

糖基化反应对提高鱼糜蛋白质凝胶性的影响

周锦晶^{1,2}, 吴红³, 徐欢³, 肖功年^{1,2}

(1. 浙江科技学院 生物与化学工程学院, 杭州 310023;

2. 浙江省农产品化学与生物加工技术重点实验室, 杭州 310023; 3. 杭州唯新食品有限公司, 杭州 310052)

摘要: 糖基化技术是改善蛋白质功能特性的一种有效方法。为了开发高强度凝胶性能的鱼糜制品, 扩大其综合利用率, 选取壳聚糖作为糖基体, 通过壳聚糖添加量、加热温度和加热时间等糖基化反应条件对鱼糜凝胶制备工艺进行了研究。结果表明: 以凝胶特性(凝胶强度和持水力)为衡量指标, 在质量分数 14% 淀粉基础上, 添加 0.4% 的壳聚糖, 采用第一阶段加热温度为 40 °C、加热时间为 60 min, 第二阶段加热温度为 90 °C、加热时间为 30 min 的二段加热法具有较佳的效果。

关键词: 鱼糜蛋白质; 凝胶性; 壳聚糖; 糖基化技术

中图分类号: TS254.5

文献标志码: A

文章编号: 1671-8798(2012)01-0048-06

Improvement of glycosylation technology in properties of surimi protein

ZHOU Jin-jing^{1,2}, WU Hong³, XU Huan³, XIAO Gong-nian^{1,2}

(1. School of Biological and Chemical Engineering, Zhejiang University of Science and Technology, Hangzhou 310023;

2. Zhengjiang Provincial Key Laboratory for Chemical and Biological Processing Technology of Agricultural Products, Hangzhou 310023, China; 3. Hangzhou Weixin Food Co., Ltd., Hangzhou 310052, China)

Abstract: Glycosylation technology is an effective method of improving functional property of protein. In order to develop the high strength performance of surimi products and maximize the efficiency of its use, chitosan was chosen as sugar matrix. For gelation, the heating temperature and heating time were also considered. The results showed that the better conditions were as follows: content of starch 14%, chitosan addition 0.4%, heating temperature 40 °C and heating time 60 min in the first stage, and 90 °C and 30 min in the second stage.

Key words: surimi protein; gelation; chitosan; glycosylation technology

收稿日期: 2011-09-07

基金项目: 杭州市产学研项目(20092632E46)

作者简介: 周锦晶(1988—), 女, 浙江省上虞人, 2010 级食品科学与工程专业本科生。

通讯作者: 肖功年, 男, 副教授, 博士, 主要从事食品添加剂与配料研究。

鱼糜制品是新鲜鱼肉经擂溃、斩拌、成形等过程而制成的凝胶食品,是海洋食品加工中的一种重要功能性原料,是全球生产、消费量最大的水产食品之一^[1]。衡量鱼糜制品品质的主要指标有凝胶强度、口味、质地和形态等,而凝胶性能是衡量鱼糜制品品质的重要指标,它直接影响到鱼糜制品的商业价值。

国内外大量的实验研究表明,蛋白质用还原糖进行糖基化修饰能提高食品蛋白质的功能特性,尤其是凝胶特性。糖基化修饰的主要方法有水溶性碳化二亚胺法和美拉德反应法^[2]。其中美拉德反应是一种在食品工业中常见的蛋白质糖基化反应,它是还原糖与蛋白质分子上游离赖氨酸的 α -NH₂或 ϵ -NH₂共价连接而形成糖蛋白的过程。该方法是一个自然、自发的反应,不需要外加化学试剂,加热就可以很大程度地加速该反应的进程^[3]。早在1948年Ferry就指出,蛋白质形成凝胶的机理是蛋白质受热而变性展开,受热变性展开的蛋白质基因因聚合作用而形成较大分子的凝胶体。糖基化接枝反应可增加蛋白质相对分子质量及有利于形成蛋白质空间网络,从而增强了蛋白质空间位阻作用,减少了蛋白质在预凝胶状态下形成聚集物所需要的单体数目;蛋白质在单体数目一定的条件下,形成了更多数量的胶体粒子和更致密的空间网络结构^[4]。

