

- progress on gel properties of surimi products [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2015, 29 (9): 1766–1773.
- [5] 马海建. 超高压处理对草鱼鱼肉和鱼糜制品品质的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2016.
- MA H J. Effects of high hydrostatic pressure (HHP) treatment on the quality of *Lateolabrax japonicus* during chilled storage and its antibacterial mechanism [D]. Shanghai: Journal of Shanghai Ocean University, 2016.
- [6] 熊泽语, 谢晨, 陈百科, 等. 不同添加物对未漂洗大黄鱼鱼糜品质的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(10): 151–158.
- XIONG Z Y, XIE C, CHEN B K, et al. Effects of different additives on the quality characteristics of non-rinsed large yellow croaker surimi[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2021, 47(10): 151–158.
- [7] ZHAO N, ZOU H N, SUN S, et al. The interaction between sodium alginate and myofibrillar proteins: The rheological and emulsifying properties of their mixture[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 161(15): 1545–1551.
- [8] FENG M Q, PAN L H, YANG X, et al. Thermal gelling properties and mechanism of porcine myofibrillar protein containing flaxseed gum at different NaCl concentrations [J]. *LWT—Food Science and Technology*, 2018, 87: 361–367.
- [9] TAKAHASHI K, KUROSE K, OKAZAKI E, et al. Effect of various protease inhibitors on heat-induced myofibrillar protein degradation and gel-forming ability of red tilapia (*Branchiostegus japonicus*) meat [J]. *LWT—Food Science and Technology*, 2016, 68: 717–723.
- [10] BERNAERTS T M M, GHEVSEN L, FOUBERT I, et al. The potential of microalgae and their biopolymers as structuring ingredients in food: A review[J]. *Biotechnology Advances*, 2019, 37(8): 107419.
- [11] GUIMARAES J T, BALTHAZAR C F, SILVA R, et al. Impact of probiotics and prebiotics on food texture[J]. *Current Opinion in Food Science*, 2020, 33: 38–44.
- [12] NICOLAI T. Gelation of food protein-protein mixtures[J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2019, 270: 147–164.
- [13] YANG X, LI A Q, LI D, et al. Improved physical properties of konjac glucomannan gels by co-incubating composite konjac glucomannan/xanthan systems under alkaline conditions[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 106: 105870.
- [14] 余霞. 三种不同离子多糖研究进展[J]. *现代食品*, 2019(14): 91–93.
- YU X. Research progress of three kinds of ionic types of polysaccharides [J]. *Modern Food*, 2019 (14): 91–93.
- [15] 尚珊, 祁立波, 姜鹏飞, 等. 海藻糖和复合磷酸盐对鲟鱼肉冻融稳定性的影响[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(9): 205–209, 326.
- SHANG S, QI L B, JIANG P F, et al. Effects of trehalose and composite phosphate on the freezing-thawing stability of sturgeon[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2020, 41(9): 205–209, 326.
- [16] JIAO X D, CAO H W, FAN D, et al. Effects of fish oil incorporation on the gelling properties of silver carp surimi gel subjected to microwave heating combined with conduction heating treatment[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 94: 164–173.
- [17] 黄颖, 王逐鹿, 杨宁, 等. 马蹄粉对拉氏南美南极鱼鱼肠制品品质的改良[J]. *大连工业大学学报*, 2019, 38(5): 321–326.
- HUANG Y, WANG Z L, YANG N, et al. The quality improvement of patagonotothen ramsayi surimi products with water chestnut powder[J]. *Journal of Dalian Polytechnic University*, 2019, 38(5): 321–326.
- [18] OUJIFARD A, BENJAKUL S, PRODPRAN T, et al. Properties of red tilapia (*Oreochromis niloticus*) protein based film as affected by cryoprotectants[J]. *Food Hydrocolloids*, 2013, 32(2): 245–251.
- [19] 梁峰. 不同处理方式对鱼糜与蟹肉混合凝胶品质的影响[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2020.
- LIANG F. Effects of different treatments on the quality of surimi and crabmeat mixed gel[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2020.
- [20] 王聪. 淀粉和亲水胶体对白鲢鱼鱼糜凝胶特性的增效作用研究[D]. 锦州: 渤海大学, 2019.
- WANG C. Synergistic effects of starch and hydrophilic colloid on gel properties of silver carp surimi[D]. Jinzhou: Bohai University, 2019.
- [21] 魏润平, 张泽峰, 王晶, 等. 美国鲟鱼肌肉营养成分分析[J]. *饲料与畜牧*, 2017(17): 36–39.
- WEI R P, ZHANG Z F, WANG J, et al. Analysis of muscle nutrients of *Hilsa shad*[J]. *Feed and Ani-*

