

文章编号: 1674-5566(2018)05-0789-08

DOI:10.12024/jsou.20171102163

冷冻鱼糜绿色抗冻剂的研究进展

杨贤庆¹, 袁悦^{1,2}, 赵永强¹, 李来好¹, 吴燕燕¹, 魏涯¹, 岑剑伟¹

(1. 中国水产科学研究院南海水产研究所 农业部水产品加工重点实验室, 广东 广州 510300; 2. 上海海洋大学 食品学院, 上海 201306)

摘要: 冷冻贮藏是鱼糜重要的贮藏方法, 但冻藏方法的不恰当以及缓化会引起鱼肌原纤维蛋白的变性, 造成鱼糜品质下降。添加抗冻剂被认为是防止水产品蛋白质冷冻变性的最有效方法之一。文章探讨了冷冻鱼糜在冻藏过程中的物理及化学变化、鱼糜蛋白质冷冻变性规律及抗冻剂的作用机理, 在此基础上分别综述了如: 海藻糖、藻类提取物、多酚类物质及蛋白水解物等类型的绿色抗冻剂的研究与应用进展。最后, 文章分析了冷冻鱼糜抗冻剂存在的问题, 并对其发展趋势进行展望, 旨在为绿色冷冻鱼糜抗冻剂筛选研究及鱼糜加工业选取合适的抗冻剂提供参考。

关键词: 冷冻鱼糜; 蛋白质氧化; 冷冻变性; 抗冻剂; 抗冻效果

中图分类号: S 968.1 **文献标志码:** A

中国是渔业生产大国, 2016 年我国养殖鱼类总量达 2 950.3 万 t, 捕捞鱼类 1 089.6 万 t, 鱼糜制品加工是我国鱼类精深加工的一个重要发展方向。近年来, 消费者对鱼丸、鱼糕、鱼肉香肠及模拟蟹肉等鱼糜制品的消费量逐年上升, 2016 年我国鱼糜制品总产量达 155.4 万 t, 比 2015 年 (145.4 万 t) 提高了 6.84%, 鱼糜及鱼糜制品加工业发展前景广阔^[1]。冷冻贮藏是鱼糜重要的贮藏方法, 但冻藏方法的不恰当以及缓化会引起鱼糜蛋白的变性, 造成鱼糜品质下降。DYER^[2]通过实验证明了变性的蛋白质大部分是肌原纤维蛋白中的肌球蛋白部分。目前, 为了防止鱼糜蛋白质的冷冻变性, 工业上选择在鱼糜中添加 4% 蔗糖、4% 山梨醇和 0.3% 多聚磷酸盐混合物, 通常被称为“商业抗冻剂”。近年来, 消费者逐渐倾向于低甜度、低热量的食品, 而商业抗冻剂的甜度和热量较高, 与消费趋势相违背, 因此寻找新型、绿色抗冻剂成为了研究的热点。本文探讨了鱼糜蛋白质的冷冻变性规律以及抗冻剂的作

用机理, 并且综述了绿色抗冻剂如海藻糖、藻类提取物、多酚类物质、蛋白水解产物型抗冻剂以及抗冻蛋白的研究进展。

1 鱼糜蛋白质冻藏时变性的机理

早先, 有学者认为蛋白质可利用的自由含水量减少, 组织盐浓度的升高, 冰晶引起蛋白质水合物结构的破坏是导致鱼糜蛋白冷冻变性的主要原因^[3-4]。目前, 关于鱼糜蛋白质冷冻变性机理表述有 3 种^[5]: 一是结合水离散学说, 即鱼糜在冻藏期间, 与蛋白质相互结合的水分离开蛋白质形成冰晶, 冰晶的生长会挤压蛋白质, 使得蛋白质发生聚集, 从而变性, 另一方面来说, 鱼糜解冻后, 从蛋白质分子脱离出来的结合水无法回到原来的位置, 从而导致蛋白质变性; 二是水化作用学说, 即鱼糜冻结形成冰晶, 破坏了蛋白质与水的结合状态, 导致蛋白质内部的共价键以及非共价键被破坏, 同时重新形成的键已不是之前的位点, 于是蛋白质空间结构改变, 致使变性; 三是

收稿日期: 2017-11-07 修回日期: 2018-05-24

基金项目: 中国水产科学研究院基本科研业务专项(2016HY-ZD1001); 国家现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-46, CARS-50, CARS-47); 广州市珠江科技新星专项(201710010167); 国家自然科学基金(31401563, 31601533); 中国水产科学研究院南海水产研究所中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助(2017YB13); “扬帆计划”引进创新创业团队专项(2015Y702H109)

