



鱼肉蛋白质 冷冻变性及抗冻剂的研究进展

张 艳, 王圣开

(西南大学 食品科学学院, 重庆 400716)

摘 要: 本文简要分析了鱼肉蛋白冷冻变性的原因, 主要综述了国内外鱼肉蛋白质冷冻变性的研究现状, 并对糖类、盐类、乳蛋白、酶解产物等几种抗冻剂的应用作了详细介绍。展望了进一步研究鱼肉蛋白冷冻变性的新方向。

关键词: 鱼肉蛋白质; 冷冻变性; 抗冻剂

Research Progress of the Fish Protein Frozen Denaturation and Cryoprotectants

ZHANG Yan, WANG Shengkai

(Food College of Southwest University, 400716 Chongqing, China)

Abstract: This article mainly summarized the reason and development situation of the research on fish protein frozen denaturation. Meanwhile, this paper introduced application of some cryoprotectants, included sugars, salts, dairy ingredients and zymolyte. Besides, the aims and ways of further research on fish protein frozen denaturation were introduced.

Key words: fish protein; frozen denaturation; cryoprotectants

中图分类号: TS254.1 文献标识码: A 文章编号: 1001-8123(2008)12-0011-04

随着国民健康意识的提高, 鱼肉及其制品因具有高蛋白、低脂肪、低胆固醇等优点日益受到人们的青睐。近年来我国渔业生产快速发展, 水产品年产量占世界总产量的1/3以上, 连续12年位居世界第一。但鱼类水分含量高, 肌肉细嫩, 容易在微生物和酶的综合作用下发生变质, 且鱼的收获期相对集中, 鲜活销售量有限, 捕获后的产品如不采取适当的贮藏措施会严重影响其市场流通和销售。为了保持鱼肉的鲜度, 冷冻贮藏成为一个主要的保藏手段。但在冷冻贮藏过程中鱼肉蛋白质易发生冷冻变性, 导致柔嫩性、持水性、胶凝性及营养价值等均会产生劣变, 造成品质下降并影响后继加工

产品的质量^[1]。

1 鱼肉蛋白质变性概述

蛋白质受物理或化学因素的影响, 其分子内部原有的高度规律性空间结构发生变化, 致使蛋白质的理化性质和生物学性质都有所改变, 但并不导致蛋白质一级结构的破坏, 这种现象称之为蛋白质变性。对水产品来说, 低温贮藏过程中蛋白质冷冻变性现象是一个普遍存在的问题。在冻藏过程中造成蛋白质变性的原因主要有以下几方面^[2]: (1) 冷冻时鱼肉组织中结合水在-18℃部分冻结, 导致蛋白质分子中的侧链和侧链之间互相结合,

收稿日期: 2008-08-29

作者简介: 张艳(1982-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 食品化学与营养。E-mail: zhangyan19820621@163.com

形成二硫键、氢键、疏水键等,使蛋白质凝聚而产生不可逆变性。(2)冻结时由于冰晶体生成引起结合水和蛋白质分子的结合状态破坏,加之冰晶体互相挤压,使维系依赖蛋白质结构稳定的部分化学键破坏,部分化学键重新组建。另一方面由于冰晶相互作用使结合水与蛋白质分子又重新组合成稳定结构。这些化学键的断裂重建涉及到蛋白质分子高级结构的变化而导致蛋白质变性。(3)冻结引起的冰晶析出会导致肌肉细胞液的浓缩,使其中的盐浓度升高和pH改变,由此引发鱼肉蛋白的变性。(4)经实验结果表明,鱼肌肉中的油脂由于氧化引起氨基酸破坏、肽链断裂、蛋白质-脂质复合体的形成等原因导致蛋白质发生变性。并且许多脂质降解物具有很强的与多肽、蛋白质结合的能力,随着贮藏时间的延长造成蛋白质聚合体溶解性降低^[3]。除此以外,鱼的种类、新鲜程度、酶的组成、冷冻条件等都与鱼肉蛋白的冷冻变性相关。

冷冻变性会使其一些重要的物理化学性质如 Ca^{2+} -ATPase活性明显降低、盐溶性、活性巯基、总巯基及二硫键含量、表面疏水性、粘度等发生改变^[4]。因此,在研究工作中,这些理化性质的变化成为评价鱼肉冷冻变性程度的重要指标。