Handa和Kuroda研究了美拉德反应蛋白粉和葡萄糖之间的相互作用,发现其在特定的控制条件下能提高蛋白粉的凝胶特性。许雅琴、杨严俊采用果胶酶水解果胶、盐酸水解魔芋胶和瓜尔豆胶的方式得到了3种胶的水解产物,并将其分别与脱糖鸡蛋粉进行美拉德反应。发现所得蛋白粉-瓜尔豆胶复合物的凝胶强度达1 351.3 cN(1 378.9 g),比普通蛋白粉提高了1 207%,且反应后蛋白粉的色泽、消化性、溶解性均可接受^[5]。而目前将此技术应用于改善鱼糜蛋白质凝胶性的研究较少,因此,笔者尝试开展糖基化技术提高鱼糜蛋白质的凝胶性研究。通过研究壳聚糖添加量、加热温度和加热时间等单因素对鱼糜制品凝胶强度和持水力的影响,以为鱼糜制品新产品的开发和产品质量的提高提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验材料

冷冻鱼糜,杭州唯新食品有限公司;壳聚糖(脱乙酰度 $\geq 90.0\%$),生化试剂,上海伯奥生物科技有限公司;食盐,食品级,浙江省盐业集团有限公司;可溶性淀粉(AR),国药集团化学试剂有限公司;实验室常规试剂等。

1.1.2 主要仪器与设备

Texture Analyser, TA.XT Plus,英国 Stable Micro System 公司;电热恒温水浴锅,DKS-24,杭州蓝天化验仪器厂;九阳料理机,JYL-350,山东九阳小家电有限公司;电子天平,SCA-210,奥豪斯国际贸易(上海)有限公司;砧板,刀,筷子,实验室常规玻璃仪器等。

1.2 试验方法

1.2.1 质量分数14%淀粉和不同壳聚糖添加量的鱼糜凝胶的制备

取冷藏鱼糜500 g,半解冻后细切为小丁,用料理机在10℃以下空擂5 min,添加质量分数2.5%食盐继续盐擂15 min,然后加入不同添加量的壳聚糖(添加量分别为0、0.2%、0.4%、0.6%、0.8%、1.0%)和14%淀粉进一步擂溃5 min,再将鱼糜制成直径约为30 mm的鱼丸,加热后将鱼丸在冰水浴中冷却,待测。

1.2.2 不同加热温度下鱼糜凝胶的制备

取冷藏鱼糜500 g,半解冻后细切为小丁,用料理机在10℃以下空擂5 min,添加质量分数2.5%食盐继续盐擂15 min,然后添加14%淀粉进一步擂溃5 min,再将鱼糜制成直径约为30 mm的鱼丸,采用二段加热法进行加热,先是将制品分别在30、35、40、45、50、55℃条件下加热60 min,然后在90℃下加热30 min,加热后将鱼丸在冰水浴中冷却,待测。

1.2.3 不同加热时间下鱼糜凝胶的制备

取冷藏鱼糜500 g,半解冻后细切为小丁,用料理机在10℃以下空擂5 min,添加2.5%食盐继续盐擂

15 min,然后添加 14%淀粉进一步擂溃 5 min,再将鱼糜制成直径约为 30 mm 的鱼丸,采用二段加热法进行加热,先是将制品在 40 ℃ 条件下分别加热 30、60、90、120 min,然后在 90 ℃ 下加热 30 min,加热完以后将鱼丸在冰水浴中冷却,待测。

1.3 测试方法

1.3.1 凝胶强度的测定

制备好的鱼丸采用质构仪(TA.XT Plus)分析其凝胶强度^[6]。采用 A/CKB 探头,测试参数如下:测前速度为 2 mm/s 的速度,测试速度为 1 mm/s,测试后速度为 10 mm/s,压缩深度为 15 mm(约为凝胶总高度的 50%)。通过分析穿刺至相同深度的同一批样品中达到其对应曲线上最高峰处所需力的大小来比较其凝胶强度。

