

鳕鱼皮的添加对鱼糜凝胶特性及其 蛋白质结构的影响

逢昕雨, 赵志康, 叶张靖, 刘静宜, 袁家琦, 李鸿轩, 冯本昊,
赵 慧, 卢 航, 胡建恩*

(大连海洋大学食品科学与工程学院, 大连 116023)

摘 要: **目的** 研究添加黑线鳕鱼(*Melanogrammus aeglefinus*)皮对鱼糜凝胶特性和蛋白质结构的影响。**方法** 以傅里叶变换红外光谱法和十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳技术的分析方法, 探究黑线鳕鱼皮不同添加比率对鱼糜凝胶的凝胶强度、质构、持水性、pH 和蛋白质分子组成及其二级结构的影响规律。**结果** 当鱼皮添加比率为 5% 时, 混合凝胶的凝胶强度、弹性和持水性虽下降但无显著变化($P>0.05$), 分别为 2654.4 g·mm、2.83 mm 和 85.7%, 而硬度显著下降至 22.83 N ($P<0.05$); 随着鱼皮添加比率的增加, 鱼糜凝胶的凝胶强度、质构、持水性均下降; 鱼皮的添加阻碍了肌球蛋白重链发生交联, 同时, 鱼糜凝胶蛋白质结构无显著变化($P>0.05$)。**结论** 为提高鱼皮的利用率, 可适量将鱼皮与鱼糜混合制备鱼糜凝胶, 鱼皮添加比率不宜超过 5%。

关键词: 鱼皮; 鱼糜; 凝胶特性; 蛋白质结构

Effects of *Melanogrammus aeglefinus* skin on gel properties and protein structure of surimi

PANG Xin-Yu, ZHAO Zhi-Kang, YE Zhang-Jing, LIU Jing-Yi, YUAN Jia-Qi, LI Hong-Xuan,
FENG Ben-Hao, ZHAO Hui, LU Hang, HU Jian-En*

(College of Food Science and Engineering, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China)

ABSTRACT: Objective To study the effects of adding *Melanogrammus aeglefinus* skin on the gel properties and protein structure of surimi **Methods** The effect of *Melanogrammus aeglefinus* skin addition ratio on the gel strength, texture, water holding capacity, pH, protein molecular composition and secondary structure of surimi gels were analyzed by using Fourier transform infrared spectroscopy and sodium lauryl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis. **Results** When the fish skin addition ratio was 5%, the gel strength, springiness and water holding capacity of the mixed gel did not decrease significantly ($P>0.05$), which were 2654.4 g·mm, 2.83 mm and 85.7%, while the hardness decreased significantly to 22.83 N ($P<0.05$). The gel strength, texture and water holding capacity of surimi gel decreased with the increase of fish skin addition ratio. The fish skin addition ratio prevented the

基金项目: 辽宁省教育厅产业技术研究院项目(DL201906)、辽宁省教育厅产业技术研究院项目(DL201905)、辽宁省自然科学基金资助计划项目(2019-MS-032)

Fund: Supported by the Industrial Technology Research Institute Project of Liaoning Provincial Department of Education (DL201906), the Industrial Technology Research Institute Project of Liaoning Provincial Department of Education (DL201905), and the Liaoning Provincial Natural Science Foundation of China (2019-MS-032)

*通信作者: 胡建恩, 博士, 教授, 主要研究方向为食品科学与海洋资源利用。E-mail: huje@dlou.edu.cn

*Corresponding author: HU Jian-En, Ph.D, Professor, Dalian Ocean University, No.52, Heishijiao Street, Shahekou District, Dalian 116023, China. E-mail: huje@dlou.edu.cn

cross-linking of myosin heavy chain, at the same time, there was no significant change in gel protein structure of surimi gels ($P>0.05$). **Conclusion** In order to improve the utilization ratio of fish skin, the mixed surimi gel can be prepared by mixing fish skin appropriately with surimi. The ratio of fish skin to the mixed surimi gel should not exceed 5%.

KEY WORDS: fish skin; surimi; gel properties; protein structure

0 引言

鱼糜制品是一种具有广阔发展前景的精加工方便食品,是鱼糜经调味、斩拌、擂溃、成型和加热处理后而得到的水产加工制品。这类产品具有高蛋白、低脂肪、口感独特等特点,在我国需求量大、消费者购买频次高。2020 年我国生产的鱼糜制品约 127 万 t,占水产加工品总量的 6.07%^[1]。凝胶特性为判断鱼糜制品品质的关键指标,与凝胶强度、质构特性以及持水性等组织特性紧密相关。为改善凝胶特性,常用蛋白质类物质与鱼糜混合制备优质凝胶性能的鱼糜凝胶。目前对非肌肉类蛋白质研究较多,例如鱼皮明胶、谷氨酰胺转氨酶^[2]、卵清蛋白^[3]以及大豆分离蛋白^[4]等都能有效提高凝胶特性。但不同蛋白质作用于鱼糜凝胶的机制有所差异,大致可分为两类^[5],一类是蛋白质自身具有凝胶作用,另一类是蛋白质中含有能够抑制内源性蛋白酶的物质,降低内源性蛋白酶对鱼肉蛋白质的降解作用,达到提高凝胶特性的效果。

