

真烏賊的僵直度及其魚漿成膠性之熱分析研究

陳莉臻¹龔鳴盛²

1. 國立宜蘭技術學院食品科學系講師
2. 國立台灣海洋大學食品科學系教授

摘要

本研究藉由示差掃描熱量分析技術直接觀察水產頭足類的肌肉蛋白質受熱變化情形，以了解生鮮和冷凍原料的肌肉蛋白質差異，以及製作煉製品的成膠特性。動物體死亡初期的肌肉在DSC圖譜上會出現一明顯放熱峰，可作為完全僵直的判斷指標，真烏賊 (*Sepia esculenta* Hoyle) 之圖譜放熱峰於捕獲後靜置9小時完全消失，顯示真烏賊已發生僵直。利用單離蛋白的純化技術證實真烏賊肌肉切片熱分析圖譜上，50°C及76°C的二個吸熱波峰分別為肌凝蛋白和肌動蛋白的熱變性溫度，而63°C的吸熱峰則為副肌凝蛋白的熱變性溫度。由SDS-PAGE電泳顯示單離純化的副肌凝蛋白分子量大約 97kD，熱變性溫度在 63°C附近。製作水產煉製品的研究方面，無鹽播潰的機械力不會破壞真烏賊的肌肉蛋白質安定性；但加入2.5% 氯化鈉播潰後，DSC圖譜上各蛋白成分的波峰溫度降低，顯示加鹽操作會促使鹽溶性蛋白質溶出，降低熱安定性。短期凍藏方式（12週以內）不影響真烏賊肌肉蛋白質的熱穩定性，唯凍藏12週後，可能會發生蛋白質凝聚的現象。將製成的魚糕測定其穿破力、變形度、膠強度顯示製品無法表現出煉製品的質感，可能為肌肉蛋白質中存在高比例的副肌凝蛋白所致。

關鍵詞：真烏賊、熱分析、肌肉蛋白質、僵直、煉製品

Study on Rigor Mortis Progress and Gel Formation of *Sepia esculenta* Hoyle by Differential Scanning Calorimetry

Li-Chen Chen¹ and Ming-Sheng Kong²

1. Lecturer Department of Food Science, National Ilan Institute of Technology

2. Professor Department of Food Science, National Taiwan Ocean University

Abstract

In order to understand the difference between fresh and frozen marine cephalopod muscle proteins, and the gelation property of surimi-based products, the muscle protein was analyzed by using the differential scanning calorimetry (DSC). The exothermic peak was found in animal muscle at early stage of death could be used as an indicator showing its entering rigor mortis stage. The exothermic peak of freshly harvested cuttle fish (*Sepia esculenta* Hoyle) disappeared after 9-hour-storing exhibited the muscle had entered the full rigor stage. Protein purification technique was used to illustrate the two exothermic peaks occurring at 50°C and 76°C represented the thermal denaturation temperature of cuttle fish myosin and actin, respectively, and the endothermic peak at 63°C was the thermal unfolding temperature of paramyosin. SDS-PAGE patterns showed the paramyosin was around 97 kD, and its thermal denaturation was around 63°C. In making surimi-based products, the stability of cuttle fish muscle protein was not affected by mechanical force in the salt free-minced process. However, endothermic peak shifted to the lower temperature in DSC profiles when 2.5% salt was added during chopping, which demonstrate that the addition of salt enforced the salt-out effect in salt-soluble-protein and reduce its thermal stability. Short period (within 12 wk) storage did not affect the thermal stability of proteins, but protein aggregation was observed at 12 wk frozen clusters. The gel strength, breaking force and deformation of fish cakes made from cuttle fish revealed the quality were not comparable to surimi-based products, which could be due to the high paramyosin content.

Key Words : *Sepia esculenta* Hoyle, thermal analysis, muscle proteins, rigor mortis, surimi-based product

一、前言

魚肉之蛋白質含量約為 15-24 % [1]，依其溶解度不同可分為水溶性的肌漿蛋白質 (sarcoplasmic protein)、鹽溶性的肌原纖維蛋白質 (myofibrillar protein) 和不溶性的肌質蛋白質 (stroma protein) [2,3]。其中肌原纖維蛋白質是構成肌肉纖維的主要成分，包括肌凝蛋白 (myosin)、肌動蛋白 (actin)、原肌球蛋白 (tropomyosin)、變化蛋白素 (troponin) 及其它次要蛋白質如 α -actinin 和 β -actinin 等 [4]，佔魚肉總蛋白量之 66-77 %，也是決定水產加工適性之重要因子 [1]。無脊椎動物的水產頭足類與一般脊椎動物的魚類之肌肉蛋白質間最大差異是具有副肌凝蛋白 (paramyosin)，且在肌肉蛋白質中所佔的比例甚高 [5]。

