

# 低温等离子体对南美白对虾肌肉蛋白质性质和结构的影响

唐玲玲, 严金红, 徐慧倩, 邓尚贵, 缪文华\*

(浙江海洋大学食品与药学院, 舟山 316022)

**摘要: 目的** 研究低温等离子体(cold atmospheric plasma, CAP)对南美白对虾肌肉蛋白质性质和结构的影响。**方法** 采取不同等离子体条件(电压: 20、40、60 kV; 时间: 1、2、3 min)对南美白对虾肌肉蛋白进行处理, 通过分析肌浆蛋白、肌原纤维蛋白、表面疏水性、总巯基含量、Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性、十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)指标, 探讨 CAP 对南美白对虾肌肉蛋白的影响。**结果** 与对照组相比, 随着处理时间和电压的增加, 虾体的肌浆蛋白、肌原纤维蛋白含量、总巯基含量、Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性均显著下降( $P<0.05$ ), 而表面疏水性显著升高( $P<0.05$ )。处理条件为 60 kV、3 min 时, 样品各指标变化最明显。SDS-PAGE 电泳显示肌原纤维蛋白的肌球蛋白重链条带增强, 副肌球蛋白条带逐渐消失, 在分子量为 25 kDa 附近出现新的蛋白条带。**结论** CAP 处理能导致南美白对虾肌肉氧化, 蛋白质变性。

**关键词:** 南美白对虾; 肌肉蛋白质; 低温等离子体; 蛋白质氧化

## Effects of cold atmospheric plasma on protein properties and structure of *Penaeus vannamei*

TANG Ling-Ling, YAN Jin-Hong, XU Hui-Qian, DENG Shang-Gui, MIAO Wen-Hua\*

(Department of Food Science and Pharmaceutics, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China)

**ABSTRACT: Objective** To investigate the effects of cold atmospheric plasma (CAP) on protein properties and structure of *Penaeus vannamei*. **Methods** The muscle protein of *Penaeus vannamei* were treated with different CAP conditions (voltage: 20, 40, 60 kV; time: 1, 2, 3 min), and the index such as myogen, myofibrillar protein, surface hydrophobicity, total sulfhydryl content, Ca<sup>2+</sup>-ATPase activity, and sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) were investigated. **Results** Compared with the control group, with the increase of treatment time and voltage, the myogen, myofibrillar protein content, total sulfhydryl content and Ca<sup>2+</sup>-ATPase activity of shrimp decreased significantly ( $P<0.05$ ), while the surface hydrophobicity increased significantly ( $P<0.05$ ). when the treatment condition was 60 kV, 3 min, the changes of each index of the sample were the most obvious. The SDS-PAGE showed that the myosin heavy chain of myofibrin enhanced, the accessory myosin bands

基金项目: 浙江省公益技术研究计划项目(LGJ20C200002)

Fund: Supported by the Zhejiang Provincial Public Technology Research Program (LGJ20C200002)

\*通信作者: 缪文华, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为海洋水产品蛋白质改性及性质研究、海洋蛋白质资源综合利用与精深加工等。

E-mail: miaowenhua@zjou.edu.cn

\*Corresponding author: MIAO Wen-Hua, Ph.D, Assistant Professor, Department of Food Science and Pharmaceutics, Zhejiang Ocean University, No.1 Haida South Road, Dinghai District, Zhoushan 316022, China. E-mail: miaowenhua@zjou.edu.cn

gradually disappeared, and new protein bands appeared near the molecular weight of 25 kDa. **Conclusion** CAP treatment promotes muscle oxidation of *Penaeus vannamei*, leading to protein denaturation.

**KEY WORDS:** *Penaeus vannamei*; muscle protein; cold atmospheric plasma; protein oxidation

## 0 引言

南美白对虾(*Penaeus vannamei*), 又名凡纳滨对虾, 为对虾科(*Penaeus orientalis*)对虾属(*Penaeus*)甲壳类水产品<sup>[1]</sup>。南美白对虾的虾肉鲜美, 外壳较薄, 蛋白含量高, 同时又具有脂肪含量低的优点, 市场前景广阔<sup>[2]</sup>, 但同时也因其自身水分及蛋白质含量高、组织蛋白酶活性强, 自溶迅速, 易于发生腐败变质<sup>[3]</sup>。已发表的研究报道中, 关于南美白对虾的贮藏保鲜方式主要涉及物理保鲜(冷藏或冻藏<sup>[4]</sup>、电解水保鲜<sup>[5]</sup>、气调保鲜<sup>[6]</sup>、辐照保鲜<sup>[7]</sup>等)、化学保鲜(臭氧<sup>[8]</sup>等)和生物保鲜(茶多酚提取物<sup>[9]</sup>等)。物理保鲜在具体的操作中比较复杂, 且成本高, 大规模地推广还具有一定的难度。化学保鲜会导致使用的保鲜剂在食品中有一定残留量, 而造成安全性问题。生物保鲜剂在生物中的含量低, 获取成本高, 目前大多还处在实验室研究的阶段。

