

不同温度下冻藏对青鱼品质的影响研究

宋妍灵^{1,2} 王士桢^{1,2} 董晓涵^{1,2} 陈 康^{1,2} 金仁耀^{1,2,*}

(¹浙江工商大学海洋食品研究院,浙江 杭州 310012;²浙江省水产品加工技术研究联合重点实验室,浙江 杭州 310012)

摘 要:为研究不同温度下冻藏对青鱼品质的影响,本研究将新鲜青鱼在-18、-30、-60、-80℃下冻藏,分别取冻藏后0、7、15、30、60、90 d样品测定盐溶性蛋白含量、钙ATP酶(Ca^{2+} -ATPase)活性、总巯基含量、表面疏水性,并结合质构、色差、十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)凝胶电泳、电镜观察,分析4个温度梯度下冻藏青鱼品质的变化。结果表明,随着冻藏时间的延长,4组青鱼鱼肉的品质均出现下降,以30 d内检测指标的变化较为突出,说明冻藏1月的青鱼可食用价值发生改变。相同冻藏时间下,-80℃组冻藏青鱼的各项指标均优于其余3组,-60℃组品质次之,-18与-30℃组品质无明显差异,说明超低温可降低青鱼组织蛋白质的变性速率,更好地保持鱼肉品质。本研究可为研发青鱼冻藏新方式及辅助存储技术提供理论依据。

关键词:青鱼;鱼肉品质;冻藏温度;肌原纤维蛋白特性

DOI:10.11869/j.issn.1000-8551.2024.06.1108

青鱼(*Mylopharyngodon piceus*)是鲤科、青鱼属鱼类,又称青鲩、乌青、螺蛳青、黑鲩等,以螺蛳、蚌等底栖生物为食,自然分布于北起黑龙江、南至珠江的东亚大中型江河水系中下层,不受季节影响、四季均产,是我国传统的四大淡水养殖鱼类之一^[1-2]。青鱼肉质细嫩鲜美,富含蛋白质及钙、磷、铁、硒、碘等微量元素。此外,青鱼还含有二十碳五烯酸和二十二碳六烯酸,可预防人类心血管疾病的发生并促进人脑、神经细胞等的发育^[3]。因此,青鱼在我国水产养殖业中占据重要地位。

近年来,我国青鱼养殖量不断上升,但国内销售市场难以持续扩大。同多数淡水鱼,青鱼多以鲜活售卖或鱼干销售为主,限制了消费群体的扩展。冻藏温度是影响水产品品质的关键因素。鱼肉的含水量高达70%~80%,较普通肉制品水分含量高,水分活性强^[4]。目前,冻藏青鱼肉以传统的冷藏方式贮存、运输,而在运输过程中,青鱼鱼肉组织易受到严重破坏,致使体内水分损失,且运输期间极易在微生物和内源蛋白酶的综合作用下腐败变质,导致鱼肉的持水性降低、肌肉组织受损、鱼肉鲜度与耐储存度均下降,最终导致品质降低^[5]。李秀霞等^[6]、吴明等^[7]研究表明,低温冻藏处理可有效改善肉类的储藏特性,降低肌原纤维蛋白氧化、

品质及加工性能劣化的程度,但针对不同冻藏条件对青鱼鱼肉品质的影响研究尚鲜见报道。

本研究将新鲜青鱼肉于不同低温条件下冻藏90 d,模拟传统冻藏、低温冻藏、超低温冻藏下青鱼肉的理化特性变化,研究冷冻青鱼肉在冻藏过程中的宏观及微观变化,旨在为青鱼冻藏技术的研发提供一定的数据支撑与理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鲜活青鱼于3月上旬捕获,从当地市场购得,立即带水在20 min内运至1 km以内的水产实验室,选取表皮无损伤的青鱼用水清洗表面杂质后宰杀。

BCA蛋白浓度测定试剂盒,上海碧云天生物技术有限公司;电泳试剂均为电泳级,美国BIO-RAD公司;其他化学试剂均为分析纯,上海国药化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器与设备

BSA124S-CW电子分析天平,德国SARTORIUS集团;TMS-Pro质构仪,美国FTC仪器有限公司;T-18均质机,德国IKA仪器有限公司;Color Quest XE色差仪,美国Hunter Lab仪器有限公司;Sorvall LYNX 4000高

收稿日期:2023-10-07 接受日期:2023-11-30

基金项目:科技部重点研发专项子课题(2018YFC0311205),嘉兴市科技特派员团队项目(K2022C006)

作者简介:宋妍灵,女,主要从事水产品加工与安全研究。E-mail:songyl0101@163.com

* 通讯作者:金仁耀,男,副研究员,主要从事水产品加工与质量安全研究。E-mail:nodjin@163.com

速落地离心机、Evolution 60S 紫外分光光度计,美国 Thermo Fisher Scientific 公司; BIO-RAD 凝胶电泳仪,美国 BIO-RAD 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 青鱼的预处理 将购买的鲜活青鱼宰杀均分,分别放入-18、-30、-60、-80℃冰箱中冻藏,总冻藏监测时间为90 d。以冻藏前新鲜青鱼肉为空白对照(记为 D_0),分别测定冻藏7、15、30、60、90 d时(记为 D_7 、 D_{15} 、 D_{30} 、 D_{60} 、 D_{90})的相关指标(置于4℃环境中完全解冻后待测)。

1.3.2 肌原纤维蛋白的提取 参考Wang等^[8]的方法并略做修改。准确称取一定质量的青鱼鱼肉,加入10倍体积的去离子水,均质(10 000 r·min⁻¹, 1 min)后离心取沉淀与上清液;沉淀加入10倍体积的低盐缓冲液[50 mmol·L⁻¹ KCl, 20 mmol·L⁻¹ 马来酸(maleic acid, MAA), pH值7.0],混合均匀后均质(8 000 r·min⁻¹, 1 min),静止5 min后离心取沉淀加入10倍体积的高盐缓冲液(0.6 mol·L⁻¹ KCl-20 mmol·L⁻¹ MAA, pH值7.0),混合均匀后均质(8 000 r·min⁻¹, 1 min),静止1.5 h后再离心测定上清液蛋白含量,该数值即为盐溶性蛋白含量。取一定体积的上清液,加入4倍体积的去离子水,混匀后离心取沉淀用0.6 mol·L⁻¹ KCl复溶后,离心取上清液调整蛋白浓度为3 mg·mL⁻¹用于肌原纤维蛋白特性的测定。

