

冻结方式对南极磷虾品质的影响

刘会省^{1,2}, 迟海¹, 杨宪时¹, 李学英¹

(1. 中国水产科学研究院东海水产研究所, 上海 200090) (2. 上海理工大学医疗器械与食品学院, 上海 200093)

摘要: 以盐溶性蛋白质含量、持水率变化、感官评分、Ca²⁺-ATP 酶活性和组织切片为指标, 研究了静止空气、盐水浸渍和液氮冻结三种冻结方式对南极磷虾品质的影响。实验表明, 盐水浸渍冻结条件下的冻结速率是静止空气冻结的 1.39 倍, 样品在液氮冻结下的冻结速率达到 100 cm/h。静止空气冻结后南极磷虾的持水率、盐溶性蛋白质、和感官评分最低, Ca²⁺-ATP 酶活性降低率较高, 肌肉组织结构松散, 盐水浸渍冻结下的南极磷虾品质略好于静止空气冻结, 液氮冻结条件下的南极磷虾的持水率、盐溶性蛋白质、和感官评分与对照组差别不显著 (P>0.05), Ca²⁺-ATP 酶活性降低率 5.21%, 肌肉纤维清晰、紧密、结构完整。综上所述, 不同冻结方式对冻结速率影响较大, 南极磷虾的品质变化与冻结速率有一定的相关性, 静止空气冻结、盐水浸渍冻结后南极磷虾的品质变化较大, 而液氮冻结更适合保持南极磷虾的品质。

关键词: 甲壳类动物; 南极磷虾; 冻结; 品质

文章编号: 1673-9078(2013)7-1601-1605

Effects of Freezing Methods on the Quality of Antarctic Krill (*Euphausia Superba*)

LIU Hui-xing^{1,2}, CHI Hai¹, YANG Xian-shi¹, LI Xue-ying¹

(1. East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China) (2. School of Medical Instrument and Food Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China)

Abstract: Effects of still-air freezing, immersion freezing and liquid nitrogen freezing on the quality changes of Antarctic krill were researched by testing the indexes of salt-soluble protein, water-holding capacity (WHC), sensory evaluation, Ca²⁺-ATPase activity, and tissue section. The results indicated that the freezing rate of the krill by immersion freezing exhibited 1.39-fold higher than that of still-air freezing. And the freezing rate of the krill by liquid nitrogen freezing was 100 cm/h. By still-air freezing, the krill showed significant decrease in WHC, salt-soluble protein, Ca²⁺-ATPase activity and sensory quality, and a loose muscles structure. Antarctic krill by immersion freezing showed a little better quality than that by still-air freezing, without remarkable decrease in WHC, salt-soluble protein and sensory quality (P>0.05) by liquid nitrogen freezing. The reduction rate of Ca²⁺-ATPase activity of the krill by immersion freezing was 5.21% and muscles fibril was compact and netlike. This research demonstrated that different freezing methods significantly affected the freezing rate of the krill. There was a correlation between the quality change and the freezing rate. The quality of Antarctic krill could be maintained better by means of liquid nitrogen freezing.

Key words: shellfish; antarctic krill; freezing; quality

南极磷虾 (*Euphausia superba*) 是一种生活在南极洲水域的无脊椎动物, 资源丰富, 据估计最高有数亿吨之巨, 可捕量较大, 具有巨大的开发和利用潜力^[1]。同时, 南极磷虾营养价值较高, 必需氨基酸占总氨基

收稿日期: 2013-03-30

基金项目: 国家高技术研究发展计划项目(2011AA090801); 农业部南极海洋生物资源开发利用专项(2010-2013); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(中国水产科学研究院东海水产研究所)资助项目(2011T05)

