

臭氧减菌化处理罗非鱼片冰温贮藏过程中 蛋白质生化特性的变化

张红杰^{1,2}, 赵永强¹, 李来好^{1*}, 杨贤庆¹, 郝淑贤¹,
魏 涯¹, 岑剑伟¹, 李 娜^{1,2}

(1. 中国水产科学研究院南海水产研究所,农业部水产品加工重点实验室,
国家水产品加工技术研发中心,广东 广州 510300;
2. 上海海洋大学食品学院,上海 201306)

摘要:为研究臭氧减菌化处理罗非鱼片在冰温贮藏过程中蛋白质生化特性变化规律,本研究对冰温贮藏过程中经臭氧处理罗非鱼片肌原纤维蛋白盐溶性、 Ca^{2+} -ATPase 活性、表面疏水性和巯基及羰基含量变化进行了评价。结果显示,在冰温贮藏过程中,臭氧处理组和对照组罗非鱼片蛋白质均发生了不同程度的变性,表现为随贮藏时间的延长,肌原纤维蛋白盐溶性、 Ca^{2+} -ATPase 活性及巯基含量均呈下降趋势,而肌动球蛋白表面疏水性和羰基含量则呈上升趋势;冰温贮藏 20 d 后,臭氧处理组罗非鱼片肌原纤维蛋白盐溶性、 Ca^{2+} -ATPase 活性和巯基含量分别下降了 76.57%、89.76% 和 66.72%,而对照组则分别下降了 69.05%、86.45% 和 62.29%;另一方面,臭氧处理组罗非鱼片肌动球蛋白表面疏水性和羰基含量分别上升了 111.75% 和 76.46%,对照组则分别上升了 104.77% 和 58.23%。在同一贮藏时间臭氧处理组罗非鱼片肌原纤维蛋白盐溶性、 Ca^{2+} -ATPase 活性及巯基含量较对照组低,而肌动球蛋白表面疏水性和羰基含量较对照组高。臭氧水的氧化性及处理过程中产生的 ROS 加速了冰温贮藏过程中罗非鱼肌肉蛋白质的变性。

关键词:罗非鱼片;臭氧减菌化;冰温贮藏;生化特性

中图分类号:TS 254.1

文献标志码:A

罗非鱼蛋白质含量丰富,是世界水产业重要的淡水养殖鱼类。中国是世界最大的罗非鱼养殖生产国和出口贸易国,2013 年中国罗非鱼养殖总产量达 165.8 万 t,全年加工量达 86.7 万 t,较 2012 年加工量(62.3 万 t)增加约 39.1%^[1]。2013 年,罗非鱼总出口量与总出口额分别为 40.4 万 t 与 14.49 亿美元,同比增长分别为 11.51% 与 24.55%,主要出口形式为冻罗非鱼片^[2-3]。罗非鱼现已发展成为我国最具国际竞争力的水产养殖品种之一。

臭氧是一种广谱高效的抗菌剂,可在短时间

内杀死细菌、真菌及其孢子和病毒等绝大多数微生物^[4],被广泛应用于水产品减菌化处理、加工设备的清洗与消毒及产品货架期的延长等方面^[5-6]。此外,臭氧减菌化处理后多余的 O_3 在空气中会自然还原为 O_2 ,不会造成残留及污染^[4]。因此,臭氧减菌化处理作为环境友好型技术正不断被罗非鱼加工企业和消费者所接受。有研究表明, O_3 在水中可降解生成超氧阴离子自由基($\text{O}_2^- \cdot$)、羟基自由基($\cdot\text{OH}$)及氢化臭氧自由基($\text{HO}_3^- \cdot$)等具有较高反应活性的活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS),ROS 的强氧化性

收稿日期:2015-03-26

修回日期:2015-05-29

资助项目:国家现代农业(罗非鱼)产业技术体系建设专项(CARS-49);国家科技支撑计划(2015BAD17B03,2015BAK36B06);国家自然科学基金(31401563,31271957);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(2014TS06);中国水产科学研究院基本科研业务费专项(2015B06YQ01)

通信作者:李来好,E-mail:laihaoli@163.com

在起到杀菌作用的同时可加速鱼肉蛋白质的变性^[7-9]。蛋白质是鱼类肌肉中最主要的组成成分,当水产品蛋白质变性后,其分子结构松散,容易被蛋白酶水解,会直接影响到水产品的鲜度及营养价值。迄今为止,鲜见有关臭氧减菌化处理罗非鱼片冰温贮藏过程中蛋白质生化特性变化的研究。本研究通过测定臭氧处理后尼罗罗非鱼(*Nile tilapia, Oreochromis niloticus*)片冰温贮藏过程中肌原纤维蛋白盐溶性、Ca²⁺-ATPase活性、表面疏水性、巯基及羰基含量变化,探究臭氧处理后罗非鱼片冰温贮藏条件下蛋白质生化特性的变化规律,为罗非鱼片的减菌化处理及保藏提供理论基础。

