第41卷 第3期
2022年 5月

华 中 农 业 大 学 学 报
Journal of Huazhong Agricultural University

Vol.41 No.3
May 2022,236～243

丁娇娇,黄琪琳.基于不同回收方法的肌浆蛋白对鲢鱼糜冻融稳定性的影响[J].华中农业大学学报,2022,41(3):236-243.
DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2022.03.027

基于不同回收方法的肌浆蛋白对鲢鱼糜冻融稳定性的影响

丁娇娇,黄琪琳

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 为研究不同回收方法的肌浆蛋白对鲢鱼糜冻融稳定性的影响,分别通过加热法、酸偏移法和酸偏移-耦合壳聚糖絮凝法回收鲢鱼糜漂洗液中的肌浆蛋白,并将其添加至鱼糜中,测定鱼糜冻融循环过程中蛋白质冷冻变性、脂肪氧化及凝胶品质的指标。结果显示:添加不同方法回收的肌浆蛋白均能抑制鲢鱼糜冻融循环过程中盐溶性蛋白含量、Ca^{2+}-ATPase活性和总巯基含量的下降以及表面疏水性的上升,其中加热法回收的肌浆蛋白抑制鱼糜蛋白质冷冻变性的效果最显著,经过9次冻融后仍能够对鱼糜蛋白质变性起到抑制效果。蛋白质羰基含量测定结果显示,肌浆蛋白的添加可以抑制鱼糜冻融循环过程中蛋白质氧化现象。而与空白组鱼糜相比,添加不同回收处理的肌浆蛋白的鱼糜,其硫代巴比妥酸值(TBARs)和pH值并没有显著变化。此外,随着冻融循环次数的增加,鱼糜凝胶品质会发生严重劣化,其中添加酸偏移-耦合壳聚糖絮凝处理的肌浆蛋白的鱼糜始终保持较好的凝胶质构性能。

关键词 回收方法;肌浆蛋白;鱼糜;冻融稳定性;蛋白质变性;脂肪氧化;凝胶劣化

中图分类号 TS254.4 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2022)03-0236-08

冷冻作为鱼糜及其制品常见的加工和贮藏手段,能够有效延长鱼糜的保存期限,但是鱼糜在冻藏过程中会发生蛋白质冷冻变性和脂肪氧化等,严重影响其加工特性,导致鱼糜的持水性、凝胶品质、色泽及风味等发生劣变[1-3],近年来学者们研究发现,糖类[4]和磷酸盐类[5]均能作为冷冻保护剂应用于鱼糜中,而蛋白质类水解物作为一种新型的抗冻保护剂已成为近些年的研究热点[6-8]。

在鱼糜工业生产过程中会产生大量富含肌浆蛋白的鱼糜漂洗液,增加了企业处理压力和成本,造成鱼糜加工副产物资源的浪费,不符合企业绿色低碳生产的理念[9-10]。而肌浆蛋白是一种水溶性蛋白,占鱼肌肉蛋白总质量的20%～40%,富含多种人体必需氨基酸,极具利用价值[11]。因此,若能将鱼糜漂洗液中的肌浆蛋白回收并加以利用,既能降低企业废水处理成本,还能增加鱼糜制品的附加值,充分利用鱼糜加工副产物,从而产生极佳的环境效益和经济价值。笔者所在课题组研究发现回收的肌浆蛋白可作为一种鱼糜凝胶增强剂应用于鱼糜生产中,且不同回收方法的肌浆蛋白理化性质存在较大差异,然而目前不同回收方法的肌浆蛋白对冻融鱼糜的蛋白质、脂肪性质和凝胶品质的影响鲜有报道。

本研究通过3种不同方法(加热法、酸偏移法和酸偏移-耦合壳聚糖絮凝处理)回收鲢鱼糜漂洗液中肌浆蛋白,研究肌浆蛋白对冻融循环过程中鱼糜的蛋白质冷冻变性、脂肪氧化以及凝胶品质的影响,评价其对鲢鱼糜的抗冻性和抗氧化效果,旨在为肌浆蛋白在鱼糜工业生产中的扩大应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鲢,购于华中农业大学校内农贸市场;鲢鱼糜(AAA级),购于湖北洪湖井力水产食品股份有限公司。

NaCl、HCl、NaOH、Na_2HPO_4、NaH_2PO_4、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、硫代巴比妥酸、2,4-2硝基苯肼、2-硝基

收稿日期:2022-01-17
基金项目:财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系(CARS-45-28)
丁娇娇,E-mail:2501983877@qq.com
通信作者:黄琪琳,E-mail:hql@mail.hzau.edu.cn

苯甲酸等，分析纯，购于国药集团化学试剂有限公司；牛血清蛋白购于阿拉丁试剂有限公司；酶活试剂盒购于南京建成生物工程研究所。

1.2　仪器与设备

FJ-200高速分散均质机，上海标本模型厂；Avanti J-26 XP高速冷冻离心机，美国贝克曼公司；UltraScan XE色度仪，美国亨特立公司；TA-XT2i/25质构分析仪，英国Stable Micro System公司。

1.3　鱼糜理化指标的测定

1）肌浆蛋白的回收。参考周文燕等[12]的方法制备鲢鱼糜漂洗液备用。①取1 L鱼糜漂洗液，水浴加热（70 ℃，30 min）后置于冰水中静置1 h后离心（10 000 r/min，4 ℃）15 min，弃去上清液得到加热法肌浆蛋白（heating flocculation sarcoplasmic protein，HSP）；②取1 L鱼糜漂洗液，用6 mol/L盐酸调节pH值至3.0后用6 mol/L NaOH将漂洗液pH调至7.0，室温静置90 min后离心（10 000 r/min，4 ℃）15 min，弃去上清液得到酸偏移法肌浆蛋白（pH-shifting flocculation sarcoplasmic protein，PHSP）；③取1 L鱼糜漂洗液，加入3%壳聚糖溶液（质量分数为1%），随后按照酸偏移法调节pH，得到酸偏移-耦合壳聚糖絮凝法肌浆蛋白（pH-shifting/chitosan flocculation sarcoplasmic protein，PHCSP）。

