

冻结方式对凡纳滨对虾贮藏中组织冰晶及品质的影响

向迎春¹, 黄佳奇¹, 杨志坚^{1,2}, 栾兰兰¹, 余海霞², 杨水兵², 胡亚芹^{1,2,*}

(1. 浙江大学生物系统工程与食品科学学院, 浙江省农产品加工技术

研究重点实验室, 馥莉食品研究院, 浙江杭州 310058;

2. 浙江大学舟山海洋研究中心, 浙江舟山 316021)

摘要:新鲜凡纳滨对虾采用液氮、平板及冰柜冻结结合 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 贮藏, 研究不同贮藏时间内其组织冰晶形态与品质变化, 以评价出最优的冻结方式。结果显示, 随着贮藏时间的延长, 平板及冰箱冻结的盐溶性蛋白含量、持水性、感官评分显著降低($p<0.05$); 而液氮冻结形成的冰晶直径比平板速冻小 $1/3$, 比冰箱小 $1/2$; 冻结后贮藏180 d其挥发性盐基氮(TVB-N值) $\leq 25\text{ mg}/100\text{ g}$, 硫代巴比妥酸值(TBA)仅为 $0.72\text{ mg}/100\text{ g}$, 有效抑制了虾肉肌原纤维蛋白变性 & 脂肪氧化, 能较好维持肌肉组织形态和品质, 从而使虾肉的货架期延长至180 d以上。

关键词:凡纳滨对虾, 液氮冻结, 平板冻结, 冰柜冻结, 冰晶, 品质

Effect of different freezing methods on the ice crystals and quality of white shrimp (*Penaeus Vannamei*) in the storage

XIANG Ying-chun¹, HUANG Jia-qi¹, YANG Zhi-jian^{1,2}, LUAN Lan-lan¹,

YU Hai-xia², YANG Shui-bing², HU Ya-qin^{1,2,*}

(1. College of Biosystems Engineering and Food Science, Zhejiang Key Laboratory

for Agro-Food Processing, Fuli Institute of Food Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China;

2. Ocean Research Center of Zhoushan, Zhejiang University, Zhoushan 316021, China)

Abstract: Fresh white Shrimp (*Penaeus Vannamei*) were stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ for different period after various frozen treatment including liquid nitrogen freezing, plate freezing and refrigerator freezing. The formation of ice crystals in shrimp meat tissues and changes of the meat quality were analyzed in order to evaluate the optimal way of freeze. Results showed that with the extension of storage time, the content of salt-soluble protein and water holding ability and sensory score decreased significantly ($p<0.05$) in both plate freezing and freezer frozen groups. The ice crystals formed during liquid nitrogen freezing were tinier $1/3$ than plate freezing and tinier $1/2$ than freezer frozen. After stored for 180 d, the value of TVB-N was $\leq 25\text{ mg}/100\text{ g}$. The value of TBA was only $0.72\text{ mg}/100\text{ g}$, suggesting the samples treated by liquid nitrogen was in a relative fresh condition because it could maintain the morphology of tissue better. Liquid nitrogen freezing inhibited the protein denaturation and fat oxidation in shrimp effectively in order to prolonging the shelf life more than 180 d and better quality of the shrimp.

Key words: *Penaeus Vannamei*; liquid nitrogen freezing; plate freezing; refrigerator freezing; ice crystals; quality

中图分类号: TS254.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2018)05-0280-08

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2018.05.052

凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 又称南美白对虾, 因其具有生长速度快、养殖周期短、对环境适应力强、好运输、壳薄肉厚味鲜美、加工出肉率高等优点, 是目前世界公认养殖产量最高的三大优良虾种之一^[1-2]。由于新鲜凡纳滨对虾水分含量高, 富含高蛋白、高不饱和脂肪酸, 但特殊的组织结构引起虾死后僵直期短, 自溶作用迅速, 极易腐败变质。加

上虾体内的酪氨酸多酚氧化酶的催化, 凡纳滨对虾和绝大部分虾类一样易发生黑变现象^[3]。

低温可以有效抑制虾肌肉组织中的多酚氧化酶、组织蛋白酶等的活性, 并控制有害微生物的生长从而延长其货架期^[4]。目前国内外使用的低温保鲜方法很多, 主要有冷藏保鲜、冰藏保鲜及冻藏保鲜。冻藏作为目前水产保鲜领域应用最普遍的方法, 亦

收稿日期: 2017-03-29

作者简介: 向迎春 (1990-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 水产品加工与贮藏, E-mail: 18368191765@163.com。

* 通讯作者: 胡亚芹 (1972-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 水产品加工与贮藏, E-mail: yqhu@zju.edu.cn。

基金项目: 国家自然科学基金 (31671918); 国家十三五重点项目 (2017YFD0400404); 省重大科技专项 (2014C02017)。

广泛应用于凡纳滨对虾的贮藏^[5]。常用的冻结方式分为空气冻结、平板冻结和浸渍冻结。不同冻结方式对冻品的品质产生着极大的影响,低于冰点的温度引起肌肉组织内水分结冰,不同的冻结方式引起冰晶的形成及分布对肌肉细胞结构的破坏程度不一,从而使冻品组织、色泽、风味、营养等发生一系列变化。阙婷婷^[6]研究了乌鳢在不同方式下的冻结;胡庆兰^[7]研究了关于带鱼在液氮、平板、冰箱冻结条件下的带鱼的品质变化;邓敏^[8]对草鱼研究表明浸渍冻结能延缓草鱼蛋白质的变性;Boonsumrej^[9]对老虎虾的研究表明深冷冻结优于鼓风冻结。而关于水产业中常用的液氮、平板、冰箱冻结对凡纳滨对虾冻藏过程中品质的影响研究还未见报道。因此,研究液氮冻结、-30℃平板冻结、-20℃冰柜冻结三种不同冻结方式对凡纳滨对虾冻藏过程中品质的影响具有重要的指导意义。

