浸渍冻结对凡纳滨对虾冻藏过程中肌肉组织的影响

林婉玲，杨贤庆，王锦旭，魏涯，郝淑贤，吴燕燕，李来好，侯彩玲
（中国水产科学研究院南海水产研究所，国家水产品加工技术研发中心，农业部水产品加工重点实验室，广东广州 510300）

摘要：本文以肌纤维轮廓、细胞间隙、肌丝、肌节以及肌纤维间隙等为指标，研究浸渍冻结和静止空气冻结对凡纳滨对虾冻藏过程中肌肉组织结构的影响。结果发现，浸渍冻结对虾的肌纤维排列更加致密，形成的冰晶间隙更加细小，分布均匀，肌原纤维直径变短的程度比静止空气冻结的小；而静止空气冻结的肌纤维排列疏松，形成的冰晶间隙宽大。随着贮藏时间的增加，浸渍冻结对虾的冰晶逐渐增大，间隙逐渐变大，细胞核也逐渐分解变少。冻藏 90 d 后，静止空气冻结对虾中很难发现细胞核的存在，肌丝结构大部分消失，明暗带难分辨，肌节长度变短程度严重，肌节消失，且没有完整结构的线粒体。但是浸渍冻结对虾中肌丝结构及明暗带依然存在，肌节长度变短程度比静止空气冻结的小，部分线粒体结构完整。结果表明，浸渍冻结更有利于对虾的肌肉结构的保持，能更好地保持对虾的品质。

关键词：浸渍冷冻；对虾；肌肉组织；冻藏
文章篇号：1673-9078(2015)6-183-189 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.6.029

Effect of Immersion Chilling and Freezing on Muscle Structure of *Litopenaeus vannamei* during Frozen Storage

LIN Wan-ling, YANG Xian-qing, WANG Jin-xu, WEI Ya, HAO Shu-xian, WU Yan-yan, LI Lai-hao, HOU Cai-ling
(South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences，National Research and Development Center for Aquatic Product Processing, Key Laboratory of Aquatic Product Processing Ministry of Agriculture, Guangzhou 510300, China)

Abstract: Changes in fiber profile, intercellular gaps, myofilament, sarcomere, and intermyofibrillar space during frozen storage of shrimp, *Litopenaeus vannamei* was investigated to determine the effects of immersion chilling and freezing (ICF) as well as refrigerator freezing (RF) on shrimp musculature. The results indicated that muscle fiber of ICF shrimp was tighter and the intercellular ice crystals were smaller and well-distributed, whereas that of RF shrimp was loose, and the intercellular ice crystals were larger and wider. The myofibril diameter of ICF shrimp were shorter than that of RF shrimp. As the storage period increased, the ice crystals in the ICF shrimp grew larger, while cell nuclei gradually decreased. After storing for 90 d, cell nuclei could not be found in tissue slices of RF shrimp, myofilament had largely disappeared, the thick and thin filaments were blurred, the length of the sarcomere was severely shortened, and sarcomere structures had disappeared. Moreover, the complete structure of mitochondria in the tissue of RF shrimp could hardly be found. However, the myofilament structures, and the thick and thin filaments still existed in ICF shrimp. The degree of shortening in myofilament lengths was smaller than that in RF shrimp, while some mitochondrial structures remained intact in the tissues of ICF shrimp. In summary, ICF appeared to be more beneficial to maintain the quality of shrimp during frozen storage.

Key words: immersion chilling and freezing; shrimp; muscle structure; frozen storage

肌肉组织结构是反应水产品冻藏过程中品质变化的主要因素，是肌肉品质变化的微观表现。在冻藏过程中，水产品由于冰晶不断生长使肌纤维受到挤压而损伤，组织间隙不断增大[1]，肌纤维不断发生断裂和小片化[2~4]，并且随着冻藏时间的延长，肌纤维破坏程度加剧[2]。另外冻结速率的快慢，对冻藏过程中水产品组织结构的变化有明显的影响，冻结速率越快，水产品组织结构的受破坏程度越低[3~4]。目前，水产品大部分采用风冷冻结法和平板式冻结法，虽然这两种冻

收稿日期：2015-01-05
基金项目：广东省渔业科技推广专项（B201300C03）；广东省科技计划重点项目（2011A020102005）
作者简介：林婉玲（1979-），女，博士，副研究员，研究方向：水产品加工与质量安全
通讯作者：杨贤庆（1963-），男，学士，研究员，研究方向：水产品加工与质量安全

结方法经过改进，冻结速度已经大幅提高，但是相对于浸渍冻结还是较慢，因此，冻结过程中产生的冰晶相对较大，对冻藏过程中水产品的质量还会产生明显的影响。因此，如何提高冻结速率，减少冻结对水产品质量的破坏，成为亟待解决的问题。