1 材料与方 法

1.1 实验仪器和材料

Transsonic T1-H-10型超声波清洗仪,德国ELMA公司;Milli-Q去离子水纯化系统,美国Millipore公司;T50型均质机,德国IKA公司;FM400A型制冰机,美国Grant公司;Cary Eclipse型荧光分光光度计,美国VARIAN公司;BS124S型电子天平,德国Sartorius公司;HWS24型电热恒温水浴锅,上海一恒科学仪器有限公司;CFS-500型臭氧水一体机,北京山美水美高科技有限公司;UV2550型紫外-可见分光光度计,日本SHIMADZU公司;3K30型台式高速冷冻离心机,德国Sigma公司;BS-224S型电子分析天平,德国Sartorius公司。

蛋白质定量试剂盒(考马斯亮蓝法)、总巯基含量测试盒、Ca²⁺-ATPase活性测试盒和蛋白质羰基含量测试盒均购买于南京建成生物科技有限公司;1-苯胺基-8-萘磺酸(ANS)探针购于美国Sigma公司;其他常规试剂均为分析纯,购于广州化学试剂厂。

鲜活罗非鱼体长(20±5)cm,体质量(500±100)g,购于广州华润万家超市。

1.2 罗非鱼样品处理

罗非鱼清水洗净,经击昏、放血、去鳞、剖片、冲洗和沥水后得到等量2组罗非鱼片,A组(对照组)未经臭氧水处理,B组经4.0mg/L流动臭氧水处理30min,将A、B2组样品分别放入封口袋中,封口密闭标记后置于装有碎冰的封闭泡沫箱中保存,样品上下冰层厚度均约为10cm,每24h

换1次冰,分别于贮藏第0、2、4、8、12、16和20天取样进行测定。

1.3 实验方法

肌动球蛋白提取 参考Benjakul等^[10]的方法并略作修改,取罗非鱼肉2.0g,加入20mL预先冰浴冷却的KCl溶液(0.6mol/L、pH7.0),冰浴条件下均质(10000r/min)分散2min,每均质10s停10s,以防过热。然后将分散液在4℃下离心(10000r/min)30min,取上清液并加入3倍上清液体积的预先冰浴冷却的超纯水,离心(4℃、10000r/min)20min,最后在沉淀中加入相同体积预先冰浴冷却的KCl溶液(1.2mol/L、pH7.0),冰浴条件下放置30min后于4℃下以10000r/min离心20min,离心后所得上清液即为肌动球蛋白溶液。

肌原纤维蛋白盐溶性的测定 具体测定方法参照南京建成公司蛋白质定量测试盒(考马斯亮蓝法)指导方法进行。

肌原纤维蛋白Ca²⁺-ATPase活性的测定 具体测定方法参照南京建成公司Ca²⁺-ATPase活性测试盒指导方法进行。

肌动球蛋白表面疏水性的测定 参考Yongsawatdigula等^[11]的方法并略作修改,将提取出来的肌动球蛋白用含0.6mol/LKCl的磷酸缓冲溶液(20mmol/L、pH7.0)分别稀释至一定浓度(0、0.1、0.3、0.6和1.0mg/mL),分别取以上不同浓度的混合液2.0mL,加入10μL8mmol/L的ANS探针溶液,混合均匀,置于黑暗处反应10min后,在荧光分光光度计上测定其荧光强度(设定激发波长为367nm,发射波长为472nm,狭缝宽度为5nm),相对荧光强度计算公式:

$$R = (F - F_0) / F_0$$

式中,R为相对荧光强度;F为含有肌动球蛋白的ANS溶液荧光强度,F₀为不含肌动球蛋白的ANS溶液荧光强度。以肌动球蛋白的浓度为横坐标,相对荧光强度R为纵坐标作图,所得直线的斜率即为肌动球蛋白的表面疏水性。

肌动球蛋白巯基含量的测定 具体测定方法参照南京建成公司总巯基含量测试盒指导方法进行。

罗非鱼鱼肉组织中羰基含量的测定 具体测定方法参照南京建成公司蛋白质羰基含量测试盒指导方法进行。

1.4 数据分析与统计

实验数据采用 Microsoft[®] Excel 2010 和 IBM[®] SPSS[®] Statistics Version 19 进行分析。单因素方差 (One - Way ANOVA) 分析,采用 LSD 检验组内的差异,实验组与对照组数据采用配对样本 *t* 检验进行差异比较分析, $P < 0.05$ 作为差异显著的标志。各组计算数据均以平均值 \pm 标准差 (mean \pm SD) 表示。

