赵丽媛,黄琪琳,熊善柏. 不同聚合度菊粉对鱼糜抗冻性的影响[J].华中农业大学学报, 2020,39(4):137-146.
DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2020.04.019

# 不同聚合度菊粉对鱼糜抗冻性的影响

赵丽媛,黄琪琳,熊善柏

华中农业大学食品科学技术学院/国家大宗淡水鱼加工技术研发分中心(武汉),武汉 430070

**摘要**　以鲢为原料,研究短链菊粉(聚合度 2～6)、长链菊粉(聚合度 23～46)和天然菊粉(聚合度 10～23)的添加对鱼糜冻藏过程中蛋白质冷冻变性和凝胶品质劣化的影响,并通过偏最小二乘回归分析揭示蛋白质生化指标和凝胶性能之间的关系。结果显示,不同聚合度菊粉对鱼糜均具有冷冻保护效果,短链菊粉的效果最强,能够显著抑制盐溶蛋白含量、$Ca^{2+}$-ATPase 活性、总巯基和活性巯基含量的下降和表面疏水性的上升($P<0.05$),且蛋白质二级结构、SDS-PAGE 图、凝胶品质(持水性、凝胶强度及质构)与新鲜鱼糜最为接近,可替代商业抗冻剂,天然菊粉的效果次之,长链菊粉效果最弱。预测回归系数表明影响鱼糜凝胶品质的蛋白质生化指标由强到弱依次为盐溶蛋白含量、蛋白质二级结构、表面疏水性、总巯基和活性巯基含量,可以作为评价鱼糜冷冻变性的主要指标,而 $Ca^{2+}$-ATPase 活性对鱼糜凝胶品质的影响较小。

**关键词**　鲢;菊粉;聚合度;蛋白质冷冻变性;凝胶劣化;鱼糜;凝胶品质;抗冻剂

**中图分类号**　TS 254.4　　**文献标识码**　A　　**文章编号**　1000-2421(2020)04-0137-10

鱼糜经冷冻后由于蛋白质的冷冻变性,鱼糜的保水性、凝胶强度及弹性均会发生显著的下降[1-2],品质劣化,国内的鱼糜生产中通常加入 4%蔗糖+4%山梨糖醇来作为抗冻剂[3],这导致鱼糜中引入了过高的甜度和热量,降低了消费者的接受度,因此,研发低糖、低热量、抗冻效果优良的新型鱼糜抗冻剂已成为研究热点。菊粉(也称菊糖)是一种甜度低、益生作用丰富的天然可溶性膳食纤维。已有研究发现菊粉的亲水性较好[4],且菊粉的添加可以有效地提高大米凝胶的持水能力和冻融稳定性,具有一定的抗冻保护效果[5]。据文献报道不同聚合度菊粉的甜度存在明显的差异[6],聚合度较高的菊粉具有更低的甜度和热量。此外菊粉的理化性质受其聚合度的影响较大[7-8],由此推测不同聚合度菊粉的抗冻效果可能存在差异。然而目前菊粉在鱼糜中的抗冻性及机制的研究鲜有报道,因此,本研究以 3 种聚合度的菊粉为原料,对不同聚合度菊粉的抗冻效果进行系统的研究,确定较优聚合度,同时通过分析蛋白质冷冻变性与凝胶品质劣化之间的关系,构建微观的生化指标与宏观的凝胶品质之间的内在联系,以期为鱼糜冷冻变性和新型抗冻剂的开发提供一定的参考。

## 1　材料与方法

### 1.1　材料与试剂

天然菊粉(Orafti GR),聚合度 10～23;长链菊粉(Orafti HP),聚合度 23～46;短链菊粉(Orafti Snergy1),聚合度 2～6;3 种菊粉纯度≥90%,购于常州迪沙医药科技有限公司。

鲢,购于华中农业大学农贸市场。

蔗糖、山梨糖醇,购于江苏古贝生物科技有限公司;超微量 $Ca^{2+}$-ATPase 活性试剂盒,购于南京建成生物工程研究所;8-苯胺-1-萘磺酸,购于阿拉丁试剂有限公司;牛血清白蛋白、三羟甲基氨基甲烷(Tris),购于 Sigma aldrich 公司;NaCl、NaOH、$Na_2HPO_4$、$NaH_2PO_4$、HCl、三氯乙酸、乙醇、十二烷基硫酸钠、脲、乙二胺四乙酸、氯化钙、硫酸铜等,分析纯,购于国药集团化学试剂有限公司。

### 1.2　仪器与设备

HH-6 数显恒温水浴锅,国华电器有限公司;

收稿日期:2020-05-23
基金项目:国家自然科学基金项目(31771996);现代农业产业技术体系专项(CARS-45-28)
赵丽媛,硕士研究生. 研究方向:水产品加工与贮藏. E-mail:hdym@webmail.hzau.edu.cn
通信作者:黄琪琳,博士,教授. 研究方向:水产品加工与贮藏. E-mail:hql@mail.hzau.edu

1750紫外可见光分光光度计、RF-5301荧光光谱仪，日本岛津公司；Avanti J-26 XP高速冷冻离心机，美国贝克曼公司；Ultrascan X色差仪，美国亨特立公司；TA-XT2i/25质构分析仪，英国Stable Micro System公司；3205食品调理机，德国博朗公司；FJ-200高速分散均质机，上海标本模型厂；Bio-Rad电泳仪，美国伯乐公司；Nicolet iS10 FTIR傅立叶变换红外光谱仪，赛默飞世尔公司。

### 1.3 鱼糜蛋白质化学指标的测定

1)鱼糜样品的制备。新鲜鲢采肉后用10倍质量的冷水(4 ℃)漂洗3次，离心脱水并调整鱼糜水分含量至78%，空白组记为Control，长链菊粉、天然菊粉和短链菊粉组的菊粉添加量均为8%，分别记为INU(l)、INU(n)、INU(s)，商业抗冻剂组为4%蔗糖+4%山梨糖醇，记为CC。将鱼糜和添加物置于搅拌机内混合搅拌3 min，每200 g混合鱼糜充填入密封袋内密封，−18 ℃冻藏，取冻藏14、28、42、56、84 d后的鱼糜流水解冻完全后进行相关指标的测定。

