

纳米解冻对鱿鱼蛋白消化后氧化特性的影响

朱文慧, 李雯政, 郭慧芳, 步营, 励建荣, 李学鹏*

(渤海大学食品科学与工程学院 中国轻工工业海水鱼加工重点实验室 辽宁锦州 121013)

摘要 为探究不同解冻方式对蛋白质消化后氧化特性的影响,以秘鲁鱿鱼为研究对象,采用冷藏解冻(CST)、超声纳米解冻(NUT)、微波纳米解冻(NMT)和超声微波辅助纳米解冻(NUMT)4种解冻方式,对秘鲁鱿鱼进行体外胃肠模拟消化。结果表明,与对照组CST相比,3种解冻方式均提高了蛋白质的消化率。其中,NUMT组的蛋白体外消化率最高达80.33%。NUMT组鱿鱼经胃肠消化后蛋白氧化的程度最低,羰基含量分别为2.66 nmol/mg(胃中)和3.86 nmol/mg(肠中),二聚酪氨酸分别降低了30.75%(胃中)和23.73%(肠中),巯基含量分别为19.25 nmol/mg(胃中)和18.68 nmol/mg(肠中),蛋白粒径最小分别为298.41 nm(胃中)和327.48 nm(肠中)。NUMT组DPPH自由基清除率和 Fe^{2+} 整合能力均最高,分别可达56.94% vs 25.59%(胃中)和58.72% vs 32.27%(肠中)。结论:4种解冻方式中,NUMT处理组可较大程度地降低秘鲁鱿鱼解冻过程中蛋白和脂质的氧化,且经胃肠消化后抗氧化性能最优。

关键词 秘鲁鱿鱼; 纳米解冻; 体外消化; 氧化特性; 抗氧化能力

文章编号 1009-7848(2024)12-0117-09 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.12.011

秘鲁鱿鱼 (*Dosidicus gigas*) 中富含蛋白质、多不饱和脂肪酸、微量元素等营养物质^[1],因其捕捞量大、成本低而成为水产品加工领域开发的重点^[2]。作为一种远洋经济动物,秘鲁鱿鱼加工前需经解冻处理,不同的解冻方式对原料品质的影响不同,对其营养也有影响。适合的解冻方式可以减少营养的损失。为此,本课题组前期以冷藏解冻(CST)为对照,研究了超声纳米解冻(NUT)、微波纳米解冻(NMT)、超声微波辅助纳米解冻(NUMT)3种解冻方法对蛋白氧化和品质的影响,表明超声微波辅助纳米解冻(NUMT)是一种有效的解冻方式,可降低秘鲁鱿鱼蛋白的氧化,提高保水性^[4]。

肉类蛋白质在体内的吸收效果一定程度上受胃肠道消化的影响。消化过程中,同时存在的氧化和热处理现象^[5]会对蛋白消化性质产生不同的影响。加工时,除了肉制品中的脂质和蛋白质会发生氧化外,体内的蛋白质水解生成小肽、氨基酸过程也存在复杂的氧化反应。同时,消化液中的抗坏血酸、铁离子等促氧化因子会氧化体内蛋白质。Estévez等^[6]研究发现在加工和储存过程中,脂质和蛋白质的氧化产物会积累在食物中,其在消化

过程中难以被胃肠吸收,对人体具有潜在危害。探讨蛋白经体外消化后的氧化特性,对提高机体营养的利用非常重要。

基于此,本文对不同解冻方式的秘鲁鱿鱼进行胃肠消化模拟,研究蛋白经消化后的氧化情况,为解冻对水产品营养和消化吸收的影响提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

冻结的秘鲁鱿鱼购自锦州市水产市场,冻藏运回实验室,将样品切成8 cm × 7 cm,每片重约(160 ± 0.5)g。将鱿鱼样品包装在聚乙烯袋中,并在-80℃下储存7 d,直到随后的解冻处理。

人工胃液(无菌)、人工肠液(无菌),购自飞净生物科技有限公司;胆盐、三氯乙酸、盐酸胍等试剂均为分析纯,南京圣比奥生物科技有限公司。

1.2 设备与仪器

XO-120L-II 超声辅助速冻冰柜,南京先欧仪器制造有限公司;THERMO 冷冻高速离心机,美国 Thermo 公司;RCD-1A 均质机,常州越新仪器制造有限公司;UV-2550 紫外可见分光光度计,尤尼柯上海仪器有限公司;WepeX 1000B-TX 工业微波炉,北京汇邦科技有限公司;F-7000 荧光分光光度计,日立仪器上海有限公司;Testo 106 高精度

收稿日期: 2023-12-20

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31901763)

第一作者: 朱文慧,女,博士,教授

通信作者: 李学鹏 E-mail: xuepengli8234@163.com

食品温度计,德国德图集团。

1.3 试验方法

1.3.1 秘鲁鱿鱼解冻方法 试验采用冷藏解冻(CST)、超声纳米解冻(NUT)、微波纳米解冻(NMT)和超声微波辅助纳米解冻(NUMT)4种不同解冻方式对秘鲁鱿鱼解冻,当样品中心温度达到0℃时,视为解冻过程终止。具体如下:

