

羟自由基氧化对中华管鞭虾肌肉功能特性的影响

董凯璇¹, 张思宇¹, 李敏杰¹, 倪继龙¹, 王 钰¹, 祁雪儿¹, 张 宾¹, 水珊珊^{1,2*}

(1. 浙江海洋大学食品与药学学院, 浙江省海产品健康危害因素关键技术重点实验室, 舟山 316022;

2. 浙江省海洋开发研究院, 舟山 316021)

摘要: **目的** 探究羟自由基氧化对中华管鞭虾肌肉功能特性的影响。**方法** 将中华管鞭虾在羟自由基体系(包含 FeCl₃ 浓度 0.01 mmol/L, 抗坏血酸浓度 0.1 mmol/L, 过氧化氢浓度分别为 0.5、1.0、2.0、4.0 mmol/L)用不同浓度的过氧化氢分别作用 1、3、5 和 7 h, 记录分析羟自由基氧化对肌原纤维蛋白 Ca²⁺-ATPase 活性、浊度、乳化活性(emulsifying activity index, EAI)、乳化稳定性(emulsifying stability index, ESI)、总巯基、活性巯基、羰基含量指标以及肌肉硫代巴比妥酸(thiobarbituric acid, TBA)的影响。**结果** 随着氧化时间的增加, 肌原纤维蛋白 Ca²⁺-ATPase 活性、EAI、ESI、总巯基含量不断下降, 活性巯基先上升后下降, 而浊度、羰基含量呈现升高的趋势; 且虾肌肉中 TBA 也呈现上升趋势。在氧化 7 h 后, 氧化剂浓度与各项指标呈现负相关性, 氧化剂浓度越大, 蛋白和脂肪氧化越剧烈。**结论** 羟自由基氧化体系显著劣化中华管鞭虾肌肉功能特性, 本研究可为控制中华管鞭虾加工贮藏过程中的蛋白质和脂质氧化、品质劣变提供理论参考。

关键词: 中华管鞭虾; 羟自由基; 氧化; 功能特性

Effects of hydroxyl radical oxidation on muscle functional characteristics of *Solenocera crassicornis*

DONG Kai-Xuan¹, ZHANG Si-Yu¹, LI Min-Jie¹, NI Ji-Long¹, WANG Yu¹,
QI Xue-Er¹, ZHANG Bin¹, SHUI Shan-Shan^{1,2*}

(1. Key Laboratory of Health Risk Factors for Seafood of Zhejiang Province, College of Food Science and Pharmacy, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China; 2. Zhejiang Marine Development Research Institute, Zhoushan 316021, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the effects of hydroxyl radical oxidation on muscle functional characteristics of *Solenocera crassicornis*. **Methods** In hydroxyl radical system (FeCl₃ 0.01 mmol/L, ascorbic acid 0.1 mmol/L, hydrogen peroxide 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mmol/L, respectively), *Solenocera crassicornis* were treated with different concentration of hydrogen peroxide for 1, 3, 5 and 7 h. The effects of hydroxyl radical oxidation on myofibrillar protein Ca²⁺-ATPase activity, turbidity, emulsifying activity index (EAI) and emulsifying stability index

基金项目: 国家自然科学基金项目(32072146、31871871)、浙江省自然科学基金项目(LR21C200001)、浙江省万人计划项目(2020R52027)、舟山市科技计划项目浙江海洋大学专项(2021C21006)、浙江省大学生科技创新活动计划暨新苗人才计划项目(2021R411032)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (32072146, 31871871), the Zhejiang Provincial Natural Science Foundation Project (LR21C200001), the Ten Thousand People Project of Zhejiang Province (2020R52027), the Zhoushan Science and Technology Planning Project Zhejiang Ocean University (2021C21006), and the Zhejiang University Students Science and Technology Innovation Activity Plan and New Talent Plan (2021R411032)

*通信作者: 水珊珊, 博士, 讲师, 主要研究方向为水产品加工及贮藏。E-mail: shuiss@zjou.edu.cn

*Corresponding author: SHUI Shan-Shan, Ph.D, Lecturer, College of Food Science and Pharmacy, Zhejiang Ocean University, 1 Haida South Road, Zhoushan 316022, China. E-mail: shuiss@zjou.edu.cn

(ESI), total sulfhydryl group and active sulfhydryl group, carbonyl group content and muscle thiobarbituric acid (TBA) were investigated. **Results** With the increase of oxidation time, the Ca^{2+} -ATPase activity, EAI and ESI, and total sulfhydryl group content of myofibrillar protein decreased continuously, and the active sulfhydryl group increased first and then decreased, while turbidity and carbonyl content showed increasing trends. TBA in shrimp muscle also showed an upward trend. After 7 h of oxidation, the oxidant concentration showed a negative correlation with each index, and the greater the oxidant concentration, the more intense the oxidation of protein and fat. **Conclusion** Hydroxyl radical oxidation system significantly degrades muscle functional characteristics of *Solenocera crassicornis*. This study provides theoretical reference for controlling protein and lipid oxidation and quality deterioration of *Solenocera crassicornis* during processing and storage.

KEY WORDS: *Solenocera crassicornis*; hydroxyl radical; oxidation; functional characteristics

0 引言

中华管鞭虾(*Solenocera crassicornis*)又名红虾,一年生底栖甲壳动物,甲壳呈半透明的红橙色,因第一触角鞭呈管状而得名^[1]。中华管鞭虾广泛分布于印度、日本、马来西亚及我国的东海、南海和黄海南部等海域。由于中华管鞭虾主要栖息于东海近海海域的泥质浅水区,成为了浙江一带近海桁杆拖虾作业的重要捕捞对象^[2]。中华管鞭虾味道鲜美,蛋白含量高,且含有多种人体所必需的氨基酸和矿物质,对心脑血管的保护与调节具有显著的功效^[3]。然而,在运输、贮藏、加工和销售等环节,中华管鞭虾极易发生腐败变质,影响其食用品质和商业价值^[4]。

有研究表明,不同的贮藏温度、微生物和内源酶等作用均会影响中华管鞭虾肌肉品质。随着贮藏时间的延长,中华管鞭虾肌肉菌落总数增多,pH、挥发性盐基氮(total volatile base nitrogen, TVB-N)、硫代巴比妥酸(thiobarbituric acid, TBA)值、内源酶活性显著升高,组织感官、持水力和质构显著降低^[5-7]。而降低贮藏温度、使用酸性电解水等有助于维持中华管鞭虾组织结构、理化和功能特性^[2,8]。

