



紫贻贝(*Mytilus edulis*)蛋白与 κ -卡拉胶复合凝胶性质研究

刘得福, 曾名湧*

(中国海洋大学, 山东 青岛 266000)

摘要: 在食品体系中, 通过复配往往可以获得更优质的产品, 蛋白和多糖的复配就是一种常用的复配方法。文章将提取得到的紫贻贝蛋白(Mussel protein, MP)进行预处理后与 κ -卡拉胶进行不同比例的复配, 通过应变扫描、频率扫描、温度扫描探究复配凝胶的形成过程; 随后以TPA和凝胶强度作为指标探究不同比例的复配对凝胶咀嚼性能的影响; 考虑到工业生产以及实际应用问题, 通过核磁共振成像分析了复配凝胶的水分弛豫时间以及持水性的变化。结果表明: 复配前后成胶过程没有发生明显的变化, 均分为凝胶弱化期以及凝胶强化期2个阶段, 但是在一定程度上改善了单一 κ -卡拉胶的频率依赖性; TPA以及凝胶强度的结果表明, 复配显著增强了单一凝胶的强度和咀嚼性能; 且作为水凝胶重要功能特性之一的持水性在混合体系中也得到显著提升。总体而言, MP可以通过分子间的交联加强同 κ -卡拉胶的联系从而改善单一凝胶的质地, 0.4%是MP的最优添加浓度。

关键词: 紫贻贝蛋白; κ -卡拉胶; 凝胶性质

中图分类号: TS 254.1

文献标志码: A

文章编号: 1005-9989(2023)05-0245-09

DOI:10.13684/j.cnki.spkj.2023.05.034

Preliminary Study on the Properties of A Mussel (*Mytilus Edulis*) Protein/ κ -Carrageenan Composite Gel

LIU Defu, ZENG Mingyong*

(Ocean University of China, Qingdao 266000, China)

Abstract: In the food system, better quality products can often be obtained by combination of different

收稿日期: 2022-11-09

*通信作者

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31671919)。

作者简介: 刘得福(1997—), 山东潍坊人, 硕士研究生, 研究方向为水产品高值化加工利用。

- 机硅固定化脂肪酶制备及其应用[J].化工学报,2021,72(9):4861-4871.
- [29] WU P, LUO F F, LU Z H, et al. Improving the catalytic performance of pectate lyase through pectate lyase/ $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$ hybrid nanoflowers as an immobilized enzyme[J]. Frontiers

- in Bioengineering and Biotechnology, 2020,8:280.
- [30] WANG X, SHI J, LI Z, et al. Facile One-Pot preparation of Chitosan/Calcium pyrophosphate hybrid microflowers[J]. ACS Applied Materials & Interfaces,2014,6(16):14522-14532.

ingredients, and the combination of protein and polysaccharide is one of the most commonly used combination. In this study, the extracted mussel protein (MP) was preheated and κ -carrageenan was compounded in different proportions, and the formation process of the compounded gel was explored through strain scanning, frequency scanning and temperature scanning. Then, TPA and gel strength were used as indicators to explore the influence of different proportions of compound on the chewing performance of gel. Considering the industrial production and practical application problems, we further analyzed the changes of water relaxation time and water retention of the composite gel through NMR imaging. The results showed that there was no obvious change in the gelation process before and after compounding, which was divided into two stages: gel weakening stage and gel strengthening stage, but to some extent, it has improved the frequency dependence of single κ -carrageenan. The results of TPA and gel strength showed that the strength and masticatory properties of the single gel were significantly enhanced by the combination. As one of the important functional properties of hydrogels, the water holding capacity has also been significantly improved in the mixed system. In general, MP can be strengthened by intermolecular crosslinking κ -carrageenan can improve the texture of a single gel, and 0.4% MP is the optimal concentration in this experiment.

Key words: mussel protein; κ -carrageenan; gel properties

0 引言

贻贝, 俗称淡菜、壳菜, 为软体动物门双壳纲动物, 是目前世界上养殖规模最大的海洋贝类之一。我国沿海地区贻贝养殖的种类主要有紫贻贝(*Mytilus edulis*)、翡翠贻贝、厚壳贻贝。其中紫贻贝是一种肉质鲜美、适应性较强的内湾品种。由于其养殖技术简单成熟、产量高、营养丰富等特点, 使其成为我国重要的贻贝养殖品种之一, 在山东省、辽宁省以及浙江省都有大量养殖, 其中以山东省的产量居首位。紫贻贝蛋白质含量高, 氨基酸组成丰富; 此外, 紫贻贝所含有的多种活性成分已被证明在功能性食品领域发展中起到了重要的作用^[1]。据报道, 紫贻贝体内必需氨基酸同非必需氨基酸的比率较高^[2], 可以作为人们日常生活中的重要优质蛋白质来源。近年来, 许多现代食品领域的加工技术如喷雾干燥、冷冻干燥、超声超高压处理、挤压蒸煮等已经成为了海产品加工领域的常用手段^[3], 促进了海产品加工工业的发展。但是作为我国北方主要生产食用的贻贝品种——紫贻贝, 除生鲜销售以外, 在精深加工方面十分落后, 使其在作为蛋白原料进行加工时难以得到针对性的利用, 因此开发紫贻贝蛋白的加工利用技术就显得尤为重要。

