

鲤在 -20°C 冻藏过程中的质构变化

汪秋宽 李振民¹ 刘俊荣

(大连水产学院渔机系, 116023)

(辽宁省进出口商品检验局, 大连 116001)¹

摘 要 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳的分析结果表明:在 -20°C 下经 210 天冻藏的鲤,肌球蛋白重链色带明显变淡,胶电泳片上的顶部色带显著增浓并有新色带出现,这表明蛋白质在冻藏过程中发生连结反应而沉积或出现新蛋白肽链。电子显微镜的观察结果:冻藏过程使鲤肌肉纤维出现裂缝和明显空隙,这说明在冻藏过程中冰晶增大而使肌纤维蛋白质脱水变性。这些都证明鲤肌肉在冻藏过程中质构劣变。

关键词 鲤,冻藏,肌球蛋白重链,质构

鲤在 -20°C 冻藏过程中蛋白质发生了变化,主要表现在盐溶性蛋白质减少、蛋白质保水性下降[汪秋宽等 1992]。为进一步研究鲤肌肉在冻藏过程中的变化,采用 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)和电子显微镜进行观察、分析。

1 材料和方法

1.1 材料

体重为 0.4~0.6 kg 的鲜鲤,经平板冻结装置在 2.5 小时内冻结至中心温度为 -20°C , 随即冻鲤分成三组,然后放在 $(-20 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ 冻藏室内冻藏。

1.2 盐溶性蛋白质和肌原纤维蛋白质的提取

取鲤背鳍下肌肉 5 g 放入 25 mL 的 5% NaCl(pH 值 7.0~7.5)溶液中匀浆后,移入 50 mL 的容量瓶中,用 5% NaCl 溶液稀释至刻度后离心去除固形物,上层溶液即为盐溶性蛋白质。另取鲤背鳍下肌肉 7.5 g,放入 25 mL 的 0.1 MKCl 溶液(pH 值 7.0~7.5)中匀浆,随后移入 100 mL 容量瓶中,用 0.1 MKCl 溶液稀释至刻度后离心,除上层液体,将固形物重新放入 50 mL 的 0.1 MKCl 溶液中使其均匀悬浮呈肌原纤维蛋白质溶液。

1.3 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳的分析方法

SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳采用改进的 Weber 和 Osborn[1969]方法进行分析,所用胶缓冲溶液为含 0.2% SDS 的 0.01 M 磷酸盐(pH 值为 7.2),试验是用 Biometra-Minigel 完成的。

1.4 样品的等温冷冻固定法

将冻藏鲤解冻后削片,并切成 $5\text{mm} \times 5\text{mm} \times 2\text{mm}$ 样品。将其放入 3% 戊二醛溶液中进行

固定,然后用二甲胍酸盐缓冲液(内含5%蔗糖)清洗30分钟,随后用丙三醇液体将样品进行脱水[Lampila等1985,Reid等1987]。用ISI DS130型扫描电子显微镜观察肌肉形态变化。

2 结果与讨论

鲤样品的 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳见图1。该胶电泳中蛋白质是通过与标准蛋白质的胶电泳比较识别而确定的(表1)。样品中盐溶性蛋白质和肌原纤维蛋白质的 K、I、J 色带(肌球蛋白轻链)相对变淡。这说明肌球蛋白轻链在冻藏过程中逐渐减少。新色带 D 出现在盐溶性蛋白质的胶电泳上,这色带的蛋白质肽链还不十分清楚,但可能是蛋白质连结反应的结果。Laird 等[1980]指出蛋白质在冻藏过程中如发生交叉、连结反应,在 SDS-PAGE 片上就会出现新的色带。另一很明显的现象是鲤经 210 天冻藏后,SDS-PAGE 电泳片顶部的色带变得浓宽,而肌球蛋白重链色带变淡或几乎消失,在肌原纤维蛋白质的电泳片上尤为明显。这证明肌球蛋白重链在冻藏过程中参与了蛋白质之间的—S—S—和其他键结合。Matthews 等[1980]对鳕鱼糜进行研究时也发现同样结果。

Jiang 和 Lee[1985]对冻藏鲤进行 SDS—PAGE 分析后指出,鲤的蛋白质变性主要是肌球蛋白重链的减少,而肌动蛋白质在冻藏过程中较稳定。本实验的结果也证明了这一点。除肌动蛋白质外,原肌球蛋白和肌钙蛋白质也都相对比较稳定(图1)。