作者简介: 杨贤庆(1963—), 男, 研究员, 研究方向为水产品加工与质量安全。E-mail: yxqgd@163.com

胞液 pH 波动学说,即随着冻结温度降低,细胞液中的水分逐渐变为冰晶,此时胞液浓缩导致内部 pH 发生较大波动,由于蛋白质对 pH 改变比较敏感,从而变性。此外,鱼糜在冻藏时,蛋白质还会发生氧化变性,LUND^[6]总结了其机理:活性氧簇(ROS)接触蛋白质分子,导致蛋白质脱去一个氢原子形成以碳原子为中心的蛋白质活性基团(P·),在氧气的作用下会不断转变成过氧自由基(POO·),随后过氧自由基使另一个蛋白分子脱去氢原子生成烷基过氧化物(POOH),最后烷基过氧化物与过氧自由氢(HO₂·)反应形成烷氧基(PO·)及其羟基衍生物(POH)。氧化变性后的蛋白质更容易发生蛋白质交联,侧链氨基酸修饰及蛋白质链断裂,最终将会影响鱼糜的品质。

2 鱼糜在冻藏过程中的物理化学变化

2.1 肌原纤维蛋白盐溶性变化

鱼糜在冻藏期间,结合水析出形成冰晶,随后冰晶生长会挤压肌原纤维蛋白,促使肌原纤维蛋白分子之间形成氢键,疏水键,以及盐键等非共价键,从而产生大分子聚集体,导致其盐溶性下降。另外,肌原纤维蛋白变性后会产生一种碱性蛋白质^[7],其特点是易溶于碱性溶液而在其他溶液中溶解度较小,因此肌原纤维蛋白盐溶性会下降。束玉珍等^[8]研究了鲈鱼(*Scomber japonicus*)肉酶解物对带鱼(*Trichiurus lepturus*)鱼糜蛋白冷冻变性的影响,发现鱼糜在-20℃冻藏4周后,空白组鱼糜肌原纤维蛋白盐溶性降为原来的65.51%,而各酶解物组分别降至原来的78.55%、80.05%、81.60%、83.27%和86.90%。PAN等^[9]研究了海藻糖对草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)鱼糜抗冻效果的影响,发现-18℃冻藏25周后,空白组的盐溶性蛋白含量下降了72.8%,商业抗冻剂组下降了43.7%,海藻糖组下降了40.2%。因而可知,鱼糜在冻藏过程当中,盐溶性蛋白质含量通常会下降,从而影响鱼糜的凝胶特性,导致鱼糜感官品质下降,添加蛋白水解物或者海藻糖可以显著解决这一问题。

2.2 肌原纤维蛋白的Ca²⁺-ATPase活性的变化

肌原纤维蛋白主要包括原肌球蛋白、肌球蛋白、肌原蛋白、肌动球蛋白等几类,其中肌球蛋白

含量最高,又因肌球蛋白头部具有Ca²⁺-ATPase活性,因此研究鱼糜蛋白冷冻变性时,通常将它作为重要指标之一。丁晨等^[10]研究了多种糖类添加物对秘鲁鱿鱼(*Loliginidae*)肌原纤维蛋白的抗冻效果,发现-18℃冻藏6周后,各个处理组的肌原纤维蛋白Ca²⁺-ATPase活性均降低,且海藻糖或者海藻胶寡糖对该酶活性降低具有一定的阻碍效果。KONG等^[11]研究了冰温技术与抗冻剂作用联用对鲤鱼(*Cyprinus carpio*)鱼糜蛋白质的影响,发现随着冰温贮藏时间的延长,Ca²⁺-ATPase活性显著降低($P < 0.05$),但冰温技术与抗冻剂作用联用能显著降低Ca²⁺-ATPase活性丧失程度($P < 0.05$)。鱼糜在冻藏过程中,冰晶生长,细胞离子强度增加以及蛋白质分子相互作用重排都能影响肌球蛋白的完整性,因此肌原纤维蛋白的Ca²⁺-ATPase活性会下降,但是添加适量的蔗糖和山梨醇,且选择较低温度贮藏能有效抑制。