整个提取过程中,样品被放置于冰水浴中以保证4℃以下的提取温度;试验中的去离子水、低盐缓冲液、高盐缓冲液均在4℃冰箱预冷后使用;每均质30 s冷却10 s,以防在均质过程中温度升高;离心条件均为10 200 r·min⁻¹, 10 min, 4℃;提取的蛋白溶液密封后放置在4℃冰箱中,4 h内进行检测;蛋白质浓度采用BCA蛋白浓度测定试剂盒检测。

1.3.3 Ca²⁺-ATPase活性的测定 参考董开成等^[9]的方法并稍作修改。将制备好的0.1 mL肌原纤维蛋白溶液和0.9 mL反应液(1 mmol·L⁻¹三磷酸腺苷, 0.5 mol·L⁻¹ KCl, 5 mmol·L⁻¹ CaCl₂, 25 mmol·L⁻¹ MAA, pH值7.0)在试管中混合形成反应体系。试验组于30℃水浴锅中完全反应10 min,立即加入0.5 mL 15%三氯乙酸(trichloroacetic acid, TCA)终止反应;空白组为先加入0.5 mL 15% TCA再放入水浴锅中,测定溶液中的磷含量。以每毫克蛋白每分钟反应产生的磷含量表示Ca²⁺-ATPase活性,见公式(1):

$$\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase活性} = \frac{(C - C_0) \times 15}{T \times C_p} \quad (1)$$

式中,C为蛋白溶液中的磷含量($\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$); C_0 为

空白溶液中的磷含量($\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$);T为反应时间(min); C_p 为肌原纤维蛋白浓度($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$);15为稀释倍数。

1.3.4 活性巯基含量的测定 参考陈康等^[10]的方法并稍作改动。取试管加入0.1 mL肌原纤维蛋白溶液和0.9 mL缓冲溶液[10 mmol·L⁻¹乙二胺四乙酸、0.2 mol·L⁻¹ MAA、8 mol·L⁻¹尿素、1%十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)、pH值6.8]形成反应体系,充分混匀后加入0.1 mL 0.1% 5,5,-二硫代双(2-硝基)苯甲酸。混合液置于40℃反应30 min,于412 nm处测定吸光度值,空白对照以0.6 mol·L⁻¹ KCl溶液替代肌原纤维蛋白溶液。巯基含量的计算见公式(2):

$$\text{巯基含量} (10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{g}^{-1}) = \frac{A \times n}{\varepsilon \times C_p} \quad (2)$$

式中,A为肌原纤维蛋白溶液在412 nm波长处的吸光度值;n为肌原纤维蛋白溶液的稀释倍数; ε 为摩尔消光系数(13 600 L·mol⁻¹·cm⁻¹); C_p 为肌原纤维蛋白浓度($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)。

1.3.5 表面疏水性的测定 参考黄倩等^[11]的方法并稍作修改。取1 mL肌原纤维蛋白溶液,加入200 μL 1 mg·mL⁻¹溴酚蓝溶液,震荡反应30 min后离心(7 200 r·min⁻¹, 5 min)取上清液,蒸馏水稀释10倍后于595 nm处测定吸光度值,用0.6 mol·L⁻¹ KCl溶液替代肌原纤维蛋白溶液作为空白对照。用溴酚蓝结合量(μg)表示表面疏水性,计算见公式(3):

$$\text{溴酚蓝结合量} = \frac{(A_{\text{空}} - A_{\text{样}})}{A_{\text{空}}} \times 200 \quad (3)$$

式中, $A_{\text{空}}$ 为空白对照组KCl溶液的吸光值; $A_{\text{样}}$ 为样品的吸光值。

1.3.6 质构的测定 取青鱼肉,切成15 mm×15 mm×20 mm大小的块状,采用质地剖面分析法(texture profile analysis, TPA)测定样品的硬度、弹性、咀嚼性^[12]。测定时选用球型探头,穿刺速度为1 mm·s⁻¹,形变量为50%,返回速度为1 mm·s⁻¹,压缩2次,压缩间隔1 s。平行测定3组,取平均值。

1.3.7 色度的测定 取青鱼肉,切成3 cm×3 cm×1 cm大小的块状,测定青鱼样品的 L^* 、 a^* 、 b^* 值。白度(W)的计算见公式(4):

$$\text{白度}(W) = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}} \quad (4)$$

1.3.8 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) 将鱼肉绞碎,取2 g加入10倍体积的5% SDS溶液,均质后于85℃水浴锅中稳定反应60 min,流水冷却至室温(27℃)后离心(10 200 r·min⁻¹, 10 min),取上清液分别与还原性和非还原性上样缓冲液混合后沸

水浴 5 min。上样量为 10 μL , 采用 5% 浓缩胶和 10% 分离胶, 浓缩胶与分离胶的电压分别为 80、120 V。

1.3.9 样品的扫描电镜处理 参考 Liu 等^[13]的方法并略有改动。将青鱼鱼肉样品切成 5.00 mm×5.00 mm×1.50 mm 的片状, 室温下放入 2.5% 戊二醛溶液(由 0.2 mol·L⁻¹ 磷酸盐缓冲液稀释, pH 值 7.2)中固定 24 h; 去除固定液, 用 0.2 mol·L⁻¹ 磷酸盐缓冲液(pH 值 7.2)漂洗 3 次, 每次 15 min; 再用超纯水漂洗 6 次, 每次 10 min。采用 50%、70%、90%、100% 4 个浓度梯度的乙醇溶液对漂洗后的样品进行脱水处理(每梯度浓度处理 15 min), 再放入真空冷冻机中干燥 48 h。样品喷金后进行微观结构测定。

