

文章编号: 1000-0615(2019)08-1839-11

DOI: 10.11964/jfc.20180711383

不同解冻方式反复冻融对金乌贼蛋白质分子间作用力的影响

张洪超, 薛张芝, 丁源, 徐晓蓉, 金洋,
李和生*, 王鸿飞, 许凤

(宁波大学食品与药学学院, 浙江宁波 315800)

摘要: 为研究反复冻融对乌贼肉蛋白质性质的影响, 探究冻融过程中蛋白质分子间作用力的变化。以新鲜金乌贼肉为研究对象, 3种不同解冻方式(0 °C解冻、流水解冻和室温解冻)分别进行9次冻融处理。结果显示, 在反复冻融过程中, 冻融方式对分子间作用力的影响显著, 0 °C解冻优于流水解冻优于室温解冻。3种解冻方式解冻乌贼肉时, 分子间作用力变化趋势保持一致, 离子键和氢键含量降低, 离子键分别降低了7.71%、10.64%和13.61%, 氢键分别由31.91%、31.97%和31.87%降低到了26.76%、25.53%和23.94%; 疏水相互作用、二硫键和非二硫共价键的含量均增加, 疏水作用力分别增加了8.86%、12.35%和14.72%, 二硫键分别增加了1.43%、1.96%和2.85%, 非二硫共价键分别由1.16%、1.28%和1.55%增加到了3.75%、4.05%和5.50%; 肌原纤维蛋白表面疏水性分别由30.47、31.31和32.26 μg增加至46.10、53.51和58.91 μg, 与疏水作用力的结果保持一致; 巯基与活性巯基含量降低, 巯基分别降低了13.07、38.99和40.32 nmol/mg, 活性巯基分别降低了6.55、24.26和43.16 nmol/mg, 与二硫键生成趋势保持一致。红外光谱分析反复冻融过程中蛋白质中二级结构的变化规律, 得到反复冻融使肌原纤维蛋白的空间构象发生改变, 9次冻融后, 0 °C解冻、流水解冻和室温解冻3种冻融方式的光谱带向不同波数方向依次有规律移动, 其中酰胺A带和酰胺III带向高波数方向微移, 酰胺I带、酰胺II带向低波数方向微移。蛋白质二级结构发生变化, α-螺旋和β-折叠二者含量之和占总比降低, β-转角和无规则卷曲二者含量之和增加。反复冻融过程实则是蛋白质缓慢氧化的过程。

关键词: 金乌贼; 0 °C解冻; 流水解冻; 室温解冻; 反复冻融; 分子间作用力; 肌原纤维蛋白

中图分类号: TS 254.1

文献标志码: A

金乌贼(*Sepia esculenta*)属软体动物门(Mollusca)、头足纲(Cephalopoda)、乌贼目(Sepiida)。其肉质营养丰富, 富含优质蛋白、多不饱和脂肪酸和多种人体必需的微量元素, 是我国传统四大海产之一^[1]。随着我国经济水平的提高, 金乌贼不仅限于沿海地区人们食用, 也已逐渐走向内陆人们的餐桌。远洋捕捞的金乌贼多以船冻的方式进行保存, 从而延长其保藏期, Estévez^[2]的研究表明, 最佳肉类贮藏温度是-40 °C。由于

我国目前冷链系统不完善, 长途运输、贮藏消费过程中难免出现反复冻融的现象^[3]。

反复冻融可改变肉类组织中水分的含量与分布^[4], 冰晶在产生与融化过程中细胞膜被破坏, 细胞液中的线粒体和溶酶体被释放, 细胞内外可溶性物质的浓度变化较大, 且反复冻融次数增加会加速细胞液流失和脂质及蛋白质的氧化^[5], 此过程中, 蛋白质氧化为持续氧化^[6], 活性氧(reactive oxygen species, ROS)攻击蛋白质使其通过非

收稿日期: 2018-07-30 修回日期: 2018-11-20

资助项目: 浙江省重大科技专项(2009C03017-3); “水产”浙江省重中之重学科开放基金(xkzsc1523); 宁波市自然科学基金(013A610156)

通信作者: 李和生, E-mail: lihesheng@nbu.edu.cn

共价和共价分子间作用力形成蛋白质聚集体^[5, 7], 参与这些蛋白质聚集的键为氢键、离子键、疏水键和二硫键^[8-9]。由于这些键的参与导致蛋白质分子间构象重排, 使蛋白质发生变性。Jiang等^[10]在研究贮藏温度对虱目鱼(*Chanos chanos*)蛋白二硫键形成及变性的影响时表明, 在-20 °C条件下储存生成的二硫键比在-35 °C储存时生成的二硫键要多。疏水作用力增加、二硫键形成使得蛋白质有序的三级结构被破坏, 蛋白质间发生交联^[11], 从而使得蛋白质分子间相互作用的平衡被打破^[12]。

金乌贼肉组织结构与一般可食性的鱼和哺乳动物肉类结构差别很大^[13]。目前, 国内外关于乌贼冻融和解冻方式对蛋白质的氧化的研究报道很少, 对于分子间作用力变化的研究更为鲜见, 热门研究集中在热诱导过程中分子间作用力的变化方面。刘书成等^[14]研究高密度CO₂处理凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)肌球蛋白分子间作用力的变化时, 发现高密度CO₂处理肌球蛋白时, 氢键和离子键含量降低, 疏水相互作用、二硫键和非二硫共价键含量增加; 同密度CO₂压强处理, 40~60 °C范围内随着温度升高, 氢键和二硫键含量无显著变化, 非二硫共价键含量呈增加趋势, 疏水相互作用呈降低趋势, 离子键先降低后升高。Tan等^[15]研究热诱导和压力处理罗非鱼(*Oreochromis spp.*)肉酱时, 发现二硫键和共价键可促进凝胶网络结构的形成, 压力作用生成氢键和疏水作用力可使凝胶更柔软。本实验以金乌贼肉为对象, 对其进行3种常见解冻方式(0 °C解冻、流水解冻、室温解冻)的反复冻融处理, 探究不同解冻方式下及冻融过程中金乌贼肉蛋白质分子间作用力、表面疏水性、巯基及蛋白质二级结构的变化情况, 探讨不同解冻方式与冻融过程中分子间作用力的变化对蛋白质品质的影响, 探明反复冻融与蛋白质氧化的关系, 为乌贼储存运输销售及水产品加工企业乌贼的保鲜、延长贮藏期和提高乌贼经济效益与食用品质提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

金乌贼购于浙江舟山渔场, 快速解剖清洗, 冰藏运往实验室备用。

牛血清蛋白购自上海源叶生物科技有限公司;

其他化学试剂均为国药分析纯。

1.2 实验仪器

T2供应电耦测温仪, 北京华海恒辉科技有限公司; 高速冷冻离心机, 德国Eppendorf公司; XHF-D高速分散器, 宁波新芝生物科技股份有限公司; 721型可见分光光度计, 上海舜宇恒平科学仪器有限公司; Jasco傅立叶红外光谱仪, 日本分光公司; 海尔BCD-539WT冰箱, 青岛海尔股份有限公司。

