

常明, 贾爱荣, 张绵松, 等. 不同分子量魔芋葡甘聚糖对冷冻南极磷虾肌原纤维蛋白结构和凝胶特性的影响 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(9): 94–103. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030355

CHANG Ming, JIA Airon, ZHANG Miansong, et al. Effect of Konjac Glucomannan with Varying Molecular Weights on the Structure and Gel Properties of Frozen Antarctic Krill Myofibrillar Protein[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(9): 94–103. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030355

· 研究与探讨 ·

不同分子量魔芋葡甘聚糖对冷冻南极磷虾肌原纤维蛋白结构和凝胶特性的影响

常明^{1,2}, 贾爱荣^{1,2}, 张绵松^{1,2}, 刘雪^{1,2}, 崔婷婷^{1,2,*}

(1. 齐鲁工业大学 (山东省科学院), 山东省科学院生物研究所, 山东济南 250103;

2. 山东省海洋功能食品技术创新中心, 山东威海 264305)

摘要: 探究不同分子量魔芋葡甘聚糖 (Konjac glucomannan, KGM) 对冷冻南极磷虾肌原纤维蛋白 (Myofibrillar protein, MP) 结构和凝胶特性的影响。以南极磷虾 MP 为研究对象, 系统比较了分子量分别为 1.5974×10^6 Da (HMW KGM)、 1.2769×10^6 Da (MMW KGM) 和 0.6912×10^6 Da (LMW KGM) 的 KGM 对南极磷虾 MP 在 -18 °C 冻藏过程 (0、60、120 和 180 d) 中结构特性 (化学键水平、羰基含量、表面疏水性、粒径、肌原纤维断裂指数) 和凝胶特性 (持水力、硬度和弹性、热力学指数) 的影响。与空白对照组 (未添加 KGM 酶解产物的 MP) 相比, 冻藏 180 d, MMW KGM 组的持水力、硬度和弹性最大, 分别为 $67.66\% \pm 2.58\%$ 、 375.85 ± 6.78 g 和 2.78 ± 0.08 g。与此同时, 冻藏 180 d, MMW KGM 组的离子键、氢键和二硫键含量最高, 分别为 27.87 ± 1.03 、 20.98 ± 1.12 和 5.19 ± 0.12 mg/g, 而羰基含量和表面疏水性均最低, 表明 MMW KGM 有利于抑制 MP 的氧化。冻藏 180 d, 粒径、肌原纤维断裂指数和热力学指数结果表明 MMW KGM 组的 MP 空间结构最稳定。上述结果证实, 添加 MMW KGM 对南极磷虾 MP 冷冻保护作用最佳, 这为水产品冻藏过程中使用酶解后 KGM 作为抗冻剂提供了理论支持。

关键词: 魔芋葡甘聚糖分子量, 南极磷虾, 肌原纤维蛋白, 结构特性, 凝胶特性

中图分类号: TS254.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2026)09-0094-10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030355

本文网刊:



Effect of Konjac Glucomannan with Varying Molecular Weights on the Structure and Gel Properties of Frozen Antarctic Krill Myofibrillar Protein

CHANG Ming^{1,2}, JIA Airon^{1,2}, ZHANG Miansong^{1,2}, LIU Xue^{1,2}, CUI Tingting^{1,2,*}

(1. Biology Institute, Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Jinan 250103, China;

2. Shandong Provincial Marine Functional Food Technology Innovation Center, Weihai 264305, China)

Abstract: This study aimed to investigate the effects of konjac glucomannan (KGM) with varying molecular weights on the structure and gel properties of myofibrillar protein (MP) derived from frozen Antarctic krill. Using Antarctic krill MP as the research object, we compared the degradation of KGM with molecular weights of 1.5974×10^6 Da (HMW KGM), 1.2769×10^6 Da (MMW KGM), and 0.6912×10^6 Da (LMW KGM) during the freezing storage process at -18 °C. The effects on structure properties (chemical bond level, carbonyl content, surface hydrophobicity, particle size, myofibril breakage

收稿日期: 2025-03-28

基金项目: 山东省自然科学基金博士基金 (ZR2022QC085); 2023 年校 (院) 第一批人才科研项目 (2023RCKY228); 山东省自然科学基金面上项目 (ZR2023MC065); 山东省科技型中小企业创新能力提升工程项目 (2023TSGC0681); 齐鲁工业大学 (山东省科学院) - 威海市产学研协同创新基金项目 (2022CX-04; 2022KC04); 山东省重点研发计划 (重大科技创新工程) (2021TZXD008); 齐鲁工业大学 (山东省科学院) 科教产融合试点工程重大创新类项目 (2024ZDZX03); 山东省科技型中小企业创新能力提升工程项目 (2023TSGC0772/2023TS1085), 岱宗人才项目 (2023-04)。

作者简介: 常明 (1998-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: 1593687968@qq.com。

* **通信作者:** 崔婷婷 (1990-), 女, 博士, 助理研究员, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: tingtingcui@sdas.org。

index) and gel properties (water-holding capacity, hardness, elasticity, thermodynamic) were analyzed at 0, 60, 120, and 180 days. Compared to the blank control group (MP without the addition of KGM enzymatic hydrolysis products), the MMW KGM group exhibited the highest holding capacity, hardness, and elasticity after being frozen for 180 days, with values of $67.66\% \pm 2.58\%$, 375.85 ± 6.78 g, and 2.78 ± 0.08 g, respectively. Meanwhile, the MMW KGM group demonstrated the highest levels of ionic bonds, hydrogen bonds, and disulfide bonds, measuring 27.87 ± 1.03 , 20.98 ± 1.12 , and 5.19 ± 0.12 mg/g, respectively, while the contents of carbonyl groups and surface hydrophobicity were the lowest. This suggested that MMW KGM was effective in inhibiting the oxidation of MP. Additionally, after 180 days of freezing, the results of particle size, myofibrillary rupture index, and thermodynamic index indicated that the spatial structure of MP in the MMW KGM group was the most stable. These findings confirmed that the addition of MMW KGM provided the most effective freezing protection for the MP of Antarctic krill, which offered theoretical support for the use of enzymatically hydrolyzed KGM as an antifreeze agent during the freezing and storage of aquatic products.

Key words: konjac glucomannan molecular weight; Antarctic krill; myofibrillar protein; structural characteristics; gel properties

南极磷虾(*Euphausia superba*)是一种生活在南大洋中的无脊椎浮游生物,作为地球上最大的单种生物资源之一,总生物量约为 $10^7 \sim 10^8$ 吨^[1]。南极磷虾蛋白含有人体健康所必需的 8 种氨基酸和多种矿物质元素,能够满足粮农组织/世卫组织/联合国(FAO/WHO/UNU)规定的成人和婴儿需要量,是一种完全蛋白,具有极高的营养价值^[2]。研究表明^[3],南极磷虾的蛋白质分布呈现明显的组织差异性:肌肉组织(磷虾肉)所含蛋白质占整体蛋白含量的 40%~45%,外骨骼(甲壳)占比为 25%~30%,内脏器官含 20%~25% 的蛋白质,而头部与眼部区域的蛋白质含量相对较低,仅占 5%~10%,其中肌原纤维蛋白约占总蛋白的 60%~70%,且肌原纤维蛋白的含量及组成对维持虾肉品质发挥着重要的作用。然而,南极磷虾资源的开发利用面临若干技术瓶颈,主要体现在以下两方面:其一,南极磷虾体内存在高活性的蛋白酶系统,在捕捞后极易引发自溶现象,进而加速腐败进程^[4];其二,在集中捕捞作业时,受加工能力限制,磷虾原料往往难以及时处理,导致品质显著下降,严重制约了资源的高效利用。目前,冷冻贮藏是南极磷虾的主要保藏方式,但其品质劣变问题突出,主要表现为脂质氧化、蛋白质变性以及冰晶的升华与重结晶等关键因素引发的质量变化^[5]。反复冻融过程会进一步加剧脂质氧化和蛋白质氧化,特别是会诱发肌原纤维蛋白变性,最终造成虾肉品质的不可逆劣变^[6]。