由于虾体中的主要成分为蛋白质,虾肌肉中蛋白质的生化及功能特性对虾的食用风味以及加工保鲜等方面都有着极为重要的影响。近年来关于蛋白质氧化引起的虾肌肉品质劣变也被人们关注^[9]。羟自由基(hydroxyl radical, ·OH)是最常见的自由基,也是臭氧水中主要的活性氧自由基之一。·OH 化学性质活泼,能够迅速氧化蛋白质的氨基酸侧链,引发蛋白质构象变化、蛋白质交联或降解,进而影响蛋白质的功能性质^[10]。研究发现^[11-13],低·OH 氧化可以使草鱼、白鲢、秘鲁鱿鱼等水产品肌原纤维蛋白变性、结构展开和二硫键形成,有利于肌原纤维蛋白的热聚集行为、凝胶强度和凝胶结构的改善;而高浓度·OH 对肌原纤维蛋白结构破坏严重,蛋白凝胶结构有序性降低,持水力下降,肌肉蛋白品质发生严重劣变。

目前,关于中华管鞭虾品质的研究主要围绕着蛋白酶活性、皂化等方面,课题组前期已采用·OH 氧化体系,阐明

蛋白质氧化对中华管鞭虾肌肉品质特性的影响规律^[14]。进一步,本研究通过测定不同程度·OH 氧化后的虾肌肉蛋白的功能特性,考察·OH 氧化的作用原理和影响规律,以期为控制中华管鞭虾加工贮藏过程中的氧化、劣变提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜中华管鞭虾,平均每只(13±2) g,舟山水产交易市场购得,于 1 h 内运送至实验室。

氯化铁(FeCl_3)、过氧化氢(H_2O_2)、抗坏血酸(vitamin C, VC)、乙醇、硼酸、盐酸胍、磷酸氢二钠、三氯乙酸(trichloroacetic acid, TCA)、三羟甲基氨基甲烷盐酸盐(Tris hydrochloride, Tris-HCl)、十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)、2-硝基苯甲酸(2-nitrobenzoic acid, DNTB)、乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)、二硝基苯肼(2,4-dinitrophenylhydrazine, DNPH)、二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 仪器与设备

UV-2600A 紫外-可见分光光度计[龙尼柯(上海)仪器有限公司]; QL400 实验室均质机(上海全简机电有限公司); WDC9560 油色谱测试仪(武汉武高电测电器有限公司); CF-16RN 高速冷冻多用途离心机(日本日立公司); SHA-B 多功能水浴恒温振荡器(金坛市岸头良友实验仪器厂); BS124S 电子天平(精度 0.1 mg, 德国赛多利斯公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 样品预处理

将新鲜的中华管鞭虾进行预处理。剥去头部组织以及外壳,保持虾体的完整度,保留虾线。将 0.01 mmol/L FeCl_3 、0.1 mmol/L VC 与浓度分别为 0.5、1.0、2.0 和 4.0 mmol/L 的 H_2O_2 充分混合,冷却到 4℃,配制 4 组氧化液。每份氧化液中放入 5 只处理好的虾仁,保证虾仁完全被氧化液浸没,在 4℃下分别处理 1、3、5、7 h 后,用终止剂(1 mmol/L EDTA)终

止氧化反应。将虾仁从氧化液中取出, 用蒸馏水淋洗去除残留试剂, 用干净的纱布拭去表面残留的水分, 以保证后续指标测定的准确性。

1.3.2 指标测定

(1) 肌原纤维蛋白的提取

根据 ADLER^[15]的方法并进行改进。取一定质量的虾肉加入, 将温度预冷至 0~4℃的提取缓冲液(1 mmol/L EGTA, 2 mmol/L MgCl₂·6H₂O, 0.2 mol/L NaCl, 10 mmol/L Na₂HPO₄/NaH₂PO₄, pH 6.8)和肉, 以 4:1 (*m:V*)的比例混合, 匀浆。在 4℃、20000×g 的条件下离心 15~20 min 后, 快速将沉淀转移至另一离心管中, 并将其以 1:4 (*m:V*)的比例与缓冲液混合, 进行二次离心, 离心期间均在冰浴条件下用匀浆机匀浆 30 s。二次离心后将沉淀与 0.2 mol/L NaCl 溶液以 1:4 (*m:V*)的比例混合均匀, 用干净纱布进行过滤, 将过滤所得液体在 2000×g、4℃条件下再次离心 15 min, 收集沉淀。以上步骤重复 2 次, 将离心所得沉淀在 4 倍去离子水中洗涤 2 次, 所得沉淀为实验所需的肌原纤维蛋白。

(2) 肌原纤维蛋白 Ca²⁺-ATPase 活性测定

参考曹娟等^[16]的方法并加以改进。钙离子荧光探针(Fura-2/AM) (5 μmol/L)加入到蛋白溶液中, 溶剂为 DMSO, 在 37℃的环境下孵育 40 min, 再进行 2 次清洗, 室温条件下离心 3 min (3000×g), 运用激发波长为 340 和 380 nm 的双波长荧光法测定, 计算活性。

(3) 肌原纤维蛋白浊度的测定

根据 BENJAKUL 等^[17]的方法并加以改进。取质量浓度为 5 mg/mL 的蛋白溶液分别在 30、40、50、60、70、80℃的水浴锅中水浴 30 min, 后在室温下静置 1 h, 测定波长 600 nm 处的吸光度并与未氧化的蛋白质溶液作对照。

(4) 肌原纤维蛋白乳化特性的测定

参照刘娟^[18]的方法并加以改进。将肌原纤维蛋白溶液与提取缓冲液[1.3.2(1)配制出提取缓冲液]混合配制质量浓度为 1 mg/mL 的蛋白溶液。将配制好的蛋白溶液与大豆油以 4:1 的体积比混合后放入 50 mL 离心管中, 高速匀浆 1 min, 在管内液体高 0.5 cm 处取混合均匀的溶液 50 μL(剩余溶液做匀浆备用), 与 5 mL 浓度为 0.1 mol/L 的 SDS 溶液振荡混匀后在 500 nm 处测定吸光度记作 A₀。剩余溶液匀浆后静置 10 min, 在距离管底 0.5 cm 处取混合均匀的溶液 50 μL, 与 5 mL 浓度为 0.1 mol/L 的 SDS 溶液振荡混匀后在 500 nm 处测定吸光度记作 A₁, 并与 0.1% SDS 的溶液做对照组。肌原纤维蛋白溶液的乳化性—乳化活力指数(emulsifying activity index, EAI) (m²/g)和乳化稳定性—乳状液稳定指数(emulsifying stability index, ESI), 由公式(1)、(2)来表示:

$$EAI/(m^2/g) = \frac{2 \times 2.303}{C \times (1 - \phi) \times 10^4} \times A_0 \times L \quad (1)$$

$$ESI/\% = \frac{A_1}{A_0} \times 100 \quad (2)$$

式中: *L*—为比色杯光径;

