



大黄鱼冷藏过程肌肉蛋白质生化特性与新鲜度的相关性

张建友^{1,2,3,4}, 孙 蕾^{1,2}, 周广成^{1,2}, 费溧锋^{1,2}, 潘佳昕^{1,2},
崔蓬勃^{1,2,3,4}, 吕 飞^{1,2,3,4*}, 丁玉庭^{1,2,3,4}

(1. 浙江工业大学食品科学与工程学院, 浙江 杭州 310014;

2. 浙江省深蓝渔业资源高效开发利用重点实验室, 浙江 杭州 310014;

3. 国家远洋水产品加工技术研发分中心(杭州), 浙江 杭州 310014;

4. 大连工业大学, 海洋食品精深加工关键技术省部共建协同创新中心, 辽宁 大连 116034)

摘要: 为研究大黄鱼冷藏期间肌肉蛋白质变化与鲜度品质的相关性, 以色差值、质构、挥发性盐基氮(TVB-N)以及感官评分等鲜度指标判断鱼肉品质, 并结合肌肉蛋白质中盐溶性和水溶性蛋白质含量、总巯基含量、羰基含量、蛋白质分子量以及粒径分布等蛋白质生化特性指标, 分析大黄鱼 4℃ 冷藏 10 d 肌肉蛋白质变化与鲜度品质的相关性。结果显示, 冷藏期间大黄鱼肌肉的 L^* 、 a^* 和 W 值下降, b^* 值上升; 鱼肉咀嚼性、黏着性和硬度下降; TVB-N 由 (4.42 ± 0.21) mg/100 g 增至 (38.46 ± 0.87) mg/100 g, 并于第 8 天达二级鲜度标准, 感官评分第 8 天不可接受。冷藏期间大黄鱼盐溶性和水溶性蛋白质含量、总巯基含量、羰基含量变化趋势相似。盐溶性蛋白质含量呈先小幅上升后下降的变化趋势, 由 (159.36 ± 6.51) mg/g 降至 (91.99 ± 13.82) mg/g, 质量分数下降了 42.27%, 水溶性蛋白质含量由 (33.68 ± 2.13) mg/g 降至 (17.57 ± 0.70) mg/g, 质量分数下降了 47.77%。盐溶性蛋白质的巯基含量和羰基含量分别由 (3.95 ± 0.04) mol/10⁵ g pro 降至 (1.08 ± 0.13) mol/10⁵ g pro、 (1.08 ± 0.04) nmol/mg 升至 (3.94 ± 0.43) nmol/mg, 水溶性蛋白质巯基含量和羰基含量分别由 (4.74 ± 0.17) mol/10⁵ g pro 降至 (2.66 ± 0.15) mol/10⁵ g pro、 (0.21 ± 0.14) nmol/mg 升至 (2.67 ± 0.25) nmol/mg。盐溶性蛋白质粒径在冷藏第 0~8 天, 由 (203.32 ± 5.44) nm 增大至 (425.40 ± 8.63) nm, 8 天后降至 (317.03 ± 1.20) nm, 水溶性蛋白质粒径从 (190.80 ± 0.30) nm 降至 (144.23 ± 1.32) nm。SDS-PAGE 电泳证明 30 ku 左右产生新的蛋白质条带, 且蛋白质的量有一定程度减少。研究表明, 盐溶性和水溶性蛋白质生化特性与新鲜度有良好相关性, 其中水溶性蛋白质相关性更好。

关键词: 大黄鱼; 冷藏; 新鲜度; 盐溶性蛋白质; 水溶性蛋白质

中图分类号: TS 254.4

文献标志码: A

大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 属鲈形目 (Perciformes) 石首鱼科 (Sciaenidae) 黄鱼属, 是我国传统的“四大海产”之一, 被誉为“中国国鱼”。大黄鱼体色金黄、唇部橘红、肉质细嫩、口感鲜美,

因其营养品质和经济价值高而被广泛养殖。

大黄鱼是我国重要的经济鱼类, 鲜度下降对其品质和消费者偏好有重要影响。大黄鱼蛋白质与水分含量较高, 死后鱼体易腐败变质^[1-2]。评估

收稿日期: 2021-10-11 修回日期: 2021-11-05

资助项目: “十三五”国家重点研发计划 (2019YFD0901602)

第一作者: 张建友(照片), 从事水产品加工与贮藏研究, E-mail: zhjianyou@zjut.edu.cn

通信作者: 吕飞, 从事食品加工新技术和功能食品开发研究, E-mail: foodsensory@126.com



水产品新鲜度和质量的检测方法主要有感官和非感官法^[3]。非感官评价指标包括挥发性盐基氮(TVB-N)、菌落总数、光谱技术、电子传感器等^[4]。

水产品的品质变化与蛋白质之间存在必然联系。在贮藏过程中, 鱼类肌肉蛋白质的变化主要包括蛋白质的变性、氧化和降解等^[5]。肌原纤维蛋白质空间结构、蛋白质溶解性及巯基等的变化是低温贮藏时鱼肉蛋白质变化的主要评价指标^[6]。然而, 关于大黄鱼冷藏过程中蛋白质生化特性与鲜度品质关联性仍不明确, 探讨是否可将盐溶性及水溶性蛋白质的生化特性指标用于评估水产品鲜度品质的研究较少。本研究拟构建可指示大黄鱼新鲜度的蛋白质生化特性指标, 对鱼类鲜度和品质保持提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

大黄鱼购自杭州市朝晖农贸市场。体长 30~40 cm, 体质量 400~500 g。

Tris、马来酸、丙烯酰胺、四甲基乙二胺、过硫酸铵 SDS、EDTA、尿素、盐酸、硼酸、三氯乙酸、DTNB、氢氧化钠、DNPH、乙醇、考马斯亮蓝 G-250 等均为分析纯, 购于国药集团化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器与设备

UV-6100S 紫外可见分光光度计, 上海精科仪器有限公司; BechmanA 高速冷冻台式离心机, 日立集团有限公司; DYY-6C 电泳仪, 北京市六一仪器厂; CT3 pH 计, 上海迪奥生物科技有限公司; T25 高速分散机, 德国 IKA 公司; Color Quest XE 色差仪, 美国 Hunter Lab 公司; TA.XT Plus 质构仪, 英国 Stable Microsystems 公司; HYJD 超纯

水机, 昆山市超声仪器有限公司。

1.3 实验方法

样品处理 鲜活大黄鱼击晕致死, 取背部肌肉获得大小一致的鱼片, 无菌水洗净、沥干后密封袋包装。将包装好的大黄鱼鱼片置于 4 ℃ 的冰箱贮藏, 取样时间为 0、2、4、6、8 和 10 d。

色差值测定 于大黄鱼背部肌肉取 5 份相同形状的鱼块, 分别用无菌保鲜膜包裹, Color Quest XE 色差仪测定鱼块颜色, 测定后放入 4 ℃ 的低温恒温箱贮藏, 在第 0、2、4、6、8 和 10 天重复测定。 L^* 、 a^* 和 b^* 分别表示鱼块的亮度值、红度值和黄度值, 鱼块白度计算方法:

$$\text{白度(whiteness)} = 100 - \sqrt{[(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]}$$

(1)

质构测定 取同一部位鱼肉, 切成 20 mm×20 mm×15 mm 的立方体, 置于 TA.XT Plus 质构仪测定鱼肉的硬度、弹性、咀嚼性及粘着性。测量模式选择 TPA, 测定探头为 TPA P/36R 圆柱形, 测试前后速度均为 1 mm/s, 测试间隔时间为 3 s, 鱼肉的变形率为 30%, 每组样品 3 个平行, 每个平行重复测定 2 次。