2)盐溶蛋白含量的测定。取3 g鱼糜于离心管中，加入18 mL高盐磷酸缓冲液(含0.6 mol/L的NaCl、0.01 mol/L $NaH_2PO_4$、0.03 mol/L $Na_2HPO_4$，pH=6.8)，冰水浴中均质1 min，4 ℃浸提20 h后，4 ℃下以10 000 r/min的转速冷冻离心10 min，弃去沉淀得到的上清液即肌原纤维蛋白溶液，加入高盐溶液进行适当稀释$n$倍，采用Lowry法[9]测定蛋白质浓度，按式(1)计算：

$$w=(C\times n\times 18)/m \tag{1}$$

式(1)中，$w$为盐溶蛋白含量，%；$m$为纯鱼糜质量，mg；$n$为稀释倍数；$C$为蛋白质质量浓度，mg/mL；18是提取液的体积，mL。

3)$Ca^{2+}$-ATPase活性的测定。用20 mmol/L Tris-HCl提取液(含0.6 mol/L NaCl，pH=7.0)提取肌原纤维蛋白，并将其稀释至2～4 mg/mL，按照试剂盒使用说明测定。

4)总巯基和活性巯基含量的测定。参考文献[10]的方法。

5)表面疏水性的测定。参考文献[11]的方法。

6)SDS-PAGE电泳。参考文献[12]的方法并稍做修改，上清样缓冲液与肌原纤维蛋白溶液(提取方法同本文“1.3 2)”)的体积比为1∶4。

7)蛋白质二级结构。参考文献[13]的方法。

### 1.4 鱼糜凝胶品质的测定

1)鱼糜凝胶的制备及凝胶质构的测定。参考文献[14]的方法，凝胶强度分级标准如表1所示。

**表1 鱼糜凝胶强度的分级**

**Table 1 Grading of surimi gel strength**

| 凝胶强度/(g·cm) Gel strength | ≥900 | ≥700 | ≥600 | ≥500 | ≥400 | ≥300 | ≥200 | ≥100 | ≤100 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 分级 Grades | TA | SSA | SA | FA | AAA | AA | A | AB | B |

2)凝胶色度的测定。将平衡至室温的鱼糜凝胶切成20 mm高的圆柱体，采用色差仪测定样品的$L^*$(透明度)、$a^*$(表示红绿程度)和$b^*$(表示黄蓝程度)值。按式(2)计算白度$W$：

$$W=100-\sqrt{(100-L^*)^2+(a^*)^2+(b^*)^2} \tag{2}$$

3)凝胶持水性的测定。采用离心法[15]，将鱼糜凝胶切成5 mm高的圆柱体，称质量($m_1$)，用双层滤纸包裹，在4 000 r/min离心15 min后称质量($m_2$)，按式(3)计算持水性WHC：

$$\mathrm{WHC}=(m_1-m_2)/m_1\times 100\% \tag{3}$$

### 1.5 数据统计分析

所有数据采用Excel软件进行统计学分析和方差分析；采用SAS9.2分析软件Duncan's方法进行显著性分析，显著水平为$P<0.05$；确定解释矩阵($X$)和依赖矩阵($Y$)，采用Matlab软件进行相关性分析和PLSR分析[16]。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同聚合度菊粉对冻藏期间盐溶蛋白含量的影响

由图1可见，5组样品的盐溶蛋白含量随着冻藏时间的延长而逐渐下降。4%蔗糖+4%山梨糖醇的添加具有明显抑制盐溶蛋白含量下降的效果，冻藏84 d后，盐溶蛋白含量高于空白组6.64%，且整个冻藏期内盐溶蛋白含量均显著高于空白组($P<0.05$)。添加8%长链菊粉的鱼糜在前56 d内盐溶蛋白含量略高于空白组，具有一定的抑制盐溶蛋白含量下降的效果，冻藏84 d后盐溶蛋白含量下降至3.73%，与空白组已无显著差异($P>0.05$)。添加8%短链菊粉和天然菊粉的鱼糜在冻藏期间，盐溶蛋白含量始终高于空白组，且随着冻藏时间的延长，这种差距随之增加，经过84 d的冻藏后，盐溶蛋白含

量分别比空白组高 6.11%和 5.46%。3 种聚合度的菊粉均具有一定的抑制盐溶蛋白含量下降的效果，其中短链菊粉的抗冻效果最明显，与商业抗冻剂相当，天然菊粉的效果稍差，长链菊粉的效果最弱。

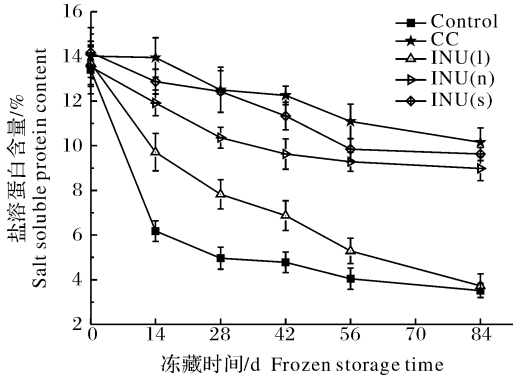



**图 1　冻藏期间鱼糜盐溶蛋白含量的变化**

Fig.1　Variation of salt soluble protein content of surimi during frozen storage

## 2.2　不同聚合度菊粉对冻藏期间 $Ca^{2+}$-ATPase 活性的影响

由图 2 可见，冻藏 84 d 后，空白组、商业抗冻剂组、长链菊粉组、天然菊粉组和短链菊粉组的蛋白 $Ca^{2+}$-ATPase 活性均发生显著下降（$P<0.05$），前 56 d 下降趋势较为明显，56 d 后下降速度开始变缓。冻藏 56 d 后 5 组样品的 $Ca^{2+}$-ATPase 活性下降率分别为 92.92%、86.39%、92.46%、88.96%和 87.40%，与空白组相比，8%短链、天然菊粉和 4%蔗糖＋4%山梨糖醇的添加均具有一定抑制 $Ca^{2+}$-ATPase 活性下降的效果，冻藏 84 d 后 5 组样品的下降率分别为 92.89%、92.98%、94.99%、93.71%、90.93%，只有 8%短链菊粉组仍具有稳定肌球蛋白结构的作用。

