



## 琼胶寡糖及 EGCG 对冰藏花鲈鱼片新鲜度与蛋白质生化特性的影响

相悦<sup>1,2</sup>, 孙承锋<sup>2</sup>, 李来好<sup>1,3</sup>, 杨贤庆<sup>1,3</sup>, 吴燕燕<sup>1,3</sup>,  
岑剑伟<sup>1,3</sup>, 魏涯<sup>1,3</sup>, 李锐<sup>1,2</sup>, 赵永强<sup>1,3\*</sup>

(1. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 农业农村部水产品加工重点实验室, 广东 广州 510300;

2. 烟台大学生命科学学院, 山东 烟台 264005;

3. 大连工业大学, 海洋食品精深加工关键技术省部共建协同创新中心, 辽宁 大连 116034)

**摘要:** 花鲈贮运期间易受微生物与内源酶的联合作用, 导致新鲜度及蛋白质生化特性改变, 影响其食用价值。因此, 采用适当的保鲜方式对花鲈贮运流通过程中的品质变化加以调控, 以保证其品质安全显得尤为重要。为探究表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)及琼胶寡糖(AO)对冰藏花鲈鱼片的保鲜效果, 对硬度值、色差及新鲜度指标(硫代巴比妥酸值、K值、挥发性盐基氮、菌落总数、感官评分)进行测定, 并对蛋白质生化特性(肌原纤维蛋白含量、二级结构、巯基、羰基含量)进行分析。结果显示, 对照组在第16天时感官得分低于8, 且菌落总数和K值已分别高达(6.78±0.15)lg(CFU/g)与67.37%±1.75%, 不可食用, 而EGCG组(EG)、琼胶寡糖组(AO)及复合组的样品仍具有较好的硬度、色泽及新鲜度。贮藏至20d时对照组的TBA值高达(0.81±0.03)mg/kg, 而EG组、AO组及复合组的TBA值在贮藏期间均未出现大幅度增加, 且始终低于对照组。另外, 贮藏至12d时对照组的羰基含量已显著高于其他保鲜处理组, 对照组在贮藏末期的羰基含量上升至(1.63±0.04)nmol/mg, 而EG组、AO组及复合组的羰基含量仅为(1.14±0.03)、(1.28±0.08)与(0.99±0.09)nmol/mg。贮藏末期复合组的蛋白含量、α螺旋、巯基均高于对照组和单一保鲜组。研究表明, EGCG及琼胶寡糖均能较好地维持鱼片的新鲜度, 能显著抑制蛋白质变性与氧化, 且二者复合后的保鲜效果优于单一保鲜剂, 延长鱼片保质期至20d以上。该研究为EGCG及琼胶寡糖的保鲜机理提供了理论基础, 为开发高效的新型生物保鲜剂提供参考。

**关键词:** 花鲈; 表没食子儿茶素没食子酸酯; 琼胶寡糖; 新鲜度; 蛋白质; 生化特性

中图分类号: TS 254.4

文献标志码: A

花鲈 (*Lateolabrax japonicus*) 又名海鲈鱼、七星鲈等, 是我国重要的经济海水鱼类之一<sup>[1]</sup>。花鲈味道鲜美, 且富含氨基酸和人体必需脂肪酸(EPA、DHA等), 深受消费者喜爱。然而, 由于

收稿日期: 2021-03-14 修回日期: 2021-05-04

资助项目: 国家重点研发计划(2018YFD0901006); 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系项目(CARS-47, CARS-50); 中央级公益性科研院所基本科研业务费(2020TD73, 2021SD07); 广东省现代农业产业技术体系海水鱼产业创新项目(2019KJ143); “扬帆计划”引进创新创业团队专项(2015YT02H109)

第一作者: 相悦(照片), 从事水产品加工与质量安全研究, E-mail: xiangxiaoyue@139.com

通信作者: 赵永强, E-mail: zhaoyq@scsfri.ac.cn



鱼类水分含量较高,在流通期间易受微生物与内源酶的影响,发生品质劣变,每年全球约有30%的鱼类因腐败变质而失去食用价值<sup>[2-3]</sup>。目前花鲈的保鲜常采用低温结合保鲜剂的方法,但合成的保鲜剂存在一定的安全隐患,不符合当今的消费需求,开发天然健康的新型防腐剂已成为鱼类保鲜的研究重点,具有重要经济价值。

目前常见的保鲜剂有植物提取物,可食性保鲜涂膜等<sup>[4]</sup>。可食性涂膜主要为一些大分子多糖(如琼胶、壳聚糖等)、蛋白质(如鱼明胶)或脂质等<sup>[5]</sup>,也常与其他抗氧化剂、抗菌剂、调味剂或其他功能性物质结合制备新型保鲜剂。此外,植物提取物也是一大热点,近期研究表明,藻类是抗菌产品的潜在来源<sup>[6]</sup>。其中,生长后期的末水坛紫菜(*Porphyra haitanensis*)风味和口感较差,常用来制备琼胶、饲料等。琼胶常被用于制备可食性涂膜以延长水产品保质期,其降解得到的琼胶寡糖具有较好的抗氧化性。戚勃等<sup>[7]</sup>研究发现琼胶寡糖能显著提高冷冻罗非鱼片的品质,其保鲜效果优于海藻糖。宋香凝等<sup>[8]</sup>发现江蓠琼胶寡糖抗氧化活性较高,能较好地保持冷藏期间罗非鱼片的品质。目前,琼胶寡糖的抗氧化与抑菌机理仍有待进一步探究。

表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)是绿茶及草本植物的主要成分,有多个酚羟基,抗氧化能力强,在清除体内自由基、抗炎、抗衰老等方面均具有较好作用<sup>[9]</sup>。此外,EGCG也可抑制脂质氧化与蛋白质氧化,EGCG及其氧化产物均具有广谱的抑菌性,能较好地抑制鱼肉由于细菌引起的腐败变质<sup>[10]</sup>。已有研究表明,一定浓度的EGCG对鱼片具有良好的保鲜效果。李鹏等<sup>[9]</sup>等发现0.2%的EGCG为冷藏罗非鱼片的最佳保鲜浓度处理。袁悦等<sup>[11]</sup>研究了EGCG对罗非鱼鱼糜的抗冻效果,结果表明EGCG能有效抑制肌原纤维蛋白质生化特性的改变。Cao等<sup>[12]</sup>采用EGCG结合明胶的复合涂膜对冷藏罗非鱼片进行保鲜处理,结果表明复合涂膜有效抑制脂质氧化和蛋白质变性。

琼胶寡糖(agar oligosaccharide, AO)和EGCG均具有很好的抗氧化性及抑菌性,此外琼胶寡糖可以渗入鱼肉组织内部,使鱼肉具有较好的持水力。目前尚未见有关于紫菜琼胶寡糖结合EGCG对鱼类保鲜效果的研究,因此,本研究从

冰藏花鲈的新鲜度与蛋白质生化特性方面探究琼胶寡糖及EGCG对其保鲜效果,以期为开发新型保鲜方法,明确花鲈冰藏期间的品质劣变机理及EGCG与AO的保鲜机理提供一定参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验仪器与材料

FM 400A型制冰机,美国Grant公司;T25型均质机,德国IKA公司;QTS-25型质构仪,英国CNS FARNELL公司;CR-400型全自动色差计,日本柯尼卡美能达控股公司;KjeltecTM2300型蛋白自动分析仪,丹麦FOSS公司;Sunrise-basic Tacan型吸光酶标仪,瑞士TECAN公司;Agilent 1100型液相色谱仪 美国Agilent公司;Image Scanner III型扫描仪,美国EPSON公司;Alpha1-4型冷冻干燥机 德国Christ公司;Iraffinity-1型红外光谱仪 日本岛津公司。

平板计数琼脂购自青岛高科园海博生物技术有限公司;总蛋白质测定试剂盒(考马斯亮蓝法)、微量总巯基测试盒、蛋白质羰基含量测试盒均购自南京建成生物工程有限公司;BeycoColor™彩色预染蛋白、SDS-PAGE凝胶配制试剂盒购于上海碧云天生物技术有限公司;溴化钾为光谱纯,购自德国默克公司;其他常规试剂均为分析纯。

末水坛紫菜采自汕头南澳岛,海水冲洗后自然晒干。EGCG(纯度>98%)购自北京索莱宝科技有限公司。

### 1.2 样品处理

坛紫菜琼胶寡糖的制备 采用穆凯峰等<sup>[13]</sup>的方法,末水坛紫菜经碱处理后得到琼胶多糖。琼胶寡糖的制备采用杨贤庆等<sup>[14]</sup>的方法并稍作修改。将冷冻干燥后的琼胶粉碎,加入50倍体积蒸馏水,微波加热溶解。加入盐酸(1.0 mol/L)至最终酸浓度为0.10 mol/L,90℃下反应90 min。反应结束后调pH至中性,在离心后的上清液中加入无水乙醇至终体积分数为70%,静置过夜,离心除去不溶性残渣,上清液减压蒸发至近干,冷冻干燥得到琼胶寡糖。

