

南美白对虾肉糜低温冻藏过程中蛋白质的特性变化

李志鹏¹, 周晓娇¹, 张宾¹, 苏来金², 水珊珊¹

(1. 浙江海洋大学食品与医药学院, 浙江舟山 316022)

(2. 温州市农业科学研究院, 温州市特色食品资源工程技术研究中心, 浙江温州 325006)

摘要: 研究南美白对虾肉糜在冻藏过程中的蛋白质特性变化。以虾仁为对照组, 主要考察冻藏第0、20、40、60、80、100、120 d时在虾仁和虾糜中的pH值、Ca²⁺-ATPase酶的活性、疏水键、二硫键、水溶性和盐溶性蛋白含量、离子键和巯基类等指标的变化。随着冻藏时间的延长, 虾仁和虾糜的pH值, 疏水键和二硫键的值都处于升高状态, 但是虾糜组的指标都比虾仁低, 冻藏120 d的虾糜组分别比虾仁组低0.18、3.28、2.64 mg/g; 在水溶性和盐溶性蛋白含量、Ca²⁺-ATPase活性、总巯基、活性巯基、离子键的含量等方面各组数据都处于下降状态, 但是虾糜的下降幅度比虾仁小。虾糜组的离子键、水溶性和盐溶性蛋白含量在冻藏120 d后分别比虾仁组高3.62、12.14、5.73 mg/g。在120 d时虾仁的肌原纤维蛋白含量降至新鲜虾仁的38.21%, 而虾糜的含量降至43.36%。这表明在冻藏过程中, 虾糜的储存形式比虾仁的储存形式更有利于对虾品质的贮藏。本研究的研究结果为虾糜的蛋白等理化品质鉴定提供了理论基础, 同时也为虾类产品的精深加工提供了科学依据。

关键词: 南美白对虾; 冻藏; 蛋白质特性

文章编号: 1673-9078(2021)01-117-124

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.01.0568

Changes in Protein Characteristics of Minced Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Meat during Deep-frozen Storage

LI Zhi-peng¹, ZHOU Xiao-jiao¹, ZHANG Bin¹, SU Lai-jin², SHUI Shan-shan¹

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

(2. Wenzhou Academy of Agriculture Science, Wenzhou Characteristic Food Resources Engineering Technology Research Center, Wenzhou 325006, China)

Abstract: In this study, the changes of protein characteristics of minced shrimp (*Litopenaeus vannamei*) meat during frozen storage were investigated. Using shrimp as the control group, the changes in pH, Ca²⁺-ATPase activity, hydrophobic bond, disulfide bond, water-soluble protein, salt-soluble protein, ionic bonds and sulfhydryl groups of both the minced shrimp meat and shrimp on day 0, 20, 40, 60, 80, 100 and 120 of the frozen storage were examined. With the extension of frozen storage time, the pH, hydrophobic bond and disulfide bond of both the shrimp and minced shrimp meat increased, with those of minced shrimp meat all lower than those of the shrimps (by 0.18, 3.28 mg/g and 2.64 mg/g, respectively on day 120). The contents of water-soluble and salt-soluble proteins, Ca²⁺-ATPase activity, total sulfhydryl groups, active sulfhydryl groups and ionic bond content of both the shrimp and minced shrimp meat decreased as the frozen storage proceeded, with the decrease for the minced shrimp smaller than that for the shrimps (those of the minced shrimp were higher than those of the shrimps by 3.62 mg/g, 12.14 mg/g and 5.73 mg/g, respectively on day 120). On day 120, the content of myofibrillar protein of the shrimps and minced shrimp meat dropped to 38.21% and 43.36%, respectively, of that of fresh shrimps. Results indicated that storing in the form of minced shrimp is more advantageous than the form of whole shrimps for frozen storage. The results of this study provides a theoretical basis for the evaluation of the protein and other

引文格式:

李志鹏,周晓娇,张宾,等.南美白对虾肉糜低温冻藏过程中蛋白质的特性变化[J].现代食品科技,2021,37(1): 117-124

LI Zhi-peng, ZHOU Xiao-jiao, ZHANG Bin, et al. Changes in protein characteristics of minced shrimp (*Litopenaeus vannamei*) meat during deep-frozen storage [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(1): 117-124

收稿日期: 2020-06-19

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); 温州市重大科技创新攻关项目 (N20180011; ZS2019001)

作者简介: 李志鹏 (1997-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 水产品加工及贮藏

通讯作者: 水珊珊 (1989-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 食品分子营养

physicochemical indices, and also a scientific basis for the deep processing of shrimp products.

Key words: *Litopenaeus vannamei*; frozen storage; protein properties

南美白对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 的壳通透, 感官效果好, 肉质鲜美, 含有脂肪量少, 且又富含许多人类需求的营养物质。因此, 它目前是世界上产量最高的虾种之一。除了高质量的肉质, 养殖南美白对虾时其生活环境要求不高; 并且能够很好的适应多种养殖方式, 其抗病能力非常优秀也是其产量高的原因之一^[1]。虾类一般都含有较高比例的蛋白质, 随着当代人们对于生活品质的要求越来越高, 国内外对于高营养的虾的需求量在不断升高。但是其在捕捞后至工厂加工以及后续的仓库和运输贮藏这一系列过程中的保鲜问题难以解决, 因此很容易腐败变质, 使得虾的各项指标都变差。目前市场上一般采用冻藏保鲜以延长虾的保鲜期, 但仅仅使用冻藏保鲜并不能满足人们对其长时间的保鲜需求, 且会导致虾口感不佳和品质下降^[2]。因此寻找一种合适的保存虾类的方法是相关企业迫切需求的。

