

臭氧水处理对罗非鱼鱼糜品质及体外消化特性的影响

刘巧瑜¹, 肖斯立¹, 曾晓房¹, 黄晓霞¹, 游云¹, 庄晓琪¹, 李瑞², 李湘鑫¹, 朱嘉敏¹, 练晓丹¹, 白卫东^{1,*}
(1.仲恺农业工程学院轻工食品学院, 广东省岭南特色食品科学与技术重点实验室, 农业农村部岭南特色食品绿色加工与智能制造重点实验室, 现代农业工程创新研究院, 广东 广州 510225; 2.广东海洋大学食品科技学院, 广东 湛江 524088)

摘要: 将臭氧水漂洗的罗非鱼鱼片制成鱼糜, 研究漂洗质量浓度和漂洗时间对鱼糜品质和体外消化特性的影响, 并通过分析肌原纤维蛋白氧化程度探讨臭氧水漂洗提高罗非鱼鱼糜品质的原因。结果表明, 臭氧水漂洗后鱼糜白度、硬度和胶着度显著提高 ($P < 0.05$), 10 mg/L臭氧水漂洗10 min时鱼糜的凝胶特性最佳。随着臭氧水漂洗质量浓度的增加和漂洗时间的延长, 鱼糜硫代巴比妥酸反应物值呈上升趋势, 肌原纤维蛋白的羰基含量上升、总巯基含量逐渐降低。感官评价结果显示10 g/mL臭氧水漂洗10 min时感官品质最佳。十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱显示, 10~18 mg/L臭氧水漂洗使蛋白交联形成较小的可溶性聚集体, 大于18 mg/L臭氧水漂洗后蛋白形成较大的不溶性聚集体。根据拉曼光谱结果可知, 10~18 mg/L臭氧水漂洗使肌原纤维蛋白二级结构逐渐展开, α -螺旋逐渐转化为 β -折叠和无规卷曲。体外消化结果表明, 臭氧水漂洗提高了鱼糜在消化过程中的水解程度, 其中10 mg/mL臭氧水漂洗10 min时水解程度最高, 消化后小分子肽 (100~1 000 Da) 含量显著高于其他实验组 ($P < 0.05$)。综上所述, 肌原纤维蛋白适度氧化能提高罗非鱼鱼糜的品质, 10 mg/mL臭氧水漂洗10 min时, 鱼糜感官品质最好, 凝胶特性及体外消化特性最佳。

关键词: 臭氧水漂洗; 罗非鱼鱼糜; 品质; 蛋白氧化; 体外模拟消化

Effect of Ozone Water Treatment on the Quality and *in Vitro* Digestion Characteristics of Tilapia Surimi

LIU Qiaoyu¹, XIAO Sili¹, ZENG Xiaofang¹, HUANG Xiaoxia¹, YOU Yun¹, ZHUANG Xiaoqi¹, LI Rui², LI Xianglun¹,
ZHU Jiamin¹, LIAN Xiaodan¹, BAI Weidong^{1,*}

(1. Guangdong Provincial Key Laboratory of Lingnan Specialty Food Science and Technology, Key Laboratory of Green Processing and Intelligent Manufacturing of Lingnan Specialty Food, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Academy of Contemporary Agricultural Engineering Innovations, College of Food Sciences and Technology, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China; 2. College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: Tilapia fillets rinsed in ozone water were made into surimi, and the effects of ozone water concentration and rinsing time on the quality and *in vitro* digestive properties of surimi were investigated. Furthermore, the mechanism by which ozone water rinsing improved the quality of tilapia surimi was investigated by analyzing the degree of myofibrillar protein oxidation. The results showed that the whiteness, hardness and gumminess of surimi were significantly increased by ozone water rinsing ($P < 0.05$), and the surimi rinsed with 10 mg/L ozone water for 10 min had the best gel properties. With the increase in ozone water concentration and rinsing time, the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) value of surimi tended to increase, and the carbonyl content of myofibrillar proteins increased and the total sulfhydryl content gradually decreased. The sensory evaluation results showed that the best sensory quality was obtained by rinsing with 10 g/mL ozone water for 10 min. sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) showed that rinsing with 10~18 mg/L ozone water caused the proteins to cross-link and form small soluble aggregates, while ozone water at

收稿日期: 2024-01-18

基金项目: 广东省重点建设学科科研能力提升项目 (2022ZDJS022); 广东省普通高校重点领域专项 (2022ZDZX4016); 农产品加工共性关键技术研发创新团队项目 (2023KJ117)

第一作者简介: 刘巧瑜 (1977—) (ORCID: 0000-0002-1719-6252), 女, 副教授, 博士, 研究方向为中式传统肉制品加工、保鲜及呈味机理。E-mail: qiaoyuliu123@163.com

*通信作者简介: 白卫东 (1967—) (ORCID: 0000-0002-0783-5540), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品生物化学。E-mail: weidong_bai2010@163.com

concentrations more than 18 mg/L caused the formation of large insoluble aggregates. According to Raman spectra, after rinsing with 10–18 mg/L ozone water, the secondary structure of myofibrillar proteins was gradually unfolded, and the α -helix was gradually converted to β -sheet and random coil. Ozone water rinsing increased the degree of hydrolysis of surimi during *in vitro* digestion, the highest being observed with 10 mg/mL ozone water rinsing for 10 min. The content of small peptides (100–1 000 Da) after digestion was significantly higher than that of the other experimental groups ($P < 0.05$). In conclusion, moderate oxidation of myofibrillar proteins could improve the quality of tilapia surimi, and the surimi rinsed for 10 min in 10 mg/mL ozone water had the highest sensory quality and the best gel characteristics and *in vitro* digestive characteristics.