花鲈样品处理 鲜活花鲈[体质量(600±60)g]购于广州华润万家超市,立即运回实验室,碎冰致死后放血,取背部肌肉,去皮,修整为

3 cm × 2 cm × 1 cm 规格的鱼块,将鱼片随机分为4组,分别于0.03%(质量浓度)EGCG(EG组)、0.05%(质量浓度)琼胶寡糖(AO组)、0.03% EGCG+0.05%(复合组)琼胶寡糖溶液及无菌水(CK组)中浸泡60 min,料液比为1:3(体积分数),浸泡温度维持在4~6 °C。随后沥干装入无菌聚氯乙烯密封袋,立即置于装满碎冰的泡沫箱贮存,每12 h换1次冰。新鲜未处理鱼片为第0天样本,此后每隔4天每组随机取各组鱼片进行后续指标的测定,各实验重复3次。

### 1.3 硬度

参考黄卉等<sup>[15]</sup>的方法,略作改动。将鱼片放置至室温,采用QTS-25型质构仪,选择TA44平底圆柱形探头(直径为4 mm)在TPA模式下进行样品测定,平行测定6次。TPA模式测定参数:测试速度1 mm/s,触发点负荷为5.0 g,测试距离为5 mm。

### 1.4 色差

采用CR-400型全自动色差计对不同组别的花鲈鱼片进行色差测定。每组取3片样品进行测定,每片鱼片取6点进行测定。测定的参数主要包括亮度值( $L^*$ )、红度值( $a^*$ )和黄度值( $b^*$ )。

### 1.5 硫代巴比妥酸(TBA)值

参考Chaijian等<sup>[16]</sup>方法略作修改。准确称取5.00 g鱼肉,加入7.5%三氯乙酸溶液(含0.1% EDTA- $\text{Na}_2$ ) 25 mL,振摇30 min后用双层滤纸过滤,取5 mL上清液加入等体积0.02 mol/L TBA溶液,沸水浴加热40 min后冷却至室温,加入5 mL三氯甲烷充分振摇后静置,测定上清液在532 nm处的吸光度,同时做试剂空白实验。选用不同浓度的1,1,3,3-四乙氧基丙烷溶液按测定

步骤操作,测得光密度绘制标准曲线,以丙二醛的含量表征TBA值。

### 1.6 K值

根据SC/T 3048—2014的方法对样品进行处理<sup>[17]</sup>,色谱柱为GreatSmart RP<sub>18</sub>柱,250 mm × 4.6 mm,粒径5 μm。液相色谱条件:流动相为0.42%无水柠檬酸(含0.6%三乙胺及0.1%醋酸),进样量20 μL,流速1.0 mL/min,柱温35.0 °C,260 nm检测。计算公式:

$$K(\%) = \frac{\text{HxR} + \text{Hx}}{\text{ATP} + \text{ADP} + \text{AMP} + \text{IMP} + \text{HxR} + \text{Hx}} \times 100 \quad (1)$$

式中,HxR为次黄嘌呤核苷含量,Hx为次黄嘌呤含量,ATP为三磷酸腺苷含量,ADP为二磷酸腺苷含量,AMP为腺苷酸含量,IMP为肌苷酸含量。

### 1.7 挥发性盐基氮(TVB-N)

按照GB 5009.228—2016《食品中挥发性盐基氮的测定》进行测定<sup>[18]</sup>。

### 1.8 菌落总数(TVC)

按照GB 4789.2—2016《食品微生物学检验-菌落总数测定》进行测定<sup>[19]</sup>。

### 1.9 感官评定

参考李莎等<sup>[20]</sup>的感官评价方法,对各组花鲈鱼片进行感官评定。感官小组由6名成员组成,分别对鱼片的色泽、气味、组织形态以及肌肉弹性进行评定,具体评分标准见表1。鱼片的综合感官得分在17~20分为新鲜度极好,9~16分为品质良好,8分以下表明品质发生明显劣变。

### 1.10 肌原纤维蛋白的提取及含量测定

参照Pazos等<sup>[21]</sup>的方法稍作修改,取2.00 g

表1 花鲈鱼片的感官评分标准

Tab. 1 Criteria of sensory evaluation for *L. japonicus* fillets

分值 score	色泽 color	气味 odor	组织形态 appearance	肌肉弹性 muscle springy
5	色泽正常,肌肉切面富有光泽	具有鱼特有的风味,无异味	肌肉组织致密完整,纹理清晰	肌肉坚实富有弹性,手指压后凹陷立即消失
4	色泽正常,肌肉切面富有光泽	具有鱼特有的风味,无明显异味	肌肉组织致密完整,纹理清晰	肌肉坚实有弹性,手指压后凹陷消失较快
3	色泽稍暗淡,肌肉切面稍有光泽	略有鱼腥味	肌肉组织紧密,纹理较清晰	肌肉有弹性,手指压后凹陷消失稍慢
2	色泽较暗淡,肌肉切面无光泽	有明显鱼腥味	肌肉组织略有松散	肌肉稍有弹性,手指压后凹陷消失很慢
1	色泽暗淡,肌肉切面无光泽	有强烈腥臭味或氨味	肌肉组织松散	肌肉无弹性,手指压后凹陷明显

鱼肉, 加入 10 倍体积预冷的 Tris-HCl 缓冲液 (10.00 mmol/L, pH 7.2, 1 mmol/L PMSF), 均质后的体系于 4 °C 下 12 000 r/min 离心 15 min。沉淀中加入 10 倍体积盐溶液 (0.06 mol/L NaCl, 10.00 mmol/L Tris-HCl, pH 值 7.2, 1 mmol/L PMSF), 均质后静提 30 min, 将离心后的上清液置于液氮中速冻, 随后立即转至 -80 °C 冰箱保存备用。采用考马斯亮蓝试剂盒法对肌原纤维蛋白进行定量分析。

### 1.11 蛋白质二级结构

取“肌原纤维蛋白的提取及含量测定”中肌原纤维样品冷冻干燥, 加入溴化钾 (1 : 100, 质量分数) 研磨至均匀粉末后进行压片。红外光谱仪在 4 500~500  $\text{cm}^{-1}$  范围内扫描, 分辨率为 4  $\text{cm}^{-1}$ , 扫描次数为 32, 每个样品至少重复 3 次。使用 peakfit 4.12 软件和高斯曲线拟合函数对酰胺 I 区 (1 600~1 700  $\text{cm}^{-1}$ ) 中的光谱进行反卷积。根据蛋白质峰的面积和去卷积后酰胺 I 区的总面积, 对蛋白质二级结构进行定量与定性分析。

### 1.12 巯基与羰基含量

取“肌原纤维蛋白的提取及含量测定”中提取的肌原纤维蛋白, 分别参照南京建成生物技术有限公司蛋白质巯基含量试剂盒与蛋白质羰基含量测试盒说明书进行测定。

### 1.13 数据分析与统计

实验数据采用 IBM SPSS Statistics® Version 23 软件进行分析。单因素方差分析 (One-Way ANOVA)

采用 Duncan 氏多重检验进行组内显著性差异分析,  $P < 0.05$  作为差异显著的标志。各组计算数据均以平均值±标准差 (mean±SD) 表示。

## 2 结果

### 2.1 硬度

鱼片硬度值的变化主要受微生物<sup>[22]</sup>及内源酶<sup>[23]</sup>的影响, 冰藏花鲈鱼片在不同保鲜处理组中的硬度值变化如表 2 所示。新鲜鱼片硬度值为 (294.01±19.50) g, 随着时间的延长, 不同处理组的鱼片硬度值均显著降低 ( $P < 0.05$ )。CK 组贮藏至 8 d 后硬度值显著下降 ( $P < 0.05$ ), 贮藏末期达到 (138.83±11.73) g, 下降了 52.78%。而 EG 组、AO 组及复合组鱼片的硬度值分别下降了 37.59%、44.62%、24.09%, 3 个处理组均能显著抑制鱼片冰藏期间硬度值的下降, 且 EG 组和复合组的样品硬度值下降的较少。

### 2.2 色差

表 3 各组中的  $L^*$ 、 $a^*$  值均随贮藏时间的延长降低, 而  $b^*$  值逐渐增加。 $L^*$  值不断降低说明花鲈在贮藏期间汁液流失, 表面自由水含量降低, 光泽度降低, 肌肉逐渐变暗。另外, 由于高铁肌红蛋白在鱼肉表面积累也会导致鱼肉发生褐变反应而造成  $L^*$  值、 $a^*$  值降低<sup>[23]</sup>。贮藏末期, 不同处理组  $L^*$  值与  $a^*$  值均显著高于 CK 组, 其中 EG 组和复合组能更好地抑制  $L^*$  值的降低。各处理组均能较好地抑制  $b^*$  值的增加。

表 2 冰藏花鲈鱼片硬度值的变化

Tab. 2 Changes in hardness value of *L. japonicus* fillets during ice storage

贮藏时间/d storage time	CK	EG	AO	复合 composite group
0	294.01±19.50 <sup>a</sup>			
4	266.49±22.05 <sup>abA</sup>	272.83±19.69 <sup>abA</sup>	265.94±24.89 <sup>abA</sup>	286.50±21.99 <sup>aA</sup>
8	214.03±17.84 <sup>baA</sup>	275.00±22.15 <sup>abB</sup>	252.83±19.28 <sup>bcAB</sup>	275.33±23.01 <sup>abB</sup>
12	184.17±12.17 <sup>bcA</sup>	257.17±22.01 <sup>bc</sup>	226.30±15.45 <sup>cdB</sup>	260.50±14.82 <sup>bcC</sup>
16	169.83±16.43 <sup>cdA</sup>	221.89±12.82 <sup>cdB</sup>	197.61±14.07 <sup>cdAB</sup>	237.58±20.63 <sup>bcC</sup>
20	138.83±11.73 <sup>da</sup>	183.50±26.56 <sup>dB</sup>	162.83±14.01 <sup>cdAB</sup>	223.17±21.72 <sup>cdC</sup>

