

doi:10.3969/j.issn.2095-6002.2017.02.005

文章编号:2095-6002(2017)02-0027-09

引用格式:姚洁玉,杨水兵,余海霞,等.液氮超低温冻结对梭子蟹品质的影响[J].食品科学技术学报,2017,35(2):27-35.

YAO Jieyu, YANG Shuibing, YU Haixia, et al. Effect of liquid nitrogen cryogenic freezing on quality of swimming crab (*Portunus trituberculatus*) [J]. Journal of Food Science and Technology, 2017, 35(2): 27-35.

## 液氮超低温冻结对梭子蟹品质的影响

姚洁玉<sup>1,2</sup>, 杨水兵<sup>2</sup>, 余海霞<sup>2</sup>, 江杨阳<sup>1,2</sup>, 邵颖<sup>1</sup>, 胡亚芹<sup>1,2,\*</sup>

(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 316021)

**摘要:**用液氮超低温冻结技术,采用2 min降温至-90℃、5 min降温至-90℃、2 min降温至-70℃三种不同降温速率,将三疣梭子蟹分别冻结至中心温度-25、-35、-45、-55℃;后贮藏在-20、-35、-40℃的条件下,以硫代巴比妥酸(TBA)值、挥发性盐基氮(TVB-N)值、总巯基含量、盐溶性蛋白含量等为指标,比较不同处理对梭子蟹蟹肉的品质影响,为研究液氮超低温冻结技术及梭子蟹最佳品质保持技术提供理论支持。结果表明:随着中心温度的降低和冻结速率的加快,总巯基含量和盐溶性蛋白含量降低趋势均减缓,TBA值和TVB-N值均逐渐降低,中心温度冻结至-25℃的样品的TVB-N值为15.85mg/100g,而冻结至-55℃的样品仅12.99mg/100g;-35℃贮藏条件下样品的TVB-N值和TBA值都比-20℃和-40℃贮藏的样品低。研究可知,2 min柜内降温至-90℃,中心温度-55℃,-35℃冷库贮藏,比较有利于梭子蟹液氮冻结贮藏。

**关键词:**梭子蟹;液氮超低温冻结;降温速率;贮藏温度;中心温度**中图分类号:**TS205;TS254.4**文献标志码:**A

梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)肉肥细嫩、味道鲜美,蛋白质含量极高,必需脂肪酸和维生素A、D含量极为丰富<sup>[1]</sup>,为国人所喜爱,也是我国出口创汇的主要水产品之一。梭子蟹被中国视为重要的水产资源,但是因为其肌肉中富含蛋白质、脂肪及多种矿物质,死亡后极易腐败变质,蟹肉还会发生肌肉“糊化”现象。为了减轻梭子蟹的品质劣化,抑制肌纤维的糊化,通常采用低温冻藏方法。有研究通过监控蟹肉脂肪氧化程度与肌原纤维蛋白的变化情况,探究维持蟹肉品质最佳的冷冻方法,研究显示与平板速冻和冰柜冻结相比,液氮速冻更利于维持蟹肉的品质<sup>[2]</sup>。

液氮超低温冻结方式主要采用液氮降低梭子蟹的中心温度,并将其贮藏在-18℃以下的环境中,抑制微生物和酶的作用,以达到梭子蟹的保鲜目的。王阳光等<sup>[3]</sup>在研究速冻方式对梭子蟹贮藏

理化指标和品质的影响中发现,液氮喷淋冻结方式能较好地保持梭子蟹肉的品质,一定程度上降低蛋白质变性速度,保持其肉质的口感和风味。近年来,关于不同冻结方式对水产品肌肉品质影响的研究越来越受到人们的关注,夏杏洲等<sup>[4]</sup>就不同冻结方式对军曹鱼片品质、质构、感官的影响进行研究,表明不同冻结方式对军曹鱼生、熟鱼片的感官品质产生显著影响,冻结速率的提高有利于提高其品质。杨金生等<sup>[5]</sup>在进行梭子蟹TPA质构分析及不同冻藏温度对其品质影响的研究发现,温度越低越能保持梭子蟹背部肌肉品质,尤其是在-80℃的超低温保藏条件下,其硬度与新鲜样最为接近,其感官评分与质构变化一致。本文以盐溶性蛋白、挥发性盐基氮(total volatile base nitrogen, TVB-N)含量、硫代巴比妥酸(thiobarbituric acid, TBA)含量、巯基含量等为指标,研究优化液

收稿日期:2017-03-02

基金项目:舟山市科技专项计划项目(2014C11004;2014C11022);浙江省公益项目(2015C32107)。

作者简介:姚洁玉,女,硕士研究生,研究方向为水产品加工;

\*胡亚芹,女,教授,博士,主要从事水产品加工与贮藏方面的研究,通信作者。

氮速冻条件,特别是中心温度、降温速率、贮藏温度等因素对梭子蟹肌肉品质的影响,为梭子蟹冷冻品质保持提供技术支撑,以促进液氮深度快速冻结技术的发展。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

新鲜舟山三疣梭子蟹,购于浙江省舟山国际水产城舟渔鲜活码头,8月捕获期捕捞,均重400g左右,选取个体完整肥大、颜色鲜活饱满、螯足大的梭子蟹。流水清洗梭子蟹外壳表面,30min内用冰盒运回实验室后进行不同处理。

### 1.2 主要仪器设备

AR124CN型电子分析天平,美国Ohaus公司;DK-S24型恒温水浴锅,上海森信有限公司;98-1B型电子恒温电热套,上海光正医疗仪器有限公司;IKA-RH-basical型磁力搅拌器,德国IKA有限公司;UV-1800PC型紫外可见分光光度计,上海美普达有限公司;XBLL-23A型绞肉机,上海帅佳电子科技有限公司;EF20K型pH计,上海梅特勒托利多仪器有限公司;TGL-16G型高速台式离心机,上海安亭科学仪器厂;液氮深冷速冻机,浙江大学舟山海洋研究中心自备。

