



食品工业科技

Science and Technology of Food Industry

ISSN 1002-0306, CN 11-1759/TS

《食品工业科技》网络首发论文

题目： 臭氧水漂洗对鲑鱼鱼糜品质及肌原纤维蛋白氧化的影响
作者： 李文协，李学鹏，刘慈坤，王金厢，朱文慧，徐永霞，仪淑敏，励建荣，李婷婷，牟伟丽，郭晓华
网络首发日期： 2020-02-26
引用格式： 李文协，李学鹏，刘慈坤，王金厢，朱文慧，徐永霞，仪淑敏，励建荣，李婷婷，牟伟丽，郭晓华. 臭氧水漂洗对鲑鱼鱼糜品质及肌原纤维蛋白氧化的影响. 食品工业科技.
<http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1759.TS.20200226.1039.005.html>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

臭氧水漂洗对鲮鱼鱼糜品质及肌原纤维蛋白氧化的影响

李文协¹, 李学鹏^{1*}, 刘慈坤¹, 王金厢¹, 朱文慧¹, 徐永霞¹, 仪淑敏¹, 励建荣¹,

李婷婷², 牟伟丽³, 郭晓华⁴

(1.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, 国家鱼糜及鱼糜制品加工技术研发分中心, 辽宁 锦州 121013;

2.大连民族大学生命科学院, 辽宁 大连 116600;

3.蓬莱京鲁渔业有限公司, 山东 烟台 265600;

4.山东美佳集团有限公司, 山东 日照 276815)

摘要: 采用不同浓度 (0、2、4、6、8、10 mg/L) 臭氧水对鲮鱼鱼糜进行漂洗处理, 探究其对鲮鱼鱼糜色泽和风味特征以及肌原纤维蛋白氧化效应的影响。结果显示, 经臭氧水漂洗后的鲮鱼鱼糜白度值高于未经臭氧水处理的样品。该漂洗处理明显降低了与腥味相关的芳香族、氨基、短链烷烃、甲基化合物及有机硫化化合物的电子鼻响应值; GC-MS 结果进一步证明: 与对照组 (0 mg/L 臭氧水漂洗的鲮鱼鱼糜) 相比, 臭氧水漂洗的鲮鱼鱼糜中醛类、醇类、烯烃类、硫醚类、烷烃类等挥发性物质含量显著减少。同时, 臭氧水漂洗导致了蛋白质发生一定程度的氧化。随着臭氧水浓度的增加, 肌原纤维蛋白羰基含量逐渐增加, 总巯基含量明显降低。拉曼光谱谱图显示肌原纤维蛋白二级结构发生了变化: α -螺旋转变为 β -折叠、 β -转角、无规则卷曲。色氨酸、酪氨酸以及疏水性氨基酸等残基从蛋白质内部暴露到极性环境中。SDS-PAGE 电泳结果表明臭氧水漂洗的鱼糜肌原纤维蛋白分子间发生一定程度的交联和聚集。总之, 臭氧水漂洗可以改善鲮鱼鱼糜色泽和风味, 同时也能引起肌原纤维蛋白氧化, 导致蛋白质的结构和构象发生改变。

关键词: 臭氧水漂洗, 鲮鱼鱼糜, 色泽, 风味, 蛋白氧化

Effects of ozone water rinsing on the qualities of Spanish mackerel surimi and oxidation of surimi myofibrillar proteins

LI Wen-xie¹, LI Xue-peng^{1*}, LIU Ci-kun¹, WANG Jin-xiang¹, ZHU Wen-hui¹, XU Yong-xia¹,

YI Shu-min¹, LI Jian-rong¹, LI Ting-ting², MOU Wei-li³, GUO Xiao-hua⁴

(1. College of Food Science and Technology, Bohai University, National & Local Joint Engineering Research

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31771999, 31571868), 辽宁省兴辽英才计划项目 (XLYC1807133)

作者简介: 李文协 (1993—), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产品贮藏加工, E-mail: 1603107539@qq.com。

*通信作者: 李学鹏 (1982—), 男, 博士, 教授, 研究方向为水产品贮藏加工, E-mail: xuepengli8234@163.com。

Center of Storage Processing and Safety Control Technology for Fresh Agricultural Products, National R & D
Branch Centre for Surimi and Surimi Products Processing, Jinzhou 121013, China;

2. College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, China;

3. Penglai Jinglu Fishery Co., Ltd., Yantai 265600, China;

4. Shandong Meijia Group Co., Ltd., Rizhao 276815, China)

Abstract: Spanish mackerel surimi was rinsed by different concentrations (0, 2, 4, 6, 8, and 10 mg/L) of ozone water, to investigate its influences on sensory qualities of surimi and oxidation of surimi myofibrillar proteins. The results showed that the whiteness of surimi increased and the electronic nose responses of fishy smell obviously reduced with the increasing concentrations of ozone water after rinsing. The electronic nose responses of fishy smell in surimi, including aromatic, ammonia, short-chain alkane, methyl and organic sulfur compounds, obviously reduced after rinsing by ozone water. The result of GC-MS demonstrated that the contents of volatile compounds in surimi rinsed by ozone water, such as aldehydes, alcohols, olefins, thioethers, alkanes compounds, decreased significantly. The carbonyl contents of myofibrillar proteins in rinsed surimi escalated, while the contents of total sulfhydryl groups decreased remarkably, with the increasing concentrations of ozone water. The Raman spectroscopy indicated that the structure and conformation of myofibrillar proteins suffered changes after rinsing, including the decrease of α -helical relative content, the increase of β -turn, β -sheet, random coil content, and the exposure of tryptophan and tyrosine amino acid residues to the polar environment. SDS-PAGE plot showed that the cross-link and aggregation of myofibrillar proteins occurred in the rinsed surimi. The above results indicated that ozone water rinsing could improve the whiteness and flavor of Spanish mackerel surimi, and also caused oxidation of the myofibrillar protein, which led to the changes of protein structural and conformational properties.

Key words: Ozone water rinsing; Spanish mackerel surimi; color; flavor; protein oxidation

中图分类号: TS254.4 文献标志码: A

近几年,我国鱼糜制品年产量达到 150 多万吨,行业产值规模已超过 200 亿元,成为水产品加工业中发展最快的行业门类之一^[1]。我国鲮鱼的年捕获量约 40 多万吨,是生鲜海水产品中的重要组成部分^[1]。目前鲮鱼主要以鲜销和冻品为主,部分鲮鱼也会被制成咸干制品如熏鲮鱼片,鲮鱼罐头等产品。为了提升鲮鱼的经济价值,常将鲮鱼制作成冷冻鱼糜,但是由于鲮鱼肌肉中的红肉部分含量较高,导致生产的鱼糜色泽较暗,且存在腥味重等问题,严重影响其感官品质和销售范围。

臭氧不仅是一种可直接接触食品、公认安全、广谱高效的杀菌剂,而且因本身具有强氧化性,常在水产品加工中作为漂白剂和脱腥剂使用。Zhang 等^[2]用臭氧水漂洗鲮鱼鱼糜,发现其土腥味物质显著降低。Zhang 等^[3]发现白鲮鱼糜用 8 mg/L 的臭氧水漂洗后白度值提高,而凝胶性能不受影响。目前臭氧水在淡水鱼糜加工方面的研究较多,而其对海水鱼糜的影响仍鲜见报道。此外,由于臭氧在水中可发生氧化还原反应,生成具有较高反应活性的羟自由基、超氧阴离子自由基及氢化臭氧自由基等

