

速冻方式与温度对鲍鱼品质的影响

欧阳杰, 谈佳玉, 沈建

(农业部渔业装备与工程技术重点开放实验室, 中国水产科学研究院渔业机械仪器研究所, 国家水产品加工装备研发分中心, 上海 200092)

摘要: 为了研究不同速冻方式和冻结温度对鲍鱼冻结过程中的品质影响程度、产生原因及机理, 本文以鲜活鲍鱼为研究对象, 对比采用2种速冻方法(空气速冻和液体速冻)、3种冻结温度(-20℃、-40℃、-60℃)进行冷冻, 以蛋白质冷冻变性程度、肌肉组织结构和弹性作为理化和质构特性评价指标。试验结果表明: 液体速冻的冻结速率始终比空气速冻高10倍左右, 盐溶性蛋白溶解度下降率低2%左右, Ca^{2+} -ATPase活性下降速度与 Mg^{2+} -ATPase活性上升速度均略缓慢, 蛋白质变性程度低, 解冻后鲍鱼肌肉组织间空隙小, 弹性好; 冻结过程中, 冻结温度越低, 冻结速率越快, 盐溶性蛋白损失越少, 蛋白质变性程度和解冻后的弹性无明显变化; 综合考虑冻结速率、品质、能耗等因素, 认为液体速冻是适合鲍鱼的速冻方法, -60℃液体速冻是相对最佳的速冻工艺。

关键词: 鲍鱼; 空气速冻; 液体速冻; 冻结速率; 冷冻变性; 组织结构; 弹性

文章编号: 1673-9078(2014)6-214-218

Effect of Freezing Method and Temperature on the Quality of Abalone

OUYANG Jie, TAN Jia-yu, SHEN Jian

(Key Laboratory of Fishery Equipment and Engineering, Ministry of Agriculture, Fishery Machinery and Instrument Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, National R & D Branch Center For Aquatic Product Processing Equipment, Shanghai 200092, China)

Abstract: In order to study the influence degree and mechanism of different freezing methods and temperatures on the quality of abalone during freezing, two freezing methods (air freezing, liquid freezing), three freezing temperatures (-20℃, -40℃, -60℃) were used for fresh abalone freezing. Frozen denaturation degree, muscle tissue structure, springiness were used as the evaluation indexes. The results showed that the liquid freezing rate was 10 times higher than air freezing rate, while decline rate of salt-soluble protein solubility was 2% lower. The decreasing speed of Ca^{2+} -ATPase activity and increasing speed of Mg^{2+} -ATPase activity were very slow. Frozen denaturation degree of protein and salt-soluble protein loss were low. The space between muscle tissues was smaller and more flexible than that without thawing. During freezing process, lowering freezing temperature, improved the freezing rate, but decreased salt soluble protein loss. No obvious change between frozen denaturation degree and flexible was observed. Base on general consideration of factors such as freezing rate, quality, and energy, liquid freezing at -60℃ was considered suitable for abalone freezing.

Key words: abalone; air freezing; liquid freezing; freezing rate; frozen denaturation; tissue structure; flexible

鲍鱼是中国传统的名贵食材, 营养丰富, 味道鲜美, 深受消费者喜爱, 经济价值较高。近年来鲍鱼产量逐年增加, 2011年产量达到76786 t。鲍鱼目前以鲜销为主, 但由于鲍鱼的生产与销售具有一定的季节性, 集中上市的季节, 常常会造成供过于求的局面, 不仅影响销售价格, 还会造成资源的浪费, 急需进行加工。鲍鱼加工产品目前以干鲍为主, 部分加工成冷冻产品,

收稿日期: 2014-01-19

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金(GARS-48-08B); 农业部渔业装备与工程技术重点实验室开放课题(2012008)

作者简介: 欧阳杰(1983-), 男, 硕士研究生, 助理研究员, 从事水产品加工技术研究

通讯作者: 沈建, (1971-), 男, 研究员, 从事水产品加工装备技术研究

少部分加工成罐头制品。干鲍与罐头制品经过干燥和高温杀菌, 营养成分流失较多, 复水后口感和风味也远远不及鲜鲍, 冷冻产品则能有效保持食品原有的风味、口感和营养价值^[1]。