凡纳滨对虾（*Litopenaeus vannamei*）(下文简称对虾)，其蛋白质含量高、脂肪含量低，是一种高蛋白低脂肪的水产品，同时是主要的蛋白质食物来源[5, 6]。研究表明，采用液氮冻结的对虾的肌原纤维损害程度比鼓风冻结的要小很多，可以明显提高对虾的冻藏质量[4, 7]。这主要是因为液氮的冻结速率非常快，冻结过程中产生的冰晶非常小，对细胞的破坏很小。浸渍冷冻(Immersion Chilling and Freezing, ICF)主要是利用一系列对食品无味和无毒等特性的冷冻液作为载冷剂或制冷剂，与食品间接或直接接触，进行冷冻[8]，不包括液氮冻结。浸渍冻结是一种冻结速率介于常规冻结和液氮冻结的技术，具有冻结速率快、能耗低、冻结均匀、干耗小的特点[8]。研究结果表明，浸渍冻结能提高水产品冻藏过程中的质量，减缓冻藏过程中蛋白质的变性，提高水产品的冻藏质量[1, 9~10]，是一种具有广阔前景的冷冻技术。虽然浸渍冻结技术能够减缓对虾冻藏过程的质量变差程度，但是，目前研究主要集中在对蛋白质等理化特性的影响，很少有关于浸渍冻结对对虾冻藏过程中肌肉组织结构影响的研究。

因此，本研究以对虾为研究对象，采用浸渍冻结和静止空气冻结技术分别对对虾进行冻结，研究冻藏过程中两种冻结方式对对虾肌肉组织结构的影响，探讨对虾的浸渍冷冻加工技术，为对虾的加工及养殖业的健康发展提供有利的理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料

新鲜凡纳滨对虾若干斤（规格为 15 g/只左右），购于华润万家超市，保活运回实验室。

固定液：FAA（5 mL 甲醛，5 mL 冰醋酸，90 mL 50%酒精），2.5%戊二醛固定液。

其他试剂：乙醇、二甲苯、苏木素、伊红染液、蜡块、中性树脂等。

1.2 仪器

TP1020 型组织脱水机，德国莱卡仪器有限公司；EG1160 型组织包埋机，德国莱卡仪器有限公司；EM UC7 型组织切片机，德国莱卡仪器有限公司；ST5020 型全自动染色机，德国莱卡仪器有限公司；YT-7F 型生物组织摊烤片机，湖北孝感亚光医用电子技术有限公司；DC 300F 型正置显微镜，德国莱卡仪器有限公司；JEM-2010HR 型透射电子显微镜，日本电子株式会社；DW-86L386 静止空气冻结设备，中国海尔公司；ILS01D(F)直接浸渍冻结机。

1.3 实验方法

1.3.1 冻结方法

将对虾用流动水清洗干净后分成两组，然后进行真空包装，包装后进行冻结，冻结方法采用林婉玲等的方法[10]进行。将对虾分别置于浸渍冻结机及空气冻结设备中进行冻结，浸渍冻结液的温度为-35 ℃，空气冻结的空气温度为-20 ℃，直到对虾中心温度达到-18℃时停止冻结，最后置于-18℃的条件下贮藏。每隔 30 d 进行肌肉组织结构的分析。在进行肌肉组织结构分析之前，先对对虾进行解冻、剥壳、去肠线，取小块，整个操作环境保持在 10 ℃以下。

1.3.2 光学显微镜观察法

分别取自不同贮藏期的浸渍冻结对虾和静止空气冻结对虾的第一腹节，然后切成小块，体积不超过 5 mm^3，立即置于 FAA 固定液中固定约 12~24 h。将固定好的肌肉组织经过修整、流动水洗涤后，用乙醇溶液逐级（70%、80%、95%、100%）脱水，随后用乙醇：二甲苯（1:1）、二甲苯进行透明，最后用石蜡进行透蜡。透蜡结束后用组织包埋机进行包埋、修块。随后用组织切片机进行切片，切片厚度为 5 μm，然后进行烤片，最后采用苏木素-伊红染色法进行染色。染色完成后，取出载玻片，擦拭掉多余的二甲苯，于载玻片一端滴入 1~2 滴中性树脂，盖上盖玻片，将多余的气泡挤出，晾干后用显微镜进行观察、拍照。

1.3.3 透视电镜观察法

分别取自不同贮藏期的浸渍冻结对虾和静止空气冻结对虾的第一腹节，切成 0.2 cm×0.2 cm×0.5 cm 的长方体，然后在含有 2.5%戊二醛的 0.2 mol/L、pH 7.4 的磷酸盐缓冲液中于 4 ℃下固定 24 小时以上，然后用 0.1 mol/L、pH 7.4 的磷酸盐缓冲液清洗 4 h。之后于 1%锇酸中固定 12 小时，然后再用 0.1 mol/L、pH 7.4 的磷酸盐缓冲液清洗 3 次，每次 30 min。清洗完之后用丙酮溶液逐级(30%、50%、70%、90%、100%)脱水，每级脱水 20 min。最后再用 100%的叔丁醇脱水。脱水完后将样品用环氧丙烷过渡，然后 Epon 812b 包埋、切片，最后用醋酸铀-柠檬酸铅染色后进行透射电镜观察、拍照。

