

性早熟蟹肉和白鲢鱼糜混合凝胶工艺优化及其凝胶特性

梁峰, 何天海, 林琳, 姜绍通, 陆剑锋*

(合肥工业大学食品与生物工程学院, 安徽省农产品精深加工重点实验室, 安徽 合肥 230009)

摘要: 通过向白鲢鱼糜中添加蟹肉和0.3%谷氨酰胺转氨酶(transglutaminase, TG), 以凝胶强度和持水性为指标, 研究蟹肉比例、凝胶化时间以及凝胶化温度3个因素对混合凝胶特性的影响。在单因素试验基础上, 采取3因素3水平的Box-Behnken设计进行响应面分析, 得到最佳工艺条件为: 蟹肉比例10%, 凝胶化时间3.0 h, 凝胶化温度35 °C。验证实验结果显示, 与传统鱼肠相比, 优化后的鱼糜与蟹肉混合肠, 其凝胶强度有显著的提升($P < 0.05$), 持水性略有降低, 但并不显著($P > 0.05$); 聚丙烯酰胺凝胶电泳和扫描电镜结果表明, TG的添加可使混合凝胶中肌球蛋白重链明显减少, 且凝胶表面更均匀、致密。

关键词: 鱼糜; 蟹肉; 谷氨酰胺转氨酶; 凝胶特性; 混合凝胶

Optimization of Processing Conditions and Gel Properties of Precocious Crab Meat and Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) Surimi Mixed Gels

LIANG Feng, HE Tianhai, LIN Lin, JIANG Shaotong, LU Jianfeng*

(School of Food and Biological Engineering, Key Laboratory for Agricultural Products Processing of Anhui Province, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China)

Abstract: Mixed gels were prepared from silver carp surimi with the addition of 0.3% transglutaminase (TG) and precocious crab meat. The effects of crab meat proportion, gelation time and gelation temperature on gel strength and water-holding capacity (WHC) were investigated in this study. By employing a combination of one-factor-at-a-time method and response surface methodology based on a three-variable, three-level Box-Behnken design, the optimal processing conditions were obtained as follows: crab meat ratio 10%, gelation time 3.0 h, and gelation temperature 35 °C. The results of verification experiments demonstrated that compared with traditional fish sausage, the mixed gel strength significantly increased ($P < 0.05$), along with a slight reduction in WHC ($P > 0.05$). In the presence of TG, the band intensity of myosin heavy chain (MHC) decreased and the surface of mixed gels became more uniform and compact, as indicated by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and scanning electron microscopy (SEM), respectively.

Keywords: surimi; crab meat; transglutaminase; gel properties; mixed gels

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20181109-102

中图分类号: TS254

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2019)22-0313-07

引文格式:

梁峰, 何天海, 林琳, 等. 性早熟蟹肉和白鲢鱼糜混合凝胶工艺优化及其凝胶特性[J]. 食品科学, 2019, 40(22): 313-319.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20181109-102. <http://www.spkx.net.cn>

LIANG Feng, HE Tianhai, LIN Lin, et al. Optimization of processing conditions and gel properties of precocious crab meat and silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) surimi mixed gels[J]. Food Science, 2019, 40(22): 313-319. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20181109-102. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2018-11-09

基金项目: 现代农业(虾蟹)产业技术体系建设专项(CARS-48); 安徽省水产产业技术体系项目(AHCYJSTX-08)

第一作者简介: 梁峰(1997—)(ORCID: 0000-0002-6193-8401), 男, 硕士研究生, 研究方向为蟹加工与保鲜。

E-mail: 1415487531@qq.com

*通信作者简介: 陆剑锋(1976—)(ORCID: 0000-0002-5887-9455), 男, 教授, 博士, 研究方向为水产品加工及保鲜。

E-mail: lujf@sibs.ac.cn

白鲢鱼 (*Hypophthalmichthys molitrix*) 作为中国“四大家鱼”之一, 养殖历史悠久, 产量巨大, 在我国淡水养殖鱼类中, 其产量位居第三, 2017年达到385.28万 t^[1]。鲢鱼肉质鲜嫩, 味道鲜美、温和, 但土腥味略重^[2]。为提高鲢鱼的附加值和可接受度, 常把白鲢鱼肉制成鱼糜制品, 常见的鱼糜制品有鱼肉香肠、模拟蟹肉、模拟虾肉、模拟贝柱、鱼糕、竹轮等^[3]。鱼糜凝胶形成过程中, 随着温度的升高, 分别经历凝胶化 (35~40 °C)、凝胶劣化 (50~70 °C)、鱼糕化 (>70 °C) 3个阶段, 最终所得鱼糕即为传统意义上的鱼肠^[4]。温度处于50~70 °C时, 鱼肉内的内源性蛋白酶被激活, 使得肌原纤维蛋白被降解, 凝胶化过程中形成的凝胶网状结构被破坏, 即凝胶劣化^[5]。为使鱼糜凝胶快速渡过劣化温度区间, 目前传统处理所常采用的方法是“二段水浴加热法”, 即一段水浴采用温度35~40 °C, 保温1~2 h, 二段水浴采用温度90 °C, 处理30 min, 其中一段水浴的温度和时间对鱼糜中肉类蛋白的变性和凝胶的形成具有重要影响^[6]。