2）鱼糜样品的制备。不添加肌浆蛋白的鱼糜作为空白组，记为Control；加热法肌浆蛋白、酸偏移法肌浆蛋白和酸偏移-耦合壳聚糖絮凝法肌浆蛋白添加量分别为总质量的4%、4%和6%，分别记为HSP组、PHSP组和PHCSP组。将鱼糜和肌浆蛋白放入食品调理机内混合斩拌3 min，并调节水分含量至78%，用真空袋分装鱼糜并密封，于−18 ℃冻藏。在冻融循环实验中，制备好的鱼糜样品每48 h全部取出，在4 ℃冰箱解冻24 h，每次取1组用于测定相关指标，剩余样品继续冻藏，如此冻融循环9次。

3）鱼糜蛋白冷冻变性及氧化指标的测定。盐溶性蛋白含量和总巯基含量的测定参考文献[4]的方法；Ca^{2+}-ATPase酶活性按照试剂盒使用说明进行测定；表面疏水性的测定参考文献[13]的方法；蛋白质羰基含量的测定参考文献[14]的方法并稍作修改：用2 mL 10 mmol/L 2，4-二硝基苯肼溶液（用0.5 mol/L H_3PO_4溶解）与2 mL适当稀释后的蛋白溶液混合，室温下避光反应10 min后加入1 mL 6 mol/L溶液，继续室温下避光静置10 min。以不含蛋白的磷酸缓冲液作空白，在450 nm处记录各组的OD值。摩尔消光系数以22 308 L/（mol·cm）计算；硫代巴比妥酸值（TBARs）的测定参考文献[15]的方法。

4）pH值的测定。鱼糜与0.1 mol/L氯化钾溶液按1∶10的质量比混合，均质后用pH计进行测量，读数精确至0.05。

1.4　鱼糜凝胶品质的测定

1）鱼糜凝胶的制备。称取150 g解冻后鱼糜，切成小块后空斩2 min，添加2.0%NaCl溶液，盐斩1 min，同时用冰水调节最终水分含量为78%，斩拌后的鱼糜灌入直径20 mm的肠衣后封口。采用两段式加热（先40 ℃水浴1 h，后90 ℃水浴0.5 h），捞出后冷却并于4 ℃冰箱中贮藏，备用。

2）凝胶强度和质构特性的测定参考文献[16]的方法。凝胶色泽的测定参考文献[17]的方法。凝胶持水性的测定参考文献[18]的方法。

1.5　数据统计分析

用Origin 2018、SPSS 22.0软件处理和分析试验数据，最终结果以“平均值±标准差”的形式呈现，方差分析采用ANOVA，显著性分析采用Duncan's检验（α=0.05）。

2　结果与分析

2.1　不同回收方法的肌浆蛋白对冻融过程中鱼糜蛋白冷冻变性及氧化程度的影响

如图1A所示，4组冷冻鱼糜样品的盐溶性蛋白含量随着冻融次数的增加均呈现不断下降的趋势。与空白组相比，添加酸偏移法肌浆蛋白和酸偏移-耦合壳聚糖絮凝法肌浆蛋白组的鱼糜在前7次冻融循环过程中盐溶性蛋白含量下降较慢，具有一定抑制盐溶性蛋白含量下降的效果，但是到了第9次冻融循环后，盐溶性蛋白含量与空白组差异并不显著（$P>0.05$）。而加热法肌浆蛋白的添加具有明显抑制鱼糜冻融循环中盐溶性蛋白含量下降的效果，在整个冻融循环过程中都显著高于空白组（$P<0.05$），到了第9次冻融循环之后比空白组的盐溶性蛋白含量要高3.71%。

由图1B可知，随着冻融次数的增加，总巯基含量呈现先缓慢下降后快速下降的趋势。冻融循环过程中前期巯基氧化速率小于巯基暴露的速度，后期受到冰晶体生长等环境因素的影响，巯基氧化成二硫键速度加快，因此前期的巯基含量上升较慢而后期上升速度加快。经过9次冻融循环后，空白组、加热法肌浆蛋白组、酸偏移法肌浆蛋白和酸偏移-耦合壳聚糖絮凝法肌浆蛋白组的含量较新鲜鱼糜分别降

低了53.47%、43.43%、47.64%和45.07%。添加3种肌浆蛋白的鱼糜总巯基含量明显高于空白组，具有明显抑制鱼糜蛋白总巯基含量下降的效果，其中加热法肌浆蛋白组抑制下降效果最为明显。

由图1C可知，Ca^{2+}-ATPase酶活性随着冻融次数增加呈现出不断下降的趋势，经过前3次冻融循环后Ca^{2+}-ATPase酶活就明显下降，后6次冻融循环下降速度开始变缓。经过9次冻融循环之后，与新鲜鱼糜相比，空白组、加热法肌浆蛋白组、酸偏移法肌浆蛋白组和酸偏移-耦合壳聚糖絮凝法肌浆蛋白组的酶活性分别下降95.73%、81.12%、83.99%、87.13%。与酸偏移法肌浆蛋白组和酸偏移-耦合壳聚糖絮凝法肌浆蛋白组相比，加热法肌浆蛋白组抑制Ca^{2+}-ATPase酶活性下降的效果最为明显，在冻融9次后仍具有保护肌球蛋白结构的效果。Ca^{2+}-ATPase酶活性与肌球蛋白球状头部的巯基密切相关，因此，巯基的氧化也会导致Ca^{2+}-ATPase酶活性的下降，在本研究中Ca^{2+}-ATPase酶活性和巯基含量也有明显相似的趋势。