低温等离子体(cold atmospheric plasma, CAP)是一种新兴的非热加工技术, 其在食品消毒杀菌、品质保鲜、改性等方面的应用具有许多优点, 如加工温度低、对营养成分的破坏少、能最大限度地发挥食品原本的感官特性、副产品无毒、成本低等, 因此, 低温等离子体技术在食品领域得到了广泛的应用。焦焯等<sup>[10]</sup>利用 CAP 对三文鱼进行处理, 发现 CAP 对三文鱼具有杀菌效果, 发挥保鲜作用。金图南<sup>[11]</sup>探究了低温等离子体对鱿鱼的感官品质和营养价值的影响, 研究表明 CAP 对鱿鱼的感官评价、新鲜程度、营养、气味和口感没有显著影响, 处理后鱿鱼的货架期得到延长。刘品等<sup>[12]</sup>利用 CAP 对南美白对虾防黑变机制进行了研究, 发现 CAP 处理有效抑制了南美白对虾上细菌的增长。目前, CAP 在食品中的应用研究主要集中在 CAP 处理对食品的保鲜效果上, 但 CAP 对食品本身的影响报道较少。本研究采用 CAP 对南美白对虾肌肉蛋白进行处理, 分析其对肌肉蛋白质性质和结构的影响, 研究 CAP 在南美白对虾的保鲜应用中对其肌肉蛋白质的影响, 以期 CAP 在南美白对虾等水产品中的保鲜应用提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

鲜活南美白对虾购买于浙江舟山老碇菜市场, 在 30 min 内运至实验室, 超纯水洗净后, 碎冰猝死, 储存在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。

SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(5 $\times$ )、SDS-PAGE 凝胶快

速配制试剂盒、标准蛋白 Marker、Tris-HCl 缓冲液(上海碧云天生物技术有限公司); 考马斯亮蓝染色液 R250(武汉谷歌生物科技有限公司); 碳酸钠、磷酸二氢钾、磷酸氢二钠、氯化钾、溴酚蓝、乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)、尿素、十二烷基硫酸钠(分析纯, 国药化学试剂有限公司); 蛋白定量测定试剂盒、总巯基测定试剂盒、 $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性测定试剂盒(南京建成生物科技有限公司)。

### 1.2 仪器与设备

Phenix BK130/3 低温等离子体处理装置(美国 Phenix Technologies 公司); WFZ UV-2100 紫外可见分光光度计(上海尤尼克有限公司); Avanti JXN-30 高速冷冻离心机(美国贝克曼库尔特有限公司); Mini protein III 电泳仪(美国 BIO-RAD 公司); ELE 高速均质机(上海易勒机电设备有限公司); GenoSens-2100 凝胶成像系统(北京华圣科仪实验设备有限公司)。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 低温等离子体处理方法

挑选形状大小相同的南美白对虾, 将其放入食品级包装盒内, 然后用包装机密封后, 将包装盒放于等离子体装置的两电极之间, 低温等离子体处理电压分别为: 20、40、60 kV, 处理时间为: 1、2、3 min(整个处理过程均在室温下进行)。对照组为未经 CAP 处理的南美白对虾。

#### 1.3.2 肌浆蛋白的提取及测定

参考 NIAMNUY 等<sup>[13]</sup>的方法稍作修改。将对虾清洗并去壳, 然后将虾肉绞碎, 称量 10 g, 加入 pH 7.5、3.5 mmol/L 磷酸二氢钾、15.6 mmol/L 磷酸氢二钠的 10 倍质量的磷酸盐缓冲液, 再用均质机匀浆 2 min, 每隔 30 s 停一次, 防止仪器过热, 结束后在 8000 $\times$ g、4 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下离心 20 min, 保留上清液。在离心后得到的沉淀中继续加入 10 倍质量的磷酸盐缓冲液, 重复上述步骤 3 次, 合并 3 次得到的上清液, 即为南美白对虾肌浆蛋白提取物。

用考马斯亮蓝法(南京建成试剂盒)进行肌浆蛋白含量的测定。

#### 1.3.3 肌原纤维蛋白的提取及测定

往 1.3.2 沉淀中加入 10 倍质量的 pH 7.5、0.45 mol/L 氯化钾、3.5 mmol/L 磷酸二氢钾、15.6 mmol/L 磷酸氢二钠的磷酸盐缓冲液, 缓慢搅拌至沉淀完全溶解, 在 8000 $\times$ g、4 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下离心 20 min, 保留上清液, 重复上述步骤 3

次, 将 3 次得到的上清液进行合并, 即为肌原纤维蛋白提取物。

肌原纤维蛋白含量的测定通过购买的试剂盒(南京建成试剂盒, 考马斯亮蓝法)进行测量。

#### 1.3.4 表面疏水性的测定

在吴海潇<sup>[14]</sup>的测定方法基础上稍做修改。将肌原纤维蛋白溶解于 pH 8.0、20 mmol/L 的 Tris-HCl 缓冲液中至质量浓度为 2 mg/mL, 然后准确量取 2 mL 加入到溴酚蓝溶液中(20  $\mu$ L、1 mg/mL), 进行旋涡混合, 使其均匀。将不含肌原纤维蛋白的 pH 8.0、20 mmol/L 的 Tris-HCl 缓冲液与溴酚蓝溶液的混合液作为对照组。在 595 nm 处的测定读取其吸光度值。肌原纤维蛋白表面疏水性的计算如公式(1):

$$\text{溴酚蓝结合量}(\mu\text{g}) = \frac{20 \times (A_0 - A_1)}{A_0} \quad (1)$$

式(1)中:  $A_0$  为对照组的吸光度值,  $A_1$  为实验组的吸光度值。

#### 1.3.5 总巯基的测定

采用巯基测定试剂盒(南京建成试剂盒)进行测定(分光光度法)。将肌原纤维蛋白溶液与 50 mmol/L 磷酸盐缓冲液(0.6 mol/L 氯化钾、10 mmol/L EDTA、8 mol/L 尿素、pH 7.0)按 1:9 ( $V:V$ )的比例混合。再根据试剂盒说明加入试剂, 在 412 nm 波长处测定吸光度。总巯基含量的具体计算见公式(2):

$$C_0 = \frac{A}{\varepsilon} = \frac{A_2 - A_0 - A_1}{13.6} \div 0.5 \times \frac{V}{V_0} \times n \quad (2)$$

