

# 亚油酸介导氧化的金鲳鱼肌原纤维蛋白 结构和凝胶特性变化

陈冠怡<sup>1</sup>, 许陈彩<sup>1</sup>, 李佳玲<sup>1</sup>, 李鑫<sup>1</sup>, 张伟坚<sup>1</sup>, 陈春蓓<sup>1</sup>, 王泽富<sup>1\*</sup>, 刘书成<sup>1,2</sup>

(1. 广东海洋大学食品科技学院, 广东湛江 524088)

(2. 大连工业大学海鲜深加工协同创新中心, 辽宁大连 116034)

**摘要:** 该研究通过构建亚油酸介导金鲳鱼肌肉氧化体系, 探究了不同浓度的亚油酸 (0、10、20、50 mmol/L) 介导氧化对金鲳鱼肌原纤维蛋白凝胶强度、凝胶保水性和凝胶水分分布的影响。结果表明: 亚油酸浓度为 10 mmol/L 时氧化对凝胶特性的影响最明显, 离心损失和蒸煮损失达到最小, 分别为 5.39% 和 5.94%。凝胶强度达到最大值, 为 333.24 g。随着亚油酸浓度的增加, 肌原纤维蛋白羧基含量从 2.86 nmol/mg 上升至 6.65 nmol/mg, 总巯基含量从 63.58 nmol/mg 下降为 58.69 nmol/mg, 从分子量变化可以发现, 随着蛋白质氧化程度的增加, 表面疏水性和内源荧光强度呈现先上升后降低的趋势, 这表明适度的亚油酸氧化 ( $\leq 10$  mmol/L) 可以引起蛋白质分子适度展开, 形成质构特性好、保水性高的凝胶产品; 而过高的亚油酸氧化 ( $>10$  mmol/L) 则引起蛋白质过度氧化, 导致蛋白质分子交联、聚集, 从而降低蛋白质凝胶质构特性。该研究阐明亚油酸氧化对金鲳鱼后期加工特性影响, 促进金鲳鱼产业发展。

**关键词:** 亚油酸; 金鲳鱼; 肌原纤维蛋白; 凝胶特性

文章编号: 1673-9078(2024)09-248-256

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.9.0964

## Changes in the Structure and Gel Properties of Golden Pomfret Myofibrillar Protein Induced by Linoleic Acid-mediated Oxidation

CHEN Guanyi<sup>1</sup>, XU Chencai<sup>1</sup>, LI Jialing<sup>1</sup>, LI Xin<sup>1</sup>, ZHANG Weijian<sup>1</sup>, CHEN Chunbei<sup>1</sup>,  
WANG Zefu<sup>1\*</sup>, LIU Shucheng<sup>1,2</sup>

(1. College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

(2. Collaborative Innovation Center for Seafood Deep Processing, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China)

**Abstract:** In this study, the effects of different concentrations of linoleic acid (0, 10, 20, and 50 mmol/L) for mediating oxidation on the gel strength, gel water retention, and gel water distribution of golden pompano myofibrillar protein through constructing a linoleic acid-mediated golden pompano fish flesh oxidation system. The results showed that the effect of oxidation on the gel properties was most obvious at a linoleic acid concentration of 10 mmol/L, with the centrifugal loss and cooking loss reaching the smallest (5.39% and 5.94%, respectively), while the gel strength reaching the maximum value

引文格式:

陈冠怡, 许陈彩, 李佳玲, 等. 亚油酸介导氧化的金鲳鱼肌原纤维蛋白结构和凝胶特性变化[J]. 现代食品科技, 2024, 40(9): 248-256.

CHEN Guanyi, XU Chencai, LI Jialing, et al. Changes in the structure and gel properties of golden pomfret myofibrillar protein induced by linoleic acid-mediated oxidation [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(9): 248-256.

收稿日期: 2023-08-15

基金项目: 农业农村部水产品加工重点实验室开放基金 (NYJG202203); 广东海洋大学博士科研启动费资助项目 (060302042108)

作者简介: 陈冠怡 (1998-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 海洋食品加工新技术, E-mail: 1752451897@qq.com

通讯作者: 王泽富 (1989-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 海洋食品加工新技术, E-mail: wangzefugdou@163.com

(333.24 g). With the increase of linoleic acid concentration, the carbonyl content of myofibrillar protein increased from 2.86 nmol/mg to 6.65 nmol/mg, and the total sulfhydryl group content decreased from 63.58 nmol/mg to 58.69 nmol/mg. The molecular weight change revealed that with the increase of the degree of protein oxidation, the surface hydrophobicity and intrinsic fluorescence intensity showed a tendency of initial increase then decrease, indicating that moderate linoleic acid oxidation ( $\leq 10$  mmol/L) could cause protein molecules to unfold moderately, forming a gel product with good textural properties and high water retention; whilst excessive linoleic acid oxidation ( $>10$  mmol/L) caused excessive oxidation of proteins, leading to cross-linking of protein molecules and aggregation of protein molecules, thereby declining the textural properties of protein gels. This study elucidates the effects of linoleic acid oxidation on the post-processing characteristics of golden pomfret and promote the development of the golden pomfret industry.

**Key words:** linoleic acid; golden pomfret; myofibrillar protein; gel characteristics

金鲳鱼 (*Trachinotus ovatus*), 学名卵形鲳鲹, 俗名黄腊鲳或金鲳, 是我国南方主要海产经济鱼类之一, 据中国渔业年鉴统计, 2022 年金鲳鱼总产量约 24 万 t<sup>[1]</sup>。金鲳鱼蛋白和脂肪的含量分别为 19.65% 和 10.38% (以鲜重计), 不饱和脂肪酸占脂肪酸总量的 64%, 其中亚油酸含量约占 14.2%, 加之金鲳鱼肉细嫩、鲜美可口, 受到消费者追捧。鱼糜凝胶制品是无刺产品的代表, 市场需求逐年增加。消费者追求高品质鱼糜产品, 这就要求鱼凝胶化制品不仅保证产品的质量安全, 更重要的有良好的口感品质<sup>[2]</sup>。