感官评价 感官评价小组由 10 名专业评价员组成(男女比例 1:1, 年龄 20~25 岁), 以大黄鱼体表、气味、鱼鳃、肌肉、眼睛为评价指标, 平均综合得分低于 5 分判定为不合格, 计算综合得分时, 每个指标各占 20%, 评价标准见表 1。

pH 值测定 参照 GB 5009.237—2016《食品安全国家标准 食品 pH 值的测定》, 称取大黄鱼肉 5.0 g, 绞碎后加入预冷超纯水 45.0 mL, 混合均匀, 于 4 ℃ 冰箱静置 15 min 后测定 pH 值, 每个样品作 3 次平行。

表 1 大黄鱼感官评分表
Tab. 1 Criteria of sensory evaluation for *L. crocea*

项目 item	分值 score				
	8~10	6~8	4~6	2~4	0~2
体表 appearance	富有光泽、体表完好、无黏液	有光泽、黏液透明	光泽稍差	体表暗淡、光泽较差	体表暗淡无光
气味 odor	大黄鱼固有的气味	固有气味、无异味	固有气味、稍有异味	有强烈腥臭味	有明显氨臭味
鱼鳃 gill	鲜红或紫红色、黏液透明	红色、黏液较透明	淡红或暗红色、黏液略浑浊	黏液混浊、红色较淡	土黄色、黏液混浊
肌肉 muscle	肌肉坚实、组织紧密有弹性	坚实有弹性、手指按压后凹陷恢复较快	肌肉稍软、弹性变差	弹性变差、按压后凹陷恢复较慢	肉质松软
眼 eye	眼球饱满、角膜清晰	眼球平坦、角膜较清晰	眼球平坦或微陷、角膜稍显浑浊	眼球凹陷、泛白、角膜较混浊	眼球泛白、角膜混浊严重

挥发性盐基氮 (TVB-N) 含量的测定 参考 GB 5009.228—2016《食品安全国家标准 食品中挥发性盐基氮的测定》进行测定, 3 组平行。

肌肉蛋白质提取与含量测定 盐溶性蛋白质提取: 取 2.0 g 捣碎鱼肉, 加入 20.0 mL 冰冷的 50 mmol/L NaCl-20 mmol/L Tris-马来酸溶液 (pH=7.0), 用均质机在 10 000 r/min 匀浆 30 s, 匀浆 2 次, 将匀浆液在 4 ℃ 的冷冻离心机中离心 10 min, 转速为 10 000 r/min, 收集沉淀。沉淀中加入 20.0 mL 预冷的 0.6 mol/L NaCl-20 mmol/L Tris-马来酸溶液 (pH=7.0), 10 000 r/min 均质匀浆 30 s, 将混合液在 4 ℃ 冷藏冰箱中静置提取 1 h, 使其充分溶解蛋白质, 于 4 ℃ 的冷冻离心机中离心 10 min, 转速为 10 000 r/min, 收集上清液, 将该上清液作为提取的盐溶性蛋白质。

水溶性蛋白质提取: 取 2.0 g 鱼肉, 加入 20.0 mL 冰冷的 50 mmol/L NaCl-20 mmol/L Tris-马来酸溶液 (pH=7.0), 用均质机在 10 000 r/min 下匀浆 30 s, 后将匀浆在 4 ℃ 的离心机中冷冻离心 10 min, 转速为 10 000 r/min, 分别收集沉淀和上清液。取沉淀重复上述步骤, 再次收集上清液。将两次离心的上清液合并, 作为水溶性蛋白质。

蛋白质定量采取双缩脲法, 取 1.0 mL 样品溶液, 加入 4.0 mL 双缩脲试剂, 于 25 ℃ 水浴 30 min, 在 540 nm 处测定吸光度。对照标准曲线求出试样中的蛋白质浓度。

粒径分布 将提取的蛋白质分别用 50 mmol/L NaCl-20 mmol/L Tris-马来酸溶液 (pH=7.0) 和 0.6 mmol/L NaCl-20 mmol/L Tris-马来酸溶液 (pH=7.0) 调整到 0.5 mg/mL, 采用 Zetasizer 系列激光粒度仪测定其粒径分布。

羰基含量 参照陈晓楠等^[7]的方法并略做修改。将提取的蛋白质分别用 50 mmol/L NaCl-20 mmol/L Tris-马来酸溶液 (pH=7.0) 和 0.6 mmol/L NaCl-20 mmol/L Tris-马来酸溶液 (pH=7.0) 调至约 1.0 mg/mL, 取 2.0 mL 样液, 在 10.0 mL 离心管内加入 2.0 mL 的 10 mmol/L DNPH 溶液, 室温下反应 1 h, 每隔 15 min 漩涡振荡 1 次 (暗室中操作), 滴入 2.0 mL 质量分数 20% 的三氯乙酸 (TCA) 溶液, 混匀后在 10 000 r/min 条件下离心 10 min (4 ℃), 去除上清液, 用 1.0 mL 无水乙醇乙酸乙酯混合液 (体积比 1:1) 清洗沉淀, 重复洗涤操作 3 次, 至沉淀无颜色, 即洗涤液接近无色。将沉淀物溶于 6.0 mL 的 6 mol/L 盐酸胍溶液中, 37 ℃ 下水浴 25

min, 在 10 000 r/min 条件下离心 15 min (4 ℃), 选取上清液, 在 370 nm 处测其吸光值。羰基含量的计算方法:

$$C = \frac{\text{OD值}}{22 \times \text{比色光径} \times \text{浓度}} \times 125 \times 10^5 \quad (2)$$

式中, C 表示羰基含量 (nmol/mg), OD 值表示 370 nm 处吸光度值, 比色光径值为 1 cm, 浓度表示样品蛋白质浓度 (mg/mL)。

巯基含量 将提取的蛋白质分别用 50 mmol/L NaCl-20 mmol/L Tris-马来酸溶液 (pH=7.0) 和 0.6 mmol/L NaCl-20 mmol/L Tris-马来酸溶液 (pH=7.0) 调整到 1.0 mg/mL, 取 0.5 mL 上述操作提取的蛋白质溶液, 加入 4.5 mL 的 20 mmol/L Tris-HCl 缓冲液 (含 8.0 mol/L 的尿素, 2% SDS 和 10 mmol/L EDTA, pH=6.8) 中, 混合均匀。舍弃 1.0 mL 混合液, 取剩余 4.0 mL 溶液并滴加 0.4 mL 的 0.1% DNTB 溶液, 充分混匀后于 40 ℃ 水浴 25 min。在 412 nm 处测吸光值, 空白对照组为 0.6 mol/L NaCl-20 mmol/L Tris-马来酸溶液 (pH=7.0)。总巯基的含量:

$$Co = \frac{A \times D}{\varepsilon \times C} \quad (3)$$

式中, Co 表示总巯基含量 (mol/10⁵ g pro), A 表示 412 nm 处吸光度值, ε 表示摩尔吸光系数 (13.6 mol·cm/mL), D 表示稀释倍数 (11), C 表示样品蛋白质浓度 (mg/mL)。

十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 将提取的蛋白质分别用 50 mmol/L NaCl-20 mmol/L Tris-马来酸溶液 (pH=7.0) 和 0.6 mmol/L NaCl-20 mmol/L Tris-马来酸溶液 (pH=7.0) 稀释至浓度约为 1.0 mg/mL, 参考袁悦等^[8]和 Prabhakar 等^[9]的方法, 将稀释后的蛋白质溶液与 2×SDS-PAGE 上样缓冲液按照 4:1 (20 μL:5 μL) 体积混合, 100 ℃ 水浴 3 min, 作为待电泳的样品。本实验选择的分离胶为 8%, 堆积胶为 5%, 上样量为 15.0 μL。电泳开始时, 80 V 恒压 15 min, 条带大致跑至分离胶与堆积胶的交界处或者偏下方, 之后 120 V 恒压至终点。用考马斯亮蓝 R250 染色 30 min, 脱色至背景无色, 然后将图谱放置于白板上观察并分析条带。