目前水产品速冻最常用的是隧道式冻结法和平板冻结法, 存在冻结速度慢, 干耗大, 产品质量较差等缺点^[2-3]。也有研究采用深冷空气冻结、沸腾液体冻结等方法对水产品进行速冻, 冻结速度快, 品质保持好, 但连续性差, 气化后的气体无法回收, 成本费用高, 而且操作时容易冻伤工人, 难以规模化应用于生产^[4]。液体速冻是近年兴起的一种新型冻结法, 即将鱼类等物料放入冷却的乙醇或丙二醇等溶液中使之与低温液体直接接触, 从而使水产品快速冻结的一种方法, 能

较好的保持水产品的品质,成本也较低^[5]。近年来,关于冷冻工艺对水产品、肉制品品质影响的研究不断开展和深入,这些研究主要集中在冻结速率、温度等因素对贮藏期间产品品质的影响,品质评价也是以感官、理化分析较多,质构、微观结构的分析较少^[6-9],而关于鲍鱼冻结过程中的品质变化及机理分析的研究尚未见报道。

本研究通过对比不同速冻方式、冻结温度下鲍鱼品质的变化情况,分析产生这些变化的原因和机理,旨在探索出一种适合鲍鱼的速冻方式,为改进和优化鲍鱼速冻工艺提供理论依据和技术支撑,同时也为其它水产品速冻加工提供参考和借鉴,对推动我国水产品加工产业的发展有着非常重要的意义。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验原料

鲜活皱纹盘鲍 (*Haliotis discus hannai* Ino),由宁德登月水产食品有限公司提供,规格大小相似,重量 50 ± 5 g,捕获后保温盒加冰块运到实验室。将新鲜鲍鱼放入 $5\sim 10$ °C左右清水中洗掉表面的杂物和粘液,沥水后真空包装备用。

1.1.2 主要仪器与设备

浸渍冻结设备 (ILSO1), 德尔制冷; 凯氏定氮仪 (UDK152), 意大利 VELP 公司; 脂肪测定仪 (SER148/3), 意大利 VELP 公司; 物性测试仪 (TMS-CONSOLE), 美国 FTC 公司; 冷冻离心机 (GL-21M), 湘仪离心机仪器有限公司; 水分含量测试仪 (MA150), 德国赛多利斯集团; 鼓风干燥箱 (DHG-9140A), 上海精宏; 组织切片机 (HM315), 德国 Microm; 生物组织自动脱水机 (TC-120M), 泰维医疗科技有限公司; 自动包埋机 (TB-718D2), 泰维医疗科技有限公司; 自动染色机 (YABO700), 雅博电子设备有限公司; 生物显微镜 (ZMC-700), 上海光学仪器六厂; 冰箱, 分析天平 (XS105DU), 梅特勒托利多集团; 恒温水浴锅 (DK-22Z), 上海精宏。

1.2 方法

1.2.1 速冻方法

液体速冻: 采用冷媒为液态酒精的液体速冻机,冷媒温度分别设定为 -20 °C、 -40 °C、 -60 °C,将温度探头插入鲍鱼的中心部位,然后真空包装,为增加密封性能,进行三道封口。包装好的鲍鱼用挂钩挂住后全部浸没在冷媒中; 空气速冻采用超低温冰箱,冰箱

温度设定为 -20 °C、 -40 °C、 -60 °C,真空包装后直接放入超低温冰箱中。

1.2.2 解冻方法

冻结后的鲍鱼不拆包装,采用水温 15 °C左右的流水解冻 30 min。

1.2.3 温度测定

采用 CHT8000-B 多路温度记录仪,利用插入鲍鱼中心部位的温度探头,实时测定鲍鱼的中心温度。

1.2.4 蛋白质变性指标的测量方法

盐溶性蛋白溶解度的测量方法: 采用高盐溶液 (0.5 mol/L KCl- 0.01 mol/L NaH_2PO_4 - 0.03 mol/L Na_2HPO_4) 中的蛋白质溶解度减去低盐溶液 (0.025 mol/L NaH_2PO_4 - 0.025 mol/L Na_2HPO_4) 中蛋白质溶解度即为盐溶性蛋白^[10]; 肌动球蛋白的提取及其 Ca^{2+} -ATPase 活性和 Mg^{2+} -ATPase 活性的测量方法: 按万建荣等人^[11]方法。

$$\text{盐溶性蛋白溶解度下降率}/\% = \frac{\text{鲜活时溶解度} - \text{冻结后溶解度}}{\text{鲜活时溶解度}} \times 100\%$$