ϕ —为油相体积分数(*V:V*);

C—为蛋白质的浓度。

(5) 肌原纤维蛋白总巯基和活性巯基含量测定

参照李学鹏等^[19]的方法并加以改进。将 5 mg/mL 肌原纤维蛋白溶液和磷酸盐缓冲液(0.6 mol/L KCl, 10 mol/L EDTA, 8 mol/L 尿素, pH 7.0)混合, 静置 30 min。将 5 mL 混合液与 0.5 mL DNTB (0.2 mmol/L, 以缓冲液调配)混合, 25℃恒温放置 25 min, 测定波长 412 nm 的吸光度。活性巯基的含量需要没有尿素的环境下测定, 测定步骤方法与总巯基步骤一致。

总巯基和活性巯基含量计算公式如式(3):

$$SH/(mol/g \text{ pro}) = A \times D \times C \times B \quad (3)$$

式中: SH——巯基含量;

A——吸光值;

B——蛋白质质量浓度;

C——分子吸光系数;

D——稀释数。

(6) 肌原纤维蛋白羰基含量测定

参考李学鹏等^[19]的方法并稍加修改。利用绞肉机将管鞭虾虾肉绞碎, 用天平称量一定质量的碎虾肉于离心管中, 再取预制好的磷酸盐缓冲液(pH 7.0, 20 mmol/L)与虾肉以 1:4 (*m:V*)的比例混合, 于均质机中均质后, 再于 4℃、3000×g 转速条件下离心, 等待 10 min 后取出沉淀, 再重复进行本操作 3 次; 待最后一次沉淀析出后, 取一定量的沉淀, 加入 5 倍体积的 10 mmol/L Tris-HCl 缓冲液(含 0.6 mol/L NaCl, pH 7.2), 再放入均质机中进行均质, 于 4℃、3000×g 离心 20 min, 留沉淀。

取含质量浓度为 5 mg/mL 的蛋白溶液 1 mL 及 DNPH 溶液 1 mL(用 2 mol/L HCL 配制, 含量为 10 mmol/L)于离心管中, 在避光和室温条件下静置 1 h, 每 15 min 振荡 1 次, 加入 20% TCA 3 mL。再在 12000×g 转速状态下离心。待 5 min 后取出下层沉淀用乙醇:乙酸乙酯(1:1, *V:V*)的溶液进行 3 次洗涤; 加入 5 mL 盐酸胍溶液(6 mol/L), 在 37℃环境下保存 30 min, 直到沉淀完全溶解, 再在 12000×g 转速状态下离心 5 min, 静置 5 min, 取适量上清液在波长 370 nm 下测定吸光度, 按公式(3)计算羰基含量。

(7) 肌肉中 TBA 含量测定

参考王汉玲等^[20]的方法并加以改进。取 5 g 碎虾肉, 放入装有 26 mL 7.5%的 TCA 溶液的锥形瓶中, 并用磁力搅拌器搅拌 30 min。再在 5000×g 转速状态下离心 5 min。取 3 mL 上清液与 3 mL 0.02 mol/L TBA 溶液混合, 保持 90℃水浴 40 min, 静置冷却至室温后, 在色谱检测仪 532 nm 和 600 nm 波长段进行吸光度检测, 得到丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量。结果以 1 kg 鱼肉中的 MDA 的毫克数来表示(mg MDA/kg)。

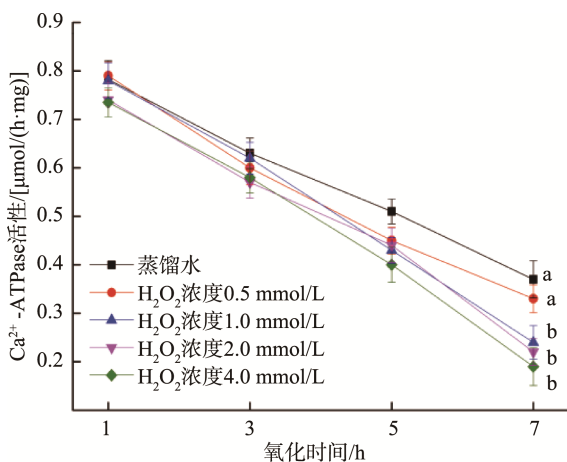
1.4 数据分析

采用 Origin 8.5、SPSS 13.0 软件进行作图及数据分析, 结果表示为平均值±标准偏差; 采用 Student-Newman-Keuls (SNK)法分析显著性差异水平($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 ·OH 氧化对中华管鞭虾肌原纤维蛋白 Ca^{2+} -ATPase 活性的影响

Ca^{2+} -ATPase 的活性可以用于判断中华管鞭虾的肌球蛋白完整性, 虾仁品质的好坏与该活性数值有着密切联系^[21-22]。如图 1 所示, 虾仁的肌原纤维蛋白 Ca^{2+} -ATPase 活性随浸泡时间的增加而下降, 并且经氧化处理后的蛋白活性较蒸馏水处理的蛋白活性下降速度更快($P<0.05$)。在 0.5 mmol/L H_2O_2 氧化条件下, 活性下降较为缓慢, 1 h 时 Ca^{2+} -ATPase 活性为 0.79 $\mu\text{mol}/(\text{h}\cdot\text{mg})$, 浸泡至 7 h 时 Ca^{2+} -ATPase 活性为 0.37 $\mu\text{mol}/(\text{h}\cdot\text{mg})$ 。而在 4.0 mmol/L H_2O_2 氧化条件下, Ca^{2+} -ATPase 活性 7 h 下降至 0.19 $\mu\text{mol}/(\text{h}\cdot\text{mg})$, 与蒸馏水组相比, 降低了 21.41% ($P<0.05$)。伴随着氧化程度的持续增加, Ca^{2+} -ATPase 活性持续降低, 可能是因为蛋白质重排导致其活性丧失^[23], 也有可能是因为自由基攻击了位于肌球蛋白头部的活性位点中的巯基基团, 在蛋白质之间形成了聚集体从而改变了肌球蛋白的球状头部的构象^[24-25]。