一般来说, 为了抑制微生物腐败, 水产鱼类采用整条或者简单分割、采肉后进行冷冻贮藏。后续凝胶产品品质会受到极大的影响, 这与肌原纤维蛋白质凝胶特性密切相关<sup>[3]</sup>。金鲳鱼富含亚油酸, 在冷冻贮藏期间, 亚油酸持续氧化, 脂质氧化过程中易生成自由基,  $\alpha$ -、 $\beta$ - 不饱和醛等产物<sup>[4]</sup>。这些氧化产物会攻击肌肉蛋白质并导致氧化修饰, 从而引起蛋白质结构和功能发生变化, 对金鲳鱼后续加工凝胶产品品质产生不利的影响。

目前, 许多研究者采用单一氧化产物 (丙二醛、过氧自由基、丙烯醛) 介导鱼肉氧化体系, 模拟脂质氧化对肌原纤维蛋白凝胶特性的影响<sup>[5]</sup>; 此外, 还有研究者利用提取的蛋白质构建模拟氧化体系<sup>[6]</sup>。然而, 在鱼肉这一复杂的体系中, 氧化反应可能受到多种因素影响。这种利用单一氧化产物或提取肌原纤维蛋白构建介导氧化体系, 不能够真实模拟在贮藏期间鱼肉中脂质氧化介导蛋白质氧化的情况, 也就无法为后续凝胶产品加工提供合理的建议。

为了了解亚油酸介导金鲳鱼氧化, 对其后期加工凝胶制品的影响, 本研究拟构建亚油酸介导金鲳

鱼鱼肉氧化体系, 然后从不同氧化处理的鱼肉中提取肌原纤维蛋白, 并制备凝胶; 通过测定凝胶的结构、保水性、水分分布明确亚油酸介导金鲳鱼氧化对其凝胶制品的影响, 阐明亚油酸氧化对金鲳鱼后期加工特性影响, 促进金鲳鱼深加工发展。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

金鲳鱼 [30 条, (500 $\pm$ 30) g], 从湛江市麻章区湖光水产品市场购买, 选用鲜活、无病、个体大、活力高的金鲳鱼。亚油酸 (BR, GC, 95%), 购自上海凇恩科技发展有限公司; 脂肪氧化酶 (BR, 50 000 U/mg, CAS NO. 9029-60-1), 购自上海源叶生物科技有限公司; 其他化学试剂均为分析级试剂。

### 1.2 仪器与设备

SIGMA3-30KS 台式高速冷冻离心机, 德国 SIGMA 公司; NMI20-060H-1 核磁共振成像分析仪, 苏州纽迈公司; CR-20 手持色差仪, 柯尼卡美能达公司; F-7000 荧光分光光度计, 日本公司; UV-2550 紫外可见分光光度计; TA.XT pulsC 型质构仪。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 亚油酸氧化金鲳鱼鱼肉

参考王旭敏等<sup>[7]</sup>的方法构建亚油酸氧化金鲳鱼鱼肉的氧化体系, 将金鲳鱼背部分别分割成 2 $\times$ 2 $\times$ 1 cm<sup>3</sup> 的鱼块, 然后置于模拟的亚油酸氧化体系中。氧化体系的亚油酸浓度分别为 0、10、20、50 mmol/L, 脂肪氧化酶浓度为 3 000 unit/mL, 缓冲溶液为含 0.6 mol/L NaCl、pH 值为 7.0 的 20 mmol/L 磷酸盐缓冲液。在 25  $^{\circ}$ C 黑暗中反应 12 h 后, 通过

添加质量分数为1%的二叔丁基对甲酚终止反应,取出鱼块,用磷酸盐缓冲溶液(PBS)洗脱,重复三次,所得到的鱼块用于检测分析。

### 1.3.2 金鲳鱼肌原纤维蛋白的制备

参考周猛等<sup>[8]</sup>的方法并稍作调整,将制备好的金鲳鱼肌肉块与4倍体积的PBS溶液于均质机中混合均匀,在4℃、10 000 r/min的离心条件下进行离心15 min,去除上清液并在沉淀中加入预冷的PBS溶液中。再次进行相同的离心过程,最后将沉淀加入预冷的PBS溶液中,在破壁机中混合均匀。将搅拌后的溶液通过4层纱布过滤,去除滤液,离心,所得沉淀即为金鲳鱼肌原纤维蛋白。

### 1.3.3 金鲳鱼肌原纤维蛋白凝胶的制备

参考罗程等<sup>[9]</sup>的方法并稍作调整,将制得的金鲳鱼肌原纤维蛋白用PBS溶液调至80 mg/mL,从室温水浴加热至80℃,保持1 h,取出后迅速冷却至4℃,而后放置在4℃冰箱中静置12 h,所制得凝胶即为金鲳鱼肌原纤维蛋白凝胶。

### 1.3.4 蛋白凝胶感官的测定

表1 金鲳鱼肌原纤维蛋白凝胶的感官评价标准

项目	评分标准与分值
凝固程度	结构紧实,不松散;8~10分 结构较紧实,略微松散;5~7分 结构较为松散;3~4分 基本不凝固;0~2分
色泽	色泽白,有光泽度;8~10分 色泽偏黄,有光泽度;5~7分 色泽偏淡,无光泽度;3~4分 色泽暗淡,无光泽度;0~2分
弹性	轻压不破裂,放手复原,弹跳不破裂;8~10分 轻压不破裂,放手复2/3,弹跳不破裂;5~7分 轻力压不破裂,放手复原1/2,弹跳不破裂;3~4分 轻力压即破裂,放手不能恢复到原状,不能弹跳;0~2分
切面结构	切面密实,无大气孔,又许多微小且均匀的小气孔;8~10分 切面基本密实,无大气孔,有少量的小气孔;5~7分 切面较松软,有少量不均匀小气孔;3~4分 色泽暗淡;切面呈浆状,松软不密实;0~2分
气味	有鱼肉特有的香味,味足;8~10分 有鱼肉特有的香味,味偏淡;5~7分 有鱼肉特有的香味,稍带鱼腥味;3~4分 无鱼肉特有的香味,有异味;0~2分

依据 GB/T 16291.1-2012《感官分析选拔、培训与管理评价员一般导则》。小组成员应具备一定的感官能力,并接受适当的选拔、培训与管理,以确保评价结果的准确性和可靠性。主要评价指标为色

