

复合保鲜剂对冻藏虾夷扇贝品质的影响

佟长青¹, 马慧慧¹, 李富岭², 张临新², 田思进², 李伟¹

(1. 大连海洋大学 食品科学与工程学院, 辽宁大连 116023; 2. 大连博缘科技有限公司, 辽宁大连 116020)

摘要: 为研究复合保鲜剂对冻藏虾夷扇贝 *Patinopecten yessoensis* 品质的影响, 以感官评定、挥发性氨基态氮 (TVB-N)、细菌总数 (TVC)、pH、硬度、弹性、内聚性、耐咀嚼性、SH 基和可溶性蛋白质含量为评定指标, 进行了由 10% 氯化钠、3% 乙醇、2% 甲壳素、5% 甘油、3% 蔗糖与 10% 抗冻蛋白 AFPs 组成的复合保鲜剂对虾夷扇贝冷冻贮藏 (-20 °C ± 2 °C) 过程中品质变化的影响试验。结果表明: 复合保鲜剂能有效地抑制 TVB-N 值的上升速度和硬度、感官评价值的降低速度, 但对 TVC、pH、弹性、内聚性、耐咀嚼性、SH 基总量和可溶性蛋白质几乎无影响。研究表明, 经此复合保鲜剂处理后, 冻藏虾夷扇贝的品质明显改善, 贮藏货架期可得到适当延长。

关键词: 虾夷扇贝; 抗冻蛋白; 复合保鲜剂

中图分类号: TS254.1 **文献标志码:** A

虾夷扇贝 *Patinopecten yessoensis* 是重要的养殖经济贝类, 其机体富含蛋白质、多糖、多种高度不饱和脂肪酸和微量元素^[1-2], 在其贮藏过程中, 保鲜剂的使用是一种重要的方法与手段。有关保鲜剂在水产品贮藏过程中的应用已有大量研究报道。张璐等^[3]研究了天然植物浸提液对多宝鱼保鲜效果的影响以及对假单胞菌的抑制作用, 重点考察了其挥发性氨基氮的变化。杨峰等^[4]研究了由 D-山梨糖醇、混合磷酸盐和 4-己基间苯二酚等组成的复配保鲜剂对南极磷虾保鲜及品质的影响, 通过感官、三氯乙酸可溶性氮含量、汁液流失体积和质构等指标对复配保鲜剂效果进行了验证。王庆丽等^[5]研究了由壳聚糖和植酸组成的复合保鲜剂对冷冻鱼丸品质的影响, 发现该保鲜剂有效地抑制了细菌繁殖, 可提高感官品质, 延长货架期。但在这些保鲜剂中, 没有抑制冷冻过程中冰晶的形成成分。在冷冻贮藏过程中, 水产品中冰晶的形成是改变水产品品质的重要原因, 控制冰晶的形成, 可减少水产品细胞的损伤, 保持水产品品质。复合保鲜剂含有多种成分, 这些成分在保鲜过程中起着不同的作用, 可以获得比单一成分保鲜剂更好的保鲜效果。抗冻蛋白可以有效抑制冷冻过程中冰晶的形成, 而甲壳素具有很好的抑菌作用。为此, 本研究

中采用主要含有抗冻蛋白和甲壳素的复合保鲜剂对虾夷扇贝进行冷冻贮藏, 研究其与常规冷冻虾夷扇贝在质构、组织结构、蛋白质变化方面的差异, 以期获得对含有该复合保鲜剂效果的评价。

1 材料与方法

1.1 材料

试验用虾夷扇贝购自大连市长兴农贸市场。

复合保鲜剂组成成分为 10% 氯化钠、3% 乙醇、2% 甲壳素、5% 甘油、3% 蔗糖和 10% 抗冻蛋白 AFPs, 购自大连博缘科技有限公司; 抗冻蛋白 AFPs 由大连海洋大学辽宁省水产品加工及综合利用重点实验室提供。

试验仪器主要有 TMS-PRO 质构仪 (美国 FTC, Food Technology Corporation)、MV-III 型电泳仪 (大连竞迈生物科技有限公司)、ZHJH-C1109B 型超净台 (上海智城分析仪器制造有限公司)、LDZX-30KBS 型灭菌锅 (上海申安医疗器械厂)、ZDP-A2160A 型培养箱 (上海智城分析仪器制造有限公司)、PHS-3C 型 pH 计 (上海精密科学仪器有限公司)。