由图1D可知，随着冻融次数的增加，4组鱼糜表面疏水性都呈现先上升后下降的倒“V”型变化趋势，前7次冻融循环先逐渐上升，达到峰值后在第9次冻融循环后开始下降。第7次冻融后，与新鲜鱼糜相比，空白组、加热法肌浆蛋白组、酸偏移法肌浆蛋白和酸偏移-耦合壳聚糖絮凝法肌浆蛋白组的鱼糜表面疏水性指数分别上升了11.65、8.46、8.67和9.44，相较空白组，添加肌浆蛋白有明显的抑制表面疏水性上升的作用。添加肌浆蛋白组的鱼糜表面疏水性始终低于空白组，其中加热法肌浆蛋白组在第9次冻融循环后鱼糜的表面疏水性仍是最低值。

如图1E所示，4组样品的蛋白质羰基含量都呈现不断上升的趋势，说明冻融循环过程中鱼糜蛋白发生了不同程度的蛋白质氧化现象。前3次冻融循环过程中，各组的蛋白质羰基含量上升趋势较为缓慢，第5次冻融循环之后，空白组鱼糜的蛋白质羰基含量上升速度明显加快，到了第9次冻融循环，空白组的蛋白质羰基含量最高，而添加加热法肌浆蛋白、酸偏移法肌浆蛋白和酸偏移-耦合壳聚糖絮凝法肌浆蛋白组的鱼糜蛋白羰基含量均明显较低。说明肌浆蛋白的添加能够显著抑制鱼糜冻融循环过程中蛋白质的氧化修饰现象($P<0.05$)。

如图1F所示，到第9次冻融循环后，空白组、加热法肌浆蛋白、酸偏移法肌浆蛋白、酸偏移-耦合壳聚糖絮凝法肌浆蛋白组的TBARs值分别为1.19、1.17、1.08、0.96 mg/kg。与空白组相比，添加肌浆蛋白组的TBARs值并没有显著差异，说明添加肌浆蛋白不会促进鱼糜冻融过程中的脂肪氧化。

因此，添加3种肌浆蛋白均能抑制冻融过程中鱼糜盐溶性蛋白含量、总巯基含量和Ca^{2+}-ATPase酶活性的下降，以及表面疏水性和蛋白质羰基含量的上升，说明肌浆蛋白能够抑制冻融鱼糜蛋白质冷冻变性和蛋白氧化现象，其中加热法回收的肌浆蛋白的抑制效果最优。但是添加肌浆蛋白并不会促进冻融鱼糜的脂肪氧化现象。

2.2 不同回收方法的肌浆蛋白对鱼糜冻融过程中pH值的影响

由图2可知，随着冻融循环次数的增加，鱼糜pH值呈现先下降后上升的“V”型变化趋势，第3次冻融循环时4组鱼糜的pH值下降到最低点，分别为6.45、6.47、6.46和6.43，第9次冻融循环后4组pH值又分别上升到6.95、6.93、6.92和6.92，4组鱼糜pH值之间并没有显著差异($P>0.05$)，说明肌浆蛋白对鱼糜pH值并没有不良影响，添加肌浆蛋白并不会降低鱼糜的新鲜度。

2.3 不同回收方法的肌浆蛋白对鱼糜冻融过程中凝胶强度的影响

如图3所示，鱼糜凝胶强度随着冻融次数的增加呈现不断下降的趋势，空白组、加热法肌浆蛋白组、酸偏移法肌浆蛋白组、酸偏移-耦合壳聚糖絮凝法肌浆蛋白组在第9次冻融循环后鱼糜的凝胶强度分别降低到251、410、456和508 g·cm。与空白组相比，添加肌浆蛋白能够显著抑制鱼糜冻融循环过程中鱼糜凝胶强度的下降($P<0.05$)。这可能是因为回收的肌浆蛋白含有一定浓度的游离氨基酸，带负电荷的氨基酸与蛋白质结合，抑制了蛋白质分子间的聚集，起到了冷冻保护的作用。值得注意的是添加酸偏移-耦合壳聚糖絮凝法肌浆蛋白组的抑制凝胶劣化效果最佳，这可能是因为通过壳聚糖絮凝的肌浆蛋白中含有壳聚糖，而壳聚糖与鱼糜蛋白相互作用改善了鱼糜凝胶强度。

2.4 不同回收方法的肌浆蛋白对鱼糜冻融过程中凝胶质构特性的影响

由表1可知，随着冻融循环次数增加，鱼糜凝胶的硬度和咀嚼性呈现不断下降的趋势，与新鲜鱼糜相比，第9次冻融循环后空白组、加热法肌浆蛋白组、酸偏移法肌浆蛋白组和酸偏移-耦合壳聚糖絮凝法肌浆蛋白组的硬度值依次为

