

# 热压开壳对贻贝品质的影响及其脱壳机理

吕飞, 沈军樑, 丁玉庭

(浙江工业大学海洋学院, 浙江杭州 310014)

**摘要:** 本研究利用不同温度的热压蒸汽短时作用于贻贝进行开壳处理, 并研究了热压处理的脱壳机理。结果表明 145 °C 保温 1 分钟得到的贝肉品质较好; 热压处理贻贝闭壳肌的 SDS-PAGE 结果显示肌球蛋白轻链、重链条带消失; 红外图谱显示其蛋白质三级结构非共价键断裂, 贻贝闭壳肌蛋白产生凝胶化转变; 结缔组织胶原蛋白在玻璃化温度时转化成明胶, DSC 结果显示其玻璃化温度在 134 °C 左右; 电镜观察闭壳肌外观发现热压处理后闭壳肌纤维断裂情况明显, 高倍电镜下观察到贻贝闭壳肌在未经处理时蛋白呈球形分散, 热压处理后能够产生强于水煮处理的凝胶结合, 闭壳肌中的功能蛋白经过处理后变性程度较大, 以上表明闭壳肌体系失去胶束强度, 从而达到闭壳肌同贝壳脱壳的目的。因此, 热压处理方法在减少贝肉品质破坏和提高贻贝开壳率上的效果优于传统的水煮开壳方法。

**关键词:** 贻贝; 热压脱壳; 闭壳肌; 肌动球蛋白; 胶原蛋白

文章编号: 1673-9078(2014)11-175-181

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2014.11.031

## Effect of Heat-pressure Treatments on Mussel Quality and Shucking Efficiency

LV Fei, SHEN Jun-liang, DING Yu-ting

(Ocean College, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China)

**Abstract:** Heat-pressure steam treatments at various temperatures were used for short periods to shuck mussels, and the optimal shucking mechanism using heat-pressure treatment was determined. The results showed that mussel meat treated at 145 °C for 1 min had the highest quality among all of the treated meats. The results of SDS-PAGE showed that bands of actomyosin light chain and heavy chain disappeared after the heat-pressure treatment. Based on the infrared spectrum, the non-covalent bond of its protein tertiary structure ruptured, and the proteins of the adductor muscle in mussels showed gelation. Collagen in the connective tissue changed to gelatin at the glass transition temperature. The results of differential scanning calorimetry showed that the glass transition temperature was approximately 134 °C. An electron microscope was used to observe the appearance of adductor muscles, and after heat-pressure treatment, there was clear breakage in the fibers of adductor muscles. The adductor protein was spherically scattered before the treatment, but when it was treated by the heat-pressure method, it displayed stronger gel combination than the adductor protein treated by boiling in water, and the functional proteins in the adductor muscle degenerated to a larger degree after treatment. Therefore, the heat-pressure treatments made the adductor muscle system of mussels lose micelle intensity, and achieved the purpose of separating the adductor muscle from the shell. In conclusion, heat-pressure treatment was more effective than the traditional method of boiling in reducing damage to the meat and improving the efficiency of shucking.

**Key words:** mussel; heat-pressure shucking; adductor muscle; actomyosin; collagen

贻贝种类多, 仅我国沿海就有 30 多种, 其中的紫贻贝、厚壳贻贝等 10 多种具有较高的经济价值。紫贻贝易于养殖产量大, 是贻贝产业中主要的一种经济作物。厚壳贻贝能够越冬养殖, 在冬季贻贝产量少的情况下有很大的利润空间。贻贝生命力强, 养殖区域几乎覆盖沿海的各个省份。我国 2010 年贻贝养殖产量已经达到 70.22 万 t, 而且每年都在持续增长, 贻贝除带壳鲜销外, 主要通过制成罐头和干品等方式销售<sup>[1]</sup>。

收稿日期: 2014-05-09

基金项目: 浙江省科技厅重大科技专项重大农业项目 (2013C02023-1)

近几年中国每年都要向日韩、欧洲市场出售大量的贻贝干等产品, 价格也逐年攀升, 每公斤从 2003 年的 1.3 美元左右到 2011 年突破 2 美元, 2013 年更是达到 2.8 美元。市场需求的扩大加快了工业化生产的步伐, 贝类工业化生产则要先进行脱壳处理, 目前贝类脱壳大部分是采用热处理的手段, 热水蒸煮开壳作为传统方法到现在还被很多企业采用, 然而长时间的水煮会导致贝肉的水溶性物质大量溶出, 鲜味和质感下降十分明显。现代技术的发展使得微波、红外、高强度冲击波、激光等新型手段也被用于贝类脱壳, 通过 200

MPa 以上超高压也能完成贝类脱壳, 而且流体静压破坏病原菌, 使得产品安全性得到提高<sup>[2~3]</sup>, 但是这些手段的设备投资昂贵, 使用和维护费用较大, 而且其普遍存在的问题是难以扩大生产。本研究结合实际生产利用热压蒸汽短时作用于贻贝, 通过减少作用时间和贝肉与水的接触来提高脱壳贝肉的品质, 通过调整热压参数来提高脱壳率。