1) CST 冻结的秘鲁鱿鱼置于4℃冰箱中解冻。

2) NUT 冻结的秘鲁鱿鱼完全浸泡在MNP_s溶液(0.9 mg/mL)中,置于超声辅助速冻冰柜中(300 W、2 450 MHz)中解冻。

3) NMT 冻结的秘鲁鱿鱼完全浸泡在MNP_s溶液(0.9 mg/mL)中,置于微波炉中(500 W、2 450 MHz)中解冻。

4) NUMT 冻结的秘鲁鱿鱼完全浸泡在MNP_s溶液(0.9 mg/mL)中,置于超声池中(300 W、2 450 MHz),超声池上面放置微波(500 W、2 450 MHz)进行解冻。

1.3.2 秘鲁鱿鱼肌原纤维蛋白制备 参考Zhu等^[7]的方法稍修改。所有操作均在4℃下进行,将切碎的秘鲁鱿鱼样品与4倍体积的Tris-HCl溶液(20 mmol/L、pH 7.5)混合,并使用均质机在5 000 r/min下均质30 s,然后将混合物以6 500 × g离心20 min。按照上述提取沉淀3次。上述沉淀加4倍体积的20 mmol/L Tris-HCl溶液(0.6 mol/L NaCl、pH 7.5)均质离心20 min(6 500 × g)得上清液即为肌原纤维蛋白(Myofibrillar protein, MP)。

1.3.3 模拟体外消化试验方法 参考钟坦君等^[8]的方法稍作修改,具体操作如下:

模拟胃消化阶段:取10 g的MP,加入10 mL蒸馏水摇匀后与20 mL人工胃液混合均匀,用1 mol/L的HCl溶液调节pH至2.0,37℃水浴振荡2 h,反应结束后用0.5 mol/L的NaHCO₃溶液调节pH至7.0。

模拟肠消化阶段:取40 mL上述胃消化液,加入40 mL人工肠液混合均匀,37℃水浴振荡2 h,反应结束后用2 mol/L HCl溶液调pH 2.0。

1.3.4 体外消化率的测定 根据刘萍等^[9]的方法加以修改,体外消化率的计算如下:

$$\text{体外消化率}(\%) = \frac{C_0 - C_1}{C_0} \times 100$$

式中: C_0 为消化前蛋白的含量,g; C_1 为体外消化后的蛋白含量,g。

1.3.5 秘鲁鱿鱼消化后蛋白和脂质氧化特性分析

1.3.5.1 羰基的测定 根据Oliver等^[10]的方法稍修改。由2,4-二硝基苯肼(DNPH)反应形成的蛋白质脎确定。

1.3.5.2 巯基的测定 采用DTNB法^[11]测定并加以修改。通过与5,5-二硫代-双(2-硝基苯甲酸)(DTNB)反应测量总巯基(-SH)含量,并使用13 600的消光系数计算,通过紫外分光光度计检测总巯基含量。

1.3.5.3 二聚酪氨酸的测定 参考Davies等^[12]的方法加以修改。用20 mmol/L的磷酸盐溶液(含0.6 mol/L KCl、pH 7.0)将处理后的蛋白稀释至1 mg/mL后过滤,设置参数为激发波长:325 nm,扫描范围:300~500 nm,狭缝宽度(2.5 nm,2.5 nm)。用测定的荧光值除以蛋白质质量浓度(mg/mL)得到校正后的荧光值,结果以任意单位表示(A.U.)。

1.3.5.4 硫代巴比妥酸值的测定 根据Witte等^[13]的方法,在532 nm处测验硫代巴比妥酸(TBA)值。

1.3.6 粒径的测定 在室温下,通过动态光散射纳米粒度分析仪Zetasize软件评估MP溶液的粒径^[14]。

1.3.7 DPPH的测定 参考Spripokar等^[15]的方法,在517 nm波长下测定DPPH值。

1.3.8 席夫碱的测定 参考胡吕霖等^[16]的方法稍作修改。对上清液在380~600 nm范围内进行荧光发射光谱扫描,激发波长为360 nm。

1.3.9 Fe²⁺螯合能力的测定 参考Xing等^[17]的方法。以去离子水为对照,准确吸取3.7 mL消化样品的上清液、0.2 mL 5 mmol/L菲洛嗪和0.1 mL 2 mmol/L FeCl₂至10 mL离心管中,混合均匀后室温下静置10 min,在562 nm处测定样品吸光度。

1.3.10 数据统计 所有实验指标测定均有3个平行,使用SPSS 19.0统计软件进行单因素数据分析、Origin2020软件进行作图,其中 $P < 0.05$ 代