式(2)中:  $C_0$  为总巯基含量(mmol/g);  $A_2$  为测定管的吸光度值,  $A_0$  为空白管的吸光度值,  $A_1$  为对照管的吸光度值,  $\varepsilon$  为摩尔吸光系数 13600 [L/(mol·cm)]; 0.5 为比色皿的光径(cm);  $V$  为样液总体积(L);  $V_0$  为取样量(L);  $n$  为稀释倍数。

#### 1.3.6 $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性的测定

参照于亚文等<sup>[15]</sup>的测定方法并做出相应改进。对虾清洗去壳, 用绞肉机绞碎, 称量 5 g 虾肉, 加入生理盐水 45 g, 均质机匀浆 2 min, 在 2500 r/min、4  $^{\circ}$ C 条件下离心 10 min, 保留上清液, 继续加入相同比例的生理盐水稀释。用南京建成试剂盒(考马斯亮蓝法)测定蛋白浓度。根据所得蛋白浓度进行调整(若浓度过高, 则加入 1% 的组织匀浆将其稀释), 将蛋白浓度控制在符合测定的范围内。

肌原纤维蛋白  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性的大小通过南京建成试剂盒进行测定。

#### 1.3.7 SDS-PAGE 电泳实验

将肌原纤维蛋白样品溶于 Tris-HCl 缓冲液(pH 8.0、20 mmol/L)中, 使最终质量浓度为 1 mg/mL, 分离胶和浓缩胶的质量分数分别为 12% 和 3.25%, 将溶解后的蛋白样品和蛋白上样缓冲液按 1:1 ( $V:V$ )比例混合, 标准品蛋白(Marker)和样品的上样量均为 5  $\mu$ L。最开始的电流设置为 80 mA, 当蛋白样品快要接触分离胶和浓缩胶的交界线时, 将电流增大至 120 mA。当 Marker 蛋白条带全部显示, 即

关闭电源。取出胶片, 用浓度为 0.1% 的考马斯亮蓝染色液充分染色, 染色结束, 用甲醇(5%)和冰醋酸(7%)配制的脱色液对胶片进行脱色, 直至蛋白条带清晰显现, 用 GenoSens 凝胶成像系统对胶片进行拍照记录。

#### 1.3.8 数据分析

本研究用 IBM SPSS Statistics 20 软件对数据进行分析处理, 结果表示为平均值 $\pm$ 标准偏差(显著性差异以  $P < 0.05$  表示), 用 OriginPro 8 软件绘制数据曲线。

## 2 结果与分析

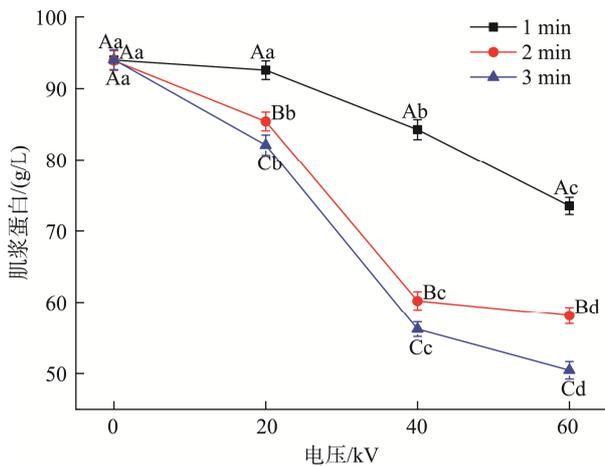
### 2.1 肌浆蛋白含量的变化

肌浆蛋白占肌肉组织总蛋白的 30%, 其含量可间接影响虾肉品质<sup>[16]</sup>。从图 1 可以看出, 对照组的南美白对虾肌浆蛋白含量为(93.99 $\pm$ 1.38) g/L, CAP 处理条件为 20 kV、1 min 时, 肌浆蛋白的含量变化不显著, 说明较低的电压短时间处理对肌浆蛋白含量的影响不大, 但随着处理电压的升高, 肌浆蛋白的含量显著下降( $P < 0.05$ ), 处理条件为 60 kV、1 min 时, 肌浆蛋白含量随电压的升高而降至(73.51 $\pm$ 1.21) g/L; 处理条件为 60 kV、2 min 时, 肌浆蛋白含量随电压的升高而显著降至(58.13 $\pm$ 1.14) g/L; 处理条件为 60 kV、3 min 时, 肌浆蛋白含量随电压的升高而显著降至(50.45 $\pm$ 1.22) g/L。在相同电压的情况下, 随着处理时间的增加, 肌浆蛋白的含量呈下降趋势, 处理电压为 20 kV 时, 肌浆蛋白含量随时间增加降至(82.10 $\pm$ 1.16) g/L; 处理电压为 40 kV 时, 肌浆蛋白含量随时间增加降至(56.19 $\pm$ 1.03) g/L; 处理电压为 60 kV 时, 肌浆蛋白含量随时间增加降至(50.45 $\pm$ 1.22) g/L。综上, 当电压达到 60 kV、处理时间为 3 min 时, 肌浆蛋白的含量下降最显著( $P < 0.05$ ), 数值为(50.45 $\pm$ 1.22) g/L, 证明 CAP 能降低南美白对虾肌浆蛋白含量。本研究结果与陈家盛等<sup>[17]</sup>研究低温等离子体处理后, 冰鲜鱿鱼蛋白质含量下降的结果一致。造成这种现象的原因可能是 CAP 产生的高能粒子通过能量传递, 对蛋白表面进行轰击, 导致蛋白的结构被破坏, 蛋白质发生降解从而变成小分子蛋白, 蛋白结构由紧密变松散<sup>[18]</sup>。