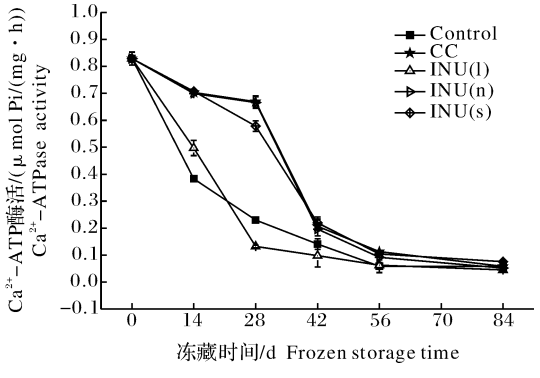



**图 2　冻藏期间鱼糜 $Ca^{2+}$-ATPase 活性的变化**

Fig.2　Variation of $Ca^{2+}$-ATPase activity of surimi during frozen storage

## 2.3　不同聚合度菊粉对冻藏期间总巯基及活性巯基含量的影响

由图 3A 可见，新鲜鱼糜的总巯基含量为 11.59 mol/$10^5$ g，经过 84 d 的冻藏后，空白组、商业抗冻剂组、长链菊粉组、天然菊粉组和短链菊粉组的总巯基含量依次为 6.90、9.85、6.76、8.62、9.34 mol/$10^5$ g，分别下降了 40.46%、15.01%、41.67%、25.62%、19.41%；活性巯基含量经过 84 d 冻藏后由初始值 8.77 mol/$10^5$ g 分别降至 4.12、4.78、2.40、4.15、5.12 mol/$10^5$ g，下降率为 53.02%、45.50%、72.63%、52.68%、41.62%（图 3B）。添加有 8%短链、天然菊粉和 4%蔗糖＋4%山梨糖醇的鱼糜在整个贮藏期内总巯基含量均显著高于空白组，具有明显的抑制总巯基下降的效果（$P<0.05$），长链菊粉组总巯基含量仅在前 42 d 高于空白组。而除天然菊粉外，活性巯基含量的变化趋势也与总巯基含量变化趋势基本一致。结果表明菊粉抑制了蛋白质分子间二硫键的形成以及蛋白质的聚集，延缓了冻藏过程中总巯基和活性巯基含量下降的速度和幅度，起到抗冻的作用，而聚合度对这种作用效果产生了显著影响。

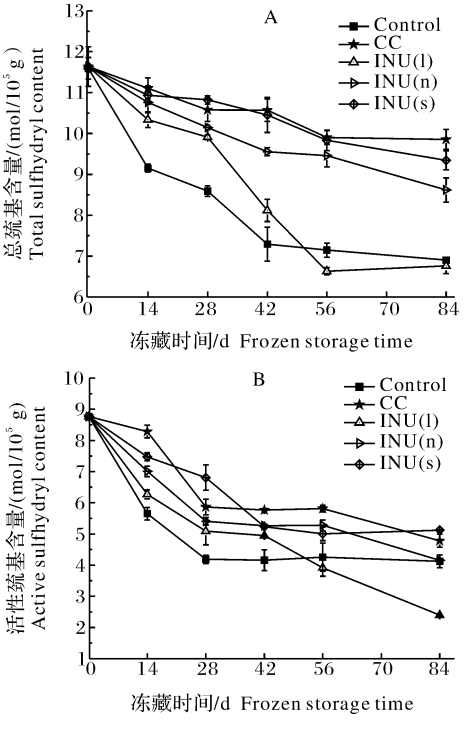



**图 3　冻藏期间鱼糜巯基含量的变化**

Fig.3　Variation of sulfhydryl content of surimi during frozen storage

## 2.4　不同聚合度菊粉对冻藏期间表面疏水性的影响

由图 4 可见，未经冻藏时鱼糜蛋白的表面疏水

性为54.91，随着冻藏时间的延长，空白组的表面疏水性逐渐上升，冻藏42 d后达到最高值136.81后开始下降，84 d后降至113.41。这是由于冻藏过程中，蛋白质的冷冻变性导致疏水性氨基酸的暴露，使表面疏水性上升，而到了冻藏后期疏水基团又会被聚集遮蔽而使表面疏水性下降。长链菊粉组也存在类似的趋势，表面疏水性先上升至142.63，然后下降至125.75，且在前42 d其表面疏水性明显低于空白组。冻藏期内，添加8%短链、天然菊粉和4%蔗糖+4%山梨糖醇的蛋白表面疏水性始终低于空白组，84 d后与新鲜鱼糜相比，表面疏水性分别上升了25.15、42.63、35.11，相较于空白组的58.5有明显的抑制作用，这说明较低聚合度的菊粉能够更好地与蛋白质氨基酸残基结合，抑制了蛋白质冷冻变性后的聚集。

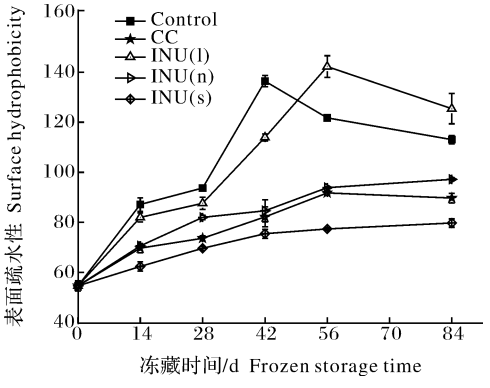



**图4 冻藏期间鱼糜表面疏水性的变化**

Fig.4 Variation of surface hydrophobicity of surimi during frozen storage

## 2.5 不同聚合度菊粉对冻藏期间蛋白质二级结构的影响

由图5可见，新鲜鱼糜中α-螺旋、β-折叠、β-转角、无规则卷曲的含量分别为25.43%、43.39%、20.64%、10.54%，经过冻藏后，蛋白质的冷冻变性会使蛋白质的二级结构含量发生变化，相较于新鲜鱼糜，冷冻84 d后，空白组、商业抗冻剂组、长链菊粉组、天然菊粉组和短链菊粉组鱼糜肌原纤维蛋白的α-螺旋含量分别下降了4.72%、2.48%、4.46%、3.05%、1.18%，而β-折叠和无规则卷曲的含量上升。5组样品中，添加8%短链菊粉的蛋白质二级结构与新鲜鱼糜最为接近，可以更好地稳定蛋白质二级结构，作用效果优于商业抗冻剂。

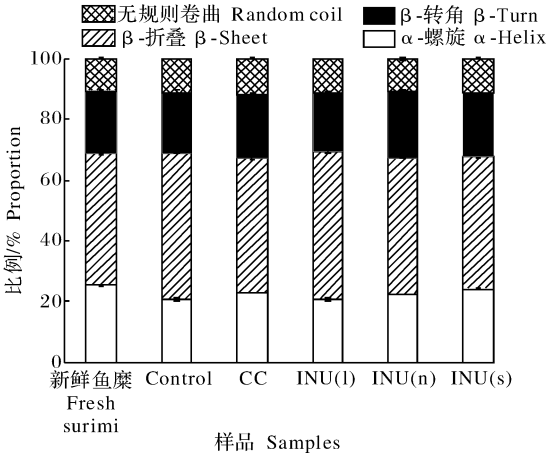
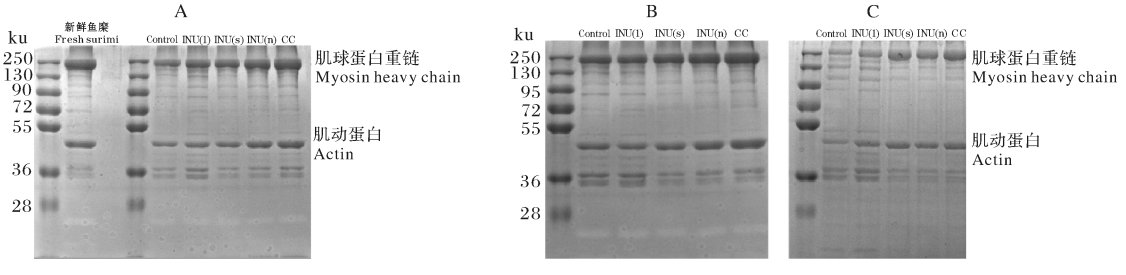



