李逸婷, 王明川, 高昕, 等. 原花青素-琼胶寡糖复配液对罗非鱼冷藏期间肌原纤维蛋白氧化的影响 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(15): 379−388. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060332

LI Yiting, WANG Mingchuan, GAO Xin, et al. Effect of Oligomeric Proanthocyanidins-Agaro Oligosaccharide Compound Solution on Myofibrillar Protein Oxidation of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) during Cold Storage[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(15): 379−388. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060332

·贮运保鲜·

原花青素-琼胶寡糖复配液对罗非鱼冷藏期间肌原纤维蛋白氧化的影响

李逸婷, 王明川, 高　昕, 薛　勇, 赵元晖*

（中国海洋大学三亚海洋研究院食品科学与工程学院, 海南三亚 572024）

摘　要: 罗非鱼在冷藏期间易因蛋白氧化而腐败，采用适当的处理方式延长其冷藏货架期至关重要。本文以罗非鱼片为研究对象，探究了在冷藏过程中原花青素（oligomeric proanthocyanidins，OPC）-琼胶寡糖（agaro oligosaccharide，AGOS）对肌原纤维蛋白变化的影响及潜在作用机制。通过肌原纤维蛋白浓度、总巯基含量、羰基含量、微观结构、酶活、空间结构等指标测定，综合评价其对冷藏罗非鱼片冷藏期间肌原纤维蛋白氧化影响。结果得出，0.2%OPC+0.5%AGOS 复配组与未处理组相比更有效地抑制了肌原纤维蛋白浓度和总巯基含量的降低；在贮藏后期，复配组的肌原纤维蛋白组织结构变化更小，且保持了细小的组织间隙；贮藏过程中该组有效抑制了多酚氧化酶（polyphenol oxidase，PPO）和过氧化物酶（peroxidase，POD）活性的上升，减缓了钙离子泵（Ca^{2+}-ATPase）、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）和脂肪酸合成酶（fatty acid synthase，FAS）活性的下降；同时复配组能较好维持 α-螺旋结构，保持蛋白质的三级结构稳定性。综上所述，原花青素和琼胶寡糖的复配能有效维持罗非鱼片肌原纤维蛋白的空间结构，抑制罗非鱼片在贮藏期间蛋白质的氧化，为水产品保鲜和品质提升提供了新的天然保鲜应用策略。

关键词: 罗非鱼片, 原花青素, 琼胶寡糖, 肌原纤维蛋白, 蛋白氧化

中图分类号: TS254.4　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)15−0379−10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060332

本文网刊:

Effect of Oligomeric Proanthocyanidins-Agaro Oligosaccharide Compound Solution on Myofibrillar Protein Oxidation of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) during Cold Storage

LI Yiting, WANG Mingchuan, GAO Xin, XUE Yong, ZHAO Yuanhui*

（College of Food Science and Engineering, Sanya Oceanographic Institution of Ocean University of China, Sanya 572024, China）

Abstract: Tilapias are prone to spoilage due to protein oxidation during cold storage, making it crucial to adopt appropriate treatments to extend their refrigerated shelf life. This study focused on tilapia and investigated the effects and potential mechanisms of oligomeric proanthocyanidins (OPC)-agaro oligosaccharide (AGOS) on the changes in myofibrillar protein during cold storage. By measuring indicators such as myofibrillar protein concentration, total sulfhydryl content, carbonyl content, microstructure, enzyme activities and spatial structure, a comprehensive evaluation was conducted on the impact of OPC and AGOS on the oxidation of myofibrillar protein in refrigerated tilapia fillets. The results demonstrated that the 0.2%OPC+0.5%AGOS compound group more effectively inhibited the decrease in myofibrillar protein concentration and total sulfhydryl content compared to the untreated group. In the later stages of storage, the compound group exhibited less

收稿日期: 2025−06−26

基金项目: 海南省科技计划三亚崖州湾科技城科技创新联合项目（2021CXLH0006）。

作者简介: 李逸婷（2002−）, 女, 硕士研究生, 研究方向: 水产品高值化利用, E-mail: 502734980@qq.com。

*** 通信作者:** 赵元晖（1979−）, 男, 博士, 教授, 研究方向: 水产品高值化利用, E-mail: zhaoyuanhui@ouc.edu.cn。

alteration in the organizational structure of myofibrillar protein and maintained finer tissue gaps. During storage, this group effectively suppressed the increases in polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD) activities, while mitigating the decreases in Ca^{2+}-ATPase, superoxide dismutase (SOD), and fatty acid synthase (FAS) activities. Additionally, the compound group could preserve the α-helix structure and maintain the stability of the protein's tertiary structure. In conclusion, the combination of oligomeric proanthocyanidins and agaro oligosaccharide can effectively maintain the spatial structure of myofibrillar protein in tilapia fillets and inhibit protein oxidation during storage. This approach offers a novel natural preservation strategy for enhancing the freshness and quality of aquatic products.

Key words: tilapia fillets; oligomeric proanthocyanidins; agaro oligosaccharide; myofibrillar protein; protein oxidation

罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)属慈鲷科鱼类,原产于非洲,广泛分布于热带与亚热带淡水水域[1]。这种鱼体型中等偏小,适应环境能力强,生长迅速[2]。罗非鱼富含 DHA、EPA 等多种不饱和脂肪酸[3],同时肉质细腻、刺少,是优质的健康蛋白来源。近年来,罗非鱼在预制菜、保健品等市场的需求持续攀升,但仍存在鲜度保持困难、品控不稳定等问题。目前对罗非鱼贮藏技术的研究主要集中在新型保鲜剂、智能包装等方面;随着消费者对食品安全性与新鲜度的关注增加,减少化学添加剂、推广天然保鲜剂已成为水产品保鲜未来发展的主要方向[4]。蛋白氧化是冷藏罗非鱼片货架期缩短的关键因素之一,氧化后的蛋白质持水力下降,易影响口感;蛋白质的变性亦会直接影响鱼肉的新鲜度和营养价值[5]。

原花青素(oligomeric proanthocyanidins, OPC)作为天然抗氧化物,已被证实为高效的自由基清除剂[6]。该物质不仅能有效中和超氧阴离子自由基和羟基自由基,还可通过螯合金属离子在体内形成稳定的化合物。在水产品保鲜领域,OPC 通过延缓蛋白质氧化变性等机制可延长冷藏鱼肉的货架期[7]。琼胶寡糖(agaro oligosaccharide, AGOS)是从红藻中提取的琼胶经水解或酶解得到的低分子量多糖[8],具有卓越的凝胶和增稠性能,能够与 OPC 结合,显著提升其在食品中的分散性与稳定性。相悦等[9]研究发现,AGOS 还能够抑制蛋白质的变性和氧化,保持鱼片的新鲜度。通过前期实验发现,0.2% 原花青素与 0.5% 琼胶寡糖复配能够有效地延缓 TVB-N 值、菌落总数和丙二醛含量的增加,维持罗非鱼片的硬度、弹性,延长 2 d 的货架期。但目前原花青素和琼胶寡糖复配的保鲜机制尚不明确,本文将原花青素和琼胶寡糖两种天然成分结合,验证其在罗非鱼片中的适配性与增效机制,为开发新型绿色保鲜剂提供参考。

