

高泽磊, 张 建. 不同冻结方式对高白鲑肌原纤维蛋白理化特性和功能特性的影响[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(11): 129–134.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.11.036

不同冻结方式对高白鲑肌原纤维蛋白理化特性和功能特性的影响

高泽磊, 张 建

(石河子大学食品学院, 新疆石河子 832003)

摘要: 为了研究不同冻结方式对高白鲑肌原纤维蛋白理化特性和功能特性的影响, 取高白鲑背部肌肉, 一部分置于普通冷柜 -18、-24 ℃ 冻藏 5 周, 另一部分利用液氮快速冷冻的方法置于 -18、-24 ℃ 温度下, 利用 FeCl₃/H₂O₂/Asc 氧化系统模拟对高白鲑肌原纤维蛋白的氧化, 每隔 1 周测定鱼肉理化指标及功能性指标的变化情况。结果表明: 高白鲑在 4 种温度条件下冻藏 1~5 周后, 羰基含量和表面疏水性含量上升, 总巯基含量和游离氨含量下降, 氮溶性指数降低, 乳化性及乳化稳定性下降, 起泡性降低, 蛋白质发生不同程度的氧化。贮藏的温度越低, 防止蛋白质氧化的效果越好。利用液氮快速冷冻的方法有助于高白鲑的贮藏保鲜, 提高鱼肉品质。可见, 不同的冻结方式对高白鲑肌原纤维蛋白理化特性和功能特性有显著影响, 液氮快速冷冻的方法可有效提高鱼肉品质。

关键词: 高白鲑; 冻结方式; 蛋白质氧化; 肌原纤维蛋白; 液氮速冻

中图分类号: TS254.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)11-0129-06

高白鲑是一种高好氧性冷水鱼类, 肉味鲜美, 无肌间刺, 生长迅速, 是新疆冷水鱼中的一大重要产业。目前低温冷冻贮藏是高白鲑主要的保存方式之一, 这种方式可以使原料中酶的活性、脂肪和蛋白质的氧化速率、微生物的生长代谢等都受到一定程度抑制。研究发现, 冻肉品质的变化与冻藏条件有密切关系。国内外关于冻藏对水产品品质的影响研究较多, 主要集中在不同冻藏条件下水产品的生化、功能特性以及加工特性的变化规律^[1-6]。通常情况下, 肉类品质随着冻藏

时间的延长而逐渐劣变。冻藏过程中, 组成肉的各种化学成分之间会发生一系列复杂的物理、生物、化学变化, 如蛋白质聚集变性、脂肪氧化、腐败变质等。通常在相同温度下畜肉冻藏的时间较长, 禽肉和水产品的冻藏时间则相对较短, 因为禽肉和水产品中易被氧化的不饱和脂肪酸含量相对较多^[7-11]。但由于高白鲑肉质鲜嫩, 极易受蛋白质氧化的影响, 因此普通的低温贮藏会造成鱼肉品质的下降。

液氮是将空气中的氮气液化, 得到无色、无味、透明、微溶于水的液体, 化学性质稳定, 而且无毒、无刺激性。美国最先将液氮应用于速冻食品, 目前已广泛应用于虾、银鱼、蟹及鲍鱼等水产品的速冻^[12-15]。研究表明, 液氮速冻处理的水产品可以保持较高的鲜度、味道和色度, 而且可以杀死部分细菌, 达到较高的卫生要求^[16-18]。因此, 本试验利用液氮快速冷冻的方法, 通过测定肌原纤维蛋白理化特性和功能特性来考察高白鲑肌肉蛋白氧化的情况, 以期高白鲑的贮藏保鲜提供依据。

收稿日期: 2016-11-24

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 31460438); 石河子大学重大科技攻关计划(编号: gxjs2015-zdgg06)。

作者简介: 高泽磊(1992—), 男, 硕士研究生, 研究方向为食品加工与安全。E-mail: 1549838248@qq.com。

通信作者: 张 建, 博士, 副教授, 研究方向为食品生物化学。E-mail: zhangjian0411@163.com。

等, 具体作用机制还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 王思芦, 杨 柳, 曾中良, 等. 中药消除致病性大肠杆菌耐药性研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2008, 35(10): 79–81.
- [2] 孟 甄, 金建玲, 刘玉庆, 等. 细菌耐药性的诱导与消除[J]. 中国药理学通报, 2003, 19(9): 1047–1051.
- [3] 刘玉庆, 李 晔, 车程川, 等. 大肠杆菌对中草药敏感性试验及其方法研究[J]. 中兽医医药杂志, 2003, 22(1): 3–5.
- [4] 何湘蓉, 王一如, 李伟奇, 等. 黄芩提取物对耐药性金黄色葡萄球菌的体外抑菌和耐药抑制作用研究[J]. 中兽医医药杂志, 2012, 31(3): 12–14.
- [5] 杨建江, 韩文瑜, 杜 锐, 等. 30 种中草药对耐药性猪链球菌的抑菌试验[J]. 中兽医医药杂志, 2004, 23(2): 14–16.