多种活性氧自由基, 这些活性氧自由基可作用于蛋白质引发氧化效应, 最终导致半胱氨酸、色氨酸、酪氨酸等氨基酸侧链修饰、蛋白质构象变化、蛋白质交联或降解等变化^[4]。随着臭氧在食品加工中的应用越来越广泛, 臭氧引起的蛋白质氧化也逐渐被关注^[5]。Segat 等^[6]研究了高浓度臭氧处理对乳清分离蛋白结构和功能性质的影响, 发现臭氧处理导致乳清分离蛋白活性巯基含量减少, α -螺旋显著增多, 起泡性显著提高, 而溶解性和乳化性降低。Zhang 等^[7]研究发现适度臭氧处理可以提高鳙鱼肌原纤维蛋白羰基含量和凝胶强度。Jiang 等^[8]发现轻度臭氧处理后鲢鱼肌球蛋白羰基含量、表面疏水性增加, 巯基含量减少, α -螺旋显著减少, 蛋白质结构展开并发生一定的交联。但目前臭氧水漂洗引起的鲑鱼鱼糜肌原纤维蛋白氧化效应尚未见报道。鉴于此, 本研究用不同浓度的臭氧水漂洗鲑鱼鱼糜, 通过分析漂洗前后鲑鱼鱼糜的色泽、风味等感官品质以及肌原纤维蛋白结构性质的变化, 探究臭氧处理对鲑鱼鱼糜品质及其肌原纤维蛋白氧化的影响规律, 以期在臭氧水漂洗在鲑鱼鱼糜品质改良中的应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

冷冻鲑鱼 (体重 0.5-0.6 Kg) 锦州市第一综合农贸市场; 磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、氯化钾、氯化钠、氢氧化钠、硫酸铜、盐酸胍、乙酸乙酯、乙醇、尿素、三氯乙酸 (TCA)、酒石酸钾钠、5,5'-二硫代双 (2-硝基苯甲酸) (5,5'-Dithiobis-(2-nitrobenzoic acid), DTNB)、2,4-二硝基苯肼 (2,4-dinitrophenylhydrazine, DNPH)、乙二胺四乙酸 (Ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)、8-苯胺基-1-萘磺酸铵 (8-Anilino-1-naphthalenesulfonate, ANS)、2(β)-巯基乙醇、三羟甲基氨基甲烷 (Tris)、甘氨酸等均为分析纯 锦州药业集团器化玻有限公司; SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒 北京索莱宝科技有限公司。

Chroma Meter CR 400 色差仪 日本 Konica-Minolta 公司; PEN3 便携式电子鼻系统 德国 Airsense 公司; 固相萃取装置、50/30 μ m DVB/CAR/PDMS 萃取头、20 mL 顶空钳口样品瓶 美国 Supelco 公司; 7890N/5975GC-MS 联用仪 美国 Agilent 公司; DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器 郑州长城科工贸有限公司; UV-2550 紫外可见分光光度计 岛津仪器 (苏州) 有限公司; 970CRT 荧光分光光度计 上海精密科学仪器有限公司; LabRAM HR Evolution 共焦拉曼光谱仪 堀场 (中国) 贸易有限公司; Mini Protran 3 凝胶电泳仪 美国 Bio-Rad 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 臭氧水的制备 参考刘慈坤^[9]的方法, 采用 TK-DJ-S08 型臭氧发生器制备臭氧水, 用碘量法测定臭氧水的浓度, 然后将臭氧水的浓度稀释为 0、2、4、6、8 和 10 mg/L。

1.2.2 鲑鱼鱼糜的制备 把冷冻的鲑鱼流水解冻后去除头部、尾部和内脏淤血等, 用刀沿鱼背部将鱼分成两半, 然后用采肉机将鱼肉与鱼骨、鱼皮分离; 进行第一次漂洗, 按照鱼肉: 冷蒸馏水=1:5 (w/v) 混合搅拌漂洗 15 min, 接着将混合液倒入过滤网兜, 放入脱水机中脱水 2000 r/min, 脱水 5 min; 再用臭氧水进行第二次漂洗, 按照鱼肉: 臭氧水=1:5 (w/v) 混合搅拌漂洗 15 min (先将称量的鱼肉放

入容器中，然后将称量的臭氧水倒入容器中），然后将混合液倒入过滤网兜，放入脱水机中脱水 2000 r/min，脱水 5 min；最后用含有 0.15% NaCl 溶液对鱼肉进行第三次漂洗，按照鱼肉：NaCl 溶液=1:5 (w/v)混合搅拌漂洗 15 min，然后将混合液倒入过滤网兜，放入脱水机中脱水 2000 r/min，脱水 15 min，使鱼糜水分含量在 78%左右。将得到的鱼糜过精滤机，然后过斩拌机加入 4% (w/w) 的白砂糖和 4% (w/w) 山梨糖醇，在 0~4 °C 温度下斩拌 1 min，真空包装放在 -80 °C 冰箱备用。在整个实验过程中，鱼肉样品的温度保持在 10 °C 以下。

1.2.3 鲑鱼鱼糜色泽的测定 将鲑鱼鱼糜放到直径 10 cm 的培养皿中铺展平整，利用 CR-400 色差计测定样品的色泽。首先用标准白板进行校准，在室温下每个样品随机测定 4 个不同位置的色泽作为平行。 L^* 为亮度值； a^* 为红度值（正值表示偏红，负值表示偏绿）； b^* 为黄度值（正值表示偏黄，负值表示偏蓝）。白度值（ W ）由公式（1）计算得到

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

1.2.4 电子鼻测定 准确称取鲑鱼鱼糜样品 5.0 g，放入 50 mL 的离心管中，迅速用 5 层保鲜膜封口，然后置于 4 °C 冰箱中静置 30 min，用于电子鼻检测。检测条件：电子鼻清洗时间为 100 s，测定时间 120 s；顶空温度 25 °C；内部流量 300 mL/min；进样流量 300 mL/min。每个样品重复测定 4 次。主成分分析（Principal Component Analysis, PCA）使用 PEN3 电子鼻的 Win Muster 软件处理稳定后第 105~107 s 的数据信息。

1.2.5 固相微萃取-气相色谱-质谱检测（SPME-GC-MS） 固相微萃取：将 2.5 g 鱼糜样品放入 20 mL 顶空瓶中，加入 6 mL 饱和氯化钠溶液、2 μ L 标准品无水乙醇环己酮（5 mL 无水乙醇+5 μ L 环己酮），立即加盖；将顶空瓶放于 45 °C 水浴磁力搅拌器中平衡 15 min。用已经活化的 DVB/CAR/PDMS 50/30 μ m 萃取针（270 °C 活化 60 min）顶空吸附 40 min，然后将萃取针插入 GC 进样口，解吸 5 min。

气相色谱-质谱分析：参考崔方超等^[10]的方法，气相色谱条件：HP-5MS 毛细管柱（40 m \times 0.25 mm，0.25 μ m）；进样口温度 250 °C；不分流模式进样；载气为 He；流速 1.0 mL/min；程序升温：柱初温 40 °C，保持 2 min，以 4 °C/min 升至 160 °C，保持 1 min 再以 10 °C/min 升至 250 °C，保持 5 min。质谱条件：GC-MS 接口温度 280 °C；离子源温度 230 °C；四极杆温度 150 °C；电离方式：EI；电子能量 70 eV；质量扫描范围 30~550 (m/z)。挥发性物质的定性分析利用 C5~C25 正构烷烃的匹配质谱及对计算机谱库（NIST 11/Wiley 7.0）进行检索。