本研究以罗非鱼片的肌原纤维蛋白为研究对象,探究罗非鱼片的肌原纤维蛋白浓度、总巯基含量、羰基含量、二级结构和三级结构等在贮藏过程中的变化情况,并且对罗非鱼片进行石蜡包埋切片观察微观结构,同时测定罗非鱼片在贮藏过程中钙离子泵(Ca^{2+}-ATPase)、多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)酶活。本研究探究了原花青素和琼胶寡糖复配对罗非鱼片蛋白质氧化保护的作用机理,为开发功能性罗非鱼片食品提供了新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

鲜活尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*,每条鱼重 500±0.5 g,体长为 32±0.5 cm,体高为 14±0.5 cm)购于三亚市崖州第一农贸市场;原花青素、Nisin(标准品) 麦克林生化科技有限公司;琼胶寡糖 郑州宇控生物科技有限公司;氯化钠、氢氧化钠、盐酸、乙醇 国药集团化学试剂有限公司;五水硫酸铜、酒石酸钾钠 光华生物科技有限公司;蛋白缓冲液、PIPES 缓冲液 析标生物科技有限公司;结晶牛血清蛋白(标准品) 索莱宝生物科技有限公司;总巯基含量测定试剂盒、羰基含量测定试剂盒、Ca^{2+}-ATPase 活性测定试剂盒、PPO 试剂盒、POD 试剂盒、SOD 试剂盒、FAS试剂盒 格锐思生物科技有限公司;实验中所采用的生化试剂均为分析纯。

1600R 高速冷冻离心机 上海涵飞医疗器械有限公司;UV-6100 紫外-可见分光光度计 佛山南北潮电子商务有限公司;Synergy H1 酶标仪 美国 Bio Tek 仪器有限公司;DXS-3DIC 光学显微镜 上海梓梦科技有限公司;iS50 傅里叶红外光谱仪 上海善福电子科技有限公司;J-1500 圆二色光谱仪 沈阳佳士科商贸有限公司;LJ-UV90 紫外光谱仪 山东蓝景电子科技有限公司;AFS310 荧光光谱仪 苏州博维仪器科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 罗非鱼片预处理 将新鲜的罗非鱼击昏后,经市场专业人员放血、去头、去尾、去鳞、去内脏后立即运回实验室。取肉前先用蒸馏水彻底清洗干净鱼体,不留任何血迹和杂物,再用锋利干净的刀进行去皮,剥皮时应尽量保持鱼片的完整及表面的光滑。随后将鱼背部肌肉切成大小均匀的肉片,约 2 cm×2 cm×0.5 cm。将 20 片相同质量的罗非鱼片分别加入到空白对照组(无菌蒸馏水)、0.2%OPC 组、0.5%AGOS 组、0.2%OPC+0.5%AGOS 组、阳性对照组(Nisin,选取最小抑菌浓度为 100 mg/mL。Nisin 常用于食品保鲜,作为抑菌不抗氧化的对照,能够帮助区分微生物腐败与氧化反应,因此将其作为阳性对照组[10]),在 4 ℃ 恒温条件下浸泡 30 min,每组三个平行。浸

泡完成后使用无菌操作台将样品表面水分沥干，用 PA/PE 无菌真空包装袋在真空度为 0.1 MPa 的真空包装机上进行真空包装，置于 4 ℃ 恒温条件下保存，分别在第 0、1、3、5、7、9 d 取样进行测定分析，每次检测取样 15 g，共 3 组。

1.2.2　肌原纤维蛋白的提取　参照 Pei 等[11] 的方法并进行调整，将 10 片鱼片取出搅碎，准确称取 10.00 g 鱼肉样品，加入 40 mL 预冷的蛋白缓冲液（10 mmol/L Na_3PO_4，0.1 mol/L NaCl，2 mmol/L $MgCl_2$，1 mmol/L EGTA，pH7.0），于 10000 r/min 均质 1 min，期间停留三次。随后在 4 ℃、5000 r/min 条件下离心 10 min，去掉上清液，将沉淀物重悬于 40 mL 预冷缓冲液中，确保充分混匀，重复上述提取-离心步骤 3 次。最后将沉淀物重悬于 40 mL 0.1 mol/L NaCl 溶液中，相同条件下均质处理以去除结缔组织。经 4 ℃、5000 r/min 离心 10 min 后，收集沉淀物即为纯化的肌原纤维蛋白。

在沉淀物中加入 10 倍体积的 15 mmol/L PIPES 缓冲液（含 0.6 mol/L NaCl，pH6.25），10000 r/min 下均质 1 min，在 4 ℃ 下静置 30 min 使其充分平衡，两层无菌纱布过滤后，将滤液在 4 ℃ 下 8000 r/min 离心 5 min，取上清液 4 ℃ 保存进行后续测定。

1.2.3　双缩脲法测定蛋白浓度　准确称取 1.50 g 五水硫酸铜和 6.0 g 酒石酸钾钠溶于 500 mL 去离子水中，完全溶解后缓慢加入 300 mL 10%(w/v)的 NaOH 溶液，再用去离子水定容至 1000 mL，充分混匀后装于聚乙烯塑料瓶中，4 ℃ 避光保存备用。

用牛血清蛋白作为标准蛋白[12]，配制 10.00 mg/mL 的标准储备液。取 12 支洁净试管，分为 6 个浓度梯度组，分别加入 0、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00 mL 标准蛋白溶液。用蒸馏水将各管定容至 1.00 mL，随后加入 4.00 mL 双缩脲试剂。充分混匀后，于 25 ℃ 下静置反应 30 min。使用紫外-可见分光光度计，以未加标准蛋白作为空白对照，在 540 nm 波长下测定吸光度。结果取平均值，以牛血清蛋白浓度为横坐标，吸光值为纵坐标，绘制标准曲线（$y=0.0477x+0.0102$，$R^2=0.996$）。准确移取 1.00 mL 蛋白溶液，加入 4.00 mL 双缩脲试剂，相同条件下反应并测定吸光度值。根据标准曲线方程，计算样品中肌原纤维蛋白浓度。

1.2.4　总巯基含量　不同处理条件下罗非鱼片肌肉组织中的总巯基含量由总巯基含量测定试剂盒指导方法进行测定。

1.2.5　羰基含量　不同处理条件下罗非鱼片肌肉组织中的羰基含量由蛋白质羰基含量测定试剂盒指导方法进行测定。

1.2.6　微观结构分析　参照 Wei 等[13] 法并进行调整，从各组已切好的罗非鱼片中切取 3 mm×3 mm×3 mm 的样品，将其浸泡在 10% 福尔马林中 24 h 进行固定，防止组织腐败变质并保持其组织形态结构。固定后用从低浓度到高浓度的乙醇（50%、60%、70%、80%、90%、100%）将组织样品进行脱水处理，每个浓度时间约为 1 h，以除去固定剂并使组织逐渐处于无水状态。脱水后包埋切片，先将组织样品保持切面向下浸泡在石蜡溶液中，渗透完成后倒入模具中，放入冷却台将石蜡固化。定型后取出，放入组织切片机中将其切成厚度约为 5 μm 的薄片，贴附于载玻片，随后用苏木精和伊红进行染色，用光学显微镜观察拍照。