泽、弹性、硬度、切面结构、气味、凝固程度,按表1进行感官评价。

### 1.3.5 蛋白凝胶色泽的测定

参考罗程等<sup>[9]</sup>的方法,利用手持色差计进行检测,首先将色差计校正,然后在样品表面随机选五个位点进行L\*值、a\*值和b\*值的检测。以每个位点的平均值来表示待测肉样的色泽。总的色差值(W)计算公式如下:

$$W=100-\sqrt{(100-\Delta L^*)^2+(\Delta a^*)^2+(\Delta b^*)^2} \quad (1)$$

式中:

W——白度值;

L\*——亮度值;

a\*——红度值(正、负值分别表示偏红、偏绿);

b\*——黄度值(正、负值分别表示偏黄、偏蓝)。

### 1.3.6 蛋白凝胶离心损失的测定

参考罗程等<sup>[9]</sup>的方法,将各组样品切成3 g左右薄片,质量记为W<sub>1</sub>,用滤纸包裹,放入50 mL离心管中,4℃条件下5 000 r/min离心15 min后立即取出样品,准确称重W<sub>2</sub>。样品测定均重复3次。离心损失(D)计算公式如下:

$$D=\frac{W_1-W_2}{W_1} \quad (2)$$

式中:

D——离心损失率, %

W<sub>1</sub>——离心前样品重量, g;

W<sub>2</sub>——离心后样品重量, g。

### 1.3.7 蛋白凝胶蒸煮损失的测定

参考曹云刚等<sup>[10]</sup>的方法,将各组组样切成3 g左右薄片,质量记为W<sub>3</sub>,并将其装入蒸煮袋中,80℃水浴加热20 min。待样品冷却至室温后,用滤纸吸去其表面多余的水分,再次称重W<sub>4</sub>,蒸煮损失(C)计算公式如下:

$$C=\frac{W_3-W_4}{W_3} \quad (3)$$

式中:

C——蒸煮损失率, %

W<sub>3</sub>——蒸煮前样品质量, g;

W<sub>4</sub>——蒸煮后样品质量, g。

### 1.3.8 蛋白凝胶强度的测定

参考 Jiang 等<sup>[11]</sup>的方法,在测量凝胶强度之前,将凝胶放置于室温下1 h。使用质构分析仪测定分析凝胶强度,并附有5 kg 称重传感器。用P10平面

圆柱形探针（直径 10 mm）以 5 min/cm 的速度轴向穿透凝胶至 12 mm 的深度。穿透力被定义为破裂凝胶所需的力，表示为凝胶强度，其计算公式如下：

$$B = f \times s \quad (4)$$

式中：

$B$ —凝胶强度，g·mm；

$f$ —穿透力，g；

$s$ —力方向的位移，mm。

### 1.3.9 蛋白凝胶水分分布的测定

参考韩敏义等<sup>[12]</sup>的方法，对样品进行低场核磁共振（LF NMR）测量，以研究凝胶样品水的分布和组成。实验中，在磁场强度为 0.5 T（对应质子共振频率为 22.4 MHz），温度为 32 °C，使用 LF-NMR 进行弛豫时间测量。其他核磁共振参数分别为：短波频率 = 100 kHz，中频频率 = 21 MHz，RFD = 0.020 ms，RG1 = 10.0 dB，P1 = 6.00 s，DRG1 = 4，TD = 300 048，PRG-2，TW = 3 000.000 ms，NS = 8，P2 = 12.48 s，TE = 1.500 ms，NECH = 2 000。实验前，先用纸巾去除样品表面的水分。

### 1.3.10 羰基含量的测定

参考 Li 等<sup>[13]</sup>的方法，采用 2,4-二硝基苯肼（DNPH）法测定，利用摩尔消光系数  $\epsilon$  为  $22\ 000\ \text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ，羰基含量表示为 nmol/mg prot。溶剂对照组，开始时加入 2 mL 缓冲液代替蛋白溶液，其余操作相同。

### 1.3.11 总巯基含量的测定

参考 Wang 等<sup>[14]</sup>的方法，采用 5,5-二硫代双-2-硝基苯甲酸（DTNB）法于 412 nm 处测定吸光值，利用摩尔消光系数  $\epsilon$  为  $13\ 600\ \text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$  计算，总巯基含量表示为 nmol/mg prot。

### 1.3.12 表面疏水性的测定

参考 Sun 等<sup>[15]</sup>的方法，使用溴酚蓝（BPB）测定蛋白质表面疏水性。结果以结合 BPB ( $\mu\text{g}$ ) 表示。在 595 nm 处测定吸光度，测定组为  $A_1$ ，以磷酸盐溶液作空白组，为  $A_0$ 。其计算公式如下：

$$A = \frac{200 \times (A_0 - A_1)}{A_0} \quad (5)$$

式中：

$A$ —表面疏水性 (BPB)， $\mu\text{g}$ ；

$A_0$ —测定空白组的吸光度；

$A_1$ —测定样品的吸光度。

### 1.3.13 内源荧光强度的测定

参考 Li 等<sup>[16]</sup>的方法，采用日本岛津 RF-5301PC 型荧光分光光度计进行荧光测定，以磷酸盐缓冲液为空白，测定蛋白荧光强度，激发波长为 280 nm，记录 300~400 nm 的发射光谱。

### 1.3.14 电泳

参考 Li 等<sup>[17]</sup>的方法，取待测蛋白质与上样缓冲液 (4:1)，振荡混匀后沸水浴加热 5 min，经冷却后离心 (4 °C、10 000 g、60 s)，使用 Bio-Rad 电泳仪进行电泳。采用质量分数为 15% 的分离胶与 4% 的浓缩胶分离样品。电泳时，先使用 80 V 电压运行 0.5 h，待指示带到达分离胶上沿处将电压调至 120 V 运行约 1.5 h，指当指示带到达分离胶底部时，结束电泳。介素电泳后，用体积分数为 0.2% 的考马斯亮蓝 R-250 溶液染色凝胶 2 h，再使用脱色液脱色至背景清晰。

## 1.4 数据分析

所有试验均平行测定三次以上，采用 SPSS 2018 和 Origin 2017 进行数据处理，结果采用“均值 ± 标准差”来表示。各个指标比较采用最小显著差异法，最终取 95% 置信度 ( $P < 0.05$ )。

