

文章编号:1000 - 0615(2001)06 - 0564 - 06

# 冻结速率和冻藏温度对鲢肉蛋白质冷冻变性的影响

汪之和, 王 翥, 苏德福

(上海水产大学食品学院, 上海 200090)

**摘要:**研究了冻结和冻藏温度对鲢肉肌原纤维 Ca-ATPase 活性和盐溶性蛋白溶解度的影响并作了冷冻切片观察, 结果发现, 冻结速率对具有一定细胞形态的鲢肌蛋白质的冷冻变性有一定的影响, 对无完整细胞形态的碎鱼肉和鱼糜基本无影响。而冻藏温度对鱼肌、碎鱼肉和鱼糜蛋白质冷冻变性都有显著的影响, 即温度越低, 变性越小, 而抗冻剂可有效防止蛋白质的冷冻变性, 尤其是使鱼糜肌原纤维蛋白质的稳定性大大提高。

**关键词:** 鲢; 鱼糜; 蛋白质冷冻变性; 冻结速率; 冻藏温度

**中图分类号:** S931.1 **文献标识码:** A

## Effects of freezing rate and frozen stored temperature on freeze denaturation of *Hypophthalmichthys molitrix* muscle protein

WANG Zhi-He, WANG Zao, SU De-Fu

(College of Food Science, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

**Abstract:** The effects of freezing rate and storage temperature on Ca-ATPase activity and salt-solubility of myofibrillar protein in Silver Carp muscle were studied in this paper. The results show that the freezing rate might have an effect on freeze denaturation of muscle protein in round fish with intact muscle tissue to a certain degree, but almost no effect on protein denaturation of minced fish or surimi as muscle structure destroyed, no matter in which were cryoprotectants added or not. However, the frozen stored temperature showed the freeze denaturation of protein in round fish evidently and in minced fish and surimi as well, the lower the frozen temperature, the less the extent of freeze denaturation. It was also observed that the freeze denaturation of myofibrillar protein in fish muscle could be efficiently reduced by the addition of cryoprotectants especially in of minced fish or surimi.

**Key words:** *Hypophthalmichthys molitrix*; surimi; protein freezing denaturation; freezing rate; frozen storage temperature

我国 2000 年的淡水鱼产量达 1740.3 万吨, 占我国渔业总产量的 40.7%, 占世界淡水鱼产量的 58%, 其中鲢鱼的产量高达 484 万吨, 是世界上捕捞量最大的十大类鱼种之一<sup>[1]</sup>。在其作为冷冻鱼糜和鱼糜制品的研究中, 王翥等<sup>[2]</sup>研究了其肌原纤维蛋白的热稳定性; 陶妍<sup>[3]</sup>研究了季节温度变化对肌原纤维蛋白热稳定性的影响; 上海水产大学中日合作研究室在加热时间和加热方法对凝胶形成的影响上作了一定的研究<sup>[4]</sup>。汪之和和王翥<sup>[5]</sup>在漂洗次数、漂洗液 pH 和漂洗液种类等因素对蛋白质冷冻变性的

收稿日期: 2001-08-17

基金项目: 农业部渔业局重点科研项目资助(渔 85 - 93 - 青 - 10)

第一作者: 汪之和(1958 - ), 男, 江苏宜兴人, 副教授, 硕士, 主要从事水产品加工与综合利用的研究。Tel: 021 - 65710223, E-mail:

zhuwang@shfu.edu.cn

影响作过一些研究,冻结速率和冻藏温度对具有完整肌纤维的鱼肌蛋白质的冷冻变性也已有研究,但其对碎鱼肉和鱼糜等不同形态和成分的肌肉组织的影响则尚未见报道。本实验主要从肌原纤维 Ca-ATPase 活性、盐溶性蛋白溶解度等指标研究了冻结速率和冻藏温度对白鲢不同形态肌肉蛋白质冷冻变性以及抗冻剂对蛋白质稳定性的影响,并进行了冷冻切片的观察。

## 1 材料和方法

原料处理:整鱼(白鲢背肌)、碎鱼肉、鱼糜、含抗冻剂碎鱼肉、含抗冻剂鱼糜,分别于 -18 和 -40 条件下慢冻(10h)和速冻(1h),然后,再将每种样品分成二份,分别于 -18 和 -40 冻藏六个月。

