

超声辅助冷冻对鸡胸肉肌原纤维蛋白乳化稳定性的影响

张 潮，吴宇桐，孔保华*

（东北农业大学食品学院，黑龙江 哈尔滨 150030）

摘要：本文研究了不同冷冻方法，包括空气冷冻、浸渍冷冻和不同超声功率（125、165、205 和 245 W）超声辅助冷冻对鸡胸肉肌原纤维蛋白乳化稳定性的影响。测定了肌原纤维蛋白的溶解度、浊度、粒径、电位和乳状液乳化活力指数。结果表明：采用适当功率（165 W）的超声辅助冷冻的原料肉，其肌原纤维蛋白的乳化稳定性显著高于其他各组（ $P < 0.05$ ），具体表现为样品具有较高的溶解度和乳化活力指数，以及较低的电位、浊度、面积平均粒径 D_{32} 和体积平均粒径 D_{43} （ $P < 0.05$ ）。但是，过高的超声功率（245 W）会导致蛋白质发生聚集变性，进而造成肌原纤维蛋白乳化稳定性降低。上述结果表明，采用适当功率（165 W）的超声辅助冷冻有助于保持冷冻鸡胸肉肌原纤维蛋白乳化稳定性，为超声辅助冷冻在肉制品中的应用提供理论依据。

关键词：鸡胸肉；超声辅助冷冻；肌原纤维蛋白；乳化；稳定性

Effect of Ultrasound-assisted Freezing on Emulsifying Stability of Myofibrillar Protein of Chicken Breast

ZHANG Chao, WU Yutong, KONG Baohua*

(College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: The aim of this study was to investigate the effects of different freezing methods, including air freezing, immersion freezing and different ultrasound power (125, 165, 205 and 245 W), on the emulsion stability of chicken breast myofibrillar protein. The changes trend of solubility, turbidity, particle size, potential and emulsifying activity index of myofibrillar protein were measured. The results showed that the emulsifying stability of myofibrillar protein with appropriate power (165 W) was significantly higher than that in other groups ($P < 0.05$), especially the higher solubility and emulsifying activity index, and lower potential, turbidity, area average particle size D_{32} and volume average particle size D_{43} ($P < 0.05$). However, excessive ultrasound power (245 W) caused aggregation and denaturation of proteins, which in turn lead to reduced emulsion stability of myofibrillar

基金项目：“十三五”国家重点研发计划项目（2018YFD0401200）

第一作者简介：张潮(1993-)，女，硕士研究生，研究方向：畜产品加工。E-mail: zhangchao323323@163.com

通讯作者简介：孔保华(1963-)，女，教授，博士生导师，研究方向：畜产品加工。E-mail: kongbh@163.com

DOI: 0000-0001-5474-9488.

proteins. The results indicated that ultrasound-assisted freezing with appropriate power (165 W) can maintain the emulsion stability of frozen chicken breast myofibrillar protein, and provide a theoretical basis for the application of ultrasound-assisted freezing in meat products.

Key words: Chicken breast; Ultrasound-assisted freezing; Myofibrillar protein; Emulsifying; Stability

中图分类号: TS251.1

文献标识码: A

DOI: 10.7506/spkx1002-6630-20190817-189

冷冻储藏是保藏鸡肉及其制品最常用的方法之一。通过冷冻可以抑制微生物的生长,最大限度的保持肌肉原有的风味和品质。然而冷冻过程会对肌肉中的肌原纤维蛋白造成许多负面影响,例如冷冻后的肌原纤维蛋白溶解度下降,蛋白质间发生变性聚集等^[1-3]。而造成这一现象主要原因是与冷冻过程中形成冰晶的大小和分布状态有关。在慢速冷冻(主要包括空气冷冻和板式冷冻)过程中,由于细胞外溶液浓度低,因此首先在细胞外冻结形成冰晶^[4],这使得细胞内外存在渗透压。在渗透压的作用下细胞内的水分不断向冰晶移动,最终形成大且分布不均匀的冰晶。这些大冰晶会对肌肉组织产生不可逆的破坏,甚至导致蛋白质变性^[5]。而在快速冷冻过程中,由于冰晶的形成速度大于水蒸汽扩散速度,因此会在细胞内外形成无数小冰晶。这些小冰晶的分布状态接近天然食品的分布状态,故对细胞组织破坏性较小^[6]。近年来,在食品冷冻领域出现了许多通过提高冷冻速率来改善冷冻食品质量的新型冷冻技术,例如高压冷冻^[7]、射频辅助冷冻^[8]和超声辅助冷冻^[9-10]等。