2 结果

2.1 鱼肉色差和质构

大黄鱼色差变化存在个体差异。随着贮藏时

间的延长, 大黄鱼肌肉的亮度、红度以及白度下降, b^* 值呈现上升趋势, 鱼肉黄度上升(图 1)。大黄鱼肌肉的质构特性的评价指标主要有弹性、咀嚼性、粘着性、硬度、内聚性和回复性等。冷藏过程中大黄鱼的质构特性如表 2 所示, 随冷藏时间延长, 鱼肉的咀嚼性、黏着性和硬度都明显下

降, 分别从 (8.76 ± 1.02) mJ、 (344 ± 12) g 和 $(1\,310\pm31)$ g 下降至 (6.41 ± 0.26) mJ、 (253 ± 9) g 和 (993 ± 38) g, 而弹性则波动下降。

2.2 感官评分

4 ℃ 的储藏条件下, 大黄鱼各感官指标均随

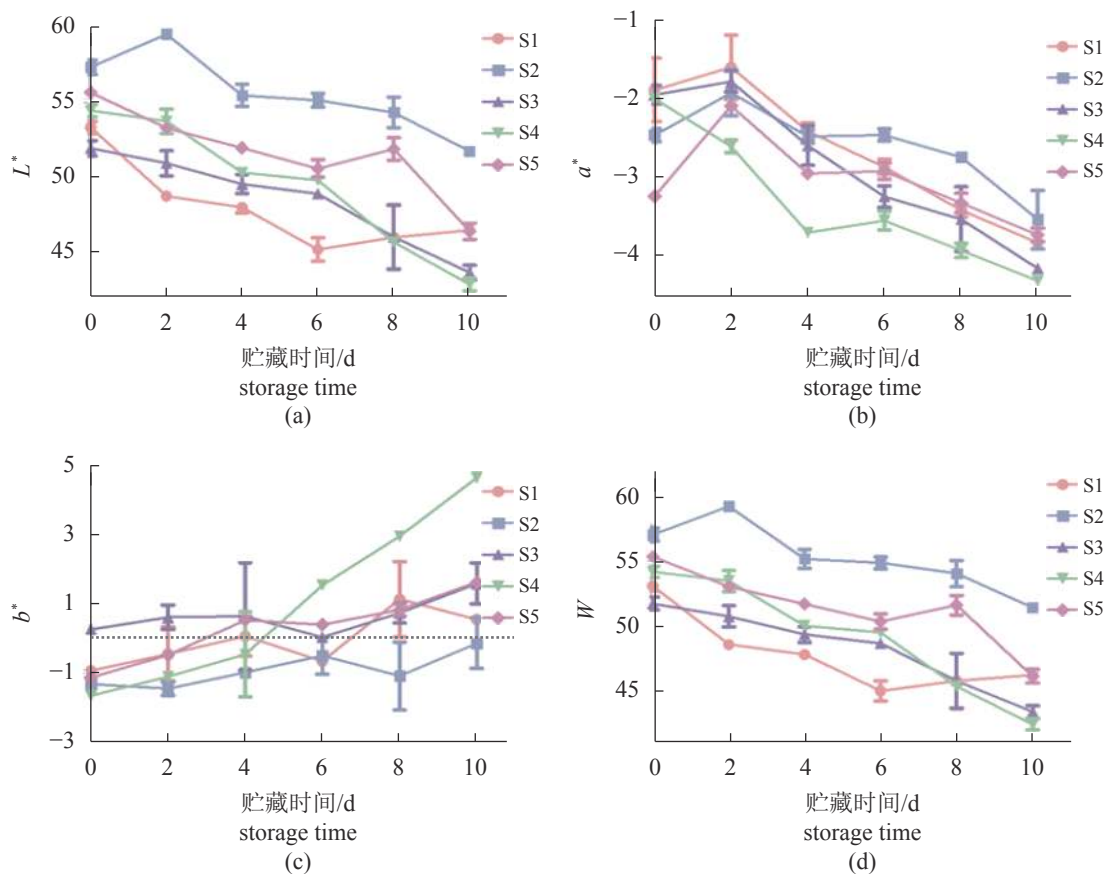


图 1 4 ℃ 贮藏条件下大黄鱼肌肉色泽差值的变化

(a) 亮度值 L^* , (b) 红度值 a^* , (c) 黄度值 b^* , (d) 白度值 W 。S1. 样品 1, S2. 样品 2, S3. 样品 3, S4. 样品 4, S5. 样品 5

Fig. 1 Changes in color of *L. crocea* muscle during storage at 4 °C

(a) brightness L^* , (b) redness value a^* , (c) yellowness value b^* , (d) whiteness value. S1. sample 1, S2. sample 2, S3. sample 3, S4. sample 4, S5. sample 5

表 2 4 ℃ 贮藏条件下大黄鱼肌肉质构特性变化

Tab. 2 Changes in texture attributes of *L. crocea* muscle during storage at 4 °C

贮藏时间/d storage time	弹性/mm springiness	咀嚼性/mJ chewiness	粘着性/g gumminess	硬度/g hardness
0	2.43±0.031 ^b	8.76±1.02 ^a	344±12 ^a	1 310±31 ^a
2	2.20±0.026 ^d	8.01±0.77 ^{ab}	328±10 ^{ab}	1 258±41 ^a
4	2.32±0.078 ^{bc}	7.18±0.34 ^{bc}	321±8 ^b	1 174±37 ^{ab}
6	2.61±0.084 ^a	6.75±0.05 ^c	269±6 ^c	1 038±25 ^{bc}
8	2.30±0.062 ^{cd}	6.62±0.94 ^c	261±11 ^c	1 014±21 ^c
10	2.23±0.054 ^{cd}	6.41±0.26 ^c	253±9 ^c	993±38 ^c

注: 同列中标注不同角标者具有显著差异($P<0.05$), 下同
Notes: in the same column, values with different superscripts mean significant differences ($P<0.05$), the same below

时间的延长而下降,储藏至第6天时已接近“可接受”下限,体表光泽减弱,出现腥臭味,鱼肉弹性减弱,与色差和质构结论相符(表3)。储藏第8天后不可接受,变质腐败明显。

表3 4℃贮藏条件下大黄鱼肌肉感官评分

Tab. 3 Changes in sensory evaluation value of *L. crocea* muscle during storage at 4℃

项目 item	贮藏时间/d storage time					
	0	2	4	6	8	10
体表 appearance	9.78±0.17 ^a	8.81±0.23 ^b	7.03±0.12 ^c	5.98±0.19 ^d	4.74±0.24 ^e	3.48±0.28 ^f
气味 odor	9.55±0.14 ^a	8.58±0.22 ^b	7.61±0.24 ^c	5.82±0.17 ^d	4.34±0.45 ^e	3.55±0.33 ^f
鱼鳃 gill	9.61±0.15 ^a	8.52±0.14 ^b	7.81±0.27 ^c	5.86±0.17 ^d	4.19±0.25 ^e	3.51±0.25 ^f
肌肉 muscle	9.65±0.15 ^a	8.70±0.15 ^b	7.84±0.14 ^c	5.62±0.24 ^d	4.06±0.15 ^e	3.40±0.30 ^f
眼 eye	9.45±0.25 ^a	8.61±0.17 ^b	7.66±0.25 ^c	5.83±0.15 ^d	4.96±0.15 ^e	3.20±0.13 ^f
综合评分 comprehensive score	9.61±0.11 ^a	8.65±0.10 ^b	7.79±0.15 ^c	5.82±0.12 ^d	4.26±0.27 ^e	3.63±0.44 ^f