1.3 实验方法

反复冻融处理方式 取新鲜金乌贼作为0次处理组, 然后将样品冻结在(-20±1) °C, 解冻时用测温仪测得样品中心温度为0 °C时取样, 取样结束后继续放回冰箱中冻藏, 作为1个冻融处理。5 d作为一个循环, 分别进行0、1、3、5、7、9次冻融处理, 将每次处理好的样品进行实验分析。

解冻方法 0 °C解冻: 将样品用聚乙烯袋密封包装, 取碎冰将样品包裹, 用测温仪测得样品中心0 °C时为解冻终点。流水解冻: 将样品用聚乙烯密封袋包装, 装样品的密封袋完全浸泡水中, 并置于水龙头下采用流动水解冻, 水温(18±2) °C, 用测温仪测得样品中心温度为0 °C时为解冻终点。室温解冻: 将样品用聚乙烯密封袋包装, 放置在白色搪瓷托盘中, 置于周围没有热源的实验台上解冻, 室温(25±1) °C, 用测温仪测得样品中心温度为0 °C时为解冻终点。

分子间作用力的测定 参照Tan等^[15]的方法, 并做适当修改。取0.5 g金乌贼肉糜加A1(10 mL 0.6 mol/L NaCl)提取液, 在8 000 r/min下匀浆3 min, 4 °C放置1 h, 取出并在4 °C 10 000 r/min离心10 min, 上清液于4 °C保存。向A1处理所得沉淀中加10 mL A2(1.5 mol/L尿素和0.6 mol/L NaCl的混合液)溶液, 重复上述操作, 上清液于4 °C保存。向A2处理所得沉淀中加10 mL A3(8 mol/L尿素和0.6 mol/L NaCl的混合液)溶液, 重复上述操作2次, 得到的上清液混合后置于4 °C保存。向A3处理所得沉淀中加10 mL A4(0.5 mol/L β-巯基乙醇、0.6 mol/L NaCl和8 mol/L尿素的混合液, pH值为7)溶液, 重复离心操作, 所得上清液于4 °C保存。A4溶液处理所得沉淀, 加入1 mL 1 mol/L NaOH, 4 °C保存。将以上每步离心后所得上清液分别加入等体积质量分数为20%的三氯乙酸, 10 000 r/min离心10 min,

弃上清液,向沉淀中加入1 mL 1 mol/L NaOH溶液于4 °C放置,采用双缩脲法对蛋白质含量进行测定。溶解于A1的蛋白质质量分数为离子键的贡献,溶解于A2的蛋白质质量分数为氢键的贡献,溶解于A3的蛋白质质量分数为疏水相互作用力的贡献,溶解于A4的蛋白质质量分数为二硫键的贡献,A4溶液提取后最终沉淀的蛋白质质量分数为非二硫共价键的贡献。

肌原纤维蛋白的提取 参考Xiong等^[16]的方法,取1 g金乌贼肉糜样品,加入20 mL冷却的Tris-maleate缓冲液(50 mmol/L KCl, 20 mmol/L Tris-maleate, pH 7)后充分匀浆,然后在10 000 r/min, 4 °C条件下离心10 min,弃上清液后在沉淀中加入10 mL Tris-maleate缓冲液(0.6 mol/L KCl, 20 mmol/L Tris-maleate, pH 7),充分匀浆后置于4 °C冰箱中提取1 h,然后在10 000 r/min, 4 °C条件下离心10 min,所得的上清液为肌原纤维蛋白。

表面疏水性巯基的测定 参照Chelh等^[17]的方法,用溴酚蓝含量表示表面疏水性。取1 mL蛋白液加入200 μ L 1 mg/mL的溴酚蓝,对照组用1 mL磷酸盐缓冲溶液代替蛋白液进行测定。室温条件下反应10 min, 4 °C 7 000 r/min离心15 min。取1 mL上清液,稀释10倍后,595 nm波长处测定吸光值。溴酚蓝在蛋白质中的含量(μ g)按以下公式计算:

$$\text{溴酚蓝含量} = 200 \times \frac{A_{\text{对照组}} - A_{\text{样品}}}{A_{\text{对照组}}}$$

式中,200为溴酚蓝质量(μ g)。

巯基和活性巯基的测定 参考Yongsawatdigul等^[18]的方法,并适当改动。取1 mL蛋白液于试管中,分别加入9 mL 50 mmol/L磷酸缓冲液1(8 mol/L尿素、0.6 mol/L KCl、10 mmol/L EDTA, pH为7)。取上述混合液4.5 mL,加入0.5 mL 0.1% DTNB, 40 °C水浴30 min,在412 nm处测定吸光度即可得到总巯基的吸光值。空白为缓冲液1。活性巯基的测定用缓冲液2(50 mmol/L磷酸盐缓冲液、10 mmol/L EDTA、0.6 mol/L KCl, pH为7)替换缓冲液1,混合液在4 °C反应1 h后,在412 nm处测定吸光值。空白用缓冲液2代替样品。

$$\text{巯基含量(nmol/mg)} = \frac{A \times n}{(13\ 600 \times \rho)}$$

式中, A 表示412 nm波长处的吸光度; n 表示稀释倍数; 13 600表示摩尔吸光系数[L/(mol·cm)]; ρ 为蛋白质质量浓度(mg/mL)。

红外光谱(FTIR)测定 参照胡熠等^[19]方法,将提取好的蛋白质置于冷冻干燥机中冷冻干燥48 h后取出,于干燥器中平衡2 h,在20%相对湿度条件下,取0.2 mg肌原纤维蛋白干粉和2 mg KBr在研钵中充分研磨,取适量进行压片,固定于样品架上,用傅立叶红外光谱仪在400~4 000 cm^{-1} 的波数范围进行全波段扫描测定吸光度,分析红外光谱图以确定氧化对金乌贼肉二级结构的影响。

数据处理 实验所得数据均为3次重复的平均值,数据用平均值 \pm 标准差(mean \pm SD)表示,采用IBM SPSS Statistics 19.0对结果进行数据分析,Duncan氏多重检验进行数据间的显著性差异分析,用Origin 8.5作图。

2 结果

2.1 反复冻融对金乌贼肉肌原纤维蛋白分子间作用力的影响

离子键变化 在(-20 \pm 1) °C条件下冻结后,采用0 °C解冻、流水解冻和室温解冻3种解冻方式解冻肉样,随着解冻次数的增加,离子键含量显著降低($P < 0.05$)。0 °C解冻的第1、3次冻融离子键下降不显著($P > 0.05$),随着冻融次数的增加,离子键含量下降程度逐渐增大;流水解冻与室温解冻方式从第1次解冻开始,离子键含量就已经呈现出显著降低的趋势,9次冻融后,分别由新鲜样品的32.73% \pm 0.25%和32.51% \pm 0.15%降低到22.10% \pm 0.51%和18.89% \pm 0.21%(图1)。且3种解冻方式反复冻融金乌贼时,离子键降低总量为室温解冻>流水解冻>0 °C解冻。