Keywords: rinsing with ozone water; tilapia surimi; quality; oxidation of protein; simulated digestion *in vitro*

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240118-166

中图分类号: TS254.4

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2024) 22-0026-08

引文格式:

刘巧瑜, 肖斯立, 曾晓房, 等. 臭氧水处理对罗非鱼鱼糜品质及体外消化特性的影响[J]. 食品科学, 2024, 45(22): 26-33.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240118-166. <http://www.spkx.net.cn>

LIU Qiaoyu, XIAO Sili, ZENG Xiaofang, et al. Effect of ozone water treatment on the quality and *in vitro* digestion characteristics of tilapia surimi[J]. Food Science, 2024, 45(22): 26-33. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240118-166. <http://www.spkx.net.cn>

罗非鱼 (*Oreochromis mossambicus*) 是我国重要的淡水养殖鱼类, 除整鱼销售、切片销售外通常还加工成鱼糜制品销售^[1]。但罗非鱼鱼糜有土腥味、凝胶性能差, 导致其产品加工适应性较低。目前改善鱼糜凝胶特性及风味特性的方法主要有添加外源物质^[2]和进行加工前处理^[3]等, 其中臭氧水处理是安全性较高的方法^[4]。

臭氧水具有强氧化性、漂白性和杀菌能力^[5], 分解时不残留有毒有害物质, 被广泛应用于鱼糜制品与鱼片的脱色漂白、去除异味物质及减少水产品的原始细菌数^[6], 适度氧化可以提高鱼糜凝胶性能^[7]并对风味有改善作用^[8]。宋洁等^[7]研究发现臭氧水漂洗提高了鲮鱼鱼糜的凝胶性能。李文协等^[9]研究发现臭氧水漂洗降低了鲮鱼鱼糜中与腥味相关的芳香族、氨类、短链烷烃、甲基化合物及有机硫化物含量。郝淑贤等^[10]和刘慈坤^[11]研究发现鱼肉经臭氧水处理后 a^* 、 b^* 值降低, L^* 值升高, 同时硬度有所提升。Ibanoglu等^[12]发现臭氧与水结合可生成多种活性氧自由基, 这些自由基与蛋白质结合会引发氧化效应, 导致酪氨酸、半胱氨酸、色氨酸等氨基酸侧链发生修饰。同时脂肪氧化也会促使蛋白质氧化, 导致蛋白质分子断裂和交联, 产生可溶性和不溶性聚集物, 对蛋白质的消化特性产生影响^[13-14]。目前臭氧水处理后鱼糜品质对蛋白消化特性的影响机制及其变化规律研究较少, 因此本实验采用不同浓度的臭氧水处理罗非鱼鱼片并制成鱼糜, 探究漂洗质量浓度和漂洗时间对鱼糜色度、质构特性、硫代巴比妥酸反应物 (thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) 值和感官品质的影响, 并分析鱼糜肌原纤维蛋白 (myofibrillar protein, MP) 的羰基含量、总巯基含量、蛋白质分子质量、二级结构及体外消化特性等指标的变化情况, 阐释MP氧化程度对鱼糜凝胶特性

和消化特性的影响机制, 以期臭氧水处理在水产品中的广泛应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

罗非鱼购于广州钟落潭市场。

三氯乙酸 (分析纯) 广东光华科技股份有限公司; 乙二胺四乙酸、TBARS溶液 (均为分析纯) 上海叶源生物科技有限公司; 氯仿 (分析纯) 广州东巨实验仪器有限公司。

1.2 仪器与设备

GCQJ-1-3电解式高浓度臭氧气机 武汉威蒙环保科技有限公司; H2050R冷冻离心机 湖南湘仪实验室仪器有限公司; JY-CZ-BL垂直电泳仪、凝胶成像分析系统 北京君意东方电泳设备有限公司; XPLORA PLUS共聚焦拉曼光谱仪 堀场 (中国) 贸易有限公司。

1.3 方法

1.3.1 臭氧水制备

参照刘慈坤^[11]的方法并稍作修改, 采用GCQJ-1-3型电解式高浓度臭氧气机制备臭氧水, 通过设置不同流量 (200、150、100、80 L/h), 导出不同质量浓度 (10、14、18、22 mg/L) 的臭氧水, 使用碘量法测定臭氧水质量浓度。

1.3.2 臭氧水漂洗

罗非鱼冰浴安乐死后去除鱼皮及鱼骨取脊背肉, 切片规格为1 cm×2 cm×3 cm, 通入不同质量浓度的臭氧水, 按照 $m(\text{鱼肉}):V(\text{臭氧水})=1:5$ 混合并持续搅拌, 分别漂洗5 min或10 min。沥干后低速搅拌30 s, 高速搅拌30 s, 取出备用。

1.3.3 鱼糜凝胶的制备

参照Ding Yuqin等^[15]的方法略作修改。将含水量76%的鱼糜4℃斩拌3 min，再添加2.5% NaCl溶液斩拌5 min，转入灌肠机中制备成鱼肠，两段加热（40℃加热60 min，90℃加热30 min），流水冷却鱼肠30 min。

1.3.4 色差的测定

采用色差计测定色度， L^* 值代表亮度， a^* 值表示红度（“+”表示偏红，“-”代表偏绿）， b^* 值为黄度（“+”代表偏黄，“-”代表偏蓝）。白度（ W ）由下式计算：

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

1.3.5 TBARS值的测定

参照GB 5009.181—2016《食品中丙二醛的测定》^[16]进行。

1.3.6 质构特性的测定

将鱼肠切成2 cm厚的圆柱，应用全质构模式对样品进行质构测试，采用P/36 R探头，滤波值调至100，感应元为10，测试速率为1 mm/s。测试参数：模式为5，启点为5 N，目标为30%，等待时间为0 s，探头移动10 mm，归零后测定。

1.3.7 感官评定

由12名专业感官评定员于感官评价室内对样品进行评分，评分标准如表1所示。

表1 感官评价标准

Table 1 Sensory evaluation standards

指标	评价标准	评分
气味 (5分)	无鱼腥味、臭氧气味	4.1~5.0
	略有鱼腥味、略有臭氧气味	3.1~4.0
	有鱼腥味、有臭氧气味	2.1~3.0
	鱼腥味重、臭氧气味重	0.0~2.0
滋味 (5分)	有鲜味、口感细腻	4.1~5.0
	较有鲜味、口感较细腻	3.1~4.0
	无鲜味、口感油腻	2.1~3.0
	有异味、口感油腻	0.0~2.0
外观 (5分)	色泽为白色、表面细腻	4.1~5.0
	色泽略暗、表面较细腻	3.1~4.0
	色泽暗淡、表面不细腻	2.1~3.0
	色泽严重暗淡、表面不细腻	0.0~2.0
质地 (5分)	肉质富有弹性、不松散	4.1~5.0
	肉质较有弹性、不松散	3.1~4.0
	肉质略有弹性、较松散	2.1~3.0
	肉质缺乏弹性、松散	0.0~2.0