2 国内外鱼类蛋白质冷冻变性的研究

鱼肉蛋白冷冻变性严重损害鱼肉食品的品质、风味、口感、消化率,降低其营养价值与商品价值,近年来国内外专家应用不同方法从不同方面对鱼肉蛋白质冷冻变性进行了研究。

2.1 国外鱼肉蛋白冷冻变性研究现状

国外对鱼肉蛋白冷冻变性研究较早,对鱼肉蛋白冷冻变性机理及影响因素均做了相关研究。鱼肉蛋白质一般由水溶性的肌浆蛋白、盐溶性的肌原纤维蛋白和不溶性的基质蛋白组成。早在1932年和1937年,Finn和Reay研究发现鱼肉蛋白在冻藏中易发生变性而使肌浆蛋白溶解性下降,Dyer和Connell则进一步指出这种变性是由肌原纤维蛋白变性(而且主要为其中的肌球蛋白变性)引起的^[5]。Herrera JR在研究虹鳟鱼(Rainbow trou)时发现分子内的构象变化和分子间的聚合作用发生的同时,疏水作用、氢键及二硫键等也会共同作用使蛋白质分子失去原有的空间构型而发生蛋白质变性^[6]。有关学者对鱼肉蛋白冷冻变性的影响因素也做了较深入的研究。Sootawat Benjakula研究了石首鱼、鲛鱼、蛇鲻、大眼真鲷肌肉在-18℃贮藏过程中的物理化学变化。研究发现,随着贮藏时

间的延长,蛇鲻 Ca^{2+} -ATPase活性降低、表面的疏水性增加最明显。因此可看出蛋白质冷冻变性程度与鱼种有很大关系^[7]。Matsumoto等研究表明,鲢鱼鱼肉蛋白在-20℃、-30℃和-40℃冻藏一个月后,肌原纤维蛋白残存的ATPase活性均以pH为中性时最高;当 $\text{pH}<6.5$ 时,肌原纤维蛋白很不稳定而易失去其ATPase活性。Aimei Zhou等研究了冷冻-解冻循环对鳞鲷鱼糜蛋白变性的影响,结果表明随冷冻-解冻循环次数增加,鳞鲷白肉鱼糜及全肉鱼糜蛋白的盐溶性和 Ca^{2+} -ATPase活性均下降,表明鱼糜蛋白发生了变性;鱼糜凝胶的破断强度、凹陷深度及持水性也下降^[8]。

2.2 国内鱼肉蛋白冷冻变性研究现状

随着我国鱼制品加工业日趋发展,至上世纪90年代以来,鱼肉蛋白冷冻变性问题成为研究热点。夏达金等对我国四大淡水鱼在冻藏过程中蛋白质变性问题进行了研究^[9]。研究以4种淡水鱼在-5℃、-12℃及-18℃下冻藏2个月,分析其蛋白质变性程度。在冷冻条件下4种鱼蛋白质变性程度顺序为:鳙鱼>鲢鱼>草鱼>鲤鱼。刘庆慧等对日本鲟肌球蛋白冷冻变性进行了研究。以ATPase活性、总巯基数、不饱和巯基数及蛋白质浓度的变化作为评定贮藏过程中蛋白质稳定性的指标。结果表明低温对总巯基数影响较小,温度增高时,巯基数逐渐下降,而不饱和巯基数在-30℃之前呈动态变化,之后又逐渐减少。并且发现冷冻变性后肌球蛋白ATPase活性和总巯基数随冷藏时间而明显下降,冷藏温度越低,ATPase活性下降越慢^[10]。袁春红等发现冻结终温和冻结速率对鲢鱼肌球蛋白变性的影响较小,即使冻结速率很快、冻结终温很低,若贮藏在-10℃,鲢鱼肉蛋白质仍有明显变性。说明贮藏温度越低蛋白质越稳定;与冻结终温和冻结速率的影响相比,冻藏温度对肌原纤维蛋白变性的影响更明显^[11]。曾名勇等以肌球蛋白的盐溶性、肌原纤维蛋白ATPase活性以及肌原纤维蛋白的巯基含量为指标,研究不同冻藏温度(-10℃、-20℃、-30℃、-40℃)对鲈鱼肌原纤维蛋白变性的影响。结果表明,在不同温度下冻藏时,鲈鱼肌球蛋白的盐溶性、肌原纤维蛋白ATPase活性以及巯基含量随着冻藏时间的延长,均呈下降趋势。且鲈鱼蛋白质的变性速度在不同冻藏温度下的差异极其显著^[12]。关志强等以文蛤和波纹巴非蛤为对象研究了不同冻藏条件对肌原纤维蛋白 Ca^{2+} -ATPase活性、盐溶性蛋白溶解度的影响,结果表明冻藏温度和冻藏时间对任何形态的肌肉组织蛋白质的冷