添加抗冻剂<sup>[6]</sup>:在一部分碎鱼肉和鱼糜中添加 4%蔗糖和 4%山梨醇。

测试方法:肌原纤维 Ca-ATPase 活性的测定方法见文献[7]、盐溶性蛋白含量的测定方法见文献[8]、鱼肌冷冻切片观察用文献[9]的方法。

## 2 结果和讨论

### 2.1 冻结速率对肌原纤维蛋白变性的影响

#### 2.1.1 冻结速率对不同形态鱼肌肌原纤维 Ca-ATPase 的影响

鲢背肌在 -18 的慢冻中其肌原纤维 Ca-ATPase 的失活率比 -40 条件下速冻增加了 8.5%,而碎鱼肉、鱼糜在慢冻中 Ca-ATPase 的失活率仅比速冻增加了 1.2%和 2.4%(图 1)。

#### 2.1.2 冻结速率对不同形态鱼肌盐溶性蛋白的影响

鲢背肌在 -18 慢冻中,盐溶性蛋白溶解度下降的幅度比 -40 速冻增加了 5.1%,而碎鱼肉、鱼糜在二种冻结速率下下降的幅度基本相同,相差仅为 1%左右(图 2)。

由图 1 和图 2 的数据表明,冻结速率对鲢整肌的蛋白质冷冻变性有明显影响,而对碎鱼肉和鱼糜则无明显影响。同时,对同一形态的肌肉组织的数据进行比较,可发现盐溶性蛋白溶解度在冻结后下降的幅度大于 Ca-ATPase 活性的失活,推测肌球蛋白杆部比头部的 S1 片段更易发生冷冻变性。

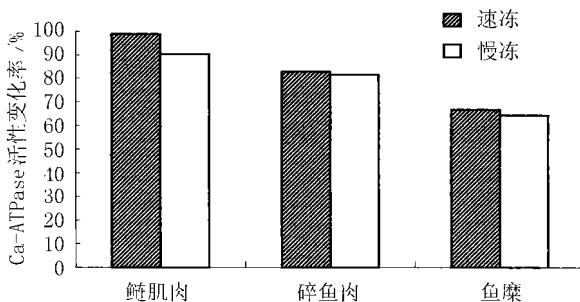


图 1 冻结速度对肌原纤维 Ca-ATPase 活性的影响

Fig. 1 Effect of freezing rate on myofibrillar Ca-ATPase activity

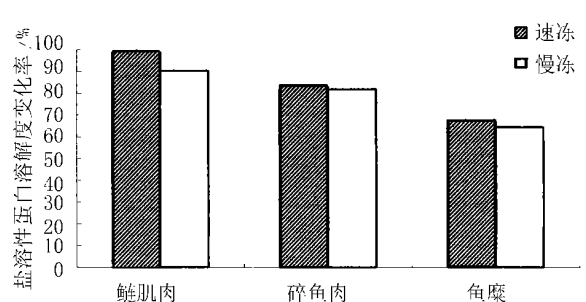


图 2 冻结速率对鱼肌盐溶性蛋白的影响

Fig. 2 Effect of freezing rate on the solubility of salt soluble protein of fish muscle

#### 2.1.3 冷冻对鲢肌组织的影响

由图 3 显示,在肌肉细胞速冻后,可看到细胞内外独立存在的冰晶,细胞形态基本上保持完整,所以,肌原纤维 Ca-ATPase 的失活和肌球蛋白杆部的变性都很小,而慢冻后,肌细胞内的冰晶有所增大,有少部分冰晶已连接成块,说明有一部分肌细胞已破坏,在内压增加和细胞已部分破裂的情况下,酶的失活和肌球蛋白变性就增加,也就表现为冻结速率对整鱼鱼肌的酶活性有影响,而将碎鱼肉慢、速冻后,从切片上可看到冰晶都已连成一片,即两者肌细胞基本上已没有完整的形态,说明经采肉后,由于机器的挤压而导致了大部分细胞破裂,根据细胞生物学的概念<sup>[10]</sup>,细胞结构的破坏会导致细胞液的大量流失,

使维持细胞内部结构稳定的因素被破坏,这就极易导致酶在冻结中活性下降和肌球蛋白的变性。同样,由于肌细胞已破裂,也就不存在冰晶形成的大小所形成的压力对酶活性和肌球蛋白变性的影响,所以慢、速冻对碎鱼肉酶活性变化的影响甚小,由此推测,碎鱼肉经漂洗后,除去了肌原纤维周围的大部分物质,对内环境的破坏更大,所以鱼糜中酶的失活和肌球蛋白的下降幅度更大。

