

不同冻结方式对带鱼品质影响的研究

胡亚芹¹, 胡庆兰^{1,2}, 杨水兵^{1,2}, 任西营^{1,2}, 陈士国¹, 刘东红¹, 叶兴乾¹, 余海霞²

(1. 浙江大学食品与营养系, 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 316026)

摘要: 为了提高贮藏期带鱼的品质, 本文采用液氮冻结、平板冻结、冰柜直接冻结处理鲜带鱼, 以贮藏期间的理化指标、感官品质和扫描电镜为指标, 研究不同冻结方式对带鱼品质的影响。结果表明: 三种冻结方式处理的带鱼TVB-N、TBA值均随时间的增加而增加, 液氮冻结处理的带鱼TVB-N、TBA值的增加最慢, 至贮藏70d时, 三种冻结方式处理的带鱼TVB-N分别达到0.12 mg/g、0.18 mg/g、0.20 mg/g, 说明液氮冻结能够有效的延缓TVB-N、TBA值的增加; 三种冻结方式处理下的带鱼的盐溶性蛋白、持水性、感官品质、白度值均呈现下降的趋势; Ca^{2+} -ATPase酶活和总巯基含量呈现先增加后降低趋势, 其中冰柜直接冻结方式处理组下降速度最快, 液氮冻结方式处理下降最慢, 说明液氮冻结能够更好的抑制蛋白质的冷冻变性, 保持带鱼的良好品质; 微观扫描电镜观察发现液氮冻结对带鱼肌肉纤维的损伤最小。

关键词: 带鱼; 冻结方式; 液氮冻结; 品质

文章编号: 1673-9078(2014)2-23-30

Effects of Different Freezing Methods on the Quality of *Trichiurus*

haumela

HU Ya-qin¹, HU Qing-lan^{1,2}, YANG Shui-bing^{1,2}, REN Xi-ying^{1,2}, CHEN Shi-guo¹, LIU Dong-hong¹, YE Xing-qian¹, YU Hai-xia^{1,2}

(1. Department of Food Science and Nutrition, 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 316026, China)

Abstract: Three different freezing methods, the liquid nitrogen frozen, plate frozen, ordinary refrigerator frozen, were used to pretreat the fresh *Trichiurus haumela*. Physicochemical indexes, sensory indexes and scanning electron microscopy (SEM) were determined to investigate the effect of different frozen methods on the quality of *Trichiurus haumela* during frozen periods. Results showed that TVB - N and TBA values of *Trichiurus haumela* increased with the storage time increased among all the three methods. Those values of samples treated with ordinary refrigerator frozen showed the fastest increasing rate, while TVB-N and TBA values of samples pretreated by liquid nitrogen increased rather slowly. After stored for 70 days, the TVB - N values of the samples treated with the three methods reached 0.12 mg/g, 0.18 mg/g and 0.20 mg/100 g, respectively by liquid nitrogen frozen, plate frozen and ordinary refrigerator frozen, thus suggesting that liquid nitrogen frozen could keep the quality of *Trichiurus haumela* better than the conventional methods. The soluble protein, water holding capacity, sensory quality and whiteness value of *Trichiurus haumela* declined. while the Ca^{2+} - ATPase enzyme activity and the total sulfhydryl content increased first, and then decreased during storage. But the samples treated by liquid nitrogen showed great advantage compared with the conventional frozen because it could inhibit the protein denaturation. Microscopic scanning electron microscopy profiles revealed that myofibril of *Trichiurus haumela* slightly damaged by the liquid nitrogen.

Key words: *Trichiurus haumela*; frozen method; liquid nitrogen frozen; quality

收稿日期: 2013-09-17

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2012BAD38B09); 国家自然科学基金 (31301417); 浙江省舟山市科技计划项目 (2012C33021); 浙江省舟山市科技计划重大合作类项目 (2013C51022)

作者简介: 胡亚芹 (1972-), 女, 副教授, 博士生导师

通讯作者: 余海霞 (1982-), 女, 工程师

带鱼是我国东海海域最重要的渔获对象, 作为“东海四大经济鱼类”之一, 虽然近年内随着整个海洋资源的衰退, 产量有所回落, 但在我国传统渔业中仍然占据着非常重要的地位。因为新鲜带鱼易腐易烂, 目前除少数鲜食之外, 大多对带鱼整条鱼体或者切段处理后冻结保藏, 通过冷链贮运、销售。传统冷冻方

式长期贮运的带鱼组织容易干耗,解冻后随汁液的流失鲜味降低,口感和品质受到极大的破坏,严重影响食用品质。因而,研究不同冻结方式对带鱼贮藏品质的影响具有重要的现实意义。

已有研究发现,不同的冻结处理对淡水鱼品质具有重要的影响,采用三元载冷剂处理的草鱼块品质优于空气鼓风式冻结和酒精冻结的鱼块^[1];冻结速率的提高有利于提高军曹鱼片和鲩鱼片的品质。但是有关不同冻结方式对带鱼及其带鱼制品品质的影响研究尚未见报道。

液氮是无色、无味、低黏度的透明液体,化学性质稳定,与任何物质不起化合作用,在常压下的沸点是-195.8℃,液氮气化时体积膨胀647倍,从它的沸点到25℃冻结终温所挥发的制冷量为383.1 kJ/kg,是一种理想的载冷剂,是近年全世界食品速冻应用技术的开发热点。上世纪六十年代后,液氮在发达国家的食品行业得到了广泛的应用,液氮速冻食品具有以下优越性:速度快、产量高;质量好;干耗小;抗氧化、杂菌少;环境友好。另外,液氮冻结设备占地面积小、结构简单、操作方便、维护容易。随着空气分离技术的日益完善和设备成本的降低,液氮冻结技术逐渐成为国内食品产业首推的新兴环保研究热点。