2.3 pH 值

鱼肉的pH值变化与鱼死后的鱼体僵直、肌肉的收缩代谢程度以及组织结构变化有关,反映鱼肉微环境的酸碱度,一定程度上可作为鱼死后的生化情况指标,变化的速率快慢以及程度大小将对水产品的最终品质产生影响^[10]。大黄鱼肌肉的pH在4℃冷藏过程中呈现先下降再上升的趋势。在0d, pH值为6.9±0.03,冷藏2~4d上升幅度较大,冷藏后期则平稳上升,8d时pH值达到7.45±0.02(图2)。

2.4 TVB-N

TVB-N是评价水产品新鲜度的重要指标之一,鱼肉在腐败过程中产生的腐败味道,主要是由于微生物分解产生的氨及胺类等化合物所致^[11]。在冷藏第0天,TVB-N值为(4.42±0.21)mg/100g;冷藏第4天,TVB-N值为(10.47±0.85)mg/100g≤13mg/100g,处于一级鲜度;第8天TVB-N值为

(24.55±1.70)mg/100g,已经接近建议的25mg/100g鲜度标准^[12-13];冷藏第10天,TVB-N值达到(38.46±0.85)mg/100g≥30mg/100g(图3),已超过GB 2733—2015《食品安全国家标准 鲜、冻动物性水产品》^[14]规定的可接受腐败程度。

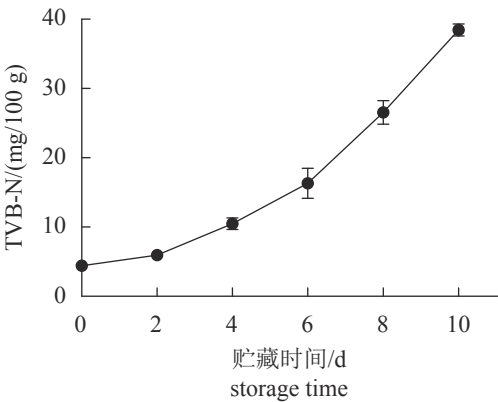


图3 4℃贮藏条件下大黄鱼肌肉TVB-N值的变化
Fig. 3 Changes in TVB-N of *L. crocea* muscle during storage at 4℃

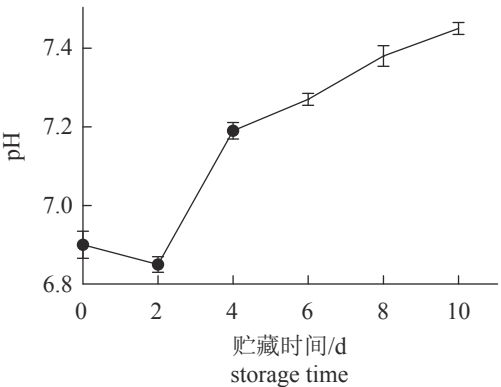


图2 4℃贮藏条件下大黄鱼肌肉pH值的变化
Fig. 2 Changes in pH of *L. crocea* muscle during storage at 4℃

2.5 盐溶性蛋白质和水溶性蛋白质

肌原纤维蛋白质(盐溶性蛋白质)是鱼类肌肉的主要组成成分,可占鱼类肌肉总蛋白质含量的60%~80%,而肌浆蛋白质(水溶性蛋白质)含量只占20%~50%,肌基质蛋白质(不溶性蛋白质)占3%~10%。大黄鱼肌肉在4℃下蛋白质含量变化如图4所示,肌肉中盐溶性蛋白质和水溶性蛋白质含量呈总体下降趋势。在冷藏第0天,盐溶性蛋白质含量为(159.36±6.51)mg/g,水溶性蛋白质含量为(33.68±2.13)mg/g,冷藏第0~2天,盐溶性蛋白质含量稍有上升,达(176.81±5.97)mg/g。第10天时,

盐溶性蛋白质含量为 (91.99 ± 13.82) mg/g, 水溶性蛋白质为 (17.57 ± 0.70) mg/g。第 0~10 天, 大黄鱼肌肉盐溶性蛋白质含量质量分数下降了 42.27%, 下降速率达到 6.74 mg/(g·d)。

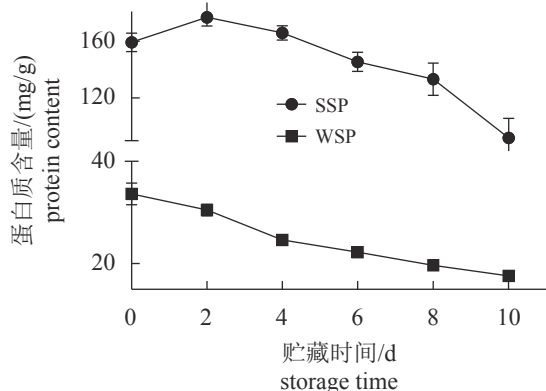


图 4 4 °C 贮藏条件下大黄鱼肌肉蛋白质含量变化

SSP. 盐溶性蛋白质, WSP. 水溶性蛋白质, 下同

Fig. 4 Changes in myofibrillar protein content of *L. crocea* during storage at 4 °C

SSP. salt-soluble protein, WSP. water-soluble protein, the same below

2.6 粒径分布

蛋白质的粒径可以表征蛋白质的聚集程度, 反映蛋白质空间构象的改变^[15]。如图 5 所示, 在 4 °C 下, 大黄鱼肌肉的盐溶性蛋白质粒径值呈现总体先上升后下降的趋势, 水溶性蛋白质粒径逐渐下降。在冷藏第 0 天, 盐溶性蛋白质粒径为 (203.32 ± 5.44) nm, 水溶性蛋白质粒径为 (190.8 ± 0.30) nm, 冷藏第 2~8 天, 盐溶性蛋白质粒径近似线性上升且幅度较大, 粒径从 (203.32 ± 5.44) nm 上升至 (425.80 ± 8.63) nm, 冷藏后期出现小范围的波动下降趋势, 粒径从 (425.80 ± 8.63) nm 下降至 (317.03 ± 1.20) nm。而水溶性蛋白质粒径持续下降, 在第 10 天下降至 (144.23 ± 1.32) nm。

2.7 巯基含量

巯基是鱼类蛋白质中最具反应活性的功能性基团, 并且在贮藏过程中易被氧化成二硫键^[16]。巯基含量下降的差值越大, 说明鱼肉蛋白质变性程度越高。在 4 °C 下, 大黄鱼肌肉蛋白质的巯基含量变化如图 6 所示, 肌肉中盐溶性蛋白质和水溶性蛋白质巯基含量均呈现下降趋势, 在冷藏第 0 天, 盐溶性蛋白质巯基含量值为 (3.95 ± 0.04) mol/ 10^5 g pro, 水溶性蛋白质巯基含量为 (4.74 ± 0.17) mol/ 10^5 g pro; 第 10 天时, 盐溶性蛋

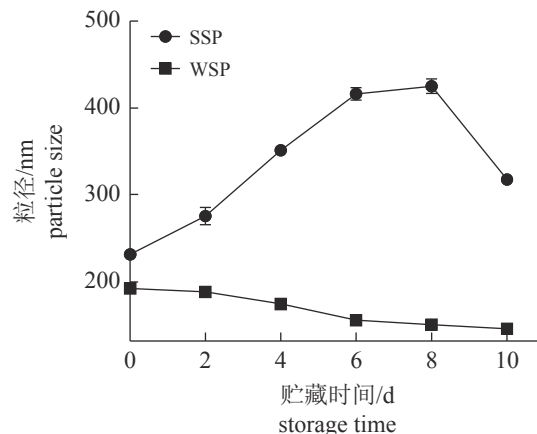


图 5 4 °C 贮藏条件下大黄鱼肌肉蛋白质粒径变化

Fig. 5 Changes in particle size of myofibrillar protein of *L. crocea* during storage at 4 °C