1.3.8 模拟体外消化分析

参照Mulet-Cabero等^[17]的方法，稍作修改。根据表2配制模拟胃液以及肠液，并使用1 mol/L的HCl溶液将模拟胃液的pH值调节至3，使用1 mol/L的NaOH溶液调节pH值到7；分别加入胃蛋白酶以及胰蛋白酶，使模拟胃液中的酶活性为2 000 U/mL，肠液中的酶活性为

100 U/mL，混匀备用；鱼肠放进搅拌机搅拌成鱼糜，准确称取5 g样品，加入模拟胃液中，鼓风恒温箱中37℃振荡消化2 h，取经过模拟胃液消化的样品10 mL继续于37℃水浴锅中消化2 h。

表2 模拟胃肠液的配制方法

Table 2 Composition of simulated gastrointestinal fluid

试剂	浓度/ (mol/L)	模拟胃液 (pH 3) 体积/mL	模拟肠液 (pH 7) 体积/mL
KCl溶液	0.5	6.9	6.8
KH ₂ PO ₄ 溶液	0.5	0.9	0.8
NaHCO ₃ 溶液	1	25	85
NaCl溶液	2.0	47.2	38.4
MgCl ₂ ·6H ₂ O溶液	0.15	0.12	0.33
(NH ₄) ₂ CO ₃ 溶液	0.5	0.5	
HCl溶液	6.0	15.6	8.4
CaCl ₂ ·H ₂ O溶液	0.30	0.15	0.60

1.3.9 肽分子质量的测定

参照卢韵君^[18]的方法并稍作修改。标准曲线由已知分子质量的标准品制作：细胞色素c（12 384 Da）、抑肽酶（6 511 Da）、杆菌肽（1 450 Da）、氧化型谷胱甘肽（651 Da）、Gly-Gly-Tyr-Arg（451 Da）、Gly-Gly-Gly（189 Da）肽标准品和流动相（乙腈-水-三氟乙酸（40:60:0.1， $V/V/V$ ）按照一定比例配成质量浓度1 mg/mL的溶液，过0.22 μm微孔滤膜后，分别进样。

通过标准品分子质量常用对数值（lg）和保留时间作相关曲线，由最小二乘法求出线性相关方程，得到样品分子质量与保留时间的对应关系。以标准品分子质量对数值与对应的保留时间分别为横坐标和纵坐标，绘制标准曲线，标准曲线线性良好（ $y=-1.4286x+35.6$ （ $R^2=0.999$ ））。

称取经过胃肠消化后的样品5 g，溶于流动相，配成质量浓度为5 mg/mL的溶液，过0.22 μm微孔滤膜后进样，每个样品重复3次。利用Agilent自动在线衍生的方法，用高效液相色谱仪进行分析。色谱柱Zorbax Eclipse-AAA（4.6 mm×150 mm，3.5 μm），流动相为乙腈-0.1%三氟乙酸溶液（45:55， V/V ），流速0.5 mL/min，检测波长214 nm，柱温30℃，进样量10 μL。数据经计算机采集分析，通过面积归一法，计算不同分子质量区间的分布比例。

1.3.10 MP的提取

参照Wang Haifeng等^[19]的方法并稍作修改，将鱼糜与低温冷冻缓冲液（10 mmol/L Na₂HPO₄/NaH₂PO₄、0.1 mol/L NaCl、2 mmol/L MgCl₂、1 mmol/L 乙二胺四乙酸溶液，pH 7.0，4℃）以质量体积比1:4在4℃条件下混合，使用高速匀浆机10 000 r/min匀浆3次，每次30 s。匀浆后通过20目筛（孔径0.9 mm）过滤，5 000 r/min离心15 min。将上清液倒出，收集颗粒即“粗MP”。

将上述步骤重复3次。MP颗粒混合在4倍体积的盐溶液（0.1 mol/L NaCl溶液）中离心，洗涤3次后最终的颗粒被收集为“纯MP”。

1.3.11 MP质量浓度、总巯基含量、羰基含量测定

将MP溶解于磷酸盐缓冲液（20 mmol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 、0.15 mol/L NaCl, pH 7.0, 下同），使用双缩脲蛋白定量法检测蛋白质量浓度。总巯基含量、羰基含量参照岳宜静等^[20]的方法进行测定。

1.3.12 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳（sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE）分析

参照Zhu Shichen^[21]和Huang Xiaoxia^[22]等的方法进行，并稍作修改。将MP溶液质量浓度调至5 mg/mL。安装电泳槽装置，检查无漏水后制备12%的分离胶和5%的浓缩胶，将蛋白溶液与上样缓冲液按体积比1:1充分混合，混合液置于100℃水浴5 min，4℃、11 000 r/min离心3 min。电泳胶厚度为1.5 mm，进样量8 μL ，电泳初始电压80 V。指示条带到达浓缩胶与分离胶交界处时，调高至120 V，指示条带到达分离胶底部时，取出电泳凝胶以固定液（冰乙酸:无水乙醇:水=5:1:4（V/V）），浸泡5~10 min，考马斯亮蓝快速染色浸泡30 min，纯水脱色至胶片背景透明时，使用凝胶成像分析系统拍照成像。

1.3.13 蛋白质二级结构测定

将样品平铺于载玻片上，用XPLORA PLUS共聚焦拉曼光谱仪对样品进行光谱扫描。使用532 nm氩离子激光器，功率10 mW，1 800 线光栅进行测试，采集时间为30 s，扫描次数为40次，扫描100~4 000 cm^{-1} 范围内的拉曼光谱。测试完成后采用Labspec5软件进行平滑处理，根据苯丙氨酸环在1 003 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，参考Piao Xinyue等^[23]的方法计算蛋白质二级结构（ α -螺旋、 β -折叠、 β -转角和无规卷曲）含量。

