

# 海藻糖和褐藻胶寡糖对冻藏紫贻贝品质的影响

虞铭霞, 张怡, 张宾

(浙江海洋大学食品与医药学院, 浙江舟山 316022)

**摘要:** 为探讨海藻糖和褐藻胶寡糖的低温保护活性, 以紫贻贝为对象, 评价了海藻糖和褐藻胶寡糖处理对冻藏紫贻贝肉品质特性的影响。结果发现, 在6周冻藏过程中, 相比于蒸馏水和空白组, 海藻糖和褐藻胶寡糖显著 ( $p < 0.05$ ) 降低了紫贻贝肉解冻损失率, 褐藻胶寡糖组解冻损失率低至 14.28%, 并维持了较好的弹性和咀嚼性等特性, 同时有效抑制了紫贻贝肉中菌落总数的快速增加。此外, 两种糖类浸泡处理维持了较好的肌原纤维蛋白  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活力, 肌原纤维蛋白  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活力在 0.019~0.021 U/mg prot 范围内, 三个处理组之间并无显著性差异 ( $p > 0.05$ )。微观观察发现, 海藻糖和褐藻胶寡糖处理紫贻贝, 组织结构相对较为完整、致密, 细胞间隙冰晶颗粒面积较小, 其组织结构保护作用明显优于焦磷酸钠处理效果。海藻糖和褐藻胶寡糖可作为一种高效的低温保护剂, 用于保持紫贻贝及其制品品质及延长冻藏产品货架期。

**关键词:** 紫贻贝; 冻藏; 海藻糖; 褐藻胶寡糖; 品质特性

文章编号: 1673-9078(2019)09-163-169

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.9.020

## Effect of Trehalose and Alginate Oligosaccharide on the Quality of Mussel (*Mytilus edulis*) during Frozen Storage

YU Ming-xia, ZHANG Yi, ZHANG Bin

(College of Food and Pharmacy Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China)

**Abstract:** The cryoprotective effects of trehalose and alginate oligosaccharide on mussel (*Mytilus edulis*) during frozen storage were evaluated by monitoring the quality characteristics in this study. The results indicated that the trehalose and alginate oligosaccharide soaking treatments significantly ( $p < 0.05$ ) reduced the thawing loss of mussel muscle. The thawing loss rate of alginate oligosaccharide group was as low as 14.28%, and maintained good elasticity and chewiness properties, compared with the water soaking group and the control group during the 6-week frozen storage. Furthermore, the rapid increase of the total number of colonies in mussels was effectively inhibited by the trehalose and alginate oligosaccharide. In addition, the soaking treatments of the two saccharides maintained a good myofibrillar protein  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity, and the myofibrillar protein  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity ranged from 0.019 to 0.021 U/mg protein. There was no significant difference among the three treatment groups ( $p > 0.05$ ). The microscopic observations showed that the structure of mussel tissues from trehalose- and alginate-oligosaccharide-treated groups were arranged in a tighter manner. The extracellular space was smaller than in control and  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  soaked samples after 6 weeks of storage. Thus, trehalose and alginate oligosaccharides could be used as a highly effective cryoprotectant to maintain the quality of the mussels and also have widespread applications to extend the shelf life of frozen mussel products.

**Key words:** mussel (*Mytilus edulis*); frozen storage; trehalose; alginate oligosaccharide; quality property

紫贻贝 (*Mytilus edulis*), 俗称淡菜、海虹, 因其味道鲜美、营养价值丰富而深受消费者喜爱。但由于其含水量较高, 贮藏过程中极易在酶与微生物的作用下发生品质劣变。冷冻保藏可最大限度的保持其营养价值不变, 但冻藏过程中生成的冰晶会导致肌肉细胞受损、蛋白质变性, 解冻后汁液流失增加, 导致其风味

收稿日期: 2019-04-25

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31871871); 浙江省自然科学基金项目 (LY18C200008)

作者简介: 虞铭霞 (1997-), 女, 研究生, 研究方向: 水产品加工及贮藏

通讯作者: 张宾 (1981-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 水产品加工及贮藏

味及口感下降<sup>[1]</sup>。添加抗冻剂可有效地抑制水产品冻藏时冰晶的生长, 减少蛋白质冷冻变性, 降低冻藏对肌肉品质的影响。糖类物质作为抗冻保水剂, 已被广泛用于冷冻水产品中, 其作用机理主要是通过糖分子改变包埋在蛋白质分子中结合水的状态, 取代蛋白质分子表面的结合水并与其结合, 从而减弱冻结冰晶对蛋白质产生的冷冻变性作用<sup>[2]</sup>。

海藻糖作为一种非还原性二糖, 具有稳定细胞膜和蛋白质结构, 增强细胞对高温、干燥、高寒及高渗透压等恶劣环境的抗性作用等功能。研究表明, 采用海藻糖溶液浸渍处理, 可防止冷冻罗非鱼片蛋白质变