超声辅助冷冻在食品冷冻方面已经得到关注,其主要原理是超声波在传播过程中,由于正负压交替会产生大量空化气泡,当空化气泡体积增加到一定尺寸时其可以作为晶核促进冰晶形成。然而当空化气泡体积进一步增大时,气泡会变得不稳定,最终部分气泡破裂,破裂的瞬间会产生强烈的冲击波和微射流^[11]。空化气泡破裂产生的微射流不仅会带来剧烈的搅动,加快传热传质,而且还可以将溶液中已存在的大冰晶打碎形成无数小冰晶碎片,这些碎片又可以作为新的晶核促进冰晶的重结晶,从而降低了溶液过冷度,缩短了冷冻时间^[12]。已有一些研究发现超声辅助冷冻在对水果蔬菜等领域有显著的冷冻效果。如 Xu 等人^[7]研究发现与空气冷冻和浸渍冷冻相比,超声辅助冷冻(0.26 W/cm²)对萝卜冷冻时间分别缩短了 90%和 14%;Hu 等人^[13]对面团采用超声功率为 360 W 的超声辅助冷冻时也发现了类似现象。此外,Sun 等人^[14]还研究了冷冻后马铃薯组织微观结构,结果发现,经过超声辅助冷冻的马铃薯细胞间隙较小,细胞组织结构较为完整,表明超声辅助冷冻对马铃薯破组织结构破坏性较小。目前有关超声辅助冷冻在肉制品领域的应用主要集中在对冷冻速率及肉制品品质方面^[15],而超声波对蛋白质结构及乳化性影响方面的研究还较少。因此本试验以鸡胸肉作为研究对象,研究了 4 种不同超声功率(125、165、205 或 245 W)冷冻和空气冷冻以及浸渍冷冻对鸡胸肉肌原纤维蛋白乳化稳定性的影响,为超声辅助冷冻在肉品中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 仪器与设备

超声辅助冷冻机 南京先欧仪器设备有限公司; AT-S45 温度采集器 江苏常州安柏仪器有限公司; FE20K pH 计 上海梅特勒-托利多仪器设备有限公司; JD500-2 电子天平 沈阳龙腾电子称量仪器有限公司; AL-104 型精密电子天平 上海梅特勒-托利多仪器设备有限公司; UT-1800 紫外可见分光光度计 北京普析通用仪器有限公司; GL-21M 冷冻离心机 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; T18 匀浆机 德国 IKA 公司; 马尔文激光粒度仪 英国马尔文公司。

1.1.2 材料与试剂

选取大小、薄厚、颜色相近的新鲜鸡胸肉（雄性肉鸡，饲养时间 60 d）一次性购于哈尔滨农贸市场。

乙二胺四乙酸（ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA）购于美国 Sigma 公司、哌嗪-N,N'-双-2-乙磺酸（piperazine-N,N'-bis-2-ethanesulphonic acid, PIPES）购于上海易恩化工技术有限公司、十二烷基硫酸钠（sodium dodecyl sulfate, SDS）购于美国 Sigma 公司；所有试剂均为分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 鸡胸肉样品的制备

将新鲜鸡胸肉装入带有冰袋的保温盒内迅速带回实验室，剔除其中的脂肪和结缔组织等杂物后，分割成 $6\text{ cm} \times 6\text{ cm} \times 3\text{ cm}$ 的小块，每块重约 $83 \pm 4\text{ g}$ 。将切好的鸡胸肉样品随机均分成六组并用拉链袋包装好后，放入 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存 12 h，以确保所有样品在冷冻时中心温度达到一致。

空气冷冻是将样品置于冰箱（ $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ）中冷冻；浸渍冷冻和超声辅助冷冻是将样品置于超声辅助冷冻槽内固定位置，同时设置超声波间歇模式为 30 s 开/30 s 关，超声频率为 30 kHz，超声功率为 0、125 W、165 W、205 W 或 245 W。利用 K 型热电偶的温度计实时记录样品的中心温度，同时监控冷冻液温度使其始终保持恒定（ $-20 \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ）。当样品中心温度达到 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时，开始进行超声并持续 8 min。当肉块几何中心温度达到 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时取出放入 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱待用。所有样品试验前均采用 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱解冻。未经过冷冻的鸡胸肉作为对照组。

1.2.2 肌原纤维蛋白的提取

参照董唯等人^[6]的方法，并略加调整。将样品切碎后与 4 倍体积的磷酸盐缓冲液（10 mM, pH 7.0, 0.1 M NaCl, 2 mM MgCl_2 , 1 mM EDTA）混合，匀浆 60 s。匀浆后将混合物放入离心机，设置离心力为 $4193 \times g$ ，温度为 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，离心 15 min。离心后所得沉淀用 4 倍体积的磷酸盐缓冲液重复提取两次。之后，再用 4 倍体积 NaCl（0.1 M）按照上述操作重复洗涤沉淀物两次。最后用 8 倍体积的 NaCl（0.1 M）与沉淀物混合匀浆 60 s，并用 4 层纱布过滤。过滤所得匀浆液用 0.1 mol/L 的 HCl 调 pH 值至 6.0（等电点），再次离心所得肌原纤维蛋白。提取好的肌原纤维蛋白用 15 mM PIPES 缓冲液（含有 0.6 M NaCl）溶解，采用双缩脲法测定蛋白含量。

1.2.3 蛋白质溶解度的测定

蛋白质溶解度的测量是根据 Wang 等人^[7]的方法进行。取 8 mL 肌原纤维蛋白溶液（1 mg/mL）于离心管中配平，设置离心力为 $10000 \times g$ 离心 20 min。肌原纤维蛋白溶液离心后取上层清液 1 mL 并加入 4 mL 双缩脲溶液于室温下反应 30 min，在 540 nm 处测量 OD 值，最后根据标准曲线公式计算出离心后的蛋白浓度，该浓度与离心前蛋白浓度比值即为肌原纤维蛋白溶解度。