收稿日期: 2014-08-12

基金项目: 海洋局公益性行业科研专项 (201205022-7)

作者简介: 佟长青 (1976—), 男, 博士, 副教授。E-mail: changqingting@dlou.edu.cn

通信作者: 李伟 (1964—), 男, 博士, 教授。E-mail: aisingioro@hotmail.com

1.2 方法

1.2.1 样品处理 选择个体完整的虾夷扇贝,取虾夷扇贝柱,将虾夷扇贝柱(g)与复合保鲜剂溶液(mL)按2:1的比例浸渍2 min,沥干后放入冰箱(-20±2)℃中冷冻贮藏30 d。以温水浸泡2 min的样品作为对照,每组设3个平行。在第0、

6、12、18、24、30天时取样进行分析,取3次测定的平均值。

1.2.2 感官评价 参考其他海产品的感官评定标准^[6-7],制定虾夷扇贝感官评定标准。由5名接受感官评定培训人员组成的感官评定小组,按表1对虾夷扇贝贮藏过程中的感官品质进行综合评定。

表1 感官评定标准

Tab.1 Standard of sensory evaluation

分数 score	外观 appearance	色泽 colour	气味 smell	滋味 taste
5	质地细密	象牙白色,光泽度好	浓郁的鲜香味	极强的鲜味
4	质地较细密	乳白色,光泽度一般	淡淡的鲜香味	较有鲜味
3	质地略有粗糙	乳白色,稍有光泽	鲜味消失,基本无味	稍有鲜味
2	质地中等粗糙	白色,基本无光泽	淡淡的腥味	鲜味消失
1	质地很粗糙	白色,完全无光泽	腐败气味	苦味

1.2.3 总挥发性氨基氮(TVB-N) 按照GB/T 5009.44—2003中的微量扩散法测定TVB-N值^[8]。

1.2.4 细菌总数(TVC) 按照GB 4789.2—2010中的方法测定细菌总数^[9]。称取冷冻的25 g虾夷扇贝加入到225 mL无菌生理盐水中进行研磨,得1:10样品稀释液,用无菌移液枪取1 mL稀释液,加入9 mL无菌生理盐水,摇匀即得1:100稀释液,逐次10倍递增稀释。选取合适稀释梯度,均匀涂布于营养琼脂平板上,置培养箱(30℃)中培养,72 h后计算菌落总数。

1.2.5 pH值 称取冷冻的25 g虾夷扇贝加入到225 mL蒸馏水中进行匀浆,以3000 r/min离心5 min,取上清液测定pH值。

1.2.6 质构分析 将冷冻样品在室温下解冻,进行质构分析。选用P/0.5柱形探头,测试速度为60 mm/min,形变量为35%,两次下压循环间隔时间为5 s。

1.2.7 SH基含量 将样品分别用滤纸吸干表面,每份样品各称取5 g,加入到20 mL 0.01 mol/L的磷酸缓冲液(pH 7.4)中匀浆,于4℃下过夜。匀浆以3500 r/min离心20 min,取上清液。

采用Ellman^[10]和欧仕益等^[11]的方法测定样品中SH基的含量,测定412 nm处的吸光值。以不加样品只加Ellman试剂为空白组。用下式计算SH含量(μmol/g):

$$SH = (73.53 A_{412 \text{ nm}} \times D) / C。$$

其中:D为稀释倍数,对于游离的SH为15.1;C为样品浓度(mg/mL)。

1.2.8 样品中可溶性蛋白的电泳检测 称取5 g虾夷扇贝样品加入到45 mL蒸馏水中进行匀浆,以

3000 r/min离心5 min后取上清液,冻干。获得的冻干样品溶于电泳上样缓冲液中,采用15%分离胶和5%浓缩胶进行SDS-PAGE电泳。将凝胶用考马斯亮兰R-250染色,蛋白质标准样与样品在同一条件下电泳。

1.3 数据处理

用Excel软件对试验数据进行处理,试验结果以平均值±标准差表示。用SPSS 13.0软件进行单因素方差分析,用Duncan法进行多重比较,用t检验进行组间比较,显著性水平设为0.05,置信区间为95%。

