

姚一帆, 李强, 田明礼, 等. 冷藏过程中草鱼肌肉蛋白质特性的变化 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(7): 67–72. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022050372

YAO Yifan, LI Qiang, TIAN Mingli, et al. Changes in Characteristics of Muscle Protein from Grass Carp during Cold Storage Period[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(7): 67–72. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022050372

· 研究与探讨 ·

冷藏过程中草鱼肌肉蛋白质特性的变化

姚一帆¹, 李 强¹, 田明礼^{1,2}, 王发祥^{1,2}, 刘永乐¹, 俞 健^{1,*}

(1.长沙理工大学食品与生物工程学院, 湖南省水生资源食品加工工程技术研究中心,
湖南长沙 410114;

2.湖南喜味佳生物科技有限公司, 湖南岳阳 414006)

摘 要:将草鱼在 4 ℃ 条件冷藏 0、2、4、6、8、10 d 后, 提取并制备其肌肉蛋白质样品, 以体积排阻色谱、流变仪、差示扫描量热法等方法分析其蛋白质分子量分布、持水性能、溶液黏度、热力学性质及肌动球蛋白盐溶性的变化。结果显示, 随着冷藏时间的延长, 草鱼肌肉蛋白质分子量总体变小, 持水力、溶液黏度、肌动球蛋白溶出量均呈下降趋势, 热变性焓先降低后升高; 其中持水力冷藏前期下降剧烈, 第 8 d 降幅达 56.12%; 黏度在低剪切速率下下降明显, 在剪切速率 20 s⁻¹ 条件下黏度由第 0 d 的 0.89 Pa·s 降至第 10 d 的 0.05 Pa·s; 肌动球蛋白的溶出量在冷藏前 6 d 下降趋势明显, 冷藏第 6 d 时降幅达 40.96%; 冷藏后的蛋白质样品的 DSC 曲线出现两个吸热峰, 其最大峰的起始温度和峰顶温度均在第 6 d 时最大, 而热变性焓在第 6 d 时最低, 表明冷藏第 6 d 是草鱼肌肉蛋白质变化的关键时间点。研究结果为解决冷藏过程中草鱼肌肉品质劣变机制提供了基础数据。

关键词:草鱼, 冷藏, 蛋白质, 理化特性, 降解

中图分类号: TS254.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)07-0067-06

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022050372

本文网刊:



Changes in Characteristics of Muscle Protein from Grass Carp during Cold Storage Period

YAO Yifan¹, LI Qiang¹, TIAN Mingli^{1,2}, WANG Faxiang^{1,2}, LIU Yongle¹, YU Jian^{1,*}

(1. Hunan Provincial Engineering Research Center for Food Processing of Aquatic Biotic Resources, College of Food Science and Bioengineering, Changsha University of Science and Technology, Changsha 410114, China;

2. Hunan Xiweijia Biological Technology Limited Company, Yueyang 414006, China)

Abstract: To explore the changes in physicochemical characteristics of muscle protein of grass carp during cold storage, the muscle protein samples were prepared from the grass carp fillets which were refrigerated at 4 ℃ for 0, 2, 4, 6, 8 and 10 d, respectively. And their molecular weight (MW) distribution, water holding capacity (WHC), solution viscosity, thermodynamic property, as well as salt solubility of actomyosin were determined by size exclusion HPLC, rheometer and differential scanning calorimetry (DSC), etc. The results showed that the average MW of muscle protein was decreased during the whole cold storage period, while the WHC decreased severely in the early stage of cold storage and was dropped by 56.12% at the 8th day. The apparent viscosity of muscle protein decreased quickly at low shear rates, and fell from 0.89 Pa·s of 0 d to 0.05 Pa·s of 10 d at a shear rate of 20 s⁻¹. The salt solubility of actomyosin declined obviously and dropped by 40.96% after 6 d of cold storage. Moreover, two endothermic peaks were observed in DSC curves of the protein samples from refrigerated fish muscles, and the onset temperature (T_o) and peak temperature (T_m) of the biggest peak were both maximized at the 6th day, while its corresponding enthalpy change (ΔH) was minimized. The results indicated that the 6th day of cold storage was a key time point for complex changes of grass carp muscle proteins. This study provides basic

收稿日期: 2022-06-10

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2020YFD0900104); 湖南省重点研发计划项目 (2022NK2038)。

作者简介: 姚一帆 (1998-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 水产品加工与贮藏, E-mail: 1224846548@qq.com。

* 通信作者: 俞健 (1965-), 男, 学士, 高级实验师, 研究方向: 食品生物技术和农产品加工及贮藏, E-mail: chsh060@163.com。

data for better understanding the deterioration mechanism of grass carp muscle during cold storage.