多糖的分子量会影响多糖的结构和功能特性,研究表明适度的分子量大小有助于多糖功效的发挥^[7-8]。KGM 是从魔芋块根中提取的一种具有特殊凝胶特性和流变特性的水溶性膳食纤维,是由 D-吡喃甘露糖和 D-吡喃葡萄糖(二者比例为 1:1.6)通过 β -1,4-糖苷键连接而成的多糖,已被广泛应用于食品领域,用来改善单一组分凝胶的性能劣势^[9]。Sun 等^[10] 研究发现,KGM 凝胶在促进高品质水产食品开发方面展现出较大的潜力。郭兵兵等^[11] 研究发现,不同分子量的 KGM 均能延缓冻藏 15 d 以上的草鱼肌原纤维蛋白变性,其中小分子量的魔芋葡甘聚糖对

肌原纤维蛋白冷冻保护作用最佳。另外, Jian 等^[12] 研究发现,分子量较小的 KGM 提高了罗非鱼肌纤维蛋白的凝胶强度,而分子量较大的 KGM 则破坏了罗非鱼肌纤维蛋白凝胶的网状结构。然而,目前有关 KGM 分子量对冷冻南极磷虾肌原纤维蛋白结构和凝胶特性的影响研究较少,因此,研究不同分子量的魔芋葡甘聚糖对肌原纤维蛋白的冷冻保护效果具有十分重要的意义。

本研究通过比较分子量分别为 1.5974×10^6 Da (HMW KGM)、 1.2769×10^6 Da (MMW KGM) 和 0.6912×10^6 Da (LMW KGM) 的 KGM 对南极磷虾肌原纤维蛋白在 -18 °C 冻藏过程(0、60、120 和 180 d)中结构和凝胶特性的影响,探讨其对蛋白的冷冻保护作用,从而改善南极磷虾肉的品质,为 KGM 的工业应用提供理论指导,且研究结果将补充和完善食品抗冻剂的种类。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

魔芋葡甘露聚糖(KGM,纯度 $\geq 98\%$)、 β -甘露聚糖酶(50000 U/mg) 北京索莱宝科技有限公司;南极磷虾 大连辽渔远洋食品有限公司;柠檬酸缓冲液、磷酸盐缓冲液、氯化钠、氯化镁、氯化钾、乙二醇四乙酸二钠盐(EDTA-2Na)、尿素、 β -巯基乙醇、溴酚蓝 北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司;蛋白质羰基含量检测试剂盒 上海酶联生物科技有限公司;牛血清蛋白(BR) Sigma 公司。

JJ-1A 型电热恒温水浴锅 北京市永光明医疗仪器有限公司;YP10002 型电子天平 上海光正医疗仪器有限公司;IKA T18 数显型高速分散机 艾卡(广州)仪器设备有限公司;TDL-5-A 型台式离心机 上海安亭科学仪器厂;TECAN M200pro 型酶标仪 瑞士帝肯公司;OS20-Pro 顶置式电子搅拌器 大龙兴创实验仪器(北京)股份公司;TA-XT plus 型质构仪 上海瑞玢智能科技有限公司;Zetasizer 纳米粒度电位仪 马尔文仪器有限公司;DSC-Q200 差示扫描量热仪 南京大展检测仪器有限公司;BT-

9300S 激光粒度仪 丹东百特仪器有限公司; LC-20AT 高效液相色谱仪 日本岛津公司。

1.2 实验方法

1.2.1 不同分子量魔芋葡甘聚糖(Konjac glucomannan, KGM)的制备 参考 Tripetch 等^[13]的方法, 将 3.0 g KGM 溶解于 100 mL 柠檬酸缓冲液(0.1 mol/L), 加入 0.1 g β -甘露聚糖酶混合均匀, 采用 HCl (1 mol/L)将反应体系的 pH 调节为 4.8, 酶解时间分别为 0、5、15 和 30 min, 沸水浴 10 min 进行灭活处理, 将混合溶液置于离心机中以 4000 r/min 的转速离心 10 min, 弃去沉淀取上清液, 上清液过 0.22 μ m PVDF 膜备用, 采用 LC-20AT 高效液相泵和 RID-10A 示差检测器(Shimadzu, Kyoto, Japan)组成的高效液相系统测定不同酶解时间 KGM 的分子量, 检测柱为 OHPak SB-805 HQ 凝胶色谱柱, 流动相为超纯水, 流速 0.8 mL/min, 柱温 30 $^{\circ}$ C, 压力 1.0 MP, 进样量为 20 μ L。最终测得的分子量分别为 2.0347×10^6 、 1.5974×10^6 、 1.2769×10^6 和 0.6912×10^6 Da, 并依次命名为 KGM、HMW KGM、MMW KGM 和 LMW KGM。

1.2.2 肌原纤维蛋白(Myofibrillar protein, MP)的提取 参考 Li 等^[14]方法, 取南极磷虾于 4 $^{\circ}$ C 下解冻, 按照 1:3.5(g/g)的比例将南极磷虾肉与磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L NaCl, 0.002 mol/L $MgCl_2$, 0.001 mol/L EDTA-2Na, 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH7.0)在高速搅拌器中均匀混合 25 s, 然后将混合溶液以 11000 r/min 离心 25 s, 弃去上清, 所得沉淀即为 MP, 4 $^{\circ}$ C 下保存备用。

1.2.3 MP 凝胶的制备 参考 Li 等^[15]的方法, 用磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L NaCl, 0.002 mol/L $MgCl_2$, 0.001 mol/L EDTA-2Na, 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH7.0)将 MP 浓度调整为 40 mg/mL, 分别取 0.4 g 的 KGM、HMW-KGM、MMW-KGM 和 LMW-KGM 与 100 g 的 MP 混匀, 通过电子搅拌器在 10000 r/min 的条件下充分均质 30 s。在 80 $^{\circ}$ C 恒温水浴下加热 30 min, 冷却至室温, 将上述凝胶分别置于 -18 $^{\circ}$ C 冰箱中储存 0、60、120 和 180 d, 进行后续指标测定。

1.2.4 南极磷虾 MP 结构指标分析

1.2.4.1 MP 凝胶化学键水平测定 根据 Chen 等^[16]的方法配制下列 5 种不同的溶液: S1 溶液(0.05 mol/L NaCl)、S2 溶液(0.6 mol/L NaCl)、S3 溶液(0.6 mol/L NaCl+1.5 mol/L 尿素)、S4 溶液(0.6 mol/L NaCl+8 mol/L 尿素)、S5 溶液(0.6 mol/L NaCl+8 mol/L 尿素+0.5 mol/L β -巯基乙醇)。称取 2.0 g MP 凝胶样品, 分别与 10 mL 上述 5 种溶液混合, 在 500 r/min 转速下匀浆处理 2 min, 置于 4 $^{\circ}$ C 环境中 1 h, 4 $^{\circ}$ C 下按照 10000 r/min 离心处理 15 min, 收集上清液, 用双缩脲法测定蛋白质含量, 计算离子键(S2 和

S1 之差)、氢键(S3 和 S2 之差)、疏水相互作用(S4 和 S3 之差)和二硫键(S5 和 S4 之差)。

1.2.4.2 羰基含量的测定 参考 Wang 等^[17]的研究方法, 结合蛋白质羰基含量测试盒的说明书, 测定 MP 中羰基的含量。

1.2.4.3 表面疏水性的测定 参考 Wang 等^[18]的研究方法, 用 0.02 mol/L 的 PBS 缓冲液(含 0.6 mol/L NaCl, pH7.0)将 MP 溶液的浓度调整为 1.0 mg/mL, 取 1 mL 浓度为 1.0 mg/mL 的 MP 溶液与 200 mL 溴酚蓝(1.0 mg/mL)漩涡振荡 15 min 充分混匀, 于 5000 r/min 转速下离心 15 min, 取上清液稀释 10 倍后于 595 nm 波长处测定 OD 值, 以 PBS 为空白对照。其中溴酚蓝的结合量表示 MP 的表面疏水性, 计算方法见公式(1)。

$$\text{溴酚蓝结合量}(\mu\text{g}) = 200 \times \frac{\text{OD}_0 - \text{OD}_1}{\text{OD}_0} \quad \text{式(1)}$$