冻变性均有显著影响,温度越低变性越小,冻藏时间越短,变性越小^[13]。阮征等研究不同冻结速率对脆肉鲩鱼片冻结品质的影响,结果显示随着冻结速率的增加,汁液流失率减少,盐溶蛋白含量的降低率以及 Ca^{2+} -ATPase 活性的损失率都有不同程度的降低,并且速冻样解冻后硬度与耐阻性无变化,而慢冻样解冻后硬度与耐阻性却有所下降,因此说明提高冻结速率有利于保持脆肉鲩鱼片的品质^[14]。

3 鱼肉蛋白抗冻剂的研究现状

在研究鱼肉蛋白冷冻变性机理基础上,国内外学者开始关注抗鱼肉蛋白冷冻变性的方法。已有的研究表明,添加抗冻剂是目前较有效的抗鱼肉蛋白冷冻变性的途径。

3.1 糖类物质的抗冷冻变性

可作为抗冻剂的糖类物质主要有蔗糖、多聚葡萄糖、山梨醇等,其主要作用是与蛋白质反应基结合,使蛋白质分子处于饱和状态从而避免蛋白质分子之间的聚集变性。研究证明,质量分数 2%~4% 的蔗糖或山梨醇、8% 的多聚葡萄糖等均具有一定的抗冷冻变性作用。工业上常用的抗冻变性剂为蔗糖和山梨醇。但由于甜味较重和热量高,影响了产品的口味和营养价值。因此,开发低甜味低热量的抗冻剂成为研究方向。Yamashita Y 等人研究表明,几丁质及其水解物均能抑制鲳鱼肌原纤维蛋白中 Ca^{2+} -ATPase 活性的降低,提高肌原纤维蛋白的水合作用,而且几丁质水解物较之几丁质的效果更显著,当其浓度达到 5% 以上时即可完全抑制 Ca^{2+} -ATPase 活性的丧失,并能最大限度地保持水分不冻结^[15]。Kingduean S 等人的研究也证实了上述结果^[16]。蒙健宗等探讨了在冷冻罗非鱼片冷藏过程中添加海藻糖对蛋白质变性作用的影响。经过海藻糖浸渍处理后,盐溶性蛋白含量和肌原纤维蛋白 Ca^{2+} -ATPase 活性分别比空白组高 25.2% 和 23.0%,自由液滴损失和加热液滴损失分别为空白对照组的 35% 和 75%。结果表明,添加海藻糖能有效地防止蛋白质变性,提高冷冻罗非鱼片的品质^[17];薛勇等也采用 10% 的海藻糖作为冻藏鲳鱼的抗冻剂,并与蔗糖和山梨醇的混合物进行比较,结果表明海藻糖的抗冷冻变性效果更理想^[18]。

3.2 盐类物质的抗冷冻变性

由于价格便宜、使用方便等原因,磷酸盐是最普遍使用的抗冷冻变性的盐类物质。宋广磊等在研究磷酸盐对梅鱼鱼糜质构的影响得出 3 种磷酸盐对改善鱼糜贮藏特性的作用从大到小依次为三聚

