

超高压解冻对三文鱼水分迁移及肌原纤维蛋白变性的影响

李立

(1. 哈尔滨商业大学 药物研究所博士后科研工作站, 哈尔滨 150076;

2. 哈尔滨商业大学 能源与建筑工程学院, 哈尔滨 150028)

摘要: **目的** 探讨不同解冻方式对冷冻三文鱼的水分迁移与蛋白变性的影响。**方法** 分别采用静水、空气、超高压等方式对冷冻三文鱼进行解冻, 分析解冻期间水分损失、水分迁移、肌原纤维蛋白空间结构及热稳定性的变化规律。**结果** 与其他解冻方式相比, 采用超高压解冻方式的完成时间明显较短, 比采用水解冻方式缩短了 24.15%~57.20%; 总水分损失随着压力的升高明显降低, 相较于常规解冻方式最大降幅为 11%; 超高压解冻组样品的不易流动水更加趋于稳定。同时, 当压力升至 150 MPa 时, 其不易流动水的含量较高, 自由水的含量较低; 在 150 MPa 下, 三文鱼的表面疏水性较低 (32.36%)、总巯基含量较高 (56.66%)、羰基含量较低 (34.1%); 超高压解冻组三文鱼的蛋白质热稳定性更好, 且 200、300 MPa 分别为肌凝蛋白和肌动蛋白发生明显变性的压力阈值。**结论** 采用超高压解冻技术, 对于三文鱼的解冻品质有所提升, 研究结果可为冷冻三文鱼产业及超高压加工技术的工业生产提供理论依据。

关键词: 超高压解冻; 三文鱼; 水分损失; 蛋白质结构

中图分类号: TS254

文献标志码: A

文章编号: 1001-3563(2024)21-0174-09

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2024.21.024

Effects of High Pressure Thawing on Water Migration and Myofibrillar Degeneration of Salmon

LI Li

(1. Postdoctoral Programme of Meteria Medica Institute, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China;

2. School of Energy and Civil Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150028, China)

ABSTRACT: The work aims to study the effects of different thawing methods on water migration and protein degeneration of frozen salmon. The frozen salmon was thawed in static water, air and high pressure to study the water loss, water migration, spatial structure and thermal stability of myofibrin during thawing. Compared with other thawing methods, the completion time of HPT was significantly reduced, which was 24.15%-57.20% shorter than that of static water thawing. The total water loss decreased significantly with the increase of pressure, and the maximum decrease was 11% compared with the conventional thawing method. The immobile water of the samples in the HPT group tended to be more stable. At the same time, when the pressure rose to 150 MPa, the water content was not easy to flow and the free water content was low. The surface hydrophobicity of salmon myofibrin under 150 MPa was lower (32.36%), the total sulfhydryl group content was higher (56.66%), and the carbonyl group content was lower (34.1%). The thermal stability of proteins in the high pressure thawing group was better, and 200 MPa and 300 MPa were the pressure thresholds for obvious degeneration of myosin and actin, respectively. In conclusion, high pressure thawing can improve the thawing

收稿日期: 2024-04-23

基金项目: 黑龙江省高等教育学会高等教育研究项目 (23GJYBJ043); 哈尔滨商业大学博士科研支持计划 (24BQ27); 哈尔滨商业大学实验教学和实验室建设研究项目 (HSDSY202413); 哈尔滨商业大学基本科研业务费项目 (XL0162)

quality of salmon, and the experimental results provide theoretical reference for frozen salmon industry and industrial production of high pressure processing technology.

KEY WORDS: high pressure thawing; salmon; moisture loss; protein structure

随着人们生活水平的提高和对健康的关注,消费者对食品的选择越来越倾向于那些高营养价值、绿色加工、无添加剂的优质产品。三文鱼作为高蛋白含量、高不饱和脂肪酸含量的深海鱼类,尤其是其富含的 EPA 和 DHA 能够促进儿童智力、视力发育,预防老年痴呆、中风等疾病。三文鱼以其颜色鲜艳、口感爽滑的特点,在全球市场上赢得了广泛的关注和青睐。由于三文鱼养殖区域(挪威、法罗群岛、智利、英国、加拿大是 5 个三文鱼产地^[1])距离我国过远,导致冰鲜三文鱼的价格昂贵,而冷冻三文鱼则有助于降低运输和贮藏成本^[2]。由于三文鱼的肌肉组织薄弱,且具有较高的水活性,极易发生微生物氧化降解,因此被归类为高度易腐食品^[3]。冻藏成为三文鱼保鲜的主要手段,选择合适的解冻技术,降低解冻过程对三文鱼整体感官质量及内部组织结构变化的不利影响,是推动该领域发展的关键,因此,对冷冻三文鱼的解冻技术进行全面、深入的研究至关重要。

超高压解冻技术(High pressure thawing, HPT)作为一种新型非热加工技术,以其更短的处理时间和更低的温度条件确保食品具有高质量、高新鲜度、损伤小的优势,成为近年来成功商业化的非热加工技术^[4]。三文鱼解冻过程中的水分损失及其分布情况对其品质有着显著影响,而肌原纤维蛋白的结构变化也是影响其水结合能力的重要因素。此外,加工技术的操作流程和设备设计差异也可能对食品的成分及特性产生影响^[5]。本文通过对比超高压解冻与常规解冻方法,分析了影响三文鱼解冻过程中水分损失及相态分布的因素,并探讨了三文鱼肌原纤维蛋白的结构变化,从微观构象角度指出其特性变化与水分分布之间的关联性,拟为超高压解冻三文鱼机理研究提供理论依据。

1 实验

1.1 材料

1.1.1 原料

实验所用三文鱼购于好百客超市(均为挪威进口大西洋鲑鱼),所购整切三文鱼脊肉于 20 min 内运回实验室,运输过程采用冰鲜保温箱密封。

1.1.2 试样预处理

将三文鱼切割成 40 mm×40 mm×50 mm 的小块,每块质量约为(65±5) g。采用真空密封包装,置于-80℃的超低温冰箱内进行快速冷冻,直至样品中心

温度达到-18℃。再将试样转移至-18℃的低温冰箱内储存 7 d 以上,作为后续解冻处理的样品。

1.1.3 试剂与设备

主要试剂:NaH₂PO₄、Na₂HPO₄、NaCl、牛血清蛋白、双缩脲试剂、2,4-二硝基苯肼、三氯乙酸、乙酸乙酯、盐酸胍、EDTA、KCl、尿素、DTNB、溴酚蓝钠等,天津致远试剂有限公司。