表差异显著。

2 结果与分析

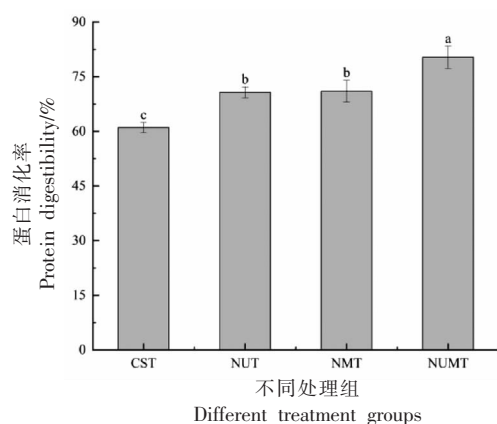
2.1 不同解冻方式对秘鲁鱿鱼蛋白体外消化率的影响

体外消化率表明蛋白质在胃肠中的消化情况,是反映蛋白质在消化道中被酶分解程度的一项重要指标。如图 1 所示,不同的解冻方式对秘鲁鱿鱼体外消化率均有影响。由图可知,NUMT 组的消化率最高达到 80.33%,NUT 和 NMT 组的消化率无明显差异,分别为 70.67% 和 71%,但均高于 CST 处理组(61%)。Cao 等^[18]表明 MNPs 与微波或远红外联合处理可以减少导致蛋白质聚集的因子,Hu 等^[19]认为蛋白质聚集是蛋白质结构的主要变化之一,由此引起的蛋白质氧化不利于蛋白质的消化。MNPs 在外加磁场的作用下可以有效避免聚集体的产生^[20],从而使蛋白质在胃肠道内更好的吸收,提高蛋白质消化率。

2.2 不同解冻方式对秘鲁鱿鱼消化后蛋白氧化特性的影响

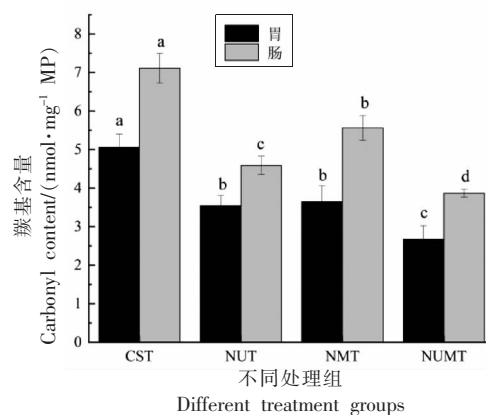
2.2.1 对蛋白消化后羰基含量的影响 羰基化是蛋白氧化最显著的特征指标。图 2 为不同解冻方式对秘鲁鱿鱼消化产物羰基含量的影响,由图可知,CST 处理组羰基含量最高(胃中 5.06 nmol/mg,肠中 7.11 nmol/mg),NUMT 处理组羰基最低(胃中 2.66 nmol/mg,肠中 3.86 nmol/mg),经肠消化后的羰基含量比胃消化后的更高,表明肠道消化后蛋白氧化更严重。这主要是因为与胃蛋白酶相比,胰蛋白酶作为一种非特异性的内肽酶可以降解更多的聚集体^[21],造成更严重的氧化。CST 处理组解冻时间较长,因此比 NUMT 处理组蛋白氧化更严重。Bai 等^[21]研究发现冻融循环次数越多,体外消化后的鸡肉蛋白氧化越严重。蛋白质的交联和聚集,归因于反复冻融破坏了肌肉结构组织。Sun 等^[22]研究证实,氧化变性诱导蛋白质聚集导致其功能和营养品质的下降,蛋白质的消化率降低。所以,良好的解冻方式可以提高蛋白消化率,提升对蛋白质的消化吸收。

2.2.2 对蛋白消化后巯基含量的影响 在解冻过程中羰基含量与巯基含量的变化呈现一定的对应关系,结合巯基与羰基含量变化可以更明确地反



注:不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

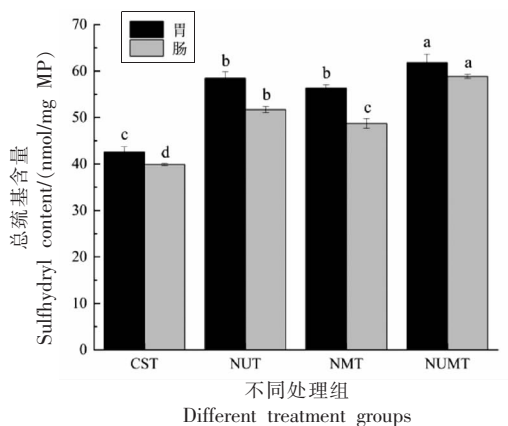
图 1 不同处理组对秘鲁鱿鱼体外消化率的影响
Fig.1 Effect of different treatments groups on the *in vitro* digestibility of jumbo squid



注:不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

图 2 不同处理组对秘鲁鱿鱼消化后蛋白羰基含量的影响
Fig.2 Effect of different treatments groups on the protein carbonyl content of jumbo squid post-digestion

映消化产物氧化情况。如图 3 所示,不同方式解冻的秘鲁鱿鱼经胃肠体外消化后,NUMT 处理组巯基含量最高,胃中 61.83 nmol/mg,肠中 58.56 nmol/mg,分别比 CST 处理组高 19.25 nmol/mg(胃中)和 18.68 nmol/mg(肠中),CST 最低,其次为 NUT 和 NMT。表明 NUMT 处理对秘鲁鱿鱼的破坏最小,在消化过程中,相较于其它解冻方式,降低了鱿鱼的氧化,最大程度的保留了蛋白的营养价值。此外,肠消化后的氧化现象高于胃部消化。半胱氨酸是最容易受到活性自由基氧化修饰的氨基酸之一^[23],秘鲁鱿鱼蛋白质水解后,释放出大量游离的半胱氨酸以及含有半胱氨酸的短肽,因此更