熱分析技術可動態觀察肌肉蛋白質受熱過程之變化情形。Wright 等學者 [6] 利用示差掃描熱量分析儀 (Differential Scanning Calorimetry ; DSC)，證實兔肉的熱分析圖譜上，三個吸熱峰分別代表肌肉蛋白質中的肌凝蛋白、肌漿蛋白及肌動蛋白之熱變性溫度。後續對其他溫血動物和水產動物肌肉的熱分析研究，發現其熱分析圖譜相似，僅熱變性吸熱峰發生溫度互有差異，顯示生長環境的溫度會影響其肌肉蛋白的熱安定性 [7-11]。動物死後因血液循環系統中止，導致體內缺氧而成無氧狀態，但體內的生化反應仍持續進行，肌肉逐漸有收縮、硬化、不透明現象的發生，即所謂死後僵直，而達到僵直期所需的時間則視動物種類而異 [12,13]。一般傳統可藉測定其外觀僵直度及生化變化如肌肉內 ATP、肝醣、pH 值、K 值等，作為判定僵直程度的指標 [12-18]。Wright 等 [6] 及 Park 等 [19] 觀察到僵直前的兔肉和吳郭魚肌肉之 DSC 圖譜上會出現明顯放熱峰；陳 [20] 進一步配合熱僵直分析儀，發現此放熱峰發生溫度與死後硬直進程有關。由於水產頭足類的真烏賊並不易觀察到肌肉硬直的現象，難以由外觀直接判定是否進入僵直期；又因其生理代謝與一般魚類不同 [21]，生化變化測定因原料條件的限制 (季節、採肉部位等) 或操作繁複，無法立即得知是否進入僵直期，因此藉由 DSC 的分析技術觀察肌肉切片的熱分析圖譜，作為判斷水產頭足類死後僵直的方法。

熱分析技術也可用來觀察加工操作對魚漿的影響。Wu 等人 [22] 以熱分析技術觀察石首魚 (Atlantic croaker) 魚漿，發現鹽的添加促使魚漿蛋白質的變性溫度往低溫移動，顯示鹽有助於組織蛋白的溶出，而降低了蛋白質的熱安定性；祝 [23] 則藉由熱分析圖譜上波峰的發生溫度與波形面積 (代表焓值；enthalpy)，同時定性及定量出最適化的組織蛋白溶出量及熱凝膠強度。

運用頭足類製作凝膠製品的研究上，Sano 等人 [24] 將魷魚之副肌凝蛋白添加到阿拉斯加鱈魚的肌動凝蛋白 (actomyosin) 中，發現少量的副肌凝蛋白即可明顯地提高阿拉斯加鱈魚肌動凝蛋白之膠強度。鍾 [25] 發現一般魚漿製程的加鹽和搗潰條件均不適宜阿根廷魷魚煉製品之生產；姜和龔 [26] 以示差掃描熱量分析儀觀察加工製程，亦發現阿根廷魷魚在搗潰中，肌凝蛋白會呈強烈親水化和具有低溫變性傾向 (肌凝蛋白的熱變性發生溫度明顯下降)，可能因此在搗潰中易發生凝集變性降低成膠能力。

由上述結果可知有關水產頭足類在 DSC 上的研究較少 [10,27,28]，且只使用部分肌肉蛋白成分或以冷凍原料作為煉製品之研究原料，因此選取本地產的生鮮真烏賊 (花枝) 為原料，研究其肌肉蛋白的特性，以及了解生鮮頭足類製作煉製品的適用性。

二、材料與方法

(一) 實驗材料

購自基隆市和平島捕獲的真烏賊 (花枝) (*Sepia esculenta* Hoyle)，取其胴肉為實驗原料。

(二) 實驗方法

1. 示差掃描熱量分析儀 (Differential Scanning Calorimetry ; DSC) 之分析

以 Du Pont Thermal Analysis System (DSC 10 型，美國) 進行測定。DSC 之測定條件為：(1) 樣品重量：約 15±2 mg 樣品密封入鋁質試樣皿供測，精稱至 0.01 mg 以利吸放熱量計算的可靠性。為減少測定圖譜基準線上的偏移造成判讀誤差，將近似肉品含水率 (80%) 的 12±1.6 mg 蒸餾水封入另一耐壓試樣皿中同步上機測定，作為對照組，以消去試樣皿及水份所造成的比熱變化影響。每種試樣至少重覆測試三次，如遇再現不良者即增加測定次數直到能判別出明顯再現性，再選擇具代表的圖譜進行分析。(2) 加熱速率：10 /min。(3) 昇溫範圍：5 105。而 DSC 溫度及熱量的修正，均以銻 (indium) 為標準，並以 benzoic acid 融點補充修正。

2. pH 值測定

依 Korhonen 等 [29] 學者的測定方式。取 5g 去皮胴肉，加入 45ml 的蒸餾水 (1:9)，以均質機 (Polytron PT-3000 型) 均質 1 分鐘，再以 pH 計 (SP-2200 型) 測定其 pH 值。

3.揮發性鹽基態氮含量分析(Volatile Basic Nitrogen ; VBN)

山形等〔30〕的實驗方法經修改後，進行下列實驗步驟的檢測分析：

取 5 g 樣品，以 7 % TCA 均質後過濾，並定容至 50ml。吸取 1ml 硼酸吸收劑注入 Conway's dish 內室，其蓋緣塗上凡士林，蓋上蓋子，來回旋轉確認其密合情況，放置 15分鐘，看吸收劑有無褪色；若褪為無色，則表示 Conway's dish 不潔，取未褪色者使用之。吸取試液 1ml 注入外室，將 Conway's dish 蓋子滑動蓋上。將蓋滑動推開一小縫，吸取 1ml 飽和碳酸分解液注入外室並立即滑動玻璃蓋加壓蓋妥，並以制壓器 (clip) 壓制之，輕輕地水平搖動 Conway's dish 使分解液與試液充分混合。將 Conway's dish 放入 37 之恆溫箱中保溫 90分鐘。取出 Conway's dish 以水平微量滴定管滴入 N/50 HCl 於內室，至內室吸收劑之溶液出現桃紅色為止。本實驗需作空白試驗，以 1ml 7 % TCA