1.4 数据处理

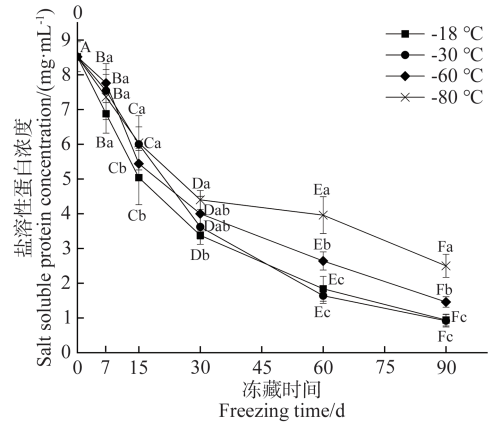
试验数据采用 Excel 2019 进行分析处理, 以平均值±标准差表示; 采用 SPSS 25 进行显著性分析, $P<0.05$ 表示差异显著; 采用 Origin 2018 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 不同温度下冻藏对青鱼肌原纤维蛋白特性的影响

2.1.1 盐溶性蛋白含量 由图 1 可知, 随着冻藏时间的延长, -18、-30、-60、-80 $^{\circ}\text{C}$ 冻藏的青鱼盐溶性蛋白含量均较对照显著降低($P<0.05$)。青鱼肉中盐溶性蛋白含量在前 30 d 内快速下降, 下降程度由小到大为 -80、-60、-30、-18 $^{\circ}\text{C}$, 分别较对照下降 48.36%、53.05%、57.51%、60.33%, 由此可知青鱼冻藏关键期为前 15 d。30 d 后, 鱼肉中盐溶性蛋白含量下降速度减缓, 其中 -80 $^{\circ}\text{C}$ 条件下冻藏青鱼的盐溶性蛋白含量显著高于其他条件下冻藏青鱼($P<0.05$), 说明在更低温度下冻藏的鱼肌肉原纤维蛋白保存较好。在 90 d 时, -18 与 -30 $^{\circ}\text{C}$ 的盐溶性蛋白含量均降至 1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 以下, 表明肌原纤维蛋白大量失活。

2.1.2 Ca^{2+} -ATPase 活性 由图 2 可知, 不同温度下冻藏的青鱼肌原纤维蛋白 Ca^{2+} -ATPase 活性均随冻藏时间的延长而降低。以 -18 与 -30 $^{\circ}\text{C}$ 条件下冻藏的青鱼变性较为严重, 冻藏 30 d 时两样品的 Ca^{2+} -ATPase 活性无显著差异($P>0.05$)。7 d 内, -80 $^{\circ}\text{C}$ 条件下冻藏的青鱼肌原纤维蛋白 Ca^{2+} -ATPase 活性相比 0 d 变化不显著($P>0.05$), 表明该温度下青鱼肌原纤维蛋白的空间结构被破坏程度较小。而经过 90 d 的冻藏后, 青鱼肌原纤维蛋白的 Ca^{2+} -ATPase 活性由最初的 2.88 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$ 分别下降至 -18、-30、-60、-80 $^{\circ}\text{C}$ 下冻藏的 0.21、0.35、0.64、0.85 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$, 分别下降了 92.60%、



注: 不同大写字母表示相同冻藏温度不同冻藏时间下差异显著 ($P<0.05$)。不同小写字母表示相同冻藏时间不同冻藏温度下差异显著 ($P<0.05$)。下同。

Note: Different capital letters indicate significant differences ($P<0.05$) at different freezing times in the same freezing temperature. Different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$) at different freezing temperatures in the same freezing time. The same as following.

图 1 不同温度下冻藏青鱼盐溶性蛋白含量的变化

Fig.1 Changes in salt-soluble protein content of frozen black carp at different temperatures

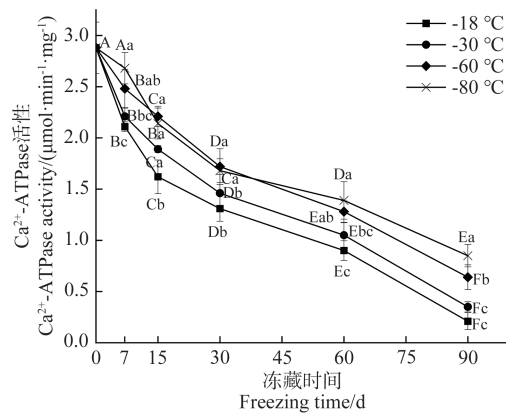


图 2 不同温度下冻藏青鱼 Ca^{2+} -ATPase 活性的变化

Fig.2 Changes of Ca^{2+} -ATPase activity in frozen black carp at different temperatures

87.78%、77.95%、70.00%, 表明 4 个温度下冻藏的青鱼肌肉肌原纤维蛋白已发生较严重的变性。

2.1.3 总巯基含量 由图 3 可知, 随着冻藏时间的延长, 不同温度下冻藏的青鱼总巯基含量均呈现降低趋势。30 d 内, 青鱼总巯基含量下降速度较快, 但仍以更低温下冻藏的鱼肉质较好, 可能的原因是冷冻条件下冻结产生的冰晶体对青鱼肌肉组织造成损伤, 解冻后蛋白质结构功能丧失, 从而导致巯基含量发生改变。随着冻藏时间的延长, 蛋白质的变性与结构损伤更为严重, -18、-30、-60、-80 $^{\circ}\text{C}$ 冻藏 90 d 后的鱼肉总巯基含量分别较 0 d 下降了 65.43%、65.22%、59.80%、

52.87%,表明低温在一定程度上能抑制鱼肉中肌原纤维蛋白的变性,从而延缓青鱼总巯基含量的下降。

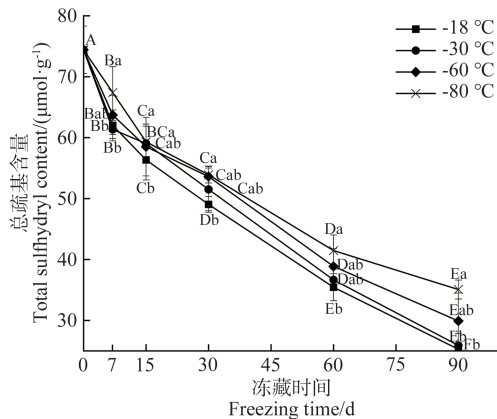


图3 不同温度下冻藏青鱼总巯基含量的变化

Fig.3 Changes in total sulfhydryl content of frozen black carp at different temperatures