鱼皮是鱼类生产加工过程中的主要副产物,约占鱼体重的 10%,多作为饲料利用。鱼皮中含有丰富的胶原蛋白,其含量可达鱼皮总蛋白含量的 80%以上^[6]。鱼皮胶原蛋白没有牛海绵状脑病和口蹄疫等疾病传播的风险,已广泛应用于食品、化妆品、制药和生物医学等行业,为消费者提供安全健康的产品。黄玉平^[7]利用鱼皮明胶改善鱼糜的凝胶特性,既扩大了水产加工副产物的综合利用,也避免了因明胶来源而引起的食品安全和宗教信仰等问题。郭培等^[8]报道罗非鱼(*Oreochromis mossambicus*)皮明胶可作为填充剂,提高金鲳鱼-罗非鱼复合鱼糜凝胶的紧实度,改善复合鱼糜制品的白度。赵利等^[9]比较了盐法、酸法和碱法提取鲢鱼(*Leiocassis longirostris*)皮明胶对草鱼鱼糜凝胶品质的影响,结果表明碱法提取的鱼皮明胶中含有一定量的 Ca^{2+} ,激活鱼肉中内源性谷氨酰胺转氨酶,催化谷氨酰胺残基和赖酰胺残基之间非二硫共价键的生成,并且明胶的加入催化了二硫键的形成,增强凝胶网络结构的稳定性。目前国内外对鱼糜中添加鱼皮明胶的凝胶特性变化研究较多,但鱼皮自身直接添加的研究鲜有报道。

我国沿海城市每年将近百万吨鲳鱼加工成鱼片及鱼糜,鱼皮产量大,利用率低。可否用新鲜鱼皮直接添加至鱼糜以增加鱼皮的利用率,其对鱼糜及鱼糜制品的凝胶特性及蛋白质结构带来何种影响,是需要解明的科学问题。

鉴于此,本研究以黑线鲳鱼(*Melanogrammus aeglefinus*)皮为原料,探讨鱼皮的添加对鱼糜凝胶特性和蛋白质结构的影响,为进一步研究鱼皮与鱼糜凝胶混合后蛋白质间的作用方式提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

黑线鲳鱼皮、阿拉斯进口加鲳鱼(*Gadus*)糜(大连金渤海产食品有限公司),于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻藏。

氯化钠(食品级,中盐河北盐业专营有限公司);冰乙酸、氢氧化钠、氯化钾(分析纯,辽宁泉瑞试剂有限公司);三羟甲基氨基甲烷(分析纯,北京索莱宝科技有限公司);溴化钾(光谱纯)、盐酸、乙酸、甲醇、 β -巯基乙醇(分析纯)(天津市科密欧化学试剂有限公司);五水合硫酸铜(分析纯,天津博迪化工股份有限公司);酒石酸钾钠(分析纯,天津光复科技发展有限公司);牛血清蛋白(分析纯,北京奥博星生物技术有限责任公司);考马斯亮蓝 R-250(分析纯,天津市大茂化学试剂厂);十二烷基硫酸钠(分析纯,天津博迪化工股份有限公司);SDS-聚丙烯酰胺电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)试剂(分析纯,美国 Sigma 公司);分子量范围为 6.5~200 kDa 标准蛋白(分析纯,大连 TaKaRa 公司)。

1.2 仪器与设备

BS-224S 型分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);BT3000 型电子天平(上海友声衡器有限公司);JZPB-818A 型破壁料理机(金正集团股份有限公司);S-3C 型 pH 计(上海越平科学仪器制造有限公司);CR21N 大型高速离心机(日本日立公司);SYG-2 型数显恒温水浴锅(常州朗越仪器制造有限公司);TMS-Pro 型质构仪(北京盈盛恒泰科技有限责任公司);TG16-WS 型台式高速离心机(湘仪离心机仪器有限公司);IR Prestige-21 型傅里叶红外光谱仪(日本岛津公司);SCIENTZ-12N 型冷冻干燥机(宁波新芝生物科技股份有限公司);AE-6500 型电泳仪(日本 ATTO 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 原材料预处理

取适量冷冻的黑线鲳鱼皮流水解冻后,刮去残肉,按料液比 1:5 (g:mL)放入 0.001 mol/L 醋酸溶液,4 $^{\circ}\text{C}$ 环境下浸泡 3 h,取出后除掉鱼鳞、表皮获得真皮;将真皮浸泡在

0.05 mol/L 醋酸溶液中, 4 °C 环境下浸泡 3 h, 再用破壁机把溶胀的鱼皮打碎呈糊状, 以 0.05 mol/L NaOH 溶液调节鱼皮糊浆 pH 至 7.0, 8000 r/min 离心 15 min, 水洗沉淀, 8000 r/min 离心 10 min, 水洗和离心步骤重复 3 次, 弃上清液, 沉淀放置冰箱中 4 °C 保存, 备用。

1.3.2 鱼糜凝胶的制备

称取 250.0 g 鱼糜解冻至半解冻状态, 擂溃 15 min, 分成 5 份后分别按不同比率添加预处理过的鱼皮(5%、10%、15%、20%), 不添加鱼皮的纯鱼糜为对照组。样品加入鱼皮混合 5 min, 再加入 2% 食盐擂溃 10 min 制成溶胶, 擂溃过程温度需控制在 10 °C 以下。将鱼糜溶胶填入 67 mm×35 mm×21 mm 的模具中, 用重量为 2.5 kg 的物体放在样品上压 2 min, 去除气泡, 采用二段式加热: 40 °C 处理 30 min, 90 °C 处理 20 min。加热结束后, 放入冰水中冷却 20 min, 取出于 4 °C 冷藏保存。