1.2.4 蛋白质浊度的测定

蛋白质浊度是根据 Jiang 等人^[18]的方法测量的。将肌原纤维蛋白溶液（1 mg/mL）放入比色皿中在 600 nm 处测量吸光值。采用 15 mM PIPES（含有 0.6 M NaCl）溶液调空白。所得吸光值即为蛋白浊度。

1.2.5 蛋白质粒径的测定

使用激光粒度分析仪测定鸡胸肉肌原纤维蛋白粒度分布。按照 Hu 等人^[19]的方法并做了一些修改。用 50 mM PIPES（含有 0.6 M NaCl）缓冲液将肌原纤维蛋白配置成 20 mg/mL 的蛋白溶液。将蛋白溶液缓慢的注入装有双蒸水的烧杯中搅拌，直至样品的均匀性指数达到 0.538 - 0.622 之间。记录样品的表面积平均粒径（ D_{32} ）和体积平均粒径（ D_{43} ）。

1.2.6 蛋白质 Zeta 电位的测定

蛋白质电位是常温下使用 Malvern 激光粒度仪测定的。根据 Zhang 等人^[20]描述的方法并稍有改动。用蒸馏水稀释 1 mg/mL 肌原纤维蛋白溶液到 0.1 mg/mL 后，取 1 mL 溶液注入至弯曲毛细管样品池中测量电位。

1.2.7 蛋白质乳化活性的测定

蛋白乳化活性指数（emulsifying activity index, EAI）是根据 Diao 等人^[21]的方法进行测量。将 8 mL 蛋白溶液（1 mg/mL）和 2 mL 的大豆油放入 2.5 cm 离心管高速匀浆 1 min。匀浆后立即从距离离心管底部 0.5 cm 取 50 μ L 匀浆液加入到 5 mL 0.1%SDS 溶液，混匀后在 500 nm 处测量吸光值，空白为 0.1%SDS 溶液。EAI 的计算如下：

$$EAI \text{ (m}^2\text{/g)} = \frac{2 \times 2.303 \times A_{500} \times \square \square \square \square}{C \times (1 - \varphi) \times 10^4}$$

式中：C（g/mL）是乳化前肌原纤维蛋白的浓度； A_{500} 是在 500 nm 处测得的样品的吸光度； φ （v/v）是乳化液的油体积分数。

1.2.8 乳液液滴分布的观察

按照 2.2.8 的方法制备蛋白乳液，均质后迅速从距离离心管底部 0.5 cm 取 50 μ L 匀浆液滴到载玻片上，缓缓放上盖玻片后用 40 倍光学显微镜观察并用相机拍照。用 Image-Pro Plus 软件对乳液液滴的直径进行统计分析。

1.3 统计分析

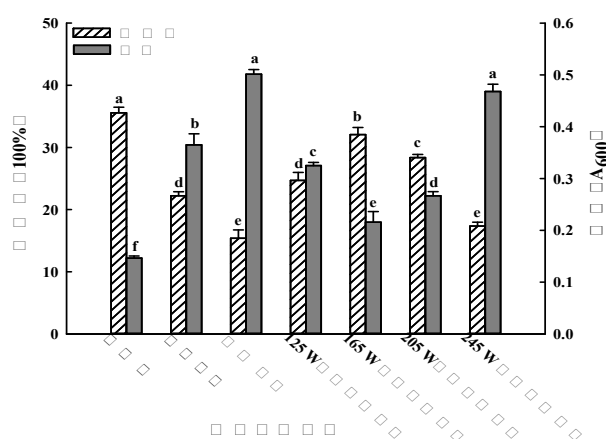
数据用平均值 \pm 标准偏差表示，数据统计分析采用 Statistix 8.1 软件包中 Linear Models 程序进行，差异显著性（ $P < 0.05$ ）分析使用 Tukey HSD 程序，采用 Sigmaplot 12.5 软件作图。共制备了三批鸡胸肉。对于每一批样品，所有测量至少进行三次。

2 结果与分析

2.1 不同冷冻处理对肌原纤维蛋白溶解度的影响

蛋白质溶解是蛋白质与水相互作用的结果^[22]，可以作为反映蛋白质聚集程度的重要指标^[23]。如图 1 所示，对照组样品的溶解度显著高于冷冻处理组（ $P < 0.05$ ），表明冷冻过程会降低蛋白质的溶解度。这可能是由于冷冻产生的冰晶会破坏蛋白质空间结构，使蛋白聚集变性。在冷冻处理组中，经过不同冷冻处理样品的肌原纤维蛋白具有不同的溶解度，其中超声功率 165 W 的鸡胸肉样品的溶解度显著高于其他冷冻处理组（ $P < 0.05$ ）。这可能是由于 165 W 超声波产生大量的空化气泡可以作为初级晶核，降低溶液过冷度，加速冷冻过程。Xu 等人^[24]也发现适当的超声（ 0.26 W/cm^2 ）处理会减小冰晶尺寸，加快冷冻速率。此外，Wang 等人^[17]研究发现超声时间低于 9 min 时，超声作用可以提高蛋白质的溶解度，而本试验中超声作用时间正在此范围内，因此蛋白溶解度便得以提高。但是，较低的超声功率（125 W）和较高的超声功率（245 W）都会导致蛋白质溶解度降低。这可能是由于超声功率较低时产生的空化气泡数量少和微射流效应较弱，从而不能达到快速冷冻的效果。因此较低的超声功率（125 W）会生成较大的冰晶，并对肌原纤维蛋白造成破坏。而高功率超声波可能会分解水分子形成自由基，引起肌原纤维蛋白集聚变性，进而导致蛋白溶解度降低。空气冷冻样品的溶解度在所有样品中最低（15.36%），Wagner 等人^[1]认为慢速冷冻产生的大冰晶会破坏蛋白质空间结构，使得蛋白质内部疏水性基团暴露，所以蛋白质表面与水结合程度减弱，溶解度降低。

2.2 不同冷冻处理对肌原纤维蛋白浊度的影响



注：相同指标具有不同字母表示平均值显著不同（ $P < 0.05$ ）。

Note: The means in the same index with different letters differ significantly ($P < 0.05$).