式中: OD_0 为空白对照的吸光度值; OD_1 为样品的吸光度值。

1.2.4.4 粒径的测定 用蒸馏水将 MP 溶液的浓度调整为 1.0 mg/mL, 取适量溶液置于比色皿中, 通过激光粒度仪对 MP 的粒径进行测定。测定参数如下: 平衡时间 60 s, 测定温度为 25 $^{\circ}$ C, 散射角 90 $^{\circ}$ 。

1.2.4.5 肌原纤维断裂指数(Myofibrillar fragmentation index, MFI)的测定 参考刘晓芳等^[19]的研究方法, 取 1.0 g MP 加入 20 mL 4 $^{\circ}$ C 预冷的 MFI 缓冲液(100 mmol/L KCl, 20 mmol/L KPO_4 -pH7, 0.001 mmol/L EGT 和 1 mmol/L $MgCl_2$)中, 并均质 30 s, 在 4 $^{\circ}$ C 下按照 1000 r/min 离心 15 min, 弃去上清液, 每次加入新鲜的 MFI 缓冲液, 反复离心 4 次。通过双缩脲法测定沉淀中蛋白质质量浓度, 定量后将样品稀释至 0.5 mg/mL, 在 540 nm 下读取吸光度值, 所有样品均测定三次取平均值, MFI 计算方法见公式(2)。

$$\text{MFI} = 200 \times \text{OD} \quad \text{式(2)}$$

式中: OD 为吸光度值。

1.2.5 南极磷虾 MP 凝胶特性分析

1.2.5.1 MP 凝胶持水力(WHC)的测定 参考 Zheng 等^[20]的方法, 分别取 1.2.3 中不同冻藏天数的 MP 凝胶 5.0 g, 置于 50 mL 的离心管中, 在 4 $^{\circ}$ C 的冷冻离心机中以 5000 r/min 的转速离心处理 10 min, 称取离心前后的质量(g), 每个样品均进行 3 次独立测定, 并计算其平均值, 计算方法见公式(3)。

$$\text{WHC}(\%) = \frac{m_1}{m_0} \times 100 \quad \text{式(3)}$$

式中: m_0 为离心前凝胶的质量, g; m_1 为离心后凝胶的质量, g。

1.2.5.2 MP 凝胶硬度和弹性的测定 参考 Wu 等^[21]的方法, 将 MP 凝胶制成直径 3 cm、高度为 3 cm 且

两端切面平整的圆柱体,置于载物台上,利用 TA-XT plus 型质构仪进行凝胶硬度和弹性的测定。测定参数如下:仪器测试速度为 2.0 mm/s,压力为 40%,测试时间为 5.00 s,触发力为 5.0 g,恢复距离为 5.00 mm,测定温度为 25 ℃。

1.2.5.3 差示扫描量热(DSC)分析 使用差示扫描量热仪,按照 Chen 等^[22]报道的方法,取冷冻干燥后的 MP 样品 2.0~3.0 mg 置于铝锅中密封,记录好样品质量并做压片处理,在氮气气氛下以 5 ℃/min 的扫描速度从 25 ℃ 加热至 200 ℃,以空坩埚作为空白参照,记录 DSC 曲线,通过 Pyris-12 软件分析峰值温度(T_p)和焓值(ΔH)。

1.3 数据处理

实验均进行 3 次取平均值,采用 SPSS 25.0 对实验数据统计分析,结果表示为“平均值±标准差”。采用单因素方差分析(ANOVA)和 Duncan's 法多重比较分析各组的差异显著性,其中 $P<0.05$ 代表有显著性差异,用 Origin 2021 软件作图。

2 结果与分析

2.1 结构指标分析

2.1.1 不同分子量 KGM 对 MP 凝胶化学键水平的

影响 MP 是南极磷虾总蛋白的主要成分,是肌肉中必不可少的功能蛋白,能够在热过程中通过蛋白质之间的二硫键、氢键和疏水相互作用等化学力形成黏弹性凝胶网络。然而,一些天然蛋白质容易受到物理化学加工所引起的微环境变化的影响,因此很少能呈现出理想的功能特性,不能满足食品工业的各种需求。MP 凝胶的形成过程与离子键、疏水相互作用、氢键、二硫键等化学力有关,这些化学力共同导致蛋白质凝胶结构的变化,从而影响蛋白质的凝胶性质^[23]。如图 1 所示,随着冻藏时间从 0 d 延长至 180 d,MP 凝胶的离子键、氢键和二硫键含量均显著降低($P<0.05$),疏水键含量显著增加($P<0.05$),当冻藏时间为 180 d 时,对照组、KGM 组、HMW KGM 组、MMW KGM 组和 LMW KGM 组的离子键含量分别减少了 63.03%±1.23%、60.20%±2.08%、53.26%±1.65%、37.73%±1.74% 和 47.46%±2.04%;氢键含量减少了 71.02%±3.42%、63.24%±2.35%、56.92%±3.78%、46.08%±1.09% 和 51.55%±2.23%;二硫键含量减少了 53.31%±2.45%、50.26%±2.78%、47.82%±1.89%、33.46%±1.35% 和 40.36%±1.19%;疏水键含量增加了 256.83%±6.76%、231.09%±