白质巯基含量为 (1.08 ± 0.13) mol/ 10^5 g pro, 水溶性蛋白质巯基含量为 (2.66 ± 0.15) mol/ 10^5 g pro。

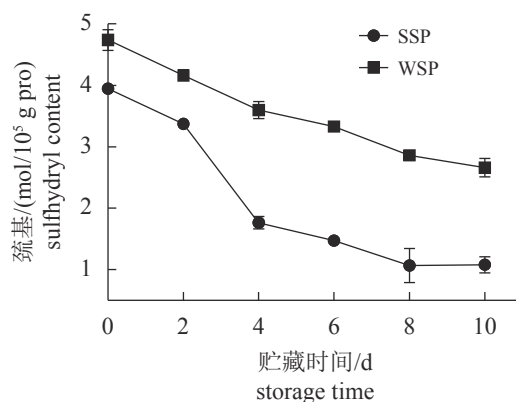


图 6 4 °C 贮藏条件下大黄鱼肌肉蛋白质巯基含量的变化

Fig. 6 Changes in sulfhydryl content of myofibrillar protein of *L. crocea* during storage at 4 °C

2.8 羰基含量

在冷藏条件下, 鱼肉蛋白质发生氧化, 蛋白质氨基酸残基遭到自由基攻击后, 基团逐渐脱落形成羰基。蛋白质氧化的一个明显标记即羰基的形成, 且较容易实现测量以判断蛋白质氧化变性的程度。大黄鱼肌肉蛋白质的羰基含量在 4 °C 冷藏过程中呈现总体上升的趋势, 冷藏后期增加速率较快(图 7)。冷藏第 0 天, 盐溶性蛋白质的羰基值为 (1.08 ± 0.04) nmol/mg, 水溶性蛋白质羰基值为 (0.21 ± 0.14) nmol/mg。第 10 天时, 盐溶性蛋白质的羰基值为 (3.94 ± 0.43) nmol/mg, 水溶性蛋白质的羰基值为 (2.67 ± 0.25) nmol/mg。

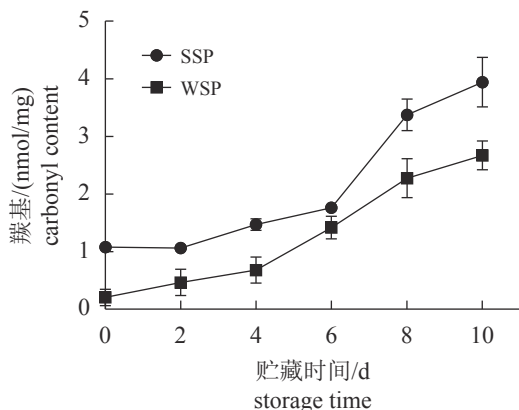


图7 4 °C 贮藏条件下大黄鱼肌肉蛋白质中羰基含量的变化

Fig. 7 Changes in carbonyl content of myofibrillar protein of *L. crocea* during storage at 4 °C

2.9 SDS-PAGE 凝胶电泳分析

大黄鱼肌肉中的盐溶性蛋白质的分子量主要为 25~245 ku, 各蛋白质条带颜色和宽度随时间变化逐渐变浅细、模糊。在冷藏第 0 天至末期的大黄鱼肌肉蛋白质条带变化中, 肌球蛋白重链(MHC) 蛋白质分子量约为 200 ku, 肌动蛋白质约为 45 ku, 原肌球蛋白约为 35 ku, 表明在 4 °C 冷藏过程中, 盐溶性蛋白质分子中的肌球蛋白重链、肌动蛋白质和原肌球蛋白总体上发生了不同程度的降解, 与李娜等^[17]研究罗非鱼肌肉蛋白质变化的结果一致(图 8-a); 分子量 30 ku 附近出现的条带 II、分子量>245 ku 出现的条带 I 为新出现的条带, 推测为蛋白质的降解产物或者是随着微生物等的作用有新的蛋白质产生, 蛋白质分子亚基因氧化已经出现较大程度的聚合, 生成一些高分子量的化合物, 没有具体的中英文名称。大黄鱼肌肉中水溶性蛋白质的分子量主要为

35~170 ku, 其中少部分蛋白质分子量为 70~100 ku (图 8-b)。贮藏不同天数的样品都有 2 条明显 35~40 ku 区间条带, 一条较浅的处于 70~100 ku 区间, 另一条 33 ku 左右的条带逐渐变浅。随着贮藏时间延长, 该条带蛋白质将被逐渐降解。

2.10 相关性分析

pH 值、TVB-N、硬度以及 *W* 值之间的相关性较好, $|r| > 0.889$, $P < 0.05$, 都能较好地表达大黄鱼品质情况(表 4, 表 5)。在盐溶性蛋白质的相关性分析中发现, pH 值与盐溶性蛋白质含量、巯基含量和羰基含量之间存在良好的相关性, 相关性系数 $|r| > 0.82$, $P < 0.05$ 。其中 pH 值和巯基含量的相关系数最高, $r = 0.963$, $P < 0.05$ 。TVB-N 与盐溶性蛋白质含量和巯基含量之间呈现显著的负相关性, 而 TVB-N 与羰基含量之间呈现正相关 $r = 0.982$, $P < 0.05$ 。*W* 值与巯基含量和羰基含量呈显著相关性 $|r| > 0.914$, $P < 0.05$ 。硬度值与巯基含量和羰基含量呈显著相关性, 但与盐溶性蛋白质含量无显著相关性。粒径分布仅与巯基含量存在显著负相关性 $r = -0.839$, $P < 0.05$ 。而在水溶性蛋白质的相关性分析中发现, 水溶性蛋白质的含量与新鲜度指标均有高度相关性, 硬度与其相关性系数 $r = 0.977$, $P < 0.05$, 相较于盐溶性的蛋白质来说, 其相关性更高。

3 讨论

3.1 鱼肉色差和质构

随着贮藏时间的延长, 蛋白质降解、肌原纤维伸缩使光的散射减少, 鱼肉亮度降低^[18], L^* 值呈降低趋势。 a^* 值发生明显下降, 可能是因为大黄鱼肌肉中含二价铁离子的红色物质被氧化成为含三价铁离子的红褐色物质, 肌肉蛋白质中的肌

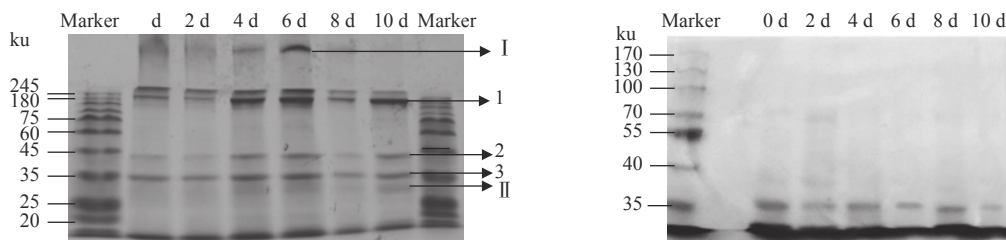


图8 4 °C 贮藏条件下大黄鱼肌肉蛋白质分子量的变化

(a) 盐溶性蛋白质, 1. 肌球蛋白重链, 2. 肌球蛋白, 3. 原肌球蛋白; (b) 水溶性蛋白质

Fig. 8 Changes in molecular weight of myofibrillar protein of *L. crocea* during storage at 4 °C

(a) salt-soluble protein, 1. MHC, 2. actin, 3. tropomyosin; (b) water-soluble protein