1.3.2 持水力的测定

采用重物挤压滤纸吸收法^[7],将切成厚度为 3 mm 薄片的鱼肠片段夹在上下各 3 层滤纸中间,用重物(5 kg)挤压 2 min,称量前后质量的变化作为持水性的参照。持水力按下式计算:

持水力/%=(挤压后鱼肠质量/挤压前鱼肠质量)×100

每组试验重复 4 次,试验结果为 4 次测定结果的平均值。

2 结果与分析

2.1 壳聚糖添加量对鱼糜蛋白质凝胶强度的影响

淀粉是鱼糜制品加工中最重要的填充剂,能增强鱼糜制品的刚性和凝胶强度,改善组织结构,减低生产成本。刘鑫等^[8]研究发现,淀粉添加量(质量分数)在 0%~20%之间时,随着淀粉添加量的增加,鱿鱼鱼糜凝胶的凝胶强度和持水力不断增大,二者呈现正相关的对应关系;且添加质量分数 20%马铃薯淀粉比添加 8%马铃薯淀粉的凝胶结构更致密、均匀。根据《中华人民共和国水产行业标准》(SC/T 3701—2003)规定,冷冻鱼糜中淀粉的添加量含量要求为≤15%,且淀粉添加量大也会影响其口感。因此,选取 14%淀粉作为填充剂,一则改善鱼糜制品的凝胶特性和品质,二则降低生产成本。

壳聚糖(Chitosan)是自然界中少见的阳离子多糖,它在食品中的应用主要有以下几种功能:抑制食品中有害微生物生长繁殖;增强制品凝胶特性,提高制品的保水力;延缓食品中脂肪的氧化速率^[9]。张茜,夏文水^[10]研究发现:将壳聚糖添加到鲢鱼糜制品中,随着壳聚糖添加量的增加,鱼糜凝胶强度、全质构(TRA)都有明显的增加,持水力减少,添加 1.0%壳聚糖的鱼糜凝胶强度与添加质量分数 4.0%淀粉的鱼糜凝胶强度相当。添加不同量(质量分数)壳聚糖制得的产品凝胶强度试验结果见图 1。

由图 1 可以看出,当 14%淀粉和不同添加量的壳聚糖复配添加时,鱼糜制品的凝胶强度随着壳聚糖添加量的增加而增加,当添加量为 0.4%时,鱼糜蛋白质凝胶强度达到最大值,此时破断强度为 25.9 N,相较于对照样(破断强度为 22.2 N)提高了 16.7%。这主要是因为鱼糜蛋白质分子上游离赖氨酸的 α-NH₂ 或 ε-NH₂ 与壳聚糖

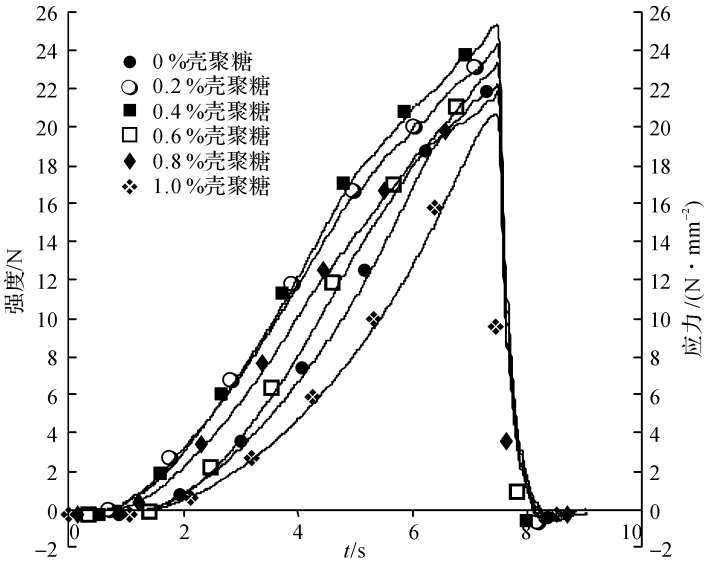


图 1 质量分数 14%淀粉与不同壳聚糖添加量对鱼糜蛋白质凝胶强度的影响

Fig. 1 Effect of 14% starch and chitosan addition amount on Gel strength of surimi protein