1.4 数据分析与处理

用统计软件 SPSS16.0 对数据进行统计分析，实验结果以平均值±标准偏差表示，显著性及差异性分析采用 t-test 和 Pearson 检验进行处理。

2 结果与分析

2.1 冻结对对虾肌肉肌纤维的影响

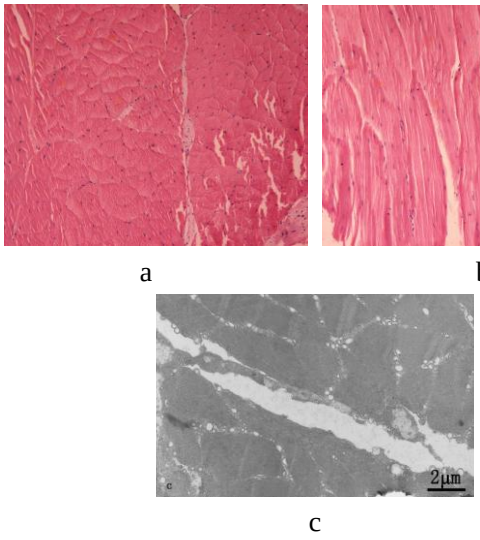


图 1 新鲜对虾肌肉微观结构图

Fig.1 Microstructures of muscle tissue from fresh shrimps

注：a 光镜横切图(100×)，b 光镜纵切图(100×)，c 透视电镜横切图。

肌肉微观结构是由不同的化学成分构成的，肌肉微观结构的变化是对虾肌肉品质变化的微观表现，能直接反映肌肉品质的好坏。从图 1a、c 中可以看到，对虾的肌纤维排列紧密，呈典型的多边型，肌纤维由肌浆网包围，肌束间隙较少，细胞核（蓝点）密集分布在细胞边缘的肌膜下。肌纤维束呈狭长柱状，细胞核均匀分布在肌膜下（图 1b）。从图 2 中发现，两种冻结方式对对虾冻藏过程中肌纤维的影响很明显。从图 2 中可以看到，浸渍冻结的对虾（图 2a、c、e、g）组织中的肌纤维间隙小，并且均匀分散，在冻藏初期更加明显，而静止空气冻结对虾组织中的间隙大，数量多（图 2b、d、f、h），并且组织间隙随着贮藏期的增加而逐渐变大。从图 4 中进一步发现，肌纤维随着冻藏时间的延长肌纤维轮廓逐渐消失，空气冻结的对虾更加明显。在冻藏 90 d 后，浸渍冻结的对虾的肌纤维轮廓还保持着典型的多边型结构（图 4g），而空气冻结的对虾的肌纤维多边型结构大部分消失，肌浆网消失（图 4h）。在前面的研究发现，空气冻结对虾通过最大冰晶生成带的时间为浸渍冻结对虾的 87.5 倍，浸渍冻结的冻结速度明显快于空气冻结[10]，对虾肌肉间形成的冰晶均匀细小，并且均匀分布在肌细胞内部和肌细胞间隙中，而静止空气冻结速度较慢，形成的冰晶较大，所以组织间隙大而宽。同时，在-18 ℃条件下贮藏，浸渍冻结对虾体内冰晶也逐渐长大，间隙逐渐变大（图 2a、c、e、g）。另外，随着贮藏期的增加，两种冻结方式的对虾肌肉中的细胞核（蓝点）逐渐变少，由于冰晶对细胞的破坏，细胞核逐渐被分解。

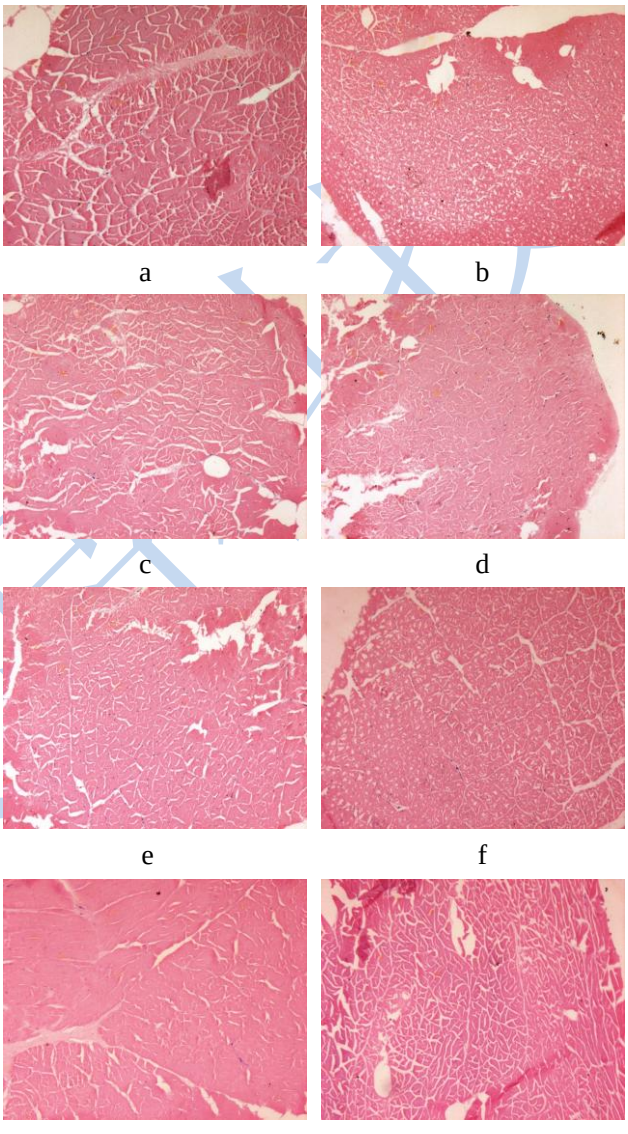


图 2 不同冻结方式的对虾肌肉横切片在冻藏条件下的光镜微观结构图

Fig.2 Transversal sections of muscle tissue of shrimps using ICF an d SAF (d-h) by light microscopy during storage

