

# 秘鲁鱿鱼肌原纤维蛋白提取和加热条件对其凝胶特性的影响

周逸, 金淼, 徐亦及, 唐剑波, 杨文鸽\*

(宁波大学海洋学院, 浙江 宁波 315211)

**摘要:** 目的: 探讨提取和加热条件对秘鲁鱿鱼肌原纤维蛋白凝胶特性的影响。方法: 以秘鲁鱿鱼肉为原料, 分析测定不同提取条件和加热方式下鱿鱼肌原纤维蛋白的凝胶特性。结果: 提取液KCl浓度、pH值对鱿鱼肌原纤维蛋白的凝胶特性有极显著影响。低离子强度下时, 形成的凝胶较致密, 其凝胶保水性和质构特性(硬度、弹性、黏性)较佳; 提取液pH值的增加有利于形成良好的凝胶网络, 但当pH值超出一定范围后, 保水性和质构特性降低。加热方式对鱿鱼蛋白形成的凝胶特性影响极显著。随着高温段加热温度的升高, 凝胶的保水性维持在较高水平, 硬度、弹性、黏性显著增加; 而低温(40℃)段加热时间在一定范围内时, 凝胶保水性和质构特性较佳; 结论: KCl浓度0.2mol/L、提取液pH7.0、低温(40℃)加热时间60~80min、高温段加热温度90℃时, 鱿鱼肉肌原纤维蛋白形成的凝胶特性较优。

**关键词:** 秘鲁鱿鱼; 肌原纤维蛋白; 提取条件; 保水性; 凝胶特性

Effects of Extraction and Heating Conditions on Gel Characteristics of *Dosidicus gigas* Myofibrillar Protein

ZHOU Yi, JIN Miao, XU Yi-ji, TANG Jian-bo, YANG Wen-ge\*

(School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

**Abstract:** Objective: To explore the effects of extraction and heating conditions on gel properties of *Dosidicus gigas* myofibrillar protein. Methods: *Dosidicus gigas* meat was used as the raw material, and gelation properties of myofibrillar protein under different extraction and heating conditions were analyzed. Results: 1) KCl concentration and its pH had an extremely significant effect on gelation properties. At low ionic concentration, the formed gel had a compact structure and superior water-holding capacity (WHC), hardness, springiness and stickiness, as well as better gel networks as the increase of pH, but worse water-holding capacity (WHC) and texture could be observed when pH was beyond a certain range. 2) The heating mode had an extremely significant effect on gel characteristics. With increasing temperature, the WHC of gel was maintained at a high level, and the hardness, springiness and stickiness of the gel revealed a significant increase. WHC and textural characteristic of the gel were better in a certain range of heating time at 40 °C. Conclusion: Good gel properties can be formed from the squid myofibrillar protein extracted with 0.2 mol/L (pH 7.0) KCl after two-stage heat treatment at 40 °C for 60 to 80 min and then at 90 °C for 30 min.

**Key words:** *Dosidicus gigas*; myofibrillar protein; extraction condition; WHC; gel properties

中图分类号: TS254

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)14-0126-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201314026

秘鲁鱿鱼是资源最丰富的鱿鱼种类之一, 产量高、价格低、色白、营养丰富, 是一种高蛋白、低脂肪、低胆固醇食品。但因其肉质疏松、肌肉蛋白易变性脱水、有怪酸味, 目前还未被充分利用。在鱿鱼肉蛋白质中, 肌原纤维蛋白除了参与肌肉收缩、影响肌肉嫩度外, 还

与肉制品的保水性、黏弹性、质地等密切相关, 是鱿鱼肉形成弹性凝胶体的主要作用成分。肌原纤维蛋白的凝胶特性易受外界环境(离子强度、pH值、加热温度等)的影响<sup>[1]</sup>, 因此加工条件对鱿鱼肌原纤维蛋白凝胶特性的影响对鱿鱼产品的品质起着关键作用。

收稿日期: 2012-07-02

基金项目: 宁波市重大科技攻关项目(2010C10041); 浙江省大学生新苗人才计划项目(2011R405032);