鱼糜中的蛋白质易受低温冻害, 导致功能性降低, 因此冷冻贮藏过程中需加入蔗糖、山梨醇及其混合物作为冷冻保护剂^[7]。已有的研究表明, 向白鲢鱼糜中添加蔗糖, 会降低其凝胶性能, 而添加适量盐类^[8]、蛋白类^[9]、淀粉类^[10]、水溶胶类^[11-12]、酶制剂^[13]等可以改善或提高鱼糜制品的凝胶特性。谷氨酰胺转氨酶 (transglutaminase, TG) 常用于肉制品加工业, 催化肉类蛋白中赖氨酸上的 ϵ -氨基和谷氨酸上的 γ -羟酰胺基相结合, 通过转谷氨酰胺作用形成共价化合物^[14-16]。由于其具有良好的促凝胶形成能力及高度的亲水性, 在水产加工方面常用来提高凝胶产品的凝胶强度和持水性^[17-19]。

中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 是我国每年消费量最大的淡水蟹类之一, 2017年我国河蟹养殖产量为75.09万 t, 远大于各种海水蟹类总养殖量28.60万 t^[1]。中华绒螯蟹正常的养殖周期为两年, 而性早熟蟹在第一年即达到性成熟 (一龄早熟蟹)。性早熟是目前蟹类养殖过程中普遍存在的现象, 其比例约占养殖总量的15%~30%^[20-21]。由于性早熟蟹体型较小, 商品价值极低, 养殖户蒙受损失的同时, 这类资源也常遭到浪费。性早熟蟹的加工方式较单一, 主要是将其加工成醉蟹或蟹肉罐头, 从而提高附加值, 而性早熟蟹的深加工开发利用还有待进一步研究^[22]。鉴于此, 本实验对添加性早熟蟹肉后白鲢鱼糜凝胶制备工艺进行探究及优化, 为今后低值蟹肉在鱼糜制品中的开发应用提供实践依据或理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

冷冻白鲢鱼糜 洪湖市井力水产食品股份有限公司; 冷冻性早熟蟹肉 安徽福恩食品科技有限公司; 食品级PVDC塑料肠衣 (直径30 mm)、TG 南宁庞博生物工程有限公司; 食品级氯化钠, 磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、戊二醛、无水乙醇、十二烷基硫酸钠 (sodium dodecyl sulfate, SDS) (均为分析纯) 美丰科技有限公司。

1.2 仪器与设备

S2-5型斩拌机 广州旭众食品机械有限公司; HZ-2型两孔数显水浴锅 江苏金坛市环宇科学仪器厂; CT-15RT型台式高速冷冻离心机 上海天美生化仪器与设备工程有限公司; TA-XT plus物性仪 英国Stable Micro System公司; FA1104N型电子分析天平 上海民桥精密科学仪器有限公司; SU-50型卡扣机 瑞安市特丰机械厂; FD-1B-50型冷冻干燥机 北京博医康实验仪器有限公司; SU8020场发射扫描电子显微镜 日本Hitachi公司; DYY-11型电泳仪 北京市六一仪器厂; T18型高速分散器 德国IKA公司。

1.3 方法

1.3.1 混合凝胶的制备

冷冻鱼糜、蟹肉解冻 (4 °C) → 斩拌 (2% NaCl和0.3% TG) → 手动灌肠 → 二段水浴加热 → 冰水冷却 → 4 °C放置过夜 → 测定凝胶性质

蟹肉比例: 蟹肉比例取5%、10%、15%、20%、25%, 同鱼糜混合斩拌后灌肠, 一段水浴40 °C处理1 h, 二段水浴90 °C处理30 min; 凝胶化温度: 蟹肉比例取10%, 同鱼糜混合斩拌后灌肠, 一段水浴分别30、35、40、45、50 °C处理1 h, 二段水浴90 °C处理30 min; 凝胶化时间: 蟹肉比例取10%, 同鱼糜混合斩拌后灌肠, 一段水浴40 °C分别处理1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h, 二段水浴90 °C处理30 min。

1.3.2 凝胶强度的测定

将过夜放置的鱼肠剥去外衣, 切割成20 mm高的圆柱体, 通过TA-XT plus物性仪测量其凝胶特性, 包括破断力、破断距离和凝胶强度。具体参数为: P/5S球形探头 (直径5 mm), 触发类型Auto (Force), 预压速率1 mm/s, 下压速率1.5 mm/s, 测试速率1.0 mm/s, 回复速率3.0 mm/s, 下压距离15 mm, 感应力5.0 g。每组样品平行测6次。