虾肉糜是新鲜的虾通过高速匀浆, 成型而得到的产品, 具有高营养, 易存储, 食用时简单方便等特点。如今, 对虾肉糜方向的研究已经逐渐成为一个新颖的研究课题, 且越来越多的水产品工厂对技术的进一步创新有着迫切的需求。曹文红等^[3]研究了脊尾白虾虾糜的制备及其抗冷冻变性工艺, 以凝胶强度和弹性的加权平均值为指标进行正交试验得出较好的虾糜漂洗工艺, 并且初步研究了冻藏对虾糜品质的影响。目前对南美白对虾制成虾肉糜的相关报道量不多, 因此本实验以虾仁为对照, 在冻藏过程中对虾糜蛋白的含量, 各物理指标的对比, 以及化学键的变化进行详细的研究, 旨在对虾仁和虾糜的品质进行比较, 对后续虾类品质实验的进一步扩展研究打下基础, 并为相关虾类加工提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验原料: 新鲜的南美白对虾 (体长 13~15 cm), 选购自浙江舟山老碇菜场。购买后立即将其放入事先准备的装有冰袋降温的保温箱内, 快速运回实验室, 并立即对其进行处理。

主要试剂: 磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、尿素、十二烷基硫酸钠 (SDS) 等, 国药集团化学试剂有限公司; SDS-PAGE 试剂盒, 碧云天生物科技研究所; β -巯基乙醇, 上海埃彼化学试剂有限公司; 2-硝基苯甲

酸 (DNTB), 阿拉丁试剂 (上海) 有限公司; Ca^{2+} -ATPase 活性测定试剂盒、总巯基、活性巯基测定试剂盒、水溶性和盐溶性蛋白测定试剂盒, 南京建成生物工程研究所。

1.2 实验仪器

主要仪器: HSY-A-200 恒温水浴振荡器, 天津厂草科技有限公司; Tube Mill 100control 型研磨机, IKA 集团; CF-16RN 高速冷冻多用途离心机, 日本日立公司; BCD-206STPA 冰箱, 青岛海尔股份有限公司; DiRECT-Q 超纯水装置, 美国 MILLIPORE 公司; 751UVGD 型紫外-可见分光光度计, 上海第三分析仪器厂。

1.3 南美白对虾肉糜的制备

将新鲜南美白对虾进行去头、去壳处理, 获得虾仁后再除去虾肠, 保留虾肉部分; 然后将虾肉置于洁净组织捣碎机中 ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$), 高速斩拌 3~5 min, 至虾糜变成粘稠状, 即实验样品。将虾糜按相同的质量分开包装后, 记录标签并将其于放于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中冻藏保藏。在 0~120 d 时间段中每隔 20 d, 取出相对应的肉糜样品, 解冻并进行后续指标测定。

1.4 测定指标

1.4.1 肉糜 pH 值测定

取 3.0 g 解冻的虾糜样品, 将其放于烧杯中, 加入蒸馏水 30 mL, 高速均质 1 min, 在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温度下放于冰箱中浸泡 20 min, 用滤纸过滤不需要的杂质, 最后用 PHS-25 型酸度计测定滤液的 pH 值。

1.4.2 水溶性蛋白和盐溶性蛋白含量测定

测定方法参考沈春蕾报道^[4]。水溶性蛋白含量: 取 5.0 g 肉糜样品, 加入 40 mL 盐酸缓冲液 (含 0.05 mol/L KCl), $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温振荡提取 4 h 后, 不需静置, 以 5000 r/min 离心 10 min 后, 用考马斯亮蓝法测定上的清液中蛋白质含量。

盐溶性蛋白含量: 取 5.0 g 肉糜样品, 加入 40 mL 高盐缓冲液 (含 0.5 mol/L KCl), 方法同上, 但在恒温提取后需要放入 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中静置提取 16 h, 接着用考马斯亮蓝法测定上清液中的蛋白质含量。

1.4.3 肌原纤维蛋白 Ca^{2+} -ATPase 活性测定

参照曹淑敏等^[4]的方法测定虾的肌原纤维蛋白 Ca^{2+} -ATPase 活性。实验进行 3 次平行后取平均值。

Ca^{2+} -ATPase 活性的计算公式为:

$$\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase 活性}/[\mu\text{mol Pi}/(\text{mg}\cdot\text{min})]=\frac{n_1-n_2}{t\times m}$$

式中: n_1 为 1.0 mL 样品中生成磷酸物质的量 (μmol); n_2 为对照组中生成磷酸物质的量 (μmol); t 为反应时间 (min); m 为 1.0 mL 反应液所含的酶蛋白质量 (mg)。

1.4.4 肌原纤维蛋白含量测定

测定方法参考 Fang Y 等报道^[6]。称取 5.0 g 肉糜样品, 加入 10 mL 的去离子水, 放入 4 °C 冰箱静置一段时间后, 用 12000 r/min 匀浆 30 s, 再以 10000 r/min 的速度离心 20 min (4 °C), 选用沉淀物重复上述实验。再往沉淀物中加入 20 mL 0.05 mol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.0, 4 °C), 重复实验, 取上清液记为一次。重复之前的步骤, 再提取一次上清液记为二次。将两次的上清液合并就是肌原纤维蛋白粗提取液。用考马斯亮蓝法测定上清液的蛋白含量即为肌原纤维蛋白含量。

1.4.5 肌原纤维蛋白总巯基和活性巯基含量测定

总巯基含量测定, 参照石径^[6]报道方法。取 0.5 mL 肌原纤维蛋白溶液, 加入 4.5 mL 0.2 mol/L Tris-HCl 缓冲液 (pH 8.0, 含 8 mol/L 尿素, 1% SDS 和 3 mmol/L EDTA), 振荡混匀后, 取 4 mL 混合液加入 0.5 mL 0.2 mol/L Tris-HCl 缓冲液 (pH 8.0, 含 10 mmol/L DTNB), 搅拌均匀后于 40 °C 水浴 25 min。对照组用 0.6 mol/L NaCl (pH 7.0) 溶液替换肌原纤维蛋白溶液。反应完成后, 测定 412 nm 波长下吸光值, 摩尔吸光系数为 13600 L/mol·cm, 计算总巯基含量 ($\text{mol}/10^5 \text{ g}$ 蛋白质)。