氢键变化 采用3种不同的解冻方式对金乌贼肉进行冻融时,随着解冻次数的增加,氢键含量显著降低($P < 0.05$),其中室温解冻条件下解冻9次的结果最为显著,由初始的31.87% \pm 0.11%降为23.95% \pm 0.12%,流水解冻9次后氢键含量为初始值的79.87%; 0 °C解冻时,9次冻融后氢键降低了5.15%(图2)。

疏水作用力变化 在整个冻融过程中,3个处理组疏水作用力均显著增加($P < 0.05$),且前3次解冻后组间均无显著差异($P > 0.05$),第5次解冻后组间差距逐渐增大,9次解冻后3组处理疏水作用力分别为40.81% \pm 0.31%、44.27% \pm 0.53%和46.53% \pm 0.40%,与未冻融组相比增加了8.85%、12.34%和14.73%,并且0 °C解冻疏水作用力增速缓慢,室温解冻的增速最快(图3)。

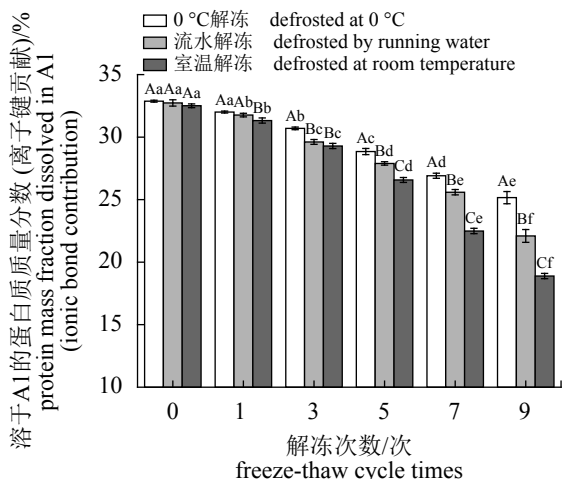


图1 不同解冻方式反复冻融对金乌贼肉离子键的影响

不同大写字母表示不同解冻方式处理组组间差异显著($P < 0.05$), 不同小写字母表示相同解冻方式处理组内差异显著($P < 0.05$), 下同

Fig. 1 Effects of different thawing ways and multiple freeze-thaw cycles on ionic bond of *S. esculenta* myofibrillar protein

Different capital letters mean significant difference at 0.05 level among different thawing ways treatment, different lowercase letters mean significant difference at 0.05 level among same thawing ways treatments, the same below

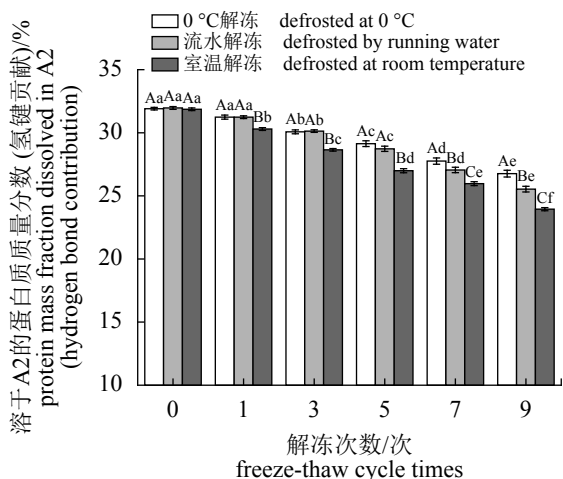


图2 不同解冻方式反复冻融对金乌贼肉氢键的影响

Fig. 2 Effects of different thawing ways and multiple freeze-thaw cycles on hydrogen bond of *S. esculenta* myofibrillar protein

二硫键变化 未处理组的乌贼肉肌原纤维蛋白中二硫键含量为 $2.09\% \pm 0.04\%$ 、 $2.09\% \pm 0.08\%$ 和 $2.28\% \pm 0.10\%$, 随着解冻次数的增多, 二硫键含量呈显著增长的趋势($P < 0.05$)。解冻次数超过3次后, 0°C解冻、流水解冻和室温解冻3种

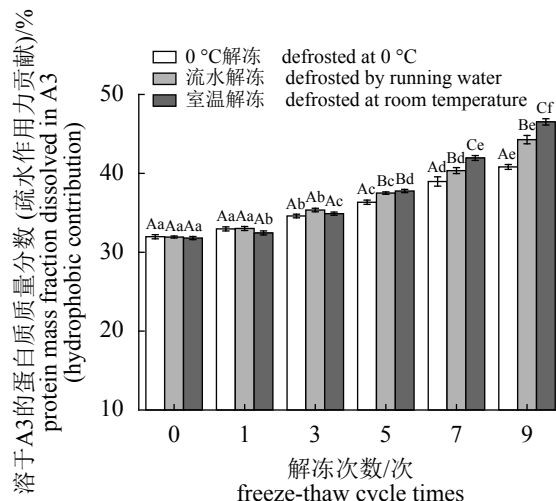


图3 不同解冻方式反复冻融对金乌贼肉疏水作用力的影响

Fig. 3 Effects of different thawing ways and multiple freeze-thaw cycles on hydrophobic bond of *S. esculenta* myofibrillar protein

处理方式呈现显著差异($P < 0.05$), 且室温解冻增加速率最快, 其中二硫键增加量为室温解冻>流水解冻>0°C解冻, 9次解冻后3种处理方式中, 二硫键分别增长了1.42%、1.96%和2.86%(图4)。

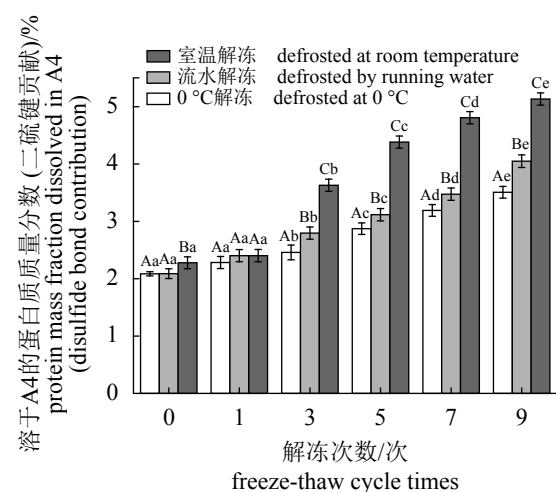


图4 不同解冻方式反复冻融对金乌贼肉二硫键的影响

Fig. 4 Effects of different thawing ways and multiple freeze-thaw cycles on disulfide bond of *S. esculenta* myofibrillar protein

非二硫共价键变化 新鲜样品中非二硫共价键含量较低, 但随着冻融次数的增加, 非二硫共价键显著增加($P < 0.05$)。在前5次冻融过程中0°C解冻和流水解冻2组处理的非二硫共价键增

长趋势相似, 且未表现出组间差异性($P>0.05$), 第7次解冻后流水解冻处理与0 °C解冻处理的非二硫共价键开始出现差异性, 且差异性逐渐增大。室温解冻处理组则一直保持显著增加趋势, 且增加量远大于其他2组, 经过9次解冻后, 非二硫共价键含量由 $1.55\% \pm 0.11\%$ 增加至 $5.50\% \pm 0.11\%$ (图5)。