注：a、c、e、g 分别为 0 d、30 d、60 d、90 d 冻藏的浸渍冻结对虾，b、d、f、h 分别为 0 d、30 d、60 d、90 d 冻藏的空气冻结对虾，放大倍数为 100×。

由图 3 明显看到，不同冻结方式对对虾纵向肌纤维的影响也不同。浸渍冻结后对虾的组织间隙均匀细小（图 3a），与新鲜对虾肌纤维的组织间隙相比（图 1b），变化不大，冻藏 30 d 后的浸渍对虾有轻微增大

（图 3c）。采用静止空气冻结对虾后的组织间隙明显增大（图 3b），并且随着冻藏时间的延长而明显增大（图 3d、f、h）。在冻藏 90 d 后，对虾肌纤维之间的间隙明显增大（图 3h），而浸渍冻结对虾的组织间隙仍均匀细长（图 3g）。肌纤维的结果已经初步证明了浸渍冻结更有利于对虾冻藏过程中质量的保持。

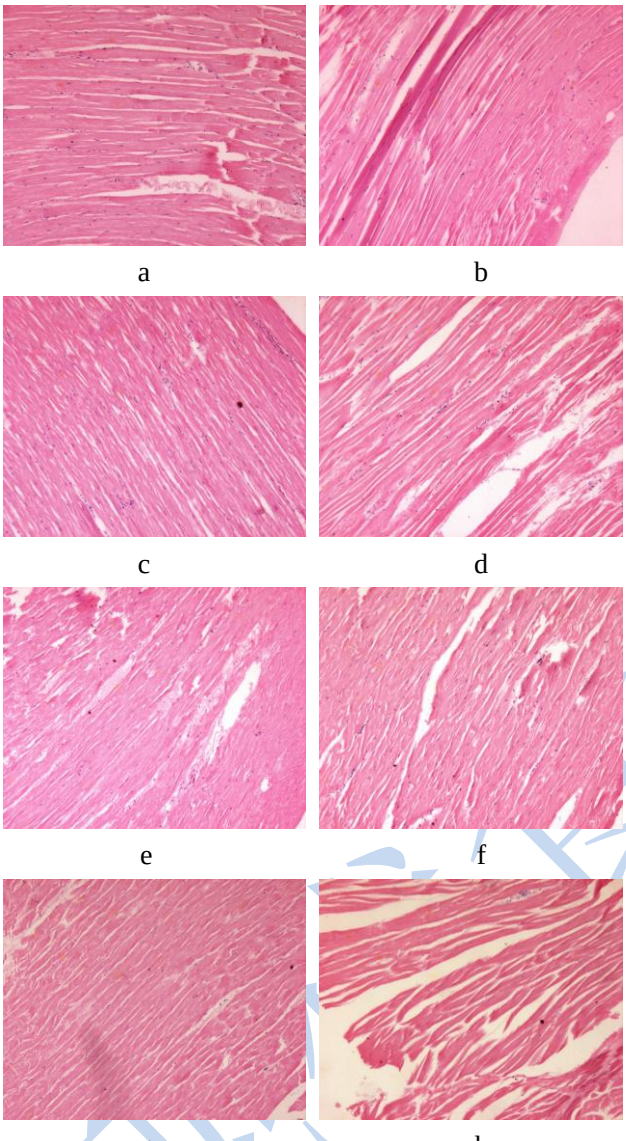


图 3 不同冻结方式的对虾肌肉纵切片在冻藏条件下的光镜微观结构图

Fig. 3 Longitu dinal sections of muscle tissue of shrimps using ICF an d SAF (d-h) by light microscopy during storage

注：a、c、e、g 分别为 0 d、30 d、60 d、90 d 冻藏的浸渍冻结对虾，b、d、f、h 分别为 0 d、30 d、60 d、90 d 冻藏的空气冻结对虾，放大倍数为 100×。

2.2 冻结对对虾肌肉肌原纤维的影响

凡纳滨对虾腹屈肌属于横纹肌，肌原纤维是横纹肌中的主要结构单位，其变化对对虾的品质产生较大的影响。从表 1 中可以看到，冻结后，肌原纤维的直径均下降，但是浸渍冻结后直径与新鲜对虾的没有显著性差异（$p>0.05$），而静止空气冻结对虾的直径与新鲜的有显著性差异（$p<0.05$）。随着冻藏时间的延长，浸渍冻结和静止空气冻结的对虾的肌纤维直径显著变小（$p<0.05$），但是浸渍冻结的肌原纤维直径变小的程度比静止空气冻结的小，结果说明浸渍冻结能减轻冻藏对肌原纤维的损害。肌原纤维是由粗、细两种肌丝平行排列组成。那么，浸渍冻结如何影响肌丝从而影响肌原纤维组织结构的变化。