贻贝闭壳过程由闭壳肌体系控制, 闭壳肌体系包括闭壳肌及其周围的弹性连接韧带。闭壳肌连接着贝肉与贝壳, 且与贝壳的结合十分紧密, 脱壳关键就是要破坏闭壳肌与贝壳的这种紧密连接。闭壳肌周围的黏连组织富含胶原蛋白, 具有很强的黏弹力, 有辅助闭壳肌的作用, 想要消除胶原蛋白的弹力, 可以通过一定方法使其明胶化, 从而使其脆性增加而失去弹力, 胶原蛋白的明胶化过程有研究表明是在其玻璃化温度时完成的, 玻璃化转变可以通过热力、超高压<sup>[4]</sup>等实现。本实验通过热蒸汽加压使得温度快速达到 140 °C 以上, 保温 1 min 左右, 使得闭壳肌同贝壳脱离而达到脱壳的效果, 同时从闭壳肌蛋白中的肌动球蛋白和胶原蛋白出发, 分别研究其凝胶化和玻璃化转变情况, 从而来阐述热压脱壳过程内在机理。

## 1 材料及方法

### 1.1 材料与处理

#### 1.1.1 材料及设备

贻贝原料由嵊泗县枸杞镇顺达海鲜食品有限公司提供; TA.XT Plus 物性测试仪, 英国 Stable Micro Systems 公司; Hunter Lab Color Q 色差仪, 美国 Hunter Lab 公司; CR21GII 高速冷冻离心机, 日本日立公司; Nicolet 6700 傅里叶变换红外光谱仪, 美国热电尼高力公司; DSC-1 差示扫描量热仪, 德国 Mettler Toledo 公司; Hitachi S-4700 电子显微镜, 日本 Hitachi 公司。

#### 1.1.2 材料处理

新鲜贝肉闭壳肌的获取: 用楔子撬开新鲜贻贝, 把闭壳肌从贝壳上割下。

水蒸煮处理贝肉闭壳肌的获取: 鲜活贝壳 100 °C 水蒸煮不同时间开壳, 割下闭壳肌。

热压处理贝肉闭壳肌的获取: 鲜活贝壳不同温度热压处理 1 min 开壳, 割下闭壳肌。

冷冻干燥处理: 获得的闭壳肌-80 °C 预冷 30 min, -65 °C 冻干 24 h。

不同条件处理的闭壳肌冻干、制样、喷金后用于电镜观察。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 质构

修改 Taniwaki M<sup>[5]</sup>的方法, 探头为 P/5S, 触发力 5 g, 应变 50%, 下行速度 2 mm/s, 下压速度 1 mm/s, 回升速度 2 mm/s。

#### 1.2.2 蛋白溶出含量测定

双缩脲法测定不同处理后水溶液中的蛋白质含量, 换算成每克贝肉的溶出量进行比较。

#### 1.2.3 色差

雌性贻贝可以从外套膜和生殖腺的颜色区分出来, 雄体这部分的颜色是黄白色, 雌体的颜色较深为橙黄色, 雄性和雌性分组后分别测定色差值。

#### 1.2.4 热重分析 (TG)

以冻干的新鲜闭壳肌为原料, 温度范围 20 °C ~60 °C, 升温速率 10 °C/min。

#### 1.2.5 肌动球蛋白提取

参考 Li Y<sup>[6]</sup>的方法, 在 4 °C 下进行提取肌动球蛋白操作。闭壳肌切碎后打浆 1 min (打 5 s 停 5 s), 加入 20 倍体积的低离子浓度磷酸盐水洗液 (40 mmol/L NaCl, 0.5 mmol/L DTT, 1 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 10 mmol/L 的磷酸盐缓冲液 pH 7.0), 5000 r/min 间隔匀浆 4 min, 12000 r/min 离心 5 min, 沉淀重复上述步骤 3 次。取沉淀加 10 倍体积提取液 (0.6 mol/L NaCl, 10 mmol/L 的磷酸盐缓冲液 pH 7.0), 5000 r/min 间隔匀浆 4 min, 抽提 20 h, 13500 r/min 离心 25 min, 收集上清液。上清液加 10 倍体积蒸馏水, 缓慢搅拌, 用 5% HAC 调 pH 6.5~6.6, 静置 30 min, 虹吸弃上清, 13500 r/min 离心 10 min, 收集沉淀加 3 mol/L NaCl, 加蒸馏水调整浓度为 0.6 mol/L, 5000 r/min 间隔匀浆 4 min, 12000 r/min 离心 15 min, 上清液 4 °C 保存。

#### 1.2.6 胶原蛋白提取

参考 Nagai T<sup>[7]</sup>的方法, 在 4 °C 下进行提取胶原蛋白操作。闭壳肌及其周围结缔组织切碎后加 10 倍体积蒸馏水洗 30 min, 重复 2 次, 吸干蒸馏水, 加 10 倍体积的 4 mmol/L EDTA 和 0.5 mmol/L Tris-HCl (pH 8.0) 溶液, 搅拌过夜。加蒸馏水水洗 2 次, 12000 r/min 离心 10 min, 沉淀加 0.1 mol/L NaOH 溶液 (*m*:*V*=1:8), 搅拌过夜, 蒸馏水洗涤至中性, 冻干, 加 0.5 mol/L 乙酸 (*m*:*V*=1:5), 加入 0.5% 胃蛋白酶, 搅拌 2 d, 12000 r/min 离心 30 min, 沉淀重复上述步骤, 两次上清液混合, 缓慢加 3 mol/L NaCl 盐析, 调整最终浓度为 0.9 mol/L, 12000 r/min 离心 10 min, 沉淀溶于 0.5 mol/L 乙酸, 对 0.1 mol/L 乙酸透析过夜,