图 1 不同冷冻处理的鸡胸肉肌原纤维蛋白溶解度（%）和浊度的变化

Fig. 1 Changes in protein solubility (%) and turbidity of myofibrillar protein of chicken breast with different freezing treatments

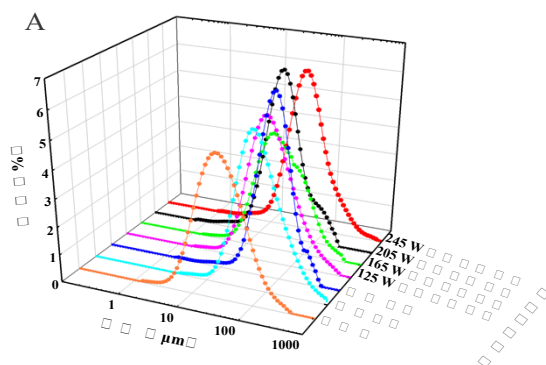
样品溶液浊度的变化可以用来评估溶液中蛋白质的聚集程度。溶液中蛋白质聚集程度越小，则溶液中悬浮颗粒粒径越小，浊度越小，反之亦然。从图 1 可知，对照组具有最低的浊度值（0.15）（ $P < 0.05$ ）。随着超声功率的增加，样品的浊度先降低后增加，在功率为 165 W 处取得最小值（0.22），这可能是由于 165 W 超声功率所产生的剪切和湍流等空化现象会破坏蛋白质间的相互作用，从而减小了蛋白质的粒径，降低了样品的浊度^[25]。空气冷冻和浸渍冷冻样品的浊度值显著高于

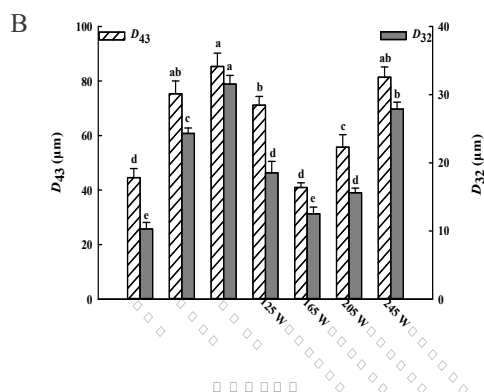
165 W 超声辅助冷冻的样品 ($P < 0.05$)。这可能是因为慢速冷冻形成的大冰晶会对蛋白质结构产生不可逆的破坏, 导致蛋白质聚集物形成, 从而造成样品浊度值明显升高。从图 1 中还可以看出, 过高的超声功率 (245 W) 会导致样品浊度值增加, 这是因为较高的超声功率会使蛋白质变性, 这进一步支持了蛋白质溶解度的结果。因此, 适当的超声功率 (165 W) 有助于降低冷冻样品的浊度值。

2.3 不同冷冻处理对肌原纤维蛋白粒径分布和大小的影响

鸡胸肉肌原纤维蛋白乳状液中分散相粒径分布和微粒大小会影响乳状液的稳定性, 因此本文利用动态光散射来定量检测乳状液中分散相微粒大小和分布。如图 2A 所示, 在所有样品中, 对照组具有最小的粒径。与对照组相比, 冷冻组的粒径分布都不同程度的向粒径大的方向移动。这与 Degner 等人^[2]的研究结果是一致的, 他们研究发现在冷冻过程中尤其是慢速冷冻, 样品粒径分布图中会出现 400-500 μm 的较大颗粒群, 表明冷冻产生的冰晶破坏了蛋白质结构使蛋白质变性集聚。图 2B 所示为不同冷冻处理样品体积平均直径 D_{43} 和表面平均直径 D_{32} 的数值。从图中可以看出随着超声功率的增加 D_{43} 数值先减小后增大, 其中在超声功率为 165 W 时达到最小值 (40.94 μm), 与对照组间没有显著性差异 ($P > 0.05$)。这可能是由于当超声功率达到 165 W 时产生的空化气泡可以作为初级晶核促进冰晶形成, 从而加快了冷冻速率。此外由超声空化产生的剪切力还可以破坏蛋白间氢键以及疏水和静电相互作用, 从而减小蛋白质的粒径^[18]。毕爽等人^[26]研究也发现低功率超声 (150 W) 产生的空化效应会减小大豆分离蛋白的粒径。但是随着超声功率增加到 245 W 时, D_{43} 数值显著高于其他超声处理组 ($P < 0.05$)。这可能归因于在高超声功率 (245 W) 下, 由空化气泡破裂和空化气泡传播而引起的机械振动会对肌原纤维蛋白造成破坏。叶钰等人^[27]研究发现高功率的超声波 (200 W 和 400 W) 会使蛋清溶液粒径变大, 蛋白质发生聚集。因此, 适当的超声功率 (165 W) 冷冻处理在加快冷冻速率的同时会减小蛋白质粒径, 防止蛋白质集聚。