注: CK 为对照组, EG 代表 EGCG 处理组, AO 为琼胶寡糖处理组, 复合组为二者复合处理, 下表同此。同一列中不同小写字母上标表示差异显著 ( $P < 0.05$ ); 同一行不同大写字母上标表示差异显著 ( $P < 0.05$ )

Notes: CK represents the control group, EG represents the EGCG treatment group, AO represents the agar oligosaccharide treatment group, and the composite group represents the combined treatment of EGCG and agar oligosaccharide, the same below. In the same column, values with the different lowercase letters mean significant differences ( $P < 0.05$ ). In the same line, values with the different capital letters mean significant differences ( $P < 0.05$ )

表 3 冰藏花鲈鱼片色差值的变化

Tab. 3 Changes in color of *L. japonicus* fillets during ice storage

色差值 color	时间/d storage time	CK	EG	AO	复合 composite group
$L^*$	0	53.75±2.19 <sup>a</sup>			
	4	51.75±1.49 <sup>ba</sup>	53.59±0.50 <sup>aA</sup>	52.38±1.06 <sup>abA</sup>	54.68±2.90 <sup>aA</sup>
	8	51.13±2.12 <sup>ba</sup>	51.10±1.99 <sup>ba</sup>	51.25±0.76 <sup>bcA</sup>	53.56±1.16 <sup>abA</sup>
	12	48.37±1.19 <sup>aA</sup>	50.24±0.84 <sup>baB</sup>	50.33±1.66 <sup>bcAB</sup>	52.75±1.84 <sup>abB</sup>
	16	47.33±0.36 <sup>aA</sup>	50.82±0.54 <sup>bcB</sup>	49.63±0.70 <sup>cbB</sup>	51.87±1.46 <sup>bcB</sup>
	20	43.96±0.78 <sup>da</sup>	49.56±0.99 <sup>bc</sup>	47.48±1.01 <sup>dB</sup>	50.99±0.60 <sup>bc</sup>
$a^*$	0	-1.04±0.30 <sup>a</sup>			
	4	-1.20±0.03 <sup>abA</sup>	-1.21±0.10 <sup>abA</sup>	-0.98±0.20 <sup>aA</sup>	-0.92±0.22 <sup>aA</sup>
	8	-1.36±0.15 <sup>ba</sup>	-1.24±0.24 <sup>abAB</sup>	-1.07±0.17 <sup>aAB</sup>	-0.10±0.03 <sup>ab</sup>
	12	-1.40±0.12 <sup>ba</sup>	-1.28±0.06 <sup>abA</sup>	-1.08±0.05 <sup>ab</sup>	-1.01±0.07 <sup>ab</sup>
	16	-1.84±0.20 <sup>aA</sup>	-1.34±0.12 <sup>abB</sup>	-1.31±0.24 <sup>abB</sup>	-1.05±0.13 <sup>ab</sup>
	20	-2.15±0.06 <sup>da</sup>	-1.42±0.15 <sup>bb</sup>	-1.54±0.17 <sup>bb</sup>	-1.22±0.25 <sup>bb</sup>
$b^*$	0	-4.72±0.30 <sup>a</sup>			
	4	-4.66±0.24 <sup>aA</sup>	-4.67±0.32 <sup>aA</sup>	-4.66±0.33 <sup>aA</sup>	-4.69±0.50 <sup>aA</sup>
	8	-3.87±0.78 <sup>abA</sup>	-4.72±0.30 <sup>aA</sup>	-4.46±0.20 <sup>aA</sup>	-4.41±1.39 <sup>abA</sup>
	12	-3.06±0.05 <sup>bcA</sup>	-3.60±0.54 <sup>ba</sup>	-3.39±0.49 <sup>ba</sup>	-4.07±0.72 <sup>abA</sup>
	16	-2.55±0.09 <sup>cdA</sup>	-3.78±0.41 <sup>bc</sup>	-3.10±0.12 <sup>bcB</sup>	-3.91±0.20 <sup>bcB</sup>
	20	-1.80±0.99 <sup>da</sup>	-2.97±0.23 <sup>db</sup>	-2.52±0.38 <sup>caB</sup>	-3.16±0.11 <sup>bb</sup>

注: 同一时间点中标注不同大写字母的值表示显著差异( $P<0.05$ ); 同一组中标注不同小写字母的值表示显著差异( $P<0.05$ ), 下同  
Notes: values with different uppercase letters at the same time point and different lowercase letters at the same group indicate significant differences ( $P<0.05$ ), respectively, the same below

### 2.3 TBA 值

TBA 值是评价水产品脂质氧化程度的重要指标之一<sup>[24]</sup>, 脂肪的初级氧化产物过氧化物继续氧化, 产生的丙二醛与硫代巴比妥酸试剂反应生成稳定的红色化合物, 其颜色的深浅反映 TBA 值的高低。新鲜花鲈鱼片的 TBA 值为  $(0.11\pm 0.02)$  mg/kg, 随冰藏时间的延长, 对照组的 TBA 值逐渐升高, 8 d 后其增长速率明显提高, 冰藏至 20 d 时 TBA 值为  $(0.81\pm 0.03)$  mg/kg (图 1)。花鲈鱼片粗脂肪含量约为 1.58%<sup>[25]</sup>, 但其不饱和脂肪酸含量丰富, 此结果一方面可能与贮藏后期细胞结构被破坏造成营养物质流失致使微生物大量繁殖有关, 另一方面也可能与鱼肉冰温贮藏中释放过氧化物酶、血红素铁等加剧了脂肪的氧化酸败有关<sup>[26]</sup>。而 EG 组、AO 组及复合组的 TBA 值在贮藏期间均未出现大幅度增加, 且始

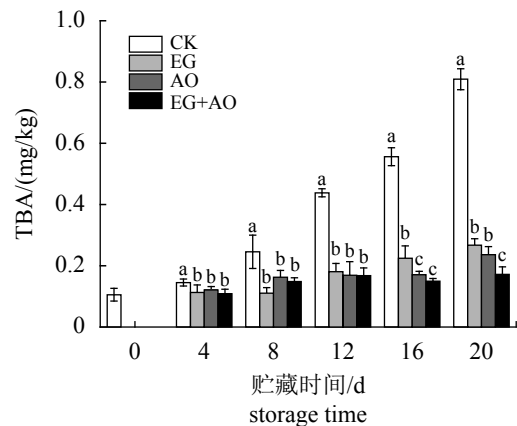


图 1 冰藏过程中花鲈鱼片 TBA 值的变化

同一时间点中不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ ), 下同

Fig. 1 Changes in TBA value of *L. japonicus* fillets during ice storage

Values with different lowercase letters at the same time point indicate significant differences ( $P<0.05$ ), the same below

终低于对照组，贮藏末期的TBA值分别为(0.27±0.02)、(0.24±0.03)和(0.17±0.02) mg/kg。结果表明，3个保鲜处理组均能较好地抑制冰藏期间花鲈鱼片的脂肪氧化。

## 2.4 K值

K值反映了ATP的非磷酸化产物占其总降解产物的比值，被认为是反映鱼类新鲜程度最有效的指标，其中腺嘌呤核苷酸及其相关化合物的含量与鱼种类、肌肉类型和贮藏条件相关<sup>[27]</sup>。一般来说，新鲜鱼肉的K值小于10%，K值低于20%被认为是“生鱼片”品质，K值低于60%被认为是鱼类鲜度的可接受范围<sup>[27]</sup>。0 d花鲈鱼片的K值为8.33%±0.69%，各组的K值均随时间的延长显著增加( $P<0.05$ )，冰藏至第16天时对照组鱼片的K值达到67.37%±1.75%，已不可继续加工食用，而EG组、AO组、复合组的K值均低于60%，特别是复合组的K值最低，为50.79%±1.96% (图2)。贮藏12~16 d，各处理组的K值均显著低于对照组，贮藏末期(16~20 d)复合处理组显著低于EG组合与AO组( $P<0.05$ )。

