

臭氧水杀菌后冰藏牡蛎肌原纤维蛋白结构、性质及呈味物质含量的变化

孙协军, 郑凯泷, 李秀霞*

(渤海大学食品科学与工程学院, 生鲜农产品贮藏加工及安全控制技术国家地方联合工程研究中心, 辽宁锦州 121013)

摘要: 为探究臭氧水杀菌后冰藏牡蛎蛋白质和呈味物质含量变化, 以新鲜牡蛎肉为研究对象, 采用 4 mg/L 臭氧水作用 2 min 对去壳牡蛎肉进行杀菌处理, 并分析杀菌后 0 °C 冰藏牡蛎肉荧光和红外光谱、粒度、溶解性和浊度、呈味核苷酸及氨基酸的变化。结果表明, 臭氧水杀菌导致牡蛎肉蛋白质发生聚集, 表现为粒径和浊度增大, 活性巯基含量显著下降 ($P < 0.05$), 但改善了冰藏后期牡蛎肉的聚集程度, 牡蛎肌原纤维蛋白二级和三级结构没有显著变化 ($P > 0.05$)。牡蛎呈味核苷酸以 5'-肌苷酸 (IMP) 为主, 臭氧水杀菌增加了牡蛎肉中 IMP 含量 ($P < 0.05$), 降低了 5'-鸟苷酸 (GMP) 含量 ($P < 0.05$), 贮藏后期的各组牡蛎肉呈味核苷酸含量显著降低 ($P < 0.05$)。在牡蛎肉中共检测到 6 种呈味氨基酸, 占氨基酸总量的 33.48%, 经臭氧水杀菌处理后, 呈味氨基酸比例下降到 30.18%。综上所述, 臭氧水杀菌后, 冰温贮藏牡蛎肉蛋白结构没有显著变化, 提高了冰藏后期蛋白质稳定性, 但降低了呈味物质的含量。研究结果为臭氧水在水产保鲜中的应用提供了参考。

关键词: 臭氧水杀菌; 牡蛎; 肌原纤维蛋白; 呈味核苷酸

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.2.1785

Changes in the Structure, Properties, and Flavor Substances Content of Myofibrillar Proteins in Frozen Oysters After Ozonated Water Sterilization

SUN Xiejun, ZHENG Kailong, LI Xiuxia*

(College of Food Science and Technology, National & Local Joint Engineering Research Center of Storage, Processing of Fresh Agricultural Products and Safety Control Technology, Bohai University, Jinzhou 121013, China)

Abstract: In order to investigate the changes of ozone water sterilization treatment on the protein and flavor substance content of oysters, fresh oyster meat was used as the object, and the shelled oyster meat was treated with 4 mg/L ozonated water for 2 min, the changes in fluorescence spectrum, infrared spectrum, particle size, solubility, turbidity, flavor nucleotides and amino acid composition of oyster meat after sterilization were analyzed during storage at 0 °C. Ozone-water sterilization results in protein aggregation in oyster meat, which showed an increase in particle size and turbidity, the content of active sulfhydryl in oysters was decreased ($P < 0.05$), the aggregation degree of oyster flesh protein after freezing storage was improved, and there were no significant changes in the secondary and tertiary structure of the oyster myofibrillar protein ($P > 0.05$). The flavor nucleotides of oysters were mainly 5'-inosine acid (IMP), IMP content was increased after ozone water sterilization ($P < 0.05$), and 5'-guanylic acid (GMP) content was decreased in oyster meat ($P < 0.05$), the flavor nucleotide content of all groups was significantly decreased at the later storage stage ($P < 0.05$), which was lower than that of control group ($P < 0.05$). A total of 6 kinds of flavorful amino acids were detected in oyster meat, accounting for 33.48% of the total amino acids. After sterilization with ozone water, the proportion of flavorful amino acids decreased to 30.18%. There were no significant changes in the structure of myofibrillar protein in frozen oyster meat after sterilization, but the number of flavor substance content was reduced. The results provides a reference for the application of ozone water in aquatic preservation.

收稿日期: 2024-11-29; 修回日期: 2025-02-08; 接受日期: 2025-02-14

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2019YFD0901702); 渤海大学海洋研究院开放课题 (BDHYJY2023001)

作者简介: 孙协军 (1969-), 男, 本科, 高级实验师, 研究方向: 食品加工与保鲜, E-mail: sunxiejun@qymail.bhu.edu.cn

通讯作者: 李秀霞 (1973-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 水产品加工与保鲜, E-mail: lixiuxia@qymail.bhu.edu.cn

Key word: ozone water sterilization; oyster; myofibrillar protein; flavorful nucleotide

2023 年我国养殖贝类总产量达到 16 665.90 万 t, 其中牡蛎是世界上第一大养殖贝类, 养殖量达到 667.71 万 t, 比上年增长 7.61%^[1]。牡蛎因其营养价值高、生长快、容易繁殖等优点, 一直是人们最喜爱的水产品之一。传统的加工方法(盐、醇、加热等)容易改变产品的品质和营养特性^[2]。在蒸煮处理(蒸、烤、煎)后, 长牡蛎的体外消化率和矿物质生物可及性降低^[3]。为了保持贝类水产品的新鲜度和良好品质, 开发适合的非热灭菌方式尤为重要。非热处理技术可以在低温条件下显著灭活食品中的微生物, 以确保食品的安全性, 从而保持其营养和风味^[4]。臭氧消毒作为一种非热灭菌方式, 具有高效、无残留、经济适用等特点, 广泛应用于水消毒、果蔬保鲜, 在食品加工环境杀菌方面具有良好应用效果, 但在水产品杀菌领域的应用还处于初步阶段^[5]。