κ -卡拉胶作为从红藻中提取的硫酸化聚半乳糖, 易溶于热水并形成脆性凝胶, 该脆性凝胶的形状以及大小与全脂产品中的脂肪特征相似, 在被用作食品中脂肪的替代物方面具有很大潜力。

但是, 较差的保水性能和流变性一定程度上限制了其在食品领域的应用^[4]。越来越多的研究证明, κ -卡拉胶可以与多种弱凝胶复配从而提高凝胶制品的整体质地, TANG H G等^[5]将 κ -卡拉胶同鸭蛋清进行复配显著改善了复合体系的持水力; 在肉制品领域, κ -卡拉胶作为凝胶网络的基底提高了南极磷虾凝胶的质构和持水性^[6]。

本文旨在探究不同比例的紫贻贝蛋白(Mussel protein, MP)与 κ -卡拉胶复配凝胶的形成过程及其理化性质和持水性的变化, 探究二者之间可能存在的分子交联从而筛选出最优的复配比例, 为蛋白质-多糖复配体系在食品领域中的应用以及紫贻贝蛋白的开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

实验所用紫贻贝: 市售, 紫贻贝大小均匀且相似(8 cm×4 cm×2 cm), 冰鲜运输至实验室后去壳取肉; κ -卡拉胶: 北京Solarbio公司; 其余试剂: 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器与设备

JJ-1磁力搅拌机: 上海双捷实验设备有限公司; CV-600电热恒温水浴锅: 上海福马实验设备有限公司; MCR-101旋转流变仪: 德国安东帕公司; JSM-5800 LV扫描电子显微镜: 日本东京JEOL公司; MR25核磁共振成像分析仪: 上海纽麦电子科技有限公司; TMS-TOUCH质构仪: 美国FTC公司。



1.3 实验方法

1.3.1 紫贻贝蛋白提取 紫贻贝蛋白的提取参照张晶晶等^[7]的方法略作修改。紫贻贝取肉后加去离子水(1:4, 质量体积比), 利用破壁机打碎并均质, 在室温条件下搅拌2 h后离心取上清液, 用0.1 mol/L的HCl调节上清液至pH5.5, 静置1 h后离心取沉淀进行冻干, 得到的干燥粉使用丙酮脱脂并干燥备用。

1.3.2 紫贻贝蛋白预处理 取冻干后的紫贻贝蛋白粉末1 g于空白离心管中, 置于60 ℃的水浴锅中热处理10 min后制得MP₆₀。热处理结束后的样品冷却后置于4 ℃冰箱用于后续实验。

1.3.3 热处理紫贻贝蛋白复配凝胶的制备 取经预处理的MP₆₀粉末于离心管中, 将MP₆₀溶于50 mmol/L PBS(1 mol/L NaCl, pH7.0)缓冲液中得到不同质量体积分数(0.1%、0.2%、0.4%、0.8%)的蛋白质溶液, 向不同浓度的MP₆₀中分别加入κ-卡拉胶确保其终浓度为1%, 将混合溶液室温搅拌30 min后继续在80 ℃电热板上加热15 min, 随后冷却至室温凝固成型, 制备得到κ/MP₆₀用于后续实验。

1.3.4 应变扫描 应变扫描参照TAKTAK W等^[8]的方法并略作修改。取1.3.3制备得到的κ/MP₆₀切成边长约为2 cm的正方形小块, 置于旋转流变仪的平台上, 设置温度为25 ℃, 频率为1 Hz, 选用型号为PP50(直径50 mm)的转子, 固定与平台间隙1 mm, 记录样品在0.1%~100%应变范围内的弹性模量(G')变化。

1.3.5 温度扫描 温度扫描参照PEYRANO F等^[9]的方法并略作修改。取经冻干处理的紫贻贝蛋白质粉末溶于50 mmol PBS缓冲液中制成不同质量体积分数的蛋白质溶液(0.1%、0.2%、0.4%、0.8%), 于室温条件下磁力搅拌1 h确保充分溶解, 经过60 ℃水热处理10 min后制得MP₆₀, 分别向不同质量体积分数的MP₆₀中加入1%的κ-卡拉胶, 室温搅拌30 min确保混合均匀, 取3 mL混合物置于旋转流变仪的平台上, 选用型号为PP50(直径50 mm)的转子, 固定间隙1 mm, 频率和应变分别为1 Hz和0.5%。使温度在室温(25 ℃)条件下平衡1 min后以3 ℃/min的速率升温至100 ℃, 在100 ℃平衡1 min后再以3 ℃/min的速率降温至25 ℃, 记录整个过程中样品的 G' 变化。

1.3.6 频率扫描 频率扫描参照BI C H等^[10]的方法并略作修改。取1.3.3制备得到的κ/MP₆₀切成边长

约为2 cm的正方形小块, 置于旋转流变仪的平台上, 设置固定温度为25 ℃, 根据应变扫描的结果在线性黏弹性区域(LVR)选择应变0.5%, 选用型号为PP50(直径50 mm)的转子, 固定与平台间隙1 mm, 记录样品在1~20 Hz范围内的 G' 和黏性模量(G'')的变化, 并计算正切值 $\tan \delta (G''/G')$ 。频率扫描相关参数由以下公式拟合计算得到:

$$G' = K' \times \omega^{n'} \dots\dots\dots (1)$$

式中: ω 为频率, rad/s;