2.3 肌原纤维蛋白总巯基含量的变化

肌球蛋白分子中含有活性巯基和隐藏的巯基,活性巯基可分为3类^[12]:SH1、SH2和SHa,其中SH1和SH2影响着肌球蛋白Ca²⁺-ATPase活性,而SHa与肌球蛋白重链(myosin heavy chain, MHC)的氧化及二聚物的形成相关。鱼糜在冻藏时,肌原纤维蛋白构象发生改变,会导致隐藏的巯基暴露,而巯基又易于氧化成二硫键^[13],故总的巯基含量下降。王宁等^[14]研究了海藻糖、山梨糖醇、柠檬酸钠的复配对大黄花鱼(*Larimichthys*)肌原蛋白的影响,发现-18℃冻藏35d后,空白组总巯基含量下降31%,海藻糖、山梨糖醇、柠檬酸钠混合组仅下降了13.1%。HUNT等^[15]研究了冻结速度与抗冻剂共同作用,对阿拉斯加狭鳕鱼(*Theragra chalcogramma*)鱼糜的影响,发现-30℃冻藏12个月后,总巯基含量均有所下降,并且冻结速率不同,巯基含量变化程度也不同。总体来看,随着冻藏时间的延长,巯基含量下降,并且部分巯基氧化成二硫键,加强了肌原纤维蛋白分子间的相互作用,致使蛋白质分子更容易聚集变性,添加海藻糖或者采用快速冷冻技术能有效防止。

2.4 肌原纤维蛋白羰基含量的变化

蛋白质羰基化是一种不可逆的,非酶促引起的蛋白质修饰,蛋白质中羰基的生成方式有4

种^[16]:(1)直接氧化蛋白质侧链某些氨基酸(赖氨酸、苏氨酸、精氨酸和脯氨酸);(2)还原糖存在时引起的非酶糖基化作用;(3)通过氧化谷氨酰胺侧链或者 α -酰胺化途径氧化裂解肽主链;(4)蛋白质共价结合非蛋白质羰基化合物如丙二醛等。鱼糜在冻藏时,肌原纤维蛋白质会发生氧化羰基化,完整性被破坏,进而影响鱼糜持水性、口感以及嫩度^[17],所以羰基含量常用作鱼糜蛋白质氧化变性的一个重要指标。ROSA 等^[18]研究了蛋白水解物和褐藻提取物对鳕鱼(*Gadus morhua*)蛋白质的抗氧化效果,发现冻藏 2 d 后,各组羰基含量均显著上升,冻藏 7 d 后,添加了褐藻提取物的组总的羰基含量上升最少。SYLVIE 等^[19]研究了马鲛鱼(*Scomberomorus niphonius*)鱼糜再加工和冻藏过程中蛋白质和脂质氧化,发现冻藏一段时间后,总的羰基含量显著上升;WANG 等^[20]研究了抗坏血酸、 α -生育酚、褐藻多酚分别对真鲷(*Pagrosomus major*)鱼糜蛋白质氧化及质构特性的影响,发现在 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻藏 90 d 后,鱼糜蛋白总的羰基含量均有所上升,但相对于对照组,上升趋势较缓。总的来说,鱼糜在冻藏期间,脂质氧化产生的糖基化终产物与肌原纤维蛋白结合形成羰基,使总的羰基含量上升,导致鱼糜质构和风味变差,添加适量的茶多酚或者海藻提取物可以有效改善。

3 绿色抗冻剂的作用机理及应用

抗冻剂,是一种添加到食品中能防止食品遭受冷冻损害以达到较长时间保存效果的物质。日本最早将丙三醇添加到水产品中,来防止水产品的蛋白质变性^[21]。传统抗冻剂(蔗糖、山梨醇、多聚磷酸盐混合物)虽然抗冻效果良好,但其高甜度、高热量不利于肥胖症患者及糖尿病人,考虑到当今消费趋势以及某些特殊人群,研发绿色的、新型的抗冻剂具有重要的经济效益和现实意义。通常用作抗冻剂的物质具有以下 3 个特点^[22]:(1)必须含有-OH 或-COOH 必需基团以及一个以上的-SH、-NH₂、-SO₃H、-OPO₃H₂ 等辅助基团;(2)必需基团和辅助基团位置要分布合理;(3)相对分子质量较小。

