

文章编号: 1004-7271(2000)04-0319-05

鲢肌肉在保藏中的生化变化

邓德文, 陈舜胜, 程裕东, 袁春红

(上海水产大学食品学院, 上海 200090)

摘要:以淡水鱼鲢为对象,研究其在5℃、10℃和20℃保藏时鱼肉的pH值、ATPase活性、糖原、乳酸含量变化,肌原纤维蛋白的变性和降解情况及鱼体的感官变化。实验结果表明:(1)鲢肌肉糖原含量低(8.2 $\mu\text{mol/g}$),并在3~6h内迅速降解。(2)鲢肌肉乳酸含量也低,在低温保藏下乳酸易于积累。(3)新鲜鱼肉的pH值为6.97左右,接近中性;保藏过程中pH值下降的幅度小,最低可下降到6.6左右。(4)5℃和10℃保藏条件下蛋白质稳定性好,未见ATPase活性的降低和肌球蛋白重链的降解,20℃保藏时,48h后发现肌球蛋白重链的显著降解。

关键词:鲢,pH,糖原,乳酸,ATPase

中图分类号:TS254.1 **文献标识码:**A

Biochemical changes in muscle of silver carp during storage

DENG De-wen, CHEN Shun-sheng, CHENG Yu-dong, YUAN Chun-hong

(College of Food Science, SFU, Shanghai 200090, China)

Abstract: The variations in sensory evaluation, pH value, ATPase activity, contents of glycogen and lactic acid, as well as the denaturation and degradation of myofibrillar protein in the muscle of silver carp stored at 5°C, 10°C and 20°C were investigated. The experimental results showed that: (1) The content of glycogen was low (8.2 $\mu\text{mol/g}$) in fresh fish and declined quickly in 3-6 hours; (2) The content of lactic acid was low and lactic acid accumulated at low temperature storage; (3) pH value of fresh fish was nearly neutral, about 6.97, and the change of pH value small. pH value possibly declined to 6.6 during storage; (4) Fish myofibrillar protein showed stable during storage at 5°C and 10°C without the decrease of ATPase activity and the degradation of myosin heavy chain (MHC), but MHC degraded markedly when stored at 20°C for 48 hours.

Key words: silver carp; pH value; glycogen; lactic acid; ATPase

当前,我国淡水渔业以活鱼流通和消费为主,加工利用落后,这种模式,难以实现广域流通和更广泛的应用。随着近年来我国淡水鱼产量逐年增加,流通和加工问题显得日益突出。究其原因,一方面我国有吃活鱼的生活习惯,另一方面,目前我国淡水鱼的加工利用研究比较落后,主要在于后者。实现淡水鱼的大规模流通和加工,必需加强其应用性基础研究。其中重要的一环是鱼体死后生化变化研究,鱼体死后的生化变化对于淡水鱼原料的加工适性有着非常重要的影响。探明淡水鱼死后肌肉的生化变化规律,可为淡水鱼的加工利用提供理论依据。

众所周知,淡水鱼肉在保藏中由于自身酶和外源细菌的作用,会发生各种生化变化,从而导致鱼肉

收稿日期: 2000-06-23

作者简介: 邓德文(1976-),男,江西永修人,本校1998级硕士研究生,主要从事淡水鱼贮藏与加工方面的研究。

品质的下降,这些变化主要包括 pH 值、糖原、乳酸、ATPase、ATP 关联化合物等的变化。pH 值反映鱼肉的酸碱度,就红色肉鱼和白色肉鱼而言 pH 值对鱼的鲜度和鱼肉品质有不同的影响^[1]。糖原可分解为乳酸,从而改变鱼肉的 pH 值,对鱼肉的鲜度和品质产生影响。国外有关 pH 值和乳酸含量的变化报道集中于海水鱼方面^[2,3],国内有关淡水鱼肉在贮藏中 pH 值和乳酸含量的变化的报道比较少^[4,5,6]。有关糖原的研究,在活鱼的新陈代谢方面有一些报道,而淡水鱼死后糖原含量的变化及其特点则未见报道。ATPase 活性反映肌原纤维蛋白的变性状况,通常作为鱼肉蛋白质变性指标^[1,3,7]。采用 ATPase 活性和 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳相结合的方法可以从更深层次对保藏过程中鱼肉发生的变化进行探讨。感官评定作为各种生化变化对鱼肉品质影响的综合反映,鱼体在保藏过程中有必要进行感官评定。本研究旨在从 pH、糖原、乳酸、ATPase 活性和 MHC 和肌动蛋白质的电泳这几个方面对鱼死后生化变化及鱼肉品质进行考察,研究它们的变化和特点。