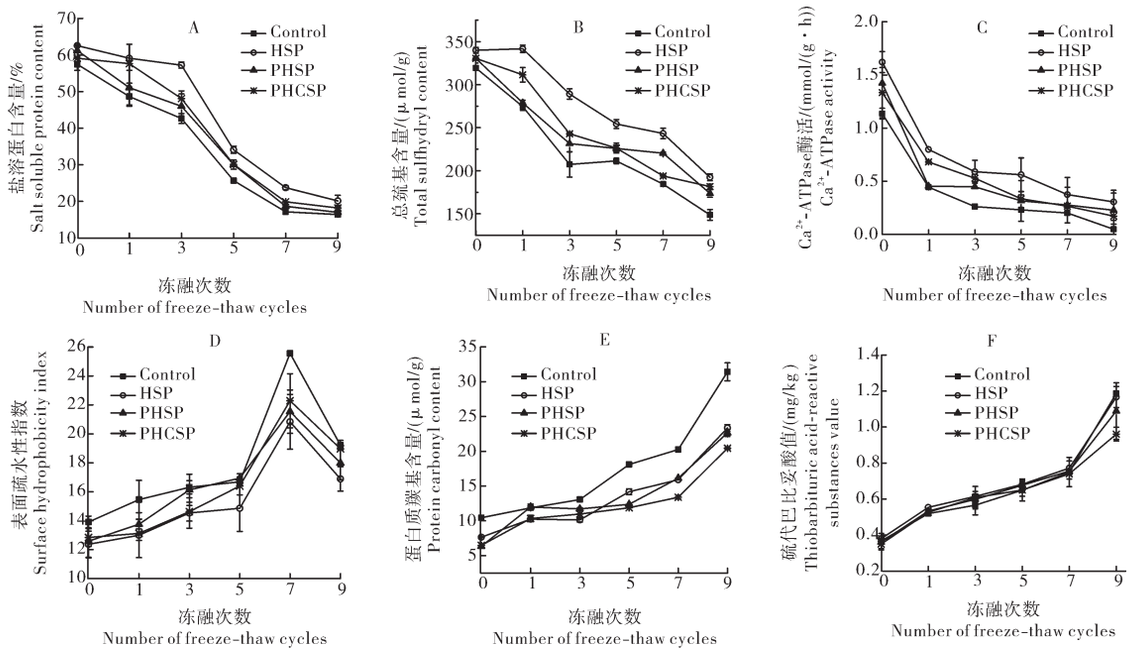


图 1　冻融循环期间鱼糜盐溶性蛋白含量(A)、总巯基含量(B)、Ca^{2+}-ATPase酶活性(C)、表面疏水性(D)、蛋白质羰基含量(E)和TBARs值(F)的变化

Fig.1　Changes of salt soluble protein content(A), total sulfhydryl content(B), Ca^{2+}-ATPase activity(C), surface hydrophobicity(D), protein carbonyl content(E) and TBARs value (F) in surimi during freeze-thaw cycles

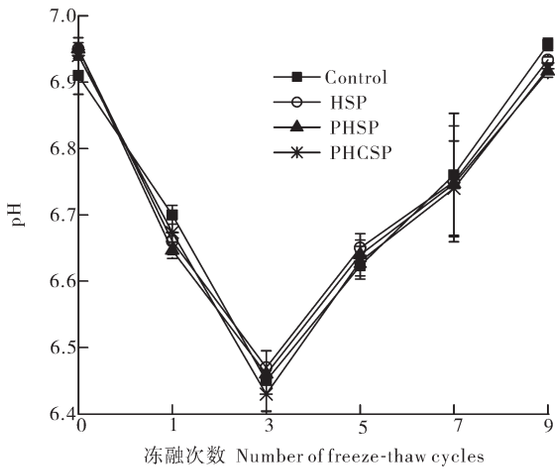
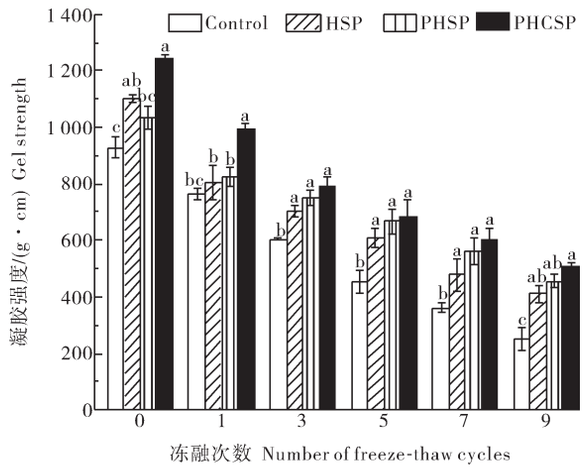


图 2　冻融循环期间鱼糜pH值的变化

Fig.2　Changes of pH value in surimi during freeze-thaw cycles



不同字母表示同一冻融次数下样品组间有显著差异($P<0.05$)，下同。Different letters indicate significant differences between different samples in the same freeze-thaw cycles ($P<0.05$), the same as below.

图 3　冻融循环期间鱼糜凝胶强度的变化

Fig.3　Changes of gel strength of surimi during freeze-thaw cycles

1 781.63、1 952.68、1 908.84 和 1 976.16 g；咀嚼性分别为 1 360.73、1 552.74、1 497.57 和 1 588.76 g。与空白组相比，添加肌浆蛋白能够显著抑制冻融后鱼糜凝胶硬度值和咀嚼性的下降($P<0.05$)；9 次冻融循环中，添加肌浆蛋白的鱼糜凝胶的硬度值和咀嚼性始终显著高于空白组，并且在 3 种肌浆蛋白中，酸偏移-耦合壳聚糖絮凝法肌浆蛋白抑制下降效果最为显著。4 组鱼糜凝胶的弹性和回复性呈现先下降后上升的变化趋势，但是其数值在整体上没有显著的变化($P>0.05$)，与空白组相比，添加肌浆蛋白组的鱼糜凝胶的弹性和回复性在数值上的变化也不显著($P>0.05$)。随着冻融次数的增加，4 组鱼糜凝胶的内聚性均呈现下降的趋势，这说明反复冻融循环会影响鱼糜凝胶网络结构的形成，而添加肌浆蛋白组的鱼糜凝胶质构特性在整个