本实验研究选取鲜活的舟山凡纳滨对虾经过液氮冻结、-30℃平板冻结、-20℃冰柜冻结三种不同方式,并贮藏在-20℃冰箱中一段时间,观察冰晶引起的组织变化。以 Ca^{2+} -ATP酶活、盐溶性蛋白、硫代巴比妥氨酸值(TBA值)、挥发性盐基氮(TVB-N值)等为测定指标,研究凡纳滨对虾在不同冻结方式下贮藏时间对其组织冰晶状态及肌肉理化性质变化规律的影响,为冷冻水产品,特别是凡纳滨对虾的冻藏保鲜提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

新鲜凡纳滨对虾 舟山市水产研究所,选取10~15 g体表无损伤的活虾,保氧活体运回实验室后,立即进行不同条件的冻结处理;冰醋酸、硼酸、浓硫酸、钼酸铵、硫酸铜、四水合酒石酸钾钠、2-硫代巴比妥酸、三羟甲基氨基甲烷 均为分析纯(AR),国药化学试剂有限公司;无水乙醇、磷酸二氢钠 均为分析纯,上海化学试剂有限公司;甲基红 分析纯,温州市华侨化学试剂有限公司;5-5,-二硫代双硝基苯甲酸 分析纯,阿拉丁生化科技股份有限公司。

液氮喷淋装置 美国空气化工公司;平板速冻装置 浙江舟山兴业集团有限公司;BC/BD-629HAN-20℃冰箱 青岛海尔股份有限公司;FSH-II可调高速匀浆机 金坛市鸿科仪器厂;UV-2550紫外分光光度计 日本岛津公司;G2-38B漩涡混合器 海门市其林贝尔仪器制造有限公司;Data Trace RF无线实时温度传感器 梅萨实验室公司;TGL20M台式低速冷冻离心机 湖南凯达科学仪器有限公司;HH-1数显搅拌恒温水浴锅 金坛市科杰仪器厂;CryoStar NX50冰冻切片机 赛默飞世尔科技(中国)有限公司;MODEL UB200i显微镜 重庆澳浦光电技术有限公司;K9860全自动凯氏定氮仪 济南海能仪器股份有限公司;EF20K pH计 上海梅特勒托利多仪器公司;BS223S电子天平 北京赛多利斯天平有限公司。

1.2 实验方法

三种不同冻结处理:根据胡庆兰^[7]的方法进行改

进,将样品虾进行三种不同条件的冻结处理。液氮速冻:样品沥水,入液氮喷淋装置,经30 s虾中心温度达到-20℃,取出镀冰衣,分装封口。平板速冻:样品沥水,入-30℃平板冻结装置,经8 min 15 s虾中心温度降至-20℃,取出分装封口。冰柜冻结:样品放入-20℃冰箱内降温,至28 min 43 s虾中心温度达到-20℃,分装封口。以上三种冻结处理的样品都放置在-20℃冷库中贮藏,定期取出立即经过流水解冻去壳进行实验指标的检测。

1.3 品质指标分析

1.3.1 组织冰晶观察 将切虾肉的工具提前预冷,冻藏处理完成的虾肉切成5 mm×3 mm×3 mm的立方体,3 mm×3 mm为横切面朝下浸入OCT包埋盒,放入干冰中迅速凝固包埋剂;冷冻切片机修好片后贴上低温粘着膜(一种在低温下具有粘附性的光学透明膜)切下6 μm的薄片;70%乙醇固定2 min,水洗,苏木素染色1 min,水洗,1%盐酸酒精溶液分化2 s,水洗5 min,氨水反蓝30 s,水洗,伊红染色3 min,水洗,贴于载玻片上封片。光学显微镜观察拍照,Image J软件计算出冰晶面积。

1.3.2 TVB-N值测定 参照GB/T5009.44-2003和Chang的方法^[10-11]略有改进。取10.00 g虾肉样品(每组3个平行)于250 mL具塞锥形瓶中,加入90 mL,0.6 mol/L高氯酸,在15000 r/min下均质2 min,然后在转速4000 r/min条件下离心10 min,取上清液放于2~6℃的环境条件下,取5 mL滤液于消化管中,用全自动凯氏定氮仪测定TVB-N值。

1.3.3 盐溶性蛋白含量的测定 按照Eymard^[12]的方法略有改进。取两份虾肉,每份1.00 g,分别加入10 mL高离子磷酸缓冲溶液(0.5 mol/L KCl、0.01 mol/L NaH_2PO_4 、0.03 mol/L Na_2HPO_4)和10 mL低离子磷酸缓冲液(0.025 mol/L NaH_2PO_4 、0.025 mol/L Na_2HPO_4)搅拌均匀,前者静置3 h,后者静置1 h。然后在3000 r/min下离心15 min。取上清液,加入10 mL 15%三氯乙酸沉淀蛋白质,静置后加入10 mL 1 mol/L NaOH溶解蛋白质,再分别以高、低磷酸盐缓冲液定容至50 mL,再用双缩脲试剂法测定蛋白质含量。盐溶性蛋白含量为高盐溶液中蛋白质含量减去低盐溶液中蛋白质含量。

1.3.4 Ca^{2+} -ATPase活性的测定 取绞碎的虾肉约2.00 g,加入20 mL预冷的高离子盐溶液(0.1 mol/L KCl + 0.01 mol/L Na_2CO_3 + 0.04 mol/L NaHCO_3),15000 r/min。然后加入相当于虾肉重量10倍冰水稀释,震荡均匀,离心(4000 r/min×10 min),倒去上层清液,取出沉淀物,重复上述操作三次,得到的肌原纤维沉淀物,然后定容至100 mL,所得的肌原纤维悬浊液供 Ca^{2+} -ATPase活性测定。