本研究选取舟山新鲜带鱼经过三种不同冻结方式(-40℃液氮冻结、-30℃平板冻结、-18℃冰柜直接冻结)冻结至中心温度-18℃,并于-18℃环境中贮藏,以TVB-N、TBA、Ca²⁺-ATPase酶活、盐溶性蛋白、总巯基含量、持水性、pH、感官品质、白度值为指标,结合扫描电镜观察不同冻结方式对带鱼品质及其微观结构的影响,探索液氮冻结与普通冻结方式的差异性,寻找保持带鱼鱼肉品质最佳的冷冻冻结技术。

1 材料与方 法

1.1 材 料

新鲜舟山东海带鱼,购于浙江省舟山市水产码头,选取肚子饱满,腮呈紫红色、眼睛鼓、表面光亮,鳞片完整,无粘液的新鲜带鱼。用流动冷却水洗去鱼体表面杂质。

1.2 主要的仪器设备

AR124CN 电子分析天平,美国 Ohaus 公司;DK-S24 恒温水浴锅,上海森信有限公司;98-1B 电子恒温电热套,上海光正医疗仪器有限公司;IKA-RH-basicall 磁力搅拌器,德国 IKA 有限公司;UV-1800PC 紫外可见分光光度计,上海美普达有限公

司;XBLL-23A 绞肉机,上海帅佳电子科技有限公司;EF20K pH 计,上海梅特勒托利多仪器有限公司;TGL-16G 高速台式离心机,上海安亭科学仪器厂;液氮深冷冻冻机、平板单冻机均由浙江省兴业集团有限公司提供。

1.3 实验方法

1.3.1 冻结方法

将舟山新鲜带鱼分别用液氮冻结设备(调节设备中心温度至-40℃,需30 min)、平板冻结设备(-30℃,需6 h、冰柜直接冻结(-18℃,需20 h),均冻至中心温度-18℃,然后放置在-18℃环境下,贮藏相应时间。

1.3.2 带鱼鱼块的前处理

将1.3.1中经过三种不同冻结方式处理的带鱼,每一种冻结方式处理的下的带鱼分成三组。一组带鱼用流动水解冻15 min后,去皮去骨,取背部肌肉,放入绞肉机里绞碎后,放入保鲜袋中,作为TVB-N、TBA、Ca²⁺-ATPase酶活、盐溶性蛋白、总巯基含量、持水性、pH等指标测定的样品;另一组带鱼解冻后,切成5 cm×5 cm 大小的块状,进行感官品质和白度的测定;最后一份切成3 mm×3 mm×1.5 mm的薄片,作为扫描电镜的样品。

1.3.3 挥发性盐基氮(TVB-N)的测定

挥发性盐基总氮是指肉类食品的水浸液中在碱性条件下能与水蒸气一起蒸馏出来的总氮量(Total Volatile Basic-Nitrogen 即 TVB-N)。TVB-N 测定参照 Chomnawang^[2]的方法。

1.3.4 硫代巴比妥酸值(TBA)的测定

取10 g 样品研碎,加入50 mL 7.5%的三氯乙酸(含有0.1% EDTA),振摇30 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1 h,1500 r/min 离心25 min,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。

$$TBA(10^{-2} \text{ mg/g}) = (A_{532} - A_{600}) / 155 \times (m) \times 72.6 \times 0.05 \times 100$$

1.3.5 肌原纤维的提取

取绞碎的带鱼鱼肉约2 g,放入研钵中边研边加入20 mL 预冷的高离子盐溶液(0.1 mol/L KCl+0.01 mol/L Na₂CO₃+0.04 mol/L NaHCO₃),研磨15 min。然后加入相当于鱼肉重量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,重复以上提取操作3次,最后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

Ca²⁺-ATPase 活性、蛋白质含量和总巯基含量测定用。

1.3.6 Ca²⁺-ATPase 活性的测定

主要参考 Yoshikawa^[3]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 CaCl₂ 1.0 mL、4 mol/L KCl 1.0 mL、6.67 mmol/L ATP-Na₂ 1.5 mL、肌原纤维蛋白酶液 4 mL,置于 28 °C 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:

$$\text{活性} = A - B / t(\text{min}) \cdot \text{酶蛋白质量}(\text{mg})$$

注: A-1mL 反应液生成的磷酸量, μmol; B-空白值, μmol; t-反应时间, min; 酶蛋白量-1mL 反应液所含的酶量, mg。

1.3.7 盐溶性蛋白含量的测定

取两份鱼肉,每份 2 g,分别加入 20 mL 高离子磷酸缓冲溶液(0.5 mol/L KCl-0.01 mol/L NaH₂PO₄-0.03 mol/L Na₂HPO₄)和 20 mL 低离子磷酸缓冲液(0.025 mol/L NaH₂PO₄-0.025 mol/L Na₂HPO₄)搅拌震荡均匀,前者静置 3 h,后者静置 1 h,然后再 4000 r/min 下离心 10 min。取上清液,加入 10 mL 15% 三氯乙酸使的蛋白质沉淀,静置后加入 20 mL 1 mol/L NaOH 溶液溶解蛋白质,再分别以高、低磷酸盐缓冲液定容到 50 mL,在用双缩脲试剂测定蛋白质含量。盐溶性蛋白含量为高盐溶中蛋白质含量减去低盐溶液中蛋白质含量。