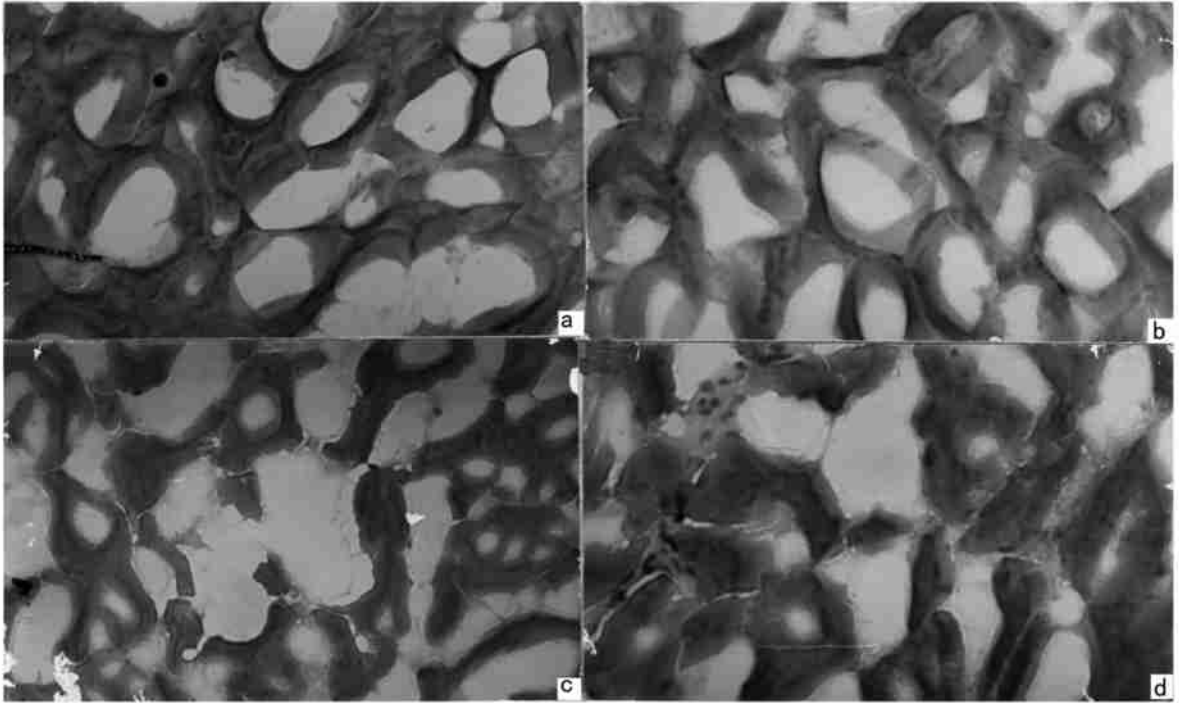


图3 鲢肌肉和碎鱼肉缓、速冻后的组织切片

Fig.3 Freezing cutting film of silver carp muscle after slowly and fastly freezing

- a. 鲢速冻后肌肉组织横切面 b. 鲢慢冻后肌肉组织横切面  
c. 鲢碎鱼肉速冻后切片 d. 鲢碎鱼肉慢冻后切片

## 2.2 冻藏温度对肌原纤维蛋白变性的影响

### 2.2.1 冻藏温度对肌原纤维 Ca-ATPase 活性的影响

鲢鱼肌经慢、速冻后, - 40 冻藏比 - 18 冻藏 Ca-ATPase 失活率低 15.6%和 19.3%,同样条件下碎鱼肉低 21.5%和 15.9%,鱼糜低 19%和 18.8%(图4)。由此可见,冻藏温度对任何形态鱼肌组织中 Ca-ATPase 都有显著的影响。

此外,从图4直线的斜率显示,斜率越大,酶的稳定性也就越差,这与一般用 Ca-ATPase 的失活速率常数  $K_D$  值的表示方法是一致的。一般而言酶在 - 18 条件下冻藏其  $K_D$  值较在 - 40 下大 2~3 倍,因此, - 40 冻藏酶的稳定性显著强于 - 18。