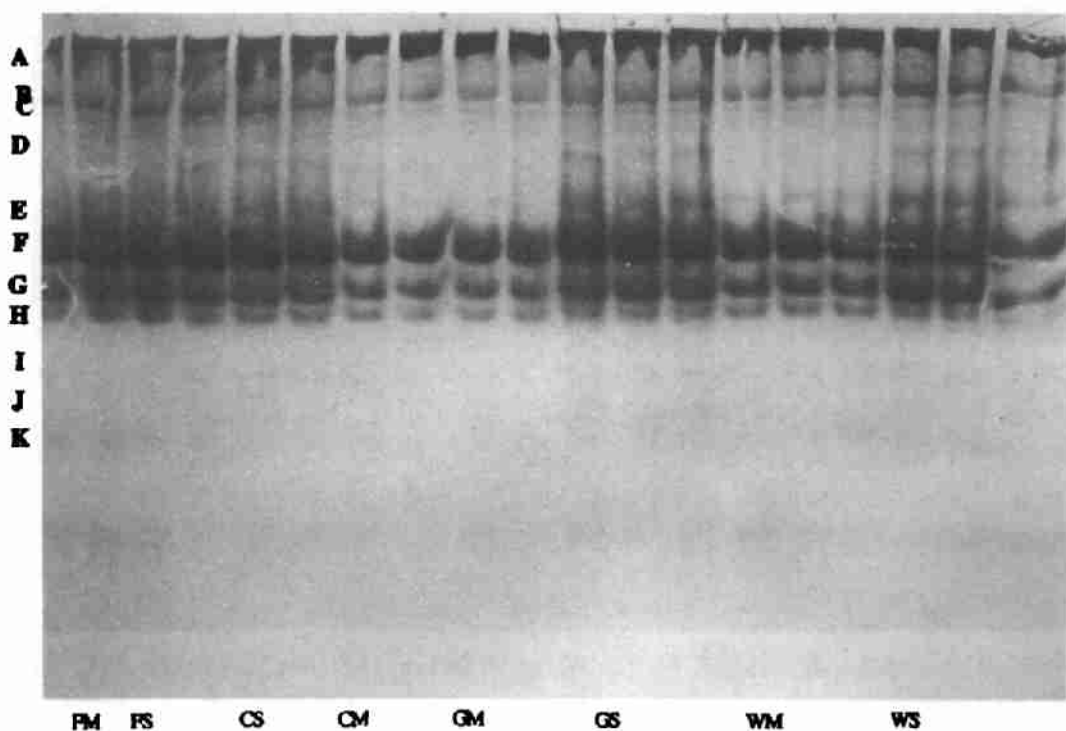


图1 鲤在 -20°C 冻藏210天后的 SDS-PAGE 的分析结果

Fig.1 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of common carp stored at -20°C for 210 days

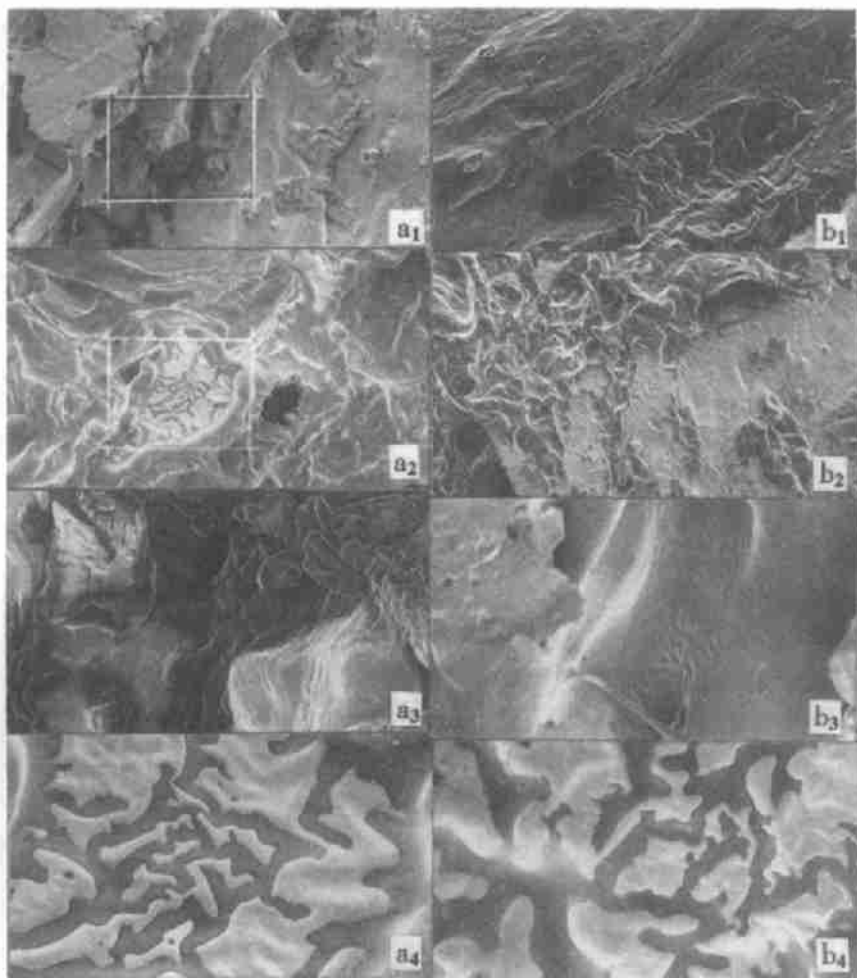
FM、CM、GM 和 FS、CS、GS、WS 分别代表新鲜、冻藏 210 天后的对照、被冰衣、低密度袋包装组的肌原纤维蛋白质和盐溶性蛋白质

