

# 水溶性大豆多糖改善浸渍冷冻鱼糜蛋白的变性

高文宏, 侯睿, 曾新安

(华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510641)

**摘要:** 采用浸渍冷冻方法探讨了水溶性大豆多糖 (SSPS) 对鱼糜冷冻效率和蛋白质变性的影响。以新鲜草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*) 鱼糜为原料首先进行了 SSPS 添加量 (1%、3% 和 5%) 对鱼糜冻结过程影响的研究, 发现添加 3% SSPS 的鱼糜特征冷冻时间最短, 冻藏 14 d 后肌原纤维蛋白含量最高。然后以冷冻鱼糜肌原纤维蛋白  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性、总巯基含量、活性巯基含量及盐溶性蛋白含量为指标评价冻藏 8 周期间鱼糜蛋白的变性情况, 发现冻藏 2 周后添加 SSPS 的鱼糜组的四种评价指标数值均显著高于对照组, 其中添加 3% SSPS 效果最佳。冻藏 8 周后添加 3% SSPS 的鱼糜肌原纤维蛋白  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性、总巯基含量、活性巯基含量及盐溶性蛋白含量分别为  $0.35 \mu\text{mol}(\text{pi})/[\text{mg}(\text{protein})\cdot\text{min}]$ 、 $3.41 \times 10^{-5} \text{ mol/g protein}$ 、 $2.37 \times 10^{-5} \text{ mol/g protein}$ 、 $41.74 \text{ mg/g}$ ; 比对照组分别提高 16.87%、14.94%、18.10%、17.35%。结果表明添加 SSPS 能显著提高鱼糜冷冻效率, 延缓冻藏期间鱼糜蛋白质的变性, 可作为低甜度鱼糜蛋白抗冻保护剂。

**关键词:** 水溶性大豆多糖; 鱼糜; 蛋白质变性; 肌原纤维蛋白; 浸渍冷冻

文章篇号: 1673-9078(2019)02-134-140

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.2.019

## Mitigating Protein Denaturation of Surimi via Immersion-freezing Using Water-soluble Soybean Polysaccharide(s)

GAO Wen-hong, HOU Rui, ZENG Xin-an

(School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510641, China)

**Abstract:** The effects of water soluble soybean polysaccharide (SSPS) on the freezing efficiency and protein denaturation of surimi were investigated by immersion freezing. The fresh grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) surimi was used as the raw material. The effect of SSPS addition (1%, 3% and 5%) on the immersion-freezing process of the surimi were firstly studied. Results showed that the characteristic freezing time of the surimi with 3% SSPS was the shortest, and the myofibrillar protein content was the highest after a 14-day frozen storage. Over the 8-week frozen storage, the protein denaturation of surimi was evaluated by measuring the  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity, total sulphhydryl content, active sulphhydryl content and salt extractable protein content. After 2 weeks of frozen storage, all these four evaluation indices of the treated surimi samples were significantly higher than those of the control surimi, with 3% SSPS providing the greatest cryoprotective effect on protein denaturation. After 8 weeks of frozen storage, the  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity, total sulphhydryl content, active sulphhydryl content, salt extractable protein content of the myofibrillar protein for the surimi treated with 3% SSPS was  $0.35 \mu\text{mol}(\text{pi})/[\text{mg}(\text{protein})\cdot\text{min}]$ ,  $3.41 \times 10^{-5} \text{ mol/g protein}$ ,  $2.37 \times 10^{-5} \text{ mol/g protein}$ , and  $41.74 \text{ mg/g}$ , respectively, which were increased by 16.87%, 14.94%, 18.10% and 17.35%, respectively, compared to the control surimi. The results indicate that SSPS addition can significantly increase the freezing rate of surimi, mitigate the protein denaturation during frozen storage, thus, SSPS can be used as a low-sweet cryoprotectant for surimi proteins.

**Key words:** soluble soybean polysaccharide; surimi; protein denaturation; myofibrillar protein; immersion freezing

冷冻鱼糜是将新鲜鱼经去皮、去骨、去内脏、去红肉、斩拌、多次漂洗、脱水等工序制得鱼肉后, 一般加入适量抗冻剂来延缓蛋白质变性<sup>[1]</sup>, 然后再冻结起来进行低温保存的一种冷冻制品。影响冷冻鱼糜品

收稿日期: 2018-05-09

基金项目: 广东省省级科技计划项目 (2016A020210008; 2017B020207001); 国家自然科学基金资助项目 (21576099)

作者简介: 高文宏 (1970-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品质量与安全

质的主要因素有: 种类、收获季节、处理方式、冷冻方式和抗冻剂类型等等<sup>[2]</sup>, 其中抗冻剂是影响鱼糜品质变化的关键因素之一。目前, 食品工业中常用商业抗冻剂为 4%蔗糖和 4%山梨醇的混合物<sup>[3]</sup>, 随着人们追求健康生活方式理念的形成, 高糖、高热量的商业抗冻剂越来越不被人们所接受。因此, 探索具有低糖、低热属性的抗冻剂至关重要。水溶性大豆多糖 (soluble soybean polysaccharides, SSPS) 是从大豆加工副产物豆渣中分离提取出的一类酸性多糖<sup>[4]</sup>, 主要由半乳糖、