代替試液。

計算：

$$\text{VBN (mg \%)} = 0.02 \times 14 \times (a-b) \times F \times 50/W \times 100$$

a：試液滴定量

b：空白試液滴定量

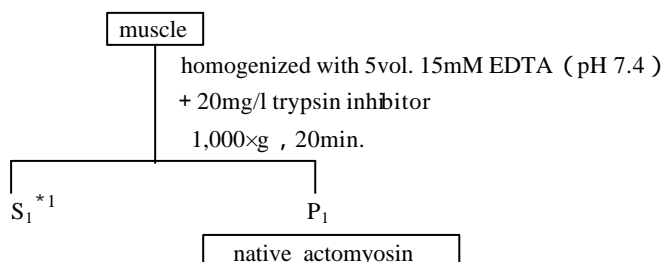
50/W：50 表示定容至 50ml，W 表示樣品重(g)

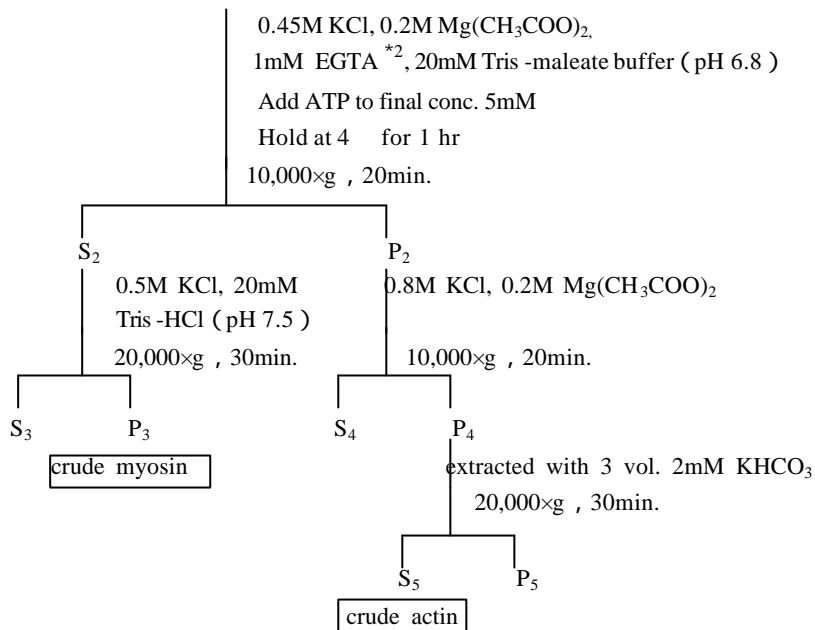
F：0.02N HCl 之力價

4.組織蛋白之分離純化

(1)肌凝蛋白及肌動蛋白的純化

依 Tsuchiya〔31〕等人的純化方法為主體，再以 Park及Lanier〔32〕的方法加以修飾，實驗流程如下：

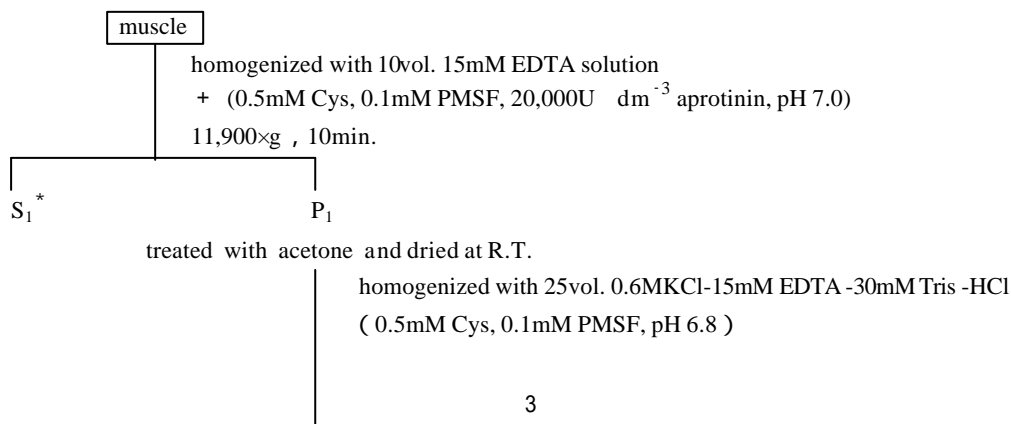


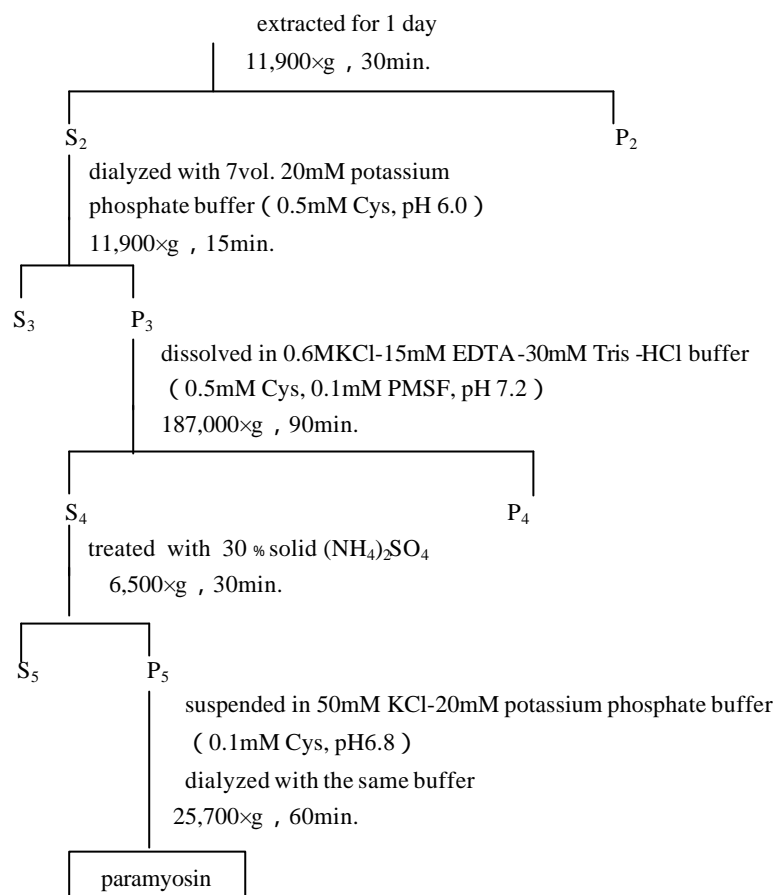


*1 : S_x = supernant, P_x = pellet.
 *2 : EGTA = ethylene glycol-bis N,N,N',N' -tetraacetic acid

(2)副肌凝蛋白的純化

參考 Sano [24] 等人的純化方法 , 實驗流程如下 :





* : S = supernant, P= pellet.

5.電泳分析

以SDS-不連續聚丙烯醯胺膠體電泳 (SDS-Polyacrylamide Gel Electrophoresis) 之方法分析 [33] 。

(1)試劑配製

a. Acrylamide-bisacrylamide溶液

取30g acrylamide 及0.8g N,N'-methylene-bisacrylamide , 以蒸餾水溶解並定容至100ml , 以濾紙過濾裝於褐色瓶 , 保存於4 備用。

b. Stacking gel buffer

取6.0g Tris (hydroxymethyl) aminomethane加 80ml蒸餾水溶解 , 以1M HCl 調 pH為6.8 , 定量至100ml , 冷藏於4 備用。

c. Resolving gel buffer

取36.3g Tris以48ml 1M HCl溶解 , 加去離子水溶解 , 再用1M HCl調溶液 pH為8.8 , 定容至100ml , 冷藏於4 備用。

d. TEMED

N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine溶液 (Merck)冷藏於4 備用。

e. Ammonium persulfate : 配製成1.5 % 溶液 , 當日配製使用。

f. SDS : Sodium dodecyl sulfate配製成10 % 溶液 , 於室溫儲藏備用。

g. Reservoir buffer :

取3.0g Tris、 14.4g Glycine及1g SDS溶成 1L的溶液 , 即為Tris-glycine (pH8.3) 緩衝溶液。