Key words: grass carp; cold storage; proteins; physicochemical characteristics; denaturation

草鱼(grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*)是中国传统的四大淡水养殖鱼类之一,因其味道鲜美、价格低廉,而受到消费者亲睐,在我国淡水养殖鱼类中,草鱼的经济价值较高,其养殖产量、消费量和产值均居第一。2019 年草鱼的总产量为 553 万吨,占全国淡水产品总量的 17.3%^[1]。但是草鱼的鱼肉水分含量多,且肌肉组织中的蛋白酶活性高,难以保鲜贮藏,即使将其冷藏,肌肉也极易软化、汁液流失甚至腐败,从而严重浪费资源,还可能污染环境^[2-5]。因此,研究草鱼鱼肉的腐败机制对提高草鱼保鲜技术的水平具有重要的意义。

目前的研究普遍认为是物理、化学变化和微生物共同作用导致鱼肉腐败,内源酶作用致使肌肉自溶后,微生物进行生长繁殖产生臭味物质再结合外源酶的作用,导致鱼肉腐败变质^[2,6-9]。草鱼肌肉组织中最重要的是蛋白质,蛋白质的理化性质改变会影响其功能作用,从而直接影响鱼肌肉质量^[3,10]。在冷藏过程中,鱼肌肉蛋白可能由于多种因素影响而变性或降解,引起鱼肉品质下降、肌肉软化直到腐败^[3,11-13],因此,研究草鱼肌肉蛋白质在冷藏过程中发生的理化性质变化,有助于更好地了解草鱼冷藏腐败进程和机制。

目前,国内外已有学者关注水产品贮藏过程中肌肉品质与蛋白质理化性质变化的关系^[14-15],但更多的研究主要集中于鲜度评价或保鲜技术^[11,16-17]、蛋白质冷冻变性机理^[18]等,对草鱼肌肉蛋白质在冷藏过程中一些深层次生化变化研究相对较少。课题组前期报道了冷藏过程中草鱼肌肉蛋白质组成和结构特征的变化规律^[3,19],但其相应的理化特性变化还需进一步研究。本文分析了冷藏过程中草鱼肌肉蛋白质的热力学性质、流变性质、持水性能和溶解性的变化,旨在明确其理化性质变化特征和规律,为更好地解释冷藏过程中鱼类肌肉品质变化提供理论依据,也为针对性提出草鱼保鲜策略提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料及仪器

新鲜草鱼 长沙本地农贸市场,每尾约 1.5 kg;十二烷基磺酸钠(SDS)(AR) 国药集团化学试剂有限公司;磷酸二氢钠(AR)、磷酸氢二钠(AR) 上海科兴生化试剂有限公司;氯化钾(AR)、硫酸铜(AR) 国药集团化学试剂有限公司;牛血清蛋白(BR) Sigma 公司;氢氧化钠(AR) 上海麦克林生化科技有限公司。

TGL20M 冷冻高速离心机 长沙易达仪器有限公司;STA449PC 型综合热分析仪 德国耐驰仪器制造有限公司;AR1500ex 流变仪 美国 TA 仪器公

司;LC20 高效液相色谱仪 日本岛津仪器公司。

1.2 实验方法

1.2.1 不同冷藏时间点蛋白质样品制备 鲜活草鱼于冰水中暂养 2 h,去头、尾、鳞和内脏后,用预冷的无菌水洗净,取草鱼背部肌肉分切成若干小块(每块约 20 g),自封袋包装后于 4 ℃ 条件下冷藏,参考 Zhang 等^[20]的方法分别于冷藏第 0、2、4、6、8、10 d 取出绞碎,称取 10 g 左右的样品于 250 mL 的离心杯中,按 17:1 (mL/g) 加入含 3.5% SDS 的蛋白提取液(pH8.3),于 25 ℃ 水浴提取 1 h,经 6000 r/min 离心 10 min 收集上清液,透析 24 h 脱去 SDS 等,真空冻干(-40 ℃,1 Pa)即为不同冷藏时间点的蛋白质样品,4 ℃ 冷藏备用。