阿拉伯糖、半乳糖醛酸、鼠李糖、岩藻糖、木糖和葡萄糖等组成<sup>[5]</sup>。SSPS 是一种用途广泛的食物添加剂, 2008 年国家卫生行政部门第 13 号公告已正式发布, 即将 SSPS 列入 GB2760-2007 的增补行列<sup>[5]</sup>。此外, SSPS 具有较强的保水性<sup>[6]</sup>和蛋白稳定性, 还可应用于高蛋白食品中, 能够提高食品中蛋白质在高温和冷冻环境中的稳定性, 尤其是在酸性条件下 (pH<4.0) 对蛋白质结构的稳定性更好<sup>[7,8]</sup>。

草鱼是中国淡水养殖的四大家鱼之一, 其蛋白质含量高, 脂肪含量低且多为不饱和脂肪酸, 因而深受广大消费者喜爱。目前最新研究报道海藻糖苷<sup>[9]</sup>、复合磷酸盐<sup>[10]</sup>、海藻糖<sup>[10,11]</sup>对于冷冻草鱼鱼糜品质改善效果较好。本研究采用浸渍冷冻方式探索 SSPS 添加量对草鱼鱼糜冻结过程和冻藏品质的影响。以冷冻鱼糜肌原纤维蛋白  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性、总巯基含量、活性巯基含量及盐溶性蛋白含量为指标, 评价鱼糜冻藏期间蛋白变性情况, 旨在为 SSPS 在冷冻草鱼鱼糜中作为抗冻保护剂提供理论支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

材料: 水溶性大豆多糖 (SSPS) 购于广州华汇生物实业有限公司; 新鲜草鱼, 每条鱼质量  $750 \pm 50 \text{ g}$ , 购于广州市卜蜂莲花超市。

试剂: 超微量  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶测试盒与蛋白定量测试盒 (考马斯亮蓝法), 南京建成生物工程研究所; 5,5'-二硫代双 (2-硝基苯甲酸) (DTNB) (分析纯), 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 十二烷基硫酸钠 (SDS) (分析纯) 与牛血清白蛋白 (生化试剂), 上海伯奥生物科技有限公司; 乙二胺四乙酸二钠 (EDTA-2Na) (分析纯), 南京化学试剂有限公司; 三羟甲基氨基甲烷 (Tris) 与顺丁烯二酸 (Maleic acid) 均为生化试剂, 购自国药集团化学试剂有限公司; 脲素、磷酸氢二钠、碳酸氢钠、无水碳酸钠与浓盐酸均为分析纯, 购自广州化学试剂厂。

### 1.2 仪器与设备

高速冷冻离心机 (JW-3024HR), 安徽嘉文仪器装备有限公司; 高速分散均质机 (FJ-200), 上海标本模型厂; 超声波清洗机 (SB-600 DTY), 宁波新芝生物科技股份有限公司; 风冷式冷水机泵 (LS-20 kW), 北京贝科溥制冷设备有限公司; 热电偶 (T 型), 美国 OMEGA 工程公司; 数据采集器 (TC-08), 美国 OMEGA 工程公司; 食品加工机 (YLS-86A), 中山市

雅乐思电器实业有限公司; 紫外分光光度计 (UV-1800), 日本岛津制作所。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 鱼糜样品的制备

新鲜草鱼购自超市, 经碎冰保温在 1 h 内运至实验室。先对草鱼进行预处理 (去头尾、鳞片、内脏, 清水冲洗), 人工采肉、绞肉后漂洗。漂洗时用水量为 1:5 (W/V), 清水 2 次, 盐水 1 次, 盐水浓度为 0.15%, 每次搅拌 5 min, 静置 3 min, 水温控制在  $10 \text{ }^{\circ}\text{C}$  以下。漂洗结束后用纱布进行人工脱水即得鱼糜样品。进行冷冻研究时, 分别按鱼糜质量的 1%、3%、5% 添加 SSPS 后, 将鱼糜搅拌均匀, 按每份质量 15 g、厚度 1 cm 装入密封袋, 放于  $4 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$  冰柜中预冷 8 h 以达到统一的初始温度。随后进行浸渍冷冻处理草鱼鱼糜, 当草鱼鱼糜中心温度达到  $-15 \text{ }^{\circ}\text{C}$  时停止操作, 将样品转移到  $-18 \text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱贮存。分别测定鱼糜在冻藏 0 周、1 周、2 周、3 周、4 周、6 周和 8 周后的各项理化指标。对样品以相同步骤进行处理并测定相应指标。

#### 1.3.2 鱼糜肌原纤维蛋白溶液的制备及测定

称取 2 g 鱼糜样品于 100 mL 离心管中, 并加入 20 mL 冷却的 Tris-maleate 缓冲液 (50 mM KCl-20 mM Tris-maleate, pH=7.0) 后, 充分均质匀浆 30 s, 然后在 10000 r/min、 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$  条件下离心 10 min, 洗去残留在鱼糜样品中的水溶性蛋白。离心后弃去上清液, 向沉淀中加入 10 倍量的 Tris-maleate 缓冲液 (0.6 M KCl-20 mM Tris-maleate, pH=7.0), 均质匀浆 30 s 后放置于  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱中, 提取 1 h, 然后在 10000 r/min、 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$  下离心 10 min, 所得的上清液即为本实验鱼糜的肌原纤维蛋白溶液<sup>[12]</sup>, 采用双缩脲法测定其蛋白含量<sup>[13]</sup>。每个处理平行测定三次。