活性巯基含量测定, 参考任丽娜^[8]报道方法。取 3.0 g 肉糜样品, 加入 4 倍量蛋白提取液 (5% SDS, 0.1% PBS), 10000 r/min 均质 1 min, 然后 6000 r/min 离心 10 min, 上清液用 BCA 法测蛋白质浓度。将溶液稀释到 5 mg/mL 后, 加入 1 mL 50 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.0, 含有 10 mmol/L EDTA-2Na, 0.6 mol/L KCl), 同时加入 0.4 mL Tris-HCl 缓冲液 (pH 8.0, 0.2 mol/L, 含 0.1% 的 DTNB), 在 25 °C 的水浴锅中水浴 1 h。以不加 Tris-HCl 缓冲液的实验组作为空白对照组, 用紫外分光光度计在波长 412 nm 处测定吸光值。巯基的计算公式为:

$$\text{巯基含量} = 5.53 \times A_{412} \times \frac{D}{\rho}$$

其中: A-吸光度; D-稀释倍数; ρ -蛋白质浓度; 测得的巯基含量以 $\text{mol}/10^5 \text{ g}$ 蛋白表示。

1.4.6 肌原纤维蛋白各化学键含量测定

离子键: 取一定量的虾糜置于烧杯中, 加入 10 mL 0.6 mol/L NaCl 的溶液, 静置一段时间后, 将样品在

5000 r/min 下匀浆 3 min。将样品放置于 4 °C 的冰箱下 1 h, 再在 4 °C 条件下以 4000 r/min 的速度离心 15 min。离心后将上清液于 4 °C 冰箱中放置一段时间, 再用考马斯亮蓝试剂法测定溶液中蛋白质的含量。

疏水键: 上述离心沉淀加 10 mL 1.5 mol/L 尿素和 0.6 mol/L NaCl 的混合液, 并以转速为 5000 r/min 的条件下匀浆 3 min。将样品放置于 4 °C 的冰箱下 1 h, 再在 4 °C 条件下以 4000 r/min 的速度离心 15 min。取其沉淀再加 10 mL 8 mol/L 尿素和 0.6 mol/L NaCl 的混合液在 5000 r/min 下匀浆 3 min, 将样品放置于 4 °C 的冰箱下 1 h, 在以相同条件下离心 15 min, 上清液 4 °C 保存; 重复实验, 并将离心所得的上清液混合后放置于 4 °C 的冰箱中, 再用考马斯亮蓝试剂法测定溶液中蛋白质的含量。

二硫键: 参照测定参照 Thannhauser^[9]。取一定量的虾糜置于烧杯中, 加入 5 倍体积的含 0.6 mol/L NaCl、8 mol/L 尿素的溶液, 均质离心。取 0.5 mL 上述溶液于试管中, 加入 4.5 mL 缓冲液 (pH 8.0, 含 8 mol/L 尿素, 3 mmol/L EDTA, 0.2 mol/L Tris-HCl)。再取上述混合液 4 mL, 加入 0.5 mL 缓冲液 (pH 9.0, 含有 8 mol/L 尿素, 3 mmol/L EDTA, 0.2 mol/L Tris-HCl)。置于 40 °C 水浴 25 min, 冷却后在 412 nm 下测定上清液的吸光值。二硫键的计算公式:

$$\text{二硫键含量}/(\text{mol}/10^5 \text{ g}) = \frac{A \times B}{D \times C}$$

其中: A 为吸光度; B 为蛋白浓度, mg/mL; D 为稀释倍数; C 为摩尔消光系数 13600/(L/mol·cm)。

1.5 数据分析

本次实验的每组数据均进行三次平行, 即 $n=3$ 。采用 SPSS 17.0 进行数据处理, 不同处理组之间的差异采用多重比较分析 (Duncan 法, $p<0.05$)。采用 Origin 8.0 对结果数据进行制图分析。

2 结果与讨论

2.1 肉糜冻藏过程中 pH 值变化

虾肉的 pH 值可作为虾体死后所发生的化学和生化变化情况的指标。图中为虾仁和虾糜在不同贮存天数时 pH 值的变化趋势。这种数值的变化间接表示了样品的品质。由图 1 我们可以发现, 在 0 d 的时候, 虾仁的 pH 为 6.81, 虾糜的 pH 为 6.82, 但在 120 d 时虾仁和虾糜组的 pH 分别上升到 7.65 和 7.5。在冻藏的第 0~20 d, 虾仁与虾糜 pH 值上升趋势显著, 在冻藏 20~120 d 的时间内, pH 值处于缓慢上升状态。该结果与 Alexander Chouljenkod 等^[10]报道相一致。虾仁与

虾糜的变化规律一致,但虾仁的 pH 值始终高于虾糜。经查阅文献后发现,虾的 pH 值腐败临界值在 8 左右^[11]。由结果可知,以虾仁为对照,虾糜的储存形式在冻藏过程体现出较好的保藏效果。