注:不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

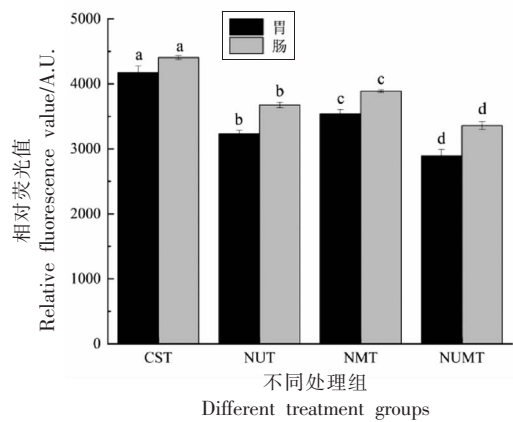
图3 不同处理组对秘鲁鱿鱼消化后蛋白巯基含量的影响

Fig.3 Effect of different treatments groups on sulfhydryl content of jumbo squid post-digestion

容易受到肠道中自由基的攻击,产生强烈的氧化现象,所以经过消化后的蛋白巯基含量肠道低于胃部。

2.2.3 对蛋白消化后二聚酪氨酸含量的影响 酪氨酸在氧化环境中被自由基攻击形成的二聚酪氨酸是判断蛋白质氧化进程的重要指标。与CST处理组相比,NUMT处理组二聚酪氨酸分别降低了30.75%和23.73%(图4)。二聚酪氨酸含量大小顺序为CST>NMT>NUT>NUMT,表明NUMT解冻品质最高,鱿鱼氧化程度最低,消化后能最大程度的被人体吸收。不同方式解冻都会生成二聚酪氨酸,意味着胃蛋白酶消化产物和胰蛋白酶消化产物中均出现蛋白氧化聚集,蛋白质结构发生明显变化。此外,由于氧化形成的聚集物可能改变蛋白酶的识别位点,潜在的降低蛋白酶的敏感性,进而影响消化率^[21]。因此,恰当的解冻方式不仅可以提高肉类解冻品质,也可以提高解冻原料营养价值的利用率。

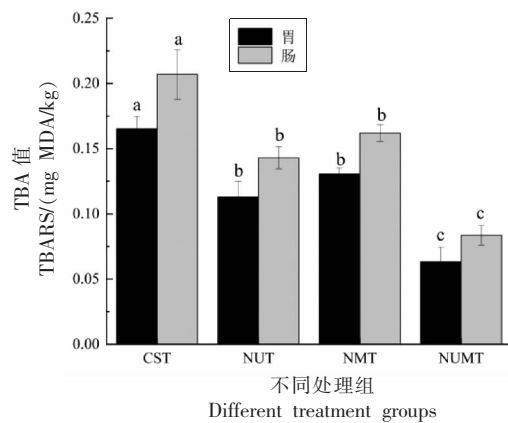
2.2.4 对蛋白消化后脂质氧化的影响 图5是不同解冻方式对秘鲁鱿鱼体外模拟消化产物TBA值的影响。由图可知,CST组TBA值最高,其次依次为NMT、NUT和NUMT处理组,说明CST处理对秘鲁鱿鱼造成更严重的脂质氧化,与上述蛋白氧化结果相同,且消化前TBA值会影响消化后的TBA值,本结果与Rysman等^[24]研究结论一致。鱼肉中残存的血红素、金属离子等组分,可作为催化



注:不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

图4 不同处理组对秘鲁鱿鱼消化后蛋白二聚酪氨酸含量的影响

Fig.4 Effect of different treatments groups on dityrosine content of jumbo squid post-digestion



注:不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

图5 不同处理组对秘鲁鱿鱼消化后脂质TBA值的影响

Fig.5 Effect of different treatments groups on TBA value of jumbo squid post-digestion

剂和助氧剂参与鱼肉消化,促使脂质氧化^[25],因此不同处理组样品消化产物TBA值都上升。与胃消化阶段相比,肠道消化过程中的TBA值更大,可能是因为人工肠液中含有的胰蛋白酶可使脂质在肠液中水解,水解产生的游离脂肪酸比酯化的脂肪酸更易氧化^[8],所以在肠道消化中的TBA值更大。