主要参考Wu^[13]的方法,略有改动。在试管中加入20 mmol/L Tris-HCl 2.5 mL、0.05 mol/L CaCl_2 1.0 mL、4 mol/L KCl 1.0 mL、6.67 mmol/L ATP- Na_2 1.5 mL、肌原纤维蛋白酶液4 mL,置于28℃的水浴锅中保温30 min,以加入肌原纤维蛋白酶液开始反应,反应体积为10 mL,最后加入1.0 mL 15%的三氯

乙酸终止反应。空白对照组自反应开始时加 1.0 mL 15% 的三氯乙酸。反应终止后用滤纸过滤,滤液定容至 100 mL。用钼酸铵法在 640 nm 波长处比色测定。计算公式如下:

$$\text{活性} = A - \frac{B}{t \times \text{酶蛋白量}} \quad \text{式(1)}$$

式(1)中:A 为 1 mL 反应液生成的磷酸量(μmol);B 为空白值(μmol);t 为反应时间(min);酶蛋白量-1 mL 反应液所含的酶量(mg)。

1.3.5 TBA 值测定 参照 Wu^[14]与姜晴晴^[15]的方法,略有改动。取绞碎样品 5.00 g,加入 25 mL 7.5% 的三氯乙酸(含有 0.1% EDTA),匀浆后于 5000 r/min 离心机离心 10 min,双层滤纸过滤两次。取 5 mL 上清液,加入 5 mL 0.02 mol/L TBA 溶液,沸水浴中保存 40 min,取出冷却至室温,取上清液,加入 5 mL 氯仿摇匀,静置分层后取上清液分别在 532 nm 和 600 nm 波长处比色,记录吸光度,并用以下公式计算 TBA 值。

$$\text{TBA}(\text{mg}/100 \text{ g}) = \frac{(A_{532} - A_{600})}{155 \times (m) \times 72.6 \times 0.05 \times 100} \quad \text{式(2)}$$

式(2)中: A_{532} 为空白上清液的吸光度; A_{600} 为样品上清液的吸光度;m 为虾肉样品质量;155 为丙二醛的摩尔吸光系数;72.06:丙二醛摩尔质量;0.05、100 为单位转换值。

1.3.6 pH 测定 参照胡庆兰^[7]的方法,略有改动。取 5.00 g 绞碎的虾肉于试管中,加入蒸馏水至 50 mL,搅拌均匀,静置 30 min,然后用 pH 计进行测定,每组三个平行。

1.3.7 持水率测定 参照 Wu^[16]的方法,略有改动。取 2.00 g 左右的样品,捣碎,放入装有定量滤纸的 5 mL 离心试管中,事先称好滤纸和离心管的重量并做好记录,然后装有样品的离心管放入离心机中,5000 r/min 离心 10 min;离心后记录滤纸的重量,持水力的计算公式如下:

$$W = \frac{M_1 \times A - M_2}{M_1 \times A} \quad \text{式(3)}$$

式(3)中:W 为持水率; M_1 为样品重;A 为样品水分含量; M_2 为滤纸增加水分含量。

1.3.8 感官评价 参考 Bak^[17]、阙婷婷^[6]与方静^[18]的方法并加以改进。选取 10 位食品专业经过专业课程培训的学生组成感官评定小组,在贮藏期间,对凡纳滨对虾蒸煮后的品质进行感官评分(标准见表 1)。每只对虾加 30 mL 水,5 min 沸水煮熟,分别对滋味、气味、外观、弹性进行感官评定,其中满分 10 分,

8~10 分为一级鲜度,5~7 分为二级鲜度,5 分以下表明样品不再适合食用。最后以分数的平均值为综合感官评定结果。

1.4 数据统计分析

使用 Image J 软件计算冰晶面积,测定及分析结果采用 Origin 9.0 及 SPSS Statistics 进行处理,采用先出差异法(LSD)比较不同处理组,显著性 $p < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 不同预冻方式对凡纳滨对虾肌肉贮藏期间的冰晶大小比较

组织切片图在一定程度上反映着水产品组织内的结构变化。图 1 为不同冻结方式下贮藏凡纳滨对虾微观组织结构变化图。从表 2 的直径大小比较中可以看出,不同的预冻方式对凡纳滨对虾肌肉组织影响极大,冰晶引起的组织间隙变化明显。从第 0 d 的新鲜样中看出未冻结的肌肉组织排列致密整齐,组织之间观察不到明显的间隙。冻结完成后的图可以看出液氮冻结组织的冰晶空隙小而均匀,因为液氮冻结仅 30 s 便达到 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$;而平板冻结通过 8 min 15 s 到达中心温度,其组织冰晶间隙相对液氮冻结大;冰柜冻结组织形成大量不规则冰晶引起组织间隙最大,这是由于冰柜冻结 28 min 43 s 才达到中心 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$,冻结速率慢,通过最大冰晶生成带的时间长,形成的冰晶相对较大。刚冻结完成的液氮冻结,组织冰晶当量直径极小,仅 $15.096\text{ }\mu\text{m}$,与新鲜样组织没有明显区别。随着冻藏时间的延长,冰晶空隙增大,当到达 180 d 时,液氮冻结形成的冰晶直径比平板小 1/3,比冰箱小 1/2,凡纳滨对虾冰晶空隙相对冻藏 30 d 均增加了约一倍,冰柜冻结形成的冰晶空隙远远大于液氮冻结,造成组织损伤更大^[19]。