肌原纤维蛋白的表面平均直径 D_{32} 的变化与 D_{43} 的变化相似。如图 2B 所示, 空气冷冻具有较大的 D_{32} , 表明在空气冷冻过程中形成了更大的蛋白质聚集物。这可能是因为慢速冷冻过程中形成大而不规则的冰晶破坏了肌原纤维蛋白空间结构, 使蛋白质内部疏水集团暴露并相互作用, 从而导致蛋白质聚集。Zhao 等人^[28]研究也发现伴随着氢键、疏水相互作用等非共价作用的形成会促进蛋白质的聚集使平均粒径增大。而超声功率为 165 W 的样品较其他冷冻组具有较低的 D_{32} , 表明 165 W 超声辅助冷冻有助于防止蛋白质聚集。





注：相同指标具有不同字母表示平均值显著不同 ($P < 0.05$)。

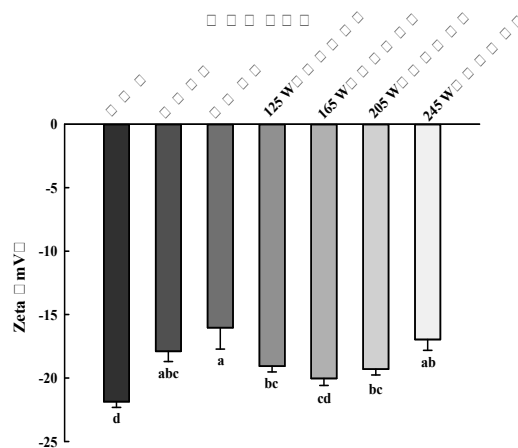
Note: The means in the same index with different letters differ significantly ($P < 0.05$).

图 2 不同冷冻处理的鸡胸肉肌原纤维蛋白粒径 (A) 以及 D_{43} (μm) 和 D_{32} (μm) (B) 的变化

Fig. 2 Changes in particle size (A), and D_{43} (μm) and D_{32} (μm) (B) of myofibrillar protein of chicken breast with different freezing treatments

2.4 不同冷冻处理对肌原纤维蛋白 Zeta 电位的影响

Zeta 电位可以反映体系中悬浮的蛋白颗粒相互作用的强弱。一般来说，电位绝对值越高，液滴之间排斥力强度越大，溶液体系中物理稳定性越强^[29-30]，反之，绝对电位越低，液滴之间排斥力强度越小，蛋白质间越容易聚集和絮凝。因此 Zeta 电位可以作为一个重要的指标来评价肌原纤维蛋白溶液的的稳定程度。图 3 所示为不同冷冻处理的鸡胸肉肌原纤维蛋白 Zeta 电位的变化情况。从图中可以看出，在所有样品中对照组和 165 W 超声功率冷冻的样品具有最大的电位值（绝对值），且两组样品的绝对电位值之间没有显著性差异 ($P > 0.05$)，表明使用 165 W 超声功率冷冻的样品在冷冻过程中肌原纤维蛋白不容易发生凝聚和絮凝。在超声处理组中，绝对电位随着超声功率的增加而呈现先增加后减少的趋势，其中 165 W 超声辅助冷冻样品的绝对电位最大。Zhang 等人^[31]研究发现，超声处理能够提高蛋白质的绝对电位。相似的结果也被 Kang 等人^[32]报道，他们发现 20 kHz 超声会导致部分蛋白结构展开，进而增加了蛋白质表面电荷的结合位点。这有利于增强蛋白质间排斥力，从而阻碍蛋白聚集。另外，蛋白质表面绝对电位越大，表明蛋白质和水相互作用越强，蛋白质溶解程度越好^[31]。这与 165 W 超声辅助冷冻样品具有较高的蛋白溶解度是一致的。但是超声功率（245 W）会使绝对电位降低。根据粒径的结果分析来看这可能是由于较高的超声功率会分解水分子产生活性自由基促使蛋白质间发生氧化聚集，致使导致蛋白质粒径增大，蛋白表面负电荷减少，进而造成绝对电位降低^[33]。从图中还可知，浸渍冷冻、空气冷冻和 245 W 超声辅助冷冻样品的电位的绝对值之间没有显著性差异 ($P > 0.05$)。因此，适当功率的超声辅助冷冻能够升高蛋白质表面绝对电位，防止蛋白质发生聚集和絮凝。



注：相同指标具有不同字母表示平均值显著不同 ($P < 0.05$)。

Note: The means in the same index with different letters differ significantly ($P < 0.05$).