1.2.6 肌原纤维蛋白的提取 参考刘慈坤^[9]的方法，提取肌原纤维蛋白。采用双缩脲法测定蛋白浓度。

1.2.7 羰基含量 参考 Oliver 等^[11]的方法进行测定。用 10 mmol/L Tris-HCl 缓冲液（含 0.6 mol/L NaCl，pH 7.2）将提取的肌原纤维蛋白配制成 5 mg/mL 蛋白溶液，取 1 mL 肌原纤维蛋白溶液放入 50 mL 塑料离心管并加入 1 mL 10 mmol/L DNPH 溶液（含 2 mol/L HCl），室温条件下避光静置 1 h（每 15 min，振荡一次），添加 3 mL 20%的 TCA 后 10000 r/min 离心 5 min，弃上清液，用 1 mL 乙酸乙酯-乙醇（v/v = 1:1）清洗沉淀 3 次后，加入 5 mL 6 mol/L 盐酸胍溶液，37 °C 保温 30 min 使沉淀溶解，10000 r/min 离心 5 min 去除不溶物，所得溶液于 370 nm 波长下测定吸光度。每个处理组测定 3 次。

1.2.8 总巯基含量 参考 Yongsawatdigul 等^[12]的方法测定总巯基含量。用 10 mmol/L Tris-HCl 缓冲液（含 0.6 mol/L NaCl, pH 7.2）将提取的肌原纤维蛋白配制成 5 mg/mL 蛋白溶液，取 0.5 mL 蛋白溶液加入含有 4.5 mL 50 mmol/L 磷酸缓冲液（含 8 mol/L 尿素、0.6 mol/L KCl、10 mmol/L EDTA, pH 7.0）适当混匀后，加入 0.5 mL 10 mmol/L DTNB，然后将混合液在 25℃保温 30 min，在 412 nm 下测定吸光度。每个处理组测定 3 次。

1.2.9 内源荧光测定 准确量取 5 mg/mL 的蛋白液 1 mL 加入 9 mL 磷酸盐缓冲液(50 mmol/L、pH 7.0)。采用 F96 型荧光分光光度计测定光谱。测定条件为：激发波长 290 nm，扫描范围 300~450 nm，激发狭缝宽度设置为 5 nm，发射缝宽度设置为 10 nm，灵敏度为 3。

1.2.10 表面疏水性测定 参考 Saeed 等^[13]的方法并加以修改。将蛋白样品用 20 mmol/L 的磷酸盐缓冲溶液（含 0.6 mol/L KCl, pH 7.0）稀释至 0.2、0.4、0.6、0.8、1 mg/mL，取上述浓度样品 4 mL，再与 50 μ L 8 mmol/L ANS 混合均匀，避光静置 10 min，荧光分光光度计测定条件为：激发波长 374 nm，扫描范围 400~500 nm，激发狭缝宽度设置为 5 nm，发射缝宽度设置为 10 nm，灵敏度为 2。荧光强度对蛋白浓度作图所得斜率为表面疏水性。每个处理组测定 3 次。

1.2.11 拉曼光谱测定 参考 Shao 等^[14]的方法，采用 LabRAM HR Evolution 拉曼光谱仪测量，获取的拉曼光谱在 400~3600 cm^{-1} 。测试完成后用软件 Labspec5 对光谱进行平滑，根据苯丙氨酸环在 1003 cm^{-1} 附近伸缩振动强度作为内标进行归一化。根据酰胺 I 带的变化，采用 Alix 等^[15]的方法计算蛋白质二级结构（ α -螺旋、 β -折叠、 β -转角和无规则卷曲）含量。并且通过对 760、830、850 cm^{-1} 附近的拉曼谱带的频率和强度的变化来确定三级结构的变化。每个处理组测定 3 次。

1.2.12 SDS-PAGE 参考 Xiong 等^[16]的方法并加以修改，用 10 mmol/L Tris-HCl 缓冲液（含 0.6 mol/L NaCl, pH 7.2）将提取的肌原纤维蛋白配制成 4 mg/mL 蛋白溶液，取样品溶液与样品缓冲液按 1:1(v/v) 比例混合，沸水浴 15 min。制胶后（其中浓缩胶浓度 4%，分离胶浓度 12%），上样 10 μ L，初始电压 80 V，待样品进到分离胶时，在 120 V 恒压下进行凝胶电泳实验。电泳完成后用 0.25% 的考马斯亮蓝染色 40 min，脱色至条带清晰，最后运用 Quantity One 软件进行分析和处理。

1.3 数据分析

采用 SPSS statistics 19.0 软件使用 ANOVA 分析的邓肯检验进行数据显著性差异分析 ($P < 0.05$)，数据绘图使用 Origin 8.5 软件。

2 结果与分析

2.1 臭氧水漂洗对鲮鱼鱼糜色泽的影响

表 1 臭氧水漂洗对鲮鱼鱼糜色泽的影响

Table 1 Effect of ozone water rinsing on the color of Spanish mackerel surimi

臭氧水浓度 (mg/L)	L^*	a^*	b^*	白度值
0	66.43±0.11 ^e	-4.51±0.06 ^a	7.02±0.38 ^b	65.41±0.11 ^e
2	67.48±0.20 ^d	-4.51±0.07 ^a	7.14±0.18 ^b	66.40±0.21 ^d
4	68.04±0.22 ^c	-4.62±0.03 ^b	7.67±0.37 ^a	66.81±0.29 ^c
6	68.64±0.11 ^{ab}	-4.70±0.05 ^c	7.24±0.35 ^b	67.48±0.11 ^a
8	68.82±0.17 ^a	-4.81±0.07 ^d	7.77±0.20 ^a	67.51±0.15 ^a
10	68.54±0.11 ^b	-4.82±0.03 ^d	7.88±0.14 ^a	67.21±0.13 ^b

注：表中数据的形式为平均值±标准误差；同一列中不同小写字母表示为差异显著 ($P<0.05$)。

色泽是评价鱼糜质量的重要指标，高白度值是优质鱼糜的品质特征之一。由表 1 可知，与对照组 (0 mg/L) 相比，臭氧水漂洗后鲮鱼鱼糜亮度和白度有增加 ($P<0.05$)，说明臭氧水漂洗有助于改善鲮鱼鱼糜色泽。颜明月^[17]发现臭氧水浸泡的罗非鱼片白度显著增加，Zhang 等^[3]发现臭氧水漂洗后的鲢鱼鱼糜白度明显增加，刘慈坤^[9]发现草鱼鱼糜经臭氧水漂洗后白度也有所增加，这与本研究结果较为一致。臭氧水漂洗使鱼糜白度增加主要原因是臭氧水自身的强氧化性不仅可去除多数水溶性色素，而且臭氧与水反应产生的活性氧自由基能够破坏肌红蛋白和血红蛋白的卟啉结构^[18]，进而去除动物血液和肌肉中的主要色素物质—血红素。由于 6 mg/L 以上浓度臭氧水漂洗的鲮鱼鱼糜白度值差别不大，表明臭氧水在 6 mg/L 以上浓度时能较好的提高鲮鱼鱼糜白度值。

2.2 臭氧水漂洗对鲮鱼鱼糜气味特征的影响

电子鼻是一种新型电化学传感器系统，可以用于分析、识别和检测挥发性成分。PEN3 电子鼻系统含有 10 个不同的金属氧化半导体传感器 R(1)~R(10)，分别对芳香族化合物、氮氧化合物、氨类、氢化物、短链烷烃、甲基化合物、无机硫化物、醇类、有机硫化物和长链烷烃具有敏感响应。由表 2 可知，所有传感器响应值中，对照组 (0 mg/L) 样品的 R(2)响应值最大，其次是 R(6)、R(5)、R(1)、R(3)、R(10)、R(9)、R(8)响应值。随着臭氧水浓度的增加，R(1)、R(3)、R(5)、R(6) 和 R(9)响应值均显著降低，表明鱼糜中芳香族化合物、氨类、短链烷烃、甲基化合物及有机硫化物含量显著降低，而这些物质均对鱼腥味有贡献，这说明臭氧水漂洗能够有效去除鲮鱼鱼糜的鱼腥味。这一结果主要归因于臭氧的强氧化性导致许多长链有机化合物发生分解^[3]。