1.3.3 持水性的测定

将过夜放置的凝胶切成约2 mm的薄片, 等分4份后摊放在两层滤纸上包裹好, 放入离心管中, 温度18 °C、6 640×g离心10 min, 测定其持水性, 每组平行测定3次, 结果取平均值。持水性计算公式为:

$$\text{持水性}/\% = \frac{w_2}{w_1} \times 100$$

式中： w_1 为离心前质量/g； w_2 为离心后质量/g。

1.3.4 SDS-PAGE检验

参考Kudre等^[23]并略作修改。取3 g凝胶样品同27 mL的5% SDS溶液均质混合，之后于85 °C水浴中加热1 h，再将其于10 380×g离心10 min。取上清液与样品缓冲液（4 mL 10% SDS，2 mL甘油，1 mL β-巯基乙醇，2.5 mL 0.5 mol/L Tris-HCl (pH 6.8) 和0.03 g溴酚蓝）按照1:1 (V/V) 比例进行混合，沸水浴5 min，配制5%浓缩胶、10%分离胶，上样10 μL，恒压100 V电泳。SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳（polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE）完后用0.1%考马斯亮蓝R-250染色，醋酸甲醇溶液脱色，最后在凝胶成像仪上成像。

1.3.5 扫描电镜观察

将样品切成3 mm×3 mm×3 mm小块，在4 °C条件下用2.5%戊二醛固定液浸泡24 h，再用0.1 mol/L磷酸缓冲液（pH 7.2）浸泡清洗15 min，重复3次。然后依次用50%、60%、70%、90%、100%乙醇逐级脱水各10 min。脱水处理后的样品用冷冻干燥机干燥，在真空下喷金后进行扫描电镜观察并拍照。

1.4 数据处理

根据单因素试验结果，以凝胶强度和持水性为响应值，采取Box-Behnken设计并结合响应面分析，获得最佳工艺条件，并用Design-Expert 8.5软件进行分析，所有数据表示为 $\bar{x} \pm s$ ，并通过软件SPSS 20.0进行显著性检验， $P < 0.05$ 表示差异显著。

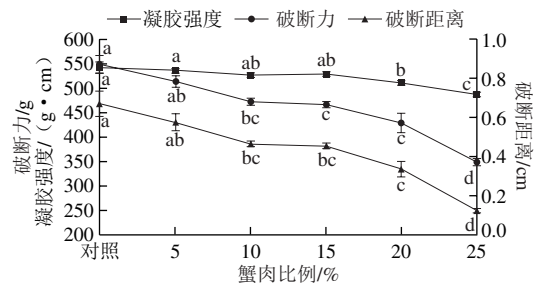
2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 蟹肉比例对混合凝胶强度和持水性的影响

鱼糜凝胶强度是指凝胶崩裂或断裂时单位面积所受的力，反应凝胶内部结构的坚实程度^[24]；破断力可以反映出凝胶的硬度，破断力越大，凝胶硬度越高；破断距离可以反映出凝胶的弹性，破断距离越大，弹性越大。由图1可知，随着蟹肉比例的提高，破断力、破断距离以及凝胶强度均呈下降趋势，其中，对照组（不添加蟹肉）与蟹肉比例5%两组间的3个指标差异均不显著（ $P > 0.05$ ），蟹肉比例5%、10%、15%之间凝胶强度与破断距离差异不显著（ $P > 0.05$ ）。由于蟹肉中含有较多的肌浆蛋白、脂质等杂质，会影响肌原纤维蛋白的交联，因此添加蟹肉对白鲢鱼糜凝胶强度的提升呈负效应^[25]。而对于持水性而言，添加蟹肉可以略微提高白鲢鱼糜的持水性。如图2所示，随着蟹肉比例从0%提高到25%，鱼糜持水性从72.30%提升到78.74%，但是除对照

组与蟹肉比例25%两组之间差异显著外（ $P < 0.05$ ），其他各组之间并无显著性差异；且当蟹肉比例继续提高时，持水性同样呈下降趋势（蟹肉比例增加到30%、40%、50%时，持水性分别下降到77.31%、73.65%、69.60%）。Li Qingzheng等^[26]的研究表明，添加TG后，猪肉与白鲢鱼肉按照7:3添加时凝胶特性最好，说明不同肉类蛋白在混合体系中可能会出现交互作用，从而提升混合肉类的品质。这种不同肉类蛋白间的交互作用，可能是导致添加少量蟹肉后持水性上升的原因。综上，添加蟹肉会降低鱼糜凝胶强度，但在添加量较少时，对于其持水性有一定的提升作用。



不同字母表示差异显著（ $P < 0.05$ ）。下同。
图1 蟹肉比例对鱼糜与蟹肉混合凝胶强度的影响
 Fig. 1 Effect of crab meat proportion on gel strength of surimi/crab meat mixed gel