当放入 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰柜贮藏 30 d 的过程中,由于冻虾从冻结状态转移到冰柜中贮藏,温度的稍微波动使小冰晶相对于大冰晶不稳定,小冰晶依附于大冰晶,使冰晶面积逐渐增大,但此时的组织纤维相对完好无损伤。当贮藏达 90 d 时,各冻结组冰晶持续长大,不规则冰晶相继增多,刺破肌肉细胞组织,肌纤维破坏,组织受冰晶影响出现不同程度的破坏。但是可以明显看出液氮冻结组形成的冰晶细小均匀,组织间隙细小紧密。而冰箱冻结组冰晶形成大小不一,冰晶较大,使肌纤维扭曲断裂,降解严重,胞内冰晶刺破细胞,使组织纤维断裂。细胞的失水及蛋白酶的外泄也进一步引起肌原纤维蛋白的扭曲变性^[20]。从冷冻切片图中可以看出,各组肌肉组织均出现不同程度的扭曲变形,肌节与肌纤维也出现分

表 1 对虾感官评价标准

Table 1 Sensory evaluation standard for white shrimp

感官指标		评价标准		
滋味(2分)	鲜香的虾味	中度的虾味	略有虾味	失去虾味
气味(2分)	无	轻淡腐味	中度腐败味	强烈腐败味
外观(3分)	虾壳鲜红色,有光泽,透明	虾尾轻微黑斑,不透明,甲壳粗糙	大面积黑斑,不透明,甲壳黏滑	色泽灰暗,肉与壳脱离
弹性(2分)	有弹性,坚硬	略黏滑,粗糙	明显黏滑	丧失弹性,软化

表2 不同冻结方式冻藏凡纳滨对虾组织冰晶的当量直径($\bar{X} \pm SD, \mu\text{m}$)
Table 2 The equivalent diameter of ice crystals in tissues of white shrimp under different freezing method($\bar{X} \pm SD, \mu\text{m}$)

冻结方式	冷藏时间(d)				
	0(新鲜样)	0(冻结完成)	30	90	180
液氮	13.71 $\pm$ 0.134	15.096 $\pm$ 4.584	87.004 $\pm$ 11.815	101.122 $\pm$ 26.494	162.641 $\pm$ 27.612
平板	13.71 $\pm$ 0.134	42.187 $\pm$ 13.16	126.038 $\pm$ 21.618	184.019 $\pm$ 33.075	244.856 $\pm$ 19.879
冰柜	13.71 $\pm$ 0.134	95.173 $\pm$ 24.768	159.102 $\pm$ 17.046	309.785 $\pm$ 23.201	348.787 $\pm$ 30.699

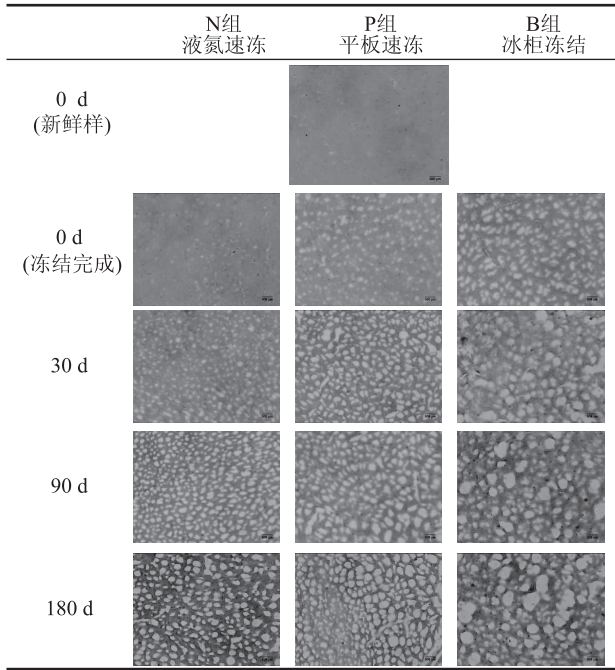


图1 不同冻结方式贮藏下凡纳滨对虾微观组织结构的变化($\times 200$)

Fig.1 Changes of microstructure in white shrimp under different freezing methods($\times 200$)

离,这可能由于冷冻贮藏过程中细胞的破坏引起肌原纤维与内部结缔组织的降解。图中冰柜冻结组的组织受大冰晶的机械作用完全遭到破坏,平板冻结组的组织也出现了不同程度的大孔洞及细胞损坏。而液氮冻结组的细胞最为完整,胞内冰晶主要形成于肌原纤维细胞的边界,这应该与冷冻速率对冰晶形成位置有关。Kaale.L.D 等人^[21-22]研究表明冷冻三文鱼受冻结速率的不同,组织内形成不同大小的冰晶,快速冻结形成大量胞内小冰晶,而慢速冻结恰恰相反形成大量大冰晶。黄鸿兵^[23]研究表明不同冻结后贮藏猪肉 24 h,冻结速度越快,冰晶形成越细小($p < 0.05$)。

总之,冷冻切片图结果表明经过液氮处理的对虾,达到中心温度的时间最短,水分结晶最快,形成的冰晶当量直径最小,细小冰晶对肌肉细胞损害较小,从而降低组织的破坏程度及组织液的外泄,更好地保持了虾肉组织的完整性,降低了虾肉组织的变化。

2.2 不同冻结方式对凡纳滨对虾 TVB-N 的影响

TVB-N 值作为评价水产品鲜度最常用且有效的指标,其含量越低表明其新鲜度越高。GB2741-94 中规定对凡纳滨对虾鲜度进行了划分:TVB-N

($\text{mg}/100\text{ g}$) ≤ 25 为一级品;TVB-N ($\text{mg}/100\text{ g}$) ≤ 30 为合格品。因此 TVB-N 值被广泛作为判断水产品新鲜程度的重要指标,它反映了水产品蛋白质与非蛋白质物质间因分解而积累具有挥发性的氨、三甲胺与二甲胺等的情况^[24]。