通讯作者: 杨宪时(1954-), 男, 研究员, 从事水产品贮藏加工和品质保障技术研究

酸的 50% 以上, 油脂中 70% 为不饱和脂肪酸, 并且富含维生素 A 和维生素 E, 相关研究显示其蛋白质的营养价值明显高于牛奶中的蛋白质^[2]。有研究者将南极磷虾的水解产物添加到水产饲料里, 有很好的应用效果, 指出其在家畜饲料和宠物饲料上应用前景广阔, 南极磷虾油由于富含 EPA 和 DHA 成份而被广泛应用于保健品市场, 南极磷虾蛋白酶还具有创伤快速愈合的医学用途, 南极磷虾中含有具有紫外屏蔽功能的生物活性物质, 因此其在化妆品领域也有很好的应用前景^[3]。在世界海洋渔业资源普遍衰退的背景下, 有

效的开发和利用南极磷虾资源受到越来越多的关注。

由于南极水域距离和加工技术问题, 南极磷虾大多经过捕捞后船上低温冻结, 运输至指定位置进行加工, 因此在船上快速高效地对南极磷虾进行冻结, 是保持南极磷虾品质的主要方式。南极磷虾自身酶活很高, 即使低温条件下也不能完全抑制自溶, 致使其品质易发生劣变。迟海等在-8、-18 ℃和-28 ℃冻藏条件下的南极磷虾的品质变化进行研究后发现冻藏温度对南极磷虾的品质影响较大, 同时比较了不同解冻工艺对南极磷虾理化指标的影响^[4-5], 但未见冻结方式对南极磷虾品质变化影响的研究。本文选择了不同冻结方式(静止空气、盐水浸渍和液氮冻结)对南极磷虾进行冻结, 通过测定和分析冻结曲线、盐溶性蛋白、持水率、感官评分、Ca²⁺-ATP酶活性、组织切片的变化, 探讨不同冻结方式对南极磷虾品质变化的影响, 旨在为南极磷虾船上冻结工艺研究提供一定的基础数据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

南极磷虾由我国“南极海洋生物资源开发利用项目 组”于2012年6月5号于南极FAO 48.1区捕捞, 船上冻结后在-22 ℃下冻藏, 在-18 ℃冷冻条件下于2012年9月13号运抵实验室, 在-80 ℃冻藏备用。

牛血清蛋白购于北京索莱宝科技有限公司; 液氮购于上海浦江特种气体有限公司; 考马斯亮蓝G-250、浓磷酸、无水乙醇等购于国药集团化学试剂有限公司; 试剂均为分析纯或化学纯。

1.2 仪器与设备

RC-DT618B型双温度记录仪, 杭州哈泰克科技有限公司; 175-T2型温度记录仪, Testo, 德国; SILVER型均质机, IUL, 西班牙; 5810R型高速冷冻离心机, Eppendorf, 德国; 721型可见光分光光度计, 上海菁华科技仪器有限公司; MPR-414F型冰箱, Sanyo, 日本; BX51型显微镜, Olympus, 日本; HM315轮转式石蜡切片机, Microm, 德国。

1.3 实验方法

1.3.1 样品处理

将南极磷虾进行流水解冻, 解冻完全后, 用滤网将样品在冰水中浸泡20 s, 沥水后放在冻结盘里(盐水浸渍冻结样品先用聚乙烯塑料袋包装), 冻结盘规格24×16×6 cm(长×宽×高), 南极磷虾质量约2.0 kg, 将装盘南极磷虾分别在液氮、-30 ℃冰箱和浸渍在-30 ℃CaCl₂溶液(质量分数27%)中进行冻结。同时, 用热电偶监测样品表面及中心的温度变化, 待样品中心温度降至-18 ℃时即为冻结终点, 并记录时间。

将冻结结束的样品解冻完全后进行相关指标的测定。同时使用第一次解冻完全后的样品作为对照组。

1.3.2 冻结速率测定

将热电偶分别放在冻品表面和中心位置, 静止空气冻结和盐水浸渍冻结记录时间间隔为2 min, 液氮冻结的记录时间间隔为2 s, 根据国际制冷协会提出的食品冻结速率的定义^[6], 根据下式计算冻结速率:

$$V_i(\text{cm/h}) = \frac{L}{t}$$

注: L 为表面与热中心的最短距离, cm; t 为表面达0 ℃至热中心达初始冻结温度以下10 ℃所用的时间, h。

1.3.3 持水率测定

按照Robertson等^[7]的方法, 称取打浆后的样品30 g, 11000 r/min离心40 min, 除去上清液后称量样品质量。

$$\text{持水率}(\%) = \frac{m}{M} \times 100$$

注: M 为离心前样品的质量, 单位为g; m 为离心后去除上清液的样品质量, 单位为g。

1.3.4 盐溶性蛋白质测定

参考Pan等^[8]的方法提取南极磷虾中的盐溶性蛋白质, 结合考马斯亮蓝法测定蛋白质含量, 用牛血清蛋白做标准曲线(标准曲线的回归方程为 $y=0.0058x+0.0115$, $R^2=0.9963$), 595 nm条件下测定盐溶性蛋白质含量, 计算结果以mg/g表示。

1.3.5 感官检验

表1 南极磷虾感官检验评分规则

指标	2	1	0
个体	个体清洁完整,	个体较完整,少数	个体不完整,甲壳、
体表	甲壳、尾部无脱落,无黑头现象	出现黑头现象但不明显	尾部脱落现象严重,黑头现象严重
肌肉	组织坚实,弹性好	组织稍有连接,较有弹性	手触弹性差,组织松弛
气味	虾体固有的香味	稍有香气,有较淡的腥味或氨味	有强烈的腥味和氨味
色泽	体色正常,有光泽	色泽稍有变化,光泽逐渐变暗	色泽发暗,无光泽
汤汁	汤汁清冽,带有虾体色泽,汤内无碎肉	汤汁稍混,少有组织脱落于汤内	汤汁浑浊,肉质腐败,脱落悬浮于汤内

依据参考文献^[4]选择经过培训的评价员6名,按照表1的评分标准进行评分,其中汤汁评分以90 ℃水煮5 min的汤汁为评价指标。

1.3.6 Ca²⁺-ATP酶活降低率测定

参考超微量 ATP 酶测试盒（南京建成生物技术研究所提供）说明书进行。

$$Ca^{2+}\text{-ATP}(\%) = (\text{冻结前活性} - \text{冻结后活性}) / \text{冻结前活性} \times 100$$

1.3.7 石蜡切片观察

对样品组织采用 Bouin 氏固定液固定，经过梯度酒精脱水，二甲苯透明，石蜡包埋，石蜡切片机切片。用苏木精和伊红对组织切片进行染色，显微镜观察^[9]。

1.3.8 数据处理

实验数据采用 SPSS 19.0 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 冻结方式对冻结曲线、冻结速率的影响