1.2.2 体积排阻色谱分析 用磷酸盐缓冲溶液(0.2 mol/L,含 2% SDS, pH7.0)将蛋白质样品溶解,超声助溶(100 W,0.8 s 开,0.8 s 关,超声 4 下,重复 1 次),离心 20 min(4 ℃,12000 r/min),上清液以 Bradford 法^[21]进行两次定量分析,配成浓度相当的蛋白溶液;稀释成合适倍数后以 0.45 μm 微孔滤膜过滤,参考李向红等^[22]的方法,采用体积排阻高效液相色谱(SEC-HPLC)法分析样品的分子质量分布,上样量为 20 μL,检测波长:220 nm;SEC-HPLC 色谱条件为:Shodex KW-804 蛋白柱(7 μm,8.0×300 mm),紫外检测器,柱温为 25 ℃,流动相为 200 mmol/L 的磷酸盐缓冲液(含 2% SDS, pH7.0),洗脱速率为 1 mL/min。

1.2.3 热力学性质变化分析 参考周小玲^[23]的方法,将一定量的蛋白质样品放入铝坩埚中,以综合热分析仪测定其 TG/DSC 曲线,温度扫描范围:30~120 ℃;扫描速率:5 ℃/min。实验取 T_g 为开始出峰温度, T_m 为峰顶温度, ΔH 为热变性焓。

1.2.4 流变性质变化分析 用蒸馏水将蛋白质样品溶解,配制 10 mg/mL 的蛋白质溶液,25 ℃ 水浴 30 min,采用流变仪测定蛋白溶液表观黏度-剪切速率曲线。将蛋白质溶液加于流变仪底部平板(直径 40 mm)上,设定狭缝距离为 1.0 mm,温度(25±0.1)℃,固定应变为 1%,剪切速率为 20~100 s⁻¹。

1.2.5 持水力(WHC)变化分析 称取约 2 g 蛋白质样品(m_0 ,精确至 0.001 g),置于预称重的离心管(m_1)中,逐步向离心管中加入蒸馏水并搅匀,直至样品呈浆状且无水析出,随后 3000 r/min 离心 10 min,吸干上清液后称重(m_2 ,离心管和沉淀总重);若离心后没有水析出,则继续加水,直到离心后有少量水析出为止;根据公式 $WHC=(m_2-m_1-m_0)/m_0$ 计算蛋白质持水力(g/g 蛋白)。

1.2.6 肌动球蛋白盐溶性变化分析 参考 Benjakul

等^[24]的方法稍作修改:准确称取 1.2.1 中绞碎鱼肉 2 g(精确至 0.001 g),加入 20 mL 预冷(0 ℃)的 KCl 溶液(0.6 mol/L, pH7.0),低温均质 4 min(工作 10 s 停 10 s),4 ℃、4500 r/min 离心 30 min;上清液加入 3 倍体积的蒸馏水,4 ℃、4500 r/min 离心 20 min,沉淀加入等体积预冷(0 ℃)的 KCl 溶液(1.2 mol/L, pH7.0),在冰上搅拌 30 min 后离心,离心后的上清液即为肌动球蛋白;蛋白质含量采用双缩脲法测定^[25],含量越高表示肌动球蛋白盐溶性越好。

1.3 数据处理

每组实验至少重复 3 次,结果以平均值±标准差表示;实验数据采用 Excel 软件处理,以 Origin 9 软件作图。

2 结果与分析

2.1 冷藏过程中草鱼肌肉蛋白质分子量分布变化

采用体积排阻色谱法分析冷藏过程中草鱼肌肉蛋白质分子量分布变化,结果如图 1 所示。可见,冷藏第 0~4 d,草鱼肌肉蛋白质的 SEC-HPLC 的图谱变化不大;冷藏第 6 d,保留时间 7.0 min 左右的洗脱