牡蛎的蛋白质主要分为肌浆蛋白和肌原纤维蛋白(SSP)。其中, SSP 是支持肌肉运动的结构蛋白, 主要由约 50% 的肌球蛋白、20% 的肌动蛋白、5% 的副肌球蛋白和肌钙蛋白等组成^[6]。因此, 研究肌原纤维蛋白结构和性质对分析牡蛎品质变化具有重要意义。牡蛎美味可口, 深受消费者喜爱, 这与其富含谷氨酸、天冬氨酸、丙氨酸、甘氨酸等风味氨基酸有关。牡蛎贮藏过程中肌原纤维蛋白会发生降解, 其中, 肌球蛋白重链降解最为明显, 这与牡蛎品质劣化密切相关^[7]。超高压处理可降低牡蛎蛋白质粒径, 从而降低其聚集程度, 降低表观粘度^[8], 而蛋白质聚集状态影响蛋白质的功能^[9]。而在超高压(UHV)处理对牡蛎生化组成和非挥发性风味物质影响研究中发现, 氨基酸、呈味核苷酸和无机盐为主的组合更能有效地反映生蚝的非挥发性风味特征^[10]。

臭氧水杀菌处理可有效提高水产品的新鲜度^[11], 但对其蛋白质结构、性质及呈味物质的影响尚不完全清楚, 限制了臭氧水在水产品加工贮藏中的应用。本文在前期优化出的杀菌条件(4 mg/L 臭氧水作用 2 min)处理牡蛎肉^[12], 探究臭氧水杀菌对牡蛎肉冰温贮藏期间肌原蛋白质结构和呈味物质含量的影响, 为臭氧水在生食水产品杀菌中的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

实验用长牡蛎: 购自辽宁省锦州市林西路水产批发市场, 低温运至实验室, 规格: 长 80~120 mm, 宽: 30~50 mm。

新鲜牡蛎去壳后用流水冲洗以去除牡蛎肉表面的杂质, 分成两组, 一组为对照组, 另一组浸泡在 4 mg/L 的臭氧水中 2 min。然后, 将各组牡蛎在 0 °C 下冰温贮藏, 并在贮藏 0、2、4、6、8、10、12、14 d 时取样检测各项指标, 测定三次取平均值, 以未浸泡臭氧水组为对照组。

OZ-004 风冷型臭氧发生器, 青岛中科三氧净化公司; Mini Protean 3 凝胶电泳仪, 美国 Bio-Rad 公司; Free Zone 2.5 真空冷冻干燥机, 美国 Labconco 公司; Nano-ZS90 激光粒度分析仪, 英国马尔文公司; Scimitar 2000 傅里叶变换红外光谱仪, 美国 Agilent 公司; Cary Eclipse 荧光分光光度计, 美国帕洛阿尔托瓦里安公司。

1.2 实验方法

1.2.1 肌原纤维蛋白提取

取牡蛎闭壳部肌肉搅碎, 加入 5 倍体积的 10 mmol/L 磷酸盐缓冲溶液(pH 值 7.2), 高速均质 3 次, 每次 30 s, 牡蛎在 8 000 g、4 °C 下离心 20 min, 收集沉淀。上述程序重复三次。最后沉淀加入 5 倍体积的 10 mmol 磷酸盐缓冲液(含 0.6 mol/L NaCl, pH 值 7.2), 高速匀浆, 在 6 000 g、4 °C 下离心 15 min, 上清液保存于 4 °C 冰箱备用^[13]。

1.2.2 肌原纤维蛋白结构和性质分析

1.2.2.1 荧光光谱检测

将牡蛎肌原纤维蛋白溶液稀释至 0.5 mg/mL, 荧光分光光度计测试条件: EX/EM 缝宽为 2.5 nm; 激发波长为 280 nm; 发射范围为 320 nm 到 460 nm。

1.2.2.2 傅立叶红外光谱检测

用真空冷冻干燥机将提取的肌原纤维蛋白溶液冻干, 将其与溴化钾(1:100)混合研磨成均一粉末, 压片后固定于样品架上, 采用傅立叶红外光谱在波长范围为 4 500~400 cm⁻¹ 扫描, 分辨率为 2 cm⁻¹, 扫描次数为 12。

1.2.2.3 活性巯基的测定

采用 DTNB 法进行测定^[14]。活性巯基含量采用公式计算:

$$X = \frac{A \times D}{\zeta \times C} \times 100000 \quad (2)$$

式中:

X——巯基(-SH)含量, mol/g;

A——吸光度;

D——稀释倍数;

ζ ——巯基摩尔吸光系数, 其值 13 600 L/(mol cm);