表 4 4 ℃ 冷藏过程中大黄鱼肌肉盐溶性蛋白质生化特性与新鲜度的相关性分析

Tab. 4 Correlation analysis between biochemical properties of salt-soluble protein and freshness of *L. crocea* during storage at 4 ℃

指标 index	pH	TVB-N	<i>W</i>	硬度 hardness	感官评价 sensory evaluation	盐溶性蛋白质含量 salt-soluble protein content	巯基含量 sulfhydryl content	羰基含量 carbonyl content	粒径分布 particle size
pH	1	0.898 [*]	-0.949 ^{**}	-0.957 ^{**}	-0.943 ^{**}	-0.820 [*]	-0.963 ^{**}	0.876 [*]	0.728
TVB-N		1	-0.970 [*]	-0.889 [*]	-0.956 ^{**}	-0.956 ^{**}	-0.813 [*]	0.982 ^{**}	0.449
<i>W</i>			1	0.939 ^{**}	0.965 ^{**}	0.887 [*]	-0.914 [*]	-0.931 ^{**}	-0.580
硬度 hardness				1	0.977 ^{**}	0.787	0.955 ^{**}	-0.854 [*]	-0.791
感官评价 sensory evaluation					1	0.861 [*]	0.911 [*]	-0.940 ^{**}	-0.681
盐溶性蛋白质含量 salt-soluble protein content						1	0.670	-0.926 ^{**}	-0.267
巯基含量 sulfhydryl content							1	-0.783	-0.839 [*]
羰基含量 carbonyl content								1	0.447
粒径分布 particle size									1

注: * 在0.05水平(双侧)上显著相关, ** 在0.01水平(双侧)上显著相关, 下同
Notes: *. significant correlation at 0.05 level (both sides); **. significant correlation at 0.01 level (both sides)level (both sides), the same below

表 5 4 ℃ 冷藏过程中大黄鱼肌肉水溶性蛋白质生化特性与新鲜度的相关性分析

Tab. 5 Correlation analysis between biochemical properties of water-soluble protein and freshness of *L. crocea* during storage at 4 ℃

指标 index	pH	TVB-N	<i>W</i>	硬度 hardness	感官评价 sensory evaluation	水溶性蛋白质含量 water-soluble protein content	巯基含量 sulfhydryl content	羰基含量 carbonyl content	粒径分布 particle size
pH	1	0.898 [*]	-0.949 ^{**}	-0.957 ^{**}	-0.943 ^{**}	-0.976 [*]	-0.952 ^{**}	0.916 ^{**}	-0.971 ^{**}
TVB-N		1	-0.970 [*]	-0.889 [*]	-0.956 ^{**}	-0.912 ^{**}	-0.913 ^{**}	0.981 ^{**}	-0.915 ^{**}
<i>W</i>			1	0.939 ^{**}	0.965 ^{**}	0.975 ^{**}	0.972 ^{**}	-0.960 ^{**}	0.951 ^{**}
硬度 hardness				1	0.977 ^{**}	0.977 ^{**}	0.969 ^{**}	-0.939 [*]	0.996 ^{**}
感官评价 sensory evaluation					1	0.969 ^{**}	0.972 ^{**}	-0.990 ^{**}	0.984 ^{**}
水溶性蛋白质含量 water-soluble protein content						1	0.995 ^{**}	-0.938 ^{**}	0.978 ^{**}
巯基含量 sulfhydryl content							1	-0.943 ^{**}	0.966 ^{**}
羰基含量 carbonyl content								1	-0.955 ^{**}
粒径分布 particle size									1

红蛋白质氧化为高铁肌红蛋白质。 b^* 值增大主要是因为大黄鱼脂肪氧化以及蛋白质变性,生成羰基化合物与胺类化合物,二者反应发生褐变,导致深色物质积累^[19]。

Delbarreladrat 等^[20]研究说明咀嚼性、黏着性指标的降低可能是由于水分损失及肌肉组织的劣化腐败引起的。随着贮藏时间的推移,鱼肉僵直后又解除僵直,丧失内容物,汁液流失导致肉质

软化、失去弹性^[21],大黄鱼肌肉的咀嚼性、粘着性和硬度出现明显下降。

3.2 pH 值、TVB-N 和感官评分

4 ℃ 冷藏期间,大黄鱼在前期肌肉中 ATP 消耗,产生乳酸并导致 pH 值出现下降^[22],而后期内源性酶不断增加,体内微生物大量繁殖,分解其蛋白质及含氮化合物,生成游离肽、氨和胺类等

碱性物质, 导致 pH 值升高^[23]。本实验结果与冯杰等^[24]对 4 ℃ 贮藏养殖大黄鱼肉质变化规律研究中的 pH 值结果相似, 4 ℃ 贮藏期间, 大黄鱼 pH 值初期出现小幅波动, 而后继续上升。

大黄鱼肌肉中的 TVB-N 值在 4 ℃ 冷藏过程中呈现上升趋势, 前期增长较慢, 后期增长速率较快, 主要是因为后期鱼肉内大量的微生物繁殖, 加快了蛋白质的分解, 产生氨及胺类等化合物^[11]。本研究结果与徐晨等^[25]研究的 TVB-N 与生鲜草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 片储藏时间关系的结果类似。随着贮藏时间延长, 鱼肉产生颜色暗淡、结构松散、气味劣化等变化, 感官评分下降, 储藏至第 6 天时已接近“可接受”下限。

3.3 盐溶性蛋白质和水溶性蛋白质含量

冷藏第 2 天的大黄鱼肌肉盐溶性蛋白质含量高于第 0 天, 该结果与倪渠峰等^[26]的研究结果类似, 冷藏 5 d 的大黄鱼肌肉中, 盐溶性蛋白质含量高于鲜活样品含量, 鲜活大黄鱼死后, 由于体内 ATP 的作用, 肌动蛋白质和肌球蛋白质的结合减少, 使肌动球蛋白含量 (盐溶性蛋白质主要成分) 下降, 造成蛋白质含量降低。盐溶性蛋白质含量的变化趋势与相悦等^[27]得出的花鲈 (*Lateolabrax japonicus*) 在贮藏末期盐溶性蛋白质含量降低了 56% 的结果类似。水溶性蛋白质含量的变化趋势与李婷婷^[5]得出的大黄鱼在贮藏期水溶性蛋白质含量逐渐降低的电泳结果相似。冷藏期间蛋白质发生了变性, 盐溶性蛋白质溶解性下降。造成蛋白质含量变化的原因有很多, 如蛋白质在内源性酶、外源性酶及微生物作用下发生降解, 空间结构被破坏, 氧化作用造成基团交联等。

3.4 粒径分布

蛋白质的有效粒径增加可能是贮藏初期随着时间延长, 蛋白质的氧化作用使二硫键生成、巯基和二硫键转换以及盐溶性蛋白质发生变性聚集。大黄鱼肌肉冷藏末期粒径分布出现小范围下降, 可能是因为疏水相互作用使得蛋白质聚合, 肌原纤维蛋白质粒径增大后, 外露疏水基团暴露增加到一定程度, 发生“疏水塌陷”, 导致表面疏水性下降, 蛋白质聚集程度也相应发生松散变化^[28]。而水溶性蛋白质被各类蛋白质酶逐渐水解, 肽键断裂或空间结构的改变导致蛋白质分子量减小, 从而导致蛋白质分子的粒径减小。

3.5 巯基含量与羰基含量

大黄鱼肌肉在 4 ℃ 冷藏过程中, 盐溶性蛋白质和水溶性蛋白质巯基含量均呈现下降趋势。贮藏后期巯基含量快速降低是由于脂肪氧化产生的醛类等物质促进了巯基基团氧化成二硫键, 或进一步氧化成磺酸类产物^[15]。同时蛋白质变性后的聚集会对巯基起到遮蔽作用, 导致巯基含量下降。与沈妮等^[29]低温冷藏对带鱼肌肉蛋白质的影响中, 4 ℃ 冷藏时第 9 天巯基含量增加的结果相似。