1.4 数据处理与分析

所有指标平行测定3次及以上，实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示，使用SPSS Statistics 25软件进行差异显著性分析（显著水平为 $P < 0.05$ ），使用Origin 2023软件作图。

2 结果与分析

2.1 臭氧水处理对罗非鱼鱼糜色泽的影响

色泽是评价鱼糜品质的重要指标， L^* 值和 W 值越高，代表鱼糜的品质越好。如表3所示，臭氧水处理后罗非鱼鱼糜的 L^* 值和 W 值显著提高（ $P < 0.05$ ），说明臭氧水处理能显著改善鱼糜的色泽。漂洗过程中，臭氧可以去除水溶性色素，破坏血红蛋白的卟啉结构^[24]，使鱼糜 L^* 值、 a^* 值、 W 值增大， b^* 值降低。当臭氧水漂洗质量浓度 ≥ 10 mg/L、漂洗10 min时， W 值缓慢增大。

表3 臭氧水处理条件对鱼糜色泽的影响

Table 3 Effects of different ozone water treatment conditions on the color of surimi

臭氧水质量浓度/ (mg/L)	漂洗时间/ min	L^*	a^*	b^*	W
0	5	55.02 ± 0.18^d	-0.88 ± 0.03^c	5.23 ± 0.57^a	54.71 ± 0.11^c
	10	56.02 ± 0.12^c	-0.87 ± 0.03^c	5.21 ± 0.57^a	55.68 ± 0.11^d
10	5	58.38 ± 0.52^b	-0.67 ± 0.13^b	5.08 ± 0.45^{ab}	58.06 ± 0.47^c
	10	59.61 ± 0.57^a	-0.67 ± 0.01^b	5.03 ± 0.18^{ab}	59.30 ± 0.53^b
14	5	59.95 ± 0.46^a	-0.61 ± 0.03^b	5.01 ± 0.06^{ab}	59.63 ± 0.46^b
	10	60.50 ± 0.69^a	-0.66 ± 0.10^b	4.99 ± 0.25^b	60.18 ± 0.66^b
18	5	58.51 ± 1.21^b	-0.60 ± 0.15^b	4.68 ± 0.20^b	60.23 ± 0.22^b
	10	60.47 ± 0.99^a	-0.61 ± 0.10^b	4.45 ± 0.26^{bc}	60.22 ± 0.94^b
22	5	60.67 ± 0.08^a	-0.51 ± 0.13^a	4.76 ± 0.13^b	60.38 ± 0.09^{ab}
	10	60.76 ± 0.21^a	-0.50 ± 0.09^a	4.26 ± 0.30^c	60.53 ± 0.20^a

注：同列不同字母表示差异显著（ $P < 0.05$ ），下同。

2.2 臭氧水处理对罗非鱼鱼糜质构特性的影响

质构特性是评价鱼糜凝胶品质的一项重要指标^[25]，臭氧水处理对罗非鱼鱼糜质构特性的影响如表4所示。臭氧水漂洗后，鱼糜的硬度与胶着度显著高于对照组（ $P < 0.05$ ）。随漂洗质量浓度的增加，硬度与胶着度呈先上升后下降的趋势。10 mg/L臭氧水漂洗10 min时，硬度、胶着度达到最高值。臭氧水促使MP交联、聚集从而使硬度提高，同时臭氧水的氧化作用强化了鱼糜热处理后的凝胶网络^[7]，使凝胶性增加。适度的氧化有利于蛋白展开，并通过二硫键及疏水相互作用在热诱导条件下形成规则且致密的凝胶网络^[26]。过度的氧化则使蛋白质过度聚集，使凝胶三维网络结构持水力下降，导致蛋白质基质中的氢键减少，阻碍凝胶的形成，降低凝胶性^[27]。因此，10 mg/L臭氧水漂洗10 min蛋白进行适度氧化，能够较大程度提高鱼糜凝胶特性。Zhang Tao等^[28]发现适度臭氧处理可以提高鲮鱼肌原纤维凝胶强度。颜明月^[29]研究表明臭氧水处理罗非鱼鱼片的硬度均高于对照组，与本研究结果一致。

表4 不同臭氧水处理条件对罗非鱼鱼糜质构特性的影响

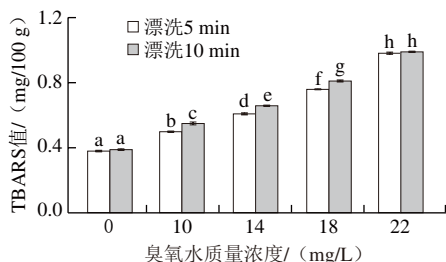
Table 4 Effects of different ozone water treatment conditions on the texture characteristics of tilapia

臭氧水质量浓度/ (mg/L)	漂洗 时间/min	硬度/g	弹性/cm	内聚性	胶着度
0	0	$1\,340.33 \pm 40.77^f$	0.81 ± 0.03^d	0.87 ± 0.02^c	$1\,170.20 \pm 59.62^e$
	5	$1\,528.23 \pm 87.86^c$	0.82 ± 0.02^d	0.87 ± 0.02^c	$1\,496.96 \pm 50.41^f$
10	10	$2\,520.33 \pm 69.25^a$	0.86 ± 0.03^{bc}	0.97 ± 0.01^a	$2\,201.71 \pm 38.38^a$
	5	$1\,892.13 \pm 66.06^d$	0.89 ± 0.02^a	0.98 ± 0.04^a	$1\,663.93 \pm 67.58^c$
14	10	$2\,065.93 \pm 14.40^c$	0.85 ± 0.04^c	0.94 ± 0.00^b	$1\,747.94 \pm 74.07^d$
	5	$2\,282.23 \pm 50.12^b$	0.85 ± 0.04^c	0.97 ± 0.01^a	$1\,985.71 \pm 73.34^b$
18	10	$2\,031.06 \pm 89.66^c$	0.87 ± 0.03^b	0.98 ± 0.03^a	$1\,794.86 \pm 53.15^d$
	5	$2\,243.46 \pm 66.25^b$	0.88 ± 0.03^{ab}	0.96 ± 0.05^{ab}	$1\,667.57 \pm 51.09^c$
22	10	$1\,872.30 \pm 19.05^d$	0.85 ± 0.03^c	0.94 ± 0.02^b	$1\,897.81 \pm 31.06^c$