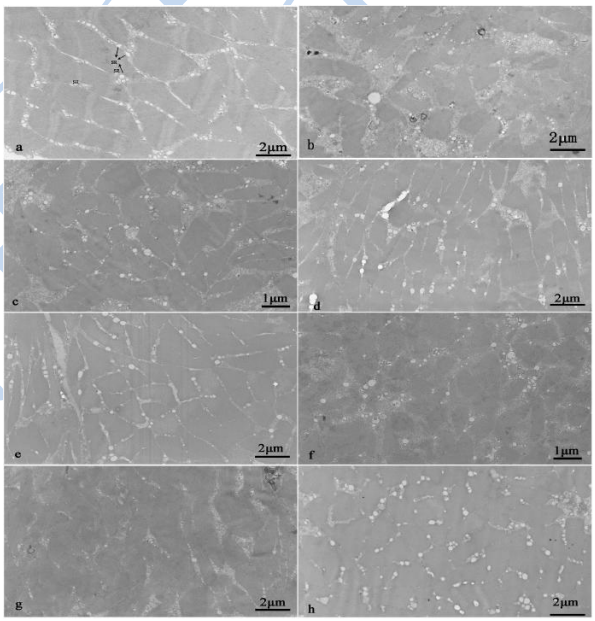


图 4 不同冻结方式的对虾肌肉横切片在冻藏条件下的透视电镜微观结构图

Fig. 4 Transversal sections of muscle tissue of shrimps using ICF an d SAF (d-h) by transmission electron microscopy during storage

注：a、c、e、g 分别为 0 d、30 d、60 d、90 d 冻藏的浸渍冻结对虾，b、d、f、h 分别为 0 d、30 d、60 d、90 d 冻藏的空气冻结对虾。

表 1 不同冻结方式的对虾肌节长度和肌原纤维直径在冻藏条件下变化

Table 1 Changes in myomere length and myofibril diameters of ICF and RF shrimp during frozen storage

	新鲜	浸渍冻结				空气冻结			
		冻藏 0d	冻藏 30d	冻藏 60d	冻藏 90d	冻藏 0d	冻藏 30d	冻藏 60d	冻藏 90d
肌原纤维直径	1.69±0.05	1.61±0.02	1.48±0.08^{a}	1.36±0.09^{a}	1.25±0.10^{a}	1.54±0.1^{ab}	1.37±0.08^{ab}	1.26±0.04^{aab}	1.17±0.09^{aab}
肌节长度	4.84±0.15	4.53±0.05^{a}	4.42±0.19^{a}	4.21±0.08^{aa}	4.06±0.20^{aa}	4.27±0.12^{ab}	4.16±0.21^{aab}	3.96±0.08^{aabb}	3.72±0.14^{aabb}

注：$^{a}p<0.05$, $^{aa}p<0.001$,与新鲜样相比；$^{b}p<0.05$, $^{bb}p<0.001$,与同冻藏天数的浸渍冻结样相比。

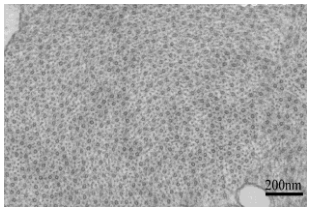


图 5 新鲜对虾肌丝的横切图

Fig.5 Transversal sections of myoneme from fresh shrimp

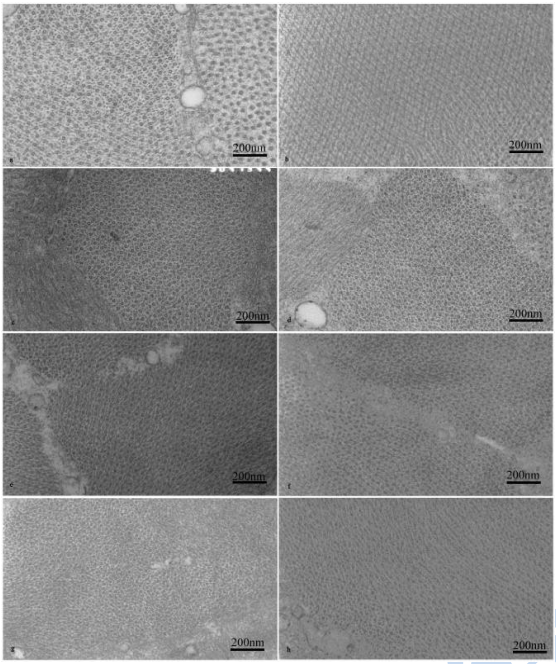


图 6 不同冻结方式的对虾肌丝在冻藏条件下的变化横切图

Fig.6 Transversal sections of myoneme from ICF and SAF shrimps (d-h) during storage

注：a、c、e、g 分别为 0 d、30 d、60 d、90 d 冻藏的浸渍冻结对虾，b、d、f、h 分别为 0 d、30 d、60 d、90 d 冻藏的空气冻结对虾。