在冷藏条件下, 鱼肉蛋白质发生氧化, 遭到自由基攻击后, 氨基酸残基基团逐渐脱落形成羰基。大黄鱼肌肉蛋白质的羰基含量在 4 ℃ 冷藏过程中总体呈现上升趋势, 冷藏后期增加速率较快。大黄鱼死后, 产生氧化应激反应以及部分羰基化反应, 但反应程度不剧烈; 冷藏后期肌原纤维蛋白质结构破坏程度加深, 因环境以及内源条件的改变, 蛋白质氧化速率加快, 羰基含量增加明显。本实验结果与陈晓楠等^[9]低温冻藏过程中鲈肌肉蛋白质氧化特性研究中, 贮藏前期羰基含量缓慢上升, 冻藏中后期上升速率大幅提高的结果相似。

3.6 SDS-PAGE 凝胶电泳分析

4 ℃ 冷藏过程中, 大黄鱼盐溶性蛋白质分子总体上发生了不同程度的降解。冷藏第 4 天, 30 ku 附近出现了新的条带 II, 推测是其他蛋白质的降解产物或是随着微生物等的作用有新的蛋白质生成。条带 I 的出现, 表明蛋白质分子亚基因氧化已经出现较大程度的聚合, 生成一些高分子量的化合物, 堆积在分离胶顶部, 甚至已经停留在浓缩胶中。

Passi 等^[30]研究显示, 电泳条带 94 ku 处为磷酸化酶, 36 ku 处为甘油醛-3-磷酸脱氢酶, 39 ku 处为醛缩酶, 41 ku 处为肌酸激酶。在水溶性蛋白质电泳结果中发现, 33 ku 左右的条带在逐渐变浅, 主要是因为水溶性蛋白质中的某些蛋白质酶类随着时间的延长而降解。

3.7 相关性分析

大黄鱼肌肉的新鲜度指标与大黄鱼肌肉蛋白质生化特性有很好的相关性, 可以用于表征大黄鱼品质变化和冷藏时间的关系。其中水溶性蛋白质生化特性与大黄鱼的新鲜度指标均高度相关, 而盐溶性蛋白质的部分生化指标与新鲜度指标无相关性。但鱼肉中盐溶性蛋白质含量远超水溶性

蛋白质含量, 盐溶性蛋白质对鱼肉加工品质影响较大, 所以需将水溶性蛋白质与盐溶性蛋白质生化特性综合分析才能更好地反映大黄鱼的品质变化。同时贮藏期间蛋白质的降解主要是由微生物活动引起的, 且蛋白质的变化滞后于微生物指标, 所以单独应用蛋白质生化特性的变化来评价鱼肉鲜度及品质可行性不高, 需要与其他品质评价方法如感官评价、理化指标、微生物评价等相结合。

贮藏期间鱼肉蛋白质变化机理的研究逐渐深入, 未来可通过蛋白质组学、蛋白质修饰组学等新兴方法探究水产品贮藏前后蛋白质生化特性变化情况, 为从蛋白质层面评价与预测水产品品质提供理论依据。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] 章孝颖, 蔡晓芳, 刘贤德, 等. 高温胁迫下大黄鱼肝脏的蛋白质组学[J]. *水产学报*, 2021, 45(6): 862-870.
Zhang X Y, Cai X F, Liu X D, *et al.* Proteomics of liver tissue of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) under high temperature stress[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2021, 45(6): 862-870 (in Chinese).
- [2] Zhang H F, Wang W, Zhang S F, *et al.* Influence of 10-MeV E-beam irradiation and vacuum packaging on the shelf-life of grass carp surimi[J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2016, 9(5): 830-838.
- [3] Alasalvar C, Shahidi F, Miyashita K, *et al.* Handbook of seafood quality, safety and health applications[M]. Ames: Blackwell Pub, 2011: 50-67.
- [4] 马聪聪, 张九凯, 卢征, 等. 水产品新鲜度检测方法研究进展[J]. *食品科学*, 2020, 41(19): 334-342.
Ma C C, Zhang J K, Lu Z, *et al.* A review of methods for freshness detection of aquatic products[J]. *Food Science*, 2020, 41(19): 334-342 (in Chinese).
- [5] 李婷婷. 大黄鱼生物保鲜技术及新鲜度指示蛋白研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2013.
Li T T. Studies on bio-preservation techniques and protein indicators of freshness in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) during refrigerated storage[D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2013 (in Chinese).
- [6] Suvanich V, Jahncke M L, Marshall D L. Changes in selected chemical quality characteristics of channel catfish frame mince during chill and frozen storage[J]. *Journal of Food Science*, 2000, 65(1): 24-29.
- [7] 陈晓楠, 赵金丽, 张宾, 等. 低温冻藏过程中鲈鱼肌肉蛋白质氧化特性研究[J]. *包装工程*, 2020, 41(17): 38-45.
Chen X N, ZHAO J L, Zhang B, *et al.* Oxidation of muscle protein in mackerel during cryopreservation[J]. *Packaging Engineering*, 2020, 41(17): 38-45 (in Chinese).
- [8] 袁悦, 赵永强, 杨贤庆, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯对冷冻罗非鱼鱼糜抗冻作用机制[J]. *食品科学*, 2019, 40(24): 79-85.
Yuan Y, Zhao Y Q, Yang X Q, *et al.* Cryoprotective mechanism of epigallocatechin gallate on frozen Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) surimi[J]. *Food Science*, 2019, 40(24): 79-85 (in Chinese).
- [9] Prabhakar P K, Vatsa S, Srivastav P P, *et al.* A comprehensive review on freshness of fish and assessment: analytical methods and recent innovations[J]. *Food Research International*, 2020, 133: 109157.
- [10] Songsaeng S, Sophanodora P, Kaewsrithong J, *et al.* Quality changes in oyster (*Crassostrea belcheri*) during frozen storage as affected by freezing and antioxidant[J]. *Food Chemistry*, 2010, 123(2): 286-290.
- [11] 赵思敏, 贝文戈, 鲍泽洋, 等. 流化冰对养殖大黄鱼保鲜效果的研究[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(1): 297-303.
Zhao S M, Bei W G, Bao Z Y, *et al.* Fresh-keeping effect of slurry ice on farmed *Pseudosciaena crocea*[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(1): 297-303 (in Chinese).
- [12] Limbo S, Sinelli N, Torri L, *et al.* Freshness decay and shelf life predictive modelling of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) applying chemical methods and electronic nose[J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2009, 42(5): 977-984.
- [13] Kilinceker O, Dogan İ S, Kucukoner E. Effect of edible coatings on the quality of frozen fish fillets[J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2009, 42(4): 868-873.
- [14] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB 2733-2015 食品安全国家标准 鲜、冻动物性水产品[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China, China Food and Drug Administration. GB 2733-2015 National food safety standard fresh and frozen marine products of animal origin[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016 (in Chinese).