2 结果与分析

2.1 肌原纤维蛋白盐溶性变化

鱼类肌原纤维蛋白由肌动蛋白、肌球蛋白和调节蛋白 (包括原肌球蛋白、肌钙蛋白和辅肌蛋白等) 组成,其中肌动蛋白与肌球蛋白结合可形成肌动球蛋白,在 ATP 参与下,肌动球蛋白不仅与肌肉收缩和死后僵硬有关,而且与鱼肉蛋白变性密切相关^[12]。因此,肌原纤维蛋白盐溶性可作为反映鱼肉蛋白变性的常用指标之一。

2 组罗非鱼片肌肉组织中肌原纤维蛋白盐溶性在贮藏的第 2 天较贮藏初期 (第 0 天) 均略有上升,之后到贮藏的第 12 天呈显著下降趋势 ($P < 0.05$),随后趋于平缓 (图 1)。罗非鱼体内 ATP 可阻碍或减弱肌动蛋白与肌球蛋白结合生成肌动球蛋白,贮藏初期,ATP 含量迅速减少,阻碍作用减弱,肌动球蛋白含量升高^[10]。贮藏期间,2 组罗非鱼片的肌原纤维蛋白盐溶性均显著下降,到贮藏结束时,臭氧处理组较贮藏初期下降了 76.57%,对照组下降了 69.05%。这可能是由于蛋白质逐渐变性,分子间疏水性残基相互交联形成不溶性聚集体,从而导致蛋白质盐溶性下降。在同一贮藏时间,臭氧处理组肌原纤维蛋白盐溶性较对照组低,且配对样本 *t* 检验结果表明臭氧处理组与对照组间差异显著 ($P < 0.05$),这说明臭氧处理过程中产生的 ROS 加速了肌原纤维蛋白质的变性。Ooizumi 等^[13]研究了 $\cdot\text{OH}$ 氧化体系 (0.1 mmol/L FeCl_3 、0.1 mmol/L 抗坏血酸和 0 ~ 20 mmol/L 间不同浓度的 H_2O_2 氧化还原反应产生 $\cdot\text{OH}$) 对鸡肉肌原纤维蛋白盐溶性变化的影响,结果表明,鸡肉肌原纤维蛋白的盐溶性随作用时间的延长和 H_2O_2 浓度的升高呈下降趋势。

2.2 Ca^{2+} -ATPase 活性变化

肌原纤维蛋白中的肌球蛋白球状头部 (S_1) 位置具有 ATPase 作用位点,其能被 Ca^{2+} 激活,

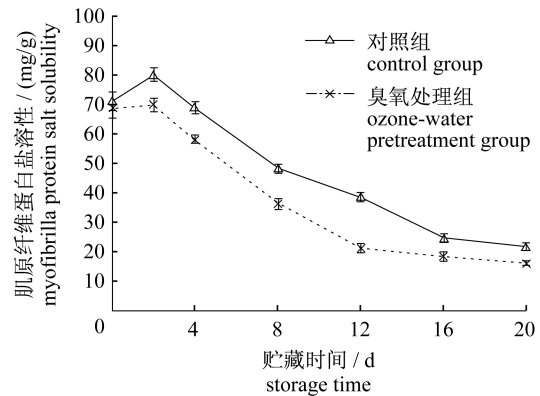


图 1 冰温贮藏过程中罗非鱼片肌肉组织中肌原纤维蛋白盐溶性变化规律

Fig. 1 Changes in myofibrillar protein salt solubility of Nile tilapia fillets during iced storage

Ca^{2+} -ATPase 活性的大小可以直接反映肌球蛋白分子球状头部的变性情况^[14]。因此,肌动球蛋白的 Ca^{2+} -ATPase 活性可作为评价蛋白质变性程度的重要指标。

2 组罗非鱼片肌肉组织中 Ca^{2+} -ATPase 活性均随贮藏时间的延长而显著下降 ($P < 0.05$),尤其是在贮藏的初期 (第 0 ~ 8 天) 下降速度较快。其中,臭氧处理组罗非鱼片 Ca^{2+} -ATPase 活性由贮藏初期 (第 0 天) 的 3.71 U/mg prot 下降到贮藏第 20 天的 0.38 U/mg prot ($P < 0.05$),下降了约 89.76%;对照组罗非鱼片 Ca^{2+} -ATPase 活性由贮藏初期 (第 0 天) 的 4.06 U/mg prot 下降到贮藏第 20 天的 0.55 U/mg prot ($P < 0.05$),下降了约 86.45% (图 2)。林琳等^[15]的研究结果表明,草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 在低温 (4 °C) 贮藏过程中肌原纤维蛋白 Ca^{2+} -ATPase 活性呈下降趋势,贮藏 9 d 后其活性下降了 67.74%,与本研究结果一致。在同一贮藏时间,臭氧处理组罗非鱼片 Ca^{2+} -ATPase 活性较对照组低 ($P < 0.05$) (图 2),这表明臭氧处理后罗非鱼片肌动球蛋白球状头部结构变化程度较对照组大,这可能是由于臭氧水的强氧化性及臭氧水处理过程中产生的 ROS 加速破坏了肌动球蛋白分子的球状头部结构所致。