从图 5 中发现，均匀分布的中空圆环是对虾肌原纤维中的粗肌丝，周围的实心点为细肌丝，每条粗肌丝周围有六条细肌丝。经过冻结后，对虾的肌丝结构发生了明显的变化。从图 6 中明显的看到，经过新鲜对虾浸渍冻结后，肌丝的典型结构未发生变化（图 6a），而经过静止空气冻结后，肌丝结构发生轻微模糊（图 1b），经过冻藏后，肌丝的结构变化更为明显。从图 6c~h 可以看到，冻藏 60 d 后，浸渍冻结对虾的肌丝开始变模糊（图 6e），而静止空气冻结对虾的肌丝结构已经发生明显的改变，结构模糊不清，并且部分结构消失（图 6f）；冻藏 90 d 后，肌丝已经变得模糊不清，更多肌丝结构消失（图 6h），进一步说明了肌丝的变化使肌纤维的多边型消失。在前面的研究中发现，浸渍冻结对虾盐溶性蛋白的含量及 Ca^{2+}-ATP 酶的活性明显高于静止空气冻结的[10]，而盐溶性蛋白和 Ca^{2+}-ATP 酶活性是反映肌动球蛋白完整性及变性程度[11]，浸渍冻结更有利于防止冻藏过程中蛋白质的变性。在本研究中，粗肌丝是由肌球蛋白构成的，而细肌丝是由肌动蛋白、原肌球蛋白和肌原蛋白组成，肌丝结构的变化及消失说明了肌动球蛋白发生了变性，进一步解释了浸渍冻结更有利于肌丝结构的维持，从而减少蛋白质变性。

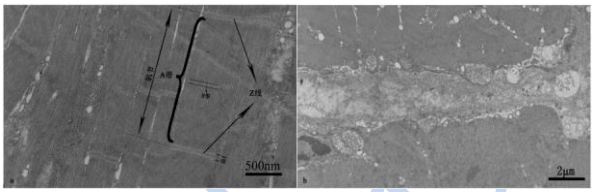


图 7 新鲜对虾肌节和肌纤维间隙的横切图

Fig.7 Transversal sections of myomere and intermyofibrillar space from fresh shrimp

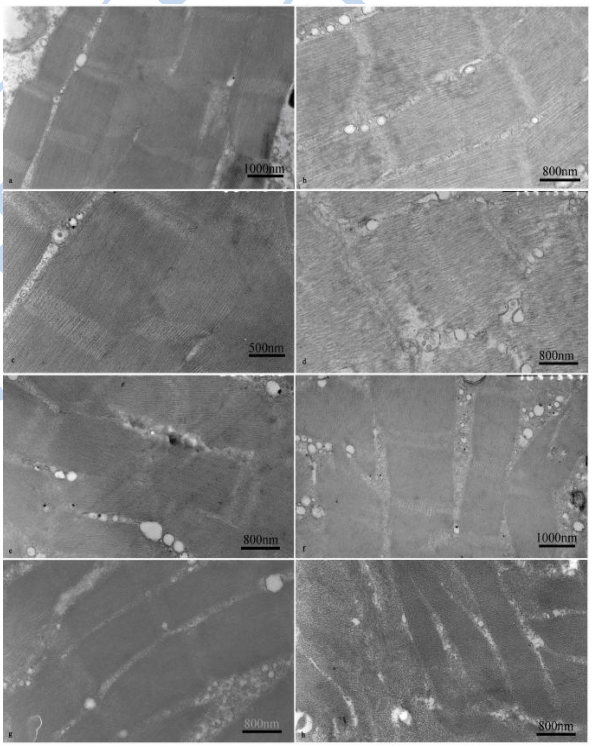


图 8 不同冻结方式的对虾肌节在冻藏条件下的变化横切图

Fig.8 Transversal sections of myomere from shrimps using ICF and SAF (d-h) during storage

注：a、c、e、g 分别为 0 d、30 d、60 d、90 d 冻藏的浸渍冻结对虾，b、d、f、h 分别为 0 d、30 d、60 d、90 d 冻藏的空气冻结对虾。

肌节是肌原纤维的基本单位，是由粗肌丝和细肌丝组成的。肌节是由 I 带、A 带、Z 线构成，其中每个肌节包含 1/2 I 带、A 带、1/2 I 带，从图 7 中可以清楚的看到肌节结构。前面的结果已经证明了冻藏后，静止空气冻结的对虾肌肉的肌纤维和肌丝在冻藏 90 d

后变得模糊并且大部分消失，而浸渍冻结的对虾在冻藏 90 d 后肌丝结构保持比较完好。从表 1 中可以看出，经过冻结后，肌节的长度明显变短，并且随着冻藏时间的延长显著变短（$p<0.05$）。但是，浸渍冻结的对虾的肌节变短的程度比静止空气冻结的小，并且两者之间有显著性差异（$p<0.05$）。为了进一步研究冻结对对虾肌节的影响，采用了透视电镜对对虾的肌节进行观察。由图 8 可知，浸渍冻结及静止空气冻结对对虾的肌节产生明显的作用。随着冻藏时间的延长，两种冻结方式下的对虾肌节的 Z 线、H 带和 I 带逐渐变模糊，甚至消失。在冻藏的前 60 d，两种冻结方式的对虾均可以清晰地看到 Z 线、H 带和 I 带。到冻藏的 90 d 时，浸渍冻结对虾中可以看到明带暗带，肌节明显，而静止空气冻结对虾中无法分辨，肌节消失。前面图 2-4 的结果已经证明，冻结后肌纤维之间空隙随着冻藏时间的延长逐渐变大，使 Z 线周围的细丝和 Z 线连接逐渐弱化，肌原纤维框架结构改变，静止空气冻结的对虾在冻藏 90 d 后，Z 线和 I 带模糊，肌节结构消失。结果进一步说明了这说明此时静止空气冻结对虾蛋白降解程度更为显著。