1 材料和方法

1.1 实验用鱼

鲢(silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix*):平均体长 33.3cm 和体重 622g;3 月-4 月份购于上海市农贸市场;头部击毙,置于恒温箱中(0℃、5℃、10℃和 20℃)保藏。每次采用 3 条鱼取背部肌肉进行测定,取平均值。

1.2 感官评定按下表标准进行评分

感官评定标准见文献^[8]、文献^[9]。

表 1 感官评定分标准
Tab.1 Rating scale for sensory evaluation

项目	3分	2分	1分	0分
体表	有光泽,无粘液,鳞片完整,不易脱落,肛门正常	光泽较差或有粘液,肛门微突出	光泽差,粘液多,肛门明显突出	灰暗色,粘液多,肛门发红有污液流出
气味	正常	稍有异味	有异味	腐败臭
鱼鳃	鲜红,无粘液,鳃丝清晰	深红或略有粘液,比较鳃丝清晰	暗红或粘液较多	暗紫或淡灰色,粘液多,鳃丝粘连
眼球	眼球饱满凸出,角膜透明	角膜稍不透明,或略呈混浊	角膜明显混浊,眼球平坦	角膜不透明,眼球深度下陷
肉质	弹性良好或僵硬	弹性稍差但不软	弹性差并发软	完全无弹性,甚软

1.3 pH 值测定

取鱼背部肌肉 5g,加 9 倍双蒸水,均质(10 000r/min,1min),立即测定 pH 值。

1.4 乳酸测定

乳酸脱氢酶法^[10]。

1.5 糖原测定

蒽酮比色法^[10]。

1.6 ATP 酶活性测定

Ca²⁺浓度为 0.1M,其余与文献相同^[11]。

1.7 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳

浓缩胶浓度 5%,分离胶浓度 7.5%^[11]。

2 结果与讨论

2.1 感官评定结果

按感官评分标准(表1)从体表、气味等方面对保藏中的鱼进行评定。把各项得分相加,总分在12~15为一级,鲜度很好;8~12为二级,鲜度较好;4~8为三级,鲜度较差;不满4分为等外品,鲜度很差。感官评定小组由4人组成,独立评分,取均值。从食用角度讲,感官评定在二级以上时,可以接受食用。保藏温度为20℃时,感官评定值下降迅速,大约半天后便不能食用;10℃保藏时,感官一级和二级分别可以在9h和19h内保持;而5℃保藏时,则可以大大延长鱼的保藏期限(表2)。从感官角度讲,淡水鱼应低温保藏,最好在10℃以下。

实验过程中发现,保藏中气味和眼球两项指标变化较快,它影响着感官评定者对其它指标的评分,这两项占的实际权重较大。今后可以考虑设置不同的权重,突出其中一项或两项,使评分标准更能体现鱼的实际鲜度。本文的评定标准根据全鱼制定,对于鱼片或碎鱼肉来说,眼球和鱼鳃两项指标不存在,而且气味这一项的变化也比较缓慢。实验中发现,气味主要发自鱼内脏,去除内脏后气味的变化会大大延后。因此鲢鱼肉保藏需去内脏。

2.2 pH值的变化

鲜活鲢肌肉pH值在6.97左右,接近中性,比海水鱼略低。保藏中,鱼肌肉的pH值逐步下降,大约在12至24h pH值下降至最低点6.6附近,比洄游性海水鱼竹筴鱼的相应值高(6.0以下^[1])。测定结果显示,不同保藏温度间最低pH值差异不显著。经过一段时间的保藏,pH又开始上升,测得pH上升的时间,0℃保藏时为96h,5℃和10℃时为72h,20℃时为48h。(图1)