K' 代表样品刚性;

n' 与共价键数量有关。

1.3.7 TPA测定 TPA的测定参考FAN M C等^[11]的方法并略作修改。取1.3.3制备得到的κ/MP₆₀, 室温静置一段时间切成边长约为2 cm的正方形小块, 将样品放置在质构仪的测试平台上。使用直径为5 mm的圆柱探头对κ/MP₆₀凝胶进行25%的形变压缩得到相关的参数指标。压缩和回弹的速率均设置为1 mm/s, 每个样品重复6次取平均值。

1.3.8 凝胶强度测定 凝胶强度的测定参考LI Z Y等^[12]的方法并略作修改。将1.3.3制备得到的κ/MP₆₀复配凝胶切成边长约3 cm形状规整的正方体, 将切取好的样品放在质构测试平台上, 固定触发力为5 g, 探头速度1 mm/s, 穿刺凝胶1 cm。凝胶强度由质构仪直接计算得到, 单位为N。

1.3.9 持水性测定 持水性的测定参考CAI L等^[13]的方法并略作修改。将1.3.3制备得到的κ/MP₆₀复配凝胶切成形状规整的正方体, 称取2.0 g复合凝胶(W_1)并用2层滤纸包裹, 将裹有凝胶的滤纸置于50 mL离心管底部, 以4 ℃、10000 r/min的条件离心15 min, 称取离心后滤纸内复配凝胶的质量(W_2)。复配凝胶持水性的计算参照公式(2)计算得到:

$$\text{持水性} = W_2/W_1 \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

1.3.10 水分分布测定 复配凝胶水分分布的测定参照WANG R H等^[14]的方法并略作修改, 使用低场核磁共振成像进行分析。将1.3.3制备得到的κ/MP₆₀复配凝胶切成高度不超过1.5 cm的长条状, 用保鲜膜包裹放入核磁管内, 选用分析仪中的CPMG序列测定样品的横向弛豫时间(T_2)和强度, 将CPMG序列测定得到的参数进行反演得到 T_2 对应的宽度及面积, 用于凝胶样品水分分布的分析。整个过程中设定共振频率为22 Hz, 温度25 ℃。所有样品每次扫描32次, 每个样品最少进行3次平行。

1.3.11 扫描电镜 将1.3.3制备得到的κ/MP₆₀复配



凝胶切成边长3 cm的正方体,使用冷冻干燥机进行冻干备用。取冻干后的凝胶黏附在扫描电镜观察台上,并进行喷金处理,将前处理好的样品置于扫描电镜观察仓内使用统一的放大倍数进行观察。

1.4 数据处理

实验数据平行测定3次,采用Excel和SPSS 22.0软件对数据进行统计分析。 $P<0.05$ 表示差异显著,分析结果表示为平均值 $\pm$ 标准差,利用Origin 2018对分析结果进行绘图。

2 结果与分析

2.1 应变扫描分析

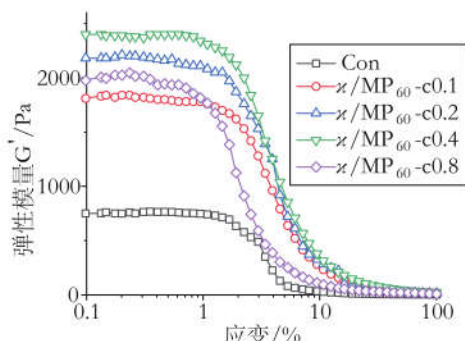


图1 添加不同浓度MP复配凝胶的应变扫描分析

如图1所示为应变扫描的结果,随着MP₆₀的加入,一开始并没有改变样品的应变临界值(γ_0),样品在0%~2%应变范围内保持稳定,说明在此范围内样品未受到应变的影响。然而当MP₆₀添加量达到8 mg/mL后,样品的 γ_0 明显降低。结果表明 κ -卡拉胶与低浓度的MP₆₀混合体系没有改变其在相同应力条件下的断裂强度^[15],然而添加高浓度(8 mg/mL)的MP₆₀,导致复合凝胶断裂强度发生了不好的变化。此外,需要注意的是 κ /MP₆₀复合凝胶的G'要显著高于单一体系($P<0.05$),说明MP₆₀与 κ -卡拉胶的复配可以提高凝胶强度,稳定凝胶的网络体系。综合应变扫描的结果选择0.5%的应变进行后续的扫描实验。

2.2 温度扫描分析

通过温度扫描可以探究凝胶形成的各个过程。G'通常用来表示施加形变力后作为机械能储存的能量,与凝胶形成过程中的弹性变化具有密切联系^[16]。如图2所示所有样品升温过程中G'均呈现出2个变化阶段,在20~60℃之间,随着温度的升高样品的G'下降;在60~100℃之间,随着温度的升高样品的G'快速上升。蛋白质的凝胶化过程通常包括3个阶段:第一阶段G'会小幅度