- [6] 徐民俊, 田小群, 周世宁. 一种改进的平板影印工具及其应用[J]. 微生物学报, 2008, 48(5): 657–660.
- [7] 王晓波. 中药黄连对耐药金葡萄抑制作用的研究[J]. 现代畜牧兽医, 2007(10): 9–10.
- [8] 肖 潇, 李英伦, 杨 锐. 复方蒲公英对金黄色葡萄球菌耐药质粒的体外消除试验[J]. 中国兽医科学, 2010, 40(3): 307–311.
- [9] 黄 玲, 林居纯, 马 驰, 等. 12 种中药的体外抑菌试验[J]. 动物医学进展, 2010, 31(6): 50–52.
- [10] 陈希文, 王雄清, 郭晓萍, 等. 猪致病性大肠杆菌的分离鉴定及对 24 种中药的敏感性[J]. 江苏农业科学, 2008(4): 176–180.
- [11] 刘荣欣, 鲁改儒, 郭吉勇. 中药及其组方对大肠杆菌的体外抑菌试验[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(4): 2265–2267.
- [12] 杜银忠. 3 种中药对产酶菌 R 质粒消除作用的研究[J]. 青海大学学报, 2009, 27(1): 82–85.

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

高白鲑鱼(质量 1 000 ~ 1 500 g, 体长 30 ~ 35 cm)由新疆赛湖渔业科技开发有限公司提供。氯化钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、2,4 - 二硝基苯肼、乙酸乙酯、乙醇、盐酸胍、三氯乙酸、 β - 巯基乙醇、甘氨酸等均为分析纯。

主要仪器:85 - 1 磁力搅拌器(江苏金坛市医疗仪器厂)、BL - 206 - II 高速冷冻离心机(金坛市恒丰仪器厂)、BS210S 精密电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)、DK - 8B 电热恒温水槽(上海精宏实验设备有限公司)、PHS - 3CpH 计(上海精密科学仪器有限公司)、Mini - protein III 紫外可见分光光度计(美国 Bio - Rad 公司)、T80 冷冻食品中心温度计(深圳市拓尔为电子科技有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 原料处理 将高白鲑鱼解剖,用刀将鱼脊背肌肉分割成大小均匀的肉块(15 g),随机取一部分分成 4 份,按照以下条件进行冷冻处理:(1) - 18 ℃ 普通冷柜冷冻(以下温度均按照中心温度计算);(2) - 24 ℃ 普通冷柜冷冻;(3) - 18 ℃ 液氮快速冷冻;(4) - 24 ℃ 液氮快速冷冻。分别包装、封口,经 1、2、3、4、5 周冻藏后,在每个处理组中随机取 3 份,定期测定理化指标和功能性指标。

1.2.2 肌原纤维蛋白的提取 鱼背部肌肉中的肌原纤维蛋白的提取参考 Chin 等的方法^[19]并适当修改,提取液分别为磷酸盐缓冲液 A(50 mmol/L Na_2HPO_4 、50 mmol/L NaH_2PO_4 , pH = 7.5), 8 000 r/min, 15 min, 4 ℃ 条件下提取 2 次,弃去上清液,保留沉淀,再用磷酸盐缓冲液 B(50 mmol/L Na_2HPO_4 、50 mmol/L NaH_2PO_4 , 0.6 mol/L NaCl, pH = 7.5), 5 000 r/min, 15 min, 4 ℃ 条件下提取 2 次,合并为上清液,即为肌原纤维蛋白。

1.2.3 $\text{FeCl}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{Asc}$ 氧化系统 参照田童童等报道的方法^[20]采用羟基自由基氧化体系(hydroxyl radical - generating system, 简称为 HRGS), 即由 0.1 mmol/L FeCl_3 、0.1 mmol/L 维生素 C 和 20 mmol/L H_2O_2 组成。将提取的肌原纤维蛋白溶解在含有以上氧化体系的 50 mmol/L 磷酸盐缓冲液中(pH = 6.0), 使蛋白的最终浓度为 20 mg/mL。然后将样品放置在 4 ℃ 下 5 h, 使高白鲑鱼肌原纤维蛋白发生不同程度的氧化。通过添加丁基羟基茴香醚/水溶性维生素 E/乙二胺四乙酸(butyl hydroxy anisole/trolox/ethylene diamine tetraacetic acid, 简称 BHA/Trolox/EDTA)使其最终浓度为 1 mmol/L, 中止氧化反应, 氧化产物经过磷酸盐缓冲液洗涤和离心处理去掉上清液, 得到的沉淀用于测定理化指标和功能性指标。

1.3 巯基含量的测定方法

参照 Oliver 等的方法^[21]并加以改动, 取 5 mL 的蛋白样品溶液放进离心管中, 每管中加入 5 mL 10 mmol/L 的 2,4 - 二硝基苯肼(2,4 - dinitrophenylhydrazine, 简称 DNPH), 室温下反应 1 h(每 10 min 涡旋振荡 1 次)后, 添加 5 mL 20% 三氯乙酸(trichloro acetic acid, 简称 TCA), 8 000 r/min 离心 5 min, 弃清液, 用 5 mL 体积比为 1 : 1 的无水乙醇和乙酸乙酯混合溶液清洗沉淀 3 次, 除去多余的试剂, 再向沉淀中加入 3 mL 6 mol/L 盐酸胍溶液后置于水浴锅中(37 ℃, 15 min), 将