- mal Husbandry, 2017(17): 36-39.
- [22] 汤嘉慧. 卡拉胶/K⁺凝胶体系对鱼糜性质和结构的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2020.
TANG J H. Effect of Carrageenan/K⁺ gel system on properties and structure of surimi [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2020.
- [23] HAN M Y, WANG P, XU X L, et al. Low-field NMR study of heat-induced gelation of pork myofibrillar proteins and its relationship with microstructural characteristics[J]. Food Research International, 2014, 62: 1175-1182.
- [24] 于楠楠. 盐和多糖对鱼糜凝胶形成的影响与机制[D]. 无锡: 江南大学, 2017.
YU N N. Effect of salt and polysaccharide on the formation of surimi gel and the mechanism [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017.
- [25] GU R J, XIAO X H, SUN J W, et al. Effects of rice residue on physicochemical properties of silver carp surimi gels [J]. International Journal of Food Properties, 2018, 21(1): 1743-1754.
- [26] 杨文鸽, 张问, 王小飞, 等. 用低场核磁共振研究盐溶液漂洗对带鱼鱼糜凝胶品质的影响[J]. 农业工程学报, 2016, 32(7): 263-269.
YANG W G, ZHANG W, WANG X F, et al. Effect of salt solution rinse on properties of hairtail surimi gel by low-field nuclear magnetic resonance [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2016, 32(7): 263-269.
- [27] 裴志胜, 薛长风, 文攀, 等. 芋头添加物对金鲳鱼鱼糜凝胶的影响[J]. 肉类研究, 2019, 33(11): 12-17.
PEI Z S, XUE C F, WEN P, et al. Effect of taro additive on gel properties of *Trachinotus ovatus* surimi[J]. Meat Research, 2019, 33(11): 12-17.
- [28] 宋伟, 李冬坤, 乔琳, 等. 对不同含水量粳稻谷 T2 峰面积和 MRI 图像的定量分析[J]. 中国农业科学, 2015, 48(22): 4529-4538.
SONG W, LI D K, QIAO L, et al. Quantitative analysis of T2 peak area and MRI image of japonica rice with different moisture contents[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2015, 48(22): 4529-4538.
- [29] NABIL S, MOURAD J, RIM N, et al. Effects of the edible cuttlefish gelatin on textural, sensorial and physicochemical quality of octopus sausage[J]. LWT-Food Science and Technology, 2016, 65: 18-24.
- [30] 邓海萍, 陈奇, 李向红, 等. 不同电荷多糖添加物对鲢鱼鱼糜凝胶结构的影响[J]. 食品与机械, 2014, 30(3): 25-28, 39.
DENG H P, CHEN Q, LI X H, et al. Effects of different charge polysaccharide additions on gel structure of surimi from silver carp [J]. Food and Machinery, 2014, 30(3): 25-28, 39.
- [31] ZHANG H M, XIONG Y T, AMR M. Effect of yeast β -glucan on gel properties, spatial structure and sensory characteristics of silver carp surimi[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 88: 256-264.
- [32] 叶贝贝. 白鲢鱼/金线鱼混合肌原纤维蛋白及肌球蛋白热聚集的作用机制[D]. 锦州: 渤海大学, 2019.
YE B B. Mechanism of thermal aggregation of mixed myofibrillar protein and myosin from *Hypophthalmichthys molitrix* and *Nemipterus virgatus*[D]. Jinzhou: Bohai University, 2019.
- [33] 贾丽娜. 魔芋葡甘聚糖和脂肪影响罗非鱼肌原纤维蛋白凝胶性能的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2015.
JIA L N. Study on gel characterization of tilapia myofibrillar protein affected by konjac glucomannan and fattiness[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2015.
- [34] RUTH N F, DECSI C, JAVIER A, et al. Importance of salt and temperature in myosin polymerization during surimi gelation [J]. Food Chemistry, 2018, 239: 1226-1234.
- [35] 罗华彬, 林露, 司永利, 等. 不同亲水胶体对带鱼鱼糜凝胶品质的影响[J]. 核农学报, 2019, 33(7): 1371-1376.
LUO H B, LIN L, SI Y L, et al. Effects of different hydrophilic colloid on the gel quality of hairtail surimi[J]. Journal of Nuclear Agriculture, 2019, 33(7): 1371-1376.
- [36] HAN W, WANG Z. The changes and relationship of structure and functional properties of rabbit myosin during heat-induced gelation [J]. CyTA - Journal of Food, 2015, 13(1): 63-68.
- [37] JOAQUIN G E, PILAR M, CARMEN M G G. Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) muscle proteins as source to develop edible films [J]. Food Hydrocolloids, 2014, 41: 86-94.

