

## 文蛤和波纹巴非蛤冷冻变性的比较研究

蒋小强, 李 敏, 关志强

(广东海洋大学工程学院, 广东 湛江 524025)

**摘要:** 利用 IMP 热电偶测温系统及组织切片技术、食品化学特性的常用分析方法以及测定表征蛋白质变性的盐溶性蛋白溶解度和  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性, 对文蛤和波纹巴非蛤在冷冻后的组织结构、食品化学特性、蛋白质变性的影响进行了比较研究。结果表明: 冻结会使贝肉组织结构发生较大变化, 水分流失, 非蛋白氮显著增加, 但冻结对贝肉蛋白质冷冻变性的影响不明显; 在冻藏后贝肉蛋白质发生了较大变性。在相同冷冻条件下, 文蛤在上述 3 方面受到的影响均比波纹巴非蛤受到的影响大, 说明文蛤比波纹巴非蛤更容易发生冷冻变性。

**关键词:** 文蛤; 波纹巴非蛤; 冷冻; 蛋白质变性

中图分类号: TS205.7

文献标识码: A

文章编号: 1673-2227-(2006)04-0007-06

## A comparative study on the frozen denaturation of *Meretrix linnaeus* and *Paphia undulata*

JIANG Xiaoqiang, LI Min, GUAN Zhiqiang

(College of Engineer, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524025, China)

**Abstract:** Utilizing the IMP system of temperature measure, common technique of tissue section, analytical method of nutritious constituents, and taking salt-solubility and  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity as the index of protein denaturation, a comparative study was conducted to determine the effect of freezing on tissue structure of *Meretrix linnaeus* and *Paphia undulata*. The result showed that there was a obvious change on tissue structure of shellfish by freezing with moisture losing and non-protein content largely increasing, but the effect of freezing on protein denaturation of shellfish was little. However, protein denaturation of shellfish was evidently after two months of frozen storage. Under the same freezing condition, *M. linnaeus* always got larger influence than that of *P. undulata*. As a result, protein denaturation is more easily to occur in *M. linnaeus* than in *P. undulata* by freezing.

**Key words:** *Meretrix linnaeus*; *Paphia undulata*; freezing; protein denaturation

2004 年我国水产品总量达  $4\,902 \times 10^4$  t, 其中海产贝类达  $1\,109 \times 10^4$  t, 占总量的 22.6%<sup>[1]</sup>。贝类食品与鱼类食品一样, 由于时间及区域的限制以及死后易腐败变质的特点, 大部分产品不得经过冷冻等方式的加工后进行流通及消费<sup>[2]</sup>。然而, 由于贝类当前冷冻加工水平不高, 导致冷冻贝类的品质不佳, 如冷冻后的贝肉风味降低、外观不够饱

满、持水性下降等。这导致了贝类冷冻食品在国内、国际市场上缺乏强大的竞争力。可以说, 贝类冷冻加工技术的严重滞后制约了贝类养殖业的发展, 为此急需研究改善贝类冷冻食品品质的技术, 以促进贝类养殖业的发展。

国内外同行对水产品的冷冻变性做了许多研究, 但大部分研究工作集中在鱼、虾类蛋白质冷冻

收稿日期: 2006-05-15; 修回日期: 2006-06-01

资助项目: 广东省科技厅项目资助 (2004B20401011)

作者简介: 蒋小强 (1980-), 男, 硕士, 助教, 从事制冷工艺领域的研究。E-mail: jiangxq@gdou.edu.cn

变性方面。在日本,福田裕<sup>[3]</sup>、関伸夫等<sup>[4]</sup>开展了冷冻对鱼肉品质、肉类食品在冻藏中 ATPase 活性变化进行了研究;在中国,汪之和等<sup>[5-6]</sup>对鲢鱼蛋白质冷冻变性以及防止白鲢鱼糜冷冻变性进行了探讨,林洪等<sup>[7-8]</sup>在对虾蛋白质变性方面也做了许多工作。而对贝类方面的相关研究尚未见报道。因鱼与贝的肌肉结构有诸多不同,其受冻结速率和贮藏温度等的影响也会有差异。文蛤 (*Meretrix linnaeus*) 被誉为“天下第一鲜”,营养丰富、肉味鲜美,同时具有很高的食疗药用价值;波纹巴非蛤 (*Paphia undulata*) 作为味道鲜美的海贝,也深受人们欢迎<sup>[9]</sup>。本文以南海贝类文蛤和波纹巴非蛤为研究对象,根据文蛤在冻结后口感有较大的变化—失去甜味及脆感、残渣增多和波纹巴非蛤在冻结风味和质感均优于文蛤这一现象,从冷冻对贝肉组织结构、食品化学特性、蛋白质变性 3 方面的影响进行探讨和比较,为有效提高冷冻贝类食物的品质提供參考。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