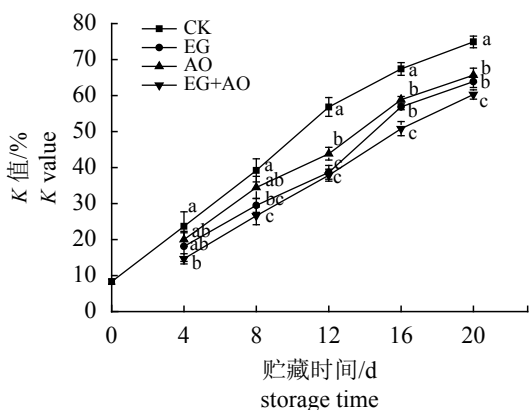


图2 冰藏过程中花鲈鱼片K值的变化

Fig. 2 Changes in K-value of *L. japonicus* fillets during ice storage

## 2.5 TVB-N值

TVB-N是表征鱼肉新鲜度的重要指标，是蛋白质及非蛋白含氮化合物(如核酸等)在微生物和内源酶作用下降解所得的碱性含氮化合物，主要包括三甲胺，二甲胺和氨等<sup>[28]</sup>。0 d时花鲈鱼片的TVB-N值较低，为(8.49±1.55) mg/100 g，贮藏前期各组的TVB-N值增加较小，12 d时对照组的TVB-N值为(20.13±1.45) mg/100 g，而处

理组的TVB-N值均未超过(20 mg/100) g，仍处于二级鲜度范围内(图3)。贮藏第8天起，EG组、AO组与复合组的TVB-N值显著低于对照组( $P<0.05$ )。贮藏末期对照组的TVB-N值达到(33.87±2.21) mg/100 g，已超过30 mg/100 g的鲜度标准，而此时EG组、AO组及复合组的TVB-N值较低，分别为(25.36±1.11)、(28.55±1.66)和(23.80±0.83) mg/100 g。

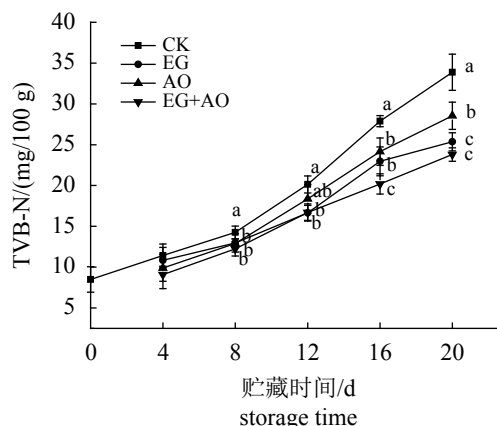


图3 冰藏过程中花鲈鱼片TVB-N值的变化

Fig. 3 Changes in TVB-N of *L. japonicus* fillets during ice storage

## 2.6 TVC

不同处理组的TVC值在前期(0~4 d)变化较小，且均未超过4.00 lg (CFU/g)，属于一级鲜度(图4)。8 d之后，对照组的菌落总数显著增加( $P<0.05$ )，冰藏至16 d时TVC高达(6.78±0.15) lg (CFU/g)，已超过二级鲜度标准，而EG组、AO组和复合组16 d时TVC值分别为(5.80±0.15)、(5.41±0.16)和(5.27±0.20) lg (CFU/g)，仍在可接受范围内。TVC前期变化较小，与本实验中TVB-N值的变化趋势相似，且贮藏期间处理组的TVC值均显著低于对照组( $P<0.05$ )。这与李鹏等<sup>[9]</sup>的研究结果相似。

## 2.7 感官评分

各组花鲈鱼片的感官评分随贮藏时间的延长而显著降低( $P<0.05$ )(图5)。花鲈鱼在贮藏0~4 d过程中感官评分均高于16，新鲜度良好，且处理组与对照组间无显著差异( $P>0.05$ )。冰藏8~20 d，对照组的感官评分均显著低于各处理组( $P<0.05$ )。16 d时对照组感官评分低于8分且鱼片质地变软，颜色暗淡，并出现腐臭氨味，达

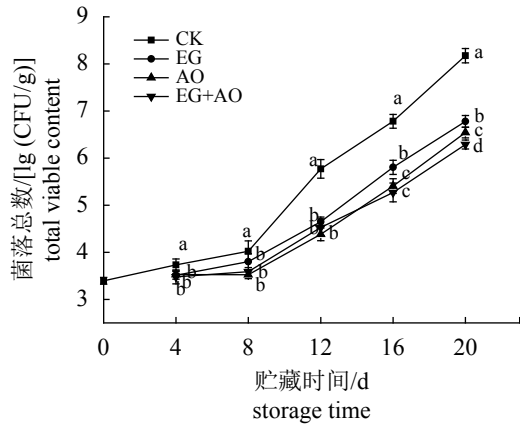


图4 冰藏过程中花鲈鱼片菌落总数的变化

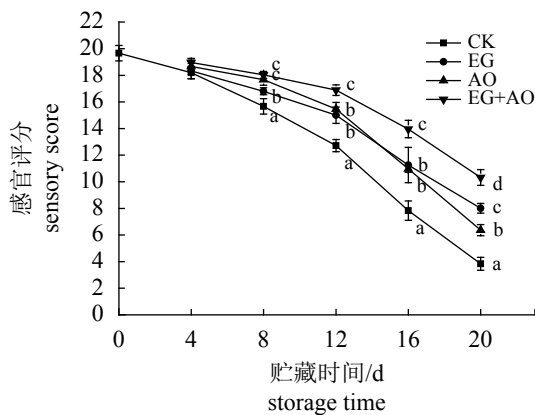
Fig. 4 Changes in total viable count of *L. japonicus* fillets during ice storage

图5 冰藏过程中花鲈鱼片感官分值的变化

Fig. 5 Changes in sensory score of *L. japonicus* fillets during ice storage

到不可接受程度。而EG组、AO组和复合组在16 d时感官评分分别为 $11.26 \pm 1.32$ 、 $10.97 \pm 0.25$ 和 $13.96 \pm 0.66$ ，仍在感官可接受范围内，未产生异味，该结果与K值和TVC值的结果一致。此外，复合组在20 d时感官评分为 $10.33 \pm 0.59$ ，仍在可接受范围内。新鲜的鱼片色泽明亮，组织质地紧密、纹理清晰，富有弹性，无异味。CK组的感官评分于8 d起，与EG、AO和复合组的感官评分存在显著差异，对照组得分显著高于各处理组 ( $P < 0.05$ )，且复合组鱼片的得分显著高于EG组和AO组 ( $P < 0.05$ )。与对照组相比，所有的处理组样品均能较好地保持鱼片的感官质量，能延长鱼片3~5 d的货架期，其中复合处理组鱼片的感官品质最好。

## 2.8 肌原纤维蛋白质含量

鱼肉中肌原纤维蛋白约占总蛋白的50%~

70%<sup>[29]</sup>，其含量受多种因素的影响，如氨基酸组成、pH值等<sup>[30]</sup>。研究表明，蛋白质生化特性改变会导致蛋白质结构破坏，发生交联聚集，从而导致蛋白质含量下降，肌肉组织持水力降低。实验测得第0天肌原纤维蛋白含量为 $(90.93 \pm 2.38)$  mg/g (图6)。贮藏8 d后对照组鱼片的肌原纤维蛋白含量出现显著下降 ( $P < 0.05$ )，其中，CK组、EG组及AO组在贮藏末期(20 d)肌原纤维蛋白含量分别降低了39.17%、29.49%和26.69%，而复合处理组的肌原纤维蛋白含量最高，仅下降了22.37%。

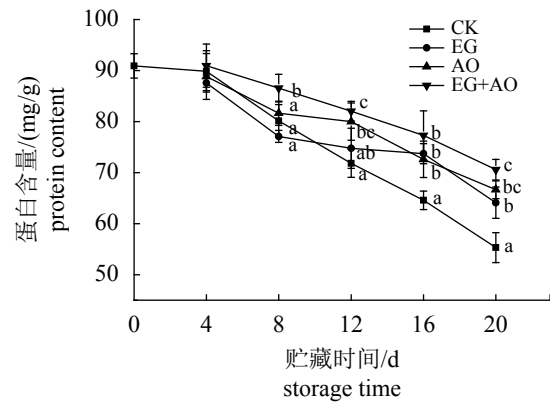


图6 冰藏过程中花鲈鱼片肌原纤维蛋白质含量的变化

Fig. 6 Changes in myofibrillar protein content of *L. japonicus* fillets during ice storage

## 2.9 二级结构

酰胺I带( $1\ 700 \sim 1\ 600\ \text{cm}^{-1}$ )是肌原纤维蛋白中最主要的化学键，对氢键、偶极-偶极相互作用和多肽骨架构象的变化较为敏感，是分析蛋白质二级结构最重要的条带<sup>[22]</sup>。酰胺I带主要与C-O键拉伸震动有关，也受C-N、N-H键拉伸震动的影响。傅里叶红外光谱仪分析酰胺I带可获得蛋白质二级结构的准确变化情况，对照组的 $\alpha$ -螺旋与 $\beta$ -转角占比从 $24.81\% \pm 1.32\%$ 、 $33.48\% \pm 1.80\%$ 分别下降至 $13.26\% \pm 0.51\%$ 、 $32.54\% \pm 4.76\%$ ， $\beta$ -折叠及无规则卷曲分别从 $27.73\% \pm 0.59\%$ 、 $13.97\% \pm 0.91\%$ 上升至 $29.83\% \pm 2.62\%$ 和 $24.36\% \pm 2.57\%$ (表4)。肌原纤维蛋白 $\alpha$ -螺旋的降低与蛋白质螺旋结构发生部分伸展有关，随着 $\alpha$ -螺旋结构的减少，大量疏水基团暴露，导致表面疏水性及持水力下降。贮藏末期各保鲜处理样品的 $\alpha$ -螺旋结构含量均显著高于CK组，且复合组显著高于EG组与AO组 ( $P < 0.05$ )。此外，16 d时各组蛋白质