**图5 冻藏后鱼糜蛋白质二级结构的变化**

Fig.5 Variation of secondary structure of surimi protein after frozen storage

## 2.6 不同聚合度菊粉对冻藏期间SDS-PAGE的影响

由图6可见，经过冻藏后，空白组肌球蛋白重链条带强度发生明显变化，而肌动蛋白条带无明显变化。冻藏28 d时，添加3种聚合度菊粉的肌球蛋白重链条带的强度均强于空白组，说明此时3种聚合度菊粉均能够抑制肌球蛋白的降解，冻藏56～84 d时长链组条带强度接近空白组，已无抗冻保护作用，而其他2种聚合度的菊粉仍有效果，且添加8%短链菊粉具有比4%蔗糖+4%山梨糖醇更明显的效果。



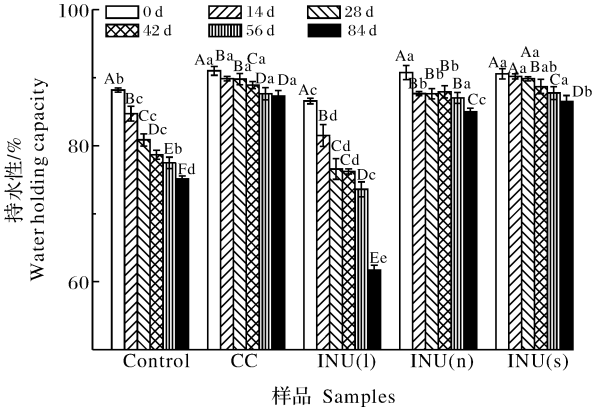

A:28 d; B:56 d; C:84 d

**图6 冻藏期间鱼糜蛋白凝胶电泳图**

Fig.6 SDS-PAGE patterns of surimi protein during frozen storage

### 2.7　不同聚合度菊粉对冻藏期间凝胶持水性的影响

由图 7 可见，未经冻藏的新鲜鱼糜中，8%长链菊粉的添加使凝胶持水性较于空白组下降了 1.61%，而 8%短链、天然菊粉和 4%蔗糖＋4%山梨糖醇的添加则使持水性分别提高了 2.39%、2.58%和 2.82%，相较于空白组和长链菊粉，较低聚合度的短链和天然菊粉可以提高新鲜鱼糜凝胶的持水性。无抗冻剂和添加 8%长链菊粉的鱼糜凝胶持水性随冻藏时间的延长均呈显著下降的趋势（$P<0.05$）；而天然、短链菊粉和商业抗冻剂组的持水性始终高于空白组，84 d 后，5 组鱼糜持水性分别降低了 13.07%、24.84%、5.85%、4.07%和 3.69%，其中短链菊粉的下降幅度最小，冻藏稳定性最好，除了短链菊粉自身良好的持水作用外，通过抑制冰晶的形成和生长减少肌肉组织结构的破坏，也是短链菊粉在冻藏过程中延缓持水能力下降的主要原因。




不同大写字母表示不同冻藏时间之间有显著性差异，不同小写字母表示不同样品之间有显著性差异，下同。Different uppercase letters represent significant differences between different frozen storage times and different lowercase letters represent significant differences between different samples. The same as below.

图 7　冻藏期间鱼糜凝胶持水能力的变化

Fig.7　Variation of surimi gel water holding capacity during frozen storage

### 2.8　不同聚合度菊粉对冻藏期间凝胶破断力和破断距离的影响

由图 8 可见，长链菊粉组和空白组在冻藏过程中的变化趋势相似，凝胶破断力和破断距离均发生显著下降（$P<0.05$），并且分别在 56、84 d 不再形成凝胶，而 8%天然、短链菊粉和 4%蔗糖＋4%山梨糖醇的添加均对凝胶强度的下降具有明显的抑制效果，破断力和破断距离始终高于空白组，84 d 后凝胶强度分别为 390.58、580.81、566.12 g·cm，空白组、商业抗冻剂组、长链菊粉组、天然菊粉和短链菊粉组经冻藏 12 周后凝胶强度所属分级分别从 FA、SSA、AAA、SSA、SSA 级降至 B、FA、B、AA、FA 级，短链菊粉和商业抗冻剂组仍处于较优级别，在提高鱼糜凝胶强度和保护冷冻鱼糜凝胶形成能力的效果上，短链菊粉＞天然菊粉＞长链菊粉。