1.2.7　酶活性的测定

1.2.7.1　Ca^{2+}-ATPase 活性　不同处理条件下罗非鱼片肌肉组织中的 Ca^{2+}-ATPase 活性由 Ca^{2+}-ATPase 活性测定试剂盒指导方法进行测定。

1.2.7.2　多酚氧化酶活性　各组多酚氧化酶酶活性使用 PPO 试剂盒指导方法进行测定。

1.2.7.3　过氧化物酶活性　各组过氧化物酶酶活性使用 POD 试剂盒指导方法进行测定。

1.2.7.4　超氧化物歧化酶活性　各组超氧化物歧化酶酶活性使用 SOD 试剂盒指导方法进行测定。

1.2.7.5　脂肪酸合成酶活性　各组脂肪酸合成酶酶活使用 FAS 试剂盒指导方法进行测定。

1.2.8　空间结构分析

1.2.8.1　二级结构　参照 Li 等[14] 的方法并进行调整，将提取的蛋白溶液分装至预冷的冻干瓶中，置于 −80 ℃ 超低温冰箱中预冻 8 h。随后转移至冷冻干燥机中冻干 72 h，冻干结束后即获得白色多孔状肌原纤维蛋白冻干粉末。取 1.00 mg 冻干蛋白粉末与 100.00 mg 光谱纯溴化钾在玛瑙研钵中充分研磨混合。使用液压式压片机在 8~10 MPa 压力下压制直径 15 mm、厚度 0.5 mm 的透明薄片。采用傅里叶变换红外光谱仪对样品进行结构表征，参数设置为：扫描范围 4000~400 cm^{-1}，扫描次数 10 次，扫描速度 0.2 cm/s，分辨率 4 cm^{-1}。以溴化钾作为测定时的背景光谱。

1.2.8.2　三级结构　参照 Li 等[15] 的方法并进行调整，先用去离子水将各组提取的蛋白溶液稀释至 1 mg/mL，在室温下测定，激发波长为 295 nm，发射波长的扫描范围为 300~400 nm，激发间距为 5 nm，发射间距为 5 nm，扫描速率为 1000 nm/min，以去离子水为对照进行内源荧光光谱扫描。

1.3　数据处理

本研究采用 3 次重复独立实验设计，结果表示为平均值±标准差。获得的实验数据采用 Origin 9.0 软件作图，用 IBM SPSS Statistics 17.0 软件进行单因素 ANOVA 检验，评估各实验组之间的统计学显著性水平（$P<0.05$）。

2　结果与分析

2.1　肌原纤维蛋白浓度的变化

图 1 显示各组罗非鱼片中肌原纤维蛋白浓度的变化。不同的罗非鱼片个体可能会存在差异[16]，因

此在第 0 d 对每个样品进行了测定，观察其在整个贮藏期的变化程度。结果显示在 0~9 d 的贮藏期内，空白对照、0.2%OPC、0.5%AGOS、0.2%OPC+0.5% AGOS 复配、Nisin 对照组的肌原纤维蛋白浓度分别下降了 53.31%、47.04%、45.49%、44.05%、55.30%。其中 Nisin 对照组蛋白浓度下降最多，可能是因为 Nisin 在食品加工过程中稳定性较差[17]；0.2%OPC+ 0.5%AGOS 复配组蛋白浓度下降最为缓慢，由 2.52± 0.01 mg/mL 下降至 1.41±0.02 mg/mL。在贮藏 1~9 d 内，空白对照组蛋白浓度始终保持最低；第 5 d 后，复配组的蛋白浓度始终高于其他各组。氧化应激往往会引起蛋白质的变性、降解[18]，进而使蛋白质浓度降低，原花青素作为天然极强抗氧化剂，可以高效淬灭自由基及氧化剂，降低氧化应激诱导的蛋白质损伤；琼胶寡糖也是一种有效的抗氧化剂，二者复配能够增强肌原纤维蛋白的稳定性，提高对蛋白质的保护作用。

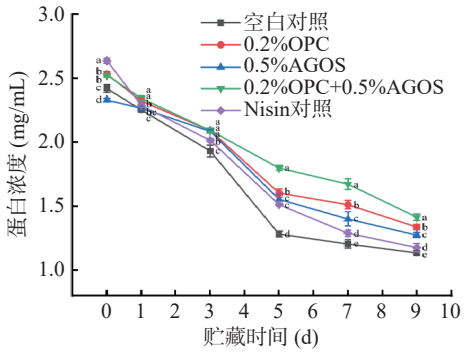


图 1 不同处理方式对罗非鱼肌原纤维蛋白含量变化影响

Fig.1 Effects of different treatments on myofibrillar protein content in tilapia

注：不同字母代表同一时间下不同处理组内的差异显著性（P<0.05），图 2~图 3、图 5~图 9 同。

2.2 肌原纤维蛋白总巯基含量的变化

图 2 显示了各组罗非鱼片中肌原纤维蛋白总巯基含量随时间的变化。在 0~9 d 的贮藏期内，肌原纤维蛋白的总巯基含量呈现下降趋势，空白对照组从 0.234±0.005 μmol/g 降低至 0.153±0.005 μmol/g，降幅约 34.62%；0.2%OPC+0.5%AGOS 复配组则从 0.258±0.005 μmol/g 降低至 0.203±0.005 μmol/g，降幅约 21.32%；同时 0.2%OPC 组下降约 24.80%；0.5% AGOS 组下降约 33.09%，在贮藏 1~9 d 内，复配组的总巯基含量始终高于其他各组。巯基含量下降由氧化引发的二硫键形成所致，间接反映了蛋白质氧化程度的加剧[19]。结果表明，原花青素与琼胶寡糖复配可以更好地抑制蛋白质结构的损伤。原花青素作为抗氧化剂，能够阻断巯基被氧化为二硫键的转化路径；而琼胶寡糖可在蛋白质表面形成物理屏障，减少外界环境对蛋白质的损伤，这种协同作用可以更好地保持巯基的稳定性。

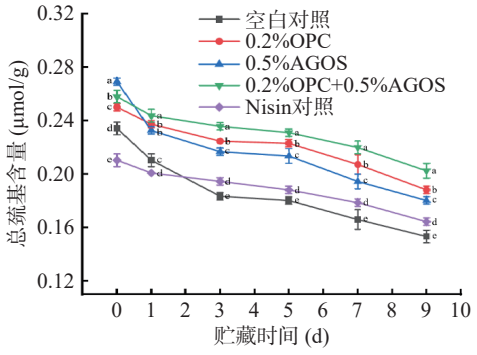


图 2 不同处理方式对罗非鱼肌原纤维蛋白的总巯基含量变化影响

Fig.2 Effects of different treatments on the total sulfhydryl content of myofibrillar protein in tilapia

2.3 肌原纤维蛋白羰基含量的变化

蛋白质氧化过程会引发氨基酸残基侧链的化学修饰，其中羰基化是最为典型的氧化损伤标志[20]，故而羰基含量被广泛应用于评估生物体系的氧化损伤程度。

图 3 显示各组罗非鱼片中肌原纤维蛋白羰基含量随时间的变化。实验结果显示在贮藏过程中，蛋白质的羰基含量始终呈增长趋势，表明冷藏过程中蛋白质发生了一定程度的氧化。0.2%OPC+0.5% AGOS 复配组羰基含量上升最为缓慢，从 0.055± 0.001 μmol/g 增加至 0.245±0.005 μmol/g，且始终低于其他各组。结果表明，原花青素与琼胶寡糖复配可在抑制蛋白质氧化、延缓羰基含量增加方面发挥显著作用。原花青素借助其自由基清除能力阻断了·OH 在蛋白质羰基链反应中诱导的氧化应激，从而抑制了蛋白质侧链中氨基酸残基向羰基的转化[21]；琼胶寡糖则通过抑制微生物增殖，间接抑制了蛋白质的氧化。有研究发现[22]，多酚类化合物与植物多糖复配后，能够显著增强其自由基的清除能力，且效果优于单一组分，与本研究结果一致。

