

文章编号:1005-8737(2001)02-0085-03

鲢冻结过程中肌肉组织及蛋白质的变化

缪宇平, 乔庆林, 裘塘根, 陈 琪

(中国水产科学研究院 东海水产研究所, 上海 200090)

摘 要:以鲜活鲢为研究对象,从肌肉组织冷冻切片、盐溶蛋白、 Ca^{2+} -ATP酶活性等角度研究在缓慢冻结条件下鲢的冷冻变性情况,并探讨鲢冷冻变性的机理。结果表明:冻结前后,鲢肌肉纤维组织结构变化十分显著;鲢冻结至 -35°C 后盐溶蛋白下降了14.8%; Ca^{2+} -ATP酶活性变化则不明显。

关键词:鲢;冷冻变性;肌肉组织;盐溶蛋白; Ca^{2+} -ATP酶活性

中图分类号:S984.110.2

文献标识码:A

我国淡水鱼的加工以冷冻品为主,冷冻品中又以条冻居多。由于冷冻淡水鱼极易产生冷冻变性,变性后鱼肉口感粗糙,鲜味下降,凝胶形成能力降低,不受消费者欢迎,也不适于做加工原料。因此,淡水鱼冷冻变性成为淡水鱼加工技术难关之一。目前有关鱼肉冷冻变性的机理,尚无很完善的理论。以前主要集中在冻藏过程中鱼肉蛋白变性的研究,而关于冻结过程中鱼肉蛋白是如何产生变性的研究未见报道。鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*, 俗称白鲢)为我国产量最大的淡水鱼,它耐冻性最差,冻结前后品质变化很大。故本文选择鲜活鲢为研究对象,从肌肉组织学、生物化学等角度研究其在冻结过程中肌肉组织及蛋白质的变化。

1 材料与方法

1.1 材料

鲜活鲢于1997年3月~1999年1月购至上海市图们路农贸市场,体重900~1100 g,鱼体背部厚度5.5 cm左右。

1.2 方法

1.2.1 样品前处理

鲜活鲢死后去鳞、去内脏清

洗干净,整条鱼放入低温冰箱(-35°C)中冻结,测定其冻结曲线。在冻结前和冻结至 0°C 、 -5°C 、 -18°C 、 -25°C 、 -29°C 和 -35°C 时取样,于 $0\sim 5^{\circ}\text{C}$ 冰箱中解冻备用。

1.2.2 肌肉组织冷冻切片的制作和镜检^[1] 将冻结样品($5\text{ mm}\times 5\text{ mm}\times 10\text{ mm}$)放入同温度下冷却的固定液中固定2 d以上,然后取出用水冲洗7 h。洗后的鲢肌肉块放入明胶中包埋,将固定包埋好的肌肉块放入冷冻切片机中切片,切片厚度 $10\text{ }\mu\text{m}$,目镜2.5,每个样品做10个切片。切片用苏木精染色,脱色,酒精程序脱水后伊红复染,制成标本后镜检并拍照。固定液由无水酒精和中性甲醛9:1配制而成。

1.2.3 盐可萃取性蛋白氮(EPN)的测定 采用改进的万建荣^[2]、A. Award^[3]等方法进行测定。取鲢背部肌肉作为样品,每个样品做3个平行。

1.2.4 Ca^{2+} -ATP酶活性的测定 采用万建荣^[2]的方法进行测定。取鲢背部肌肉作为样品,提取肌原纤维蛋白并测定 Ca^{2+} -ATP酶活性。每个样品做3个平行。

2 结果与讨论

2.1 鲢冻结曲线

鲢的冻结曲线见图1。最大冰晶生成带($0\sim -5^{\circ}\text{C}$)所需的时间为230 min,冻结至 -35°C 所需

收稿日期:2000-08-01

基金项目:中国水产科学研究院青年基金资助项目

作者简介:缪宇平(1971-),女,助理研究员,硕士,从事水产品加工研究。E-mail: mzhongk@online.sh.cn

的时间为 420 min, 属缓慢冻结。

2.2 鲢冻结过程中肌肉组织纤维结构的变化

在冻结过程中, 鲢肌肉组织的变化如图版 I 所示。从图版 I 中可以看出, 冷却至 0℃ 的鲢肌肉组织细胞周围有薄而软、富有弹性的原生质膜, 彼此相互紧密连接, 排列整齐, 纤维内的原生质分布均匀; 冻结至 -5℃, 肌肉纤维间出现了较小的间距, 纤维内有小的冰结晶; 冻结至 -18℃, 随着冻结过程的深入, 肌肉中的水分由外至内逐渐冻结, 冰结晶由小变大, 这引起细胞内部结构的变位和破坏。肌肉纤维逐渐变形、松散、无规则; 冻结至 -35℃, 肌肉纤维间的冰晶体大, 纤维扭曲, 形状紊乱。这说明鲢在冻结前后鱼肉肌肉纤维组织结构的变化十分显著。