1.3.3 鱼糜凝胶特性的测定

(1) 鱼糜凝胶强度的测定

将样品凝胶切成 20 mm×20 mm×20 mm 正方体小块, 用配有 25 N 力臂和 P/0.5S 球形探头的质构仪对样品进行穿刺实验。参数设定为: 触发力 0.1 N, 下压速率和回程速率均为 60 mm/min, 穿刺距离 10 mm, 回程距离 25 mm, 每组样品平行测定 6 次, 测定破断力和凹陷距离, 通过公式计算凝胶强度, 公式(1)为:

$$\text{凝胶强度}/(\text{g}\cdot\text{mm})=\text{破断力}(\text{g})\times\text{凹陷距离}(\text{mm}) \quad (1)$$

(2) 鱼糜凝胶质构的测定

将样品凝胶切成 20 mm×20 mm×10 mm 长方体小块, 用配有 1000 N 力臂和直径为 29 mm 圆柱形探头的质构仪对样品进行压缩试验。参数设定为: 触发力 1.5 N, 下压速率 60 mm/min, 形变量 30%, 下压高度 10 mm。测定样品的硬度、弹性、内聚性、咀嚼性和粘附性。

(3) 鱼糜凝胶持水性的测定

参考 LIU 等^[10]方法设定实验方案为: 将样品切成 10 mm×10 mm×10 mm 正方体小块, 精确称取样品质量; 用两层滤纸包裹样品块, 置于 50 mL 离心管中, 10000 r/min 离心 10 min, 取出后摘去滤纸, 精确称取离心后样品的质量。通过公式(2)计算持水性, 公式为:

$$\text{持水性}/\% = \frac{m_1(\text{g})}{m(\text{g})} \times 100\% \quad (2)$$

其中: m 为离心前样品的质量, g ; m_1 为离心后样品的质量, g 。

(4) 鱼糜凝胶 pH 的测定

称取 2.0 g 凝胶样品, 参考 GB 5009.237—2016《食品安全国家标准 食品 pH 值的测定》测定凝胶样品 pH。

1.3.4 鱼糜凝胶蛋白结构的测定

(1) 傅里叶变换红外光谱分析

参考 ZHOU 等^[11]方法设定的实验方案为: 分别称取冷干后的样品 1.0 mg 与 100 mg 干燥的溴化钾晶体置于玛

瑙研钵, 在干燥灯下混匀并充分研磨, 磨成细粉末后用油压机在 20 N 压力下压 3 min, 制成透明薄片。放入傅里叶变换红外光谱仪中, 扫描范围为 4000~400 cm^{-1} 。用 PeakFit v4.12 软件对样品酰胺 I 带图谱进行处理并计算二级结构相对百分比。

(2) 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分析

称取鱼糜凝胶 2 g, 切碎后加入 18 mL Tris-HCl 缓冲溶液均质, 根据双缩脲法测定的结果, 调节蛋白浓度至 3 mg/mL, 样品与样品上样液按 1:1 ($V:V$) 混匀后, 85 °C 水浴加热 5 min, 冷却, 制得电泳样品。制胶后上样 10.0 μL , 浓缩胶质量分数为 8%, 分离胶质量分数为 6%, 考马斯 R-250 染色 35 min 后, 用乙酸甲醇溶液进行脱色。

1.3.5 数据处理

以上每组试验平行测定 3 次, 所得数据用 WPS Office 进行处理和作图, 数据以平均值 \pm 标准偏差表示; 用 SPSS 17.0 对实验数据进行分析, 以 $P<0.05$ 为有显著性差异; 红外光谱用 Origin 2019 进行作图。

2 结果与分析

2.1 鱼皮的添加对鱼糜凝胶特性的影响

2.1.1 鱼皮的添加对鱼糜凝胶强度的影响

凝胶强度是衡量鱼糜凝胶品质的首要指标。由图 1 可知, 凝胶强度随着鱼皮添加比率的增加而下降。鱼皮添加比率为 5% 时, 凝胶强度为 2654.4 $\text{g}\cdot\text{mm}$, 相较于纯鱼糜的凝胶强度虽有减小但是无显著变化($P>0.05$), 大于 5% 后凝胶强度先急剧下降后缓慢下降, 因此认为鱼皮添加比率不宜超过 5%。鱼皮中含有大量胶原蛋白和少量脂肪、矿物质以及碳水化合物等物质, 这些大分子营养物质掺杂在鱼糜中使凝胶结构变得更加松散, 凝胶的网络结构不再稳定, 直接导致鱼糜的凝胶强度下降。鱼皮颗粒附着在肉糜中, 易使鱼糜在溶胶状态下擂溃不完全, 造成肉糜颗粒过大, MENG 等^[12]表示, 过大的肉糜颗粒会阻碍鱼糜凝胶化, 对凝胶结构产生负面影响。此外, 凝胶强度的大小与肌原纤维蛋白含量的高低有直接关系, GU 等^[13]报道鲑鱼糜凝胶强度随米渣蛋白添加比例的增加而下降, 这是因为米渣蛋白比例的增加稀释了凝胶中肌原纤维蛋白, 进而降低鱼糜的凝胶强度。因此推测, 鱼皮的添加降低了肌原纤维蛋白含量, 引起鱼糜凝胶强度的减小。SÁNCHEZ-ALONSO 等^[14]认为这一变化趋势可能与添加物破坏了凝胶蛋白基质有关。