1.3.8 总巯基含量的测定^[4]

取 1.3.4 中提取的肌原纤维蛋白溶液 1 mL,加入 9 mL 0.2 mmol/L Tris-HCl(内含 10 mmol/L EDTA、0.6 mol/L KCl、8 mol/L 尿素,2% SDS pH=6.8)。取上述

混合液 4 mL 加入 0.4 mL 0.1% 5,5'-二硫代双(2-硝基)苯甲酸(DTNB),将反应混合液在 40 °C 保温 25 min,在波长 412 nm 处测定吸光度,空白用 0.6 mol/L KCl 溶液代替。每组样品测量 3 个平行,结果取平均值。巯基含量按以下公式计算。

$$-\text{SH 含量} / (\text{mol/g pro}) = (A \times n) / (\epsilon \times p)$$

注: A 表示 412 nm 波长处的吸光度; n 表示稀释倍数; ε 表示摩尔吸光系数 13600/[L/(mol·cm)]; p 表示蛋白质质量浓度, mg/mL。

1.3.9 持水性的测定

采用加热离心法:肉样绞碎后取 10 g 左右样品置于离心管中,70 °C 水浴 20 min,离心 3 min (1500 r/min),倒掉水分,称重。

$$\text{持水力}(\%) = \frac{\text{肉样重} \times \text{含水量} - (\text{肉样重} - \text{离心后肉样重})}{\text{肉样重} \times \text{含水量}} \times 100$$

1.3.10 样品 pH 的测定^[5]

取绞碎鱼肉 10 g 置于烧杯中,加入煮沸后冷却的蒸馏水 100 mL,均匀搅拌,静置 30 min,然后用 pH 计进行测定。重复测定 3 次,取其平均值。

1.3.11 感官评定

选取 10 位经过专业培训的评定人员组成感官评定小组进行感官描述检验,将经过不同冻结处理后的带鱼室温解冻后,切成 5 cm×5 cm 大小块状若干块,为不影响带鱼鲜度及气味,采用清蒸的方法。放入适量的水,放在蒸笼上蒸 10 min。不同冻结方式处理的带鱼段按照色泽、气味及滋味、组织形态与组织弹性对其进行感官品质评定,采用加权平均法,色泽系数 0.3,气味滋味系数 0.3,组织形态系数 0.2,组织弹性系数 0.2,带鱼感官综合评分少于 5 分,则表示带鱼不能食用,没有对应的货架期。带鱼感官评价如表 1 所示。

表1 带鱼感官评价表

Table 1 Sensory evaluation of *Trichiurus haumela*

指标	好 (10分)	较好 (8分)	一般 (6分)	较差 (4分)	差 (2分)
色泽	色泽正常,肌肉切面富有光泽	色泽正常,肌肉切面有光泽	色泽稍暗淡,肌肉切面稍有光泽	色泽较暗淡,肌肉切面无光泽	色泽暗淡,肌肉切面无光泽
	固有香味浓郁	固有香味较浓郁	固有香味清淡,略带异味	固有香味消失,有腥臭味或氨臭味	有强烈腥臭味或氨臭味
组织形态	肌肉组织致密完整,纹理很清晰	肌肉组织紧密,纹理较清晰	肌肉组织不紧密,但不松散	肌肉组织不紧密,局部松散	肌肉组织不紧密,松散
组织弹性	坚实富有弹性,手指压后凹陷立即消失	坚实有弹性,手指压后凹陷较快消失	较有弹性,手指压后凹陷消失较慢	稍有弹性,手指压后凹陷消失很慢	无弹性,手指压后凹陷不消失

1.3.12 白度的测定

将带鱼切成 5 cm×5 cm 大小的块状,去皮,采用康光 SC-80C 型色差计测定带鱼的 L* (明度)、a* (红

色度)、b* (黄色度) 值。白度计算法公式如下:

$$\text{白度} (W) = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$$

1.3.13 样品扫描电镜的处理

将带鱼样品切成 3 mm×3 mm×1.5 mm 的薄片, 放入 2.5%的戊二醛溶液在 4 °C 温度下固定过夜, 倒掉固定液, 用 0.1 M, pH=7.0 的磷酸缓冲液漂洗样品; 用 1 % 的锇酸溶液固定样品 1~2 h, 倒掉固定液, 用 0.1M, pH=7.0 的磷酸缓冲液漂洗样品三次, 每次 15 min; 用梯度浓度 (包括 50%、70%、80%、90% 和 95% 五个浓度) 的乙醇溶液对样品进行脱水处理, 每个浓度处理 15 min, 再用 100% 的乙醇处理两次, 每次 20 min; 用乙醇与醋酸异戊酯的混合液 (V/V=1:1) 处理样品 30 min, 再用纯醋酸异戊酯处理样品 1~2 h; 二氧化碳临界点干燥; 真空离子溅射镀白金膜; 处理好的样品进行电子显微镜观察, 拍摄带鱼肌肉横切面 500 倍的扫描图像。

1.4 数据处理

测定及分析结果采用 Excel 和 SPSS 12.0 进行处理, 不同处理间的比较采用先出差异法 (LSD), 显著性 $p < 0.05$ 。

2 结果与讨论

2.1 不同冻结方式对带鱼挥发性盐基氮 (TVB-N) 的影响

TVB-N 值是评价水产品鲜度的重要指标之一^[6], 其含量越低则其新鲜度越高。它反映了内源性酶和微生物的作用分解蛋白质和非蛋白质产生的具有挥发性的氨、二甲胺和三甲胺等的情况^[7]。我国新鲜、冷冻带鱼行业标准 SC/T 3102-2010 中对带鱼鲜度进行了限定: TVB-N (10^{-2}mg/g) ≤ 13 为一级品, TVB-N (10^{-2}mg/g) ≤ 30 为合格品。