沉淀溶解, 8 000 r/min 离心 5 min 除去不溶物质, 取离心后的上清液用紫外分光光度计在 370 nm 处测吸光度。使用摩尔消光系数 22 000 L/(mol · cm) 计算巯基含量。

1.4 总巯基含量的测定方法

参照 di Simplicio 等的方法^[22]并加以改动, 方法如下: 取 1 mL 的蛋白样品溶液, 加入 8 mL 的三羟甲基氨基甲烷(Tris) - 甘氨酸(pH = 8, 每升该溶液中含有 10.4 g Tris、6.9 g 甘氨酸、1.2 g EDTA、8 mol/L 尿素), 然后经均质, 8 000 r/min 离心 15 min, 除去不溶蛋白, 在溶液中加入 0.5 mL 10 mmol/L Ellman 试剂, 反应 0.5 h 后, 用紫外可见分光光度计在 412 nm 处测定吸光度, 使用摩尔消光系数 13 600 L/(mol · cm) 计算总巯基含量, 采用 Biuret 法测定蛋白质的含量。参照组除了不加蛋白溶液处, 其他处理方法均如上所述。

1.5 游离氨含量的测定方法

参照 Brands 等的方法^[23]并加以改动, 准确称取 40 mg 的邻苯二甲醛(o - phthalaldehyde, 简称 OPA), 溶解于 1 mL 的甲醇中, 分别加入 2.5 mL 20% 的十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, 简称 SDS)、25 mL 0.1 mol/L 的硼砂、100 μL β - 巯基乙醇后用蒸馏水定容到 50 mL。将 200 μL 蛋白样品液分别注入到含有 4 mL 空白液和 4 mL OPA 试剂的试管中, 两者混合均匀后在 35 ℃ 条件下反应 2 min, 在 340 nm 下测吸光度 $D_{340\text{ nm}}$, 二者之差 $\Delta D_{340\text{ nm}}$ 为游离氨基的净吸光度。氧化蛋白的吸光度与未氧化蛋白的吸光度相比所占百分比为游离氨的相对含量, 计算公式如下, 用游离氨基的相对含量进行作图。

$$\text{游离氨相对含量} = \frac{\Delta D_{340\text{ nm}}}{D_{\text{未氧化}}} \times 100\%。$$

1.6 表面疏水性的测定方法

参照 Chelh 等的方法^[24]并加以改动, 取 1 mL 的蛋白样品溶液, 加入 200 μL 1 mg/mL 的溴酚蓝(bromophenol blue, 简称 BPB), 混匀, 室温下搅拌 10 min, 然后 8 000 r/min 离心 15 min, 取上清液在 595 nm 下测定吸光度, 记作 $D_{595\text{ nm}}$ 。溴酚蓝空白样是用 1 mL 20 mmol/L 的磷酸盐缓冲液(pH = 6.0)加 200 μL 溴酚蓝, 磷酸盐缓冲液作空白样, 在 595 nm 下测定吸光度, 记作 D_0 。计算公式如下:

$$\text{溴酚蓝}(\mu\text{g}) = \frac{200\text{ }\mu\text{g} \times (D_0 - D_{595\text{ nm}})}{D_0}。$$

1.7 氮溶性指数的测定方法

称取 10 mL 蛋白样品分散于 10 mL 的蒸馏水中, 使用磁力搅拌器搅拌 30 min, 接着用 1 mol/L NaOH 或 HCl 溶液调节溶液的 pH 值至 7.0, 搅拌 30 min 后, 4 ℃ 离心(8 000 r/min, 20 min)。采用双缩脲法测定蛋白质的含量, 以牛血清蛋白为标准蛋白, 制作标准曲线。蛋白质的氮溶性指数用上清液蛋白浓度(mg/mL)占总蛋白浓度(mg/mL)的百分比表示。氮溶性指数(nitrogen solubility index, 简称 NSI)的计算公式:

$$\text{NSI} = \frac{\text{上清液中的蛋白含量}(\text{mg/mL})}{\text{样品中总蛋白含量}(\text{mg/mL})} \times 100\%。$$

1.8 乳化性及乳化稳定性的测定方法

取大豆油和蛋白溶液按体积比 1 : 4 放入 50 mL 的塑料离心管中, 使其混合均匀, 然后从距离离心管底部 0.5 cm 的位

置取 50 μL (剩余的混合液备用) 混合均匀的溶液, 放入到含有 5 mL 0.1% 十二烷基硫酸钠溶液中, 使用漩涡振荡器使其混匀后用紫外可见分光光度计在 500 nm 处测定吸光度, 记作 D_1 ; 匀浆后 10 min 再次在相同位置取匀浆液 50 μL , 加入到 5 mL 0.1% 十二烷基硫酸钠溶液中, 振荡混匀后测定吸光度, 记作 D_2 , 用 0.1% 十二烷基硫酸钠溶液作空白对照。肌肉蛋白匀浆液的乳化性 (emulsifying activity index, 简称 EAI) 和乳化稳定性 (emulsifying stability index, 简称 ESI), 分别由下面公式来表示:

$$EAI(\text{m}^2/\text{g}) = \frac{2 \times 2.303}{C \times (1 - \Phi) \times 10^4} \times D_1 \times L; ESI = \frac{D_2}{D_1} \times 100\%。$$