2 结果与分析

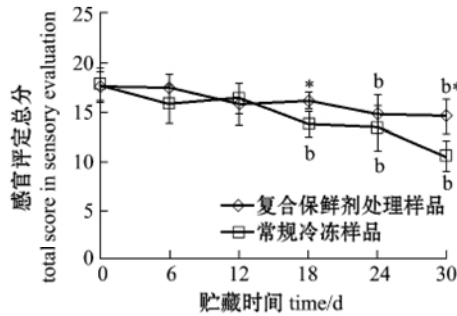
2.1 感官品质的变化

使用复合保鲜剂的虾夷扇贝(保鲜组)和未加入保鲜剂的样品(对照组)在冷冻贮藏过程中外观、色泽、气味和滋味评定结果如图1所示。多重比较结果表明:加入保鲜剂后,样品感官品质从第24天起较试验开始(0 d)时显著降低($P < 0.05$);而未加入保鲜剂的样品,感官品质从第18天起较试验开始时显著降低($P < 0.05$)。t检验结果表明,从第18天起开始,保鲜组感官品质显著高于对照组($P < 0.05$)。

2.2 TVB-N值的变化

从图2可见:保鲜组和对照组虾夷扇贝的初始TVB-N值约为0.08 mg/g,随着贮藏时间的延长,两者的TVB-N值均呈上升趋势,但使用复合保鲜

剂的虾夷扇贝 TVB-N 值小于对照组。多重比较结果表明: 加入保鲜剂后的样品, TVB-N 值从第 24 天起较试验开始时显著升高 ($P < 0.05$); 而未加入保鲜剂的样品, TVB-N 值则从第 12 天起较试验开始时显著升高 ($P < 0.05$)。t 检验结果表明, 仅在第 18 天时, 对照组的 TVB-N 显著高于保鲜剂组 ($P < 0.05$)。



注: 同一贮藏时间下, * 表示组间有显著性差异 ($P < 0.05$); 同一样品中, b 表示与贮藏 0 d 相比有显著性差异 ($P < 0.05$), 下同

Note: at the same storage time, * is significant difference at the 0.05 probability level. For the same sample, the b is significant difference at the 0.05 probability level compared with storage 0 d, et sequentia

图1 复合保鲜剂对冻藏虾夷扇贝感官品质变化的影响
Fig.1 Changes in sensory evaluation in the scallop treated with composite biological preservatives during storage

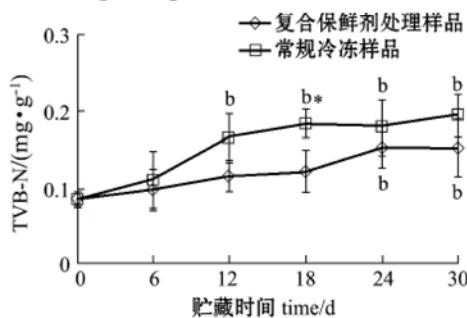


图2 复合保鲜剂对冻藏虾夷扇贝总挥发性氨基氮的影响

Fig.2 Changes in total volatile base nitrogen (TVB-N) level in the scallop treated with composite biological preservatives during storage

2.3 细菌总数的变化

从图3可见: 无论是否加入保鲜剂, 试验过程中两组样品中的细菌总数较试验开始时均无显著性变化 ($P > 0.05$); 在相同贮藏时间下, 保鲜组的细菌总数较对照组均无显著性变化 ($P > 0.05$)。

2.4 pH 的变化

在贝类等水产品中, 其 pH 随着鲜度的下降而

出现持续降低的现象^[12]。从图4可见: 无论是否加入保鲜剂, 试验过程中两组样品的 pH 与试验开始时相比均无显著性变化 ($P > 0.05$); 在相同贮藏时间下, 保鲜组的 pH 与对照组相比无显著性变化 ($P > 0.05$)。

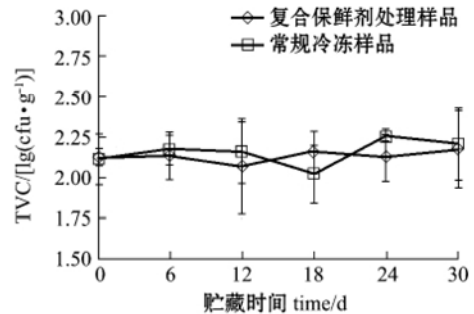


图3 复合保鲜剂对冻藏虾夷扇贝细菌总数变化的影响
Fig.3 Changes in total bacterial count (TVC) in scallop treated with composite biological preservatives during storage