保藏初期鱼肉pH值的下降,是由于糖原酵解产生乳酸,ATP和磷酸肌酸等物质分解,产生磷酸等酸性物质。保藏后期由于氨基酸等含氮物质分解,产生挥发性碱性含氮物使pH值又上升。保藏过程中pH较高,这与糖原含量低有关。最低pH值低,不利于蛋白的稳定性;最低pH值接近中性,蛋白稳定性较好,另一方面,大多数细菌也容易滋生,鱼肉腐败得快。对鲢来说属于后者。

2.3 糖原含量的变化

鲢肌肉中储存着一定量的糖原,在鱼体的能量代谢中发挥着重要作用。即杀鲢肌肉的糖原含量在8.2 $\mu\text{mol/g}$ (葡萄糖换算)左右,比洄游性海水鱼竹筴鱼含量小(最大可达80 $\mu\text{mol/g}$)^[1]。保藏中,糖原分解的速度很快,死后3h左右大部分已分解,6h后就难以检出,不同保藏温度之间糖原分解的差异较小。死前经过挣扎的鱼体,糖原含量会显著下降,可降至0.75 $\mu\text{mol/g}$ (图2)。糖原的含量低,与上述pH值下降的最低点只有6.6左右是吻合的。因此鱼捕获后

表2 鲢在不同保藏温度时的感官等级期限
Tab.2 Maximum storage period for sensory grades of silver carp stored at different temperatures

感官等级	保藏温度		
	5℃	10℃	20℃
一级	21h	9h	4h
二级	72h	19h	13.5h
三级	131h	36.5h	29h

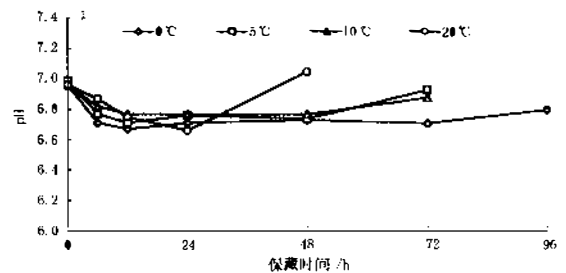


图1 鲢鱼肉在不同保藏温度下pH值的变化
Fig.1 Variation of pH value in muscle of silver carp stored at different time and temperatures

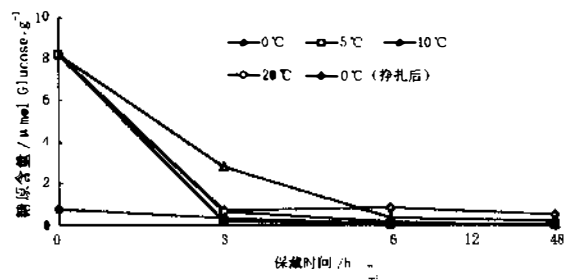


图2 鲢鱼肉在不同温度下保藏时糖原含量的变化
Fig.2 Variation of glycogen contents in dorsal muscle of silver carp during storage at different temperatures

防止鱼的挣扎对维持糖原含量有积极作用。

2.4 乳酸含量的变化

乳酸是鱼体中糖原进行无氧酵解而产生的,其含量变化与鱼种、保藏时间和鱼体死前状态有关。即杀鲢乳酸含量平均在 $9.85\mu\text{mol/g}$ 左右。保藏初期,乳酸含量不断上升,各温度保藏时乳酸含量上升的速度大小依次为 20°C 、 5°C 和 10°C , 12h 时相应的乳酸含量为 41.2 、 20.6 和 $29.5\mu\text{mol/g}$ 。不同的保藏温度,乳酸含量达到最大值亦不同,且达到最大值的时间也不一样, 5°C 和 10°C 保藏时,在 72h 后达到最大值,分别为 $71.5\mu\text{mol/g}$ 和 $49.2\mu\text{mol/g}$; 20°C 保藏时,在 24h 左右达到最大值 $43.7\mu\text{mol/g}$ 。按乳酸含量达到的最大值依次排列,各保藏温度为 5°C 、 10°C 和 20°C , 可见低温保藏时乳酸易于积累(表 3)。