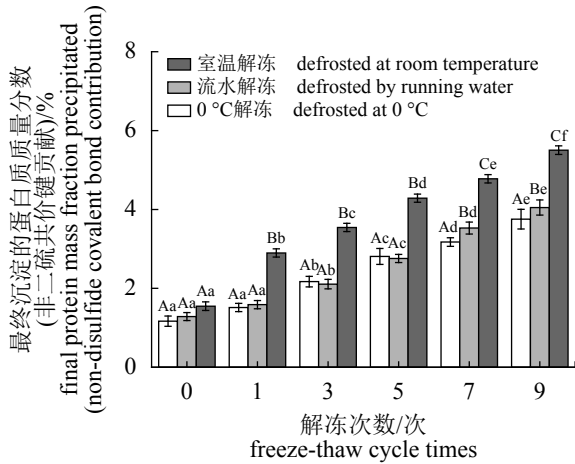


图5 不同解冻方式反复冻融对金乌贼肉非二硫共价键的影响

Fig. 5 Effects of different thawing ways and multiple freeze-thaw cycles on non-disulfide covalent bond of *S. esculenta* myofibrillar protein

2.2 反复冻融对金乌贼肌原纤维蛋白表面疏水性的影响

对照组乌贼肉溴酚蓝含量分别为 (30.47 ± 0.64) 、 (31.31 ± 0.54) 和 (32.26 ± 1.30) μg , 第1次解冻与新鲜样品相比无显著性差异, 随着解冻次数的增加, 乌贼肉肌原纤维蛋白表面疏水性呈显著上升趋势($P<0.05$), 且流水解冻和室温解冻表面疏水性增加量远大于0 °C解冻, 3种解冻方式经9次冻融处理后, 溴酚蓝含量分别由 (30.47 ± 0.64) 、 (31.31 ± 0.54) 和 (32.26 ± 1.30) μg 增加至 (46.10 ± 1.24) 、 (53.51 ± 1.46) 和 (58.91 ± 1.04) μg , 溴酚蓝含量增加率分别为51.30%、70.90%和75.63%(图6)。

2.3 反复冻融对金乌贼肌原纤维蛋白巯基含量的影响

随着解冻次数的增加, 总巯基与活性巯基的含量均呈显著下降趋势($P<0.05$), 0 °C解冻组的新鲜样品中总巯基和活性巯基分别为 (109.03 ± 0.28) 和 (92.05 ± 0.28) nmol/mg , 9次解冻后总巯基和活性巯基分别降为鲜样的72.58%和79.84%, 流水解冻和室温解冻时的降低量较0 °C解冻更为

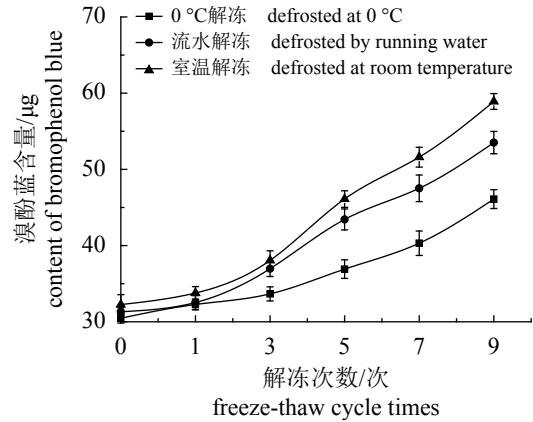


图6 不同解冻方式反复冻融对金乌贼肌原纤维蛋白表面疏水性的影响

Fig. 6 Effects of different thawing ways and multiple freeze-thaw cycles on surface hydrophobicity of *S. esculenta* myofibrillar protein

显著, 巯基和活性巯基分别降低了38.99、24.26 nmol/mg 和40.32、43.16 nmol/mg (表1)。

2.4 红外光谱分析反复冻融对金乌贼肌原纤维蛋白的影响

反复冻融乌贼肉FTIR的变化 新鲜乌贼肉样品在 $3\ 372\ \text{cm}^{-1}$ 处出现峰值位于酰胺A带, 主要是因为NH基团变角振动产生的; 9次冻融后酰胺A带向高波数方向微微移动, 且室温解冻移动波数最多, 而0 °C冻融移动的波数最少; $1\ 644\ \text{cm}^{-1}$ 处的峰对应谱图的酰胺I带, 主要是C=O伸缩振动产生的, 能反映蛋白质中二级结构的变化^[20], $1\ 562\ \text{cm}^{-1}$ 处出现的峰为酰胺II带特征光谱范围, 主要是由N-H键的弯曲振动引起; 酰胺I带和酰胺II带均向低波数方向移动, 偏移波数仍旧保持0 °C解冻最小, 室温解冻偏移波数最多; 由C-N伸缩产生的酰胺III带的吸收峰出现在了 $1\ 306\ \text{cm}^{-1}$ 处, 向高波数方向微微偏移(图7)。

金乌贼肌原纤维蛋白二级结构变化 图8为金乌贼肉9次冻融后肌原纤维蛋白红外光谱图的酰胺I带($1\ 600\sim 1\ 700\ \text{cm}^{-1}$)进行退卷积和高斯拟合后得到的蛋白质二级结构。由图可知新鲜样品中 α -螺旋和 β -折叠含量分别为58.30%和41.12%, 占总比的99.42%, β -转角和无规则卷曲含量较低, 分别为0.31%和0.27%; 9次冻融后, 0 °C解冻、流水解冻和室温解冻处理组 α -螺旋和 β -折叠二者含量之和均降低, 分别占总比的97.97%、97.37%和97.03%, 其中 α -螺旋含量降低、 β -折叠

表 1 不同解冻方式反复冻融对金乌贼肌原纤维蛋白巯基含量的影响

解冻次数/次 freeze-thaw cycle times	0 °C解冻 defrosted at 0 °C		流水解冻 defrosted by running water		室温解冻 defrosted at room temperature	
	总巯基 total sulfhydryl	活性巯基 active sulfhydryl	总巯基 total sulfhydryl	活性巯基 active sulfhydryl	总巯基 total sulfhydryl	活性巯基 active sulfhydryl
0	109.03±0.28 ^{Aa}	92.05±0.28 ^{Aa}	108.05±0.32 ^{Aa}	90.03±0.26 ^{Aa}	108.07±0.15 ^{Aa}	91.05±0.32 ^{Aa}
1	106.18±0.75 ^{Aa}	91.23±0.85 ^{Aa}	99.84±1.70 ^{Ba}	89.22±1.20 ^{Ba}	90.44±1.00 ^{Bb}	80.76±1.33 ^{Cb}
3	102.52±0.66 ^{Aa}	88.52±1.52 ^{Aa}	90.09±0.71 ^{Bab}	85.11±1.07 ^{Bb}	83.22±1.80 ^{Bc}	78.20±0.62 ^{Bc}
5	95.96±1.20 ^{Ab}	85.50±0.45 ^{Ab}	84.55±0.34 ^{Bb}	70.71±0.18 ^{Bc}	81.70±0.91 ^{Bc}	64.42±0.71 ^{Cd}
7	89.15±0.17 ^{Ac}	84.69±0.21 ^{Ac}	76.46±1.03 ^{Bc}	69.55±0.44 ^{Bd}	74.92±0.47 ^{Bd}	53.29±0.43 ^{Cc}
9	79.11±0.54 ^{Ad}	73.50±0.20 ^{Ad}	69.06±0.16 ^{Bd}	65.77±1.98 ^{Bc}	67.75±0.32 ^{Bc}	47.89±0.89 ^{Cf}