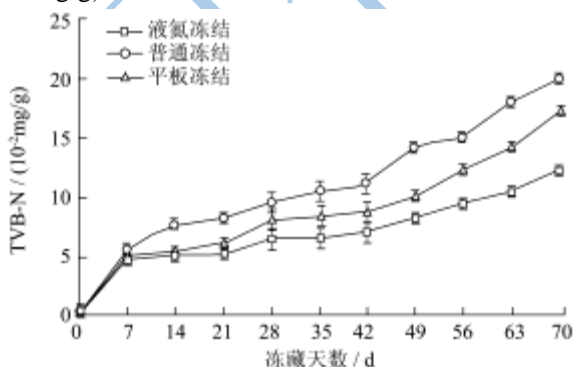


图 1 不同冻结方式带鱼 TVB-N 的变化

Fig.1 The change of TVB-N value in *Trichiurus Haumela* by different frozen methods

由图 1 可知, 随着时间的延长, 三种冻结方式处

理的带鱼其 TVB-N 值都呈上升趋势, 且冰柜直接冻结方式上升的速率明显高于液氮和平板冻结。前 42 d TVB-N 增长缓慢, 在后期迅速增长。液氮冻结、平板冻结、冰柜直接冻结在前 42 d 分别增加了 $7.0 \times 10^{-2} \text{mg/g}$ 、 $8.3 \times 10^{-2} \text{mg/g}$ 、 0.11mg/g , 在后期分别增加了 70.09%、97.47%、78.09% 至 70 d 时达到 0.12mg/g 、 0.18mg/g 、 0.20mg/g 。液氮冻结的带鱼 TVB-N 均小于 0.13mg/g , 属于一级品。冰柜直接冻结的带鱼品质较差, TVB-N 在贮藏 42 d 时, 已经达到接近 0.13mg/g 。TVB-N 的值的变化可能与磷酸一腺苷 (AMP) 和脱氨基作用释放出氨态氮, 而二甲胺 (TMA) 和三甲胺 (DMA) 产生的量不大, 所以前期 TVB-N 值上升较缓慢, 而后期微生物活动加强, 大量的氨基酸被微生物分解, 脱氨基作用加剧, 导致 TVB-N 迅速增加^[8-9]。

2.2 不同冻结方式对带鱼硫代巴比妥酸 (TBA) 的影响

TBA 值能反映带鱼脂肪氧化腐败程度, 是判断脂肪氧化的重要指标。脂肪氧化和水解长生的酮类和醛类物质是引起带鱼品质劣变的重要原因之一。带鱼是一种高蛋白高脂肪的鱼类, 且其脂肪酸大多为不饱和脂肪酸, 极易与空气中的氧气发生氧化反应产生氧化降解产物丙二醛 (MAD)。

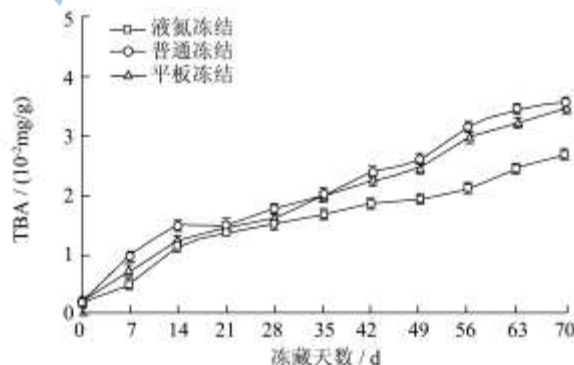


图 2 不同冻结方式带鱼 TBA 的变化

Fig.2 The change of TBA value in *Trichiurus Haumela* by different frozen methods

由 2 可知, 经过不同冻结方式处理的带鱼, 随着时间的延长, 其 TBA 值均呈现上升趋势。贮藏 42 d 时, 液氮冻结、平板冻结、冰柜直接冻结 TBA 分别从最初的 $0.16 \times 10^{-2} \text{mg/g}$ 、 $0.19 \times 10^{-2} \text{mg/g}$ 、 $0.18 \times 10^{-2} \text{mg/g}$ 增加至 $1.85 \times 10^{-2} \text{mg/g}$ 、 $2.24 \times 10^{-2} \text{mg/g}$ 、 $2.38 \times 10^{-2} \text{mg/g}$, 到最后贮藏 70 d 时增加至 $2.65 \times 10^{-2} \text{mg/g}$ 、 $3.45 \times 10^{-2} \text{mg/g}$ 、 $3.55 \times 10^{-2} \text{mg/g}$, 比最初分别增加了 15.56、17.31、18.72 倍。且前 28 d TBA 值上升速率快, 后期增长较缓慢, 原因可能是在冻结初期过程中带鱼

的自由水不断减少,组织液的浓度逐渐增大,脂肪氧化加快。而到了后期,因为冻结过程基本完成,自由水的含量降低到恒定值,带鱼的脂肪氧化低温下进展缓慢。

由图 2 还可以看出,冰柜直接冻结 TBA 值上升速率最快,其次为平板冻结,液氮冻结增加最慢,可能是由于冻结过程中形成的冰晶体,由于冻结速率不同,冰晶体大小不同,对鱼肉细胞的机械造成的损伤程度不同,导致暴露在空气中的损伤面积增加了脂肪的氧化。结果表明 TVB-N 值与 TBA 值增加具有一定的相关性,这与鱼类蛋白在的微生物生长繁殖和脂肪的氧化有关。