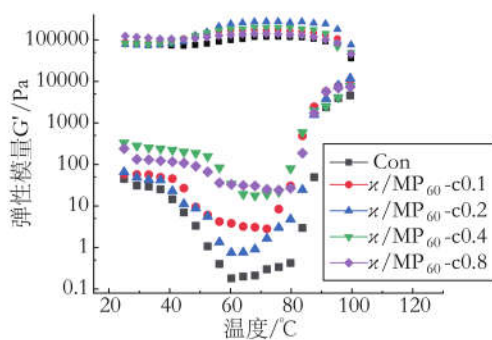
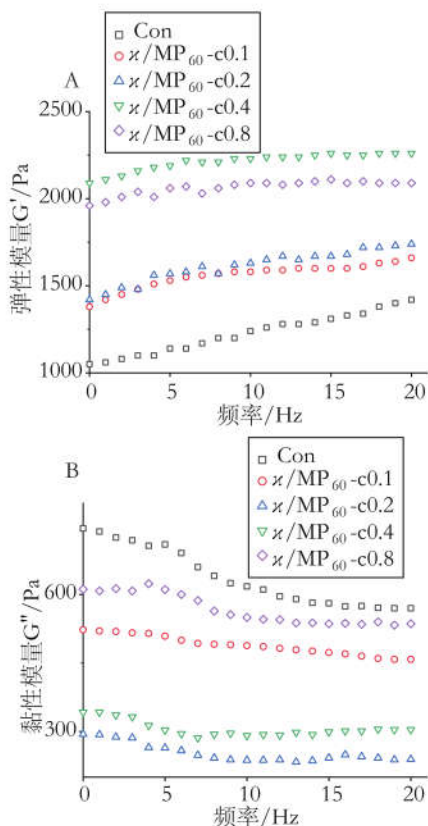


图2 添加不同浓度MP复配凝胶在升温 and 降温过程中G'的变化

上升,为弱凝胶形成期,主要是由于蛋白组分中的肌球蛋白铰链变性导致,这个过程中会依靠较弱的非共价键形成较弱的凝胶结构;第二阶段对应着G'的下降直至最低点,为凝胶弱化期,这个阶段会破坏凝胶网络结构,导致体系的流动性增强;第三阶段为凝胶强化期,此阶段样品的G'快速上升并达到峰值,复合体系中的聚集物之间交联增加,形成三维网状结构^[17]。 κ /MP₆₀复配凝胶在升温过程中G'先减小后增加,G'减小的原因可以归因于加热导致的肌凝蛋白尾部解离从而导致样品的流动性增强^[18];随后复合体系中的聚集物之间发生交联从而导致G'增加。但是在 κ /MP₆₀复配凝胶形成的过程中并没有出现弱凝胶形成期,归咎原因为以下两点:一是相对于报道中的鱼类蛋白质而言,紫贻贝中肌球蛋白的含量较少难以参与反应形成凝胶结构;二是本研究的前处理温度为60℃,此温度已经超过了紫贻贝肌球蛋白的变性温度,导致肌球蛋白在参与反应前就发生了不可逆的变性。通过与Con组比较可以发现,复配体系与单一的 κ -卡拉胶体系整体形成凝胶的过程没有明显差异,说明整个体系主要是以 κ -卡拉胶的三维网络结构为基底。

在冷却阶段所有样品的G'值均呈现出增加的趋势,说明在降温过程中凝胶处于一个强化的阶段。MA Y Y等^[19]发现在 κ -卡拉胶成胶过程中的降温阶段,其分子中的硫酸盐基团会发生静电相互作用导致 κ -卡拉胶之间形成聚集体,这个过程有助于凝胶强度的增加。在整个凝胶形成的过程中复配体系的G'始终高于对照组,这可以归因于MP₆₀与 κ -卡拉胶之间可能形成氢键或离子相互作用^[20]。综上所述在持续加热过程中添加MP₆₀更有利于分子之间发生交联,MP₆₀与 κ -卡拉胶形成的复配凝胶具有更稳定的凝胶结构。

2.3 频率扫描分析



注：A为弹性模量 G' ；B为黏性模量 G'' 。

图3 添加不同浓度MP复配凝胶的频率扫描分析

通过测定样品在不同频率下的 G' 、 G'' 以及 $\tan \delta$ 值(G''/G')变化来探究样品的弹性性能。研究发现所有样品的 G' 均大于 G'' (图3A、图3B)，说明样品都具有弹性特性。如图3A所示，所有样品的 G' 均随着频率的增加而增加，说明所有样品均具有频率依赖性；但是相对于Con组而言，进行复配后的样品，其 G' 随频率增加而增加的幅度更小，说明复配后的凝胶具有更高的频率稳定性，受到频率的影响更小；同时随着MP₆₀添加量的增加，样品的 G' 显著增加($P<0.05$)，表明复配显著改善了单一凝胶的弹性性能。

在测试期间所有样品的 $\tan \delta$ 值均小于1，表明样品均呈现出类固体行为^[21]；此外复配后样品的 $\tan \delta$ (G''/G')更小(图4)，说明MP₆₀与 κ -卡拉胶之间发生了交联，使得复配凝胶的黏弹性更好，稳定性更高。

为了更直观地评价样品的凝胶性能，利用幂律方程对样品的 G' 进行拟合($R^2>0.95$)。其中 n' 与样品中共价键的数量有关，越小表明样品的凝胶结构更紧密； K' 则与样品的硬度呈正相关，越大

