

# 海藻糖、海藻胶及寡糖对南美白对虾蛋白质 冷冻变性的抑制作用

马璐凯, 张宾, 王强, 邓尚贵, 王斌

(浙江海洋学院食品与医药学院, 浙江舟山 316000)

**摘要:** 为探索海藻糖类对于冷冻水产品的抗冻保水效果, 以南美白对虾为研究对象, 以焦磷酸钠为对照, 研究海藻糖、海藻胶及寡糖对南美白对虾蛋白质冷冻变性的抑制效果。结果表明,  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  冻藏6周后, 0.5%、1.0%海藻糖和海藻胶寡糖(500~600 Da)处理可显著降低冷冻虾仁解冻汁液流失(5.00~5.54%), 其与焦磷酸钠保水效果无显著性差异(5.02~5.48%,  $p>0.05$ )。整个冻藏期内, 0.5%、1.0%焦磷酸钠、海藻糖和海藻胶寡糖处理虾仁, 肌肉  $L^*$  值稍有变化但并不显著( $p>0.05$ ), 表明该3种物质对冷冻虾仁肌肉明度具有良好保护作用。随着冻藏时间延长, 不同处理虾仁肌原纤维蛋白、盐溶性蛋白及  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性均呈逐渐下降趋势, 其中海藻糖、海藻胶寡糖对虾仁蛋白质特性的保护效果, 显著优于蒸馏水、焦磷酸钠处理( $p<0.05$ )。本研究为开发一种安全、高效、适用于冷冻虾仁的无磷保水剂提供参考。

**关键词:** 南美白对虾; 蛋白质变性; 海藻糖; 海藻胶; 寡糖; 抑制作用

文章编号: 1673-9078(2014)6-140-145

## Inhibition of the Freeze-denaturation of Protein in *Litopenaeus vannamei* by Trehalose, Alginate and its Oligosaccharides

MA Lu-kai, ZHANG Bin, WANG Qiang, DENG Shang-gui, WANG Bin

(College of Food and Medicine, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316000, China)

**Abstract:** The aim of this work was to evaluate the inhibition of saccharides from seaweed on the freeze-denaturation of protein in *Litopenaeus vannamei*, compared with sodium pyrophosphate as anti-freeze agent. The results indicated that the thawing loss (5.00~5.54%) of shrimp were significantly ( $p<0.05$ ) decreased by 0.5% and 1.0% trehalose and alginate oligosaccharides (500~600 Da) treatments after six weeks storage ( $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), which showed little significant difference from that by sodium pyrophosphate treatment (5.02~5.48%,  $p>0.05$ ). The  $L^*$  values of shrimp were not significantly affected by 0.5%, 1.0% trehalose, alginate and its oligosaccharides ( $p>0.05$ ) during the whole storage, which indicated they had good protective effect on the lightness of the shrimp. In addition, the activity of  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase, contents of myofibrillar and salt-soluble proteins in shrimp were also decreased in all treated-groups after six weeks storage, while the protective effect on protein by trehalose/alginate oligosaccharides treatments were more significant than the other control groups ( $p<0.05$ ). The study can lay the foundation for developing a kind of safe, natural and harmless non-phosphate additive which is suitable for the frozen shrimp.

**Key words:** *Litopenaeus vannamei*; protein denaturation; trehalose; alginate; oligosaccharides; inhibition

南美白对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 学名凡纳滨对虾, 其虾壳薄体肥、肉质鲜嫩且营养价值高, 深受国内外市场欢迎。冰鲜南美白对虾水分及蛋白质含量

收稿日期: 2014-02-08

基金项目: 国家国际科技合作项目(2012DFA30600); 国家自然科学基金青年科学基金项目(31201452); 浙江省公益性技术应用研究计划项目(2012C33081); 浙江省自然科学基金项目(LY13C200005, LY13C200006)

作者简介: 马路凯(1991-), 男, 博士研究生, 研究方向为水产品加工及贮藏

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

高、内源酶活性强, 在运输、加工及贮藏过程中易受微生物侵袭, 造成虾体自溶、腐败加速, 因此南美白对虾在捕后不易贮藏、商品货架期相对较短。深度冷冻保藏( $-23\sim-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ )可使虾肉中90%以上水分冻结, 酶活性和微生物生长几乎完全受到抑制, 从而使其得以长期保藏。然而, 深度冻藏时溶质浓缩及冰晶形成, 会使冷冻虾肉品质发生改变。随着冻藏时间延长, 造成虾肉蛋白冷冻变性, 如持水性、柔嫩性、胶凝性及营养价值等产生劣变。此外, 当解冻和加热时虾仁汁液流失增多, 且出现肉质变硬、易碎, 口感粗糙, 外观色泽变暗现象<sup>[1]</sup>。