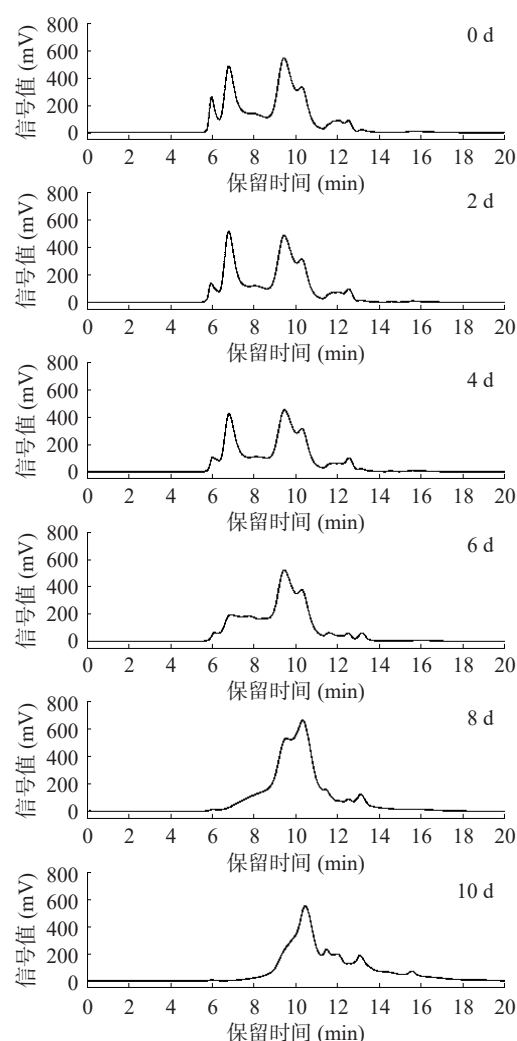


图 1 草鱼肌肉蛋白质冷藏过程中分子量分布变化

Fig.1 Change in molecular weight distribution of muscle protein of grass carp during cold storage period

峰(分子量>1000 kDa,可能为肌联蛋白等或蛋白质聚集体)明显减小,可能是由于内源蛋白酶作用或氧化反应导致其蛋白质结构或性质改变,部分肌肉蛋白质发生了解聚或降解^[26];冷藏第 8 d 时,保留时间小于 7.0 min 的洗脱峰完全消失,同时保留时间约 9.5 min 的洗脱峰(分子量约 160 kDa)面积占比减小,而保留时间约 10.3 min 的洗脱峰(分子量约 50 kDa)面积占比达 28%,约是第 6 d 样品的 2 倍,说明部分大分子的肌肉蛋白质发生了明显降解;冷藏第 10 d,保留时间约 9.5 min 的洗脱峰几乎消失,而 10.3 min 以后的洗脱峰有所增加,表明蛋白质分子逐渐降解为更小片段。因此,冷藏过程中草鱼肌肉蛋白质逐渐变性、降解,分子量分布总体呈变小趋势。

2.2 热力学性质变化分析

DSC 法可以直观体现蛋白质的热变性程度,包括蛋白质的温度和能量变化,是研究蛋白质热稳定性的有效方法。图 2 和表 1 分别展示了不同冷藏时期草鱼肌肉蛋白质的 DSC 曲线和热力学性质变化。可见,第 0 d 与其它冷藏时间点样品的 DSC 曲线明显不同,第 0 d 草鱼肌肉蛋白在 101 ℃ 左右形成一个近似对称的吸热单峰,而经过冷藏的草鱼肌肉蛋白质 DSC 曲线均出现一大一小两个峰,其中最大吸热峰相对于第 0 d 样品有所后移,但峰形变浅变窄;可能是在冷藏期间肌肉蛋白质发生了氧化、交联和断裂等变化,导致其组成更加复杂^[27];一方面冷藏过程中蛋白质氧化或肽链断裂导致其高级结构逐渐展开^[28],这部分蛋白加热变性仅需较低的温度和能量(对应 DSC 曲线小吸热峰),另一方面氧化损伤加速了蛋白质分子的聚集和降解,聚集体或小分子蛋白稳定性较高^[29],从而使其最大峰的峰顶温度(T_m)相对第 0 d 样品升高,这说明肌肉蛋白质在冷藏过程中存在不断解体、降解的过程。然而,由表 1 可见,最大峰的起始温度(T_c)和峰顶温度(T_m)均随冷藏时间的延长呈先升高后降低的趋势,在冷藏第 6 d 达到最大值(分别为 89.4 和 124.0 ℃),而变性焓(ΔH)则呈先降低后升高的趋势,也在冷藏第 6 d 达到最小值

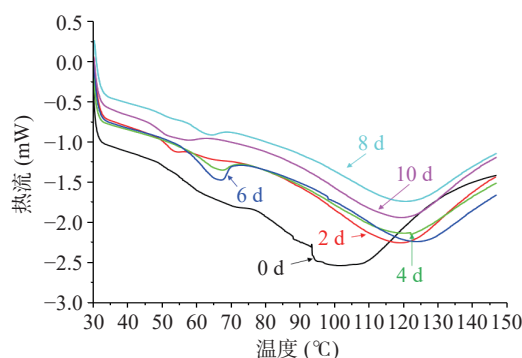


图 2 不同冷藏时期草鱼肌肉蛋白质的 DSC 曲线图

Fig.2 DSC profiles of grass carp muscle proteins at different cold storage time

注:箭头指示对应冷藏时间点蛋白质样品的 DSC 曲线。

表1 不同冷藏时间点草鱼肌肉蛋白质的热力学参数
Table 1 Thermodynamic parameters of grass carp muscle proteins at different cold storage time