表 2 不同浓度亚油酸介导氧化对金鲳鱼肌原纤维蛋白凝胶感官的影响

Table 2 Sensory effects of different concentrations of linoleic acid-mediated oxidation on myofibrillar protein gels of the golden pomfret

亚油酸浓度/(mmol/L)	凝固程度	色泽	弹性	切面结构	气味
0	7.75 ± 1.03 <sup>a</sup>	7.50 ± 0.93 <sup>a</sup>	6.25 ± 0.71 <sup>b</sup>	3.75 ± 0.89 <sup>b</sup>	5.25 ± 0.89 <sup>b</sup>
10	8.13 ± 0.81 <sup>a</sup>	6.38 ± 1.30 <sup>b</sup>	8.00 ± 0.76 <sup>a</sup>	5.75 ± 1.16 <sup>a</sup>	6.75 ± 1.03 <sup>a</sup>
20	7.38 ± 0.52 <sup>a</sup>	6.50 ± 0.93 <sup>b</sup>	7.75 ± 0.89 <sup>a</sup>	4.75 ± 1.39 <sup>ab</sup>	6.13 ± 0.99 <sup>ab</sup>
50	7.50 ± 0.76 <sup>a</sup>	7.63 ± 0.52 <sup>a</sup>	6.63 ± 1.19 <sup>b</sup>	5.13 ± 0.84 <sup>a</sup>	6.00 ± 0.93 <sup>ab</sup>

注：同列不同小写字母表示差异性显著 ( $P < 0.05$ )，同列相同小写字母表示差异性不显著 ( $P > 0.05$ )。

## 2 结果与讨论

### 2.1 蛋白凝胶感官评价分析

在本次研究中采集了8位感官评价员的评价进行分析。亚油酸介导氧化对金鲷鱼肌原纤维蛋白凝胶质构特性的影响如表2所示。结果表明,当亚油酸为10 mmol/L时,金鲷鱼肌原纤维蛋白凝胶的色泽、弹性、切面结构和气味相比于0 mmol/L组均有提升;随着亚油酸浓度继续增加,凝胶感官特评分逐渐降低。这可能是,亚油酸氧化产物可以引起蛋白质分子的变化。低浓度的亚油酸氧化下,能导致肌原纤维蛋白形成更好的三维网络结构,同时亚油酸氧化产生风味物质或者参与美拉德反应,有利于凝胶色泽和气味;过高的亚油酸浓度则引起蛋白质过度氧化,降低感官品质<sup>[18]</sup>。

### 2.2 蛋白凝胶白度分析

采用手持色差仪对金鲷鱼肌原纤维蛋白凝胶白度进行测定,其结果如图1所示,凝胶的白度随添加物亚油酸浓度呈现先上升后下降的趋势,在使用10 mmol/L亚油酸氧化时其白度最高,为92.99,这可能是在10 mmol/L亚油酸氧化下,肌原纤维蛋白凝胶的持水性最好,使凝胶表面更有光泽和亮度。而后随着亚油酸浓度上升白度开始逐渐降低。相关研究认为主要有两个方面原因,首先亚油酸氧化会产生氧化产物,例如己醛、(E)-2-庚烯醛、(E)-2-壬烯醛、(E)-3-壬烯-2-酮、2-戊基呋喃等影响凝胶的色泽;其次亚油酸介导氧化会改变凝胶的保水性,而凝胶白度与其水分含量密切相关<sup>[18]</sup>。

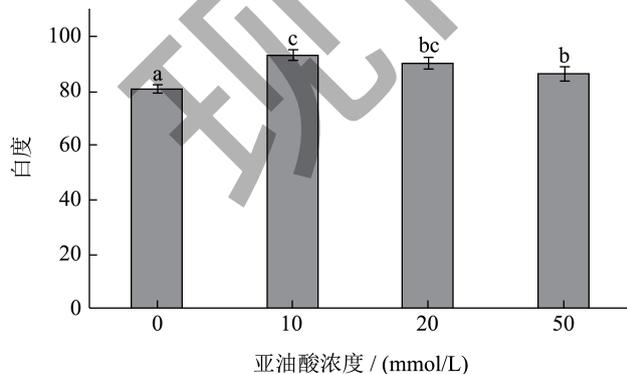


图1 不同亚油酸浓度下金鲷鱼肌原纤维蛋白凝胶白度的变化  
Fig.1 Changes in myofibrillar protein gel whiteness of golden pomfret at different linoleic acid concentrations

注:不同小写字母表示差异性显著( $P < 0.05$ ),相同小写字母表示差异性不显著( $P > 0.05$ )。下同。

### 2.3 蛋白凝胶保水性分析

#### 2.3.1 离心损失

持水性对食品的质构和感官至关重要,是衡量凝胶优劣的重要指标<sup>[19]</sup>。凝胶离心损失如图2所示,随着亚油酸介导氧化强度增加,金鲷鱼肌原纤维蛋白凝胶的离心损失呈现先下降后上升的趋势,且亚油酸浓度为10 mmol/L时,凝胶离心损失最低,为5.39%。这可能是在10 mmol/L亚油酸介导氧化条件下,金鲷鱼肌原纤维蛋白凝胶形成了致密的三维网络结构,能将水分保留在凝胶内部,达到持水效果<sup>[20]</sup>。Liu等<sup>[21]</sup>的研究发现,过度的介导氧化,会导致肌原纤维蛋白产生交联、聚集,水浴加热后形成无规则的三维网络结构导致离心损失增大。

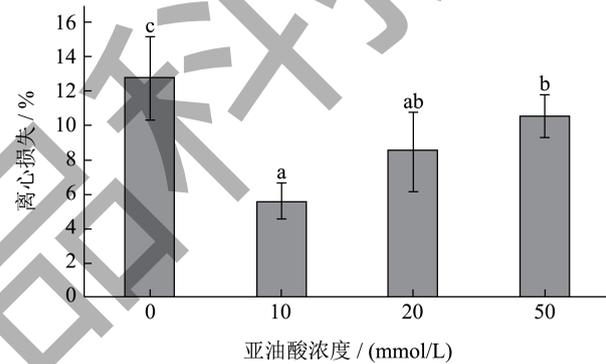


图2 不同亚油酸浓度下金鲷鱼肌原纤维蛋白凝胶离心损失的变化

Fig.2 Changes in gel centrifugal loss of myofibrillar protein in golden pomfret at different linoleic acid concentrations