的无规则卷曲含量均显著上升 ( $P<0.05$ ), CK 组、EG 组、AO 组与复合组的无规则卷曲含量占比由最初的  $13.97\% \pm 0.91\%$  分别升至  $24.36\% \pm 2.57\%$ 、 $18.53\% \pm 0.95\%$ 、 $23.18\% \pm 3.52\%$  和  $16.75\% \pm 0.99\%$ ,

表明蛋白质构型发生了无序变化。其中 EG 组与复合组的无规则卷曲含量增长幅度较小, 显著低于 CK 组和 AO 组 ( $P<0.05$ )。

表 4 冰藏花鲈鱼片蛋白质二级结构的变化

Tab. 4 Changes in protein secondary structures of *L. japonicus* fillets during ice storage

百分比/% percentage	贮藏时间/d storage time	CK	EG	AO	复合 composite group
$\alpha$ -螺旋 $\alpha$ -helix	0	24.81 $\pm$ 1.32 <sup>a</sup>			
	8	15.44 $\pm$ 0.88 <sup>ba</sup>	24.04 $\pm$ 1.50 <sup>ab</sup>	24.50 $\pm$ 1.39 <sup>ab</sup>	24.73 $\pm$ 0.91 <sup>ab</sup>
	16	13.26 $\pm$ 0.51 <sup>ca</sup>	15.38 $\pm$ 0.55 <sup>bb</sup>	15.30 $\pm$ 1.85 <sup>bb</sup>	18.47 $\pm$ 0.74 <sup>bc</sup>
$\beta$ -折叠 $\beta$ -sheet	0	27.73 $\pm$ 0.59 <sup>a</sup>			
	8	29.45 $\pm$ 1.29 <sup>aA</sup>	30.99 $\pm$ 1.97 <sup>aA</sup>	31.94 $\pm$ 1.88 <sup>aA</sup>	30.42 $\pm$ 1.23 <sup>aA</sup>
	16	29.83 $\pm$ 2.62 <sup>aA</sup>	31.19 $\pm$ 1.74 <sup>aA</sup>	31.56 $\pm$ 1.21 <sup>aA</sup>	30.83 $\pm$ 2.20 <sup>aA</sup>
$\beta$ -转角 $\beta$ -turn	0	33.48 $\pm$ 1.80 <sup>a</sup>			
	8	38.66 $\pm$ 1.85 <sup>aA</sup>	30.38 $\pm$ 4.81 <sup>ab</sup>	25.24 $\pm$ 1.71 <sup>ab</sup>	30.65 $\pm$ 1.32 <sup>ab</sup>
	16	32.54 $\pm$ 4.76 <sup>aA</sup>	34.90 $\pm$ 1.96 <sup>aA</sup>	29.96 $\pm$ 2.34 <sup>aA</sup>	33.96 $\pm$ 2.12 <sup>aA</sup>
无规则卷曲 random coil	0	13.97 $\pm$ 0.91 <sup>a</sup>			
	8	16.45 $\pm$ 0.96 <sup>aAB</sup>	15.19 $\pm$ 1.74 <sup>aA</sup>	18.31 $\pm$ 1.15 <sup>ab</sup>	14.20 $\pm$ 0.61 <sup>aA</sup>
	16	24.36 $\pm$ 2.57 <sup>ba</sup>	18.53 $\pm$ 0.95 <sup>bb</sup>	23.18 $\pm$ 3.52 <sup>ba</sup>	16.75 $\pm$ 0.99 <sup>bb</sup>

2.10 巯基含量

半胱氨酸是蛋白质氧化修饰中最敏感的氨基酸之一, 活性巯基主要存在于半胱氨酸, 巯基的氧化通常被认为是蛋白质氧化的最初反应之一。冰藏期间花鲈肌原纤维蛋白的总巯基含量变化如图 7 所示, 第 0 天时总巯基含量为  $(50.69 \pm 1.84) \mu\text{mol/g prot}$ , 对照组及处理组的巯基含量随

时间的延长均显著降低 ( $P<0.05$ )。贮藏末期的对照组、EG 组、AO 组及复合处理组的巯基含量分别为  $(29.54 \pm 0.88)$ 、 $(35.75 \pm 1.05)$ 、 $(32.20 \pm 1.41)$  和  $(39.39 \pm 0.99) \mu\text{mol/g prot}$ , 与新鲜鱼片的巯基含量相比分别下降了 41.72%、29.47%、36.47% 和 22.29 ( $P<0.05$ )。第 8 天时各处理组的巯基含量均显著高于对照组 ( $P<0.05$ ), 12 d 起复合组的巯基含量显著高于 EG 组与 AO 组 ( $P<0.05$ )。

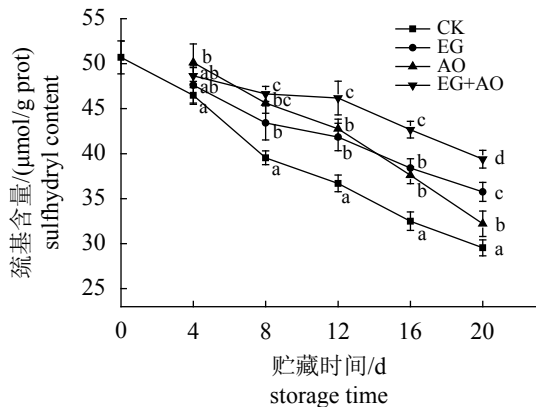


图 7 冰藏过程中花鲈鱼片总巯基含量的变化  
Fig. 7 Changes in total sulfhydryl content of *L. japonicus* fillets during ice storage

2.11 羰基含量

蛋白质氧化造成蛋白质骨架裂解、交联聚集、部分氨基酸残基转化为羰基。蛋白质氧化可导致必需氨基酸损失, 进而降低鱼肉的营养品质和风味, 羰基是反映蛋白质氧化程度的有效指标。冰藏期间花鲈肌原纤维蛋白的羰基含量变化如图 8 所示, 0 d 时羰基含量为  $(0.58 \pm 0.04) \text{nmol/mg}$ , 这主要是由于鱼体内出现氧化应激反应, 产生部分羰基化蛋白质, 羰基化程度与物种、肌肉类型和年龄有关<sup>[31]</sup>。冰藏期间鱼片蛋白质的羰基含量随着时间的延长显著增加 ( $P<0.05$ ), 到 12 d 时对照组的羰基含量已显著高于各个保



鲜处理组 ( $P<0.05$ ), 贮藏末期对照组的羰基含量上升至  $(1.63\pm 0.04)$  nmol/mg, 而 EG 组、AO 组及复合组的羰基含量仅为  $(1.14\pm 0.03)$ 、 $(1.28\pm 0.08)$  与  $(0.99\pm 0.09)$  nmol/mg。

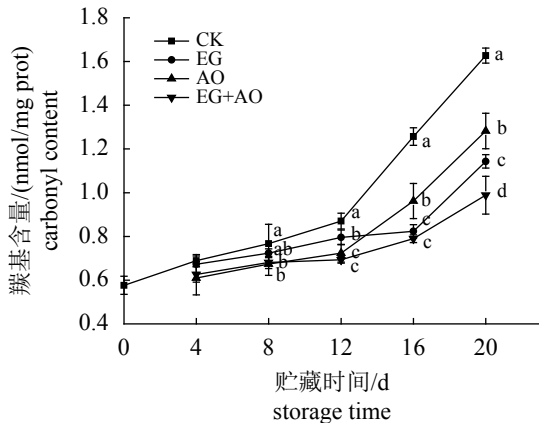


图 8 冰藏过程中花鲈鱼片羰基含量的变化

Fig. 8 Changes in carbonyl content of *L. japonicus* fillets during ice storage

### 3 讨论

#### 3.1 质构与色差的变化

鱼片贮藏期间易受微生物、内源性  $\text{Ca}^{2+}$  蛋白酶等的影响, 造成肌原纤维蛋白网状结构被破坏, 持水能力下降, 对鱼片的硬度产生不利影响。与对照组相比, EGCG、琼胶寡糖及复合处理组均能显著抑制鱼片冰藏期间硬度值的下降。类似的研究报道了海藻糖和海藻酸寡糖分子能通过氢键、疏水力或静电相互作用与水结合, 影响肌肉蛋白周围水分子的分布, 维持原有的细胞结构<sup>[32]</sup>。琼胶寡糖使鱼片在贮藏期间仍具有良好的持水能力, 同时, EGCG 及琼胶寡糖均具有较好的抗氧化、抑制蛋白质的降解速率的能力, 可较好地维持细胞结构。

鱼肉的色泽是评价鱼肉新鲜度的直观指标, 主要与肌红蛋白的含量和脂质的氧化程度有关<sup>[33]</sup>, 另外还与 pH、氧化还原电位等内在因素以及贮藏温度等外在因素有关<sup>[15]</sup>。与对照组相比, 各个处理组的色差值变化程度均较小, 特别是复合保鲜组。此外, EGCG 的氧化产物为橙红色, 也能较好地保持样品的  $a^*$  值<sup>[34]</sup>。贮藏后期 AO 组的  $b^*$  值高于另两组, 可能与其后期微生物增加、脂肪氧化加剧有关。研究表明酚类化合物可以与蛋白质结合并与其形成络合物, 能有效抑制