热力学参数	冷藏时间(d)					
	0	2	4	6	8	10
T_c (°C)	80.9	83.7	83.8	89.4	84.5	82.7
T_m (°C)	101.2	119.3	122.1	124.0	120.5	119.4
ΔH (J/g)	73.8	61.3	48.4	41.5	44.2	57.8

(41.5 J/g);此外,在所有蛋白质样品中,冷藏第6 d样品的DSC曲线小峰最深,峰值温度也最高,具体原因还有待进一步研究明确,但该结果表明冷藏第6 d是草鱼肌肉蛋白质变化的重要时间节点,这与李强等^[19]的研究结果基本一致。

2.3 流变性质变化分析

图3显示了草鱼肌肉蛋白质在不同剪切速率下的黏度变化,在剪切速率为 20 s^{-1} 时,冷藏第0 d样品的黏度约为 $0.89\text{ Pa}\cdot\text{s}$,随着冷藏时间的延长,蛋白质黏度逐渐降低,第8 d样品的黏度降为 $0.13\text{ Pa}\cdot\text{s}$,第10 d已降至 $0.05\text{ Pa}\cdot\text{s}$;一般情况下,蛋白质溶液的黏度与其平均肽链的长度相关,肽链较长则分子占有的空间越大,溶液在低剪切速率下也容易发生缠绕和絮凝,从而增加蛋白质与流体之间的阻力,表现出高黏度的性质^[30],说明冷藏期间草鱼肌肉蛋白质发生降解、肽链逐渐减小。此外,当剪切速率增大,蛋白质溶液的黏度也逐渐降低,但冷藏时间越长,黏度下降速率越慢;当剪切速率达到 70 s^{-1} 后,所有蛋白质溶液的黏度变化不再明显。这可能是因为剪切速率增加时,长的肽链更容易受剪切应力的影响发生变形、解体或断裂,出现剪切稀化现象^[31]。

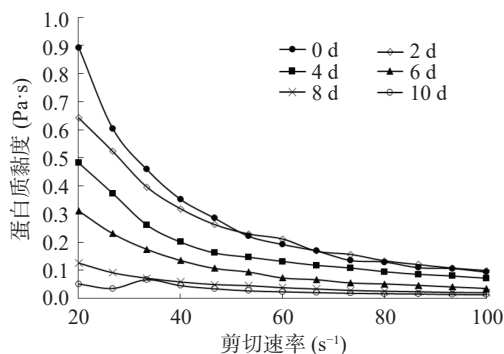


图3 冷藏过程中草鱼肌肉蛋白质的黏度变化

Fig.3 Change in apparent viscosity of muscle protein of grass carp during cold storage period

2.4 持水性能变化分析

持水性是蛋白质的重要性质,将蛋白质与水直接作用,吸收并保留水分的能力即蛋白质的持水性^[32]。图4显示了冷藏过程中草鱼肌肉蛋白的持水能力变化,随着冷藏时间的延长,蛋白质的持水性能逐渐降低,且冷藏前期趋势明显。如冷藏第2 d其持水力由 2.94 g/g 蛋白降为 2.10 g/g 蛋白;第8 d已降至 1.29 g/g 蛋白,降幅达56.12%;此后变化趋于平缓。

持水性能下降一方面可能是因为贮藏过程中蛋白质的氧化交联,导致蛋白质分子聚合^[33],从而减弱了其与水分子的相互作用;另一方面大分子蛋白质在冷藏过程中逐渐发生降解,肽链平均分子量逐渐降低,导致蛋白质分子的溶胀程度减小,吸水和持水能力减弱^[34]。肌肉蛋白质持水性能的降低会导致草鱼冷藏过程中汁液流失增加,这与李佳艺等^[17]的结果吻合。

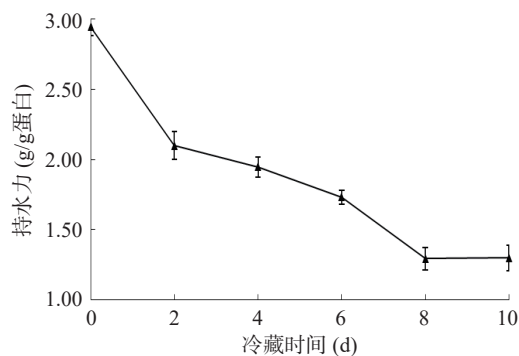


图4 冷藏过程中草鱼肌肉蛋白持水力的变化

Fig.4 Change in water holding capacity of muscle protein of grass carp during cold storage period