性、改善冻藏草鱼感官品质和质构特性等<sup>[3,4]</sup>。褐藻胶寡糖由褐藻胶裂解制得,具有抗氧化、预防高血压、增强机体免疫等生理功能。目前,海藻胶寡糖作为抗冻剂应用于冷冻水产品中已有不少报道,如经海藻胶寡糖浸泡处理后的虾仁制品,表现出较好的增重效果及较低的解冻损失率,同时寡糖还抑制了冻藏虾仁中肌原纤维蛋白含量的快速下降<sup>[5,6]</sup>。目前,将海藻糖及褐藻胶寡糖应用于冻藏紫贻贝及其效果评价研究,还报道较少。本研究以冷冻紫贻贝肉为对象,评价海藻糖及海藻胶寡糖对冷冻紫贻贝品质影响作用,旨在为冷冻贝类新型抗冻剂开发与应用提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

#### 1.1.1 原料与试剂

紫贻贝 (*Mytilus edulis*),壳长为  $9.0 \pm 0.5$  cm,壳宽为  $4.0 \pm 0.3$  cm,壳高为  $7.0 \pm 0.4$  cm 和体重为  $56.0 \pm 3.4$  g,购于舟山市东河鲜活水产品市场。将活体紫贻贝样品置于装有冰块的保温箱中,20~30 min 内运回实验室。

海藻糖 (Mw 342 u)、褐藻胶寡糖 (Mw 400~800 u),博智汇力生物科技有限公司;焦磷酸钠、顺丁烯二酸、三羟甲基氨基甲烷、多聚甲醛、戊二醛、叔丁醇、甘氨酸及乙醇等,国药化学试剂有限公司;Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性和总巯基含量测定试剂盒,南京建成生物工程研究所。

#### 1.1.2 实验仪器

MDF-U53V 型超低温冰箱,日本 SANYO 公司;Direct-Q3U 型超纯水制备机,法国 Millipore 公司;CF16RN 型高速冷冻离心机,日本日立公司;751UVGD 型紫外-可见分光光度计,上海第三分析仪器厂;TMS-Pro 物性测试仪,美国 FTC 公司;JSM-IT200 扫描电子显微镜,日本电子株式会社。

### 1.2 实验处理与分组

实验处理:将紫贻贝蒸汽开壳处理 2 min,解剖获得完整紫贻贝肉样品;纱布轻拭去表面水分后,将紫贻贝肉浸没于以下不同的浸泡处理液中,4 °C 条件下浸泡 2 h,每隔 20 min 用玻璃棒轻搅拌 1 次;取出后纱布拭去表面水分,将贻贝肉冻藏于 -18 °C 冰箱中。冻藏过程中,每隔 1 周取样 1 次,整个贮藏期为 6 周。

实验分组:空白对照组(未经浸泡处理)、蒸馏水(浸泡)对照组、3.0%焦磷酸钠溶液处理组、3.0%海

藻糖溶液处理组和 3.0%褐藻胶寡糖溶液处理组。以上各浸泡溶液的浓度均为质量浓度 (W/V)。

### 1.3 指标测定

#### 1.3.1 解冻失水率测定

将各处理组紫贻贝肉从冰箱中取出后,迅速进行称重;然后将紫贻贝肉置于带盖培养皿中,室温解冻 2 h,用纱布轻拭去贻贝表面水分,再进行称重。解冻失水率 (%) = (解冻前质量 - 解冻后质量) / 解冻前质量 × 100%。

#### 1.3.2 pH 值测定

取约 5 g 紫贻贝肉样品,剪碎后置于烧杯中,加入 30 mL 蒸馏水,高速均质 1.0 min,4 °C 条件下浸泡 20 min,滤纸过滤后测定滤液 pH 值。

#### 1.3.3 质构特性分析

采用 TMS-Pro 物性分析仪,测定解冻后紫贻贝肉的质构特性。二次挤压测定参数为:选用 P/50 平底柱形探头,测试速率 1.0 mm/s,样品压缩形变量 30%,测试力 0.6 N,测定部位是紫贻贝贝柱部分。

#### 1.3.4 菌落总数测定

冻藏贻贝肉中菌落总数的测定,参照国标 GB 4789.2-2016《食品微生物学检验-菌落总数测定》方法进行。

#### 1.3.5 肌原纤维蛋白的制备及含量测定

参考薛勇等<sup>[7]</sup>方法制备肌原纤维蛋白。取 160 g 紫贻贝肉,加入 10 倍量的 20 mmol/L Tris-顺丁烯二酸缓冲液 (pH 7.0,含 0.05 mol/L KCl),20000 r/min 均质 1 min,9000 r/min 低温离心 10 min (4 °C),取出后弃去上清液,沉淀按此方法重复 2 次。沉淀加入 10 倍量的 20 mmol/L Tris-顺丁烯二酸缓冲液 (pH 7.0,含 0.6 mol/L KCl) 匀浆 1 min 后,于 4 °C 下提取 60 min,9000 r/min 低温离心 10 min (4 °C),所得上清液即为肌原纤维蛋白溶液。

#### 1.3.6 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性和总巯基含量测定

肌原纤维蛋白 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性和总巯基含量的测定,均采用试剂盒法。具体操作,依据试剂盒说明书进行。

#### 1.3.7 苏木精-伊红 (H&E) 染色分析

参考 Zhang 等<sup>[8]</sup>方法。以冻藏 6 周后紫贻贝样品进行分析,取贻贝肉相同位置约 0.3 cm<sup>3</sup> 方块,用多聚甲醛室温固定 24 h,苏木精-伊红染色后观察紫贻贝肉结构变化情况。