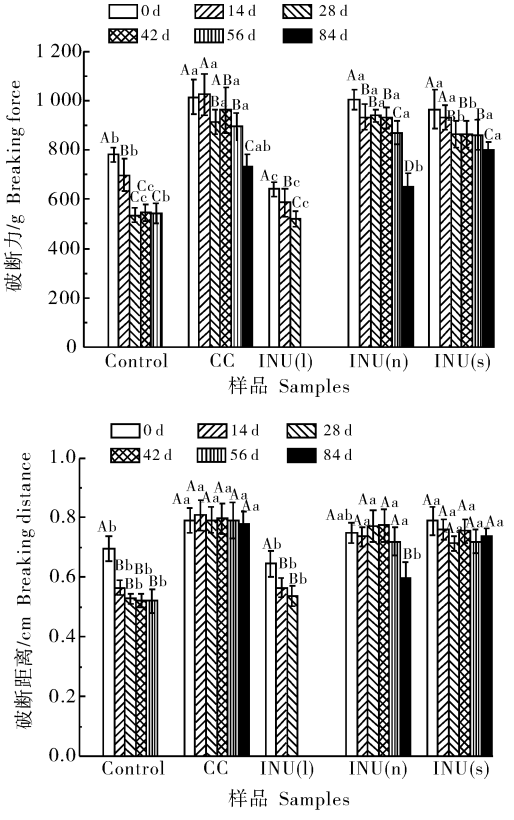



图 8　冻藏期间鱼糜凝胶强度的变化

Fig.8　Variation of surimi gel strength during frozen storage

### 2.9　不同聚合度菊粉对冻藏期间凝胶白度的影响

由表 2 可知，添加 8%长链菊粉的新鲜鱼糜凝胶相较于空白组新鲜鱼糜，白度提高了 4.99%，且始终显著高于空白组（$P<0.05$），而短链菊粉和商业抗冻剂组的白度分别降低了 1.77%和 1.94%，且始终显著低于空白组，8%天然菊粉的添加对白度无明显影响。在冻藏过程中鱼糜凝胶的白度整体呈递减趋势，0～84 d 内，空白组、商业抗冻剂组、长链菊粉组、天然菊粉和短链菊粉组白度的下降率分别为 4.11%、4.17%、7.49%、5.79%、4.18%，冻藏过程中，随着水分状态的改变及蛋白质、脂质氧化等的发生，鱼糜及其凝胶的色度会随之改变，3 种聚合度菊粉及 4%蔗糖＋4%山梨糖醇的添加对鱼糜凝胶白度的下降均无抑制作用，这说明菊粉对冻藏期间蛋白质和脂质氧化无明显的作用，但较高聚合度菊粉的

表2 冻藏期间鱼糜凝胶白度的变化

Table 2 Variation of surimi gel whiteness during frozen storage

| 冻藏时间/d Frozen storage time | Control | CC | INU(l) | INU(n) | INU(s) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 76.70±0.24Ab | 75.21±0.43Ac | 80.53±0.69Ba | 76.55±0.27Ab | 75.34±0.39Ac |
| 14 | 76.63±0.20Ab | 75.16±0.34Ad | 81.63±0.28Aa | 76.00±0.40Ac | 73.85±0.34Be |
| 28 | 75.67±0.50Bb | 73.56±0.75Bd | 79.99±0.56Ca | 74.63±0.42Bc | 72.92±0.26Ce |
| 42 | 75.42±0.47Bb | 73.78±0.52Bc | 80.61±0.54Ba | 74.97±0.64Bb | 73.32±0.50Bc |
| 56 | 74.61±0.70Cb | 73.66±0.58Bd | 80.27±0.24BCa | 74.34±0.34Bc | 73.55±0.25Bd |
| 84 | 73.55±0.59Db | 72.07±0.34Cc | 74.50±0.76Da | 72.12±0.28Cc | 72.19±0.26Dc |

添加可以使鱼糜具有更高的白度，这可能与其自身形成乳白色凝胶有关。

## 2.10 不同聚合度菊粉对冻藏期间凝胶质构的影响

由图9A可知，空白组、商业抗冻剂组、长链菊粉组、天然菊粉和短链菊粉组冻藏84 d后，硬度下降了30.14%、23.31%、60.74%、24.39%、11.32%，短链菊粉组的硬度值与新鲜鱼糜的最为接近，天然菊粉效果稍差但仍具有与商业抗冻剂相当的保持硬度的效果，而长链菊粉的添加对硬度具有负面效果。由图9B可知，84 d后，5组凝胶的内聚性分别为0.75、0.82、0.65、0.81和0.81，与空白组未冻藏前的0.82相比，短链和天然菊粉的内聚性无明显下降，与商业抗冻剂类似。根据图9C、D，84 d后，5组样品的凝胶咀嚼性由未冻藏前的3 094.05分别降至2 045.52、2 102.71、829.43、2 306.21、2 706.87，回弹性分别降至0.42、0.50、0.34、0.49、0.49，相较于空白组，8%短链、天然菊粉的添加对咀嚼性和回弹性的保持都具有明显的效果，而8%长链菊粉的添加则会加速质构的劣化。这表明较低聚合度的菊粉具有较好地抑制蛋白质冷冻变性的效果及良好的持水能力，能够更好地保持鱼糜的凝胶质构，而聚合度较高的长链菊粉对质构的不利影响可能源于长链菊粉的分子量大、链长度较长，干扰了蛋白质的交联，破坏了凝胶网络。