式中: L 表示比色杯光径, 1 cm; Φ 表示油相体积分数 ($\Phi = 0.2$); C 表示蛋白质浓度; D_1 表示乳状液在 0 min 的吸光度; D_2 表示乳状液在 10 min 的吸光度。

1.9 起泡性的测定方法

在室温 25 $^{\circ}\text{C}$ 下, 取 20 mL 的肌肉蛋白溶液, 磁力搅拌 30 min, 取 10 mL (V_0) 溶液于 50 mL 塑料量筒中, 高速匀浆机搅打 1 min, 立刻读取泡沫的总体积 (V_1)。肌肉蛋白的起泡性 F_c 由下面公式来表示:

$$F_c = \frac{V_1 - V_0}{V_0} \times 100\%。$$

1.10 数据处理

数据分析及作图分别采用 SPSS 17.0、Origin 8.0 软件, 所有试验至少重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 不同冻结方式对高白鲢肌原纤维蛋白羰基含量的影响

蛋白质发生氧化以后, 醛基和酮基反应生成羰基。羰基的含量是反映蛋白质被氧化程度的重要指标。由图 1 可知, 贮藏 4 周时, -18°C 、 -24°C 普通冷柜, -18°C 、 -24°C 液氮速冷 4 组处理的样品羰基含量分别为 7.405、7.392、6.392、5.824 nmol/mg; 冻藏 5 周时羰基含量分别达到 8.271、8.181、7.838、6.324 nmol/mg。说明 4 种冷冻方式下, 液氮冷冻比普通冷柜防止蛋白质氧化的效果要好, 液氮速冷可以更有效地防止蛋白质氧化, 但是试验过程中发现, 使用液氮快速冷冻时, 必须及时控制速冷时间, 否则会造成样品严重的冻伤; 同时贮藏温度对防止蛋白质氧化造成高白鲢肌肉劣变有明显影响, 经 -24°C 普通冷柜贮藏后肌原纤维蛋白质中的羰基含量要比 -18°C 普通冷柜贮藏的低; -24°C 液氮速冷也比 -18°C 液氮速冷的蛋白质羰基含量低。

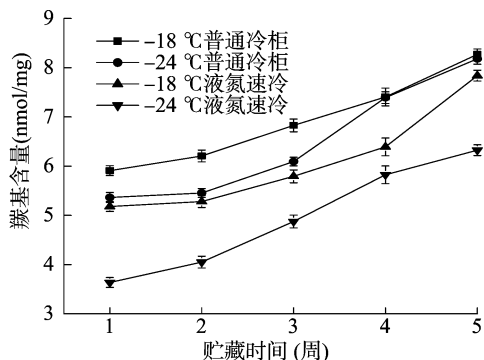


图1 不同冻结方式对高白鲢肌原纤维蛋白羰基含量的影响

2.2 不同冻结方式对高白鲢肌原纤维蛋白总巯基含量的影响

由图 2 可知, 经不同冷冻方式下高白鲢肌原纤维蛋白中的总巯基含量随着贮藏时间的延长而降低。 -18°C 普通冷柜冻藏 1 周高白鲢肌原纤维蛋白总巯基的含量是 64.26 $\mu\text{mol}/\text{mg}$, 经过 2、3、4、5 周冻藏后, 总巯基的含量下降到 50.18、30.72、26.52、14.37 $\mu\text{mol}/\text{mg}$, 分别下降 21.91%、52.19%、58.73%、77.64%; -24°C 普通冷柜经过 2、3、4、5 周冻藏后, 高白鲢肌原纤维蛋白总巯基含量由 69.41 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ 分别下降 20.21%、45.37%、59.88%、76.42%; -18°C 液氮冷冻经过 2、3、4、5 周冻藏后, 高白鲢肌原纤维蛋白总巯基含量由 74.78 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ 分别下降 30.82%、48.01%、63.47%、79.38%; -24°C 液氮冷冻经过 2、3、4、5 周冻藏后, 高白鲢肌原纤维蛋白总巯基含量由 78.29 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ 分别下降 26.73%、41.60%、62.66%、76.09%。总巯基含量的降低代表蛋白质发生了变性, 或者由于分子间的二硫键发生聚集, 或者受到了氧化。Lund 等指出, 巯基含量的降低一定程度上代表了蛋白氧化的程度^[25]。