2.1.2 鱼皮的添加对鱼糜凝胶质构的影响

硬度和弹性是鱼糜凝胶质构特性的 2 个重要参数。从表 1 中可分析出, 硬度、弹性和咀嚼性均随鱼皮添加比率的增加呈下降趋势, 这一趋势与凝胶强度相一致。添加鱼皮的鱼糜凝胶硬度从 28.33 N 逐渐下降至 18.13 N, 与对照组相比降低了约 36%, 说明鱼皮的添加会引起凝胶

硬度下降。当鱼皮添加比率为 20% 时, 弹性相较于纯鱼糜有了显著变化 ($P < 0.05$) 并达到最低点, 与对照组相比降低了 16.3%, 此时咀嚼性和黏附性均为最低值。内聚性变化不显著 ($P > 0.05$), 鱼皮添加比率的改变对内聚性影响不大。参照仪淑敏等^[15]的猜想, 质构特性的降低还可能因为打碎后的鱼皮颗粒仍较大, 不能以填充料的形式进入凝胶网格结构中, 压在网格结构的孔隙之外的鱼皮可能在一定程度上破坏了三维结构, 导致硬度、弹性等特性减小。XIAO 等^[16]报道弹性能够代表凝胶与添加物间的交联程度, 所以混合凝胶中的鱼皮可能不会与鱼糜蛋白之间发生交联, 鱼皮的添加反而会破坏网络结构稳定性, 降低鱼糜凝胶的弹性。因此鱼皮的添加会降低鱼糜凝胶的质构特性。

表 1 鱼皮添加比率对鱼糜凝胶质构特性的影响 ($n=3$)

Table 1 Effects of fish skin addition ratio on textural properties of surimi gels ($n=3$)

鱼皮添加比率/%	硬度/N	弹性/mm	内聚性/ratio	咀嚼性/mJ	黏附性/(N·mm)
0	28.33±1.52 ^c	3.01±0.16 ^b	0.68±0.01 ^a	58.10±5.28 ^c	0.45±0.13 ^b
5	22.83±1.16 ^b	2.83±0.02 ^{ab}	0.67±0.02 ^a	43.51±2.49 ^b	0.29±0.04 ^{ab}
10	22.23±0.64 ^b	2.69±0.01 ^{ab}	0.66±0.07 ^a	39.27±0.65 ^{ab}	0.35±1.99 ^{ab}
15	20.33±0.59 ^{ab}	2.67±0.08 ^{ab}	0.67±0.01 ^a	36.35±1.60 ^{ab}	0.32±0.04 ^{ab}
20	18.13±1.77 ^a	2.52±0.02 ^a	0.67±0.06 ^a	30.71±4.80 ^a	0.23±0.06 ^a

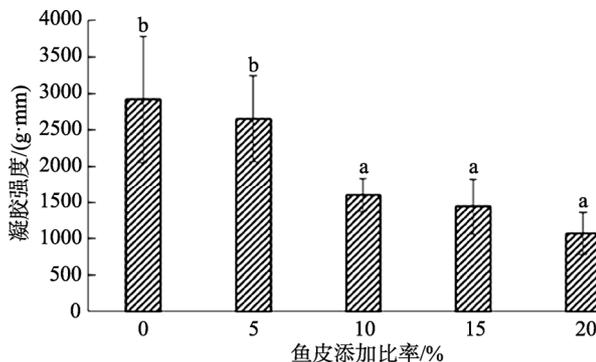
注: 同一指标中标有不同字母表示有显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.1.3 鱼皮的添加对鱼糜凝胶持水性的影响

持水性, 也称保水性, 是体现凝胶特性的重要参数, 持水能力与凝胶结构的紧密度有直接关系^[16]。从图 2 分析出, 鱼皮的添加会降低凝胶的持水性, 这一趋势与凝胶强度变化趋势基本相同。鱼皮添加比率为 5% 时混合凝胶持水性为 85.7%, 虽小于对照组的 89.0%, 但是无显著影响 ($P > 0.05$)。当添加比率升至 20% 时持水性下降到 65.6%, 与纯鱼糜相比下降了 26.4% ($P < 0.05$)。持水性的降低表明肌原纤维蛋白内部的疏水基团暴露, 蛋白质去折叠减弱了其与水结合能力^[17], 凝胶网络结构无法大量束缚水分子, 水分流失严重, 凝胶结构变得多孔松散, 凝胶质地因而发生变化^[18]。鱼皮颗粒大多为不溶性固体, 无法溶解至鱼糜中, 鱼皮添加后阻碍肌原纤维蛋白凝胶的三维网状结构包埋更多的水分子, 同时凝胶结构粗糙不紧实, 影响了凝胶持水性, 所以添加鱼皮之后的混合凝胶品质大不如纯鱼糜组。

2.1.4 鱼皮的添加对鱼糜凝胶 pH 的影响

pH 对肌原纤维蛋白凝胶的形成起着重要作用。pH 的变化影响着肌原纤维蛋白氨基酸侧链电荷的分布, 分子间相互作用和非共价键作用力因此发生变化, 继而引起热诱导凝胶形成过程中蛋白结构的改变^[19]。pH 在 6.5~7.5 范围内较为适宜, 蛋白质不易变性并且利于凝胶的形成。根据图 3 分析, 随着鱼皮添加比率的增加, 混合凝胶 pH 无显著差异 ($P > 0.05$), 未添加鱼皮的凝胶酸碱度为 pH 7.11, 而添加 pH 7.0 的鱼皮后凝胶的 pH 略有下降, 仍维持在鱼糜凝