图 3 不同冷冻处理的鸡胸肉肌原纤维蛋白 Zeta 电位的变化

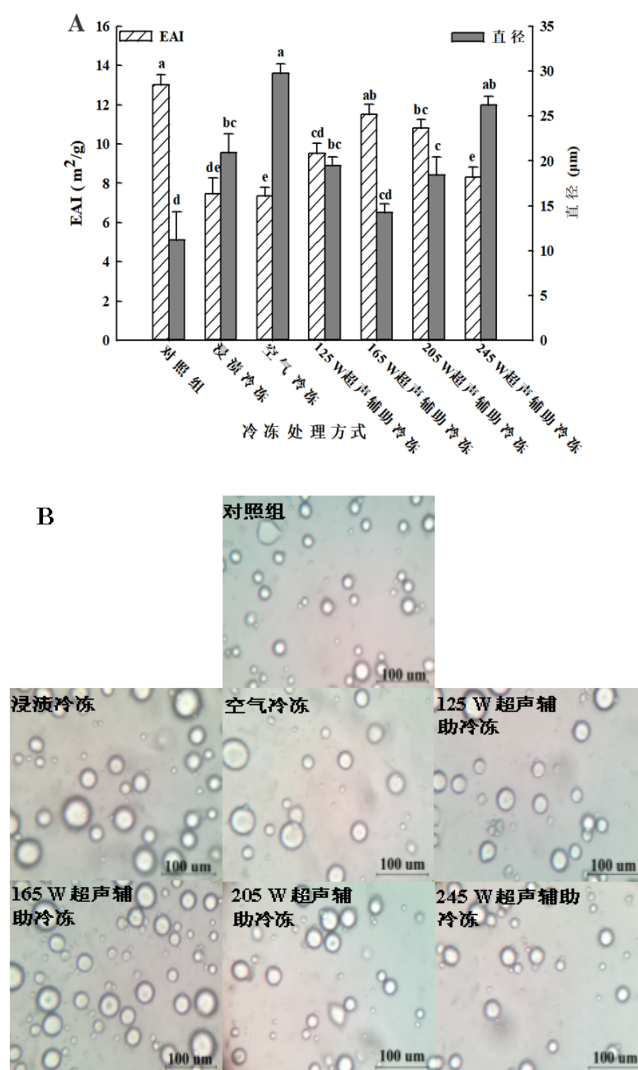
Fig. 3 Changes in Zeta potential of myofibrillar protein of chicken breast with different freezing treatments

2.5 不同冷冻处理对肌原纤维蛋白乳化活性的变化影响

乳化活力指数 (EAI) 是指蛋白质在形成乳状液时迅速吸附在水和油界面上, 防止发生絮凝和沉淀的能力。EAI 的活性主要受到蛋白质与脂质或蛋白质间相互作用的影响^[21]。如图 4A 所示, 对照组样品和 165 W 超声辅助冷冻样品的 EAI 值分别为 $13.02 \text{ m}^2/\text{g}$ 和 $11.51 \text{ m}^2/\text{g}$, 且二者之间并无显著差异 ($P > 0.05$), 表明 165 W 超声辅助冷冻可以提高肌原纤维蛋白的乳化稳定性。这主要与 165 W 超声功率可以降低样品的粒径值有关。蛋白质粒径值越小, 表面积越大, 所以蛋白质与油相吸附的可能性越大, EAI 便得以提高。还有报道研究发现超声作用能够引发蛋白质构象发生变化, 促使蛋白质内部部分疏水性基团的暴露, 而疏水性基团的增加是有助于蛋白质吸附于油相界面上^[34-36], 因而可以提高蛋白质乳化活力。此外, 由溶解度结果可知, 超声功率为 165 W 的样品具有高溶解度值, 这也有助于肌原纤维蛋白迅速分散在水和油界面上。卢菊慧等人^[37]也研究发现豌豆蛋白乳液的乳化活力指数随着蛋白浓度增加而增大。在所有样品中, 空气冷冻的 EAI 值最低, 这可能与空气冷冻样品具有较低的绝对电位有关。绝对电位低的蛋白质容易形成大的聚集物, 因此在形成乳状液时蛋白质不容易吸附在水和油的界面上, 故而导致 EAI 值降低。此外, 较高超声功率 (245 W) 会明显降低 EAI 值, 这是因为较高功率超声会诱导蛋白质聚集, 因而降低了蛋白质结构的灵活性促使 EAI 值下降。

图 4B 为不同冷冻方式的鸡胸肉肌原纤维蛋白乳液分布的微观结构图。从图中可以看出, 经过不同冷冻方式处理的样品乳液分布具有明显差异。结合图 4A 乳状液液滴的平均直径发现, 在所有处理组中, 对照组样品的液滴直径最小 ($11.17 \text{ }\mu\text{m}$), 乳液液滴分布均匀密集。而在冷冻处理组中, 超声功率为 165 W 的样品液滴分布较为均匀, 液滴平均直径为 $14.24 \text{ }\mu\text{m}$, 与对照组样品平均直径无显著差异 ($P > 0.05$)。这一结果也与 EAI 值结果一致。Furtado 等人^[38]也发现 EAI 值越高, 蛋白质

越容易形成均匀密集的乳状液液滴。与 165 W 超声辅助冷冻样品相比，空气冷冻和浸渍冷冻样品的平均直径显著增大，液滴分布疏松（ $P < 0.05$ ）。这可能是与空气冷冻和浸渍冷冻样品的蛋白溶解度较低有关。此外，较低的绝对电位也会促使蛋白质聚集，进而导致空气冷冻和浸渍冷冻样品乳液液滴分布疏松，乳液稳定性下降。



注：相同指标具有不同字母表示平均值显著不同（ $P < 0.05$ ）。

Note: The means in the same index with different letters differ significantly ($P < 0.05$).