C——肌原纤维蛋白的含量, mg/mL。

1.2.2.4 粒径的测定

将牡蛎肌原纤维蛋白溶液稀释至 0.5 mg/mL, 采用粒度分析仪测定, 测定温度 25 °C, 平衡 2 min, 每组测定 5 次取平均值。

1.2.2.5 溶解度和浊度的测定

将牡蛎肌原纤维蛋白溶液稀释至 2 mg/mL, 取 5 mL, 在 10 000 g 和 4 °C 条件下离心 10 min, 取上清液 1 mL, 加入 4 mL 双缩脲试剂, 静置 30 min, 540 nm 测定吸光度。按以下公式计算溶解度:

$$S = \frac{C_1}{C_2} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

S——溶解度, %;

C_1 ——上清液蛋白质浓度, mg/mL;

C_0 ——离心前的蛋白质浓度, mg/mL。

将上述离心后的上清液稀释至 1 mg/mL, 在 350 nm 下用分光光度计测牡蛎肌原纤维蛋白的浊度。

1.2.3 风味和滋味分析

1.2.3.1 游离呈味核苷酸分析

参照李学鹏等^[15]的方法略有修改, 准确称取牡蛎肉 0.5 g 样品, 粉碎, 加 25 mL 去离子水, 煮沸, 12 000 g 离心 15 min, 取上清液, 过 0.22 μ m 微孔滤膜, 备用。

HPLC 分析条件: 色谱柱: C_{18} 柱; 流动相: A 为 0.05 mol/L KH_2PO_4 , B 为甲醇; 紫外检测波长 254 nm。

1.2.3.2 氨基酸组分析

参照 GB5009.124-2016 《食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定》^[16]方法, 用全自动氨基酸分析仪测定。

1.3 数据分析与处理

采用 OriginPro 9.0 软件绘图, 利用 SPSS 21.0 的单因素方差分析 (ANOVA) 分析数据, 采用 Duncan 多重检验进行显著性分析, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 荧光光谱分析

色氨酸一般存在于蛋白质的内部, 有较高的荧光强度, 可以通过测定其荧光光谱来分析蛋白质分子空间结构是否发生变化。如图 1 所示, 两组肌原纤维蛋白均在 333 nm 左右均出现最大荧光强度, 处理组的荧光强度在贮藏初期低于对照组, 这是由于臭氧氧化导致蛋白质结构被破坏, 构象发生改变, 色氨酸和其他疏水性氨基不再处于蛋白质中心, 导致荧光强度下降^[17]。而随着冰藏时间的增加, 各组荧光强度整体呈先下降再上升, 贮藏后期下降的趋势, 出现这种现象的原因可能是在贮藏初期, 蛋白质发生氧化变性, 部分色氨酸残基荧光猝灭, 荧光强度

下降。但牡蛎肌原纤维蛋白随着贮藏时间的延长产生断裂，导致色氨酸残基暴露，使荧光强度迅速上升，在贮藏后期，由于荧光猝灭加剧而导致荧光强度再次下降^[18]。

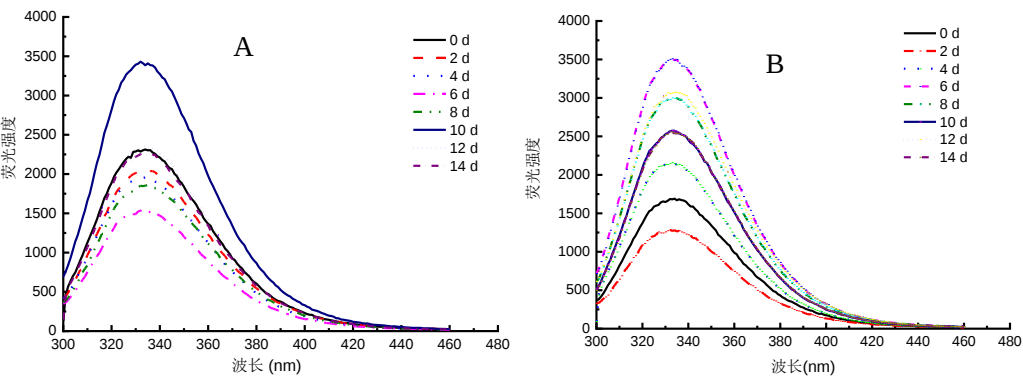


图 1 牡蛎肌原纤维蛋白荧光强度在冰藏期间的变化

Fig.1 Changes in fluorescence intensity of oyster' myofibrillar protein during storage at 0 °C