主要仪器设备:HPP 3-5L-600 MPa 超高压处理设备,包头科发高压科技有限公司;HYCD-282 低温冰箱,青岛海尔有限责任公司;DW-86W100J 超低温冰箱,青岛海尔有限责任公司;XS105DU 电子分析天平,瑞士、梅特勒托利多公司;Keithley 2700 数据采集仪,美国吉时利公司;PT 1300 D 匀浆机,Kinematica POLYTRON, Swiss;UV-2102C 紫外分光光度计,上海尤尼柯公司;PQ-001 低场核磁共振,上海纽迈科技有限公司;HR/T16M 高速离心机,湖南赫西仪器公司;204F1 差式扫描量热仪,德国耐驰公司。

1.2 方法

1.2.1 解冻处理

分别采用 3 种方式对冷冻三文鱼样品进行解冻,包括静水解冻(Water immersion thawing, WIT)、空气解冻(Air thawing, AT)、超高压解冻(High pressure thawing, HPT)。其中,环境温度(包括空气、水)均为(21±1)℃,超高压解冻的压力水平分别设置为 50 MPa(HPT-50)、100 MPa(HPT-100)、150 MPa(HPT-150)、200 MPa(HPT-200)、300 MPa(HPT-300),未经冷冻和解冻处理的鲜肉为对照组(Control)。为了防止解冻过程中出现重结晶现象,将解冻完成温度设定为中心温度达到 4℃(利用 T 型热电偶测定)。将解冻后样品置于 4℃的冰箱内储存,以备后续实验分析。

1.2.2 水分损失的测定

根据程丽娜^[6]的方法来测定汁液损失率,在冷冻前称取新鲜的三文鱼样品(质量 m_0),解冻后用滤纸吸干样品表面的水分后再称取质量(m_1)。解冻汁液损失为新鲜样品与解冻样品质量之差,汁液损失率(Thawing loss, R_{tl})的计算见式(1)。

$$R_{tl} = \frac{m_0 - m_1}{m_0} \times 100\% \quad (1)$$

根据 Li 等^[7]的方法测定蒸煮损失率,将每个解冻后的样品切成约 5.0 g 的肉块(质量 m_a),并真空密封于高温蒸煮袋中,在 90℃下水浴 15 min 煮熟,

取出冷却至室温。用滤纸吸附样品表面水分后再称量 (m_b)。蒸煮损失率 (Cooking loss, R_{cl}) 的计算见式 (2)。

$$R_{cl} = \frac{m_a - m_b}{m_a} \times 100\% \quad (2)$$

1.2.3 水分分布状态

低场核磁共振仪 (Low Field Nuclear Magnetic Resonance, LF-NMR) 参数设置: 恒温 32 °C, 持续 12 h 以上, 共振频率为 200 kHz, 采用相位循环去除伪影的脉冲序列 (Carr Purcell Meiboom Gill, CPMG), 实现横向弛豫时间 (t_2)。将回波 (Number of echos) 设定为 12 000 个, 重复扫描次数 (Number of scans, NS) 设定为 16 次。 t_2 采用 MultiExp Inv Analysis 软件采集处理。

1.2.4 肌原纤维蛋白的提取

根据程丽娜^[6]的方法, 并稍作修改, 取适量三文鱼肉用冷水洗涤, 加入 10 倍体积的磷酸盐缓冲液, 混合匀浆, 静置 18 h (4 °C)。用双层纱布过滤, 除去结缔组织, 在 4 °C、10 000 r/min 下离心 30 min, 取出沉淀。在沉淀过程中, 加入 6 倍体积的磷酸盐缓冲液混合匀浆, 用尼龙网过滤, 除去纤维杂质, 静置 30 min, 然后在 4 °C、10 000 r/min 下离心 30 min, 所得上清液即为肌原纤维蛋白溶液。用双缩脲法对肌原纤维蛋白的浓度进行测定, 以牛血清蛋白 (BSA) 为标准蛋白绘制标准曲线。

1.2.5 羰基含量的测定

通过与 2,4-二硝基苯肼 (DNPH) 的反应来测量羰基含量^[8], 采用双缩脲法测量肌原纤维蛋白滤液在 540 nm 处的吸光度。用质量分数为 20% 的三氯乙酸对肌原纤维蛋白滤液进行沉淀, 离心 (10 000 r/min、4 °C、30 min) 后, 用 10 mmol/L 的 DNPH 于黑暗处搅拌反应 1 h (对照组用 2 mol/L HCl)。然后用 1 mL 乙酸乙酯/乙醇 (体积比为 1:1) 洗涤沉淀 3 次, 再用质量分数为 10% 的 TCA 沉淀、离心。再加入 4 mL 盐酸胍溶液, 溶解沉淀, 离心取上清液。记录 370 nm 处的吸光度, 摩尔吸光系数为 22 000 L/(mol·cm), 羰基含量 (R_{MP} , nmol/mg) 用蛋白 (MP) 计, 计算见式 (3)。

$$R_{MP} = \frac{n \times 10^6 \times (A_{370, \text{测定管}} - A_{370, \text{对照管}})}{22.0 \times 10^3 \times C} \quad (3)$$

式中: n 为稀释倍数; C 为蛋白液的质量浓度, mg/mL。

1.2.6 巯基含量的测定

取蛋白质溶液, 加入 0.2 mmol/L Tris-HCl 混合均匀^[9], 在 10 000 r/min、4 °C 下离心 15 min, 去除不溶性蛋白。在上清液中加入质量分数为 0.1% 的 DTNB, 在 40 °C 下保温 25 min, 测定 421 nm 处的吸光度, 巯基含量 (R_{SH} , nmol/mg) 的计算见式 (4)。

$$R_{SH} = (A_{412} \times n) / (\varepsilon \times \rho) \times 10^6 \quad (4)$$