2.1.4 表面疏水性 由图4可知,随着冻藏时间的延长,青鱼溴酚蓝结合量呈现先上升后下降趋势。同一温度、不同冻藏时间下,0、7、15 d冻藏的青鱼溴酚蓝结合量存在显著差异($P<0.05$),在7~15 d内,溴酚蓝结合量较0 d显著增加($P<0.05$),15 d时,-18、-30、-60、-80 °C下冻藏的青鱼溴酚蓝结合量分别较0 d上升了61.32%、59.96%、53.89%、47.48%,表明冻藏后的鱼肉蛋白质变性较为严重。推测抗冻能力差的鱼类溴酚蓝结合量在冻藏时急剧增加可能与体内甲醛的产生有关^[14]。在冻藏7、30、90 d时,-18、-30 °C条件下冻藏青鱼的性质与-60、-80 °C条件下相比存在显著差异($P<0.05$)。原因可能是冻藏期间蛋白质空间结构发生变化,非极性的氨基酸残基暴露在分子表面,使青鱼的蛋白质溴酚蓝结合量增加^[15]。与15 d相比,30、60、90 d的溴酚蓝结合量显著降低($P<0.05$),相同冻藏时间下,温度越低溴酚蓝结合量越少,说明低温可在一定程度上保持蛋白分子的稳定性。

2.2 不同温度下冻藏对青鱼质构的影响

2.2.1 硬度 由图5可知,随着冻藏时间延长,4个温度组冻藏的青鱼硬度降低,同一冻藏时间内,-60和-80 °C组青鱼的硬度差异显著且高于其余两组($P<0.05$)。青鱼硬度在前30 d内的下降速度较快,-18、-30、-60、-80 °C条件下分别由0 d的472.35 g下降到30 d时的216.43、265.61、283.67、301.63 g,分别下降了54.18%、43.77%、39.94%、36.14%;30 d后的硬度降低速率较之前有所减慢,以-60和-80 °C冻藏下的青鱼硬度变化较小。综上,随着冻藏时间的延长,超低温

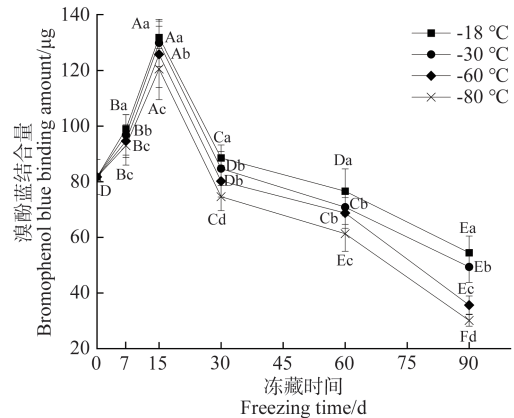


图4 不同温度下冻藏青鱼溴酚蓝结合量的变化

Fig.4 Changes in bromophenol blue binding of frozen black carp at different temperatures

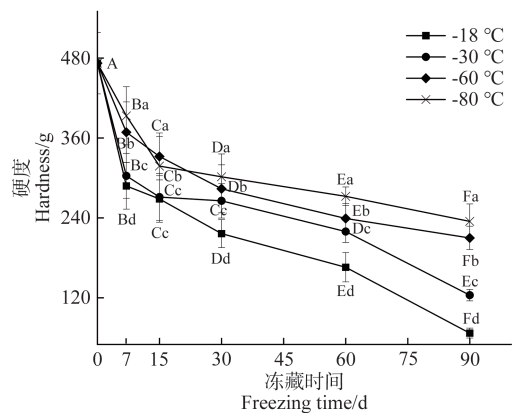


图5 不同温度下冻藏青鱼硬度的变化

Fig.5 Changes in hardness of frozen black carp at different temperatures

可延缓鱼肉硬度的下降,更好地保持鱼肉的品质。此外,低温导致的蛋白质变性会使鱼肉组织松散,黏聚性和胶黏性下降,进而使鱼肉的咀嚼性变差,回复性降低^[16]。

2.2.2 弹性 由图6可知,不同温度下冻藏青鱼的弹性在冻藏过程中有较大波动,其中-80 °C冻藏青鱼的弹性随冻藏时间的延长表现为先下降后趋于平缓趋势,-18 °C冻藏青鱼的弹性则表现为先急速下降后上升再下降趋势。由此可知冻藏前期鱼肉弹性降低的原因可能是肌肉组织受低温刺激发生僵化,解冻后被冰晶损伤造成失水,持水性降低,肌肉组织软塌无力;中期出现鱼肉弹性恢复可能是前期变性降解的蛋白质发生降解交联,一定程度上增强了肌肉紧密度与结实度;后期随着冻藏时间的延长,蛋白质变性加剧,鱼肉组织特性进一步恶化,从而导致弹性继续降低。以上结果表明,低温冻藏对鱼肉肌肉的弹性及蛋白特性有较好的保持作用。

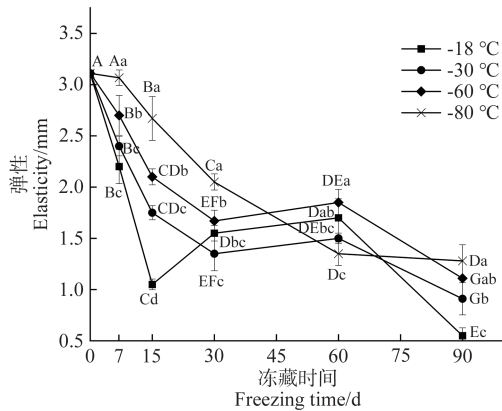


图6 不同温度下冻藏青鱼弹性的变化

Fig.6 Changes in elasticity of frozen black carp at different temperatures

2.3 不同温度下冻藏对青鱼色度的影响

本研究发现,冻藏时间和温度对青鱼肉的 L^* 和 b^* 值影响不显著,因此从白度和红度研究青鱼肉的色度变化。由图7可知,随着冻藏时间的延长,不同温度下冻藏青鱼肉的白度呈现先上升再下降的趋势,但随着冻藏温度的降低,白度值的变化程度逐渐减小。由图8可知,与0 d相比,7 d时-80 °C下青鱼的红度值(a^* 值)差异不显著($P>0.05$);15、30、60、90 d时4组冻藏方式下青鱼的红度值显著下降($P<0.05$)。综上,冻藏温度越低,鱼肉红色褪变越慢,鱼肉越新鲜。