图 4 不同的冷冻处理鸡胸肉肌原纤维蛋白的乳化活性指数（EAI, m^2/g ）（A）、肌原纤维蛋白乳液液滴的平均直径（ μm ）的变化，以及肌原纤维蛋白乳液（B）的分布

Fig. 4 Changes in the emulsion activity index (EAI, m^2/g) (A), the average diameter of myofibrillar protein emulsion droplets (μm), and the distribution of myofibrillar protein emulsion (B) of chicken breast with different freezing treatments

3 结论

本文研究了不同冷冻方式，包括空气冷冻，浸渍冷冻，不同超声功率（125 W，165 W，205 W 或 245 W）的超声辅助冷冻对鸡胸肉肌原纤维蛋白乳化稳定性的影响。通过分析肌原纤维蛋白的溶解度、浊度、粒径、电位以及乳状液乳化活力指数的测定结果，发现适当功率（165 W）的超声辅助冷冻能够显著增强冷冻鸡胸肉肌原纤维蛋白乳化稳定性。但是若超声功率（245 W）过高则会破坏肌原纤维蛋白的结构，明显降低肌原纤维蛋白的乳化稳定性。因此，采用适当功率（165 W）的超声辅助冷冻可以有效地提高冷冻鸡胸肉肌原纤维蛋白乳化稳定性，为超声辅助冷冻在肉制品中的应用提供了理论依据

参考文献

- [1] WAGNER J R, AÑÓN M C. Effect of frozen storage on protein denaturation in bovine muscle[J]. International Journal of Food Science and Technology, 1986, 21(2): 547-558. DOI:10.1111/j.1365-2621.1986.tb00393.x.
- [2] DEGNER B M, OLSON K M, ROSE D, et al. Influence of freezing rate variation on the microstructure and physicochemical properties of food emulsions[J]. Journal of Food Engineering, 2013, 119(2): 244-253. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2013.05.034.
- [3] 林婉玲, 杨贤庆, 李来好, 等. 浸渍冻结对调理草鱼冻藏过程中肌原纤维蛋白特性的影响[J]. 南方水产科学, 2016, 12(3): 67-73. DOI:10.3969/j.issn.2095-0780.2016.03.009.
- [4] DORWARD D W, RAAE-NIELSEN J, HANSEN B T, et al. Advances in microwave-assisted freeze substitution[J]. Microscopy and Microanalysis, 2013, 19(S2): 560-561. DOI:10.1017/s1431927613004790.
- [5] CHENG X, ZHANG M, XU B, et al. The principles of ultrasound and its application in freezing related processes of food materials: a review[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2015, 27: 576-585. DOI:10.1016/j.ultsonch.2015.04.015.
- [6] 孔保华, 韩建春. 肉品科学与技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2011: 158-164.
- [7] LOWESMITH B J, HANKINSON G. Large scale high pressure jet fires involving natural gas and natural gas/hydrogen mixtures[J]. Process Safety and Environmental Protection, 2012, 90(2): 108-120. DOI:10.1016/j.psep.2011.08.009.
- [8] ANESE M, MANZOCCO L, PANOZZO A, et al. Effect of radiofrequency assisted freezing on meat microstructure and quality[J]. Food Research International, 2012, 46(1): 50-54. DOI:10.1016/j.foodres.2011.11.025.
- [9] XU B G, ZHANG M, BHANDARI B, et al. Effect of ultrasound-assisted freezing on the physico-chemical properties and volatile compounds of red radish[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2015, 27: 316-324. DOI:10.1016/j.ultsonch.2015.04.014.
- [10] XIN Y, ZHANG M, ADHIKARI B. Ultrasound assisted immersion freezing of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L.)[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2014, 21(5): 1728-1735. DOI:10.1016/j.ultsonch.2014.03.017.
- [11] CHOW R, BLINDT R, CHIVERS R, et al. The sonocrystallisation of ice in sucrose solutions: primary and secondary nucleation[J]. Ultrasonics, 2003, 41(8): 595-604. DOI:10.1016/j.ultras.2003.08.001.
- [12] CHOW R, BLINDT R, CHIVERS R, et al. A study on the primary and secondary nucleation of ice by power ultrasound[J]. Ultrasonics, 2005, 43(4): 227-230. DOI:10.1016/j.ultras.2004.06.006.
- [13] HU S Q, LIU G, LI L, et al. An improvement in the immersion freezing process for frozen dough via ultrasound irradiation[J]. Journal of Food Engineering, 2013, 114(1): 22-28. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2012.07.033.
- [14] SUN D W, LI B. Microstructural change of potato tissues frozen by ultrasound-assisted immersion freezing[J]. Journal of Food Engineering, 2003, 57(4): 337-345. DOI:10.1016/s0260-8774(02)00354-0.
- [15] ZHANG M, HAILI N, CHEN Q, et al. Influence of ultrasound-assisted immersion freezing on the freezing rate and quality of