的还原性末端发生糖基化接枝反应,形成了糖蛋白,增加了蛋白质的相对分子质量,同时也引起了蛋白质结构无序性的增加,改善了蛋白质分子结构,形成了更加致密的空间网状结构;又由于鱼糜蛋白质表面接枝上的壳聚糖分子含有大量的羟基基团,有利于凝胶形成后期分子间氢键的形成,使蛋白质形成相当有序的凝胶网络,从而提高了鱼糜制品的凝胶强度^[11]。但当添加量超过 0.4%后,反而随着添加量的增加,凝胶强度逐渐降低。这可能是因为壳聚糖比较难与水分子结合,反而影响了糖基化反应。

2.2 壳聚糖添加量(质量分数)对鱼糜凝胶持水力的影响

林毅等^[12]研究了水溶性壳聚糖对梅鱼鱼丸储藏过程中凝胶特性的影响,发现添加一定浓度的壳聚糖可显著提高鱼糜制品的凝胶强度,提高硬度、弹力和咀嚼性,保水弹性、黏着性和凝聚性。本研究也探讨了壳聚糖添加量对鱼丸凝胶持水力的影响,结果如图 2 所示。

由图 2 可以看出,鱼糜蛋白质的持水力随着壳聚糖添加量的增加先变大后减小。在壳聚糖添加量为 0.4%,持水力达到最大值即 98.52%,相较于对照样(98.12%)持水力提升了 0.4%。由于壳聚糖与鱼糜蛋白质发生糖基化反应,分布于蛋白质分子内部球蛋白的疏水基团会更多地暴露在其表面。蛋白质分子表面疏水性增加,更有利于分子间的疏水作用和凝胶网络结构的形成,从而固定更多的水分,提高鱼糜蛋白质的持水力。当添加量超过 0.4%后,持水力开始降低,尤其是当添加量为 1.0%时,持水力与空白样结果相近,这可能是因为壳聚糖浓度上升到一定程度后,增强了电荷之间的排斥作用,减弱了蛋白质分子间的作用力和空间位阻作用,增加了蛋白质溶解性,反而降低了持水力。因此在 14%淀粉基础上,添加 0.4%~0.6%的壳聚糖是较适的比例,有利于增强凝胶结合力,增加保水性。

2.3 加热温度对鱼糜蛋白质凝胶强度的影响

温度对鱼糜制品的弹性影响较大,在鱼糜制品加工过程中,通过调节温度来提高鱼糜制品的凝胶强度是一个重要的技术手段。杨贤庆等^[13]通过对凝胶化温度与凝胶强度关系的研究,发现在凝胶化时间为 3 h 的条件下,鲮鱼鱼糜凝胶化最适宜温度在 40℃左右,此时鱼糜凝胶效果最好。汪之和等^[14]研究了不同的加热温度、加热时间和加热方式对 8 种西非鱼糜冻藏后凝胶特性的影响,结果显示这些鱼糜基本上在 40℃加热时具有较强的凝胶强度,60~70℃为凝胶劣化温度段;采用 40℃加热 20 min 后再在 90℃加热 40 min 的二段加热方式,可使鱼糜制品具有较高的硬度、弹性和凝胶强度。本试验采用二段加热法,按 1.2.2 试验方法,对二段加热中第一阶段的加热温度进行了研究,试验结果见图 3。

由图 3 可知,鱼糜蛋白质的凝胶强度随着温度的升高先升后降,在 40℃时达到最大值,此时破断强度为 22.2 N,相较于对照样(破断强度为 19.8 N)提高了 12.1%。当温度在 30~45℃时,凝胶强度变化不是很明显,超过 45℃便大幅度地下降。这主要是因为鱼糜加热温度在 50~55℃,糖基化反应