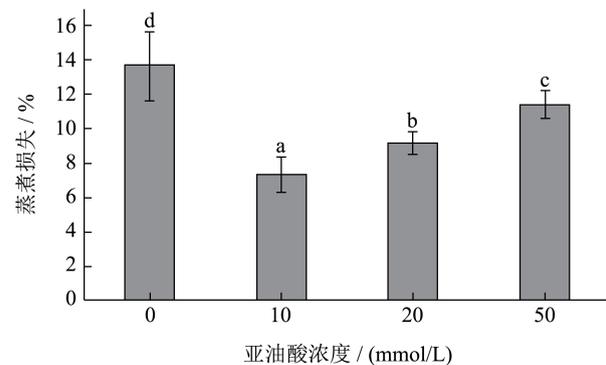


图3 不同亚油酸浓度下金鲷鱼肌原纤维蛋白凝胶蒸煮损失的变化

Fig.3 Changes in myofibrillar protein gel cooking loss of golden pomfret at different linoleic acid concentrations

#### 2.3.2 蒸煮损失

一般来说,当网络结构对水分的截留能力越强时,凝胶强度和持水性较高、蒸煮损失率较低<sup>[22]</sup>。

亚油酸浓度对样品蒸煮损失率的影响如图3所示, 蒸煮损失与离心损失呈现相同的趋势, 随着亚油酸浓度增加呈先下降后上升的趋势, 在亚油酸浓度达到10 mmol/L时其蒸煮损失达到最小, 为5.94%; 而后随着亚油酸浓度增加蒸煮损失率逐渐增大。该结果与蛋白凝胶白度的变化趋势一致。

#### 2.4 蛋白凝胶强度分析

由图4可知, 随着亚油酸浓度的升高, 凝胶强度呈现先上升后下降的趋势, 10 mmol/L组凝胶强度达到最大值333.24 g, 50 mmol/L组凝胶强度达到最低值, 为227.31 g。有学者<sup>[23]</sup>在研究猪肉蛋白凝胶特性时发现, 氧化后的肌原纤维蛋白凝胶强度明显降低。这可能与蛋白质的氧化交联有关, 氧化金鲷鱼的肌原纤维蛋白, 蛋白质结构展开暴露出的巯基形成了二硫键, 对凝胶结构产生了不利影响<sup>[24]</sup>。在过度氧化条件下, 凝胶硬度降低, 这种结果可能是由于过度氧化导致过度交联反应, 导致大量蛋白质聚集, 从而可能抑制均匀和致密凝胶网络的形成<sup>[25]</sup>。

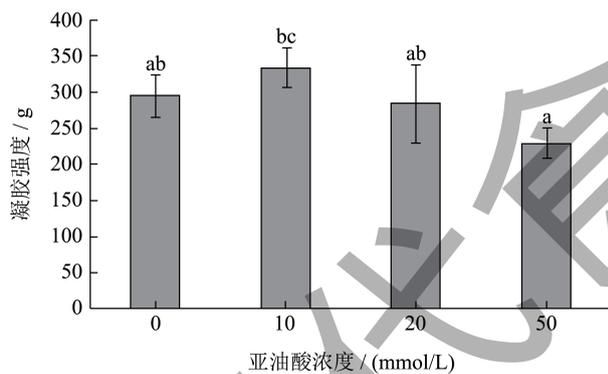


图4 不同亚油酸浓度下金鲷鱼肌原纤维蛋白凝胶强度的变化

Fig.4 Changes in myofibrillar protein gel strength of golden pomfret under different linoleic acid concentrations

#### 2.5 金鲷鱼肌原纤维蛋白凝胶水分分布分析

弛豫时间是指食品系统受到外界的瞬时干扰发生变动后, 重新恢复到平衡态时所经历的时间, 弛豫时间越短, 表明水分的状态越稳定, 流动性越弱<sup>[26]</sup>。横向弛豫时间表示凝胶中的水分分布状态。由图5可知, 凝胶样品共检测出3种状态的水, 第一种是食品体系结合最紧密的水分, 称为结合水(0~10 ms); 第二种为不易流动水(10~100 ms); 第三种是存在于细胞外流动性最强的水, 称为自由水(100~10 000 ms)<sup>[26]</sup>。

如图5所示, 10 mmol/L组凝胶中的不易流动

水和结合水含量最高; 20 mmol/L和50 mmol/L组凝胶结合水含量低于0 mmol/L组, 但不易流动水的含量高于0 mmol/L组。这表明亚油酸介导氧化会促使一部分自由水向结合水和不易流动水转化, 使凝胶体系截留更多的水分, 该结果与离心损失和蒸煮损失实验的结论一致。李玲等<sup>[27]</sup>发现羟自由基介导肌原纤维蛋白氧化, 引起凝胶保水性的改变, Jia等<sup>[28]</sup>认为氧化主要是对蛋白质的结构产生影响, 从而导致凝胶保水性的变化。

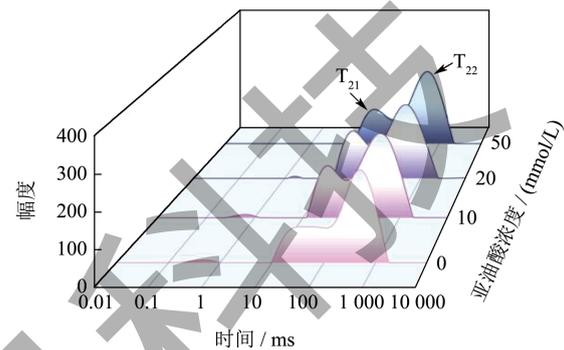


图5 不同浓度亚油酸下金鲷鱼肌原纤维蛋白凝胶弛豫时间的变化

Fig.5 Changes in relaxation time of myofibrillar protein gels of golden pomfret at different concentrations of linoleic acid

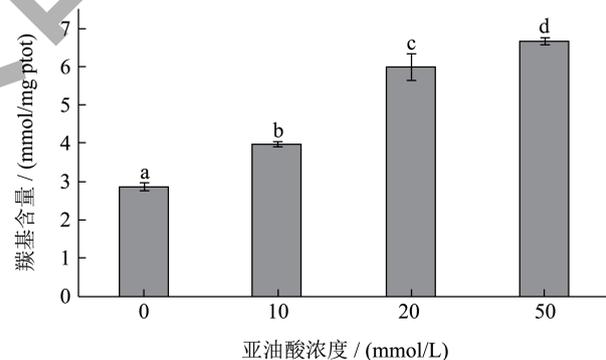


图6 不同浓度下金鲷鱼肌原纤维蛋白羰基含量的变化

Fig.6 Changes in carbonyl content content of golden pomfret myofibrillar protein at different concentrations