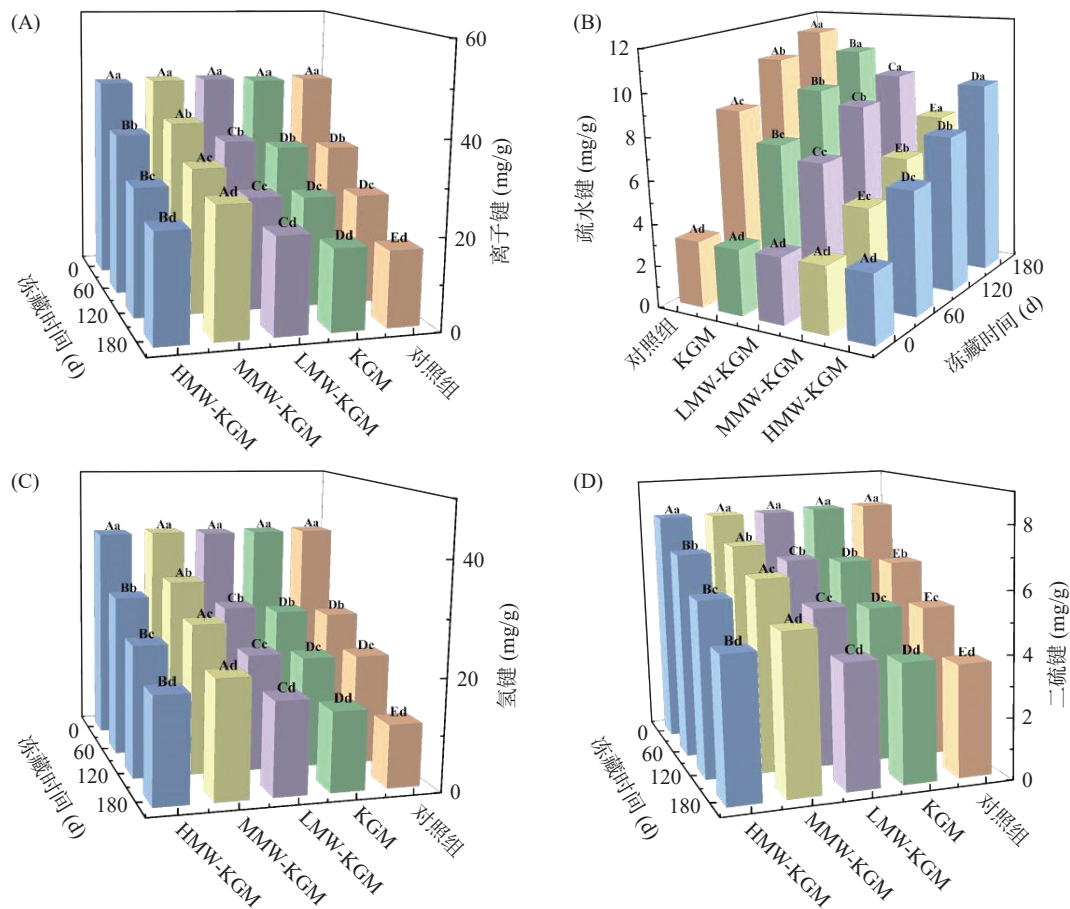


图 1 不同分子量 KGM 对冻藏期间 MP 凝胶离子键(A)、疏水键(B)、氢键(C)、二硫键(D)的影响

Fig.1 Effect of different molecular weight KGM on ionic bond (A), hydrophobic bond (B), hydrogen bond (C), disulfide bond (D) of MP gel during freezing storage

注:不同小写字母表示不同冻藏时间的显著性差异($P<0.05$);不同大写字母表示不同分子量 KGM 的显著性差异($P<0.05$),图 2~图 6 同。

7.87%、193.33%±4.54%、133.12%±6.89% 和182.81%±3.24%。可能是冻藏期间,肌原纤维蛋白氧化变性,导致肌肉组织和蛋白质结构被破坏,使得分子内部的疏水键暴露,氢键、离子键或二硫键受到影响,含量减少^[24]。

如图 1 所示,相比对照组, KGM 组、HMW KGM 组、MMW KGM 组和 LMW KGM 组的各化学键含量变化幅度较小,且 MMW KGM 组表现出更优异的性能。在 180 d 时,MMW KGM 组与对照组相比,离子键含量从 16.47±0.76 mg/g 显著增加到 27.87±1.03 mg/g ($P<0.05$),氢键含量从 11.24±0.98 mg/g 显著增加到 20.98±1.12 mg/g ($P<0.05$),二硫键含量从 3.67±0.06 mg/g 显著增加到 5.19±0.12 mg/g ($P<0.05$),疏水键含量从 11.24±0.19 mg/g 显著降低到 7.32±0.23 mg/g ($P<0.05$),说明添加 MMW KGM 可以增加水-蛋白和蛋白-蛋白之间的氢键交联,离子键和二硫键含量显著增加,劳梦甜等^[25]的研究也报告了这一发现。此外,MMW KGM 抑制了由于冻藏导致的蛋白质变性,保护了蛋白质分子结构等使其不被破坏,减缓了各化学键水平的变化。

2.1.2 不同分子量 KGM 对 MP 凝胶羰基含量和表面疏水性的影响 南极磷虾肌原纤维蛋白的羰基含量是由氨基酸侧链直接氧化产生的,这是南极磷虾肌原纤维蛋白氧化的重要指标,肌原纤维精氨酸侧链基团是氧自由基攻击的主要目标,从而破坏肽键,导致羰基化合物及其衍生物含量增加^[26]。如图 2(A)所

示,随着冻藏时间的延长,各组 MP 凝胶中羰基含量均显著增加 ($P<0.05$),在冻藏 180 d 后,对照组的羰基含量达到了 3.78±0.22 nmol/mg prot,这与 Wang 等^[27]的研究结果是一致的,该结果表明,冻藏过程提高了蛋白质的氧化水平,进而导致蛋白质羰基含量的上升,这可能与细胞释放氧化酶和促氧化剂有关。另外在长期冻藏过程中,冰晶的形成对肌肉细胞的超微结构造成损伤并释放自由基,自由基攻击蛋白质氨基酸侧链导致蛋白质聚合交联等,造成羰基含量增加。当添加不同分子量的 KGM 后,KGM 组、HMW KGM 组、MMW KGM 组和 LMW KGM 组的羰基含量均显著低于对照组 ($P<0.05$),其中 MMW KGM 的效果最显著,这表明酶解后的 KGM 处理 MP 凝胶能有效抑制羰基的生成和肌原纤维蛋白的氧化,同样的, Kim 等^[28]通过研究进一步证实,KGM 作为冷冻变性抑制剂能够有效延缓鸭血蛋白在热诱导过程中羰基含量的上升。

肌原纤维蛋白疏水性基团暴露在表面,会导致表面疏水性升高,从而引发蛋白质聚集。从图 2(B)可以看出,随着冻藏时间从 0 d 延长至 180 d,各组疏水性均呈现显著的上升趋势 ($P<0.05$),这与 2.1.1 中疏水键的变化趋势是一致的, Zhang 等^[29]也发现了这一规律,究其原因可能是暴露的疏水残基之间发生了疏水相互作用,导致蛋白质聚集,因此,冻藏过程直接影响了蛋白质分子的构象变化。Hou 等^[30]还报道了蛋白质在冻藏期间疏水性的增加可能归因于脂肪族氨基酸和芳香氨基酸的暴露。添加不同分子量的 KGM 后,抑制了各组 MP 凝胶表面疏水性的升高,在 180 d 的冻藏过程中,对照组和添加 KGM 组的 MP 凝胶表面疏水性存在显著差异 ($P<0.05$),对照组的表面疏水性增加幅度最大,其次是 KGM 组和 LMW KGM 组。冻藏时间为 180 d 时,对照组的表面疏水性(溴酚蓝结合量)为 83.45±1.54 μg,显著高于 MMW KGM 组和 HMW KGM 组的 70.22±1.35 μg 和 75.64±1.08 μg ($P<0.05$),从研究结果可知,酶解后的 KGM 延缓了南极磷虾肌纤维蛋白的构象变化和表面疏水性的升高。

2.1.3 不同分子量 KGM 对 MP 粒径的影响 粒径的大小可以表征 MP 的聚集程度,进一步反映出蛋白质空间结构的变化。由图 3 可知,随着冻藏时间延长,各组 MP 的粒径逐渐增大,说明 MP 出现了严重聚集,主要是由于冻藏过程中 MP 的展开和蛋白表面积的增加所致,此外,二硫键和氢键含量的降低是导致 MP 发生聚集的重要因素之一。张建友等^[31]还证实,蛋白质氧化变性造成蛋白质骨架裂解、交联聚集絮凝,以及冰晶的生长促使肌原纤维蛋白分子之间形成非共价键,导致蛋白质链大量聚集,从而形成不溶性大分子凝集体,最终导致 MP 粒径增加。与对照组相比,KGM、HMW KGM、MMW KGM 和 LMW KGM 的添加都能够显著延缓冻藏过程中 MP 粒径

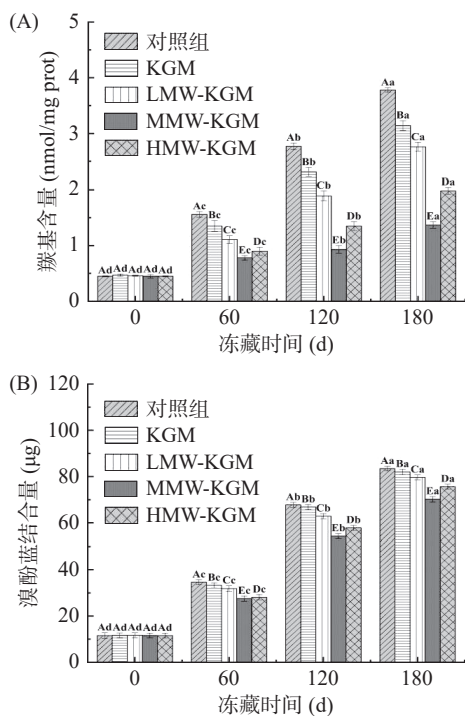


图 2 不同分子量 KGM 对冻藏期间 MP 羰基含量和表面疏水性的影响

Fig.2 Effect of different molecular weight KGM on carbonyl groups content and surface hydrophobicity of MP during freezing storage