#### 1.3.3 鱼糜肌原纤维蛋白 $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性的检测

$\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性采用超微量  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶测试盒测定。测定前, 将肌原纤维蛋白提取液稀释至 1.00 mg/mL, 用蛋白定量测试盒进行检验。按测试盒说明书操作后, 于 595 nm 处测定样品吸光值。按式 (1) 计算样品蛋白浓度 (g/L):

$$\text{待测样品蛋白浓度} = \frac{OD_2 - OD_0}{OD_1 - OD_0} \times c_1 \quad (1)$$

式中:  $OD_0$ -空白样吸光度值;  $OD_1$ -标准样吸光度值;  $OD_2$ -待测样吸光度值;  $c_1$ -标准品浓度, 0.563 g/L。

蛋白液稀释后, 按  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶测试盒说明书要求操作, 于 636 nm 处测定样品吸光值。 $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活力值  $\mu\text{mol (pi)}/[\text{mg (protein)} \cdot \text{min}]$  按式 (2) 计算:

$$\text{ATPase 活力} = \frac{OD_5 - OD_6}{OD_4 - OD_3} \times c_2 \times 2.8^* \div (c \times 10^{**}) \quad (2)$$

式中:  $OD_5$ -空白样吸光度值;  $OD_4$ -标准样吸光度值;  $OD_5$ -待测样吸光度值;  $OD_6$ -对照样吸光度值;  $c_2$ -标准品浓度, 0.02  $\mu\text{mol/mL}$ ;  $c$ -待测样蛋白浓度 ( $\text{mg prot/mL}$ );  $2.8^*$ -反应体系中 2.8 倍稀释;  $10^{**}$ -实际操作为反应 10 min。

### 1.3.4 总巯基含量的测定

取 0.5 mL 肌原纤维蛋白液加入试管中, 然后加入 4.5 mL 0.2 mol/L Tris-HCl 缓冲液 (含有 8 mol/L 尿素、2% SDS、10 mmol/L EDTA, pH=6.8), 经震荡充分混匀后, 取出 4 mL 混合液, 再加入 0.4 mL 0.1% DTNB 溶液 (溶于 0.2 mol/L 的 Tris-HCl 中, pH=8.0), 充分混匀后, 在 40  $^{\circ}\text{C}$  条件下水浴加热 25 min, 然后在 412 nm 处测定吸光值。空白组以 0.6 mol/L KCl 溶液代替样品<sup>[14]</sup>。每个处理平行测定三次。摩尔消光系数取  $13600 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ , 巯基含量以  $10^{-5} \text{ mol/g protein}$  蛋白质计, 按式 (3) 计算总巯基含量 ( $\text{mol/g protein}$ ):

$$\text{SH} = A \times D \div (\epsilon \times C) \quad (3)$$

式中:  $A$ -样品在 412 nm 处的吸光值;  $D$ -稀释倍数;  $\epsilon$ -分子吸光系数;  $C$ -蛋白质浓度 ( $\text{mg/mL}$ )。

### 1.3.5 活性巯基含量的测定

取 0.5 mL 肌原纤维蛋白液加入试管中, 然后加入 4.5 mL 0.2 mol/L Tris-HCl 缓冲液 (含有 2% SDS、10 mmol/L EDTA, pH=6.8), 经震荡充分混匀后, 取出 4 mL 混合液, 再加入 0.4 mL 0.1% DTNB 溶液 (溶于 0.2 mol/L 的 Tris-HCl 中, pH=8.0), 充分混匀后, 在 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱下存放 1 h, 然后在 412 nm 处测定吸光值。空白组以 0.6 mol/L KCl 溶液代替样品<sup>[15]</sup>。每个处理平行测定三次。摩尔消光系数取  $13600 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ , 巯基含量以  $10^{-5} \text{ mol/g protein}$  蛋白质计, 按式 (4) 计算活性巯基含量 ( $\text{mol/g protein}$ ):

$$\text{SH} = A \times D \div (\epsilon \times C) \quad (4)$$

式中:  $A$ -样品在 412 nm 处的吸光值;  $D$ -稀释倍数;  $\epsilon$ -分子吸光系数;  $C$ -蛋白质浓度 ( $\text{mg/mL}$ )。

### 1.3.6 盐溶性蛋白含量的测定

取 2 g 鱼糜样品加入 50 mL 离心管中, 然后加入 20 mL 磷酸盐缓冲液 ( $I=0.05$ , pH=7.5), 高速均质机下匀浆提取 5 min, 在 4  $^{\circ}\text{C}$  下以 4000 r/min 离心 10 min, 弃去上清液, 重复上述步骤两次。向所得鱼肉沉淀中加入 20 mL Weber-Edsall 溶液 (0.6 mol/L KCl-0.01 mol/L  $\text{NaCO}_3$ -0.04 mol/L  $\text{NaHCO}_3$ ), 高速均质机下匀浆提取 5 min 后, 将其放置于 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱下存