注：（A）对照组；（B）处理组。

2.2 傅里叶红外光谱分析

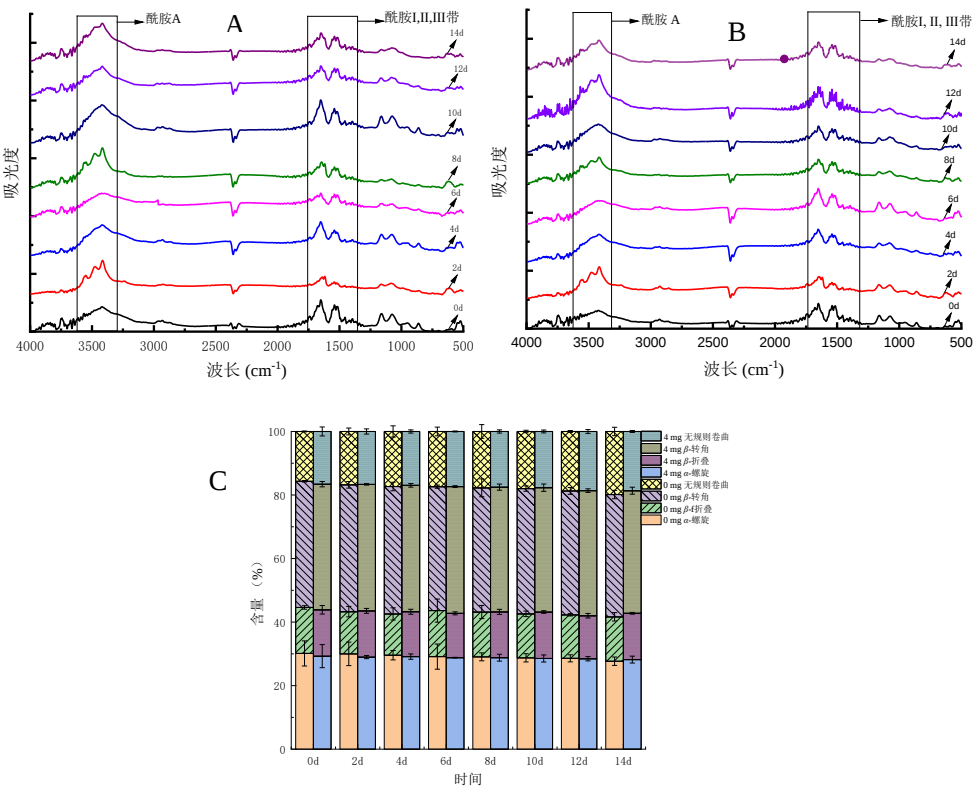


图 2 牡蛎肌原纤维蛋白红外光谱在冰藏期间的变化

Fig.2 Changes of the infrared spectrum of oyster's myofibrillar protein during storage at 0 °C

注：（A）对照组；（B）处理组；（C）二级结构含量变化。

傅里叶红外光谱可以检测到酰胺 A 带（3 300 cm^{-1} 左右）、酰胺 I 带（1 660 cm^{-1} 左右）、酰胺 II 带（1 570 cm^{-1} 左右）和酰胺 III 带（1 300 cm^{-1} 左右），其中酰胺 I 带是研究蛋白质二级结构的重要区域^[19]，能够反映蛋白质二级结构的变化。图 2A、B 为牡蛎在贮藏期间肌原纤维蛋白红外光谱变化，较为明显的峰为酰胺 A 与酰胺 I、II、III 带。

图 2C 中显示了牡蛎肌原纤维蛋白二级结构含量变化，第 0 d 处理组 α -螺旋含量要略低于对照组，但没有显

著差异 ($P>0.05$)。随着贮藏时间的增加,对照组的 α -螺旋含量从 30.16%下降到 27.71%,而处理组 α -螺旋含量从 29.28%下降到 28.21%,说明臭氧水杀菌对牡蛎肌原纤维蛋白二级结构没有显著影响 ($P>0.05$)。 α -螺旋稳定形态主要是由羰基氧和氨基氢之间形成的氢键决定的,贮藏期间氢键的断裂会导致 α -螺旋含量降低^[20]。而 β -折叠与 β -转角在处理组与对照组之间无规律变化,但 4 种二级结构中 β -转角含量最高,表明牡蛎肌原纤维蛋白二级结构以 β -转角为主,这与鱼肉蛋白有所不同。而 β -转角和无规则卷曲反映了蛋白质的松散结构,说明牡蛎蛋白质结构较一般鱼类肌原纤维蛋白更松散。

2.3 活性巯基变化

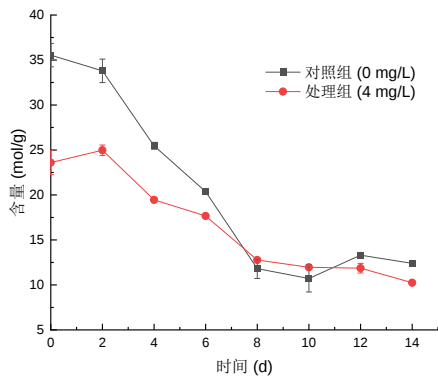


图 3 牡蛎肌原纤维蛋白活性巯基含量在冰藏期间的变化

Fig.3 Changes of the active sulfhydryl content of myofibrillar proteins in oysters during storage at 0 °C

活性巯基可以有效反映蛋白质的氧化程度,活性巯基含量越低,表示蛋白质的氧化程度越高。如图 3 所示,臭氧水杀菌后,牡蛎活性巯基含量从 35.54 mg/L 降为 23.60 mg/L ($P<0.05$),随着冰藏时间的增加,牡蛎肉活性巯基含量逐渐降低,在第 8 d,实验组和对照组之间活性巯基含量没有显著差异 ($P>0.05$)。鱼糜在冻藏过程中,臭氧漂洗对鱼糜活性巯基含量下降的影响也相对较小^[21]。在羟自由基氧化对虾肉活性巯基影响中也发现了类似现象^[22]。总巯基含量的减少可能与臭氧和水反应产生的 OH 等自由基有关,这些自由基导致巯基氧化形成了二硫键^[23]。说明臭氧水杀菌虽然导致牡蛎肉活性巯基减少,但经过冰温贮藏,臭氧水杀菌对牡蛎肉蛋白质氧化的作用逐渐减小,冰藏 12 d 后,臭氧水杀菌组牡蛎蛋白质氧化程度更低 ($P<0.05$)。