为了延缓冷冻虾仁蛋白质的冷冻变性,通常在冻藏虾仁中添加抗冷冻变性剂,如糖类、复合磷酸盐、氨基酸及抗冻蛋白质等物质。糖类作为抗冻保水剂在冷冻水产品中的应用已较为广泛,其作用原理是糖类在热能作用下相互缠绕形成三维网络,与肌肉中盐溶性蛋白相互结合形成良好的网络结构<sup>[2]</sup>。海藻糖、海藻胶及多糖类等在许多海藻中均含量丰富,约占海藻干重 50% 以上,多种具有提高机体免疫、抗肿瘤、抗辐射、降血脂及抗蛋白质变性等生物活性<sup>[3]</sup>。研究表明,海藻糖在多种恶劣环境条件下,能起到稳定细胞膜和蛋白质结构,防止蛋白质变性、抑制腐腥臭味产生和抑制脂肪酸分解等特性<sup>[4]</sup>。海藻胶在大分子状态下,往往利用其较高粘度和稳定性,应用在医药、食品及化工等领域。海藻胶被降解成低分子量寡糖后,经过分离、修饰后往往会呈现出各种生物活性,如海藻胶寡糖用于冷冻罗非鱼、鲮鱼品质改良及中国对虾保水作用等<sup>[5-7]</sup>。本研究以冷冻南美白对虾虾仁为研究对象,海藻糖、海藻胶及其寡糖为抗冻剂,通过比较探讨不同糖类对南美白对虾蛋白质冷冻变性的抑制作用,以期达到减少虾仁汁液损失和保障冷冻虾仁品质的目的,为其在冷冻水产品的应用开发提供一定支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

实验原料:鲜活南美白对虾,购于舟山市南珍市场(体长 9~10 cm)。将鲜活虾体置于装有冰块的泡沫箱内,30 min 内运回实验室。

主要试剂:海藻糖( $C_{12}H_{22}O_{11}$ )、海藻胶( $(C_6H_7NaO_6)_n$ , 32~200 kDa)、海藻胶寡糖(500~600 Da)、焦磷酸钠( $Na_4P_2O_7$ ),含量均>99%,食品级;顺丁烯二酸、三羟甲基氨基甲烷、牛血清蛋白、三氯乙酸、三磷酸腺苷二钠、钼酸铵、亚硫酸氢钠及米吐尔等,分析纯。以上试剂均购于国药化学试剂有限公司。

主要仪器:751UVGD 型紫外分光光度计,上海第三分析仪器厂;MDF-U53V 型超低温冰箱,日本 SANYO 公司;WSC-100 型色差仪,北京光学仪器公司;HS-1300 型洁净工作台,苏州安泰空气技术有限公司。

### 1.2 实验分组及处理

实验分组:① 空白对照(蒸馏水浸泡);② 阳性对照(1.0% 焦磷酸钠溶液);③ 0.5% 海藻糖溶液;④ 1.0% 海藻糖溶液;⑤ 0.5% 海藻胶溶液;⑥ 1.0% 海

藻胶溶液;⑦ 0.5% 海藻胶寡糖溶液;⑧ 1.0% 海藻胶寡糖溶液。(前期发现,0.5~1.0% 磷酸盐类即可起到较好保水抗冻效果,因此选择此浓度范围进行比较研究;以上均浓度为质量浓度)。

实验处理:鲜活南美白对虾(0~4 °C,进行清洗、去头尾、去壳,选取完整个体)→虾仁→随机分组(80 条/组)→浸泡处理(虾仁与浸泡溶液 1:2 (m/V),4 °C 浸泡 1 h,每 10 min 搅拌 1 次)→沥干、分装(纱布轻拭去水分,称重(记  $M_1$ , 0.001 g);不同处理组装入封口袋)→速冻、冻藏(-65 °C 超低温冰箱冻结 3 h, -18 °C 贮藏)→取样、解冻(每 7 d 取样 1 次;虾仁于培养皿中,室温解冻 2 h;纱布轻拭去水分,称重(记  $M_2$ , 0.001 g))→测定指标。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 解冻损失率

冷冻虾仁解冻损失率(%) =  $(M_1 - M_2) / M_1 \times 100$

#### 1.3.2 明度值

采用 WSC-100 型色差仪测定。 $L^*$  表示颜色透明度, $L^*=0$  为黑色, $L^*=100$  为白色。每组样品取虾 6 只,整齐摆放在白色平板上,色差仪分别采集样品明度值,取平均值为该样品  $L^*$  值。