表 2 不同浓度臭氧水漂洗对鲮鱼鱼糜的电子鼻传感器响应值的影响

Table 2 Effect of ozone water rinsing on electronic nose sensors response values of Spanish mackerel surimi

传感器	臭氧水浓度 (mg/L)
-----	--------------

序号	0	2	4	6	8	10
R(1)	1.544±0.046 ^a	1.451±0.010 ^b	1.355±0.008 ^c	1.325±0.008 ^{cd}	1.309±0.012 ^{cd}	1.291±0.016 ^{cd}
R(2)	4.750±0.515 ^a	4.986±0.129 ^a	4.239±0.246 ^a	4.402±0.124 ^a	4.505±0.840 ^a	4.356±0.326 ^a
R(3)	1.500±0.039 ^a	1.386±0.020 ^b	1.317±0.012 ^c	1.284±0.008 ^{cd}	1.270±0.006 ^{cd}	1.254±0.012 ^{cd}
R(4)	1.102±0.022 ^a	1.119±0.015 ^a	1.112±0.034 ^a	1.094±0.012 ^a	1.088±0.003 ^a	1.087±0.015 ^a
R(5)	1.876±0.134 ^a	1.521±0.062 ^b	1.421±0.040 ^{bc}	1.339±0.015 ^{cd}	1.320±0.012 ^{cd}	1.285±0.012 ^d
R(6)	2.021±0.115 ^a	1.926±0.029 ^a	1.667±0.020 ^b	1.602±0.003 ^{bc}	1.570±0.032 ^{bc}	1.519±0.046 ^c
R(7)	0.084±0.011 ^c	0.102±0.008 ^b	0.126±0.002 ^a	0.128±0.003 ^a	0.131±0.013 ^a	0.139±0.005 ^a
R(8)	1.427±0.038 ^a	1.424±0.026 ^a	1.332±0.009 ^b	1.337±0.008 ^b	1.334±0.019 ^b	1.319±0.028 ^b
R(9)	1.428±0.044 ^a	1.355±0.024 ^b	1.297±0.004 ^c	1.291±0.014 ^c	1.283±0.017 ^c	1.270±0.012 ^c
R(10)	1.444±0.022 ^b	1.480±0.003 ^a	1.454±0.005 ^b	1.447±0.009 ^b	1.442±0.017 ^b	1.438±0.013 ^b

注：表中数据的形式为平均值±标准误差；同一行中不同小写字母表示为差异显著（ $P<0.05$ ）。

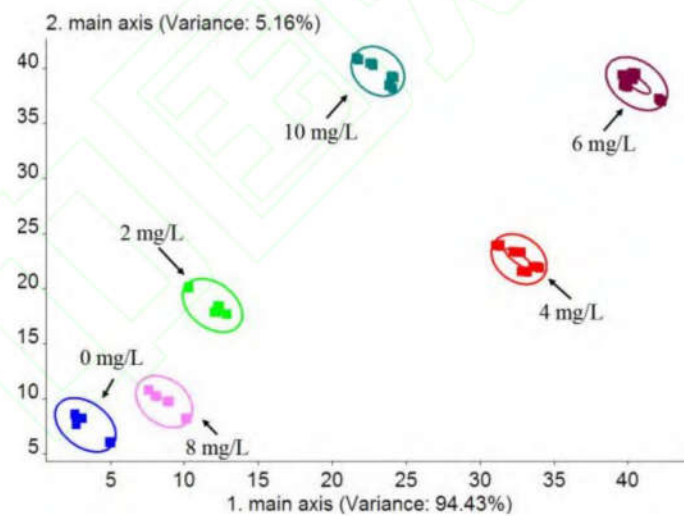


图 1 不同浓度臭氧水漂洗的鲮鱼鱼糜的电子鼻 PCA 图

Fig.1 PCA plot of Spanish mackerel surimi rinsed with different concentrations of ozone water

主成分分析（Principal component analysis, PCA）方法可以识别各组成变量的相关性分析及主要贡献因素。对不同浓度臭氧水漂洗的鱼糜电子鼻数据进行 PCA 分析，由图 1 可知，第一主成分和第二主成分的贡献率分别达到 94.43%和 5.16%，总贡献为 99.59%，大于 85%，符合 PCA 分析要求。不同浓度臭氧水漂洗的鲮鱼鱼糜的气味值分布在不同区域，没有相互重叠且距离较远。这表明电子鼻的主成分分析能够有效区分不同浓度臭氧水漂洗的鲮鱼鱼糜的气味特征，同时说明不同浓度臭氧水漂

洗的鲑鱼鱼糜气味特征具有显著差异。

2.3 臭氧水漂洗对鲑鱼鱼糜挥发性物质的影响

表 3 不同浓度臭氧水漂洗对鲑鱼鱼糜挥发性物质的影响

Table 3 Effect of ozone water rinsing on the volatile compounds of Spanish mackerel surimi

序号	类别	保留时间/min	中文名称	挥发性物质含量 (μg/g)					
				臭氧水浓度 (mg/L)					
				0	2	4	6	8	10
1		4.4518	缩醛	0.365	0.709	0.432	ND	0.973	0.795
2		5.7786	正己醛	17.320	10.115	8.492	11.119	13.826	17.308
3	醛类	7.2783	2-己烯醛	0.185	ND	ND	ND	ND	ND
4		11.7198	正辛醛	1.591	0.711	0.788	1.118	1.075	1.549
5		14.8	壬醛	3.183	2.085	1.630	2.487	2.646	3.414
6	酮类	3.7365	2,3-戊二酮	ND	8.314	6.396	4.359	ND	10.663
7		3.5519	1-戊烯-3-醇	3.218	2.910	2.772	1.960	3.367	4.892
8		7.8088	正丁醇	ND	0.563	ND	ND	ND	ND
9	醇类	7.8896	正己醇	ND	ND	ND	ND	1.326	1.156
10		11.1315	1-辛烯-3-醇	2.899	ND	ND	1.908	1.918	2.115
11		12.5964	2-乙基己醇	1.743	1.002	1.013	1.347	1.260	1.125
12		12.2851	3-环己烯-1-醇	0.547	0.153	ND	ND	ND	0.382
13	烯烃类	12.5274	双戊烯	2.270	0.099	0.101	0.084	0.179	0.136
14		24.4443	1-十六烯	ND	ND	ND	ND	0.078	ND
15		4.5442	二甲基二硫	2.328	ND	ND	ND	0.254	ND
16	硫醚类	10.7046	二甲基三硫	2.062	1.401	ND	ND	0.635	ND
17	酯类	11.3505	硅酸乙酯	1.202	0.560	0.614	ND	ND	ND

18	32.416	邻苯二甲酸双十二酯	0.152	ND	ND	ND	0.056	ND
19	37.942	己二酸二异辛酯	0.188	ND	ND	ND	ND	ND
20	5.0057	甲苯	10.279	ND	ND	ND	ND	ND
21	7.4398	邻二甲苯	0.583	ND	ND	ND	ND	ND
22	芳香类	7.6706	间二甲苯	0.414	ND	ND	ND	ND
23	12.3889	4-异丙基甲苯	0.400	ND	ND	ND	ND	ND
24	25.8634	2,4-二叔丁基苯酚	0.182	ND	ND	ND	ND	ND
25	2.5138	正己烷	22.414	ND	ND	ND	ND	ND
26	8.7204	环庚烷	ND	ND	ND	5.952	6.385	6.149
27	17.5571	十二烷	0.632	ND	ND	ND	ND	ND
28	19.749	正二十烷	0.463	ND	0.102	ND	ND	ND
29	19.7721	正十九烷	ND	ND	ND	ND	0.268	ND
30	20.2798	十三烷	0.409	ND	ND	ND	ND	ND
31	烷烃类	22.8755	十四烷	0.546	ND	ND	ND	ND
32	29.9012	植烷	ND	ND	ND	0.314	ND	1.465
33	29.7858	正十七烷	1.892	ND	ND	1.538	0.793	1.056
34	30.6855	1-碘癸烷	ND	ND	ND	ND	0.130	ND
35	31.4701	正二十四烷	0.259	ND	ND	ND	ND	ND
36	32.6929	正三十一烷	ND	ND	ND	ND	0.047	ND