### 1.3 样品处理

梭子蟹样品冲洗沥水后放入液氮喷淋装置内,控制各参数,使液氮装置内降温设置为2min柜内温度降至 $-90^{\circ}\text{C}$ ,梭子蟹20min内中心温度分别降到 $-25^{\circ}\text{C}$ , $-35^{\circ}\text{C}$ , $-45^{\circ}\text{C}$ , $-55^{\circ}\text{C}$ ,处理后分别标记1,2,3,4,分装封口,贮藏在 $-20^{\circ}\text{C}$ 冰柜中;梭子蟹样品冲洗沥水后放入液氮喷淋装置内,控制各参数,使液氮装置内降温设置分别为5min柜内温度降至 $-90^{\circ}\text{C}$ ,2min柜内温度降至 $-70^{\circ}\text{C}$ ,2min柜内温度降至 $-90^{\circ}\text{C}$ ,梭子蟹20min内中心温度降到 $-55^{\circ}\text{C}$ ,处理后分别标记为5,6,8,分装封口,贮藏在 $-35^{\circ}\text{C}$ 冷库中;梭子蟹样品冲洗沥水后放入液氮喷淋装置内,控制各参数,使液氮装置内降温设置为2min柜内温度降至 $-90^{\circ}\text{C}$ ,梭子蟹20min内中心温度降到 $-55^{\circ}\text{C}$ ,处理后标记为7,封口,贮藏在 $-40^{\circ}\text{C}$ 冰箱中;样品处理方式见表1。

### 1.4 理化指标测定

#### 1.4.1 挥发性盐基氮的测定

参照GB/T 5009.44—2003《肉与肉制品卫生标准的分析方法》中的方法测定并计算TVB-N的值。

表1 样品处理方式

Tab. 1 Sample handling methods			$^{\circ}\text{C}$
样品编号	液氮装置内降温设置	梭子蟹中心温度	贮藏温度
1	2 min 内降温至 $-90^{\circ}\text{C}$	$-25$	$-20$
2	2 min 内降温至 $-90^{\circ}\text{C}$	$-35$	$-20$
3	2 min 内降温至 $-90^{\circ}\text{C}$	$-45$	$-20$
4	2 min 内降温至 $-90^{\circ}\text{C}$	$-55$	$-20$
5	5 min 内降温至 $-90^{\circ}\text{C}$	$-55$	$-35$
6	2 min 内降温至 $-70^{\circ}\text{C}$	$-55$	$-35$
7	2 min 内降温至 $-90^{\circ}\text{C}$	$-55$	$-40$
8	2 min 内降温至 $-90^{\circ}\text{C}$	$-55$	$-35$

#### 1.4.2 盐溶性蛋白含量的测定

称取2份绞碎的梭子蟹肉,每份2.00g,分别放入2支50mL的离心管中,1支加入20mL高离子磷酸缓冲溶液(0.5 mol/L KCl, 0.01 mol/L  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 0.03 mol/L  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ),另1支加入20mL低离子磷酸缓冲液(0.025 mol/L  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0.025 mol/L  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ),震荡摇匀后静置,前者3h,后者1h。在4000 r/min下离心10min,取上清液,加入10mL 15%三氯乙酸,静置后加入20mL 1 mol/L的NaOH溶液,分别以高、低磷酸盐缓冲液定容到50mL,最后用双缩脲试剂测定蛋白质含量。盐溶性蛋白含量为高盐溶液中蛋白质的含量减去低盐溶液中蛋白质的含量。

#### 1.4.3 肌原纤维的提取

称取绞碎的梭子蟹肉2.00g,加入20mL已预冷的高离子盐溶液(0.1 mol/L KCl, 0.01 mol/L  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 0.04 mol/L  $\text{NaHCO}_3$ ),震荡摇匀后加入20mL冰水稀释,在4000 r/min下离心10min,倒出上清液,取出沉淀物,沉淀物继续离心<sup>[6]</sup>。重复上述步骤3次,得到肌原纤维沉淀物,定容到100mL容量瓶中,得到的肌原纤维悬浊液用来测定总巯基含量。

#### 1.4.4 总巯基含量的测定

量取1.4.3中提取出来的肌原纤维蛋白悬浊液1mL,加入9mL 0.2 mmol/L的Tris-HCl溶液(10 mmol/L EDTA, 2% SDS, 8 mol/L 尿素, 0.6 mol/L KCl, pH值6.8),加入1mL 0.1% 5,5'-二硫代双(2-硝基)苯甲酸(DTNB)<sup>[7]</sup>。混合均匀后在 $40^{\circ}\text{C}$ 下水浴25min,在波长412nm处测定溶液的吸光度,空白对照用0.6 mol/L的KCl溶液。每个样品重复测定3次后取平均值,按照式(1)计算巯基含量。

巯基质量摩尔浓度 =  $(A \times n) / (\varepsilon \times \rho)$ , (1)

式(1)中: $A$ 为412 nm波长处的吸光度值; $n$ 为稀释倍数; $\varepsilon$ 为摩尔吸光系数13 600, L/(mol·cm); $\rho$ 为蛋白质质量浓度, mg/mL。

#### 1.4.5 硫代巴比妥酸的测定

称取10.00 g已经研细了的梭子蟹样品,加入50 mL 7.5%的含有0.1% EDTA三氯乙酸,振摇30 min后用双层滤纸过滤2次<sup>[8]</sup>。取5 mL滤液,加入5 mL 0.02 mol/L TBA溶液,沸水浴40 min后取出冷却1 h,在1 500 r/min下离心25 min,取上清液,加入5 mL氯仿,震荡摇匀静置后,取上清液分别在532 nm和600 nm波长处测定吸光度,并按照式(2)计算TBA值。

$$\text{TBA}(\text{mg}/100 \text{ g}) =$$

$$(A_{532} - A_{600}) / 155 \times m \times 72.6 \times 0.05 \times 100, (2)$$

式(2)中: $m$ 为梭子蟹样品的质量。

#### 1.4.6 pH值的测定

称取绞碎的梭子蟹背部肌肉10.00 g于烧杯中,加入煮沸后已冷却的蒸馏水100 mL,震荡摇匀,静置30 min,将已经标定了的pH计电极插入烧杯中,等读数稳定后记录读数,每个样品重复测定3次,取平均值<sup>[9]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 中心温度对梭子蟹品质的影响