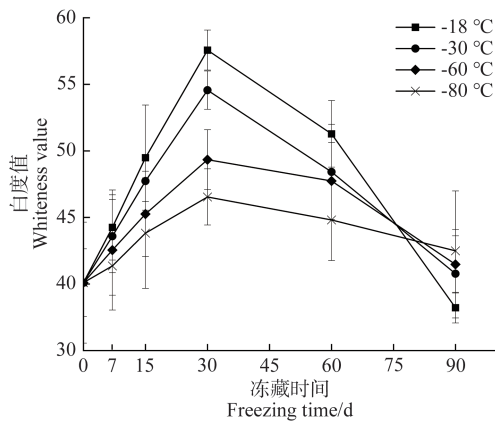


图7 不同温度下冻藏青鱼白度的变化

Fig.7 Changes in whiteness of frozen black carp at different temperatures

2.4 不同温度下冻藏对青鱼凝胶电泳的影响

由图9-A可知,新鲜青鱼的肌原纤维蛋白在图谱上呈现较明显的肌球蛋白重链(MHC, 200 kDa)、肌动蛋白(Actin, 45 kDa)及肌球蛋白轻链(MLC₁, 24 kDa; MLC₂, 15~17 kDa)条带。结合图9-A~F可知,青鱼肌原纤维蛋白亮条带随时间的延长明显变淡,说明青鱼

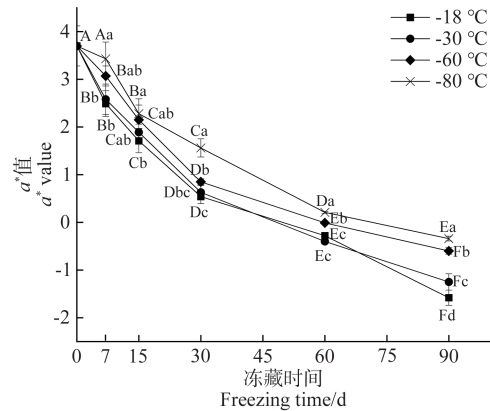


图8 不同温度下冻藏青鱼红度值的变化

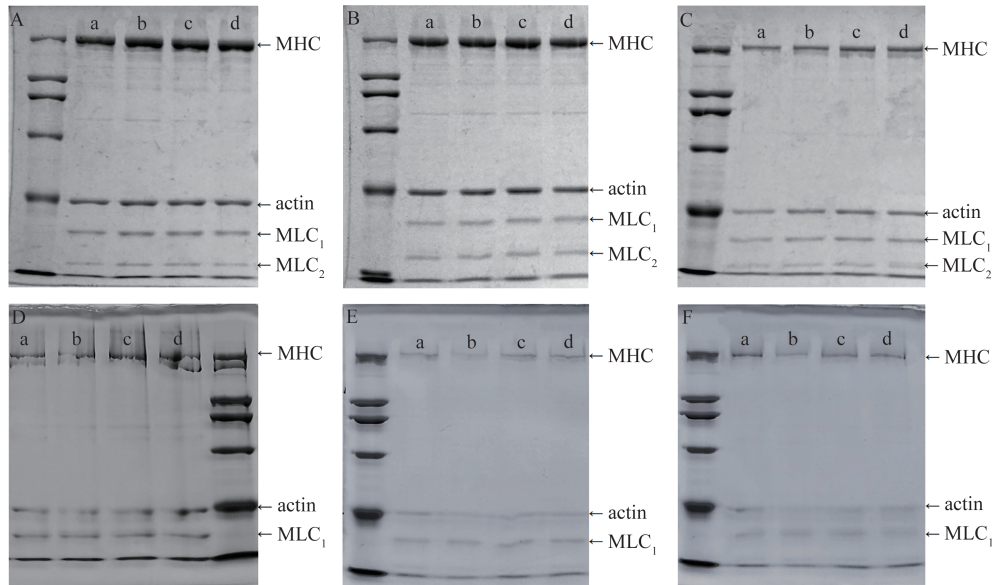
Fig.8 Changes of red value of frozen black carp at different temperatures

肌原纤维蛋白发生明显降解。其中7 d时,各冻藏温度下青鱼蛋白条带变化不大,但肌球蛋白轻链条带亮度降低,表明蛋白开始出现降解;15 d时,肌动蛋白与肌球蛋白重链条带明显变浅,表明该时间段为青鱼冻藏品质保存的关键期,这也与前文 Ca^{2+} -ATPase活性、盐溶性蛋白、巯基含量、溴酚蓝结合量等结果一致;30 d时,青鱼肌原纤维蛋白图谱上的一条肌球蛋白轻链消失,肌球蛋白重链条带亮度也较15 d时降低,尤以-18、30 °C冻藏条件下的图谱亮度变化明显;60、90 d时的图谱条带亮度几乎消失,表明肌原纤维蛋白降解严重。对比图9-A~D发现,-80与-60 °C冻藏条件下青鱼肌原纤维蛋白的图谱条带较清晰且饱满,-30 °C冻藏条件图谱条带虽细且浅,但优于-18 °C冻藏条件,表明相同冻藏时间内,较低的冻藏温度可更好地降低肌原纤维蛋白的降解速率。