的增加($P<0.05$), 其中 MMW KGM 的效果最显著, 当冻藏时间达到 180 d 时, MMW KGM 组 MP 的粒径为 559.08 nm, 显著低于对照组(823.45 ± 11.32 nm)、KGM 组(735.46 ± 10.43 nm)、LMW KGM 组(698.70 ± 7.59 nm) 和 HMW KGM 组(657.73 ± 8.15 nm) ($P<0.05$), 这是因为酶解后的 KGM 含有大量游离羟基, 能够与水分子高度结合, 阻止冻藏过程中冰晶的形成与体积增大, 从而延缓了蛋白质的聚集, 抑制较大体积蛋白质聚集体的形成和粒径的增加, 这与 Gao 等^[32] 的研究结果是一致的。

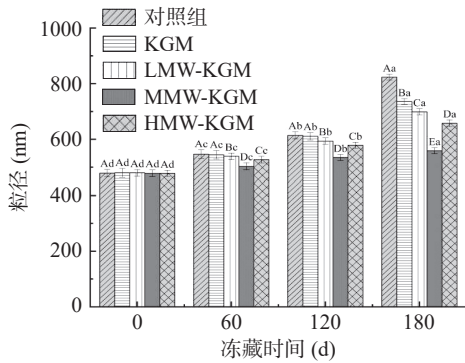


图 3 不同分子量 KGM 对冻藏期间 MP 粒径的影响
Fig.3 Effect of different molecular weight KGM on particle size of MP during freezing storage

2.1.4 不同分子量 KGM 对 MP 肌原纤维断裂指数 (MFI) 的影响 MFI 反映 MP 超微结构的完整性和 MP 的降解程度, MFI 值越高, 表明肌纤维损伤越大, 肌原纤维降解越严重。图 4 为不同分子量的 KGM 对不同冻藏时间下南极磷虾肌原纤维蛋白 MFI 值的影响, 随着冻藏时间延长, 各组 MP 的 MFI 显著增大 ($P<0.05$), 冻藏时间为 180 d 时, 各组 MP 的 MFI 值达到最大, 这些结果表明, 较长的冻藏时间显著破坏了肌原纤维蛋白结构的完整性。在冻藏过程中, 冰晶的形成会刺穿肌肉组织膜, 导致肌原纤维蛋白发生降解, 从而使 MFI 值显著升高; 同时, 肌肉组织中脂质和蛋白质的氧化反应会进一步破坏细胞超微结构, 这也促使 MFI 值持续增加^[33]。此外, 除了冰晶对肌纤

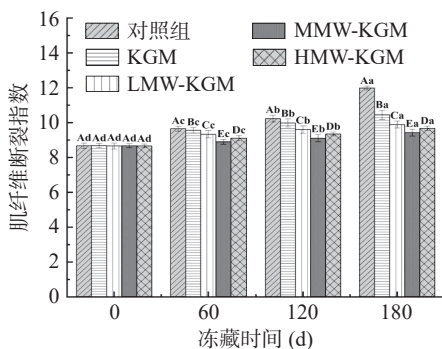


图 4 不同分子量 KGM 对冻藏期间 MP 肌原纤维断裂指数的影响

Fig.4 Effect of different molecular weight KGM on MFI of MP during freezing storage

维造成的机械损伤外, 酶解效应是肌原纤维降解的另一个原因, 在低温下, 肌肉组织内源酶(如组织蛋白酶和钙蛋白酶)的活性也相应升高^[34], 这些酶会逐渐将 MP 降解掉, 从而提高了 MFI 值^[35]。与 0 d 相比, 当冻藏时间为 180 d 时, 对照组、KGM 组、HMW KGM 组、MMW KGM 组和 LMW KGM 组的 MFI 分别增加了 $27.63\%\pm 1.09\%$ 、 $16.94\%\pm 0.61\%$ 、 $10.44\%\pm 0.35\%$ 、 $8.06\%\pm 0.22\%$ 和 $12.44\%\pm 0.35\%$, 其中 MMW KGM 组的 MFI 值增加幅度最小, 表明 MMW KGM 对维持冻藏过程中肌原纤维蛋白的完整性效果最佳。

2.2 凝胶特性指标分析

2.2.1 不同分子量 KGM 对 MP 凝胶持水力的影响

持水力是指南极磷虾在加工和储存过程中保留固有水的能力, 对维持虾肉的口感和质量发挥着至关重要的作用。图 5 为添加不同分子量 KGM 对冻藏期间 MP 凝胶持水力的影响。随着冻藏时间逐渐延长, MP 凝胶持水力呈下降趋势, 这与 Zhang 等^[36] 的研究结果一致, 且冻藏 180 d 的 MP 凝胶的持水力显著低于冻藏 0、60 和 120 d 的 MP 凝胶的持水力 ($P<0.05$), 以对照组为例, 从冻藏 0 d 至 180 d, MP 凝胶的持水力从 $88.79\%\pm 2.31\%$ 分别下降至 $72.34\%\pm 1.98\%$ 、 $62.17\%\pm 3.44\%$ 和 $53.24\%\pm 2.76\%$, 这是因为南极磷虾肉中的水分主要以游离水的形式存在。其中, 一部分游离水分布于肌原纤维和结缔组织的间隙中, 而另一部分则通过氢键或静电相互作用与蛋白质、糖类等分子的极性基团(如羧基、羟基等)结合, 形成结合水。在冷冻贮藏过程中, 蛋白质周围的疏水/亲水结合键被破坏, 与蛋白质结合的水变成自由水, 导致持水能力下降^[37]。此外, 冰晶的形成对肌原纤维的组织结构造成一定的损伤, 这也是影响南极磷虾持水力的重要因素^[38]。

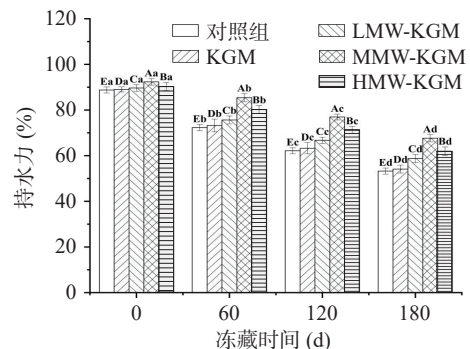


图 5 不同分子量 KGM 对冻藏期间 MP 凝胶持水力的影响

Fig.5 Effect of KGM with different molecular weight on water retention of MP gel during freezing storage

在相同冻藏天数下, 添加不同分子量 KGM 显著提高了 MP 凝胶的持水力, 其中添加 MMW KGM 的效果最显著 ($P<0.05$), 这是因为 MMW KGM 既能与 MP 通过氢键或静电相互作用形成足够的交联

点,又不会因分子量过高导致空间位阻或过度缠结,破坏凝胶均匀性,这种适度的交联有助于形成更致密且稳定的三维网络结构,从而有效地截留水分。在冻藏 60 d 时, KGM 组、HMW KGM 组、MMW KGM 组和 LMW KGM 组的持水力分别为 73.24%±2.78%、80.22%±2.78%、85.43%±4.54% 和 75.64%±2.76%, 比对照组分别提高了 0.9%、7.88%、13.09% 和 3.3%($P<0.05$); 当冻藏天数延长至 180 d 时, KGM 组、HMW KGM 组、MMW KGM 组和 LMW KGM 组的持水力分别为 54.14%±1.76%、61.90%±3.97%、67.66%±2.58% 和 58.76%±2.79%, 比对照组分别提高了 0.9%、8.66%、14.42% 和 5.52%($P<0.05$), 且酶解后 KGM 对持水力的影响显著优于未酶解的 KGM。一些研究证实,高水平的持水力通常与良好的凝胶结构有关^[39-40],因为良好的凝胶网络结构有助于结合水的留存,这也表明酶解 KGM 的添加有助于南极磷虾肌原纤维蛋白凝胶网络的形成,避免被冰晶破坏,此外, Zeng 等^[41]发现酶解 KGM 通过改变 MP 凝胶的二级结构改善持水力。