蛋白质氧化与脂质氧化, 进而能较好地抑制贮藏期间亮度值与红度值的下降<sup>[35]</sup>。

#### 3.2 保鲜剂对鱼片新鲜度指标的影响

已有研究表明, 冰藏花鲈鱼片的新鲜度与蛋白质降解、氧化及脂肪氧化间存在良好相关性, 贮藏后期微生物的大量繁殖, 造成脂质氧化与蛋白质氧化间的相互作用可能是品质劣变的主要原因<sup>[36]</sup>。结果表明, 各保鲜组均能显著抑制脂肪氧化, 该结果与 EGCG 具有多个酚羟基, 可促进自由基形成链式反应终端, 抑制脂肪氧化有关<sup>[37]</sup>。AO 的抗氧化机理主要为直接清除自由基, 或通过提高抗氧化酶活性清除过多的自由基, 也可结合自由基必须的金属离子<sup>[38]</sup>。此外, 寡糖分子能与蛋白质、脂质等大分子以氢键连接, 使其失去原本的水膜以达到保鲜效果<sup>[8]</sup>。Song 等<sup>[39]</sup>探究海藻酸钠结合维生素 C (VC) 和茶多酚 (tea polyphenols, TP) 对冷藏团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*) 的保鲜效果, 结果表明, 保鲜处理组均能显著抑制菌落总数及 TBA 值的增加。海藻酸钠与 TP 或 VC 复合处理的鱼片在贮藏期间均未出现 TBA 值的明显增加。Shi 等<sup>[35]</sup>的研究也得出类似的结论。脂质氧化可通过多种机制进行, 包括单线态氧的产生、自由基和活性氧的酶促和非酶促生成。鱼肉表面的抗氧化剂有效延缓了脂质氧化, 且 EGCG 与琼胶寡糖复配的抗氧化机理与其自由基清除能力有一定的量效关系。

宰后鱼肉中存在高活性的 ATP 酶, 导致 ATP 快速降解为 IMP, 由于内源酶及细菌活动的增加, IMP 转变为 Hx<sup>[40]</sup>, 导致贮藏后期 K 值快速上升。该结果与 Li 等<sup>[28]</sup>及 Yu 等<sup>[41]</sup>的研究结果一致。Song 等<sup>[39]</sup>研究发现团头鲂 K 值在贮藏初期迅速上升, 后期增速下降。该结果也表明, 贮藏初期 K 值快速增加主要与体内 ATP 酶活性有关, 复合组能有效抑制 ATP 降解, 其次为 EG 组和 AO 组。IMP 的分解是由 5-核苷酸酶引起的, 因此, 保鲜处理组的 K 值较低可能与抗氧化保鲜剂降低了 5-核苷酸酶的活性有关。与单一保鲜组相比, 复合组能更有效地抑制 ATP 的降解, 表明 EGCG 与琼胶寡糖在冰藏花鲈鱼片保鲜方面有良好的协同作用。

花鲈鱼片 TVB-N 值在贮藏期间易受微生物与内源酶的影响而不断升高<sup>[27]</sup>, TVB-N 值在贮

藏后期上升迅速,可能是由于细胞破裂,微生物加速繁殖,加快了蛋白质分解。EGCG与琼胶寡糖能抑制微生物的繁殖与脂肪氧化,较好地维持蛋白质纤维结构,减缓了内源蛋白酶对蛋白质的降解程度。EGCG-琼胶寡糖形成生物膜后可以缓慢释放EGCG,带负电荷的EGCG与革兰氏阳性菌中带正电荷的脂质双层紧密结合,抑制微生物生长。此外,多酚还可与蛋白质结合形成聚合物,表现出抗菌活性<sup>[12]</sup>。而12 d后AO组鱼片的TVC值增长速率略有增加,可能与前期形成的保护膜随时间的延长存在一定程度的破坏有关,且贮藏后期抗氧化能力下降,易成为被微生物利用的碳源。且贮藏后期AO组鱼片的感官评分下降幅度增大,与TVC、TVB-N等指标的结果一致。目前琼胶寡糖作为天然防腐剂的抑菌机理仍不明确,其与EGCG结合的复合组在贮藏后期仍具有较强的抑菌性。各保鲜处理均能延长鱼片的贮藏期,该结果与EGCG的广谱抗菌性及二者的抗氧化性有关,同时琼胶寡糖可提高鱼片持水力、改善色泽。

### 3.3 保鲜剂对蛋白质生化特性的影响

肌原纤维蛋白含量的下降可能是由于贮藏过程中蛋白质变性或者内源蛋白酶对蛋白质的降解所致。此外,ATP非磷酸化降解产物的增多、脂质和游离脂肪酸氧化产物与蛋白质的相互作用也可能是造成肌原纤维蛋白盐溶性下降的原因<sup>[42]</sup>。已有较多研究表明多酚物质能够抑制蛋白质的氧化与降解,EGCG可能与蛋白质疏水基团结合,或通过催化肌球蛋白降解降低ATPase催化的ATP降解程度,以抑制蛋白质变性<sup>[43]</sup>。低分子量的琼胶寡糖可渗入肌肉内,增加鱼肉的持水性,延缓蛋白质变性蛋白含量的降低。类似的研究也表明琼胶寡糖可抑制冷冻期间虾仁和罗非鱼片盐溶性蛋白含量减低<sup>[7]</sup>。另有研究表明葡萄籽和丁香花蕾提取物等天然抗氧化物能有效抑制冷藏鱼肉中盐溶性蛋白质、巯基含量的降低以及羰基含量的增加<sup>[35]</sup>。此外,EGCG及琼胶寡糖处理均能增强鱼片贮藏期间肌原纤维蛋白质结构的稳定性。多酚可与鱼肉中的蛋白质发生相互作用,提高蛋白质二级结构的稳定性<sup>[22]</sup>。黄渊等<sup>[44]</sup>采用荧光光谱及圆二色谱技术探究EGCG与鲢肌球蛋白间相互作用,结果表明EGCG与肌球蛋白主要通过氢键和范德华力

与肌球蛋白结合,随着EGCG浓度升高( $0\sim 4\times 10^{-5}$  mol/L),肌球蛋白的 $\alpha$ -螺旋相对含量提高,表面疏水力降低<sup>[22]</sup>。

与对照组相比,贮藏前期EG组、AO组及复合组巯基含量变化较小,该结果与保鲜剂的抗氧化作用以及抑菌性有关。贮藏后期各组的巯基含量明显降低,与脂肪氧化产物醛类等物质促进了巯基团氧化成二硫键,或进一步氧化成其他磺酸类产物有关<sup>[45]</sup>。此外,蛋白质变性后的聚集也会对巯基起到遮蔽作用导致巯基含量下降<sup>[46]</sup>。贮藏后期部分EGCG可能氧化成醌类物质,能催化巯基氧化成二硫键,也能直接与巯基共价结合,从而导致巯基含量下降。复合保鲜组能更好地抑制微生物繁殖及脂肪氧化,进而延缓了蛋白质变性与氧化。EGCG和琼胶寡糖的相互作用能更好地抑制微生物繁殖,延缓了蛋白质与脂肪氧化,可能与EGCG的抗氧化、抗菌性与AO的成膜性间的结合有关,延长了EGCG的释放速率。且EGCG中的大量羟基可促进蛋白中的自由水转化为结合水,减少蛋白质间的聚集,从而延缓蛋白质变性速率<sup>[47]</sup>。琼胶寡糖分子能通过氢键、疏水力或静电相互作用与水结合,影响肌肉蛋白周围水分子的分布,抑制脂肪与蛋白质氧化进而抑制巯基氧化成二硫键。综上,花鲈鱼片冰藏至后期,肌原纤维蛋白发生变性,其溶解性降低、活性巯基含量显著下降,3个处理组均能延缓巯基含量降低,特别是复合组能更好地抑制巯基的氧化。同时,EGCG的自由基清除能力及螯合金属离子的能力减少了羰基的产生<sup>[48]</sup>。琼胶寡糖同样具有较强的自由基清除能力,但其在贮藏后期的抗氧化能力可能出现一定程度的降低。本研究结果表明EGCG及琼胶寡糖能够抑制冰藏花鲈鱼片中羰基的形成,二者结合使用更能有效抑制蛋白质的氧化与变性。

研究表明,EGCG及琼胶寡糖均为较好的保鲜剂,虽琼胶寡糖在贮藏后期的保鲜效果相对减弱,但二者复合后的保鲜效果优于单一保鲜剂,更能显著抑制蛋白质氧化与变性,维持冰藏鱼片新鲜品质。该研究为EGCG及琼胶寡糖的保鲜机理提供了理论基础,为开发高效的新型生物保鲜剂提供参考。今后可通过核磁共振、多组学联用等技术对水产品品质劣变机理及保鲜剂与肌肉蛋白质互相作用的分子机理进行深入探究。