注: 同一指标中标有不同字母表示有显著性差异 ($P < 0.05$), 下同。

图 1 鱼皮添加比率对鱼糜凝胶强度的影响 ($n=3$)

Fig.1 Effects of fish skin addition ratio on gel strength of surimi gels ($n=3$)

胶适宜 pH 范围内。中性的鱼皮可能对鱼糜起到稀释作用, 因此凝胶 pH 向 7.0 靠拢, 此时的条件虽利于鱼糜肌球蛋白和肌动蛋白相结合形成凝胶^[20], 但鱼皮的添加却未能提高鱼糜的凝胶强度, 则可以说明鱼皮的添加会影响凝胶特性, 但不会显著影响凝胶的酸碱度。

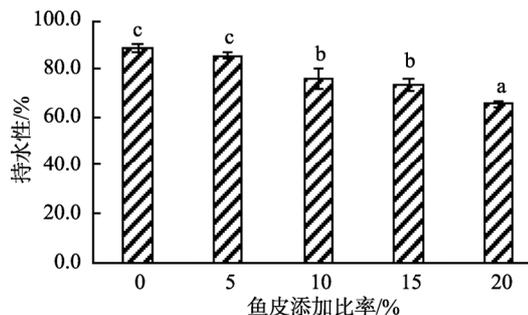


图 2 鱼皮添加比率对鱼糜凝胶持水性的影响 ($n=3$)

Fig.2 Effects of fish skin addition ratio on water holding capacity of surimi gels ($n=3$)

2.2 鱼皮的添加对鱼糜凝胶蛋白结构的影响

2.2.1 鱼皮的添加对鱼糜凝胶傅里叶变换红外光谱的影响

傅里叶变换红外光谱 (Fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR) 是研究蛋白质构象最早、最常用的方法, 可以用来反映蛋白质结构的变化。三大谱带为酰胺 I、II、III 带, 分别由 N-H 弯曲振动和 C-N 伸缩振动、羰基 C=O

和双键伸缩振动、N-H 弯曲振动和 C-C、C-N 伸缩振动引起^[21]。从图 4 中可以在三大谱带和酰胺 A、B 带中看到明显的吸收峰。酰胺 A、B 带的吸收峰分别与与氢键结合的 N-H 伸缩振动和与 NH_3^+ 结合的 C-H 伸缩振动引起。3289、2930 cm^{-1} 处吸收峰主要与 CH_3 和 CH_2 中 C-H 非对称拉伸振动有关^[22]。除鱼皮样品外, 其余样品在 1050、990 cm^{-1} 左右处有特征吸收峰, 这是由于鱼糜中抗冻剂(蔗糖、山梨醇等)的羟基 O-H 伸缩振动引起, 而鱼皮中不含有抗冻剂, 因此在该波数中无明显特征吸收峰。1744 cm^{-1} 左右为与脂质相关的 C=O 的吸收峰^[23], 但是所有样品在该波数下无明显特征吸收峰, 因此可以反映出黑线鳕鱼皮和阿拉斯加鳕鱼糜中脂肪含量低。图 4 中凝胶样品的特征吸收峰位置几乎没有变化, 均在 3289、2930、1658、1541、1240、1050、990 cm^{-1} 左右, 说明鱼皮的添加引起特征吸收峰的红移或蓝移的程度微小, 鱼皮与鱼糜混合后没有与蛋白质交联, 有可能是两种蛋白质以相互渗透的方式结合在一起, 与质构特性推测结果相同。

蛋白质二级结构包括 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角和无规则卷曲结构, 存在于 1600~1700 cm^{-1} 范围内的酰胺 I 带中。其中, 1600~1640 cm^{-1} 、1641~1650 cm^{-1} 、1651~1660 cm^{-1} 和 1661~1700 cm^{-1} 处分别为 β -折叠、无规则卷曲、 β -转角和 α -螺旋 4 种构象的波段。图 5 分析了酰胺 I 带中蛋白质二级结构相关信息。结果表明 β -折叠和 β -转角为鱼皮和鱼糜蛋白质的主要二级结构。添加鱼皮后混合凝胶中 β -折叠含量高于纯鱼糜中的含量, 而 α -螺旋含量整体呈下降趋势,

无规则卷曲变化不显著($P>0.05$)。有研究表明 α -螺旋构象是维持蛋白结构稳定性的重要结构, 其空间结构相比于 β -折叠构象更加致密, 不仅能够截留水分^[24], 还能够增加蛋白分子的聚合程度。而含有鱼皮的样品中 α -螺旋结构含量较低, β -折叠含量略有增加, 因此鱼皮的添加会阻碍凝胶蛋白的聚集, 凝胶结构变得松散以至于水分子无法留在凝胶网络结构的孔隙中, 导致含有鱼皮的样品凝胶强度、持水性较低。尽管鱼皮添加比率的不同对凝胶性能有显著影响, 但在蛋白质的二级结构上没有统计学显著差异, 这一结果与 LIANG 等^[25]相类似。热诱导凝胶形成的实质是 α -螺旋向 β -折叠和无规则卷曲^[26]结构转化的过程。但是 100℃ 以上的高温会严重破坏 β -折叠和无规则卷曲结构^[27], 导致肌动蛋白含量显著下降。虽然 LIN 等^[28]报道较低的 α -螺旋含量和较高的 β -折叠含量与草鱼片咀嚼特性有关, 但在本研究中的质构特性和蛋白质二级结构之间没有明显的关系。