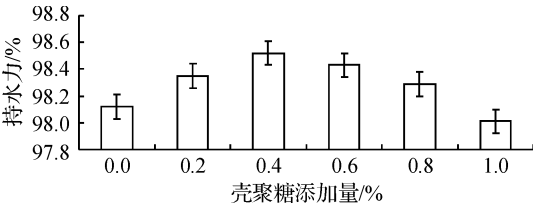


图 2 壳聚糖添加量对鱼糜蛋白质持水力的影响
Fig. 2 Effect of chitosan addition content on water-holding capacity of surimi protein

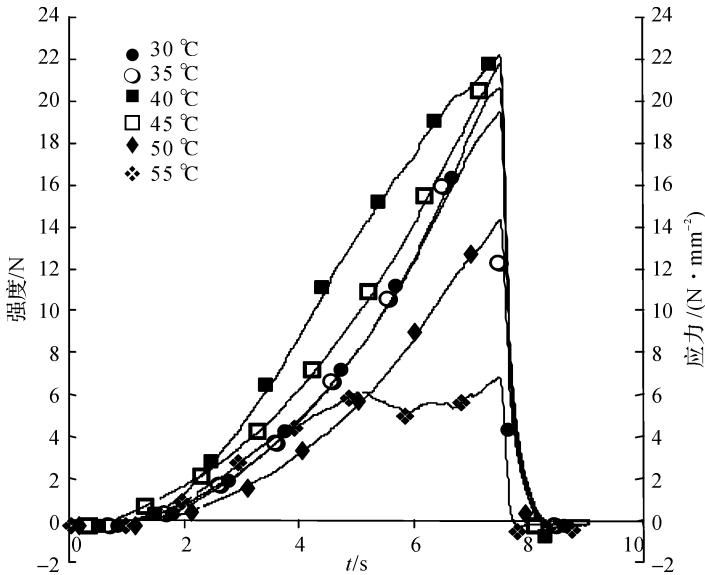


图 3 不同加热温度对鱼糜蛋白质凝胶强度的影响
Fig. 3 Effect of different heating temperatures on Gel strength of surimi protein

加热条件不适,凝胶形成断裂的网状结构,出现凝胶劣化现象,从而导致凝胶强度显著降低。

2.4 加热温度对鱼糜凝胶持水力的影响

鱼糜制品的品质是通过其质构、色泽、风味来综合评价的,其中最主要的是其质构特性。鱼糜制品含有70%~80%的水分,其保水性对食品的口味、风味及质构特性有着非常明显的影响。加热温度对虾蓉制品凝胶持水力的影响试验结果见图4。

由图4可知,鱼糜蛋白质持水力与凝胶强度呈正相关,都是随着温度的升高先升后降,在40℃时达到最大值,超过45℃持水力便大幅度地下降,当温度为55℃时,持水力相较于40℃降低了1.8%。这是因为鱼糜蛋白中存在一种对温度敏感的蛋白酶,在50~70℃活性最强,可以使已经形成的肌球蛋白分子的网状结构劣化,疏水基团暴露,水分游离容易导致凝胶劣化^[15]。因此,在实际二段加热过程中,一段加热温度应控制在50℃温度以下,进行缓慢凝胶化一段时间后,加热使鱼糜凝胶快速通过50~70℃凝胶劣化温度带,鱼糜制品中心温度快速达到90℃,使包含水分的凝胶网状结构固定下来,成为凝胶品质较好的制品。

2.5 加热时间对鱼糜蛋白质凝胶强度的影响

加热条件和方式是影响糖基化技术提高鱼糜蛋白质凝胶性的关键因素。鱼糜加热的目的有2个:一是使蛋白质与多糖进行充分的糖基化反应,使之形成的糖蛋白聚合物变性凝固,使鱼糜凝胶化,将制品定型成一定的形状,提高鱼糜制品的凝胶特性;二是杀灭部分微生物。试验结果见图5。