式中: n 为稀释倍数; ε 为摩尔吸光系数, $\varepsilon = 13\ 600\text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$; ρ 为蛋白液的质量浓度, mg/mL。

1.2.7 表面疏水性的测定

将蛋白液与 1 mg/mL 的溴酚蓝钠 (0.2 mL) 混匀^[9], 在 25 °C 下搅拌 1 h, 以 5 000 r/min 离心 15 min, 取上清液 1 mL, 加入 0.02 mol/L 磷酸缓冲液 (9 mL), 在 595 nm 处测其吸光度, 结果用肌原纤维蛋白结合的溴酚蓝含量 (BPB, R_{BPB} , μg) 表示, 计算见式 (5)。

$$R_{BPB} = 200(A_0 - A) / A_0 \quad (5)$$

式中: A_0 为对照溶液在 595 nm 处的吸光度; A 为肌原纤维蛋白溶液在 595 nm 处的吸光度。

1.2.8 蛋白质热稳定性的测定

将切碎的样品 (5~10 mg) 置于铝锅中^[9], 与锅底保持良好接触。用纯度为 99.999% 的 N_2 作为保护气体, 以 5 K/min 的扫描速度将温度从 20 °C 升至 90 °C, 记录该升温范围内的吸热变形曲线, 并由设备自带分析软件计算变性温度 (T_{max}) 和总焓 (ΔH)。

1.2.9 数据处理和统计分析

采用单因素方差分析 (ANOVA) 和显著性比较, 当 $P < 0.05$ 时, 表明具有显著性差异, 并以均值 $\pm$ 标准差表示, 所有实验如无特殊说明均表示 3 个样品的平均值。所有数据图均使用 OriginPro 9.1 (OriginLab Co., Northampton, MA, USA) 绘制。

2 结果与分析

2.1 超高压解冻对三文鱼水分迁移的影响

2.1.1 解冻时间

冷冻食品的解冻速度是影响其质量的关键因素^[10]。为防止绝热冷却引起的重结晶现象, 建议在释压前将三文鱼样品的中心温度提高至 0 °C 以上。在本研究中, 将三文鱼样品的中心温度达到 4 °C 时设定为融化结束标志。

列出了不同解冻方法 (WIT、AT、HPT-50 MPa、HPT-100 MPa、HPT-150 MPa、HPT-200 MPa、HPT-300 MPa) 的完成时间, 如图 1 所示。由图 1 可见, 在高压作用下三文鱼样品的解冻时间明显缩短, HPT-50、HPT-100、HPT-150、HPT-200、HPT-300 组样品的解冻时间分别比 AT 组样品减少了 84.64%、86.36%、87.99%、89.79%、91.34%; 与 WIT 组样品相比, 解冻时间分别减少了 24.15%、32.63%、40.68%、49.58%、57.20%。HPT 的复温时间比静态溶解冻时间减少了 24.15%~57.20%, 说明在 HPT 条件下对流换热系数和导热系数大大增加, 因此在高压下换热效果更强、解冻时间更短。Zhu 等^[11]也发现, 在 100、

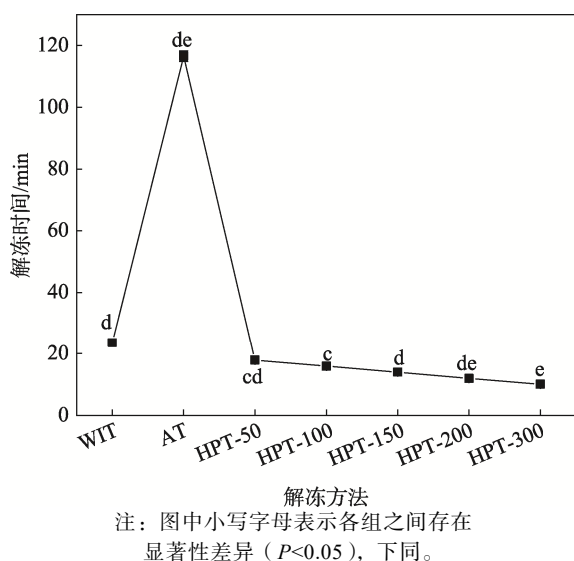


图 1 不同解冻方式对三文鱼解冻时间的影响

Fig.1 Effects of different thawing methods on thawing time of salmon

150、200 MPa 条件下, 鲑鱼的解冻时间比在 21 °C 水浴条件下的解冻时间分别减少了 30%、37%、43%, 这与本研究的结果一致。

2.1.2 水分损失

解冻三文鱼的水分损失主要由解冻时的汁液损失率和烹饪时的蒸煮损失率两部分组成。如图 2a 所示, 随着压力水平的升高, 汁液损失率呈先增大后减小的趋势, 可见在低压条件下 (50~100 MPa) 汁液损失反而要比 WIT、AT 这些常规解冻方法大。相反, 当压力继续增大时, 汁液损失率显著降低 ($P < 0.05$), 在 150 MPa (3.61%)、200 MPa (3.28%)、300 MPa (3.04%) 时汁液损失率较低。在不同压力条件下汁液损失率不同, 这一差异可以解释为, 在解冻和释放压力结束后, 液滴与肉之间发生了质量转移, 这与 Cui 等^[12]的观察结果基本一致。影响食物持水能力的因素有很多, 包括解冻时间的快慢、冰晶分布位置与

大小、蛋白质对水分子的再吸收能力、肌肉组织完整性和肌肉蛋白质状态等^[13]。

HPT 组样品的蒸煮损失率一般小于 WIT、AT 这些常规解冻方法组样品 (图 2b)。其中, HPT-150、HPT-200、HPT-300 组样品相对较小, 最低可达 22.45%。蒸煮损失主要由肌肉纤维在加热过程中发生的结构性纤维损伤所致, 包括在加热过程中肉类的大量液体和少量可溶性物质损失^[14]。采用常规解冻方法, 样品的蒸煮损失较大可能是由于较长的解冻时间破坏了肌纤维的结构, 导致烹饪后的保水性变差。肌原纤维蛋白是三文鱼蛋白质中比例最大的蛋白, 含有丰富的螺旋结构, 解冻过程改变了肌原纤维蛋白的结构特征, 导致蛋白持水能力发生改变^[15]。