2.3 不同解冻方式对蛋白消化后粒径的影响

蛋白颗粒大小反映了蛋白在胃和小肠消化后的降解情况。如图6所示,经肠消化后粒径进一步减小,因为在胃中的蛋白及其碎片经过胃蛋白酶

消化后进入小肠,进一步分解成小肽。研究表明消化后肌球蛋白重链、肌动蛋白都可以被降解^[26]。CST 处理组粒径最大,胃消化后为 400.82 nm,肠消化后为 378.48 nm;NUMT 处理组粒径最小,胃消化后为 298.41 nm,肠消化后为 327.48 nm。颗粒尺寸的减小是由于蛋白质在酶的作用下被降解成更小的颗粒^[27]。NUT 和 NMT 处理组秘鲁鱿鱼粒径要大于 NUMT,是因为二者在解冻过程中对秘鲁鱿鱼造成部分氧化,蛋白聚集粒径变大。Bai 等^[24]研究表明反复冻融处理会暴露隐藏在蛋白质内部的基团,蛋白质氧化的程度和速率有所提高,导致蛋白质高度聚集和颗粒大小增加。NUMT 处理组可能通过超声微波联合处理导致一部分变性结构的产生,并增加了肌原纤维蛋白对外源酶作用的敏感性,加快了水解阶段^[28],减少蛋白氧化聚集,粒径最小。相反,蛋白质颗粒越大,蛋白质就越难被消化。

2.4 对蛋白消化后 DPPH 含量的影响

DPPH 自由基清除率是指将活性自由基转化为更稳定产物的能力。由图 7 可知,CST 组的 DPPH 自由基清除率为 46.90%(胃中)和 50.73%(肠中),NUMT 组的 DPPH 自由基清除率为 56.94%(胃中)和 58.72%(肠中),表明 NUMT 处理对 DPPH 自由基清除能力有积极影响。鱼肉蛋白质在消化过程中分解产生的多肽或游离氨基酸可能具有多种生物活性^[8],Li 等^[28]在超声-微波联合处理对金鳍肌原纤维蛋白及其水解物结构和功能特性的影响研究中表明,超声联合微波处理增加了肌原纤维蛋白对外源酶的敏感性,从而加速了水解过程,并在肌原纤维蛋白水解物中产生高浓度肽,这些肽能有效抑制自由基和 ACE 活性,提高抗氧化能力,与本研究结果一致。

2.5 对蛋白消化后席夫碱含量的影响

脂质和蛋白质氧化产生的醛类物质可与蛋白质的游离氨基发生羰氨缩合反应,形成席夫碱,因此席夫碱类物质可以反映蛋白质和脂肪的氧化情况。由于席夫碱类物质存在较强的荧光特性,可以利用荧光强度表征其变化情况,进而反应蛋白和脂质的氧化程度。如图 8 所示,相较于 CST 处理组消化后的荧光强度,经过不同方式解冻的秘鲁鱿鱼均出现荧光强度减小的趋势,表明

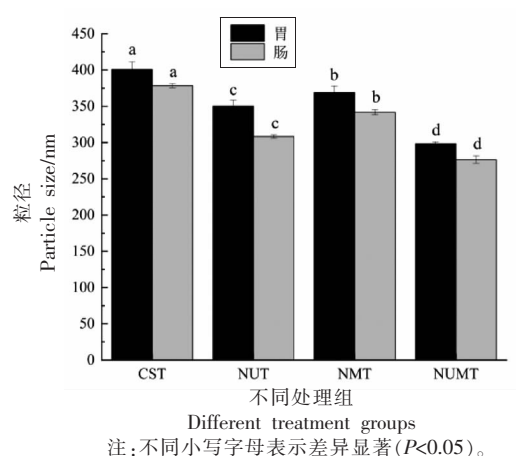


图 6 不同处理组对秘鲁鱿鱼消化后蛋白粒径的影响
Fig.6 Effect of different treatments groups on particle size of jumbo squid post-digestion

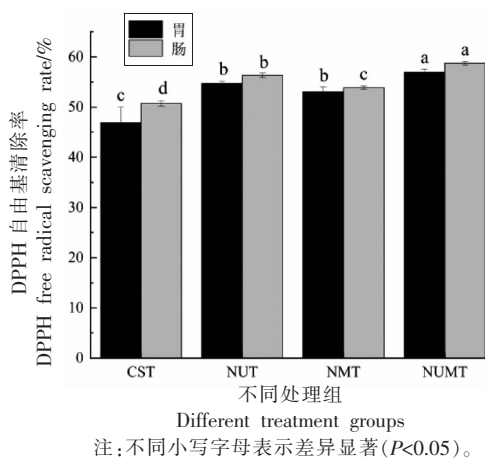


图 7 不同处理组对秘鲁鱿鱼消化后蛋白 DPPH 的影响
Fig.7 Effect of different treatments groups on DPPH of jumbo squid post-digestion

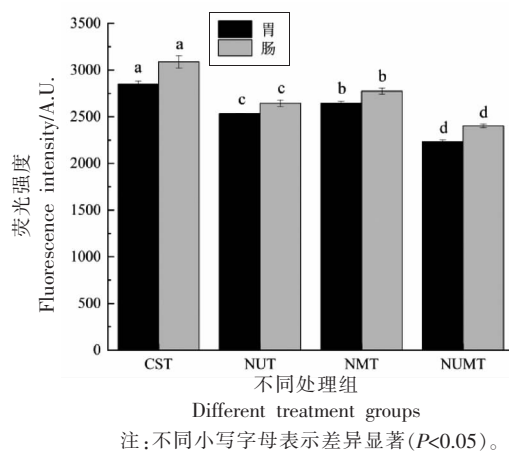


图 8 不同处理组对秘鲁鱿鱼消化后蛋白荧光特性的影响
Fig.8 Effect of different treatments groups on fluorescence characteristic of jumbo squid post-digestion