2.2.2 不同分子量 KGM 对 MP 凝胶硬度和弹性的影响 不同分子量 KGM 对 MP 凝胶硬度的影响如图 6(A)所示。新鲜状态下,各组凝胶的硬度无显著差异($P>0.05$),随着冻藏时间的延长,各处理组 MP 凝胶的硬度均显著降低($P<0.05$),且冻藏 180 d 后的硬度显著低于冻藏 0、60 和 120 d 的硬度($P<0.05$),这可能是由于在冻藏储存过程中形成的冰晶破坏了肌肉细胞,引起肌肉蛋白质变性聚集,导致肌肉硬度

下降,此外,也有研究者认为钙蛋白酶和组织蛋白酶可以作用于南极磷虾肌原纤维蛋白^[42]。具体而言,在 Ca^{2+} 存在的条件下,钙蛋白酶被激活后能够特异性识别并切割肌原纤维蛋白中的特定肽键,这种选择性水解作用会显著破坏肌原纤维的结构完整性,促使游离的肌球蛋白和肌动蛋白释放,进而导致蛋白质交联能力下降和质地软化。与此同时,组织蛋白酶则通过直接水解肌球蛋白重链和肌动蛋白,将其降解为更小的肽段,进一步加剧肌原纤维蛋白的结构解离,这两种蛋白酶的协同作用共同促进了南极磷虾肌原纤维蛋白的降解过程,导致硬度降低。然而,不同分子量 KGM 的加入显著抑制了 MP 凝胶硬度的降低,冻藏保存 180 d 后, KGM 组、HMW KGM 组、MMW KGM 组和 LMW KGM 组凝胶硬度分别为 254.14±6.76、299.98±8.97、375.85±6.78 和 258.76±7.79 g,显著高于对照组(236.54±8.47 g)($P<0.05$),MP 凝胶硬度的增加可能与酶解后 KGM 对肌原纤维蛋白结构的影响有关,其中 MMW KGM 的影响最显著,降解 KGM 亲水性的提高有助于抑制冰晶的形成,从而减轻冰晶对蛋白质结构的破坏,这些发现与凝胶持水力研究结果是一致的。

弹性反映的是食物在外力作用下的变形程度和撤去后的恢复程度。从图 6(B)可知,新鲜 MP 凝胶(冻藏 0 d)的肌肉弹性为 3.87 mm,且新鲜状态下各组凝胶的硬度无显著差异($P>0.05$),冻藏 180 d 后,各组凝胶弹性均呈现显著的下落趋势($P<0.05$),这可能是由于在冻藏过程中冰晶破坏肌肉组织所致, Wang 等^[43]还证实,这可能是由于冻藏前期微生物与酶仍保持较高活性,不断降解结构蛋白,加速了弹性的降低。与对照组相比,添加了酶解后 KGM 的凝胶表现出更好的凝胶弹性,其中 MMW KGM 组的弹性最好,在 MMW KGM 添加后,凝胶弹性从 3.88±0.08 g 减少到 3.65±0.06 g(60 d), 3.32±0.07 g(120 d) 和 2.78±0.08 g(180 d),特别是冷冻 180 d 后, MMW KGM 组的凝胶弹性比对照组高 24.10%,结果表明,在冻藏期间,MP 凝胶特性明显变差,MMW KGM 显著抑制了 MP 凝胶弹性的降低($P<0.05$),这可能是由于 MMW KGM 的加入维持了更好的氢键和疏水相互作用,另一方面,MMW KGM 能够阻止冰晶的生长,从而减弱冻藏对蛋白质变性的影响,更好地保留南极磷虾原本的弹性,这与 Wu 等^[44]的研究结果是相似的。

2.2.3 不同分子量 KGM 对肌原纤维蛋白热力学性质的影响 不同分子量 KGM 对肌原纤维蛋白热力学性质的影响见表 1,峰值温度(T_p)代表蛋白质变性的温度, ΔH 对应诱导蛋白质变性所需的能量。随着冻藏时间的增加, T_p 和 ΔH 的值均显著降低($P<0.05$), ΔH 的变化与蛋白质分子内部相互作用(如氢键和离子键)的破坏有关,当蛋白质发生去折叠时,原本包埋的疏水基团暴露并与水分子结合,导致体系

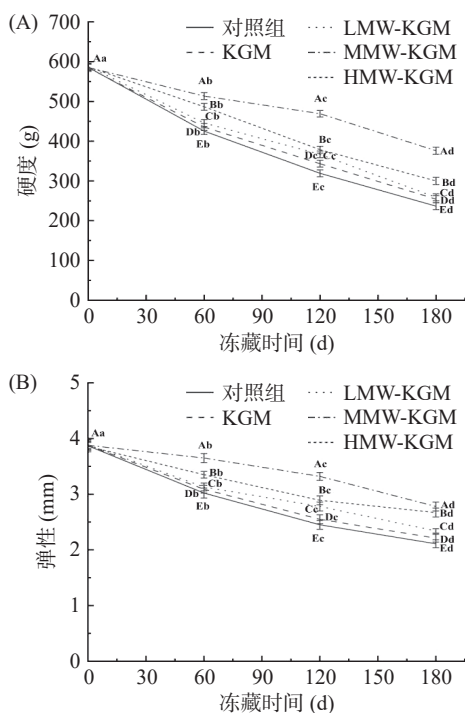


图 6 不同分子量 KGM 对冻藏期间 MP 凝胶硬度(A)和弹性(B)的影响

Fig.6 Effect of different molecular weight KGM on hardness (A) and elasticity (B) of MP gel during freezing storage

表 1 不同分子量 KGM 对冻藏期间 MP 热力学性质的影响

Table 1 Effect of different molecular weight KGM on thermodynamic properties of MP during freezing storage

冻藏时间(d)	热力学参数	组别				
		对照组	KGM	LMW-KGM	MMW-KGM	HMW-KGM
0	T_p (°C)	56.65±1.42 ^{Aa}	56.77±1.05 ^{Aa}	56.01±1.30 ^{Aa}	56.11±1.16 ^{Aa}	56.75±1.25 ^{Aa}
	ΔH (J/g)	0.32±0.03 ^{Aa}	0.31±0.01 ^{Aa}	0.33±0.02 ^{Aa}	0.34±0.01 ^{Aa}	0.32±0.05 ^{Aa}
60	T_p (°C)	48.42±1.03 ^{Eb}	50.44±0.98 ^{Db}	51.22±1.00 ^{Cb}	54.15±1.22 ^{Ab}	52.07±0.79 ^{Bb}
	ΔH (J/g)	0.25±0.01 ^{Eb}	0.26±0.01 ^{Db}	0.28±0.02 ^{Cb}	0.32±0.01 ^{Ab}	0.30±0.06 ^{Bb}
120	T_p (°C)	38.43±0.76 ^{Ec}	42.15±0.76 ^{Dc}	46.99±1.10 ^{Cc}	50.43±1.19 ^{Ac}	48.43±0.97 ^{Bc}
	ΔH (J/g)	0.19±0.04 ^{Ec}	0.21±0.02 ^{Dc}	0.24±0.02 ^{Cc}	0.28±0.02 ^{Ac}	0.25±0.02 ^{Bc}
180	T_p (°C)	29.62±1.25 ^{Ed}	33.75±1.06 ^{Dd}	38.35±1.84 ^{Cd}	46.41±1.56 ^{Ad}	43.23±1.58 ^{Bd}
	ΔH (J/g)	0.10±0.00 ^{Ed}	0.14±2.68 ^{Dd}	0.17±0.01 ^{Cd}	0.23±0.01 ^{Ad}	0.20±0.02 ^{Bd}