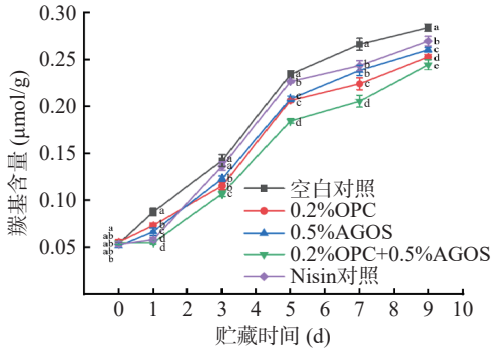


图 3 不同处理方式对罗非鱼肌原纤维蛋白的羰基含量变化影响

Fig.3 Effects of different treatments on the carbonyl content of myofibrillar protein in tilapia

2.4 微观结构的变化

图 4 显示肌原纤维蛋白的微观结构随贮藏时间的变化结果。贮藏初期第 1 d，各组肌原纤维蛋白结构致密，排列高度有序且没有明显间隙；进入贮藏中

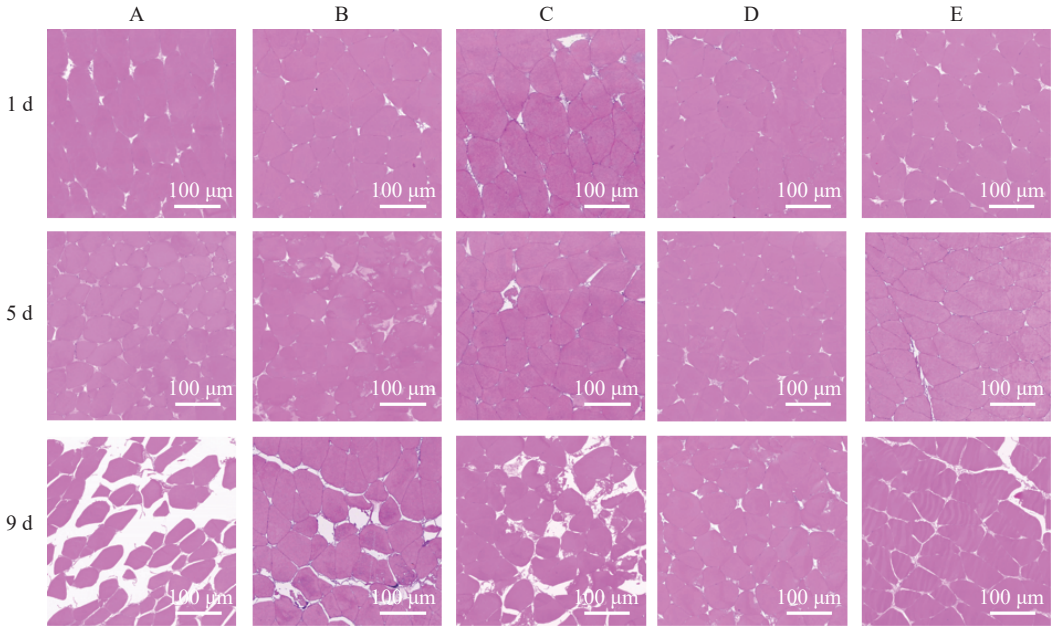


图 4　不同处理方式对罗非鱼肌原纤维蛋白微观结构的影响

Fig.4　Effects of different treatments on the microstructure of myofibrillar protein in tilapia

注：A 为空白对照组；B 为 0.2%OPC 组；C 为 0.5%AGOS 组；D 为 0.2%OPC+0.5%AGOS 组；E 为 Nisin 对照组，图 10~图 11 同。

期第 5 d 后，各组肌原纤维蛋白组织变小，边界轮廓逐渐清晰，开始显现空隙；到贮藏末期第 9 d，空白对照组的肌原纤维蛋白结构中开始出现较大的细胞外间距与不规则的孔隙结构，而 0.2%OPC+0.5%AGOS 复配组减少了结构的变化，保持了细小的组织间隙。Fraga[23] 的研究表明，多酚类化合物因其酚羟基易被氧化，并具备较高的活性氧清除能力，可有效淬灭自由基。原花青素的抗氧化效应及琼胶寡糖的物理屏障特性对蛋白质的微观结构产生了保护作用，抑制了冷藏环境下的结构崩解；同时原花青素能够通过氢键和静电与琼胶寡糖相互作用，使其微观结构更加致密[24]。

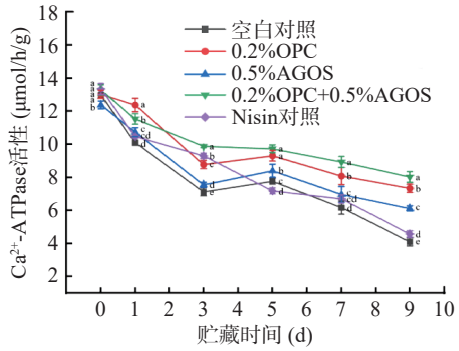


图 5　不同处理方式对罗非鱼肌原纤维蛋白的 Ca^{2+}-ATPase 酶活变化影响

Fig.5　Effects of different treatments on the Ca^{2+}-ATPase activity of myofibrillar protein in tilapia

2.5　酶活性的变化

2.5.1　Ca^{2+}-ATPase 活性的变化　Ca^{2+}-ATPase 是维持 Ca^{2+}浓度的主要途径，能够催化 ATP 水解生成 ADP 和无机磷。肌球蛋白分子球状头部的变性情况与 Ca^{2+}-ATPase 活性大小密切相关[25]，故而这一指标可用于评价蛋白质的氧化程度。

图 5 显示各组罗非鱼片中肌原纤维蛋白 Ca^{2+}-ATPase 活性随贮藏时间的变化，各组均呈现下降趋势，表明蛋白质在贮藏过程中产生了不同程度的氧化。贮藏 0~9 d 内，0.2%OPC+0.5%AGOS 复配组的 Ca^{2+}-ATPase 活性从 13.29±0.32 μmol/h/g 降低到 8.03±0.32 μmol/h/g，仅下降了 39.58%，下降程度最低；同时在贮藏 3~9 d 内，复配组的 Ca^{2+}-ATPase 活性始终处于各组中的最高水平，这是由于原花青素抗氧化性与琼胶寡糖成膜性的结合，减缓了蛋白质变性速度，有效维持了酶的活性。Zembyla 等[26] 研究发现，多酚类化合物中的芳香环结构可以与蛋白质的疏水区域形成稳定的疏水相互作用，降低疏水核心的暴露，从而减少由疏水相互作用紊乱引起的蛋白质变性。原花青素能通过与蛋白质中芳香氨基酸的堆积相互作用，实现对蛋白质局部构象的固定；同时原花青素的酚羟基可与蛋白质的极性基团（如氨基、羧基）生成氢键，提高蛋白质结构的稳定性。将原花青素的抗氧化性与琼胶寡糖的物理保护机制有机结合，能够有效抑制蛋白质变性，保持酶的活性，充分发挥协同保护作用。

2.5.2　多酚氧化酶活性的变化　PPO 属于含铜氧化酶，生成的邻苯醌类化合物可以和蛋白质中的氨基产生共价交联，生成醌-蛋白质复合物，致使蛋白质发生改变。同时 PPO 活性变化能够反映氧化-抗氧化平衡状态，因此 PPO 是评价蛋白质氧化的重要指标。