注：ND 表示未检出。

为进一步验证臭氧水漂洗对鲑鱼鱼糜风味的影响，采用 GC-MS 对不同浓度臭氧水漂洗的鲑鱼鱼糜样品中挥发性物质的种类及含量进行了检测。由表 3 可知，所有鱼糜样品中共鉴定出 36 种挥发性化合物，根据它们的化学性质将其分类，包括 5 种醛类、1 种酮类、5 种醇类、3 种烯烃类、2 种硫醚类、3 种酯类、5 种芳香族化合物和 12 种烷烃类物质。经 0、2、4、6、8 和 10 mg/L 臭氧水漂洗后的鲑鱼鱼糜中检测到的挥发性化合物的数量分别为 27、12、10、11、18 和 14。

随着臭氧水浓度的增加，鲑鱼鱼糜中醛类物质总含量先减少后增加。与对照组（0 mg/L）相比，2、4、6 和 8 mg/L 臭氧水漂洗的鲑鱼鱼糜醛类物质总含量分别减少 39.85%、49.91%、34.98%和 18.21%；

10 mg/L 臭氧水漂洗的鲑鱼鱼糜中醛类物质含量比对照组增加 1.86%，这可能是较高浓度臭氧水导致脂质氢过氧化物的分解和氨基酸的脱氨所致^[19-20]。刘慈坤^[9]发现用 7 或 10 mg/L 臭氧水处理草鱼鱼糜，壬醛和戊醛的峰面积有一定的上升。在醛类物质中己醛含量较多，各样品组己醛含量占醛类总含量的 74%~75%。这一结果和李婷婷等^[21]对三文鱼挥发性物质中己醛含量测定结果相似。康翠翠等^[22]发现草鱼肉中己醛含量很高，其阈值为 4.5 $\mu\text{g/g}$ ，对草鱼肉的风味形成有重要贡献。

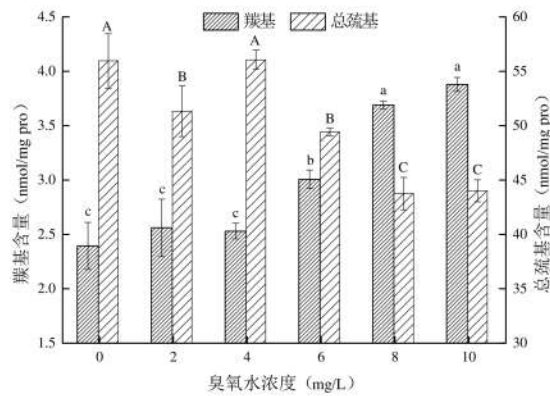
随着臭氧水浓度的增加，鲑鱼鱼糜中醇类物质总含量先减少后增加。与对照组相比，2、4 和 6 mg/L 臭氧水漂洗的鲑鱼鱼糜中醇类物质总含量分别减少 43.07%、51.84%和 33.65%；8 和 10 mg/L 臭氧水漂洗的鲑鱼鱼糜中醇类物质比对照组增加 0.14%和 18.17%。饱和醇阈值高，鲑鱼鱼糜中含量少，对鱼糜气味的影响较弱；不饱和醇阈值较低，对鱼糜气味有影响。1-辛烯-3-醇的阈值很低，可以产生蘑菇气味和土腥味^[23]。Iglesias 等^[24]发现在大西洋竹荚鱼肉中检测到 1-辛烯-3-醇、1-戊烯-3-醇的含量与鱼肉脂肪的过氧化值、硫代巴比妥酸值呈现高度相关。徐永霞等^[25]测定新鲜大菱鲆鱼肉中的 1-辛烯-3-醇、1-戊烯-3-醇的含量明显高于腐败样品。

经过臭氧水漂洗的鲑鱼鱼糜中烯烃类和硫醚类物质与对照组相比明显减少。2、4、6、8 和 10 mg/L 臭氧水漂洗后鲑鱼鱼糜中烯烃类物质分别由对照组的 2.328 $\mu\text{g/g}$ ，降为 0.252、0.101、0.084、0.257 和 0.518 $\mu\text{g/g}$ 。烯烃类物质经氧化后可能产生醛类和酮类物质。

经过臭氧水漂洗的鲑鱼鱼糜中酯类与对照组相比明显减少。酯类物质大多具有水果香味，本研究检测到的酯类物质含量很少，对鱼糜气味影响较小。2 mg/L 以上浓度臭氧水漂洗的鲑鱼鱼糜未检测到芳香类物质。2、4 mg/L 臭氧水漂洗的鲑鱼鱼糜中烷烃类物质很少；与对照组相比，6、8 和 10 mg/L 臭氧水漂洗的鲑鱼鱼糜中烷烃物质分别减少 70.68%、71.36%和 67.42%。烷烃类物质气味阈值高，对鱼糜气味影响很小。

总体来看，一定浓度的臭氧水漂洗能有效地降低鲑鱼鱼糜中鱼腥味物质的种类和含量，有助于改善鱼糜的整体风味，这与电子鼻分析结果基本一致。臭氧水对挥发性化合物的脱除作用可能归因于臭氧水对其直接分解作用，也可能与臭氧破坏肌肉蛋白质与挥发性物质的结合作用有关。鱼糜漂洗过程中，臭氧的强氧化作用一定程度上引发鱼糜蛋白质氧化修饰，导致蛋白质的结构性质发生改变，进一步影响风味物质-蛋白质之间的相互作用。为验证该假说，接下来对臭氧水漂洗后鲑鱼鱼糜肌原纤维蛋白的氧化情况进行了分析。

2.4 臭氧水漂洗对鲑鱼鱼糜肌原纤维蛋白羰基和总巯基含量的影响



注：不同大写字母代表各处理组间总巯基含量差异显著；不同小写字母代表各处理组间羰基含量差异显著。

图 2 臭氧水漂洗对鲷鱼鱼糜肌原纤维蛋白羰基和总巯基含量的影响

Fig.2 Effect of ozone water rinsing on the carbonyl content and total sulfhydryl group content of myofibrillar proteins in Spanish mackerel surimi

氨基酸侧链基团直接氧化成羰基衍生物是蛋白质氧化的主要途径^[26]。许多氨基酸侧链基团容易被氧化剂修饰成羰基衍生物，因此，羰基已经被广泛应用与评估蛋白质氧化修饰程度^[27]。由图 2 可知，随着臭氧水质量浓度的增加，肌原纤维蛋白羰基含量有显著增加的趋势。与对照组相比，2 和 4 mg/L 的臭氧水漂洗鲷鱼鱼糜的肌原纤维蛋白羰基含量增加不显著 ($P>0.05$)；6、8、10 mg/L 的臭氧水漂洗鲷鱼鱼糜的肌原纤维蛋白羰基含量比对照组显著增加 25.63%、54.12%、62.03% ($P<0.05$)。这说明臭氧水漂洗鲷鱼鱼糜能导致其肌原纤维蛋白氨基酸侧链的氧化生成羰基衍生物。Zhang 等^[7]发现臭氧水漂洗后鲷鱼鱼糜的羰基含量显著增加，与本研究结果一致。