2.5 肌球蛋白盐溶性变化分析

草鱼肌肉在冷藏过程中肌球蛋白的盐溶性变化规律如图5所示。随着冷藏时间延长,草鱼肌肉中肌球蛋白的溶出量逐渐下降,尤其是冷藏前6 d下降趋势明显,冷藏第6 d为 18.29 mg/g 湿肉,相对第0 d(30.98 mg/g)降幅达40.96%;在冷藏后期,其下降幅度变小。肌球蛋白盐溶性下降可能与冷藏期间草鱼肌肉蛋白质发生氧化交联导致其分子变性聚集有关^[33],肌原纤维蛋白溶解性下降致使肌球蛋白溶出量减少^[35]。此外,Owusu-Ansah等^[36]也发现鳕鱼在 $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下冻藏6周后肌球蛋白的重链在电泳图谱上消失,原肌球蛋白、肌钙蛋白也均有大幅度下降;Jiang等^[37]也发现草鱼在 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 贮藏条件下内源性蛋白酶对肌原纤维结构蛋白有降解作用。因此,肌球蛋白盐溶性的下降除了与肌肉蛋白质的变性聚集有关外,肌原纤维蛋白的降解也可能是重要的原因之一。

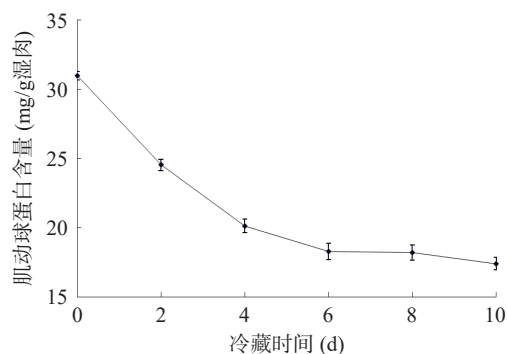


图5 冷藏过程中草鱼肌球蛋白盐溶性的变化

Fig.5 Changes in actomyosin salt solubility of grass carp during cold storage period

3 结论

随着冷藏时间的延长,草鱼肌肉蛋白质的分子量分布总体呈变小趋势,持水性能、溶液黏度、肌球蛋白盐溶性均逐渐降低,热变性焓先降低后升高,表明冷藏过程中肌肉蛋白质特性不断变化,从而导致草鱼肌肉品质劣化;而冷藏第6 d可能是草鱼肌肉蛋白发生变化的关键时间点。研究结果对更好地了解淡水鱼冷藏过程中肌肉蛋白质的生化反应与鱼肉品质变化的内在联系具有一定的科学意义,也为制定淡水鱼保鲜策略及鱼肉品质检测和评价提供了理论依据。