#### 2.6 肌原纤维蛋白氧化

羰基含量是多种氨基酸在蛋白质氧化修饰过程中的早期标志, 羰基化合物的形成已被强调为氧化蛋白中最显著的修饰之一<sup>[29]</sup>。由图6可知, 随亚油酸浓度得增加, 羰基含量显著上升( $P < 0.05$ ); 亚油酸浓度为0 nmol/L组的蛋白羰基含量为2.86 nmol/mg prot, 浓度为50 mmol/L的亚油酸氧化组蛋白质羰基的含量约为10 mmol/L组的2倍。蛋白亚油酸过氧化的产物是活性氧自由基和

氢过氧化物等，能攻击蛋白质侧链氨基酸，引起羰基化<sup>[30]</sup>。羰基含量逐渐上升，表明了蛋白质受到亚油酸氧化的程度越高<sup>[31]</sup>。

蛋白中总巯基的含量越低，表明蛋白结构的被修饰化越高，即氧化程度越高<sup>[32]</sup>。如图7所示，0 mmol/L组蛋白的巯基含量为63.58 nmol/g prot，在10 mmol/L亚油酸介导氧化下，蛋白质巯基含量开始降低。崔文斌等<sup>[29]</sup>在研究牦牛肉的氧化时发现空白对照组的巯基含量为100.23 nmol/g prot，这可能是蛋白来源不同所导致的。蛋白随着亚油酸浓度进一步增加，总巯基含量显著降低 ( $P < 0.05$ )。这表明在亚油酸氧化作用的影响下，肌原纤维蛋白含巯基氨基酸被氧化。此外，蛋白质中巯基的损失是由于迈克尔在 $\alpha$ 、 $\beta$ -不饱和醛中添加了蛋白质巯基而引起的。蛋白体系中产生硫自由基，进一步形成二硫键，导致巯基含量的降低<sup>[33]</sup>。

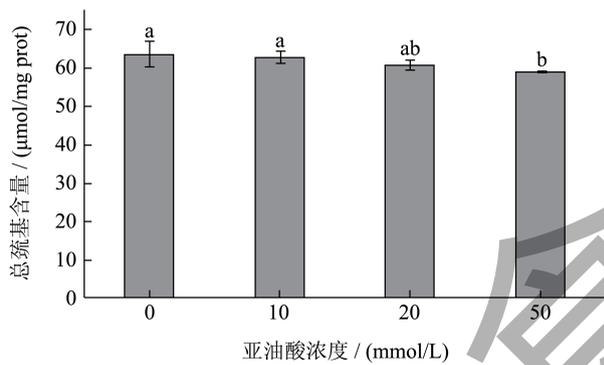


图7 不同浓度下金鲳鱼肌原纤维蛋白总巯基含量的变化  
Fig.7 Changes in total sulfhydryl content of golden pomfret myofibrillar protein at different concentrations

## 2.7 表面疏水性

表面疏水性是反映蛋白氧化程度的重要指标，其指标变化反映了蛋白质结构稳定性<sup>[34]</sup>。由图8可知，在50 mmol/L的亚油酸浓度影响下肌原纤维蛋白的表面疏水性为19.82。在亚油酸浓度为10 mmol/L时表面疏水性达到最大值为32.71。随着亚油酸浓度的增加，表面疏水性呈现出先上升再下降的趋势。这是由于低浓度的亚油酸介导氧化引起蛋白质去折叠化，蛋白内部的疏水性氨基酸残基暴露，从而致使蛋白表面疏水性的增加<sup>[35]</sup>。然而在高浓度亚油酸的氧化影响下，蛋白质出现交联聚集。在热诱导形成凝胶前，适度氧化的蛋白质已经出现了部分的解聚现象，在之后的热诱导下，蛋白分子的进一步去折叠，同时解聚的蛋白质分子的重新交联、聚集并形成细致紧密的网络结构<sup>[36]</sup>。而过度

氧化的蛋白质分子在热诱导形成凝胶前已经发生交联，在后续的加热诱导中蛋白质不能完全展开，形成无序的网络结构。这也就印证适度氧化的蛋白质形成的凝胶具有良好的保水性与质构，而过度氧化的蛋白质则降低其凝胶特性。该结果与凝胶保水性和质构特性结果相互印证。

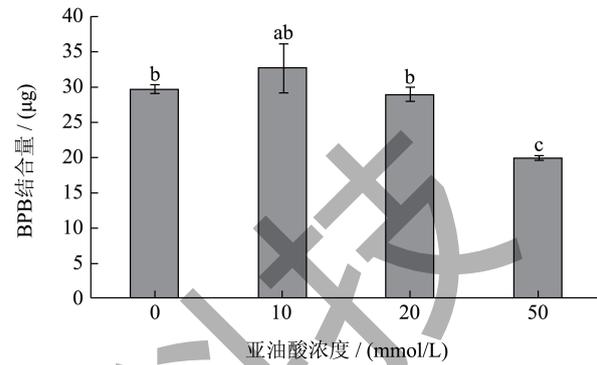


图8 不同浓度下金鲳鱼肌原纤维蛋白表面疏水性的变化  
Fig.8 Changes in surface hydrophobicity of golden pomfret myofibrillar protein at different concentrations

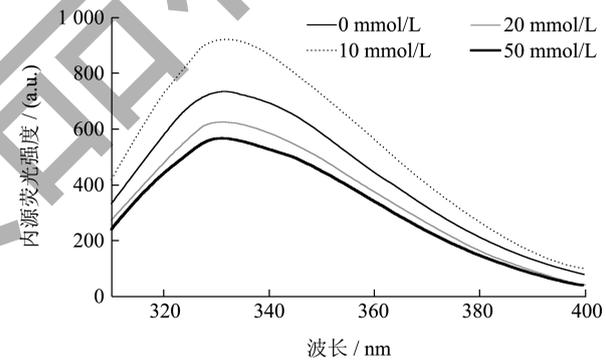


图9 不同浓度下金鲳鱼肌原纤维蛋白内源荧光强度的变化  
Fig.9 Changes in endogenous fluorescence intensity of golden pomfret myofibrillar protein at different concentrations