表 2 不同冻结方式下的冻结速率

Table 2 Freezing rates under different freezing methods

冻结方式	静止空气	盐水浸渍	液氮冻结
冻结速率/(cm/h)	0.46	0.64	100
t/h	6.53	4.67	0.03

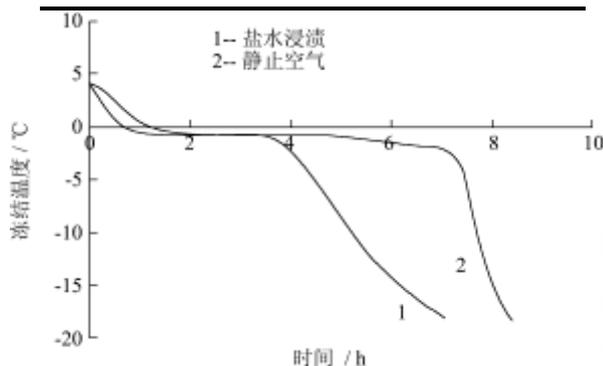


图 1 盐水浸渍、静止空气冻结下的冻结曲线

Fig.1 Freezing curves of the krill by immersion freezing and still-air freezing

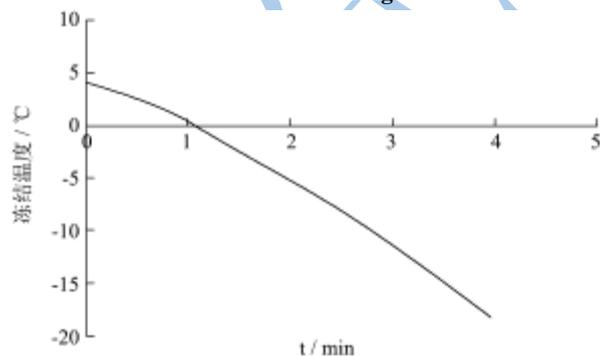


图 2 液氮冻结下的冻结曲线

Fig.2 Freezing curve of the krill by liquid nitrogen freezing

表 2 是三种不同冻结方式下南极磷虾的冻结速率和冻结时间。液氮冻结的最低温度达-196℃，其冻结速率明显大于盐水浸渍冻结和静止空气冻结，达到 100 cm/h，根据国际制冷协会有关规范^[6]，液氮冻结为超速冻结，盐水浸渍冻结为速冻。在相同温度的条件

下，盐水浸渍冻结速率比静止空气冻结更快，前者是后者的 1.4 倍，可见以盐水作为载冷剂的传热系数远远大于静止空气冻结。

通常食品冻结曲线可分为 3 个阶段，食品从初温降至冻结点为第一阶段，第二阶段即最大冰晶生成带为曲线较平坦部分，第三阶段为残留的水继续结冰和已成冰的部分降温至冻结终温。南极磷虾在盐水浸渍和静止空气冻结下的冻结曲线如图 1，盐水浸渍和静止空气冻结完成时间分别为 7.03 h 和 8.37 h，而通过最大冰晶生成带的时间为 3.28 h 和 5.26 h，南极磷虾在盐水浸渍冻结条件下通过第一、二阶段时间较静止空气冻结快，而通过第三阶段的时间为静止空气冻结的 2.84 倍。这是由于在冻结的第一、二阶段，载冷剂的传热系数较高，降温快，而在第三阶段载冷剂与样品的温差减小，降温较慢。图 2 是液氮冻结条件下南极磷虾的冻结曲线，由图可知，冻结曲线较陡峭，没有明显的第二阶段，通过最大冰晶生成带的时间为 46.20 s，使得样品组织中冰晶的分布接近冻前样品中液态水的分布状态，有利于南极磷虾品质的保持。

2.2 冻结温度对感官评分的影响

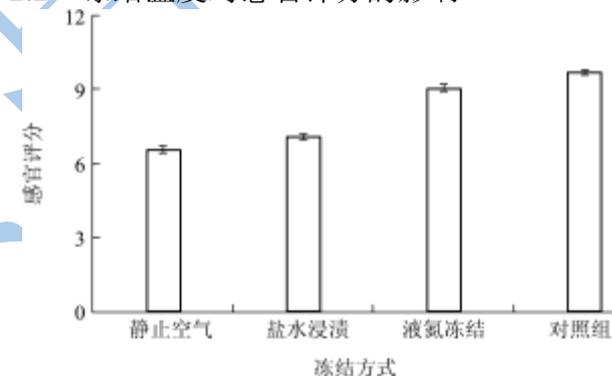


图 3 冻结方式对南极磷虾感官评分的影响

Fig.3 Effect of freezing methods on sensory evaluation of *Euphausia superba*

南极磷虾体内酶活高，极易自溶和黑变，有研究表明在 0℃下冷藏 15 h 后，感官品质难以接受，因此感官评分可以很好的反应其品质的变化^[10]。南极磷虾在不同冻结方式下的感官评分如图 3，经过不同方式冻结后样品无黑头现象，静止空气冻结南极磷虾虾体颜色略显发暗，肌肉弹性减弱，汤汁稍混，感官评分为 6.6，与盐水浸渍冻结后的感官评分差别不明显，这可能是由于二者冻结时间相近。南极磷虾在液氮冻结条件下 4 min 完全冻结，与液氮接触的表层样品肌肉弹性减弱，但是其总体评分最高，较高的冻结速率有利于南极磷虾感官品质的保持。