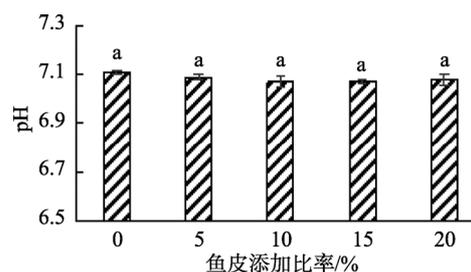


图3 鱼皮添加比率对鱼糜凝胶 pH 的影响($n=3$)
Fig.3 Effects of fish skin addition ratio on pH of surimi gels ($n=3$)

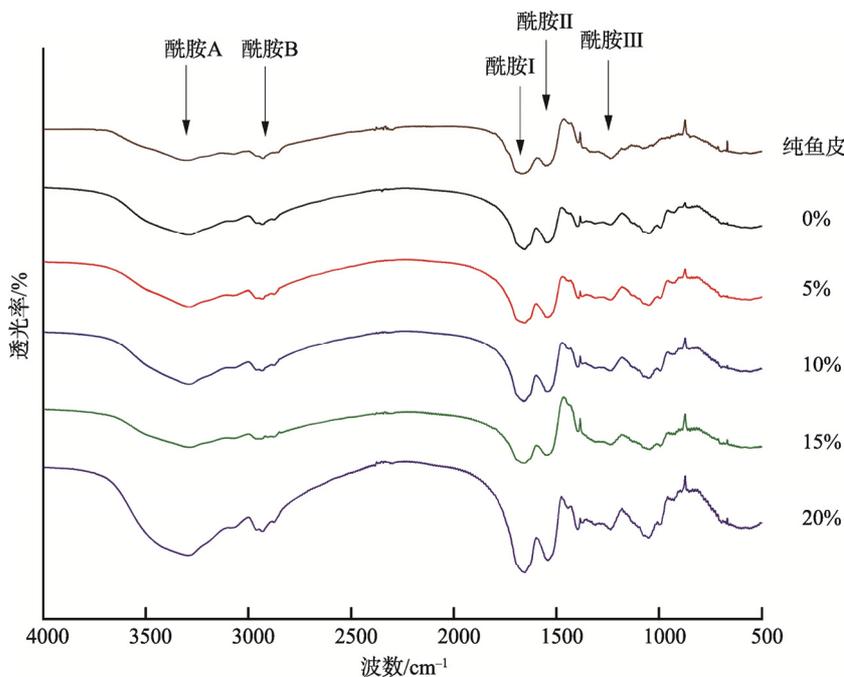


图4 鱼皮及不同添加比率鱼皮的混合鱼糜凝胶的红外光谱图
Fig.4 Infrared spectra of fish skin and mixed surimi gels with different ratio of fish skin

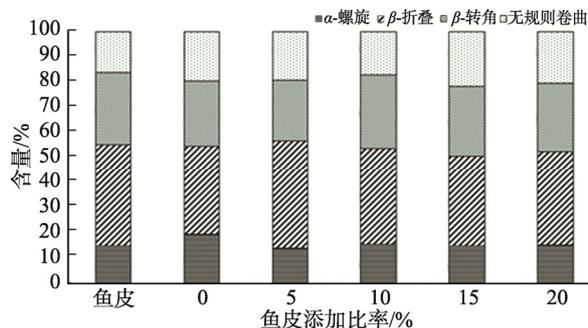


图 5 鱼皮的添加对鱼糜凝胶蛋白质二级结构的影响

Fig.5 Effects of fish skin addition ratio on the secondary structure of surimi gel protein

2.2.2 鱼皮的添加对鱼糜凝胶蛋白质分子组成的影响

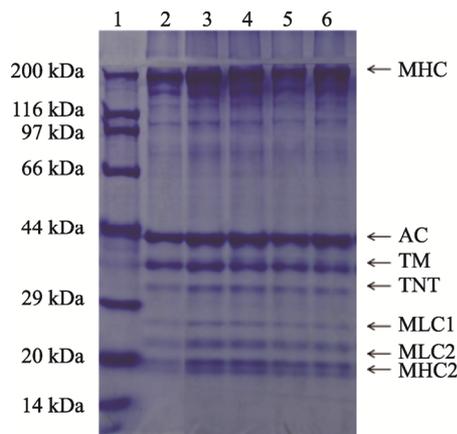
从图 6 中可明显看到两条肌球蛋白重链(myosin heavy chain, MHC)、肌动蛋白、原肌球蛋白、肌钙蛋白 T 和两条肌球蛋白轻链(myosin light chain, MLC)^[10], 其中 MHC 含量的多少与凝胶强度的大小密切相关。鱼糜在热诱导凝胶化阶段中, 起主导作用的肌球蛋白受热变性, 结构发生改变, 内部疏水基团暴露, 巯基氧化生成二硫键, 并且发生热聚集现象, 蛋白和蛋白之间及蛋白分子内部之间的化学作用力达到平衡时变生成稳定有序并呈非透明状的三维网