## 参考文献 (References):

- [1] 张海燕, 吴燕燕, 杨少玲, 等. 聚赖氨酸与魔芋葡甘聚糖复配对海鲈鱼片的保鲜效果[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(24): 202-208.  
Zhang H Y, Wu Y Y, Yang S L, et al. Combined preservation effects of  $\epsilon$ -polylysine and konjac glucomannan on *Lateolabrax japonicus* fillet[J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(24): 202-208(in Chinese).
- [2] 励建荣. 海水鱼类腐败机制及其保鲜技术研究进展[J]. 中国食品学报, 2018, 18(5): 1-12.  
Li J R. Research progress on spoilage mechanism and preservation technology of marine fish[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(5): 1-12(in Chinese).
- [3] Méndez L, Pazos M. Proteomics to assess fish quality and bioactivity[M]//Colgrave M L. Proteomics in food science. London: Elsevier Academic Press, 2017: 297-316.
- [4] Nikmaram N, Budaraju S, Barba F J, et al. Application of plant extracts to improve the shelf-life, nutritional and health-related properties of ready-to-eat meat products[J]. Meat Science, 2018, 145: 245-255.
- [5] Dehghani S, Hosseini S V, Regenstein J M. Edible films and coatings in seafood preservation: a review[J]. Food Chemistry, 2018, 240: 505-513.
- [6] Al-Saif S S A L, Abdel-Raouf N, El-Wazanani H A, et al. Antibacterial substances from marine algae isolated from Jeddah coast of Red sea, Saudi Arabia[J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2014, 21(1): 57-64.
- [7] 戚勃, 杨贤庆, 李来好, 等. 琼胶寡糖对冻虾仁 and 罗非鱼片品质的影响[J]. 南方水产科学, 2012, 8(6): 72-79.  
Qi B, Yang X Q, Li L H, et al. Effect of agar-oligosaccharide on quality of frozen shrimp and tilapia fillets[J]. South China Fisheries Science, 2012, 8(6): 72-79(in Chinese).
- [8] 宋香凝, 郑毅, 姜泽东, 等. 江蓠琼胶寡糖抗氧化性及对罗非鱼肉的保鲜作用[J]. 食品科技, 2017, 42(2): 149-154.  
Song X N, Zheng Y, Jiang Z D, et al. Antioxidant activity of gracilaria agar oligosaccharides and their preservative effect on tilapia meat[J]. Food Science and Technology, 2017, 42(2): 149-154(in Chinese).
- [9] 李鹏, 陈莉萍, 黄琴, 等. EGCG对冷藏罗非鱼鱼片的保鲜[J]. 食品科技, 2014, 39(8): 118-122.  
Li P, Chen L P, Huang Q, et al. Fresh-keeping effect of EGCG on refrigerated tilapia fillet[J]. Food Science and Technology, 2014, 39(8): 118-122(in Chinese).
- [10] Gordon N C, Wareham D W. Antimicrobial activity of the green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) against clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia*[J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 2010, 36(2): 129-131.
- [11] 袁悦, 赵永强, 杨贤庆, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯对冷冻罗非鱼鱼糜抗冻作用机制[J]. 食品科学, 2019, 40(24): 79-85.  
Yuan Y, Zhao Y Q, Yang X Q, et al. Cryoprotective mechanism of epigallocatechin gallate on frozen Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) surimi[J]. Food Science, 2019, 40(24): 79-85(in Chinese).
- [12] Cao J, Wang Q, Ma T T, et al. Effect of EGCG-gelatin biofilm on the quality and microbial composition of tilapia fillets during chilled storage[J]. Food Chemistry, 2020, 305: 125454.
- [13] 穆凯峰, 吴永沛, 陈昭华, 等. 坛紫菜琼胶生产工艺的研究[J]. 水产科学, 2009, 28(8): 454-457.  
Mu K F, Wu Y P, Chen Z H, et al. Production process of agar from laver *Porphyra haitanensis*[J]. Fisheries Science, 2009, 28(8): 454-457(in Chinese).
- [14] 杨贤庆, 刘刚, 戚勃, 等. 响应曲面法优化琼胶的酸水解条件[J]. 食品科学, 2010, 31(20): 173-177.  
Yang X Q, Liu G, Qi B, et al. Optimization of acid hydrolysis of agar by response surface methodology[J]. Food Science, 2010, 31(20): 173-177(in Chinese).
- [15] 黄卉, 郑陆红, 李来好, 等. 不同预冷温度对鲈鱼冰藏期间质构和色差的影响[J]. 食品工业科技, 2018, 39(24): 302-308.  
Huang H, Zheng L H, Li L H, et al. Effects of different precooling temperature on texture and color of micropeterus salmoides during ice storage[J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(24): 302-308(in Chinese).
- [16] Chaijan M, Panpipat W, Nisoa M. Chemical deterioration and discoloration of semi-dried tilapia processed by sun drying and microwave drying[J]. Drying Technology, 2017, 35(5): 642-649.
- [17] 中华人民共和国农业部. SC/T 3048—2014 鱼类鲜度指标 K 值的测定 高效液相色谱法 [S]. 北京: 中国农业出版社, 2014.  
The Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. SC/T 3048—2014 Determination of K value as fishery freshness index-High performance liquid chromatography [S]. Beijing: China Agriculture Press, 2014.

- matography[S]. Beijing: China Agriculture Press, 2014 (in Chinese).
- [18] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB 5009.228-2016 食品安全国家标准 食品中挥发性盐基氮的测定 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.  
National Health and Family Planning Commission of PRC. GB 5009.228-2016 National food safety standard determination of total volatile basic nitrogen[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016 (in Chinese).
- [19] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. GB 4789.2-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.  
National Health and Family Planning Commission of PRC, China Food and Drug Administration. GB 4789.2-2016 Food microbiological examination: Aerobic plate count[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016 (in Chinese).
- [20] 李莎, 李来好, 杨贤庆, 等. 罗非鱼片在冷藏过程中的品质变化研究[J]. 食品科学, 2010, 31(20): 444-447.  
Li S, Li L H, Yang X Q, *et al.* Quality change of tilapia fillets during chilling storage[J]. Food Science, 2010, 31(20): 444-447(in Chinese).
- [21] Pazos M, Maestre R, Gallardo J M, *et al.* Proteomic evaluation of myofibrillar carbonylation in chilled fish mince and its inhibition by catechin[J]. *Food Chemistry*, 2013, 136(1): 64-72.
- [22] Zhao X, Zhou Y G, Zhao L, *et al.* Vacuum impregnation of fish gelatin combined with grape seed extract inhibits protein oxidation and degradation of chilled tilapia fillets[J]. *Food Chemistry*, 2019, 294: 316-325.
- [23] Wang D Y, Zhang M H, Deng S Y, *et al.* Postmortem changes in actomyosin dissociation, myofibril fragmentation and endogenous enzyme activities of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) muscle[J]. *Food Chemistry*, 2016, 197: 340-344.
- [24] Li T T, Li J R, Hu W Z, *et al.* Shelf-life extension of crucian carp (*Carassius auratus*) using natural preservatives during chilled storage[J]. *Food Chemistry*, 2012, 135(1): 140-145.
- [25] 朱小静. 鲈鱼调理食品加工关键技术研究 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2017.  
Zhu X J. Study on processing key technology prepared food derived from bass[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2017 (in Chinese).
- [26] 李念文, 汤元睿, 谢晶, 等. 物流过程中大眼金枪鱼 (*Thunnus obesus*) 的品质变化[J]. *食品科学*, 2013, 34(14): 319-323.  
Li N W, Tang Y R, Xie J, *et al.* Physicochemical quality properties of *Thunnus obesus* during logistical process[J]. *Food Science*, 2013, 34(14): 319-323(in Chinese).
- [27] Cai L Y, Wu X S, Li X X, *et al.* Effects of different freezing treatments on physicochemical responses and microbial characteristics of Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) fillets during refrigerated storage[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2014, 59(1): 122-129.
- [28] Li T T, Hu W Z, Li J R, *et al.* Coating effects of tea polyphenol and rosemary extract combined with chitosan on the storage quality of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) [J]. *Food Control*, 2012, 25(1): 101-106.
- [29] 李娜, 赵永强, 李来好, 等. 冰藏过程中罗非鱼鱼片肌肉蛋白质变化[J]. *南方水产科学*, 2016, 12(2): 88-94.  
Li N, Zhao Y Q, Li L H, *et al.* Change of muscle proteins in Nile tilapia fillets during iced storage[J]. *South China Fisheries Science*, 2016, 12(2): 88-94(in Chinese).
- [30] 鞠健, 乔宇, 李冬生, 等. 茶多酚对冷藏鲈鱼鲜度变化及肌原纤维蛋白氧化的影响[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(2): 290-294.  
Ju J, Qiao Y, Li D S, *et al.* Effect of tea polyphenols on the freshness and the oxidation of myofibrillar protein of weever during cold storage[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2018, 39(2): 290-294(in Chinese).
- [31] He Y F, Huang H, Li L H, *et al.* The effects of modified atmosphere packaging and enzyme inhibitors on protein oxidation of tilapia muscle during iced storage[J]. *LWT*, 2019, 87: 186-193.
- [32] 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.
- [33] Nair M N, Costa-Lima B R C, Schilling M W, *et al.* Proteomics of color in fresh muscle foods[M]//Colgrave M L. Proteomics in food science: From Farm to Fork. London: Elsevier Academic Press, 2017: 163-175.
- [34] 戚向阳. EGCG氧化产物制备新技术及结构鉴定[J]. *中国食品学报*, 2010, 10(6): 122-126.  
Qi X Y. New preparation technology and structure identification of EGCG oxidation products[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2010, 10(6): 122-126(in Chinese).