2.4 粒径变化

表 1 牡蛎肌原纤维蛋白粒径在冰藏期间的变化

Table 1 Changes of oyster’s myofibrillar particle size value during storage at 0 °C

贮藏时间/d	粒径/nm	
	对照组	处理组
0	371.19±19.58 ^{Fb}	431.15±8.55 ^{Ca}
2	539.27±7.11 ^{Ab}	606.41±2.31 ^{Aa}
4	483.49±9.18 ^{Ba}	407.16±6.47 ^{Db}
6	468.77±14.62 ^{BCa}	359.78±6.02 ^{Eb}
8	437.93±3.43 ^{Da}	357.22±1.87 ^{Eb}
10	364.34±8.01 ^{Fa}	355.77±6.12 ^{Ea}
12	412.88±24.92 ^{Ea}	349.11±9.11 ^{Eb}
14	459.31±4.93 ^{Ca}	432.53±3.93 ^{Bb}

注:大写字母代表组内显著性,小写字母代表组间显著性,显著水平 0.05。

通过粒径分布情况可以反应聚合物分散性程度。如表 1 所示,与对照组的 371.19 nm 相比,处理组牡蛎的肌原纤维蛋白粒径显著增加为 431.15 nm ($P<0.05$),说明臭氧水的氧化性使蛋白质发生聚集,粒径增大。在冰藏第 2 d 对照组和处理组粒径都达到最大 ($P<0.05$),可能是由于蛋白质的结构被打开,蛋白质分子间共价键增加和二

次疏水作用使部分蛋白聚集^[24]。在贮藏第2 d的粒径达到最大值,表明蛋白质聚集程度达到最高,处理组粒径大于对照组($P<0.05$),也表明氧化程度加剧了蛋白质的聚集作用。对照组在2 d至10 d,处理组在2 d至14 d期间,随着冰藏时间的增加,两组蛋白质粒径整体呈现降低趋势,且对照组在此期间平均粒径大于实验组,此时,贮藏时间对粒径的影响大于臭氧水杀菌的影响,也表明臭氧水处理后使蛋白质分布更加均匀,有助于增加冰藏中后期牡蛎蛋白质稳定性。在贮藏后期粒径上升可能是由蛋白酶的进一步分解导致蛋白质被彻底破坏,部分蛋白颗粒内部发生聚集,导致平均粒径上升。综上所述,臭氧水杀菌显著增加了冰藏2 d内牡蛎蛋白质粒径,但降低了冰藏2~14 d粒径,提高了冰藏中后期牡蛎蛋白质的稳定性。

2.5 溶解度变化

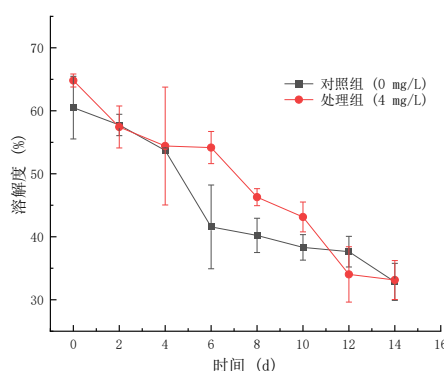


图4 牡蛎肌原纤维蛋白溶解度在冰藏期间的变化

Fig.4 Changes of myofibrillar protein solubility in oysters during storage at 0 °C

蛋白质的溶解度首先反应的是蛋白质与水的相互作用,其次是评价蛋白质变性程度和肌肉品质的重要指标^[25]。如图4所示,在第0 d处理组蛋白质溶解度为64.8%,高于对照组的60.5% ($P<0.05$),表明适当的臭氧氧化作用有助于蛋白质结构展开,内部的亲水性氨基酸能更多的接触水分子^[26]。另外,当分子间的静电排斥作用大于疏水相互作用时,溶解度增加^[27]。因此,适当的臭氧氧化可以提高牡蛎肌原纤维蛋白的溶解度。随着贮藏时间的增加,肌原纤维蛋白进一步氧化导致其结构逐渐变得松散,蛋白质内部疏水基团暴露,蛋白质与水之间的相互作用力变小,溶解度降低^[28]。综上所述,牡蛎蛋白质溶解度随着冰藏时间增加逐渐降低,臭氧水处理有改善冰藏牡蛎肉蛋白质变性的趋势。

2.6 浊度变化

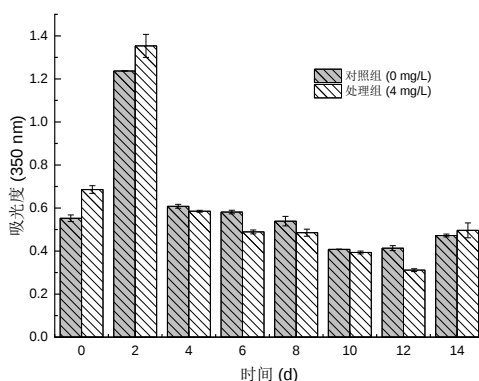


图5 牡蛎肌原纤维蛋白浊度在冰藏期间的变化

Fig.5 Changes of myofibrillar protein turbidity in oysters during storage at 0 °C