图 6 显示了 PPO 的酶活随时间的变化，其活性整体呈现递增趋势。在贮藏期间，0.2%OPC+0.5%AGOS 复配组的 PPO 酶活仅从 23.11±1.63 U/mg 增加到 36.63±1.71 U/mg，且始终低于其他各组。实验

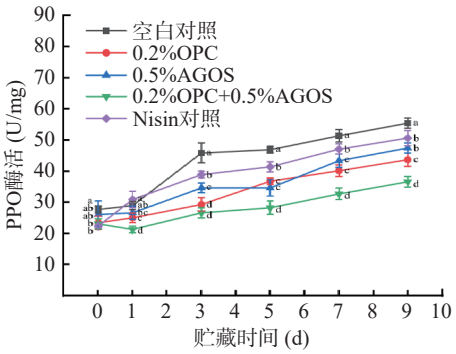


图 6 不同处理方式对罗非鱼肌原纤维蛋白 PPO 酶活的影响

Fig.6 Effects of different treatments on the PPO activity of myofibrillar protein in tilapia

结果表明，复配组对 PPO 的活性有较强的抑制作用。PPO 在氧化时会产生自由基，原花青素凭借其自由基捕获特性能够有效地抑制氧化反应的发生，进而降低 PPO 的活性；琼胶寡糖对酶有一定的抑制作用，复配后可通过与酶的结合或调节酶的活性环境，实现对 PPO 活性的直接抑制[27]。江宏伟[28] 发现，肉桂酸及其衍生物可以很好地抑制 PPO 活性，其中羧基基团是抑制 PPO 的关键。肉桂酸、原花青素及琼胶寡糖都含有特征性功能基团，能与 PPO 活性中心的 Cu^{2+}结合，竞争性占据催化位点，阻断酶与底物的结合。

2.5.3 过氧化物酶活性的变化 POD 是一种氧化还原酶。图 7 显示了 POD 的酶活随时间的变化，其活性总体逐渐升高。贮藏期间，0.2%OPC+0.5%AGOS 复配组的 POD 酶活增长最为缓慢，仅从 2.40±0.00 U/mg 升高到 5.73±0.83 U/mg；且在贮藏 3~9 d 内，复配组的 POD 酶活始终最低。实验结果表明，原花青素和琼胶寡糖复配可以有效地延缓 POD 活性的升高，从而抑制组织的老化。原花青素能够抑制过氧化氢的合成并消除自由基[29]，降低 POD 的诱导表达水平及活性；琼胶寡糖可通过减弱氧化和脱水等环境应激降低 POD 活性，保持细胞的稳定性，二者结合应用具有较好的协同作用。

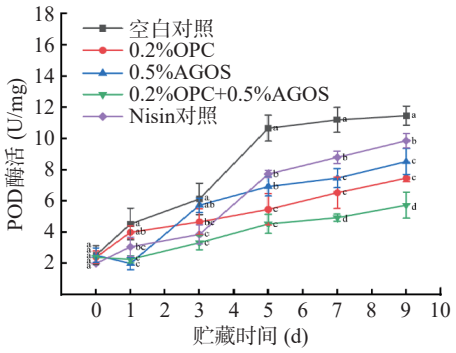


图 7 不同处理方式对罗非鱼肌原纤维蛋白 POD 酶活的影响

Fig.7 Effects of different treatments on the POD activity of myofibrillar protein in tilapia

2.5.4 超氧化物歧化酶活性的变化 SOD 是一种极为关键的抗氧化酶，可特异性催化超氧阴离子自由基产生歧化反应，故而 SOD 活性水平常被用于评估生物体的抗氧化能力[30]。

图 8 显示了 SOD 的酶活随时间的变化，其活性整体呈下降趋势，其中空白对照组与 Nisin 对照组下降尤为显著(P<0.05)。Nisin 组的 SOD 活性在第 1 d 迅速下降，可能是因为 Nisin 快速在生物细胞膜上形成了孔洞[31]，导致细胞中的小分子如 ROS 迅速流出，SOD 酶清除 ROS，活性急速降低；而 Nisin 组的 SOD 活性在第 1~5 d 的变化较小，可能是由于后期以抗性菌群为主导，体系波动小，产生的 ROS 较少，SOD 酶活较为稳定。0.2%OPC+0.5%AGOS 复配组的 SOD 酶活由 84.31±1.40 U/mg 降低到 57.76±2.09 U/mg，仅下降了 31.49%，低于其他各组；同时在贮藏 1~9 d 内，复配组的 SOD 酶活持续保持最高。实验结果表明，原花青素与琼胶寡糖的复配可以有效维持 SOD 的活性，进而起到抑制组织氧化的作用。原花青素能够阻断氧化应激，间接保持 SOD 活性的稳定，提高细胞的抗氧化防御能力；琼胶寡糖可改善细胞所处环境的稳定性，抑制 SOD 酶活的降低并维持结构的完整。

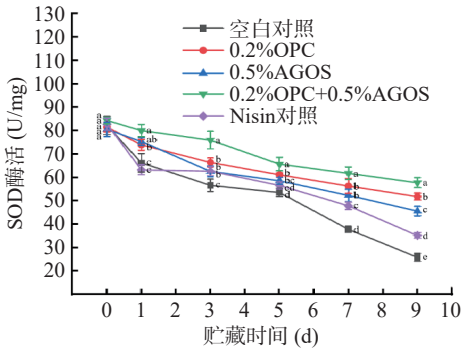


图 8 不同处理方式对罗非鱼肌原纤维蛋白的 SOD 酶活变化影响

Fig.8 Effects of different treatments on the SOD activity of myofibrillar protein in tilapia

2.5.5 脂肪酸合成酶活性的变化 FAS 活性下降会导致游离脂肪酸的累积，通过脂质氧化进而加剧蛋白氧化[32]，因此 FAS 常作为评估蛋白氧化的重要指标。

图 9 显示了 FAS 的酶活随时间的变化，其活性总体呈现下降趋势。贮藏期间，0.2%OPC+0.5%AGOS 复配组由 10.50±0.87 U/mg 下降至 6.67±0.29 U/mg，仅下降了 36.48%，低于其他各组。各组酶活在第 0 d 存在差异，其中 0.5%AGOS 单因素组表现出最高的 FAS 活性，可能是由于琼胶寡糖通过调控脂质代谢的相关信号通路[33]，在初期对 FAS 的表达及活性产生了较大影响；而在贮藏 1~9 d 内，复配组的 FAS 酶活始终保持最高。实验结果表明，复配组在贮藏过程中有效地延缓了 FAS 活性的下降。原花青素能够抑制脂质过氧化[34]，阻断 FAS 的氧化

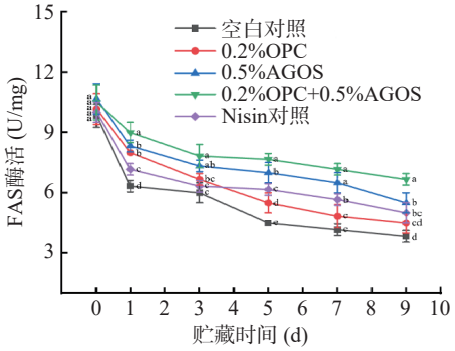


图 9　不同处理方式对罗非鱼肌原纤维蛋白 FAS 酶活的影响

Fig.9　Effects of different treatments on the FAS activity of myofibrillar protein in tilapia

损伤并保持 FAS 活性，进而维持鱼片的脂质质量及风味特性；添加琼胶寡糖能够保持适宜的酶促反应环境，通过调控相关代谢途径及信息通路，维持 FAS 的正常功能状态。