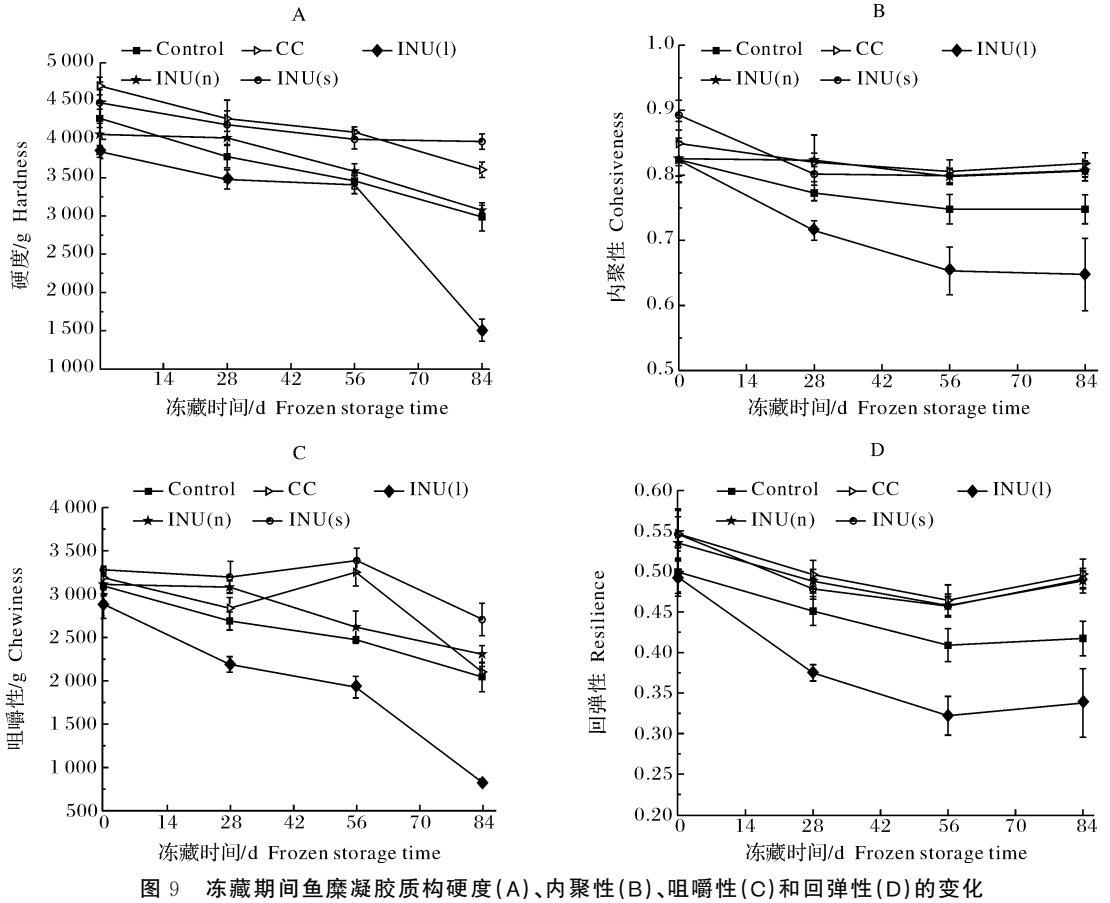



图9 冻藏期间鱼糜凝胶质构硬度(A)、内聚性(B)、咀嚼性(C)和回弹性(D)的变化

Fig.9 Variation of surimi gel texture induding hardness(A), cohesiveness(B), chewiness(C) and resilience(D) during frozen storage

### 2.11　偏最小二乘回归分析

由表 3 可见，凝胶持水能力、凝胶强度、硬度、内聚性与生化指标的相关性较强（$P<0.05$），说明这些性能受生化指标的影响大；而凝胶色度、咀嚼性、回弹性与生化指标之间无显著相关性（$P>0.05$），说明这些性能受生化指标的影响小，根据相关性系数筛选出凝胶持水能力、凝胶强度、硬度、内聚性几个指标组成依赖矩阵（$Y$），盐溶蛋白含量等生化指标组成解释矩阵（$X$）。

通过偏最小二乘回归分析来研究回归模型，分析凝胶品质与生化指标之间的内在关联，得到预测模型的估计回归系数如图10所示。由图10A可见，

**表 3　蛋白质指标与凝胶指标间的相关系数**

**Table 3　Correlation coefficient between protein index and gel index**

| 指标 Index | 盐溶蛋白含量 Salt soluble protein content | $Ca^{2+}$-ATPase 活性 $Ca^{2+}$-ATPase activity | 总巯基含量 Total sulfhydryl content | 活性巯基含量 Active sulfhydryl content | 表面疏水性 Surface hydrophobicity | α-螺旋 α-Helix | β-折叠 β-Sheet |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 持水性 WHC | 0.85* | 0.37 | 0.83* | 0.71 | −0.84* | 0.82* | −0.90* |
| 白度 Whiteness | 0.20 | 0.84* | 0.28 | 0.55 | 0.32 | 0.17 | 0.12 |
| 强度 Strength | 0.92* | 0.37 | 0.89* | 0.64 | −0.85* | 0.94** | −0.98** |
| 硬度 Hardness | 0.83* | 0.54 | 0.85* | 0.84* | −0.92* | 0.85* | −0.84* |
| 内聚性 Cohesiveness | 0.82* | 0.36 | 0.80 | 0.70 | −0.82* | 0.78 | −0.87* |
| 咀嚼性 Chewiness | 0.34 | 0.56 | 0.39 | 0.41 | 0.24 | 0.21 | −0.10 |
| 回弹性 Resilience | −0.36 | 0.22 | 0.31 | 0.20 | 0.37 | 0.36 | 0.57 |

注 Note：* $P<0.05$；** $P<0.01$.

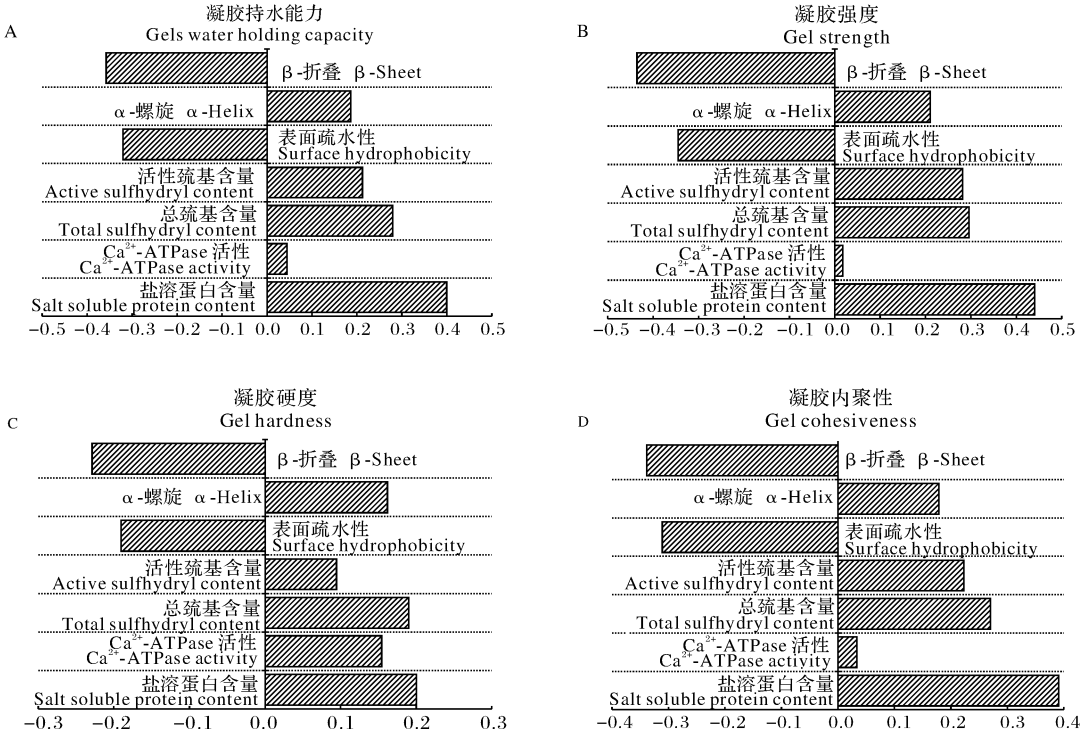



**图 10　预测凝胶持水能力(A)、强度(B)、硬度(C)和内聚性(D)的回归系数**

Fig.10　Estimated regression coefficients for predicting gel water holding capacity(A), strength(B), hardness(C) and cohesiveness(D)