宁波大学优秀学位论文培育基金项目(PY20110019); 宁波大学学科项目(xk111095)

作者简介: 周逸(1991—), 女, 本科生, 研究方向为水产品质量与安全控制。E-mail: zhouyi209@gmail.com

\*通信作者: 杨文鸽(1966—), 女, 博士, 教授, 研究方向为水产品加工保鲜与高值化利用。E-mail: yangwenge@nbu.edu.cn

目前国内外对禽类、鱼类肌肉蛋白质的凝胶特性研究较多。徐大伦等<sup>[2]</sup>研究了提取条件对鲨鱼肉盐溶蛋白热诱导凝胶保水性的影响,得出NaCl浓度、pH值、提取时间对保水性影响显著;费英等<sup>[3]</sup>研究了pH值对肌原纤维蛋白二级结构及其热诱导凝胶特性的影响,发现随pH值偏离肌原纤维蛋白等电点向中性范围靠近,其 $\alpha$ -螺旋含量及其热诱导凝胶的保水性都逐渐增大;而凝胶硬度在pH6.0时达最大值;在远离等电点中性条件下,肌原纤维蛋白凝胶具较高有序性的均匀微观结构,酸性条件下凝胶的微观结构有序性低,不均匀,且存在聚合物;Chen Hongye等<sup>[4]</sup>对猪肉肌原纤维蛋白热诱导凝胶的质构特性进行研究,得出凝胶保水性和硬度与温度、NaCl浓度、微生物转谷氨酰胺酶活力呈正相关;孔保华等<sup>[5]</sup>研究加热温度对猪肉肌原纤维蛋白凝胶特性的影响,得出凝胶硬度和咀嚼性随温度的升高先升后降,在温度为70~80℃时达最大值。关于提取条件及凝胶热诱导形成条件对秘鲁鱿鱼的肌原纤维蛋白凝胶特性方面的研究,国内外尚未见报道。

本研究以秘鲁鱿鱼为原料,探讨KCl浓度和提取溶液pH值,加热温度和低温加热时间对其肌原纤维蛋白热诱导凝胶的保水性和质构特性(硬度、弹性、黏性)的影响,为开发高品质秘鲁鱿鱼制品提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

秘鲁鱿鱼(*Dosidicus gigas*):冻品鱿鱼,(3.5±0.5)kg,采自宁波某鱿鱼加工厂。

三羟甲基氨基甲烷(Tris)、曲拉通X-100(TritonX-100)阿拉丁试剂有限公司;NaOH、KCl(分析纯)浙江省兰溪市化工试剂厂;盐酸(分析纯)杭州化学试剂厂;磷酸二氢钠、磷酸氢二钠(分析纯)汕头市金砂化工厂。

### 1.2 仪器与设备

Biofuge Stratos 台式高速冷冻离心机 德国Thermo Scientific Sorwall公司;XHF-1 型内切式匀浆机 宁波新芝生物科技股份有限公司;PHS-3C 型数字酸度计 上海精密科学仪器有限公司;TA.XT.plus质构分析仪 英国Stable Micro System公司;BP221S型电子分析天平 德国Sartorius公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 肌原纤维蛋白的提取

参照Bertram等<sup>[6]</sup>方法。秘鲁鱿鱼解冻后去头、皮、内脏等取胴体肉,加3倍体积A液(0.1mol/L KCl、0.02mol/L Tris-HCl, pH7.5)和1倍体积B液(1% TritonX-100、0.1mol/L KCl、0.02mol/L Tris-HCl缓冲液, pH7.5)匀浆(8000r/min, 30s, 4次),冷冻离心(10000r/min、10min),去上清液,沉淀用