总体来说, HPT (100 MPa 以上) 组样品的总水分损失较常规解冻组样品显著减少 ($P < 0.05$), 且随着压力水平的升高, 汁液损失和蒸煮损失总量越来越小, 相较于常规解冻组样品的总水分损失最多减少了 11% (图 2c)。这可能是由于 HPT 过程中蛋白质发生部分变性, 促使水再吸收, 进而影响了肉的持水能力, 即增强了蛋白质的水合能力^[16]。

2.1.3 水分分布

利用低场核磁共振弛豫仪 (LF-NMR) 测定三文鱼样品的 3 种水分分布 (图 3a), 分别为 t_{21} (0~1 ms, 与大分子紧密结合的结合水的弛豫时间)、 t_{22} (10~100 ms, 高度组织化的蛋白质结构的内部水, 即不易流动水的弛豫时间)、 t_{23} (100~1 000 ms, 外部水, 即自由水的弛豫时间)。如图 3b 所示, 在低压水平下超高压解冻组的 t_{21} 呈现出先增大后减小的变化规律, 其中在 150 MPa 和 200 MPa 下 t_{21} 最大; 当压力升高到 300 MPa 时, 其值明显减小。AT 和 WIT 的 t_{23} 明显较高 ($P < 0.05$), 这可能是由于解冻时间较长, 导致失水机会较大。超高压解冻组的 t_{22} (图 3c)、 t_{23} (图 3d) 则随着压力的升高显著降低, 且当压力达到 150 MPa 后趋于稳定。

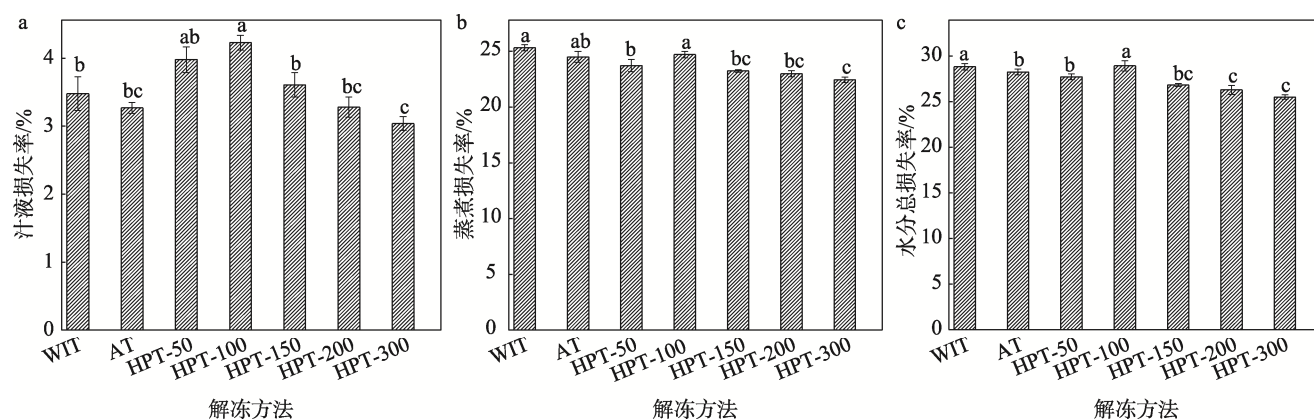


图 2 超高压解冻对三文鱼汁液损失率 (a)、蒸煮损失率 (b)、总水分损失 (c) 的影响

Fig.2 Effects of HPT on thawing loss (a), cooking loss (b), and total loss (c) of salmon