#### 1.3.3 肌原纤维蛋白含量<sup>[5]</sup>

称取 5.0 g 虾仁样品,切碎后加入 10 倍量 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,然后 10000 r/min 低温(4 °C)离心 15 min。弃去上清液,沉淀加入 10 倍量 20 mmol/L Tris-顺丁烯二酸缓冲液缓冲液(pH 7.0,含 0.6 mol/L KCl),匀浆 1 min 后 4 °C 下提取 1 h,然后 9000 r/min 低温(4 °C)离心 10 min,上清液即为肌原纤维蛋白溶液。采用 Lowry 法<sup>[8]</sup>测定蛋白质含量。

#### 1.3.4 盐溶性蛋白含量<sup>[9]</sup>

称取 2.0 g 虾仁样品,研碎后加入 15.0 mL 高盐缓冲液(0.5 mol/L KCl, 0.01 mol/L  $NaH_2PO_4$ , 0.03 mol/L  $Na_2HPO_4$ ),25 °C 振荡 4 h,4 °C 提取 16 h,经 5000 r/min 离心 10 min(4 °C),Lowry 法测定上清液蛋白质含量。

#### 1.3.5 肌原纤维蛋白 $Ca^{2+}$ -ATPase 活性<sup>[10]</sup>

制备反应混合液含 pH 7.0, 0.50 mol/L Tris-顺丁烯二酸缓冲液、0.10 mol/L  $CaCl_2$ 、 $H_2O$ 、pH 7.0, 20 mmol/L ATP 溶液和肌原纤维蛋白溶液。将以上反应混合液于 30 °C 水浴 5 min,加入 1.0 mL 15% TCA 溶液终止反应。空白对照在反应前加入 1.0 mL 15% TCA 溶液,使蛋白质变性。反应结束后,取 1.0 mL 反应液,分别加入 1.0 mL 硫酸钼酸、0.5 mL 米吐尔和 2.5 mL 水,

混匀后室温发色 45 min, 在 640 nm 下测定吸光值。

标准曲线绘制以 0.5 mmol/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  作标准。

$\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性计算公式:

$$\text{活性} = \frac{A-B}{t} \times \text{酶蛋白量}$$

式中: A-1.0 mL 反应液中生成的磷酸量 ( $\mu\text{mol}$ ); B-空白值 ( $\mu\text{mol}$ ); t-反应时间 (min); 酶蛋白量-1.0 mL 反应液所含酶量 (mg)。

### 1.3.6 数据分析

数据处理及作图采用 Origin 8.1、SPSS 13.0 统计分析软件, 结果为平均值 $\pm$ 标准偏差。

## 2 结果与讨论

### 2.1 南美白对虾虾仁解冻损失率变化

冷冻虾仁在贮藏过程中, 细胞内冰晶的形成使肌肉蛋白受到挤压、凝聚而变性, 同时破坏了细胞膜结构, 导致解冻过程中细胞内部汁液流失。添加不同抗冻剂对冷冻虾仁解冻损失率的影响, 如表 1 所示。随着贮藏时间延长, 蒸馏水(空白)处理虾仁解冻后, 出现较大程度汁液流失(损失率 5.85~8.60%), 是由于细胞的膨胀吸水无法有效保留在肌肉内部, 从(冰晶机械)破坏的细胞膜处再次流出。0.5%、1.0%海藻胶处理虾仁, 解冻损失率(5.77~8.52%)略低于空白组, 但二者并无显著性差异 ( $p>0.05$ ), 表明大分子海

藻胶溶液(32~200 KD, 无法有效渗入到肌肉间隙, 其对冷冻虾仁的抗冻、保水性基本无影响。海藻糖(342 Da)处理显著降低了冷冻虾仁解冻损失率(5.00~5.54%,  $p<0.05$ ), 且 1.0%高浓度处理效果优于 0.5%低浓度处理。关于海藻糖抗冻保水机制, 一种解释是海藻糖分子同肌肉蛋白质结合形成一种类似水晶状的玻璃体结构, 使蛋白质分子空间结构更加稳定, 从而在冻藏时起到保护作用<sup>[8]</sup>; 另外一种认为, 海藻糖分子优先与水结合, 使它们从肌肉蛋白质中的溶剂化层中排除出来, 从而导致蛋白质表观体积减少、可移动性降低, 蛋白质分子结构更趋紧密、构象更稳定<sup>[11]</sup>(机制有待进一步探讨)。海藻胶寡糖(500~600 Da)处理较空白处理, 也能显著降低冷冻虾仁解冻汁液流失(5.04~5.52%), 其与焦磷酸钠抗冻保水效果(5.02~5.48%)无显著性差异 ( $p<0.05$ ); 同样 1.0%海藻胶寡糖处理效果优于 0.5%处理。海藻胶寡糖的抗冻保水机制可能来源于: 渗入肌肉间隙的小分子寡糖上存在大量亲水性羟基, 增强了肌肉蛋白质与水分子间的结合力; 寡糖分子在冻藏过程中, 通过与肌肉蛋白的结合减弱了其发生冷冻变性的程度<sup>[12]</sup>; 此外, 海藻胶寡糖与肌肉中  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 发生了螯合作用, 形成了结合紧密的三维网络结构, 从而起到阻止肌肉内部水分流失的作用<sup>[13]</sup>。