文蛤和波纹巴非蛤均购于湛江霞山区东风市场。静养吐沙后活体开壳取肉。取整贝肉进行组织结构和食品化学特性的影响研究。进行蛋白质变性程度测定的贝肉根据加工方式分 3 种形态:整肉、碎肉、肉糜。整肉为去壳即得贝肉;碎肉用刀斩碎至约  $0.5\text{ mm}^3$  大小;用 DS-1 高速组织捣碎机绞成肉糜。各取 25 g 分装于封口袋中密封后,分别进行冻结及冻藏。

### 1.2 方法

1.2.1 冻结及冻藏方法 冻结:浸渍法(液氮,  $-196^\circ\text{C}$ )、直接接触法(干冰,  $-78^\circ\text{C}$ )、空气强制对流循环冻结法(华凌冰箱,  $-18^\circ\text{C}$ )<sup>[10]</sup>(利用铜-康铜热电偶,IMP 温度数据采集系统,对冻结贝肉的中心温度进行测量);冻藏:在温度为  $-18^\circ\text{C}$  和  $-30^\circ\text{C}$  的环境中冻藏 2 个月。

1.2.2 组织结构的观察 采用 Bouin 氏液对样

品进行固定,梯度酒精脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,组织切片,HE 染色,影相观察<sup>[11]</sup>。

1.2.3 食品化学特性成分的测量 水分:常压干燥法;灰份:干法灰化;粗脂肪:索氏抽提法;粗蛋白:微量凯氏定氮法<sup>[12]</sup>;总糖:蒽酮比色法<sup>[13]</sup>;非蛋白氮:三氯乙酸抽提法<sup>[14]</sup>。

1.2.4 蛋白质变性指标的测定 盐溶性蛋白溶解度的测量方法:采用高盐溶液( $0.5\text{ M KCl} - 0.01\text{ M NaH}_2\text{PO}_4 - 0.03\text{ M Na}_2\text{HPO}_4$ )中的蛋白质溶解度减去低盐溶液( $0.025\text{ M NaH}_2\text{PO}_4 - 0.025\text{ M Na}_2\text{HPO}_4$ )中蛋白质溶解度即为盐溶性蛋白<sup>[15]</sup>;肌动球蛋白的提取及其  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性:按万建荣等<sup>[15]</sup>方法测定;蛋白质浓度的测量方法:双缩脲法<sup>[16]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 冻结后组织结构的变化

利用组织切片技术对 2 种贝肉在冻结前后组织结构的实验结果见图 1、图 2。通过图中的 A 与 B、C、D 比较,可以认为冻结对贝肉组织产生了较大的影响,特别是文蛤在冻结后相对新鲜贝肉的组织结构发生了很大的变化,远大于波纹巴非蛤的变化幅度。同时也可以发现,液氮冻结使得贝肉组织结构紧缩,纤维条间距离缩短,干冰冻结也有使纤维条排列紧密的趋势,但不如液氮冻结的结果明显,冰箱冻结使得贝肉由于在冻结过程中受到了大且分布不均匀的冰晶的破坏,组织结构发生了很大的变化。不同的冻结速率,贝肉的颜色也呈现一个渐变过程。究其机理,可能是慢速冻结时,首先冻结的是纤维之间、细胞之间的自由水,而存在于细胞内的那部分水在冻结溶液浓度升高,由于渗透作用向细胞外移动,最终在细胞之间形成较大冰晶。快速冻结时,由于温差大,散热作用强,冰晶形成速度大于水的渗透速度,因而冰晶可均匀分布在食物细胞内和细胞间隙中。这样就减少了细胞的变形和破裂,同时液汁损失也减少。