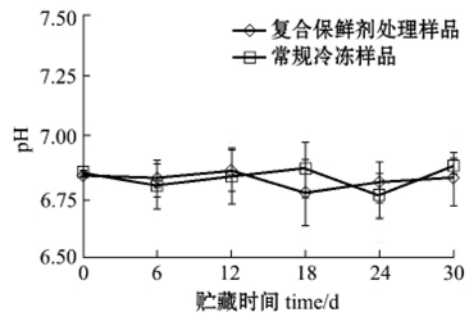


图4 复合保鲜剂对冻藏虾夷扇贝 pH 变化的影响
Fig.4 Changes in pH of the scallop treated with composite biological preservatives during storage

2.5 质构的变化

从图5可见: 加入保鲜剂后的样品, 硬度从第12天起比试验开始时显著降低 ($P < 0.05$); 而未加入保鲜剂的样品, 从第6天起较试验开始时显著降低 ($P < 0.05$)。t 检验结果表明, 在相同贮藏时间下, 保鲜组硬度仅在第18、24天时显著高于对照组 ($P < 0.05$)。由此表明, 复合保鲜剂缩短了肌肉的分解过程^[13]。

从图6可见: 加入保鲜剂后的样品, 试验过程中其弹性较试验开始时均无显著性差异 ($P > 0.05$); 而未加入保鲜剂的样品, 弹性从第24天起较试验开始时显著降低 ($P < 0.05$)。t 检验结果表明, 在相同贮藏时间下, 保鲜组的弹性与对照组相比无显著性差异 ($P > 0.05$)。

从图7可见: 无论是否加入保鲜剂, 样品的内聚性从第18天起较试验开始时显著升高 ($P < 0.05$)。t 检验结果表明, 保鲜组的内聚性与对照

组相比无显著性差异 ($P > 0.05$)。这表明, 复合保鲜剂抑制了使细胞间作用力减少的因素^[14]。

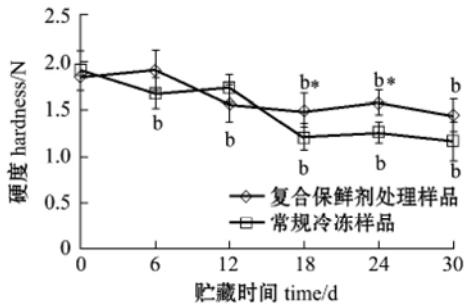


图 5 复合保鲜剂对冻藏虾夷扇贝硬度变化的影响

Fig. 5 Changes in hardness of the scallop treated with composite biological preservatives during storage

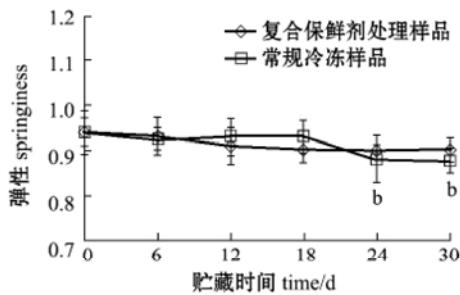


图 6 复合保鲜剂对冻藏虾夷扇贝弹性变化的影响

Fig. 6 Changes in springiness of the scallop treated with composite biological preservatives during storage

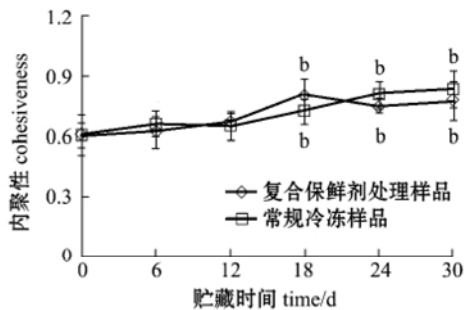


图 7 复合保鲜剂对冻藏虾夷扇贝内聚性变化的影响

Fig. 7 Changes in cohesiveness of the scallop treated with composite biological preservatives during storage

耐咀嚼性是硬度、内聚性和弹性综合作用的结果^[14]。从图 8 可见, 使用复合保鲜剂的虾夷扇贝在冷冻贮藏过程中耐咀嚼性明显高于对照组。多重比较结果表明: 加入保鲜剂的样品, 整个试验过程中耐咀嚼性较试验开始时无显著性差异 ($P > 0.05$); 而未加入保鲜剂的样品, 耐咀嚼性从第 18 起较试验开始时显著降低 ($P < 0.05$)。t 检验结果表明, 保鲜组的耐咀嚼性仅在第 18、24 天时较对照组显著提高 ($P < 0.05$), 其他时间均无显著性差异 ($P > 0.05$)。