冻干后得到胃蛋白酶促溶的酸溶性胶原蛋白。将胶原冻干品溶于 0.1 mol/L  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  (pH 7.2) 缓冲液中, 过夜, 离心, 上清液 4 °C 保存。

### 1.2.7 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE)

肌动球蛋白电泳浓缩胶5%, 分离胶12%, 电压80 V, 待溴酚蓝跑至分离胶界面时, 调整电压到120 V; 胶原蛋白电泳浓缩胶5%, 分离胶5%, 电压80 V, 待溴酚蓝跑至分离胶界面时, 调整电压到120 V。考马斯亮蓝染色, 甲醇-乙酸脱色液脱色。

### 1.2.8 红外光谱

通过对提取的蛋白液进行冻干处理, 得到蛋白质粉末, 用 KBr 压片法在 4000~400  $\text{cm}^{-1}$  进行红外扫描, 得到近红外光谱图。

### 1.2.9 示差扫描量热法 (DSC)

参考 Shi Q L<sup>[8]</sup>的方法, 以冻干的新鲜闭壳肌为原料, 常温下以 5 °C/min 升温至 160 °C, 再以 5 °C/min 降温至 25 °C, 退火处理, 设定温度范围 20 °C~160 °C, 升温速率 2 °C/min, 氮气流量 40 mL/min,

得到 DSC 结果。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同处理贻贝开壳情况

表 1 列出了不同处理条件下贻贝的开壳情况, 相比水煮开壳, 热压处理后在开壳幅度和闭壳肌与贝壳的脱离程度上都有明显的提高, 开壳幅度大有利于后期壳肉分离的进行, 而闭壳肌与贝壳的脱离则是脱壳的必要条件, 热压处理开壳能够有效解决闭壳肌与贝壳相连的问题。热压温度的升高有助于增大开壳幅度和闭壳肌与贝壳的分离率, 但在 150 °C 处理 1 min 组发现了部分 (约 25%) 闭壳肌与贝肉脱离的情况, 造成了贝肉的不完整, 说明温度的升高在提高开壳率的同时会对贝肉品质产生不好的影响, 这是由于温度升高使闭壳肌蛋白变性程度提高, 当到达 150 °C 时胶原蛋白转化成的明胶体发生降解, 闭壳肌与贝壳分离的同时与贝肉连接也被破坏, 造成贝肉的不完整。

表 1 不同处理贻贝开壳情况

Table 1 Shucking status of mussels after various treatments

处理条件	开壳情况
水煮 10 min	80% 以上开壳 1.5~2 cm, 闭壳肌与贝壳相连
水煮 15 min	90% 以上开壳小于 2 cm, 闭壳肌与贝壳相连
热压 140 °C 1 min	50% 开壳小于 1.5 cm, 50% 开壳 1.5~2 cm, 部分闭壳肌与贝壳相连
热压 145 °C 1 min	90% 以上开壳 2~2.5 cm, 个别闭壳肌与贝壳相连
热压 150 °C 1 min	95% 开壳大于 2.5 cm, 闭壳肌几乎全部脱离贝壳, 部分闭壳肌脱离贝肉

表 2 不同处理贝肉质构结果

Table 2 Texture of mussel meat after various treatments

处理条件	硬度	弹性	内聚性	咀嚼性
水煮 10 min	87.4±35.7 <sup>a</sup>	0.71±0.04 <sup>a</sup>	0.73±0.02 <sup>a</sup>	61.3±18.0 <sup>a</sup>
水煮 15 min	112.1±52.8 <sup>b</sup>	0.74±0.06 <sup>b</sup>	0.74±0.02 <sup>a</sup>	65.3±24.6 <sup>a</sup>
热压 140 °C 1 min	116.0±58.6 <sup>b</sup>	0.76±0.02 <sup>c</sup>	0.73±0.05 <sup>a</sup>	71.5±12.3 <sup>b</sup>
热压 145 °C 1 min	145.5±70.0 <sup>c</sup>	0.77±0.05 <sup>c</sup>	0.73±0.05 <sup>a</sup>	88.8±33.7 <sup>c</sup>
热压 150 °C 1 min	105.2±52.6 <sup>ab</sup>	0.79±0.02 <sup>d</sup>	0.73±0.05 <sup>a</sup>	77.0±5.6 <sup>bc</sup>

注: 表中数据为平均值±标准差。同一列数值上标不同字母者表示差异显著 (P<0.05)。

### 2.2 不同处理对贝肉质构的影响

通过对不同处理条件下开壳的贝肉质构、色差和蒸煮液中溶出蛋白质含量的测定, 比较不同处理条件对贝肉质构的影响, 同时结合开壳效果来优化开壳参数。

#### 2.2.1 不同处理贝肉质构

表 2 列出了不同条件处理的脱壳贝肉质构测试结果, 从表 2 可以看出通过热压处理的贝肉在硬度、弹

性上的数值要大于水煮处理, 内聚性没有明显的变化, 咀嚼性变化趋势与硬度变化趋势相似, 这是由于咀嚼性是一个可以综合评价质构的一个指标, 是指将食物咀嚼到可以吞咽时所需做功大小, 在数值上等于硬度、弹性、内聚性的乘积。热压处理开壳贝肉的咀嚼性相比于水煮处理有明显的提高, 而传统水煮开壳的贝肉一个很大的问题就是咀嚼性不够好, 通过热压处理后能够在这一点上有明显的提升, 这主要是由于在热压作用后蛋白质发生变性聚合, 巯基-二硫键交联使分子