2.3 臭氧水处理对罗非鱼鱼糜TBARS值的影响

TBARS作为脂质过氧化的标记物，其水平可反映肉类脂肪氧化的变化情况。相较于对照组，经臭氧水处

理后, 鱼糜脂肪氧化程度显著提高 ($P<0.05$), 并且随臭氧水质量浓度的增加和漂洗时间的延长呈上升趋势 (图1)。臭氧水质量浓度达到22 mg/L时, 5 min与10 min臭氧水漂洗的鱼糜TBARS值无显著差异 ($P>0.05$), 该质量浓度的臭氧水漂洗后, 脂肪氧化程度趋于饱和状态, 与黄永军等^[30]研究结果相近。



字母不同表示差异显著 ($P<0.05$), 图3、4同。

图1 不同臭氧水处理条件对鱼糜TBARS值的影响

Fig. 1 Effects of different ozone water treatment conditions on the TBARS value of surimi

2.4 臭氧水处理对罗非鱼鱼糜感官品质的影响

由图2可知, 臭氧水漂洗后鱼糜的外观得分明显高于对照组。漂洗质量浓度为10 mg/L时, 漂洗10 min鱼糜的气味得分上升至8.1分, 但随着臭氧水漂洗质量浓度的增加和漂洗时间的延长, 鱼糜的气味得分逐渐下降。这是因为臭氧水的氧化效应影响了腥味物质与蛋白质的结合, 使鱼糜中腥味物质含量减少^[6], 并且适度的氧化处理引起脂质氧化, 对风味起积极作用^[8], 而过度氧化处理使脂质剧烈氧化生成不良气味^[31], 这与TBARS值分析结果相印证。质地得分在10 mg/L臭氧水漂洗后达到最高值 (9.1分), 适度氧化可以使蛋白交联, 有利于提高鱼糜胶凝性, 过度的氧化则不利于形成致密的三维网络凝胶结构, 降低胶凝性, 这与质构分析结果相印证。综上所述, 10 mg/L臭氧水漂洗10 min可以提高鱼糜的感官品质。

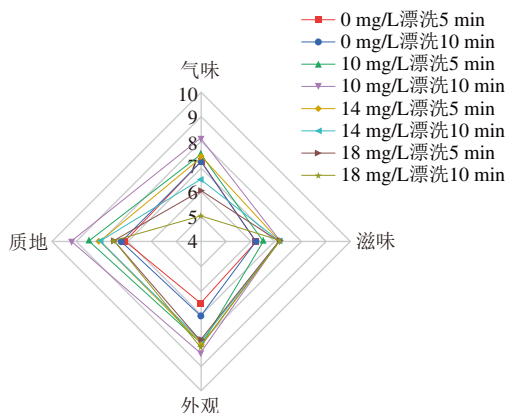


图2 不同臭氧水处理条件对鱼糜感官品质的影响

Fig. 2 Effects of different ozonated water treatment conditions on the sensory quality of surimi

2.5 臭氧水处理对罗非鱼鱼糜MP总巯基含量的影响

巯基为半胱氨酸的特征基团, 由于半胱氨酸对氧化环境具有较高的灵敏性, 因此通过测定总巯基的变化可以反映臭氧水处理对罗非鱼MP氧化程度的影响^[32]。由图3可知, 罗非鱼MP总巯基含量随臭氧水质量浓度的增加而降低, 可能是巯基电离的 H^+ 与臭氧水中的羟自由基和 $HO_2 \cdot$ 结合, 导致二硫键的形成^[9]。10 mg/L与14 mg/L臭氧水漂洗不同时间巯基含量无显著差异 ($P>0.05$), 可能是此质量浓度条件下漂洗的蛋白变性程度较低, 巯基含量下降较缓慢, 增大漂洗臭氧水质量浓度与延长漂洗时间后蛋白质结构过度展开, 两个邻近半胱氨酸分子间的蛋白质深度氧化, 巯基含量快速下降。臭氧水质量浓度越大、漂洗时间越久, MP氧化程度越深^[33]。

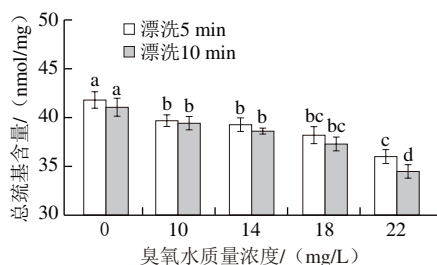


图3 不同臭氧水处理条件对鱼糜MP总巯基含量的影响

Fig. 3 Effects of different ozone water treatment conditions on the total sulfhydryl content of surimi myofibrillar proteins

2.6 臭氧水处理对罗非鱼鱼糜MP总羰基含量的影响

蛋白质主链侧链被氧化后, 蛋氨酸与精氨酸的 $-NH$ 或 $-NH_2$ 等氨基可能会通过氧化脱氢反应转化为羰基^[34], MP羰基含量可作为判定罗非鱼蛋白质氧化程度的表征指标。如图4所示, 随着臭氧水质量浓度的增加和漂洗时间的延长, 鱼糜的羰基含量显著增加 ($P<0.05$), 表明蛋白质的氧化程度与臭氧水质量浓度以及漂洗时间有直接关系。臭氧生成羟自由基和超氧阴离子自由基^[35], 攻击蛋白质分子获得氢原子, 形成以碳为中心的新自由基, 引发蛋白质自由基链式反应, 生成大量羰基^[36]。