1.2.5 肌肉组织结构

不同贮藏时期的鲍鱼解冻后,切取小块,经固定、脱水、浸蜡、包埋、切片、染色等工序,制作成组织切片,置于生物显微镜下观察。

1.2.6 弹性

在鲍鱼腹足部位取圆柱形样,样品直径为 1.5 cm,高度为 1.0 cm。采用 TMS-CONSOLE 物性测试仪进行测定。测试条件: 采用直径 5 mm 球形探头,下压速度 5 mm/min; 下压距离 5 mm; 停留间隔 5 s; 测定下压过程中肌肉的反作用力,取最大值作为弹性值。

1.2.7 数据处理

采用 Excel2010 软件进行单因素、无重复双因素方差分析,采用 SPSS19.0 软件进行多重比较。

2 结果与讨论

2.1 不同速冻条件下鲍鱼的冻结速率

水产品冷冻,理论上是冻结温度越低,冻结速率越快^[12]。但实际加工过程中,要综合考虑能耗、设备性能、必要性等因素。从水产品冷冻角度说, -60 °C 是超低温速冻,基本上可以满足包括金枪鱼在内的所有水产品的速冻需要^[13]; 从制冷的角度说, -60 °C 是一个相对的临界温度,低于 -60 °C,需要耗费更多的能量,对制冷设备的要求也更高; 因此本实验没有设计低于 -60 °C 的速冻温度。由图 1 可看出,采用 -20 °C、 -40 °C、 -60 °C 空气速冻的鲍鱼中心温度达到 -18 °C 所需时间分别为 237 min、 178 min、 118 min,采用 -20 °C、

-40℃、-60℃液体速冻的鲍鱼中心温度达到-18℃所需时间分别为48min、19min、8min，这表明无论是空气速冻还是液体速冻，冷冻温度越低，冻结速率越快，中心温度下降到-18℃所需时间越短，通过最大冰晶生成带的时间也越短。冻结温度相同的情况下，对比液体速冻和空气速冻，发现液体速冻的冻结速率比空气速冻普遍高10倍左右，综合对比后发现-60℃液体速冻的冻结速率最快，其中-20℃液体速冻的冻结速率比-60℃空气速冻还要快2倍，这是因为液态酒精的导热性能要显著优于空气，液体速冻时，鲍鱼通过包装袋直接与冷媒接触，热传导快，达到热平衡的时间短。这与张志广^[4]对大黄鱼速冻的研究结果基本一致，其认为液体速冻时，冻品与冷媒的冷量交换更加迅速，从而提高了分子热交换量和分子内势能即温差。

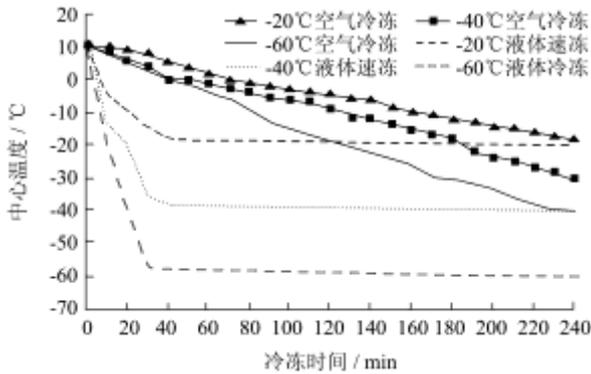


图1 不同速冻条件下鲍鱼的速度曲线

Fig.1 Frozen curve of abalone under different freezing conditions

2.2 速冻方式对鲍鱼蛋白质冷冻变性程度的影响

冷冻变性是造成水产品加工与贮藏过程中品质下降的一个重要因素，是由于分子内的构象变化和分子间的聚合作用导致蛋白质分子失去原有的空间构型造成的，变性程度可通过盐溶性蛋白溶解度、Ca²⁺-ATPase活性、Mg²⁺-ATPase活性等指标来反映。