4倍体积A液浸提,冷冻离心,重复3次,沉淀即为提取的肌原纤维蛋白,并用双缩脲法测定其蛋白含量。所有操作均在4℃条件下进行。

#### 1.3.2 肌原纤维蛋白凝胶的制备

提取的肌原纤维蛋白用A液调整至40mg/mL,置于5mL小烧杯中,采用二段式加热方式制备凝胶,利用水浴在低温段加热(40℃)一定时间,再在高温段保温30min,室温条件下冷却完全,测凝胶相关质构指标及其保水性。

#### 1.3.3 提取条件对秘鲁鱿鱼肌原纤维蛋白凝胶特性的影响

结合文献<sup>[2,7]</sup>,选取KCl浓度、提取液pH值、低温段(40℃)加热时间和高温段加热温度为主要因素,测定秘鲁鱿鱼肌原纤维蛋白热诱导凝胶的保水性及其质构特性(硬度、弹性、黏性)。

KCl浓度:提取液中KCl浓度分别配制0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6mol/L,进行肌原纤维蛋白提取;pH值:添加提取溶液于鱿鱼肉中,用0.5mol/L HCl或0.5mol/L NaOH溶液将pH值分别调整为5.5、6、6.5、7、7.5和8;高温段加热温度:高温段加热温度分别设置为50、60、70、80、90、100℃;低温段加热时间:低温加热温度(40℃)时间分别设置为0、20、40、60、80、100min。

#### 1.3.4 凝胶特性(硬度、弹性、黏性)的测定

用TA.XT.Plus型质构分析仪测定肌原纤维蛋白凝胶质构指标,包括凝胶硬度、弹性和黏性。探头类型为P0.5S,参数设置为穿刺前探头运行速度2.00mm/s,穿刺时运行速度1.00mm/s,返回速度1.00mm/s,压缩距离5mm。触发类型:自动,时间5s,触发力5.0g;数据搜取速率200.00Hz。

#### 1.3.5 凝胶保水性的测定

参照颜伟华等<sup>[8]</sup>方法。

#### 1.3.6 数据处理

实验平行次数3~5,数据采用SPSS 11.5和Microsoft Office Excel 2003软件统计分析。其中 $P<0.01$ 表示差异极显著, $P<0.05$ 差异显著, $P>0.05$ 差异不显著。

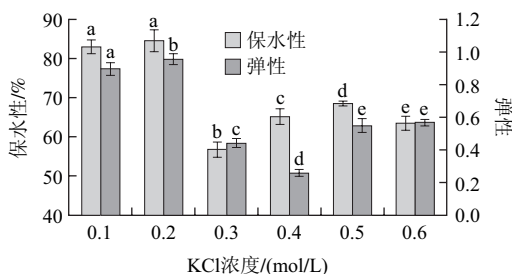
## 2 结果与分析

### 2.1 KCl提取液浓度对秘鲁鱿鱼肌原纤维蛋白凝胶特性的影响

利用含不同KCl浓度的提取液,在pH7.0条件下提取鱿鱼肉肌原纤维蛋白,并通过二段加热分别制成凝胶,其凝胶特性与KCl浓度关系如图1、2所示。

由图1、2可知,随着KCl浓度从0.1~0.6mol/L,保水性、弹性和硬度均呈先升后降再稍有上升并趋于平稳,黏性(负值越小黏性越大)值先降后升再缓慢下降。在浓度为0.2mol/L时其凝胶特性较佳,在浓度为0.3~0.4mol/L时各项指标都处在最劣值。方差分析显示,KCl浓度对鱿鱼

肉肌原纤维蛋白凝胶保水性及其质构指标的影响组间差异极显著( $P<0.01$ )；除与0.1mol/L组对保水性影响差异不显著( $P>0.05$ )外，0.2mol/L组与其余各组间对凝胶保水性及其质构指标的影响差异均极显著( $P<0.01$ )。



图中相同字母表示在0.05水平差异不显著。下同。

图1 KCl浓度对鱿鱼肉肌原纤维蛋白凝胶保水性和弹性的影响

Fig.1 Effect of KCl concentration on WHC and springiness of myofibrillar protein gel from squid muscle