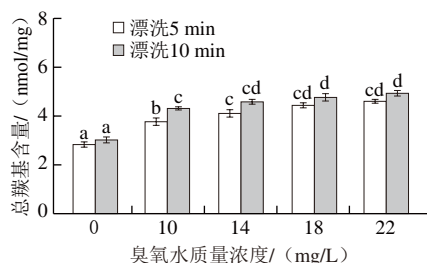


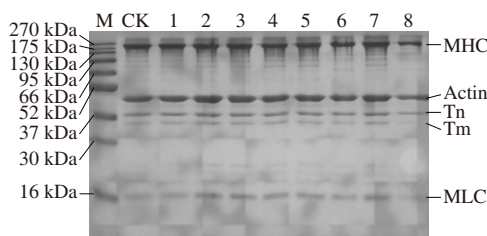
图4 不同臭氧水处理条件对鱼糜MP总羰基含量的影响

Fig. 4 Effects of different ozone water treatment conditions on the total carbonyl content of surimi myofibrillar proteins

2.7 臭氧水处理对罗非鱼鱼糜MP交联和聚集的影响

肌球蛋白重链 (myosin heavy chain, MHC)、肌动蛋白 (actomyosin, Actin)、肌钙蛋白 (troponin,

Tn)、原肌球蛋白(tropomyosin, TM)和肌球蛋白轻链(myosin light chain, MLC)是肌原纤维的主要结构^[28]。由图5可知,经过臭氧水氧化修饰后MHC附近蛋白聚集体有增多趋势,表明氧化使蛋白发生了一定程度的交联与聚集。10~18 mg/L臭氧水漂洗使蛋白适度交联,各条带颜色明显。当臭氧水质量浓度达到22 mg/L,漂洗时间达到10 min时MHC条带明显减弱,同时未产生新的可见条带,此时因为蛋白过度氧化形成不溶性聚集体,导致蛋白质分子在提取过程中被过滤除去或堆积在进样口无法顺利进入浓缩胶^[37]。



M. Marker, 图8同。CK.未处理组。1、2.臭氧水质量浓度10 mg/L,漂洗5、10 min;3、4.臭氧水质量浓度14 mg/L,漂洗5、10 min;5、6.臭氧水质量浓度18 mg/L,漂洗5、10 min;7、8.臭氧水质量浓度22 mg/L,漂洗5、10 min。

图5 不同臭氧水处理条件下鱼糜MP SDS-PAGE图

Fig. 5 SDS-PAGE patterns of MP in surimi treated with different ozone water conditions

2.8 臭氧水处理对罗非鱼鱼糜MP二级结构的影响

拉曼光谱是用来评价蛋白质构象的一种振动光谱,测量的精确度和灵敏度较高。蛋白质二级结构通常由光谱图中发挥重要作用的酰胺I($1\ 600\sim1\ 700\text{ cm}^{-1}$)和酰胺III($1\ 200\sim1\ 350\text{ cm}^{-1}$)谱带反映^[23]。由图6可看出,与对照组相比,10~18 mg/L臭氧水处理后鱼糜MP中 α -螺旋相对含量随臭氧水质量浓度增加持续减少,同时 β -折叠和无规卷曲相对含量逐渐增加。当质量浓度超过18 mg/L时,无规卷曲相对含量略有下降,蛋白变性程度达到最大。臭氧水漂洗可能会对蛋白质的肽链和氨基酸侧链产生影响,导致蛋白质 α -螺旋结构逐渐解旋,转化为松散的 β -折叠和无规卷曲结构,蛋白分子内部的疏水基团暴露,引起巯基含量下降(图3),同时肌球蛋白分子间的疏水相互作用增强,蛋白质发生聚合(表4和图5)。

Liu Ru等^[38]报道蛋白质多肽链上的羧基($-\text{CO}$)和氨基($-\text{NH}$)间的分子内氢键维持着 α -螺旋结构的稳定性,此时 α -螺旋含量的下降说明臭氧水对分子内的氢键有破坏作用,氢键稳定性下降导致 α -螺旋的消失,并使蛋白无序性增加。

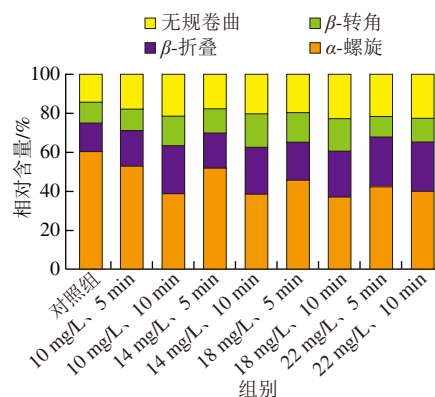
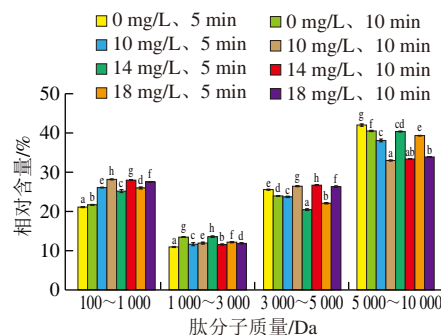


图6 不同臭氧水处理条件下鱼糜MP二级结构含量

Fig. 6 Secondary structure contents of surimi under different ozone water treatment conditions

2.9 臭氧水处理对罗非鱼鱼糜体外模拟消化中肽分子质量的影响

胃肠模拟消化是一个水解过程^[39],从消化结果可以看出蛋白质水解程度。鱼糜体外模拟胃肠消化后肽分子质量的结果如图7所示,对照组小分子肽(100~1 000 Da)相对含量约为21.19%,臭氧水漂洗后提升至26.81%~28.03%。臭氧水漂洗后小分子肽含量与对照组相比显著提高($P<0.05$)。1 000 Da以下寡肽更容易被人体吸收,因此臭氧水处理后可能会促进鱼糜蛋白在人体内的吸收及生物可利用性^[39]。臭氧水质量浓度10 mg/mL漂洗10 min时,蛋白水解程度最高,此时多肽含量最小,小分子肽含量最大。适度的臭氧水漂洗导致蛋白变性是蛋白质水解程度增大的主要原因^[40-41],但过高浓度的臭氧水和长时间的漂洗可能会使蛋白质过度氧化,引起蛋白质疏水基团暴露从而增强了蛋白质间的疏水作用导致其过度聚集,使肠胃消化液与蛋白质内部的接触点位减少。