由图 2 新鲜凡纳滨对虾的 TVB-N 值为 2.338 $\text{mg}/100\text{ g}$ 。随着时间的延长,三种方式(液氮、平板、冰柜)冻结下凡纳滨对虾其 TVB-N 值均呈增大趋势,液氮冻结方式上升的趋势相对较缓。而冰柜冻结上升趋势最大,其中前 28 d TVB-N 增长缓慢,在后期增长较快。液氮冻结、平板冻结、冰柜冻结在前 30 d TVB-N 值分别增加了 2.204、3.299、4.320 $\text{mg}/100\text{ g}$,在后期至 180 d 时达到 15.143、25.074、25.538 $\text{mg}/100\text{ g}$,仍然具有较好的鲜度。由此,液氮冻结的凡纳滨对虾品质最好,TVB-N 均小于 25 $\text{mg}/100\text{ g}$,属于一级品。其它冻结的凡纳滨对虾品质较差,TVB-N 值已经超过一级品的限度。TVB-N 值的变化可能与 AMP 和脱氨基作用释放出氨态氮有关,而 TMA 和 DMA 产生的可能性不大,所以上升慢,而后期冰晶的不断长大对组织结构的破坏引起组织酶的降解及微生物活动的加强,微生物引起部分氨基酸分解,从而脱氨基作用加剧,TVB-N 值增加迅速。此结果的变化趋势与 Hui^[25] 等用不同冻结方式处理鳙鱼及胡庆兰^[7] 用不同方式冻藏带鱼的研究相似。郑振霄^[26] 对鲈鱼不同保鲜处理后冻藏期间品质的变化测定,也发现随着冻藏时间的延长 TVB-N 值逐渐增大。

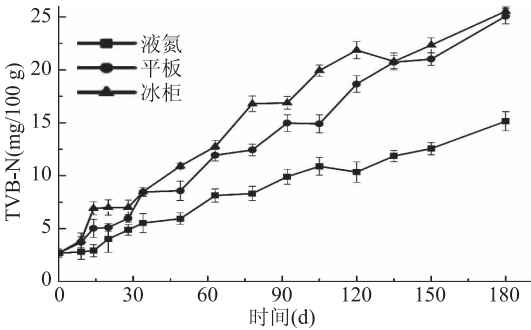


图2 不同冻结方式凡纳滨对虾 TVB-N 的变化

Fig.2 Changes of TVB-N in white shrimp under different freezing methods

2.3 不同冻结方式对凡纳滨对虾盐溶性蛋白含量的影响

蛋白质的溶解性是肌肉品质的重要衡量指标,盐溶性蛋白主要为溶于中性盐溶液的肌原纤维蛋

白。凡纳滨对虾经过不同冻结处理后冻藏,其盐溶性蛋白含量的变化见图3。

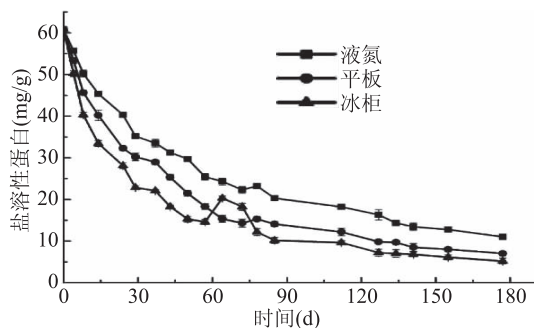


图3 不同冻结方式凡纳滨对虾盐溶性蛋白含量的变化

Fig.3 Changes of salt soluble protein content in white shrimp under different freezing methods

对虾的盐溶性蛋白含量在 -20°C 冰柜冻结处理后冻藏过程中一直呈现快速下降趋势,尤其是在前24 d的冻藏期内,其含量从第0 d到第24 d迅速下降了 $32.76\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$;平板冻结在前24 d从初期的 $60.86\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 至第24 d的 $32.29\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 下降了 $27.57\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$;然而液氮冻结处理的对虾盐溶性蛋白含量在前24 d仅下降了 $20.54\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。这可能是由于在冻藏过程中,组织内水分形成冰晶,肌动球蛋白分子间形成疏水键及氢键,形成超大分子的凝集体,引起盐溶性蛋白不断下降。液氮组贮藏第177 d时也仍高于冰柜直接冻结和平板冻结处理的盐溶性蛋白含量。由此可知在177 d贮藏后,液氮冻结处理的凡纳滨对虾具有相对较高的盐溶性蛋白含量,说明液氮冻结形成的冰晶细小能较好地保持组织形态,一定程度上抑制蛋白的变性,减缓了盐溶性蛋白溶出,延缓巯基氧化后肌球蛋白的重链聚合,从而盐溶性蛋白含量相对较高。另外液氮处理的对虾组织完好,蛋白质氧化相对较缓,氨基酸等蛋白质氧化产物扩散较慢,氨基酸分解产生的胺类物质较少,从而盐溶性蛋白变化缓慢。崔珺^[27]对带鱼的研究也发现随着冻藏时间延长,盐溶性蛋白逐渐降低,快速冻结组降低较慢速冻结组缓慢,对组织影响较小。