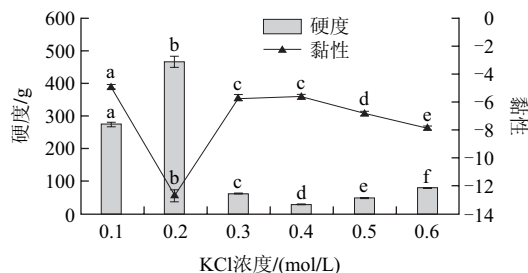


图2 KCl浓度对鱿鱼肉肌原纤维蛋白凝胶硬度和黏性的影响

Fig.2 Effect of KCl concentration on the hardness and stickiness of myofibrillar protein gel from squid muscle

于巍等<sup>[1]</sup>认为在0.2mol/L离子强度下，鱼肉肌原纤维片断聚集成紧密的网络结构，当离子强度提高到0.6mol/L时，肌原纤维蛋白由网络形成粗糙的凝胶，前者的刚性比后者大，凝胶强度随离子强度升高而下降。Totosa等<sup>[9]</sup>研究还发现在低离子强度条件下，肌球蛋白分子依靠蛋白质分子杆部的极性键组装聚集形成非溶性的纤丝，头部片断位于纤丝表面，肌球蛋白分子的运动性受到纤丝结构的限制，这种作用力使得肌球蛋白的形变和流动性降低；而在高离子强度下，肌球蛋白呈分散状态，肌球蛋白轻链可能会从重链上解离下来。本研究中低离子浓度下鱿鱼肌原纤维蛋白凝胶特性较好，高离子浓度下凝胶特性降低，与上述结论一致。而KCl浓度对黏性的影响，主要是由于在不同的离子强度下，肌原蛋白质分子有不同的排列方式，在低离子强度时，肌球蛋白分子通常以细丝状的形式存在，当离子强度增加到一定程度时，肌球蛋白分子通常以单体的形式存在，从而造成黏性的下降<sup>[10]</sup>。

2.2 提取液pH值对秘鲁鱿鱼肌原纤维蛋白凝胶特性的影响

利用0.2mol/L KCl溶液，不同的pH值条件提取鱿鱼

肉肌原纤维蛋白，并通过二段加热分别制成凝胶，测定鱿鱼肌原纤维蛋白的凝胶特性，结果如图3、4所示。

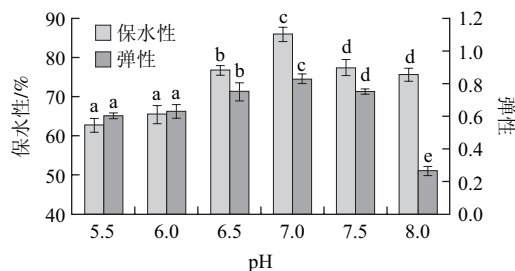


图3 提取液pH值对鱿鱼肉肌原纤维蛋白凝胶保水性和弹性的影响

Fig.3 Effect of pH on WHC and springiness of myofibrillar protein gel from squid muscle

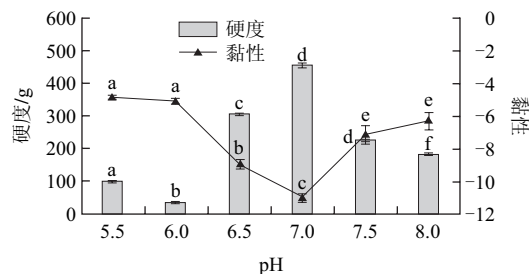


图4 提取液pH值对鱿鱼肉肌原纤维蛋白凝胶硬度和黏性的影响

Fig.4 Effect of pH on the hardness and stickiness of myofibrillar protein gel from squid muscle