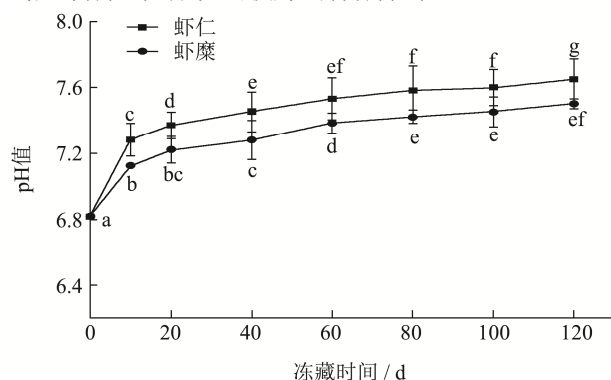


图1 虾仁与虾糜冻藏 120 d 的 pH 值变化

Fig.1 Changes of pH in shrimp and minced shrimp frozen for 120 days

注:本次实验每组数据进行三次平行,即 $n=3$; 标注不同字母表示有显著差异 ($p<0.05$)。

2.2 肉糜冻藏过程中蛋白质各组分含量变化

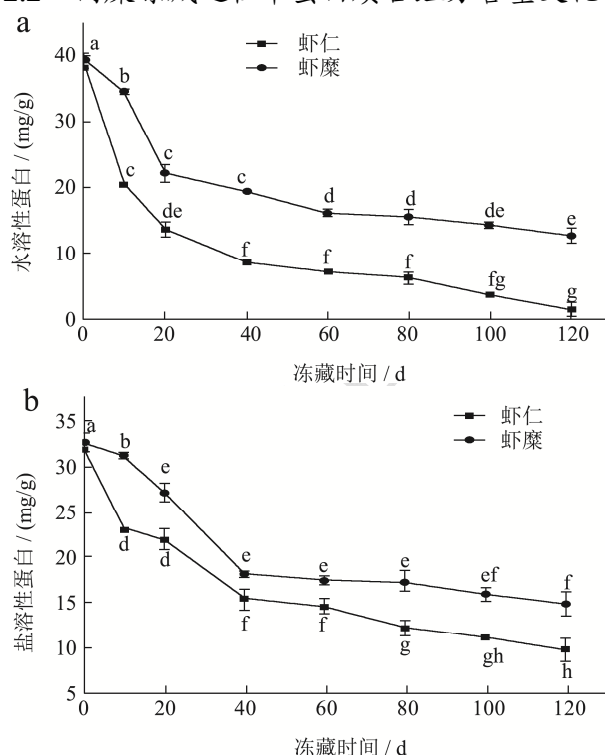


图2 虾仁与虾糜冻藏 120 d 的水溶性蛋白和盐溶性蛋白的变化

Fig.2 Changes of water-soluble protein and salt-soluble protein in shrimp and minced shrimp frozen for 120 days

注:本次实验每组数据进行三次平行,即 $n=3$; 标注不同字母表示有显著差异 ($p<0.05$)。

水溶性蛋白质,指的是可溶于水的蛋白质。如图 2a 所示,在 0~120 d 的时间中,两组水溶性蛋白含量一直在不断下降。第 0 d 虾仁的水溶性蛋白质含量为

39.41 mg/g,而虾糜组为 39.28 mg/g。两组样品数值在 0~20 d 的时间段内剧烈下降,在 20~60 d 下降幅度没有之前的剧烈,在 60~120 d 时虾糜和虾仁组的下降趋势减缓。第 120 d 时,虾仁和虾糜的水溶性蛋白含量较新鲜值下降了 38.02 mg/g 和 25.38 mg/g。从图 2a 中可以看出,随着贮藏期的延长,虾仁的水溶性蛋白流失比虾糜严重。结果表明,虾糜制品保存效果更好。

盐溶性蛋白是虾肌中主要蛋白质,其含量占总蛋白的 65%~75%^[12]。如图 2b 所示,在 0~120 d 的时间中,两组盐溶性蛋白含量一直在不断下降。第 0 d 虾仁组盐溶性蛋白质含量为 32.47 mg/g,虾糜组为 32.61 mg/g。样品在 0~40 d 的时间段内数值剧烈下降,在 40~120 d 下降趋势减缓。第 120 d 时,虾仁组盐溶性蛋白含量为 8.78 mg/g,虾糜组为 14.54 mg/g。参考江杨阳等^[13]人的实验后,我们发现在低温保藏过程中,细胞中部分结合水形成冰晶,导致了肌动球蛋白之间形成化学键,导致了盐溶性降低,这一结论与本文的结果相符。该实验结果表明,虾糜组的盐溶性蛋白含量高于虾仁组,虾糜的存储形式比虾仁冻藏效果更好。

2.3 肉糜冻藏过程中肌原纤维蛋白含量变化

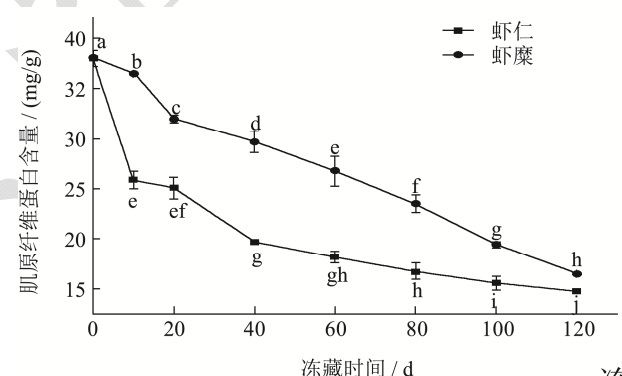


图3 虾仁与虾糜的肌原纤维蛋白在 120 d 的变化情况

Fig.3 Changes of myofibrillar protein in shrimp and shrimp paste for 120 days

注:本次实验每组数据进行三次平行,即 $n=3$; 标注不同字母表示有显著差异 ($p<0.05$)。

实验中常用水产品在高浓度的盐性溶液提取出来的肌原纤维蛋白含量的变化,来表示蛋白质变性情况^[14]。由图 3 可知,在 0~120 d 的时间中,实验中的各组的蛋白含量一直处于下降趋势。第 0 d 时,虾仁的肌原纤维蛋白含量为 37.92 mg/g,虾糜为 38.1 mg/g。样品在 0~40 d 的时间段内数值下降幅度较大,虾仁组含量下降到了 0 d 时的一半,而虾糜只下降四分之一;第 60~120 d 时两组含量的下降幅度开始变缓,至 120 d 时虾仁变为原来的三分之一,而虾糜仍剩余原来的 40%左右。图中肌原纤维蛋白含量的下降趋势和 Feng