注:不同小写字母表示不同冻藏时间的显著性差异($P<0.05$);不同大写字母表示不同分子量KGM的显著性差异($P<0.05$)。

ΔH 降低。与此同时,蛋白质热稳定性的持续下降表明,冻藏环境对 MP 的三级结构造成了显著破坏,这与表面疏水性结果是一致的,这一现象可归因于冷冻过程中的相分离效应:随着温度降低,细胞内的自由水逐渐结晶形成冰晶,而溶质组分(包括离子、蛋白质和糖类等)则被排挤至未冻结的液相中,导致局部溶质浓度显著升高。这种浓缩效应会从两方面影响蛋白质稳定性:其一,高离子强度环境直接破坏蛋白质分子的静电平衡;其二,溶质浓缩促使蛋白质分子通过新形成的共价键发生聚集。这些分子间相互作用不仅引起蛋白质构象改变,还会导致颗粒尺寸增大,最终引发蛋白质变性^[45]。Yan 等^[46]也发现冻藏处理会加速南极磷虾肌原纤维蛋白的变性,与本文结果一致。由表 1 可知,在相同的冻藏天数下,随着不同分子量 KGM 的添加,蛋白 T_p 和 ΔH 均显著高于对照组($P<0.05$),其中 MMW KGM 组的 T_p 和 ΔH 值最大,说明 MMW KGM 的添加能提高蛋白质结构的稳定性,从而改变肌原纤维蛋白变性所需要的温度和能量,此外,有研究表明热变性温度的改变是由蛋白质侧链基团修饰、交联及其与其他化合物的相互作用引起的^[47]。

3 结论

随着冻藏时间的延长, 1.5974×10^6 、 1.2769×10^6 Da 和 0.6912×10^6 Da 的酶解 KGM 均能够显著抑制冻藏过程中南极磷虾 MP 结构的改变,其中与对照组相比,羰基含量、表面疏水性、粒径、肌原纤维断裂指数减少,同时,能有效维持 MP 的凝胶特性,包括持水力、硬度和弹性,其中 1.2769×10^6 Da 酶解 KGM 延缓肌原纤维蛋白变性的效果更为明显。通过对比 3 种酶解 KGM 对 MP 结构的影响,化学键水平变化结果表明,经 1.2769×10^6 Da 处理的南极磷虾肌原纤维蛋白经过 180 d 的冻藏后,其空间结构和凝胶特性与对照组相比较为稳定;DSC 结果表明, 1.2769×10^6 Da 的 KGM 可显著提高 T_p 和 ΔH 值。由此可见,MMW KGM 可以作为防冻剂从而替代水产品中常规的磷酸盐保水剂。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] CAVAN E L, BELCHER A, ATKINSON A, et al. The importance of Antarctic krill in biogeochemical cycles[J]. Nature Communications, 2019, 10(1): 4742.
- [2] DUO Lan, YANG Jianzhong, WANG Xue, et al. Krill oil: Nutraceutical potential in skin health and disease[J]. Frontiers in Nutrition, 2024, 11: 1388155.
- [3] 刘柯欣, 林松毅, 胡胜杰, 等. 南极磷虾蛋白营养与功能特性及食用安全性研究进展[J]. 食品科学, 2022, 43(7): 263–272. [LIU Kexin, LIN Songyi, HU Shengjie, et al. Advances in our knowledge of the nutritional and functional properties and safety of Antarctic krill proteins[J]. Food Science, 2022, 43(7): 263–272.]
- [4] LI Yufeng, ZENG Qiaohui, GUANG Liu, et al. Effects of ultrasound-assisted basic electrolyzed water (BEW) extraction on structural and functional properties of Antarctic krill (*Euphausia superba*) proteins[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 71: 105364.
- [5] NI Ling, JIANG Chaojun, GUO Quanyou, et al. Metabolomics analysis of physicochemical properties associated with freshness degradation in frozen Antarctic krill (*Euphausia superba*) [J]. Food Research International, 2024, 183: 114190.
- [6] DIAO Huayu, LIN Songyi, LI Dongmei, et al. Control on moisture distribution and protein changes of Antarctic krill meat by antifreeze protein during multiple freeze-thaw cycles[J]. Journal of Food Science, 2022, 87(10): 4440–4452.
- [7] YE S X, ZONGO A W, SHAH B R, et al. Konjac glucomannan (KGM), deacetylated KGM (Da-KGM), and degraded KGM derivatives: A special focus on colloidal nutrition[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(44): 12921–12932.
- [8] BAO Jiaqi, CHEN Li, LIU Tiantian. Dandelion polysaccharide suppresses lipid oxidation in Antarctic krill (*Euphausia superba*) [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 133: 1164–1167.
- [9] YE S X, ZHU J S, SHAH B R, et al. Preparation and characterization of konjac glucomannan (KGM) and deacetylated KGM (Da-KGM) obtained by sonication[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2022, 102(10): 4333–4344.
- [10] SUN Yilan, XU Xiaowei, WU Zhenzhen, et al. Structure, merits, gel formation, gel preparation and functions of konjac glucomannan and its application in aquatic food preservation[J]. Foods,