由图3、4可知，随着提取液pH值5.5~8.0，保水性先上升后趋于平缓，弹性和硬度都先上升后下降，黏性值先降后升。pH值对鱿鱼肉肌原纤维蛋白凝胶保水性及其质构指标的影响组间差异极显著( $P<0.01$ )，凝胶保水性和弹性在pH7.0~7.5时最高，硬度和黏性在pH7.0时达到最大值。除与pH7.5组对保水性和弹性影响差异显著( $P<0.05$ )外，pH7.0组与其余各组间对凝胶保水性及其质构指标的影响均有极显著差异( $P<0.01$ )。因此，选择pH7.0左右提取肌原纤维蛋白，其形成的凝胶特性较好。其原因在于肌原纤维蛋白等电点为pI5.5左右<sup>[11]</sup>，中性pH值使肌原纤维蛋白质偏离其等电点，净电荷增多，一方面加强了蛋白质与水的相互作用，另一方面减弱了蛋白质与蛋白质的相互吸引力，增强了分子之间斥力，使蛋白质分子较为分散，有利于形成良好的凝胶网络，提高了凝胶的保水性和质构性能<sup>[12-13]</sup>。

2.3 高温段加热温度对秘鲁鱿鱼肌原纤维蛋白凝胶特性的影响

在提取条件为KCl浓度0.2mol/L，pH7.0提取得到鱿鱼肌原纤维蛋白，将肌原纤维蛋白溶液在40℃条件下加热60min，再在不同高温段温度下加热30min，其凝胶特性指标变化如图5、6所示。



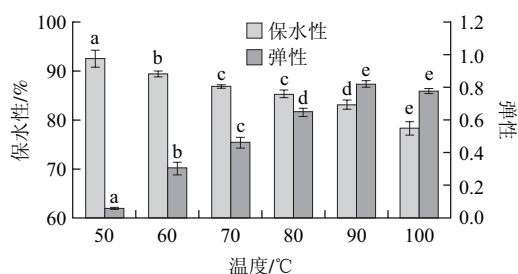


图5 加热温度对鱿鱼肉肌原纤维蛋白凝胶保水性和弹性的影响

Fig.5 Effect of heating temperature on WHC and springiness of myofibrillar protein gel from squid muscle

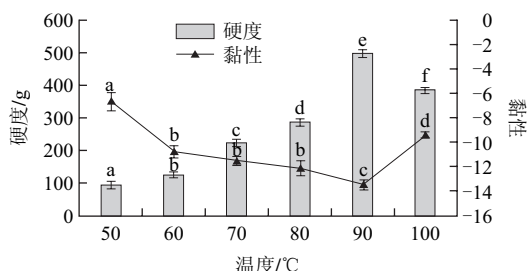


图6 加热温度对鱿鱼肉肌原纤维蛋白凝胶硬度和黏性的影响

Fig.6 Effect of heating temperature on the hardness and stickiness of myofibrillar protein gel from squid muscle

由图5、6可以看出,随着高温段加热温度的升高,肌原纤维蛋白凝胶的保水性缓慢下降,弹性和硬度则先升后降,黏性值先降后升,90°C时各指标达到最佳值。方差分析显示,高温段加热温度对鱿鱼肉肌原纤维蛋白凝胶保水性及其质构指标的影响组间差异极显著( $P<0.01$ ),除80°C和90°C组对保水性影响差异显著( $P<0.05$ ),90°C和100°C组对凝胶弹性差异不显著( $P>0.05$ )外,90°C组与其他组对凝胶特性的影响均极显著。原因在于加热时间越久、温度越高,则蛋白质聚合程度越大,所形成的凝胶较硬,可能使肌球蛋白分子形成的网状结构失水,导致保水性较差<sup>[14-15]</sup>。温度较低时,蛋白质基本不发生变化;随着温度的升高,蛋白质受热聚集,形成空间结构复杂的凝胶;但温度过高,可能会使蛋白质重链降解,凝胶失水过多,其质构特性和保水性下降<sup>[16]</sup>。

2.4 低温段加热时间对秘鲁鱿鱼肌原纤维蛋白凝胶特性的影响

二段式加热法制备凝胶的过程中,低温段加热时间也是影响肌原纤维蛋白凝胶特性的关键因素。利用0.2mol/L KCl溶液(pH7.0)提取鱿鱼肌原纤维蛋白,选用低温加热温度为40°C,加热不同时间后,90°C再加热30min,各指标测定结果如图7、8所示。