等^[14]人的实验结果相同。该实验表明, 虾的不同的储存形式对于肌原纤维蛋白含量影响较为显著, 且虾糜的存储形式比虾仁冻藏效果更好。

2.4 肉糜冻藏过程中肌原纤维蛋白 Ca^{2+} -ATPase

活性

蛋白质的变性与 Ca^{2+} -ATPase 活性之间存在怎样的关系一直是诸多研究的目标。通过 Sriket P 等^[15]的结论, 可以发现肌球蛋白的球状头部是 Ca^{2+} -ATPase 的活性中心, Ca^{2+} -ATPase 活性是反映肌球蛋白或肌原纤维蛋白分子完整性的一个重要指标, 且 Ca^{2+} -ATPase 活性与蛋白质变性呈正相关。从图 4 中可以看出, 在 0~120 d 的时间中, 两组数据的活性一直在下降。经过 120 d 的时间变化 Ca^{2+} -ATPase 活性下降十分显著 ($p<0.05$)。第 0 d 时, 虾仁的 Ca^{2+} -ATPase 活性为 0.642 U/mg, 虾糜为 0.647 U/mg。第 120 d 时虾仁和虾糜两组的蛋白活性几乎为 0, 但虾糜的活性仍然高于虾仁组。与 Puppo 等^[16]人的实验比较肌原纤维蛋白 Ca^{2+} -ATPase 活性都处于下降趋势, 参考其结论发现导致 Ca^{2+} -ATPase 活性下降的原因是因为在冻藏过程中, 肌球蛋白球状头部构象发生改变或者相互聚集。上述实验表明, 在贮藏 120 d 后虾糜的 Ca^{2+} -ATPase 活性仍比虾仁高, 贮存效果更优秀。

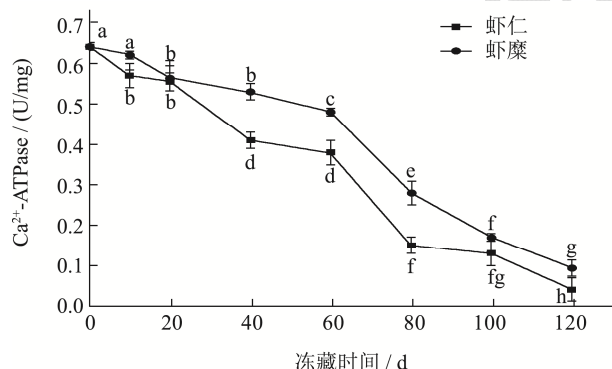


图 4 Ca^{2+} -ATPase 活性在不同贮藏方式下 120 d 内的变化情况

Fig.4 Change of Ca^{2+} -ATPase activity within 120 days under different storage methods

注: 本次实验每组数据进行三次平行, 即 $n=3$; 标注不同字母表示有显著差异 ($p<0.05$)。

2.5 肉糜冻藏过程中肌原纤维蛋白总巯基和活性巯基含量

总巯基包括活性巯基和隐藏的巯基。通过汪之和等^[17]人研究发现, 总巯基和活性巯基变化情况可以表示蛋白质冻藏过程中的氧化程度和蛋白质的变性情

况。由图 5a 可知, 在 0~120 d 的时间中, 总巯基含量不断下降。0 d 时虾仁的总巯基含量为 14.89 mmol/L, 虾糜为 14.82 mmol/L。第 0~20 d 时数值变化十分显著, 虾仁在 20 d 已经下降到原先的十分之一, 而虾糜变为原来的 18.6%, 第 20~120 d, 结果下降幅度很缓慢, 至 120 d 时虾仁组的总巯基的含量 0.8 mmol/L, 而虾糜组还剩余接近 10%。由图可知, 在 0~120 d 时间内虾糜的总巯基的含量大多比虾仁高, 虾糜保藏效果比虾仁好。

由图 5b 可知, 在 0~120 d 的时间中, 活性巯基的含量也处于不断下降的趋势。0 d 时虾仁的活性巯基含量为 3.24 mmol/L, 虾糜为 3.25 mmol/L。两组样品在 0~20 d 的时间段内含量处于剧烈下降的趋势, 在 20~120 d 又趋于平缓。曾名湧等^[18]人认为, 这种现象是因为肌原纤维蛋白中有一部分活性巯基位于分子外侧, 在冻藏初期蛋白质结构未发生重大变化就能够被氧化。此外, 参照彭欢欢等^[19]人的实验结论在冻藏过程中蛋白质的聚集也会使检测到的巯基数量减少, 这与本文的结论相同。该实验表明, 在贮藏期间虾糜的活性巯基的含量一直高于虾仁组, 因此虾糜的贮存效果比虾仁好。

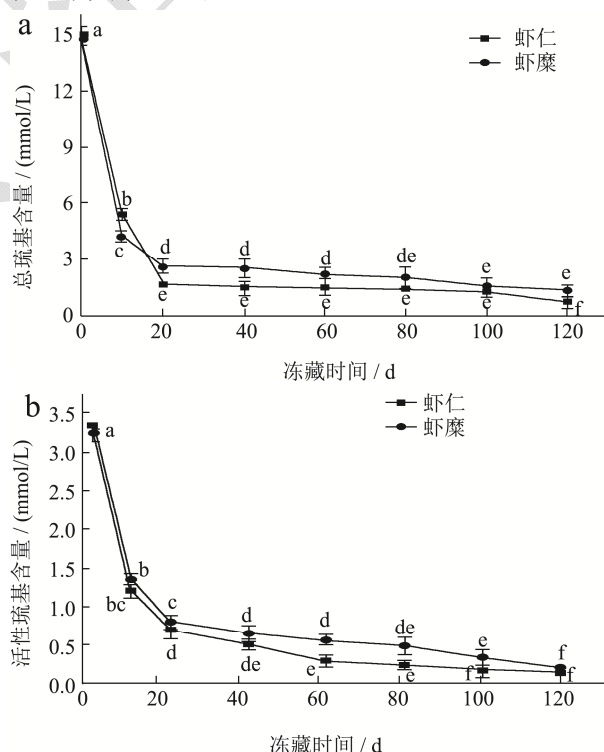


图 5 总巯基和活性巯基含量在不同贮藏方式下 120 d 内的变化情况

Fig.5 Changes of total sulfhydryl and active sulfhydryl content within 120 days under different storage methods