2.3 冻结温度对持水力的影响

南极磷虾在不同冻结方式下的持水率如图 4 所

示, 冻前南极磷虾的持水率为 68.30%, 冻结后持水力有所下降, 样品在静止空气冻结条件下, 由于冻结时间较长且冻结速率最慢, 持水率最低为 65.33%。而盐水浸渍冻结条件下样品通过最大冰晶生成带的时间明显小于静止空气冻结, 其持水率略高。液氮冻结对南极磷虾的组织结构损害较小, 其持水率下降较小, 超速冻结条件下南极磷虾的品质得到有效保持。

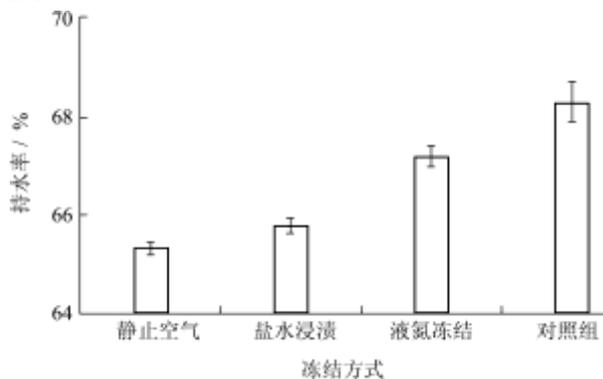


图 4 冻结方式对南极磷虾持水率的影响

Fig.4 Effect of freezing methods on WHC of *Euphausiasuperba*

2.4 冻结温度对盐溶性蛋白质的影响

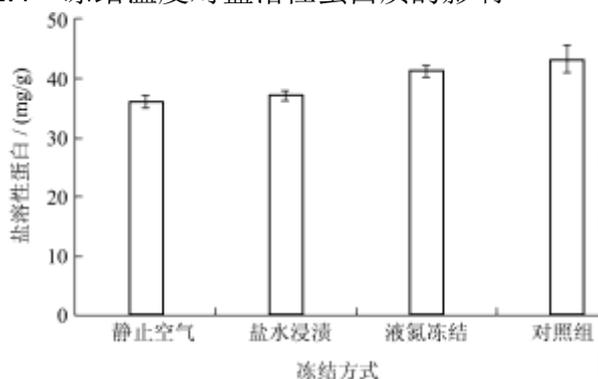


图 5 冻结方式对南极磷虾盐溶性蛋白质的影响

Fig.5 Effect of freezing methods on salt-soluble protein of *Euphausiasuperba*

图 5 是南极磷虾在不同冻结方式下盐溶性蛋白质的含量变化, 静止空气冻结下南极磷虾的盐溶性蛋白质含量为 36.29 mg/g 低于盐水浸渍冻结下的 37.34 mg/g, 这与通过最大冰晶生成带的时间相关, 倪明龙等^[1]采用直接浸渍冻结法对草鱼进行冻结, 发现其蛋白质冷冻变性程度低于传统冻结方式。而在这两种冻结条件下的盐溶性蛋白质含量无明显差异(P>0.05), 这可能是由于二者冻结完成时间相近造成的。液氮冻结后南极磷虾的蛋白质含量与对照组相比下降了 3.9%且差异不明显 (P>0.05), 在超速冻结下, 使被冻物品内部形成的冰晶细小, 且均匀分布在细胞内和细胞间隙中, 减小了冻结对冻品理化性质的影响。

2.5 冻结方式对 Ca²⁺-ATP 酶活性的影响

Ca²⁺-ATP 酶来源于肌球蛋白头部, 表征其肌球蛋

白 S-1 的性质, 已被广泛用作评价肌球蛋白完整性的指标, 不同冻结方式下南极磷虾 Ca²⁺-ATP 酶活降低率如图 6, 经过冻结后 Ca²⁺-ATP 酶活性出现不同程度的降低, 随着冻结速率的降低 Ca²⁺-ATP 酶活降低率增大, 在静止空气冻结条件下 Ca²⁺-ATP 酶活降低率为 20.50%与盐水浸渍冻结相比略高, 这与廖彩虎等^[12]对不同冻结条件下的鸡肉 Ca²⁺-ATP 酶活性的研究结果一致。样品经液氮冻结后 Ca²⁺-ATP 酶活降低率最低仅为 5.21%, 可见低温冻结有利于冻品酶活性的保持, Nishimura 等^[13]将从南极磷虾中提取的粗肌原蛋白在液氮中保存, Ca²⁺-ATP 酶活性可保持 6 个月不变。