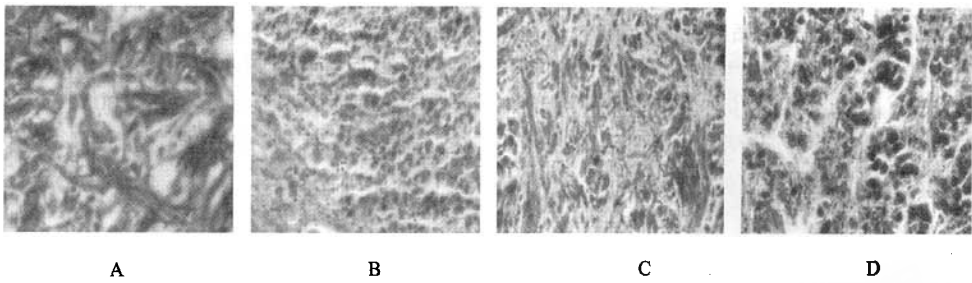


图 1 文蛤组织切片(×200)  
A. 鲜贝肉; B. 液氮冻结; C. 干冰冻结; D. 冰箱冻结

Fig. 1 Tissue section of *M. linnaeus*  
A. fresh sample; B. liquid nitrogen freezing; C. dry ice freezing; D. refrigeratory freezing

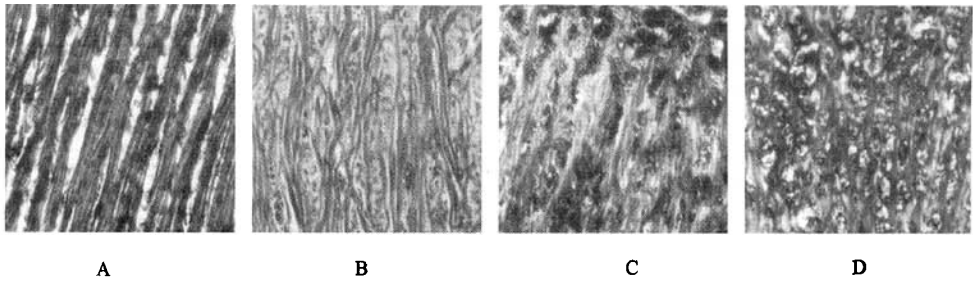


图 2 波纹巴非蛤组织切片(×200)  
A. 鲜贝肉; B. 液氮冻结; C. 干冰冻结; D. 冰箱冻结

Fig. 2 Tissue section of *P. undulata*  
A. fresh sample; B. liquid nitrogen freezing; C. dry ice freezing; D. refrigeratory freezing

2.2 冻结对贝肉食品化学特性的影响

对在 -18℃ 温度下冻结的贝肉样品的部分食品化学特性的测量结果见表 1、表 2。冻结后, 贝肉的水分流失, 粗脂肪、粗蛋白、灰份、总糖含量有

所升高, 非蛋白氮含量明显增加。其中, 文蛤的水分流失比例和非蛋白氮的增加幅度都比波纹巴非蛤大。非蛋白氮的增加, 反映了核苷酸等呈味物质发生了改变。

表 1 冻结对文蛤食品化学特性的影响

Tab. 1 Effect of freezing on the nutritious constituents of *M. linnaeus*

测量对象 sample	水分/% moisture	粗蛋白/% protein	粗脂肪/% fat	灰份/% ash	总糖/% total sugar	非蛋白氮/mg·kg <sup>-1</sup> nonprotein nitrogen
未冻样品 fresh sample	80. 9	12. 1	0. 76	2. 2	5. 3	390
冻结样品 frozen sample	78. 5	13. 9	0. 99	2. 3	5. 5	600

表 2 冻结对波纹巴非蛤食品化学特性的影响

Tab. 2 Effect of freezing on the nutritious constituents of *P. undulata*

测量对象 sample	水分/% moisture	粗蛋白/% protein	粗脂肪/% fat	灰份/% ash	总糖/% total sugar	非蛋白氮/mg·kg <sup>-1</sup> nonprotein nitrogen
未冻样品 fresh sample	81. 5	12. 15	1. 66	1. 95	2. 56	520
冻结样品 frozen sample	80. 2	12. 8	1. 87	2. 03	2. 71	649

### 2.3 冻结和冻藏对贝肉蛋白质变性的影响

#### 2.3.1 冻结温度对贝肉盐溶性蛋白溶解度的影响

在  $-18^{\circ}\text{C}$  和  $-30^{\circ}\text{C}$  下冻结贝肉前后测得的盐溶性蛋白溶解度和  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性结果分别见图3、图4。可以看出,冻结后贝肉盐溶性蛋白和  $\text{Ca}^{2+}$ -