表1 不同冻融次数下鱼糜凝胶质构特性的变化

Table 1 Changes of textural properties of surimi during freeze-thaw cycles

指标 Index	样品 Samples	0	1	3	5	7	9
硬度/g Hardness	Control	2 600.00±7.35bc	2 490.40±98.55ab	2 253.84±91.59ab	2 087.64±62.61ab	2 005.33±95.85ab	1 781.63±14.18c
	HSP	2 785.71±32.73a	2 618.46±93.23a	2 339.19±29.16a	2 183.54±47.31a	2 138.82±15.90a	1 952.68±26.19a
	PHSP	2 718.06±12.50ab	2 515.03±104.76ab	2 273.44±66.97ab	2 096.53±66.71ab	2 065.86±64.03ab	1 908.84±92.94ab
	PHCSP	2 781.19±88.47a	2 634.39±55.08a	2 344.14±109.07a	2 207.51±9.76a	2 187.30±43.81a	1 976.161±27.98a
弹性 Springiness	Control	0.91±0.02a	0.92±0.01a	0.90±0.02a	0.90±0.02a	0.94±0.00a	0.93±0.00a
	HSP	0.93±0.00a	0.92±0.01a	0.91±0.00a	0.91±0.01a	0.94±0.01a	0.93±0.00a
	PHSP	0.93±0.00a	0.90 0.01a	0.91±0.00a	0.91±0.01a	0.93 0.00ab	0.93±0.00a
	PHCSP	0.92±0.00a	0.91±0.01a	0.91±0.01a	0.90±0.01a	0.92±0.00b	0.93±0.00a
内聚性 Cohesiveness	Control	0.82±0.00a	0.78±0.00a	0.81±0.00a	0.81±0.00a	0.81±0.00a	0.79±0.00a
	HSP	0.81±0.00a	0.79±0.00a	0.80±0.00a	0.80±0.00a	0.80±0.00a	0.80±0.00a
	PHSP	0.80±0.00a	0.79±0.01a	0.80±0.00a	0.81±0.00a	0.80±0.00a	0.80±0.00a
	PHCSP	0.81±0.00a	0.78±0.00a	0.80±0.00a	0.80±0.00a	0.80±0.00a	0.80±0.00a
咀嚼性/g Chewiness	Control	2 009.07±1.97c	1 856.47±96.11c	1 662.92±12.35bc	1 580.57±63.87c	1 556.80±89.12bc	1 360.73±13.36c
	HSP	2 080.80±37.61b	1 919.13±66.41ab	1 735.96±14.12ab	1 629.11±14.12ab	1 608.91±24.04ab	1 552.74±27.06a
	PHSP	2 080.21±19.81b	1 923.45±87.60ab	1 691.16±47.17b	1 637.72±41.63a	1 584.20±38.67bc	1 497.57±66.78b
	PHCSP	2 104.86±60.16a	1 935.22±53.40a	1 796.26±10.59a	1 639.08±80.49a	1 612.56±83.66ab	1 588.76±45.37a
回复性 Resilience	Control	0.53±0.00a	0.49±0.00a	0.51±0.00a	0.51±0.00a	0.54±0.00a	0.52±0.00a
	HSP	0.53±0.00a	0.49±0.01a	0.51±0.00a	0.51±0.00a	0.52±0.00a	0.53±0.00a
	PHSP	0.52±0.00a	0.50±0.01a	0.50±0.00a	0.52±0.00a	0.53±0.00a	0.52±0.00a
	PHCSP	0.52±0.00a	0.49±0.00a	0.50±0.00a	0.51±0.00a	0.51±0.00a	0.52±0.00a

冻融循环过程中始终优于空白组鱼糜的质构特性，这与本文“2.4”节的结果一致。

2.5 不同回收方法的肌浆蛋白对鱼糜冻融过程中凝胶持水性的影响

如图4所示，随着冻融次数的增加，鱼糜凝胶持水性呈现不断下降的趋势，第9次冻融循环后空白组、加热法肌浆蛋白组、酸偏移法肌浆蛋白组和酸偏移-耦合壳聚糖絮凝组的持水性分别为69.51%、74.97%、74.41%和75.02%。冻融循环后鱼糜形成的凝胶网络结构会变得疏松，因此，凝胶的持水性也随之下降。而与空白组相比，添加肌浆蛋白组的鱼糜凝胶持水性始终优于空白组，说明添加肌浆蛋白能增强鱼糜凝胶截留水分的能力。添加酸偏移-耦合壳聚糖絮凝组的鱼糜凝胶在第9次冻融循环后持水性仍有75.02%，这可能是因为酸偏移-壳聚糖絮凝肌浆蛋白中有壳聚糖，壳聚糖亲水基团赋予鱼糜凝胶更优的保水能力。

2.6 不同回收方法的肌浆蛋白对鱼糜冻融过程中凝胶色泽的影响

由表2可知，随着冻融次数的增加，a^*值呈现不断下降的趋势，而b^*值呈现不断上升的趋势，而W^*和L^*值呈现先下降后上升的趋势，这说明冻融循环使得鱼糜凝胶色泽变红、变黄并且亮度下降，这是由肌浆蛋白本身的颜色以及冻融循环过程蛋白质变性和脂肪氧化导致的。但是到了第9次冻融循环，亮度值和白度值有所上升，这是因为多次冻融循环后鱼糜汁液流失严重，鱼糜表面变得潮湿，对光线折射能力增加了。而添加不同回收方法肌浆蛋白均能够一定程度上提升鱼糜凝胶的白度值和亮度值。