2.4 不同冻结方式对凡纳滨对虾 Ca^{2+} -ATPase的影响

Ca^{2+} -ATPase是评价肌肉组织内肌球蛋白分子完整性的重要指标,其活性大小可以判断虾肉组织中肌球蛋白的变性程度。

从图4可以看出, Ca^{2+} -ATPase活性在前9 d呈急剧上升趋势,然后不断下降。这可能是由于冻藏过程中酶的部分解聚作用,使得肌动蛋白和肌球蛋白结合较强,导致其前期活性增强, Ca^{2+} -ATPase活性增加。而这期间肌肉处于僵直迟滞期也抑制了 Ca^{2+} -ATPase活性的降低。这与Sriket P^[28],阙婷婷^[29],胡庆兰^[7]的研究结果相似。从第9 d开始,液氮、平板及冰箱冻结的凡纳滨对虾 Ca^{2+} -ATPase活性均下降极快,后期下降相对减慢,这可能是肌肉进入僵直急速期,ATP大量分解,而后大量的 Ca^{2+} -ATPase消耗逐渐减少。三种不同冻结方式的活性分

别从第9 d急剧下降到第180 d。其中 Ca^{2+} -ATPase活性下降最快的冰柜冻结,至180 d时活性已接近于零,这可能是由于形成的冰晶对细胞结构破坏导致蛋白酶外泄变性,肌球蛋白的球状头部的构型发生改变以及蛋白质的凝聚造成;下降速率较快的是平板冻结和冰柜冻结,液氮冻结 Ca^{2+} -ATPase活性下降缓慢,说明冻结组织结构的变化与凡纳滨对虾肉 Ca^{2+} -ATPase活性的改变呈正相关。

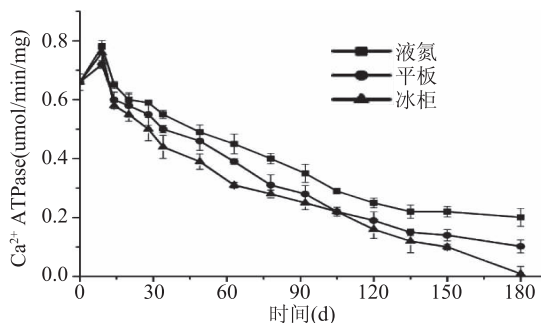


图4 不同冻结方式凡纳滨对虾 Ca^{2+} -ATPase活性的变化

Fig.4 Changes of Ca^{2+} -ATPase

in white shrimp under different freezing methods

2.5 不同冻结方式对凡纳滨对虾TBA值的影响

TBA值关系着脂肪氧化败坏的程度,是表示脂肪氧化的重要指标^[30]。其中水解产生的酮类和醛类物质与脂肪氧化是引起凡纳滨对虾品质劣变的重要原因。

从图5可以看出,经过不同冻结方式处理的凡纳滨对虾,随着贮藏时间的延长,其TBA值均显著上升($p < 0.05$)。在贮藏34 d时,液氮冻结、平板冻结、普通冰柜冻结TBA值分别从最初的0.127、0.126、0.125 mg/100 g分别增加了77.17%、154.76%、208.00%,到最后贮藏180 d时增加至0.72、0.96、1.05 mg/100 g,分别比贮藏初期增加了4.7倍、6.6倍、7.4倍。此结果与Solval K^[31]和Rodezno L^[32]的研究结果类似。液氮冻结TBA值增加最慢,而普通冰柜冻结TBA值上升速率最快,平板冻结上升速率相对较缓,这可能是由于冻结速率不同,形成的冰晶体大小不同,对虾肉细胞造成的机械损伤程度不同,导致暴露在空气中的损伤面积不同,脂肪氧化也不同。液氮冻结形成的冰晶细小,TBA值相对较小,说明液氮速冻处理的对虾更好保持了其品质,较平板冻结和冰柜冻结能有效延缓TBA值的增加。

2.6 不同冻结方式对凡纳滨对虾pH的影响

动物死后,机体内随着酵解反应的发生,pH会不断下降,随着时间的延长组织鲜度下降,碱性物质生成使得pH又渐渐回升。因此,pH可以作为评定水产品的鲜度变化指标。

由图6可以看出,凡纳滨对虾经过不同冻结方式处理,其pH先下降后上升,这符合水产品停止呼吸后肌体的变化规律。对虾停止呼吸后,体内的糖原分解产生乳酸,使组织的pH下降。随着贮藏时间的延长,蛋白质降解,碱性物质不断增多,肌肉组织的pH又开始升高^[26],进而引起鲜度下降。从图中还

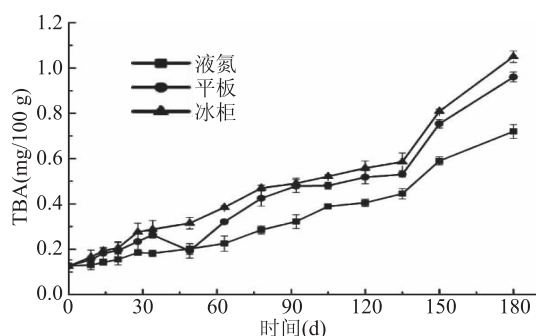


图5 不同冻结方式凡纳滨对虾 TBA 的变化

Fig.5 Changes of TBA in white shrimp under different freezing methods

可以看出,冰柜冻结、平板冻结以及液氮冻结在 72 d 左右达到 pH 的最低值,估计此时凡纳滨对虾达到僵硬最高峰,糖原酵解产生的乳酸达到最大值。随后组织蛋白酶使蛋白质降解,逐渐产生碱性物质及一些氨基酸。其中,部分微生物分解组织内蛋白质、氨基酸,形成大量氨及胺类产品,进而引起 pH 不断升高。凡纳滨对虾在液氮冻结条件下僵直前 pH 高于平板及冰柜冻结,僵直后 pH 低于平板及冰柜冻结,这可能与不同冻结条件下凡纳滨对虾组织变化及蛋白质变性有极密切关系。