由于半胱氨酸对氧化环境有较高的灵敏性，因此巯基含量的变化也常被用作蛋白质氧化的标志^[28]。由图 2 可知，随着臭氧水浓度的增加，肌原纤维蛋白总巯基含量总体呈降低趋势。与对照组相比，2、6、8 和 10 mg/L 臭氧水漂洗的鲷鱼鱼糜肌原纤维蛋白总巯基含量分别降低 8.26%、11.69%、21.81%、21.36% ($P<0.05$)。Zhang 等^[2]用 3.3 和 5.1 mg/L 臭氧水漂洗鲷鱼鱼糜 20 min 后，与对照组 (0 mg/L 漂洗) 相比，测定的肌原纤维蛋白总巯基含量没有显著变化 ($P>0.05$)；然而，用 7.6 mg/L 臭氧水漂洗鲷鱼鱼糜 20 min 后，相较于对照组总巯基含量显著减少 ($P<0.05$)。李学鹏等^[29]研究发现在 4 °C 冷藏的大菱鲆鱼肉肌原纤维蛋白总巯基含量呈降低趋势，并推测与巯基氧化有关。本研究中总巯基含量的减少可能与臭氧和水反应产生的·HO₂和·OH 自由基有关，这些自由基导致巯基氧化形成了二硫键。高浓度臭氧水漂洗的鲷鱼鱼糜肌原纤维蛋白的总巯基含量显著下降，羰基含量显著增加。

2.5 臭氧水漂洗对鲷鱼鱼糜肌原纤维蛋白色氨酸内源荧光强度的影响

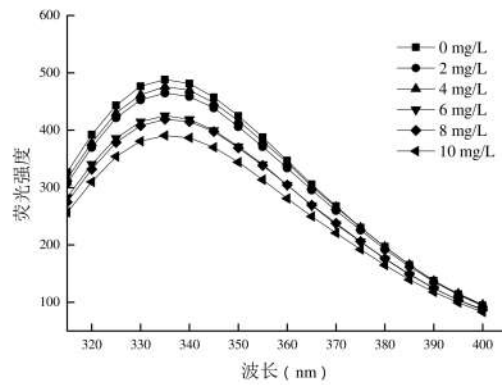
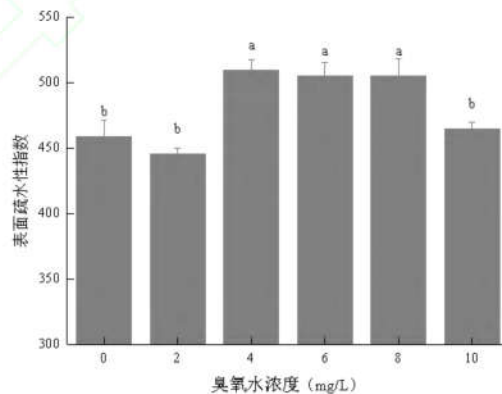


图 3 不同浓度臭氧水漂洗对鲷鱼鱼糜肌原纤维蛋白色氨酸内源荧光强度的影响

Fig.3 Effect of ozone water rinsing on the tryptophan endogenous fluorescence of myofibrillar proteins in Spanish mackerel surimi

多肽和蛋白质中的芳香族氨基酸，如酪氨酸、色氨酸、组氨酸、半胱氨酸和蛋氨酸残基容易被氧化修饰^[5]，进而改变蛋白质的内源荧光特性。其中，色氨酸荧光最强，是最容易被·OH、¹O₂和O₃氧化修饰的氨基酸之一，因此内源性色氨酸荧光通常用作检测蛋白质构象变化的标记物^[5, 30-31]。由图3可知，鲷鱼鱼糜肌原纤维蛋白在335 nm处有最大荧光吸收。与对照组相比，2、4 mg/L臭氧水漂洗的鲷鱼鱼糜肌原纤维蛋白内源荧光强度有少许降低；6、8和10 mg/L臭氧水处理组内源荧光强度明显减少。内源荧光强度的降低可能是臭氧的强氧化性破坏了肌原纤维蛋白的构象，导致蛋白质发生去折叠和展开，色氨酸残基暴露在极性环境中，并发生一定程度的荧光猝灭。李学鹏等^[32]发现羟基自由基氧化的草鱼肌原纤维蛋白的内源荧光强度，随着H₂O₂浓度的增加而显著降低。随着臭氧水浓度的增加，肌原纤维蛋白内源荧光强度呈显著降低趋势。

2.6 臭氧水漂洗对鲷鱼鱼糜肌原纤维蛋白表面疏水性的影响



注：不同小写字母代表各处理组间表面疏水性指数差异显著。

图 4 不同浓度臭氧水漂洗对鲛鱼鱼糜肌原纤维蛋白表面疏水性指数的影响

Fig.4 Effect of different contents of ozone water rinsing on the hydrophobicity of myofibrillar proteins in Spanish mackerel surimi

蛋白质的表面疏水性可用来评价蛋白质构象变化^[33]。在紫外光照射下，荧光探针 ANS 和肌原纤维蛋白质疏水性残基结合后能发生强荧光效应，利用此原理测定肌原纤维蛋白表面疏水性灵敏度较高。由图 4 可知，随着臭氧水浓度的增加，肌原纤维蛋白表面疏水性指数先增加后减少。与对照组相比，4、6 和 8 mg/L 臭氧水漂洗的鲛鱼鱼糜肌原纤维蛋白表面疏水性指数显著增加了 10.99%、10.06%和 10.09% ($P<0.05$)，而 10 mg/L 臭氧水漂洗样品表面疏水性指数又略有下降。这一结果可能是较低浓度臭氧水处理导致鲛鱼鱼糜肌原纤维蛋白分子内部的疏水性基团暴露，导致疏水性结合位点增加；而过高浓度的臭氧水导致肌原纤维蛋白分子的疏水性基团过度暴露，疏水相互作用增强，疏水性基团相互吸引，从而遮盖一些疏水性结合位点，使疏水性降低。Duan 等^[34]发现温和氧化导致蛋清蛋白的疏水性基团暴露，而过度氧化导致蛋清蛋白的表面疏水性减低。臭氧水漂洗可能导致鲛鱼鱼糜肌原纤维蛋白分子内部疏水基团暴露，增强蛋白分子间的疏水相互作用。

2.7 臭氧水漂洗对鲛鱼鱼糜肌原纤维蛋白二级结构的影响

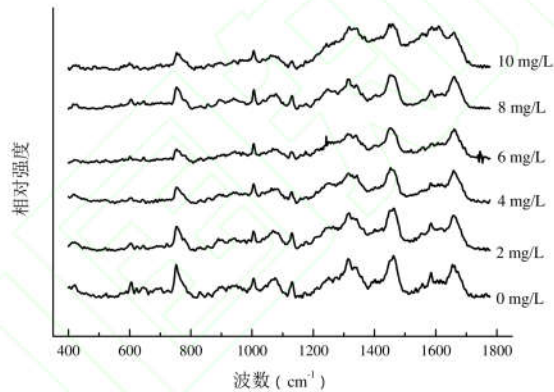


图 5 不同浓度臭氧水漂洗的鲛鱼鱼糜肌原纤维蛋白拉曼光谱图

Fig.5 Raman spectrum of myofibrillar proteins in Spanish mackerel surimi rinsed treated by different concentration of ozone water

表 4 不同浓度臭氧水漂洗对鲛鱼鱼糜肌原纤维蛋白的二级结构的影响

Table 4 Effect of ozone water rinsing on the secondary structures of myofibrillar proteins in Spanish mackerel surimi

臭氧水浓度 (mg/L)	二级结构含量 (%)				1760/11003	1850/1830
	α-螺旋	β-折叠	β-转角	无规则卷曲		
0						
2						
4						
6						
8						
10						