2.3 鲢冻结过程中盐溶蛋白的变化

在冻结过程中, 鲢盐溶蛋白 (EPN) 的变化见图 2。由图 2 可见, 在冻结的初始阶段, 特别是在 0~ -5℃ 最大冰晶生成带间, EPN 值下降较快, 而后下

降的速度趋缓。这说明在此最大冰晶生成带间, 鲢蛋白质变性较大。因此, 鲢在冻结时应尽快通过上述温度带, 以免蛋白质变性较大。

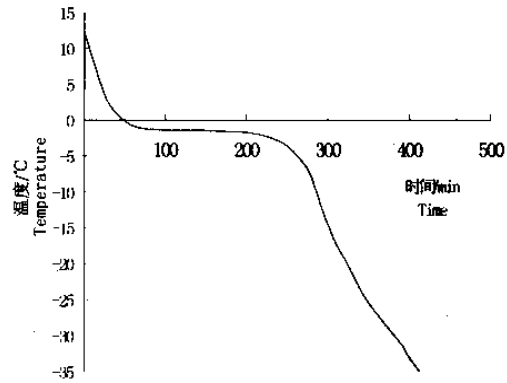
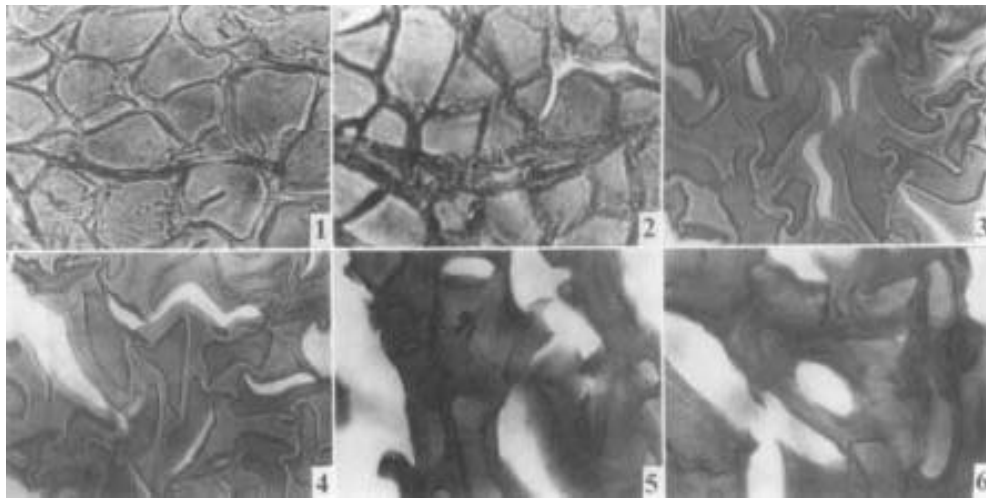


图 1 鲢的冻结曲线

Fig.1 Frozen curve of silver carp



1. 0℃; 2. -5℃; 3. -18℃; 4. -25℃; 5. -29℃; 6. -35℃.

图版 I 鲢冻结过程中肌肉组织纤维结构的变化 (横切, ×40)

Plate I Changes of silver carp tissue during frozen

对图 2 的数据进行方差分析, 结果 $F > F_{0.05}$, 表明在冻结前后盐溶蛋白的变化有显著差异。由于盐溶解度反应了肌球蛋白杆部 (ROD) 的变化, 从以上结果可以推测, 鲢肌球蛋白杆部在缓慢冻结过程中发生明显的变化。