2.3 肌动球蛋白表面疏水性变化

疏水相互作用是维持蛋白质三级结构稳定性最重要的作用力。疏水键是疏水侧链为避开水相而聚集在一起的相互作用,由于蛋白质属于大分子结构,表面疏水性 (或有效疏水性) 比整体的疏

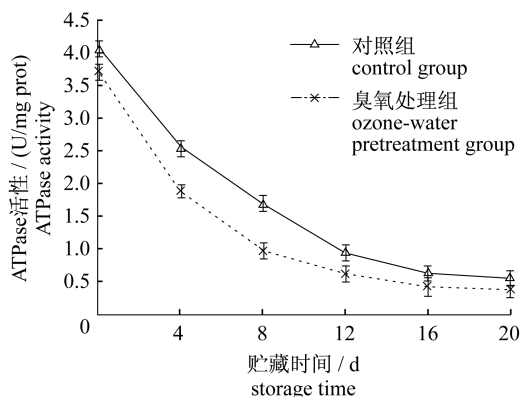


图2 冰温贮藏过程中罗非鱼片肌肉组织中 Ca^{2+} -ATPase 活性变化规律

Fig. 2 Changes in Ca^{2+} -ATPase activity of Nile tilapia fillets during iced storage

水性对维持蛋白质的稳定性、构象和功能特性更具有意义^[16]。蛋白质的表面疏水性能够反映蛋白质分子表面疏水性氨基酸的相对含量,因此可用其来表征蛋白质的变性程度^[17]。

冰温贮藏期间,2组罗非鱼片肌动球蛋白表面疏水性均随着贮藏时间的延长呈上升趋势,尤其是在贮藏初期(第0~8天)上升速度较快,随后趋于平缓(图3)。其中,臭氧处理组罗非鱼片肌动球蛋白表面疏水性由贮藏初期(第0天)的42.81上升到贮藏结束时(第20天)的90.65,上升了约111.75%;对照组罗非鱼片肌动球蛋白表面疏水性由贮藏初期(第0天)的40.70上升到贮藏结束时(第20天)的83.34,上升了约104.77%。肌动球蛋白表面疏水性的增加是由于随着贮藏时间的延长,鱼肉组织蛋白质不断降解和变性,肽链逐渐展开,原先位于蛋白质分子内部的一些疏水性氨基酸会逐渐暴露在蛋白质分子表面,进而导致疏水性增加^[18-19]。Benjakul等^[19]研究了冻藏过程中印度洋金线鱼(*Nemipterus bleekeri*)、长尾大眼鲷(*Priacanthus tayenus*)、短臂蛇鲻(*Saurida micropectoralis*)和石首鱼(*Pennahia macrophthalmus*)4种热带鱼肌肉蛋白理化特性的变化,结果表明印度洋金线鱼、长尾大眼鲷和石首鱼3种热带鱼肌动球蛋白表面疏水性均随冻藏时间的延长而呈上升趋势,与本研究结果相似。在同一贮藏时间,臭氧处理组罗非鱼片肌动球蛋白表面疏水性均较对照组高,这可能是由于臭氧减菌化处理过程中产生的ROS加速了蛋白质分子内部疏水基团的暴露所致(图3)。

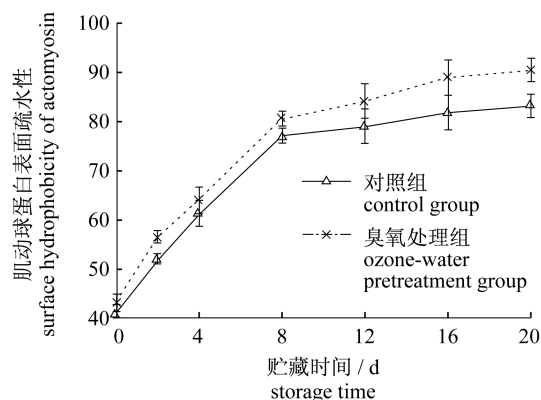


图3 冰温贮藏过程中罗非鱼片肌肉组织中肌动球蛋白表面疏水性变化规律

Fig. 3 Changes in surface hydrophobicity of actomyosin of Nile tilapia fillets during iced storage