0	66.27±3.81 ^a	10.79±2.96 ^c	13.39±0.61 ^c	9.55±0.24 ^c	1.74±0.08 ^a	0.87±0.10 ^c
2	56.36±6.24 ^b	18.48±4.85 ^b	14.98±1.00 ^b	10.18±0.40 ^b	1.22±0.06 ^b	1.24±0.05 ^{ab}
4	50.94±3.15 ^{bc}	22.69±2.45 ^{ab}	15.85±0.51 ^{ab}	10.52±0.20 ^{ab}	0.90±0.08 ^c	1.37±0.19 ^{ab}
6	45.49±3.14 ^c	26.92±2.43 ^a	16.72±0.50 ^a	10.87±0.20 ^a	0.73±0.04 ^d	1.33±0.11 ^{ab}
8	47.30±0.00 ^c	25.52±0.00 ^a	16.43±0.00 ^a	10.75±0.00 ^a	1.14±0.01 ^b	1.13±0.02 ^{bc}
10	52.74±5.43 ^{bc}	21.29±4.22 ^{ab}	15.56±0.87 ^{ab}	10.41±0.34 ^{ab}	0.92±0.05 ^c	1.53±0.11 ^a

注：表中数据的形式为平均值±标准误差；同一列中不同小写字母表示为差异显著（ $P<0.05$ ）。

拉曼光谱是振动光谱，可以反映二硫键、氢键等重要化学键的相关信息，也可以显示蛋白肽链骨架、侧链所处的微观环境等化学信息。蛋白质主链中的酰胺 I（1600~1700 cm^{-1} ）和酰胺 III（1200~1350 cm^{-1} ）是重要的拉曼谱带，常被用来分析和定量蛋白质的二级结构^[35]。拉曼光谱图一般由苯丙氨酸的特征峰 1003 cm^{-1} 附近的谱带归一化得到。不同浓度臭氧水漂洗的鲑鱼鱼糜肌原纤维蛋白拉曼光谱如图 5 所示，采用 Alix 公式计算不同处理组的蛋白二级结构含量如表 4 所示。

由表 4 可以看出，经过臭氧水漂洗的鲑鱼鱼糜肌原纤维蛋白二级结构发生了变化。与对照组（0 mg/L）相比，2、4、6 和 8 mg/L 臭氧水漂洗的鲑鱼鱼糜肌原纤维蛋白二级结构 α -螺旋含量随臭氧水浓度增加而显著减少（ $P<0.05$ ）， β -折叠、 β -转角、无规则卷曲含量则显著增加（ $P<0.05$ ）；而 10 mg/L 臭氧水漂洗后鲑鱼鱼糜肌原纤维蛋白二级结构 α -螺旋含量略有增加， β -折叠、 β -转角、无规则卷曲含量略有减少。这说明臭氧水漂洗引起鲑鱼鱼糜肌原纤维蛋白构象发生变化， α -螺旋逐渐转变为 β -折叠等，蛋白结构稳定性也随之下降。Jiang 等^[8]用臭氧氧化肌球蛋白发现随着臭氧氧化时间的增加，肌球蛋白 α -螺旋含量减少， β -折叠、 β -转角、无规则卷曲含量增加。

在拉曼光谱中 760 cm^{-1} 附近的条带，可以表明色氨酸残基的伸缩振动的变化。色氨酸残基从蛋白分子内部疏水环境暴露到极性亲水环境，拉曼光谱中 760 cm^{-1} 附近的条带峰值降低^[36]。与对照组相比，经过臭氧水漂洗的鲑鱼鱼糜肌原纤维蛋白的 1760/11003 值显著降低，这表明色氨酸残基从蛋白分子内部暴露到极性亲水环境，与色氨酸内源荧光的分析结果一致。

酪氨酸双峰比值（I850/I830）可用于鉴定酪氨酸残基微环境的变化，如酪氨酸残基的暴露或包埋。当酪氨酸残基暴露时，在 850 cm^{-1} 处的峰值高于 830 cm^{-1} 处的峰值；当酪氨酸包埋在蛋白分子内部时，在 850 cm^{-1} 处的峰值低于 830 cm^{-1} 处的峰值^[37]。与对照组比较，经过臭氧水漂洗的鲑鱼鱼糜肌原纤维蛋白的 I850/I830 值明显增加，表明臭氧水漂洗使鲑鱼鱼糜肌原纤维蛋白酪氨酸残基暴露于极性环境。臭氧水漂洗导致鲑鱼鱼糜肌原纤维蛋白二级结构 α -螺旋降低， β -折叠、 β -转角、无规则卷曲含量增加，色氨酸残基和酪氨酸残基从蛋白分子内部疏水环境暴露到亲水环境。

2.8 臭氧水漂洗对鲑鱼鱼糜肌原纤维蛋白交联和聚集的影响

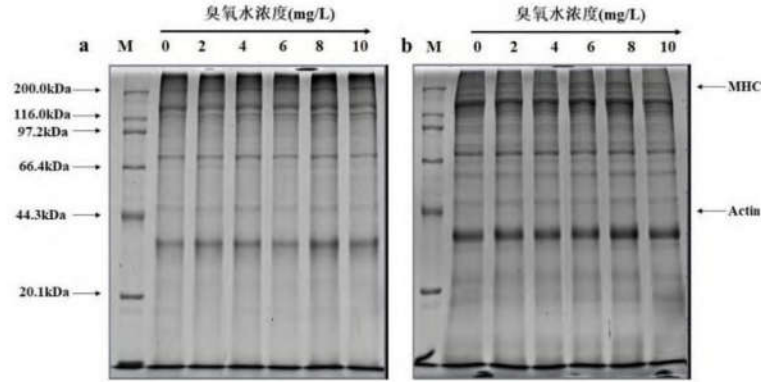


图 6 不同浓度臭氧水漂洗的鲛鱼鱼糜肌原纤维蛋白 SDS-PAGE 图

Fig.6 The SDS-PAGE of myofibrillar proteins in Spanish mackerel surimi rinsed with different concentration of ozone water.

注：a-未加 β -巯基乙醇；b-加 β -巯基乙醇；M-标准蛋白；MHC-肌球蛋白重链；Actin-肌动蛋白

凝胶电泳可以分析不同浓度臭氧水漂洗后鱼糜肌原纤维蛋白亚基的结构变化。图 6 显示了未还原和 β -巯基乙醇还原状态下不同处理鲛鱼鱼糜肌原纤维蛋白的 SDS-PAGE 图谱。由 6 图可知，随着臭氧水浓度的增加，肌球蛋白重链（Mysion heavy chain, MHC）条带减弱，分离胶顶端 >200 kDa 蛋白聚集体明显增多（图 6a）。经过 β -巯基乙醇还原后蛋白形成的 >200 kDa 蛋白聚集体消失，肌球蛋白重链、肌动蛋白（Actin）的条带颜色加深（图 6b）。该结果表明臭氧水处理导致鲛鱼鱼糜肌原纤维蛋白分子之间发生了一定程度的交联和聚集，形成分子质量大的聚集体，这种交联和聚集现象主要归因于蛋白质氧化形成的二硫键作用。此外，SDS-PAGE 图中未发现明显的蛋白质降解片段，这说明臭氧水漂洗引起的氧化对鱼糜肌原纤维蛋白没有明显降解作用。Zhang 等^[2]用臭氧水漂洗鲢鱼鱼糜，电泳结果表明肌原纤维蛋白也没有发生降解。

3 结论

臭氧水漂洗有助于改善鲛鱼鱼糜的色泽和风味。随着臭氧水浓度的增加，鲛鱼鱼糜亮度和白度均显著增加，色泽改善；同时电子鼻和 GC-MS 分析结果也显示不同浓度臭氧水处理组的鲛鱼鱼糜气味特征具有显著差异，漂洗后鲛鱼鱼糜中醛类、醇类、烯烃类、硫醚类、烷烃类等挥发性物质含量显著减少。另外，臭氧水漂洗后的鲛鱼鱼糜肌原纤维蛋白发生了一定程度的氧化，并引起蛋白质结构和构象的变化。随着臭氧水浓度的增加，肌原纤维蛋白羰基含量显著增加、总巯基含量显著减少、内源荧光强度显著下降、表面疏水性增加；而且肌原纤维蛋白二级结构中 α -螺旋含量显著减少， β -折叠、 β -转角、无规则卷曲含量显著增加，色氨酸残基和酪氨酸残基从蛋白内部暴露到极性亲水环境。SDS-PAGE 电泳结果表明臭氧氧化导致肌原纤维蛋白分子间发生一定程度的交联和聚集，形成 >200 kDa 的聚集体，二硫键是交联和聚集的主要作用方式。

参考文献

[1] 农业农村部渔业渔政管理局. 2019 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2019.