2.6　空间结构的变化

2.6.1　二级结构的变化　解析蛋白质二级结构的关键特征之一是位于 1600~1700 cm^{-1} 的酰胺 I 带，酰胺 I 带主要对应于多肽链中羰基(C=O)的伸缩振动，该吸收峰可用于推断 α-螺旋、β-折叠等蛋白质二级结构特征[35]。

图 10 显示了肌原纤维蛋白的红外特征吸收峰，即各组在贮藏期间肌原纤维蛋白的傅里叶变换红外光谱随时间的变化。在贮藏初期，0.2%OPC+0.5% AGOS 复配组的酰胺 I 带峰面积大于其他各组，是由于原花青素的苯环与琼胶寡糖的糖环之间存在相互作用[36]，改变了 C=O、C-O 等特征峰的强度及位置。至贮藏后期第 9 d，复配组的酰胺 I 带吸收峰稳定于 1654 cm^{-1} 处，表明原花青素和琼胶寡糖能有效维持肌原纤维蛋白酰胺 I 带及二级结构的稳定性；而空白对照组的酰胺 I 带吸收峰显著蓝移至 1657 cm^{-1} 处，表明其无法维持肌原纤维蛋白的酰胺 I 带，使得蛋白质的 α-螺旋结构产生了改变，从而增加了 C=O 密度，减弱了氢键强度[37]。实验结果表明，原花青素与琼胶寡糖的复配能够有效保持 α-螺旋结构，防止蛋白质的二级结构被破坏。

2.6.2　三级结构的变化　蛋白质中色氨酸残基内源荧光强度的动态监测能够表征肌原纤维蛋白的三级结构，天然折叠状态下的蛋白质色氨酸残基通常包埋于蛋白质的疏水核心区域，当蛋白质产生去折叠时，色氨酸残基会渐渐暴露在亲水性环境当中，从而引发荧光强度的减弱。

图 11 显示了在贮藏期间肌原纤维蛋白的荧光光谱随时间的变化。在贮藏第 0 d，由于不同罗非鱼片个体的差异，空白对照组的荧光强度低于其他各组；而 0.2%OPC+0.5%AGOS 复配组的荧光强度高于其他各组，表明原花青素和琼胶寡糖能够降低色氨酸残基在亲水环境中的暴露程度，进而抑制蛋白质三级结构的改变。到贮藏第 9 d，空白对照组的荧光强度仍低于其他各组，表明肌原纤维蛋白的结构产生了改变，在亲水环境中暴露了部分色氨酸残基；而复配组的荧光强度保持稳定，表明添加原花青素与琼胶寡糖能够和色氨酸产生较好的相互作用。雷用东[38]发现，原花青素可减少肌原纤维蛋白二级结构从 α-螺旋向 β-折叠的转化，使得色氨酸的荧光猝灭程度降低，从而减少了肌原纤维蛋白贮藏期间的降解进程。

2.7　蛋白质氧化保护机制

综上，原花青素-琼胶寡糖复配液可能的蛋白质氧化保护机制如图 12 所示。当活性氧等氧化应激

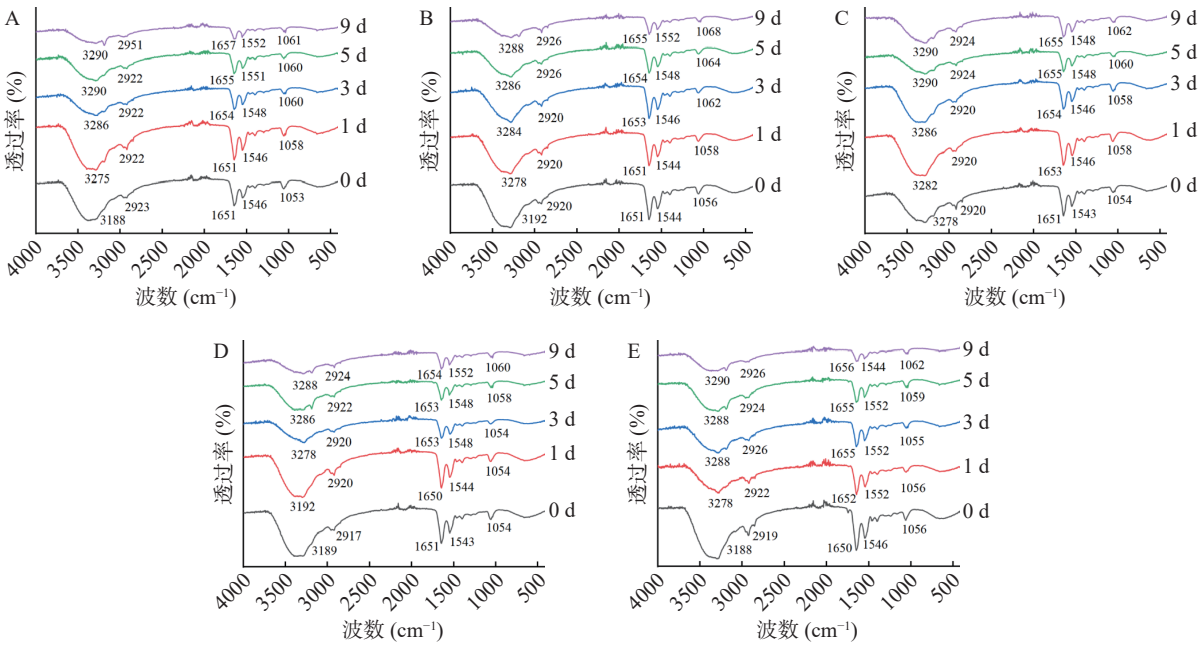


图 10　不同处理方式对罗非鱼肌原纤维蛋白的傅里叶变换红外光谱变化影响

Fig.10　Effects of different treatments on the Fourier transform infrared spectra of myofibrillar protein in tilapia