2.4 肌动球蛋白总巯基含量变化

肌球蛋白分子中含有一定量的活性巯基(包括 SH_1 、 SH_2 和 SHa 3类),其具有较高的反应活性,被氧化后形成二硫键,而二硫键的形成是蛋白质变性的体现之一,因此通过测定总巯基含量的变化可以反映出鱼肉蛋白质的变性程度^[17]。

2组罗非鱼片肌动球蛋白总巯基含量在贮藏期间均呈显著下降趋势(图4)。其中,臭氧处理组罗非鱼片贮藏初期(第0天)的肌动球蛋白总巯基含量为 $75.72 \mu\text{mol/g prot}$,经过20 d的冰温贮藏后,下降到 $25.20 \mu\text{mol/g prot}$,下降了约66.72% ($P < 0.05$);对照组贮藏初期(第0天)的肌动球蛋白总巯基含量为 $76.50 \mu\text{mol/g prot}$,经过20 d的冰温贮藏后,下降到 $28.85 \mu\text{mol/g prot}$,下降了约62.29% ($P < 0.05$)。这是由于在贮藏过程中,肌原纤维蛋白的空间构象逐渐发生改变,埋藏在蛋白质分子内部的活性巯基暴露出来,使其更易于氧化形成二硫键,导致总巯基含量下降^[19]。在同一贮藏时间,臭氧处理组罗非鱼片肌动球蛋白总巯基含量低于对照组 ($P < 0.05$),这可能与臭氧水的强氧化性以及减菌化处理过程中产生的ROS有关,臭氧水和自由基加速了暴露出来的活性巯基氧化形成二硫键,进而加剧了蛋白质的变性(图4)。李艳青等^[20]研究了 $\cdot\text{OH}$ 氧化体系对鲤(*Cyprinus carpio*)肌原纤维蛋白活性巯基含量的影响,结果表明,随着 H_2O_2 浓度的增加及氧化时间的延长,肌原纤维蛋白活性巯基含量显著下降 ($P < 0.05$)。

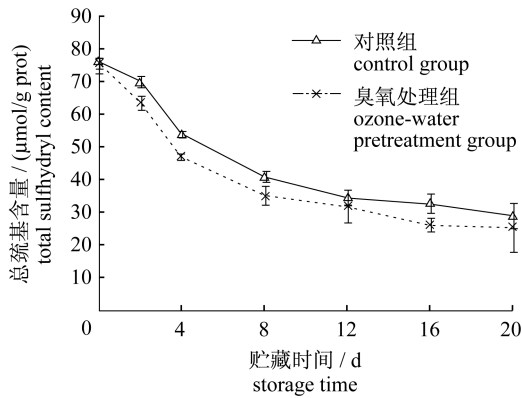


图 4 冰温贮藏过程中罗非鱼片肌肉组织中肌动球蛋白总巯基含量变化规律

Fig. 4 Changes in total sulfhydryl content of actomyosin of Nile tilapia fillets during iced storage

2.5 罗非鱼肌肉组织中羰基含量的变化

蛋白质中羰基(醛基和酮基)的形成是蛋白质发生氧化的显著标志之一,组织中蛋白质羰基含量可以反映出机体蛋白质氧化程度^[21]。2组罗非鱼片肌肉组织中的羰基含量均随贮藏时间的延长呈上升趋势,且在相同的贮藏时间臭氧处理组罗非鱼片肌肉组织中的羰基含量较对照组高(图5)。臭氧处理组罗非鱼片贮藏初期(第0天)的羰基含量为4.12 nmol/mg prot,经过8 d的贮藏后迅速上升到5.97 nmol/mg prot,到贮藏结束(第20天)时增加到7.27 nmol/mg prot,总体上升了约76.46%;对照组罗非鱼片贮藏初期(第0天)的羰基含量为3.95 nmol/mg prot,经过8 d的贮藏后迅速上升到5.46 nmol/mg prot,到贮藏结束(第20天)时增加到6.25 nmol/mg prot,总体上升了约58.23%。这表明,冰温贮藏的过程中,2组罗非鱼片蛋白质均不断发生氧化,蛋白质的氧化引起其构象变化,进而导致蛋白质变性。何雪莹^[22]研究了冰温保藏对鲤肌肉蛋白质理化特性的影响,结果表明在冰温贮藏过程中,鲤肌肉肌原纤维蛋白羰基含量呈上升趋势,与本研究结果相似。在贮藏过程中,臭氧处理组羰基含量始终高于对照组,表明臭氧处理组蛋白质氧化损伤程度较对照组大,这是由于臭氧水及处理过程中产生 ROS 的强氧化性加剧了蛋白质的氧化变性。李学鹏等^[23]研究了·OH 氧化体系对大泷六线鱼(*Hexagrammos otakii*)肌原纤维蛋白羰基含量的影响,结果表明,肌原纤维蛋白羰基含量随着作用时间的延长和 H₂O₂ 浓度的增加呈显著上升趋势。