#### 1.3.8 扫描电子显微镜分析

参考崔宏博等<sup>[9]</sup>方法。将以冻藏 6 周后紫贻贝样品进行分析,取贻贝肉相同位置约 0.5 cm<sup>3</sup> 方块,置于

pH 7.2、2.5%戊二醛溶液中，4 ℃固定 24 h，然后用 pH 7.2、0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液漂洗 3 次（每次 30 min）；清洗完后用乙醇溶液进行梯度脱水（30%、50%、70%、80%、90%和 100%），最后再用叔丁醇脱水 3 次（每次 10 min）。脱水后将样品进行冷冻干燥，然后采用离子溅射仪喷金后，扫描电镜观察组织微观结构变化情况。

#### 1.4 数据分析

数据处理及作图采用 SPSS 19.0 及 Origin 8.5 进行，结果为平均值±标准差。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同抗冻剂对冻藏紫贻贝解冻失水率的影响

海藻糖和褐藻胶寡糖对冻藏紫贻贝肉解冻损失率的影响，结果如图 1 所示。经低温冻藏 1 周后，除焦磷酸钠浸泡处理可显著降低贻贝肉解冻损失率之外，其它处理组之间并无显著性差异 ( $p>0.05$ )。随着冻藏时间延长，各组贻贝肉解冻损失率均呈现出显著增加的趋势。冻藏 6 周后，蒸馏水浸泡处理组解冻损失率最高达 19.10%，而经过焦磷酸钠、海藻糖和褐藻胶寡糖浸泡处理，冷冻紫贻贝肉解冻失水率均有一定程度降低，其中效果最明显的是褐藻胶寡糖组，其解冻失水率最低为 14.28%，显著低于其它各处理组 ( $p<0.05$ )。整体来看，在冻藏初期（0~3 周），焦磷酸钠对紫贻贝肉具有较好的水分保持作用，而在冻藏后期（4~6 周），其处理效果与海藻糖组无显著性差异 ( $p>0.05$ )，而显著低于褐藻胶寡糖组 ( $p<0.05$ )。

紫贻贝肉在冻藏过程中，肌肉细胞内及组织间隙中的冰晶会不断形成并逐渐长大，使得肌肉蛋白受到挤压、凝聚而发生变性，从而引起蛋白质分子与结合水之间结合状态发生改变，使得结合水转变为游离水；同时，冰晶会破坏细胞膜结构造成解冻时汁液流出量增加<sup>[10]</sup>。崔瑞颖等<sup>[11]</sup>研究表明，长期冻藏可引起海湾扇贝中蛋白质的结合水冻结成冰晶而析出，致使蛋白质分子之间形成非共价键，进而形成超大分子的不溶性凝聚体，导致蛋白质保水能力下降，解冻后汁液损失加剧。Kuwajima 等<sup>[12]</sup>和 Kan 等<sup>[13]</sup>发现海藻糖分子可与肌肉中水分子形成较强结合作用，通过影响水分子在冻结过程中形成冰晶的状态及大小，起到保护肌肉组织微观结构的作用。本研究中，海藻糖和褐藻胶寡糖分子上具有较多的亲水性羟基，在贻贝组织中可

与肌肉蛋白质及水分子发生结合，起到稳定蛋白质结构稳定以及降低水分子的相转变，从而减少解冻贻贝肉的汁液损失。

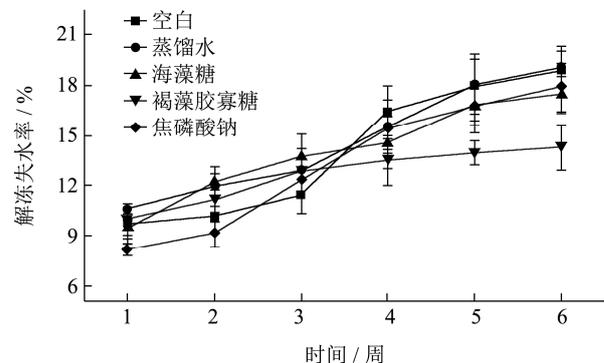


图 1 不同抗冻剂对紫贻贝肉解冻失水率的影响

Fig.1 Effect of different antifreeze agents on the thawing loss of frozen mussel

### 2.2 不同抗冻剂对冻藏紫贻贝质构特性的影响

不同抗冻剂对紫贻贝冻藏过程中肌肉弹性和咀嚼性的影响，如图 2 所示。实验发现，随着冻藏时间增加，所有处理组冻藏紫贻贝肉的弹性和咀嚼性均呈显著下降的趋势 ( $p<0.05$ )。经冻藏 6 周后，海藻糖、褐藻胶寡糖和焦磷酸钠浸泡处理，对紫贻贝肉弹性的保持作用均显著优于蒸馏水与空白组 ( $p<0.05$ )。其中，海藻糖表现出较好的延缓紫贻贝肉弹性快速下降的作用，尤其在冻藏第 3~4 周时显著高于其它各实验组 ( $p<0.05$ )；冻藏第 5~6 周，其与褐藻胶寡糖、焦磷酸处理组差异性逐渐降低。在紫贻贝肉咀嚼性方面，褐藻胶寡糖处理对延缓紫贻贝肉咀嚼性下降表现出良好作用；在整个冻藏期内，其咀嚼性保持作用均显著优于其它各组 ( $p<0.05$ )。