络^[29]。由于肌球蛋白主要用于凝胶网络结构的形成, 因此在纯鱼糜凝胶中 MHC 条带较窄且颜色较浅。而添加鱼皮的样品中 MHC 条带宽且深, 表明 MHC 没有作用于三维网络结构而被完整保留, 可能因为鱼皮添加后没有与鱼糜中的肌原纤维蛋白相互作用, 而是通过相互渗透的方式形成混合凝胶, 因而阻碍了凝胶中 MHC 之间的充分交联, 导致凝胶强度的下降, 这一结果与凝胶强度结果相一致, 再次证实了鱼皮的添加会影响鱼糜的凝胶特性。图 6 中肌动蛋白条带不随鱼皮的添加而发生变化, 与蛋白质二级结构中 β -折叠和无规则卷曲构象无明显变化结果一致。

3 结论

鱼皮的添加影响了鳕鱼糜的凝胶特性: 当添加比率高于 5% 时, 鱼糜凝胶强度、质构特性和持水性均降低; 低于 5% 时, 混合凝胶的凝胶强度、弹性和持水性虽有下降, 但无显著差异($P < 0.05$); 鱼皮的添加阻碍了凝胶中 MHC 发生交联, 进而降低鱼糜的凝胶特性。添加鱼皮后的混合凝胶蛋白质二级结构无显著变化。

对 5% 以下鱼皮添加比率对鱼糜凝胶特性及结构的影响将在今后的实验中继续探讨与研究。



注: 1. 标准蛋白(Marker); 2. 纯鱼糜组; 3~6 鱼皮质量分数依次为 5%、10%、15%、20%。MHC: myosin heavy chain, 肌球蛋白重链; AC: actin, 肌动蛋白; TM: tropomyosin, 原肌球蛋白; TN T: troponin T, 肌钙蛋白 T; MLC1: myosin light chain 1, 肌球蛋白轻链 1; MLC2: 肌球蛋白轻链 2; MHC2: myosin heavy chain 2, 肌球蛋白重链 2。

图 6 鱼皮混合鱼糜凝胶的十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳图

Fig.6 Electrophoretic diagram of sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel of mixed surimi gels with different ratio of fish skin

参考文献

- [1] 农业部渔业渔政管理局. 2020 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2020.
Fisheries Administration of the Ministry of Agriculture. 2020 China fishery statistical yearbook [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2020.
- [2] FANG Q, SHI L, REN Z, *et al.* Effects of emulsified lard and TGase on gel properties of threadfin bream (*Nemipterus virgatus*) surimi [J]. LWT-Food Sci Technol, 2021, 146: 111513.
- [3] QUAN TH, BENJAKUL S. Comparative study on the effect of duck and hen egg albumens on proteolysis and gel property of sardine surimi [J]. Int

- J Food Prop, 2018, (20): 1-12.
- [4] MI H, ZHAO Y, LI Y, *et al.* Combining effect of soybean protein isolate and transglutaminase on the gel properties of Zhikong Scallop (*Chlamys farreri*) adductor muscle [J]. LWT- Food Sci Technol, 2021, 138: 110727.
- [5] 吴雪微. 常温即食鲢鱼糜制品的加工技术研究[D]. 无锡: 江南大学, 2017.
WU XW. Study on processing technology of ready-to-eat silver carp surimi product stored at ambient temperature [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017.
- [6] 韩凤杰, 赵征, 胡晓鹏. 酶法制取鲢鱼皮胶原蛋白寡肽工艺的研究[J]. 现代食品科技, 2006, (2): 135-137.