2.2.1 速冻方式对鲍鱼盐溶性蛋白的影响

盐溶性蛋白溶解度反映的是肌球蛋白杆部的性质，其溶解度变化可以间接反映出变性程度，溶解度下降率越大，表明变性越严重。由图2可以看出，经冷冻后，盐溶性蛋白质的溶解度均呈现下降趋势，这可能是因为肌肉在冻结过程中由于细胞内冰晶的形成产生很高的内压，导致肌原纤维蛋白质发生变性，表现为盐溶性蛋白质的溶解度下降。采用相同速冻方法时，冷冻温度越低，盐溶性蛋白溶解度下降率越小，冷冻温度越高，盐溶性蛋白溶解度下降率越大。相同

冷冻温度时，液体速冻的鲍鱼盐溶性蛋白溶解度下降率要略小于空气速冻，蛋白质变性程度小(p<0.05)。

引起盐溶性蛋白溶解性下降的因素有多种，如冻结速率影响盐溶性蛋白的变性程度；巯基氧化形成的二硫键会导致肌球蛋白重链的聚合，从而降低其盐溶性；BADII^[14]等研究则认为冻结过程中肌肉中的部分结合水形成冰晶析出，导致肌动球蛋白分子间通过非共价键形成超大分子的不溶性凝集，使盐溶性蛋白溶出量下降。这可以比较合理的解释本实验中出现的现象。

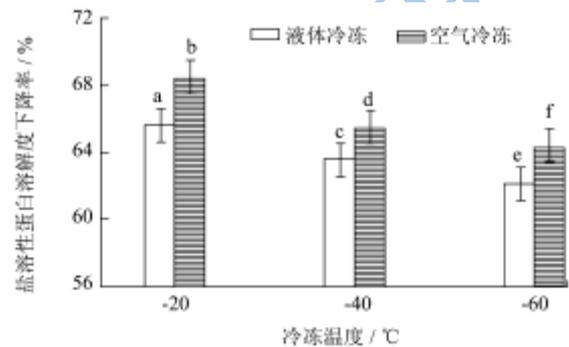


图2 速冻方式对鲍鱼盐溶性蛋白溶解度的影响

Fig.2 Effect of freezing method on the solubility of salt-soluble protein of abalone

2.2.2 速冻方式对鲍鱼肌原纤维蛋白 Ca²⁺-ATPase 影响

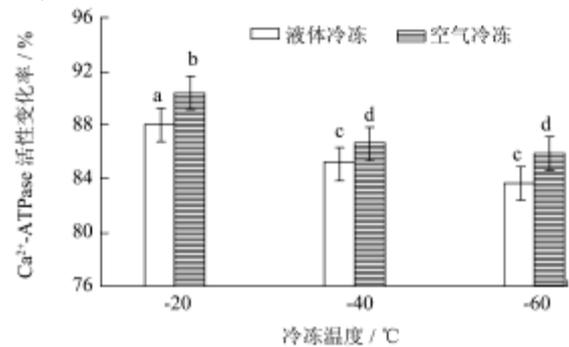


图3 速冻方式对鲍鱼Ca²⁺-ATPase活性的影响

Fig.3 Effect of freezing method on theCa²⁺-ATPase activity of abalone

Ca²⁺-ATPase活性反映肌球蛋白头部性质，是衡量蛋白质变性程度的一个主要指标。蛋白质发生冷冻变性时，一个明显特征是Ca²⁺-ATPase活性明显降低。由图3可以看出，冷冻后的鲍鱼肌原纤维蛋白Ca²⁺-ATPase活性值下降了80%以上，表明冷冻后的Ca²⁺-ATPase活性明显的下降，对比不同速冻方式，发现冷冻温度越低，Ca²⁺-ATPase活性下降越慢；冻结速率越快，Ca²⁺-ATPase活性下降越慢(p<0.05)，这可能是因为快速冻结时，细胞内外独立存在冰晶，细胞