由图5可以看出,鱼糜制品的凝胶强度在凝胶化温度为40℃时,随着凝胶化时间的延长有上升趋势,并在凝胶化时间为60 min时达到最大,此时破断强度为22.2 N,是对照样(破断强度为17.8 N)的1.25倍,而后凝胶强度有下降趋势。这与罗永康^[16]所得的实验结果相同。Alvarez等^[17]报道了沙丁鱼鱼糜在凝胶化温度为35℃时,随着凝胶化时间的延长凝胶结构的变化情况。在35℃时,沙丁鱼鱼糜的肌球蛋白之间发生交联,刚开始形成纤维束。随着凝胶化时间的延长,纤维束之间的横向交联增多。在凝胶化时间为30~60 min时,横向交联能增大鱼糜的凝胶强度,但继续延长凝胶化时间,横向交联的增多会不利于凝胶结构,导致凝胶强度下降。

2.6 加热时间对鱼糜凝胶持水力的影响

加热过程是鱼糜制品生产中一个必不可少的重要环节,其作用是使擂溃中相互缠绕成纤维状的盐溶性肌动球蛋白溶胶及糖基化反应的糖蛋白以网状结构固定下来,把溶胶中的水分封闭在网状结构中,形成鱼糜凝胶体,提高持水力。

由图6可知,采取二段加热法时,鱼糜蛋白质的持水力先随着加热时间的延长而增大,在第一阶段加热时间为60 min时达到最大值,之后随着时间的延长而降低。同时结合图5也可看出,加热时间在30~

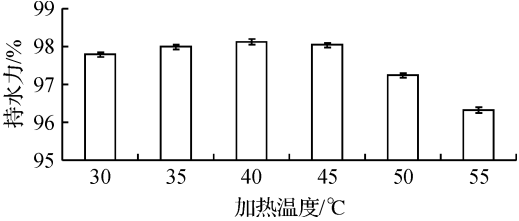


图4 不同加热温度对鱼糜蛋白质持水力的影响
Fig.4 Effect of different heating temperatures on water-holding capacity of surimi protein

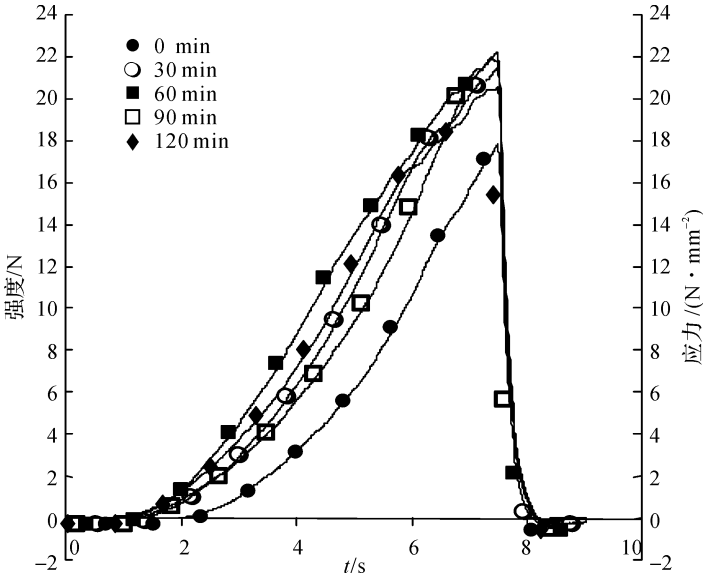


图5 不同加热时间对鱼糜蛋白质凝胶强度的影响
Fig.5 Effect of different heating time on Gel strength of surimi protein

120 min时,鱼糜制品的凝胶强度和持水力相较于 0 min 得到了显著的提高,即二段加热法在增强凝胶性效果上明显比一段加热法好。因此,在实际生产中,采用在 40 ℃ 加热条件下加热 60 min,再在 90 ℃ 下加热 30 min 的二段加热法,鱼糜蛋白质的凝胶性可以达到最好,时间过长和过短,都不适宜用糖基化反应来提高鱼糜蛋白质的凝胶性。