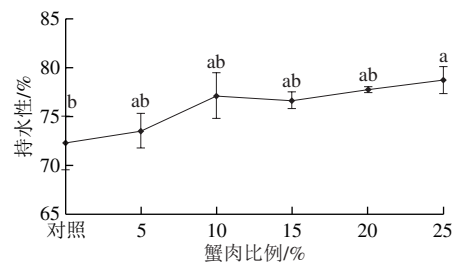


图2 蟹肉比例对鱼糜与蟹肉混合凝胶持水性的影响
 Fig. 2 Effect of crab meat proportion on WHC of surimi/crab meat mixed gel

2.1.2 凝胶化温度对混合凝胶强度、持水性的影响

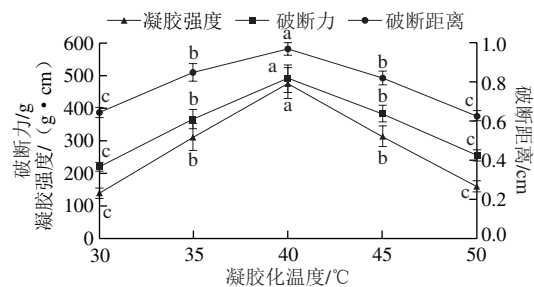


图3 凝胶化温度对鱼糜与蟹肉混合凝胶强度的影响
 Fig. 3 Effect of gelation temperature on gel strength of surimi/crab meat mixed gel

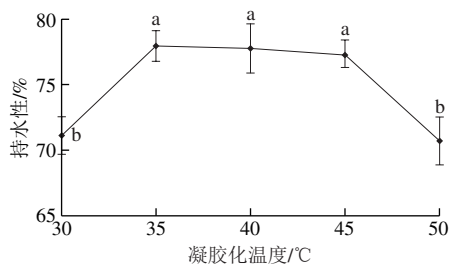


图4 凝胶化温度对鱼糜与蟹肉混合凝胶持水性的影响

Fig. 4 Effect of gelation temperature on WHC of surimi/crab meat mixed gel

由图3可知,随着凝胶化温度的升高,凝胶强度呈现先上升后下降的趋势,当凝胶化温度为40℃时,无论是破断距离、破断力,还是凝胶强度,均达到最大值,且与35℃和45℃相比差异显著($P<0.05$)。严菁^[27]的研究表明,鲑鱼鱼糜的最适凝胶化温度为37℃,本研究进一步表明,当鲑鱼鱼糜与少量蟹肉混合时,其最适凝胶化温度仍在37℃附近,并无明显变化。白鲑鱼糜较适宜的凝胶化温度为35~40℃,但当温度升高至50~70℃时,内源性蛋白酶被激活,鱼糜凝胶开始劣化,已经形成稳定有序的三维网状结构崩解,导致凝胶强度减弱,持水性降低^[5]。由图4可知,凝胶化温度为35、40、45℃三组的凝胶持水性均较高,且差异不显著($P>0.05$),但随着温度继续升高时,鱼糜凝胶进入凝胶劣化温度区间,导致持水性呈急剧下降趋势($P<0.05$)。

2.1.3 凝胶化时间对混合凝胶强度、持水性的影响

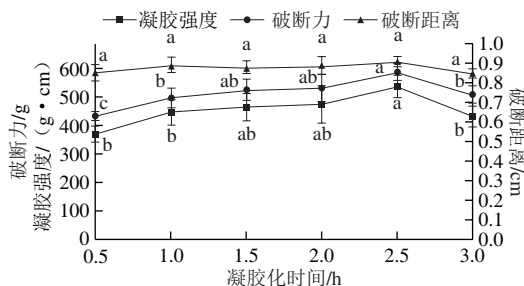


图5 凝胶化时间对鱼糜与蟹肉混合凝胶强度的影响

Fig. 5 Effect of gelation time on gel strength of surimi/crab meat mixed gel

由图5可知,随着凝胶化时间的长,凝胶强度、破断力及破断距离均呈先增加后降低的趋势,且在2.5h时达到最大值,此时凝胶强度为547.62 g·cm、破断力为599.54 g、破断距离为0.91 cm,但是1.5、2.0、2.5 h三组之间并无显著性差异($P>0.05$)。严菁等^[28]的研究表明,添加10 U/g TGase的鲑鱼鱼糜,凝胶化时间为2.0 h时凝胶强度最高,为544.15 g·cm。本研究结果表明,蟹肉与鱼肉肌原纤维蛋白之间可能需要更长的时间完成交联。由图6可知,添加10%蟹肉后,凝胶化时间为2.0 h时持水性最大,但是不同组之间并无显著性差异($P>0.05$),这说明凝胶化时间对持水性并无显著性影响。

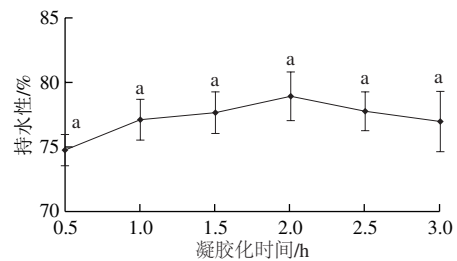


图6 凝胶化时间对鱼糜与蟹肉混合凝胶持水性的影响

Fig. 6 Effect of gelation time on WHC of surimi/crab meat mixed gel

2.2 响应面优化分析

2.2.1 回归模型的建立

在单因素试验的基础上,选择凝胶化温度、凝胶化时间和蟹肉比例作为考察因素,采用3因素3水平的试验方法,根据Box-Behnken设计原理,选择持水性和凝胶强度作为响应值,进行响应面分析,结果见表1。