磷酸钠、焦磷酸盐和六偏磷酸钠^[19]。据多位学者实验结果证明,盐类物质与糖的复配剂抗冻效果更佳。罗永康发现质量分数 2% 蔗糖+2% 山梨醇+0.3% 多聚磷酸盐的复配剂具有较好的抑制鲢鱼鱼肉蛋白变性作用^[20];关志强等得出文蛤的最佳抗冻剂配方为焦磷酸钠 0.1%、三聚磷酸钠 0.1%、蔗糖 2%、山梨醇 3%;波纹巴非蛤的最佳抗冻剂配方为焦磷酸钠 0.1%、三聚磷酸钠 0.15%、蔗糖 4%、山梨醇 3%。在添加最佳抗冻剂后文蛤的 Ca^{2+} -ATPase 活性、盐溶性蛋白溶解度和 pH 值分别提高了 26.4%、25.5% 和 2%,波纹巴非蛤则分别提高了 21%、38.5% 和 2.5%^[21]。Aimei Zhou 等人将乳酸钠或山梨醇与蔗糖的复配剂分别添加到罗非鱼糜中,通过对比二种抗冻剂对 Ca^{2+} -ATPase 活性、凝胶性能、盐溶蛋白、游离巯基与总巯基等多项指标的影响,认为乳酸钠能更好的抑制鱼肉蛋白的冷冻变性^[22]。

3.3 蛋白水解物的抗冷冻变性

含有较大比例的亲水性氨基酸的蛋白水解物能够与水作用形成氢键,增强冻结过程中水的稳定性,减少巨大冰晶体的形成,从而避免了鱼肉蛋白空间构象变化而引起的开链变性。Hossain M 等发现利用水产加工下脚料获得酶解蛋白肽对海洋鱼类鱼糜蛋白质冷冻变性有较好的抑制作用^[23]。Mohammed AAK 等用多种海水鱼蛋白水解物(FPH)添加到鲳鱼糜中,可使其凝胶强度、非冻结水分及 Ca^{2+} -ATPase 活性均发生有利于抑制鱼肉蛋白冷冻变性的变化^[24]。刘艺杰等实验证明红鱼鱼排的木瓜蛋白酶水解物、低温碱性蛋白酶水解物和风味蛋白酶水解物均能在一定程度上抑制鲳鱼蛋白质的冷冻变性,其中以木瓜蛋白酶水解物的效果最显著^[25]。

3.4 乳蛋白的抗冷冻变性

乳蛋白的溶解性和乳化性等会使蛋白质的水合状态发生改变,达到防止其冷冻变性的目的。Anese M 等人将脱脂乳、脱盐乳清、乳清蛋白浓缩物或分离物、酪蛋白酸盐等作为抗冻剂分别添加到不同种类的鱼糜中,并对鱼肉的化学成分、颜色、pH、持水力及凝胶特性等进行了测定。结果表明,乳蛋白类化合物能够抑制鱼肉蛋白的冷冻变性^[26]。

4 展望

目前国内外学者主要集中在鱼肉蛋白质冷冻变性的生化方面的研究,并提供了一定的理论依据。然而,还应该加强对蛋白质冷冻变性动态变化方面的研究,如利用激光共聚焦显微镜研究蛋白质分子变化的动态特征,以阐明蛋白质变性的作用

过程,弄清鱼肉蛋白质冷冻变性的分子作用机制等,这对加速抗鱼肉蛋白冷冻变性新技术的更广泛应用,进一步提高鱼类冻藏的质量,改善鱼类冻藏后口感,提高产品质量和加工性能。