结构更加稳定,从而能够提高其组织硬度,使得贝肉的咀嚼性增加。

### 2.2.2 不同处理贝肉色差

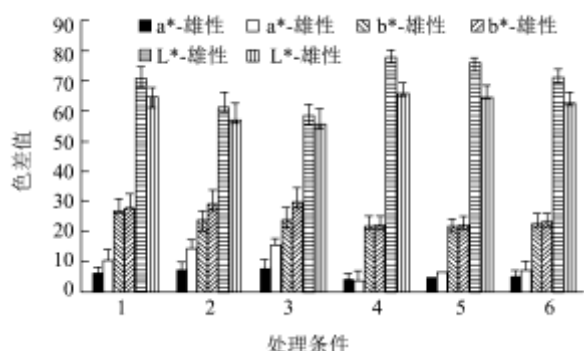


图1 不同处理贝肉色差

Fig.1 Color shading of mussel meat after various treatments

注: 1.新鲜; 2.水煮10 min; 3.水煮15 min; 4.140 °C热压1 min; 5.145 °C热压1 min; 6.150 °C热压1 min。

色差影响食品的视觉效果,同时也能一定程度上反映其品质的优劣。如图1所示,在加入了新鲜未处理组对比后可以发现,雄性和雌性贝肉表现为相同的规律性,在亮度值上热压处理脱壳贝肉有明显的提高,水煮处理则要低于未处理组;而黄度值和红度值则表现为热压处理后有一定程度的下降,这使得热压处理后的贝肉色泽更加光亮,视觉上可接受程度提高。这是由于热压作用的处理时间短,且无需浸泡在水中,使得贝肉的水溶性物质流失减少,在保护贝肉品质的同时也提升了视觉效果。

### 2.2.3 不同处理蛋白溶出量

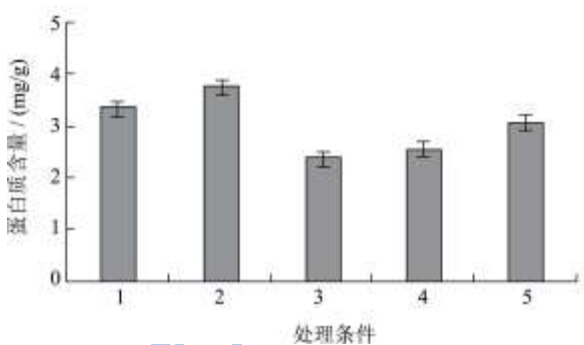


图2 不同处理贝肉水溶液中蛋白溶出量

Fig.2 Protein elution values for water solutions with mussel meat after various shucking treatments

注: 1.水煮10 min; 2.水煮15 min; 3.140 °C热压1 min; 4.145 °C热压1 min; 5.150 °C热压1 min。

蛋白质的溶出会导致风味物质的流失,使得贻贝肉的鲜味下降,这也是传统水煮脱壳贻贝的一个问题。图2比较了不同处理的水溶液中蛋白质溶出量,热压处理组要明显少于水煮处理,而且在热压处理的不同

组中溶出量跟处理温度成正比,说明在相同作用时间下温度升高会使得蛋白溶出量增加,导致品质下降。温度的升高和时间的延长都会使得蛋白质溶出量增加,由于热压脱壳处理只有少量的冷凝水,相比于水煮脱壳需要浸泡在水中处理有效减少了水溶性物质的流失。

综合不同处理结果,热压处理在提高贝肉咀嚼性、色泽和减少蛋白溶出量上都比水煮处理更具优势,能够有效起到减少脱壳过程中品质破坏的作用。热压处理的三个组中,虽然150 °C处理在开壳效果上有明显的优势,但同时也会增加蛋白流失和质地的破坏,而140 °C处理则没有很好的开壳效果,145 °C处理1 min能够在控制品质的同时具有较高的开壳率,比较适合实际生产。

### 2.3 脱壳机理

为了进一步说明热压处理相比于传统水煮脱壳具有保护品质和提高开壳率的原因所在,阐述热力学脱壳过程中闭壳肌的具体内在变化,利用热学分析法(TG、DSC)结合电泳以及红外光谱和电镜来研究贻贝闭壳肌,说明其脱壳机理。

#### 2.3.1 闭壳肌 TG 分析

热重分析能够揭示样品的质量与温度变化的关系,本实验利用热重分析模拟温度升高的环境通过记录温度升高过程中闭壳肌质量的变化来研究贻贝闭壳肌的热稳定性,分析结果如图3。

通过对冷冻干燥后的闭壳肌的热重分析,由曲线b可以发现新鲜贻贝的闭壳肌样品在137.2 °C开始明显失重,说明从这个温度点开始闭壳肌内物质发生降解,而曲线a是经过热压处理后的贻贝闭壳肌冻干样品,在同样条件下没有明显失重,说明热压处理后闭壳肌已经发生了变化,且其主要的质量变化应该是发生在137.2 °C左右的温度段。