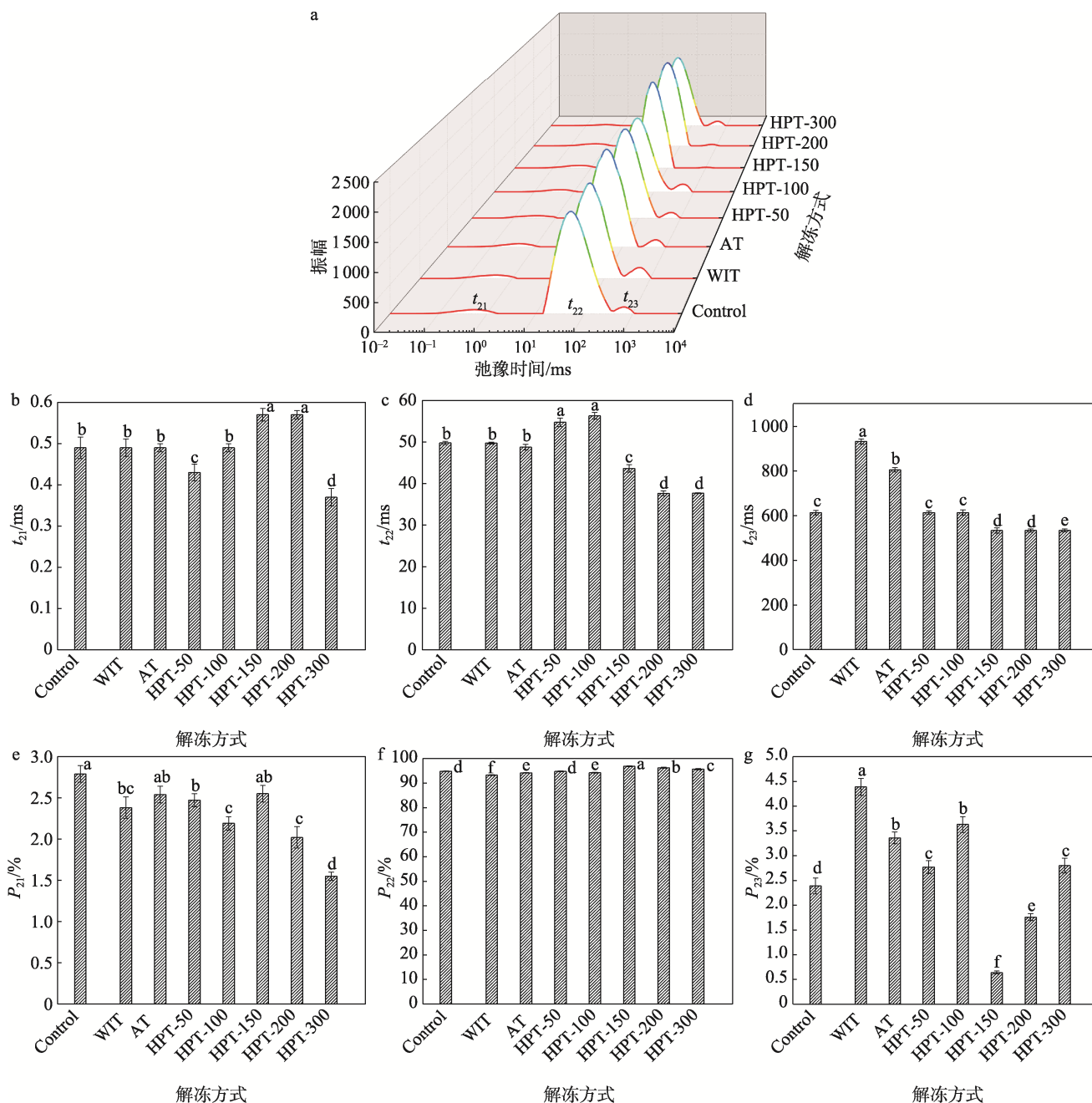


图3 超高压解冻对三文鱼 LF-NMR (a)、 t_{21} (b)、 t_{22} (c)、 t_{23} (d)、 P_{21} (e)、 P_{22} (f)、 P_{23} (g) 的影响

Fig.3 Effects of HPT on LF-NMR (a), t_{21} (b), t_{22} (c), t_{23} (d), P_{21} (e), P_{22} (f) and P_{23} (g) of salmon

超高压解冻组的结合水含量 (P_{21}) 随着压力的升高呈现先增大后减小的趋势 (图 3e), 而 WIT 和 AT 的不易流动水含量 (P_{22}) 显著降低 (图 3f), 自由水含量 (P_{23}) 增加 (图 3g)。说明这 2 种解冻方式下样品不易流动水失水量比其他样品多, 这可能是由于其肌肉纤维束网络被破坏, 造成肌原纤维间的水分转移, 导致部分不易流动水转变为自由水。超高压解冻组正好相反, 其 P_{22} 升高、 P_{23} 降低, 这种现象在 150 MPa 下最明显, 说明这种解冻方式更能维持不易流动水的含量。当压力升高到 300 MPa 水平时, P_{21} 显著降低, 而 P_{23} 显著升高。这可能是由于高压加速了蛋白质结构的展开和疏水基团的暴露, 从而削弱了

水和蛋白质的相互作用^[8]。

2.2 超高压解冻对三文鱼蛋白质变性的影响

2.2.1 羰基

Xia 等^[17]报道了不当的解冻过程 (如较长时间的高温融化或局部过热) 会加速羰基含量的增加, 而羰基含量越高, 表明蛋白质的氧化程度增加。如图 4 所示, 所有解冻样品的羰基含量均高于对照组, HPT 组的羰基含量相较于对照组的增幅为 7.38%~36.63%。超高压解冻样品的羰基含量明显小于常规解冻组, 常规解冻组的羰基含量相较于对照组的增幅高达 43.59%~69.44%。Ali 等^[18]的研究结果同样表明, 冻结

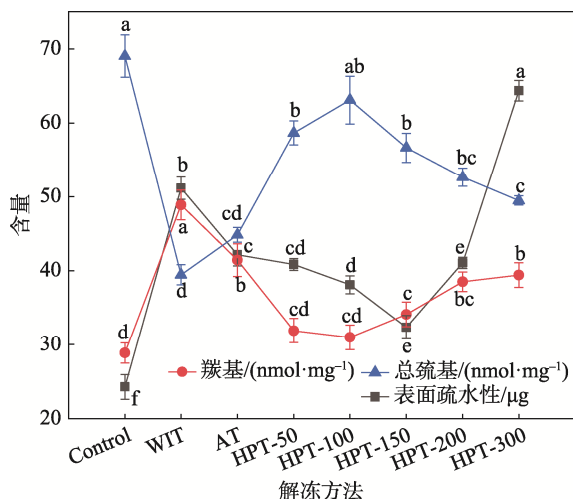


图 4 超高压解冻对三文鱼羰基含量、总巯基含量、表面疏水性的影响

Fig.4 Effects of HPT on carbonyl content, -SH and surface hydrophobicity of salmon

和解冻增加了肌原纤维蛋白的羰基含量。在解冻过程中, 赖氨酸残基的 ϵ -NH₂ 基可通过脱氨反应被蛋白质氧化诱导转化为羰基。这些羰基衍生物随后与可用的 NH₂ 反应, 导致游离氨基含量进一步降低。此外, 丙二醛和蛋白质复合物的生成也可能导致羰基含量的增加。

2.2.2 总巯基

巯基和二硫键是导致蛋白质结构稳定性、易变性等发生变化的主要原因, 总巯基含量反映了蛋白质变性聚合的程度^[17]。如图 4 所示, 所有解冻样品的总巯基含量均低于对照组, HPT 样品的总巯基含量明显大于常规解冻组, 随着压力的升高, 总巯基含量逐渐减小。常规解冻组的总巯基含量约为对照组的 35.03%~41.84%, 超高压解冻组的总巯基含量约为对照组的 8.59%~28.31%。超高压解冻组样品的总巯基含量在 50~100 MPa 阶段有短暂升高的趋势, 随后马上随压力的升高而减小, 表明三文鱼肌原纤维蛋白的构象发生了显著变化, 原来埋藏在蛋白质分子中的半胱氨酸残基(或肌动蛋白分子)上的巯基逐渐暴露出来, 但压力超过 100 MPa 后, 由于暴露出来的巯基与其他基团组合形成了—S—S 键, 且本身存在于蛋白质分子表面的巯基基团在蛋白质氧化重折叠过程中被包围在分子内部, 导致巯基含量逐渐下降, Shi 等^[19]发现了类似的现象。综上所述, HPT-100 或 HPT-150 组三文鱼肌肉中巯基含量较高、羰基含量较低, 这可能是该样品水分分布更稳定的原因。