注: 不同小写字母表示组间存在显著性差异($P<0.05$), 下同。

图 1 ·OH 氧化对中华管鞭虾肌原纤维蛋白 Ca^{2+} -ATPase 活性的影响($n=3$)

Fig.1 Effects of ·OH oxidation on the Ca^{2+} -ATPase activities of myofibrillar protein of *Solenocera crassicornis* ($n=3$)

2.2 ·OH 氧化对中华管鞭虾肌原纤维蛋白浊度的影响

蛋白质具有水性特征介质, 并且可以形成不溶性颗粒、纯溶液、胶体溶液 3 种不同类型。蛋白质溶液受热时会损失部分单体, 形成聚合物, 若形成的聚合物过大则无

法融进凝胶, 从而增加蛋白质的浊度。聚合物的聚集水平可以通过吸光度来监测, 当出现较大聚合物时吸光度会随之增加。一般会采用浊度来表示蛋白质聚集的程度, 浊度可以体现出悬浮粒子的数量与尺寸^[26]。图 2 所示, 氧化 7 h 后, H_2O_2 浓度分别为 0.5、1.0、2.0 和 4.0 mmol/L 时, 肌原纤维蛋白浊度分别增加了 43.9%、63.6%、72.3%和 66.4%, 都显著高于蒸馏水组($P<0.05$), 说明虾肉的肌原纤维蛋白会受到氧化浓度以及氧化时间的影响。并且, 在相同的氧化浓度的作用下, 氧化的时间越长, 虾肉中的肌原纤维蛋白的完整性破坏越严重, 使得蛋白质内部集团暴露, 从而形成较大的蛋白质聚集体^[27]。当虾仁的肌原纤维蛋白氧化后, 蛋白质会发生变性, 从而影响浊度。蛋白质氧化后浊度的变化与巯基的含量呈现负相关, 蛋白质分子中的巯基会因为虾肉内部分子间的氧化形成二硫键, 导致蛋白质交联, 形成聚集体, 从而使浊度增加。XIONG 等^[28]采用·OH 氧化体系加工肉类, 发现肌球蛋白由于氧化会产生尾部酶解肌球蛋白的二硫键交联的情况, 形成不规则的聚合物, 这种蛋白质聚合体的产生, 导致了浊度的增加。中华管鞭虾肌原纤维蛋白分子中的巯基因为虾肉内部分子间的氧化形成二硫键, 导致蛋白质交联, 从而形成聚集体, 使得浊度增加, 与上述研究一致。

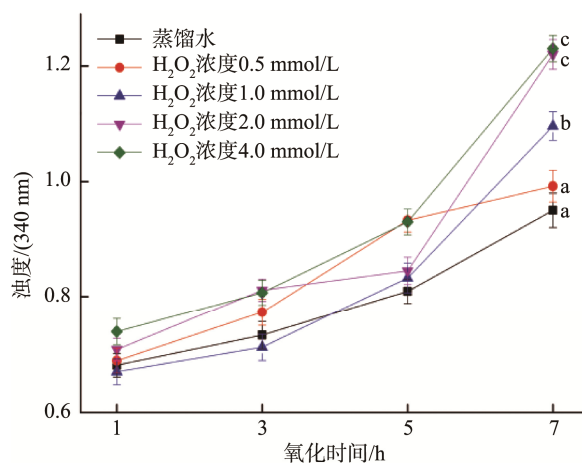


图 2 ·OH 氧化对中华管鞭虾肌原纤维蛋白浊度的影响($n=3$)

Fig.2 Effects of ·OH oxidation on turbidity of myofibrillar protein of *Solenocera crassicornis* ($n=3$)

2.3 ·OH 氧化对中华管鞭虾肌原纤维蛋白 EAI 和 ESI 的影响

蛋白质成分对于稳定食品乳化体系通常起到非常重要的作用。蛋白质吸附在油滴和水相的界面之间, 可以减少油和水的系统稳定性, 阻止油滴的聚结^[29]。蛋白质乳化性质通常以下述两种实验指标进行评判: EAI 和 ESI。据图 3 展现的·OH 氧化对中华管鞭虾肌原蛋白 EAI 和 ESI 的影响可知, 在浓度分别为 0.5、1.0、2.0、4.0 mmol/L H_2O_2 作用 7 h 时, 虾肌原纤维蛋白的 EAI 分别为 2.77、2.31、1.99、1.71 m^2/g , ESI 分别为 30.00、33.33、16.67、14.55 min, 两组数据均呈现下

降趋势, 并且显著低于对照组($P < 0.05$) (蒸馏水组 34.38 min)。本研究结果与陈霞霞等^[30]的研究报告相同, 氧化剂 H_2O_2 氧化银鲳肌原纤维蛋白 5 h 后, 蛋白质的 EAI 和 ESI 降低。引起该现象的原因可能与蛋白质的疏水性有关, 在氧化过程中, 蛋白质因侧链受影响, 发生强烈的变性, 且由于结构的完整性被破坏, 交联能力也随之降低, 蛋白质无法形成稳定的存在于水/油界面之间的蛋白质膜, 进而导致肌原纤维蛋白的 EAI 和 ESI 的下降^[31]。