2.3 冻结对对虾肌肉中肌纤维间隙的影响

肌纤维间隙中的主要填充物为肌浆、胶原蛋白及一些细胞器，如线粒体、胞核等[12]，是影响肉质的主要因素之一，对肌肉的口感及质构产生明显的影响。从图 7b 中可以看到，在对虾的肌纤维间隙中，含有大量肌浆、胶原蛋白及线粒体。从图 9 中可以看到，浸渍冻结和静止空气冻结的对虾在冻藏过程中肌纤维间隙的填充物发生了明显的变化。在冻藏的过程中，肌浆逐渐变性和分解，特别是冻藏 60 d 后，线粒体逐渐分解，与肌浆融合在一起。从图 9g，h 中可以明显地看到，两种冻结方式的对虾的线粒体已经明显发生分解，线粒体变得不完整，并且与肌浆及胶原蛋白融合在一起，特别是静止冻结的对虾，线粒体已经完全破坏（图 9h），而浸渍冻结的对虾还有部分完整的线粒体存在（图 9g）。在前期的研究中发现，浸渍冻结的对虾在冻藏的过程中挥发性盐基氮比静止空气冻结的小，感官评分也比静止空气冻结的高[10]，说明浸渍冻结有利于冻藏过程中对虾品质的维持。在冻藏过程中，由于水或水蒸气向冰晶移动，附着并冻结在冰晶上面，冰结晶逐渐长大[13]，而浸渍冻结由于冻结速度快，在对虾体内形成的冰晶更小，在冻藏过程中冰晶长大比较小，对肌肉组织的破坏更小，如前面的肌纤维、肌丝、肌节的破坏程度均比静止空气冻结的小，胞内酶的析出也相对较少，从而使蛋白质等含氮化合物降解较少，产生的挥发性盐基氮也少，对虾的鲜度较好。

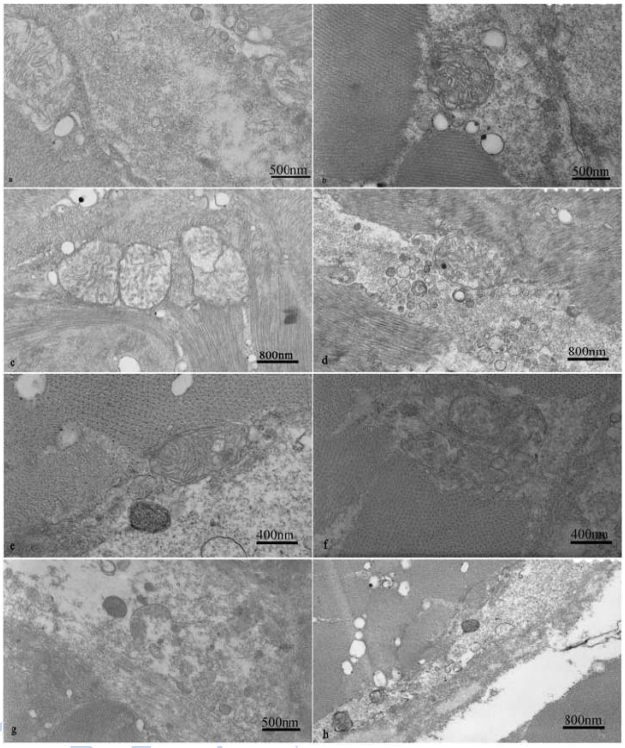


图 9 不同冻结方式的对虾肌纤维间隙在冻藏条件下的变化横切图

Fig.9 Transversal sections of intermyofibrillar space from ICF and SAF shrimps (d-h) during storage

注：a、c、e、g 分别为 0 d、30 d、60 d、90 d 冻藏的浸渍冻结对虾，b、d、f、h 分别为 0 d、30 d、60 d、90 d 冻藏的空气冻结对虾。

3 结论

3.1 在-18 ℃的冻藏过程中，采用浸渍冻结对虾的肌纤维间隙小，并且分布均匀，在冻藏 90 d 后肌纤维轮廓还保持着典型的多边型结构；采用静止空气冻结的对虾肌纤维间隙随冻藏时间延长逐渐变大，肌纤维多边型结构逐渐消失，细胞核也逐渐变少，并且肌原纤维直径逐渐变小。

3.2 对虾经过浸渍冻结后，肌丝结构未发生变化，而静止空气冻结的肌丝结构变得轻微模糊。经过 60 d 冻藏后，浸渍冻结对虾的肌丝开始模糊，而静止空气冻结的肌丝结构模糊不清，部分消失，但两种冻结方式的对虾均可以清晰地看到 Z 线、H 带和 I 带；90 d 冻藏后，浸渍冻结对虾中可以看到明带暗带，肌节明显，而静止空气冻结对虾的肌丝结构已经大部分消失，并且 Z 线、H 带和 I 带中无法分辨，肌节消失，并且肌节长度随着冻结时间的延长肌节逐渐变短，浸渍冻结的对虾的肌节长度变短程度比静止空气冻结的小。