- 2023, 12(6): 1215.
- [11] 郭兵兵, 胡澳, 阙凤, 等. 添加不同分子量酶解魔芋葡甘聚糖的冻藏肌原纤维蛋白氧化和结构特性变化[J]. 现代食品科技, 2024, 40(6): 158-168. [GUO Bingbing, HU Ao, QUE Feng, et al. Effect of enzymatic digestion products of konjac glucomannan with different molecular weights on oxidation and structural properties of myofibrillar protein during frozen storage[J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(6): 158-168.]
- [12] JIAN Wenjie, WU Huayi, WU Lanlan, et al. Effect of molecular characteristics of Konjac glucomannan on gelling and rheological properties of Tilapia myofibrillar protein[J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 150: 21-31.
- [13] TRIPETCH P, LEKHAVAT S, DEVAHASTIN S, et al. Antioxidant activities of konjac glucomannan hydrolysates of different molecular weights at different values of pH[J]. Foods, 2023, 12(18): 3406.
- [14] LI Shuang, LIN Songyi, JIANG Pengfei, et al. Contribution of κ -*i*-carrageenan on the gelling properties of shrimp myofibrillar protein and their interaction mechanism exploration[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2023, 103(2): 524-533.
- [15] LI Deyang, TAN Zhifeng, LIU Ziqiang, et al. Effect of hydroxyl radical induced oxidation on the physicochemical and gelling properties of shrimp myofibrillar protein and its mechanism[J]. Food Chemistry, 2021, 351: 129344.
- [16] CHEN Jianan, ZHAO Huilin, ZHANG Yuying, et al. Comprehensive multi-spectroscopy and molecular docking understanding of interactions between fermentation-stinky compounds and mandarin fish myofibrillar proteins[J]. Foods, 2023, 12(10): 2054.
- [17] WANG Wenhui, JIA Xiaolei, GUO Chuanyu, et al. Protein carbonylation and structural changes in porcine myofibrillar protein exposed to metal ion-H₂O₂-ascorbate and linoleic acid-lipoxygenase oxidizing systems[J]. Food Research International, 2023, 173: 113420.
- [18] WANG Tianze, HAN Dong, ZHAO Laiyu, et al. Binding of selected aroma compounds to myofibrillar protein, sarcoplasmic protein, and collagen during thermal treatment: Role of conformational changes and degradation of proteins[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(46): 17860-17873.
- [19] 刘晓芳, 姜鹏飞, 杜晓平, 等. 离子强度对南极磷虾肉保水性及其肌原纤维蛋白特性的影响[J]. 食品工业科技, 2025, 46(6): 64-74. [LIU Xiaofang, JIANG Pengfei, DU Xiaoping, et al. Effects of ionic strength on water-holding capacity and properties of myofibrillar protein of Antarctic krill meat[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(6): 64-74.]
- [20] ZHENG Yao, SHI Yuzhuo, YANG Xu, et al. *Flammulina velutipes* polysaccharide improves the water-holding capacity in the dorsal muscle of freeze-thawed cultured large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) [J]. Food Chemistry, 2023, 403: 134401.
- [21] WU Chuli, LI Xiaoyin, HUANG Xieying, et al. The formation mechanism and textural properties of a complex gel based on soybean glycinin-chitosan complex coacervates: Effects of pH, heat treatment temperature and centrifugation[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 262: 130170.
- [22] CHEN Bo, GUO Jie, XIE Yong, et al. Modulating the aggregation of myofibrillar protein to alleviate the textural deterioration of protein gels at high temperature: The effect of hydrophobic interactions[J]. Food Chemistry, 2021, 341: 128274.
- [23] LI Xuxu, FAN Mingcong, HUANG Qilin, et al. Effect of micro- and nano-starch on the gel properties, microstructure and water mobility of myofibrillar protein from grass carp[J]. Food Chemistry, 2022, 366: 130579.
- [24] ZHANG Zhongli, XIONG Zhouyi, WALAYAT N, et al. Influence of the mixture of carrageenan oligosaccharides and egg white protein on the gelation properties of *Culter alburnus* myofibrillar protein under repeated freezing-thawing cycles[J]. Antioxidants, 2021, 11(1): 32.
- [25] 劳梦甜, 曾璐瑶, 吴孟钊, 等. 冻结方式对黑斑蛙后腿肌肉持水性及肌原纤维蛋白结构特性的影响[J]. 食品科学, 2024, 45(13): 264-274. [LAO Mengtian, ZENG Luyao, WU Mengzhao, et al. Effects of freezing methods on water-holding capacity and structural properties of myofibrillar proteins from hind leg muscle of *Rana nigromaculata* [J]. Food Science, 2024, 45(13): 264-274.]
- [26] 陈姑, 姜竹茂, 位正鹏, 等. 低温等离子体处理加速罗非鱼肌原纤维蛋白的氧化及结构改变[J]. 食品工业科技, 2023, 44(4): 88-95. [CHEN Gu, JIANG Zhumao, WEI Zhengpeng, et al. Cold plasma treatment accelerated the oxidation and structural changes of myofibrillar in tilapia[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(4): 88-95.]
- [27] WANG Shuo, LIN Songyi, LI Shuang, et al. Effects of different thermal sterilization conditions on the quality of ready-to-eat shrimp based on specific sterilization intensity[J]. Food Chemistry, 2024, 450: 139359.
- [28] KIM Y J, KIM J, KIM T K, et al. Effects of konjac glucomannan as a freeze-denaturation inhibitor or binder on the physicochemical properties of heat-induced gel of freeze-dried duck blood [J]. Journal of Food Science, 2024, 89(1): 450-459.
- [29] ZHANG Chao, LI Yuexin, XIA Xiufang, et al. Changes in protein oxidation, structure, and thermal stability of chicken breast subjected to ultrasound-assisted immersion freezing during frozen storage[J]. Food Chemistry, 2023, 398: 133874.
- [30] HOU Q Z, BOURGEAS R, PUCCI F, et al. Computational analysis of the amino acid interactions that promote or decrease protein solubility[J]. Scientific Reports, 2018, 8: 14661.
- [31] 张建友, 孙蕾, 周广成, 等. 大黄鱼冷藏过程肌肉蛋白质生化特性与新鲜度的相关性[J]. 水产学报, 2022, 46(11): 2196-2207. [ZHANG Jianyou, SUN Lei, ZHOU Guangcheng, et al. Correlation between changes in freshness and biochemical characteristics of *Larimichthys crocea* muscle protein during cold storage[J]. Journal of Fisheries of China, 2022, 46(11): 2196-2207.]
- [32] GAO Yongfang, LUO Can, ZHANG Junyao, et al. Konjac glucomannan improves the gel properties of low salt myofibrillar protein through modifying protein conformation[J]. Food Chemistry, 2022, 393: 133400.
- [33] AROEIRA C N, TORRES F R A, FONTES P R, et al. Comparison of different methods for determining the extent of myofibrillar fragmentation of chilled and frozen/thawed beef across post-mortem aging periods[J]. Meat Science, 2020, 160: 107955.
- [34] XIAO Xuchen, LIN Duanquan, CAO Kaiyuan, et al. Properties of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) collagen and its degradation by endogenous proteinases during cold storage[J]. Food Chemistry, 2023, 419: 136071.
- [35] WANG Wenxuan, BU Ying, LI Wenzheng, et al. Effects of nano freezing-thawing on myofibrillar protein of Atlantic salmon filets: Protein structure and label-free proteomics[J]. Food Chemistry, 2024, 442: 138369.
- [36] ZHANG Y M, MAGRO A, PUOLANNE E, et al. Myofibrillar protein characteristics of fast or slow frozen pork during subsequent storage at -3 °C [J]. Meat Science, 2021, 176: 108468.

- [37] LIU Yueyue, ZHANG Longteng, GAO Song, et al. Effect of protein oxidation in meat and exudates on the water holding capacity in bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*) subjected to frozen storage[J]. Food Chemistry, 2022, 370: 131079.
- [38] LI Yufeng, TAN Lijun, LIU Fanyu, et al. Effects of soluble Antarctic krill protein-curcumin complex combined with photodynamic inactivation on the storage quality of shrimp[J]. Food Chemistry, 2023, 403: 134388.
- [39] ZHANG Xuehua, GUO Quanyou, SHI Wenzheng. Ultra-sound-assisted processing: Changes in gel properties, water-holding capacity, and protein aggregation of low-salt *Hypophthalmichthys molitrix* surimi by soy protein isolate[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2023, 92: 106258.
- [40] XU Wanjun, YU Qingqing, ZHANG Yaqi, et al. Insight into the mechanism of the decrease in mechanical strength and water-holding capacity of gels made from oxidized gelatin[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 258: 128842.
- [41] ZENG Zhilong, GUAN Xiaoyao, QIN Xiaoli, et al. Effects of konjac glucomannan with different degrees of deacetylation on the properties and structure of wheat gluten protein[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 276: 133780.
- [42] QIN Junwei, DENG Xiaorong, LEI Yongdong, et al. Effects of μ -calpain oxidation on *Coregonus peled* myofibrillar protein degradation *in vitro*[J]. Journal of Food Science, 2020, 85(3): 682–688.
- [43] WANG Qi, FAN Depeng, HU Yadong, et al. Effects of supplementation with freeze-dried *Clostridium butyricum* powder after replacement of fishmeal with cottonseed protein concentrate on growth performance, immune response, and intestinal microbiota of *Litopenaeus vannamei*[J]. BMC Veterinary Research, 2024, 20(1): 519.
- [44] WU Wenjin, QUE Feng, LI Xuehong, et al. Effects of enzymatic konjac glucomannan hydrolysates on textural properties, microstructure, and water distribution of grass carp surimi gels[J]. Foods, 2022, 11(5): 750.
- [45] 姚一帆, 李强, 田明礼, 等. 冷藏过程中草鱼肌肉蛋白质特性的变化[J]. 食品工业科技, 2023, 44(7): 67–72. [YAO Yifan, LI Qiang, TIAN Mingli, et al. Changes in characteristics of muscle protein from grass carp during cold storage period[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(7): 67–72.]
- [46] YAN Sunjie, DU Zhiyin, LIU Cikun, et al. Uncovering quality changes of surimi-sol based products subjected to freeze-thaw process: The potential role of oxidative modification on salt-dissolved myofibrillar protein aggregation and gelling properties[J]. Food Chemistry, 2024, 451: 139456.
- [47] DING Yuxin, FENG Ruonan, ZHU Zhifei, et al. Effects of different protein cross-linking degrees on physicochemical and subsequent thermal gelling properties of silver carp myofibrillar proteins sol subjected to freeze-thaw cycles[J]. Food Chemistry, 2024, 22: 101448.