相同肽分子质量范围字母不同表示组间差异显著($P<0.05$)。

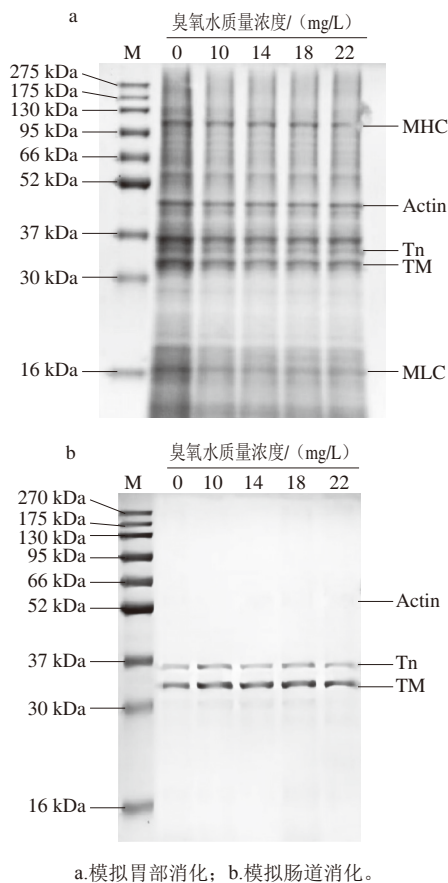
图7 经体外消化后鱼糜肽分子质量

Fig. 7 Molecular masses of peptides from surimi after *in vitro* digestion

2.10 臭氧水处理对罗非鱼鱼糜体外模拟消化的影响

图8a中,经臭氧水漂洗后,鱼糜MHC、Actin、Tn、Tm条带均比对照组(0 mg/L臭氧水)浅,表明臭

臭氧水漂洗有利于鱼糜蛋白在肠胃的消化。变性的蛋白质由于肽键暴露增加了与消化酶的接触点位,促进了鱼糜蛋白在肠胃的水解程度^[40-41]。当臭氧水漂洗质量浓度 ≥ 10 mg/L时,电泳结果相近,条带颜色变化不明显,表明10 mg/L臭氧水处理时胃部消化效果已达到最佳。肠部消化后,SDS-PAGE图谱中大分子条带基本消失,表明鱼糜在肠道已经基本完成水解(图8b)。



a.模拟胃部消化; b.模拟肠道消化。

图8 体外消化后鱼糜蛋白SDS-PAGE图

Fig. 8 SDS-PAGE patterns of surimi proteins after *in vitro* digestion

3 结论

臭氧水漂洗使罗非鱼鱼糜的 L^* 值、 W 值、硬度和胶着度显著提高($P < 0.05$),当臭氧水漂洗质量浓度 ≥ 10 mg/L、漂洗10 min时, W 值缓慢增大。10 mg/L臭氧水漂洗10 min后,鱼糜的硬度、胶着度达到最高值。臭氧水漂洗后鱼糜TBARS值显著增大($P < 0.05$)。感官评价结果表明,当臭氧水漂洗质量浓度为10 mg/L、漂洗10 min时,外观评分高于对照组,同时气味、质地评分达到最高。综上,10 mg/L臭氧水漂洗10 min为最佳漂洗条件。

10~18 mg/L臭氧水漂洗时,MP适度氧化,蛋白结构逐渐展开并适度交联,使罗非鱼的凝胶特性最佳。体

外消化模拟实验证实臭氧水漂洗促进了鱼糜在胃部的消化水解,其中10 mg/mL质量浓度臭氧水漂洗10 min时鱼糜小分子肽含量最高,水解程度最高。

综上所述,10 mg/mL臭氧水漂洗罗非鱼片10 min适用于提高罗非鱼鱼糜的品质特性。本研究可为臭氧水在水产领域的广泛应用提供理论依据。

参考文献:

- [1] 赵志霞,吴燕燕,李来好,等.我国罗非鱼加工研究现状[J].食品工业科技,2017,38(9):363-367;373. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2017.09.062.
- [2] KUWAHARA K, OSAKO K, OKAMOTO A, et al. Solubilization of myofibrils and inhibition of autolysis of squid mantle muscle by sodium citrate[J]. Journal of Food Science, 2006, 71(6): C358-C362. DOI:10.1111/j.1750-3841.2006.00112.x.
- [3] WANG J G, TANG J M, PARK J W, et al. Thermal gelation of Pacific whiting surimi in microwave assisted pasteurization[J]. Journal of Food Engineering, 2019, 258: 18-26. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2019.04.001.
- [4] LIU C K, LI W X, LIN B Y, et al. Comprehensive analysis of ozone water rinsing on the water-holding capacity of grass carp surimi gel[J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 150: 111919. DOI:10.1016/j.lwt.2021.111919.
- [5] 徐国栋,安玥琦,熊善柏,等.臭氧水处理对草鱼片贮藏过程中微生物群落结构的影响[J].现代食品科技,2023,39(1):134-143. DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.1.0255.
- [6] AGOSTINI F, FACCINI M, FITARELLI F, et al. *In vitro* comparison of antibacterial effect of ozonated water and ozonated gas[J]. Ozone: Science & Engineering, 2021, 43(4): 394-400. DOI:10.1080/01919512.2020.1811636.
- [7] 宋洁,李文协,王金鼎,等.不同浓度臭氧水漂洗对鲢鱼鱼糜凝胶特性的影响[J].食品研究与开发,2022,43(6):1-9. DOI:10.12161/j.issn.1005-6521.2022.06.001.
- [8] 赵阳美瑾,李雨羲,张斌成,等.水产品脂质与蛋白质氧化的相互作用及其品质影响的研究进展[J].大连海洋大学学报,2024(2):360-368. DOI:10.16535/j.cnki.dlhyxb.2023-204.
- [9] 李文协,李学鹏,刘慈坤,等.臭氧水漂洗对鲢鱼鱼糜品质及肌原纤维蛋白氧化的影响[J].食品工业科技,2020,41(16):7-15. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2020.16.002.
- [10] 郝淑贤,何俊燕,李来好,等.臭氧水对罗非鱼片色泽影响分析[J].食品科学,2013,34(13):50-53. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201313011.
- [11] 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.
- [12] IBANOGLU S, IBANOGLU E, UZUN H. Effects of ozone treatment on some functional properties of whey protein[J]. Journal of Biotechnology, 2016, 231: S64. DOI:10.1016/j.jbiotec.2016.05.237.
- [13] 祝超智,陈画,田玮,等.肉类蛋白质消化性影响因素研究进展[J].食品科学,2022,43(21):349-357. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20210622-260.
- [14] 张燕,李升升,赵立柱,等.烹饪温度对牦牛肉蛋白质氧化和体外消化特性的影响[J].食品科学,2024,45(2):9-16. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230430-293.
- [15] DING Y Q, LIU Y M, YANG H, et al. Effects of CaCl_2 on chemical interactions and gel properties of surimi gels from two species of carps[J]. European Food Research and Technology, 2011, 233(4): 569-576. DOI:10.1007/s00217-011-1546-1.