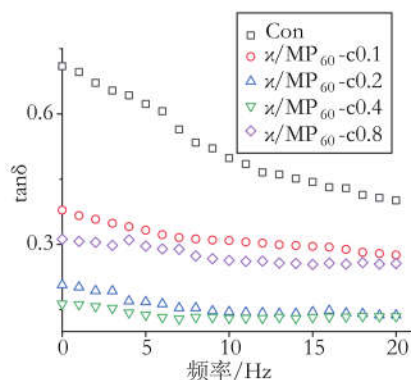


图4 添加不同浓度MP复配凝胶频率扫描分析

表明样品的硬度越大^[22]。如表1所示，添加MP₆₀后的复合凝胶其 n' 由 0.1080 ± 0.004 下降至最低为 0.0288 ± 0.001 ， K' 由 (1019.05 ± 30.96) Pa·s上升至最高为 (2081.27 ± 8.74) Pa·s。说明MP₆₀与 κ -卡拉胶之间可能发生了交联，提高了单一凝胶的硬度。但是MP₆₀添加量为0.4%时复合凝胶的 K' 值最大，说明过量添加MP₆₀并不能持续提高凝胶的品质。

表1 添加不同浓度MP的复配凝胶的频率扫描分析

样品	$K'/(Pa \cdot s)$	n'	R^2
Con	1019.045 ± 30.96^d	0.1080 ± 0.0042^a	0.98
$\kappa/MP_{60}-c0.1$	1375.285 ± 4.72^c	0.0910 ± 0.0061^b	0.97
$\kappa/MP_{60}-c0.2$	1372.780 ± 47.22^c	0.0805 ± 0.0035^c	0.97
$\kappa/MP_{60}-c0.4$	2081.265 ± 8.74^a	0.0288 ± 0.0014^d	0.97
$\kappa/MP_{60}-c0.8$	1957.845 ± 2.12^b	0.0352 ± 0.0004^d	0.95

注：同列肩标小写字母不同表示差异显著($P<0.05$)。表2同。

2.4 TPA测定结果

凝胶的品质与其咀嚼的质感具有密切联系，因此通过质构来模拟人的咀嚼过程，从而得到凝胶各项与食品质地有关的参数来评价凝胶品质的优劣。其中硬度表示食品局部在口腔中被挤压时其表面承受的压力；弹性是指食品被压缩或者拉伸之后恢复到原有状态的能力；胶黏性是指食品在被吞咽前需要被咀嚼的程度；咀嚼性是指食品在咀嚼过程中由于黏弹性而产生的口感；内聚性是指食品在抵抗外力时保证原有形态不被破坏的能力^[23]。

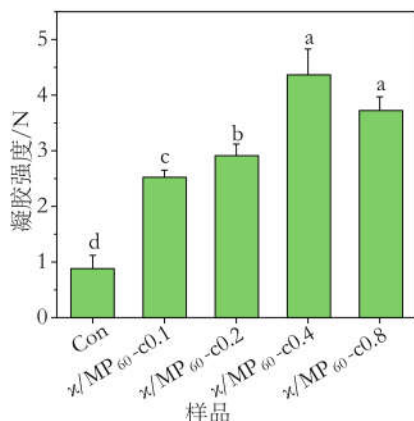
如表2所示，加入MP₆₀之后样品的各项指标均向有利的方向发生了变化，硬度由初始的 (4.75 ± 0.13) N最高增加至 (9.04 ± 0.21) N，在MP₆₀添加量为0.4%时达到峰值，这说明MP₆₀与 κ -卡

表2 添加不同浓度MP复配凝胶的TPA结果

样品	硬度/N	弹性/m	胶黏性/N	咀嚼性/mJ	内聚性
Con	4.75±0.13 ^d	0.57±0.02 ^a	3.37±0.22 ^d	1.72±0.19 ^d	0.68±0.01 ^e
κ/MP60-c0.1	6.61±0.04 ^c	0.63±0.01 ^d	4.58±0.25 ^c	3.61±0.07 ^c	0.69±0.02 ^e
κ/MP60-c0.2	8.85±0.02 ^{ab}	0.76±0.02 ^c	5.13±0.15 ^b	4.09±0.19 ^b	0.72±0.01 ^{bc}
κ/MP60-c0.4	9.04±0.21 ^a	0.91±0.03 ^b	6.75±0.90 ^a	6.08±0.96 ^a	0.77±0.03 ^b
κ/MP60-c0.8	8.68±0.31 ^b	1.02±0.01 ^a	7.11±0.26 ^a	7.46±0.43 ^a	0.82±0.04 ^a

拉胶相互作用提升了复合凝胶的硬度。在加入0.8%的MP₆₀后硬度出现了轻微下降，这与之前频率扫描拟合时得到的K'值变化结论相一致。同时复配也显著改善了凝胶的胶黏性和咀嚼性，二者由(3.37±0.22)N和(1.72±0.19)mJ分别增加至(7.11±0.26)N和(7.46±0.43)mJ，表明复配显著改善了单一凝胶的口感，提供了更多的咀嚼性能。此外复合凝胶的弹性和内聚性也得到了显著改善，由(0.57±0.02)mm和0.68±0.01分别提升至(1.02±0.01)mm和0.82±0.04，证明了MP₆₀与κ-卡拉胶的复配赋予了凝胶更紧密的结构，使样品在咀嚼时具有更好的口感。