放 20 h, 然后在 4  $^{\circ}\text{C}$  下以 6000 r/min 离心 10 min, 最后取上清液测其体积, 采用双缩脲法进行蛋白质含量的测定<sup>[13]</sup>。空白组以蒸馏水代替样品<sup>[16]</sup>。每个处理平行测定三次。

### 1.3.7 数据处理和统计分析

采用 SPSS 16.0 软件对实验数据进行统计分析, 使用 Tukey 法对各样品平均值进行显著性分析, 置信度水平为 95%。实验数据均以平均值和标准差表示, 用 Origin 9.1 进行作图。

## 2 结果与讨论

### 2.1 水溶性大豆多糖对鱼糜浸渍冷冻过程的影响

本文采用特征冻结时间和淬火阶段降温速率来判断冷冻过程的冻结效率。特征冻结时间表示样品中心温度从初始冻结点到 80% 可结晶水转化为冰的温度所用时间<sup>[17]</sup>。本文特征冻结时间的温度范围为 0  $^{\circ}\text{C}$  ~ -5  $^{\circ}\text{C}$ 。淬火阶段降温速率表示为鱼糜样品中心温度从 -5  $^{\circ}\text{C}$  下降到 -15  $^{\circ}\text{C}$  时的温度下降速率, 即鱼糜在单位时间 (s) 内所降低的温度 ( $^{\circ}\text{C}$ )。从表 1 可以看出, SSPS 添加量为 1%、3% 和 5% 时, 鱼糜特征冻结时间比对照组分别提高 3.06%、6.93% 和 1.06%; 其中 SSPS 添加量为 3% 时, 鱼糜特征冻结时间与对照组样品相比有显著提高 ( $p < 0.05$ )。但是淬火阶段, SSPS 添加量为 1%、3% 和 5% 时, 鱼糜样品降温速率分别为 0.045  $^{\circ}\text{C/s}$ 、0.043  $^{\circ}\text{C/s}$  和 0.049  $^{\circ}\text{C/s}$ ; 与对照组样品相比, 鱼糜样品降温速率分别降低 11.76%、15.69% 和 3.92%。这可能由于鱼糜开始处于水分尚未冻结状态, 组织中蛋白质分子高度水化, 另外 SSPS 含有羟基提高了蛋白质的水化程度, 阻断了蛋白质间的相互作用, 多肽链上的疏水性氨基酸基团包埋于蛋白质内部, 热力学性质较稳定<sup>[18]</sup>。但是随着冷冻过程的推进, 水分子大量结晶后, 会降低蛋白质自身的水化程度, 并且冰晶之间会互相挤压, 导致淬火阶段降温速率的下降。此外, SSPS 对冻藏 14 d 后的草鱼鱼糜肌原纤维蛋白含量有显著影响 ( $p < 0.05$ ); 当 SSPS 添加量为 3% 时, 草鱼鱼糜肌原纤维蛋白含量为 3.98  $\text{mg/mL}$ , 其数值明显高于对照组鱼糜肌原纤维蛋白含量 ( $p < 0.05$ )。从鱼糜特征冻结时间、淬火阶段降温速率及冻品品质的变化情况, 综合得出 SSPS 添加量为 3% 为最佳。

表 1 水溶性大豆多糖添加量对草鱼鱼糜浸渍冷冻参数和冻藏 14 d 鱼糜肌原纤维蛋白含量的影响

Table 1 Effects of SSPS on freezing parameters during immersion freezing for surimi samples and myofibrillar protein content of surimi after 14 days of frozen storage

SSPS 添加量/%	特征冻结时间/s	淬火阶段降温速率/(°C/s)	14 d 肌原纤维蛋白含量/(mg/mL)
0	645.65±17.28 <sup>a</sup>	0.051±0.002 <sup>a</sup>	3.41±0.13 <sup>b</sup>
1	625.92±12.39 <sup>a</sup>	0.045±0.002 <sup>b</sup>	3.84±0.15 <sup>a</sup>
3	600.89±18.57 <sup>b</sup>	0.043±0.001 <sup>b</sup>	3.98±0.18 <sup>a</sup>
5	638.78±14.73 <sup>a</sup>	0.049±0.001 <sup>a</sup>	3.82±0.14 <sup>a</sup>

注：数据以三次重复的平均值±标准差表示。同一列中不同字母 (a、b) 之间代表具有显著性差异 ( $p < 0.05$ )。

## 2.2 水溶性大豆多糖对浸渍冷冻鱼糜 $Ca^{2+}$ -ATPase 活性的影响

$Ca^{2+}$ -ATPase 活性是衡量鱼糜在冷冻贮藏过程中蛋白性质的一项重要指标，也是判定鱼糜肌原纤维蛋白完整性的指标之一<sup>[19]</sup>。 $Ca^{2+}$ -ATPase 活性的降低是因为蛋白变性，体系内离子强度增加，在蛋白质间的相互作用下，重组蛋白对  $Ca^{2+}$ -ATPase 活性产生了一定影响。此外，头部巯基的氧化也对其活性产生了影响，造成活力值的下降<sup>[20,21]</sup>。 $Ca^{2+}$ -ATPase 活力值越大，说明鱼糜蛋白性质越稳定，冷冻变性程度越小。

