

# 南美白对虾在微冻保藏期间的鲜度变化\*

李卫东<sup>1</sup>, 陶妍<sup>1</sup>, 袁骐<sup>2</sup>, 马继臻<sup>2</sup>

1(上海海洋大学食品学院, 上海, 201306) 2(中国水产科学研究院东海水产研究所, 上海, 200090)

**摘 要** 以南美白对虾(*Penaeus vannamei*)为研究对象,在-3℃的微冻条件下对其进行保藏试验。通过高效液相色谱法对不同保藏期间虾肌肉中的腺苷三磷酸(ATP)及其降解的关联产物如肌苷酸(IMP)、肌苷(HxR)和次黄嘌呤(Hx)等进行分析,进而了解鲜度指标K值的变化趋势;另一方面,结合细菌总数和总挥发性盐基氮(TVBN)的测定以及感官评分的结果,对南美白对虾在微冻保藏条件下的鲜度和品质变化的规律进行考察,旨在为其保鲜提供理论依据。结果表明:微冻保藏至18 d时虾肌肉中IMP达到最高值、Hx和HxR仍维持在较低水平,而K值为23.5%,证明微冻保藏至18 d时,南美白对虾仍能保持其原有的风味和鲜度。根据细菌总数及其相关的TVBN测定和感官评分的结果,发现微冻保藏至26 d时,虾肌肉中的细菌总数、TVBN值和感官评分仍未超过腐败临界值;而保藏至26~30 d时,虽然细菌总数和TVBN值尚未超标,但感官上已失去食用价值,据此,可以认为南美白对虾在微冻保藏条件下的保质期约为26 d。

**关键词** 南美白对虾,微冻保藏,K值,挥发性盐基氮,细菌总数,感官评定

虾是一类广受欢迎的水产品,国内外在虾类的保鲜方面已经做了大量的研究工作。李燕等人<sup>[1,2]</sup>研究了不同保藏温度(10、5、0℃)下罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)的ATP及其降解产物含量的变化,指出肌苷酸(IMP)和次黄嘌呤(Hx)的含量与感官评分之间有很好的相关性,认为Hx的含量可作为评定罗氏沼虾在冷藏期间质量变化的一个评价指标;而K值则可用于衡量虾在最初保藏期间的鲜度变化。Shamshad等人<sup>[3]</sup>研究了墨吉对虾(*Penaeus merguensis de man*)在冰藏和常温保藏条件下其感官、细菌总数和生化性质的变化;Shyi-neng Lou等人<sup>[4]</sup>研究了草虾(*Penaeus monodon*)在5℃和室温(22℃)下嘌呤化合物的含量与鲜度之间的相关性。

南美白对虾(*Penaeus vannamei*)俗称基围虾,也称砂虾,隶属对虾科、新对虾属,可以在海水中养殖,经过驯化后也可以在淡水中养殖。目前,对于南美白对虾的保鲜方法主要有冷冻和冰藏2种,冷冻法保鲜会引起虾肌肉蛋白质的冷冻变性,导致虾品质下降;而用冰藏法保鲜则使虾的保鲜期缩短。王四维等人<sup>[5]</sup>曾用羧甲基纤维素钠和壳聚糖复合液涂抹于冰藏保鲜的南美白对虾,发现保鲜效果明显优于普通冰藏法,然而,此法操作烦琐费时。与冷冻保鲜和冰藏保鲜相比,微冻保鲜既可以克服冰藏保鲜时间短的缺

陷,又可以避免冷冻保鲜中经常遇到的干耗、冻结烧等变质现象。

微冻保鲜是将水产品的温度降至略低于其细胞汁液的冻结点,并在该温度下进行保藏的一种保鲜方法<sup>[6]</sup>。微冻时,样品表面会有一层冻结层,故又称为过冷却或部分冻结。本文以南美白对虾为研究对象,在-3℃的微冻条件下对其进行保藏试验,通过高效液相色谱仪对不同保藏期间虾肌肉中的ATP及其降解产物进行测定,进而计算K值;另一方面,结合细菌总数及其相关的总挥发性盐基氮(TVBN)的测定和感官评分结果,考察南美白对虾在微冻保藏条件下的鲜度变化,旨在为其低温微冻保鲜提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

鲜活南美白对虾,上海市南汇区养殖场,虾平均体重9g,运至实验室后立即以每袋9尾分装于聚乙烯密实袋中,在-3℃恒温培养箱中保藏,间隔不同的天数取出用作各项指标的测定。

### 1.2 试验设备、仪器

高效液相色谱仪:Waters 600 Controller pump、Waters 2487 紫外检测器、Millenium<sup>32</sup> 数据处理软件,Waters公司。

色谱柱:CAPCELL PAK C<sub>18</sub>、MG III 5μm、4.6 mm×150 mm;日本资生堂公司精细化学部。

冷冻离心机:京立 LGR10-4.2,北京医用离心

第一作者:硕士研究生(陶妍教授为通讯作者)。

\* 上海市科委重点科技项目(No. 065407061)

收稿日期:2008-09-16,改回日期:2008-10-20

机厂;恒温培养箱:SHP-2500 型低温生化培养箱,上海精宏实验设备有限公司;pH 计:METTLER TOLEDO DELTA 320 pH 计,瑞士梅特勒-托利多有限公司;自动定氮仪:Kjeltec 2300 自动凯氏定氮仪,福斯中国有限公司。