#### 2.1.1 中心温度对梭子蟹TVB-N值的影响

TVB-N值是评价水产品腐败变质的指标之一,它和鲜度之间有着很高相关性<sup>[10]</sup>。通常认为,当TVB-N值为0.20~0.66 mg/kg时,肉品质优良;当TVB-N值超过1.00 mg/kg时,肉已经变质,不能再食用。因此,TVB-N值被广泛用作判断水产品腐败程度的指标,它反映了水产品因内源性酶和微生物分解蛋白质与非蛋白质而产生的具有挥发性的氨、二甲胺和三甲胺等的情况<sup>[11]</sup>。TVB-N是评价水产品鲜度常用的方法,TVB-N含量愈低表明新鲜度愈高。不同中心温度梭子蟹TVB-N值的变化见图1。

由图1可知,随着贮藏时间的延长,4组梭子蟹的TVB-N值都呈上升趋势。在0~3 d内,第1组TVB-N值上升的速度明显高于其他3组;在整个贮藏过程中,第3组的TVB-N值上升较慢,第1组、第2组的TVB-N值在贮藏前期上升较快,后期变缓,第4组的TVB-N值一直处于均匀上升的状态;最终第2组的TVB-N值与第3组、第4组接近,且贮藏60d后TVB-N值均小于16 mg/100 g,未超过海产品

二级鲜度指标。由此可见,液氮冻结的梭子蟹品质整体较好。第3组和第4组可能是由于液氮冻梭子蟹中心温度较低,达到-45℃左右,微生物生长繁殖减弱,酶的活性较低,蟹肉组织结构未受破坏,品质保持较好,因而TVB-N值增长较慢。

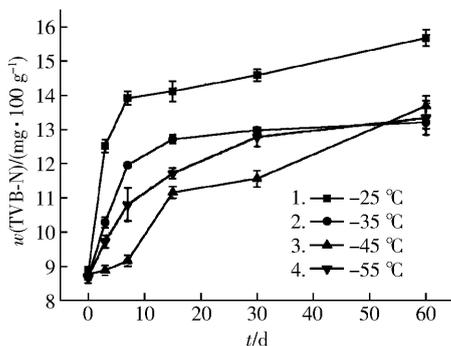


图1 不同中心温度梭子蟹TVB-N值的变化

Fig. 1 Change of TVB-N value in swimming crab with different central temperatures

#### 2.1.2 中心温度对梭子蟹盐溶蛋白含量的影响

盐溶性蛋白(salt soluble protein, SSP or EPN)的含量表示的是鱼肉蛋白质中肌球蛋白的盐溶解性,它反映肌动球蛋白杆部性质的变化。肌动球蛋白是构成肌原纤维蛋白的主要成分,EPN的含量可以反映肌原纤维蛋白的变性程度<sup>[12]</sup>。蛋白质变性后,肌原纤维蛋白溶解度降低,EPN减少(见图2)。

由图2可知,随着贮藏时间的延长,4组梭子蟹盐溶蛋白质量比均呈下降趋势,在贮藏前期,4组梭子蟹盐溶蛋白质量比下降速度较快,贮藏15 d后下降速度变慢。在整个贮藏期间,第4组盐溶蛋白质量比下降速度最慢,当贮藏天数达到60 d时,第4组的盐溶性蛋白质量比高于其他3组。由此可见,冻结中心温度的降低,能够抑制肌原纤维蛋白溶解,保持产品品质,当冻结中心温度至-55~-45℃时,梭子蟹品质较好。

#### 2.1.3 中心温度对梭子蟹总巯基含量的影响

巯基是肌原纤维蛋白中活性最强的功能基团,肌原纤维蛋白中的活性巯基容易被氧化,生成二硫键。在贮藏过程中,蛋白质变性后结构会发生改变,埋藏在蛋白质内部的活性巯基可能暴露于蛋白表面,氧化形成二硫键,导致蛋白质的天然构象进一步改变,蛋白质的冷冻变性使总巯基含量减少,二硫键数目上升。二硫键的形成会影响蛋白质的一些功能特性,如持水性、乳化性和溶解性,影响水产品质量。巯基含量的变化反映了蛋白质的变性程度<sup>[13]</sup>。不同中心温度梭子蟹总巯基含量的变化见图3。

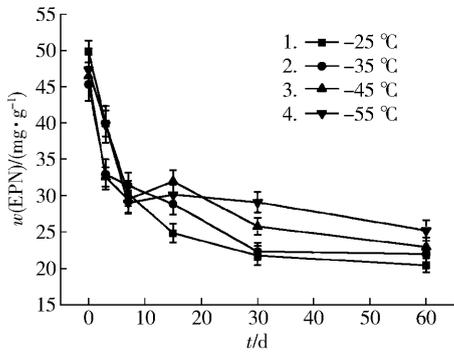


图2 不同中心温度梭子蟹盐溶蛋白质质量比的变化

Fig. 2 Change of salt soluble protein in swimming carab with different central temperatures

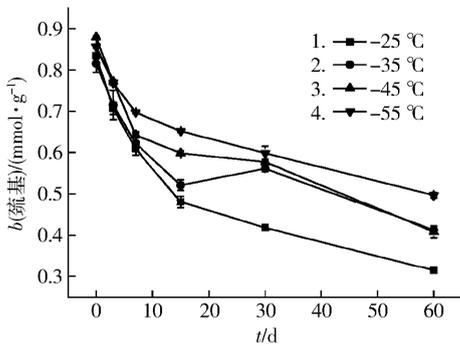


图3 不同中心温度梭子蟹总巯基质量摩尔浓度的变化

Fig. 3 Change of total sulfhydryl in swimming carab with different central temperatures