### 2.2.2 冻藏温度对肌肉盐溶性蛋白的影响

由图5可知,鲢整肌、碎鱼肉和鱼糜经缓冻后在 - 18 条件下冻藏,其盐溶性蛋白溶解度比在 - 40 冻藏条件下降了 21.8%、42.5%和 18.2%,而三种样品速冻后在 - 18 冻藏比 - 40 冻藏其盐溶性蛋白分别下降了 22.1%、37.5%和 17.1%,这就充分显示,冻藏温度对三种形态肌组织的蛋白质冷冻变性都有显著的影响,这与须山三千三<sup>[11]</sup>对海水鱼研究的结果是一致的,即贮藏温度比冻结速率更重要,而且冻藏温度越低,蛋白质变性越小。图5还显示,冻藏中,碎鱼肉和鱼糜蛋白质冷冻变性的程度大于整肌。此外,实验发现,在冻藏中盐溶性蛋白下降程度比 Ca-ATPase 的失活为大,进一步说明肌球蛋白

白的杆部比头部更易变性,这与 Yoshikama 对海水鱼研究的现象基本一致<sup>[12]</sup>。

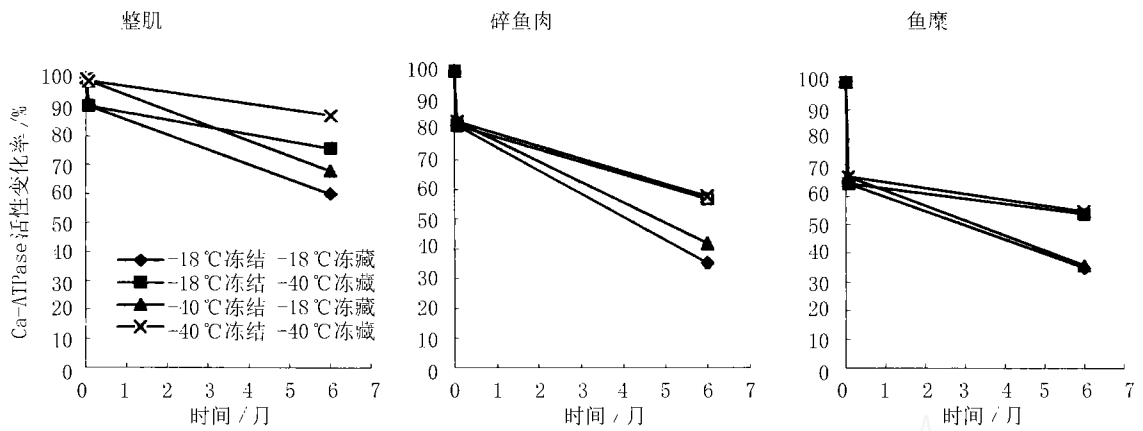


图4 冻藏温度对肌原纤维 Ca-ATPase 活性的影响  
Fig. 4 Effect of frozen storage on myofibrillar Ca-ATPase activity

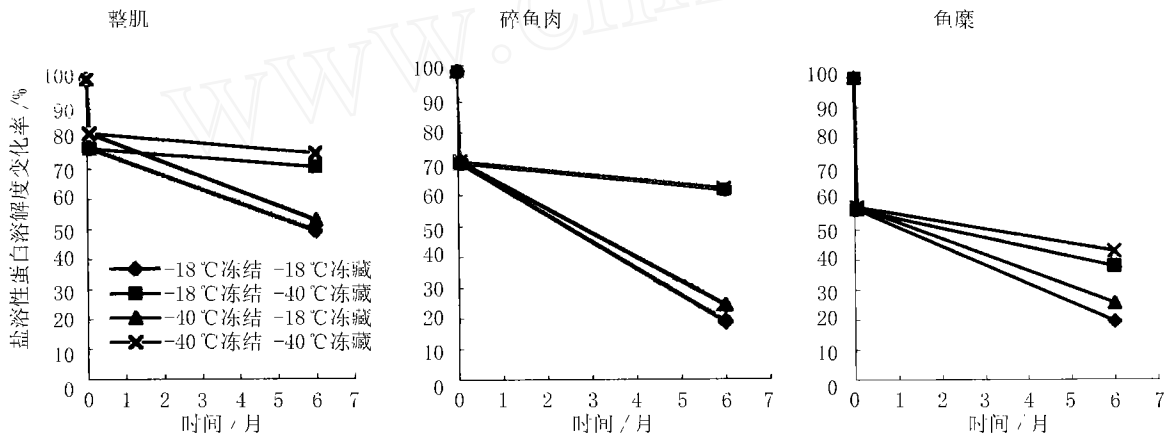


图5 冻藏温度对鱼肌盐溶性蛋白的影响  
Fig. 5 Effect of frozen storage on the solubility of salt soluble protein of fish muscle