ATPase 活性的变化不是很明显,说明在冻结过程中贝肉蛋白质变性不明显。同时可以看出,在  $-18^{\circ}\text{C}$  下的贝肉变性要小于在  $-30^{\circ}\text{C}$  下发生的变性;肉糜形态的贝肉在冻结中受到的影响最小。

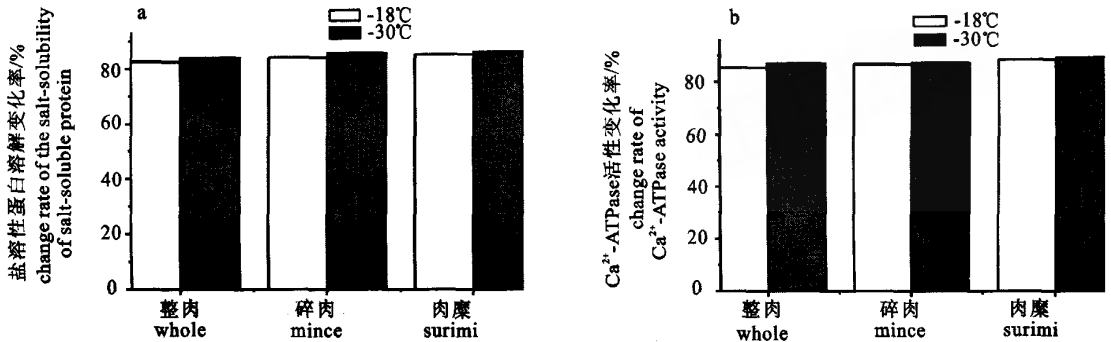


图3 冻结温度对文蛤肉盐溶性蛋白和  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性的影响

a. 盐溶性蛋白; b.  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性

Fig. 3 Effect of freezing temperature on the salt-solubility of salt-soluble protein and  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity of *M. linnaeus*

a. salt-solubility of salt-soluble protein; b.  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity

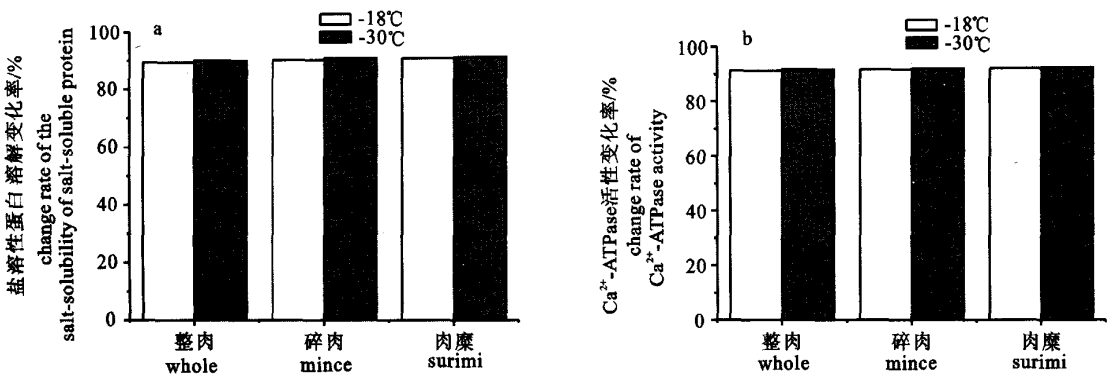


图4 冻结温度对波纹巴非蛤肉盐溶性蛋白及  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性的影响

a. 盐溶性蛋白; b.  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性

Fig. 4 Effect of freezing temperature on the salt-solubility of salt-soluble protein and  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity of *P. undulata*

a. salt-solubility of salt-soluble protein; b.  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity

2.3.2 冻藏温度对贝肉蛋白质变性的影响 图5和图6分别是样品冻藏后的实验结果。从图中可以清晰地看出,贝肉在冻藏后盐溶性蛋白溶解度和  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性显著降低,这说明其蛋白质在冷藏后发生了明显的变性。在  $-18^{\circ}\text{C}$  冻藏温度下的变