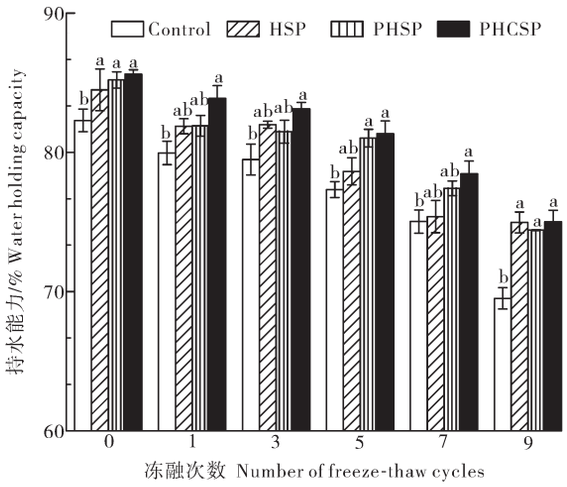


图4 冻融循环期间鱼糜凝胶持水性的变化

Fig.4 Changes of water holding capacity of surimi during freeze-thaw cycles

表2　不同冻融次数下鱼糜凝胶色泽的变化

Table 2　Changes of color of surimi during freeze-thaw cycles

指标 Index	样品 Samples	0	1	3	5	7	9
L^*	Control	81.91±0.36ab	80.64±0.26c	79.59±0.38c	80.38±0.56a	75.72±0.30c	80.92±0.21ab
	HSP	82.22±0.40a	81.28±0.1b	81.01±0.74a	81.92±0.47a	77.59±0.30ab	82.01±0.43a
	PHSP	82.97±0.23a	81.36±0.62ab	80.81±0.99ab	81.78±0.14a	78.16±0.41a	81.37±0.45a
	PHCSP	83.24±0.55a	82.01±0.20a	81.27±0.49a	81.32±0.63a	78.40±0.41a	81.90±0.65a
a^*	Control	−1.73±0.09a	−1.78±0.02a	−1.75±0.04a	−1.82±0.05a	−1.93±0.09a	−1.93±0.03a
	HSP	−1.85±0.06ab	−1.77±0.04a	−1.75±0.08a	−1.66±0.04a	−1.91±0.04a	−1.91±0.04a
	PHSP	−1.83±0.03ab	−1.75±0.11a	−1.70±0.03a	−1.79±0.03a	−1.90±0.04a	−1.92±0.02a
	PHCSP	−1.82±0.04ab	−1.79±0.04a	−1.72±0.01a	−1.80±0.03a	−1.94±0.05a	−1.92±0.02a
b^*	Control	4.13±0.49b	4.17±0.18b	4.21±0.19b	4.33±0.17b	4.56±0.76b	5.14±0.07ab
	HSP	5.08±0.08a	5.12±0.09a	5.15±0.06a	5.43±0.13a	5.11±0.09a	5.63±0.09a
	PHSP	5.20±0.14a	5.22±0.11a	5.17±0.11a	5.23±0.11a	5.31±0.15a	5.36±0.06a
	PHCSP	5.06±0.29a	5.26±0.21a	5.45±0.06a	5.58±0.29a	5.58±0.28a	5.67±0.09a
W^*	Control	81.11±0.42ab	80.17±0.22a	79.08±0.37ab	79.83±0.58b	75.21±0.43b	80.16±0.22a
	HSP	81.21±0.40ab	80.53±0.11a	80.25±0.71a	81.05±0.47a	76.94±0.29ab	81.07±0.42a
	PHSP	82.04±0.23a	80.64±0.57a	80.05±0.94a	80.96±0.12a	77.49±0.41a	80.56±0.43a
	PHCSP	82.12±0.45a	81.17±0.23a	80.42±0.47a	80.42±0.68a	77.67±0.35a	80.95±0.63a

3　讨　论

3.1　不同回收方法的肌浆蛋白对鱼糜理化指标的影响

蛋白质发生冷冻变性主要是因为随着冷冻-解冻次数的增加，鱼糜内部小冰晶体逐渐聚集形成大冰晶体[2]，一方面，肌原纤维蛋白受到大冰晶体挤压带来的机械损伤，与水分相互作用的能力下降；另一方面，冰晶升华水分流失，溶质浓缩，导致鱼糜中肌原纤维蛋白变性聚集[6]。脂肪氧化则是因为冰晶体体积增大导致原本细胞膜被破坏，内部的促氧化剂如血红素蛋白被释放出来，并且解冻后冰晶体融化造成较大孔隙的出现，增加与空气中氧化的接触面积从而进一步加速了脂肪的氧化[19]。

添加不同回收方法的肌浆蛋白均能抑制鱼糜冻融循环过程中盐溶性蛋白含量、Ca^{2+}-ATPase酶活性、总巯基含量的下降和表面疏水性的上升，这种作用效果因回收方法的不同而存在不同程度的差异。肌浆蛋白抑制蛋白冷冻变性源自其游离的多肽和亲水性的氨基酸基团，一方面，亲水性氨基酸能与水分结合，抑制冻结过程中大冰晶体的形成，稳定肌原纤维蛋白的构象[20]；另一方面肌浆蛋白能够与肌原纤维蛋白结合或者是包裹在肌原纤维蛋白外部[7]，减少肌原纤维蛋白的聚集变性。其中加热法回收的肌浆蛋白由于其溶解性最好抑制效果最为显著。据文献[20]报道不同回收方法的肌浆蛋白的理化性质存在差异，加热法回收的肌浆蛋白溶解度更高，亲水性氨基酸比例大，所以能更充分与水分子相互结合，减少巨大冰晶体的形成，避免肌原纤维蛋白受到机械损伤，而酸偏移法回收的肌浆蛋白和酸偏移-耦合壳聚糖絮凝回收的肌浆蛋白，其溶解性比加热法回收的肌浆蛋白要差[10]，蛋白水解物比例小，因此抑制蛋白变性效果不如加热法肌浆蛋白明显。周文娟等[21]研究了鲢副产物蛋白水解物对经过6次冻融循环的鱼糜的低温保护作用，发现蛋白水解物的分子质量分布、总氨基酸和游离氨基酸组成的差异是其对冻融鱼糜有不同低温保护效果的主要原因。