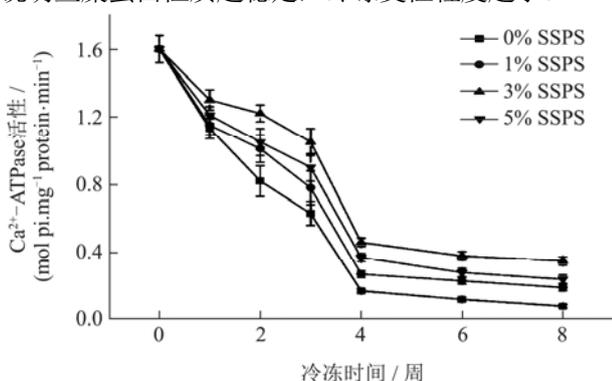


图 1 水溶性大豆多糖添加量对浸渍冷冻草鱼鱼糜肌原纤维蛋白  $Ca^{2+}$ -ATPase 活性的影响

Fig.1 Influences of SSPS content on  $Ca^{2+}$ -ATPase activity of grass carp surimi myofibrillar protein by immersion freezing during the frozen storage at -18 °C

从图 1 中可以看出，鱼糜的  $Ca^{2+}$ -ATPase 活性随着冷冻贮藏时间的延长而降低。在冻藏前 4 周， $Ca^{2+}$ -ATPase 活性下降趋势较为显著；在冻藏 4 周到 8 周期间， $Ca^{2+}$ -ATPase 活性下降趋势趋于平缓。新鲜鱼糜初始  $Ca^{2+}$ -ATPase 活力值为 1.60  $\mu\text{mol (pi) / [mg (protein) \cdot \text{min}]$ ；经过 4 周冻藏后 SSPS 添加量为 0%、1%、3%、5% 时，鱼糜  $Ca^{2+}$ -ATPase 活力值分别为 0.17、0.27、0.46、0.37  $\mu\text{mol (pi) / [mg (protein) \cdot \text{min}]$ ，相比于新鲜鱼糜分别下降了 89.38%、83.13%、71.25%、76.88%。结果表明不同浓度 SSPS 对鱼糜  $Ca^{2+}$ -ATPase

活性的下降均有一定的延缓作用。冻藏 8 周后 SSPS 添加量为 0%、1%、3%、5% 时，鱼糜  $Ca^{2+}$ -ATPase 活力值分别为 0.08、0.19、0.35、0.24  $\mu\text{mol (pi) / [mg (protein) \cdot \text{min}]$ ，相比于新鲜鱼糜分别下降了 95.00%、88.13%、78.13%、85.00%。冷冻贮藏期间 SSPS 在一定程度上能有效延缓鱼糜  $Ca^{2+}$ -ATPase 活力值的下降，其中 SSPS 添加量为 3% 时， $Ca^{2+}$ -ATPase 活性下降程度较小；表明该化合物在冷冻贮藏期间对草鱼鱼糜肌原纤维蛋白具有低温保护作用。

## 2.3 水溶性大豆多糖对浸渍冷冻鱼糜总巯基含量和活性巯基含量的影响

冷冻贮藏期间，鱼糜肌原纤维蛋白总巯基含量的下降与 S-S 交联的形成有关，总巯基含量的减小通常是隐藏在分子中的活性巯基逐渐暴露并氧化为二硫键，而活性巯基的氧化也将对  $Ca^{2+}$ -ATPase 活性造成某些影响，引起其活力值的减小<sup>[22]</sup>。故鱼糜肌原纤维蛋白总巯基含量下降趋势与  $Ca^{2+}$ -ATPase 活性下降趋势有相似之处。肌球蛋白 ( $SH_1$  和  $SH_2$ ) 在 ATP 酶活中起着重要作用，这些基团的氧化会导致  $Ca^{2+}$ -ATPase 活性下降<sup>[14]</sup>。总巯基含量的降低可以认为是隐藏在分子中 SH 基团氧化和暴露共同作用的结果<sup>[23]</sup>。

从图 2 中可以看出，鱼糜总巯基含量随着冷冻贮藏时间的延长而降低。冻藏前 4 周，总巯基含量下降趋势较为显著；冻藏 4 周至 8 周期间，总巯基含量下降趋势趋于平缓。新鲜鱼糜总巯基含量为  $5.89 \times 10^{-5} \text{ mol/g protein}$ ；经过 4 周冻藏后，对照组与含有 1%、3%、5% SSPS 鱼糜的总巯基含量分别为  $3.01 \times 10^{-5}$ 、 $3.58 \times 10^{-5}$ 、 $3.85 \times 10^{-5}$ 、 $3.69 \times 10^{-5} \text{ mol/g protein}$ ，相对于新鲜鱼糜分别下降了 48.90%、39.22%、34.63%、37.35%。结果表明 SSPS 对鱼糜总巯基含量的下降有一定延缓作用。冻藏 8 周后，对照组与含有 1%、3%、5% SSPS 的鱼糜总巯基含量分别为  $2.53 \times 10^{-5}$ 、 $3.11 \times 10^{-5}$ 、 $3.41 \times 10^{-5}$ 、 $3.26 \times 10^{-5} \text{ mol/g protein}$ ，相比于新鲜鱼糜分别下降了 57.05%、47.20%、42.11%、