2.5 不同温度下冻藏对青鱼肌肉结构组织的影响

不同温度下冻藏青鱼肌肉组织结构变化的扫描电镜如图10所示。结果表明,新鲜青鱼鱼肉的肌纤维组织结构完整致密、表面光滑、无间隙与褶皱,随着冻藏时间的延长,4个温度梯度下冻藏的青鱼肌肉均有不同程度受损,不仅表面结构变得更加粗糙,还出现了大小不一的孔洞与褶皱,由此判断冻藏处理使青鱼的肌肉纤维发生了一定程度的聚集、断裂。

具体而言,冻藏初期30 d内,-18与-30 °C组青鱼肌肉块状结构组织突起较多,且其组织结构表面光滑程度变化最为明显;而-60与-80 °C组青鱼肌肉结构表面相对平滑,但整体呈小块状结构且出现细小空洞。冻藏后期,-18与-30 °C组样品表面不再完整,出现较大断裂与褶皱,肌纤维结构发生明显变化。表明经长时间冻藏后,鱼肉肌肉组织结构的稳定性被严重破坏,



注: A、B、C、D、E、F 分别表示青鱼冻藏 0、7、15、30、60、90 d; a、b、c、d 分别表示 -18、-30、-60、-80 °C。
Note: A, B, C, D, E, and F denote the 0, 7, 15, 30, 60, and 90 d of mackerel freezing, respectively. a, b, c, and d denote -18, -30, -60, and -80 °C, respectively.

图 9 不同温度下冻藏青鱼 SDS-PAGE 的变化

Fig.9 Changes in SDS-PAGE of frozen black carp at different temperatures

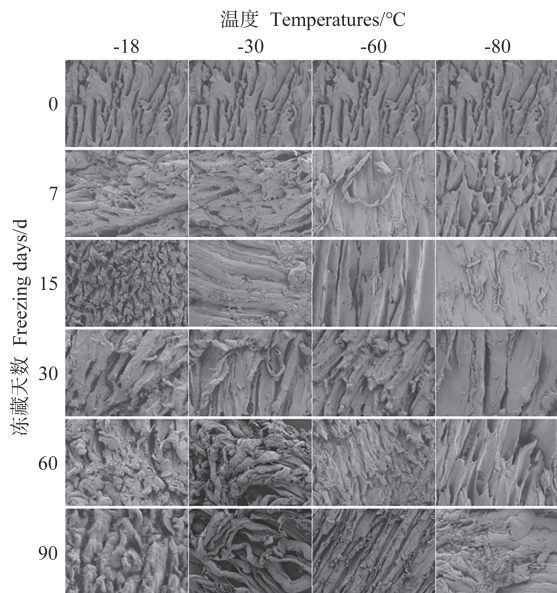


图 10 不同温度下冻藏青鱼肌肉微观结构的变化

Fig.10 Changes in the muscle microstructure of frozen black carp at different temperatures

肌肉组织发生降解,肌纤维发生断裂,进而在肌肉组织结构的表面出现褶皱、裂痕。这是因为-18与-30 °C下产生的冰晶尺寸较大且形状不规则,少部分晶体还会聚结成块,对肌肉组织细胞造成较严重损伤,进而导致肌肉组织功能缺失而变得松散;而-60与-80 °C等超低温下的冻结速率相对较快,形成的冰晶均一旦较小,对组织细胞的损伤程度不大,一定程度上保持了组织结

构的完整性。

3 讨论

在-18、-30、-60、-80 °C的冻藏温度下,青鱼鱼肉的盐溶性蛋白含量在 7、15、30、60、90 d 差异显著($P<0.05$)。随着冻藏天数增加,青鱼的盐溶性蛋白含量逐渐降低;同一冻藏温度下,7、15、30 d 的蛋白含量较 0 d 显著降低($P<0.05$)。这是由于在低温冷冻过程中,鱼体中的冰晶逐渐形成,冰晶会对细胞产生一定的损伤进而导致蛋白质溶出,此外,二硫键、疏水键等的形成也会使盐溶性蛋白含量降低。

Ca^{2+} -ATPase 活性值越大代表鱼肉中蛋白质性质越稳定,食用价值更高^[17]。研究表明, Ca^{2+} -ATPase 活性在任意冻藏温度下均随青鱼冷藏时间的延长而降低,冻藏过程中,冰晶的生成会对细胞内酶的活性产生影响^[18]。其中,60 d 后 Ca^{2+} -ATPase 活性加速降低,可能是由巯基被氧化生成的二硫键堆积交联以及蛋白质的相互作用所致^[19]。这与 Benjakul 等^[20]关于一般海洋产品的 Ca^{2+} -ATPase 活性在冻藏前 90 d 内下降较快的研究结果一致。

冷冻过程中,活性巯基暴露后氧化生成多肽分子间或分子内二硫键,后进一步氧化成磺酸类或其他氧化产物^[21-22]。本研究表明,低温可在一定程度上延缓鱼肉中肌原纤维蛋白的变性,该结果与马新悦等^[23]有

关总巯基含量随冻藏时间延长而下降的结论一致。

表面疏水性可用以衡量蛋白质的变性程度。溴酚蓝可与蛋白质疏水位点结合,因此可通过测定蛋白质与溴酚蓝结合量来确定鱼肉的表面疏水性大小^[24-25],疏水性的增强或降低与蛋白质的结构密切相关^[26]。冻藏7 d后的溴酚蓝结合量增长速度明显加快,说明鱼肉蛋白质变性较为严重,这与郭园园等^[27]的研究结果一致。与15 d相比,30、60、90 d的溴酚蓝结合量显著降低($P<0.05$),即青鱼表面疏水性不断降低,表明蛋白质的空间结构破坏严重,脂肪和蛋白质发生交联、凝固^[28]。

质构是评价水产品的一项重要指标,消费者更倾向于高硬度、高红度、低黄度的产品^[29]。本研究发现,-80℃下的青鱼弹性随冻藏时间的延长先下降后趋于平缓,与杨永安等^[30]的研究结果一致,而-18℃下冻藏的青鱼弹性则表现为先急速下降后上升再下降,鱼肉弹性变化较大是由于冻藏温度不同,较大的温差可加快鱼肉的冻结速率,更好地保持肌肉组织的稳定性。同时,本研究采用白度和红度来研究鱼肉的色度变化,发现冻藏温度影响白度和红度的变化,较低的冻藏温度使二者变化减缓,这与郑斌等^[31]试验测得的红度结果较一致。