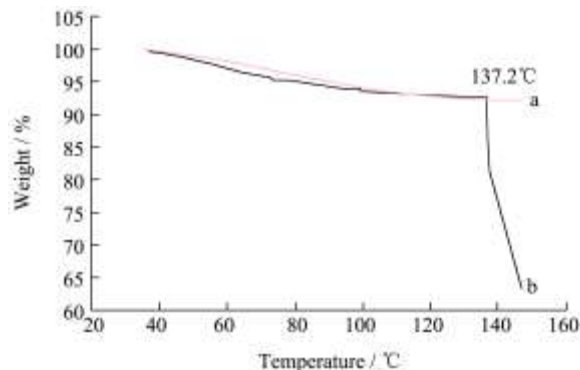


图3 贻贝闭壳肌热重曲线

Fig.3 Thermogravimetric (TG) analysis for adductor muscle

注: a.热压处理闭壳肌热重曲线; b.新鲜闭壳肌热重曲线。

### 2.3.2 肌动球蛋白 SDS-PAGE

分别取新鲜、水蒸煮 10 min、145 °C 热压处理 1 min 的贻贝闭壳肌提取肌动球蛋白后进行实验，电泳结果如图 4。对比新鲜、水蒸煮 10 min、145 °C 热压处理 1 min 的贻贝闭壳肌可以发现，在经过热压处理后有明显的条带变化，分子量约 220 kD 的两条肌球蛋白重链和分子量在 15~25 kD 的肌球蛋白轻链条带消失，副肌球蛋白（约 90 kD）、肌动蛋白（约 46 kD）和原肌球蛋白（约 38 kD）条带基本消失。肌球蛋白分子是肌原纤维蛋白质系统中对凝胶形成起主要作用的蛋白质，而在凝胶的形成过程中，重链起链接分子的作用，轻链（主要是 LC<sub>2</sub>，LC<sub>3</sub>）起填充分子间隙的作用<sup>[10]</sup>。在水蒸煮样品中也可以看到条带变浅或消失的情况，但没有其他条带出现，说明水蒸煮处理也产生了一定的变性作用，而在热压处理样品中在 30 kD 左右出现了条带，说明蛋白质内的键位发生了很大变化，导致其结合物分子量出现变化，产生明显的条带，有可能就是其形成的凝胶蛋白。经过电泳初步说明热压下闭壳肌蛋白发生变性，肌球蛋白重链、轻链可能对凝胶化产生了一定影响。

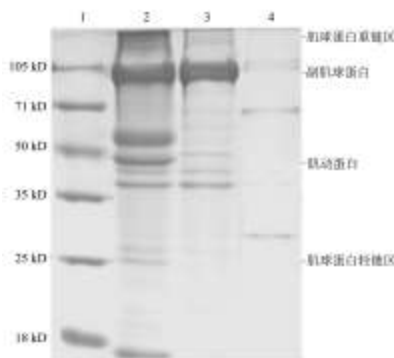


图 4 贻贝闭壳肌肌动球蛋白 SDS-PAGE 图谱

Fig.4 SDS-PAGE of actomyosin in mussel adductor muscle

注：1.低分子量标准蛋白；2.新鲜闭壳肌肌动球蛋白；3.水蒸煮处理闭壳肌肌动球蛋白；4.热压处理闭壳肌肌动球蛋白。

### 2.3.3 肌动球蛋白红外分析

为了从蛋白质内部结构来说明热压处理的作用，从而解释热压处理对闭壳肌脱离的影响，利用红外光谱来分析不同处理条件下的肌动球蛋白样品，红外分析结果如图 5。新鲜样品和水煮处理样品的出峰位置和大小基本没有变化，说明经过水煮处理后其肌动球蛋白内部结构没有改变。对比热压处理后的出峰情况可以看出，在 700~800 波段有较强峰的出现，这是由于氢键的减少导致 N-H 面外弯曲的几率增加而所致<sup>[11]</sup>，氢键减少原因很多，可能是双键被取代或者=C-H 面外变形振动，氢键作为一种非共价键在热压处理过程中被破坏，在红外图谱中表现为出峰的增加和加强。

在 1000~1300 波段，热压样品出现了除新鲜和水煮都有的 1083 外的 1042 的峰，出峰强且峰面积大，这是由于 C-O 的伸缩振动强烈，破坏了氢键。说明热处理特别是高温热压处理对氢键等非共价键产生了比较大的破坏，蛋白质三级结构中非共价键的断裂产生凝胶过渡，使肌肉蛋白和粘连组织变性，从而使闭壳肌从贝壳上脱落。