44.65%。

鱼糜活性巯基含量的下降趋势与总巯基含量变化相似(图3)。新鲜鱼糜活性巯基含量为  $4.42 \times 10^{-5}$  mol/g protein; 经过4周冻藏后, 对照组与含有1%、3%、5% SSPS 的鱼糜活性巯基含量分别为  $1.92 \times 10^{-5}$ 、 $2.18 \times 10^{-5}$ 、 $2.61 \times 10^{-5}$ 、 $2.37 \times 10^{-5}$  mol/g protein, 相对于新鲜鱼糜分别下降了 56.56%、50.68%、40.95%、46.38%。对照组鱼糜的活性巯基含量相比于其它样品下降更快。冻藏8周后, 对照组与含有1%、3%、5% SSPS 的鱼糜活性巯基含量分别为  $1.57 \times 10^{-5}$ 、 $2.01 \times 10^{-5}$ 、 $2.37 \times 10^{-5}$ 、 $2.21 \times 10^{-5}$  mol/g protein, 相对于新鲜鱼糜分别下降了 64.48%、54.52%、46.38%、50.00%。

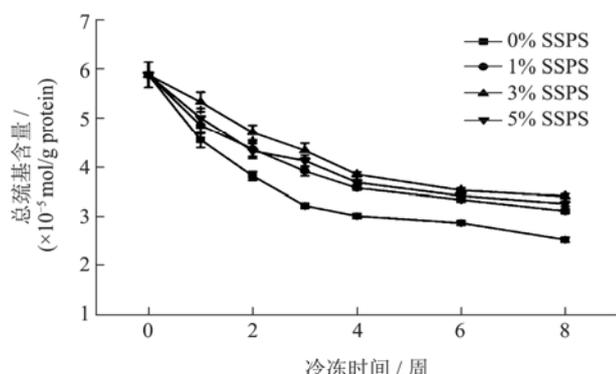


图2 水溶性大豆多糖添加量对浸渍冷冻草鱼鱼糜肌原纤维蛋白总巯基含量的影响

Fig.2 Influences of SSPS content on total sulphhydryl content of grass carp surimi myofibrillar protein by immersion freezing during the frozen storage at -18 °C

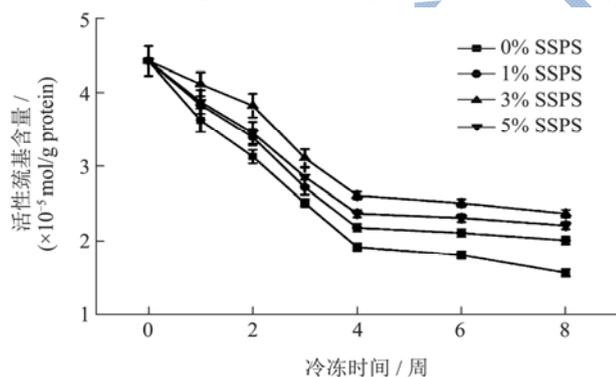


图3 水溶性大豆多糖添加量对浸渍冷冻草鱼鱼糜肌原纤维蛋白活性巯基含量的影响

Fig.3 Influences of SSPS content on active sulphhydryl content of grass carp surimi myofibrillar protein by immersion freezing during the frozen storage at -18 °C

综上所述, SSPS 在一定程度上能有效延缓冷冻鱼糜总巯基含量和活性巯基含量的下降(图2和图3)。当SSPS添加量为3%时, 冷冻鱼糜总巯基含量和活性巯基含量下降程度最小。由此可知, SSPS对鱼糜蛋白

冷冻变性有一定抑制作用。

## 2.4 水溶性大豆多糖对浸渍冷冻鱼糜盐溶蛋白含量的影响

盐溶性蛋白含量是反映鱼糜肌原纤维蛋白冷冻变性最常用的指标, 蛋白质的功能特性主要决定于肌原纤维蛋白质, 而盐溶性蛋白在一定程度上可以反映出蛋白质的变性情况<sup>[24]</sup>。冷冻贮藏期间, 由于蛋白质中的部分结合水形成冰晶而析出, 导致肌动球蛋白分子之间相互形成非共价键, 进而形成超大分子的不溶性凝集体, 致使肌动球蛋白溶出量下降<sup>[25]</sup>。另外, 肌动球蛋白变性后, 还会产生一种在高离子强度下不溶解但在碱液中可以溶解的蛋白质-碱溶性蛋白质, 也会导致肌动球蛋白溶解性的下降。蛋白质变性后肌原纤维蛋白溶解度降低, 盐溶性蛋白含量减小<sup>[26]</sup>。