h.追蹤染料 (Tracking dye) :

BPB (bromophenol blue) 配製成0.05 % 溶液 , 冷藏於4 備用。

(2)膠體配製

Stock solution	10 % Resolving gel (ml)	3.75 % Stacking gel (ml)
Acrylamide-bisacrylamide	2.667	0.5

Stacking gel buffer	-----	1.0
Resolving gel buffer	1.0	-----
Distilled H ₂ O	3.853	2.26
10 % SDS	0.08	0.04
1.5 % Ammonium persulfate	0.4	0.2
TEMED	0.004	0.004

依上表順序加入 resolving gel 的各種組成溶液，攪拌均勻後倒入玻板夾層 (slab)，加少量水於其上待其成膠，當水與膠體目視下形成分層之界面時，即代表 resolving gel 已凝膠，再以濾紙吸乾膠體上的水，完成凝膠操作。再依 stacking gel 的配方，依序加入各種溶液，攪拌均勻後，傾倒注入已具有 resolving gel 的玻板夾層中，並自上方裝入樣品槽齒模 (comb)，靜置凝膠以形成樣品槽。

(3) 試樣製備

取0.5ml蛋白質溶液，加入等體積之2 % SDS-5 % β -mercaptoethanol-62.5m mole Tris-HCl (pH6.8) 緩衝溶液，於100 加熱3分鐘後，再加入0.5ml 10 % sucrose-0.05 % BPB (bromophenol blue) 混合液，取10 μ l注入膠體樣品槽中，上槽接負極，下槽接正極，通電後，電壓固定為80伏特，泳動1-2小時，當BPB距離底部1公分時停止泳動。

(4) 膠體之染色、脫色與保存

取下膠體，以12.5 % TCA (trichloroacetic acid) 固定蛋白質30分鐘，以1.2 % Coomassie blue-50 % methanol-9.2 % acetic acid 混合液染色4-5小時，再以脫色液 (水：醋酸：甲醇=8：1：1) 脫色6-7小時後，置於玻璃紙中，自然風乾2-3天。

6. 魚漿煉製品之品質測定

(1) 魚糕的製造 [28]

將新鮮及凍結不同週次的真烏賊胴肉細碎後，保持在 5℃ 以下研碎搗潰 2 分鐘，再加 2.5 % NaCl (W/W) 搗潰 3 分鐘，將魚漿灌入周長 8 公分，長度約 20 公分的腸衣中，再以 85℃ 水煮 30分鐘，製成魚香腸式的煉製品；再以流水冷卻至室溫，置於 5℃ 冷藏庫中隔夜，再進行膠強度測定。

(2) 魚糕膠強度之測定

蒸煮過之魚糕成品，靜置 5 一夜後取出不經回溫，切成 3 公分長，以物性測定儀 (Sun Rheometer, model CR-300) 所使用的探頭直徑約為 57mm，測定其穿破力 (breaking force, g)；變形度 (deformation, cm)；其乘積代表膠強度 (gel strength, g·cm)。