表 1 不同抗冻剂对于冻藏过程中虾仁解冻损失率的影响

Table 1 Effect of different antifreeze agents on the thawing loss of thawed shrimp during storage

时间 /周	蒸馏水 /%	焦磷酸钠/%		海藻糖/%		海藻胶/%		海藻胶寡糖/%	
		0.5	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0
0	5.85 $\pm$ 0.15 <sup>A</sup>	5.11 $\pm$ 0.22 <sup>A</sup>	5.02 $\pm$ 0.19 <sup>A</sup>	5.20 $\pm$ 0.09 <sup>A</sup>	5.00 $\pm$ 0.11 <sup>A</sup>	5.82 $\pm$ 0.15 <sup>A</sup>	5.77 $\pm$ 0.20 <sup>A</sup>	5.25 $\pm$ 0.14 <sup>AB</sup>	5.04 $\pm$ 0.16 <sup>A</sup>
1	5.90 $\pm$ 0.21 <sup>A</sup>	5.12 $\pm$ 0.10 <sup>A</sup>	4.98 $\pm$ 0.24 <sup>A</sup>	5.22 $\pm$ 0.13 <sup>A</sup>	5.03 $\pm$ 0.08 <sup>A</sup>	5.83 $\pm$ 0.26 <sup>A</sup>	5.89 $\pm$ 0.18 <sup>A</sup>	5.19 $\pm$ 0.20 <sup>A</sup>	5.05 $\pm$ 0.19 <sup>A</sup>
2	6.23 $\pm$ 0.19 <sup>B</sup>	5.19 $\pm$ 0.15 <sup>A</sup>	5.06 $\pm$ 0.21 <sup>AB</sup>	5.26 $\pm$ 0.20 <sup>A</sup>	5.10 $\pm$ 0.13 <sup>AB</sup>	6.19 $\pm$ 0.32 <sup>B</sup>	6.32 $\pm$ 0.14 <sup>B</sup>	5.30 $\pm$ 0.16 <sup>B</sup>	5.12 $\pm$ 0.20 <sup>AB</sup>
3	6.63 $\pm$ 0.28 <sup>C</sup>	5.18 $\pm$ 0.26 <sup>A</sup>	5.10 $\pm$ 0.16 <sup>B</sup>	5.36 $\pm$ 0.18 <sup>B</sup>	5.16 $\pm$ 0.20 <sup>B</sup>	6.68 $\pm$ 0.35 <sup>C</sup>	6.50 $\pm$ 0.11 <sup>C</sup>	5.44 $\pm$ 0.22 <sup>C</sup>	5.19 $\pm$ 0.13 <sup>B</sup>
4	7.11 $\pm$ 0.23 <sup>D</sup>	5.30 $\pm$ 0.17 <sup>B</sup>	5.22 $\pm$ 0.11 <sup>C</sup>	5.45 $\pm$ 0.09 <sup>C</sup>	5.23 $\pm$ 0.12 <sup>C</sup>	7.22 $\pm$ 0.16 <sup>D</sup>	7.02 $\pm$ 0.26 <sup>D</sup>	5.49 $\pm$ 0.18 <sup>C</sup>	5.24 $\pm$ 0.14 <sup>B</sup>
5	8.29 $\pm$ 0.14 <sup>D</sup>	5.36 $\pm$ 0.22 <sup>C</sup>	5.39 $\pm$ 0.09 <sup>D</sup>	5.52 $\pm$ 0.23 <sup>D</sup>	5.44 $\pm$ 0.11 <sup>D</sup>	8.08 $\pm$ 0.34 <sup>E</sup>	8.15 $\pm$ 0.23 <sup>E</sup>	5.56 $\pm$ 0.16 <sup>D</sup>	5.40 $\pm$ 0.26 <sup>D</sup>
6	8.60 $\pm$ 0.32 <sup>E</sup>	5.48 $\pm$ 0.12 <sup>D</sup>	5.41 $\pm$ 0.16 <sup>D</sup>	5.54 $\pm$ 0.17 <sup>D</sup>	5.49 $\pm$ 0.20 <sup>D</sup>	8.52 $\pm$ 0.36 <sup>F</sup>	8.49 $\pm$ 0.20 <sup>F</sup>	5.52 $\pm$ 0.20 <sup>D</sup>	5.33 $\pm$ 0.11 <sup>CD</sup>