注: 本次实验每组数据进行三次平行, 即 $n=3$; 标注不同字母表示有显著差异 ($p<0.05$)。

2.6 肌原纤维蛋白各化学键含量测定

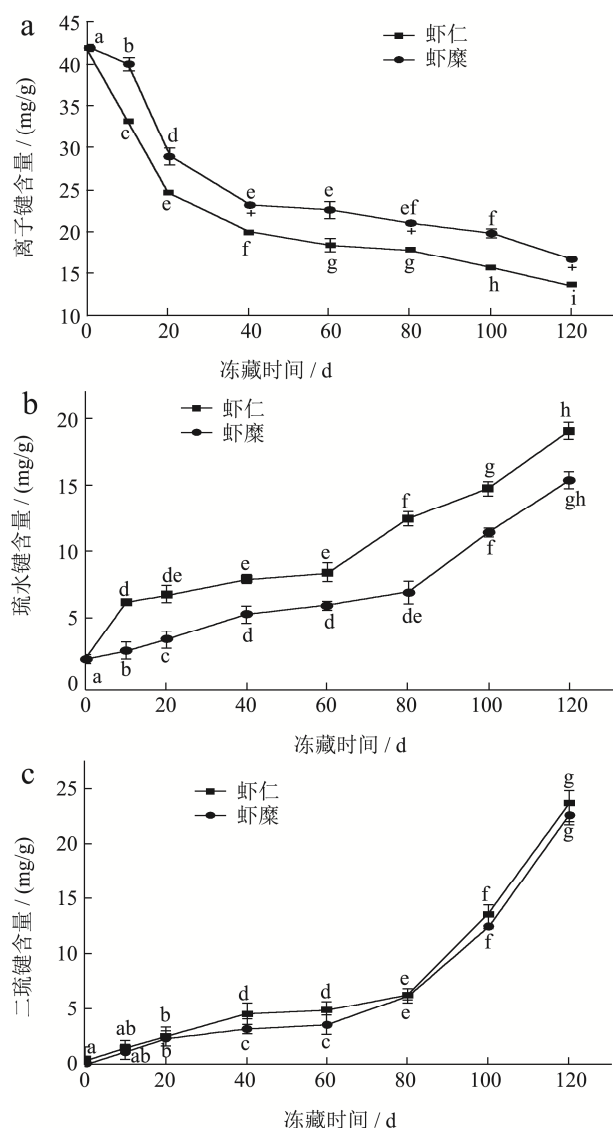


图6 离子键, 疏水键和二硫键的含量在不同贮藏方式下120 d 内的变化情况

Fig.6 Changes of ionic bonds, hydrophobic bonds and disulfide bonds content within 120 days under different storage methods

注: 本次实验每组数据进行三次平行, 即 $n=3$; 标注不同字母表示有显著差异 ($p<0.05$)。

离子键(Ionic bonds), 也叫盐桥, 指阴离子与阳离子之间通过静电作用形成的一种化学键, 主要存在于蛋白质的表面^[20]。离子键影响这蛋白质分子之间的相互作用, 并且是维持肌原纤维蛋白天然结构的主要作用力^[21]。由图 6a 可以看出, 在 0~120 d 的时间中, 离子键的含量不断变低。0 d 时虾仁的离子键含量为 42.03 mg/g, 虾糜为 41.97 mg/g。第 0~40 d 的时候含量下降的趋势显著, 虾仁的离子键含量比 0 d 时下降了一半, 而虾糜的含量为初始的 55%; 第 40~120 d 的时候, 含量的变化曲线变得平缓, 到 120 d 的时候虾

仁组的含量为 12.55 mg/g, 而虾糜组的含量为 17.05 mg/g。从实验图中可以发现, 两组样品在贮藏时期离子键的含量一直下降, 但虾糜组的离子键含量始终高于虾仁, 因此在离子键方面虾糜的存储形式比虾仁好。

疏水键(Hydrophobic bonds), 不是真正的化学键, 是指蛋白质多肽链上某些氨基酸的疏水基团或疏水侧链(非极性侧链), 由于避开水而造成相互接近、粘附聚集在一起^[21]。从图 6b 可以看出, 在 0~120 d 的时间中, 两组样品的疏水键含量一直上升。在 0~10 d 的时候上升幅度较为显著, 在 10~60 d 的时候含量的上升趋势平缓, 但在 60~120 d 的时候, 上升趋势变得平缓。0 d 时虾仁的疏水键含量为 2.2 mg/g, 虾糜为 2.13 mg/g。但在 120 d 的时候虾仁组已经上升到 19.33 mg/g, 而虾糜组的疏水键含量为 15.48 mg/g。虾类氧化可能导致蛋白二级结构和三级结构的改变, 导致溶液中极性和非极性基团数量的改变, 因此可能增加表面疏水作用^[22]。在实验中发现, 在冻藏期间, 蛋白质发生氧化作用, 使其表面疏水作用增加, 因此使得疏水键含量增加, 这与 Morzel 等^[23]的研究是一致的。由实验图可以发现, 在 0~120 d 的贮藏时间段中, 两组样品的疏水键一直在上升, 但虾糜的疏水键含量一直低于虾仁组, 所以在疏水键方面虾糜组的贮藏效果比虾仁组好。