3.3 在冻藏的过程中，肌浆逐渐变性和分解，冻藏 60

d 后，两种冻结方式的对虾的线粒体已经明显发生分解，线粒体变得不完整，并且与肌浆及胶原蛋白融合在一起。静止冻结的对虾，线粒体已经完全破坏，而浸渍冻结的对虾还有部分完整的线粒体存在。

3.4 总的来说，在-18 ℃冻藏过程中，浸渍冻结的对虾的超微结构维持得比静止空气冻结的好，进一步证明了浸渍冻结更有利于对虾在冻藏过程中品质的维持。

参考文献

[1] 欧阳杰,谈佳玉,沈建,等.浸渍冻结大黄鱼贮藏期间品质变化研究[J].南方水产科学,2014,9(6):72-77
OU Yang-jie, TAN Jia-yu, SHEN Jian, et al. Quality changes of immersion freezing Pseudosciaena crocea during storage [J]. South China Fisheries Science, 2014, 9(6): 72-77

[2] 关志强,李敏,宋小勇,等.冻藏条件对文蛤和波纹巴非蛤组织结构影响的实验研究[J].食品与发酵工业，2007，33(1):147-153
GUAN Zhi-qiang, LI Min, SONG Xiao-yong, et al. Study on the effects of frozen storage conditions on the texture of meretrix linnaeus and paphia undulate [J]. Food and Fermentation Industries, 2007, 33(1): 147-153

[3] 蒋小强,李敏,关志强.文蛤和波纹巴非蛤冷冻变性的比较研究[J].南方水产,2006,12(4):7-12
JIANG Xiao-qiang, LI Min, GUANG Zhi-qiang. A comparative study on the frozen denaturation of Meretrix linnaeus and Paphia undulate [J]. South China Fisheries Science, 2006, 12(4): 7-12

[4] Pan B S, Yeh W T. Biochemical and morphological changes in grass shrimp (*Penaeus monodon*) muscle following freezing by air blast and liquid nitrogen methods [J]. Journal of Food Biochemistry, 1993, 17(3): 147-160

[5] 杨利艳,曹文红,章超桦,等.冷冻方式对凡纳滨对虾品质特性的影响[J].食品与机械,2011,27(5):149-152,192
YANG Li-yan, CAO Wen-hong, ZHANG Chao-hua, et al. Effects of different quick freezing processes on the quality characteristics of *Litopenaeus vannamei* [J]. Food and Machinery, 2011, 27(5): 149-152, 192

[6] 方静,朱金虎,黄卉,等.冻藏中凡纳滨对虾的质构变化研究[J].南方水产科学,2012,8(6):80-84
FANG Jing, ZHU Jin-hu, HUANG Hui, et al. Texture changes of *Penaeus vannamei* muscle during iced storage [J]. South China Fisheries Science, 2012, 8(6): 80-84

[7] 杨利艳.冻结方式对凡纳滨对虾贮藏特性的影响[D].湛江.广东海洋大学,2012
YANG Li-yan. Effects of different freezing processes on the quality characterisitcs of *Litopenaeus vannamei* during frozen storage [D]. Zhanjiang. Guangdong Ocean University, 2012

[8] 林婉玲,曾庆孝,朱志伟.直接浸渍冷冻在食品加工中的应用现状与前景[J].食品工业科技,2008,29(7):256-260
LIN Wan-ling, ZENG Qing-xiao, ZHU Zhi-wei. Present situation and application prospect of immersion chilling and freezing in food processing [J]. Science and Technology of Food Industry, 2008, 29(7): 256-260

[9] 林婉玲,杨贤庆,宋莹,等.浸渍冻结对调理草鱼块冻藏过程中品质的影响[J].现代食品科技,2014,30(10):80-87
LIN Wan-ling, YANG Xian-qing, SONG Ying, et al. The effects of immersion chilling and freezing on prepared grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillet quality during the freezing process [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(10): 80-87

[10] 林婉玲,杨贤庆,侯彩玲,等.浸渍冻结对凡纳滨对虾冻藏过程中品质的影响[J].食品科学,2014,35(10):223-229.
LIN Wan-ling, YANG Xian-qing, HOU Cai-ling, et al. Effect of immersion chilling and freezing on quality of *Litopenaeus vannamei* during frozen storage [J]. Food Science, 2014, 35(10): 223-229

[11] 迟海,李学英,杨宪时,等.南极磷虾冻藏温度下的品质变化及其货架期分析[J].水产学报,2012,36(1):153-158
CHI Hai, LI Xue-ying, YANG Xian-shi, et al. Analysis of quality changes and shelf-life of antarctic krill (*Euphausia superba*) at frozen temperature [J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(1): 153-158

[12] Lin W L, Zeng Q X, Zhu Z W. Different changes in mastication between crisp grass carp (*Ctenopharyngodon idellus* c.et v) and grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) after heating: the relationship between texture and ultrastructure in muscle tissue [J]. Food Research International, 2009, 42(2): 271-278

[13] 金剑雄,贺志军,王文辉.鱼在冻藏中的冰结晶与肌纤维变化的研究[J].浙江海洋学院学报(自然科学版), 2000, 19(2): 118-121
JIN Jian-xiong, HE Zhi-jun, WANG Wen-hui.The study of ice crystaling and muscle fiber changing in process of fish freezing store [J]. Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science), 2000, 19(2): 118-121