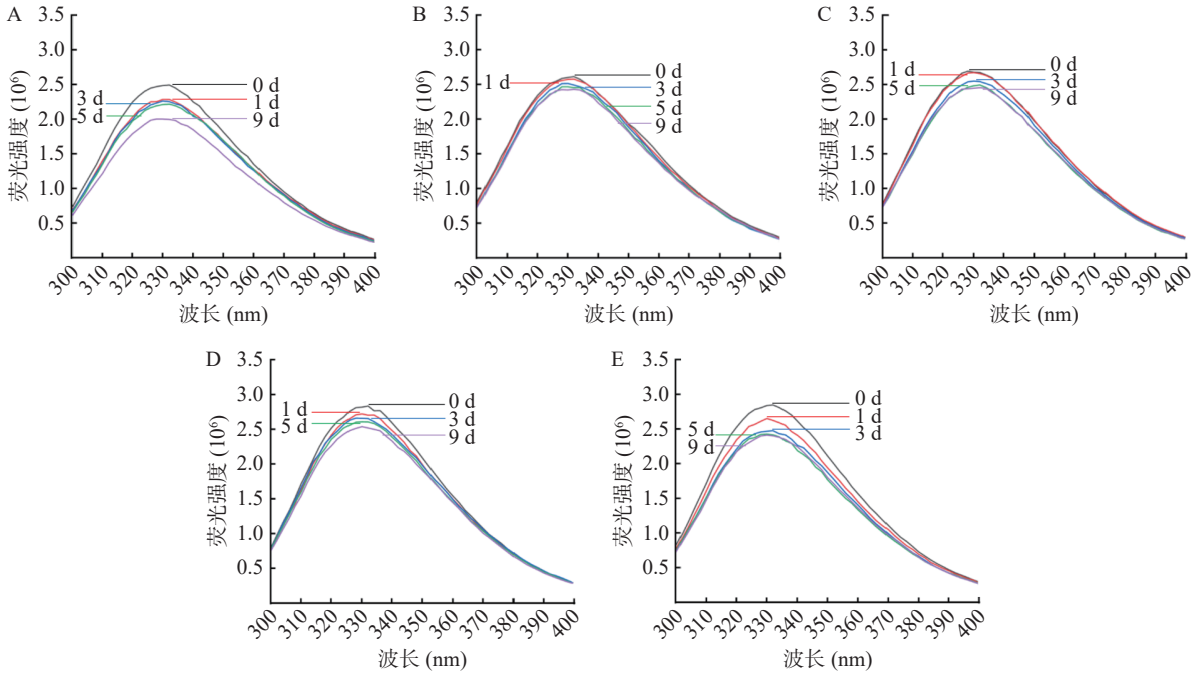


图 11　不同处理方式对罗非鱼肌原纤维蛋白的荧光光谱变化影响

Fig.11　Effects of different treatments on the fluorescence spectrum of myofibrillar protein in tilapia

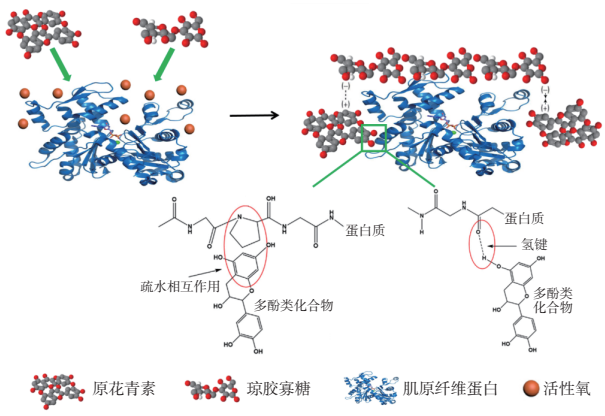


图 12　原花青素-琼胶寡糖复配液的蛋白质氧化保护机制

Fig.12　Protein oxidation protection mechanism of oligomeric proanthocyanidins-agaro oligosaccharide compound solution

攻击肌原纤维蛋白时，原花青素能够直接、高效地清除自由基，中断蛋白质氧化的链式反应；同时原花青素可以通过疏水相互作用与氢键的双重作用，降低蛋白质疏水核心的暴露并提高蛋白质结构的稳定性，有效防止了蛋白质的氧化变性。亲水的琼胶寡糖则可在蛋白质分子周围形成物理屏障，阻碍氧化剂与蛋白质的接触。另外，原花青素能够与琼胶寡糖通过氢键和静电相互作用紧密结合，共同螯合 Fe^{2+}、Cu^{2+}等金属离子，阻止其通过 Fenton 反应催化生成·OH；并抑制了 PPO 和 POD 的酶促氧化，提高了 SOD 等抗氧化酶的活性和表达量。二者协同通过物理作用和化学作用，更全面地抑制了蛋白质的氧化，维持了肌原纤维蛋白的结构与功能。

3　结论

本研究以罗非鱼为研究对象，提取罗非鱼片中的肌原纤维蛋白，探究原花青素-琼胶寡糖复配液对 4 ℃ 贮藏过程中罗非鱼片肌原纤维蛋白的影响。结果显示，在贮藏期间 0.2%OPC+0.5%AGOS 复配组能更有效地抑制肌原纤维蛋白浓度、总巯基含量的下降并延缓羰基含量的上升。贮藏后期该复配组抑制了肌原纤维蛋白结构的变化，保持了细小的组织间隙。此外该复配组能抑制 PPO 和 POD 酶活的上升，延缓 Ca^{2+}-ATPase、SOD 和 FAS 酶活的下降；同时维持蛋白质的空间结构。未来可拓宽使用场景，将其运用于水产品的保鲜之中，结合多组学技术深化机制研究，开发活性包装等新型应用，同时将该生物保鲜剂作为基础，与物理保鲜技术联合应用，开发更高效的保鲜方式。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] 陈铭中, 钟旭美, 何誉, 等. 生物复合保鲜剂联合 UV-C 保鲜罗非鱼的工艺优化研究[J]. 农产品加工, 2024, 23(24): 17−23,28. [CHEN M Z, ZHONG X M, HE Y, et al. Study on process optimization of biological composite preservative combined with UV-C for preservation of tilapia[J]. Agricultural Products Processing, 2024, 23(24): 17−23,28.]

[2] 宋明江, 多楚, 孙文平, 等. 我国罗非鱼引进与发展概况[J]. 四川农业科技, 2022, 52(6): 98−101. [SONG M J, DUO C, SUN W P, et al. Introduction and development of tilapia in China[J]. Sichuan Agricultural Science and Technology, 2022, 52(6): 98−101.]

[3] LUIS P, JEFF B, P. A C G, et al. Pacific white shrimp, red drum, and tilapia integrated in a biofloc system: Use of tilapia as a