### 2.2 肌原纤维蛋白含量的变化

不同程度的氧化会造成蛋白质变性和肌纤维损伤, 致使肌原纤维含量改变。根据图 2 得出, 未处理的新鲜南美白对虾肌原纤维蛋白含量为(139.13 $\pm$ 1.22) g/L, 经低温等离子体处理后, 随着电压的增大, 肌原纤维蛋白含量显著下降( $P < 0.05$ ), 电压一定时, 随着时间的延长, 肌原纤维蛋白的含量亦显著下降( $P < 0.05$ )。在处理条件为 60 kV、3 min 时, 肌原纤维蛋白含量下降最显著( $P < 0.05$ ), 为(85.76 $\pm$ 4.62) g/L。表明 CAP 处理降低了南美白对虾中肌原纤维蛋白的含量。LUO 等<sup>[19]</sup>关于 CAP 处理对干腌熏肉影

响的研究中报道了随着电压的增加,肌原纤维蛋白含量下降,处理电压为 60 和 70 kV 时,下降量最大( $P<0.05$ )。EKEZIE 等<sup>[20]</sup>对凡纳滨对虾的研究中指出肌原纤维蛋白的下降是由于 CAP 处理会引起蛋白质分子结构改变,蛋白质变性降解。低温等离子体处理使肌原纤维束被撕开,从而形成间隙,导致组织微观结构遭到破坏,蛋白最终降解为小分子蛋白,这可能是 CAP 处理使南美白对虾肌原纤维蛋白含量下降的内在机制。



注:不同大写字母表示不同处理时间之间具有显著性差异( $P<0.05$ );不同小写字母表示不同处理电压之间具有显著性差异( $P<0.05$ ),下同。

图 1 低温等离子体处理条件对肌浆蛋白含量的影响( $n=3$ )  
Fig.1 Effects of cold atmospheric plasma treatment conditions on the content of myogen ( $n=3$ )

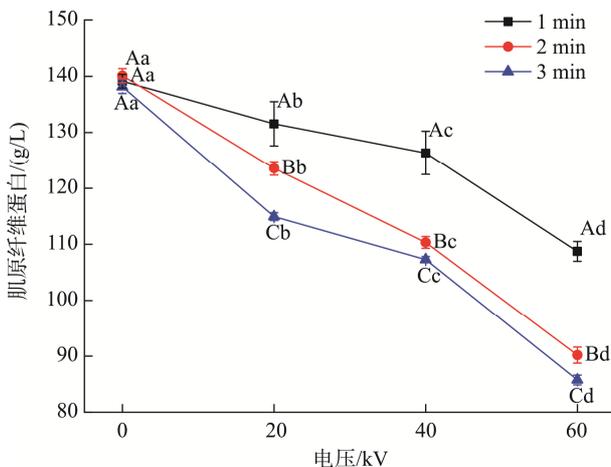


图 2 低温等离子体处理条件对肌原纤维蛋白含量的影响( $n=3$ )  
Fig.2 Effects of cold atmospheric plasma treatment conditions on myofibrillar protein content ( $n=3$ )

### 2.3 表面疏水性的变化

维持蛋白质的三级结构最重要的作用力是疏水基的

相互作用<sup>[21]</sup>,蛋白质的表面疏水性可以反映出蛋白质的展开程度,与蛋白质的功能性质密切相关<sup>[22]</sup>。溴酚蓝与肌原纤维蛋白的特异性结合程度受到表面疏水性变化的影响,被认为是测定蛋白表面疏水性的可靠方法<sup>[23]</sup>。由图 3 得出,未经低温等离子体处理的南美白对虾溴酚蓝结合量为( $12.37\pm 0.13$ )  $\mu\text{g}$ ,在等离子体处理后,时间一定时,随着电压的增大,溴酚蓝结合量显著增加( $P<0.05$ );电压一定时,随着时间的延长,溴酚蓝结合量同样显著增加( $P<0.05$ ),表明等离子体处理后,肌原纤维蛋白的表面疏水性增大。在处理条件为 60 kV、3 min 时,溴酚蓝的结合量为( $17.97\pm 0.06$ )  $\mu\text{g}$ ,达到最大值。王芝妍等<sup>[24]</sup>采用超高压辅助探究中华管鞭虾脱壳对其肌肉品质影响的研究中也报道了随着压力的增大,蛋白多肽链去折叠的过程中会暴露出分子内部疏水性氨基酸基团,从而引起蛋白表面疏水性增大。闫春子等<sup>[25]</sup>用超高压对草鱼肌原纤维蛋白进行处理,发现随着压力的增大,肌原纤维蛋白表面疏水性不断增大,由于经过超高压处理后,折叠态的肌原纤维蛋白分子伸展,部分分子内部的疏水性残基暴露,表面疏水性增大。因此 CAP 处理使南美白对虾肌肉蛋白展开程度增大,蛋白质结构遭到破坏。