二硫键是两个-SH 基被氧化而形成的-S-S-形式的硫原子之间的化学键。虾类肌肉蛋白质中的巯基在冷藏或冷冻储存或冻融过程中容易氧化成二硫键^[24]。从图 6c 可以看出, 在 0~120 d 的贮藏时间段中, 两组样品的二硫键含量一直处于上升趋势。0 d 时虾仁的二硫键含量为 0.03 mg/g, 虾糜为 0.05 mg/g。在 0~80 d 的时间段内, 上升趋势平缓, 在 80 d 的时候, 虾仁组的含量为 5.36 mg/g, 而虾糜组只有 5.28 mg/g; 在 80~120 d 的时间段内, 含量变化显著, 在 120 d 的时候, 虾仁组的含量为 24.02 mg/g, 而虾糜组为 23.34 mg/g。这些结果与初始数据相比相差很大。Benjaku 等^[25]研究表明, 肌氨酸分子的构象变化可能导致二硫键通过氧化增加, 这与本实验数据的变化趋势相符。由实验图可知, 在 0~120 d 的贮藏时间段中, 两组样品的二硫键含量一直上升, 但是虾糜组的数值一直低于虾仁组, 所以在二硫键方面虾糜的贮藏效果比虾仁好。

3 结论

3.1 虾糜作为一种新的贮藏方式对虾类的保藏开启了一个新的发展方向。本实验从理化角度分析, 与虾仁的贮藏方式相比较, 虾糜的贮藏方式减缓了二硫键和疏水键的含量、pH 值的上升趋势。同时这种贮藏方

式也使得其在总巯基和活性巯基的含量、离子键的含量、总蛋白的含量以及 Ca^{2+} -ATPase 活性方面比虾仁组更高。从上述各项指标表明,使用虾糜的贮藏方式比虾仁更优秀。本实验为今后对虾糜低温冻藏过程中品质变化和加工品的深加工提供了理论依据。

3.2 关于对虾的品质的探寻,还存在很多的研究方向。陶欢等^[26]人认为虾品质的下降是因为在冻藏过程中蛋白质中的结合水形成冰晶析出导致肌动球蛋白分子之间相互形成非共价键,进而形成超大分子的不溶性凝集。陈诗妍等^[27]人通过对虾中内源酶的活性测定研究,证明了内源酶会对虾肌原纤维蛋白的降解,从而影响虾的品质。这与本文的结论一致,从侧面证实了肌原纤维含量变化对虾的影响成正比。而目前虾类在对溶质的浓缩效益这一研究方向的文献较少,这也是之后实验中将研究的目标之一。

参考文献

- [1] 张珏,边绍新,刘亚男,等.丰南区南美白对虾苗种产业存在问题及发展建议[J].河北渔业,2020,4:58-60
ZHANG Jue, BIAN Shao-xin, LIU Ya-nan, et al. Existing problems and development suggestions of shrimp (*Penaeus vannamei*) seed industry in Fengnan district [J]. Hebei Fisheries, 2020, 4: 58-60
- [2] 赵小余.基围虾冻藏过程中品质变化的研究[D].大连:大连工业大学,2014
ZHAO Xiao-yu. Study on the quality change of Jiwei shrimp during frozen storage [D]. Dalian: Master Thesis of Dalian University of Technology, 2014
- [3] 曹文红,赵子科,田申,等.脊尾白虾虾糜的制备及其抗冷冻变性工艺[J].食品与发酵工业,2015,41(2):46-52
CAO Wen-hong, ZHAO Zi-ke, TIAN Shen, et al. Preparation and anti-freezing denaturation process of ridge tail white minced shrimp [J]. Food and Fermentation Industries, 2015, 41(2): 46-52
- [4] 沈春蕾.冻藏南美白对虾虾肉糜品质变化及保障技术研究[D].舟山:浙江海洋大学,2019
SHEN Chun-lei. Research on quality change and guarantee technology of frozen minced shrimp *Penaeus vannamei* [D]. Zhoushan: Master's thesis of Zhejiang Ocean University, 2019
- [5] 曹淑敏,赵亚,石启龙,等.添加剂对南美白对虾冻藏期间蛋白质变性的影响[J].食品与发酵工业,2016,42(10):99-104
CAO Shu-min, ZHAO Ya, SHI Qi-long, et al. Effects of additives on protein denaturation of *Penaeus vannamei* during frozen storage [J]. Food and Fermentation Industry, 2016, 42(10): 99-104
- [6] Fang Y, Rustad T, Xu Y, et al. Endogenous proteolytic enzymes-A study of their impact on cod (*Gadus morhua*) muscle proteins and textural properties in a fermented product [J]. Food Chemistry, 2015, 172: 551-558
- [7] 石径.中华管鞭虾冻藏过程中品质变化规律及机理研究[D].北京:中国农业大学,2018
SHI Jing. Study on the quality change law and mechanism of Chinese tuber shrimp during frozen storage [D]. Beijing: China Agricultural University, 2018
- [8] 任丽娜.白鲢鱼肉肌原纤维蛋白冷冻变性的研究[D].无锡:江南大学,2014
REN Li-na. Study on the freezing and denaturation of myofibrillar protein in silver carp meat [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2014
- [9] Thannhauser T W, Konishi Y, Scheraga H A, et al. Analysis for disulfide bonds in peptides and proteins [J]. Methods in Enzymology, 1987, 143(1): 115-119
- [10] Chouljenko A, Chotiko A, Reyes V, et al. Application of water-soluble chitosan to shrimp for quality retention [J]. Lwt - Food Science and Technology, 2016, 74: 571-579
- [11] 田凤.冷藏南美白对虾生物防腐保鲜技术的研究[D].湛江:广东海洋大学,2013
TIAN Feng. Research on refrigerated biological preservation technology of shrimp (*Penaeus vannamei*) [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2013
- [12] Mehta N K, Chouksey M K, Balange A K, et al. Physicochemical and gel properties of myofibrillar protein from Sin Croaker (*Johnius dussumieri*) fish during ice storage [J]. Journal of Aquatic Food Product Technology, 2017, 26(1): 71-85
- [13] 江杨阳,杨水兵,余海霞,等.不同冻结方式对红虾肌肉品质的影响[J].现代食品科技,2017,33(10):142-148
JIANG Yang-yang, YANG Shui-bing, YU Hai-xia, et al. Effects of different freezing methods on muscle quality of red shrimp [J]. Modern Food Science and Technology, 2017, 33(10): 142-148
- [14] Feng Y, Cao R, Zhao L, et al. Quality change of saury at -20 °C, -30 °C and -50 °C during freezing storage [J]. Food Research and Development, 2015, 36(21): 7-11
- [15] Sriket P, Benjakul S, Visessanguan W, et al. Comparative studies on the effect of the freeze-thawing process on the physicochemical properties and microstructures of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and white shrimp (*Penaeus vannamei*) muscle [J]. Food Chemistry, 2007, 104(1): 123