参考文献

- [1] 农业部渔业局. 2020 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2020: 30-31. [Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China. 2020 China fishery statistical yearbook[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2020.]
- [2] GRAM L, HUSS H H. Microbiological spoilage of fish and fish products[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 1996, 33(1): 121-137.
- [3] 王发祥, 李强, 俞健, 等. 草鱼冷藏过程中肌肉蛋白质结构特征的变化[J]. *食品与发酵工业*, 2015, 41(6): 196-199. [WANG F X, LI Q, YU J, et al. Changes in structural properties of muscle protein in grass carp during cold storage[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2015, 41(6): 196-199.]
- [4] WANG F X, CHEN Y, CHEN S, et al. Effect of cold storage on composition and properties of grass carp muscle proteins[J]. *Pakistan Journal of Zoology*, 2019, 51(1): 15-20.
- [5] 邓祎, 陈方雪, 杜柳, 等. 超高压预处理草鱼块干燥前后品质和气味变化[J]. *食品科技*, 2022, 47(2): 161-167. [DENG Y, CHEN F X, DU L, et al. Variation of quality and odor of grass carp blocks pretreated by ultra-high pressure before and after air drying[J]. *Food Science and Technology*, 2022, 47(2): 161-167.]
- [6] GHALY A E, DAVE D, BUDGE S, et al. Fish spoilage mechanisms and preservation techniques: Review[J]. *American Journal of Applied Sciences*, 2010, 7(7): 859-877.
- [7] 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.
- [8] ZHUANG S, TAN Y Q, HONG H, et al. Exploration of the roles of spoilage bacteria in degrading grass carp proteins during chilled storage: A combined metagenomic and metabolomic approach[J]. *Food Research International*, 2022, 152: 110926.
- [9] PYZ-LUKASIK R, PASZKIEWICZ W. Shelf life of grass carp, bighead carp, Siberian sturgeon, and wels catfish stored under refrigerated conditions[J]. *Journal of Food Safety*, 2018, 39(2): e12607.
- [10] ADDIS M F, CAPPUCINELLI R, TEDDE V, et al. Proteomic analysis of muscle tissue from gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) farmed in offshore floating cages[J]. *Aquaculture*, 2010, 309(1-4): 245-252.
- [11] 陈赛, 刘永乐, 俞健, 等. 壳聚糖复合保鲜对草鱼肌肉蛋白质变化的影响[J]. *食品科学*, 2019, 40(11): 207-212. [CHEN S, LIU Y L, YU J, et al. Effect of a natural preservative combination containing chitosan on changes in muscle proteins from grass carp during cold storage[J]. *Food Science*, 2019, 40(11): 207-212.]
- [12] 王雅迪. 冷藏淡水鱼肉保鲜技术研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2020. [WANG Y D. The study of fresh-keeping technology of chilled fresh water fish[D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2020.]
- [13] 王红丽. 草鱼死后贮藏过程中品质变化研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2019. [WANG H L. Study on changes in the quality of grass carp in the process of postmortem[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2019.]
- [14] 刘大松, 姜启兴, 梁丽, 等. 草鱼肉冷藏条件下肌肉蛋白的变化[J]. 郑州轻工业学院学报(自然科学版), 2013, 28(1): 20-24. [LIU D S, JIANG Q X, LIANG L, et al. Changes in grass carp muscle proteins during chilled storage[J]. *Journal of Light Industry*, 2013, 28(1): 20-24.]
- [15] 李学鹏, 陈杨, 王金顺, 等. 中国对虾冷藏过程中肌肉组织结构与蛋白质生化性质的变化[J]. *中国食品学报*, 2014, 14(5): 72-79. [LI X P, CHEN Y, WANG J X, et al. Changes in muscle structure and biochemical characteristics of muscle proteins in Chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*) during refrigerated storage[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2014, 14(5): 72-79.]
- [16] 张晋, 孙永, 王珊珊, 等. 壳聚糖季铵盐复合薄荷提取物涂膜对冷藏草鱼片品质变化的影响[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(11): 4520-4528. [ZHANG J, SUN Y, WANG S S, et al. Effects of chitosan quaternary ammonium salt compound mint extract coating on the quality change of refrigerated grass carp fillets[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2021, 12(11): 4520-4528.]
- [17] 李佳艺, 陈赛, 刘永乐, 等. 壳聚糖复合保鲜对草鱼肌肉品质变化的影响[J]. *食品科学*, 2021, 42(7): 220-225. [LI J Y, CHEN S, LIU Y L, et al. Effect of chitosan coating incorporated with food preservatives on the muscle quality of grass carp during cold storage[J]. *Food Science*, 2021, 42(7): 220-225.]
- [18] 郭园园, 孔保华. 冷冻贮藏引起的鱼肉蛋白质变性及物理化学特性的变化[J]. *食品科学*, 2011, 32(7): 335-340. [GUO Y Y, KONG B H. Advances in the research of denaturation and change in physico-chemical properties of fish proteins during frozen storage[J]. *Food Science*, 2011, 32(7): 335-340.]
- [19] 李强, 刘永乐, 王发祥, 等. 草鱼肌肉蛋白质在冷藏过程中的变化[J]. *食品科学*, 2013, 34(3): 55-58. [LI Q, LIU Y L, WANG F X, et al. Changes in proteins during chill storage of grass carp muscle[J]. *Food Science*, 2013, 34(3): 55-58.]
- [20] ZHANG F L, LIU Y L, YU J, et al. Optimization of conditions for extracting muscle protein from grass carp using response surface methodology[J]. *Advanced Materials Research*, 2014, 1004-1005: 837-840.
- [21] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72(7): 248-254.
- [22] 李向红, 刘展, 李伟, 等. 干燥方法对大豆分离蛋白热诱导聚