形态基本保持完整,空间结构变化小;而慢速冻结形成的冰晶大,大的冰晶压迫使细胞破裂,汁液流失,流失的汁液冻结后,导致少部分冰晶连接成块,在内压增加和细胞已部分破裂的情况下,空间结构变化大,导致蛋白变性加快所致。

冻结过程中引起 Ca^{2+} -ATPase 活性下降的原因是多方面的,温度是影响蛋白质生化特性的重要因素,速冻介质也是影响冻藏过程中肌动球蛋白溶解性下降的因素之一, Jiang^[15]等人认为冰晶的形成使得肌原纤维蛋白空间结构发生改变,埋藏在分子内部的巯基活性基团暴露出来,进而被氧化成二硫键,导致巯基含量的减少,从而引起 Ca^{2+} -ATPase 活性的下降。

2.2.3 速冻方式对鲍鱼肌原纤维蛋白 Mg^{2+} -ATPase 影响

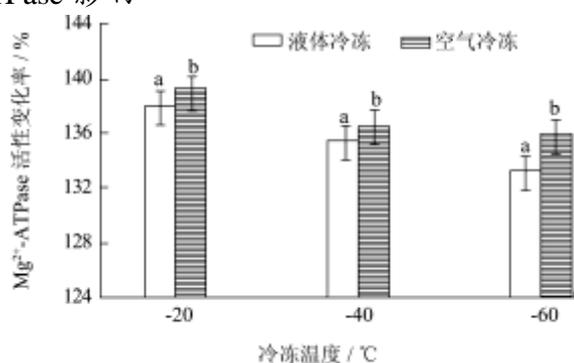


图4 速冻方式对鲍鱼 Mg^{2+} -ATPase 活性的影响

Fig.4 Effect of freezing method on the Mg^{2+} -ATPase activity of abalone

Mg^{2+} -ATPase 活性反映的是肌球蛋白和肌动蛋白相互作用,对鲍鱼肌原纤维蛋白进行 Mg^{2+} -ATPase 活性测定后发现,冷冻后的鲍鱼肌原纤维蛋白 Mg^{2+} -ATPase 活性均呈上升趋势,比冷冻前上升 30% 以上。经方差分析,发现相同冻结温度下,液体速冻的 Mg^{2+} -ATPase 活性上升比空气速冻要缓慢,两者存在显著差异 ($p < 0.05$),这可能是因为冻结速率越慢,冻结过程中,在细胞内形成的冰晶使得肌球蛋白和肌动蛋白相互距离更短,使得两者相互作用加强;此外,冻结过程正处于贝体死后僵硬期间,蛋白质在此时段的空间结构发生了轻微的变化:一方面肌质网吸收 Ca^{2+} 能力减弱, Ca^{2+} 浓度升高,使得 Mg^{2+} -ATPase 活性增加,促使两者相互作用加强,从而引起 Mg^{2+} -ATPase 活性的增加。而相同速冻方式下,冻结温度越低, Mg^{2+} -ATPase 活性上升越缓慢,但三者之间无显著差异 ($p > 0.05$)。这说明,冻结温度不是影响 Mg^{2+} -ATPase 活性的主要因素。

2.3 速冻方式对鲍鱼肌肉组织结构的影响

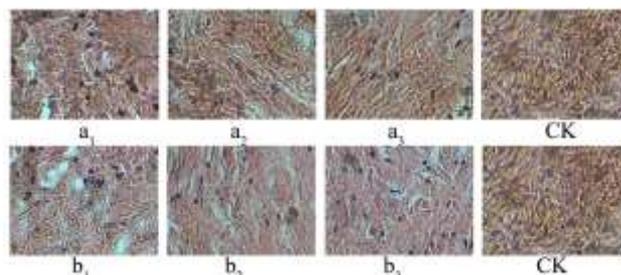


图5 鲍鱼冻结后肌肉组织结构 (400×)

Fig.5 The muscle tissue structure of abalone after frozen (400×)