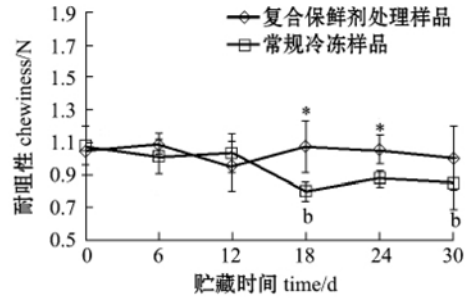


图 8 复合保鲜剂对冻藏虾夷扇贝耐咀嚼性变化的影响

Fig. 8 Changes in chewiness of the scallop treated with composite biological preservatives during storage

2.6 SH 基含量的变化

蛋白质的 SH 基分为在分子表面和分子内部的 SH 基。采用缓冲液 1 (将 10.4 g Tris, 6.9 g 甘氨酸, 1.2 g $\text{Na}_2 \cdot \text{EDTA}$ 溶于 800 mL 蒸馏水中, 调 pH 为 8.0, 定容至 1 L) 测定的是分子表面的 SH 基, 而采用加入变性剂尿素的缓冲液 2 (将 10.4 g Tris, 6.9 g 甘氨酸, 1.2 g $\text{Na}_2 \cdot \text{EDTA}$, 480 g 尿素, 溶于 800 mL 蒸馏水中, 调 pH 为 8.0, 定容至 1 L) 测定的是分子表面和分子内部 SH 基的总和。蛋白质发生变性时在其分子内部的 SH 基会暴露出来。从表 2 可见, 冻藏 30 d 时, 虾夷扇贝各样品中的 SH 基总量变化不大, 但使用复合保鲜剂的冷冻扇贝及常规冷冻扇贝表面 SH 基含量均显著高于新鲜扇贝 ($P < 0.05$)。由此表明, 虾夷扇贝冷冻样品的蛋白质构象发生了变化。

表 2 冷冻贮藏 30 d 时扇贝 SH 基的变化

Tab. 2 Change in SH in the scallop during frozen storage for 30 d

样品 sample	表面 SH 平均值 surface SH protein	SH 总量平均值 total SH protein
新鲜扇贝	230.50 ± 5.33 ^a	242.82 ± 7.05 ^a
保鲜冷冻扇贝	210.56 ± 4.85 ^b	243.47 ± 6.91 ^a
常规冷冻扇贝	197.56 ± 8.76 ^b	230.81 ± 8.50 ^a

注: 同列中标有不同小写字母者表示组间有显著性差异 ($P < 0.05$), 标有相同小写字母者表示组间无显著性差异 ($P > 0.05$)

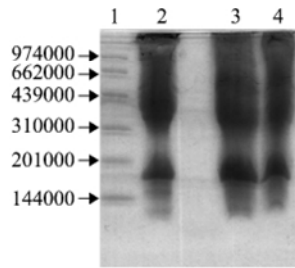
Note: The means with different letters within the same column are significant differences at the 0.05 probability level, and the means with the same letters within the same column are not significant differences

2.7 可溶性蛋白的变化

电泳结果表明, 冻藏 30 d 时, 各个样品的可溶性蛋白成分无明显变化 (图 9)。

3 结论

使用复合保鲜剂的虾夷扇贝和对照组在冷冻贮藏



注: 1 为标准蛋白; 2 为新鲜扇贝; 3 为保鲜冷冻扇贝; 4 为常规冷冻扇贝

Note: 1, Marker; 2, fresh scallop; 3, frozen scallop treated with the biological preservative; 4, frozen scallop untreated with the biological preservative (conventionally frozen scallop)