- [35] Shi C, Cui J Y, Yin X F, *et al.* Grape seed and clove bud extracts as natural antioxidants in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillets during chilled storage: effect on lipid and protein oxidation[J]. *Food Control*, 2014, 40: 134-139.
- [36] 相悦, 孙承锋, 李来好, 等. 花鲈冰藏过程中肌原纤维蛋白生化特性与新鲜度变化的相关性[J]. *水产学报*, 2021, 45(2): 283-295.
- Xiang Y, Sun C F, Li L H, *et al.* Correlation between changes in freshness and protein biochemical properties of *Lateolabrax japonicus* during iced storage[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2021, 45(2): 283-295(in Chinese).
- [37] 沈生荣, 杨贤强, 赵保路, 等. 茶多酚体外助氧化作用的自由基机理[J]. *茶叶科学*, 1992, 12(2): 145-150.
- Shen S R, Yang X Q, Zhao B L, *et al.* Radical mechanism of prooxidant effect on tea polyphenols (TP) *in vitro*[J]. *Journal of Tea Science*, 1992, 12(2): 145-150(in Chinese).
- [38] 刘美英, 梅建凤, 易喻, 等. 琼胶寡糖生物活性的研究进展[J]. *药物生物技术*, 2008, 15(6): 493-496.
- Liu M Y, Mei J F, Yi Y, *et al.* Advances in study on biological activities of agaro-oligosaccharide[J]. *Pharmaceutical Biotechnology*, 2008, 15(6): 493-496(in Chinese).
- [39] Song Y L, Liu L, Shen H X, *et al.* Effect of sodium alginate-based edible coating containing different antioxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalobrama amblycephala*)[J]. *Food Control*, 2011, 22(3-4): 608-615.
- [40] 何燕富, 黄卉, 李来好, 等. 低温贮藏的鱼肉品质变化及其影响因素的研究进展[J]. *大连海洋大学学报*, 2017, 32(2): 242-247.
- He Y F, Huang H, Li L H, *et al.* Advances on changes in quality of fish muscle during cold storage and its influence factors: a review[J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2017, 32(2): 242-247(in Chinese).
- [41] Yu D W, Jiang Q X, Xu Y S, *et al.* The shelf life extension of refrigerated grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets by chitosan coating combined with glycerol monolaurate[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 101: 448-454.
- [42] Latorre A L, Pérez C C, Fernández S F, *et al.* Selective removal of ATP degradation products from food matrices I: design and characterization of a dummy molecularly imprinted specific sorbent for hypoxanthine[J]. *Reactive and Functional Polymers*, 2015, 91-92: 51-61.
- [43] 赵永强, 杨贤庆, 李来好, 等. EGCG对尼罗罗非鱼肌原纤维蛋白降解的抑制作用[J]. *水产学报*, 2018, 42(8): 1307-1314.
- Zhao Y Q, Yang X Q, Li L H, *et al.* Inhibition of EGCG on myofibrillar protein degradation of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2018, 42(8): 1307-1314(in Chinese).
- [44] 黄渊, 岳世阳, 熊善柏, 等. 2种天然抗氧化剂与鲢鱼肌球蛋白的相互作用[J]. *食品科学*, 2019, 40(4): 14-20.
- Huang Y, Yue S Y, Xiong S B, *et al.* Interaction between two natural antioxidants and silver carp myosin[J]. *Food Science*, 2019, 40(4): 14-20(in Chinese).
- [45] 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 Y S, Yang J P, Lv C X, *et al.* Effect of hydroxyl radical oxidation system on structure of myofibrillar protein in cultured *Pseudosciaena crocea*[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(1): 29-33(in Chinese).
- [46] 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 Research International*, 2003, 36(8): 787-795.
- [47] 吕卫金, 赵进, 汪金林, 等. 茶多酚延缓冷藏大黄鱼肌原纤维蛋白变性降解机理研究[J]. *中国食品学报*, 2014, 14(1): 60-67.
- Lü W J, Zhao J, Wang J L, *et al.* Effects of tea polyphenols on preservation mechanism of myofibrillar protein from large yellow croaker[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2014, 14(1): 60-67(in Chinese).
- [48] Shahidi F, Janitha P K, Wanasundara P D. Phenolic antioxidants[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1992, 32(1): 67-103.

## Effects of agar-oligosaccharides and EGCG on the freshness and protein biochemical change of sea bass (*Lateolabrax japonicus*) fillets during ice storage

XIANG Yue<sup>1,2</sup>, SUN Chengfeng<sup>2</sup>, LI Laihao<sup>1,3</sup>, YANG Xianqing<sup>1,3</sup>, WU Yanyan<sup>1,3</sup>,  
CEN Jianwei<sup>1,3</sup>, WEI Ya<sup>1,3</sup>, LI Rui<sup>1,2</sup>, ZHAO Yongqiang<sup>1,3\*</sup>

(1. Key Laboratory of Aquatic Product Processing, Ministry of Agriculture and Rural Affairs,  
South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China;

2. College of Life Science, Yantai University, Yantai 264005, China;

3. Collaborative Innovation Center of Seafood Deep Processing, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China)

**Abstract:** Sea bass (*Lateolabrax japonicus*) is an economically important marine species widely cultured in fisheries worldwide. During storage and transportation, *L. japonicus* are susceptible to be deteriorated due to the combined effects of microorganisms and endogenous enzymes, resulting in the change of freshness and protein biochemical, which affects its edible value. Therefore, it is particularly important to ensure its quality and safety by taking the appropriate regulation methods of fish quality changes during storage and transportation. In this study, the quality parameters including texture, color, and freshness parameters including thiobarbituric acid, *K*-value, total volatile based nitrogen, total viable count and sensory score, and the protein biochemical characteristics (myofibrillar protein content, secondary structure, sulfhydryl and carbonyl content) were measured periodically to analyze the effect of epigallocatechin gallate (EGCG) and agar oligosaccharide (AO) on the freshness of sea bass fillets during ice storage. The results showed that the total number of colonies and *K* values of the control group at the 16th day were as high as  $(6.78 \pm 0.15)$  lg (CFU/g) and  $67.37\% \pm 1.75\%$  respectively, and the sensory score was lower than 8, indicating the fillets were inedible at this time. While the samples of EGCG group (EG), the agar oligosaccharide group (AO) and the composite group can maintain value of the hardness, color, and other freshness related index. The TBA value of the control group were as high as  $(0.81 \pm 0.03)$  mg/kg after post mortem 20 days. However, the TBA values of the EG group, AO group, and composite group did not increase significantly during storage, and were always lower than the control group. In addition, the carbonyl content of the control group was significantly higher than that of other treatment groups from 12 days ( $P < 0.05$ ), and increased to  $(1.63 \pm 0.04)$  nmol/mg at the end period of storage, while the carbonyl content of the EG group, AO group and composite group was only  $(1.14 \pm 0.03)$ ,  $(1.28 \pm 0.08)$  and  $(0.99 \pm 0.09)$  nmol/mg respectively. The contents of protein, and sulfhydryl of the composite group samples were  $(70.58 \pm 2.02)$  mg/g and  $(39.39 \pm 0.99)$   $\mu$ mol/g prot, respectively, which were higher than those in the control group and other treated groups at 20 days. The value of  $\alpha$ -helix were  $15.38\% \pm 0.55\%$ ,  $15.30\% \pm 1.85\%$ , and  $18.47\% \pm 0.74\%$  in EG group, AO group, and composite group at 16 days, respectively, which were significantly higher than that of control with  $13.26\% \pm 0.51\%$ . The value of random coil was increased from the initial value of  $13.97\% \pm 0.91\%$  to  $24.36\% \pm 2.57\%$  when storage for 16 days, while the value of composite group was only  $16.75\% \pm 0.99\%$ , indicating that the treatment of EG and AO suppressed the disordered changes of proteins. The results showed that EGCG and agar oligosaccharide had both good preserve effect, which could maintain the freshness of fish fillets, and significantly inhibit protein denaturation and oxidation of proteins. EGCG combined with agar oligosaccharide had better preservative effect than the single preservative, and extend the shelf life to more than 20 days. This research provides a theoretical basis for the preservation mechanism of EGCG and agar oligosaccharide and a reference for the development the novel efficient biological preservatives.

**Key words:** *Lateolabrax japonicus*; EGCG; agar oligosaccharide; freshness; protein; biochemical properties

**Corresponding author:** ZHAO Yongqiang. E-mail: zhaoyq@scsfri.ac.cn

**Funding projects:** National Key R & D Program of China(2018YFD0901006); China Agriculture Research System of MOF and MARA(CARS-47, CARS-50); Special Scientific Research Funds for Central Nonprofit Institute (2020TD73, 2021SD07); Modern Agricultural Industry Technology System of Guangdong-marine fish (2019KJ143); “Yang Fan” Innovative and Entrepreneurial Research Team Project (2015YT02H109)