注：不同大写字母表示不同解冻方式处理组间差异显著($P<0.05$)，不同小写字母表示相同解冻方式处理组内差异显著($P<0.05$)
Notes: different capital letters mean significant difference at 0.05 level among different thawing ways treatment, different lowercase letters mean significant difference at 0.05 level among same thawing ways treatments

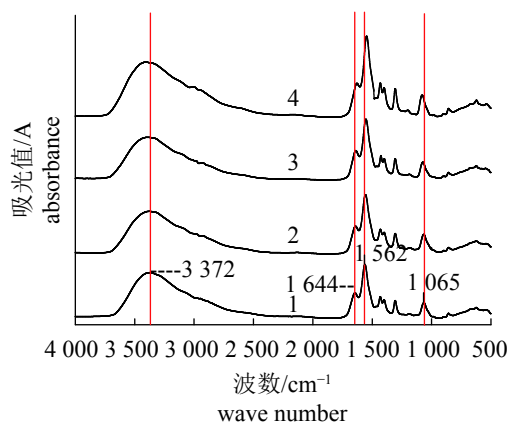


图 7 金乌贼肌原纤维蛋白红外光谱图

1.新鲜样品, 2.0 °C解冻, 3.流水解冻, 4.室温解冻, 下同

Fig. 7 FTIR spectra of *S. esculenta* myofibrillar protein

1. fresh sample, 2. defrosted at 0 °C, 3. defrosted by running water, 4. defrosted at room temperature, the same below

含量升高, 而 β -转角和无规则卷曲含量之和增加, 分别由鲜样所占总比的0.58%, 增加到了2.03%、2.63%和2.97%。

3 讨论

低温贮藏过程中鱼肉会发生冷冻变性, 冷冻变性一般分为蛋白质分子的聚集变性和多肽链的展开变性2种^[12]。反复冻融促进蛋白质氧化^[21], 蛋白质氧化是由ROS作用于脂肪或某些蛋白质特定氨基酸残基, 发生自由基链式反应, 引起电子转移, 打乱分子间相互作用, 致使蛋白质分子聚集、多肽链展开断裂。肉蛋白分子的

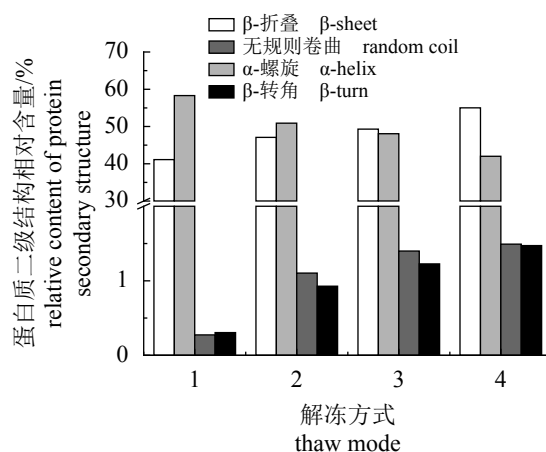


图 8 不同解冻方式反复冻融对金乌贼肌原纤维蛋白二级结构的影响

Fig. 8 Effect of different thawing ways and multiple freeze-thaw cycles on secondary structure of *S. esculenta* myofibrillar protein

聚集与二硫键生成有关^[10]。许多学者认为, 半胱氨酸和蛋氨酸为氧化敏感氨基酸^[22], 半胱氨酸含有巯基, 氧化后易形成二硫化物^[23], 经冷冻后总巯基和活性巯基含量减少, 伴随着二硫键含量增加^[12]。Ali等^[24]研究多次冻融循环对鸡胸脯肉品质的影响时, 发现前4次冻融循环中, 巯基含量无显著性差异, 第5~7次冻融循环时, 巯基含量显著下降, 推测可能是由于蛋白质发生了氧化而导致。周果等^[25]研究表明, 鲈(*Scorpaenopsis japonicus*)在-20 °C和-36 °C分别贮藏30 d后, 活性巯基降为初始值的34.68%和55.22%; 采用不同解冻方式解冻鲈时, 肌原纤维蛋白巯基含量表现为自然

解冻与流水解冻无显著性差异, 低温解冻方式优于前2种解冻方式。Benjakul等^[5]研究长尾大眼鲷(*Priacanthus tayenus*)、狗母鱼(*Sauruda micropectoralis*)和黄花鱼(*Pennahai macrophthalmus*)等热带鱼时, 发现在贮藏过程中二硫键的形成都伴随着巯基的减少; 本研究发现3种解冻方式第1次冻融循环时, 二硫键含量变化均无显著性差异($P>0.05$), 3次冻融后二硫键生成显著增加($P<0.05$), 且室温解冻>流水解冻>0℃解冻; 同时巯基与活性巯基含量的减少量与二硫键生成量的趋势保持一致, 本研究结果与以上学者的研究结论一致。Seidler等^[26]研究-28℃冻藏热处理后的阿根廷滑柔鱼(*Illex argentinus*)时, 随着冻藏时间的增加, 巯基含量上升, 与本研究结果相反, 可能是由于热处理后蛋白质发生变性而导致的。二硫键和非二硫共价键与肌球蛋白交联有关, 交联导致蛋白质聚合物的形成^[12]。本研究中非二硫共价键随着冻融次数的增加, 均呈显著增加的趋势, 说明在反复冻融过程中, 分子间作用力平衡被打破, 蛋白质发生交联, 周非白^[27]研究表明丙二醛氧化可诱导肌球蛋白分子间产生非二硫共价键交联, 从而导致非二硫共价键增加, 与本研究结果一致。

冻藏引起鱼肉肌球蛋白的打开与伸展, 暴露的非极性氨基酸和邻近的类似基团引起疏水相互作用, 这个过程导致了蛋白质的变性^[28]。Mignino等^[29]报道, 在-30℃条件下冻藏8个月的钓机捕捞的阿根廷滑柔鱼, 表面疏水性显著增加($P<0.05$)。本研究发现, 随着冻融次数的增加, 疏水作用力显著增加, 蛋白质表面疏水性也显著增加, 3种解冻方式中室温解冻疏水作用力和表面疏水性增速最快, 而0℃解冻时二者增速最慢, 本研究中疏水作用力变化与表面疏水性在前3次冻融处理时增速缓慢, 随着冻融次数增加增速加快, 说明反复冻融可能引起了肌原纤维蛋白分子构象的变化。姜晴晴等^[21]研究发现, 荃柔鱼(*Dosidicus gigas*)在3次及以上冻融处理后表面疏水性显著增加($P<0.05$), 可能是由于冻融过程中蛋白质结构发生改变, 疏水性的脂肪族与芳香族氨基酸侧链基团暴露出来, 使表面疏水性增加。胡忠良等^[30]、Liu等^[31]发现蛋白质氧化会使蛋白质表面疏水性增加。因此, 反复冻融可能导致蛋白质发生缓慢氧化。在蛋白质聚集变性过程中, 离子键也参与其中, 使其