表1 响应面试验设计及结果

Table 1 Experimental design and results for response surface analysis

试验号	A凝胶化温度/℃	B凝胶化时间/h	C蟹肉比例/%	R_1 凝胶强度/(g·cm)	R_2 持水性/%
1	1 (35)	0 (2.5)	-1 (5)	232.45	66.73
2	0 (40)	0	0 (10)	477.93	75.17
3	-1 (45)	-1 (2.0)	0	508.98	77.16
4	0	0	0	448.86	76.49
5	0	-1	1 (15)	384.85	77.17
6	-1	0	-1	517.94	77.13
7	0	-1	-1	474.58	75.36
8	1	1 (3.0)	0	226.35	66.08
9	0	0	0	462.90	74.00
10	1	-1	0	228.24	70.89
11	0	1	-1	403.17	74.24
12	-1	0	1	475.18	76.56
13	-1	1	0	575.07	78.25
14	1	0	1	178.29	68.57
15	0	1	1	390.63	76.49

2.2.2 凝胶强度显著性检验和方差分析

通过Design-Expert数据分析软件对表1数据进行处理,得到凝胶强度(R_1)对凝胶化温度(A)、凝胶化时间(B)、蟹肉比例(C)的多元回归方程:

$$\text{凝胶强度 } R_1 = -3685.75 + 213.29A + 356.62B + 13.73C - 6.80AB - 0.11AC + 7.72BC - 2.82A^2 - 32.45B^2 - 1.67C^2$$

由表2可知,该模型 $P=0.0003 < 0.01$,表明模型极显著;失拟项 $P=0.2169 > 0.05$,表明失拟不显著;回归模型决定系数 $R^2=0.9871$,表明上述方程的拟合性较好;变异系数5.94% $< 10\%$,表明该回归模型具备重复实验的稳定性。表2表明,A、C、 A^2 、 C^2 回归系数显著($P<0.05$),说明凝胶化温度与蟹肉比例对凝胶强度影响显著,尤其是凝胶化温度影响极显著($P<0.01$),而A、B、C之间的交互作用并不显著($P>0.05$)。3个因素对凝胶强度影响的次序为凝胶化温度>蟹肉比例>凝胶化时间。

表2 凝胶强度的显著性检验和方差分析

Table 2 Significance test and analysis of variance of the effect of various factors on gel strength

变异来源	自由度	平方和	均方	F值	P值
模型	9	2.145×10 ⁵	23 828.04	42.39	0.000 3**
A凝胶化温度	1	1.836×10 ⁵	1.836×10 ⁵	326.56	<0.000 1**
B凝胶化时间	1	0.26	0.26	4.542×10 ⁻⁴	0.983 8
C蟹肉比例	1	4 959.85	4 959.85	8.82	0.031 1*
AB	1	1 155.16	1 155.16	2.05	0.212
AC	1	32.47	32.47	0.058	0.819 6
BC	1	1 489.53	1 489.53	2.65	0.164 5
A ²	1	18 327.98	18 327.98	32.60	0.002 3*
B ²	1	243.04	243.04	0.43	0.539 9
C ²	1	6 453.43	6 453.43	11.48	0.019 5*
残差	5	2 810.68	562.14		
失拟	3	2 387.84	795.95	3.76	0.216 9
纯误差	2	422.84	211.42		
总和	14	2.173×10 ⁵			
R ²	0.987 1				
变异系数	5.94%				

注: *.影响显著, P<0.05; **.影响极显著, P<0.01。表3同。

2.2.3 凝胶持水性显著性检验和方差分析

表3 持水性的显著性检验和方差分析

Table 3 Significance test and analysis of variance of the effect of various factors on WHC

变异来源	自由度	平方和	均方	F值	P值
模型	9	220.19	24.47	26.96	0.001 0*
A凝胶化温度	1	169.56	169.56	186.82	<0.000 1**
B凝胶化时间	1	3.80	3.80	4.18	0.096 2
C蟹肉比例	1	3.54	3.54	3.90	0.105 1
AB	1	8.69	8.69	9.58	0.027 0*
AC	1	1.45	1.45	1.59	0.262 5
BC	1	0.047	0.047	0.052	0.828 2
A ²	1	29.82	29.82	32.85	0.002 3*
B ²	1	1.93	1.93	2.12	0.204 8
C ²	1	0.058	0.058	0.063	0.811 2
残差	5	4.54	0.91		
失拟	3	1.43	0.48	0.31	0.822 9
纯误差	2	3.11	1.55		
总和	14	224.73			
R ²	0.979 8				
变异系数	1.29%				