研究表明，冻藏过程中肌肉蛋白质冷冻变性程度的大小，与肌肉组织质构特性的变化密切相关。肌肉蛋白质发生冷冻变性后，引致蛋白空间结构的改变，致使蛋白质和水分子间的相互作用力减弱，使得肌肉蛋白质的溶解度下降，原本存在于肌细胞间隙中的水分逐渐流失，影响肌肉的组织状态（如弹性、咀嚼性及粘附性等）和感官品质<sup>[6]</sup>。关于肌肉蛋白质冷冻变性的机制，目前主要有蛋白质结合水脱离变性、溶质浓缩致蛋白变性和水合作用引起蛋白变性等三种学说<sup>[12]</sup>。本研究中，海藻糖和褐藻胶寡糖分子上存在大量的亲水性羟基，可与蛋白质中氨基酸的极性基团形成氢键，取代蛋白质周围的水分子，从而在冻结过程中减轻蛋白质变性程度<sup>[14]</sup>；此外，糖分子通过自身的亲

水性，还可将水分子束缚在细胞膜或蛋白质表面甚至从蛋白质溶剂化层中排除出来，抑制冰晶生长的同时达到保护蛋白质结构和功能的作用<sup>[15]</sup>。因此，本实验中海藻糖和褐藻胶寡糖对冻藏紫贻贝肌肉质特性的保持作用，其机制可能主要为糖分子的水分子取代和水分子束缚作用所致。

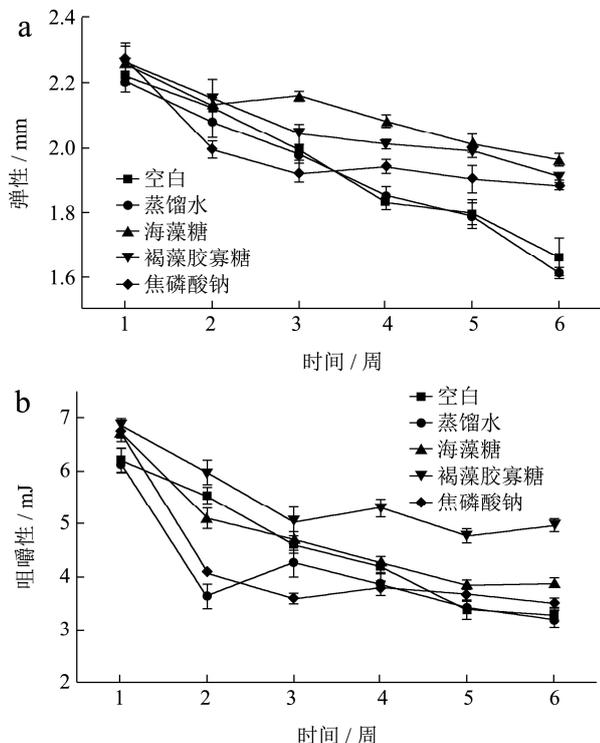


图2 不同抗冻剂对紫贻贝肉弹性和咀嚼性的影响

Fig.2 Effect of different antifreeze agents on the springiness and chewiness of frozen mussel

### 2.3 不同抗冻剂对冻藏紫贻贝中菌落总数的影响

微生物含量是衡量冻藏水产品食用安全性的重要指标之一。由图3可知，在冻藏过程中，紫贻贝肉中菌落总数不断增加，其可能是由于处理及冻藏过程并非无菌操作，紫贻贝肉中部分嗜冷微生物不断繁殖而致使菌落总数增加<sup>[16]</sup>；此外，部分低温钝化的微生物，在测定过程中萌发也致使菌落总数有所增加。冻藏1~2周，各组紫贻贝中菌落总数并无显著差异 ( $p>0.05$ )，而随着冻藏时间增加，空白组与蒸馏水组中菌落总数上升速度逐渐加快。冻藏5~6周时，蒸馏水和空白组紫贻贝中菌落总数显著高于其它各处理组 ( $p<0.05$ )。冻藏第6周时，海藻糖和褐藻胶寡糖组菌落总数无显著差异 ( $p>0.05$ )，说明海藻糖与褐藻胶寡糖对紫贻贝肉中微生物的繁殖具有一定影响作用。宋树鑫等<sup>[17]</sup>研究发现，利用4%海藻糖溶液喷洒猪肉，

可明显抑制贮藏过程中菌落总数上升，但经海藻糖浸泡滤纸片周围并未出现明显抑菌圈，推测海藻糖浸泡处理肌肉后，除深入肌肉组织外的糖分子之外还在肉制品表面也形成一层保护薄膜，限制了微生物的进入与进一步繁殖。因此，本实验中海藻糖和褐藻胶寡糖浸泡处理紫贻贝肉后，在一定程度上阻碍了紫贻贝肉中微生物的生长与繁殖，其并非直接作用于腐败微生物，而可能主要来自于表面形成的薄膜将贻贝肉封存起来，起到阻隔氧气及抑制后来微生物污染及繁殖作用<sup>[18]</sup>。