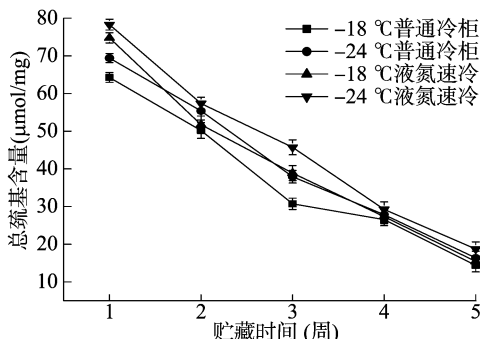


图2 不同冻结方式对高白鲢肌原纤维蛋白总巯基含量的影响

2.3 不同冻结方式对高白鲢肌原纤维蛋白游离氨含量的影响

由图 3 可知, 经不同冷冻方式下高白鲢肌原纤维蛋白中的游离氨含量随着贮藏时间的延长而降低。与冷藏后 1 周相比, -18°C 普通冷柜冻藏 2、3、4、5 周后, 高白鲢肌原纤维蛋白中游离氨的相对含量分别下降 14.43、21.65、29.90、35.05 百分点; -24°C 普通冷柜经过 2、3、4、5 周冻藏后, 高白鲢肌原纤维蛋白中游离氨的相对含量分别下降 11.22、19.39、23.47、29.59 百分点; -18°C 液氮冷冻经过 2、3、4、5 周冻藏后, 高白鲢肌原纤维蛋白中游离氨的相对含量分别下降 10.66、15.74、19.80、26.90 百分点; -24°C 液氮冷冻经过 2、3、4、5 周冻藏后, 高白鲢肌原纤维蛋白中游离氨含量分别下降 6.06、13.13、18.18、20.20 百分点。游离氨相对含量的降低可能是由于侧链的 $-\text{NH}$ 或 $-\text{NH}_2$ 氨基酸参与了羰基的形成。

2.4 不同冻结方式对高白鲢肌原纤维蛋白表面疏水性的影响

蛋白质表面疏水性反映了蛋白质分子表面疏水性氨基酸的相对含量, 一般来说, 它通常用来衡量蛋白质的变性程度。由于它能反映出蛋白位点在化学或物理上的微妙变化, 所以疏水性被作为评价蛋白变性的一个重要参数^[26]。从图 4 中可看出, 不同的冷冻方式对高白鲢肌原纤维蛋白的表面疏水性含量有明显的影

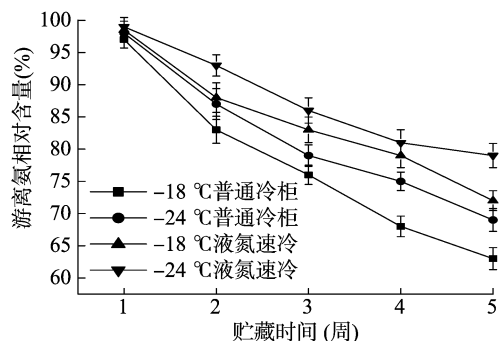


图3 不同冻结方式对高白鲢肌原纤维蛋白游离氨含量的影响

周后,高白鲢肌原纤维蛋白表面疏水性由 28.58 μg 分别增加到 37.83、63.25、70.21、78.92 μg ; -24 °C 普通冷柜经过 2、3、4、5 周冻藏后,高白鲢肌原纤维蛋白表面疏水性由 24.21 μg 分别增加到 35.72、60.32、68.72、73.32 μg ; -18 °C 液氮冷冻经过 2、3、4、5 周冻藏后,高白鲢肌原纤维蛋白表面疏水性由 26.63 μg 分别增加到 31.93、50.25、62.13、70.35 μg ; -24 °C 液氮冷冻经过 2、3、4、5 周冻藏后,高白鲢肌原纤维蛋白表面疏水性由 27.28 μg 分别增加到 30.82、48.73、56.25、67.45 μg 。

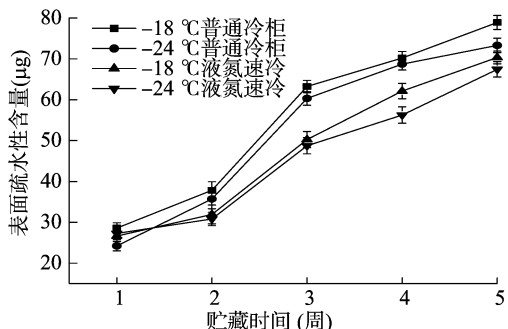


图4 不同冻结方式对高白鲢肌原纤维蛋白表面疏水性的影响

2.5 不同冻结方式对高白鲢肌原纤维蛋白氮溶性指数的影响

一般蛋白质溶解程度的强弱用氮溶性指数的大小来反映。从图 5 中可以看出,随着贮藏时间的延长,高白鲢鱼肌原纤维蛋白氮溶性指数在不断下降。当贮藏时间为 4 周时, -18 °C、-24 °C 普通冷柜和 -18 °C、-24 °C 液氮冷冻 4 组样品中肌原纤维蛋白的氮溶性指数较贮藏后 1 周分别下降 27.78%、24.00%、21.05%、21.52%; -18 °C 液氮冷冻相比

-18 °C 普通冷柜冷冻条件下在冻藏 1、2、3、4、5 周后,氮溶性指数分别上升 5.56%、2.82%、8.33%、15.38%、13.04%;在 -24 °C 液氮冷冻条件下,高白鲢经过 1、2、3、4、5 周贮藏后氮溶性指数与 -24 °C 普通冷柜冷冻贮藏相比分别上升 5.33%、4.17%、7.94%、8.77%、14.00%。说明利用液氮快速冷冻的方式可以延缓高白鲢鱼肌原纤维蛋白氮溶性指数的下降。