不同解冻方式对席夫碱类物质的量均有不同程度的影响。胃部消化会促进席夫碱类物质生成,经过肠消化后荧光强度进一步增大,蛋白质与脂质经过模拟肠液处理后,氧化加剧,蛋白质与脂质氧化产物丙二醛进一步结合形成席夫碱,荧光强度增大^[29],本结果与胡吕霖等^[16]研究结论一致。

2.6 对蛋白消化后 Fe²⁺螯合能力的影响

Fe²⁺在氧化应激过程中会催化·OH、O²⁻、RO·和 ROO·的产生,因此 Fe²⁺螯合能力能够反映抗氧化效果^[30],是抗氧化能力的一个重要指标。Fe²⁺和菲洛嗉响应表现为紫色化合物,在 562 nm 处吸收峰最高,其吸光值越低,暗示产物的抗氧化能力越大。由图 9 可知,随着胰蛋白酶的消化,各组 Fe²⁺螯合能力都有提升,表明鱿鱼经体外模拟消化促进蛋白质水解生成大批的小肽和游离氨基酸,表现出良好的抗氧化性能^[31]。NUMT 处理组 Fe²⁺螯合能力最高,分别为 25.59%(胃中)和 32.27%(肠中)。Li 等^[28]研究发现,与超声处理的 MP 相比,超声-微波处理的 MP 可促进强抗氧化片段的释放,有更强的抗氧化能力,与本研究结果一致。在消化过程中,部分小分子短肽暴露出的一些中性和酸性氨基酸结构中的游离羧基,可以扼制金属离子产生自由基,因此有很强的 Fe²⁺螯合能力^[32]。CST 组 Fe²⁺螯合能力最弱,抗氧化能力最差,因此在解冻过程中对秘鲁鱿鱼造成蛋白和脂肪氧化最严重。

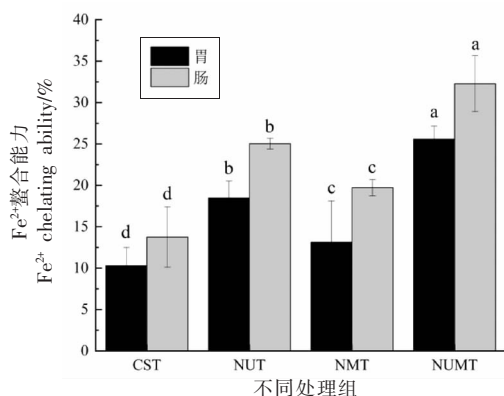


图 9 不同处理组消化后对秘鲁鱿鱼 Fe²⁺螯合能力的影响

Fig.9 Effect of different treatments groups on Fe²⁺ chelating capacity of jumbo squid post-digestion

3 结论

通过模拟体外胃肠消化试验,测定不同解冻方式对秘鲁鱿鱼蛋白氧化特性及消化的影响,在模拟消化实验过程中发现,MNPs 的加入促进了秘鲁鱿鱼在胃肠道中的消化,与超声或微波联合处理后对蛋白质的氧化有明显的抑制效果。结果表明,超声和微波处理在抗氧化特性及促进消化方面发挥着协同作用,NUMT 处理组消化率和巯基含量高于其它处理组,羰基和二聚酪氨酸含量在 4 组中最低,表明 NUMT 处理组可以抑制消化过程中的氧化反应在胃肠道中进一步加重。由于胃肠道环境提供了更加剧烈的氧化条件,而 NUMT 的处理促进了蛋白质水解成小肽和氨基酸,与 Fe²⁺螯合能力增强,抗氧化能力优于其它处理组。综上所述,MNPs 联合超声和微波可以提高蛋白消化率并达到很好的抗氧化效果,促进了蛋白质在人体消化道内的消化吸收。本研究结果为水产品解冻技术的开发以及如何提高水产品在内消化道的消化吸收提供研究思路。

参 考 文 献

- [1] 魏婉莹, 赵金丽, 张小利, 等. 基于响应面法优化的秘鲁鱿鱼肌肉嫩化工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(13): 6-13.
WEI W Y, ZHAO J L, ZHANG X L, et al. Research on Peruvian squid muscle tenderization process based on response surface method optimization [J]. Food Research and Development, 2019, 40 (13): 6-13.
- [2] 于笛, 傅志宇, 郑杰, 等. 秘鲁鱿鱼不同组织营养成分分析与评价[J]. 食品研究与开发, 2021, 42 (5): 164-171.
YU D, FU Z Y, ZHENG J, et al. Analysis and evaluation of nutrient composition of different tissues of Peruvian squid[J]. Food Research and Development, 2021, 42(5): 164-171.
- [3] 张珂, 关志强, 李敏, 等. 解冻方法对冻藏肉类食品品质影响的研究进展[J]. 肉类研究, 2014, 28 (8): 24-29.
ZHANG K, GUAN Z Q, LI M, et al. Research progress on the effect of thawing method on the quality of frozen meat food[J]. Meat Research, 2014,