三、結果與討論

一、水產頭足類死後僵直之判定

圖1 為剛捕獲的真烏賊及其胴肉靜置4 不同時間之肌肉切片的DSC測定圖譜 (切片方式參考黃 [28])。在 53 55、68 70 及83 85 三處出現吸熱峰，在觀察過程中吸熱峰型圖譜無明顯變化，而胴肉 pH值改變則在 6.60 6.71之間。明顯可觀察到在約45 處出現的較低溫放熱峰，隨著捕獲後時間的增長，放熱峰的面積 (代表焓值) 逐漸減小，而放熱波峰終在9小時後消失。陳 [20] 指出此放熱峰的產生主要為肌漿中的鈣離子釋出，提升了ATPase活性、促使ATP分解，造成肌肉纖維收縮並產生放熱的現象，因此，此放熱峰可作為快速判定僵直程度的指標。當完全僵直發生後，低溫放熱峰會消失，具有反映僵直度的功能，據此可判定真烏賊的完全僵直發生在捕獲後9小時之內。

二、肌肉組織蛋白的單離與純化

為確認在熱分析圖譜上三個吸熱峰所代表的意義，將真烏賊肌肉組織蛋白單離純化並進行 DSC分析 (圖2)。DSC圖譜中粗純化的肌凝蛋白和肌動蛋白分別在50、74 和53、76 各兩處發生吸熱波峰，而主要波峰溫度各在50 和76 ，應該分別為真烏賊肌肉中肌凝蛋白和肌動蛋白的熱變性溫度。單離蛋白的波峰溫度略低於肌肉態的54 和83 ，可能是純化後少了其他肌肉成分的保護作用所致。由於粗單離蛋白在DSC圖譜上無法獲得單一波峰，反映出純化過程並無法完全純化單離，其原因可能是無脊椎動物肌肉中存在一定比例的副肌凝蛋白，黃 [28] 推論是純化過程中形成一種肌動蛋白 - 肌凝蛋白 - 副肌凝蛋白的複合物所致。

真烏賊肌肉態圖譜中尚有一個明顯的69 吸熱波峰，推測可能為副肌凝蛋白的熱變性展開溫度，因此以DSC測定純化出的副肌凝蛋白 (圖2)，其圖譜中僅出現單一的吸熱波峰，峰頂溫度出現在63 ，顯示肌肉態DSC圖譜中 69 的吸熱峰，應該為副肌凝蛋白與肌凝蛋白、肌動蛋白之間發生交互作用所產生的。進一步以 SDS-PAGE電泳方

法確認副肌凝蛋白之純度（圖3），單離蛋白的電泳圖出現單一分子量帶，其分子量對照蛋白質標準品約為97,000 daltons。

三、水產頭足類煉製品之加工適性

由於新鮮捕獲的真烏賊因活動力強，仍會在DSC圖譜上出現放熱峰，而可能影響吸熱峰的表現，因此將生鮮原料於5℃靜置24小時後，進行真烏賊的肌肉態、無鹽及加鹽搗潰魚漿態之熱分析測定（圖4）。比較無鹽搗潰魚漿和肌肉態的DSC圖譜並無明顯差異，表示真烏賊的肌肉蛋白質不易受搗潰之機械操作力破壞，因此搗潰的機械力並不影響其肌肉蛋白質的熱穩定性。但真烏賊胴肉加入2.5%氯化鈉進行搗潰時，代表肌凝蛋白、副肌凝蛋白及肌動蛋白的熱變性溫度均往低溫移動，與Tsuchiya等人〔34〕和Wu等人〔22〕研究指出鹽類的添加會令肌肉由纖維態轉移到組織蛋白的分散態，促使鹽溶性組織蛋白充分溶出、降低了蛋白質的安定性，導致魚漿蛋白質的變性溫度往低溫移動之現象相符。此外，DSC圖譜中還出現一個61℃吸熱波峰，推測是加鹽效應促使部分副肌凝蛋白溶出，加上少了其他蛋白質的干擾，因此副肌凝蛋白熱變性展開溫度由63℃略微下降至61℃。

由於加工原料可能發生季節性調控問題，因此分析新鮮及凍藏不同週數的真烏賊所製成之無鹽魚漿及加鹽魚漿之差異，以VBN值作為鮮度的指標，綜合比較其鮮度與蛋白質熱穩定性、魚糕品質之變化情形（表1）。在-20℃凍藏12週期間，真烏賊的VBN值仍保持在新鮮狀態（5mg%）。肌肉蛋白質的熱穩定性部分，無鹽及加鹽魚漿的DSC圖譜的吸熱峰型態及峰溫幾乎維持不變，顯示新鮮原料凍藏後，蛋白質的熱穩定性與鹽溶性蛋白質溶出情形不受凍藏影響。唯無鹽魚漿在凍藏12週後，熱分析圖形由三峰型變為二峰型，反映了肌肉纖維態蛋白質會因低溫冷凍而發生凝聚的現象〔23〕。

比較凍藏過程對真烏賊製成魚糕的成膠能力之影響（表1）。不同凍藏時期的魚糕之穿破力在480g-520g之間，但是代表魚糕品質的變形度僅為0.4-0.7cm，與吳郭魚、阿根廷魷魚相較，明顯低於吳郭魚的0.95cm〔23〕，及同屬頭足類的阿根廷魷魚（變形度0.86cm）〔28〕，顯示真烏賊所製成的魚糕比此二種魚糕呈現較為硬、脆的質感。由於凍藏會造成魚肉組織蛋白的冷凍變性而影響凝膠性，主要是肌凝蛋白的不溶化所致〔35〕，但本實驗顯示凍藏時間愈長似乎有提高凝膠性的效果，是否代表適度的冷凍變性有助於副肌凝蛋白存在的凝膠系統，詳細原因尚須進一步研究證實。真烏賊經搗潰製成無鹽魚糕後即可測出膠強度，推測可能是原料本身離子強度較高，或者因少量副肌凝蛋白即可提高肌動凝蛋白之膠強度〔24〕，搗潰的機械操作力可能促使少量副肌凝蛋白溶出（副肌凝蛋白熱變性溫度略向低溫移動），與其他凝膠性蛋白質相互作用所造成。雖然加鹽的操作方式可以促進鹽溶性蛋白溶出，有助於提升凝膠能力及改善魚糕製品之品質，但對於真烏賊製成的魚糕製品效果有限，應是其肌肉蛋白質中副肌凝蛋白所占的比例甚高，影響製成的凝膠製品品質。