冻藏会引起肌原纤维蛋白的空间结构发生改变及蛋白分子间发生聚合,在电泳图上呈现为蛋白条带的消失或增强。刘小莉等^[32]发现鲷鱼肌原纤维蛋白在冻藏期间发生一定程度的降解,冻藏温度越高,蛋白质降解程度越大。石钢鹏等^[33]发现,冻藏期间大口黑鲈的肌原纤维蛋白发生降解,而液氮组降温速率快,蛋白质降解程度较慢。本研究结果表明,在相同冻藏时间内,较低的冻藏温度可有效降低肌原纤维蛋白的降解速率,这与上述试验结果相似。陈聪等^[34]研究得出,较低的温度和较快的冻藏速率对鲍鱼肌肉组织造成的损伤更小,利于保存食品。

普冷条件因冻结速度慢,易形成大冰晶破坏细胞组织而影响鱼肉品质^[35]。本研究-18与-30℃储藏的鱼肉因冰晶形状不规则等而使肌肉组织变得松散,而-60与-80℃超低温下冻藏的肉因温度低,冰晶生成速度快而对细胞的影响较小,更有利于保存食品。

研究表明,鱼肉的各项指标与冻藏温度密切相关,超低温冻藏水产品更优于普通冷藏。冻结速率会影响通过最大冰晶生成带的时间、冰晶大小及分布情况,进而影响蛋白质的变性程度,最终对食品的品质产生影响。鱼肉长期在超低温下保存可更好地抑制酶活性,减缓水分转移,保持鱼肉品质^[36]。然而,超低温技

术目前虽已逐渐普及,但其能源消耗、经济效益等仍存在较大局限性。如何在降低能源损耗和提升经济效益的同时保证冻藏鱼肉的最大限度营养价值还需进一步深入研究。

4 结论

本研究结果表明,冻藏温度越低,青鱼鱼肉蛋白的盐溶性蛋白含量、 Ca^{2+} -ATPase活性、总巯基含量越高,肌肉组织损伤越少,鱼肉品质越高。以-80℃冻藏的青鱼品质最好,-60℃次之,-30与-18℃组整体差异不显著,但-18℃冻藏的青鱼蛋白变性严重,组织结构发生大规模水解重组,可食用性较低。因此,超低温冻藏海产品可明显降低普冷条件下冻藏对组织细胞及蛋白结构的损伤和破坏,使蛋白质的变性速率减慢,保证海产品的新鲜程度与食用价值。

参考文献:

- [1] 苏玉红, 谢楠, 郭加民, 徐晓雁, 程熙, 李家乐, 沈玉帮. 长江水系青鱼不同地理群体肉质差异比较[J]. 水产科技情报, 2022, 49(4): 200-205
- [2] Bao S C, Xie N, Xu X Y, Su H Y, Bao T J, Shen Y B, Li J L. Complete mitochondrial genome of gray black carp (*Mylopharyngodon piceus*) [J]. Mitochondrial DNA Part B-Resources, 2020, 5(3): 2076-2077
- [3] 刘梦静. 放牧和舍饲绵羊肉的脂肪酸特征及判别模型研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2020
- [4] 谢晨, 熊泽语, 李慧, 金素莱曼, 陈百科, 包海蓉. 金针菇多糖对三文鱼片冻藏期间品质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(22): 178-183
- [5] 周鹏程, 谢晶. 影响冻结贮运过程鱼类品质变化因素的研究进展[J]. 包装工程, 2020, 41(13): 1-7
- [6] 李秀霞, 刘孝芳, 刘宏影, 励建荣, 谢晶, 沈琳. 超声波辅助冷冻与低温速冻对海鲈鱼冰晶形态及冻藏期间鱼肉肌原纤维蛋白结构的影响[J]. 中国食品学报, 2021, 21(10): 169-176
- [7] 吴明, 黄晓红, 杨勇, 高梦祥. 肉类低温保鲜技术研究进展[J]. 肉类研究, 2021, 35(5): 60-69
- [8] Wang L M, Xia M Q, Zhou Y H, Xian W, Jing M, Xiong G Q, Wang L, Wang S J, Sun W Q. Gel properties of grass carp myofibrillar protein modified by low-frequency magnetic field during two-stage water bath heating[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 107: 105920
- [9] 董开成, 杨水兵, 余海霞, 陈士国, 杨志坚, 鲁珺, 胡亚芹. 不同预冻条件对小黄鱼品质的影响[J]. 现代食品科技, 2015, 31(2): 225-231
- [10] 陈康, 张益奇, 朱凯, 戴志远. 基于漂洗工艺的冷冻鱼糜冻藏过程中品质的变化规律[J]. 中国食品学报, 2022, 22(8): 253-260
- [11] 黄倩, 黄兰兰, 陈炼红, 蔡自建, 周显宇, 毛云, 王琳琳. 冻融对