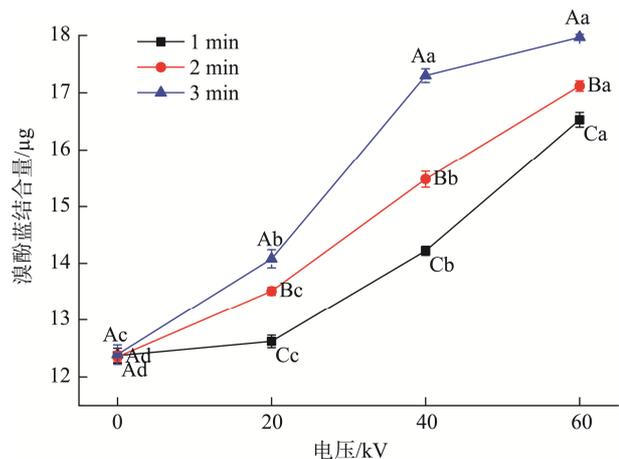


图 3 低温等离子体处理条件对表面疏水性的影响( $n=3$ )  
Fig.3 Effects of cold atmospheric plasma treatment conditions on the surface hydrophobicity ( $n=3$ )

### 2.4 总巯基的变化

巯基对蛋白质结构的稳定性有一定影响,巯基含量的减少部分原因是蛋白质氧化造成的,所以巯基含量的变化可反映出蛋白质的氧化程度<sup>[26]</sup>。根据图 4 得出,未经低温等离子体处理的南美白对虾,其肌原纤维蛋白的总巯基含量为( $50.61\pm 0.21$ ) mmol/g,经 CAP 处理后,在处理时间不变的情况下,随着处理电压的增加,总巯基的含量下降,电压一定时,随着处理时间的延长,总巯基的含量显著下降( $P<0.05$ )。处理条件为 60 kV、3 min 时,总

巯基的含量下降最显著( $P<0.05$ ), 为 $(31.37\pm 0.41)$  mmol/g。NYAISABA 等<sup>[27]</sup>研究发现鱿鱼粗蛋白酶经 CAP 处理后, 巯基含量也显著下降, 与本研究结果一致。可能的原因是, CAP 能够产生各种高活性物质, 其中, 在活性氧存在时, 巯基基团极易被氧化, 从而导致二硫键的形成<sup>[28]</sup>, 巯基基团含量下降。此外, CAP 产生的活性物质在水分子存在时, 会形成强氧化性物质  $\text{OH}\cdot$ 、 $\text{H}_2\text{O}^+$  和  $\text{H}^+$  等自由基, 可将巯基转化为二硫键, 从而引起蛋白质结构和功能的改变。

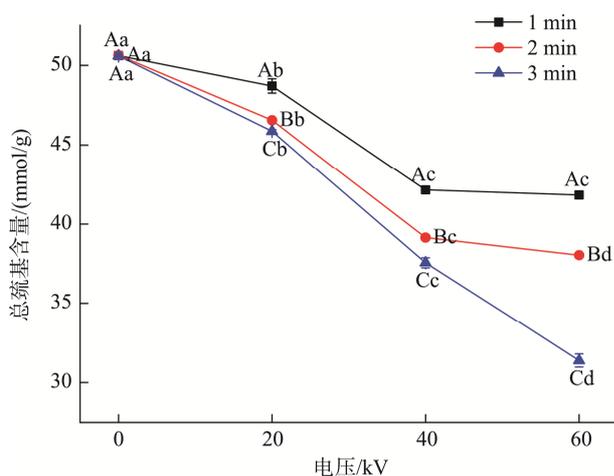


图 4 低温等离子体处理条件对总巯基含量的影响( $n=3$ )  
Fig.4 Effects of cold atmospheric plasma treatment conditions on total sulphhydryl content ( $n=3$ )

## 2.5 $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性的变化

肌球蛋白占蛋白质总量的 54%, 是肌肉中肌原纤维重要组成部分。肌球蛋白的头部具有 ATP 酶活性, 需要依靠  $\text{Ca}^{2+}$  的含量维持,  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性是肌球蛋白完整性的重要指标, 其损失越大, 说明肌球蛋白变性越严重<sup>[29]</sup>。根据图 5 得出, 未经低温等离子体处理的南美白对虾, 其肌原纤维蛋白中  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性为 0.21 U/mg, 经 CAP 处理后, 在处理时间不变的情况下, 随着处理电压的增加,  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 的活性显著下降( $P<0.05$ ); 在 20 kV 条件下, 处理时间为 1 和 2 min 时  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 的活性变化不显著( $P>0.05$ ), 在 40 和 60 kV 条件下, 电压不变时,  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 的活性随着处理时间的延长而显著下降( $P<0.05$ )。当处理条件为 60 kV、3 min 时,  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 的活性下降最显著( $P<0.05$ ), 数值为 0.10 U/mg。说明低温等离子体处理后南美白对虾中的  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性显著下降( $P<0.05$ ), 肌球蛋白的球状头部区域发生了变性<sup>[30]</sup>。有研究报道表明,  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性的降低与巯基被氧化形成二硫键有一定关联性, 会引起酶活性中心发生改变, 最终导致  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性下降<sup>[31]</sup>。

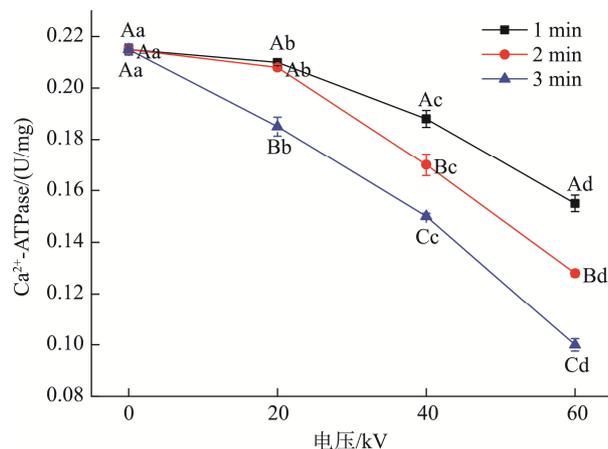


图 5 低温等离子体处理条件对  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性的影响( $n=3$ )  
Fig.5 Effects of cold atmospheric plasma treatment conditions on  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity ( $n=3$ )