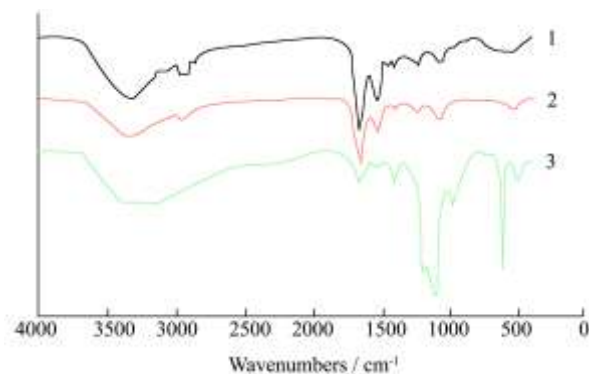


图 5 贻贝闭壳肌肌动球蛋白红外图谱

Fig.5 IR spectrum of actomyosin in mussel adductor muscle

注：1.新鲜闭壳肌肌动球蛋白；2.水蒸煮处理闭壳肌肌动球蛋白；3.热压处理闭壳肌肌动球蛋白。

### 2.3.4 胶原蛋白 SDS-PAGE

分别取新鲜，水煮 10 min，145 °C 处理 1 min 的贻贝闭壳肌提取胶原蛋白后进行实验，电泳结果如图 6。胶原蛋白是由 3 条  $\alpha$  多肽链形成的 3 股螺旋结构，包括 N-端肽（N-telopeptide）、3 股螺旋区、C-端肽（C-telopeptide）。 $\alpha$  链的端肽形成胶原蛋白的球状结构区，3 条  $\alpha$  链借助范德华力、氢键及共价交联聚合形成 3 股螺旋结构，成为难溶性胶原蛋白<sup>[12]</sup>。通过电泳结果可以看出水煮处理样品的条带基本与新鲜样品没有改变，这也进一步说明了胶原蛋白需要更高的温度才能实现其变性，而经过热压处理后，其  $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$  链条带加深且更清晰，说明在经过热压处理后胶原蛋白凝聚增加，这就是明胶化的体现，而其具体的非共价键交联变化可以通过红外光谱分析。

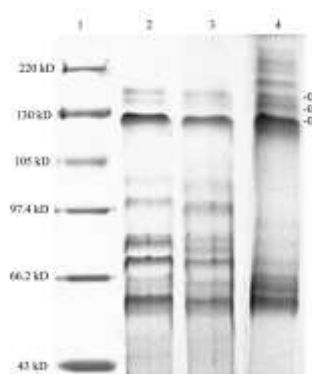


图 6 贻贝闭壳肌胶原蛋白电泳

Fig.6 SDS-PAGE of collagen in mussel adductor muscle

注：1.高分子量标准蛋白；2.新鲜闭壳肌胶原蛋白；3.水煮处理闭壳肌胶原蛋白；4.热压处理闭壳肌胶原蛋白。

### 2.3.5 胶原蛋白红外分析

新鲜闭壳肌胶原蛋白红外图谱如图7，新鲜闭壳肌胶原蛋白的结果基本与小牛腱I型胶原蛋白的红外图谱基本一致，由此可以进一步确定所提胶原蛋白为I型胶原蛋白。

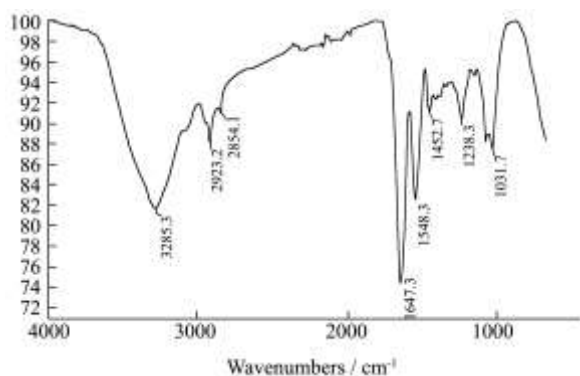


图7 新鲜闭壳肌胶原蛋白红外图谱

Fig.7 IR spectrum of collagen in fresh mussel adductor muscle

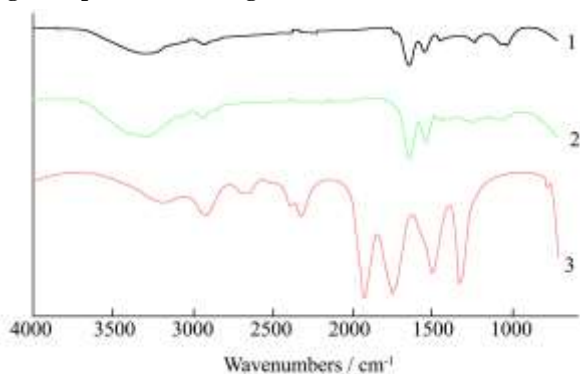


图8 贻贝闭壳肌胶原蛋白红外图谱

Fig.8 IR spectrum of collagen in mussel adductor muscle

注：1.新鲜闭壳肌胶原蛋白；2.水煮处理闭壳肌胶原蛋白；3.热压处理闭壳肌胶原蛋白。

不同条件处理闭壳肌胶原蛋白冻干粉红外图谱结果如图8，对比水煮处理与新鲜闭壳肌胶原蛋白红外曲线可以发现出峰基本一致，说明水煮处理对胶原蛋白内部结构几乎不产生影响，胶原蛋白韧性和弹力没有发生改变，这是由于胶原蛋白 $\alpha$ 链的端肽是一种球状结构，球状蛋白的三级结构通常由多种二级结构组成，每一条肽链都通过一些 $\alpha$ -螺旋， $\beta$ -片层， $\beta$ -转角，无规卷曲等形成紧密球状构象，使其具有难溶性和高稳定性所致<sup>[13]</sup>。热压处理样品在1300~2000波段波峰变长且相比于未经热压处理的波段整体往长波方向移动，这是由于热压处理能够破坏其蛋白质三级结构，使其非共价键断裂导致的，而胶原蛋白三级结构的破坏首先要改变其二级结构，水煮处理则无法达到这一点，热压处理相比于水煮处理温度更高，能够解