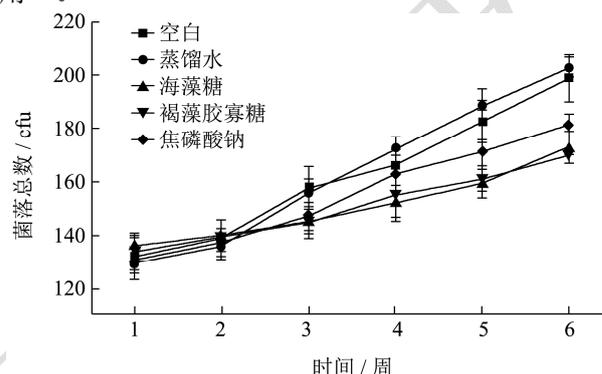


图3 不同抗冻剂对紫贻贝肉中菌落总数的影响

Fig.3 Effect of different antifreeze agents on the total numbers of colony in frozen mussels

### 2.4 不同抗冻剂对肌原纤维蛋白 $Ca^{2+}$ -ATPase 活性的影响

肌原纤维蛋白  $Ca^{2+}$ -ATPase 活性，主要源于肌球蛋白中的球状头部，其活性大小与头部区域结构及完整性等密切相关。在长期冻藏过程中，肌肉中冰晶不断形成，以及肌肉组织中由于冻结浓缩效应致使离子强度的增加等，均会改变肌球蛋白的头部结构及功能，致使肌原纤维蛋白  $Ca^{2+}$ -ATPase 活性逐渐下降<sup>[19]</sup>。故  $Ca^{2+}$ -ATPase 活性可反映肌肉肌球蛋白的变性程度，现被广泛用作蛋白质变性的评价指标之一<sup>[10]</sup>。不同抗冻剂浸泡处理对冻藏紫贻贝肌原纤维蛋白  $Ca^{2+}$ -ATPase 活性的影响，如图4所示。由结果可知，随着冻藏时间增加，紫贻贝肌原纤维蛋白  $Ca^{2+}$ -ATPase 活性不断下降，较快的活性下降速率主要表现在前3周内，从第4周开始  $Ca^{2+}$ -ATPase 活力仍在不断下降，但下降趋势逐渐趋于平稳。本实验中，蒸馏水浸泡和空白紫贻贝组下降幅度最大，冻藏6周时  $Ca^{2+}$ -ATPase 活力仅为 0.003 U/mg prot 和 0.007 U/mg prot，表明两组紫贻贝肉均已发生较大程度的蛋白质冷冻变性。焦磷酸钠、海藻糖和褐藻胶寡糖浸泡处理，均不同程度地延缓了紫贻贝肌原纤维蛋白  $Ca^{2+}$ -ATPase 活性的快速下

降; 冻藏第 6 周时, 肌原纤维蛋白  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活力在 0.019~0.021 U/mg prot 范围内, 三个处理组之间并无显著性差异 ( $p>0.05$ )。由此可见, 焦磷酸钠、海藻糖和褐藻胶寡糖对冻藏紫贻贝肌肉蛋白质的冷冻变性作用具有较好的抑制作用, 其可能是通过抑制冻藏过程中冰晶的生长、稳定肌原纤维蛋白结构及功能等, 而保持了相对较高的肌原纤维蛋白  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性。

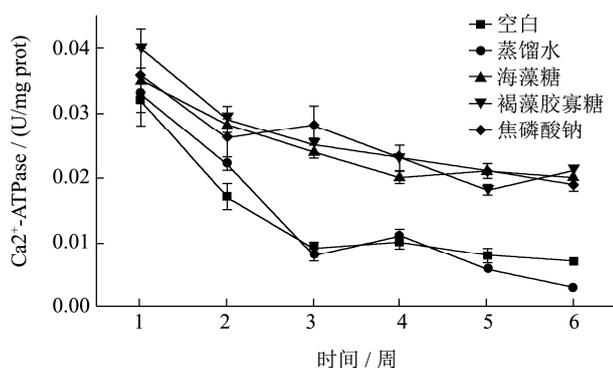


图4 不同抗冻剂对紫贻贝肌原纤维蛋白  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性的影响

Fig.4 Effect of different antifreeze agents on the activity of myofibrillar  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase in frozen mussels

## 2.5 不同抗冻剂对肌原纤维蛋白中总巯基含量的影响

巯基有较强的亲核性和还原性, 是肌原纤维蛋白中功能基团的重要组成部分, 其对于稳定蛋白质空间结构及功能性质具有重要作用<sup>[20]</sup>。在肌肉蛋白质冻藏过程中, 活性巯基易被自由基攻击而氧化生成二硫键 (-S-S-), 并且能在高浓度氧化剂存在下生成亚砷等氧化产物, 从而导致肌肉中总巯基含量大大减少。因此, 测定肌肉蛋白质总巯基含量的变化情况, 可反映冻藏过程中肌肉蛋白质的氧化变性程度<sup>[21]</sup>。由图 5 可以看出, 随着冻藏时间增加, 紫贻贝肉肌原纤维蛋白总巯基含量不断下降, 其中下降最快的是蒸馏水组合空白组; 冻藏第 6 周时, 总巯基含量仅为 0.007  $\mu\text{mol/g prot}$  和 0.008  $\mu\text{mol/g prot}$ , 分别下降了 61.1% 和 55.6%。相比之下, 褐藻胶寡糖和焦磷酸钠处理紫贻贝组, 则表现出了较好的肌原纤维蛋白总巯基保持作用, 冻藏地方 3~6 周时, 显著高于其它各处理组 ( $p<0.05$ )。本实验中, 海藻糖浸泡处理, 并没有表现出较好的防止肌原纤维蛋白总巯基含量下降的作用, 其影响机制有待进一步研究。