2.3 不同冻结方式对带鱼 Ca²⁺-ATPase 的影响

Ca²⁺-ATPase 活性表征肌球蛋白头部性质的变化,是带鱼在冷冻贮藏过程中蛋白质性质的一个重要指标,其活性值越高,说明鱼糜蛋白质性质越稳定,冷冻变性程度越小,品质也越好。

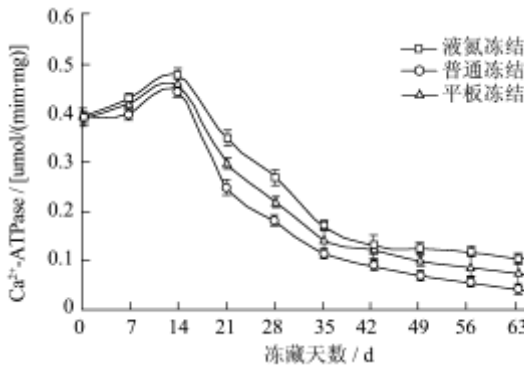


图 3 不同冻结方式带鱼 Ca²⁺-ATPase 活性的变化

Fig.3 The change of Ca²⁺-ATPase activity in *Trichiurus haumela* by different frozen methods

由图 3 看出, Ca²⁺-ATPase 活性在前 14 d 呈现略微上升趋势,然后呈现不断下降趋势。这可能与在冷藏过程中酶发生了部分解聚作用,使得肌动蛋白和肌球蛋白结合比较强,导致前期其活性增强。液氮冻结、平板冻结、和冰柜直接冻结处理的带鱼 Ca²⁺-ATPase 活性均在前期急剧下降,后期下降缓慢。三种不同冻结方式活性分别从第 14 d 0.478 [µmol/(min·mg)]、0.46 [µmol/(min·mg)]、0.45 [µmol/(min·mg)]急剧下降到第 42 d 时的 0.13 [µmol/(min·mg)]、0.121 [µmol/(min·mg)]、0.090 [µmol/(min·mg)]、分别下降了 72.8%、73.69%、79.88%,而后期分别只下降了 19.2%、50.41%、72.37%。其中冰柜直接冻结处理带鱼 Ca²⁺-ATPase 活性下降最快,至 70 d 时,其活性接近于零,这可能与肌球蛋白的球状头部的构型发生改变以及蛋白质的凝聚有关;总巯基的氧化使得二硫键

发生交联导致 Ca²⁺-ATPase 活性迅速下降。液氮冻结 Ca²⁺-ATPase 活性下降缓慢,说明液氮冻结能够较好地抑制带鱼肌肉 Ca²⁺-ATPase 活性的下降。

2.4 不同冻结方式对带鱼盐溶性蛋白含量的影响

盐溶性蛋白含量表示的是鱼肉蛋白质中肌球蛋白的盐溶性,主要体现的是肌动球蛋白杆部性质的变化,而肌动球蛋白是构成肌原纤维的主要成分,因此在一定程度上可以反应肌原纤维蛋白质的变性程度。蛋白质变性后,肌原纤维蛋白溶解度降低,盐溶性蛋白减少。

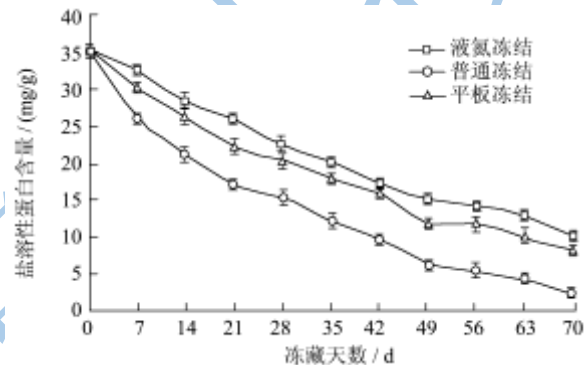


图 4 不同冻结方式带鱼盐溶性蛋白含量的变化

Fig.4 The change of salt solubility protein in *Trichiurus haumela* by different frozen methods

图 4 可知,随着贮藏时间的延长,盐溶性蛋白含量呈下降趋势,且前 49 d 下降速度快。在第 49 d 时,液氮冻结、平板冻结和冰柜直接冻结的带鱼盐溶性蛋白含量分别降低 57.43%、65.87%、72.09%,由此可知冰柜直接冻结处理的带鱼其盐溶性蛋白含量下降速率快于液氮冻结和平板冻结,而在第 70 d 时,盐溶性蛋白含量由初始值的 35 mg/g 分别下降为 10.3 mg/g、8.24 mg/g、2.4 mg/g,此时冰柜直接冻结处理的带鱼的盐溶性蛋白含量接近零,表明蛋白质变性严重。可能是由于蛋白质的部分结合水形成冰晶析出,导致肌动球蛋白分子之间相互形成非共价键进而形成超大分子的不溶性凝集,使肌动球蛋白溶解性下降^[10]。除此之外,二硫键的形成会使得肌动球蛋白重链聚合,造成盐溶性蛋白降低也是其中原因之一^[11-12]。

2.5 不同冻结方式对带鱼总巯基含量的影响

由图 5 可知,随着时间的延长,总巯基含量呈现先上升后下降的趋势,与 Ca²⁺-ATPase 活性变化相似,这可能是由于冻结初期蛋白质分子空间结构发生轻微的变化,内部的巯基尚未氧化形成二硫键所致。随着