蛋白质浊度的变化可以反应蛋白质的聚集程度,蛋白质分子之间的聚集还会阻碍一些活性基团与蛋白质的结合作用,对蛋白质功能特性产生一定的影响。冰温贮藏牡蛎肌原纤维蛋白浊度的变化如图5所示,在贮藏0 d至2 d浊度上升趋势明显,且处理组浊度高于对照组($P<0.05$),是因为臭氧水氧化作用导致肌原纤维蛋白氧化变性,

分子间疏水作用力变大,导致肌原纤维蛋白溶解度降低,光透过时发生散射,从而浊度上升^[29]。各组肌原纤维蛋白浊度在 2 d 后显著降低 ($P<0.05$),表明蛋白质聚集达到一定量后发生沉降,使澄清度增加,溶液浊度减少。此结果与本实验中牡蛎肉肌原纤维蛋白粒度测定结果的变化趋势一致。有研究发现调味鱼在贮藏过程中肌原纤维蛋白浊度趋势也呈现先上升后下降的趋势^[30]。

2.7 呈味核苷酸变化

水产品中鲜味核苷酸主要为 5'-肌苷酸 (IMP) 和 5'-腺苷酸 (AMP) ^[31]。牡蛎的独特鲜味与呈味核苷酸种类和含量息息相关,表 2 为冰温贮藏第 0 d 与第 14 d 处理组和对照组牡蛎肉 3 种呈味核苷酸的含量变化,从表 2 可知,3 种核苷酸中 IMP 含量最高,为 41.56 mg/100 g,而 IMP 作为一种芳香族化合物,可赋予肉鲜味,在新鲜肉中累积,从而为美拉德反应提供核糖,是重要的风味前体物质和风味增强剂,因此牡蛎的特有鲜味主要由 IMP 提供。臭氧水杀菌后,IMP 含量增加到 42.92 mg/100 g ($P<0.05$),AMP 的含量从 0.81 mg/100 g 增加到 0.89 mg/100 g ($P>0.05$),GMP 含量从 4.15 mg/100 g 降到了 3.88 mg/100 g ($P<0.05$),这与贝类代谢途径有关,贝类死后能量先以 AMP 的形式蓄积,然后再经脱磷酸生成腺嘌呤核苷后分解为肌苷和次黄嘌呤,由于 IMP 是三磷酸腺苷 ATP 的降解产物,说明臭氧水杀菌处理导致 ATP 降解,IMP 含量增加。冰温贮藏致牡蛎肉 3 种呈味核苷酸含量显著降低 ($P<0.05$),其中,对照组牡蛎肉 IMP、AMP 和 ATP 含量分别降低了 99.4%、77.6%和 13.6%,臭氧杀菌组牡蛎肉 IMP、AMP 和 ATP 含量分别降低了 99.5%、77.8%和 46.1%,处理组 3 种呈味核苷酸含量在冰藏第 14 d 均比对照组低 ($P<0.05$),冰温贮藏对牡蛎肉 3 种呈味核苷酸含量的降低作用远大于臭氧水杀菌作用。

表 2 臭氧水杀菌后牡蛎游离呈味核苷酸含量的变化 (mg/100 g)

Table 2 Changes of the free taste-tasting nucleotide content of oysters after ozone water sterilization (mg/100 g)

组别		IMP/(mg/100 g)	GMP/(mg/100 g)	AMP/(mg/100 g)
0 d	0 mg/L	41.56 ±0.34 ^{Ab}	4.15 ±0.13 ^{Aa}	0.81 ±0.08 ^{Aa}
	4 mg/L	42.92 ±0.27 ^{Aa}	3.88 ±0.09 ^{Ab}	0.89 ±0.04 ^{Aa}
14 d	0 mg/L	0.26 ±0.04 ^{Ba}	0.93 ±0.05 ^{Ba}	0.70 ±0.03 ^{Ba}
	4 mg/L	0.22 ±0.03 ^{Bb}	0.86 ±0.01 ^{Bb}	0.48 ±0.15 ^{Bb}

注: 不同大写字母代表组内显著性, 不同小写字母代表组间显著性, 显著水平 0.05。

2.8 氨基酸含量变化

呈味氨基酸可以增加牡蛎的风味,掩盖不良气味,起到协调风味的作用。在非挥发性风味中,丙氨酸、甘氨酸、苏氨酸、丝氨酸、脯氨酸呈现甜味,而异亮氨酸、亮氨酸和组氨酸呈现苦味,天冬氨酸、谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸呈现鲜味^[32]。臭氧水杀菌对牡蛎氨基酸含量影响如表 3 所示,牡蛎肉中检测到 17 种氨基酸,在第 0 d,与对照组相比,处理组各种氨基酸含量均降低。贮藏第 14 d,处理组牡蛎的氨基酸含量有所增加,但仍低于对照组。在牡蛎肉中共检测到 6 种呈味氨基酸,总量为 3.8‰,占氨基酸总量的 33.48%,经臭氧水杀菌处理后,呈味氨基酸比例下降到 30.18%,这是由于臭氧的氧化作用,含量较高的游离氨基酸被氧化而减少^[33],从而导致呈味氨基酸比例也发生变化。经 14 d 冰温贮藏后,处理组和对照组呈味氨基酸比例分别降为 25.98%和 27.41%。冰温贮藏和臭氧水杀菌处理均降低了牡蛎肉氨基酸总量和呈味氨基酸含量,对牡蛎肉氨基酸含量的降低作用远大于臭氧水杀菌作用。