- 集体的影响[J]. *农业工程学报*, 2008(10): 258-261. [LI X H, LIU Z, LI W, et al. Effects of drying method on heat-induced aggregate of soy protein isolate[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2008(10): 258-261.]
- [23] 周小玲. 米谷蛋白的酶法脱酰胺及其功能性质的研究[D]. 长沙: 长沙理工大学, 2011: 34-35. [ZHOU X L. The research on the modification and functional properties of rice glutelin[D]. Changsha: Changsha University of Science and Technology, 2011: 34-35.]
- [24] BENJAKUL S, SEYMOUR T A, MORRISSEY M T, et al. Physicochemical changes in pacific chiting muscle proteins during iced storage[J]. *Journal of Food Science*, 1997, 62(4): 729-733.
- [25] NIU F G, JIAO Y, ZHANG R, et al. Properties of nano protein particle in solutions of myofibrillar protein extracted from giant squid (*Dosidicus gigas*) [J]. *Food Chemistry*, 2020, 330: 127254.
- [26] 李学鹏, 陈杨, 王金厢, 等. 水产品贮藏过程中肌肉蛋白质降解规律的研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2015, 6(12): 4844-4850. [LI X P, CHEN Y, WANG J X, et al. Research progress in muscle protein degradation of aquatic product during storage[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2015, 6(12): 4844-4850.]
- [27] 相悦, 孙承锋, 杨贤庆, 等. 鱼类贮运过程中蛋白质相关品质变化机制的研究进展[J]. *中国渔业质量与标准*, 2019, 9(5): 8-16. [XIANG Y, SUN C F, YANG X Q, et al. Research progress on the mechanism of protein-related quality changes in fish during storage and transportation[J]. *Chinese Fishery Quality and Standards*, 2019, 9(5): 8-16.]
- [28] 黄琳琳, 张一敏, 朱立贤, 等. 蛋白质氧化和翻译后修饰对肉品质的影响及机制研究进展[J]. *食品科学*, 2021, 42(9): 241-247. [HUANG L L, ZHANG Y M, ZHU L X, et al. Advances in research of the effects and mechanisms of protein oxidation and post-translational modification on meat quality[J]. *Food Science*, 2021, 42(9): 241-247.]
- [29] 叶凤凌, 周敏之, 池玉闽, 等. 蛋白氧化对肉品品质影响及其控制方法研究进展[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(15): 315-322. [YE F L, ZHOU M Z, CHI Y M, et al. Progress in effects of protein oxidation on meat quality and its control methods[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2020, 41(15): 315-322.]
- [30] 李艺, 吴晓丽. 蛋白质稀溶液的粘度行为研究[J]. *苏州大学学报(工科版)*, 2006(2): 56-59. [LI Y, WU X L. Viscous behaviors of aqueous protein solution in very low concentration region[J]. *Journal of Soochow University (Engineering Science Edition)*, 2006(2): 56-59.]
- [31] 延新宇. 大豆蛋白对鳕鱼蛋白热聚集行为及凝胶性质影响的研究[D]. 大连: 大连工业大学, 2019. [YAN X Y. Effect of soy protein on the heat-induced aggregation behavior and gel properties of cod protein[D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2019.]
- [32] 薛腊梅. 不同处理方式对谷朊粉的物理化学性质和致敏性的影响[D]. 无锡: 江南大学, 2020. [XUE L M. Effects of different treatments on physical and chemical properties and allergenicity of gluten[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2020.]
- [33] 李学鹏, 刘慈坤, 王金厢, 等. 水产品贮藏加工中的蛋白质氧化对其结构性质及品质的影响研究进展[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(18): 319-325, 333. [LI X P, LIU C K, WANG J X, et al. Effects of protein oxidation on the structural properties and quality of aquatic products during storage and processing[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(18): 319-325, 333.]
- [34] 华欲飞, 顾玉兴. 大豆蛋白的吸水和持水性能[J]. *中国油脂*, 1999(4): 64-67. [HUA Y F, GU Y X. Water absorption and holding of soy protein[J]. *China Oils and Fats*, 1999(4): 64-67.]
- [35] 倪渠峰, 李婷婷, 傅玉颖, 等. 冷藏大黄鱼肌肉蛋白质的生化特性及降解规律[J]. *中国食品学报*, 2014, 14(6): 41-47. [NI Q F, LI T T, FU Y Y, et al. Biochemical properties and degradation rule of muscle protein from large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) during chilled storage[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2014, 14(6): 41-47.]
- [36] OWUSU-ANSAH Y J, HULTIN H O. Differential in solubilization of red hake muscle proteins during frozen storage[J]. *Journal of Food Science*, 1992, 57(2): 265-266.
- [37] JIANG Q X, YANG F, JIA S N, et al. The role of endogenous proteases in degrading grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) myofibrillar structural proteins during ice storage[J]. *LWT*, 2022, 154: 112743.