2.2.3 表面疏水性

表面疏水性是维持蛋白质三级结构的主要作用力, 对蛋白质结构的稳定和功能特性具有重要作用。如图 4 所示, 所有解冻样品的表面疏水性均大于对照组 (24.28 μg), 常规解冻组的增幅最小为 73.64%, 而超高压解冻组的增幅最小为 32.13%。常规解冻组的表面

疏水性明显大于超高压解冻组, 超高压解冻组样品的表面疏水性随压力的升高呈现先减小后增大的趋势, 且 HPT-150 解冻样品与对照组的差距最小。结果表明, 采用 HPT 150 MPa 能有效抑制蛋白质表面疏水性的增加, 增强 MPs 在解冻过程中的水结合能力。

2.2.4 肌原纤维蛋白热稳定性

肌原纤维蛋白 (Myofibrillar protein, MP) 是鱼类产品中一种重要的蛋白质, 主要包括肌凝蛋白、肌浆蛋白和肌动蛋白。如图 5 所示, 可以观察到 3 个主要的吸热峰, 峰 1 表示肌凝蛋白头部, $\theta_{\max 1}$ (40~60 °C); 峰 2 表示肌凝蛋白尾部和肌浆蛋白, $\theta_{\max 2}$ (60~70 °C); 峰 3 表示肌动蛋白, $\theta_{\max 3}$ (70~90 °C)^[20]。 $\theta_{\max}$ 和 ΔH 的变化主要由氢键的断裂引起, 而解冻处理可能导致分子内氢键断裂, 这种由蛋白质变性引起的行为可在一定程度上解释不同处理的样品在质地和水结合能力方面存在差异。

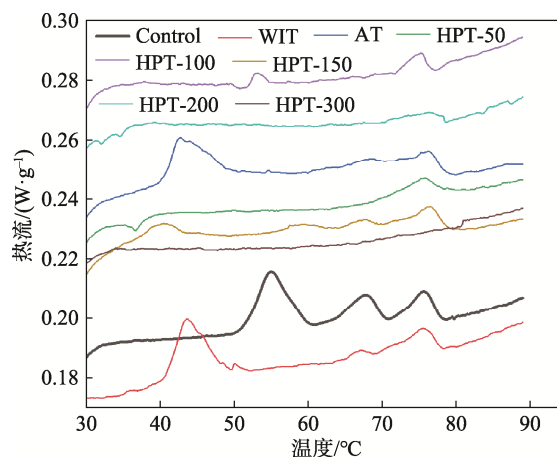


图 5 超高压解冻对三文鱼热稳定性的影响
Fig.5 Effects of HPT on thermal stability of salmon

从表 1 可以看出, $\theta_{\max 1}$ 在 0~150 MPa 下不断增大, HPT 150 MPa 下 $\theta_{\max 1}$ (59.5 °C) 最大, 甚至超过了对照组新鲜样品 (54.9 °C), 增幅达到 8.38%, 说明在此种解冻方式下肌凝蛋白头部的热稳定性得到增强。此外, 与对照组相比, WIT、AT、HPT-150、HPT-200 这几组样品的 $\theta_{\max 2}$ 无显著变化 ($P>0.05$), 说明这几种解冻处理对肌凝蛋白尾部和肌浆蛋白热稳定性无显著影响。当压力达到 300 MPa 时, $\theta_{\max 3}$ 明显下降, 相较于对照组降低了 3.04%, 这表明 300 MPa 可能是引起肌动蛋白变性的压力阈值。由图 5 可见, HPT 组出现了另一个吸热峰 N 峰, $\theta_{\max N}$ 随着压力的升高而增大, 直到压力水平达到 200 MPa 时才明显下降 ($P<0.05$)。这种经高压处理出现新峰的现象在 Liu 等^[21]研究鳕鱼肌肉的处理过程中曾出现。 ΔH_N 的最大值出现在 HPT 150 MPa 下。另外, 当压力增加到 200 MPa 时, Peak1 基本消失, 在 HPT 150 MPa 时 ΔH_2 更接近于对照组, 表明此压力对肌凝蛋白尾部和肌浆蛋白的保存具有良好的效果。结果表明,

表 1 超高压解冻对三文鱼蛋白质的相变温度 ($t_{\max}$) 和相变焓 (ΔH) 的影响

Tab.1 Effects of HPT on $T_{\max}$ and ΔH of salmon protein

样品	$\theta_{\max N}/^{\circ}\text{C}$	$\theta_{\max 1}/^{\circ}\text{C}$	$\theta_{\max 2}/^{\circ}\text{C}$	$\theta_{\max 3}/^{\circ}\text{C}$	$\Delta H_N/(\text{kJ}\cdot\text{kg}^{-1})$	$\Delta H_1/(\text{kJ}\cdot\text{kg}^{-1})$	$\Delta H_2/(\text{kJ}\cdot\text{kg}^{-1})$	$\Delta H_3/(\text{kJ}\cdot\text{kg}^{-1})$
Control		54.9±0.55 ^b	68.4±0.75 ^a	76.4±0.26 ^a		1.806±0.08 ^a	0.400 3±0.01 ^a	0.507 9±0.03 ^a
WIT		43.7±0.35 ^e	67.8±0.70 ^{ab}	75.6±0.45 ^{ab}		1.088±0.13 ^b	0.058 21±0.003 ^c	0.272 4±0.02 ^d
AT		42.7±0.85 ^{ef}	68.6±0.35 ^a	75.9±0.4 ^{ab}		0.951 3±0.03 ^b	0.056 41±0.002 ^c	0.251 1±0.02 ^d
HPT-50	35.2±0.44 ^c	50.4±0.75 ^d	66.7±0.70 ^b	75.7±0.3 ^{ab}	0.2174±0.04 ^c	0.461 1±0.04 ^c	0.049 3±0.003 ^c	0.415 8±0.02 ^b
HPT-100	37.7±0.40 ^b	52.9±0.75 ^c	66.0±0.38 ^b	75.4±0.26 ^b	0.4626±0.04 ^b	0.340 3±0.03 ^c	0.030 86±0.004 ^d	0.382 5±0.01 ^{bc}
HPT-150	39.6±0.32 ^a	59.5±0.42 ^a	67.7±0.75 ^{ab}	76.4±0.36 ^a	0.7197±0.01 ^a	0.135 9±0.04 ^d	0.077 56±0.002 ^b	0.344 5±0.02 ^c
HPT-200	39.3±0.15 ^a	50.5±0.66 ^d	67.6±0.46 ^{ab}	75.3±0.35 ^b	0.2698±0.01 ^c	0.021 7±0.01 ^d	0.011 81±0.004 ^e	0.233 2±0.01 ^d
HPT-300	34.0±0.45 ^d	41.3±0.85 ^f	60.5±0.25 ^c	73.3±0.33 ^c	0.02474±0.01 ^d	0.04356±0.01 ^d	0.01569±0.003 ^e	0.0329±0.01 ^e