表 3 臭氧水杀菌后牡蛎氨基酸含量的变化 (‰)

Table 3 Changes of amino acid content of oysters after ozonated water sterilization (‰)

氨基酸种类	0 d		14 d	
	0 mg/L	4 mg/L	0 mg/L	4 mg/L
天冬氨酸 (Asp) #	0.38	0.07	0.20	0.12
谷氨酸 (Glu) #	1.15	0.52	0.10	0.08
组氨酸 (His) **	0.18	0.09	0.18	0.12
丝氨酸 (Ser)	0.59	0.20	0.51	0.38
精氨酸 (Arg) **	0.74	0.37	0.48	0.49

甘氨酸 (Gly) #	0.70	0.65	0.71	0.70
苏氨酸 (Thr) *	0.40	0.20	0.53	0.43
脯氨酸 (Pro)	0.68	0.22	0.75	0.56
丙氨酸 (Ala) #	1.15	0.61	1.36	1.15
缬氨酸 (Val) *	0.25	0.06	0.50	0.36
甲硫氨酸 (Met) *	0.04	0.02	0.12	0.10
胱氨酸 (Cys)	2.75	2.30	3.07	3.38
异亮氨酸 (Ile) *	0.21	0.04	0.42	0.29
亮氨酸 (Leu) *	0.41	0.10	0.73	0.49
苯丙氨酸 (Phe) #*	0.21	0.04	0.42	0.29
赖氨酸 (Lys) *	1.30	1.05	1.00	0.95
酪氨酸 (Tyr) #	0.21	0.12	0.34	0.31
呈味氨基酸	3.80	2.01	3.13	2.65
氨基酸总量 (TAA)	11.35	6.66	11.42	10.20
呈味氨基酸/TAA (%)	33.48	30.18	27.41	25.98

注: *为必须氨基酸, **为半必需氨基酸, #为呈味氨基酸。

3 结论

分析了臭氧水杀菌后, 冰温贮藏牡蛎肉肌原纤维蛋白结构性质、呈味核苷酸和呈味氨基酸含量的变化, 研究发现, 牡蛎肌原纤维蛋白的活性巯基含量与溶解度在贮藏期间逐渐降低, 在贮藏后期, 臭氧水杀菌组好于对照组; 臭氧水杀菌导致牡蛎肌原纤维蛋白浊度和粒径在贮藏期间出现短暂上升, 而后期杀菌组粒径低于对照组; 综上所述可知, 臭氧水杀菌对牡蛎肉蛋白质的氧化作用随着冰藏时间的增加而降低, 臭氧水杀菌对冰温贮藏牡蛎肌原纤维蛋白的二级和三级结构影响较小。臭氧水杀菌延缓了 0 ℃冰藏后期牡蛎肌原纤维蛋白质降解, 有利于维持贮藏期间牡蛎蛋白质稳定性。牡蛎肉呈味核苷酸含量随冰藏时间增加显著降低, 呈味氨基酸含量也呈降低趋势, 臭氧水杀菌降低了牡蛎肉氨基酸总量和呈味氨基酸含量。

参考文献

- [1] 农业部渔业渔政管理局. 2024 年中国渔业统计年鉴[R]. 北京: 中国农业出版社, 2024, 17, 23.
- [2] SRIKET C. Proteases in fish and shellfish: Role on muscle softening and prevention [J]. International Food Research Journal, 2014, 21(2): 433-445.
- [3] JIANG S, FENG X, ZHANG F, et al. Effects of cooking methods on the Maillard reaction products, digestibility, and mineral bioaccessibility of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) [J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 141: 110943.
- [4] ODUNAYO O O, AHMAD S K, SOOTTAWAT B. Pros and cons of cold plasma technology as an alternative non-thermal processing technology in seafood industry [J]. Trends in Food Science and Technology, 2021, 111: 409-422.
- [5] AFSAH L, HAJEB P, EHSANI R J. Application of ozone for degradation of mycotoxins in food: a review [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2020, 19(4): 105-264.
- [6] WAN L, RAN D, JORAM M J, et al. The spatial distribution patterns, physicochemical properties, and structural characterization of proteins in oysters (*Crassostrea hongkongensis*) [J]. Foods, 2022, 11(18): 2820.
- [7] 欧韦, 杨汝晴, 张凌晶, 等. 太平洋牡蛎冷藏过程中闭壳肌品质的变化[J]. 食品科学, 2023, 44(5): 179-186.
- [8] WU F, SHI X, ZOU H, et al. Effects of high-pressure homogenization on physicochemical, rheological and emulsifying properties of myofibrillar protein [J]. Journal of Food Engineering, 2019, 263: 272-279.
- [9] LIU Z F, GUO Z X, WU D, et al. High-pressure homogenization influences the functional properties of protein from oyster (*Crassostrea gigas*) [J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 151: 112107.
- [10] LIU C, JI W, JIANG H, et al. Comparison of biochemical composition and non-volatile taste active compounds in raw, high hydrostatic pressure-treated and steamed oysters *Crassostrea hongkongensis* [J]. Food Chemistry, 2021, 344: 128632.