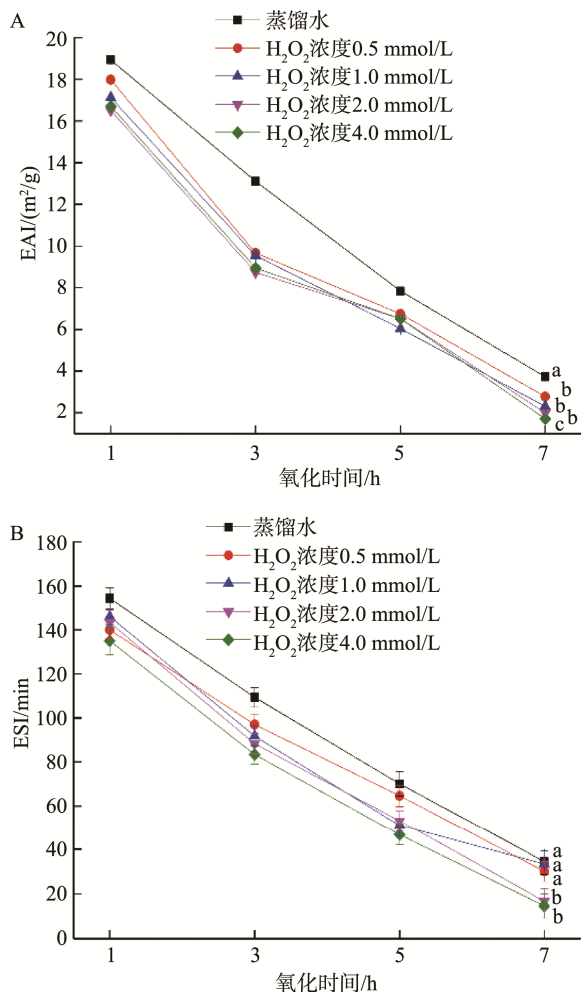


图 3 $\cdot OH$ 氧化对中华管鞭虾肌原纤维蛋白 EAI (A) 和 ESI (B) 的影响 ($n=3$)

Fig.3 Effects of $\cdot OH$ oxidation on EAI (A) and ESI (B) of myofibrillar proteins of *Solenocera crassicornis* ($n=3$)

2.4 $\cdot OH$ 氧化对中华管鞭虾肌原纤维蛋白总巯基和活性巯基含量的影响

在蛋白质的化学修饰中, 半胱氨酸结构中所存在的巯基团很容易被氧化成二硫键, 从而使蛋白质的交联性下降、氧化程度加重。因此, 蛋白的总巯基和活性巯基含量常用于体现氧化对肌原纤维蛋白品质的影响^[32]。图 4 展示了各浓度氧化剂作用下, 氧化时间与总巯基、活性巯基含量的关系。图 4A 中, 氧化 1 h 时, 0.5、1.0、2.0 和 4.0 mmol/L H_2O_2

对应的总巯基含量分别为 8.46、8.25、8.19 和 8.20 mol/10⁵ g prot; 氧化 7 h 时, 各组总巯基含量依次降了 27.17%、27.51%、32.60% 和 41.46%, 而蒸馏水组 1 h 含量为 8.51 mol/10⁵ g prot, 7 h 时下降了 27.03%。图 4B 中, 7 h 时较 1 h 时的活性巯基含量在 0.5、1.0、2.0、4.0 mmol/L H_2O_2 作用下依次减少 1.29、1.16、1.43、1.93 mol/10⁵ g, 蒸馏水组减少了 1.36 mol/10⁵ g。原因可能是因为氧化过程中产生的 $\cdot OH$ 易将暴露在蛋白质结构外面的巯基团氧化成二硫键, 处在内部的巯基团则需要通过将蛋白质结构进一步打开, 通过变性、分子延伸等方式, 将内部的巯基暴露出来, 再由 $\cdot OH$ 将其氧化成磺酸类等产物^[32]。此外, 由图 4B 氧化 1~3 h 的数据可知, 活性巯基含量有上升趋势^[33-34], 原因可能是氧化过程中, 部分参与氧化的外部巯基的 $\cdot OH$ 使蛋白质氧化, 蛋白质结构被打开, 内部的巯基团转换为外部的巯基团, 使得巯基含量增加^[35]。实验结果与方海砚等^[36]的蛋白质氧化分子展开时内部巯基团暴露, 使得活性巯基改变的研究结果一致。

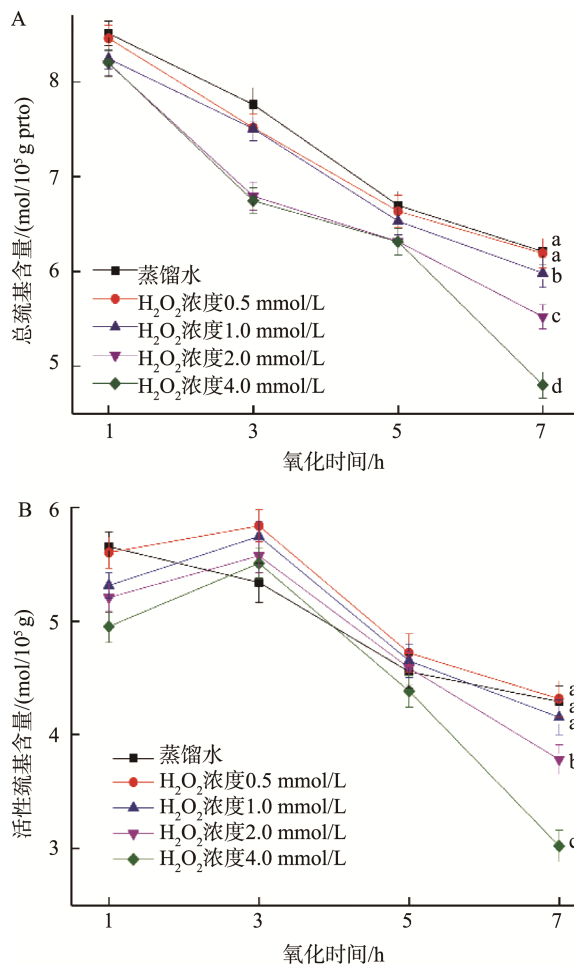


图 4 $\cdot OH$ 氧化对中华管鞭虾肌原纤维蛋白总巯基 (A) 和活性巯基 (B) 含量的影响 ($n=3$)

Fig.4 Effects of $\cdot OH$ oxidation on total sulfhydryl (A) and active sulfhydryl (B) content of myofibrillar protein of *Solenocera crassicornis* ($n=3$)

2.5 ·OH 氧化对中华管鞭虾肌原纤维蛋白羰基含量的影响

蛋白质侧链上存在氨基和亚氨基,这两种基团易与羟基发生反应,在受到活性氧攻击后形成羰基基团和 NH_3 ,且在断裂处生成的羰基能够较为直接地反映出蛋白质的氧化情况^[18]。如图 5 所示,氧化 7 h 后,中华管鞭虾肌原纤维蛋白所含有的羰基含量的变化同 H_2O_2 浓度呈正比,并且氧化的时间越长,羰基的含量越高。在氧化 7 h 后,4 个实验组(H_2O_2 处理组)的羰基含量均高于蒸馏水组,且 H_2O_2 浓度越高,羰基的含量也会随之变高;氧化 7 h 后,蒸馏水组的羰基含量上升了 56.57% ($P < 0.05$),相比之下,氧化 7 h 的 H_2O_2 组羰基含量分别上升了 63.56%、64.47%、66.75% 和 72.53%,均高于蒸馏水组。这可能是因为氧化使得蛋白质氨基酸的结构被严重破坏,侧链上原本的氨基和亚氨基被氧化为羰基或者羰基的衍生物^[37],导致羰基随着氧化时间的增加,含量不断增加。此研究结果与雷叶斯等^[38]研究大黄鱼肌原纤维蛋白羰基含量的实验结果一致。