构象发生重排^[12], 本研究中的9次冻融后, 0℃解冻、流水解冻和室温解冻离子键含量分别由新鲜样品的 $32.87\%\pm 0.07\%$ 、 $32.73\%\pm 0.25\%$ 和 $32.51\%\pm 0.15\%$ 降低到了 $25.16\%\pm 0.48\%$ 、 $22.10\%\pm 0.51\%$ 和 $18.89\%\pm 0.21\%$ 。汪之和等^[23]研究鳊(*Parabramis pekinensis*)鱼糜贮藏过程中离子键与氢键的变化表明, 贮藏温度越高, 离子键、氢键下降越快, 与本研究结果相似。

FTIR红外光谱酰胺A带一般出现在 $3\ 400\sim 3\ 440\text{ cm}^{-1}$ 范围内, 本研究金乌贼肉肌原纤维FTIR显示, 酰胺A带在 $3\ 372\text{ cm}^{-1}$ 处出现峰值, 9次冻融处理后所得谱图显示, 酰胺A带均向高波数方向偏移, 且偏移量 $0\text{℃解冻}<\text{流水解冻}<\text{室温解冻}$ 。Sai等^[32]报道, 当肽段中N-H基团形成氢键时, 峰会向低波数方向移动, 本研究中反复冻融导致金乌贼肉肌原纤维蛋白中氢键逐渐减少, 因此会出现上述酰胺A带向高波数方向偏移的结果, 且 0℃解冻 时氢键减少量最少、室温解冻时氢键减少量最多。酰胺I带和酰胺II带特征峰一般出现在 $1\ 600\sim 1\ 700\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\ 600\sim 1\ 500\text{ cm}^{-1}$ 范围内, 本研究酰胺I带和酰胺II带的峰总体向低波数方向偏移, 可能是因为反复冻融过程中, 蛋白质结构逐渐展开, 使包裹在分子内部的一些疏水性的芳香族和脂肪族氨基酸侧链基团逐渐暴露, 从而导致蛋白表面疏水性的增加, 并且说明存在疏水作用力的变化。酰胺III带可以证明螺旋结构的完整存在^[33], 本研究酰胺III带向高波数方向微移, 说明螺旋结构有一定的展开。本研究对FTIR的酰胺I带进行处理后, 发现新鲜样品主要由 α -螺旋和 β -折叠结构构成, β -转角和无规则卷曲含量极少, 但9次冻融后 α -螺旋和 β -折叠结构之和呈减少趋势, β -转角和无规则卷曲之和增加。肌球蛋白的疏水基团更多的集中在螺旋的核心部位^[34], 具有 α -螺旋结构的蛋白在冻藏过程中易发生聚集变性^[35], 从而说明蛋白质肽链结构可能被破坏, 多肽链空间走向发生重排。王策等^[36]研究发现氧化使牛血清蛋白多肽链中的 α -螺旋减少, β -转角含量显著增加($P<0.05$)。推测可能是由于氧化使分子内部维持蛋白质 α -螺旋结构的氢键断裂, 各种分子内与分子间相互作用力平衡被打破, 蛋白质空间排列发生改变。本研究表明, 反复冻融使蛋白质二级结构发生了改变, 与氧化结果有一定的相似, 但 β -折叠含量上升可能是由于反复冻融所引

起的蛋白质氧化程度较低, 导致 α -螺旋结构转换为 β -折叠结构, 而氧化程度又不足以使得 β -折叠大量转换为其他更简单的折叠方式, 因此推测反复冻融使肌原纤维蛋白发生了缓慢的氧化。

4 结论

反复冻融金乌贼肉, 使肌原纤维蛋白分子间作用力平衡被打破, 分子间构象进行了重排, 从而使蛋白质发生变性。离子键和氢键含量降低($P<0.05$), 疏水相互作用力、二硫键和非二硫共价键的含量增加($P<0.05$); 肌原纤维蛋白表面疏水性增加($P<0.05$), 与疏水作用力结果保持一致; 巯基与活性巯基含量降低($P<0.05$), 与二硫键生成趋势保持一致。红外光谱分析反复冻融过程中蛋白质二级结构的变化规律, 结果表明反复冻融使肌原纤维蛋白的空间构象发生改变, 9次冻融后, 0℃解冻、流水解冻和室温解冻3种冻融方式的光谱带向不同波数方向依次有规律地移动, 其中酰胺A带和酰胺Ⅲ带向高波数方向微移, 酰胺Ⅰ带、酰胺Ⅱ带向低波数方向微移。蛋白质二级结构发生变化, α -螺旋和 β -折叠二者含量之和降低, β -转角和无规则卷曲二者含量之和增加。反复冻融过程实则是蛋白质缓慢氧化的过程, 冻融过程中蛋白质氧化速率与解冻方式有很大的关系, 其中0℃解冻优于流水解冻优于室温解冻。

参考文献:

- [1] 金洋, 薛张芝, 张洪超, 等. 金乌贼肌肉中三甲胺脱甲基酶的分离纯化及酶学性质[J]. 水产学报, 2017, 41(6): 845-853.
Jin Y, Xue Z Z, Zhang H C, et al. Purification and enzymatic properties of TMAOase from muscles of *Sepia esculenta*[J]. Journal of Fisheries of China, 2017, 41(6): 845-853(in Chinese).
- [2] Estévez M. Protein carbonyls in meat systems: a review[J]. *Meat Science*, 2011, 89(3): 259-279.
- [3] 姜晴晴, 邵世奇, 陈士国, 等. 冻融循环对带鱼蛋白性质及肌肉品质的影响[J]. 中国食品学报, 2016, 16(4): 122-129.
Jiang Q Q, Shao S Q, Chen S G, et al. Effect of freeze-thaw cycles on the characteristics of protein and the quality of muscle in hairtail (*Trichiurus haumela*)[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2016, 16(4): 122-129(in Chinese).
- [4] Leygonie C, Britz T J, Hoffman L C. Impact of freezing and thawing on the quality of meat: review[J]. *Meat Science*, 2012, 91(2): 93-98.
- [5] 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.
- [6] Delles R M, Xiong Y L. The Effect of protein oxidation on hydration and water-binding in pork packaged in an oxygen-enriched atmosphere[J]. *Meat Science*, 2014, 97(2): 181-188.
- [7] Liu G, Xiong Y L, Butterfield D A. Chemical, Physical, and Gel - forming properties of oxidized myofibrils and whey- and soy-protein isolates[J]. *Journal of Food Science*, 2000, 65(5): 811-818.
- [8] Ramiarez J A, Martian-Polo M O, Bandman E. Fish myosin aggregation as affected by freezing and initial physical state[J]. *Journal of Food Science*, 2000, 65(4): 556-560.
- [9] Álvarez C, Huidobro A, de Miguel E, et al. Consequences of frozen storage for nutritional value of hake[J]. *Food Science and Technology International*, 1999, 5(6): 493-499.
- [10] Jiang S T, Hwang D C, Chen C S. Effect of storage temperatures on the formation of disulfides and denaturation of milkfish actomyosin (*Chanos chanos*)[J]. *Journal of Food Science*, 1988, 53(5): 1333-1335.
- [11] Sriket P, Benjakul S, Visessanguan W, et al. Comparative studies on the effect of the freeze-thawing process on the physicochemical properties and microstructures of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and white shrimp (*Penaeus vannamei*) muscle[J]. *Food Chemistry*, 2007, 104(1): 113-121.
- [12] 郭园园, 孔保华. 冷冻贮藏引起的鱼肉蛋白变性及其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(in Chinese).
- [13] Otwell W S, Hamann D D. Textural characterization of squid (*Loligo pealei* Le suer): scanning electron microscopy of cooked mantle[J]. *Journal of Food Science*, 1979, 44(6): 1629-1635.