3.1 海藻糖

海藻糖在自然界分布广泛,细菌、酵母菌、真菌、昆虫、无脊椎动物和植物均存在;它是一种非

还原性二糖,甜度值和热量值低,仅为蔗糖的 45%^[23-24]。冻藏过程中,海藻糖与蛋白质的极性基团结合^[25],取代了部分结合水,避免了蛋白质的聚集变性。另外,相比与其它糖类,海藻糖与水分子之间可以形成更多氢键(O-H \cdots O 和 C-H \cdots O)^[26],但这些氢键不稳定,即它们断裂与生成的速度很快,海藻糖与周围水分子进行快速的氢键交换减缓了水分子形成典型的冰晶体构型,从而阻碍冰晶的生成,进而减缓鱼糜蛋白变性。OSAKO 等^[27]研究了海藻糖对马鲛鱼鱼糜的抗冻效果,发现 $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻藏 120 d 天后,对照组 Ca²⁺-ATPase 活性下降了近 90%,海藻糖添加量为 7.5%时,Ca²⁺-ATPase 活性损失显著减少;MA 等^[28]比较研究了海藻糖,藻酸盐及寡糖对虾仁(*Litopenaeus vannamei*)的抗冻效果,发现 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻藏 5 周后,添加 1%海藻糖的组肌原纤维蛋白含量与 Ca²⁺-ATPase 活性均保持最高;NOPIANTI 等^[29]研究了低甜度添加剂对金线鱼(*Nemipterus virgatus*)鱼糜的抗冻效果,发现海藻糖对鱼糜蛋白质 Ca²⁺-ATPase 活性、盐溶性蛋白含量、巯基含量都有较好的保护效果。迄今为止,有关海藻糖的研究有很多,都能证明其具有良好的抗冻效果,可以替代传统的抗冻剂,现在有很多学者将海藻糖与其他物质复配来研究复合抗冻剂的机理与效果。海藻糖虽然具有广泛的应用前景,但也可能具有隐藏的风险,COLLINS 等^[30]研究发现艰难梭菌(*Clostridium difficile*)流行病的爆发频率和严重性的增加或许与广泛使用的食品添加剂海藻糖相关联,这种细菌会导致危及生命的结肠炎症和腹泻。

3.2 蛋白质水解物

蛋白质水解物是一种有效的绿色抗冻剂,其抗冻机理^[31]为:有较大比例的亲水性氨基酸的蛋白水解物能够与水作用形成氢键,增强冻结过程中水的稳定性,减少巨大冰晶体的形成,从而避免蛋白质空间构象变化而引起的开链变性。BETTI 等^[32]研究了鸡肉胶原蛋白水解物对肌球蛋白的抗冻效果,发现其在抑制冰晶生长、减缓蛋白质冷冻变性、氧化变性方面跟商业抗冻剂相似;NIKOO 等^[33]总结认为甲壳素或蛋白质水解物可通过降低蛋白质的结构修饰或抑制蛋白质交联和羰基化合物的形成来阻止肌原纤维蛋白变性。PHANAT 等^[34]研究发现,水解程度为

10%的黑尾真鲨 (*Carcharhinus amblyrhynchos*) 皮肤水解产物在防止鱼糜冷冻变性方面与商业抗冻剂具有同等效果,因此,明胶水解产物可以作为替代传统抗冻剂的冷冻保护剂,并且具有较低的甜度;JENKELUNAS 等^[35]研究发现添加 4% 或者更高浓度的狗鲂鱼 (*Merluccius productus*) 蛋白水解物在防止肌球蛋白变性方面与商业抗冻剂类似,当蛋白水解物添加量达到 8% 时,则会增加鱼糜制品的苦腥味;NIKOO 等^[36]总结认为海产品衍生肽具有抗氧化和抗冻的双重功能特性。蛋白质水解物作为抗冻剂能显著延缓肌原纤维蛋白的变性,并维持了与鱼糜和鱼糜制品质量相关的蛋白质的功能性质,然而有关蛋白质水解物对鱼糜感官品质(如颜色和味道)的研究较少,因此未来的研究应该注重于蛋白质水解产物对鱼糜感官性质的影响。蛋白水解物由于其功能和健康益处的优势,被认为可以开发为有利的抗冻剂,然而很多蛋白水解物在酶解时都会产生明显的苦味^[37],从而制约了其在食品行业中的应用,故需进一步优化其制取工艺,减少不必要的异味。

3.3 抗冻蛋白

抗冻蛋白是一种具有独特性质(热滞后、冰结晶抑制及与细胞膜或者膜蛋白相互作用)的生物抗冻剂,其抗冻机理^[38-39]:能够不可逆地结合冰晶,随后抑制冰晶的生长,从而形成温度差距即热滞后,此外,抗冻蛋白与细胞膜或者膜蛋白的相互作用可以强化加固细胞,保护细胞免受冷冻损伤,最终达到抗冻效果。目前,有关抗冻蛋白在食品中应用的文献大部分都申请了专利,近年来的研究大都是关于医学或者生物学的。BOONSUPHIP 等^[40]研究了抗冻蛋白对冻藏的肌球蛋白的影响,结果发现,在冷冻条件下贮藏 3 d 后,抗冻蛋白在保护肌球蛋白 Ca^{2+} -ATPase 方面明显优于常规抗冻剂,对照组和添加了常规抗冻剂组 Ca^{2+} -ATPase 分别下降了 80% 和 50%,而添加了抗冻蛋白的组基本保持不变;谭昭仪等^[41]在鳙鱼 (*Aristichthys nobilis*) 鱼糜中添加新型蛋白抗冻剂,并且以商业抗冻剂作为对照,结果显示,鱼糜在冻藏 24 周后,在抑制鱼糜失水率上升,减缓盐溶性蛋白含量下降,及增强凝胶强度等方面,新型蛋白抗冻剂的效果都优于商业抗冻剂。抗冻蛋白作为一种绿色的抗冻剂,不仅能有效保