由图3可知,随着储藏时间的延长,总巯基质量摩尔浓度显著降低,且因为中心温度的不同呈现出显著的差异,贮藏60 d后,第1组、第2组总巯基质量摩尔浓度最低。可能是由于相对较高中心温度产生了更大的冰晶,加深了梭子蟹肌肉细胞的机械损伤程度,使得肌原纤维蛋白更易变质。蛋白质空间结构发生改变,暴露出了分子内部的巯基,巯基被氧化成二硫键而导致其质量摩尔浓度降低<sup>[14]</sup>。由此可见,中心温度达到 $-45 \sim -55 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,能极好保持产品品质。

#### 2.1.4 中心温度对梭子蟹 TBA 值的影响

TBA 值能反映脂肪氧化腐败程度,是判断脂肪氧化的重要指标<sup>[15]</sup>。脂肪氧化和水解产生的酮类与醛类物质是引起梭子蟹品质劣变的重要原因之一。梭子蟹是一种高蛋白高脂肪的水产品,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丙二醛(MAD)。不同中心温度下梭子蟹 TBA 值的变化见图4。

由图4可知,随着贮藏时间的延长,4组梭子蟹的 TBA 值都呈上升趋势。贮藏7 d时,第2组、第3

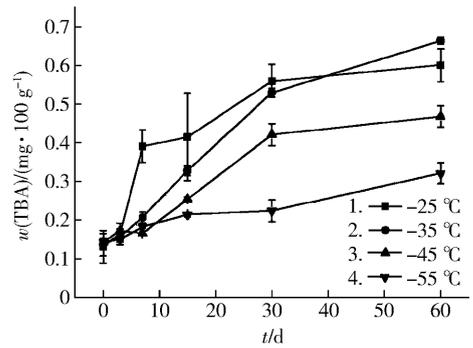


图4 不同中心温度下梭子蟹 TBA 值的变化

Fig. 4 Change of TBA value in swimming carab with different central temperatures

组、第4组的 TBA 值上升缓慢,而第1组上升明显,第4组在整个贮藏过程中 TBA 值均较低,可能是在冻结过程中,由于梭子蟹中心温度较低,蟹肉内的自由水含量较少,减缓了脂肪氧化速度,从而 TBA 值较低。

#### 2.1.5 中心温度对梭子蟹 pH 值的影响

梭子蟹属于高蛋白食品,营养物质丰富,很适合微生物的生长,虽然在低温冻结过程中可以抑制大部分微生物的活动,但是仍有部分耐低温的微生物生长繁殖和酶解活动造成梭子蟹蛋白质的降解,进而产生胺类等碱性物质,使得 pH 值升高,见图5。

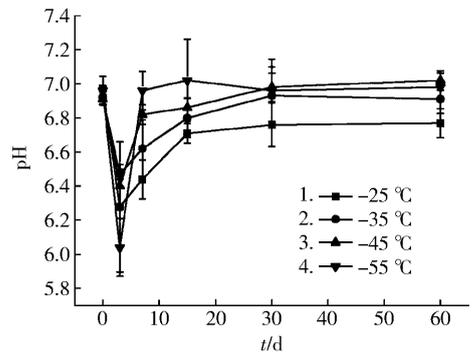


图5 不同中心温度梭子蟹 pH 值的变化

Fig. 5 Change of pH in swimming carab with different central temperatures

由图5可知,随着贮藏时间的延长,4组梭子蟹的 pH 值均呈现先下降后上升的趋势。这是因为在贮藏初期,肌肉中的糖原和 ATP 等物质分解产生了酸性物质,使得 pH 值下降,鲜度下降,而后随着贮藏时间的延长,在细菌的作用下蟹肉表面蛋白质分解,产生碱性物质,pH 值升高<sup>[16]</sup>。第4组 pH 值变化最明显,在贮藏初期,pH 值的降低与升高均大于其他组3组;在贮藏后期,4组 pH 值上升速率缓慢,数值接近。可见,中心温度对梭子蟹产品的 pH 值

影响不是非常明显。

## 2.2 降温速率对梭子蟹品质的影响

### 2.2.1 降温速率对梭子蟹 TVB-N 值的影响

不同降温速率梭子蟹 TVB-N 值的变化见图 6。可知,随着贮藏时间的延长,3 组梭子蟹的 TVB-N 值都呈上升趋势。第 5 组 TVB-N 值在贮藏初期上升的速率较快,明显高于其他 2 组,第 6 组、第 8 组的 TVB-N 值上升较慢,可能由于这两组的液氮速冻温度较低,对蟹肉肌肉结构影响小,其组织结构未受破坏,受微生物和酶作用也较小,因而 TVB-N 的值的生长较慢。贮藏时间达到 60 d 后,第 8 组的 TVB-N 值明显低于另外 2 组,且 3 组的 TVB-N 值均小于 18 mg/100 g,未超过海产品二级鲜度指标。由此可知,液氮冻结的梭子蟹品质整体较好。

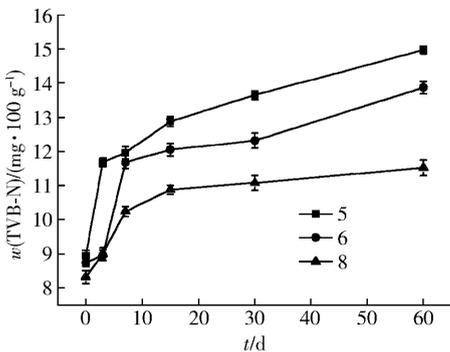


图 6 不同降温速率梭子蟹 TVB-N 值的变化

Fig. 6 Change of TVB-N value in swimming crab by different cooling rates

### 2.2.2 降温速率对梭子蟹盐溶蛋白含量的影响

随着贮藏时间的延长,3 组梭子蟹盐溶蛋白质量比均呈现下降的趋势(见图 7)。可能是因为冰晶的形成导致了蛋白质结合水的流失,使蛋白质形成交联而导致蛋白质变性。在贮藏前期,3 组梭子蟹盐溶蛋白质量比迅速下降,第 5 组和第 6 组变化相对较一致,贮藏 14 d 后下降速度变慢。在整个贮藏期间,第 8 组盐溶蛋白质量比下降速度比第 5 组和第 6 组都慢,可能是由于其降温速率较快,冻结过程中形成的冰晶体较小,对梭子蟹肌原纤维的挤压程度较小,从而蟹肉蛋白的集结成束程度降低,变性程度降低。这与汪之和等<sup>[17]</sup>关于冻结速度对鲢鱼背部肌肉盐溶性蛋白的影响的研究结果一致,即在  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  慢冻中,盐溶性蛋白溶解度下降的幅度比  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  速冻增加了 5.1%。