四、結論

藉由DSC的熱分析技術可以直接且快速地觀察水產頭足類僵直發生的時間，真烏賊在捕獲後9小時內即完全僵直。利用純化方法單離出肌肉組成蛋白，證實真烏賊肌肉態圖譜中所出現的三個吸熱峰，依序代表肌凝蛋白、副肌凝蛋白及肌動蛋白的熱展開變性溫度，而副肌凝蛋白的存在會與肌凝蛋白、肌動蛋白相互作用，可能對生鮮和凍藏真烏賊魚漿的凝膠系統，以及所製成的魚糕品質造成影響，本研究提供初步研究結果，詳細機制需要再深入研究探討。

五、參考文獻

1. Suzuki, T. (1981) Characteristics of fish meat and fish protein. In "Fish and krill proteins", Processing technology. pp. 1- 56, Applied Science Publishers Ltd., London.
2. Ziegler, G. R. and J. C. Acton (1984), "Mechanisms of gel formation by proteins of muscle tissue", Food Technol. Vol.38, No.5, pp.77-80,82.
3. Hultin, H.O. (1985), Characteristics of muscle tissue. In "Food Chemistry". Fennema, O. R. (Ed.). Marcel Dekker, Inc., New York.

- 4.須山三千三、鴻巢章二 (1987), 水產食品學, 第17頁, 恒星社厚生閣, 東京, 日本。
- 5.Tsuchiya, T. (1978), Biochemical studies on the oblique striated mantle muscle of the squid, The constituent proteins and the contraction mechanism. Sc. D. thesis, Sophia University, Tokyo, Japan.
- 6.Wright, D. J., Leach, I. B. and P. Wilding (1977), "Differential scanning calorimetric studies of muscle and its constituent proteins", J. Sci. Food Agric. Vol.28, No.6, pp.557-564.
- 7.Stabursvik, E. and H. Martens (1980), "Thermal denaturation of proteins in post rigor muscle tissue as studied by differential scanning calorimetry", J. Sci. Food Agric. Vol.31, No.10, pp.1034-1042.
- 8.Quinn, J. R., Raymodo, D. P. and V. R. Harwalkar (1980), "Differential scanning calorimetry of meat proteins as affected by processing treatment. J. Food Sci. Vol.45, No.5, pp.1146-1149.
- 9.Kijowski, J. M. and M. G. Mast (1988), "Thermal properties of proteins in chicken broiler tissues", J. Food Sci. Vol.53, No.2, pp.367-370, 387.
- 10.Hastings, R. J., Rodger, G. W., Park, R., Matthews, A. D. and E. M. Anderson (1985), "Differential scanning calorimetry of fish muscle: The effect of processing and species variation", J. Food Sci. Vol.50, No.2, pp.503-506, 510.
- 11.Iso, N., Mizuno, H., Ogawa, H., Mochizuki, Y. and N. Masuda (1991), "Differential scanning calorimetry on fish meat paste", Nippon Suisan Gakkaishi. Vol.57, No.2, pp.337-340.
- 12.Amlacher, E. (1961), Rigor mortis in fish. In "Fish as Food," Vol. 1. Borgstrom, G. (Ed.). Academic Press, New York.
- 13.Bitto, M., Yamada, K., Mikumo, Y. and K. Amano (1983), "Studies on rigor mortis of fish - I. Difference in the mode of rigor mortis among some varieties of fish by modified Cutting's method", Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab. No. 109, pp.89.
- 14.Honikel, K.O. and C. Fisher (1977), "A quick method of determining PSE and DFD meat in pig", Fleischwirtschaft. Vol.57, No.5, pp.1015-1017.
- 15.Hamm, R. (1981), Postmortem changes in muscle. In "The Structure and Function of Muscle", Vol. 2, Bourne, G. H. (Ed.) Academic Press, Inc., New York.
- 16.Iwamoto, M., Ioka, H., Saito, M., and H. Yamanaka (1985), "Relation between rigor mortis of sea bream and storage temperature", Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. Vol.51, No.3, pp. 443-446.
17. Iwamoto, M. and H. Yamanaka (1986), "Remarkable difference in rigor mortis between wild and cultured specimens of the red sea bream *Pagrus major*", Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. Vol. 52, No.2, pp. 275-279.
- 18.Iwamoto, M., Yamanaka, H., Watabe, S., and K. Hashimoto (1987), "Effect of storage temperature on rigor mortis and ATP degradation in plaice *Paralichthys olivaceus* muscle", J. Food Sci. Vol.53, No.6, pp. 1514-1517.
- 19.Park, J. W. and T. C. Lanier (1988), "Calorimetric changes during development of rigor mortis", J. Food Sci. Vol.53, No.5, pp.1312-1314.
- 20.陳福隆 (1993), 肌肉僵直度新鑑視方法的建立 - 吳郭魚鈣引發肌肉收縮之示差熱分析, 國立臺灣海洋大學碩士論文。
- 22.Wu, M.C., Akahane, T., Lanier, T.C. and D.D. Hamann (1985), "Thermal transitions of actomyosin and surimi prepared from Atlantic croaker as studied by differential scanning calorimetry", J. Food Sci. Vol.50, No.1, pp.10-13.
- 21.Ohase, E., Okamoto, M., Ozawa, A. and T. Fujita (1991), "Characterization of common squid using several freshness indicators", J. Food Sci. Vol.56, No.1, pp.161-163, 174.
- 23.祝永平 (1993), 以示差掃描熱量分析技術探討淡水吳郭魚魚漿成膠機構, 國立臺灣海洋大學碩士論文
- 24.Sano, T., Noguchi, S. F., Tsuchiya, T. and J. J. Matsumoto (1986) "Contribution of paramyosin to marine meat gel characteristics", J. Food Sci. Vol.51, No.4, pp.946-950.
- 25.鍾忠勇 (1991), 魷魚之原料特性 (四) 赤魷、紐西蘭魷及阿根廷魷製造煉製品之加工特性, 魷魚加工第63頁, 國立台灣海洋大學水產食品科學叢書。
- 26.姜文媚、龔鳴盛 (1992), 阿根廷魷魚在搗潰和靜置中蛋白質穩定性對成膠能力的影響, 食品科學, 第十九卷, 第264頁。
- 27.Rodger, G., Weddle, R. B., Craig, P. and R. Hastings (1984), "Effect of alkaline protease activity on some properties of comminuted squid", J. Food Sci. Vol.49, No.1, pp.117-119, 123.