护鱼糜蛋白的功能特性,而且对鱼糜的感官品质几乎没有影响,最重要的是适合所有人群。然而,获取抗冻蛋白的方式主要是从自然生物体中提取或基因工程,其可用性和安全性有必要做进一步的研究^[42-43],故而,抗冻蛋白目前难以商业化使用。

3.4 多酚类与藻类提取物

多酚类是植物中发现的一类化学物质的总称,通常分为 4 类:黄酮、酚酸、羟基肉桂酸和木脂素。鱼糜在冻藏时,肌原纤维蛋白质容易发生氧化羰基化,导致蛋白质变性及其功能特性丢失,因此有必要寻找具有抗氧化活性的物质来抑制羰基生成。近来,MAQSOOD 等^[44]总结认为天然多酚类化合物可以作为潜在的抗氧化、抗菌、抗褐变以及蛋白质的交联剂,以保持或提高鱼和鱼产品的质量。LIN 等^[45]发现包种茶提取物能显著抑制小金枪鱼 (*Linnaeus*) 的蛋白质羰基化;EYMARD 等^[46]发现咖啡酸能有效阻止鱼糜在加工及冷冻贮藏时蛋白质的氧化;LUO 等^[47]发现葡萄籽及丁香苞提取物能减缓冷冻贮藏时鲢鱼 (*Hypophthalmichthys molitrix*) 蛋白质的氧化。此外,藻类提取物对鱼糜蛋白质抗氧化效果的研究也是一个热点。高玉丽等^[48]研究了红藻糖苷对草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*) 鱼糜的抗冻性能,发现 10% 红藻糖苷处理冷冻鱼糜 4 周后,相对于空白组,盐溶性蛋白含量和巯基含量分别高出 30.62%、32.80%,肌原纤维蛋白 Ca^{2+} -ATPase 活性下降率要低 37.51%,解冻后在抑制失水方面的效果要高出对照组 133.07%。JACOBSEN 等^[49]发现 50% 多管藻乙醇提取物对鲭鱼 (*Scomber scombrus*) 鱼糜蛋白的抗氧化效果与人工合成抗氧化剂 BHT 效果类似。然而,也有研究表明多种酚类化合物,包括茶多酚在内会导致蛋白质中羰基的形成^[50];槲皮素和迷迭香酚对鱼糜蛋白质会产生促氧化效应^[51]。另外,很多天然多酚类物质和藻类提取物都带有颜色,作为抗冻剂添加到鱼糜中,或许会对感官品质产生不良影响。迄今为止,大部分文献都是介绍多酚类及藻类提取物对蛋白质的抗氧化性的表征效果,而深层次的作用机理很少报道,因此今后研究者应着重于多酚类及藻类提取物对何种蛋白质起作用及作用位点等方面开展深入研究,探明多酚类抗冻剂的作用机制。

4 展望

现阶段工业上为防止鱼糜蛋白质冷冻变性,普遍还是通过添加抗冻剂来实现,然而商业抗冻剂甜度高、热量大,因此有必要研究筛选绿色抗冻剂。国内外已有不少研究表明:一些低聚糖类如聚葡萄糖、海藻糖等具有明显的抗冻效果;蛋白质水解物富含多肽和游离氨基酸,热量少,可以替代传统商业抗冻剂;抗冻蛋白作为抗冻剂可以提高鱼糜的鲜度和风味,由于成本较高,故在商业上较难广泛使用;多酚类物质其固有的抗氧化活性,国内外已有研究表明它对脂质氧化具有明显的抑制作用,但是对蛋白质的抗氧化作用却存在着矛盾^[52];海藻提取物作为抗冻剂是一个热点,里面涉及多种工艺;多酚类与藻类提取物对蛋白质的抗氧化作用机理还没有明确,今后还需要大量的实验研究。除此之外,有学者^[53]采用了真空浸渍(vacuum infiltration, VI)和高压脉冲电场(high voltage pulsed electric field, PEF)技术,目的是让抗冻剂在食品中均匀分布,从而达到更好的抗冻效果,将来可以考虑研究冷冻新技术与各种类型抗冻剂联用,以找到更好地防止鱼糜冷冻变性的方法。

参考文献:

- [1] 农业部渔业渔政管理局. 中国渔业统计年鉴-2016[M]. 北京: 中国农业出版社, 2017.
Bureau of Fisheries, Ministry of Agriculture. China fishery statistical yearbook-2016[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2017.
- [2] DYER W J. Protein denaturation in frozen and stored fisha [J]. Journal of Food Science, 1951, 16(1/6): 522-527.
- [3] NÉMETHY G, SCHERAGA H A. Structure of water and hydrophobic bonding in proteins. I. A model for the thermodynamic properties of liquid water [J]. Journal of Chemical Physics, 1962, 36(12): 3382-3400.
- [4] SIKORSKI Z E, OLLEY J, KOSTUCH S, et al. Protein changes in frozen fish[J]. CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1976, 8(1): 97-129.
- [5] 潘锦锋, 沈慧星, 宋永令, 等. 鱼蛋白冷冻变性及其抗冻剂的研究综述[J]. 肉类研究, 2009(6): 9-15.
PAN J F, SHEN H X, SONG Y L, et al. A review of study on freezing denaturation of fish protein and its cryoprotectants [J]. Meat Research, 2009(6): 9-15.
- [6] LUND M N, HEINONEN M, BARON C P, et al. Protein oxidation in muscle foods; a review[J]. Molecular Nutrition and Food Research, 2011, 55(1): 83-95.
- [7] 曾名勇, 黄海, 李八方. 不同冻藏温度对鲈鱼肌肉蛋白质生化特性的影响[J]. 中国海洋大学学报, 2003, 33(4): 525-530.
ZENG M Y, HUANG H, LI B F. Effect of frozen storage temperature on the changes of biochemical properties of *Lateolabrax japonicus* muscle protein [J]. Journal of Ocean University of Qingdao, 2003, 33(4): 525-530.
- [8] 束玉珍, 杨文鸽, 徐大伦, 等. 鲈鱼肉酶解物对带鱼鱼糜蛋白冷冻变性的影响[J]. 中国食品学报, 2014, 14(1): 68-73.
SHU Y Z, YANG W G, XU D L, et al. Effect of mackerel hydrolysate on protein denaturation of hairtail surimi during frozen storage [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2014, 14(1): 68-73.
- [9] PAN J F, SHEN H X, LUO Y K. Cryoprotective effects of trehalose on grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) surimi during frozen storage [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2010, 34(4): 715-727.
- [10] 丁晨, 谢超, 张宾, 等. 多种糖类添加物对秘鲁鱿鱼(Loliginidae)肌原纤维蛋白抗冻保水效果及构象变化影响研究[J]. 海洋与湖沼, 2014, 45(5): 1044-1050.
DING C, XIE C, ZHANG B, et al. Different trehalose additives of Peru Squid (Loliginidae) myofibril protein antifreeze effect and conformational changes mechanism research [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2014, 45(5): 1044-1050.
- [11] LIU Q, CHEN Q, KONG B H, et al. The influence of superchilling and cryoprotectants on protein oxidation and structural changes in the myofibrillar proteins of common carp (*Cyprinus carpio*) surimi [J]. LWT-Food Science and Technology, 2014, 57(2): 603-611.
- [12] 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, 24(3): 153-157.
ZHOU A M, ZENG Q X, LIU X, et al. Physicochemical changes of fish muscle protein during frozen storage and its affecting factors [J]. Food Science, 2003, 24(3): 153-157.
- [13] BUTTKUS H. The sulfhydryl content of rabbit and trout myosins in relation to protein stability [J]. Canadian Journal of Biochemistry, 1971, 49(1): 97-107.
- [14] 王宁, 李亮, 李敏, 等. 海藻糖、山梨糖醇、柠檬酸钠对大黄花鱼肌原蛋白抗冷冻变性的影响[J]. 食品工业科技, 2017, 38(18): 232-236, 246.
WANG N, LI L, LI M, et al. Influence of trehalose, sorbitol and sodium citrate on anti-freeze denaturation of large yellow croaker muscle's proprotein [J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(18): 232-236, 246.
- [15] HUNT A, PARK J W. Comparative study of sodium bicarbonate on gelling properties of alaska pollock surimi prepared at different freezing rates [J]. Journal of Food Quality, 2014, 37(5): 349-360.
- [16] ESTÉVEZ M. Protein carbonyls in meat systems; a review