从图4可以看出, 鱼糜盐溶蛋白含量随着冷冻贮藏时间的延长而呈下降趋势。冻藏前4周, 盐溶蛋白含量下降趋势较为显著; 冻藏4周至8周期间, 盐溶蛋白含量下降趋势趋于平缓。新鲜鱼糜盐溶蛋白含量为 106.81 mg/g, 经过4周冻藏后, 对照组与含有1%、3%、5% SSPS 的鱼糜盐溶蛋白含量分别为 28.89、38.19、52.02、41.74 mg/g, 相比于新鲜鱼糜分别下降了 72.95%、64.24%、51.30%、60.92%; 相对来说添加SSPS的冻藏鱼糜盐溶性蛋白含量下降的程度较小。冻藏8周后, 对照组与含有1%、3%、5% SSPS 的鱼糜盐溶蛋白含量分别为 23.21、34.34、41.74、38.19 mg/g, 相比于新鲜鱼糜分别下降了 78.27%、67.85%、60.92%、64.24%。当SSPS添加量为3%时, 冷冻鱼糜盐溶蛋白含量下降程度最小。结果表明, SSPS在一定程度上能有效延缓鱼糜盐溶蛋白含量的下降。

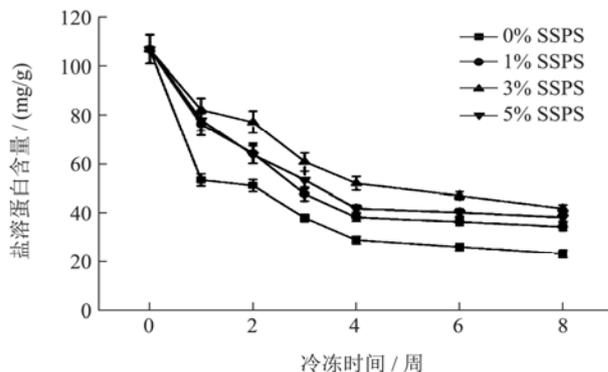


图4 水溶性大豆多糖添加量对浸渍冷冻草鱼鱼糜盐溶蛋白含量的影响

Fig.4 Influences of SSPS content on salt extractable protein content of grass carp surimi by immersion freezing during the frozen storage at -18 °C

### 3 结论

本文从鱼糜浸渍冷冻过程中参数的变化与冻藏期间蛋白变性情况,研究 SSPS 对草鱼鱼糜品质的影响。根据鱼糜的特征冻结时间、淬火阶段降温速率及 14 d 冻藏品质的变化情况,得出鱼糜最佳 SSPS 添加量为 3%。经 8 周冻藏后,鱼糜肌原纤维蛋白 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性、总巯基含量、活性巯基含量及盐溶性蛋白含量的研究表明:随着冻藏时间的延长,这四种指标均呈现下降趋势;而添加 SSPS 对鱼糜蛋白变性有一定的保护作用。综合考虑冷冻过程和冻藏期草鱼鱼糜蛋白的变性情况,SSPS 添加量为 3%时,效果最佳。本研究说明 SSPS 可以作为鱼糜蛋白抗冻保护剂应用于食品工业领域。