图9 SDS-PAGE 电泳

Fig. 9 The SDS-PAGE electrophoresis

藏过程中的品质变化比较明显。随着冷冻贮藏时间的延长, 两者的感官评分、硬度、弹性、内聚性、耐咀嚼性都在下降, 但使用复合保鲜剂的虾夷扇贝在各种指标上明显高于对照组, 因此, 使用复合保鲜剂的虾夷扇贝质构变化在冷冻冷藏过程中明显优于对照组。保鲜组与对照组的总挥发性氨基氮及细菌总数都在上升, 但使用复合保鲜剂的虾夷扇贝明显低于对照组。保鲜组与对照组的 pH、SH 基含量、可溶性蛋白质改变不大。因此可以确定, 由抗冻蛋白和甲壳素组成的复合生物保鲜剂, 对冷藏虾夷扇贝具有较好的保鲜作用。

参考文献:

[1] 张倩, 张国琛, 母刚, 等. 微波真空干燥对虾夷扇贝闭壳肌营养

成分的影响 [J]. 大连海洋大学学报, 2013, 28 (6): 604-609.

- [2] 赵鹏, 丁君, 常亚青. 两种壳色虾夷扇贝壳体尺寸性状对活体重影响效果的分析 [J]. 大连海洋大学学报, 2011, 26 (1): 1-5.
- [3] 张璐, 侯红漫, 陈莉. 复合天然保鲜剂对多宝鱼保鲜效果的研究 [J]. 食品工业科技, 2010, 31 (11): 332-334.
- [4] 杨峰, 迟海, 杨宪时, 等. 复配保鲜剂对南极磷虾保鲜及品质的影响 [J]. 食品与发酵工业, 2012, 38 (7): 190-195.
- [5] 王庆丽, 励建荣, 朱军莉, 等. 壳聚糖和植酸复合生物保鲜剂对冷藏鱼丸品质的影响 [J]. 食品与生物技术学报, 2012, 31 (12): 1239-1244.
- [6] 王超, 张灏, 陈明伟, 等. 不同保鲜剂对马粪海胆贮藏品质的影响 [J]. 食品工业科技, 2012, 33 (5): 348-351.
- [7] 张国琛, 张倩, 齐妍, 等. 变功率微波真空间歇干燥扇贝柱的研究 [J]. 大连海洋大学学报, 2012, 27 (4): 350-354.
- [8] 上海市食品卫生监督检验所. GB/T 5009. 44-2003. 肉与肉制品卫生标准的分析方法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [9] 中华人民共和国卫生部. GB 4789. 2-2010. 食品安全国家标准 食品微生物学检验: 菌落总数测定 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [10] Ellman G L. Tissue sulfhydryl groups [J]. Arch Biochem Biophys, 1959, 82 (1): 70-77.
- [11] 欧仕益, 郭前初, 包惠燕, 等. 豆奶蛋白质中巯基含量的测定 [J]. 中国食品学报, 2003, 3 (2): 59-62.
- [12] 陈佳荣, 王以农. 若干水产品变化鲜度的研究 [J]. 福建水产, 1993 (4): 39-44.
- [13] Pomrat S, Sumate T, Rommanee S, et al. Changes in the ultrastructure and texture of prawn muscle (*Macrobrachium rosenbergii*) during cold storage [J]. LWT - food Science & Technology, 2007, 40 (10): 1747-1754.
- [14] 李里特. 食品物性学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.

Effects of composite biological preservatives with antifreeze proteins (AFPs) and chitin on preservation of yesso scallop *Patinopecten yessoensis*

TONG Chang-qing¹, MA Hui-hui¹, LI Fu-ling², ZHANG Lin-xin², TIAN Si-jin², LI Wei¹

(1. College of Food Science and Engineering, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China; 2. Dalian Boyuan Technology Co. Ltd., Dalian 116020, China)

Abstract: The effects of composite biological preservative containing 10% NaCl, 3% ethanol, 2% chitin, 5% glycerol, 3% sucrose and 10% antifreeze proteins (AFPs) on storage quality of yesso scallop, *Patinopecten yessoensis*, were investigated by sensory evaluation, total volatile base nitrogen (TVB-N), total bacterial count (TVC), pH, hardness, springiness, cohesiveness, chewiness, SH-count and soluble proteins during storage in $(-20 \pm 2)^\circ\text{C}$. Results showed that the biological preservative led to inhibit effectively increase in TVB-N level and decline of sensory evaluation and hardness, but almost did not affect the change in TVC, pH, springiness, cohesiveness, chewiness, SH-count and soluble protein level. It is concluded that the storage quality is improved and shelf life is prolonged in the scallop treated with the biological preservative.

Key words: *Patinopecten yessoensis*; antifreeze proteins (AFPs); composite preservative