研究表明, 冻藏水产品肌肉中总巯基含量的下降, 具体可能与肌肉蛋白质分子间或分子内之间巯基发生氧化交联、蛋白内部巯基暴露氧化、巯基与添加物相

互作用、冻结冰晶导致肌球蛋白空间结构改变等多种因素有关<sup>[10]</sup>。本研究中, 褐藻胶寡糖表现出较好的总巯基含量维持作用, 其也可能源自于褐藻胶寡糖良好的抗氧化活性。周绪霞等<sup>[22]</sup>研究证实, 大分子的褐藻胶经酶解后, 可改变糖分子伸展结构, 从而使糖分子中的大量活性羟基暴露, 而具有较强的抗氧化活性。冷冻水产品肌肉中仍含有很多氧化介质, 如过渡态金属离子、各种氧化酶及不饱和脂肪酸等, 均可作为产生活性氧自由基的催化剂或前体物质, 从而诱导蛋白质发生冷冻氧化作用<sup>[23]</sup>。基于此, 褐藻胶寡糖可能通过自身的抗氧化作用 (如清除自由基), 从而起到抑制紫贻贝蛋白质冷冻氧化及维持紫贻贝肌肉蛋白质稳定的作用。

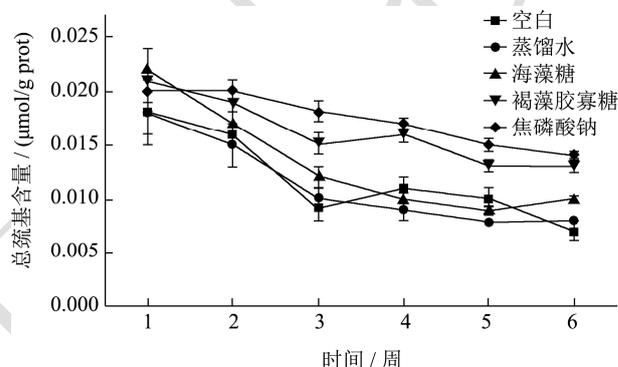


图5 不同抗冻剂对紫贻贝肌原纤维蛋白总巯基含量的影响

Fig.5 Effect of different antifreeze agents on the content of total myofibrillar sulfhydryls in frozen mussels

## 2.6 HE 染色观察冻藏紫贻贝组织结构的变化

不同抗冻剂对紫贻贝肉组织微观结构的影响, 如图 6。HE 染色观察发现, 新鲜紫贻贝样品组织结构相对致密, 结构较为完整、均一。经冻藏 6 周后, 蒸馏水浸泡 (图 6b) 和空白组 (图 6f) 紫贻贝组织中, 均出现明显的细胞破裂现象, 形成的冰晶颗粒 (白色区域) 较大且不规则, 致使空隙大幅增大, 因此对紫贻贝物理结构造成较大的破坏作用。对于焦磷酸钠处理组 (图 6c), 紫贻贝组织中同样出现较大的冰晶颗粒, 组织结构紧密程度明显减低, 完整性也遭受较大程度的破坏, 但仍明显好于蒸馏水组和空白组。海藻糖 (图 6d) 和褐藻胶寡糖 (图 6e) 处理紫贻贝, 组织结构相对较为完整、致密, 冰晶颗粒的面积较小, 二者对于保护肌肉细胞结构不受破坏、维持其原有结构具有重要作用。该结果与上述解冻损失率、质构特性等研究结果一致。

随着冻藏时间延长, 即使在微小温度波动甚至恒定温度条件下, 冻结肌肉中冰晶仍会有重结晶及生长现象的发生, 其原因是冰晶表面的水分子由于表面自

由能较高而不能被牢固地束缚, 这些水分子会从小颗粒冰晶表面扩散并沉积到大颗粒冰晶表面上, 导致较大冰晶不断的长大<sup>[24]</sup>。前期研究推测, 海藻糖和褐藻胶寡糖分子与冰晶颗粒接触过程中, 可通过氢键作用、静电相互作用等逐渐靠近冰晶生长界面, 进而影响冰晶界面的完整性, 扰乱冰晶颗粒的正常生长, 从而起到抑制冰晶颗粒快速增大、减弱对肌肉组织物理损伤的作用<sup>[25]</sup>。本部分紫贻贝组织的 HE 观察结果也符合以上推测理论。

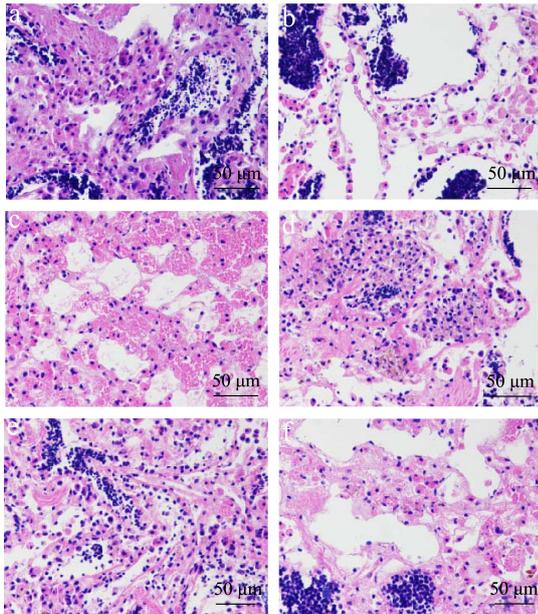


图 6 紫贻贝肉 HE 染色结果

Fig.6 HE staining of mussel muscle tissues.