- 113-121
- [16] Puppo C, Chapleau N, Speroni F, et al. Physicochemical modifications of high-pressure-treated soybean protein isolates [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(6): 1564-1571
- [17] 汪之和, 苏德福. 冻结速率和冻藏温度对鲢肉蛋白质冷冻变性的影响[J]. 水产学报, 2001, 25(6): 564-569
WANG Zhi-he, SU De-fu. Effects of freezing rate and storage temperature on freezing denaturation of silver carp protein [J]. Journal of Fisheries, 2001, 25(6): 564-569
- [18] 曾名勇, 黄海, 李八方, 等. 鲫鱼(*Carassius auratus*)肌原纤维蛋白生化特性在冻藏过程中的变化[J]. 青岛海洋大学学报(自然科学版), 2003, 2: 192-198
ZENG Ming-yong, HUANG Hai, LI Ba-fang, et al. Changes in biochemical properties of *Carassius auratus* myofibrillar protein during frozen storage [J]. Journal of Qingdao Ocean University (Natural Science Edition), 2003, 2: 192-198
- [19] 彭欢欢, 刘小莉, 张金振, 等. 不同冷冻方式对斑点叉尾鲟鱼片品质的影响[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(8): 177-182
PENG Huan-huan, LIU Xiao-li, ZHANG Jin-zhen, et al. Effects of different freezing methods on the quality of catfish fillet [J]. Food Research and Development, 2017, 38(8): 177-182
- [20] 李艳青, 孔保华, 夏秀芳, 等. 漂洗和冻藏对鲤鱼肌原纤维蛋白理化特性的影响[J]. 中国食品学报, 2016, 16(6): 161-166
LI Yan-qing, KONG Bao-hua, XIA Xiu-fang, et al. Effects of rinsing and freezing on the physical and chemical properties of carp myofibrillar protein [J]. Chinese Journal of Food Science, 2016, 16(6): 161-166
- [21] 郭明慧. 高密度 CO₂ 诱导凡纳滨对虾肌球蛋白高级结构的变化及其与凝胶强度的相关性[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2016
GUO Ming-hui. High-density CO₂ induced changes in the advanced structure of myosin of *Penaeus vannamei* and its correlation with gel strength [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2016
- [22] 周爱梅, 曾庆孝, 刘欣, 等. 冷冻鱼糜蛋白在冻藏中的物理化学变化及其影响因素[J]. 食品科学, 2003, 3: 153-157
ZHOU Ai-mei, ZENG Qing-xiao, LIU Xin, et al. Physicochemical changes and influencing factors of frozen surimi in frozen storage [J]. Food Science, 2003, 3: 153-157
- [23] Morzel M, Gatellier P, Sayd T, et al. Chemical oxidation decreases proteolytic susceptibility of skeletal muscle myofibrillar proteins [J]. Meat Science, 2006, 73(3): 536-543
- [24] 郭园园, 孔保华. 冷冻贮藏引起的鱼肉蛋白质变性及其物理化学特性的变化[J]. 食品科学, 2011, 32(7): 335-340
GUO Yuan-yuan, KONG Bao-hua. Protein denaturation and changes in physical and chemical properties of fish meat caused by frozen storage [J]. Food Science, 2011, 32(7): 335-340
- [25] Benjakul S, Visessanguan W, Tueksuban J, et al. Changes in physico-chemical properties and gel-forming ability of lizardfish (*Saurida tumbil*) during post-mortem storage in ice [J]. Food Chemistry, 2003, 80(4): 535-544
- [26] 陶欢, 陈舜胜. 3 种淡水对虾在冻藏过程中蛋白质特性的变化[J]. 水产学报, 2010, 34(3): 389-394
TAO Huan, CHEN Shun-sheng. Changes in protein characteristics of three species of freshwater prawns during frozen storage [J]. Journal of Fisheries, 2010, 34(3): 389-394
- [27] 陈诗妍, 吉宏武, 李承勇, 等. 凡纳滨对虾内源蛋白酶对肌原纤维蛋白的降解作用[J]. 食品工业科技, 2015, 36(5): 149-155
CHEN Shi-yan, JI Hong-wu, LI Cheng-yong, et al. Degradation of myofibrillar protein by endogenous protease of *Penaeus vannamei* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(5): 149-155
-
- (上接第 215 页)
- [44] 樊秋元. 黑加仑酵素制备及其抗氧化活性研究[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2019
FAN Qiu-yuan. Preparation and antioxidant activity of blackcurrant enzymes [D]. Daqing: Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2019
- [45] Jimenez-Monreal A M, Garcia-Diz L, Martinez-Tome M, et al. Influence of cooking methods on antioxidant activity of vegetables [J]. J Food Sci, 2009, 74(3): H97-H103