注: 同一列数据右上角大写字母不同表示显著差异 ( $p<0.05$ )。

### 2.2 南美白对虾虾仁明度值变化

明度 ( $L^*$ ) 为各色混合的非彩色, 这些非彩色由暗到明表现为黑色-灰色-白色,  $L^*$ 值越大颜色越亮。解冻后的虾仁发白略红, 颜色较一致, 所以选定  $L^*$ 值来进行其色泽评价。添加不同抗冻剂对冷冻虾仁解冻后  $L^*$ 值的影响, 如表 2 所示。冻藏初期, 各处理组虾仁解冻后  $L^*$ 值均出现一定程度的增加, 是由于冷冻肌肉中形成的冰晶, 造成虾肉持水性改变, 致使解冻后

虾肉表面游离水增多, 因而增强了对光的反射效果所致<sup>[14]</sup>。各处理组中以海藻糖、海藻胶寡糖和焦磷酸钠处理虾仁  $L^*$ 值增加幅度较小, 也表明此几种处理虾仁肌肉内的冰晶损伤作用较弱。经过 4~6 周冻藏期后, 蒸馏水、0.5%和 1.0%海藻胶处理虾仁  $L^*$ 值表现出逐渐降低的趋势, 可能此时冻藏的虾仁肌肉肌原纤维蛋白、肌浆蛋白结构及 ATPase 活性下降程度较大, 导致虾组织状态、表观明度发生变化<sup>[15]</sup>。此外, 蒸馏水、海藻胶处理虾仁  $L^*$ 值变化幅度也最为显著, 说明该两

组虾仁肌肉蛋白质冷冻变性程度最大。0.5%和1.0%焦磷酸钠、海藻糖和海藻胶寡糖处理虾仁,  $L^*$ 值稍有变化但不显著 ( $p>0.05$ ), 表明该3种物质对于冷冻虾仁表观明度具有良好的保护作用, 即可有效减弱冻结冰

晶对于细胞膜的机械损伤作用; 此3组处理对虾仁的抗冻保护效果差异不显著 ( $p>0.05$ ), 但均以1.0%高浓度处理组优于0.5%低浓度处理组。

表2 不同抗冻剂对于冷藏过程中(解冻后)虾仁  $L^*$ 值的影响

Table 2 Effect of different antifreeze agents on  $L^*$  value of thawed shrimp during storage

时间/周	蒸馏水/%	焦磷酸钠/%		海藻糖/%		海藻胶/%		海藻胶寡糖/%	
		0.5	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0
0	65.23±0.35 <sup>BC</sup>	64.08±0.21 <sup>A</sup>	64.52±0.15 <sup>AB</sup>	63.46±0.18 <sup>A</sup>	63.28±0.13 <sup>A</sup>	63.59±0.29 <sup>A</sup>	63.08±0.29	64.22±0.21 <sup>A</sup>	64.43±0.16 <sup>A</sup>
1	66.40±0.28 <sup>C</sup>	64.33±0.18 <sup>AB</sup>	64.85±0.11 <sup>B</sup>	63.41±0.21 <sup>A</sup>	63.45±0.12 <sup>AB</sup>	64.51±0.24 <sup>B</sup>	65.11±0.30 <sup>C</sup>	64.18±0.19 <sup>A</sup>	64.55±0.20 <sup>A</sup>
2	67.13±0.41 <sup>D</sup>	64.49±0.16 <sup>B</sup>	64.28±0.20 <sup>A</sup>	63.78±0.23 <sup>A</sup>	63.33±0.18 <sup>A</sup>	68.32±0.17 <sup>D</sup>	67.28±0.19	64.48±0.16 <sup>A</sup>	64.28±0.18 <sup>A</sup>
3	67.90±0.33 <sup>D</sup>	64.66±0.23 <sup>B</sup>	64.16±0.18 <sup>A</sup>	64.22±0.19 <sup>B</sup>	63.70±0.16 <sup>BC</sup>	67.89±0.20 <sup>C</sup>	68.24±0.23 <sup>E</sup>	64.83±0.22 <sup>B</sup>	64.89±0.16 <sup>B</sup>
4	66.01±0.20 <sup>C</sup>	65.57±0.24 <sup>C</sup>	65.30±0.23 <sup>C</sup>	64.67±0.20 <sup>B</sup>	63.93±0.21 <sup>C</sup>	67.43±0.16 <sup>C</sup>	67.02±0.25	65.25±0.18 <sup>C</sup>	65.21±0.18 <sup>C</sup>
5	64.37±0.19 <sup>B</sup>	65.66±0.16 <sup>C</sup>	65.42±0.19 <sup>C</sup>	65.01±0.17 <sup>C</sup>	64.24±0.17 <sup>D</sup>	65.08±0.30 <sup>B</sup>	63.52±0.20	65.39±0.15 <sup>D</sup>	65.10±0.20 <sup>D</sup>
6	61.09±0.17 <sup>A</sup>	65.48±0.19 <sup>C</sup>	65.06±0.16 <sup>BC</sup>	64.45±0.23 <sup>B</sup>	64.30±0.11 <sup>D</sup>	62.12±0.18 <sup>A</sup>	62.24±0.17	65.25±0.16 <sup>E</sup>	65.32±0.12 <sup>D</sup>