2.5 凝胶强度测定结果



注：小写字母不同表示差异显著($P<0.05$)。图6同。

图5 添加不同浓度MP的复配凝胶的凝胶强度

如图5所示，通过质构仪探究了复配前后凝胶的凝胶强度变化。结果显示，单一κ-卡拉胶的凝胶强度较小，仅为(0.89±0.23)N，从侧面印证了κ-卡拉胶是一种硬度较小的脆性凝胶。与Con组相比，随着MP₆₀的加入，混合体系的凝胶强度显著增加，当MP₆₀的添加量为0.4%时达到峰值，显著提升至(4.37±0.46)N($P<0.05$)，可能是MP₆₀与多糖之间的相互作用增强了凝胶强度。卡拉胶作为一种多糖可以参与凝胶化过程从而影响凝胶结构的形成，改变凝胶的破断力^[24]。ZHOU Y Z等^[25]也

得到了类似的研究结果，其认为卡拉胶能够与蛋白质之间通过填充作用来提高凝胶的强度。综上所述，MP₆₀与κ-卡拉胶的复配显著改善了单一凝胶的凝胶强度。

2.6 持水性测定结果

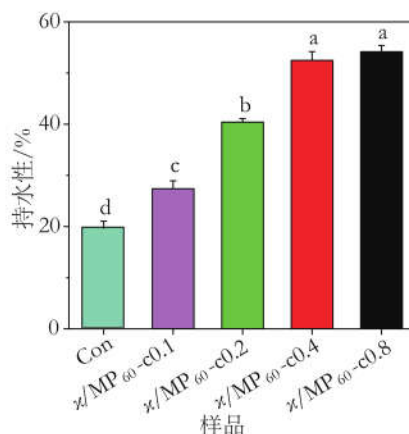


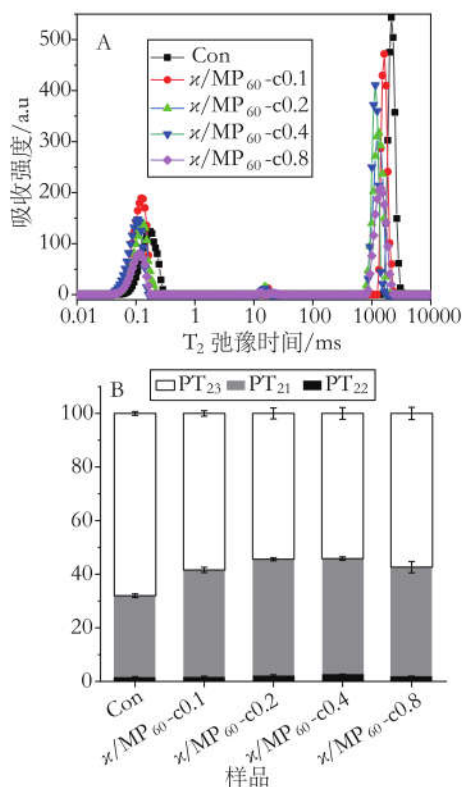
图6 添加不同浓度MP复配凝胶的持水性

凝胶样品的持水性能是判断其品质好坏的一个重要标准，与凝胶的结构具有密切的联系。如图6所示，Con组样品的持水性能较差仅为(19.72±1.35)%，当加入MP₆₀后样品的持水性能显著上升($P<0.05$)，最高达到了(54.17±1.21)%。表明MP₆₀的加入能够改善单一凝胶的保水能力，保水能力的增加可能是由于复配后形成了结构更加紧密的凝胶结构。此外，MP₆₀具有一定的亲水性，向κ-卡拉胶当中加入MP₆₀从而形成了蛋白质-水分子的紧密结合^[26]，这也是导致复合凝胶持水性增加的一个重要原因。然而，添加0.4%和0.8% MP₆₀的样品持水性能并没有发生显著变化，可能是由于MP₆₀的添加量过多，过量的MP₆₀并没有参与反应，同时二者的复合体系与水的结合也达到了饱和。VERBEKEN D等^[27]认为κ-卡拉胶可以与蛋白质之间发生填充作用，同时在冷却过程中二者会与水结合，从而改善凝胶的持水性能。以上结果表明复合凝胶的持水性得到了显著改善，MP₆₀在复合体系中对于水分子的稳定起到了

重要作用。

2.7 水分分布测定结果

通过核磁共振成像分析了样品的水分特征,进一步反演得到水分分布情况,通过评价其水分子的分布情况对凝胶的质量进行评价。从图7A中可以发现 T_2 曲线共有3个独立的峰 PT_{21} 、 PT_{22} 、 PT_{23} ,分别代表了束缚水(0.1~10 ms)、固定化水(10~100 ms)以及游离水(>100 ms)。同时经分析发现所有凝胶样品均主要由 PT_{21} 以及 PT_{23} 两部分组成,这二者在本研究中的占比达到了90%以上,这主要是因为实验过程中使用的 MP_{60} 以及 κ -卡拉胶均为干制后的粉末,因此自身几乎不含有水分, PT_{21} 的组分被认为是在凝胶体系形成过程中被束缚在分子间的水,而 PT_{23} 的组分则主要是实验过程中人为加入到体系当中未被束缚的游离水。