### 2.3 抗冻剂对肌原纤维蛋白稳定性的影响

#### 2.3.1 抗冻剂对肌原纤维 Ca-ATPase 活性的影响

含抗冻剂的碎鱼肉,缓冻中 Ca-ATPase 活性仅比速冻样品低 1.3%。而在含抗冻剂鱼糜中只低 2.3%(图6),说明冻结速率对含抗冻剂的碎鱼肉和鱼糜肌原纤维蛋白质变性基本无影响。与无抗冻剂样品相比较,碎鱼肉 Ca-ATPase 失活率下降了 5%左右,而鱼糜 Ca-ATPase 失活率下降了 22%左右,由此可见,抗冻剂防止鱼糜肌原纤维蛋白质变性的效果明显高于碎鱼肉。

由图7可知,添加抗冻剂后,碎鱼肉在-18 冻结后,分别于-18 和-40 冻藏,其肌原纤维 Ca-ATPase 活性比相应的无抗冻剂样品提高了 7.4%和 12.2%。在-40 冻结后再分别于-18 和-40 冻藏,Ca-ATPase 活性提高了 14.1%和 14.1%,而在

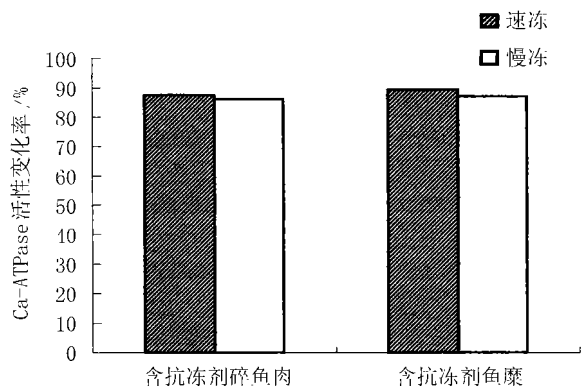


图6 冻结速率对含抗冻剂碎鱼肉和鱼糜肌原纤维 Ca-ATPase 活性的影响  
Fig. 6 Effect of freezing rate on myofibrillar Ca-ATPase activity of cryoprotectants minced fish and surimi

鱼糜中添加抗冻剂后,在-18℃冻结-18℃冻藏和-40℃冻结-18℃冻藏,在-40℃冻结-18℃冻藏和-40℃冻结-40℃冻藏,在-40℃冻结-18℃冻藏和-40℃冻结-40℃冻藏四个样品中,其Ca-ATPase的活性比相应的无抗冻剂鱼糜分别提高了32.8%,28.7%,33.9%和32.1%。由此可见,添加抗冻剂后肌原纤维Ca-ATPase活性的下降受到了很大程度的抑制,这一现象在鱼糜中尤为显著,即抗冻剂可有效地提高肌球蛋白的稳定性。