- [14] 刘书成, 郭明慧, 刘媛, 等. 高密度CO₂处理过程中虾肌球蛋白分子间作用力的变化[J]. 食品科学, 2018, 39(7): 153-159.
Liu S C, Guo M H, Liu Y, *et al.* Change in intermolecular force of myosin from *Litopenaeus vannamei* treated by dense phase carbon dioxide[J]. Food Science, 2018, 39(7): 153-159(in Chinese).
- [15] Tan F J, Lai K M, Hsu K C. A comparative study on physical properties and chemical interactions of gels from tilapia meat pastes induced by heat and pressure[J]. *Journal of Texture Studies*, 2010, 41(2): 153-170.
- [16] Xiong G Q, Cheng W, Ye L X, *et al.* Effects of konjac glucomannan on physicochemical properties of myofibrillar protein and surimi gels from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Food Chemistry*, 2009, 116(2): 413-418.
- [17] Chelh I, Gatellier P, Santé-Lhoutellier V. Technical note: a simplified procedure for myofibrillar hydrophobicity determination[J]. *Meat Science*, 2006, 74(4): 681-683.
- [18] Yongsawatdigul J, Park J W. Thermal denaturation and aggregation of threadfin bream actomyosin[J]. *Food Chemistry*, 2003, 83(3): 409-416.
- [19] 胡熠, 周伟, 唐艳, 等. 香豆素对鱼鳞明胶可食性膜结构及性能的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(12): 112-118.
Hu Y, Zhou W, Tang Y, *et al.* Effect of coumarin on structure and properties of fish scale gelatin edible film[J]. *Food Science*, 2018, 39(12): 112-118(in Chinese).
- [20] 李侠, 孙圳, 杨方威, 等. 适宜冻结温度保持牛肉蛋白稳定性抑制水分态变[J]. 农业工程学报, 2015, 31(23): 238-245.
Li X, Sun Z, Yang F W, *et al.* Appropriate freezing temperature to maintain beef protein stability and inhibit myowater state changes[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2015, 31(23): 238-245(in Chinese).
- [21] 姜晴晴, 李珊, 刘文娟, 等. 冻融循环对秘鲁鱿鱼蛋白及肌肉品质的影响[J]. 现代食品科技, 2014, 30(7): 171-178.
Jiang Q Q, Li S, Liu W J, *et al.* Effect of freeze-thaw cycles on proteins and muscle quality of *Dosidicus gigas*[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2014, 30(7): 171-178(in Chinese).
- [22] Lii C K, Chai Y C, Zhao W, *et al.* S-thiolation and irreversible oxidation of sulfhydryls on carbonic anhydrase III during oxidative stress: a method for studying protein modification in intact cells and tissues[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1994, 308(1): 231-239.
- [23] 汪之和, 朱孔辉, 施文正, 等. 鳊鱼鱼糜蛋白质结构与凝胶特性关系的研究[J]. 水产学报, 2010, 34(5): 814-819.
Wang Z H, Zhu K H, Shi W Z, *et al.* Studies on the protein structure and characteristics of gel strength of *Parabramis pekinensis* surimi[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2010, 34(5): 814-819(in Chinese).
- [24] Ali S, Zhang W G, Rajput N, *et al.* Effect of multiple freeze-thaw cycles on the quality of chicken breast meat[J]. *Food Chemistry*, 2015, 173: 808-814.
- [25] 周果, 王芝妍, 陈霞霞, 等. 贮藏温度及解冻方式对鲈鱼肉蛋白生化特性的影响[J]. 中国食品学报, 2016, 16(7): 164-169.
Zhou G, Wang Z Y, Chen X X, *et al.* Effect of storage temperature and thawing way on the biochemical properties of protein from *Pneumatophorus japonicus*[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2016, 16(7): 164-169(in Chinese).
- [26] Seidler D I T, Bronowski D I M. Effects of storage time and thermal treatment on the nutritive value of squid (*Illex argentinus*)[J]. *Die Nahrung*, 1987, 31(10): 949-957.
- [27] 周非白. 氧化修饰对猪肉肌原纤维蛋白结构与功能特性的调控研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2016.
Zhou F B. Oxidative modification on porcine myofibrillar protein in relation to structural changes and functional properties[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2016(in Chinese).
- [28] Natseba A, Lwalinda I, Kakura E, *et al.* Effect of pre-freezing icing duration on quality changes in frozen Nile perch (*Lates niloticus*)[J]. *Food Research International*, 2005, 38(4): 469-474.
- [29] Mignino L A, Crupkin M, Paredi M E. Surface hydrophobicity and functional properties of myofibrillar proteins of mantle from frozen-stored squid (*Illex argentinus*) caught either jigging machine or trawling[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2008, 41(4): 678-685.
- [30] 胡忠良, 邹玉峰, 林玉海, 等. 氧化程度对肌原纤维蛋

- 白热凝胶及理化特性的影响[J]. *食品科学*, 2013, 34(17): 19-22.
- Hu Z L, Zou Y F, Lin Y H, *et al.* Effect of oxidation degree on heat-induced gel formation and physico-chemical properties of myofibrillar protein[J]. *Food Science*, 2013, 34(17): 19-22(in Chinese).
- [31] Liu Q, Chen Q, Kong B H, *et al.* The influence of superchilling and cryoprotectants on protein oxidation and structural changes in the myofibrillar proteins of common carp (*Cyprinus carpio*) surimi[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2014, 57(2): 603-611.
- [32] Sai K P, Babu M. Studies on *Rana tigerina* skin collagen[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2001, 128(1): 81-90.
- [33] Muyonga J H, Cole C G B, Duodu K G. Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*)[J]. *Food Chemistry*, 2004, 85(1): 81-89.
- [34] Borejdo J. Mapping of hydrophobic sites on the surface of myosin and its fragments[J]. *Biochemistry*, 1983, 22(5): 1182-1187.
- [35] 朱文慧, 宦海珍, 步营, 等. 低温贮藏和解冻过程对鱿鱼品质的影响研究进展[J]. *食品科学*, 2017, 38(17): 297-285.
- Zhu W H, Huan H Z, Bu Y, *et al.* Progress in the effects of low-temperature storage and thawing on squid quality[J]. *Food Science*, 2017, 38(17): 297-285(in Chinese).
- [36] 王策, 李侠, 邓少颖, 等. 羟基自由基氧化对牛血清白蛋白结构及水合特性的影响[J]. *中国农业科学*, 2017, 50(15): 3013-3023.
- Wang C, Li X, Deng S Y, *et al.* Effects of hydroxyl radicals oxidation on structure and hydration properties of bovine serum albumin[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2017, 50(15): 3013-3023(in Chinese).