表面疏水性、β-折叠与持水性呈负相关，盐溶蛋白含量、$Ca^{2+}$-ATPase活性、总巯基及活性巯基含量、α-螺旋均与持水性呈正相关，盐溶蛋白含量是影响持水性的最主要指标，其他依次为蛋白质二级结构中的β-折叠、表面疏水性、总巯基含量、活性巯基含量和α-螺旋，而$Ca^{2+}$-ATPase活性的影响不大，解释矩阵说明了70.15%的持水性的变化。图10B、D得到的结论与图10A的相似，凝胶强度和内聚性的可解释变异分别为95.94%、69.26%，说明这2种物理特性也可以通过这些生化指标得到很好的解释，尤其是鱼糜凝胶强度。由图10C可知，所有生化指标均对鱼糜凝胶的硬度有显著影响，其中盐溶蛋白含量和二级结构起到最主要的作用，表面疏水性、总巯基含量和$Ca^{2+}$-ATPase活性次之，活性巯基含量的影响最小。上述结果表明冻藏过程中盐溶蛋白含量、蛋白质二级结构、表面疏水性、总巯基和活性巯基含量是影响鱼糜凝胶性能的主要因素，可以作为评价冷冻鱼糜凝胶品质的主要生化指标。

## 3 讨 论

鱼糜在冻藏过程中，会发生盐溶蛋白含量的下降，蛋白质疏水基团的暴露、二硫键的产生，以及蛋白质二级结构的变化等，其中主要是肌球蛋白的冷冻变性，鱼糜凝胶的强度、持水性、硬度、内聚性、咀嚼性和回弹性等也均随冻藏时间的延长而逐渐减小。除蛋白质冷冻变性的影响外，冰晶形成对肌肉的机械损伤也对鱼糜品质的劣化起到了一定作用，且损伤程度取决于冰晶的大小和形态[17-18]。菊粉的添加一定程度上抑制了蛋白质冷冻变性和凝胶性能的劣化，具有一定的抗冻保护性，其作用机制源于菊粉中含有较多的羟基，部分可以与蛋白质结合，减少结合水脱离后蛋白质基团的暴露以及基团间相互作用的产生，抑制了蛋白质的聚集，进而起到抗冻保护的效果，Zhang等[19]研究发现低聚木糖会通过与氨基酸极性残基形成氢键，取代虾肌球蛋白表面的水分子，从而使冷冻虾的蛋白质结构保持稳定，起到低温保护作用，本研究的结论与其一致。菊粉中的羟基也可以通过氢键与水分子相结合，降低水分子的移动性和可冻结水的含量，降低冰点，同时通过氢键等相互作用嵌入冰层破坏部分冰晶结构[20]，抑制冰晶的形成和生长，因此受冰晶影响的蛋白质冷冻变性的速度得以延缓。

菊粉对鱼糜的抗冻保护效果受聚合度的影响，相较于长链菊粉和天然菊粉，短链菊粉具有更好的抗冻保护性，能够显著抑制鱼糜蛋白质的冷冻变性和凝胶品质的劣化，这可能是由于短链菊粉中存在一些低分子质量的糖，相较于高分子质量的菊粉更容易暴露出游离羟基，羟基与水分子之间氢键的形成会减少水分子间氢键的数量，增加结合水的比例，因此具有更好的持水能力[5]。而较高聚合度菊粉由于链长度较长，分子内羟基数量增加，而羟基易发生自身键合，导致对水分的束缚能力弱于低聚合度菊粉[21]，所以抗冻保护效果不佳。此外高分子质量的菊粉仅通过限制水分子的流动，推动鱼糜向玻璃态转化起到抗冻效果，而低分子质量的菊粉还可以通过溶剂排阻机制，即代替水分子与蛋白质结合，因而具有更好的抗冻效果。

在抑制蛋白质冷冻变性和保持鱼糜凝胶性能方面，8%的短链菊粉具有与传统商业抗冻剂（4%蔗糖+4%山梨糖醇）相当的冷冻保护效果，且甜度和热量远低于商业抗冻剂，同时兼具丰富的益生作用，有利于提高消费者对鱼糜制品的接受度，是良好的商业抗冻剂替代品。此外，目前大多报道中主要通过蛋白质冷冻变性来研究抗冻剂和抗冻方法[22-23]，而国家标准中要求根据凝胶性能对冷冻鱼糜的品质进行判断，本研究中通过分析鱼糜的凝胶品质与蛋白质化学指标间的相关性，发现凝胶持水能力、强度、硬度、内聚性与盐溶蛋白含量、$Ca^{2+}$-ATPase活性、总巯基和活性巯基含量、α-螺旋呈正相关，与β-折叠、表面疏水性呈负相关，凝胶性能可以根据盐溶蛋白含量、蛋白质二级结构、表面疏水性、总巯基和活性巯基含量进行预测，为今后冷冻鱼糜品质评价体系的研究提供参考。

## 参考文献 References

[1] 刘兴艳，陈安均，蒲彪.国内外冷冻冷藏预制食品产业现状及发展前景[J].食品科学，2011，32(15)：323-328. LIU X Y，CHEN A J，PU B. Market status and prospects of chilled and frozen prepared foods[J]. Food science，2011，32(15)：323-328(in Chinese with English abstract).

[2] 杨贤庆，袁悦，赵永强，等.冷冻鱼糜绿色抗冻剂的研究进展[J].上海海洋大学学报，2018，27(5)：148-155. YANG X Y，YUAN Y，ZHAO Y Q，et al. Progress on green cryoprotectants for frozen surimi[J]. Journal of Shanghai Ocean Universi-

ty,2018,27(5):148-155(in Chinese with English abstract).

[3] FAHRIZAL A N,ROHAYA S,FEBRIANI R. Surimi from freshwater fish with cryoprotectant sucrose, sorbitol, and sodium tripolyphosphate[C] // [S.n].IOP conference series:earth and environmental ence. Bristol:IOP Publishing Ltd,2018:207.

[4] LEYVAE-PORRA C,SAAVEDRA-LEOS M Z,LOPEZ-PABLOS A L, et al. Chemical, thermal and physical characterization of inulin for its technological application based on the degree of polymerization[J/OL]. Journal of food process engineering,2017,40(1):e12333.1-e12333.13[2020-05-23]. https://doi.org.10.1111/jfpe.12333.

[5] YE J,YANG R,LIU C,et al. Improvement in freeze-thaw stability of rice starch gel by inulin and its mechanism[J]. Food chemistry,2018,268:324-333.

[6] GUPTA N,JANJID A K,POOJA D,et al. Inulin:a novel and stretchy polysaccharide tool for biomedical and nutritional applications[J]. International journal of biological macromolecules,2019,132:852-863.

[7] 罗登林,姚金格,徐宝成,等.不同聚合度菊粉的吸附特性[J].食品科学,2017,38(1):67-73. LUO D L,YAO J G,XU B C,et al. Absorption characteristic of inulins with different polymerization degrees[J]. Food science,2017,38(1):67-73(in Chinese with English abstract).