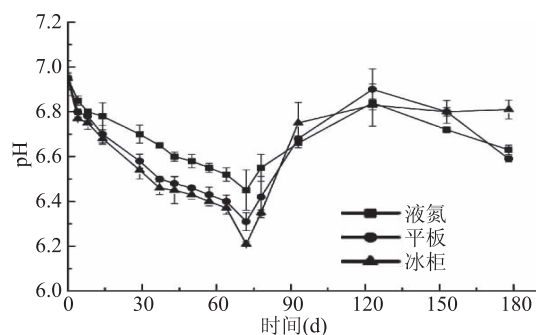


图6 不同冻结方式凡纳滨对虾 pH 的变化

Fig.6 Changes of pH in white shrimp under different freezing methods

2.7 不同冻结方式对凡纳滨对虾持水性的影响

在肌肉组织中的水分大部分为自由水,其主要存在于结缔组织与肌原纤维间隙的网状结构中。另一部分为结合水,其存在于糖类的氨基、羧基、羟基及组织蛋白质之间,与其紧密结合。肌肉在冻结过程中,组织内的水分冻结形成冰晶,小颗粒冰晶不断升华,数量减少,或吸附于大颗粒冰晶变成更大的冰晶。冰晶不断长大,撑破细胞膜,最终引起品质的裂变^[19]。

由图 7 可以看出,随着贮藏时间的延长,凡纳滨对虾肌肉组织的持水力逐渐下降,但液氮冻结处理的凡纳滨对虾组持水力下降较慢,而普通冰柜冻结持水力值下降最快,与液氮、平板冻结相比持水力最低。这可能是由于普通冰柜冻结时间长,生成的冰晶体较大,压迫细胞组织,而且增大的冰晶体增加了组织与空气接触面积,导致水分流失增大,从而降低了持水力^[33]。平板冻结在第 20~50 d 持水率有明显波动,可能是冻藏过程中平板冻结的温度波动引起

组织变化,对持水性造成一定影响。另外,在平板冻结过程中,直接接触平板的一面冻结相对较快而非直接接触的一面冻结传热速率较慢,因此引起直接接触部分冰晶形成较小而非直接接触部分冰晶较大,对细胞的损坏程度不同,导致了持水性的波动。冰柜和液氮持水性在后期的微小波动,可能与温度的波动或测定的不稳定性有关。此结果与 Gonçalves 等^[34]的研究有相似结果。

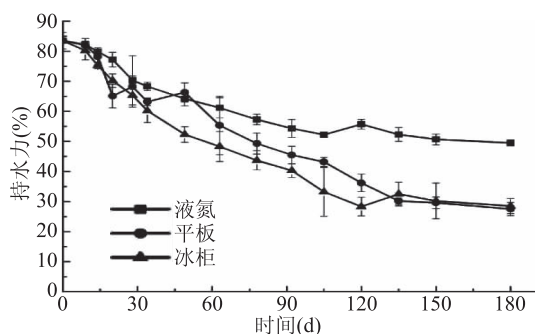


图7 不同冻结方式凡纳滨对虾持水性的变化

Fig.7 Changes of water holding capacity in white shrimp under different freezing methods

2.8 不同冻结方式对凡纳滨对虾感官评价的影响

感官是评价水产品品质的最直观指标。凡纳滨对虾冻藏过程中,随着贮藏时间的延长,对虾的感官也发生着一定变化。

由图 8 的感官评定结果看出,贮藏时间的延长使对虾感官综合评分总体下降,但是液氮和平板冻结处理的对虾在前 14 d 内感官综合评分稍稍轻微的下降。随着后期贮藏时间延长,不断长大的冰晶破坏组织细胞结构,引起组织氧化、内源酶的外泄以及微生物的繁殖,相互影响并造成蛋白质变性,对虾的感官品质并随之下降。冰柜冻结、平板冻结以及液氮冻结的感官评分从最初的 9.5 分别下降到第 177 d 的 6.88、5.4、5.43,液氮冻结由于组织损害小,综合感官值下降最慢。其在贮藏 177 d 后,感官品质仍然相对较好。

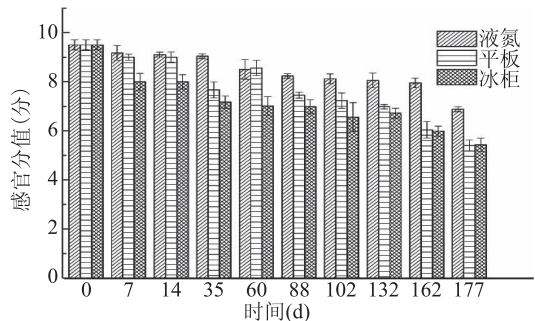


图8 不同冻结方式凡纳滨对虾感官品质的变化

Fig.8 Changes of the sensory quality in white shrimp under different freezing methods

3 结论

凡纳滨对虾在液氮、平板与冰柜三种不同冻结处理后在同一条件下贮藏,不同冻藏时间内虾肉组织冰晶状态及理化品质的变化表明,液氮冻结能够更好地保持对虾的良好品质。研究结果较好地验证

了在保持凡纳滨对虾品质方面,液氮冻结优于平板速冻,而平板速冻优于空气冰箱冻结。进一步说明了冻结温度越低,冻品传热速度越快,组织冰晶形成越细小,暴露在空气中的损伤面积小从而对脂肪的氧化以及蛋白质的变性程度影响比平板及冰箱冻结小,从而更好地维持了凡纳滨对虾的品质。此结果对凡纳滨对虾的贮藏提供了现实指导意义。