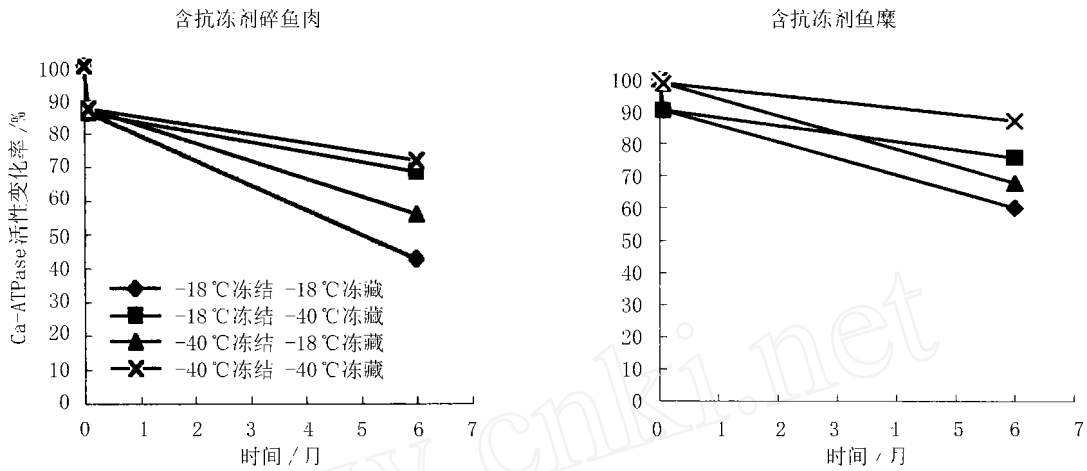


图 7 含抗冻剂样品在冻藏中 Ca-ATPase 活性变化

Fig. 7 Variation of Ca-ATPase activity of cryoprotectants samples during frozen storage

### 2.3.2 抗冻剂对盐溶性蛋白变性的影响

由图8可知,含抗冻剂碎鱼肉和鱼糜在缓冻中盐溶性蛋白溶解度仅比速冻分别低0.8%和3.3%,即冻结速率对含抗冻剂碎鱼肉和鱼糜肌原纤维蛋白质变性基本上没有影响。而与无抗冻剂样品相比,含抗冻剂碎鱼肉在-18℃和-40℃冻结中蛋白质变性比无抗冻剂碎鱼肉分别下降了8.6%和9.0%,而在鱼糜中则分别下降了31.1%和33.4%,与肌原纤维Ca-ATPase活性的变化结果基本一致。

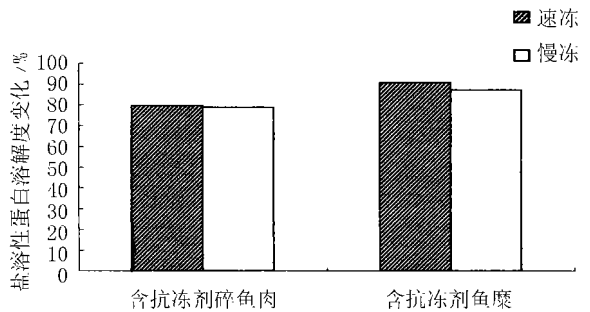


图 8 冻结速率对含抗冻剂碎鱼肉和鱼糜盐溶性蛋白溶解度的影响

Fig. 8 Effect of freezing rate on the solubility of salt soluble protein of cryoprotectants samples during frozen storage

由图9可知,碎鱼肉慢、速冻后,-40℃冻藏比-18℃冻藏盐溶性蛋白溶解度分别高42.5%和29.9%,而在鱼糜中则分别高19.4%和21.7%,即冻藏温度越低,含抗冻剂蛋白质变性程度也越小。此外,含抗冻剂碎鱼肉缓冻后于-18℃和-40℃冻藏,速冻后于-18℃和-40℃冻藏其盐溶性蛋白变性程度比无抗冻剂样品分别下降了13.3%、0.7%、11%和5%,而含抗冻剂鱼糜在同一条件下其盐溶性蛋白变性比无抗冻剂样品分别低30.5%、29.7%、25.7%和30.3%,说明抗冻剂的加入起到了稳定肌原纤维蛋白质的作用。

从Ca-ATPase和盐溶性蛋白溶解度的变化显示,鱼糜比碎鱼肉更易变性,而抗冻剂对防止鱼糜肌原纤维蛋白质变性比碎鱼肉更明显。实验中还发现,碎鱼肉和鱼糜肌肉中水溶性蛋白质非常稳定,冻结速率和冻藏温度对其基本无影响,即水溶性蛋白质不产生冷冻变性。而碎鱼肉经漂洗后灰分和脂肪含量也都有明显下降,因此,推测碎鱼肉中水溶性蛋白质、金属离子和脂肪成分对肌原纤维蛋白质有一定的稳定作用。同样,抗冻剂蔗糖和山梨醇的-OH基团能与鱼糜肌原纤维蛋白质周围的水分子形成稳定的结构,而碎鱼肉中的水溶性蛋白等成分在一定程度上影响到这种稳定结构的形成,此外,离子强度大于0.2就可能影响到肌球蛋白