冻结过程中肌肉蛋白质的变性是由于结合水和自由水结冰导致蛋白质的结构被挤压扭曲发生变化而产生的。同时结冰导致水分的流失,细胞内的盐

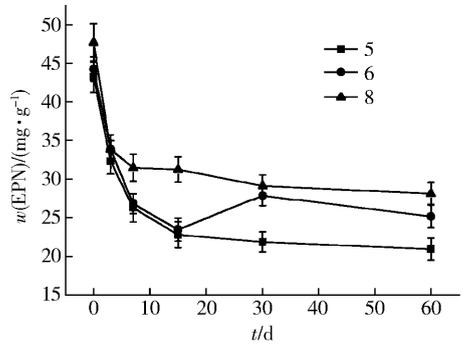


图 7 不同降温速率下梭子蟹盐溶蛋白质量比的变化

Fig. 7 Change of salt soluble protein in swimming crab by different cooling rates

分被浓缩,离子强度增加,蛋白质更易变性<sup>[18]</sup>。肌肉蛋白质的变性程度与最终温度和冻结速度 2 个条件有关,一般来说,冻结速度越快,蛋白质变性程度越小,但与冻结温度的关系随着溶液状态的不同发生变化<sup>[19]</sup>。俞裕明等<sup>[20]</sup>关于不同的冻结速率对南方鲇鱼的理化和感官品质的影响的研究结果显示,在一定范围内,速冻比慢冻能够减少鲇鱼蛋白质的变性,当冻结速率超过某一值时,冻结速率对鱼肉蛋白变性的影响减弱。

### 2.2.3 降温速率对梭子蟹总巯基含量的影响

随着时间的延长,总巯基含量呈现下降趋势(见图 8)。贮藏前期,3 组总巯基质量摩尔浓度都快速下降,贮藏 7 d 之后,第 6 组、第 8 组下降趋势减缓,第 5 组继续快速下降,可能是因为冷冻过程中较慢的降温速率使胞外形成大冰晶,挤压细胞内的肌原纤维蛋白使之集结成束、形成交联,从而变性。蛋白质空间结构发生改变,分子内部的巯基暴露出来,氧化成二硫键导致总巯基质量摩尔浓度降低。在贮藏过程中,第 8 组的总巯基质量摩尔浓度下降最慢,贮藏 60 d 后,第 8 组的总巯基质量摩尔浓度

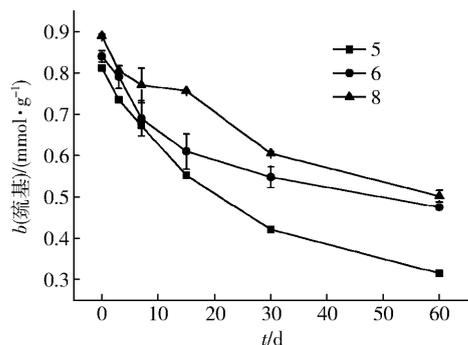


图 8 不同降温速率梭子蟹总巯基质量摩尔浓度的变化

Fig. 8 Change of total sulfhydryl in swimming crab by different cooling rates

最高。由此可见,较快的冻结速率对梭子蟹的品质更有利。

#### 2.2.4 降温速率对梭子蟹 TBA 值的影响

随着贮藏时间的延长,第5组、第6组、第8组的梭子蟹 TBA 值都呈上升趋势(见图9)。贮藏后期这3组 TBA 值上升速度都很快,其中第6组上升最快,可能是由于其冻结中心温度较高,冻结速率较低,冻结过程中胞外形成大冰晶,对蟹肉肌肉组织的损伤更大;第8组在整个贮藏期间 TBA 值均较低,且后期增长相对缓慢,可能原因是在冻结过程中,由于梭子蟹降温速率较快,形成的冰晶较小,对蟹肉肌肉组织的损伤较小,冻藏使得梭子蟹肌肉内的自由水含量变少,减缓了脂肪氧化速度,从而 TBA 值较低。

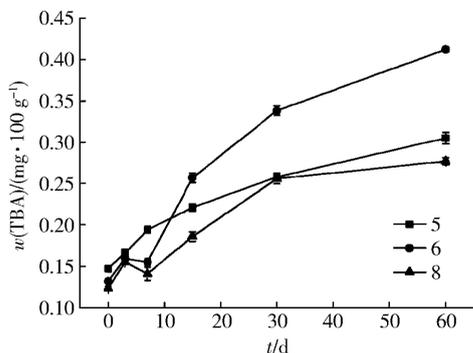


图9 不同降温速率梭子蟹 TBA 值的变化

Fig.9 Change of TBA value in swimming carab by different cooling rates

#### 2.2.5 降温速率对梭子蟹 pH 值的影响

3组 pH 值变化趋势相近(见图10)。随着贮藏时间的延长,3组梭子蟹的 pH 值均呈现先下降后上升的趋势。第5组在贮藏初期 pH 值的降低与升高均大于其他组,可能是由于第5组的降温速率较慢,所以贮藏前期 ATP 等物质分解产生酸性物质速率较快,之后蛋白质在细菌的作用下分解产生碱性物质的速率也更快。贮藏7 d之后,第8组的 pH 值变化趋势平缓。