2.5 ATPase 活性的变化

肌原纤维(Mf)Ca-ATPase 是鱼肉肌原纤维蛋白变性的指标之一,对鲢肌肉的 Ca-ATPase 活性的测定结果表明:保藏初期 ATPase 比活性都出现了一定程度的上升,保藏 24h 后, 5°C 、 10°C 和 20°C 时各比活性分别增加 28%、17% 和 32%;保藏过程中 ATPase 比活性并没有出现明显的下降,即使在 20°C 保藏 72h 鱼肉已经腐败,鱼肉 ATPase 比活性仍未见下降(图 3)。表明非冻结保藏过程中鲢鱼肉肌原纤维蛋白头部稳定性较好。

Ca-ATPase 活性来自肌球蛋白头部,其大小表征鱼肉蛋白质的变性程度。保藏过程中,由于没有经过冰点,肌球蛋白头部结构保持完整,经过保藏后酶活性中心可能更加暴露,从而导致了比活性的升高。鱼体的热变性存在与冷变性所不同的变性形式,即头部(S-1)与杆部(rod)相比,具有不易变性的特点^[8],保藏过程中杆部可能发生变性,但头部仍保持完好。因此 Ca-ATPase 比活性在非冻结保藏时可以不出现下降反而上升的结果。

2.6 蛋白质的电泳观察

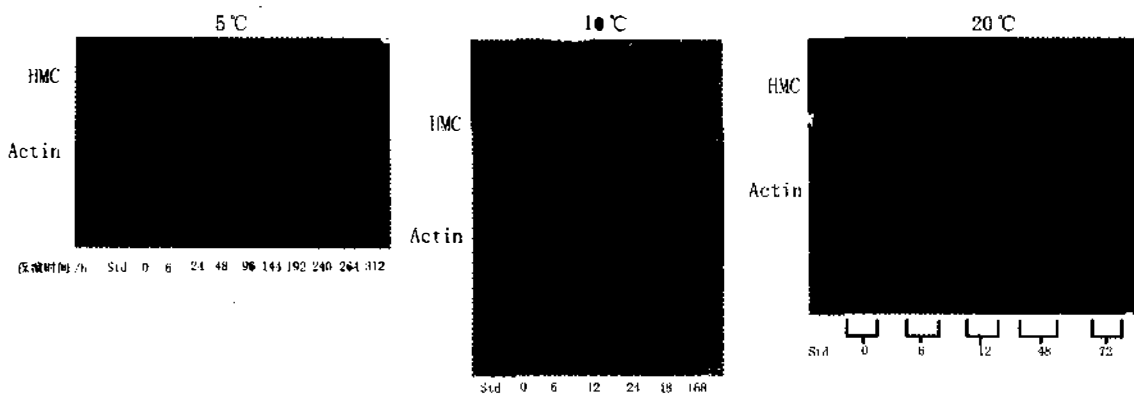


图 4 鲢在各温度下保藏时的电泳图

Fig.4 Electrophoresis graph of silver carp muscle during storage at different temperatures

表 3 不同温度下保藏过程中鲢肌肉中乳酸的含量
Tab.3 Lactic acid content in silver carp muscle during storage at different temperatures $\mu\text{mol/g}$

保藏温度	保藏时间(h)					
	0	6	12	24	48	72
5°C	9.85	24.51	29.49	35.55	53.09	71.52
10°C	9.85	13.51	20.58	31.87	43.17	49.16
20°C	9.85	23.75	41.19	43.69	37.45	

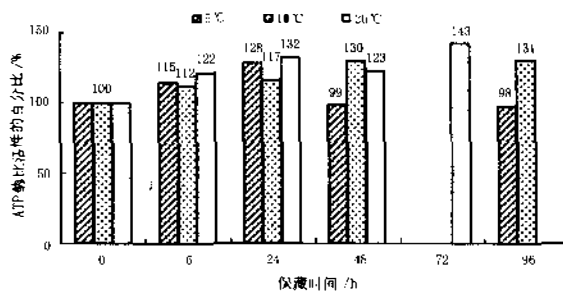


图 3 鲢鱼肉在不同温度下保藏 ATPase 活性的变化
Fig.3 The ratio of specific ATPase activity in the muscle of silver carp during storage at different temperatures