## 2.6 SDS-PAGE 电泳分析

蛋白质分子降解的外在表现包括高蛋白分子量条带的模糊、弱化、消失、扩展以及低分子量条带的出现或浓度加强<sup>[32]</sup>。从图 6 中各处理样品 SDS-PAGE 结果看出, 蛋白条带经 20 kV、1 min 处理后, 与未经 CAP 处理的对照组样品相比无明显变化; 随着电压和时间的增加, 肌原纤维蛋白的肌球蛋白重链条带变粗, 副肌球蛋白条带则由粗变细, 这可能是由于蛋白质的裂解和聚合导致。表明低温等离子体处理破坏了肌球蛋白分子结构, 此结果与图 5 中因肌球蛋白的破坏而引起的  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性下降的结果一致。随着处理电压的增大和时间的延长, 在 25 kDa 的分子量附近出现了新条带, 且条带由细变粗, 颜色由浅变深, 表明低温等离子体处理过程中肌原纤维蛋白发生了变性。蛋白条带的弱化和消失可能是因为 CAP 处理过程中蛋白质高级结构被破坏<sup>[33]</sup>, 分子展开, 肽键断裂, 而新条带的产生可能断裂的蛋白片段或者是蛋白片段发生了局部的交联<sup>[34]</sup>。

## 3 讨论与结论

本研究对低温等离子体处理后的南美白对虾进行了肌浆蛋白含量、肌原纤维蛋白含量、蛋白表面疏水性、 $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性、总巯基含量、SDS-PAGE 的测定和分析。相比于对照组, 不同等离子体条件处理后的南美白对虾的肌浆蛋白含量、肌原纤维蛋白含量、总巯基含量、 $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性下降, 表面疏水性升高; 在 SDS-PAGE 结果中, 肌原纤维蛋白的肌球蛋白重链条带增强, 副肌球蛋白条带减弱, 25 kDa 附近出现新条带。这些变化表明 CAP 处理使南美白对虾肌肉蛋白质发生了不同程度的氧化, 蛋白质变性, 且处理时间越长, 电压越高, 蛋白质氧化和变性越明显。本研究发现在最高处理条件 60 kV、3 min 时, 上述各指标变化最显著。因此, 在低温等离子体处理

南美白对虾时,应控制处理时间和电压,避免蛋白质氧化变性,减小对其功能性质的影响。本研究结果为低温等

离子体技术在水产品加工中的应用提供了一定的理论参考依据。

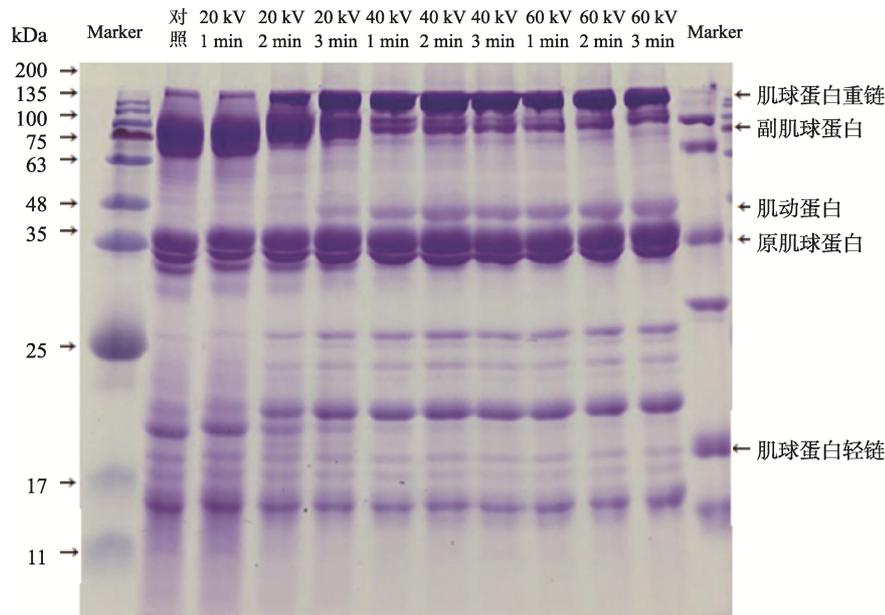


图6 低温等离子体对肌原纤维蛋白分子条带的影响

Fig.6 Effects of cold atmospheric plasma on myofibrillar protein molecular banding