表1 用 SDS-PAGE 对鲤盐溶性和肌纤维蛋白质的试验性鉴别结果

Table 1 Tentative identification of salt-soluble and myofibrillar proteins of common carp by SDS-PAGE

色带	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
蛋白质	肌球蛋白重链	未鉴别	C-蛋白质	未鉴别	未鉴别	肌动蛋白质	原肌球蛋白	肌钙蛋白质	肌球蛋白轻链-1	肌球蛋白轻链-2	肌球蛋白轻链-3
分子质量	200 000		140 000			45 000	37 000	30 000	25 000	18 000	16 000

盐溶性蛋白质与肌原纤维蛋白质的区别主要是盐溶性蛋白质不仅包括肌原纤维蛋白质,还包括肌浆蛋白质,故盐溶性蛋白质的电泳片色带较肌原蛋白质的浓。从胶电泳片上看,对照、镀冰衣与低密度袋包装组的蛋白质变化无明显差别。电子显微镜观察只作了对照和镀冰衣两组样品,结果见图版 I。鲤在-20℃下经 210 天的冻藏后肌肉纤维出现空隙(图版 I-a₂、b₂),这主要是由冻藏过程中冰晶逐渐增大而使肌原纤维失水造成的。图版 I-a₁、a₃、b₁、b₃ 明



图版 I Plate I

a₁: 对照组鲤(纵截面)×251; a₂: 对照组鲤(横截面)×251; a₃: 对照组鲤(纵截面)×1 250; a₄: 对照组鲤(横截面)×1 250; b₁: 镀冰衣组鲤(纵截面)×350; b₂: 镀冰衣组鲤(横截面)×91; b₃: 镀冰衣组鲤(纵截面)×1 250; b₄: 镀冰衣组鲤(横截面)×1 250

展示了鲤肌肉纤维在冻藏过程中出现裂缝现象。Lampila 等[1985]研究冻藏鲑鱼也发现肌肉纤维裂缝现象,认为肌纤维束在冻藏过程中由于冰晶增大,细胞壁被破坏,细胞内水逐渐渗透出来,造成肌纤维失水呈现裂缝。对照组和镀冰衣组鲤肌肉纤维都发生相类似变化。虽然对照组样品从鱼的体表看较镀冰衣鲤干耗严重,这种干耗现象在某种程度上可能只发生在鱼的表皮,而肌肉内主要是因冰晶破坏造成蛋白质保水性下降的结果。SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分析和电子显微镜的观察都在不同程度上表明鲤在 -20°C 下经210天冻藏蛋白质发生交叉、连结反应,肌纤维束也因失水而变形且出现裂缝现象。

参 考 文 献

- 汪秋宽等.1992.鲤在 -20°C 冻藏过程中的质地变化.大连水产学院学报,7(2~3):73~81.
- Jiang S, Lee T. 1985. Changes in free amino acids and protein determination of fish muscle during frozen storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 33:836~844.
- Laird W M, et al. 1960. Studies of the changes in the proteins of cod frame minces during frozen storage at -15°C . Connell J J, ed. *Advances in Fish Science and Technology*. England: Fish News (Books) Ltd. 428~434.
- Lampila L E, et al. 1985. Scanning electron microscopic study of rockfish preserved at either ambient temperature or isothermal freezing fixation. *Food Microstructure*, 4:11~16.
- Mathews A D, et al. 1980. Evidence for the formation of covalent cross linked myosin in frozen stored cod minces. Connell J J, ed. *Advances in Fish Science and Technology*. England: Fishing News(Books)Ltd. 438~451.
- Reid D S, et al. 1987. Changes in the quality determination. New York; Elsevier Science Publishing. 1~5.
- Weber K, Osborn M J. 1969. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis. *Biological Chemistry*, 244:4406.

STUDIES ON THE TEXTURE AND STRUCTURE CHANGES OF COMMON CARP STORED AT -20°C

WANG Qiu-Kuan, LI Zhen-Min¹, LIU Jun-Rong

(*Department of Fishery Engineering, Dalian fisheries university, 116023*)

(*Liaoning Import & Export Commodity Inspection Bureau, Dalian 116001*)¹

ABSTRACT The density of myosin heavy chain analyzed by SDS-polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) decreases obviously for the common carp stored at -20°C after 210 days, while the density of the band at top of the gel increased for the same samples. In addition, a new band(D) was appeared as frozen storage progressed. All above indicated that the formation of covalent bonds of —S—S— type or other has happened during frozen storage. The gapping in the flesh of frozen common carp was particularly noticed by Scanning Electronic Microscope. This confirmed that water holding capacity of protein fell since the size of ice crystal increased during frozen storage. As a result, the texture of fish flesh decreased.

KEYWORDS Common carp, Frozen storage, Myosin heavy chain, Texture and structure