### 2.3 贮藏温度对梭子蟹品质的影响

#### 2.3.1 贮藏温度对梭子蟹 TVB-N 值的影响

在整个贮藏期间,3组梭子蟹的 TVB-N 值都呈上升趋势(见图11)。第7组、第8组的 TVB-N 值上升较慢,第4组的 TVB-N 值上升速率明显高于其他2组;贮藏60 d后,TVB-N 值均小于 18 mg/100 g,未超过海产品二级鲜度指标。由此可见,液氮冻结的梭子蟹品质整体较好。

低温抑制了微生物的酶活性,使得微生物对蛋白质的分解作用减弱,产生的具有挥发性的氨和胺

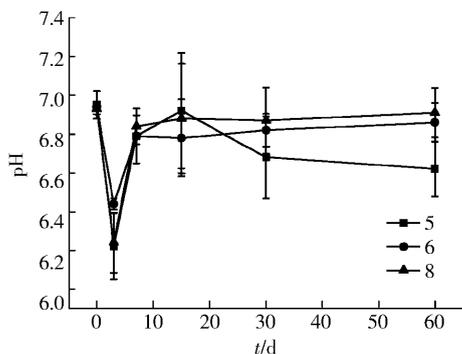


图10 不同降温速率梭子蟹 pH 值的变化

Fig.10 Change of pH in swimming carab by different cooling rates

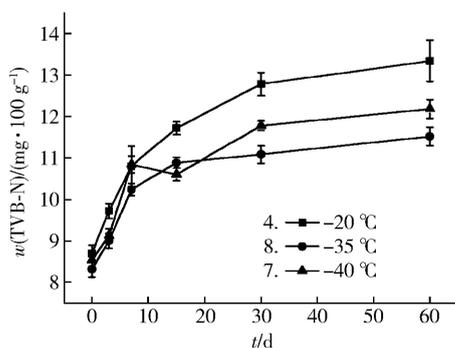


图11 不同贮藏温度下梭子蟹 TVB-N 值的变化

Fig.11 Change of TVB-N value in swimming carab by different storage temperatures

类物质较少。但是低温贮藏并不能完全抑制 TVB-N 的产生,随着时间的延长,肌肉发生自溶现象,细菌产生的蛋白酶会催化蛋白质水解,使得 TVB-N 含量增加。郑平安等<sup>[21]</sup>关于贮藏温度对鲑鱼品质影响的研究结果显示,在常温贮藏、4 °C 的低温贮藏、-20 °C 的超低温贮藏等条件下,鲑鱼的 TVB-N 含量和组胺含量都呈现明显的相关性。

在贮藏中后期,第8组的 TVB-N 值上升速率较第7组更慢更平缓,可能是因为这3组梭子蟹都经过了较快冻结速率的处理。冻结速率快,样品内外温差大,贮藏在过低的温度下,样品发生低温断裂造成了梭子蟹肉的组织损伤,使蛋白质更易变性,TVB-N 值上升速率更快。

#### 2.3.2 贮藏温度对梭子蟹盐溶蛋白含量的影响

贮藏期间,3组梭子蟹盐溶蛋白含量均呈现下降的趋势(见图12)。在贮藏前期,3组梭子蟹盐溶蛋白质量比均迅速下降,贮藏14 d后下降速度变慢。贮藏30 d后,第7组和第8组的盐溶性蛋白质量比趋于稳定。在整个贮藏期间,第8组的盐溶蛋白质量比下降速度最慢,且贮藏60 d后盐

溶性蛋白质量比最高。由此可见,较低的温度贮藏有利于梭子蟹的保存,较低的温度抑制了肌原纤维蛋白的变性,从而防止盐溶性蛋白含量的改变。当贮藏时间达到60 d时,第8组的盐溶性蛋白质量比高于第7组,可能是因为第7组的贮藏温度过低,而4,7,8三组又经过较快的冻结速率处理,对梭子蟹肌肉组织结构造成了机械损伤,导致裂壳等现象的发生,反而导致其细胞损伤而造成蛋白质变性,这也与TVB-N的变化情况相一致。Jiang等<sup>[22]</sup>的研究显示,ATP的降解产物ADP、AMP、IMP对鱼肉的蛋白质有保护作用,使鱼肉的盐溶性蛋白含量下降变慢,而HxR和Hx则会促进鱼肉盐溶性蛋白含量的下降。

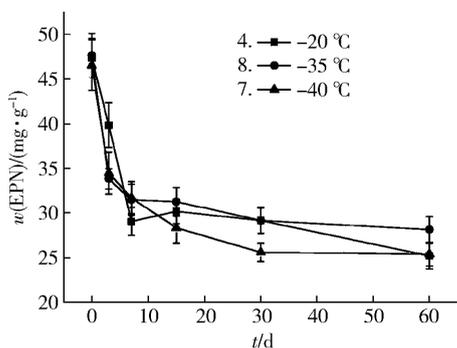


图12 不同贮藏温度下梭子蟹盐溶蛋白质量比的变化

Fig. 12 Change of salt soluble protein in swimming carab by different storage temperatures

### 2.3.3 贮藏温度对梭子蟹总巯基含量的影响

随着时间的延长,总巯基含量呈现下降的趋势(见图13)。贮藏初期,3组总巯基质量摩尔浓度的下降趋势较接近,贮藏到第3~15天,第8组的下降趋势更趋于平缓,贮藏15 d后,第4组、第8组总巯基质量摩尔浓度的下降趋势较第7组快。由此可见,贮藏温度是影响巯基质量摩尔浓度的重要因素之一。巯基是肌原纤维蛋白中活性最强的部位,冷冻过程会使巯基暴露出来,温度高则巯基氧化速率快。尹磊等<sup>[23]</sup>对小黄鱼在不同贮藏温度下的品质变化的研究显示,巯基含量的变化与肌球蛋白含量的变化具有一定相关性,而这可能与巯基具有稳定的空间结构有关。