Effect of Polysaccharides on Gelation Behavior of Tilapia Surimi

Jiang Pengfei, Yu Wenjing, Zhu Kaiyue, Li Shuang, Dong Xiuping, Wen Chengrong, Bao Zhijie, Sun Na*
(National Engineering Research Center of Seafood, School of Food Science and Technology,
Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, Liaoning)

Abstract In order to improve the poor strength and deterioration of the unrinsed surimi gel, the effects of three different ionic polysaccharides, including carrageenan, konjac gum and chitosan, on the physical properties, low-field NMR, rheology and microscopic imaging of the unrinsed surimi gel of tilapia were analyzed. The results showed that, compared with the blank (47.81), the maximum whiteness values of different polysaccharides (carrageenan, chitosan, konjac gum) were 93.07, 80.88 and 73.95, indicating that the improvement effect of carrageenan was the best, and the whiteness values of the three polysaccharides were the maximum when the addition amount of all three polysaccharides was 1%. The results of water retention showed that: compared with the blank (88.18%), the water retention of 1% carrageenan was the highest (92.51%). The T_{22} relaxation peak area in low-field NMR indicated that the content of unmobile water in carrageenan was higher, indicating that the gel network was more compact and ordered. In terms of texture, carrageenan supplementation significantly increased the hardness of surimi compared with the blank group without polysaccharide ($P < 0.05$), the hardness increased by 155.44, 1 168.21 g and 2 252.2 g at 0.5%, 1% and 2%, respectively. The masticability was increased by 93.53, 700.99 and 1 108.22, respectively, and the results showed that the content of polysaccharide $\geq 1\%$ could significantly improve the texture characteristics of surimi. In terms of gel strength, the gel strength of carrageenan showed great improvement, and compared with the gel strength of the blank group sample (1 585.54 g·mm), the gel strength of 2% surimi gel reached 3 765.35 g·mm. Rheological properties showed that all three polysaccharides could increase the energy storage modulus (G') of surimi gel at constant temperature. The protein secondary structure showed that the conformation of surimi protein was changed by adding carrageenan and chitosan. Microscopic observation of eosin staining showed that with the increase of polysaccharide content, the region of polysaccharide phase became larger and larger, and the microstructure of surimi gel in the protein phase region of carrageenan added among the three polysaccharides was dense. The electrophoretic map showed that the addition of carrageenan did not change the color of the bands, and it was speculated that polysaccharide played a main role in filling the surimi gel. In conclusion, the addition of carrageenan is more beneficial to promote the formation of gel network and improve the gel quality of tilapia surimi.

Keywords tilapia; minced fish; polysaccharides; gel properties