- 冷藏藏羊肉保水性及蛋白氧化和溶解特性的影响[J]. 食品工业科技, 2021, 42(19): 21-28
- [12] Sun S, Wang S Q, Lin R, Cheng S S, Yuan B, Wang Z X, Tan M Q. Effect of different cooking methods on proton dynamics and physicochemical attributes in Spanish mackerel assessed by low-field NMR[J]. Foods, 2020, 9(3): 364
- [13] Liu C K, Li W X, Lin B Y, Yi S M, Ye B B, Mi H B, Li J R, Wang J X, Li X P. Comprehensive analysis of ozone water rinsing on the water-holding capacity of grass carp surimi gel[J]. Food Science and Technology, 2021, 150: 111919
- [14] Benjakul S, Visessanguan W, Thongkaew C, Thongkaew C, Tanaka M. Comparative study on physicochemical changes of muscle proteins from some tropical fish during frozen storage [J]. Food Research International, 2003, 36(8): 787-795
- [15] Morzel M, Gatellier P, Sayd T, Renner M, Laville E. Chemical oxidation decreases proteolytic susceptibility of skeletal muscle myofibrillar proteins[J]. Meat Science, 2006, 73(3): 536-543
- [16] 王雪松, 谢晶. 不同冻结方式对竹荚鱼品质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(11): 184-190
- [17] 仪淑敏, 豁艳, 李睿智, 张智铭, 刘瑞, 李学鹏, 励建荣. 碱性蛋白酶对鲢肌原纤维蛋白凝胶特性的影响[J]. 华中农业大学学报, 2019, 38(6): 18-24
- [18] Ramirez J A, Martián-polo M O, Bandman E. Fish myosin aggregation as affected by freezing and initial physical state [J]. Journal of Food Science, 2000, 65(4): 556-560
- [19] Benjakul S, Bauer F. Physicochemical and enzymatic changes of cod muscle proteins subjected to different freeze-thaw cycles [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2010, 80(8): 1143-1150
- [20] Benjakul S, Sutthiphan N. Muscle changes in hard and soft shell crabs during frozen storage [J]. LWT-Food Science and Technology, 2008, 42(3): 723-729
- [21] 贾俊琦, 张悦, 林慧敏, 张宾. 2 种乌贼冻藏期间品质及肌原纤维蛋白功能特性变化[J]. 食品工业科技, 2023, 44(20): 380-388
- [22] 祁雪儿, 姚慧, 齐贺, 毛俊龙, 郝桂娟, 张宾. 多羟基糖类物质对冷冻虾仁中水的重结晶的改善作用[J]. 现代食品科技, 2020, 36(1): 91-97, 135
- [23] 马新悦, 韩悦, 邓尚贵, 郑斌, 张小军, 杨最素, 许丹. 不同冻藏温度对小黄鱼贮藏期间品质变化的影响[J]. 现代食品科技, 2023, 39(4): 118-125
- [24] 吴玉婷, 郑炜, 邱意忠, 谢超. 空间电场-微冻贮藏过程中红虾蛋白质特性的变化[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(20): 6569-6576
- [25] 金枝. 复合保鲜剂真空浸渍工艺对冰温罗非鱼片品质的影响[D]. 广东: 广东海洋大学, 2020
- [26] Li E, Nakai S, Wood D F. Relationship between functional (fat binding, emulsifying) and physicochemical properties of muscle proteins. Effects of heating, freezing, pH and species [J]. Journal of Food Science, 1985, 50(4): 1034-1040
- [27] 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
- [28] Benjakul S, Visessanguan W, Thongkaew C, Tanaka M. Effect of frozen storage on chemical and gel-forming properties of fish commonly used for surimi production in Thailand [J]. Food Hydrocolloids, 2005, 19(2): 197-207
- [29] Robb D, Kestin S, Warriss P. Muscle activity at slaughter: I. Changes in flesh colour and gaping in rainbow trout [J]. Aquaculture, 2000, 182(3-4): 261-269
- [30] 杨永安, 李静静, 刘建福, 田继源, 朱轶群. 不同温度波动对冻藏三文鱼色差和质构的影响[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(10): 145-150
- [31] 郑斌, 王坚强, 王传堂, 陈小娥, 张小军, 梅光明. 冷藏温度对金枪鱼品质变化的影响研究[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2009, 28(3): 315-318
- [32] 刘小莉, 彭欢欢, 李莹, 周剑忠, 赵江涛. 冻藏温度对斑点叉尾鲷鱼片蛋白质特性和感官品质的影响[J]. 中国食品学报, 2019, 19(1): 141-147
- [33] 石钢鹏, 阙凤, 高天麒, 汪兰, 汪超, 石柳, 吴文锦, 乔宇, 丁安子, 熊光权. 速冻方式对冷冻贮藏中大口黑鲈鱼肉蛋白质特性的影响[J]. 食品工业科技, 2021, 42(20): 309-319
- [34] 陈聪, 杨大章, 谢晶. 速冻食品的冰晶形态及辅助冻结方法研究进展[J]. 食品与机械, 2019, 35(8): 220-225
- [35] 柴丽月, 柳海, 杨家锋, 郑丹. 不同的冷链贮藏方式对南美白对虾品质的影响[J]. 现代食品, 2022, 28(17): 166-169
- [36] 马新悦, 韩悦, 邓尚贵, 郑斌, 张小军, 杨最素, 许丹. 小黄鱼低温贮藏过程中内源性蛋白酶活性及其水分变化[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(9): 252-258

Effects of Frozen Storage on the Quality of Black Carp at Different Temperatures

SONG Yanling^{1,2} WANG Shizhen^{1,2} DONG Xiaohan^{1,2} CHEN Kang^{1,2} JIN Renyao^{1,2,*}

(¹*Institute of Seafood, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou, Zhejiang 310012;*

²*Key Laboratory of Aquatic Products Processing of Zhejiang Province, Hangzhou, Zhejiang 310012*)

Abstract: In order to study the effect of freezing storage at different temperatures on the quality of black carp, the fresh black carp was frozen at -18 , -30 , -60 and -80 °C, then the content of salt-soluble protein, calcium ATPase (Ca^{2+} -ATPase) activity, total sulfhydryl group and surface hydrophobicity were measured at 0, 7, 15, 30, 60 and 90 days, respectively. Changes in quality of frozen black carp were analyzed by combining texture, color difference, sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and scanning electron microscope (SEM). The results showed that with the extension of frozen storage time, the fish quality of the four groups decreased, and the change of detection index within 30 days was more prominent, indicating that the edible value of frozen black carp stored for one month had been reduced. However, under the same frozen storage days, the indexes of frozen black carp in the -80 °C group were better than those in the other three groups, followed by the -60 °C group. The difference between the -18 and -30 °C groups was not obvious, indicating that ultra-low temperature can reduce the rate of tissue protein degeneration of black carp and better maintain the quality of fish. This study can provide a theoretical basis for developing new frozen storage methods or auxiliary storage of black carp.

Keywords: black carp, fish meat quality, storage temperatures, myofibrillar protein characteristics