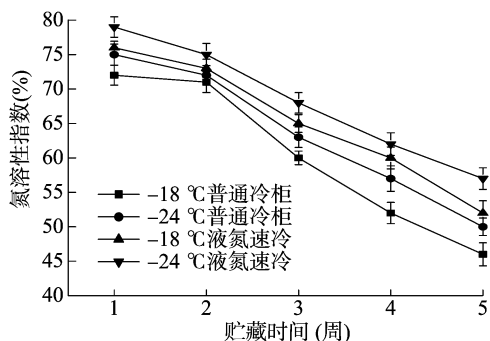


图5 不同冻结方式对高白鲢肌原纤维蛋白氮溶性指数的影响

2.6 不同冻结方式对高白鲢肌原纤维蛋白乳化性及乳化稳定的影响

蛋白质氧化破坏蛋白质结构的稳定性,使蛋白质失去交联能力,造成蛋白质乳化活性和乳化稳定性的下降。从图 6 中可以看出,随着贮藏时间的延长,高白鲢鱼肌原纤维蛋白乳化性和乳化稳定性在不断下降。与贮藏后 1 周相比,当贮藏时间为 4 周时, -18 °C、-24 °C 普通冷柜和 -18 °C、-24 °C 液氮冷冻 4 组样品中肌原纤维蛋白的乳化性分别下降 12.82%、11.39%、12.50%、8.54%,而乳化稳定性分别下降 33.90%、31.15%、22.22%、21.54%; -18 °C 液氮冷冻与 -18 °C 普通冷柜冷冻条件下相比在冻藏 1、2、3、4、5 周后,乳化性分别上升 2.56%、2.60%、2.74%、2.94%、6.25%,而乳化稳定性分别上升 6.78%、3.57%、23.81%、25.64%、25.71%;在 -24 °C 液氮冷冻条件下,高白鲢经过 1、2、3、4、5 周贮藏后乳化性与 -24 °C 普通冷柜冷冻贮藏相比分别上升 3.80%、3.85%、5.41%、7.14%、7.69%,乳化稳定性分别上升 6.56%、1.69%、12.5%、21.43%、12.20%。Lizarraga 等认为,蛋白质和低分子量的表面活性剂是反映乳化特性和乳浊液稳定性的主要依据^[27]。蛋白质受到不同程度的氧化,乳化特征也会发生相应程度的变化。

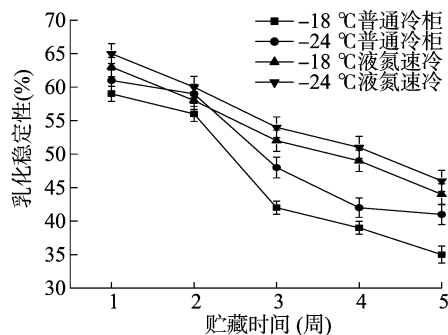
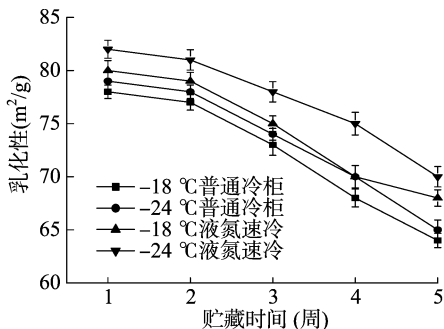


图6 不同冻结方式对高白鲢肌原纤维蛋白乳化性及乳化稳定性的影响

2.7 不同冻结方式对高白鲢肌原纤维蛋白起泡性的影响

由图 7 可知,随着贮藏时间的延长,高白鲢鱼肌原纤维蛋

白起泡性在不断下降。当贮藏时间为 4 周时, -18 °C、-24 °C 普通冷柜和 -18 °C、-24 °C 液氮冷冻 4 组样品中肌

原纤维蛋白的起泡性分别下降 40.00%、35.29%、33.33%、35.00%；-18℃液氮冷冻与-18℃普通冷柜冷冻条件下相比,在冻藏 1、2、3、4、5 周后,起泡性分别上升 20.00%、41.67%、40.00%、33.30%、25.00%；在-24℃液氮冷冻条件下,高白鲢经过 1、2、3、4、5 周贮藏后起泡性与-24℃普通冷柜冷冻贮藏相比分别上升 17.65%、12.50%、15.38%、18.18%、37.50%。起泡性的降低反映了蛋白质的溶解性和黏度下降,这与蛋白质的乳化性及乳化稳定性是相对应的,反映了蛋白质的变性程度。

2.8 不同冻结方式下各指标之间的相关性分析

高白鲢肌原纤维蛋白在不同冻结方式下物化特性和功能性质之间的相关性分析如表 1 至表 4 所示。由表 1 至表 4 可知,各指标之间有着显著的相关性($P<0.05$),大部分指标有极显著的相关性($P<0.01$)。当样品在-18℃普通冷柜冷冻条件下,羰基含量与表面疏水性含量呈极显著正相关(相关系数为 0.95),与其他指标呈极显著负相关;当样品在-24℃普通冷柜冷冻条件下,总巯基含量与羰基含量、疏水性含量呈极显著负相关(相关系数分别为-0.94、-0.99),