储藏时间的增加,总巯基含量显著降低,且差异显著。图5中,液氮冻结、平板冻结和冰柜直接冻结带鱼总巯基含量由最初的0.20 mmol/g、0.196 mmol/g、0.192 mmol/g分别下降到0.09 mmol/g、0.074 mmol/g、0.056 mmol/g,分别下降了55%、62.24%、70.83%,这时冰柜直接冻结总巯基含量接近于零,可能是由于冷冻过程使得肌原纤维蛋白变质,蛋白质空间结构发生改变,分子内部的巯基暴露出来,氧化成二硫键而导致总巯基含量的降低。液氮冻结处理的带鱼总巯基含量下降最慢,其次为平板冻结,冰柜直接冻结的总巯基含量下降迅速,这表明液氮冻结和平板冻结能有效延缓带鱼总巯基含量下降,可以抑制带鱼肉中肌肉纤维蛋白的变性。

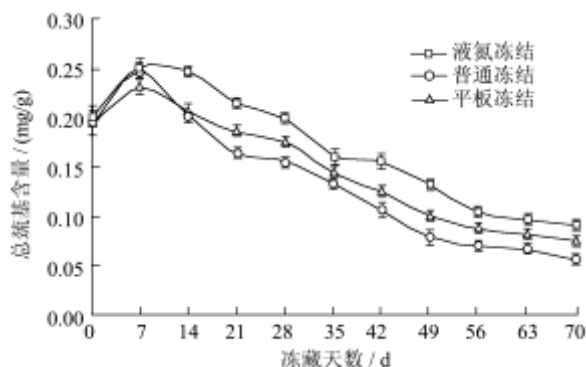


图5 不同冻结方式带鱼总巯基含量的变化

Fig.5 The change of total sulfhydryl in *Trichiurus Haumela* by different frozen methods

可能原因是不同的冻结速率产生不同大小规格的冰晶体,导致对带鱼鱼肉细胞的机械损伤程度不同,而加剧了蛋白质的变性,从而导致巯基含量的降低。巯基含量的下降可能与Ca²⁺-ATPase活性有关,由于Ca²⁺-ATPase的活性的下降,导致肌动球蛋白头部区域蛋白质的氧化进一步导致了巯基含量的下降。

2.6 不同冻结方式对带鱼持水性的影响

冻结过程中,鱼肉体内的水分逐渐冻结成冰晶,小粒冰晶不断升华,数量减少,大粒冰晶变成更大的冰晶,这些冰晶膨胀,造成肌肉组织结构破坏,是促使蛋白质变性的重要因素之一。

由图6可知,随着时间的延长,带鱼肌肉持水力逐渐降低,且液氮冻结处理的带鱼组持水力较平板冻结和冰柜直接冻结持水力同期值高(p<0.05),而冰柜直接冻结组持水力值下降最快,与液氮、平板冻结相比持水力最低。可能原因是冰柜直接冻结速率慢,形成的冰晶大,对组织结构破坏大,导致其持水性下降;此外,冰柜直接冻结脂肪氧化程度大,对持水性具有一定的影响。

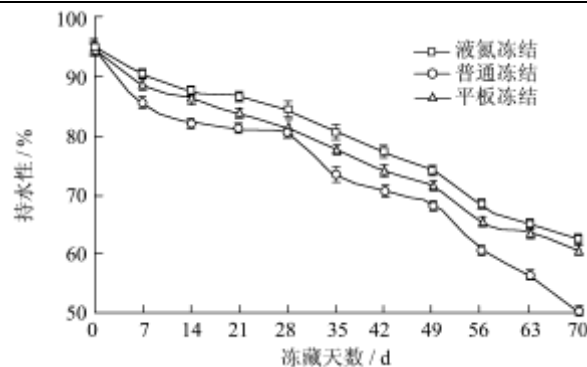


图6 不同冻结方式带鱼持水性的变化

Fig.6 The change of water holding capacity in *Trichiurus Haumela* by different frozen methods

2.7 不同冻结方式对带鱼pH的影响

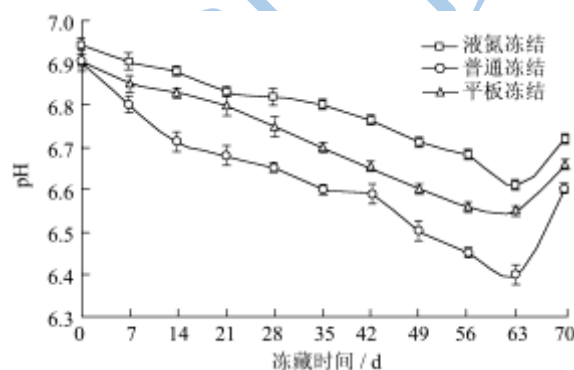


图7 不同冻结方式带鱼pH的变化

Fig.7 The change of pH value in *Trichiurus Haumela* by different frozen methods

由图7可知,不同冻结方式处理的带鱼,其pH值先降后升,这是因为当水产动物停止呼吸时,体内的糖原就开始分解,产生乳酸,使肌肉的pH值下降。随着鲜度的变化,蛋白质分解,呈碱性的产物不断增加,使肌肉pH值又回升。

从图7可以看出,液氮冻结、平板冻结、和冰柜直接冻结达到最低值的时间为63d左右,此时带鱼达到僵硬高峰,之后pH值迅速上升,说明蛋白质在组织蛋白酶类作用下逐渐分解产生氨基酸和其它碱性物质,于此同时细菌开始将鱼肉的蛋白质、氨基酸等物质分解为氨及胺类物质,使得pH值迅速升高。液氮冻结处理的带鱼与平板冻结和冰柜直接冻结的带鱼pH值相比较低,这可能与不同冻结速率对带鱼鱼肉组织形态及蛋白质变性程度有关。