的稳定,这也许就是抗冻剂防止鱼糜蛋白质冷冻变性的效果明显高于碎鱼肉的原因之一。

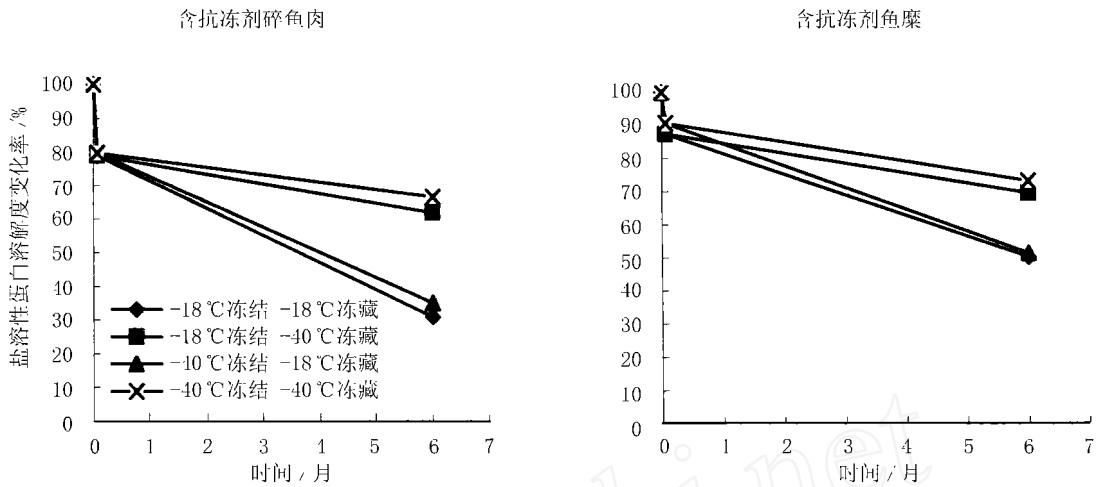


图9 含抗冻剂样品在冻藏中盐溶性蛋白的变化

Fig.9 Variation of the solubility of salt soluble protein of cryoprotectants during frozen storage

### 3 结论

(1) 冻结速率对鱼肌蛋白质冷冻变性有一定的影响,而对碎鱼肉、鱼糜不管是否添加抗冻剂均无显著影响。

(2) 冻藏温度对任何形态的肌肉组织蛋白质的冷冻变性均有显著影响。冻藏温度越低,蛋白质冷冻变性程度就越小。

(3) 鱼糜中肌原纤维蛋白质比碎鱼肉中的更易变性,抗冻剂对降低鱼糜蛋白质冷冻变性的效果比碎鱼肉更显著。

(4) 水溶性蛋白质基本上不发生冷冻变性。

### 参考文献

- [1] 中华人民共和国农业部渔业局. 中国渔业统计年鉴[Z]. 2001, 51 - 56.
- [2] Wang Z, Hu F, Lou Z Y, seasonal effect on thermostability of myofibrillar Ca-ATPase in freshwater fish muscle[J]. Journal of aquatic food product technology, 1999, 6 (2) : 5 - 15 .
- [3] 陶 妍. 淡水鱼肌动球蛋白特性的研究[D]. 研究生毕业论文. 2000. 6.
- [4] 福田裕,陈舜胜,王锡昌,等. 淡水鱼冷冻鱼糜的开发[A]. 中日合作淡水渔业资源加工利用技术报告报告文集[C]. 1999. 3.
- [5] 汪之和,王 翀. 漂洗条件对鲢鱼糜蛋白质冷冻变性的影响[J]. 上海水产大学学报, 1999, (3) : 210 - 214.
- [6] 天津轻工业学院食品工业教研室. 食品添加剂[M]. 北京:轻工业出版社,1978. 331 - 332, 486 - 496.
- [7] 万建荣,洪玉菁,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. 139 - 163.
- [8] 福田裕,柞木田善治,川春满ら. 冻结 および贮藏 における マサバ筋原纤维 タンパク质 の变性[J]. 日本水产学会志, 1982, 48 (11) : 1627 - 1632.
- [9] 曾小鲁,程景福,戴惠娟,等. 实用生物学制片技术[M]. 北京:高等教育出版社, 1989. 75 - 85.
- [10] 郑国鎔. 细胞生物学[M]. 北京:高等教育出版社, 1980. 67 - 97.
- [11] 吴光红等译. 水产食品学[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1987. 22 - 47.
- [12] Yoshikawa Kuniaki. Changes of the solubility and ATPase activity of Carp myofibrils during frozen storage at different temperature[J]. Fisheries Science, 1995, 61 (5) : 804 - 812.