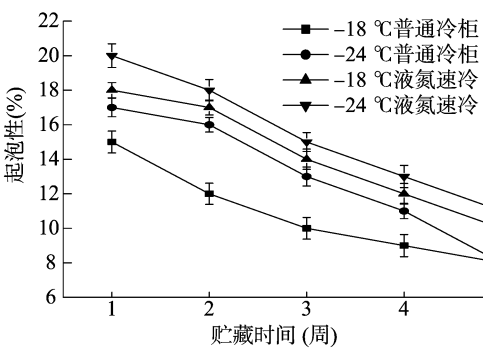


图7 不同冻结方式对高白鲢肌原纤维蛋白起泡性的影响

与其他指标呈显著正相关;当样品在-18℃液氮快速冷冻条件下,表面疏水性含量与羰基含量呈极显著正相关(相关系数为 0.92),与其他指标呈负相关;当样品在-24℃液氮快速冷冻条件下,所有指标之间均显示出了极显著的相关性($P<0.01$)。因此,不同的冷冻条件下各指标之间的变化是相互联系的。

表 1 -18℃普通冷柜冷冻条件下各指标之间的相关系数

指标	相关系数						
	羰基含量	总巯基含量	疏水性含量	游离氨含量	氮溶性指数	乳化性	乳化稳定性
总巯基含量	-0.96**						
疏水性含量	0.95**	-0.99**					
游离氨含量	-0.94**	0.98**	-0.97**				
氮溶性指数	-0.98**	0.96**	-0.97**	0.94**			
乳化性	-0.99**	0.94**	-0.95**	0.93**	0.99**		
乳化稳定性	-0.94**	0.98**	-1.00**	0.95**	0.97**	0.94**	
起泡性	-0.92**	0.99**	-0.97**	0.99**	0.92**	0.91*	0.96**

注：“*”、“**”分别表示在 0.05、0.01 水平上显著相关。下表同。

表 2 -24℃普通冷柜冷冻条件下各指标之间的相关系数

指标	相关系数						
	羰基含量	总巯基含量	疏水性含量	游离氨含量	氮溶性指数	乳化性	乳化稳定性
总巯基含量	-0.94**						
疏水性含量	0.90*	-0.99**					
游离氨含量	-0.90*	0.99**	-0.98**				
氮溶性指数	-0.98**	0.99**	-0.97**	0.96**			
乳化性	-0.99**	0.96**	-0.93**	0.93**	0.99**		
乳化稳定性	-0.93**	0.97**	-0.99**	0.95**	0.97**	0.94**	
起泡性	-0.98**	0.98**	-0.95**	0.95**	1.00**	1.00**	0.96**

表 3 -18℃液氮快速冷冻条件下各指标之间的相关系数

指标	相关系数						
	羰基含量	总巯基含量	疏水性含量	游离氨含量	氮溶性指数	乳化性	乳化稳定性
总巯基含量	-0.88*						
疏水性含量	0.92**	-0.96**					
游离氨含量	-0.89*	1.00**	-0.95**				
氮溶性指数	-0.96**	0.96**	-0.99**	0.96**			
乳化性	-0.93**	0.95**	-0.99**	0.93**	0.98**		
乳化稳定性	-0.92**	0.99**	-0.99**	0.99**	0.99**	0.97**	
起泡性	-0.94**	0.97**	-1.00**	0.96**	1.00**	0.99**	0.99**

3 结论

在不同冻结方式下高白鲢肌原纤维蛋白的理化特性和功

能特性都发生了明显变化,具体表现在随着贮藏时间的延长,羰基含量和表面疏水性含量增加,总巯基含量和游离氨含量逐渐下降,蛋白质起泡性和氮溶性指数不断降低,乳化性及乳

表 4 -24 ℃ 液氮快速冷冻条件下各指标之间的相关系数

指标	相关系数						
	羰基含量	总巯基含量	疏水性含量	游离氨含量	氮溶性指数	乳化性	乳化稳定性
总巯基含量	-0.98 **						
疏水性含量	0.99 **	-0.96 **					
游离氨含量	-0.98 **	0.99 **	-0.97 **				
氮溶性指数	-1.00 **	0.99 **	-0.99 **	0.98 **			
乳化性	-0.97 **	0.94 **	-0.97 **	0.92 **	0.98 **		
乳化稳定性	-0.98 **	0.99 **	-0.99 **	0.99 **	0.99 **	0.96 **	
起泡性	-0.99 **	0.99 **	-0.99 **	0.99 **	1.00 **	0.97 **	1.00 **

化稳定性也呈下降趋势。采用 -18 ℃、-24 ℃液氮速冷贮藏时,高白鲑肌原纤维蛋白质羰基和疏水性的含量明显比 -18 ℃、-24 ℃普通冷柜冷冻贮藏时含量低;而总巯基、游离氨、氮溶性指数、乳化性及乳化稳定性和起泡性明显要高于同温度下普通冷柜冷冻贮藏,说明液氮速冷的冻结方式对延缓蛋白质氧化具有一定作用;同时温度越低越有利于延缓高白鲑肌肉的劣变。由于蛋白质的理化特性改变会严重影响高白鲑的品质、营养风味及生产加工性能,所以在加工、贮藏和运输环节中考虑新型的冻结方式以及适当降低温度有利于提高高白鲑的品质。

参考文献:

[1] 余小领,李学斌,闫利萍,等. 不同冻结和解冻速率对猪肉保水性和超微结构的影响[J]. 农业工程学报,2007,23(8):261-265.