注: 同一列数据右上角大写字母不同表示显著差异 ( $p<0.05$ )。

### 2.3 南美白对虾虾仁肌原纤维蛋白含量变化

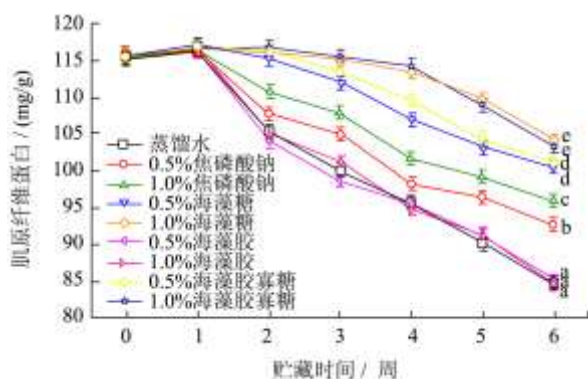


图1 不同抗冻剂对于冷藏虾仁中肌原纤维蛋白含量的影响

Fig.1 Effect of different antifreeze agents on the myofibrillar protein content in shrimp

肌肉蛋白质的功能特性由肌原纤维蛋白决定, 蛋白质品质下降后, 肌原纤维蛋白的溶解度降低, 对应的盐溶性蛋白含量也相应下降。不同抗冻剂对于冷藏虾仁中肌原纤维蛋白含量的影响, 如图1所示。在0~1周冻藏期内, 各处理组虾肉肌原纤维蛋白含量基本无变化或稍有增加, 可能是由于死后虾肌球蛋白与肌动蛋白在肌肉内ATP作用下, 呈现不可逆的聚合而生成较大分子量的分子, 在离心过程中沉降于沉淀部分而引起的<sup>[6]</sup>。经6周冻藏期后, 蒸馏水、0.5%和1.0%海藻胶处理虾仁肌原纤维蛋白含量呈现出快速下降的趋势, 具体由115.6 mg/g下降至84.6、85.1和84.8 mg/g, 且三者间无显著性差异 ( $p>0.05$ ), 该结果恰符合虾仁解冻损失率结果。0.5%、1.0%海藻糖和海藻胶寡糖处理, 相比于空白组对肌原纤维蛋白含量的保持作用显著 (含量范围为100.6~104.2 mg/g,  $p<0.05$ ),

且其抗冻保持效果显著优于焦磷酸钠处理 (92.6~95.9 mg/g,  $p<0.05$ )。研究表明, 肌肉肌原纤维蛋白含量的下降, 其中一方面原因就是由于低温形成冰晶机械作用、肌球蛋白重链发生变性聚合所导致<sup>[7]</sup>。由此可见, 海藻糖和海藻胶寡糖可能是通过抑制虾仁肌肉内冰晶的破坏作用, 防止肌球蛋白重链发生变性而起到维持虾仁肌肉蛋白质构象稳定的作用。

### 2.4 南美白对虾虾仁盐溶性蛋白含量变化

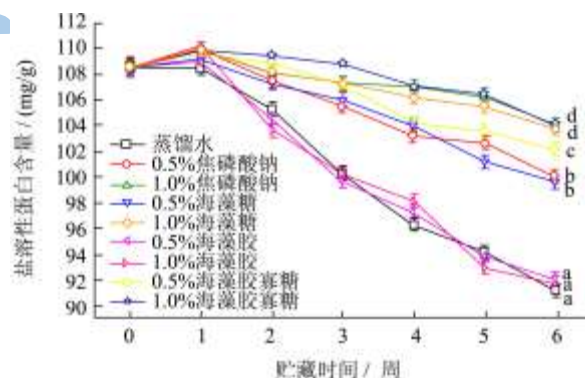


图2 不同抗冻剂对于冷藏虾仁中盐溶性蛋白含量的影响

Fig.2 Effect of different antifreeze agents on the salt-soluble protein content in shrimp

蛋白质盐溶性是反映肌肉蛋白变性的常用指标 (反映肌球蛋白杆部的性质), 在冻藏过程中, 氢键、疏水性和二硫键等形成往往导致蛋白质盐溶性下降。不同抗冻剂对于贮藏虾仁中盐溶性蛋白含量的影响, 如图2所示。新鲜对虾中盐溶性蛋白含量为108.5 mg/g; 随着冻藏时间延长, 各种处理方式下的冻虾仁盐溶性蛋白含量均显著下降, 其中以蒸馏水、0.5%和1.0%海藻胶处理虾仁下降程度最大 (6周后, 含量依