## 2.8 内源荧光强度

如图9所示，在低浓度亚油酸 ( $\leq 10$  mmol/L) 氧化的催化影响下，肌原纤维蛋白的荧光强度呈上升趋势；随着亚油酸浓度从10 mmol/L提高至50 mmol/L过程中，蛋白质的荧光强度则呈下降趋势。色氨酸残基主要位于蛋白质内核的疏水环境中，当蛋白质开始氧化时，蛋白空间结构部分展开，内部的色氨酸暴露出来，此时被激发的色氨酸具有相对较高的荧光强度；而随着氧化程度继续增加，蛋白质进一步展开、并产生交联，暴露的色氨酸残基会遭受氧化攻击，此时荧光强度降低<sup>[37]</sup>。该结果表明适度的氧化可以引起蛋白质去折叠化，暴露更多的疏水性基团，有利于凝胶三维网络结构的形成；

过度的氧化使暴露的疏水性基团交联, 导致蛋白质分子聚集, 降低凝胶有序结构。

### 2.9 电泳测定蛋白质分子量大小的变化

金鲳鱼肌原纤维蛋白在不同亚油酸浓度影响下, 发生不同程度的结构变化。SDS-PAGE 能够直观地反映蛋白亚基间发生的聚集、断裂或降解等情况, 因此通过 SDS-PAGE 评估这些蛋白质结构变化<sup>[38]</sup>。如图 10 所示。不同亚油酸浓度下处理的金鲳鱼肉的肌原纤维蛋白, 氧化会导致蛋白质内部的分子之间以及分子内部形成共价交联反应, 影响蛋白质的凝胶特性。由图可知, 肌原纤维蛋白中肌球蛋白重链 (Myosin Heavy Chain, MHC) 和肌动蛋白 (Actin) 条带浓度随着亚油酸浓度的增加逐渐变浅, 这表明亚油酸的氧化能促进 MHC 和 actin 间的交联和聚集。其中 50 mmol/L 的组别条带最浅, 同时浓缩胶顶端条带变深, 这说明在亚油酸氧化促进下形成部分的高分子聚合物, 导致无法进入凝胶中进而表明蛋白质在受到氧化修饰发生了凝集和交联反应。脂质氧化还可以激活内源酶, 使得 MHC 和 actin 降解为分子质量更小的蛋白<sup>[39]</sup>。这表明了蛋白氧化后, 其结构被破坏, 这可能是影响蛋白凝胶强度等凝胶特性的主要原因。

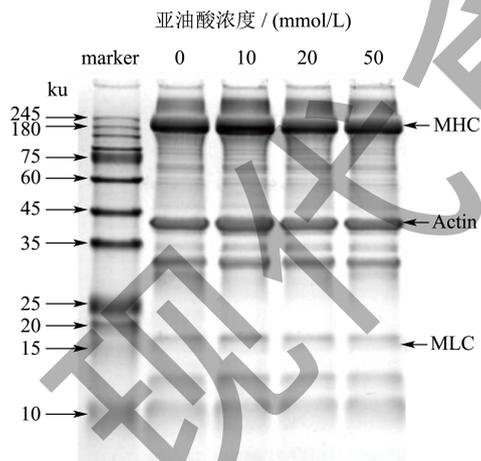


图 10 不同浓度下金鲳鱼肌原纤维蛋白电泳图

Fig.10 Electrophoresis diagram of golden pomfret myofibrillar protein at different concentrations

### 3 结论

本研究采用不同浓度的亚油酸对金鲳鱼鱼肉进行氧化, 分析了亚油酸介导氧化对金鲳鱼肌原纤维蛋白凝胶强度、凝胶保水性和凝胶水分分布的影响。本文研究结果表明, 亚油酸浓度在 10 mmol/L

时, 氧化的蛋白凝胶在保水能力、凝胶强度和凝胶的感官与质构特性等方面均有提升。在低浓度的氧化条件下 ( $< 10$  mmol/L), 肌原纤维蛋白结构轻微展开, 暴露隐含在内部的疏水基团, 有利于凝胶保水性和凝胶质构特性; 随着氧化程度的增加 ( $\geq 10$  mmol/L), 蛋白质出现交联、聚集, 从而降低凝胶的质构特性。该研究阐明了亚油酸氧化对金鲳鱼后期加工特性影响, 能促进金鲳鱼产业发展。

### 参考文献

- [1] 中华人民共和国统计局.中国渔业统计年鉴[M].北京:中国统计出版社,2022.
- [2] 曹湛慧,黄和,陈良,等.加工工艺对金鲳鱼鱼糜制品凝胶强度的影响[J].食品工业,2015,36(7):4.
- [3] 裴志胜,冯紫蓝,王会博,等.金鲳鱼肌原纤维蛋白乳液凝胶的制备及表征[J].食品工业科技,2023,44(6):201-208.
- [4] 张海燕.冷鲜调理海鲈鱼片加工技术研究[D].湛江:广东海洋大学,2019.
- [5] 陈腊梅,唐善虎,李思宁,等.丙二醛氧化对牦牛肉肌原纤维蛋白结构及功能特性的影响[J].食品科学,2023,44(8):46-54.
- [6] 宋娟娟,谢婷,刘文涵,等.丙二醛对豆粕蛋白质氧化的影响及茶多酚的缓解作用[J].南京农业大学学报,2023,46(2):324-332.
- [7] 王旭敏,李怡霞,邓子雨,等.脂肪氧合酶催化亚油酸氧化对核桃蛋白的影响[J].山西农业大学学报(自然科学版),2023,43(4):120-128.
- [8] 周猛,洪惠,罗永康,等.鲟鱼内源丝氨酸蛋白酶对肌原纤维蛋白凝胶性能的影响[J].广东海洋大学学报,2023,43(2):87-94.
- [9] 罗程,王缓,陈银基,等.魔芋胶对猪肉肌原纤维蛋白凝胶特性和保水特性的调控机制:基于相分离行为和水相稳定[J].中国农业科学,2023,56(9):1775-1786.
- [10] 曹云刚,王凡,艾娜丝,等.苹果膳食纤维对猪肉肌原纤维蛋白凝胶性能的影响[J].农业机械学报,2020,51(7):365-371.
- [11] JIANG S, ZHAO S, JIA X, et al. Thermal gelling properties and structural properties of myofibrillar protein including thermo-reversible and thermo-irreversible curdlan gels [J]. Food Chemistry, 2020, 311(May1): 126018.1-126018.8.
- [12] 韩敏义,刘永安,王鹏,等.低场核磁共振法研究NaCl对肌原纤维蛋白凝胶水分分布和移动性的影响[J].食品科学,2014,35(21):88-93.
- [13] LI F, WU X J, WU W. Effects of malondialdehyde-induced protein oxidation on the structural characteristics of rice protein [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2020, 55(2): 760-768.
- [14] WANG J, ZHAO M, QIU C, et al. Effect of malondialdehyde