肌浆蛋白的添加还能抑制鱼糜冻融循环过程中蛋白质的氧化修饰现象。有研究表明，冻融循环过程中的蛋白质变性和脂肪氧化现象会促使蛋白的氨基酸残基转化为羰基[22]。肌浆蛋白通过加热回收或酸碱处理回收后，会产生小分子的多肽和氨基酸，氨基酸中的吲哚基、酚基等官能团，能作为质子供体终止自由基链式反应，进而抑制由脂肪氧化引起的蛋白质羰基化[23]。李向红等[6]也研究发现蛋白酶解物能够抑制氨基酸侧链自由基的氧化，降低蛋白羰基含量。与空白组鱼糜相比，添加不同回收方法的肌浆蛋白的鱼糜，其TBARs和pH值并没有显著的变化，说明肌浆蛋白的添加并不会促进鱼糜的脂肪氧化降解。

3.2　不同回收方法的肌浆蛋白对鱼糜凝胶品质的影响

鱼糜凝胶品质随着冻融周期延长表现出劣化的

现象，这主要是因为肌原纤维蛋白在多次冻融后发生了蛋白变性和聚集，用于形成凝胶网络结构的盐溶性蛋白数量和质量下降，因此形成三维蛋白凝胶结构不如冻融之前致密。此外，凝胶劣化现象也受水分和脂质等因素的综合影响。

对冻融鱼糜凝胶品质保护效果最好的是酸偏移-耦合壳聚糖絮凝法肌浆蛋白，导致这一现象的原因可能是回收的肌浆蛋白中有许多小分子亲水基团，如天冬氨酸、谷氨酸能够与自由水结合，稳定肌肉蛋白结构[18,22]。而添加酸偏移-耦合壳聚糖絮凝法肌浆蛋白的鱼糜样品持水性在经过多次冻融循环后仍显著高于空白组主要是因为同肌浆蛋白一起絮凝的还有壳聚糖，壳聚糖能够通过氢键与鱼糜蛋白结合[24]，进而改善鱼糜凝胶特性，提高持水性。添加肌浆蛋白组的鱼糜在前5次冻融循环过程中能够抑制鱼糜凝胶色泽的变暗，这可能是因为添加肌浆蛋白的鱼糜凝胶与空白组相比有更好的持水性，而具有较高持水性的鱼糜凝胶外观会更白[19]。说明添加不同回收方法的肌浆蛋白能够一定程度上提升鱼糜凝胶的白度值。

总之，肌浆蛋白的添加能够抑制鱼糜冻融循环中蛋白质的冷冻变性和凝胶品质劣变现象，将肌浆蛋白应用于鱼糜制品中有利于增强鲢鱼糜抗冻性，稳定其凝胶品质，有利于充分利用鱼糜加工副产物。

参考文献 References

[1] 崔旭海，毕海丹.冻藏条件对草鱼鱼糜氧化劣变及其品质的影响[J].食品工业科技，2015，36(16)：333-337，342.CUI X H，BI H D.Effect of frozen storage conditions on oxidation deterioration and quality properties of grass carp surimi[J].Science and technology of food industry，2015，36(16)：333-337，342(in Chinese with English abstract).

[2] 郭园园，孔保华，夏秀芳，等.冷冻-解冻循环对鲤鱼肉物理化学特性的影响[J].食品科学，2011，32(13)：125-130.GUO Y Y，KONG B H，XIA X F，et al.Effect of number of freeze-thaw cycles on physico-chemical characteristics of carp muscle[J].Food science，2011，32(13)：125-130(in Chinese with English abstract).

[3] 仪淑敏，李强，张畅，等.油脂对鱼糜及畜禽肉糜制品的影响[J].中国食品学报，2021，21(11)：359-367.YI S M，LI Q，ZHANG C，et al.The effect of oil on surimi and minced meat products of livestock and poultry[J].Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology，2021，21(11)：359-367(in Chinese with English abstract).

[4] 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.ZHAO L Y，HUANG Q L，XIONG S B.Effect of inulin with different degree of polymerization on freezing resistance of surimi[J].Journal of Huazhong Agricultural University，2020，39(4)：137-146(in Chinese with English abstract).

[5] 尚珊，祁立波，姜鹏飞，等.海藻糖和复合磷酸盐对鲟鱼肉冻融稳定性的影响[J].食品工业科技，2020，41(9)：205-209，326.SHANG S，QI L B，JIANG P F，et al.Effect of trehalose and composite phosphate on the freezing-thawing stability of sturgeon[J].Science and technology of food industry，2020，41(9)：205-209，326(in Chinese with English abstract).

[6] 李向红，李敏，刘永乐，等.鲢鱼加工副产物酶解产物对冻融鱼糜肌原纤维蛋白性质的影响[J].中国食品学报，2018，18(3)：59-66.LI X H，LI M，LIU Y L，et al.Effects of hydrolysates from silver carp processing by-products on properties of myofibrillar protein in freeze-thawed surimi[J].Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology，2018，18(3)：59-66(in Chinese with English abstract).

[7] NIKOO M，BENJAKUL S，XU X M.Antioxidant and cryoprotective effects of *Amur sturgeon* skin gelatin hydrolysate in unwashed fish mince[J].Food chemistry，2015，181：295-303.

[8] KORZENIOWSKA M，CHEUNG I W Y，LI-CHAN E C Y.Effects of fish protein hydrolysate and freeze-thaw treatment on physicochemical and gel properties of natural actomyosin from Pacific cod[J].Food chemistry，2013，138(2/3)：1967-1975.

[9] CAO H W，ZHU H P，WANG Q，et al.Intervention on activity and structure of cathepsin L during surimi gel degradation under microwave irradiation[J/OL]. Food hydrocolloids，2020，103：105705[2022-01-17].https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105705.

[10] YOU J，LUO Y K，SHEN H X.Effect of heat treatment and lyophilization on the physicochemical properties of water-soluble proteins from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*)[J].Journal of food biochemistry，2013，37(5)：604-610.