次为 91.2、92.0 和 91.6 mg/g), 且三者间无显著性差异 ( $p>0.05$ )。1.0%海藻胶寡糖、焦磷酸钠和海藻糖处理效果较好(6 周后, 含量依次为 104.1、104.2 和 103.8 mg/g), 且优于 0.5%海藻胶寡糖、焦磷酸钠和海藻糖处理 (102.2、100.0 和 99.6 mg/g)。研究表明, 引起冷冻虾仁肌肉盐溶性蛋白含量下降的原因很多, 如肌肉蛋白质中的结合水、自由水冻结成冰晶析出, 导致蛋白质分子间形成非共价键而凝聚, 蛋白质巯基氧化形成二硫键导致肌球蛋白重链的聚合, 从而降低溶解性等<sup>[8]</sup>。上述结果表明, 无任何抗冻剂的虾仁在冻藏过程中发生了较强的变性作用, 且贮藏时间越长变性程度越加严重, 而海藻糖、海藻胶寡糖等抗冻剂的添加, 则可在很大程度上抑制其冷冻变性, 提高冻藏稳定性, 从而保持冷冻虾仁制品的品质。

## 2.5 南美白对虾虾仁 $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性变化

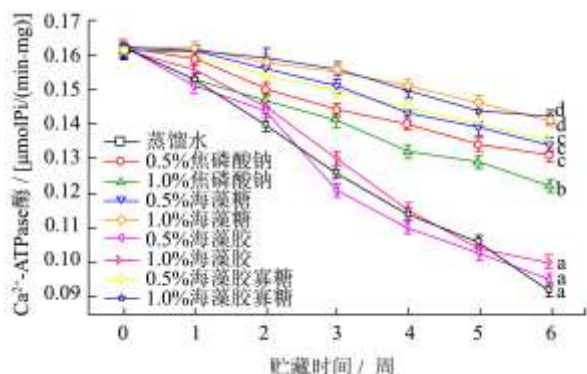


图 3 不同抗冻剂对于冷藏虾仁中  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 酶活性的影响

Fig.3 Effect of different antifreeze agents on the activity of  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase in shrimp

$\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性也可反映肌肉肌球蛋白的变性程度, 其表征的是肌球蛋白头部的特征, 其活性大小也被广泛用作蛋白质变性的评价指标。不同抗冻剂对于冻藏虾仁  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性的影响, 如图 3 所示。由结果可知, 随着冻藏时间延长, 各处理组虾仁  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性均显著下降 ( $p<0.05$ )。冻藏 6 周后, 蒸馏水、0.5% 和 1.0% 海藻胶、1.0% 焦硫酸钠处理酶活下降速度最快, 活性依次为 0.092、0.095、0.100 和 0.122  $\mu\text{mol Pi}/(\text{mg}\cdot\text{min})$  (新鲜虾仁活性为 0.162  $\mu\text{mol Pi}/(\text{mg}\cdot\text{min})$ ); 而 1.0%、0.5% 海藻胶寡糖和海藻糖、0.5% 焦磷酸钠处理虾仁  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性依次为 0.142 和 0.135、0.141 和 0.134、0.131  $\mu\text{mol Pi}/(\text{mg}\cdot\text{min})$ 。由此可见, 以上处理组对于冷冻虾仁肌肉  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性保持效果相对较好。有研究认为, 肌肉  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性的丧失是由于肌肉组织内冰晶和离子强度的增加、pH 下降等导致 ATPase 三级结构发生改变<sup>[9]</sup>。本实验中 1.0% 焦硫酸钠对于虾仁  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性保持

效果不佳, 可能就是由于加入的较高浓度焦磷酸钠引入了较高的离子强度, 致使肌球蛋白头部结构发生改变、 $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性下降较快<sup>[10]</sup>(6 周后为 0.122  $\mu\text{mol Pi}/(\text{mg}\cdot\text{min})$ )。而海藻胶寡糖、海藻糖的加入, 显著抑制了虾仁  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性下降, 该结果也符合冷冻虾仁肌原纤维蛋白含量的变化情况。

## 3 结论

以南美白对虾虾仁为研究对象, 以蒸馏水和焦磷酸钠浸泡处理为对照, 研究了海藻胶、海藻糖及海藻胶寡糖对于冷冻虾仁肌肉蛋白质特性的影响情况。结果表明, 海藻糖、海藻胶寡糖有效降低了冷冻虾仁的解冻汁液流失, 同时防止了虾仁肌原纤维蛋白、 $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性下降等劣变现象, 保持了冷冻虾仁的品质。由上可见, 海藻糖、海藻胶寡糖的开发与利用, 可作为一种较好的冷冻水产品复合磷酸盐的替代品。