### 2.3.4 贮藏温度对梭子蟹TBA值的影响

贮藏期间,3组梭子蟹的TBA值都呈上升趋势(见图14)。第4组的TBA值上升速度明显比第7组、第8组快。贮藏30 d后,第8组的TBA值上升速度较平缓,贮藏60 d后,第8组的TBA值最低。由此可见,较低的贮藏温度可以抑制脂肪水解酶的

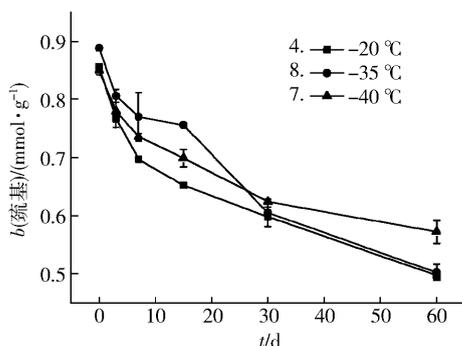


图13 不同贮藏温度下梭子蟹总巯基质量摩尔浓度的变化

Fig. 13 Change of total sulfhydryl in swimming carab by different storage temperatures

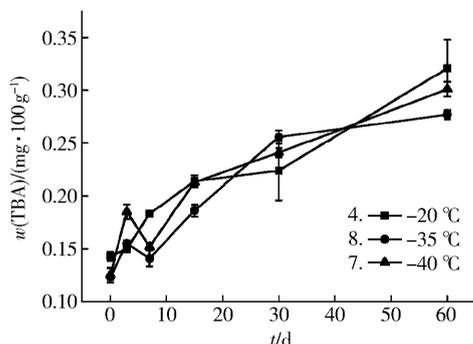


图14 不同贮藏温度下梭子蟹TBA值的变化

Fig. 14 Change of TBA value in swimming carab by different storage temperatures

活性,有利于梭子蟹品质的保持。

水产品的不饱和脂肪酸在贮藏过程中会发生自动氧化和脂酶水解等反应,低温能有效抑制脂质的氧化,但脂肪水解酶在低温下仍然具有活性,随着贮藏时间的延长,TBA值变大。此外,脂肪水解产生的羰基类化合物还有可能与蛋白质变性产生的低级物质发生羰氨反应,使梭子蟹肉产生难看的颜色。

### 2.3.5 贮藏温度对梭子蟹pH值的影响

3组不同贮藏温度处理的梭子蟹pH值变化趋势相一致(见图15)。第7组由于贮藏温度较低,肌肉中的糖原和ATP等物质分解较另外2组慢,所以在贮藏初期下降速度较另2组慢;第3天之后,由于耐低温微生物的生长繁殖和酶解活动,造成梭子蟹蛋白质的降解,产生胺类等碱性物质的速率也较慢,pH值回升缓慢。贮藏30 d之后,第4组、第8组的pH值均不再有太大变化,pH值维持在7左右。

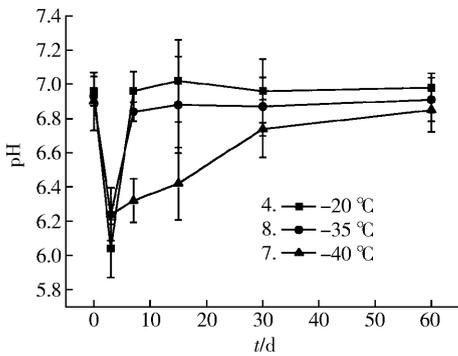


图 15 不同贮藏温度梭子蟹 pH 值的变化

Fig. 15 Change of pH in swimming carab by different storage temperatures

### 3 结论

以梭子蟹的 TVB-N 值、TBA 值和总巯基含量等为指标,比较不同处理方式对梭子蟹品质的影响,结果表明,液氮处理后贮藏的梭子蟹品质整体较好,且液氮速冻时降温速度越快、中心温度越低,梭子蟹的品质保持得越好。降温速度快,对梭子蟹肌肉组织的损伤小,可有效防止细胞破壁和营养液的流失,贮藏温度低则防止微生物及酶的作用引起的腐败变质;但是对于梭子蟹这类甲壳类生物,过低的温度会使外壳的硬度和冷脆性增加、塑性和韧性降低,更容易开裂,严重影响梭子蟹的外观和品质。综合考虑 TVB-N 值、盐溶性蛋白、总巯基含量和 TBA 值等指标,梭子蟹液氮冻结贮藏优化效果较好的是第 8 组,即 2 min 柜内降温至  $-90\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,产品中心温度达  $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$ , $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$  冷库贮藏。

#### 参考文献:

[1] 金超,赵艳. 三疣梭子蟹在  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  和  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  冷藏条件下的品质评价研究[J]. 食品工业科技,2010,31(9):317-320.  
JIN C,ZHAO Y. Study on the quality changes and indicators of trituberculatus storing at  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  and  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  cold conditions[J]. Science and Technology of Food Industry,2010,31(9):317-320.

[2] 鲁珺. 液氮深冷速冻对带鱼和银鲳品质及其肌肉组织的影响[D]. 杭州:浙江大学,2015.

[3] 王阳光,倪凯. 速冻方式对梭子蟹贮藏理化指标和品质的影响[J]. 南方水产,2008,4(4):42-48.  
WANG Y G, NI K. Impact of different quick-freezing ways on physical and chemical indicators and meat quality of *Portunus pelagicus* in the storage process[J]. South

China Fisheries Science,2008,4(4):42-48.