注: a_1 、 a_2 、 a_3 分别为 -20 °C、 -40 °C、 -60 °C 液体速冻, b_1 、 b_2 、 b_3 分别为 -20 °C、 -40 °C、 -60 °C 气体速冻, CK 为新鲜鲍鱼。

肌肉组织结构是间接反应肌肉质地好坏的一个重要指标。由图5可以看到,新鲜鲍鱼的肌肉组织比较致密,组织间基本无间隙,冻结后,组织间出现不同程度的间隙,对比后发现, -60 °C 液体速冻的组织间隙最小,接近新鲜鲍鱼,其次是 -40 °C 液体速冻,总体上看,液体速冻的组织间隙明显小于空气速冻,冻结温度越低,组织间隙越小,空气速冻也是如此。分析冻结曲线后发现,组织间隙大小与冻结速率呈负相关,与冻结温度呈正相关,笔者认为这是因为冻结速率越快、冻结温度越低,通过最大冰晶生成带的时间越短,形成冰晶越小有关。这与NGAPO等^[16]的研究结果基本一致,NGAPO等人认为速冻温度越低,组织结构更加规则、有序,冰晶颗粒更小,对细胞破坏程度更小。

2.4 速冻方式对鲍鱼肌肉弹性的影响

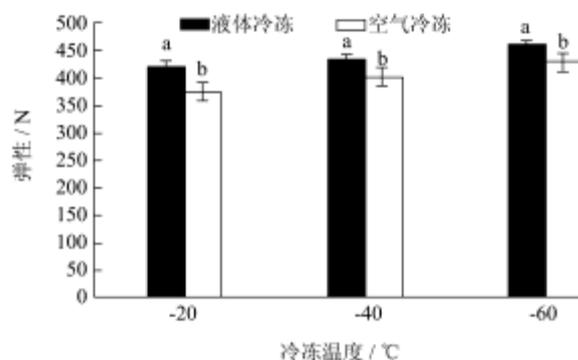


图6 速冻方式对鲍鱼肌肉弹性的影响

Fig.6 Effect of freezing method on the flexible of abalone muscle

弹性是评价鲍鱼品质的一项重要指标,由图6可以看出,速冻方式相同,冻结温度低的鲍鱼解冻后弹性略好于冻结温度高的,但无显著差异 ($p > 0.05$);而液体速冻后解冻的鲍鱼比空气速冻后解冻的弹性明显要好 ($p < 0.05$),可能是因为冷冻温度低、冻结速率快的条件下,盐溶性蛋白变性程度小,而盐溶性蛋白质是形成弹性的重要物质,与弹性强弱之间的正相

关性,此外冰晶体积大导致细胞结构受损也是造成弹性下降的一个因素。

3 结论

速冻方式和冻结温度是影响速冻效果的主要因素,冻结温度相同,液体速冻的冻结速率要显著优于空气速冻,中心温度下降到-18℃的时间短,通过最大冰晶生成带的时间也越短;盐溶性蛋白损失少,Ca²⁺-ATPase活性下降速度与Mg²⁺-ATPase活性上升速度均略缓慢,蛋白质变性程度低,解冻后鲍鱼的肌肉组织间空隙小,弹性好;冻结过程中,冻结温度越低,冻结速率越快,盐溶性蛋白损失越少,蛋白质变性程度和解冻后的弹性无明显变化;综合考虑冻结速率、品质以及制冷能耗和实现难易程度等因素,认为液体速冻是适合鲍鱼的速冻方法,-60℃液体速冻是相对最佳的速冻工艺。