[11] DU F F，QI Y，HUANG H B，et al.Stabilization of O/W emulsions via interfacial protein concentrating induced by thermodynamic incompatibility between sarcoplasmic proteins and xanthan gum[J/OL]. Food hydrocolloids，2022，124：107242[2022-01-17].https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107242.

[12] 周文燕，黄琪琳，翁武银.盐酸-壳聚糖絮凝耦合处理回收鲢鱼糜漂洗液中的肌浆蛋白[J].华中农业大学学报，2021，40(3)：264-270.ZHOU W Y，HUANG Q L，WENG W Y.Hydrochloric acid-chitosan flocculation coupling treatment for recovery of sarcoplasmic protein from surimi rinsing solution of silver carp[J].Journal of Huazhong Agricultural University，2021，40(3)：264-270(in Chinese with English abstract).

[13] LU H，ZHANG L T，LI Q Z，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，2017，223：96-103.

[14] LIN J，HONG H，ZHANG L T，et al.Antioxidant and cryoprotective effects of hydrolysate from gill protein of bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*) in preventing denaturation of frozen surimi[J/OL].Food chemistry，2019，298：124868[2022-01-17].https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.142..

[15] 毕海丹，崔旭海，王占一，等.茶多酚和乳清蛋白对冷藏鱼糜保鲜效果的影响[J].食品科学，2016，37(10)：272-277.BI H D，CUI X H，WANG Z Y，et al.Effects of tea polyphenols and whey protein isolate on preservation of surimi quality during cold storage[J].Food science，2016，37(10)：272-277(in Chinese with English abstract).

[16] ZHANG H M，XIONG Y T，BAKRY A M，et al.Effect of yeast β-

glucan on gel properties, spatial structure and sensory characteristics of silver carp surimi[J]. Food hydrocolloids, 2019, 88: 256-264.

[17] 刘念，黄琪琳，李沛，等. 不同种类酵母抽提物对调理乌鳢鱼片风味及品质的影响[J]. 水产学报，2021，45(7)：1089-1100. LIU N, HUANG Q L, LI P, et al. Effect of yeast extracts on flavor and texture of seasoned snakehead fish (*Channa argus*) fillets[J]. Journal of fisheries of China, 2021, 45(7): 1089-1100 (in Chinese with English abstract).

[18] SUN F Y, HUANG Q L, HU T, et al. Effects and mechanism of modified starches on the gel properties of myofibrillar protein from grass carp[J]. International journal of biological macromolecules, 2014, 64: 17-24.

[19] YI S M, LI Q, QIAO C P, et al. Myofibrillar protein conformation enhance gel properties of mixed surimi gels with *Nemipterus virgatus* and *Hypophthalmichthys molitrix*[J/OL]. Food hydrocolloids, 2020, 106: 105924 [2022-01-17]. https://doi. org/10.1016/j.foodhyd.2020.105924.

[20] 魏华茂，杨文鸽，张梦芸，等. 带鱼鱼糜漂洗水中回收蛋白的性质及其在鱼糜中的再利用[J]. 现代食品科技，2016，32(6)：321-327. WEI H M, YANG W G, ZHANG M Y, et al. Analysis of protein from hairtail surimi rinse water and its utilization in surimi production [J]. Modern food science and technology, 2016, 32 (6): 321-327 (in Chinese with English abstract).

[21] 周文娟. 鲢鱼酶解产物在冷冻鱼糜中的抗冻机理及其应用[D]. 长沙：长沙理工大学，2019. ZHOU W J. Antifreeze mechanism of hydrolyzed products of silver carp in frozen surimi and its application[D]. Changsha: Changsha University of Science & Technology, 2019 (in Chinese with English abstract).

[22] 赵冰，张顺亮，李素，等. 脂肪氧化对肌原纤维蛋白氧化及其结构和功能性质的影响[J]. 食品科学，2018，39(5)：40-46. ZHAO B, ZHANG S L, LI S, et al. Effect of lipid oxidation on myofibrillar protein oxidation, structure and functional characteristics[J]. Food science, 2018, 39(5): 40-46 (in Chinese with English abstract).

[23] GIRGIH A T, UDENIGWE C C, HASAN F M, et al. Antioxidant properties of Salmon (*Salmo salar*) protein hydrolysate and peptide fractions isolated by reverse-phase HPLC[J]. Food research international, 2013, 52(1): 315-322.

[24] 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. ZHANG Q, XIA W S. Effects of chitosan on the gelling properties of silver carp surimi[J]. Journal of fisheries of China, 2010, 34(3): 342-348 (in Chinese with English abstract).

Effects of different recovered sarcoplasmic proteins on freeze-thaw stability of silver carp surimi

DING Jiaojiao, HUANG Qilin

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

Abstract　The effects of different recovered sarcoplasmic proteins (SP) (HSP, recovered by heating flocculation; PHSP, recovered by pH-shifting flocculation; PHCSP, recovered by pH-shifting/chitosan flocculation) on the protein denaturation, protein oxidation, lipid oxidation and gel performance of sliver carp surimi during the freeze-thawing cycles were studied. The results showed that the addition of SP recovered by different methods all could inhibit the decrease of salt-soluble protein content, Ca^{2+} -ATPase activity, total sulfhydryl content and the increase of surface hydrophobicity of freeze-thawed surimi. And HSP showed the best performance among these three SP. The results of protein carbonyl content showed that the addition of SP could protect surimi from protein oxidation during freeze-thaw cycles. However, compared with pure surimi, the thiobarbituric acid-reactive substances (TBARs) value and pH value of the surimi added with different recovered SP did not change significantly. In addition, with the increase of the number of freeze-thaw cycles, the gel quality of surimi deteriorated seriously. PHCSP could protect the sliver carp surimi from the gel degradation of freeze-thaw treatments.

Keywords　recovery method; sarcoplasmic protein; surimi; freeze-thaw stability; protein denaturation; lipid oxidation; gel degradation

（责任编辑：赵琳琳）