- [2] Zhang T, Xue Y, Li Z, et al. Effects of ozone on the removal of geosmin and the physicochemical properties of fish meat from bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*)[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2016, 34: 16-23.
- [3] Zhang R, Xiong S, You J, et al. Effects of ozone treatments on the physicochemical changes of myofibrillar proteins from silver carp (*hypophthalmichthys molitrix*) during frozen storage[J]. Journal of Food Quality, 2017, 2017: 1-9.
- [4] Uzun H, Ibanoglu E, Catal H, et al. Effects of ozone on functional properties of proteins[J]. Food Chemistry, 2012, 134(2): 647-654.
- [5] Sharma V K S, Graham N J D G. Oxidation of Amino Acids, Peptides and Proteins by Ozone: A Review[J]. Ozone-science & Engineering, 2010, 32(2): 81-90.
- [6] Segat A, Misra N N, Fabbro A, et al. Effects of ozone processing on chemical, structural and functional properties of whey protein isolate[J]. Food Research International, 2014, 66: 365-372.
- [7] Zhang T, Xue Y, Li Z, et al. Effects of ozone-induced oxidation on the physicochemical properties of myofibrillar proteins recovered from bighead carp (*hypophthalmichthys nobilis*)[J]. Food and Bioprocess Technology, 2014, 8(1): 181-190.
- [8] Jiang W, He Y, Xiong S, et al. Effect of Mild Ozone Oxidation on Structural Changes of Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) Myosin[J]. Food and Bioprocess Technology, 2016, 10(2): 370-378.
- [9] 刘慈坤. 臭氧介导的肌原纤维蛋白质氧化对草鱼鱼糜凝胶持水性的影响机制研究[D]. 锦州: 渤海大学, 2019: 10-20.
- [10] 崔方超, 李婷婷, 杨兵, 等. 电子鼻结合 GC-MS 分析草鱼脱腥前后风味变化[J]. 食品科学, 2014, 35(20): 126-130.
- [11] Oliver C N, Ahn B W, Moerman E J, et al. Age-related changes in oxidized proteins[J]. Journal of Biological Chemistry, 1987, 262(12): 5488-5491.
- [12] Yongsawatdigul J, Park J W. Thermal denaturation and aggregation of threadfin bream actomyosin[J]. Food Chemistry, 2003, 83(3): 409-416.
- [13] Saeed S, Howell N K. Rheological and differential scanning calorimetry studies on structural and textural changes in frozen Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*)[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2004, 84(10): 1216-1222.
- [14] Shao J-H, Zou Y-F, Xu X-L, et al. Evaluation of structural changes in raw and heated meat batters prepared with different lipids using Raman spectroscopy[J]. Food Research International,

2011, 44(9): 2955-2961.

- [15] Alix A J P, Pedanou G, Berjot M. Fast determination of the quantitative secondary structure of proteins by using some parameters of the Raman Amide I band[J]. *Journal of Molecular Structure*, 1988, 174: 159-164.
- [16] Xiong Y L, Park D, Ooizumi T. Variation in the Cross-Linking Pattern of Porcine Myofibrillar Protein Exposed to Three Oxidative Environments[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(1): 153-159.
- [17] 颜明月. 臭氧水处理对罗非鱼片蛋白质和脂质氧化及品质的影响[D]. 南宁: 广西大学, 2019: 17-19.
- [18] Chen H-H. Decoloration and Gel-forming Ability of Horse Mackerel Mince by Air-flotation Washing[J]. *Journal of Food Science*, 2006, 67(8): 2970-2975.
- [19] Giri A, Osako K, Ohshima T. Identification and characterisation of headspace volatiles of fish miso, a Japanese fish meat based fermented paste, with special emphasis on effect of fish species and meat washing[J]. *Food Chemistry*, 2010, 120(2): 621-631.
- [20] Deng Y, Luo Y, Wang Y. Effect of different drying methods on the myosin structure, amino acid composition, protein digestibility and volatile profile of squid fillets[J]. *Food Chemistry*, 2015, 171: 168-176.
- [21] 李婷婷, 丁婷, 邹朝阳, 等. 顶空固相微萃取-气质联用技术结合电子鼻分析 4℃冷藏过程中三文鱼片挥发性成分的变化[J]. *现代食品科技*, 2015, 31(2): 249-260.
- [22] 康翠翠, 施文正, 方林, 等. 不同冻结方式对草鱼肉挥发性成分的影响[J]. *食品科学*, 2018, 39(14): 229-235.
- [23] Jiang J-J, Zeng Q-X, Zhu Z-W. Analysis of Volatile Compounds in Traditional Chinese Fish Sauce (Yu Lu)[J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2011, 4(2): 266-271.
- [24] Iglesias J, Medina I. Solid-phase microextraction method for the determination of volatile compounds associated to oxidation of fish muscle[J]. *Journal of Chromatography A*, 2008, 1192(1): 9-16.
- [25] 徐永霞, 刘滢, 姜程程, 等. 电子鼻结合气质联用法分析大菱鲆冷藏过程中挥发性成分变化[J]. *食品与发酵工业*, 2014, 40(1): 193-197.
- [26] Stadtman E R. Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: Biochemical mechanism and biological consequences[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 1990, 9(4): 315-325.
- [27] Estévez M. Protein carbonyls in meat systems: A review[J]. *Meat Science*, 2011, 89(3): 259-279.

- [28] Lund M, Heinonen M, Baron C, et al. Protein oxidation in muscle foods: A review[J]. *Molecular nutrition & food research*, 2011, 55: 83-95.
- [29] 李学鹏, 陈杨, 王金厢, 等. 冷藏大菱鲆新鲜度评价辅助蛋白指标和指示物[J]. *中国食品学报*, 2018, 18(4): 193-202.
- [30] Davies M J. Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2003, 305(3): 761-770.
- [31] Davies M J. The oxidative environment and protein damage[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 2005, 1703(2): 93-109.
- [32] 李学鹏, 刘慈坤, 周明言, 等. 羟自由基氧化对草鱼肌原纤维蛋白结构和凝胶性质的影响[J]. *食品科学*, 2017, 38(21): 30-37.
- [33] Santé-Lhoutellier V, Astruc T, Marinova P, et al. Effect of Meat Cooking on Physicochemical State and in Vitro Digestibility of Myofibrillar Proteins[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(4): 1488-1494.
- [34] Duan X, Li M, Shao J, et al. Effect of oxidative modification on structural and foaming properties of egg white protein[J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 75: 223-228.
- [35] Zhou Y, Zhao D, Foster T J, et al. Konjac glucomannan-induced changes in thiol/disulphide exchange and gluten conformation upon dough mixing[J]. *Food Chemistry*, 2014, 143(2): 163-169.
- [36] Li-Chan E C Y. The applications of Raman spectroscopy in food science[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 1996, 7(11): 361-370.
- [37] Herrero A M. Raman Spectroscopy for Monitoring Protein Structure in Muscle Food Systems[J]. *Critical reviews in food science and nutrition*, 2008, 48(6): 512-523.