- [J]. *Meat Science*, 2011, 89(3): 259-279.
- [17] 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.
- [18] JÓNSDÓTTIR R, GEIRSDÓTTIR M, HAMAGUCHI P Y, et al. The ability of *in vitro* antioxidant assays to predict the efficiency of a cod protein hydrolysate and brown seaweed extract to prevent oxidation in marine food model systems [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2016, 96(6): 2125-2135.
- [19] EYMARD S, BARON C P, JACOBSEN C. Oxidation of lipid and protein in horse mackerel (*Trachurus trachurus*) mince and washed minces during processing and storage[J]. *Food Chemistry*, 2009, 114(1): 57-65.
- [20] WANG T T, LI Z X, YUAN F Z, et al. Effects of brown seaweed polyphenols, α -tocopherol, and ascorbic acid on protein oxidation and textural properties of fish mince (*Pagrosomus major*) during frozen storage[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2017, 97(4): 1102-1107.
- [21] 严宏忠. 鱼肉蛋白质的冷冻变性及防止办法[J]. *中国水产*, 1995(3): 37-38.
- YAN H Z. Frozen denaturation of fish protein and its prevention[J]. *China Fisheries*, 1995(3): 37-38.
- [22] NOGUCHI S, MATSUMOTO J J. Studies on control of the denaturation of the fish muscle proteins during the frozen storage-I: preventive effect of Na-glutamate [J]. *Japanese Society of Fisheries Science*, 1970, 36(10): 1078-1087.
- [23] GIANNOU V, TZIA C, LE BAIL A. Quality and safety of frozen bakery products[M]//SUN D W. *Handbook of Frozen food Processing and Packaging*. Boca Raton, FL: Taylor & Francis, 2006: 482-499.
- [24] ZHOU A M, BENJAKUL S, PAN K, et al. Cryoprotective effects of trehalose and sodium lactate on tilapia (*Sarotherodon nilotica*) surimi during frozen storage [J]. *Food Chemistry*, 2006, 96(1): 96-103.
- [25] PATIST A, ZOERB H. Preservation mechanisms of trehalose in food and biosystems [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2005, 40(2): 107-113.
- [26] PAMIES S C, PETELSKI A N, CASTRO E A, et al. Static and dynamic study of disaccharides trehalose, maltose and sucrose[J]. *Structural Chemistry*, 2017, 28(4): 911-924.
- [27] OSAKO K, HOSSAIN M A, KUWAHARA K, et al. Effect of trehalose on the gel-forming ability, state of water and myofibril denaturation of horse mackerel *Trachurus japonicus* surimi during frozen storage [J]. *Fisheries Science*, 2005, 71(2): 367-373.
- [28] MA L K, ZHANG B, DENG S G, et al. Comparison of the cryoprotective effects of trehalose, alginate, and its oligosaccharides on peeled shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during frozen storage[J]. *Journal of Food Science*, 2015, 80(3): C540-C546.
- [29] NOPIANTI R, HUDA N, NORIYATI I, et al. Cryoprotective effect of low-sweetness additives on protein denaturation of threadfin bream surimi (*Nemipterus* spp.) During frozen storage [J]. *CyTA-Journal of Food*, 2012, 10(3): 243-250.
- [30] COLLINS J, ROBINSON C, DANHOF H, et al. Dietary trehalose enhances virulence of epidemic *Clostridium difficile* [J]. *Nature*, 2018, 553(7688): 291-294.
- [31] 张艳, 王圣开. 鱼肉蛋白质冷冻变性及抗冻剂的研究进展[J]. *肉类研究*, 2008(12): 11-14.
- ZHANG Y, WANG S K. Research progress of the fish protein frozen denaturation and cryoprotectants [J]. *Meat Research*, 2008(12): 11-14.
- [32] DU L H, BETTI M. Chicken collagen hydrolysate cryoprotection of natural actomyosin: Mechanism studies during freeze-thaw cycles and simulated digestion [J]. *Food Chemistry*, 2016, 211: 791-802.
- [33] NIKOO M, BENJAKUL S, RAHMANIFARAH K. Hydrolysates from marine sources as cryoprotective substances in seafoods and seafood products [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2016, 57: 40-51.
- [34] KITTIPIHATTANABAWON P, BENJAKUL S, VISESSANGUAN W, et al. Cryoprotective effect of gelatin hydrolysate from blacktip shark skin on surimi subjected to different freeze-thaw cycles [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2012, 47(2): 437-442.
- [35] JENKELUNAS P J, LI-CHAN E C Y. Production and assessment of pacific hake (*Merluccius productus*) hydrolysates as cryoprotectants for frozen fish mince [J]. *Food Chemistry*, 2018, 239: 535-543.
- [36] NIKOO M, BENJAKUL S. Potential application of seafood-derived peptides as bifunctional ingredients, antioxidant - cryoprotectant; a review [J]. *Journal of Functional Foods*, 2015, 19: 753-764.
- [37] 应欣, 张连慧, 陈卫华. 蛋白水解物苦味形成、评价及功能活性的研究进展 [J]. *中国粮油学报*, 2017, 32(12): 141-146.
- YING X, ZHANG L H, CHEN W H. Research advances in bitterness formation, evaluation and function studies of protein hydrolysates [J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2017, 32(12): 141-146.
- [38] KIM H J, LEE J H, HUR Y B, et al. Marine antifreeze proteins: structure, function, and application to cryopreservation as a potential cryoprotectant [J]. *Marine Drugs*, 2017, 15(2): 27.
- [39] USTUN N S, TURHAN S. Antifreeze proteins: characteristics, function, mechanism of action, sources and application to foods [J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2015, 39(6): 3189-3197.
- [40] BOONSUPTHIP W, LEE T C. Application of antifreeze protein for food preservation: effect of type III antifreeze protein for preservation of gel-forming of frozen and chilled actomyosin