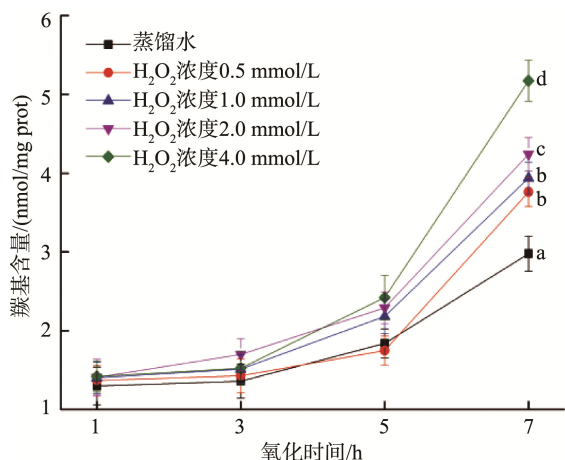


图 5 ·OH 氧化对中华管鞭虾肌原纤维蛋白羰基含量的影响($n=3$)
Fig.5 Effects of ·OH oxidation on the carbonyl content of myofibrillar protein of *Solenocera crassicornis* ($n=3$)

2.6 ·OH 氧化对中华管鞭虾肌肉 TBA 值的影响

TBA 值与水产品脂质氧化程度有关,在酸性和高温条件下,能够与生物体内脂质氧化所产生的 MDA 反应^[21]。TBA 值对虾肉抗氧化能力、脂质过氧化速率和强度以及虾仁鲜度评价有重要意义^[39]。由图 6 可知,随着氧化时间的增加,肌肉 TBA 值呈现增加的趋势。氧化 7 h 后,蒸馏水组仅上升了 20.86%,而氧化组(H_2O_2 浓度 0.5、1.0、2.0 和 4.0 mmol/L)的 TBA 值分别上升了 34.04%、34.69%、35.54% 和 33.13%;随着氧化浓度的增加,TBA 值上升的趋势与蒸馏水组差异显著($P < 0.05$)。王汉玲等^[20]的研究同样得出,随着贮藏时间的增加,·OH 氧化的虾肉样品 TBA 值逐渐升高。结果说明虾肉体内的不饱和脂肪酸在氧化作用下,酸

败情况严重,产生较多的 MDA,在高浓度长时间的氧化下,TBA 值的上升速率变慢,原因可能是 MDA 进一步分解导致其浓度下降。在陆玉芹^[40]的研究中指出了蛋白质氧化会促进脂肪氧化程度,同样在李鹏鹏等^[41]的研究中得出脂肪氧化及氧化产物对蛋白质变性有很大的影响,说明脂肪氧化和蛋白质氧化存在着正相关性。

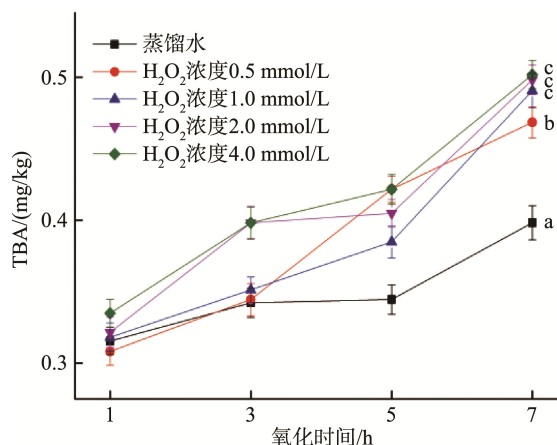


图 6 ·OH 氧化对中华管鞭虾肌肉 TBA 值的影响($n=3$)
Fig.6 Effects of ·OH oxidation on TBA values of *Solenocera crassicornis* muscle ($n=3$)

3 结论

本研究探究了中华管鞭虾在经包括 0.1 mmol/L VC, 0.01 mmol/L FeCl_3 , 0.5、1.0、2.0、4.0 mmol/L H_2O_2 在内的·OH 氧化体系分别氧化 1、3、5、7 h 后,中华管鞭虾肌肉品质特性指标的变化规律,发现在中华管鞭虾肌肉品质蛋白质氧化的方面,随着氧化程度的增大,肌原纤维蛋白 Ca^{2+} -ATPase 活性、EAI 和 ESI、总巯基含量均呈现下降趋势,活性巯基先上升后下降,而浊度、羰基含量出现不断升高的现象。在脂质氧化的方面,虾仁肌肉的 TBA 含量呈现上升趋势,以 4.0 mmol/L H_2O_2 的氧化体系中氧化 7 h 后的 TBA 增加最剧烈。本研究通过探究·OH 氧化体系对中华管鞭虾虾仁氧化的影响,为虾仁在加工贮藏过程中的氧化研究提供理论依据,进而更加有效地控制氧化的发生,保证虾类水产品的品质。

参考文献

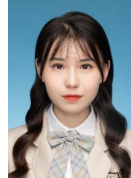
- [1] 蔡建堤,徐春燕,马超,等. 闽东北海域中华管鞭虾种群聚集特性[J]. 生态学报, 2017, 37(6): 1844-1850.
CAI JD, XU CY, MA C, et al. Aggregations of the *Solenocera crassicornis* in the sea area northeast of Fujian [J]. Acta Ecol Sin, 2017, 37(6): 1844-1850.
- [2] 石径. 中华管鞭虾冻藏过程中品质变化规律及机理研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2018.
SHI J. Study on quality change and mechanism of prawn *Penaeus*