参考文献

- [1] 方婷,姜琼一,胡洁,等.速冻鲍鱼贮藏期间品质研究[J].山西农业大学学报(自然科学版),2010,30(5):443-448
FANG Ting, JIANG Qiong-yi, HU Jie, et al. Study on the Quality of frozen abalone during storage [J]. Journal of Shanxi agricultural university (Nature Science Edition), 2010, 30(5): 443-448
- [2] 李杰,谢晶.我国鼓风冻结技术及连续式鼓风冻结装置的发展现状[J].渔业现代化,2007,34(4):61-66
LI Jie, XIE Jing. Development status of blast freezing technology and continuous blast freezing equipment of china [J]. Fishery Modernization, 2007, 34(4): 61-66
- [3] 谢晶,韩志,孙大文.超声波技术在食品冻结过程中的应用[J].渔业现代化,2006,33(5):41-44
XIE Jing, HAN Zhi, SUN Da-wen. The application of power ultrasound to food freezing [J]. Fishery Modernization, 2006, 33(5): 41-44
- [4] 张志广.冷冻对养殖大黄鱼品质影响的研究[D].杭州:浙江工商大学,2010
ZHANG Zhi-guang. Study on quality changes of cultured large yellow croaker subjected to different freeze methods [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2010
- [5] 倪锦,顾锦鸿,沈建.鲍鱼浸入式快速冷冻理论及实验验证[J].现代食品科技,2013,29(4):710-714
NI Jin, GU Jin-hong, SHEN Jian. Rapid immersion freezing mechanism of abalone and its experimental verification [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(4): 710-714
- [6] Mónica Bueno, Virginia C Resconi, M Mar Campo, et al. Effect of freezing method and frozen storage duration on odor-active compounds and sensory perception of lamb [J]. Food Research International, 2013, 54(1): 772-780
- [7] J B Dima, M V Santos, P J Baron, et al. Experimental study and numerical modeling of the freezing process of marine products [J]. Food and Bioprocess Processing, 2014, 92(1): 54-66
- [8] Santiago P Aubourg, J Antonio Torres, Jorge A Saraiva, et al. Effect of high-pressure treatments applied before freezing and frozen storage on the functional and sensory properties of Atlantic mackerel (*Scomberscombrus*) [J]. LWT-Food Science and Technology, 2013, 53(1): 100-106
- [9] Giuseppina R A Alberio, Riccardo N Barbagallo, Aldo Todaro, et al. Effect of freezing/thawing process indifferent sizes of blue fish in the Mediterranean through lysosomal enzymatic tests [J]. Food Chemistry, 2014, 148(1): 47-53
- [10] 林洪,王长峰,李兆杰,等.中国对虾肌球蛋白变性后ATPase活性的研究[J].青岛海洋大学学报,1996,26(4):475-480
LIN Hong, WANG Chang-feng, LI Zhao-jie, et al. The changes of the ATPase activity of prawn actomyosin (*PenaeusChinensis*) due to freeze and thermal denaturation [J]. Journal of Ocean University of QingDao, 1996, 26(4): 475-480
- [11] 万建荣,洪玉蕾,奚印慈,等.水产食品化学分析手册[M].上海:上海科技出版社,1993
WAN Jian-rong, HONG Yu-qiang, XI Yin-ci, et al. Aquatic food chemistry Manual [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1993
- [12] 张方乐,曾庆孝.冷却速率对罗非鱼片冷藏品质的影响[J].现代食品科技,2010,26(11):1200-1203
ZHANG Fang-le, ZENG Qing-xiao. Effect of cooling speed on the quality of tilapia fillets during cold storage [J]. Modern Food Science and Technology, 2010, 26(11): 1200-1203
- [13] 路昊,包建强.黄鳍金枪鱼肉在不同冻藏温度下品质变化的动力学研究[J].现代食品科技,2007,23(2):5-7
LU Hao, BAO Jiang-qiang. Kinetics study on the quantity of yellow fin tuna fish at different storage temperatures [J]. Modern Food Science and Technology, 2007, 23(2): 5-7
- [14] BADI F, HOWELL N K. Effect of antioxidants, citrate, and cryoprotectants on protein denaturation and texture of frozen cod (*Gadusmorhua*) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(7): 2053-2061
- [15] Jiang S, Hwang D, Chen C. Effect of storage temperatures on the formation of disulfides and denaturation of miik fish actomyosin (*Chanoschanos*) [J]. Journal of Food Science,

1988, 53(5): 1333-1335

[16] NGAPO T M, BABARE I H, REYNOLDS J, et al. Freezing

rate and frozen storage effect on the ultrastructure samples of
pork [J]. Meat Science, 1999, 53(3): 159-168

现代食品科技