2.8 不同冻结方式对带鱼感官品质的影响

带鱼的感官评价是对其品质变化的一个综合性评估,是人们利用味觉、嗅觉、视觉、听觉和触觉对物品的色泽、香气、风味和质构等性状进行打分,然后

对打分结果进行统计分析得出结论（本文采用加权平均法）。食品的品质变化，用感官指标来进行评价，简便易行，直观性强，是反映食品质量的重要手段之一。

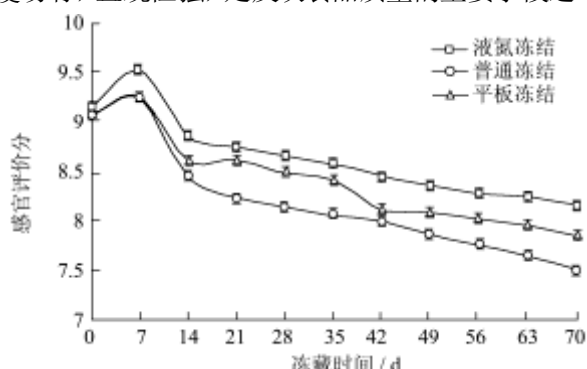


图8 不同冻结方式带鱼感官品质的变化

Fig.8 The change of sensory assessment in *Trichiurus Haumela* by different frozen methods

由图8可知，随着时间的延长，带鱼感官综合评分总体呈现下降的趋势，但是带鱼在前7 d内感官综合评分稍稍轻微的提高，这与带鱼在贮藏初期，鱼体肌肉组织呼吸停止，发生糖原分解和ATP降解作用分别产生酸性物质(乳酸、磷酸等)，酸性环境内使鱼的肌肉呈现僵直收缩，并释放肌浆中的蛋白酶^[3]。此时带鱼的组织质地完整，色泽正常、固有的气味浓郁，感官品质表现为新鲜，带鱼的感官综合评分高。随着后期贮藏时间延长，带鱼由于蛋白质的变性和自身内源酶的作用以及微生物的大量繁殖，导致带鱼的感官品质逐渐降低。此外，液氮冻结、平板冻结和冰柜直接冻结的带鱼综合评分，从初期的9.13、9.06、9.08分别下降到第70 d的8.15、7.85、7.5，冰柜直接冻结综合感官值下降快，而液氮和平板冻结综合感官相差不大。

2.9 不同冻结方式对带鱼白度的影响

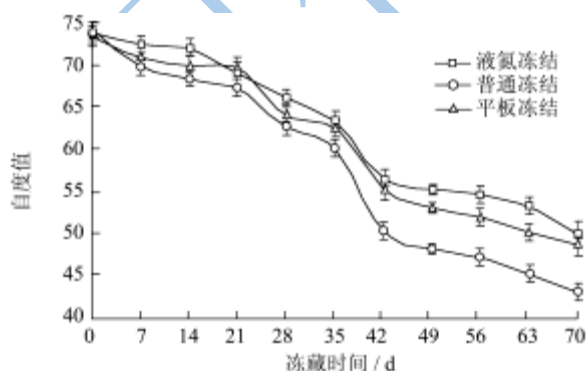


图9 不同冻结方式带鱼白度值的变化

Fig.9 The change of whiteness in *Trichiurus Haumela* by different frozen methods

鱼肉的色泽本身对营养价值和风味口感影响不

大，但是会影响消费者的购买欲望。带鱼在不同冻结方式处理下，肉的颜色会由于一系列反应的变化而发生变化。如：脂肪的氧化发生的褐变和色素的降解。不同冻结方式对带鱼肉白度的影响如图9所示，三种不同冻结方式处理的带鱼鱼肉的白度值随时间的延长也降低，且在前35 d下降较慢，曲线表现较平缓。在35~42 d，曲线陡峭，白度值急剧下降。这与后期带鱼所处的环境（冻藏后期随着微生物的活动的加剧，脂肪氧化迅速）有关。液氮冻结和平板冻结处理的带鱼鱼肉的白度值相差不大，但其白度值均高于冰柜直接冻结冻结的。

2.10 不同冻结方式对带鱼肌肉微观结构的影响

无论是淡水鱼或海水鱼，在冰柜直接冻结条件下冻藏，都会发生冰结晶长大与肌纤维变化，导致鱼肉蛋白质变性，影响鱼的品质^[4]。不同冻结方式处理的带鱼贮藏20 d后扫描电镜图如图10a、b、c所示。

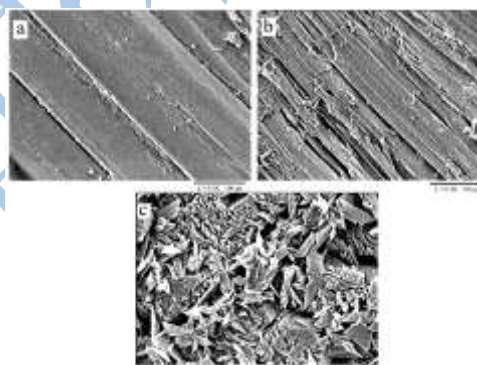


图10 液氮冻结方式、平板冻结和冰柜直接冻结方式对带鱼肌肉纤维结构切片(20 d)

Fig.10 Muscle structure pictures of *Trichiurus Haumela* by liquid nitrogen frozen method, plate froze method and ordinary refrigerator frozen method (20 d)