为了进一步考察蛋白质在保藏过程中的变化情况,本研究采用 SDS-PAGE 进行观察。在 5℃ 和 10℃ 时,鱼肉保藏至腐臭(5℃ 312h, 10℃ 168h)肌球蛋白重链(MHC)和肌动蛋白(actin)也均未见明显的降解,这说明组织蛋白酶在这两个温度时活性不大。20℃ 保藏时,48h 肌球蛋白重链便开始发生明显的降解,小分子量的蛋白质急剧增加,72h 肌球蛋白重链大部分已经降解,肌动蛋白也发生轻微的降解。所以,鲢保藏,有必要冷却到 10℃ 或更低,以防止蛋白质的降解。

与 ATPase 活性的变化相结合,可以看出,在 5℃ 和 10℃ 的保藏过程中,实验时间内未见酶活性下降和蛋白质的降解,表明蛋白质肽链完整,且空间结构保持完好。20℃ 保藏时,肌原纤维蛋白发生明显降解,但是酶活性部位结构保持良好,发生变化的部位在肌球蛋白重链的杆部(rod)。

2.7 小结

本研究的结果表明,鲢全鱼在感官上容易产生腐败气味,特别是温度较高时质地有软化现象;与海水鱼相比,肌肉中糖原含量低,乳酸含量少,pH 值接近中性,保藏过程中最低 pH 值较高;冷藏(5℃ 和 10℃)中肌原纤维蛋白的稳定性较好,而在 20℃ 保藏时,在 48h 左右会出现蛋白质的降解。另外,ATP 关联物也是一项重要的生化指标,将另文进行专门探讨。实验过程中发现,肉质有软化现象,从质构方面进行研究也是很有意义的。

参考文献:

- [1] 福田 裕, 柞木田善治, 新井健一. マサバの鮮度が肌原纤维タンク質の冷冻変性に及ぼす影响[J]. 日本水产学会志, 1984, 50(5): 845-852.
- [2] 冈弘康, 大野一仁, 三宫一郎. 养殖ハマチの致死条件と冷蔵中における魚肉の硬さとの关系[J]. 日本水产学会志, 1990, 56(10): 1673-1678.
- [3] 福田 裕, 柞木田善治, 川村 満, 等. 冻结および贮藏によるマサバ筋原纤维タンパク質の変性[J]. 日本水产学会志, 1982, 48(11): 1627-1632.
- [4] 王 愷, 郭大钧, 冯 媛, 等. 鳊在不同保藏温度下的鲜度变化[J]. 水产学报, 1993, 17(2): 113-118.
- [5] 杨宏旭, 衣庆斌, 刘承初, 等. 淡水养殖鱼死后生化变化及其对鲜度质量的影响[J]. 上海水产大学学报, 1995, 4(1): 1-8.
- [6] 周冬香, 陈 椒, 徐朝霞, 等. 用电导率快速检测淡水鱼鲜度的方法研究[J]. 上海水产大学学报, 1997, 6(3): 117-222.
- [7] 福田 裕, 挂端甲一, 新井健一. 冻结および贮藏による深海性魚類の肌原纤维たんぱく質の変性[J]. 日本水产学会志, 1981, 47(5): 663-672.
- [8] 今野久仁彦, 田泽明子, 高桥真之. 鱼类肌球蛋白的加热和冷冻变性机理[J]. 中日合作淡水渔业资源加工利用技术报告文集, 1999, 3: 11-22.
- [9] 李 衡, 王季襄, 区明勋. 食品感官鉴定方法及实践[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1992. 157.
- [10] 吉中礼. 佐藤守. 水产化学实验法[M]. 东京: 恒星社厚生阁, 1989: 86-90. 90-95.
- [11] 郭尧君. 蛋白质电泳实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 1999. 72.