consumer of total suspended solids[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2021, 52(6): 1168−1177.
[4] NOVAIS C, MOLINA A K, ABREU R M V, et al. Natural food colorants and preservatives: A review, a demand, and a challenge[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022, 70(9): 2789−2805.
[5] HOU Y, REN X, HUANG Y, et al. Effects of hydrodynamic cavitation on physicochemical structure and emulsifying properties of tilapia (*Oreochromis niloticus*) myofibrillar protein[J]. Frontiers in Nutrition, 2023, 10: 1116100.
[6] YUN S, CHU D, HE X, et al. Protective effects of grape seed proanthocyanidins against iron overload-induced renal oxidative damage in rats[J]. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2020, 57: 126407.
[7] 祝赫, 马堃, 刘波, 等. 葡萄籽原花青素对三文鱼片在冷藏期间品质及蛋白氧化的影响[J]. 食品工业科技, 2026, 47(4): 404−412. [ZHU H, MA K, LIU B, et al. Effect of grape seed proanthocyanidins on quality characteristics and protein oxidation of *Salmon salar* fillets during refrigeration[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(4): 404−412.]
[8] 石炎夏, 龙妍, 丘岳, 等. 基于斑马鱼模型研究琼胶寡糖改善酒精性脂肪肝的作用[J]. 广西医科大学学报, 2024, 41(6): 890−896. [SHI Y X, LONG Y, QIU Y, et al. Study on the effect of agaro-oligosaccharide in improving alcoholic fatty liver disease based on zebrafish model[J]. Journal of Guangxi Medical University, 2024, 41(6): 890−896.]
[9] 相悦, 孙承锋, 李来好, 等. 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[J]. 水产学报, 2021, 45(7): 1007−1020. [XIANG Y, SUN C F, LI L H, et al. Effects of agaro-oligosaccharides and EGCG on the freshness and protein biochemical change of sea bass (*Lateolabrax japonicus*) fillets during ice storage[J]. Journal of Fisheries of China, 2021, 45(7): 1007−1020.]
[10] NOTTAGH S, ALIREZALU K, YAGHOUBI M, et al. A comprehensive review of *ε*-polylysine as a novel ingredient for enhancing meat products through advanced production techniques andantimicrobialactions[J].FoodReviewsInternational, 2025, 41: 1−17.
[11] PEI Z, WANG H, XIA G, et al. Emulsion gel stabilized by tilapia myofibrillar protein: Application in lipid-enhanced surimi preparation[J]. Food Chemistry, 2023, 403: 134424.
[12] WALIN H S, WIDJANARKO B, NURJAZULI N. Protein content test of tilapia fish extract (*Oreochromis mossambicus*) before and after freeze dry using biuret method[J]. Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology, 2022, 16(3): 365.
[13] WEI P, ZHU K, CAO J, et al. The inhibition mechanism of the texture deterioration of tilapia fillets during partial freezing after treatment with polyphenols[J]. Food Chemistry, 2021, 335: 127647.
[14] LI M, HE S, SUN Y, et al. Effectiveness of l-arginine/l-lysine in retarding deterioration of structural and gelling properties of duck meat myofibrillar protein during freeze-thaw cycles[J]. Food Bioscience, 2023, 51: 102302.
[15] LI J, DAI Z, CHEN Z, et al. Improved gelling and emulsifying properties of myofibrillar protein from frozen shrimp (*Litopenaeus vannamei*) by high-intensity ultrasound[J]. Food Hydrocolloids, 2023, 135: 108188.
[16] WU F, WEN H, TIAN J, et al. Effect of stocking density on growth performance, serum biochemical parameters, and muscle texture properties of genetically improved farm tilapia, *Oreochromis niloticus*[J]. Aquaculture International, 2018, 26: 1247−1259.
[17] 陆湘宁. 蛋清蛋白基 Nisin 纳米颗粒的制备及其抗菌保鲜应用[D]. 扬州：扬州大学, 2021. [LU X N. Preparation of egg white protein-based nisin nanoparticles and their antibacterial and fresh-keeping application[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2021.]
[18] KOROVILA I, HUGO M, CASTRO J P, et al. Proteostasis, oxidative stress and aging[J]. Redox Biology, 2017, 13: 550−567.
[19] GE Q, GUO S, CHEN S, et al. A comparative study of vacuum tumbling and immersion marination on quality, microstructure, and protein changes of Xueshan chicken[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 1064521.
[20] 郭欣. 多酚对高白鲑肌球蛋白氧化及凝胶特性的影响[D]. 石河子：石河子大学, 2024. [GUO X. The effect of polyphenols on the oxidation and gel properties of myosin in *Coregonus peled*[D]. Shihezi: Shihezi University, 2024.]
[21] YANG H, TUO X, WANG L, et al. Bioactive procyanidins from dietary sources: The relationship between bioactivity and polymerization degree[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 111: 114−127.
[22] 盛雪飞, 彭燕, 陈健初. 天然抗氧化剂之间的协同作用研究进展[J]. 食品工业科技, 2010, 31(7): 414−417,421. [SHENG X F, PENG Y, CHEN J C. Research progress in synergistic effect between natural antioxidants[J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 31(7): 414−417,421.]
[23] FRAGA C G. Plant polyphenols: How to translate their *in vitro* antioxidant actions to *in vivo* conditions[J]. IUBMB Life, 2007, 59(4−5): 308−315.
[24] KAN J, LIU J, YONG H, et al. Development of active packaging based on chitosan-gelatin blend films functionalized with Chinese hawthorn (*Crataegus pinnatifida*) fruit extract[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 140: 384−392.
[25] 赵御凯. 加味柴胡桂枝龙骨牡蛎汤对快速心律失常模型大鼠心肌组织 Ca^{2+}-Mg^{2+}-ATP 酶活性及 SOD、MDA 影响的研究[D]. 哈尔滨：黑龙江中医药大学, 2021. [ZHAO Y K. Effects of modified Chaihu Guizhi Longgu Muli decoction on activities of Ca^{2+}-Mg^{2+}-ATPase and SOD and MDA in myocardium of rats with tachyarrhythmia[D]. Harbin: Heilongjiang University of Chinese Medicine, 2021.]
[26] ZEMBYLA M, MURRAY B S, RADFORD S J, et al. Water-in-oil Pickering emulsions stabilized by an interfacial complex of water-insoluble polyphenol crystals and protein[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2019, 548: 88−99.
[27] 产竹华. 深海太平洋火色杆菌生产龙须菜寡糖的中试发酵策略及其相关酶的研究[D]. 泉州：华侨大学, 2018. [CHAN Z H. The pilot fermentation strategies for agaro-oligosaccharides production by the deep sea bacterium *Flammeovirga pacifica* WPAGA1 and the characterizations of related enzymes[D]. Quanzhou: Huaqiao University, 2018.]
[28] 江宏伟. 不同 pH 下肉桂酸及其衍生物对多酚氧化酶的抑制作用[D]. 南昌：南昌大学, 2024. [JIANG H W. Inhibitory effect of cinnamic acid and its derivatives on polyphenol oxidase at different pH[D]. Nanchang: Nanchang University, 2024.]

［29］ MURAKAMI Y, HOSOMI R, MURAKAMI H, et al. Exploring animal protein sources against prevent age-related short-term memory decline in mice: Dietary fish (Alaska Pollock) protein exhibits superior protective effects[J]. Journal of Food Science, 2024, 89(6): 3776−3787.

［30］ 阚泉, 张岩, 王海涛, 等. 抗氧化剂超氧化物歧化酶对大鼠肺巨噬细胞二氧化硅条件上清介导的肺成纤维细胞增殖及 c-myc 表达的影响[J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(14): 2202−2206. [KAN Q, ZHANG Y, WANG H T, et al. Effects of superoxide dismutase on proliferation and c-myc expression of lung fibroblasts activated by supernatant of silicon dioxide-induced rat lung macrophages[J]. Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2022, 26(14): 2202−2206.]

［31］ PARAPOULI M, DELBÈS-PAUS C, KAKOURI A, et al. Characterization of a wild, novel nisin a-producing *Lactococcus* strain with an *L. lactis* subsp. *cremoris* genotype and an *L. lactis* subsp. *lactis* phenotype, isolated from Greek raw milk[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2013, 79(11): 3476−3484.

［32］ GROVES J A, MADUKA A O, O'MEALLY R N, et al. Fatty acid synthase inhibits the *O*-GlcNAcase during oxidative stress [J]. Journal of Biological Chemistry, 2017, 292(16): 6493−6511.

［33］ 李玲翠, 王培培, 吴文惠, 等. 海洋寡糖及在功能食品中的应用研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(5): 313−320. [LI L C, WANG P P, WU W H, et al. Research progress of marine oligosaccharides and their application in functional foods[J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(5): 313−320.]

［34］ JUSTINO A B, FRANCO R R, SILVA H C G, et al. B procyanidins of *Annona crassiflora* fruit peel inhibited glycation, lipid peroxidation and protein-bound carbonyls, with protective effects on glycated catalase[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 19183.

［35］ CAO H, JIAO X, FAN D, et al. Catalytic effect of transglutaminase mediated by myofibrillar protein crosslinking under microwave irradiation[J]. Food Chemistry, 2019, 284: 45−52.

［36］ WU Y, LIN Q, CHEN Z, et al. The interaction between tea polyphenols and rice starch during gelatinization[J]. Food Science and Technology International, 2011, 17(6): 569−577.

［37］ ACHARYA A, STOCKMANN J, BEYER L, et al. The effect of (−)-epigallocatechin-3-gallate on the amyloid-β secondary structure[J]. Biophysical Journal, 2020, 119(2): 349−359.

［38］ 雷用东. 葡萄籽原花青素对鳙鱼片冷藏过程中蛋白降解影响的研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2023. [LEI Y D. Study on effect of grape seed proanthocyanidins on protein degradation of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) fillets during cold storage[D]. Shihezi: Shihezi University, 2023.]