## 参考文献

- [1] Boonsumrej S, Chaiwanichsiri S, Tantratian S, et al. Effects of freezing and thawing on the quality changes of tiger shrimp (*Penaeus monodon*) frozen by air-blast and cryogenic freezing [J]. Journal of Food Engineering, 2007, 80: 292-299
- [2] 袁丽, 高瑞昌, 薛长湖等. 褐藻酸钠裂解物提高凡纳滨对虾保水性机理的研究[J]. 水产学报, 2011, 35(10): 1547-1553  
YUAN Li, GAO Rui-chang, XUE Chang-hu, et al. Mechanism of enhancing the water-holding capacity of white leg shrimp by alginate oligosacchrides [J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(10): 1547-1553
- [3] Pawar SN, Edgar KJ. Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications [J]. Biomaterials, 2012, 33(11): 3279-3305
- [4] Campbell LH, Brockbank KGM. Culturing with trehalose produces viable endothelial cells after cryopreservation [J]. Cryobiology, 2012, 64(3): 240-244
- [5] 冯慧. 多聚磷酸盐在冷冻罗非鱼肉中的水解以及水产品无磷保水剂的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2008  
FENG Hui. Study of polyphosphate hydrolysis of frozen *Tilapia* muscle and non-phosphate additive [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2008
- [6] 高瑞昌. 鲮鱼中多聚磷酸盐水解机理及无磷保水剂的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2007  
GAO Rui-chang. Study on the mechanism of polyphosphates hydrolysis in bighead carp and non-phosphate additive [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2007
- [7] 张丽, 王丽, 李学鹏等. 褐藻提取物与复合磷酸盐对中国对

- 虾保水效果的比较[J].水产学报,2010,34(10):1610-1616
- ZHANG Li, WANG Li, Li Xue-peng, et al. Comparisons of the effects on water-holding capacity of shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*) between extractives from brown algae and compound phosphate [J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(10): 1610-1616
- [8] 李佼.中国对虾贮藏过程中肌肉蛋白质生化特性变化规律研究[D].杭州:浙江工商大学,2011
- LI Jiao. Postmortem changes in muscle proteins of Chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*) during storage [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2011
- [9] 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其组织结构的影响[J].食品工业科技, 2013, 34(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, 34(22): 298-301
- [10] Benjakul S, Bauer F. Physicochemical and enzymatic changes of cod muscle proteins subjected to different freeze-thaw cycles [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2000, 80(8): 1143-1150
- [11] Sola-Penna M, Meyer-Fernandes JR. Stabilization against thermal inactivation promoted by sugars on enzyme structure and function: why is trehalose more effective than other sugars [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1998, 360(1): 10-14
- [12] 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
- [13] 朱思明,于淑娟,彭志英等.海藻酸盐的生产、应用及研究现状[J].中国食品添加剂,2003,6:61-65
- ZHU Si-ming, YU Shu-juan, PENG Zhi-ying, et al. The preparation, application and current state of research on alginic acid [J]. China Food Additives, 2003, 6: 61-65
- [14] 陈韬,周光宏,徐幸莲.不同持水性冷却肉的品质比较和蛋白质的DSC测定[J].食品科学,2006,6(27):31-34
- CHEN Tao, ZHOU Guang-hong, XU Xing-lian. Comparison of meat quality with different water holding capacity and determining of porcine muscle proteins with DSC [J]. Food Science, 2006, 6(27): 31-34
- [15] 李立杰,柴春祥,鲁晓翔等.微冻南美白对虾鲜度的色泽评价[J].食品工业科技,2013,34(19):320-327
- LI Li-jie, CHAI Chun-xiang, LU Xiao-xiang, et al. Color evaluation of the freshness of *Penaeus vannamei* Boone during partially frozen storage [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(19): 320-327
- [16] 李佼.中国对虾贮藏过程中肌肉蛋白质生化特性变化规律研究[D].杭州:浙江工商大学,2011
- LI Jiao. Postmortem changes in muscle proteins of Chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*) during storage [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2011
- [17] Zhang YN, Zhao L, Liu H, et al. Effect of eel head protein hydrolysates on the denaturation of grass carp surimi during frozen storage [J]. Procedia Engineering, 2012, 37: 223-228
- [18] 曾名勇,黄海,李八方.不同冻藏温度对鲈鱼肌肉蛋白质生化特性的影响[J].青岛海洋大学学报,2003,33(4):525-530
- ZENG Ming-yong, HUANG Hai, LI Ba-fang. Effect of frozen storage temperature on the changes of biochemical properties of *Lateolabrax japonicus* muscle protein [J]. Journal of Ocean University of Qingdao, 2003, 33(4): 525-530
- [19] Benjakul S, Seymour TA, Morrissey MT. Physicochemical changes in pacific whiting muscle proteins during iced storage [J]. Journal of Food Science, 1997, 62(4): 729-733