注: a.新鲜紫贻贝组; b.蒸馏水组; c.焦磷酸钠组; d.海藻糖; e.褐藻胶寡糖组; f.空白紫贻贝组; b-f 为处理紫贻贝样品冻藏 6 周后。图 7 同。

### 2.7 扫描电镜观察冻藏紫贻贝组织结构的变化

紫贻贝肉经不同抗冻剂处理后, 对组织结构进行扫描电镜观察, 结果如图 7 所示。新鲜紫贻贝(图 7a)组织结构致密, 没有明显的空洞及破损现象。经冻藏 6 周后, 蒸馏水组(图 7b)和空白组(图 7f)紫贻贝, 均出现较大程度的组织结构损伤, 具体表现出组织结构松散, 致密性显著降低及出现较大的空洞等。经过焦磷酸钠(图 7c)、海藻糖(图 7d)和褐藻胶寡糖(图 7e)处理后, 冻藏过程中形成的冰晶对紫贻贝组织结构的破坏作用有所减弱, 其中以海藻糖和褐藻胶寡糖对组织结构的改善效果更佳。经糖分子浸泡处理后, 冻藏紫贻贝组织仍较为完整, 组织间隙未出现较大的空洞(冰晶)。Ma 等<sup>[26]</sup>在虾仁预处理过程中, 添加海

藻糖和褐藻胶寡糖等低温保护剂后, 发现寡糖分子能有效保护冷冻虾仁品质; 微观观察发现, 冻藏后虾仁肌肉间肌纤维结构仍较为完整, 肌肉间无较大空隙(冰晶)形成。Kuwajima 等<sup>[12]</sup>和 Kan 等<sup>[13]</sup>发现海藻糖可与肌肉中水分子形成较强结合作用, 通过影响水分子在冻结过程中形成冰晶的状态及大小, 起到保护肌肉组织微观结构的作用。本部分 SEM 观察结果与上述研究报道相一致。

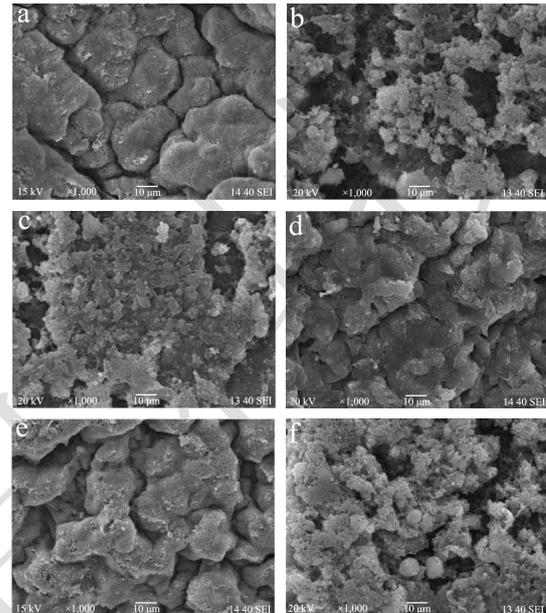


图 7 紫贻贝肉扫描电镜结果

Fig.7 The muscular tissue structure of frozen mussel.

### 3 结论

以紫贻贝为原料, 以蒸馏水和焦磷酸钠浸泡处理分别为阴性和阳性对照, 研究了海藻糖和褐藻胶寡糖对冻藏紫贻贝的抗冻保水作用。结果发现, 在 6 周冻藏期内, 海藻糖和褐藻胶寡糖显著降低了冻藏紫贻贝的解冻损失率, 保持了较好的肌肉弹性、咀嚼性以及肌原纤维蛋白  $Ca^{2+}$ -ATPase 活性, 同时抑制了紫贻贝中菌落总数的增加及保持了组织结构的相对完整。由此可见, 海藻糖和褐藻胶寡糖可作为冻藏紫贻贝及其制品的品质保障剂来开发与应用, 也可为冷冻水产品无磷抗冻保水剂的开发提供参考。

### 参考文献

[1] 祖铁红. 保水剂对海湾扇贝闭壳肌冻藏品质的影响研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2014  
ZU Tie-hong. Effect of water retention agent on quality of frozen adductor muscle (*Argopectens irradians*) [D]. Baoding: Agricultural University of Hebei, 2014

[2] Rawdkuen S, Jongjareonrak A, Phatcharat S, et al.