- [16] 国家卫生和计划生育委员会. 食品中丙二醛的测定: GB 5009.181—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [17] MULET-CABERO A I, EGGER L, PORTMANN R, et al. A standardised semi-dynamic *in vitro* digestion method suitable for food—an international consensus[J]. Food & Function, 2020, 11(2): 1702-1720. DOI:10.1039/c9fo01293a.
- [18] 卢韵君. 鱼源胶原蛋白酶解工艺及其分子量检测方法研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2016.
- [19] WANG H F, WANG P Y, SHEN Q, et al. Insight into the effect of ultrasound treatment on the rheological properties of myofibrillar proteins based on the changes in their tertiary structure[J]. Food Research International, 2022, 157: 111136. DOI:10.1016/j.foodres.2022.111136.
- [20] 岳岳静, 臧明伍, 刘海杰, 等. 干制南美白对虾贮藏过程中的肌原纤维蛋白氧化、滋味变化及其相关性分析[J]. 食品科学, 2023, 44(19): 180-189. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221017-155.
- [21] ZHU S C, WEI C S, JIN Y, et al. The fabrication and characterisation of surimi gel modified by konjac glucomannan with the different hydrolysis degree[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2023, 58(2): 766-776. DOI:10.1111/ijfs.16228.
- [22] HUANG X X, YOU Y, ZENG X F, et al. Back propagation artificial neural network (BP-ANN) for prediction of the quality of gamma-irradiated smoked bacon[J]. Food Chemistry, 2024, 437: 137806. DOI:10.1016/j.foodchem.2023.137806.
- [23] PIAO X Y, LI J W, ZHAO Y D, et al. Oxidized cellulose nanofibrils-based surimi gel enhancing additives: interactions, performance and mechanisms[J]. Food Hydrocolloids, 2022, 133: 107893. DOI:10.1016/j.foodhyd.2022.107893.
- [24] ZHANG R R, XIONG S B, 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): 9506596. DOI:10.1155/2017/9506596.
- [25] 肖斯立, 李博文, 刘巧瑜, 等. 鱼肉与猪肉复合香肠工艺优化及品质分析[J]. 肉类研究, 2023, 37(8): 8-13. DOI:10.7506/rlyj1001-8123-20230505-038.
- [26] ZHOU F B, ZHAO M M, ZHAO H F, et al. Effects of oxidative modification on gel properties of isolated porcine myofibrillar protein by peroxyl radicals[J]. Meat Science, 2014, 96(4): 1432-1439. DOI:10.1016/j.meatsci.2013.12.001.
- [27] 张顺治, 郑文栋, 安玥琦, 等. 不同漂洗方式的白鲢鱼糜品质比较[J]. 现代食品科技, 2022, 38(6): 160-168; 279. DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.6.1009.
- [28] ZHANG T, XUE Y, LI Z J, 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, 2015, 8(1): 181-190. DOI:10.1007/s11947-014-1396-5.
- [29] 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, 2015.
- [30] 黄永军, 周建新, 沈新春. 臭氧处理对小麦胚微生物和理化品质的影响[J]. 粮食与油脂, 2016(8): 50-52.
- [31] LI B 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: 144-154. DOI:10.1016/j.meatsci.2018.09.008.
- [32] LIU C K, LI W X, ZHOU M Y, et al. Effect of oxidation modification induced by peroxyl radicals on the physicochemical and gel characteristics of grass carp myofibrillar protein[J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2021, 15(6): 5572-5583. DOI:10.1007/s11694-021-01123-1.
- [33] BENJAKUL S, VISESSANGUAN W, THONGKAEW C, et al. Comparative study on physicochemical changes of muscle proteins from some tropical fish during frozen storage[J]. Food Research International, 2003, 36(8): 787-795. DOI:10.1016/S0963-9969(03)00073-5.
- [34] 张冬梅, 张顺治, 尹涛, 等. 用臭氧漂洗处理的鱼糜在贮藏过程中的品质变化[J]. 现代食品科技, 2023, 39(5): 137-147. DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.5.0717.
- [35] ZHANG T, XUE Y, LI Z J, 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. DOI:10.1016/j.ifset.2016.01.001.
- [36] 黄琳琳, 张一敏, 朱立贤, 等. 蛋白质氧化和翻译后修饰对肉品质的影响及机制研究进展[J]. 食品科学, 2021, 42(9): 241-247. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20200330-435.
- [37] 蒋祎人, 李涛, 刘友明, 等. 丙二醛氧化修饰对白鲢肌原纤维蛋白结构性质的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(6): 1-7. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190411-143.
- [38] LIU R, ZHAO S M, XIONG S B, et al. Role of secondary structures in the gelation of porcine myosin at different pH values[J]. Meat Science, 2008, 80(3): 632-639. DOI:10.1016/j.meatsci.2008.02.014.
- [39] 林安娜, 张正怡, 刘淳, 等. 人工肠道模拟系统在微凝胶体外模拟消化中的应用[J]. 现代食品科技, 2023, 39(12): 184-191. DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.12.1536.
- [40] 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. DOI:10.1021/jf072999g.
- [41] 郭蔚波, 赵燕, 徐明生, 等. 不同处理方式下蛋白质结构变化与体外消化性关系研究进展[J]. 食品科学, 2019, 40(1): 327-333. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20180612-181.