- [15] 李学鹏, 周凯, 周明言, 等. 自由基氧化对大黄鱼肌原纤维蛋白交联和聚集的影响[J]. 中国食品学报, 2015, 15(4): 13-21.
Li X P, Zhou K, Zhou M Y, *et al.* Effects of radical oxidation on the cross-linking pattern of myofibrillar protein in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*)[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2015, 15(4): 13-21 (in Chinese).
- [16] 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 (in Chinese).
- [17] 李娜, 赵永强, 李来好, 等. 冰藏过程中罗非鱼鱼片肌肉蛋白质变化[J]. 南方水产科学, 2016, 12(2): 88-94.
Li N, Zhao Y Q, Li L H, *et al.* Change of muscle proteins in Nile tilapia fillets during iced storage[J]. South China Fisheries Science, 2016, 12(2): 88-94 (in Chinese).
- [18] 高亚文, 汤海青, 欧昌荣, 等. 基于前表面荧光光谱鉴别新鲜与冻融大黄鱼[J]. 农业工程学报, 2016, 32(16): 279-285.
Gao Y W, Tang H Q, Ou C R, *et al.* Differentiation between fresh and frozen-thawed large yellow croaker based on front-face fluorescence spectroscopy technique[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2016, 32(16): 279-285 (in Chinese).
- [19] Silva F S, Menezes P M N, de Sá P G S, *et al.* Chemical composition and pharmacological properties of the essential oils obtained seasonally from *Lippia thymoides*[J]. Pharmaceutical Biology, 2016, 54(1): 25-34.
- [20] Delbarre-Ladrat C, Chéret R, Taylor R, *et al.* Trends in postmortem aging in fish: understanding of proteolysis and disorganization of the myofibrillar structure[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2006, 46(5): 409-421.
- [21] 蓝蔚青, 孙雨晴, 肖蕾, 等. 冻融循环对大目金枪鱼质构与蛋白质特性变化的影响[J]. 食品科学, 2021, 42(7): 240-246.
Lan W Q, Sun Y Q, Xiao L, *et al.* Effects of freeze-thaw cycles on texture properties and protein properties in big-eye tuna (*Thunnus obesus*)[J]. Food Science, 2021, 42(7): 240-246 (in Chinese).
- [22] Li T T, Li J R, Hu W Z. Changes in microbiological, physicochemical and muscle proteins of post mortem large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*)[J]. Food Control, 2013, 34(2): 514-520.
- [23] 张志广. 冷冻对养殖大黄鱼品质影响的研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2010.
Zhang Z G. Study on quality changes of cultured large yellow croaker subjected to different freeze methods[D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2010 (in Chinese).
- [24] 冯杰, 王徐媛, 傅玲琳, 等. 不同贮藏温度下养殖大黄鱼生物胺等品质变化规律研究[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(2): 5-12.
Feng J, Wang X Y, Fu L L, *et al.* Changes of biogenic amines and other quality indexes in cultured *Pseudosciaena crocea* at different storage temperature[J]. Food Research and Development, 2018, 39(2): 5-12 (in Chinese).
- [25] 徐晨, 耿胜荣, 白婵, 等. TVB-N与生鲜草鱼片储藏时间和温度的关系[J]. 湖北农业科学, 2016, 55(23): 6204-6207.
Xu C, Geng S R, Bai C, *et al.* Study on the relationship between TVB-N and fresh grass carp fillet storage time and temperature[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2016, 55(23): 6204-6207 (in Chinese).
- [26] 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 (in Chinese).
- [27] 相悦, 孙承锋, 李来好, 等. 花鲈冰藏过程中肌原纤维蛋白生化特性与新鲜度变化的相关性[J]. 水产学报, 2021, 45(2): 283-295.
Xiang Y, Sun C F, Li L H, *et al.* Correlation between changes in freshness and protein biochemical properties of *Lateolabrax japonicus* during iced storage[J]. Journal of Fisheries of China, 2021, 45(2): 283-295 (in Chinese).
- [28] 赵亚南, 张牧焱, 王道营, 等. 氯化钠对鸡肉冷藏过程中肌原纤维蛋白氧化的影响[J]. 肉类研究, 2020, 34(8): 1-7.
Zhao Y N, Zhang M H, Wang D Y, *et al.* Effects of sodium chloride on myofibrillar protein oxidation during cold storage of chicken meat[J]. Meat Research, 2020, 34(8): 1-7.

- 2020, 34(8): 1-7 (in Chinese).
- [29] 沈妮, 吴甜甜, 李苑, 等. 低温冷藏对带鱼肌肉蛋白质的影响[J]. 渔业科学进展, 2019, 40(6): 196-202.
- Shen N, Wu T T, Li Y, *et al.* Effect of chilling storage on the muscle protein of hairtail[J]. Progress in Fishery Sciences, 2019, 40(6): 196-202 (in Chinese).
- [30] Passi S, Cataudella S, Tiano L, *et al.* Dynamics of lipid oxidation and antioxidant depletion in Mediterranean fish stored at different temperatures[J]. *Biofactors*, 2005, 25(1-4): 241-254.

Correlation between changes in freshness and biochemical characteristics of *Larimichthys crocea* muscle protein during cold storage

ZHANG Jianyou^{1,2,3,4}, SUN Lei^{1,2}, ZHOU Guangcheng^{1,2}, FEI Lifeng^{1,2}, PAN Jiaxin^{1,2},
CUI Pengbo^{1,2,3,4}, LÜ Fei^{1,2,3,4*}, DING Yuting^{1,2,3,4}

(1. College of Food Science and Technology, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China;

2. Key Laboratory of Marine Fishery Resources Exploitation R & D Utilization of Zhejiang Province, Hangzhou 310014, China;

3. National R & D Branch Center for Pelagic Aquatic Products Processing (Hangzhou), Hangzhou 310014, China;

4. Collaborative Innovation Center of Seafood Deep Processing, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China)

Abstract: In order to study the correlation between *Larimichthys crocea* muscle protein and freshness quality during cold storage, the quality was judged by freshness indicators such as color, TPA, TVB-N and sensory score, water-soluble protein and salt-soluble protein were extracted from *L. crocea* muscle and biochemical characteristics were analyzed during storage, including protein content, total sulfhydryl content, carbonyl content, protein molecular weight and particle size distribution. The correlation between changes in freshness and biochemical characteristics of *L. crocea* muscle protein was analyzed. The L^* , a^* and W values of *L. crocea* fish meat decreased, while the b^* value increased; the chewiness, stickiness and hardness of *L. crocea* decreased obviously; TVB-N increased from (4.42±0.21) mg/100 g to (38.46±0.87) mg/100 g, and approached the secondary freshness standard on the 8th day, but the sensory evaluation score was not acceptable on the 8th day. During storage, the content of salt-soluble protein, water-soluble protein, total sulfhydryl content, and carbonyl content of *L. crocea* had similar changes. The content of salt-soluble protein increased slightly in the early stage and decreased in the late stage, from (159.36±6.51) mg/g to (91.99±13.82) mg/g. The quality score decreased by 42.27%. The content of water-soluble protein decreased from (33.68±2.13) mg/g to (17.57±0.70) mg/g, and the quality score decreased by 47.77%. The contents of sulfhydryl group and carbonyl group of salt-soluble protein increased from (3.95±0.04) mol/10⁵ g pro to (1.08±0.13) mol/10⁵ g pro and from (1.08±0.04) nmol/mg to (3.94±0.43) nmol/mg, respectively. The sulfhydryl and carbonyl contents of water-soluble protein changed from (4.74±0.17) mol/10⁵ g pro to (2.66±0.15) mol/10⁵ g pro and (0.21±0.14) nmol/mg to (2.67±0.25) nmol/mg, respectively. The particle size of salt-soluble protein increased from (203.32±5.44) nm to (425.40±8.63) nm during 0-8 days of cold storage, and decreased to (317.03±1.20) nm after 2 days. The particle size of water-soluble protein decreased from (190.80±0.30) nm to (144.23±1.32) nm. In the SDS-PAGE electrophoresis, there was a new protein band produced at about 30 ku, and the amount of protein was reduced. The results showed that the biochemical properties of water-soluble protein and salt-soluble protein have a good correlation with freshness, and water-soluble protein has better correlation.

Key words: *Larimichthys crocea*; cold storage; freshness; salt-soluble protein; water-soluble protein

Corresponding author: LÜ Fei. E-mail: foodsensory@126.com

Funding projects: National Key R & D Program of China (2019YFD0901602)