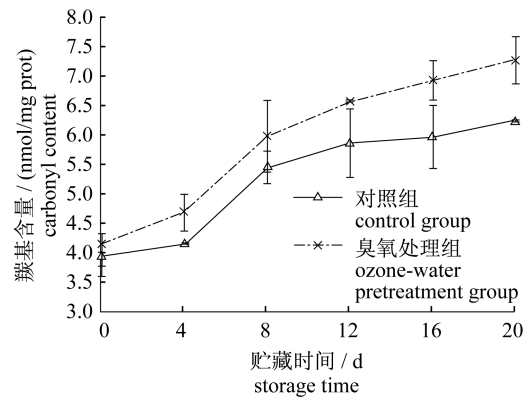


图 5 冰温贮藏过程中罗非鱼片肌肉组织中羰基含量变化规律

Fig. 5 Changes in carbonyl content of Nile tilapia fillets during iced storage

3 讨论

本研究发现,贮藏期间经 4.0 mg/L 流动臭氧水处理 30 min 后的罗非鱼片肌肉蛋白质变性速率较对照组明显加快。这可能与臭氧减菌化处理过程中产生的 ROS 有关。贮藏过程中,ROS 一方面可直接作用于蛋白质氨基酸残基侧链,使其氧化形成酮或醛类衍生物;另一方面 ROS 能够与脂质和糖类大分子反应,产生活性羰基类物质然后作用于蛋白质,形成羰基化蛋白^[24]。在 ROS 对蛋白质的氧化过程中,活性巯基氧化形成二硫键^[9],二硫键的形成产生分子间交联,使蛋白质分子更容易发生聚集和沉淀,从而降低了肌原纤维蛋白溶解度^[20]。ROS 对蛋白质的氧化严重破坏了其原有结构,使分子内部疏水基团暴露,疏水性提高^[20]。ROS 对肌动球蛋白分子球状头部结构的破坏使 Ca²⁺-ATPase 活性下降。Srinivasan 等^[25]对大西洋鳕(*Gadus morhua*)肌原纤维蛋白的研究及 Park 等^[26]对猪肉肌原纤维蛋白的研究均表明 ROS 可加速蛋白质变性,与本研究结果一致。

ROS 的强氧化性加速冰温贮藏过程中罗非鱼片肌肉的冷冻变性,使其持水力降低,凝胶能力下降,口感和质地也随之下降。因此在开展罗非鱼减菌化处理方法及贮藏条件研究的同时应重视减菌化处理过程中 ROS 引起的蛋白质变性问题。为了有效地抑制加工贮藏过程中 ROS 对水产品冷冻变性的影响,可在加工过程中添加抗氧化剂。多酚类物质是最常见的抗氧化剂,其具有较强的活性氧自由基清除能力,常用于水产品脂质氧化

抑制,但其用于水产品蛋白质氧化抑制仍具有争议。有研究表明,部分酚类物质对蛋白质羰基化有抑制作用^[27-30],相反地,亦有研究表明迷迭香酚和槲皮素可引起蛋白质羰基化作用^[31-32]。蛋白质氧化是一个高度复杂的过程,蛋白质组学技术提供了一个具体且强大的工具,可追踪和鉴定每个特定蛋白质的氧化状态^[28]。因此,今后可利用蛋白质组学技术探究某种特定酚类物质是否对罗非鱼肌肉蛋白质羰基化具有抑制作用。

参考文献:

- [1] Ministry of agriculture, fisheries bureau. China fishery statistical yearbook 2014[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2014. [农业部渔业渔政管理局. 中国渔业统计年鉴 2014. 北京: 中国农业出版社, 2014.]
- [2] Yuan Y M, Yuan Y, Dai Y Y, *et al.* Production status and development trend analysis on tilapia industry in 2013[J]. Chinese Fisheries Economics, 2014, 32(1): 149 - 156. [袁永明, 袁媛, 代云云, 等. 2013 年罗非鱼产业生产现状及发展趋势分析. 中国渔业经济, 2014, 32(1): 149 - 156.]
- [3] Zhang H Y, Yuan Y M, He Y H, *et al.* Analysis on export trade structure of tilapia in China[J]. Chinese Fisheries Economics, 2014, 32(2): 148 - 152. [张红燕, 袁永明, 贺艳辉, 等. 中国罗非鱼产品出口贸易结构分析. 中国渔业经济, 2014, 32(2): 148 - 152.]
- [4] Zhao Y Q, Li L H, Yang X Q, *et al.* Applications of ozone in aquatic products processing: a review[J]. South China Fisheries Science, 2013, 9(5): 149 - 154. [赵永强, 李来好, 杨贤庆, 等. 臭氧在水产品加工中应用综述. 南方水产科学, 2013, 9(5): 149 - 154.]
- [5] Crowe K M, Skonberg D, Bushway A, *et al.* Application of ozone sprays as a strategy to improve the microbial safety and quality of salmon fillets[J]. Food Control, 2012, 25(2): 464 - 468.
- [6] Diao S Q, Li L H, Cen J W, *et al.* Preservation effect of ozone water on anchovy (*Engraulis japonius*) during controlled freezing - point storage[J]. South China Fisheries Science, 2011, 7(3): 8 - 13. [刁石强, 李来好, 岑剑伟, 等. 冰温臭氧水对鲱保鲜效果的研究. 南方水产科学, 2011, 7(3): 8 - 13.]
- [7] Khadre M A, Yousef A E, Kim J G. Microbiological aspects of ozone applications in food: a review[J]. Journal of Food Science, 2001, 66(9): 1242 - 1252.
- [8] Morzel M, Gatellier P, Sayd T, *et al.* Chemical oxidation decreases proteolytic susceptibility of skeletal muscle myofibrillar proteins [J]. Meat Science, 2006, 73(3): 536 - 543.
- [9] Dean R T, Fu S, Stocker R, *et al.* Biochemistry and pathology of radical - mediated protein oxidation [J]. Biochemical Journal, 1997, 324(1): 1 - 18.
- [10] Benjakul S, Seymour T A, Morrissey M T, *et al.* Physicochemical changes in Pacific whiting muscle proteins during iced storage [J]. Journal of Food Science, 1997, 62(4): 729 - 733.
- [11] Yongsawatdigula J, Park J W. Thermal denaturation and aggregation of threadfin bream actomyosin [J]. Food Chemistry, 2003, 83(3): 409 - 416.
- [12] Li Z J, Xue Y. Chemistry of aquatic products [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007: 13 - 38. [李兆杰, 薛勇. 水产品化学. 北京: 化学工业出版社, 2007: 13 - 38.]
- [13] Ooizumi T, Xiong Y L. Biochemical susceptibility of myosin in chicken myofibrils subjected to hydroxyl radical oxidizing systems [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(13): 4303 - 4307.
- [14] Sultanawa Y, Li C E C. Structural changes in natural actomyosin and surimi from ling cod (*Ophiodon elongatus*) during frozen storage in the absence or presence of cryoprotectants [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(10): 4716 - 4725.
- [15] Lin L, Gao Y Y, Lu S, *et al.* Quality change of grass carp during chilled storage [J]. Food Science, 2009, 30(24): 433 - 435. [林琳, 高艳艳, 吕顺, 等. 草鱼低温贮藏过程中的品质变化特性. 食品科学, 2009, 30(24): 433 - 435.]
- [16] Sun L. Study on quality changes of tuna during steam cooking processes [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2009. [孙丽. 金枪鱼肉在蒸煮过程中品质特性变化的研究. 无锡: 江南大学, 2009.]
- [17] Li T T. Studies on bio-preservation techniques and protein indications of freshness in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) during refrigerated storage [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2013. [李婷婷. 大黄鱼生物保鲜及新鲜度指示蛋白研究. 杭州: 浙江工商大学, 2013.]
- [18] 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, 2000, 80(8): 1143 - 1150.
- [19] Benjakul S, Visessanguan W, Thongkaew C, *et al.*