离胶原蛋白的螺旋结构，对其中的氢键等非共价键产生了比较大的影响，使蛋白质产生凝胶变性，从而闭壳肌从贝壳脱落。

### 2.3.6 闭壳肌 DSC 分析

为了进一步测定贻贝闭壳肌玻璃化转变温度，分析胶原蛋白玻璃化转变情况，对冻干的新鲜闭壳肌进行 DSC 测定，结果如图9。

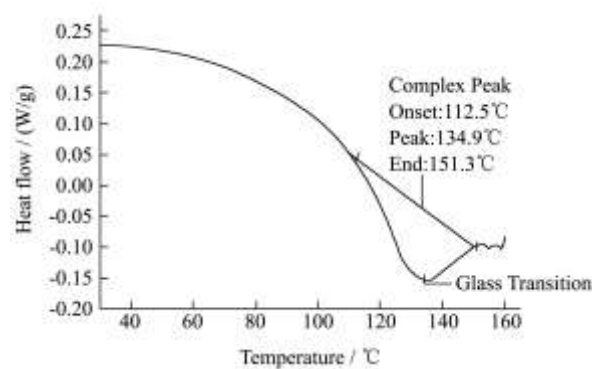


图9 贻贝闭壳肌 DSC 曲线

Fig.9 DSC analysis of mussel adductor muscle

胶原蛋白内部通过以氢键为主的键力连接着的螺旋结构是具有很高稳定性的球状区域，很难被破坏；在分子连接方面，胶原和胶原分子间存在着醇醛、Schiff 碱和醇醛组氨酸等交联形式，交联使分子链刚性增加，阻碍了胶原分子的链段运动，因此有较高的玻璃化转变温度<sup>[14]</sup>。DSC 结果显示这是一个包含着玻璃化转变的复合峰，胶原蛋白玻璃化转变温度在134 °C~137 °C。这是一个典型的吸热峰，表示蛋白质的分解，并且峰面积比较大，这中间有蛋白质的初期降解，到达玻璃化转变点后，产生了明显的玻璃化转变。暴露的活性基团形成了聚集体，这种聚集体形成又需要吸收热量，使得吸热峰峰顶延后，达到全部变性之后才开始反弹，此时也就完成了玻璃化转变。热重分析的结果显示闭壳肌137 °C开始明显失重，结合 DSC 和热重结果说明温度继续上升可能导致明胶体发生降解，这从 DSC 曲线在末端出现了小的吸热峰得到了验证，同时也解释了150 °C热压脱壳后闭壳肌同贝肉脱离，造成贝肉不完整的情况。

### 2.3.7 闭壳肌电镜观察

为了更直观的说明热压处理对闭壳肌的影响，电镜观察闭壳肌肌纤维形态及蛋白质凝聚情况，结果如图10。

在放大倍数比较小的情况下，纤维外观都比较整齐，在300倍，800倍，2000倍情况下可以看出热压处理的闭壳肌纤维已经断裂，说明热压处理使得肌纤维脆性增加，从而使闭壳肌易于受外力影响而从贝壳脱离。放大到20000倍时可以清楚看到肌球蛋白的凝



聚情况,新鲜闭壳肌、水煮处理闭壳肌与热压处理闭壳肌存在明显差异,可以看到新鲜贻贝闭壳肌的蛋白呈球形分散,水煮和热压处理后已经凝胶结合,但热压处理的凝胶程度明显高于水煮处理,一方面热压处理闭壳肌的肌动球蛋白变性彻底,其收缩作用减弱;另一方面其凝胶产物黏连作用减弱,更易断裂。

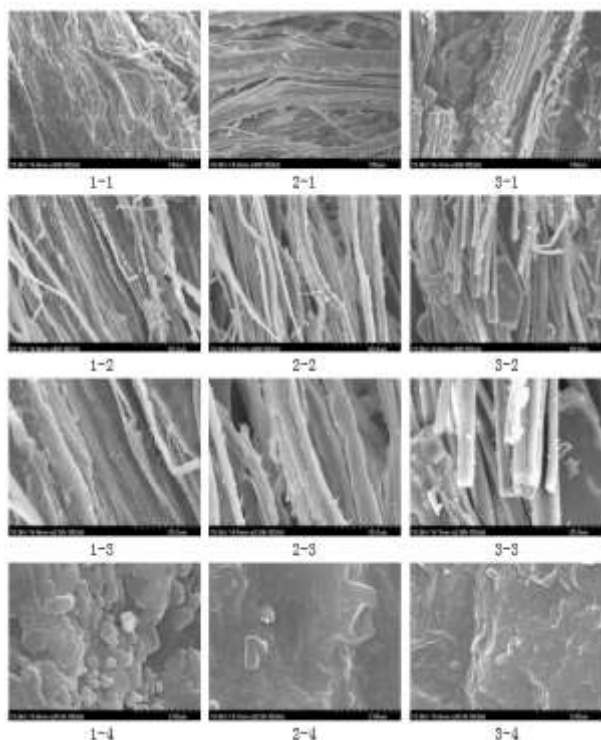


图 10 贻贝闭壳肌电镜结果

Fig.10 Electron microscope images for mussel adductor muscle

注: 1-1.新鲜闭壳肌300倍, 2-1.水蒸煮处理闭壳肌300倍, 3-1.热压处理闭壳肌300倍; 1-2.新鲜闭壳肌800倍, 2-2.水蒸煮处理闭壳肌800倍, 3-2.热压处理闭壳肌800倍; 1-3.新鲜闭壳肌2000倍, 2-3.水蒸煮处理闭壳肌2000倍, 3-3.热压处理闭壳肌2000倍; 1-4.新鲜闭壳肌20000倍, 2-4.水蒸煮处理闭壳肌20000倍, 3-4.热压处理闭壳肌20000倍。