[2] 周光宏. 肉品加工学[M]. 北京:中国农业出版社,2008:91-94.

[3] 黄鸿兵,徐幸莲,周光宏. 冷冻贮藏对冻猪肉冰晶形态、TVB-N 及 TBARS 的影响[J]. 食品工业科技,2008,29(2):117-119,122.

[4] 周爱梅,龚杰,邢彩云,等. 罗非鱼与鳙鱼鱼糜蛋白在冻藏中的生化及凝胶特性变化[J]. 华南农业大学学报,2005,26(3):103-107.

[5] 曾名勇,黄海,李八方. 鲫鱼(*Camufus awrartos*)肌原纤维蛋白生化特性在冻藏过程中的变化[J]. 青岛海洋大学学报,2003,33(2):192-198.

[6] Novelli E,Zanardi E,Ghiretti G P,et al. Lipid and cholesterol oxidation in frozen stored pork, salame Milano and mortadella[J]. Meat Science,1998,48(1/2):29-40.

[7] Tironi V A,Tomás M C,Añón M C. Quality loss during the frozen storage of sea salmon (*Pseudopercis semifasciata*). Effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract[J]. LWT - Food Science and Technology,2010,43(2):263-272.

[8] Stika J F,Xiong Y L,Suman S P,et al. Frozen storage stability of antioxidant-treated raw restructured beef steaks made from mature cows[J]. Meat Science,2007,77(4):562-569.

[9] Sotelo C G,Gallardo J M,Piñeiro C,et al. Trimethylamine oxide and derived compounds' changes during frozen storage of hake (*Merluccius merluccius*) [J]. Food Chemistry,1995,53(1):61-65.

[10] Selani M M,Contreras - Castillo C J,Shirahigue L D,et al. Wine industry residues extracts as natural antioxidants in raw and cooked chicken meat during frozen storage [J]. Meat Science,2011,88(3):397-403.

[11] Benjakul S,Bauer F. Biochemical and physicochemical changes in

catfish (*Silurus glanis* Lime) muscle as influenced by different freeze - thaw cycles[J]. Food Chemistry,2001,72(2):207-217.

[12] 张懋平. 液氮超速冻技术[J]. 制冷,1995(1):22-27.

[13] 方健. 液氮在食品工业上的应用[J]. 食品研究与开发,1990(2):8-10.

[14] 陈绍桥. 液氮在食品速冻中的应用[J]. 山东食品科技,2002(11):36-37.

[15] 张懋平. 液氮速冻技术的产生与发展[J]. 渔业机械仪器,1993,20(4):22-25.

[16] 张玉文,袁秀玲,钱鸿章. 深冷急冻技术冻结对虾的应用[J]. 深冷技术,1996(2):42-43.

[17] 卢定伟,陈年林,徐锡斌,等. 工业用液氮速冻银鱼试验及优化方案[J]. 低温工程,1999(4):228-230.

[18] 梁伟廉. 液氮速冻生物(蟹)的实验[J]. 深冷技术,1988(1):48-50.

[19] Chin K B,Go M Y,Xiong Y L. Konjac flour improved textural and water retention properties of transglutaminase-mediated, heat-induced porcine myofibrillar protein gel:effect of salt level and transglutaminase incubation[J]. Meat Science,2009,81(3):565-572.

[20] 田童童,巩子路,朱新荣,等. 蛋白质氧化引起乳清蛋白理化性质变化的影响[J]. 江苏农业科学,2013,41(11):301-303.

[21] Oliver C N,Ahn B W,Moerman E J,et al. Age-related changes in oxidized proteins[J]. Journal of Biological Chemistry,1987,262(12):5488-5491.

[22] di Simplicio P,Cheeseman K H,Slater T F. The reactivity of the SH group of bovine serum albumin with free radicals[J]. Free Radical Research Commolunications,1991,14(4):253-262.

[23] Brands C M J,van Boekel M A J S. Kinetic modeling of reactions in heated monosaccharide-casein systems[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2002,50(23):6725-6739.

[24] Chelh I,Gatellier P,Santé - Lhoutellier V. Technical note: a simplified procedure for myofibril hydrophobicity determination[J]. Meat Science,2006,74(4):681-683.

[25] Lund M N,Hviid M S,Claudi - Magnussen C,et al. Effects of dietary soybean oil on lipid and protein oxidation in pork patties during chill storage[J]. Meat Science,2008,79(4):727-733.

[26] Sante - Lhoutellier V,Aubry L,Gatellier P. Effect of oxidation on in vitro digestibility of skeletal muscle myofibrillar proteins[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2007,55(13):5343-5348.

[27] Lizarraga M S,Pan L G,Añón M C,et al. Stability of concentrated emulsions measured by optical and rheological methods. Effect of processing conditions— I. Whey protein concentrate [J]. Food Hydrocolloids,2008,22(5):868-878.