由图7、8可知,在40°C条件下加热0~100min,保水性仅在60min时有个小高峰,弹性和硬度先上升后下降,黏性值在加热40min前无较大变化,之后呈现先降后升趋势。方差分析显示,加热时间对肌原纤维蛋白凝胶保水

性及其质构指标影响差异也极显著( $P<0.01$ );除60min与其他各组之间差异极显著( $P<0.01$ )外,其余各组对保水性的影响差异均不显著( $P>0.05$ )。其中保水性和硬度在加热时间60min时最佳,而弹性和黏性在80min时达到最大值。可见当40°C加热时间为60~80min时,凝胶的保水性和质构特性较好。罗永康<sup>[17]</sup>和王金余<sup>[18]</sup>等的研究表明肌原纤维蛋白经低温(0~40°C)处理,有利于形成凝胶结构,从而改进凝胶的保水性和质构特性。但加热时间越久,蛋白聚合程度越大,凝胶组织不细腻、较坚硬,保水性较差<sup>[19]</sup>。在低温段加热60~80min进行凝胶化时,肌球蛋白之间能通过已有的二硫键和疏水键形成三维的网络结构<sup>[20]</sup>,从而促进蛋白质的胶凝化<sup>[21]</sup>。

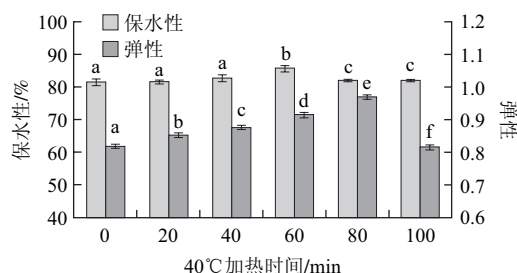


图7 加热时间对鱿鱼肉肌原纤维蛋白凝胶保水性和弹性的影响

Fig.7 Effect of heating time on WHC and springiness of myofibrillar protein gel from squid muscle

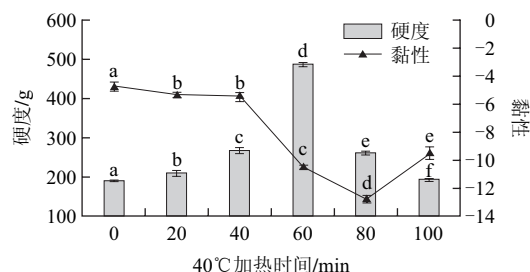


图8 加热时间对鱿鱼肉肌原纤维蛋白凝胶硬度和黏性的影响

Fig.8 Effect of heating time on the hardness and stickiness of myofibrillar protein gel from squid muscle

### 3 结论

提取条件KCl浓度、提取液pH值对秘鲁鱿鱼肌原纤维蛋白的凝胶特性有极显著影响。当提取溶液中KCl浓度较低时,形成的凝胶较致密,其凝胶保水性和质构特性较好;当提取液pH值升高时,肌原纤维蛋白偏离其等电点,增强了蛋白质与水的相互作用,减弱了蛋白质与蛋白质的相互吸引,有利于形成良好的凝胶网络,但当pH值超出一定范围后,保水性和质构指标降低。凝胶形成时的加热方式对鱿鱼肌原纤维蛋白凝胶特性产生极显著影响,随着温度的升高,凝胶保水性维持在较高值,凝

胶硬度、弹性、黏性显著增加；低温(40℃)加热时间在一定范围内时，凝胶保水性和质构特性较佳。综合各个凝胶特性指标，得出当KCl浓度0.2mol/L、提取液pH7.0、高温段加热温度90℃和低温(40℃)加热时间60~80min时，制得的秘鲁鱿鱼肌原纤维蛋白凝胶具有较优质构指标和保水性。