注：同列数字上标小写字母表示各组之间存在显著性差异 ($P<0.05$)。

三文鱼肌凝蛋白尾部、肌浆蛋白和肌动蛋白的热稳定性优于肌凝蛋白头部。然而，当压力达到 200 MPa 时，肌凝蛋白和肌浆蛋白的变性温度和变性焓显著降低，说明 200 MPa 是肌凝蛋白和肌浆蛋白变性的关键压力点。综合肌凝蛋白、肌浆蛋白和肌动蛋白的变性温度和变性焓来看，HPT 150 MPa 是维持肌原纤维蛋白最稳定的一种解冻方式。

2.3 超高压解冻对三文鱼微观结构的影响

如图 6 所示，对照组新鲜样品中的肌原纤维清晰可见，排列规律且光滑，无表面不均匀现象，肌周和肌原纤维均未发生断裂或折损。其他解冻样品的肌原纤维都存在一定程度的弯曲和断裂，尤其是 WIT、AT、HPT-200、HPT-300 组解冻样品的肌原纤维表面出现了大量的弯曲交联，肌原纤维的排列更加杂乱无序，

特别是 WIT 组的解冻样品的肌原纤维弯曲并缠绕在一起。可能由于解冻时间较长，WIT 和 AT 组样品的肌膜周围皱褶，肌原纤维空间大，排列松散且紊乱，肌肉的整体表面杂乱粗糙。空隙的存在表明水通道的形成，这将造成三文鱼持水能力的减弱和失水可能性的增加。当压力超过 200 MPa 可以看出，肌原纤维受到机械力的影响，在空间上被严重压缩，更多原本排列规则光滑的条状纤维呈团聚状，随着肌原纤维的团聚也出现了更多的孔洞。马荣荣^[22]研究发现，经 HP 处理的鳗鱼鱼糜的微观结构孔洞变小，但当压力升高到 500 MPa 以上时，鳗鱼鱼糜的表面结构出现了裂痕和空隙，与本文 HPT 处理后期出现的形貌变化一致。当解冻压力为 100 MPa 时，三文鱼解冻样品的肌原纤维结构看起来更粗糙一点，表现为不均匀的凝胶网络，孔隙较大且不规则，失水机会较大，这与前期的核磁结果对应。

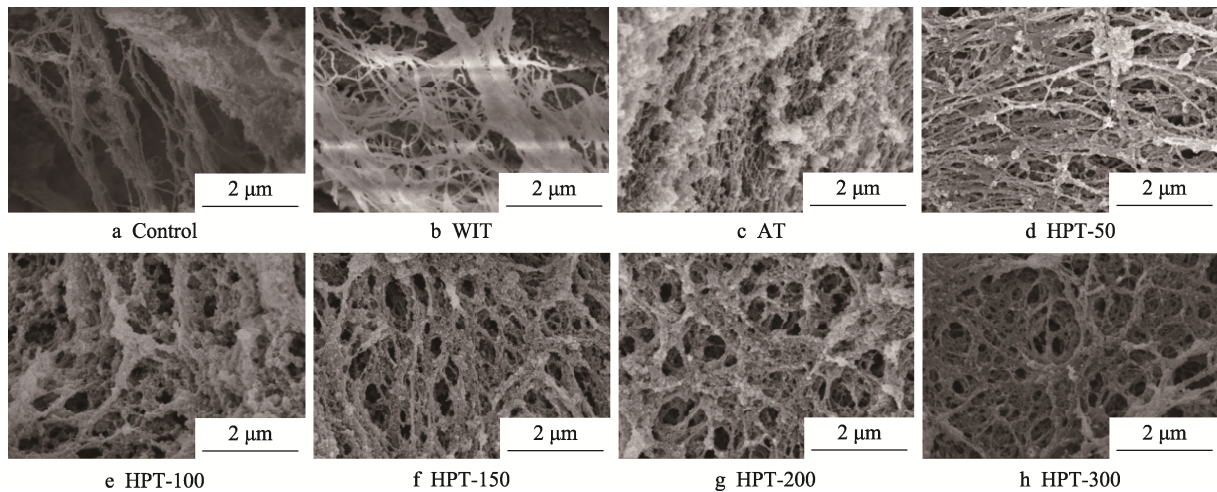


图 6 超高压解冻三文鱼肌原纤维蛋白质的结构
Fig.6 Effects of HPT on microstructure of salmon

3 结论

针对不同解冻方式对三文鱼的水分损失、迁移规律、肌原纤维蛋白空间三级结构及热稳定性的影响进行了实验研究。通过分析发现, HPT 的解冻时间大大缩短, 比 WIT 缩短了 24.15%~57.20%; 随着压力水平的升高, 总水分损失逐渐减小, 显著低于常规解冻方式, 最大降低了 11%; HPT 的 t_{22} 趋于稳定, 并且显著小于 WIT、AT。随着压力的升高, 不易流动水含量 P_{22} 升高、 P_{23} 降低, 尤其在 150 MPa 时最为显著, 说明此种解冻方式更能稳定不易流动水; HPT 对三文鱼肌原纤维蛋白三级结构的影响相较于常规解冻较低, 采用 HPT 150 MPa 时样品的表面疏水性较小、总巯基含量较高、羰基含量较低; HPT 组的蛋白质热稳定性更好, 且 200 MPa 和 300 MPa 分别为肌凝蛋白和肌动蛋白发生明显变性的关键压力点。