3 结 语

以添加 14%淀粉后鱼糜制品物理性质的相应检测值(凝胶强度和持水力)为判断依据,添加 0.4%的壳聚糖,采用第一阶段加热温度为 40 ℃、加热时间为 60 min,第二阶段加热温度为 90 ℃、加热时间为 30 min 的二段加热法具有较佳的效果。

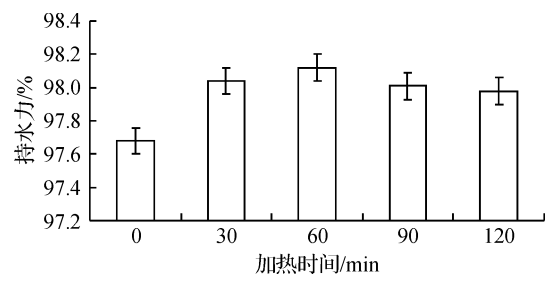


图 6 不同加热时间对鱼糜蛋白质持水力的影响
Fig. 6 Effect of different heating time on water-holding capacity of surimi protein

参考文献:

[1] Lanier T C, Lee C M. Surimi Technology[M]. New York: Marcel Dekker Inc,1992.

[2] 罗永康,张爱荣.糖基化反应改善蛋白质功能特性的研究进展[J].食品科技,2004(7):4-6,10.

[3] 陈欣,黄和,李中权.糖基化反应改善水产蛋白功能特性的研究进展[J].中国食物与营养,2010,12(4):35-38.

[4] 迟玉杰.蛋清蛋白质的糖基化产物结构与凝胶强度关系的探究[J].食品科学,2009,30(21):485-488.

[5] 陈杰,马美湖,谢黎勇,等.蛋白粉增凝的研究进展[J].广西轻工业,2007(3):22-23.

[6] Lee Y S, Saha A, Xiong R, et al. Changes in broiler breast fillet tenderness, water-holding capacity, and color attributes during long-term frozen storage[J]. Journal of Food Science,2008,73 (4):162-168.

[7] 周蕊,曾庆孝,朱志伟,等.淀粉对罗非鱼鱼糜凝胶品质的影响[J].现代食品科技,2008,24(8):759-762,772.

[8] 刘鑫,薛长湖,刘艺杰,等.不同淀粉在鲑鱼鱼糜制品中的应用[J].食品与发酵工业,2006,32(10):62-65.

[9] 刘士健,任发政,王建晖,等.水溶性壳聚糖对猪肉盐溶性蛋白质凝胶特性影响[J].食品科学,2008,29(5):90-92.

[10] 张茜,夏文水.壳聚糖对鲢鱼糜凝胶特性的影响[J].水产学报,2010,34(3):342-348.

[11] Hsieh Y L, Regenstein J M, Rao M A. Gel point of whey and egg proteins using dynamic rheological data[J]. Journal of Food Science,1993,58(1):116-119.

[12] 林毅,仪淑敏,励建荣,等.水溶性壳聚糖对梅鱼鱼丸贮藏过程中凝胶性能的影响[J].食品工业科技,2010,31(1):333-335,339.

[13] 杨贤庆,李来好,周婉君,等.提高鲢鱼鱼糜弹性的方法[J].湛江海洋大学学报,2003,23(4):25-29.

[14] 汪之和,范秀娟,顾红梅.加热条件对几种西非鱼种鱼糜凝胶特性的影响[J].食品与生物技术,2002,21(1):33-37,57.

[15] 李来好,陈培基,李刘冬,等.鲷在冷冻过程中蛋白质的变性[J].水产学报,2001,25(4):363-366.

[16] Luo Y K, Kuwahara R, Kaneniwa M, et al. Comparison of gel properties of suirimi from Alaska Pollock and three freshwater fish species;effects of thermal processing and protein concentration[J]. Food Science,2001,66:548-554.

[17] Alvarez C, Couso I, Margarita T. Microstructure of suwari and kamaboko sardine surimi gels[J]. Journal of Science of Food and Agricultural,1999,79(6):839-844.