- [J]. *Journal of Food Science*, 2003, 68(5): 1804-1809.
- [41] 谭昭仪, 邸向乾, 白艳龙, 等. 新型蛋白抗冻剂对鳙鱼鱼糜抗冻效果的研究[J]. *上海海洋大学学报*, 2013, 22(5): 796-800.
- TAN Z Y, DI X Q, BAI Y L, et al. Study on cryoprotective effects of new cryoprotectants on bighead carp surimi during frozen storage [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2013, 22(5): 796-800.
- [42] WANG W L, CHEN M S, WU J H, et al. Hypothermia protection effect of antifreeze peptides from pigskin collagen on freeze-dried *Streptococcus thermophiles* and its possible action mechanism [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2015, 63(2): 878-885.
- [43] WANG S Y, DAMODARAN S. Ice-structuring peptides derived from bovine collagen [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(12): 5501-5509.
- [44] MAQSOOD S, BENJAKUL S, SHAHIDI F. Emerging role of phenolic compounds as natural food additives in fish and fish products [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2013, 53(2): 162-179.
- [45] LIN C C, LIN C S. Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillets by glazing with tea extracts [J]. *Food Control*, 2005, 16(2): 169-175.
- [46] EYMARD S, JACOBSEN C, BARON C P. Assessment of washing with antioxidant on the oxidative stability of fatty fish mince during processing and storage [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(10): 6182-6189.
- [47] 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.
- [48] 高玉丽, 李九零, 严小军, 等. 红藻糖苷的提取及其对草鱼鱼糜抗冻性能的影响[J]. *水产学报*, 2017, 41(2): 311-318.
- GAO Y L, LI J L, YAN X J, et al. Extraction of floridoside and the effect of floridoside on *Ctenopharyngodon idella* surimi during frozen storage [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2017, 41(2): 311-318.
- [49] BABAKHANI A, FARVIN K H S, JACOBSEN C. Antioxidative effect of seaweed extracts in chilled storage of minced atlantic mackerel (*Scomber scombrus*): effect on lipid and protein oxidation [J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2016, 9(2): 352-364.
- [50] ISHII T, MORI T, ICHIKAWA T, et al. Structural characteristics of green tea catechins for formation of protein carbonyl in human serum albumin [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2010, 18(14): 4892-4896.
- [51] MONTERO P, GIMÉNEZ B, PÉREZ-MATEOS M, et al. Oxidation stability of muscle with quercetin and rosemary during thermal and high-pressure gelation [J]. *Food Chemistry*, 2005, 93(1): 17-23.
- [52] ESTÉVEZ M, HEINONEN M. Effect of phenolic compounds on the formation of α -aminoaldehydes and γ -glutamic semialdehydes from myofibrillar proteins oxidized by copper, iron, and myoglobin [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(7): 4448-4455.
- [53] JAMES C, PURNELL G, JAMES S J. A review of novel and innovative food freezing technologies [J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2015, 8(8): 1616-1634.

Progress on green cryoprotectants for frozen surimi

YANG Xianqing¹, YUAN Yue^{1,2}, ZHAO Yongqiang¹, LI Laihao¹, WU Yanyan¹, WEI Ya¹, CEN Jianwei¹
(1. *Key Laboratory of Aquatic Product Processing, Ministry of Agriculture; South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Guangzhou 510300, Guangdong, China*; 2. *College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China*)

Abstract: As an important method for surimi preservation, frozen storage can cause degeneration of myofibrillar protein, resulting in the decrease of surimi quality. Addition of cryoprotectants is considered to be one of the most effective ways to prevent denaturation of aquatic protein. In this paper, the regularity of protein freeze denaturation, physicochemical change and mechanism of cryoprotectants were discussed. On this basis, the progress of research and application of trehalose, algae extract, polyphenols, protein hydrolysates and other green antifreeze agents were reviewed. Finally, the existing problems of cryoprotectant were analyzed, and its development trend was prospected, aiming to provide reference for the frozen surimi industry.

Key words: frozen surimi; protein oxidation; frozen degeneration; cryoprotectant; cryoprotective effect