#### 参考文献

- [1] 张溪, 蓝蔚青, 刘嘉莉, 等. 南美白对虾防黑变保鲜技术研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(15): 294-300.  
ZHANG X, LAN WQ, LIU JL, *et al.* Preservation technology for inhibiting melanosis in *Litopenaeus vannamei*: A review [J]. Food Ferment Ind, 2019, 45(15): 294-300.
- [2] 李婉君. 南极磷虾与南美白对虾营养与滋味成分比较[D]. 上海: 上海海洋大学, 2015.  
LI WJ. Comparison of nutrition and flavor composition between *Antarctic krill* and *Penaeus vannamei* [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2015.
- [3] 凌萍华, 谢晶. 冰温技术结合保鲜剂对南美白对虾品质的影响[J]. 食品科学, 2010, 31(14): 280-284.  
LING PH, XIE J. Effects of super-chilling combined with preservatives on chemical, biochemical and sensory properties of *Litopenaeus vannamei* [J]. Food Sci, 2010, 31(14): 280-284.
- [4] 施佩影, 李仁伟, 刘文营. 不同贮藏温度对南美白对虾黑变的影响[J]. 湖州师范学院学报, 2014, (8): 35-39.  
SHI PY, LI RW, LIU WY. The impact analysis of *Litopenaeus vannamei* blackening during storage [J]. J Huzhou Norm Univ, 2014, (8): 35-39.
- [5] 孙江萍, 赵莉, 俞文英, 等. 酸性电解水对南美白对虾中多酚氧化酶活性的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(9): 7-12.  
SUN JP, ZHAO L, YU WY, *et al.* Effect of acidic electrolyzed water on polyphenoloxidase activity from *Litopenaeus vannamei* [J]. Food Sci, 2018, 39(9): 7-12.
- [6] 凌萍华, 谢晶. 涂膜及气调保鲜对南美白对虾品质的影响[J]. 农业工程学报, 2010, 26(6): 368-374.  
LING PH, XIE J. Effects of film-forming combined with modified atmosphere packaging on qualities of *Litopenaeus vannamei* [J]. Trans Chin Soc Agric Eng, 2010, 26(6): 368-374.
- [7] 贺红军, 孙承锋. 生物保鲜和辐射保鲜技术在冷却肉上的应用研究[J]. 肉类研究, 2007, 95(1): 43-45.  
HE HJ, SUN CF. Study on the application of biological preservation and radiation preservation techniques in chilled meat [J]. Meat Res, 2007, 95(1): 43-45.
- [8] 宣伟. 臭氧杀菌结合壳聚糖涂膜对中国对虾保鲜的研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2011.  
XUAN W. Study on preservation of *Penaeus chinensis* by ozone sterilization combined with chitosan coating [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2011.
- [9] 董汝月, 常晶, 宣晓婷, 等. 明胶-壳聚糖-迷迭香提取物复合膜对南美白对虾品质的影响[J]. 食品工业科技, 2020, 41(2): 283-287.  
DONG RY, CHANG J, XUAN XT, *et al.* Effects of gelatin-chitosan-rosemary extract composite coating film on quality of *Litopenaeus vannamei* [J]. Sci Technol Food Ind, 2020, 41(2): 283-287.
- [10] 焦滇, 朱育攀, 许航博, 等. 等离子体活化水冰对纯培养及三文鱼片表面单增李斯特菌杀菌效果研究[J]. 郑州大学学报(理学版), 2019, 51(3): 97-103.  
JIAO Z, ZHU YP, XU HB, *et al.* Plasma-activated water ice inactivation of *Listeria monocytogenes* in pure culture and salmon strips [J]. J Zhengzhou Univ (Nat Sci Ed), 2019, 51(3): 97-103.
- [11] 金图南. 低温等离子体对冰鲜鱿鱼保鲜作用的研究[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2017.  
JIN TN. Study on the effect of cold atmospheric plasma on the preservation of chilled squid [D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2017.
- [12] 刘品, 陈静. 低温等离子体对南美白对虾防黑变及品质的研究[J]. 食品工业, 2018, 39(11): 184-187.  
LIU P, CHEN J. Study on Prevention of blackening of *Litopenaeus vannamei* by cold atmospheric plasma [J]. Food Ind, 2018, 39(11): 184-187.