参考文献

- [1] Leung P S, Engle C. Shrimp Culture: Economics, Market, and Trade[M]. 2007.
- [2] 邓伟, 黄太寿, 张振东. 我国南美白对虾种业发展现状及对策建议[J]. 中国水产, 2013(12): 22-25.
- [3] Nirmal N P, Benjakul S. Effect of ferulic acid on inhibition of polyphenoloxidase and quality changes of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during iced storage[J]. Food Chemistry, 2009, 116(1): 323-331.
- [4] 沈月新. 水产食品学[Z]. 中国农业出版社, 2001.
- [5] 励建荣. 生鲜食品保鲜技术研究进展[J]. 中国食品学报, 2010(3): 1-12.
- [6] 阙婷婷, 郑家闻, 陈士国, 等. 微冻保鲜与冻藏保鲜对乌鳢品质的影响[J]. 中国食品学报, 2015, 15(6): 136-147.
- [7] 胡亚芹, 胡庆兰, 杨水兵, 等. 不同冻结方式对带鱼品质影响的研究[J]. 现代食品科技, 2014, 20(2): 23-30.
- [8] 邓敏, 朱志伟. 不同冻结方式对草鱼块品质特性的影响[J]. 现代食品科技, 2013(1): 55-58.
- [9] Boonsumrej S, Chaiwanichsiri S, Tantratian S, et al. Effects of freezing and thawing on the quality changes of tiger shrimp (*Penaeus monodon*) frozen by air-blast and cryogenic freezing[J]. Journal of Food Engineering, 2007, 80(1): 292-299.
- [10] 罗永康, 李里特. 水产食品安全标准化生产[Z]. 中国农业大学出版社, 2006.
- [11] Chang H, Rx W. Textural and biochemical properties of cobia (*Rachycentron canadum*) sashimi tenderised with the ultrasonic water bath[J]. Food Chemistry, 2012, 132(3): 1340-1345.
- [12] 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.
- [13] Wu S, Pan S, Wang H. Effect of trehalose on Lateolabrax japonicus myofibrillar protein during frozen storage. [J]. Food Chemistry, 2014, 160(160): 281-285.
- [14] Wu C, Fu S, Xiang Y, et al. Effect of chitosan gallate coating on the quality maintenance of refrigerated (4 °C) silver pomfret (*Pampus argenteus*) [J]. Food & Bioprocess Technology, 2016, 9(11): 1-9.
- [15] 姜晴晴, 邵世奇, 陈士国, 等. 冻融循环对带鱼蛋白性质及肌肉品质的影响[J]. 中国食品学报, 2016, 16(4): 122-129.
- [16] Wu C, Li Y, Wang L, et al. Efficacy of Chitosan-Gallic acid coating on shelf life extension of refrigerated pacific mackerel fillets[J]. Food and Bioprocess Technology, 2016, 9(4): 1-11.
- [17] Bak L S, Andersen A B, Andersen E M, et al. Effect of modified atmosphere packaging on oxidative changes in frozen stored cold water shrimp (*Pandalus borealis*) [J]. Food Chemistry, 1999, 64(2): 169-175.
- [18] 方静, 朱金虎, 黄卉, 等. 冰藏中凡纳滨对虾的质构变化研究[J]. 南方水产科学, 2012(6): 80-84.
- [19] Su G, Ramaswamy H S, Zhu S, et al. Thermal characterization and ice crystal analysis in pressure shift freezing of different muscle (shrimp and porcine liver) versus conventional freezing method[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2014, 26(2): 40-50.
- [20] 荣建华, 张亮子, 谢淑丽, 等. 冷冻对脆肉鲩和草鱼肉微观结构和质构特性的影响[J]. 食品科学, 2015, 36(12): 243-248.
- [21] Kaale L D, Eikevik T M, Bardal T, et al. The effect of cooling rates on the ice crystal growth in air-packed salmon fillets during superchilling and superchilled storage[J]. International Journal of Refrigeration, 2013, 36(1): 110-119.
- [22] Kaale L D, Eikevik T M, Bardal T, et al. A study of the ice crystals in vacuum-packed salmon fillets (*Salmon salar*) during superchilling process and following storage[J]. Journal of Food Engineering, 2013, 115(1): 20-25.
- [23] 黄鸿兵. 冷冻及冻藏对猪肉冰晶形态及理化品质的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2005.
- [24] Ramezani Z, Zarei M, Raminnejad N. Comparing the effectiveness of chitosan and nanochitosan coatings on the quality of refrigerated silver carp fillets[J]. Food Control, 2015, 51(2): 43-48.
- [25] Hong H, Luo Y, Zhou Z, et al. Effects of different freezing treatments on the biogenic amine and quality changes of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) heads during ice storage [J]. Food Chemistry, 2013, 138(2-3): 1476-1482.
- [26] 郑振霄, 周聃, 冯俊丽, 等. 3种保鲜方法对鲈鱼贮藏期间鲜度的影响[J]. 中国食品学报, 2016, 16(1): 181-187.
- [27] 崔珺. 速冻方式和贮藏温度对带鱼品质影响的研究[D]. 杭州: 浙江海洋学院, 2011.
- [28] Sriket P, Benjakul S, Visessanguan W, et al. Comparative studies on the effect of the freeze-thawing process on the physicochemical properties and microstructures of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and white shrimp (*Penaeus vannamei*) muscle[J]. Food Chemistry, 2007, 104(1): 113-121.
- [29] 阙婷婷. 不同低温保鲜方法对乌鳢鱼肉理化性质以及组织结构的影响[D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
- [30] Siebenhofer A, Jeitler K, Horvath K, et al. Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat [J]. Food Chemistry, 2010, 120(4): 1025-1030.
- [31] Solval K M, Rodezno L A E, Moncada M, et al. Evaluation of chitosan nanoparticles as a glazing material for cryogenically frozen shrimp. [J]. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, 2014, 57(1): 172-180.
- [32] Rodezno L A E, Sundararajan S, Solval K M, et al. Cryogenic and air blast freezing techniques and their effect on the quality of catfish fillets [J]. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, 2013, 54(2): 377-382.