- HAN FJ, ZHAO Z, HU XP. Study on enzymatic production of *Cirrhina molitorella* skin collagen oligopeptide [J]. Mod Food Sci Technol, 2006, (2): 135-137.
- [7] 黄玉平. 鱼皮明胶蛋白在淡水鱼糜制品中的应用研究[D]. 厦门: 集美大学, 2012.
- HUANG YP. Studies on the application of skin gelatin in fresh-water fish surimi-based products [D]. Xiamen: Jimei University, 2012.
- [8] 郭培, 李川, 申铨日, 等. 金鲷鱼肉和罗非鱼皮明胶改善罗非鱼碎肉鱼糜品质[J]. 农业工程学报, 2016, 32(S2): 406-411.
- GUO P, LI C, SHEN XR, et al. Golden pompano fish and tilapia fish skin gelatin improving quality of tilapia surimi [J]. Transact Chine Soc Agric Eng, 2016, 32(S2): 406-411.
- [9] 赵利, 温慧芳, 袁美兰, 等. 基于不同提取方式的鱼皮胶原蛋白对重组鱼肉品质的影响[J]. 现代食品科技, 2015, 31(3): 220-227.
- ZHAO L, WEN HF, YUAN ML, et al. The effect of fish skin collagen extraction method on restructured fish products [J]. Mod Food Sci Technol, 2015, 31(3): 220-227.
- [10] LIU L, HE Y, SHI L, et al. Gelling properties of silver carp surimi as affected by different comminution methods: Blending and shearing [J]. J Sci Food Agric, 2019, 99(8): 3926-3932.
- [11] ZHOU X, CHEN T, LIN H, et al. Physicochemical properties and microstructure of surimi treated with egg white modified by tea polyphenols [J]. Food Hydrocolloid, 2019, 90: 82-89.
- [12] MENG L, JIAO X, YAN B, et al. Effect of fish mince size on physicochemical and gelling properties of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) surimi gel [J]. LWT-Food Sci Technol, 2021, 149: 111912.
- [13] GU R, XIAO X, SUN J, et al. Effects of rice residue on physicochemical properties of silver carp surimi gels [J]. Int J Food Prop, 2018, 21(1): 1743-1754.
- [14] SÁNCHEZ-ALONSO I, SOLAS MT, BORDERIAS AJ. Technological implications of addition of wheat dietary fibre to Giant Squid (*Dosidicus gigas*) surimi gels [J]. J Food Eng, 2007, 81(2): 404-411.
- [15] 仪淑敏, 吕柯明, 张诗雯, 等. 芹菜叶改善鱼糕的凝胶特性[J]. 现代食品科技, 2020, 36(2): 152-158, 52.
- YI SM, LV KM, ZHANG SW, et al. Celery leaf improve the gel properties of fish cake [J]. Mod Food Sci Technol, 2020, 36(2): 152-158, 52.
- [16] XIAO H, YANG Y, YU J, et al. Alaska pollock surimi addition affects Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) surimi gel properties [J]. Rheol Acta, 2021, 60: 1-9.
- [17] ZHANG L, LI Q, SHI J, et al. Changes in chemical interactions and gel properties of heat-induced surimi gels from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillets during setting and heating: Effects of different washing solutions [J]. Food Hydrocolloid, 2018, 75: 116-124.
- [18] JIA G, SHA K, MENG J, et al. Effect of high voltage electrostatic field treatment on thawing characteristics and post-thawing quality of lightly salted, frozen pork tenderloin [J]. LWT- Food Sci and Technol, 2018, 99: 268-275.
- [19] 张兴, 杨玉玲, 马云, 等. pH 对肌原纤维蛋白及其热诱导凝胶非共价键作用力与结构的影响[J]. 中国农业科学, 2017, 50(3): 564-573.
- ZHANG X, YANG YL, MA Y, et al. Effects of pH on the non-covalent forces and structure of myofibrillar protein and heat induced gel [J]. Sci Agric Sin, 2017, 50(3): 564-573.
- [20] LIU R, ZHAO S, XIONG S, et al. Role of secondary structures in the gelation of porcine myosin at different pH values [J]. Meat Sci, 2008, 80(3): 632-639.
- [21] 蓝蔚青, 胡潇予, 阮东娜, 等. 傅里叶红外结合拉曼分析卡拉胶寡糖对南美白对虾蛋白结构影响[J]. 光谱学与光谱分析, 2019, 39(8): 2507-2514.
- LAN WQ, HU XY, RUAN DN, et al. Analysis of the effect of carrageenan oligosaccharides on the structure of penaeus vannamei protein by Fourier infrared and Tunku Abdul Rahman [J]. Spectrosc Spect Anal, 2019, 39(8): 2507-2514.
- [22] HOU SW, WEI W, WANG Y, et al. Integrated recognition and quantitative detection of starch in surimi by infrared spectroscopy and spectroscopic imaging [J]. Spectrochimica Acta Part A, 2019, 215: 1-8.
- [23] KOBAYASHI Y, MAYER SG, PARK JW. FT-IR and Raman spectroscopies determine structural changes of tilapia fish protein isolate and surimi under different comminution conditions [J]. Food Chem, 2017, 226: 156-164.
- [24] 徐安琪, 杨睿, 朱煜康, 等. 紫菜粉添加对鲑鱼鱼糜凝胶特性及其蛋白质结构的影响[J]. 食品科学, 2021, 42(2): 46-52.
- XV ANQ, YANG R, ZHU YK, et al. Effect of laver (*Porphyra umbilicalis*) powder on gel properties and protein structure of giant squid (*Dosidicus gigas*) surimi [J]. Food Sci, 2021, 42(2): 46-52.
- [25] LIANG F, LIN L, HE T, et al. Effect of transglutaminase on gel properties of surimi and precocious Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) meat [J]. Food Hydrocolloid, 2020, 98: 105261.
- [26] LIU H, GAO L, REN Y, et al. Chemical interactions and protein conformation changes during silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) surimi gel formation [J]. Int J Food Prop, 2014, 17(8): 1702-1713.
- [27] 张花. 高温对鱼糜制品品质影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2019.
- ZHANG H. Effects of high-temperature on quality of surimi products [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2019.
- [28] LIN WL, ZENG QX, ZHU ZW, et al. Relation between protein characteristics and TPA texture characteristics of crisp grass carp (*Ctenopharyngodon idellus* C. et V) and grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. J Texture Stud, 2012, 43(1): 1-11.
- [29] 王静宇, 胡新, 刘晓艳, 等. 肌原纤维蛋白热诱导凝胶特性及化学作用力研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(8): 300-306.
- WANG JY, HU X, LIU XY, et al. Advances in heat-induced gel properties and chemical forces of myofibrillar protein gel [J]. Food Ferment Ind, 2020, 46(8): 300-306.

(责任编辑: 韩晓红 张晓寒)

作者简介



逢昕雨, 硕士研究生, 主要研究方向为食品科学与工程。

E-mail: Pangxy20220606@163.com



胡建恩, 博士, 教授, 主要研究方向为食品科学与海洋资源利用。

E-mail: huje@dlou.edu.cn