- 28(8): 24–29.
- [4] ZHU W H, GUO H F, HAN M L, et al. Evaluating the effects of nanoparticles combined ultrasonic–microwave thawing on water holding capacity, oxidation, and protein conformation in jumbo squid (*Dosidicus gigas*) mantles[J]. Food Chemistry, 2022, 402(15): 134250.
- [5] 李芳, 黄慧敏, 尤翔宇, 等. 热处理对过氧自由基氧化米糠蛋白体外胰蛋白酶消化性质及消化产物抗氧化性的影响[J]. 中国粮油学报, 2020, 35(4): 39–45.
- LI F, HUANG H M, YOU X Y, et al. Effect of heat treatment on the *in vitro* trypsin digestion properties and antioxidant properties of digestion products of rice bran protein oxidized by peroxy radicals[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2020, 35(4): 39–45.
- [6] ESTÉVEZ M, LUNA C. Dietary protein oxidation: A silent threat to human health?[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2017, 57(17): 3781–3793.
- [7] ZHU W H, LI Y, BU Y, et al. Effects of nanowarming on water holding capacity, oxidation and protein conformation changes in jumbo squid (*Dosidicus gigas*) mantles[J]. LWT–Food Science and Technology, 2020, 129: 109511.
- [8] 钟坦君, 洪鹏志, 周春霞, 等. 没食子酸对金线鱼鱼糜凝胶特性及其体外消化产物活性的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(14): 76–84.
- ZHONG T J, HONG P Z, ZHOU C X, et al. Effects of gallic acid on the gelatinization properties and *in vitro* digestive product activity of goldfish surimi[J]. Food Science, 2022, 43(14): 76–84.
- [9] 刘萍, 祁兴普, 战旭梅, 等. 休闲鱼肉粒的体外消化模拟及其产物抗氧化效果评价[J]. 食品与机械, 2014, 30(6): 135–138.
- LIU P, QI X P, ZHAN X M, et al. *In vitro* digestion simulation of recreational fish pellets and evaluation of antioxidant effects of their products[J]. Food & Machinery, 2014, 30(6): 135–138.
- [10] OLIVER C N, AHN B W, MOERMANS E J, et al. Age-related changes in oxidized proteins[J]. Journal of Biological Chemistry, 1987, 262(12): 5488–5491.
- [11] ELLMAN G L. Tissue sulfhydryl groups[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1959, 82(1): 70–77.
- [12] DAVIES K J A, DELSIGNORES M E, LI S W. Protein damage and degradation by oxygen radicals. II. Modification of amino acids[J]. Journal of Biological Chemistry, 1987, 260(20): 9902–9907.
- [13] WITTE V C, KRAUSE G F, BAILEY M E. A new extraction method for determining 2–Thiobarbituric acid values of pork and beef during storage[J]. Journal of Food Science, 1970, 35(5): 582–585.
- [14] LIU H T, LI Y Y, DIAO X P, et al. Effect of porcine bone protein hydrolysates on the emulsifying and oxidative stability of oil–in–water emulsions[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2018, 538(5): 757–764.
- [15] SRIPOKAR P, BENJAKUL S, KLOMKLAO S. Antioxidant and functional properties of protein hydrolysates obtained from starry triggerfish muscle using trypsin from albacore tuna liver[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2019, 17: 447–454.
- [16] 胡吕霖, 任思婕, 沈清, 等. 不同烹饪方式及体外模拟消化环境对鲟鱼蛋白质氧化及消化性的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(20): 63–70.
- HU L L, REN S J, SHEN Q, et al. Effects of different cooking methods and *in vitro* simulated digestive environment on protein oxidation and digestibility of sturgeon[J]. Food Science, 2018, 39(20): 63–70.
- [17] XING L J, HU Y Y, HU H Y, et al. Purification and identification of antioxidative peptides from dry-cured Xuanwei ham[J]. Food Chemistry, 2016, 194(1): 951–958.
- [18] CAO M J, CAO A L, WANG J, et al. Effect of magnetic nanoparticles plus microwave or far-infrared thawing on protein conformation changes and moisture migration of red seabream (*Pagrus Major*) fillets[J]. Food Chemistry, 2018, 266(15): 498–507.
- [19] HU L L, SIJIE R, QING S, et al. Proteomic study of the effect of different cooking methods on protein oxidation in fish fillets[J]. RSC Advances, 2017, 7(44): 27496–27505.
- [20] ETHERIDGE M, XU Y, ROTT L, et al. RF heating of magnetic nanoparticles improves the thawing of cryopreserved biomaterials[J]. Technology, 2014, 2(3): 229–242.
- [21] BAI X, SHI S, KONG B H, et al. Analysis of the