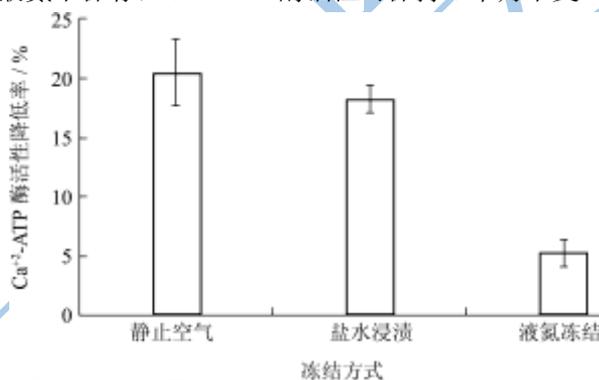


图 6 冻结方式对南极磷虾 Ca²⁺-ATP 酶活性的影响

Fig.6 Effect of freezing methods on Ca²⁺-ATPase activity of *Euphausiasuperba*

2.6 冻结方式对肌肉组织的影响

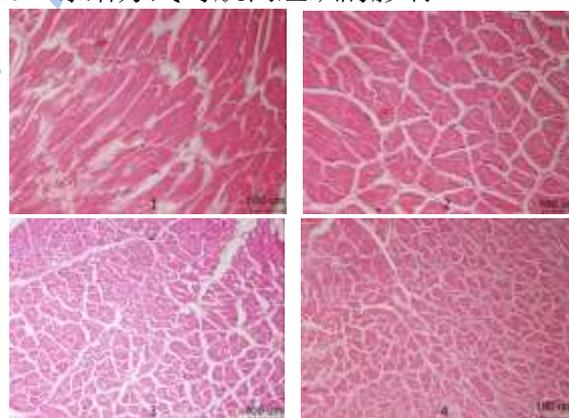


图 7 不同冻结方式下的组织切片

Fig.7 Tissue section of *Euphausiasuperba* of krill under different freezing methods

注: 图中 1、2、3 和 4 分别对应于静止空气、盐水浸渍、液氮冻结和对照组的组织切片

图 7 为南极磷虾在不同冻结方式下的组织切片, 在静止空气冻结条件下, 冻结速率最慢, 冰晶在细胞外生成且体积较大, 肌肉组织结构松散, 纹理模糊, 少部分冰晶已连接成块。盐水浸渍冻结下肌肉组织之间的间隙相对较小, 肌肉组织分布相对均匀, 这是由于在冻结时间相近时, 样品通过最大冰晶生成带的时

间短,产生的冰晶相对较小,然而与对照组相比其纤维条纹变得粗大,间隔明显加大。样品在液氮冻结条件下,肌肉组织中的水分几乎同时达到形成冰晶的温度条件,冰层推进的速率大于水分移动速率,样品中冰晶的分布接近冻前液态水分布的状态,对于组织结构损伤小,使得肌肉组织之间的间隙小,肌肉纤维清晰、紧密、结构完整,但是与对照组相比肌肉组织间隙略大,这可能是由于再次解冻对冻品造成的影响,南极磷虾在不同的冻结方式下冻结速率明显不同,Sanz 等^[4]对不同冻结速率下的猪肉组织结构进行观察后认为,随着冻结速率的增加产生的冰晶减小,冻品品质得到保持;Pan 等^[8]研究了冻结方式对斑节对虾肌肉结构的影响后发现,液氮冻结条件下斑节对虾的肌肉组织间隙明显小于鼓风冻结。上述结论均佐证了本文的研究结果。