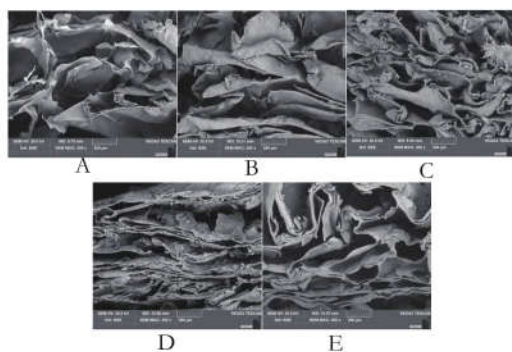
注: A为弛豫时间; B为水分分布。

图7 添加不同浓度MP复配凝胶的横向弛豫时间分布

如图7A所示,随着 MP_{60} 的添加, κ/MP_{60} 的 PT_{21} 以及 PT_{23} 发生了明显的左移,通常认为弛豫时间越短的水分子在凝胶体系中结合越紧密^[28],结果说明添加 MP_{60} 后的复合凝胶与水分子的结合更牢固,具有更优越的保水性能。如图7B所示,通过计算各峰的面积得到了不同状态水分子所占

的比例,可以更明确地看到各组分的水分子在凝胶中的占比发生了改变,在所有样品中 PT_{22} 的占比都较小,而且在各样品中保持相对稳定。但与Con组相比, MP_{60} 的加入促进了凝胶体系对水分子的束缚,这表现在复配凝胶中 PT_{21} 的占比显著上升($P<0.05$),而 PT_{23} 则呈现下降趋势,这与之前持水性的结果相一致。

2.8 扫描电镜分析



注: A为1% κ -卡拉胶; B为 $\kappa/MP_{60}-c0.1$; C为 $\kappa/MP_{60}-c0.2$; D为 $\kappa/MP_{60}-c0.4$; E为 $\kappa/MP_{60}-c0.8$ 。

图8 添加不同浓度MP复配凝胶的扫描电镜

低温扫描电子显微镜可以直观地观察各样品横切面的微观结构,结果表明各组样品均为多孔、纤维网络交织的三维凝胶(图8)。通过观察发现 κ -卡拉胶自身具有成胶能力,但形成的凝胶网络结构较为疏松,主要是由于 κ -卡拉胶为脆性凝胶,同时也表明在没有添加剂的情况下 κ -卡拉胶形成的凝胶结构不稳定,质量较差,不利于水分的保留。当加入 MP_{60} 后,复合凝胶仍然保持了 κ -卡拉胶的多孔网络结构,同时随着 MP_{60} 添加量的增加,凝胶结构呈现出孔隙增加且孔隙更致密的变化趋势,说明 MP_{60} 与 κ -卡拉胶的复合有利于提升其保水性。然而添加0.8% MP_{60} 的样品其凝胶孔隙再次变大,凝胶扫描电镜图中呈现出的孔隙主要是凝胶在冻干过程中样品中的游离水升华导致的。因此添加0.8% MP_{60} 的样品其微观结构中孔隙的增大可能是由于其游离水的含量相较于添加0.4% MP_{60} 的实验组更高,这也可能是添加0.8% MP_{60} 的实验组持水性没有显著上升的一个原因。在JIANG S S等^[29]的实验中发现,当 κ -卡拉胶与蛋白质过度复配后,凝胶的微观结构中孔洞开始变大,性能出现了劣变。因此认为 MP_{60} 与 κ -卡拉胶的复配赋予了复合凝胶更致密且稳定的结构,主要体现在凝胶的孔隙更紧密,凝胶壁更厚,从

而显著改善了单一凝胶的凝胶性能。但是过量的MP₆₀将会形成蛋白质与水分子间不稳定的结合从而导致凝胶的品质发生劣变。

3 结论

与单一凝胶相比,MP₆₀与κ-卡拉胶的复配显著改善了单一凝胶的频率稳定性,增加了混合体系间的交联以及样品的硬度,但是过量加入MP₆₀会降低单一凝胶的临界应变值从而影响样品的断裂强度;κ/MP₆₀混合体系是以κ-卡拉胶形成的三维网络为凝胶基底,MP₆₀通过氢键或离子相互作用等作用力参与形成凝胶;凝胶强度以及TPA的结果进一步证实了流变拟合的结论,MP₆₀的加入会显著改善单一凝胶的强度以及硬度、弹性等凝胶性能;持水性以及水分分布的分析结果表明,添加0.4% MP₆₀能够最有效地通过增加混合体系中束缚水的占比进而增强单一κ-卡拉胶的保水能力;扫描电镜的结果则更直观地显示,单一的κ-卡拉胶形成的凝胶孔洞大且疏松,添加MP₆₀后的复合凝胶结构变得紧凑细致。综上所述,MP₆₀能够通过分子间的相互作用增强与κ-卡拉胶之间的交联,从而改善单一κ-卡拉胶凝胶的质地,0.4%的MP₆₀添加量是本研究中的最优添加量。

参考文献:

- GRIENKE U, SILKE J, TASDEMIR D. Bioactive compounds from marine mussels and their effects on human health[J]. Food Chemistry, 2014, 142: 48-60.
- 苏秀榕, 张健. 两种贻贝营养成分的研究[J]. 辽宁师范大学学报(自然科学版), 1997, (3): 66-70.
- WANG Y H, JIANG S S, ZHAO Y H, et al. Physicochemical and rheological changes of oyster (*Crassostrea gigas*) protein affected by high-pressure homogenization[J]. LWT-Food Science & Technology, 2020, 134: 110143.
- NECAS J, BARTOSIKOVA L. Carrageenan: a review[J]. Veterinární Medicina, 2013, 58(4): 187-205.
- TANG H G, TAN L L, CHEN Y F, et al. Effect of kappa-carrageenan addition on protein structure and gel properties of salted duck egg white[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2021, 101(4): 1389-1395.
- ZHENG H N, BEAMER S, MATAK K E, et al. Effect of kappa-carrageenan on gelation and gel characteristics of antarctic krill (*Euphausia superba*) protein isolated with isoelectric solubilization/precipitation[J]. Food Chemistry, 2019, 278: 644-652.
- 张晶晶, 郑惠娜. 牡蛎蛋白分离及其基本组成分析[J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(9): 195-199.
- TAKTAK W, NASRI R, HAMDY M, et al. Physicochemical, textural, rheological and microstructural properties of protein isolate gels produced from European eel (*Anguilla anguilla*) by heat-induced gelation process[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 82: 278-287.
- PEYRANO F, LAMBALLERIE M D, SPERONI F, et al. Rheological characterization of thermal gelation of cowpea protein isolates: Effect of processing conditions[J]. LWT-Food Science & Technology, 2019, 109: 406-414.
- BI C H, ZHU Y D, LI L T, et al. Rheological properties and microstructure of soy protein isolate/κ-carrageenan gels under high-speed shear treatment[J]. Journal of Food Engineering, 2018, 236: 44-50.
- FAN M C, HU T, ZHAO S M, et al. Gel characteristics and microstructure of fish myofibrillar protein/cassava starch composites[J]. Food Chemistry, 2017, 218: 221-230.
- LI Z Y, WANG J Y, ZHENG B D, et al. Effects of high pressure processing on gelation properties and molecular forces of myosin containing deacetylated konjac glucomannan[J]. Food Chemistry, 2019, 291: 117-125.
- CAI L, FENG J H, CAO A L, et al. Effect of partial substitutes of NaCl on the cold-set gelation of grass carp myofibrillar protein mediated by microbial transglutaminase[J]. Food and Bioprocess Technology, 2018, 11(10): 1876-1886.
- WANG R H, GAO R C, XIAO F, et al. Effect of chicken breast on the physicochemical properties of unwashed sturgeon surimi gels[J]. LWT-Food Science & Technology, 2019, 113: 108306.
- LIN D Q, ZHANG L T, LI R J, et al. Effect of plant protein mixtures on the microstructure and rheological properties of myofibrillar protein gel derived from red sea bream (*Pagrosomus major*)[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 96: 537-545.
- 郑红. 复配胶体对鱼糜制品凝胶强度的影响[J]. 农产品加工, 2017, (6): 22-23.
- CHEN H H, XU S Y, WANG Z. Interaction between flaxseed gum and meat protein[J]. Journal of Food Engineering, 2007, 80(4): 1051-1059.
- TORNBERG E. Effects of heat on meat proteins-implications on structure and quality of meat products[J]. Meat Science, 2005, 70(3): 493-508.
- MA Y Y, WANG Y H, JIANG S S, et al. Effect of gelatin on gelation properties of oyster (*Crassostrea gigas*) protein[J]. LWT-Food Science & Technology, 2022, 158: 113143.
- PETCHARAT T, BENJAKUL S. Effect of gellan incorporation on gel properties of bigeye snapper surimi[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 77: 746-753.
- WANG Y C, CHANG Y G, XUE Y, et al. Rheology and microstructure of heat-induced fluid gels from Antarctic



- krill (*Euphausia superba*) protein: Effect of pH[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 52: 510-519.
- [22] NICOLE M, ZHANG C M, JOSEPH H, et al. Effects on the rheology characteristics and gelation behavior of glucono- δ -lactone and calcium sulfate-induced tofu gels[J]. Journal of Texture Studies, 2016, 47(2): 112-130.
- [23] 曹祥薇, 严海彪. 明胶/卡拉胶复配凝胶的特性研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2010, 31(5): 22-24, 85.
- [24] XUE S W, YANG H J, YU X B, et al. Applications of high pressure to pre-rigor rabbit muscles affect the water characteristics of myosin gels[J]. Food Chemistry, 2018, 240: 59-66.
- [25] ZHOU Y Z, CHEN C G, CHEN X, et al. Contribution of three ionic types of polysaccharides to the thermal gelling properties of chicken breast myosin[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(12): 2655-2662.
- [26] MORENO H M, CARBALLO J, BORDERÍAS J. Application of response surface methodology to study the effect of different calcium sources in fish muscle-alginate restructured products[J]. Food Science and Technology, 2011, 31(1): 209-216.
- [27] VERBEKEN D, NEIRINCK N, MEEREN P V D, et al. Influence of κ -carrageenan on the thermal gelation of salt-soluble meat proteins[J]. Meat Science, 2004, 70(1): 161-166.
- [28] HUANG J J, BAKRY A M, HUANG Q L, et al. Effect of phosphates on gelling characteristics and water mobility of myofibrillar protein from grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*)[J]. Food Chemistry, 2019, 272(10).
- [29] JIANG S S, MA Y Y, WANG Y H, et al. Effect of κ -carrageenan on the gelation properties of oyster protein[J]. Food Chemistry, 2022, 382: 132329.