- [4] 夏杏洲,洪鹏志,钟灿桦,等. 不同冻结方式对军曹鱼片品质影响的研究[J]. 广东海洋大学学报,2016,30(3):67-72.  
XIA X Z, HONG P Z, ZHONG C H, et al. Effects of different freezing rates on qualities of *Rachycentron canadum* fillets[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2016,30(3):67-72.
- [5] 杨金生,夏松养,方益,等. 梭子蟹 TPA 质构分析及不同冻藏温度下对其品质的影响[J]. 食品科技,2011,36(3):129-131.  
YANG J S, XIA S Y, FANG Y, et al. Application of TPA in *Portunus pelagicus* and different freeze storage temperature on its quality[J]. Food Science and Technology,2011,36(3):129-131.
- [6] 胡庆兰. 带鱼制品的玻璃化转变及其品质变化研究[D]. 杭州:浙江大学,2014:16-17.
- [7] BENJAKUL S, SEYMOUR T A, MORRISSEY M T, et al. Physicochemical changes in Pacific whiting muscle proteins during iced storage[J]. Journal of Food Science, 1997, 62(4): 729-733.
- [8] 王小军,袁文鹏,孟秀梅,等. 板鸭贮藏过程中微生物及理化性质变化研究[J]. 食品工业科技,2008,29(10):240-243.  
WANG X J, YUAN W P, MENG X M, et al. Study on the changes of microorganism, physical and chemical properties of salted duck during storage[J]. Science and Technology of Food Industry, 2008,29(10):240-243.
- [9] CHANG H R W. Textural and biochemical properties of cobia (*Rachycentroncanadum*) sashimi tenderised with the ultrasonic water bath[J]. Food Chemistry, 2012, 132(3): 1340-1345.
- [10] 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.
- [11] CLAUDIA R L, ANTONIO M. Sensory and biochemical aspects of quality of whole big eye tuna (*Thunnusobesus*) during bulk storage in controlled atmospheres[J]. Food Chemistry,2005,89:347-354.
- [12] 李里特,罗永康. 水产食品安全标准化生产[M]. 北京:中国农业大学出版社,2006:6.
- [13] 郑薇薇. 海藻糖对防止淡水鱼糜蛋白冷冻变性的研究[D]. 长春:吉林农业大学,2011.
- [14] 何雪莹. 低温保鲜对鲤鱼鱼肉品质特性及其理化特征的影响研究[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2012.
- [15] 施海峰,高键,应杰,等. 水溶性壳聚糖对鱼糜制品保鲜效果的影响[J]. 南方水产,2011,7(4):49-54.

- SHI H F, GAO J, YING J, et al. Preservation effects of water-soluble chitosan on surimi product [J]. South China Fisheries Science, 2011, 7(4): 49 - 54.
- [16] 万建荣, 洪玉清, 奚印慈, 等. 水产食品化学分析手册 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1993: 145 - 154.
- [17] 汪之和, 王慥, 苏德福. 冻结速率和冻藏温度对鲢鱼肉蛋白质冷冻变性的影响 [J]. 水产学报, 2001, 25(6): 564 - 569.
- [18] 王启尧. 淀粉生产 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1986: 50.
- [19] 顾尧臣. 粮食深加工及综合利用 [M]. 北京: 科学出版社, 1989: 288 - 297.
- [20] 俞裕明, 李泮生, 朱志伟, 等. 不同冻结速率对南方鲂冷冻鱼片理化和感官品质的影响 [J]. 上海水产大学学报, 2008, 17(3): 350 - 356.
- YU Y M, LI B S, ZHU Z W, et al. Effects of different freezing rates on the physicochemical and sensory qualities of *Silurus meridionalis* fillets [J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2008, 17(3): 350 - 356.
- [21] 郑平安, 孙静, 全晶晶, 等. 贮藏温度对鲈鱼品质的影响研究 [J]. 核农学报, 2013, 27(1): 75 - 80.
- ZHENG P A, SUN J, QUAN J J, et al. Effect of temperature on fresh quality of mackerel [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2013, 27(1): 75 - 80.
- [22] JIANG S T, HWANG B S, TSAO C Y. Effect of adenosine-nucleotides and their derivatives on the denaturation of myofibrillar proteins *in vitro* during frozen storage at  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  [J]. Journal of Food Science, 2006, 52(1): 117 - 123.
- [23] 尹磊, 谢晶, 张宁, 等. 不同温度贮藏条件下小黄鱼的品质变化 [J]. 食品科学, 2015, 36(22): 227 - 231.
- YIN L, XIE J, ZHANG N, et al. Effect of different storage temperatures on the quality of small yellow croaker [J]. Food Science, 2015, 36(22): 227 - 231.

## Effect of Liquid Nitrogen Cryogenic Freezing on Quality of Swimming Crab (*Portunus trituberculatus*)

YAO Jieyu<sup>1,2</sup>, YANG Shuibing<sup>2</sup>, YU Haixia<sup>2</sup>, JANG Yangyang<sup>1,2</sup>, SHAO Ying<sup>1</sup>, HU Yaqin<sup>1,2,\*</sup>  
 (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 316021, China)

**Abstract:** In order to find the best liquid nitrogen cryogenic freezing condition to maintain the quality of swimming crab (*Portunus trituberculatus*), the physicochemical properties of the samples, such as pH, thiobarbituric acid (TBA), total volatile base nitrogen (TVB-N), salt soluble protein content and total sulfhydryl were determined to compare the quality of the swimming crab meat after different process. The swimming crab was frozen to center temperature of  $-25$ ,  $-35$ ,  $-45$ ,  $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$  with the cooling rate of 2 min down to  $-90\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 min down to  $-90\text{ }^{\circ}\text{C}$  and 2 min down to  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ , respectively. The frozen carbs were stored at  $-20$ ,  $-35$ ,  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ . The results showed that with the decrease of the central temperature and the freezing rate, the total sulfhydryl and salt soluble protein content increased gradually while the TBA and TVB-N values decreased gradually. The TVB-N value of the samples with the center temperature of  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$  was 15.85 mg/100 g and the sample frozen to  $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$  was only 12.99 mg/100 g. The TVB-N and TBA values of the samples stored under  $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$  were lower than those stored at  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  and  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ . The above results indicated that frozen by liquid nitrogen cryogenic freezing within 2 min to  $-90\text{ }^{\circ}\text{C}$  with center point of  $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$  and stored at  $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$  was the best for the swimming carb.

**Keywords:** swimming crab; liquid nitrogen cryogenic freezing; cooling rate; storage temperature; center temperature

(责任编辑:檀彩莲)