参考文献

- [1] 何芸,等.抗鱼肉蛋白冷冻变性机理的研究进展[J].氨基酸和生物资源,2007,29(2):36-39.
- [2] 杨武海.影响鱼肉蛋白质冷冻性的因素及防止变性的措施[J].福建水产,2001(2):53-54.
- [3] Sootawat B, Wonnop V, Chutima T, et al. Effect of frozen storage on chemical and gel-forming properties of fish commonly used for surimi production in Thailand [J]. Food Hydrocolloids, 2005, (19): 197-207.
- [4] 张松,等.漂洗和抗冻剂在冷冻鱼糜生产中的应用研究[J].肉类研究,2007(1):29-30.
- [5] Tyre C, Laner. Surimi Technology Marcel Dekker Inc, 1992.
- [6] Herrera JR, et al. Cryoprotection of frozen-stored actomyosin of farmed rainbowtrout (*Oncorhynchus mykiss*) by some sugars and polyols [J]. Food Chemistry, 2004, (84): 91-97.
- [7] Sootawat Benjakula, Wonnop Visessanguanb, Chutima Thongkaewa, et al. Comparative study on physicochemical changes of muscle proteins from some tropical fish during frozen storage [J]. Food Research International, 2003, (36): 787-795.
- [8] Zhou Aimei, Sootawat Benjakul, Zeng Qingxiao. Effect of the Freeze-thaw cycle on the protein denaturation of starry triggerfish (*Abalistes Stellaris*) surimi [J]. Journal of South China University of Technology, 2004, 32(7): 31-32.
- [9] 夏达金,叶清如.四种淡水鱼在冻藏过程中蛋白质变性的测定[J].浙江水产学院学报,1992,11(1):39-43.
- [10] 刘庆慧,等.日本鲷肌球蛋白热变性和冷冻变性[J].上海水产大学学报,1999,8(2):137-141.
- [11] 袁春红,陈舜胜,程裕东,等.冻结条件与冻藏温度对鲢鱼肌肉原纤维蛋白冷冻变性的影响[J].上海水产大学学报,2001,10(1):44-48.
- [12] 曾名勇,黄海,李八方.不同冻藏温度对鲈鱼肌肉蛋白质生化特性的影响[J].青岛海洋大学学报(自然科学版),2003,33(4):525-530.
- [13] 关志强,宋小勇,李敏.冻藏条件对鲈的蛋白质冷冻变性的影响及其改善的实验研究[J].食品科学,2005,26(9):166-168.
- [14] 阮征,等.不同冻结速率对脆肉鲩鱼片冻结特性的影响研究[J].农业工程学报,2008,24(2):250-253.
- [15] Yamashita Y, Zhang N. Effect of chitin hydrolysate on the denaturation of lizard fish myofibrillar protein and the state of water during frozen storage [J]. Food Hydrocolloids, 2003, 17(5): 69-76.
- [16] Kingdewan S, Yaowalux R. The cryoprotectant effect of shrimp chitin and shrimp chitin hydrolysate on denaturation and unfrozen water of lizard fish surimi during frozen storage [J]. Food research International, 2005, 38(6): 345-355.
- [17] 蒙健宗,秦小明,赵文报.海藻糖对冷冻罗非鱼片蛋白质变性作用的影响[J].食品工业科技,2007(2):214-216.
- [18] 薛勇,薛长湖,李兆杰,等.海藻糖对冻藏过程中鳙肌原纤维蛋白冷冻变性的影响[J].中国水产科学,2006,13(4):637-641.
- [19] 宋广磊,戴志远.磷酸盐对梅鱼(*collichthys niveatus*)鱼糜质构的影响[J].食品与发酵工业,2007,33(4):38-41.
- [20] 罗永康,周新华.鲢鱼蛋白质低温变性保护剂的研究[J].食品科学,1996,17(1):59-62.
- [21] 关志强,宋小勇,李敏.文蛤和波纹巴非蛤最佳抗冻剂配方的实验研究[J].食品与发酵工业,2006,32(3):133-138.
- [22] Aimei Zhou, Sootawat B. Cryoprotective effects of trehalose and sodium lactate on tilapia (*Sarotherodon nilotica*) surimi during frozen storage [J]. Food Chemistry, 2006, 96: 96-103.
- [23] Hossain M, et al. Effect of proteolytic squid protein hydrolysate on the state of water and dehydration-induced denaturation of lizard fish myofibrillar protein [J]. Agr Food Chem, 2003, 51(16): 4769-4774.
- [24] Mohammed AAK. Effect of enzymatic fish-scrap protein hydrolysate on gel-forming ability and denaturation of lizard fish *Saurida wanieso* surimi during frozen storage [J]. Fisheries Science, 2003, 69: 1270-1280.
- [25] 刘艺杰,薛长湖,薛勇,等.鱼排酶解物对鳙鱼鱼糜冻藏过程中蛋白质变性的影响[J].中国水产科学,2005,12(9):632-637.
- [26] Anese M, Gormley R. Effects of dairy ingredients on some chemical, physico-chemical and functional properties of minced fish during freezing and frozen storage [J]. Lebensm Wissu Technol, 1996(2): 151-157.