- Comparative study on physicochemical changes of muscle proteins from some tropical fish during frozen storage [J]. *Food Research International*, 2003, 36 (8):787 - 795.
- [20] Li Y Q, Kog B H, Yang H H, *et al.* Structural changes of common carp myofibrillar (MPI) influenced by hydroxyl radical system [J]. *Food Science*, 2012, 33 (13):70 - 74. [李艳青, 孔保华, 杨赫鸿, 等. 自由基氧化引起鲤鱼肌原纤维蛋白结构的变化. *食品科学*, 2012, 33 (13):70 - 74.]
- [21] Cederberg J, Basu S, Eriksson U J. Increased rate of lipid peroxidation and protein carbonylation in experimental diabetic pregnancy [J]. *Diabetologia*, 2001, 44 (6):766 - 774.
- [22] He X Y. Influence of regulating superchilling on the quality and physicochemical properties of common carp muscle during storage [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2012. [何雪莹. 冰温保鲜对鲤鱼鱼肉品质特性及其理化特性影响的研究. 哈尔滨:东北农业大学, 2012.]
- [23] Li X P, Zhou K, Wang J X, *et al.* Effects of hydroxyl radical oxidation system on myofibrillar protein structure and properties in *Hexagrammos otakii* [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2014, 14 (6):19 - 27. [李学鹏, 周凯, 王金厢, 等. 羟自由基对六线鱼肌原纤维蛋白的氧化规律. *中国食品学报*, 2014, 14 (6):19 - 27.]
- [24] Cao H, Shi C L, Jia X Y. Toxicity mechanism of cadmium-induced reactive oxygen species and protein oxidation in testes of the frog *Rana nigromaculata* [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32 (13):4199 - 4206. [曹慧, 施蔡雷, 贾秀英. 镉暴露对黑斑蛙精巢 ROS 的诱导及其蛋白质氧化损伤作用机理. *生态学报*, 2012, 32 (13):4199 - 4206.]
- [25] Srinivasan S, Hultin H O. Chemical, physical, and functional properties of cod proteins modified by a nonenzymic free - radical - generating system [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1997, 45 (2):310 - 320.
- [26] Park D, Xiong Y L, Alderton A L. Concentration effects of hydroxyl radical oxidizing systems on biochemical properties of porcine muscle myofibrillar protein [J]. *Food Chemistry*, 2007, 101 (3):1239 - 1246.
- [27] Lin C C, Lin C S. Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillets by glazing with tea extracts [J]. *Food Control*, 2005, 16 (2):169 - 175.
- [28] Pazos M, Maestre R, Gallardo J M, *et al.* Proteomic evaluation of myofibrillar carbonylation in chilled fish mince and its inhibition by catechin [J]. *Food chemistry*, 2013, 136 (1):64 - 72.
- [29] Sampels S, Asli M, Vogt G, *et al.* Berry marinades enhance oxidative stability of herring fillets [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58 (23):12230 - 12237.
- [30] Eymard S, Jacobsen C, Baron C P. Assessment of washing with antioxidant on the oxidative stability of fatty fish mince during processing and storage [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58 (10):6182 - 6189.
- [31] Ishii T, Mori T, Ichikawa T, *et al.* Structural characteristics of green tea catechins for formation of protein carbonyl in human serum albumin [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2010, 18 (14):4892 - 4896.
- [32] Montero P, Giménez B, Pérez M M, *et al.* Oxidation stability of muscle with quercetin and rosemary during thermal and high - pressure gelation [J]. *Food Chemistry*, 2005, 93 (1):17 - 23.

Changes in biochemical properties of muscle protein from Nile tilapia fillets sterilized by ozone treatment during iced storage

ZHANG Hongjie^{1,2}, ZHAO Yongqiang¹, LI Laihao^{1*}, YANG Xianqing¹,
HAO Shuxian¹, WEI Ya¹, CEN Jianwei¹, LI Na^{1,2}

(1. Key Laboratory of Aquatic Product Processing, Ministry of Agriculture; National R&D
Center for Aquatic Product Processing; South China Sea Fisheries Research Institute,
Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China;

2. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) is one of the widely cultured fish species in the world, and has been known as a good raw material in seafood processing field. In this paper, the changes of biochemical properties of muscle protein from Nile tilapia fillets sterilized by ozone treatment during iced storage were investigated by changes evaluation of myofibrillar protein salt solubility, Ca²⁺-ATPase activity, surface hydrophobicity of actomyosin, total sulfhydryl content of actomyosin and carbonyl content. The results showed that different degrees of protein degeneration of ozone-water pretreatment group and control group Nile tilapia fillets all occurred during iced storage. The myofibrillar protein salt solubility, Ca²⁺-ATPase activity and total sulfhydryl content all decreased as the storage time was extended. Moreover, both surface hydrophobicity of actomyosin and carbonyl content increased during iced storage. After being stored for 20 days, the myofibrillar protein salt solubility, Ca²⁺-ATPase activity and total sulfhydryl content of ozone-water pretreatment group decreased by 76.57%, 89.76% and 66.72% respectively, while those of control group declined by 69.05%, 86.45% and 62.29%. On the other hand, surface hydrophobicity of actomyosin and carbonyl content of ozone-water pretreatment group increased by 111.75% and 76.46% respectively, while those of control group rose by 104.77% and 58.23%. At the same storage time, the myofibrillar protein salt solubility, Ca²⁺-ATPase activity and total sulfhydryl content of ozone-water pretreatment group were lower than those of control group, and both surface hydrophobicity of actomyosin and carbonyl content were higher than those of control group. The research results indicated that the protein denaturation was promoted by the oxidation of ozone-water and ROS generated from ozone-water during storage period.

Key words: tilapia fillets; sterilized by ozone treatment; iced storage; biochemical properties

Corresponding author: LI Laihao. E-mail: laihaoli@163.com