- Assessment of protein changes in farmed giant catfish (*Pangasianodon gigas*) muscles during refrigerated storage [J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2010, 45(5): 985-994
- [3] 邓泽新. 冷冻草鱼块涂膜处理及其品质研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2014
- DENG Ze-xin. The research of coating treatment and its quality of grass carp during frozen storage [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2014
- [4] 蒙健宗, 秦小明, 赵文报, 等. 海藻糖对冷冻罗非鱼片蛋白质变性作用的影响[J]. *食品工业科技*, 2007, 2: 214-216
- MENG Jian-zong, QIN Xiao-ming, ZHAO Wen-bao, et al. Effect of trehalose on protein denaturation of frozen tilapia fillets [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2007, 2: 214-216
- [5] Zhang B, Zhao J L, Chen S J, et al. Influence of trehalose and alginate oligosaccharides on ice crystal growth and recrystallization in whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during frozen storage with temperature fluctuations [J]. *International Journal of Refrigeration*, 2019, 99: 176-185
- [6] Zhang B, Wu H X, Yang H C, et al. Cryoprotective roles of trehalose and alginate oligosaccharides during frozen storage of peeled shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. *Food Chemistry*, 2017, 228, 257-264
- [7] 薛勇, 薛长湖, 李兆杰, 等. 海藻糖对冻藏过程中鳙肌原纤维蛋白冷冻变性的影响[J]. *中国水产科学*, 2006, 13(4): 637-641
- XUE Yong, XUE Chang-hu, LI Zhao-jie, et al. Effects of trehalose on denaturation of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) myofibrillar protein during frozen storage [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2006, 13(4): 637-641
- [8] Zhang B, Hao G, Cao H, et al. The cryoprotectant effect of xylooligosaccharides on denaturation of peeled shrimp (*Litopenaeus vannamei*) protein during frozen storage [J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 77: 228-237
- [9] 崔宏博, 薛勇, 宿玮, 等. 南美白对虾即食虾仁加工工艺和贮藏研究[J]. *食品科学*, 2012, 33(4): 257-261
- CUI Hong-bo, XUE Yong, SU Wei, et al. Processing technologies for ready-to-eat *Litopenaeus vannamei* and changes in its properties during storage [J]. *Food Science*, 2012, 33(4): 257-261
- [10] 王小利, 朱蓓薇, 董秀萍, 等. 虾夷扇贝贝糜冻藏过程中部分理化性质的变化[J]. *食品科学*, 2012, 33(4): 267-270
- WANG Xiao-li, ZHU Bei-wei, DONG Xiu-ping, et al. Partial biochemical properties of scallop (*Patinopecten yessoensis*) mince during frozen storage [J]. *Food Science*, 2012, 33(4): 267-270
- [11] 崔瑞颖, 焦学芹, 崔波, 等. 冻藏对海湾扇贝闭壳肌蛋白质变性及组织结构的影响[J]. *食品工业科技*, 2013, 22: 298-301
- CUI Rui-ying, JIAO Xue-qin, CUI Bo, et al. Effects of frozen storage on protein denaturation and structure of *Argopecten irradians* muscle [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2013, 22: 298-301
- [12] Kuwajima K, Goto Y, Hirata F, et al. Water and Biomolecules: Physical Chemistry of Life Phenomena (Biological and Medical Physics, Biomedical Engineering) [M]. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2009: 358-371
- [13] Kan Z G, Yan X F, Ma J. Conformation dynamics and polarization effect of  $\alpha$ -trehalose in a vacuum and in aqueous and salt solutions [J]. *Journal of Physical Chemistry A*, 2014, 119: 1573-1589
- [14] Hossain M A, Alikhan M A, Ishihara T, et al. Effect of proteolytic squid protein hydrolysate on the state of water and denaturation of lizardfish (*Saurida wanieso*) myofibrillar protein during freezing [J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2004, 5: 73-79
- [15] Tadanori S, Takehiko G, Yoshiyasu A. Growth rate and morphology of ice crystals growing in a solution of trehalose and water [J]. *Journal of Crystal Growth*, 2002, 240: 218-229
- [16] 裘迪红, 黄晓春. MAP 协同生物保鲜剂对贻贝贮藏性能的影响[J]. *中国食品学报*, 2007, 7(6): 102-107
- QIU Di-hong, HUANG Xiao-chun. The effect of MAP combination with antimicrobial on storage properties of *Mytilus edulis* linne [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2007, 7(6): 102-107
- [17] 宋树鑫, 王羽, 梁敏, 等. 海藻糖对冷鲜猪肉的保鲜优势探究[J]. *食品科技*, 2016, 7: 260-265
- SONG Shu-xin, WANG Yu, LIANG Min, et al. Preservation of chilled pork by trehalose [J]. *Food Science and Technology*, 2016, 7: 260-265
- [18] 王帅静, 朱延光, 蓝尉冰, 等. 海藻糖对生鲜类食品保鲜的机理及其应用研究[J]. *中国调味品*, 2017, 42(10): 165-170.
- WANG Shuai-jing, ZHU Yan-guang, LAN Wei-bing, et al. Study on the mechanism of trehalose for fresh food preservation and its application [J]. *China condiment*, 2017, 42(10): 165-170
- [19] Reza M, Bapary Maj, Ahasan C T, et al. Shelf life of several marine fish species of Bangladesh during ice storage [J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2009, 44(8): 1485-1494