- porcine longissimus muscles[J]. Meat Science, 2017, 136: 1-8. DOI:10.1016/j.meatsci.2017.10.005.
- [16] 董唯, 白登荣, 窦川林, 等. 不同体系条件下 γ -聚谷氨酸复合 TGase 处理对肌原纤维蛋白功能性质的影响[J]. 肉类研究, 2018, 32(5): 1-8. DOI:10.7506/rlyj1001-8123-201805001.
- [17] WANG J Y, YANG Y L, TANG X Z, et al. Effects of pulsed ultrasound on rheological and structural properties of chicken myofibrillar protein[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2017, 38: 225-233. DOI:10.1016/j.ultsonch.2017.03.018.
- [18] JIANG S, DING J, ANDRADE J, et al. Modifying the physicochemical properties of pea protein by pH-shifting and ultrasound combined treatments[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2017, 38: 835-842. DOI:10.1016/j.ultsonch.2017.03.046.
- [19] HU H, CHEUNG I W Y, PAN S, et al. Effect of high intensity ultrasound on physicochemical and functional properties of aggregated soybean β -conglycinin and glycinin[J]. Food Hydrocolloids, 2015, 45: 102-110. DOI:10.1016/j.foodhyd.2014.11.004.
- [20] ZHANG L, PAN Z, SHEN K, et al. Influence of ultrasound-assisted alkali treatment on the structural properties and functionalities of rice protein[J]. Journal of Cereal Science, 2018, 79: 204-209. DOI:10.1016/j.jcs.2017.10.013.
- [21] DIAO X, GUAN H, ZHAO X, et al. Properties and oxidative stability of emulsions prepared with myofibrillar protein and lard diacylglycerols[J]. Meat Science, 2016, 115: 16-23. DOI:10.1016/j.meatsci.2016.01.001.
- [22] 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. DOI:10.1016/j.meatsci.2015.08.017.
- [23] WU S, PAN S, WANG H. Effect of trehalose on *Lateolabrax japonicus* myofibrillar protein during frozen storage[J]. Food Chemistry, 2014, 160: 281-285. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.03.100.
- [24] XU B G, ZHANG M, BHANDARI B, et al. Influence of power ultrasound on ice nucleation of radish cylinders during ultrasound-assisted immersion freezing[J]. International Journal of Refrigeration, 2014, 46: 1-8. DOI:10.1016/j.ijrefrig.2014.07.009.
- [25] MAITY I, RASALE D B, DAS A K. Sonication induced peptide-appended bolaamphiphile hydrogels for in situ generation and catalytic activity of Pt nanoparticles[J]. Soft Matter, 2012, 8(19): 5301-5308. DOI:10.1039/c2sm25126d.
- [26] 毕爽, 江连洲, 毛惠婷, 等. 超声波处理对大豆分离蛋白-磷脂相互作用及其复合物功能性质的影响[J]. 食品科学, 2016, 37(17): 1-6. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201617001.
- [27] 叶钰, 高金燕, 陈红兵, 等. 超声波加工对蛋清蛋白质结构和凝胶特性的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(21): 52-59. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201821007.
- [28] ZHAO J, SUN F, LI Y, et al. Modification of gel properties of soy protein isolate by freeze-thaw cycles are associated with changes of molecular force involved in the gelation[J]. Process Biochemistry, 2016, 52: 200-208. DOI:10.1016/j.procbio.2016.09.026.
- [29] YI J H, HU Z B, MCCLEMENTS D J, et al. Influence of aqueous phase emulsifiers on lipid oxidation in water-in-walnut oil emulsions[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2014, 62(9): 2104-2111. DOI:10.1021/jf404593f.
- [30] ZHANG Z, YANG Y, TANG X, et al. Chemical forces and water holding capacity study of heat-induced myofibrillar protein gel as

- affected by high pressure[J]. Food Chemistry, 2015, 188: 111-118. DOI:10.1016/j.foodchem.2015.04.129.
- [31] ZHANG Z, REGENSTEIN J M, ZHOU P, et al. Effects of high intensity ultrasound modification on physicochemical property and water in myofibrillar protein gel[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2017, 34: 960-967. DOI:10.1016/j.ultsonch.2016.08.008.
- [32] KANG D C, GAO X Q, GE Q F, et al. Effects of ultrasound on the beef structure and water distribution during curing through protein degradation and modification[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2017, 38: 317-325. DOI:10.1016/j.ultsonch.2017.03.026.
- [33] SHILPASHREE B G, ARORA S, CHAWLA P, et al. Effect of succinylation on physicochemical and functional properties of milk protein concentrate[J]. Food Research International, 2015, 72(2): 223-230. DOI:10.1016/j.foodres.2015.04.008.
- [34] ARZENI C, OSCAR E P, PILOSO A M R. Functionality of egg white proteins as affected by high intensity ultrasound[J]. Food Hydrocolloids, 2012, 29(2): 308-316. DOI:10.1016/j.foodhyd.2012.03.009.
- [35] SANGHO L, THIERY L, MURIEL S, et al. Effects of ultra-high pressure homogenization on the properties and structure of interfacial protein layer in whey protein-stabilized emulsion[J]. Food Chemistry, 2009, 113(1): 191-195. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.07.067.
- [36] XU Y T, LIU L L. Structural and functional properties of soy protein isolates modified by soy soluble polysaccharides[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(38): 7275-7284. DOI:10.1021/acs.jafc.6b02737.
- [37] 卢菊慧, 钟芳, 陈茂深. 影响豌豆蛋白乳化特性的分子机制[J]. 食品与机械, 2018, 34(1): 7-12. DOI 10.13652/j.issn.1003-5788.2018.01.002.
- [38] FURTADO G D F, MANTOVANI R A, CONSOLI L, et al. Structural and emulsifying properties of sodium caseinate and lactoferrin influenced by ultrasound process[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 63: 178-188. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2016.08.038.