- 28.黃一菁 (1993), 利用熱分析技術研究肌肉/肉漿之相轉移及魷魚魚漿成膠機制, 國立臺灣海洋大學碩士論文。
- 29.Korhonen, R.W., Lanier, C.T.,and F. Giesbrcht (1991), " An evaluation of simple methods for following rigor development in fish", J. Food Sci. Vol.55, No.2, pp.346-348,368.
- 30.山形誠 (1974), 魚肉 , 微量擴散法 定量, "水產生物化學、食品學實驗書", 河端俊治等編著, 第281頁, 恆星社厚生閣, 東京, 日本。
- 31.Tsuchiya, T., Yamada, N. and J.J. Matsumoto (1978), " Extraction and purification of squid myosin" Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. Vol.44, No.2, pp.175-179.
- 32.Park, J.W. and T.C. Lanier (1989), " Scanning calorimetric behavior of tilapia myosin and actin due to processing of muscle and protein purification" , J. Food Sci. Vol.54, No.1, pp.49-51.
33. Hames, B.D. (1981), An introduction to polyacryamide gel electrophoresis. Gel electrophoresis of protein of protein : a practical approach. (Ed.) Hames B.D. and Rickwood D. IRL. Pub. U.S.A.
- 34.Tsuchiya, T., Fukuhara, S .and J.J. Matsumotion (1980), " Physico-chemical properties of squid paramyosin" , Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. Vol.46, No.2, pp.197-200 .
- 35.吳清熊 (1992), " 食品貯藏、加工技術的原理", 水產加工技術, 第89-95頁, 華香園出版社, 台北, 台灣。

91年08月26日投稿

91年09月20日接受

表1 不同凍藏期間真烏賊 (*Sepia esculenta* Hoyle) VBN 值、熱分析波峰溫度、穿破力、變形度及膠強度之變化

Table 1 Changes of VBN values, characteristic DSC endothermic peak temperature, breaking force, deformation and gel strength of cuttle fish (*Sepia esculenta* Hoyle) in different frozen stages.

Condition	Storage (weeks)	VBN (mg %)	DSC endothermic peak temperature ()	Breaking force (g)	Deformation (cm)	Gel strength (g×cm)
Muscle	-	0	54、69、83	-	-	-
Mince (Mince with 2.5 % NaCl)	0	0	53、68、83 (50、68、81)	491.2±25.4 (511.2±56.7)	0.52±0.05 (0.63±0.10)	253.2±29.3 (320.8±59.5)
	2	2.04±0.96	53、68、82 (51、67、81)	480.0±44.8 (548.2±67.5)	0.37±0.04 (0.40±0.10)	180.5±28.4 (233.7±69.5)
	4	3.80±0.77	53、68、82 (51、68、81)	480.8±30.0 (548.2±54.0)	0.47±0.04 (0.65±0.06)	227.1±27.2 (352.7±47.9)
	8	4.89±0.77	52、67、84 (50、69、80)	520.3±25.2 (563.7±55.2)	0.56±0.09 (0.66±0.06)	295.7±39.9 (377.9±66.7)
	12	5.30±0.19	53、84 (51、68、80)	520.0±47.9 (569.3±35.4)	0.76±0.08 (0.83±0.05)	388.6±46.7 (465.5±22.9)