- [11] CROWE K M, SKONBERG D, BUSHWAY A, et al. Application of ozone sprays as a strategy to improve the microbial safety and quality of salmon fillets [J]. *Food Control*, 2012, 25(2): 464-468.
- [12] 李秀霞,郑凯洸,张德福,等.臭氧水杀菌对冰温贮藏牡蛎新鲜度和品质的影响[J].*中国食品学报*,2024,24(6):308-318.
- [13] TAN Y, GAO H, CHANG S K C, et al. Comparative studies on the yield and characteristics of myofibrillar proteins from catfish heads and frames extracted by two methods for making surimi-like protein gel products [J]. *Food Chemistry*, 2019, 272: 133-140.
- [14] CHEN Y, SHENG L, GOUDA M, et al. Impact of ultrasound treatment on the foaming and physicochemical properties of egg white during cold storage [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2019, 113: 108303.
- [15] 李学鹏,刘晏玮,谢晓霞,等.热预处理对蓝蛤酶解及酶解液呈味特性的影响[J].*食品科学*,2020,41(2):133-140.
- [16] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会国家食品药品监督管理总局,GB 5009.124-2016,食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定[S].北京:中国标准出版社,2016.
- [17] LI F F, WANG B, LIU Q, et al. Changes in myofibrillar protein gel quality of porcine longissimus muscle induced by its structural modification under different thawing methods [J]. *Meat Science*, 2019, 147: 108-115.
- [18] 侯然,赵伟,卢士玲,等.二次杀菌对贮藏期间酱卤羊肚肌原纤维蛋白氧化、特性及结构的影响[J].*食品科学*,2021,42(1):124-131.
- [19] PINILLA C M B, BRANDELLI A, LÓPEZ-CABALLERO M E, et al. Structural features of myofibrillar fish protein interacting with phosphatidylcholine liposomes [J]. *Food Research International*, 2020, 137: 109687.
- [20] LI K, FU L, ZHAO Y Y, et al. Use of high-intensity ultrasound to improve emulsifying properties of chicken myofibrillar protein and enhance the rheological properties and stability of the emulsion [J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 98: 105275.
- [21] 郑文栋,楼倚洋,安玥琦,等.臭氧漂洗及冷冻贮藏对鲢鱼糜蛋白氧化和风味的影响[J].*华中农业大学学报*,2023,42(1):154-162.
- [22] 董凯璇,张思宇,李敏杰,等.羟自由基氧化对中华管鞭虾肌肉功能特性的影响[J].*食品安全质量检测学报*,2022,13(23):7605-7612.
- [23] 李文协,李学鹏,刘慈坤,等.臭氧水漂洗对鲢鱼鱼糜品质及肌原纤维蛋白氧化的影响[J].*食品工业科技*,2020,41(16):7-15.
- [24] PROMEYRAT A, GATELLIER P, LEBRET B, et al. Evaluation of protein aggregation in cooked meat [J]. *Food Chemistry*, 2010, 121(2): 412-417.
- [25] CHEN H, DIAO J, LI Y, et al. The effectiveness of clove extracts in the inhibition of hydroxyl radical oxidation-induced structural and rheological changes in porcine myofibrillar protein [J]. *Meat Science*, 2016, 111: 60-66.
- [26] ADAMS C, MAYER L M, RAWSON P, et al. Detrital protein contributes to oyster nutrition and growth in the damariscotta estuary, Maine, USA [J]. *Aquaculture Environment Interactions*, 2019, 11: 521-536.
- [27] ZHENG Y, LI Z, ZHANG C, et al. Effects of microwave-vacuum pre-treatment with different power levels on the structural and emulsifying properties of lotus seed protein isolates [J]. *Food Chemistry*, 2020, 311: 125932.
- [28] 周扬,陈雪珂,戴宏杰,等.溶液体系中迷迭香酸与肌球蛋白的相互作用及其对蛋白理化特性的影响[J].*食品科学*,2020,41(12):14-21.
- [29] SHIGERU H, SHURYO N. Contribution of hydrophobicity, net charge and sulfhydryl groups to thermal properties of ovalbumin [J]. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 2021, 18(4): 290-295.
- [30] 常娅妮,马俪珍,杨梅,等.不同冷冻方式对调味鱼贮藏期间肌原纤维蛋白的影响[J].*肉类研究*,2019,33(10):63-68.
- [31] HARADA-PADERMO S D S, DIAS-FACETO L S, SELANI M M, et al. Umami Ingredient: Flavor enhancer from shiitake (*Lentinula edodes*) byproducts [J]. *Food Research International*, 2020, 137: 109540.
- [32] 蔡广来,王金庆,童年.贮藏温度对草鱼片冰温保鲜的影响[J].*安徽农业大学学报*,2020,47(3):380-385.
- [33] 郑文栋,楼倚洋,安玥琦,等.臭氧漂洗及冷冻贮藏对鲢鱼糜蛋白氧化和风味的影响[J].*华中农业大学学报*[J].2023,42(1):154-162.