- influencing mechanism of the freeze–thawing cycles on *in vitro* chicken meat digestion based on protein structural changes [J]. *Food Chemistry*, 2023, 399 (15): 134020.
- [22] SUN W Z, ZHOU F B, ZHAO M M, et al. Physicochemical changes of myofibrillar proteins during processing of Cantonese sausage in relation to their aggregation behavior and *in vitro* digestibility[J]. *Food Chemistry*, 2011, 129(2): 472–478.
- [23] 吴伟, 尤翔宇, 黄慧敏, 等. 热处理对丙二醛氧化米糠蛋白体外胃蛋白酶消化性质的影响[J]. *中国食品学报*, 2020, 20(10): 76–83.
- WU W, YOU X Y, HUANG H M, et al. Effect of heat treatment on the *in vitro* pepsin digestion properties of malondialdehyde–oxidized rice bran protein [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2020, 20(10): 76–83.
- [24] RYSMAN T, HECKE T V, POUCKE C V, et al. Protein oxidation and proteolysis during storage and *in vitro* digestion of pork and beef patties[J]. *Food Chemistry*, 2016, 209(15): 177–184.
- [25] 胡吕霖. 烹饪对鲟鱼蛋白质氧化及消化性的影响研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2018.
- HU L L. Study on the effect of cooking on protein oxidation and digestibility of sturgeon[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2018.
- [26] WEN S Y, ZHOU G H, SONG S X, et al. Discrimination of *in vitro* and *in vivo* digestion products of meat proteins from pork, beef, chicken, and fish [J]. *Proteomics*, 2015, 15(21): 3688–3698.
- [27] WANG W L, LI Y, ZHOU X R, et al. Changes in the extent and products of *in vitro* protein digestion during the ripening periods of Chinese dry–cured hams[J]. *Meat Science*, 2021, 171: 108290.
- [28] LI Z Y, WANG J Y, ZHENG B D, et al. Impact of combined ultrasound–microwave treatment on structural and functional properties of golden threadfin bream (*Nemipterus virgatus*) myofibrillar proteins and hydrolysates[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2020, 65: 105063.
- [29] 于小番. 不同烹调热处理对刀额新对虾蛋白质结构、氧化特性及消化性的影响[D]. 扬州: 扬州大学, 2021.
- YU X F. Effects of different cooking heat treatments on protein structure, oxidative properties and digestibility of *Penaeus vannamei* [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2021.
- [30] 张诗雯. 芹菜对鱼糜制品凝胶品质及体外消化特性的影响[D]. 锦州: 渤海大学, 2019.
- ZHANG S W. Effect of celery on gel quality and *in vitro* digestive properties of surimi products [D]. Jinzhou: Bohai University, 2019.
- [31] 王乐, 成晓瑜, 马晓钟. 金华火腿加热烹饪和体外模拟消化后粗肽抗氧化和 ACE 抑制活性比较研究 [J]. *肉类研究*, 2018, 32(1): 16–22.
- WANG L, CHENG X Y, MA X Z. Comparative study of antioxidant and ACE inhibitory activities of crude peptides from Jinhua ham after heating cooking and *in vitro* simulated digestion [J]. *Meat Research*, 2018, 32(1): 16–22.
- [32] QIAN Z J, JUNG W K, KIM S K, et al. Free radical scavenging activity of a novel antioxidative peptide purified from hydrolysate of bullfrog skin, *Rana catesbeiana* Shaw [J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(6): 1690–1698.

Effects of Nanothawing on Oxidation Characteristics of Jumbo Squid (*Dosidicus gigas*) Protein after Digestion

Zhu Wenhui, Li Wenzheng, Guo Huifang, Bu Ying, Li Jianrong, Li Xuepeng*

(College of Food Science and Engineering, Bohai University, China Light Industry Key Laboratory of Marine Fish Processing, Jinzhou 121013, Liaoning)

Abstract To investigate the effects of different thawing methods on the oxidation characteristics of protein after *in vitro* gastrointestinal digestion, four thawing methods, namely cold storage thawing (CST), MNPs combined ultrasonic thawing (NUT), MNPs combined microwave thawing (NMT), and MNPs combined ultrasonic–microwave thawing (NUMT), were used to simulate the gastrointestinal digestion of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) *in vitro*. The results showed that compared with the control group CST, the three thawing methods all improved the digestibility of protein. The protein di-

gestibility *in vitro* of the NUMT treatment group was up to 80.33%. The degree of protein oxidation in the NUMT group was the lowest after gastrointestinal digestion. Specifically, the carbonyl content was 2.66 nmol/mg in the stomach and 3.86 nmol/mg in the intestine; dipolytyrosine levels were reduced by 30.75% in the stomach and 23.73% in the intestine compared to the CST group; the sulfhydryl group contents were 19.25 nmol/mg in the stomach and 18.68 nmol/mg in the intestine. Additionally, the particle sizes of the NUMT group were the smallest, measuring 298.41 nm in the stomach and 327.48 nm in the intestine. The DPPH free radical scavenging rate and Fe²⁺ chelating ability in the NUMT treatment group were the highest, reaching 56.94% vs 25.59% in the stomach and 58.72% vs 32.27% in the intestine, respectively. In conclusion, under the four different thawing methods, the NUMT treatment group significantly reduces protein and lipid oxidation during the thawing process of jumbo squid, demonstrating the highest antioxidant activity following gastrointestinal digestion.

Keywords Jumbo squid (*Dosidicus gigas*); nano-thawing; *in vitro* digestion; oxidative properties; antioxidant capacity