综上所述, 在测定超高压解冻三文鱼的水分损失及分布的基础上, 通过对肌原纤维蛋白三级结构及热稳定性的分析, 初步揭示了高压作用下引起蛋白质构象变化和品质特性改变的关系。为蛋白质含量较高的肉产品的解冻加工提供了一定的理论基础和实验依据, 从而在一定程度上指导超高压技术在食品解冻领域的应用, 包括运行参数的设定及优化。

参考文献:

- [1] KAALE L D, EIKEVIK T M, RUSTAD T, et al. Changes in Water Holding Capacity and Drip Loss of Atlantic Salmon (*Salmo Salar*) Muscle during Superchilled Storage[J]. LWT - Food Science and Technology, 2014, 55(2): 528-535.
- [2] CHAN S S, ROTH B, SKARE M, et al. Effect of Chilling Technologies on Water Holding Properties and Other Quality Parameters Throughout the Whole Value Chain: From Whole Fish to Cold-Smoked Fillets of Atlantic Salmon (*Salmo Salar*)[J]. Aquaculture, 2020, 526: 735381.
- [3] HERNÁNDEZ-MARTÍNEZ M, GALLARDO-VELÁZQUEZ T, OSORIO-REVILLA G, et al. Prediction of Total Fat, Fatty Acid Composition and Nutritional Parameters in Fish Fillets Using MID-FTIR Spectroscopy and Chemometrics[J]. LWT - Food Science and Technology, 2013, 52(1): 12-20.
- [4] LI L. Effects of High Pressure Versus Conventional Thawing on the Quality Changes and Myofibrillar Protein Denaturation of Slow/Fast Freezing Beef Rump Muscle[J]. Food Science and Technology, 2022, 42: e91421.
- [5] BARBHUIYA R I, SINGHA P, SINGH S K. A Comprehensive Review on Impact of Non-Thermal Processing on the Structural Changes of Food Components[J]. Food Research International, 2021, 149: 110647.
- [6] 程丽娜. 超高压冷冻中压力及冷冻因素不同作用模式下虾蛋白质变性的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2017.
- [7] CHENG L N. Study on Protein Denaturation of Shrimp Under Different Modes of Pressure and Freezing Factors During Ultrahigh Pressure Freezing[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2017.
- [8] LI J H, SHI J Y, HUANG X W, et al. Effects of Pulsed Electric Field on Freeze-Thaw Quality of Atlantic Salmon[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2020, 65: 102454.
- [9] SÁNCHEZ-ALONSO I, MORENO P, CARECHE M. Low Field Nuclear Magnetic Resonance (LF-NMR) Relaxometry in Hake (*Merluccius Merluccius* L) Muscle after Different Freezing and Storage Conditions[J]. Food Chemistry, 2014, 153: 250-257.
- [10] LI L. Effects of High-Pressure Thawing on the Quality and Myofibrillar Protein Denaturation of Atlantic Salmon[J]. European Food Research and Technology, 2024, 250(6): 1789-1802.
- [11] YANG K, BIAN C H, MA X, et al. Recent Advances in Emerging Techniques for Freezing and Thawing on Aquatic Products' Quality[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2022, 46(9): e16609.
- [12] ZHU S M, SU G M, HE J S, et al. Water Phase Transition under Pressure and Its Application in High Pressure Thawing of Agar Gel and Fish[J]. Journal of Food Engineering, 2014, 125: 1-6.
- [13] CUI Y, XUAN X T, LING J G, et al. Effects of High Hydrostatic Pressure-Assisted Thawing on the Physicochemical Characteristics of Silver Pomfret (*Pampus argenteus*)[J]. Food Science & Nutrition, 2019, 7(5): 1573-1583.
- [14] JIA F, JING Y, DAI R T, et al. High-Pressure Thawing of Pork: Water Holding Capacity, Protein Denaturation and Ultrastructure[J]. Food Bioscience, 2020, 38: 100688.
- [15] SUN Q X, SUN F D, XIA X F, et al. The Comparison of Ultrasound-Assisted Immersion Freezing, Air Freezing and Immersion Freezing on the Muscle Quality and Physicochemical Properties of Common Carp (*Cyprinus Carpio*) during Freezing Storage[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2019, 51: 281-291.
- [16] EDUARDO P, MARIA L. Present and Future of High

- Pressure Processing[M]. Elsevier, Spain, 2020, 405-413.
- [16] CARTAGENA L, PUÉRTOLAS E, MARTÍNEZ DE MARAÑÓN I. Evolution of Quality Parameters of High Pressure Processing (HPP) Pretreated Albacore (*Thunnus Alalunga*) during Long-Term Frozen Storage[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2020, 62: 102334.
- [17] XIA X F, KONG B H, LIU Q, et al. Physicochemical Change and Protein Oxidation in Porcine Longissimus Dorsi as Influenced by Different Freeze-Thaw Cycles[J]. Meat Science, 2009, 83(2): 239-245.
- [18] ALI S, ZHANG W G, RAJPUT N, et al. Effect of Multiple Freeze-Thaw Cycles on the Quality of Chicken Breast Meat[J]. Food Chemistry, 2015, 173: 808-814.
- [19] SHI X J, ZOU H N, SUN S, et al. Application of High-Pressure Homogenization for Improving the Physicochemical, Functional and Rheological Properties of Myofibrillar Protein[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 138: 425-432.
- [20] ZHU M M, ZHANG J, PENG Z Y, et al. Fluctuated Low Temperature Combined with High-Humidity Thawing to Retain the Physicochemical Properties and Structure of Myofibrillar Proteins from Porcine Longissimus Dorsi[J]. LWT, 2021, 142: 111001.
- [21] LIU Z L, 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] 马荣荣. 超高压技术对鳗鱼鱼糜品质和肌原纤维蛋白性能的影响及其关联性的研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2019.
- MA R R. Study on the Influence of High Pressure Technology on the Quality and Myofibrillar Protein Properties of Eel Surimi and Its Correlation[D]. Xiamen: Xiamen University, 2019.