由图10a可知，不同冻结方式冻结的带鱼鱼肉的微观扫描电镜显示出：液氮冻结对带鱼肉质的影响小，带鱼肉质平整光滑。图10c显示冰柜直接冻结冻结鱼肉肌肉纤维横切面的肌肉粗糙，这可能与冰柜直接冻结产生的冰晶体比较大，因而对带鱼肉质机械损伤大。图10b平板冻结对带鱼肉质微观结构处于液氮和冰柜直接冻结冻结之间，肌肉横切面较为光滑平整。这可能与液氮快速冻结使带鱼肌肉中产生细小的冰晶，对细胞的机械损伤较小有关，因此可降低细胞破壁和营养液外泄，因而其组织结构较冰柜直接冻结处理的带鱼的肌肉纤维平整光滑。这在微观上解释了液氮处理的带鱼的品质较其他两种冻结方式处理的带鱼品质较

好的原因。液氮冻结方式处理形成的冰晶细小,对细胞损伤小,因此解冻时对蛋白质损伤小,能有效抑制带鱼鱼肉的蛋白质的冷冻变性、抑制TVB-N和TBA值的上升,延缓Ca²⁺-ATPase酶活、巯基含量、白度值、持水性等的下降。

3 结论

经过液氮冻结和平板冻结处理的带鱼,比冰柜直接冻结的带鱼总体品质较好。液氮冻结能有效的延缓TVB-N、TBA值的上升;当贮藏70 d时,液氮冻结的带鱼TVB-N、TBA值分别只有0.12 mg/g和2.65×10⁻² mg/g,平板冻结是0.18 mg/g和3.48×10⁻² mg/g,而采用冰柜直接冻结冻结的样品为0.20 mg/g和3.55×10⁻² mg/g。液氮冻结处理的带鱼Ca²⁺-ATPase酶活、盐溶性蛋白含量、总巯基含量、持水性、白度、感官品质下降速率小于平板冻结和冰柜直接冻结,表明液氮快速冻结处理对带鱼蛋白质冷冻变性的损伤最小,能有效的延缓蛋白的冷冻变性,保持鱼肉的鲜度品质。扫描电镜图片可以直观的发现经过液氮和平板处理的带鱼鱼肉肌原纤维较冰柜直接冻结的整齐光滑,微观上的结果与宏观品质较好结果一致,说明液氮深冷快速冻结对保持带鱼品质有利。

参考文献

- [1] 邓敏,朱志伟.不同冻结方式对草鱼鱼块品质特性的影响[J].现代食品科技,2013,29(1):55-58
DENG M, ZHU Z W. Effect of different freezing way on the quality [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(1): 55-58.
- [2] Chomnawang C, Nantachai K, Yongsawatdigul J, et al. Chemical and biochemical changes of hybrid catfish fillet stored at 4 C and its gel properties [J]. Food Chemistry, 2007, 103(2): 420-427
- [3] oshikawa K. Changes of the solubility and ATPase activity of *Carp* myofibrils during frozen storage at different temperature [J]. Fisheries Seience, 1995, 61(5): 804-812
- [4] Benjskul S, Seymour T A, Morrissery M T, et al. Physicochemical changes in Pacific whiting muscle roteins during iced storage [J]. Journal of Food Science, 1997, 62: 729-733
- [5] Salih A M, Smith D M, Price J F, et al. Modified extraction 2-thiobarbituric acid method for measuring lipid oxidation in poultry [J]. Poultry Science, 1987, 66: 1483-1488
- [6] Soottawat B, Visessanguan W, Sirpon R, et al. Gel-forming properties of surimi produced from bigeye snapper, *priacanthus tayenus* and *P macracanthus*, stored in ice [J]. Journal of the Science of food and agriculture, 2002, 82: 1142-1451
- [7] Claudia R L, Antonio M. Sensory and biochemical aspects of quality of whole big eye tuna (*Thunnus obesus*) during bulk storage in controlled atmospheres [J]. Food Chemistry, 2005, 89(3):347-354
- [8] Michiyo M. Changes in contents of free amino acids, trimethylamine, and nonprotein nitrogen of oyster (*Crassostrea gigas*) during ice storage [J]. Bulletin of the Japanese Society Scientific Fish, 1986, 52(11): 1975-1980
- [9] Michiyo M. Changes in free amino acid juvenile macherel *scobmer japonicus* muscle during ice storage, trimethylamine and nonprotein nitrogen of oyster during ice storage [J]. Bulletin of the Japanese Society Scientific Fish, 1984, 50(2): 323-329
- [10] 崔珺.速冻方式和贮藏温度对带鱼品质的影响研究[D].浙江海洋学院,2011
CUI J. Study on quality changes of *Trichiurus Haumela* subjected to different frozen methods and storage temperature [D]. Zhejiang Ocean University, 2011
- [11] Sompongse W, Itoh Y, Obatake A. Effect of cryoprotectants and a reducing reagent on the stability of actomyosin during ice storage [J]. Fishes Science, 1996, 62(1): 73-79
- [12] Takahashi K, Inoue N, Shinano H. Effect of storage temperature on freeze denaturation of cap myofibrils with KCl or NaCl [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1993, 59(3): 519-527
- [13] Nunez de M T, Hafley B S, Boleman R K, et al. Antioxidant properties of plum concentrates and powder in precooked roast beef to reduce lipid oxidation [J]. Meat Science, 2008, 80(4): 997-1004
- [14] 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,2000,19(2):118-120
JIN J X, He Z J, Wang W H. Researches on the change of muscle fibers during ice crystallization in frozen [J]. Zhejiang Ocean University(Nature Science), 2000, 19(2): 118-120