[8] SILVA E K,ZABOT G L,BARGAS M A,et al. Microencapsulation of lipophilic bioactive compounds using prebiotic carbohydrates:effect of the degree of inulin polymerization[J]. Carbohydrate polymers,2016,152:775-783.

[9] LOWRY O H,ROSEBROUGH N J,FARR A L,et al. Protein measurement with thefolin phenol reagent[J]. Journal of biological chemistry,1951,193(1):265-275.

[10] ELLMAN G L. Tissue sulfhydryl groups [J]. Archives of biochemistry and biophysics,1959,82(1):70-77.

[11] LU H,ZHANG L,LI Q,et al. Comparison of gel properties and biochemical characteristics of myofibrillar protein from bighead carp (*Aristichthys nobilis*) affected by frozen storage and a hydroxyl radical-generation oxidizing system[J]. Food chemistry,2017,223(15):96 -103.

[12] 方海砚,苑歆,刘友明.等.羟自由基氧化对鲢鱼肌原纤维蛋白结构的影响[J].食品工业科技,2020,41(4):6-12. FANG H Y, YUAN X,LIU Y M,et al. Effect of hydroxylradical oxidation on gel properties of surimi from silver carp[J]. Science and technology of food industry,2020,41(4):6-12(in Chinese with English abstract).

[13] FAN M,HU T,ZHAO S,et al. Gel characteristics and microstructure of fish myofibrillar protein/cassava starch composites [J]. Food chemistry,2017,218:221-230.

[14] 刘茹,钱曼,雷跃磊,等.漂洗方式对鲢鱼鱼糜凝胶劣化性能的影响[J].食品科学,2010(21):96-100. LIU R,QIAN M,LEI Y L,et al. Effect of rinsing mode on modori of silver carp surimi [J]. Food science,2010,21:96-100(in Chinese with English abstract).

[15] 马瑶兰,熊善柏,尤娟,等.加热模式和可得然胶对白鲢鱼糜胶凝特性的影响[J].现代食品科技,2017,33(4):222-228. MA Y L,XIONG S B,YOU J. Effects of heating methods and curdlan on the gelation properties of silver carp surimi gels[J]. Modern food technology,2017,33(4):222-228(in Chinese with English abstract).

[16] CHENG Q,SUN D W. Application of PLSR in correlating physical and chemical properties of pork ham with different cooling methods[J]. Meat science,2005,70(4):691-698.

[17] 宋广磊,戴志远.鱼肉蛋白质冷冻变性研究进展[J].食品科技,2006,31(3):17-20. SONG G L,DAI Z Y. Research status on the fish protein frozen denaturation[J]. Food science and technology,2006,31(3):17-20(in Chinese with English abstract).

[18] KOMINAMI Y,WATANABE M,SUZUKI T. Effects of postmortem physiological changes on ice crystal morphology in the fish muscle tissue[J]. Trans Jsrae,2014,31:47-56.

[19] ZHANG B,HAO G J,CAO H J,et al. The cryoprotectant effect of xylooligosaccharides on denaturation of peeled shrimp (*Litopenaeus vannamei*) protein during frozen storage[J]. Food hydrocolloids,2018,77:228-237.

[20] 栾兰兰. 冷冻带鱼冰晶生长预测模型及分形维数品质评价体系的建立[D].杭州:浙江大学,2018. LUAN L L. Establishment of prediction model for ice crystal growth and quality evaluation system based on fractal dimension of frozen hairtails (*Trichiurus Haumela*) [D]. Hangzhou:Zhejiang University,2018 (in Chinese with English abstract).

[21] 杨锁.多羟基类抗冻剂低温热物理性质研究[D].合肥:合肥工业大学,2012. YANG S. Thermophysical properties study of polyhydroxy antifreeze at low temperature[D].Hefei:Hefei University of Technology,2012(in Chinese with English abstract).

[22] RODIANA N,NURUL H,NORAYATI I. A review on the loss of the functional properties of proteins during frozen storage and the improvement of gel-forming properties of surimi [J]. American journal of food technology,2011,6(1):242-253.

[23] 邵颖,姚洁玉,江杨阳,等.抗冻剂对鱼肉蛋白质冷冻变性的保护作用[J].食品科学,2018,39(7):291-297. SHAO Y,YAO J Y,JIANG Y Y,et al. A review of the literature on the effect of cryoprotectants on physicochemical properties and gel properties of frozen surimi[J]. Food science,2018,39(7):291-297(in Chinese with English abstract).

# Effect of inulin with different degree of polymerization on freezing resistance of surimi

ZHAO Liyuan, HUANG Qilin, XIONG Shanbai

*College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University/ National R&D Branch Center for Conventional Freshwater Fish Processing (Wuhan), Wuhan* 430070, *China*

**Abstract** Freezing is a common processing method used in the production of surimi. In order to prevent quality deterioration during freezing storage, commercial cryoprotectant (4% sucrose and 4% sorbitol) is added, which introduces excessive sweetness and calorie and limits partial consumers. With low sweetness, rich probiotic function and reasonable structure, inulin is a potential cryoprotectant. Therefore, it is essential to conduct a systematic research on the freezing resistance of inulin with different degree of polymerization for surimi. The purpose of the study was to investigate the effects of inulin with different degrees of polymerization on protein denaturation and quality deterioration of surimi, and to reveal the relationship between protein biochemical properties and gel properties. In this study, frozen silver carp surimi was prepared by adding short chain inulin (degree of polymerization 2-6), natural inulin (degree of polymerization 10-23) and long chain inulin (degree of polymerization 23-46). The protein biochemical and gel's indicators were measured during frozen storage. Furthermore partial least squares regression analysis(PLSR) was performed to analyze the relationship between protein and gel's indicators. Results showed that, all of the inulin had anti-freezing effect on surimi. Short chain inulin had the best effect among these, and could significantly inhibit the decrease of the salt-soluble protein content, $Ca^{2+}$-ATPase activity, sulfhydryl content and the increase of surface hydrophobicity ($P<0.05$). Meanwhile, secondary structure, sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and gel properties (water holding capacity, gel strength and texture) of sample added with short chain inulin was the closest to those of fresh surimi. In addition, salt-soluble protein content, secondary structure, surface hydrophobicity and sulfhydryl content had sequentially decreased influence on gel qualities, which could be used as main indexes indirectly evaluating gel quality of frozen surimi. But $Ca^{2+}$-ATPase activity exerted little influence. This study provided a reference for the freezing denaturation of surimi and the development of new cryoprotectant.

**Keywords** silver carp; inulin; degree of polymerization; protein frozen denaturation; gel degradation; surimi; gel quality; cryoprotectants

(责任编辑:赵琳琳)