性比在  $-30^{\circ}\text{C}$  的冻藏温度变性大;对贝肉不同的贮藏形态而言,以肉糜形态贮藏的贝肉变性最大,碎肉次之,整贝肉形态的保持得较好。比较而言,相同冻藏温度下,文蛤肉蛋白质变性指标下降幅度总比波纹巴非蛤下降的幅度大。

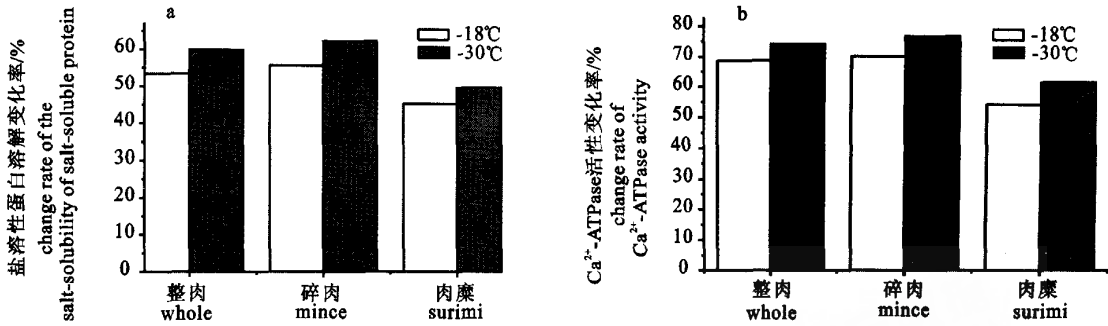


图5 冻藏温度对文蛤肉盐溶性蛋白及  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性的影响  
a. 盐溶性蛋白; b.  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性

Fig. 5 Effect of frozen temperature on the salt-solubility of salt-soluble protein and  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity of *M. linnaeus*

a. salt-solubility of salt-soluble protein; b.  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity

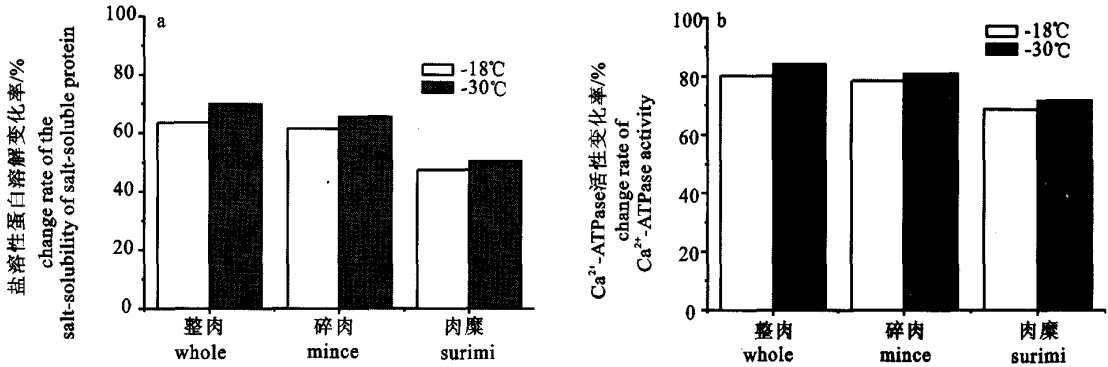


图6 冻藏温度对波纹巴非蛤肉盐溶性蛋白及  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性的影响  
a. 盐溶性蛋白; b.  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性

Fig. 6 Effect of frozen temperature on the salt-solubility of salt-soluble protein and  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity of *P. undulata*

a. salt-solubility of salt-soluble protein; b.  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity

冻结时贝肉组织中的水分形成冰晶对肌肉细胞组织结构产生一定的影响。冻结速率不同，影响则不同：快速冻结时，细胞内外独立存在冰晶，细胞形态基本保持完整即空间结构变化小；而慢速冻结形成的冰晶大，少部分冰晶已连接成块，说明有部分肌细胞已遭破坏，在内压增加和细胞已部分破裂的情况下，空间结构变化大。这就表现为贝肉在  $-30^{\circ}\text{C}$  冻结时酶的失活和盐溶性蛋白变性比在  $-18^{\circ}\text{C}$  冻结的要小。不同形态的贝肉，受冻结影响的大小也不同，对于碎肉和肉糜，两者被机器的挤压而导致了大部分细胞破裂，既然细胞已经破裂，