3 结论

采用三种不同冻结方法对南极磷虾进行冻结的实验研究表明,南极磷虾在静止空气和盐水浸渍冻结条件下通过最大冰晶生成带的时间分别为 5.26 h 和 3.28 h,但二者冻结完成时间相近,南极磷虾在液氮冻结条件下的冻结曲线没有明显的第二阶段,冻结速率达到 100 cm/h。样品经过静止空气冻结后的感官评分和持水率下降明显,盐溶性蛋白质含量最低为 36.29 mg/g, Ca^{2+} -ATP 酶活降低率较大,而在盐水浸渍冻结下的样品品质略好,液氮冻结对样品的感官评分、持水率及 Ca^{2+} -ATP 酶活影响最小,盐溶性蛋白质的含量为 41.61 mg/g 与对照组差异不明显 ($P>0.05$)。南极磷虾经过不同方式冻结后肌肉组织间隙出现不同程度的增大,静止空气冻结条件下的肌肉组织结构松散、纹理模糊,盐水浸渍冻结后与对照组相比纤维条纹粗大,而液氮浸渍冻结对组织结构损伤小。

参考文献

- [1] Atkinson A, Siegel V, Pakhomov E, et al. A re-appraisal of the total biomass and annual production of Antarctic krill [J]. Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers, 2009, 56(5): 727-740
- [2] Liu L, Liu C C, Li J L. Comparison of biochemical composition and nutritional value of Antarctic krill (*Euphausia superba*) with several species of shrimps [J]. Advanced Materials Research, 2012, 361: 799-803
- [3] Nicol S, Foster J, Kawaguchi S. The fishery for Antarctic krill-recent developments [J]. Fish and Fisheries, 2012, 13(1): 30-40
- [4] 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):153-160
Chi H, Li X Y, Yang X S, 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): 153-160
- [5] 迟海,杨峰,杨宪时,等.不同解冻方式对南极磷虾品质的影响[J].现代食品科技,2011,27(11):1291-1295
Chi, H, Yang, F, Yang, X S, et al. Effect of different thawing methods on quality of Antarctic Krill (*Euphausia Superba*) [J]. Modern Food Science and Technology, 2011, 27(11): 1291-1295
- [6] 谢晶.食品冷藏链技术与装置[M].北京:机械工业出版社,2010
- [7] Robertson J, Eastwood M. A method to measure the water-holding properties of dietary fibre using suction pressure [J]. Br J Nutr, 1981, 46(2): 247-255
- [8] Pan B, Yeh W. 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
- [9] 章静波,黄东阳,方瑾.细胞生物学实验技术[M].北京:化学工业出版社,2011
- [10] 迟海,李学英,杨宪时,等.南极大磷虾0,5和20℃贮藏中的品质变化[J].海洋渔业,2010,32(4):447-453
Chi H, Li X Y, Yang X S, et al. Sensory, microbiological and chemical changes of *Euphausia superba* during storage at 0, 5 and 20 °C [J]. Marine Fishery, 2010, 32(4): 447~452
- [11] 倪明龙,朱志伟,曾庆孝.直接浸渍冻结草鱼块冻藏过程中品质变化研究[J].食品科学,2010,31(20):448-452
Ni M L, Zhu Z W, Zeng Q X. Quality change in ICF-treated grass carp blocks during frozen storage [J]. Food Science, 2010, 31(20): 448-452
- [12] 廖彩虎,芮汉明,张立彦,等.超高压解冻对不同方式冻结的鸡肉品质的影响[J].农业工程学报,2010,26(2):331-337
Liao C H, Rui H M, Zhang L Y, et al. Effects of ultra-high pressure thawing on San Huang chicken quality by different frozen methods [J]. Transactions of CSAE, 2010, 26(2): 331-337
- [13] Nishimura K, Kawamura Y, Matoba T, et al. Deterioration of Antarctic krill muscle during freeze storage [J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1983, 47(12): 2881-2888
- [14] Sanz P, Elvira C, Martino M, et al. Freezing rate simulation as an aid to reducing crystallization damage in foods [J]. Meat Science, 1999, 52(3): 275-278

现代食品科技