综合闭壳肌在高温下的变化情况,在热压作用温度低于 150 °C 处理下,闭壳肌肌动球蛋白产生凝胶化转变,具体表现为蛋白质三级结构共价键断裂,通过肌球蛋白重链连接分子、轻链填充分子间隙作用重新连接形成凝胶体,使得闭壳肌收缩作用和黏连作用减弱;胶原蛋白通过玻璃化转变明胶化,进一步增加闭壳肌的脆性,达到闭壳肌同贝壳脱离的目的,温度高于 150 °C 时又会导致明胶体降解,这为热压开壳的大致温度范围提供了参考。

### 3 结论

贝类脱壳的目的在于取得完整、质地破坏小的贝肉,除了最原始的刀片切割能达到这样的效果,其他

的方法都会一定程度上改变贝肉的质地和完整性,近年人们对贝类等水产品的食品安全问题越来越关注,热压处理脱壳贝肉相比于冷冻生鲜贝肉能够一定程度消除致病菌。短时热压作用不但能够破坏闭壳肌中的肌动球蛋白和胶原蛋白所组成的胶束体系,而且由于作用时间和与水的接触减少,减少了汁液流失,相比于水煮脱壳对贝肉品质提升有一定帮助。通过热蒸汽加压使温度达到 145 °C 保温 1 min 能够得到兼顾脱壳效果和贝肉品质的脱壳贝肉。

### 参考文献

- [1] 郭玉华,李钰金,吴新颖.贻贝食品的研究进展[J].肉类研究, 2009,5:84-87  
GUO Yu-hua, LI Yu-jin, WU Xin-ying. Advances on the research of food originated from mussel [J]. Meat Research, 2009,5: 84-87
- [2] Cruz-Romero M, Smiddy M, Hill C, et al. Effects of high pressure treatment on physicochemical characteristics of fresh oysters (*Crassostrea gigas*) [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2004, 5(2): 161-169
- [3] Yi J, Xu Q, Hu X, et al. Shucking of bay scallop (*Argopecten irradians*) using high hydrostatic pressure and its effect on microbiological and physical quality of adductor muscle [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2013, 18: 57-64
- [4] Kaspis S. The effect of pressure on the glass transition of biopolymer/co-solute: Part I: The example of gelatin [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2007, 40(5): 491-497
- [5] Taniwaki M, Kohyama K. Mechanical and acoustic evaluation of potato chip crispness using a versatile texture analyzer [J]. Journal of food engineering, 2012, 112(4): 268-273
- [6] Li Y, Kong B, Xia X, et al. Structural changes of the myofibrillar proteins in common carp (*Cyprinus carpio*) muscle exposed to a hydroxyl radical-generating system [J]. Process Biochemistry, 2013, 48(5-6): 863-870
- [7] Nagai T, Suzuki N. Isolation of collagen from fish waste material-skin, bone and fins [J]. Food Chemistry, 2000, 68(3): 277-281
- [8] Shi Q L, Zhao Y, Chen H H, et al. Glass transition and state diagram for freeze-dried horse mackerel muscle [J]. Thermochimica acta, 2009, 493(1): 55-60
- [9] 白云, 湛启亮, 周光宏, 等. 温度对兔腰大肌肌球蛋白凝胶特性的影响[J]. 江苏农业学报, 2011, 27(2): 405-409  
BAI Yun, CHEN Qi-liang, ZHOU Guang-hong, et al. Effects

- of temperature on gel properties of myosin from rabbit psoas major muscles [J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences 2011, 27(2): 405-409
- [10] 周瑞明,沈永嘉.蛋白质二级结构的红外光谱[J].华东理工大学学报:自然科学版,1997,23(4):422-425  
ZHOU Rui-ming, SHEN Yong-jia. The infrared spectra of protein secondary structure [J]. Journal of East China University of Science and Technology: natural science, 1997, 23(4): 422-425
- [11] 崔凤霞,薛长湖,李兆杰,等.仿刺参胶原蛋白的提取及理化性质[J].水产学报,2006,30(4):549-553  
CUI Feng-xia, XUE Chang-hu, LI Zhao-jie, et al. Extraction and the physical and chemical characterization of collagen in *Stichopus japonicus* [J]. Journal of Fisheries of China, 2006, 30(4): 549-553
- [12] 王建华,卫亚丽,文宗河,等.蛋白质结构的FT-IR研究进展[J].化学通报,2004,67(7):482-486  
WANG Jian-hua, WEI Ya-li, WEN Zong-he et al. Advances in application of FT-IR to the research of protein structure [J]. Chemistry, 2004, 67(7): 482-486
- [13] 常海军,王强,徐幸莲,等.牛半腱肌肉结缔组织胶原蛋白热力学特性热诱导变化DSC分析[J].食品科学,2011,32(13): 49-53  
CHANG Hai-jun, WANG Qiang, XU Xin-lian et al. DSC analysis of heat-induced changes in thermal characteristics of connective tissue collagen from beef semitendinosus muscle[J]. Food science, 2011, 32(13): 49-53