- modification on the binding of aroma compounds to soy protein isolates [J]. *Food Research International*, 2018, 105: 150-158.
- [15] SUN W, ZHOU F, ZHAO M, et al. Physicochemical changes of myofibrillar proteins during processing of Cantonese sausage in relation to their aggregation behaviour and *in vitro* digestibility [J]. *Food Chemistry*, 2011, 129(2): 472-478.
- [16] LI J, WANG B, FAN J, et al. Foaming, emulsifying properties and surface hydrophobicity of soy proteins isolate as affected by peracetic acid oxidation [J]. *International Journal of Food Properties*, 2019, 22(1): 689-703.
- [17] LI B, XU Y, LI J, et al. Effect of oxidized lipids stored under different temperatures on muscle protein oxidation in Sichuan-style sausages during ripening [J]. *Meat Science*, 2019, 147(JAN.): 144-154.
- [18] 赵婕. 脂肪氧合酶催化亚油酸氧化对大豆分离蛋白体外胃消化影响机制研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2021.
- [19] ZHUANG X, HAN M, JIANG X, et al. The effects of insoluble dietary fiber on myofibrillar protein gelation: Microstructure and molecular conformations [J]. *Food Chemistry*, 2019, 275: 770-777.
- [20] 杨玉玲, 游远, 彭晓蓓, 等. 加热对鸡胸肉肌原纤维蛋白结构与凝胶特性的影响[J]. *中国农业科学*, 2014, 47(10): 2013-2020.
- [21] LIU Z, XIONG Y L, CHEN J. Protein oxidation enhances hydration but suppresses water-holding capacity in porcine longissimus muscle [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(19): 10697-10704.
- [22] 藺博燕. 臭氧水处理对草鱼肌原纤维蛋白氧化及凝胶特性的影响[D]. 锦州: 渤海大学, 2020.
- [23] 常海军, 伯朝英, 周文斌, 等. 阿魏酸对·OH诱导的肌原纤维蛋白氧化及凝胶特性的影响[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(4): 32-40.
- [24] YIN T, PARK J W. Effects of nano-scaled fish bone on the gelation properties of *Alaska pollock* surimi [J]. *Food Chemistry*, 2014, 150(2): 463-468.
- [25] FU Q, LIU R, WANG H, et al. Effects of oxidation *in vitro* on structures and functions of myofibrillar protein from beef muscles [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(20): 5866-5873.
- [26] 李银, 李侠, 张春晖, 等. 利用低场核磁共振技术测定肌原纤维蛋白凝胶的保水性及其水分含量[J]. *现代食品科技*, 2013, 29(11): 2777-2781.
- [27] 李玲, 季慧, 康大成, 等. 氧化条件下茶多酚对猪肉肌原纤维蛋白理化和凝胶特性的影响[J]. *食品科学*, 2019, 40(2): 12-17.
- [28] JIA N, WANG L, SHAO J, et al. Changes in the structural and gel properties of pork myofibrillar protein induced by catechin modification [J]. *Meat Science*, 2017, 127: 45-50.
- [29] 崔文斌, 王惠惠, 刘小波, 等. 羟自由基氧化对牦牛肉肌原纤维蛋白生化特性的影响[J]. *核农学报*, 2019, 33(6): 1165-1172.
- [30] CHEN Y, XI J. Effects of the non-covalent interactions between polyphenols and proteins on the formations of the heterocyclic amines in dry heated soybean protein isolate [J]. *Food Chemistry*, 2022, 373: 131557.
- [31] ZHU Z, BASSEY A P, HUANG M, et al. The effect of protein oxidation on the formation of advanced glycation end products after chicken myofibrillar protein glycation [J]. *Food Science and Human Wellness*, 2023, 12(5): 1571-1579.
- [32] AKIRA O, MINORU K, YOSHIHIRO T. The secondary structure of pressure- and temperature-induced aggregates of equine serum albumin studied by FT-IR spectroscopy [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2006, 1764: 1407-1412.
- [33] FREDERIKSEN A M, LUND M N, ANDERSEN M L, et al. Oxidation of porcine myosin by hypervalent myoglobin: the role of thiol groups [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(9): 3297-3304.
- [34] CHELH I, GATELLIER P, SANTÉ-LHOUTELLIER V. A simplified procedure for myofibril hydrophobicity determination [J]. *Meat Science*, 2006, 74(4): 681-683.
- [35] 王立宇. 不同盐渍方式对毛肚理化性质与肌原纤维蛋白氧化的影响[D]. 重庆: 西南大学, 2022.
- [36] 韩柯颖, 冯潇, 杨玉玲, 等. 添加山茶油对肌原纤维蛋白凝胶特性的影响[J]. *中国农业科学*, 2021, 54(20): 4446-4455.
- [37] ESTÉVEZ M, VENTANAS S, CAVA R. Protein oxidation in frankfurters with increasing levels of added rosemary essential oil: Effect on color and texture deterioration [J]. *Journal of Food Science*, 2005, 70(7): c427-c432.
- [38] WANG Z M, HE Z F, EMARA A, et al. Effects of malondialdehyde as a byproduct of lipid oxidation on protein oxidation in rabbit meat [J]. *Food Chemistry*, 2019, 288: 405-412.
- [39] 王敏, 李梦璐, 葛庆丰. 微生物外源酶对发酵肉制品品质的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2012, 38(10): 134-139.