Effects of different thawing ways and multiple freeze-thaw cycles on myofibrillar protein intermolecular force of *Sepia esculenta*

ZHANG Hongchao, XUE Zhangzhi, DING Yuan, XU Xiaorong, JIN Yang,
LI Hesheng*, WANG Hongfei, XU Feng

(College of Food and Pharmaceutical Sciences, Ningbo University, Ningbo 315800, China)

Abstract: This study explored the effects of multiple freeze-thaw cycles on myofibrillar protein intermolecular force of *Sepia esculenta* and its protein properties. Fresh *S. esculenta* meat were defrosted by three different ways which are 0 °C, running water and normal temperature for 9 freeze-thaw cycles. The results showed that the effects of defrosting ways were significant on intermolecular forces, and thaw at 0 °C is better than running water and normal temperature. With the increase of freeze-thaw times, the content of ionic bond and hydrogen bond showed a significant decline, the ionic bond decreased by 7.71%, 10.64% and 13.61%, respectively, and the hydrogen bond decreased from 31.91%, 31.97% and 31.87% to 26.76%, 25.53% and 23.94%. On the contrary the hydrophobic interaction force, disulfide bond and non-disulfide covalent bond tended to increase, the hydrophobic forces increased by 8.86%, 12.35%, and 14.72%, respectively, and the disulfide bonds increased by 1.43%, 1.96%, and 2.85%, respectively, the non-disulfide covalent bonds increased from 1.16%, 1.28%, and 1.55% to 3.75%, 4.05% and 5.50%. The surface hydrophobicity of myofibrillar protein increased from 30.47 μg, 31.31 μg and 32.26 μg to 46.10 μg, 53.51 μg and 58.91 μg, respectively, consistent with hydrophobic force results. Both sulfhydryl and reactive thiol content were decreased, the sulfhydryl groups were reduced by 13.07 nmol/mg, 38.99 nmol/mg and 40.32 nmol/mg, respectively, and the active sulfhydryl groups were decreased by 6.55 nmol/mg, 24.26 nmol/mg and 43.16 nmol/mg, consistent with disulfide bond generation trends. The changes of the secondary structure of myofibrillar protein were analyzed by Infrared spectroscopy (FTIR), indicated that during the freeze-thaw cycles the spatial conformation of myofibrin made a change. Three thawing ways were treatments after 9 freeze-thaw cycles, the spectral band shifted to different wavelength regularly, and the amide A band and the amide III band moved slightly toward the high wave number direction, and the amide I band and the amide II band moved to the low wave number direction. The secondary structure of the protein changed, as the sum of the contents of both α-helix and β-sheet reduced, and the sum of the contents of β-turn and random curl increased. Repeated freezing and thawing is actually a process of slow oxidation of proteins.

Key words: *Sepia esculenta*; defrosted at 0 °C; defrosted by running water; defrosted at room temperature; freeze-thaw cycles; intermolecular force; myofibrillar protein

Corresponding author: LI Hesheng. E-mail: lihesheng@nbu.edu.cn

Funding projects: Major Scientific and Technological Projects in Zhejiang Province (2009C03017-3); “Aquatic Products” in Zhejiang Province Top Priority Disciplines Open Fund (xkzsc1523); Ningbo Natural Science Foundation (013A610156)

中国水产学会《水产学报》大事记

1963年12月6日，中国水产学会成立大会暨学术讨论会在北京举行，与会代表对创办新中国成立后的第一本水产类学术期刊达成了初步共识。

1964年，中共中央宣传部批准出版《水产学报》[(64)发字第28号]。同年，《水产学报》编辑委员会组建成立，挂靠上海水产学院，朱元鼎任第一届主任委员。同年12月，由中国水产学会《水产学报》编辑委员会编辑，学术期刊出版社出版，中国工业出版社第四印刷厂印刷的《水产学报》第1卷第1、2期合刊在北京正式出版。

1965年，《水产学报》自第2卷开始改为季刊，每季首月出版，由北京邮局总发行。

1966年，《水产学报》第3卷出版2期后停刊。

1978年6月20—30日，中国水产学会恢复大会暨学术讨论会在天津市召开。会议调整和充实了理事会及专业委员会组织，选举肖鹏为理事长，讨论了《1978—1985年全国科学技术发展规划》(草案)水产部分，拟定了学会1978—1985年学术活动计划，对开展学术活动、办好学术刊物、普及水产科技知识和组织参加国际交流活动等方面都作了研究。《水产学报》编辑部按照会议精神恢复成立，挂靠厦门水产学院，着手复刊的准备工作。

1978年6月，国家科委发文[(78)国科发杂字260号]《水产学报》复刊。

1979年3月，经国务院批准，教育部、国家水产总局决定，恢复上海水产学院建制，学校由厦门迁回上海军工路334号。《水产学报》编辑部同期恢复工作。

1980年3月，《水产学报》第4卷第1期正式出版，出版单位改为上海科学技术出版社，印刷单位为上海新华印刷厂，发行单位是全国各地新华书店。

自1980年《水产学报》复刊后，受到读者的广泛欢迎，为了进一步扩大发行，便于读者订阅，自1981年第5卷第1期开始，发行单位由新华书店改为邮局发行。国内读者从邮局订阅，国外读者可通过中国国际书店(北京399信箱)订购。

1986年下半年及1987年编辑部自办发行业务，自1988年起又恢复邮局发行。

2000年，为进一步扩增期刊内容信息量，增加论文时效性，依据《关于12种期刊变更登记项目的批复》(科协宣发字(1999)039号)，《水产学报》由季刊改为双月刊，其他登记项目不变。为进一步扩大杂志影响力，并适应新闻出版行业的改革潮流，经中国科协宣传部批准，中国水产学会《水产学报》杂志社成立(科协宣发字(2000)065号)。

2010年，依据《关于〈水产学报〉出版刊期变更的函》(农渔学(2009)20号)，经上海市新闻出版局研究并报新闻出版总署批准，《水产学报》自2010年1月起由双月刊变更为月刊[沪新出报(2009)248号]。