- chinensis* during frozen storage [D]. Beijing: China Agricultural University, 2018.
- [3] 贾喆, 刘欣妍, 张肖瑕, 等. 中华管鞭虾不同部位虾青素的提取及特征分析[J]. 食品工业, 2021, 42(4): 184–187.
JIA Z, LIU XY, ZHANG XX, *et al.* Extraction and characterization of astaxanthin from different parts of *Penaeus chinensis* [J]. Food Ind, 2021, 42(4): 184–187.
- [4] 骆静, 何鑫, 谢超, 等. 中华管鞭虾(*Solenocera melantho*)高水分即食虾仁加工工艺优化及品质分析[J]. 食品工业科技, 2018, 39(11): 194–199.
LUO J, HE X, XIE C, *et al.* Optimization of processing technology and quality analysis of *Solenocera melantho* high-moisture instant shrimp [J]. Sci Technol Food Ind, 2018, 39(11): 194–199.
- [5] 韩悦, 张小军, 陈雪昌. 中华管鞭虾在不同贮藏温度下品质变化的规律[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(1): 1–11.
HAN Y, ZHANG XJ, CHEN XC. Characteristics of quality change of *Penaeus chinensis* at different storage temperatures [J]. Food Ferment Ind, 2022, 48(1): 1–11.
- [6] 李志鹏, 周晓娇, 水珊珊, 等. 低温贮藏中华管鞭虾肌肉品质及组织蛋白酶 H 活性变化[J]. 食品工业科技, 2021, 42(22): 306–313.
LI ZP, ZHOU XJ, SHUI SS, *et al.* Changes of muscle quality and cathepsin H activity of *Shrimpus chinensis* stored at low temperature [J]. Sci Technol Food Ind, 2021, 42(22): 306–313.
- [7] 沈春蕾, 张小利, 赵金丽, 等. 糖醇对冻藏南美白对虾的品质保障作用[J]. 包装工程, 2019, 40(1): 15–23.
SHEN CL, ZHANG XL, ZHAO JL, *et al.* Effects of sugar alcohols on quality assurance of frozen shrimp *Penaeus vannamei* [J]. Packag Eng, 2019, 40(1): 15–23.
- [8] 王潇. 酸性电解水对中华管鞭虾保鲜效果的研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2014.
WANG X. Study on the preservation effect of acidic electrolyzed water for *Solenocera crassicornis* [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2014.
- [9] 章银良. 冷冻保藏对海鳗肌球蛋白的影响[J]. 食品科学, 2009, 30(2): 250–253.
ZHANG YL. Effects of frozen storage on actomyosin of sea eel [J]. Food Sci, 2009, 30(2): 250–253.
- [10] CUI X, XIONG YL, KONG B, *et al.* Hydroxyl radical-stressed whey protein isolate: Chemical and structural properties [J]. Food Bioproc Technol, 2012, 5(6): 2454–2461.
- [11] 李学鹏, 蔺博燕, 王金厢, 等. 羟自由基氧化对草鱼肌原纤维蛋白热聚集行为的影响[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(10): 27–34.
LI XP, LIN BY, WANG JX, *et al.* Effects of hydroxyl radical oxidation on thermal aggregation behavior of myofibrillar protein in grass carp [J]. Food Ferment Ind, 2020, 46(10): 27–34.
- [12] 张海萍, 余小月, 程梦颖, 等. 羟自由基氧化对鲢鱼肌原纤维蛋白凝胶特性的影响[J/OL]. 食品科学: 1–13. [2022-09-27]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20220621.1552.013.html>
ZHANG HP, YU XX, CHENG MY, *et al.* Effect of hydroxyl radical oxidation on gel properties of silver carp myofibrillar protein [J/OL]. Food Sci: 1–13. [2022-09-27]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20220621.1552.013.html>
- [13] 朱文慧, 宦海珍, 李月, 等. 蛋白氧化对秘鲁鱿鱼肌肉品质及其结构的影响[J]. 食品工业科技, 2019, 40(17): 25–29.
ZHU WH, HUAN HZ, LI Y, *et al.* Effects of protein oxidation on muscle quality and structure of *Peruvian squid* [J]. Sci Technol Food Ind, 2019, 40(17): 25–29.
- [14] 祁雪儿, 毛俊龙, 姚慧, 等. 蛋白质氧化对中华管鞭虾肌肉品质特性的影响[J]. 食品科学, 2021, 42(18): 15–21.
QI XER, MAO JL, YAO H, *et al.* Effect of protein oxidation on muscle quality characteristics of *Penaeus chinensis* [J]. Food Sci, 2021, 42(18): 15–21.
- [15] ADLER NJ. Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid [J]. J Agric Food Chem, 1979, 27(6): 1256–1262.
- [16] 曹娟, 马波, 吕伯昌. α -硫辛酸对果糖诱导的实验性白内障大鼠的氧化应激、晶状体蛋白以及 Ca^{2+} -ATPase 活性的影响[J]. 临床和实验医学杂志, 2018, 17(21): 2249–2252.
CAO J, MA B, LV BC. Effects of α -lipoic acid on oxidative stress, lens protein and Ca^{2+} -ATPase activity in experimental cataract rats induced by fructose [J]. J Clin Exp Med, 2018, 17(21): 2249–2252.
- [17] BENJAKUL S, VISESSANGUAN W, ISHIZAKI S, *et al.* Differences in gelation characteristics of natural actomyosin from two species of bigeye snapper [J]. J Food Sci, 2001, 66(9): 1311–1318.
- [18] 刘娟. 蛋白质氧化对白斑狗鱼及高白鲢肌肉蛋白物化特性和功能性质的影响研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2016.
LIU J. Effects of protein oxidation on physicochemical properties and functional properties of muscle proteins in white pike and high whitefish salmon [D]. Shihezi: Shihezi University, 2016.
- [19] 李学鹏, 刘慈坤, 周明言, 等. 羟自由基氧化对草鱼肌原纤维蛋白结构和凝胶性质的影响[J]. 食品科学, 2017, 38(21): 30–37.
LI XP, LIU CK, ZHOU MY, *et al.* Effects of hydroxyl radical oxidation on myofibrillar structure and gel properties of grass carp [J]. Food Sci, 2017, 38(21): 30–37.
- [20] 王汉玲, 刘彩华, 秦军委, 等. 羟自由基氧化系统对草鱼肌肉蛋白理化特性及其保水性的影响[J]. 食品科技, 2018, 43(1): 134–140.
WANG HL, LIU CH, QIN JW, *et al.* Effects of hydroxyl radical oxidation system on physicochemical properties and water retention of muscle protein of grass carp [J]. Food Sci Technol, 2018, 43(1): 134–140.
- [21] WANG L, XIONG GQ, PENG YB, *et al.* The cryoprotective effect of different konjac glucomannan (kgm) hydrolysates on the glass carp (*Ctenopharyngodon idella*) myofibrillar during frozen storage [J]. Food Bioproc Technol, 2014, 7(12): 3398–3406.
- [22] 杨利艳. 冻结方式对凡纳滨对虾贮藏特性的影响[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2012.
YANG LY. Effects of freezing methods on storage characteristics of *Litopenaeus vannamei* [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2012.
- [23] 季文娜. 基围虾冻藏过程中品质变化规律及黑变影响因素的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2021.
JI WN. Shrimps in the process of freezing storage and the quality change rule and black variable factors affecting research [D]. Wuxi: Jiangnan