- [13] NIAMNUY C, DEVAHASTIN S, SOPONRONNARIT S. Changes in protein compositions and their effects on physical changes of shrimp during boiling in salt solution [J]. *Food Chem*, 2008, 108(1): 165–175.
- [14] 吴海潇. 卡拉胶寡糖和低聚木糖对南美白对虾的抗冻保水作用[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2017.  
WU HX. The anti-freeze and water-holding capacity of carrageenan oligosaccharides and xylooligosaccharides on *Litopenaeus vannamei* [D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2017.
- [15] 于亚文, 朱新荣, 邱恒恒, 等. 冻藏条件下高白鲑肌肉蛋白质的生化特性[J]. *食品科技*, 2017, 42(11): 157–162.  
YU YW, ZHU XR, QIU HH, *et al.* Biochemical properties of muscle protein from *Coregonus peled* during frozen storage [J]. *Food Ind*, 2017, 42(11): 157–162.
- [16] 邓小蓉, 雷用东, 卢士玲, 等. 蛋白质氧化对高白鲑肌浆蛋白理化特性的影响[J]. *食品科学*, 2019, 40(18): 22–27.  
DENG XR, LEI YD, LU SL, *et al.* Effect of protein oxidation on biochemical properties of *Coregonus peled* sarcoplasmic proteins [J]. *Food Sci*, 2019, 40(18): 22–27.
- [17] 陈家盛, 宫玉婷, 董依雪, 等. 低温等离子体处理对冰鲜鲑鱼品质特性的影响[J]. *食品工业*, 2021, 42(5): 231–235.  
CHEN JS, GONG YT, DONG YX, *et al.* Effect of plasma treatment on quality characteristics of chilled squid [J]. *Food Ind*, 2021, 42(5): 231–235.
- [18] 季慧, 于娇娇, 张金, 等. 介质阻挡低温等离子体处理对花生蛋白持水性及溶解性的影响[J]. *农业工程学报*, 2019, 35(4): 299–304.  
JI H, YU JJ, ZHANG J, *et al.* Effects of dielectric barrier discharge cold plasma treatment on solubility and water holding capacity of peanut protein [J]. *Trans Chin Soc Agric Eng*, 2019, 35(4): 299–304.
- [19] LUO J, MUHAMMAD NM, YAN W, *et al.* Effects of dielectric barrier discharge cold plasma treatment on the structure and binding capacity of aroma compounds of myofibrillar proteins from dry-cured bacon [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2020, 117(10): 86–96.
- [20] EKEZIE FGC, SUN DW, CHENG JH. Altering the IgE binding capacity of king prawn (*Litopenaeus vannamei*) tropomyosin through conformational changes induced by cold argon-plasma jet [J]. *Food Chem*, 2019, 300(12): 251–263.
- [21] 黄曼, 卞科. 蛋白质疏水性测定方法研究进展[J]. *粮油食品科技*, 2004, 12(2): 31–32.  
HUANG M, BIAN K. Researching development on the methods of protein hydrophobicity estimation [J]. *Sci Technol Cere Oils Foods*, 2004, 12(2): 31–32.
- [22] 瞿丞, 贺稚非, 王兆明, 等. 不同食盐添加量腌制对鸡肉脂质氧化、蛋白质氧化及食用品质的影响[J]. *食品科学*, 2020, 41(16): 77–85.  
QU C, HE ZF, WANG ZM, *et al.* Effects of different salt concentrations on lipid oxidation, protein oxidation and eating quality of cured chicken meat [J]. *Food Sci*, 2020, 41(16): 77–85.
- [23] CHELH I, GATELLIER P, SANRE-LHOUELLIER V. Technical note: A simplified procedure for myofibril hydrophobicity determination [J]. *Meat Sci*, 2006, 74(4): 681–683.
- [24] 王芝妍, 杨文鸽, 周果, 等. 超高压辅助中华管鞭虾脱壳及其肌肉品质的影响[J]. *食品科学*, 2017, 38(7): 43–48.  
WANG ZY, YANG WG, ZHOU G, *et al.* Shelling of *Solenocera melantho* using ultra high pressure and its effect on the quality of muscle [J]. *Food Sci*, 2017, 38(7): 43–48.
- [25] 闫春子, 夏文水, 许艳顺. 超高压对草鱼肌原纤维蛋白结构的影响[J]. *食品与生物技术学报*, 2018, 37(4): 424–428.  
YAN CZ, XIA WS, XU YS. Effect of high hydrostatic pressure processing on myofibril protein structure of grass carp fillets [J]. *J Food Sci Biotechnol*, 2018, 37(4): 424–428.
- [26] 袁凯, 张龙, 谷东陈, 等. 肉品中的蛋白质氧化机制及其影响因素[J]. *食品科学*, 2018, 39(5): 329–335.  
YUAN K, ZHANG L, GU DC, *et al.* A review of mechanisms and factors affecting protein oxidation in meat [J]. *Food Sci*, 2018, 39(5): 329–335.
- [27] NYAISABA BM, MIAO WH, HATAB S, *et al.* Effects of cold atmospheric plasma on squid proteases and gel properties of protein concentrate from squid (*Argentinus illex*) mantle [J]. *Food Chem*, 2019, 291(6): 68–76.
- [28] 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 Res Int*, 2003, 36(8): 787–795.
- [29] 祁雪儿, 姚慧, 齐贺, 等. 多羟基糖类物质对冷冻虾仁中水的重结晶的改善作用[J]. *现代食品科技*, 2020, 36(1): 91–97.  
QI XER, YAO H, QI H, *et al.* Improvement of polyhydroxy saccharides on recrystallization of water in *Litopenaeus vannamei* during frozen storage [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2020, 36(1): 91–97.
- [30] BENJAKUL S, VISESSANGUAN W, TUEKSUBAN J. Changes in physico-chemical properties and gel-forming ability of lizardfish (*Saurida tumbil*) during post-mortem storage in ice [J]. *Food Chem*, 2003, 80(4): 535–544.
- [31] 张晗, 高星, 宣仕芬, 等. 电子束辐照对鲈鱼肉肌原纤维蛋白生化特性及其构象的影响[J]. *食品科学*, 2019, 40(13): 81–86.  
ZHANG H, GAO X, XUAN SF, *et al.* Effect of electron beam irradiation on biochemical properties and structure of myofibrillar protein from lateolabrax japonicus meat [J]. *Food Sci*, 2019, 40(13): 81–86.
- [32] 朱迎春, 马丽珍, 党晓燕, 等. 不同天然保鲜液对气调包装冰温贮藏鲢鱼片品质的影响[J]. *农业工程学报*, 2017, 33(1): 292–300.  
ZHU YC, MA LZ, DANG XY, *et al.* Effects of different natural preservative on catfish (*Clarias gariepinus*) fillet quality during storage with combination of super-chilling and high-CO<sub>2</sub> packaging [J]. *Trans Chin Soc Agric Eng*, 2017, 33(1): 292–300.
- [33] SETSUHARA Y, CHO K, SHIRATANI M, *et al.* Plasma interactions with aminoacid (*L-alanine*) as a basis of fundamental processes in plasma medicine [J]. *Curr Appl Phys*, 2013, 13: S59–S63.
- [34] ARJUNAN KP, CLYNE AM. Hydroxyl radical and hydrogen peroxide are primarily responsible for dielectric barrier discharge plasma-induced angiogenesis [J]. *Plasma Process Polym*, 2011, 8(12): 1154–1164.

(责任编辑: 于梦娇 郑 丽)

## 作者简介



唐玲玲, 硕士研究生, 主要研究方向为水产品贮藏与保鲜。

E-mail: 904114561@qq.com



缪文华, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为海洋水产品蛋白质改性及性质研究、海洋蛋白质资源综合利用与精深加工等。

E-mail: miaowenhua@zjou.edu.cn