#### 参考文献：

- [1] 于巍, 周坚. 鱼类肌原纤维蛋白热凝及流变特性研究进展[J]. 食品科技, 2007(11): 14-16.
- [2] 徐大伦, 颜伟华, 杨文鸽, 等. 响应面法优化双髻鲨(*Sphyrna zygaena*)肌肉盐溶蛋白的提取和凝胶形成条件[J]. 海洋与湖泊, 2011, 42(2): 289-293
- [3] 费英, 韩敏义, 杨凌寒, 等. pH对肌原纤维蛋白二级结构及其热诱导凝胶特性的影响[J]. 中国农业科学, 2010, 43(1): 164-170.
- [4] CHEN Hongye, HAN Minyi. Raman spectroscopic study of the effects of microbial transglutaminase on heat-induced gelation of pork myofibrillar proteins and its relationship with textural characteristics[J]. Food Research International, 2011, 44(5): 1514-1520.
- [5] 孔保华, 王宇, 夏秀芳, 等. 加热温度对猪肉肌原纤维蛋白凝胶特性的影响[J]. 食品科学, 2011, 32(5): 50-54.
- [6] BERTRAM C H, KRISTENSEN M, ANDERSEN H J. Functionality of myofibrillar proteins as affected by pH, ionic strength and heat treatment-a low-field NMR study[J]. Meat Science, 2004, 68(5): 249-256.
- [7] 孔保华, 李明清, 夏秀芳. 不同盐对鲤鱼肌原纤维蛋白结构和凝胶特性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(3): 50-55.
- [8] 颜伟华, 丁宁, 陈丹, 等. 提取条件对鲨鱼肉盐溶蛋白热诱导凝胶特性的影响[J]. 食品科学, 2010, 31(14): 14-17.
- [9] TOTOSAUS A, MONTEJANO J G, SALAZAR J A, et al. A review of physical and chemical protein-gel induction[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2002, 37(6): 589-601.
- [10] 罗永康, 潘道东, 沈慧星, 等. 蛋白质浓度、pH、离子强度对鲢鱼肌原纤维蛋白粘度的影响[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(7): 52-54
- [11] 李明清. 鲤鱼肌原纤维蛋白功能特性的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2010.
- [12] LIU Ru, ZHAO Siming, XIONG Shanbai, et al. Role of secondary structure in the gelation of porcine myosin at different pH values[J]. Meat Science, 2008, 80(3): 632-639.
- [13] 郭世良. 肌原纤维蛋白和猪肉的热诱导凝胶影响因素及特性研[D]. 郑州: 河南农业大学, 2008.
- [14] 李继红, 彭增起. 温度、盐浓度和pH对盐溶蛋白热诱导凝胶影响的研究[J]. 肉类工业, 2004(4): 39-41.
- [15] 杨芳, 吴永沛, 陈梅香, 等. 阿根廷鱿鱼肌原纤维蛋白及肌肉组织凝胶保水性研究[J]. 水产科学, 2008, 27(8): 386-389.
- [16] TAJIMA M, ITO T, ARAKAWA N, et al. Heat-induced changes of myosin and sarcoplasmic proteins in beef during simmering[J]. Journal of Food Science, 2001, 66(2): 233-237.
- [17] 罗永康, 沈慧星, 潘道东. 鲢鱼鱼糜蛋白质凝胶特性的研究[J]. 食品与发酵工业, 2001, 28(1): 23-26.
- [18] 王金余, 刘承初, 赵善贞. 白鲢鱼糜肌球蛋白交联反应和凝胶化最适条件的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(11): 223-225.
- [19] 杨龙江, 南庆贤. 肌肉蛋白质的热诱导凝胶特性及其影响因素[J]. 肉类工业, 2001(10): 39-41.
- [20] 陈海华, 薛长湖. 热处理条件对竹荚鱼鱼糜凝胶特性的影响[J]. 食品科学, 2010, 31(1): 6-13.
- [21] BENJAKUL S, VISESSANGUAN W, CHANTARASUWAN C. Effect of high-temperature setting on gelling characteristic of surimi from some tropical fish[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2004, 39(6): 671-680.