- University, 2021.
- [24] 蒋祎人, 李涛, 刘友明. 丙二醛氧化修饰对白鲢肌原纤维蛋白结构性的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(6): 1-7.
JIANG YR, LI T, LIU YM. Effects of malondialdehyde oxidation modification on myofibrillar structure of silver carp [J]. Food Sci, 2020, 41(6): 1-7.
- [25] ZHANG WG, XIAO S, AHN DU. Protein oxidation: Basic principles and implications for meat quality [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2013, 53: 1191-1201.
- [26] 张典, 陈金玉, 张坤生, 等. 多酚协同磷酸化对鸡肉蛋白功能及货架期研究[J]. 食品科技, 2019, 44(2): 143-151.
ZHANG D, CHEN JY, ZHANG KS, *et al.* Effects of polyphenol co-phosphorylation on the function and shelf life of chicken protein [J]. Food Sci Technol, 2019, 44(2): 143-151.
- [27] 沈春蕾. 冻藏南美白对虾肌肉品质变化及保障技术研究[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2019.
SHEN CL. Study on quality change and guarantee technology of frozen preserved shrimp mince of *Penaeus vannamei* [D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2019.
- [28] XIONG YL, BLANCHARD SP, OOIZUMI T, *et al.* Hydroxyl radical and ferryl-generating systems promote gel network formation of myofibrillar protein [J]. J Food Sci, 2010, 75(2): 215-221.
- [29] 孙迪. 不同脂肪对肌原纤维蛋白乳液稳定性及肉糜凝胶特性的影响[D]. 锦州: 渤海大学, 2019.
SUN D. Effects of different fats on the stability of myofibrillar emulsion and meat gel properties [D]. Jinzhou: Bohai University, 2019.
- [30] 陈霞霞, 杨文鹤, 吕梁玉, 等. 羟自由基氧化体系对银鲳肌原纤维蛋白生化特性及其构象单元的影响[J]. 食品科学, 2016, 37(23): 123-128.
CHEN XX, YANG WG, LV LY, *et al.* Effects of hydroxyl radical oxidation system on biochemical characteristics and conformation units of fibrillar protein in *Pompanus auratus* [J]. Food Sci, 2016, 37(23): 123-128.
- [31] 李艳青. 蛋白质氧化对鲤鱼蛋白结构和功能性的影响及其控制技术[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2013.
LI YQ. Effect of protein oxidation on structure and function of carp protein and its control technology [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2013.
- [32] STADTMAN ER, LEVINE RL. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins [J]. Amino Acid, 2003, 25(3-4): 207-218.
- [33] WANG JM, ZHAO YR, NIU SS, *et al.* Effect of oxidation induced by hydroxyl radical-mediated model on molecular structural and physical character of egg white powder [J]. Int J Food Sci Technol, 2018, 53: 2282-2289.
- [34] HE R, HE HY, CHAO D, *et al.* Effects of high pressure and heat treatments on physicochemical and gelation properties of rapeseed protein isolate [J]. Food Bioproc Technol, 2014, 7: 1344-1353.
- [35] CAO YG, TRUE AD, CHEN J, *et al.* The dual role (anti- and pro-oxidant) of gallic acid in mediating myofibrillar protein gelation and gel *in vitro* digestion [J]. J Agric Food Chem, 2016, 64(15): 3054-3061.
- [36] 方海砚, 苑歆, 刘友明, 等. 羟自由基氧化对鲢鱼肌原纤维蛋白结构的影响[J]. 食品工业科技, 2020, 41(4): 6-12.
FANG HY, YUAN X, LIU YM, *et al.* Effects of hydroxyl radical oxidation on the structure of silver carp myofibril [J]. Sci Technol Food Ind, 2020, 41(4): 6-12.
- [37] LIU Q, LU Y, HAN JC, *et al.* Structure-modification by moderate oxidation in hydroxyl radical-generating systems promote the emulsifying properties of soy protein isolate [J]. Food Struct, 2015, (6): 21-28.
- [38] 雷叶斯, 杨巨鹏, 吕春霞, 等. 羟自由基氧化体系对大黄鱼肌原纤维蛋白结构的影响[J]. 食品工业科技, 2019, 40(1): 29-33.
LEI YS, YANG JP, LV CX, *et al.* Effects of hydroxyl radical oxidation system on myofibril structure of large yellow croaker [J]. Sci Technol Food Ind, 2019, 40(1): 29-33.
- [39] 陈瑜楠. 冷藏腐败过程鱼肉蛋白质和脂肪变化的高光谱成像监控方法研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2017.
CHEN YN. Hyperspectral imaging monitoring method for protein and fat changes of fish during cold spoilage [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2017.
- [40] 陆玉芹. 盐酸盐处理对罗非鱼片蛋白质和脂质氧化及品质的影响[D]. 南宁: 广西大学, 2015.
LU YQ. Effects of salt hydrochloride treatment on protein and lipid oxidation and quality of tilapia fillet [D]. Nanning: Guangxi University, 2015.
- [41] 李鹏鹏, 关志强, 李敏, 等. 水产品冻藏过程中脂肪氧化对蛋白质变性影响的研究进展[C]. 食品工业新技术与新进展学术研讨会暨 2014 年广东省食品学会年会, 2014.
LI PP, GUAN ZQ, LI M, *et al.* Research progress on the effect of lipid oxidation on protein denaturation during frozen storage of aquatic products [C]. New Technology and New Progress of Food Industry Academic Conference and 2014 Guangdong Food Association Annual Conference, 2014.

(责任编辑: 于梦娇 郑 丽)

作者简介



董凯璇, 主要研究方向为食品科学与工程。

E-mail: 1322964866@qq.com



水珊珊, 博士, 讲师, 主要研究方向为水产品加工及贮藏。

E-mail: shuiss@zjou.edu.cn