那么冻结过程中生成冰晶带来的压力对酶活性和盐溶性蛋白的影响反而没有整肉受到的影响大。

在冻藏过程中，蛋白质的自由水较易形成冰晶脱离大分子的束缚，而蛋白质侧链上的结合水则随冻藏温度、冻藏时间而变化，当结合水从侧基上逐渐移去时，蛋白质侧基发生空间构象的变化，使疏水性基团暴露在分子表面，造成溶解度的下降和其它性质的改变。盐溶性蛋白溶解度和  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性分别反映肌球蛋白两种不同方式的变性。盐溶性蛋白反映肌球蛋白杆部的性质，而  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 来源于肌球蛋白头部，表征其 S-1 的性质。实验结



果表明,盐溶性蛋白溶解度的变性总大于  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性的变性,肌球蛋白杆部比肌球蛋白头部更容易发生变性。这与汪之和等<sup>[4]</sup>对淡水鱼的研究结论一致。

### 3 结论

慢速冻结会使贝肉组织结构发了较大变化,但慢速冻结后蛋白质冷冻变性不明显;在贮藏2个月后蛋白质发生较大变性。这说明冷冻对贝肉蛋白质结构的破坏,主要源于冰晶的生长结块,是一个渐变过程。在贝肉蛋白质变性中,盐溶性蛋白变性比ATPase 活性变化幅度要大,说明贝肉的肌球蛋白杆部比头部更容易发生变性。这与对鱼类的研究结论一致。

在相同的冻结条件下,文蛤受到的影响(组织结构、食品化学特性、蛋白质变性程度)总比波纹巴非蛤受到的影响大。说明文蛤的稳定性不及波纹巴非蛤。这可为针对不同贝肉,有效改善冷冻贝类食品的品质提供参考。

#### 参考文献:

- [1] 中华人民共和国农业部渔业局. 中国渔业统计年鉴2004年 [R]. 北京: 中华人民共和国农业部渔业局, 2005.
- [2] 高福成, 张慙. 速冻食品 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999: 1-9.
- [3] 福田裕. 鱼肉の品质に及ぼす冷冻条件の影響 [J]. 冷冻, 1986, 61 (699): 18-29.
- [4] 关伸夫, 成田宪弘. コイ肉冰藏中の筋原纤维タンパク質のATPase 活性およびその他の性状变化 [J]. 日水志, 1980, 46 (2): 207-213.
- [5] 汪之和, 王糙, 苏德福. 冻结速率和冻藏温度对鲢肉蛋白质冷冻变性的影响 [J]. 水产学报, 2001, 25 (6): 564-569.
- [6] 汪之和, 王糙, 王簪磊. 防止白链鱼糜蛋白质冷冻变性的研究 [J]. 水产科学情报, 1996, 23 (4): 173-177.
- [7] 林洪, 姜凤英, JAMIL Khalid, 等. 对虾冷藏过程中肌肉蛋白特性的变化比较 [J]. 青岛海洋大学学报, 1998, 28 (4): 549-554.
- [8] 林洪, 王长峰, 李兆杰, 等. 中国对虾肌球蛋白变性后ATPase 活性的研究 [J]. 青岛海洋大学学报, 1996, 26 (4): 475-480.
- [9] 王如才, 王昭萍, 张建新. 海水贝类养殖学 [M]. 青岛: 青岛海洋大学出版社, 1998: 318-319.
- [10] 华泽钊, 李云飞, 刘宝林. 食品冷冻冷藏原理与设备 [M]. 北京: 机械工业出版社, 1999: 123-138.
- [11] 芮菊生, 杜懋琴. 组织切片技术 [M]. 北京: 人民教育出版社, 1983: 20-43.
- [12] 黄伟坤. 食品化学分析 [M]. 上海: 上海科技出版社, 1979: 30-32.
- [13] 赵洪根, 黄慕让. 水产品检验 [M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1987: 159-171.
- [14] 齐藤恒行, 内山均. 水产生物化学·食品学实验书 [M]. 东京: 恒星社厚生阁, 1974: 2-7.
- [15] 福田裕, 柞木田善治, 川村满, 等. 冻结および贮藏によるマサバ肌原纤维タンパク質の变性 [J]. 日水志, 1982, 48: 1627-1632.
- [16] 万建荣, 洪玉蔷, 奚印慈, 等. 水产食品化学分析手册 [M]. 上海: 上海科技出版社, 1993. 214-236.