通过Design-Expert数据分析软件对表1数据进行处理, 得到持水性 (R₂) 关于凝胶化温度 (A)、凝胶化时间 (B)、蟹肉比例 (C) 3个因素的多元回归方程: 持水性R₂=-98.40+9.41A+7.32B-0.84C-0.59AB+0.02AC+0.04BC-0.11A²+2.89B²-0.005C²

由表3可知, 该模型P=0.001, 表明模型显著; 失拟项P=0.822 9>0.05, 表明失拟不显著 (P>0.05); 回归模型决定系数R²=0.979 8, 表明上述方程的拟合性较好; 变异系数CV=1.29%<10%, 表明该回归模型具备重复实验的稳定性。表3表明, A、AB、A²对凝胶强度有显著影响 (P<0.05), 尤其是凝胶化温度对持水性影响极显著P<0.01, A、B之间的交互回归系数显著, 说明凝胶化温度与凝胶化时间之间存在一定的交互作用。3个因素对持水性影响的次序为: 凝胶化温度>凝胶化时间>蟹肉比例。

2.2.4 响应面优化方案

响应面分析最佳工艺条件为: 蟹肉比例9.87%, 凝胶化时间3.0 h, 凝胶化温度34.03 °C。此工艺条件下, 混合凝胶强度预测值为555.68 g·cm, 持水性为78.45%。

2.3 验证实验

2.3.1 不同工艺处理后的混合凝胶特性

传统鱼肠的凝胶形成工艺参数通常设定为: 一段水浴 (40 °C) 1.0 h, 二段水浴 (90 °C) 30 min, 不添加TG和蟹肉; 而本研究得到的优化混合肠工艺 (在响应面优化方案结果的基础上进行了适当调整) 参数为: 一段水浴 (35 °C) 3.0 h, 二段水浴 (90 °C) 30 min, 添加0.3% TG和10%蟹肉; 同时, 设置一组优化对照试验, 其参数设定为: 一段水浴 (35 °C) 3.0 h, 二段水浴 (90 °C) 30 min, 添加10%蟹肉, 不添加TG。

表4 混合凝胶特性验证试验结果

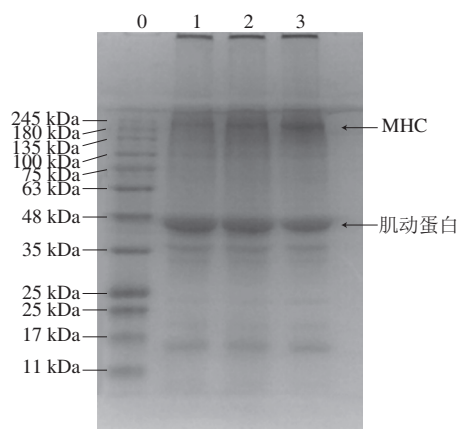
Table 4 Comparison of gel properties of surimi/crab meat mixed gels with and without TG and traditional fish sausage

加工工艺	破断力/g	破断距离/cm	凝胶强度/(g·cm)	持水性/%
传统鱼肠	452.53±20.20 ^b	0.90±0.04 ^d	409.40±28.92 ^b	77.93±0.71 ^a
优化混合肠 (加TG)	609.39±35.60 ^a	0.95±0.04 ^d	578.74±50.24 ^a	77.12±1.70 ^{ab}
优化对照 (无TG)	472.65±33.22 ^b	0.90±0.03 ^d	428.69±44.28 ^b	74.48±1.27 ^b

注: 字母不同表示差异显著 (P<0.05)。

表4表明, 与传统鱼肠相比, 优化后的鱼糜与蟹肉混合肠 (加TG), 其凝胶强度有显著的提升 (P<0.05), 持水性略有降低, 但并不显著 (P>0.05); 与优化对照 (无TG) 相比, 添加TG后, 不仅鱼糜与蟹肉混合肠的凝胶强度得到显著提升 (P<0.05), 而且持水性也略有增加 (P>0.05), 这充分表明添加TG可以改善鱼糜与蟹肉混合肠的凝胶特性。

2.3.2 不同工艺处理后混合凝胶的SDS-PAGE分析



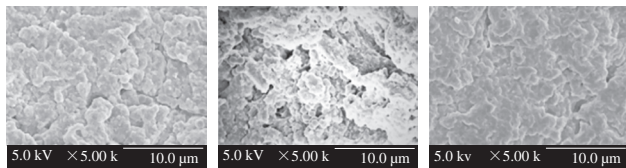
0.标准蛋白; 1.优化混合肠 (加TG); 2.优化对照 (无TG); 3.传统鱼肠。

图7 鱼糜蟹肉混合凝胶SDS-PAGE图

Fig. 7 SDS-PAGE analysis of protein patterns of surimi/crab meat mixed gels and traditional fish sausage