### 参考文献

- [1] Alakhrash F, Anyanwu U, Tahergorabi R. Physicochemical properties of Alaska pollock (*Theragra chalcogramma*) surimi gels with oat bran [J]. LWT-Food Science and Technology, 2016, 66: 41-47
- [2] 薛勇. 鳙鱼鱼糜抗冻变性剂及土腥味脱除方法的研究[D]. 中国海洋大学, 2006  
XUE Yong. Study on the antifreeze denaturing agent and soil smell removal method for carp surimi [D]. Ocean University of China, 2006
- [3] 周爱梅, 龚翠, 曹环, 等. 几种新型抗冻剂对鲢鱼鱼糜蛋白抗冻效果研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(11): 318-320  
ZHOU Ai-mei, GONG Cui, CAO Huan, et al. Antifreeze effects of several new antifreezes on surimi protein from dace [J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 31(11): 318-320
- [4] Yao X Q, Ouyang J M, Peng H, et al. Inhibition on calcium oxalate crystallization and repair on injured renal epithelial cells of degraded soybean polysaccharide [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 90(1): 392-398
- [5] 钟碧疆. 可溶性大豆多糖絮凝性及机理研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2011  
ZHONG Bi-jiang. Flocculation and mechanism of soluble soybean polysaccharide [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2011
- [6] 谭永辉, 王文生, 秦玉昌, 等. 豆渣中水溶性大豆多糖的提取与应用[J]. 大豆科学, 2008, 27(1): 150-153  
TAN Yong-hui, WANG Wen-sheng, QIN Yu-chang, et al. Extraction and application of soluble soybean polysaccharide in soybean dregs [J]. Soybean Science, 2008, 27(1): 150-153
- [7] O'Regan J, Ennis M P, Mulvihill D M. Copyright-handbook of hydrocolloids (second edition) [J]. Handbook of Hydrocolloids, 2009, 62(51)
- [8] Nobuhara T, Matsumiya K, Nambu Y, et al. Stabilization of milk protein dispersion by soybean soluble polysaccharide under acidic pH conditions [J]. Food Hydrocolloids, 2014, 34(1): 39-45
- [9] 高玉丽, 李九零, 严小军, 等. 红藻糖苷的提取及其对草鱼鱼糜抗冻性能的影响[J]. 水产学报, 2017, 41(2): 311-318  
GAO Yu-li, LI Jiu-ling, YAN Xiao-jun, et al. Extraction of floridoside and the effect of floridoside on ctenopharyngodon idella surimi during frozen storage [J]. Journal of Fisheries of China, 2017, 41(2): 311-318
- [10] 但静. 不同体重草鱼鱼肉和鱼糜特性及其鱼糜抗冻剂优化研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2016  
DAN Jing. Study on the surimi characteristics of grass carp with different body weights and the optimizing of the cryoprotectants in frozen surimi [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2016
- [11] 邓泽新, 廖泉, 吴卫国. 海藻糖对草鱼鱼糜肌原纤维蛋白冷冻变性作用的影响[J]. 农产品加工(学刊), 2014, 4: 13-15, 18  
DENG Ze-xin, LIAO Quan, WU Wei-guo. The effect of trehalose on denaturation of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) surimi myofibrillar protein during frozen storage [J]. Academic Periodical of Farm Products Processing (Academic journal), 2014, 4: 13-15, 18
- [12] 张静雅. 白鲢鱼糜蛋白的冷冻变性机理及抗冻剂的应用研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2012  
ZHANG Jing-ya. Freezing denaturation mechanism and application of antifreeze in surimi protein of silver carp [D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2012
- [13] Gornall A G, Bardawill C J, David M M. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction [J]. Journal of Biological Chemistry, 1949, 177(2): 751-766
- [14] Benjakul S, Seymour T A, Morrissey M T, et al. Physicochemical changes in pacific whiting muscle proteins during iced storage [J]. Journal of Food Science, 1997, 62(4): 729-733
- [15] Yongsawatdigul J, Park J W. Thermal denaturation and aggregation of threadfin bream actomyosin [J]. Food Chemistry, 2003, 83(3): 409-416
- [16] Liu Y, Li X, Chen Z, et al. Characterization of structural and functional properties of fish protein hydrolysates from surimi processing by-products [J]. Food Chemistry, 2014, 151(20): 459-465

- [17] Sun D-W. Handbook of Frozen Food Processing and Packaging [M]. Taylor & Francis Group, LLC, 2006
- [18] 黄海, 辛荣, 王秀敏. 鱼肉蛋白在低温贮藏时生化特性变化研究进展[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(2): 149-155  
HUANG Hai, XIN Rong, WANG Xiu-min. Advances in biochemical properties of fish protein at low temperature [J]. Food Research and Development, 2009, 30(2): 149-155
- [19] Donald G A M, Lanier T C. Actomyosin stabilization to freeze-thaw and heat denaturation by lactate salts [J]. Journal of Food Science, 2010, 59(1): 101-105
- [20] Okada T, Inoue N, Akiba M. Electron microscopic observation and biochemical properties of carp myosin B during frozen storage [J]. Nihon-suisan-gakkai-shi, 1986, 52(2): 345-353
- [21] Jiang S T, Hwang D C, Chen C S. Effect of storage temperatures on the formation of disulfides and denaturation of milkfish actomyosin (*Chanos chanos*) [J]. Journal of Food Science, 1988, 53(5): 1333-1335
- [22] 郭园园, 孔保华. 冷冻贮藏引起的鱼肉蛋白质变性及其物理化学特性的变化[J]. 食品科学, 2011, 32(7): 335-340  
GUO Yuan-yuan, KONG Bao-hua. Changes in fish protein denaturation and physicochemical properties caused by frozen storage [J]. Food Science, 2011, 32(7): 335-340
- [23] Benjakul S, Visessanguan W, Thongkaew C, et al. Comparative study on physicochemical changes of muscle proteins from some tropical fish during frozen storage [J]. Food Research International, 2003, 36(8): 787-795
- [24] 侯温甫, 薛长湖, 杨文鸽, 等. 低温速冻处理对美国红鱼 -20 °C 冻藏生化特性的影响[J]. 水产科学, 2006, 25(2): 55-58  
HOU Wen-yu, XUE Chang-hu, YANG Wen-ge, et al. Effects of low temperature and quick freezing on biochemical characteristics of frozen fish of the american redfish at -20 °C [J]. Fisheries Science, 2006, 25(2): 55-58
- [25] Badii F, Howell N K. A comparison of biochemical changes in cod (*Gadus morhua*) and haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) fillets during frozen storage [J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2002, 82(1): 87-97
- [26] 侯温甫, 薛长湖, 杨文鸽, 等. 低温速冻处理对鲱鱼冻藏生化特性的影响[J]. 渔业科学进展, 2006, 27(3): 73-77  
HOU Wen-yu, XUE Chang-hu, YANG Wen-ge, et al. Effects of low temperature and quick freezing on the biochemical characteristics of frozen fish in herring [J]. Fisheries Science and Development, 2006, 27(3): 73-77