2.4 鲢冻结过程中 Ca^{2+} -ATP 酶活性的变化

Ca^{2+} -ATP 酶活性反映蛋白质的特定性状, 是蛋

白质冷冻变性的重要指标。鲢冻结过程中 Ca^{2+} -ATP 酶活性的变化见图 3。

对图 3 的数据进行方差分析, 结果 $F < F_{0.05}$, 表明在冻结前后 Ca^{2+} -ATP 酶活性无显著差异。由于 Ca^{2+} -ATP 酶活性来源于肌球蛋白, 表征其头部 S-1 的性质。因此, 可以认为肌球蛋白头部在冻结过程中没有发生明显的变性。

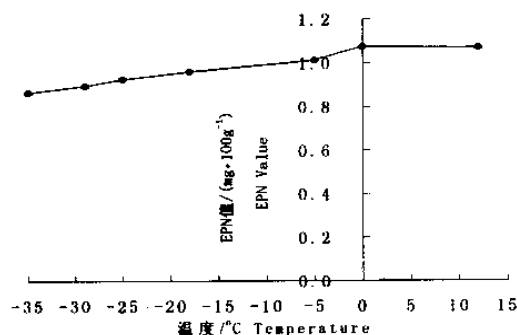
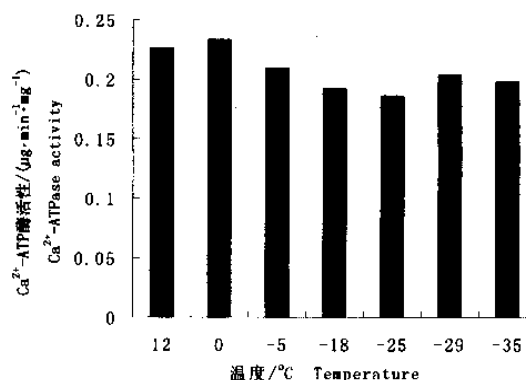


图2 鲢冻结过程中 EPN 的变化

Fig.2 Changes of EPN value during frozen

图3 鲢冻结过程中 Ca^{2+} -ATP 酶活性的变化Fig.3 Changes in the myofibrillar Ca^{2+} -ATPase activity during frozen

3 结论

鲢在缓慢冻结时,其蛋白质冷冻变性的机理是:
①随着冻结温度的降低,鱼肉蛋白质中的自由水首先冻结形成冰晶脱离蛋白质大分子的束缚。随着冻结过程的进行,蛋白质侧链上的部分结合水也冻结。当结合水从侧链上逐渐移去时,蛋白质侧链发生空间结构的变化,使蛋白质分子中的侧链和侧链之间的相互结合发生了不可逆的改变,从而导致蛋白质发生变性;②由于自由水和部分结合水被结晶析出,细胞内未冻结的那部分组织液浓缩,使 pH 改变,离

子浓度上升,盐浓缩作用引起蛋白质变性。

参考文献:

- [1] 新井健一.水产加工蛋白质变性及控制[M].日本:恒星社后生阁,1991.9-24.
- [2] 万建荣,洪玉清,奚印慈,等.水产食品化学分析手册[M].上海:上海科学技术出版社,1993.145-154.
- [3] A Awad, W D Powerie, O Fennema. Deterioration of fresh - water whit - fish muscle during frozen storing at -10°C [J]. Journal of Food Science, 1996, 34:41-46.
- [4] 川岛效省,新井健一,齐藤恒行,等.鱼类筋肉たんぱく构造质に関する研究[J].日本水产学会志,1973,39(2):207-214.

Changes of muscle tissues and protein in silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix*, during frozen

MIAO Yu-ping, QIAO Qing-lin, QIU Tang-gen, CHEN Qi

(East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China)

Abstract: The fresh silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix*, body weight 900~1 100 g, were frozen at -35°C . During the frozen period, the tissue muscles were sampled and observed at 0°C , -5°C , -18°C , -25°C , -29°C and -35°C , respectively, and their extractable protein nitrogen value (EPN) and Ca^{2+} -ATPase activity were tested also. The results show that the changes of muscular tissues of silver carp are distinct during frozen; the EPN values decline dramatically at the beginning, especially from 0°C to -5°C , and then get down slowly, which means when silver carp is frozen, the temperature range ($0\sim-5^{\circ}\text{C}$) should be passed as soon as possible so that the protein will not be changed seriously; no obvious changes happened in myofibrillar Ca^{2+} -ATPase activity during the whole frozen process.

Key words: *Hypophthalmichthys molitrix*; frozen denaturation; muscular tissue; EPN; Ca^{2+} -ATPase activity