由图7可知,在3种工艺条件下,肌动蛋白电泳条带几乎相同,表明凝胶化时间的改变、蟹肉以及TG的添加并不改变肌动蛋白的含量。鱼糜凝胶形成过程中,肌球蛋白重链(myosin heavy chain, MHC)通过非二硫共价键(主要为 ϵ -(γ -Glu)-Lys)相互交联形成MHC聚集体,由于其分子质量过大,在电泳时难以通过浓缩胶进入分离胶,导致MHC带的减少。因此,电泳带中MHC的含量可以反映出凝胶形成过程中非二硫共价键的含量, MHC残留越少,非二硫共价键形成的越多。3个电泳带中, MHC依次增加,优化混合肠与优化对照组相比,前者的MHC含量较少,而肌动蛋白含量几乎无差异,表明蟹肉与鱼糜中的MHC才是TG作用的主要底物而非肌动蛋白,该作用过程中TG通过促进非二硫共价键的形成,产生了更多的MHC聚集体,构成凝胶骨架,从而形成更为致密、紧固的凝胶结构,这与Chanarat等^[29-30]的研究结果相一致。

2.3.3 不同工艺处理下混合凝胶扫描电镜结果



A.优化混合肠(加TG) B.优化对照(无TG) C.传统鱼肠

图8 鱼糜蟹肉混合凝胶扫描电镜图

Fig. 8 Scanning electron microscopic images of surimi/crab meat mixed gels with and without TG and traditional fish sausage

由图8可知,与未添加TG的优化对照组相比,优化混合肠的凝胶微观结构相对致密、平滑,其表面间隙减小,这是因为在TG作用下,蟹肉与鱼糜形成更多的MHC聚集体,蛋白排列更为紧密,Chanarat等^[30]在研究微生物谷氨酰胺转氨酶对印度鲮鱼(*Rastrelliger kanagurta*)分离蛋白凝胶特性的影响时也观察到类似现象。但是与传统鱼肠相比,优化混合肠微观结构略显松散,其原因可能与蟹肉中残留的水解酶、脂类等有关,这些残留物会对鱼糜和蟹肉混合肠的凝胶性能造成一定影响^[25]。此外,这也可能与对鱼糜和蟹肉混合肠的凝胶化时间较传统鱼肠更长有关(图5),即两种不同肉类蛋白之间难以在短时间内完成充分交联。目前,这两种不同肉类蛋白之间的相互作用情况及机制尚未完全研究清楚。

3 结论

在单因素试验结果的基础上,采取Box-Behnken设计并结合响应面分析确定最佳方案为蟹肉比例10%、凝胶化时间3.0 h、凝胶化温度35℃。验证实验表明,优化后

的鱼糜与蟹肉混合肠比传统鱼肠具有更高的凝胶强度; SDS-PAGE结果表明,添加TG的优化方案组,其MHC带明显减少,而肌动蛋白带几乎无差别,这表明TG的主要作用底物为MHC,使之形成MHC聚集体从而增强凝胶骨架的稳定性。扫描电镜结果表明,添加TG使得蟹肉与白鲢鱼糜混合凝胶表面更均匀、致密。但是有关鱼糜与蟹肉蛋白之间的相互作用、蟹肉对混合凝胶化学作用力的影响、以及对凝胶蛋白分子结构的影响还有待今后进一步研究。

参考文献:

- [1] 农业部渔业局. 中国渔业统计年鉴[G]. 北京: 中国农业出版社, 2018: 25-26.
- [2] ZHOU X, CHONG Y, DING Y, et al. Determination of the effects of different washing processes on aroma characteristics in silver carp mince by MMSE-GC-MS, e-nose and sensory evaluation[J]. Food Chemistry, 2016, 207: 205-213. DOI:10.1016/j.foodchem.2016.03.026.
- [3] 任宏伟, 胡柳. 我国鱼糜制品现状及发展态势[J]. 中国水产, 2010(8): 25-26. DOI:10.3969/j.issn.1002-6681.2010.08.012.
- [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. DOI:10.11869/j.issn.100-8551.2015.09.1766.
- [5] 张怡, 陈秉彦, 曾红亮, 等. 肌原纤维蛋白与鱼糜凝胶特性相关性概述[J]. 亚热带农业研究, 2016, 12(1): 13-24.
- [6] 闫虹, 林琳, 叶应旺, 等. 两种微波加热处理方式对白鲢鱼糜凝胶特性的影响[J]. 现代食品科技, 2014, 30(4): 196-204.
- [7] OUIJIFARD 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. DOI:10.1016/j.foodhyd.2012.12.023.
- [8] 陆剑锋, 邓伟, 林琳, 等. 白鲢鱼糜低钠复合盐配方响应面法优化[J]. 农业机械学报, 2012, 43(10): 143-150. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2012.10.026.
- [9] ZHOU X X, CHEN T, LIN H H, et al. Physicochemical properties and microstructure of surimi treated with egg white modified by tea polyphenols[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 90: 82-29. DOI:10.1016/j.foodhyd.2018.07.031.
- [10] TABILO-MUNIZAGA G, BARBOSA-CANOVAS G V. Pressurized and heat-treated surimi gels as affected by potato starch and egg white: microstructure and water-holding capacity[J]. LWT-Food Science and Technology, 2005, 38(1): 47-57. DOI:10.1016/j.lwt.2004.04.013.
- [11] 陈斌, 朱志伟, 阮征, 等. 卡拉胶和转谷氨酰胺酶复合对热处理罗非鱼鱼糜肠凝胶性能的影响[J]. 现代食品科技, 2015, 31(9): 212-217. DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.9.035.
- [12] PETCHARAT T, BENJAKUL S. Effect of gellan incorporation on gel properties of bigeye snapper surimi[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 77: 746-753. DOI:10.1016/j.foodhyd.2017.11.016.
- [13] 王燕. 低值淡水鱼鱼糜及制品品质的改良和质地评价研究[D]. 武汉: 武汉轻工大学, 2013: 52-53.
- [14] DONDERO M, FIGUEROA V, MORALES X, et al. Transglutaminase effects on gelation capacity of thermally induced beef protein gels[J]. Food Chemistry, 2006, 99(3): 546-554. DOI:10.1016/j.foodchem.2005.08.022.
- [15] GASPARD A L, DE GÓES-FAVONI S P. Action of microbial transglutaminase (MTGase) in the modification of food proteins:

- a review[J]. Food Chemistry, 2015, 171: 315-322. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.09.019.
- [16] AMIRDIVANI S, KHORSHIDIAN N, FIDELIS M, et al. Effects of transglutaminase on health properties of food products[J]. Current Opinion in Food Science, 2018, 22: 74-80. DOI:10.1016/j.cofs.2018.01.008.
- [17] 张梦玲, 张晋, 熊善柏, 等. 转谷氨酰胺酶及其在鱼糜制品加工中的应用[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(24): 190-195. DOI:10.3969/j.issn.1005-6521.2016.24.046.
- [18] 贾丹, 刘茹, 刘明菲, 等. 转谷氨酰胺酶对鳙鱼糜热诱导胶凝特性的影响[J]. 食品科学, 2013, 34(9): 37-41. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201309009.
- [19] KUDRE T G, BENJAKUL S. Combining effect of microbial transglutaminase and bambara groundnut protein isolate on gel properties of surimi from sardine (*Sardinella albella*)[J]. Food Biophysics, 2013, 8(4): 240-249. DOI:10.1007/s11483-013-9292-5.
- [20] 董鹏生, 刘青, 吴旭干, 等. 中华绒螯蟹一龄性早熟和二龄成熟家系扣蟹阶段生长和早熟的比较研究[J]. 上海海洋大学学报, 2016, 25(1): 51-60. DOI:10.12024/jsou.20150501450.
- [21] CHANG G, WU X, CHENG Y, et al. Reproductive performance, offspring quality, proximate and fatty acid composition of normal and precocious Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*)[J]. Aquaculture, 2017, 469: 137-143. DOI:10.1016/j.aquaculture.2016.11.025.
- [22] 李文利, 刘元雪, 陈舜胜, 等. 醉蟹生产工艺的优化[J]. 中国食品工业, 2016(6): 69-73. DOI:10.3969/j.issn.1006-6195.2016.03.028.
- [23] KUDRE T, BENJAKUL S, KISHIMURA H. Effects of protein isolates from black bean and mungbean on proteolysis and gel properties of surimi from sardine (*Sardinella albella*)[J]. LWT-Food Science and Technology, 2013, 50(2): 511-518. DOI:10.1016/j.lwt.2012.08.018.
- [24] 张小燕, 张娜, 宋志强, 等. 猪肉盐溶蛋白质超高压诱导凝胶品质研究[J]. 食品与发酵科技, 2012, 48(6): 32-36. DOI:10.3969/j.issn.1674-506X.2012.06-008.
- [25] HERNÁNDEZ-ROBLEDO V, MALDONADO M Á M, URESTI-MARÍN R M, et al. Effect of washing treatment and microbial transglutaminase on the gelling properties of blue crab (*Callinectes sapidus*) proteins[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 35(3): 264-269. DOI:10.1080/19476337.2016.1156771.
- [26] LI Q, GUI P, HUANG Z, et al. Effect of transglutaminase on quality and gel properties of pork and fish mince mixtures[J]. Journal of Texture Studies, 2017, 49(2): 59-64. DOI:10.1111/jtxs.12281.
- [27] 严菁. 转谷氨酰胺酶对淡水鱼糜凝胶特性的影响[D]. 武汉: 华中农业大学, 2003: 20-21. DOI:10.7666/d.Y547802.
- [28] 严菁, 熊善柏, 李清亮. 转谷氨酰胺酶对淡水鱼糜制品凝胶强度的影响[J]. 食品科学, 2002, 23(8): 59-62. DOI:10.3321/j.issn:1002-6630.2002.08.009.
- [29] 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. DOI:10.1016/j.foodhyd.2012.09.001.
- [30] 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. DOI:10.1016/j.foodchem.2012.09.021.