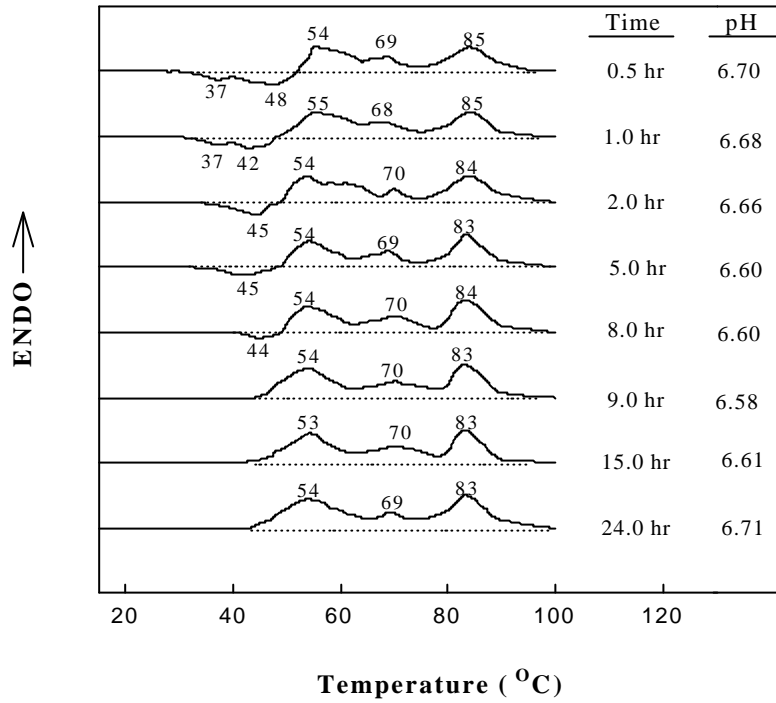


圖1 真烏賊 (*Sepia esculenta* Hoyle) 僵直過程中肌肉切片之熱分析圖譜及其pH值變化情形

Fig 1 DSC thermograms and pH values of muscle slices obtained from cuttle fish (*Sepia esculenta* Hoyle) in postmortem change.

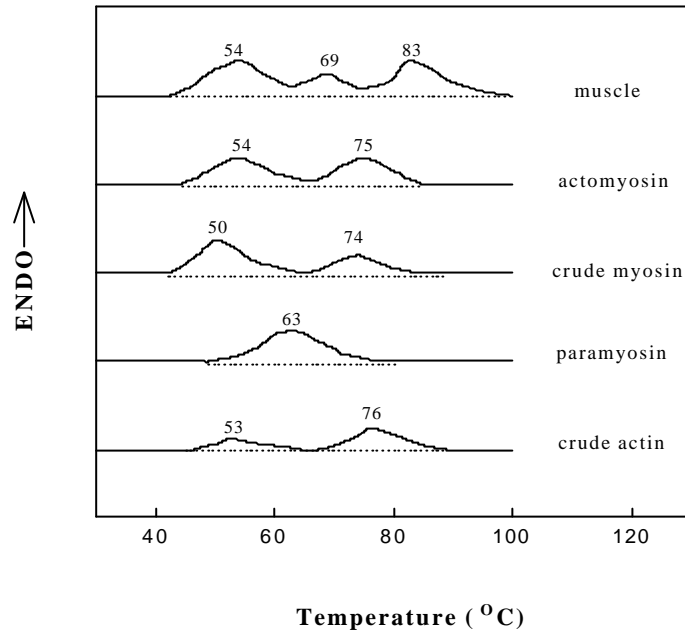


圖2 真烏賊 (*Sepia esculenta* Hoyle) 肌肉中各單離蛋白的熱分析圖譜

Fig 2 DSC thermograms of purified muscle proteins obtained from cuttle fish (*Sepia esculenta* Hoyle).

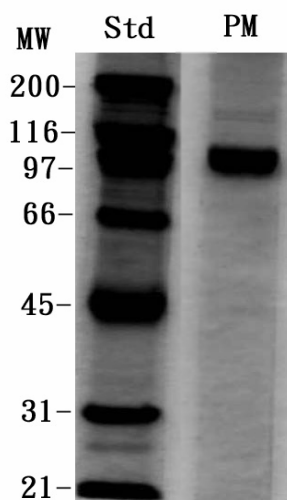


圖3 真烏賊 (*Sepia esculenta* Hoyle) 單離副肌凝蛋白的SDS-PAGE電泳圖

Fig 3 SDS-PAGE patterns of the paramyosin (PM) of cuttle fish (*Sepia esculenta* Hoyle) and the protein standard.

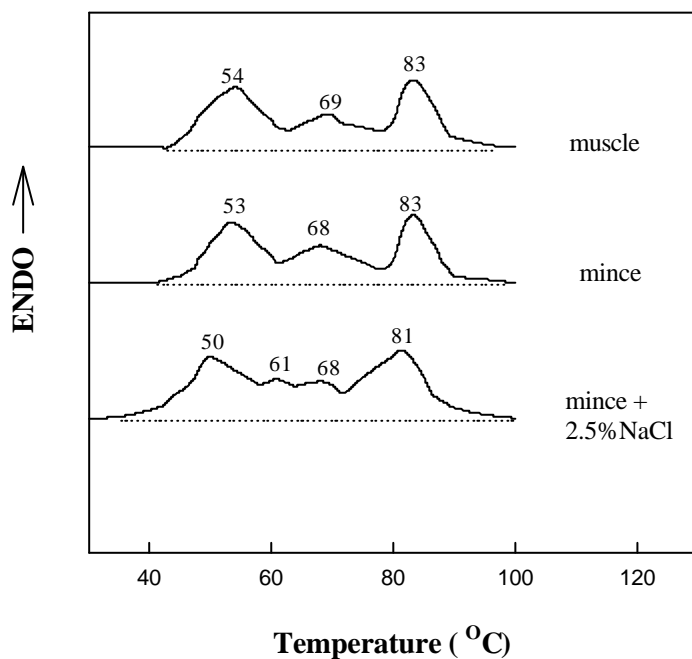


圖4 真烏賊 (*Sepia esculenta* Hoyle) 的肌肉切片、無鹽魚漿及加鹽魚漿的熱分析圖譜

Fig 4 DSC thermograms of cuttle fish (*Sepia esculenta* Hoyle) muscle, mince with and without 2.5%NaCl addition.