1.3 腺苷三磷酸(ATP)及其降解产物的测定

取虾肉 5g 于研钵中剪碎,加体积分数 7% HClO<sub>4</sub> 溶液 15 mL 研磨至碎(冰浴操作),将此混合物离心(0℃、5 000 r/min、10 min),取上清液;沉淀中再加入 7% HClO<sub>4</sub> 溶液 10 mL 洗涤,离心(条件同上),取上清液;重复洗涤 2 次后,在冰浴中对收集的上清液用 10 mol/L KOH 中和至 pH 6.8,静置 10 min 后,用分析滤纸过滤,滤液定容至 100 mL,再用 0.45 μm 滤膜过滤,分装保存于-20℃冰箱待测。

ATP 及其关联物的标准品:ATP、ADP、AMP、IMP、HxR 和 Hx 标准品均购自 Sigma 公司。

高效液相色谱仪测定条件:检测波长 254 nm;流动相 A: V(0.1 mol/L K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>): V(0.1 mol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) = 1: 1(pH 6.26);流动相 B: 甲醇;梯度洗脱条件如表 1 所示,样品进样量 20 μL。

表 1 梯度洗脱条件

时间/min	流量/mL·min <sup>-1</sup>	A/%	B/%
0	2.00	100	0
2.50	1.40	100	0
4.50	1.40	100	0
6.50	2.00	78	22
14.00	2.00	78	22
15.00	2.00	100	0

1.4 鲜度指标 K 值的计算

表 2 南美白对虾感官鉴定评分标准

项 目	3 分	2 分	1 分	0 分
肌肉组织	肌肉纹理清晰有弹性、肉与壳连接紧密	肌肉略有弹性、不变色、肉与壳连接稍松弛	肌肉弹性较差、肉与壳连接松弛	肌肉组织松软、肉质发黄
体色色泽	体表有光泽、头胸甲与体节间连接紧密	壳有轻微红色或黑色、头尾部出现黑斑	肌体无固有色泽、体表出现大面积黑斑	体色色泽灰暗、甲壳与虾体分离
气 味	具虾体固有气味、无异味	略有异味	异味较强	异味强烈

2 结果与讨论

2.1 ATP 及其关联物标准品的 HPLC 图谱

与其他水产品相类似,虾死后也可以大致分为死后僵硬、自溶和腐败变质 3 个阶段。在死后初期,糖

$$K/\% = (HxR + Hx) / (ATP + ADP + AMP + IMP + HxR + Hx) \times 100$$

其中:ATP,腺苷三磷酸;ADP,腺苷二磷酸;AMP,腺苷一磷酸;IMP,肌苷酸;HxR,肌苷;Hx,次黄嘌呤。

1.5 细菌总数测定

按平板菌落计数法进行。无菌条件下剪取虾肌肉组织 25g,置于 225 mL 灭菌生理盐水中匀浆,制成 1: 10 的均匀稀释液;选择 3 个合适的稀释度,每个稀释度设 2 个平行,用于营养琼脂平板的涂布,37℃ 恒温培养 24 h 后进行菌落计数。

1.6 总挥发性盐基氮(TVBN)的测定

剪碎虾肌肉组织约 10g,于研钵中研磨后置于锥形瓶中,加入 100 mL 蒸馏水混合,静置 30 min 后用分析滤纸过滤。准确吸取滤液 10 mL 于特定玻璃试管中,加入 10 g/L 氧化镁混悬液 10 mL,通过 Foss 2300 型自动定氮仪进行蒸馏滴定。吸收液是含溴甲酚绿和甲基红指示剂的 1% 硼酸溶液,用于滴定的标准溶液是 0.1 mol/L HCl;每个样品平行测定 3 次,并以 10 mL 蒸馏水替代样品做空白试验。

1.7 感官评定方法

由教师和学生共 7 人组成固定的感官评定小组,对样品的感官性质进行评定。参考河虾的感官评分标准<sup>[7]</sup>,对南美白对虾从肌肉组织、体色色泽和气味等 3 方面进行综合评分,总分值在 9 分(极新鲜)和 0 分(腐败)之间,5 分以下表明样品不可食用。具体评分标准见表 2。

原经酵解途径分解为乳酸并在体内蓄积,导致肌肉 pH 值下降;同时肌肉中的 ATP 分解,依次生成腺苷二磷酸(ADP)、腺苷一磷酸(AMP)、肌苷酸(IMP)、肌苷(HxR)和次黄嘌呤(Hx)等成分<sup>[8]</sup>。因此,通过测定虾死后其肌肉中 ATP 及其降解产物含量的变化,可以判断其鲜度的变化趋势。

文中先采用单个标品进样,通过调整流动相的 pH 和流速,使不同标准品的保留时间拉开,最终确定各个单标的保留时间;在此基础上采用混合标品进样,在采用如表 1 所示的梯度洗脱条件下,其高效液相色谱(HPLC)的分析图谱如图 1 所示,出峰顺序依次为 IMP (4.064 min)、ATP (5.103 min)、ADP (6.007 min)、Hx (6.957 min)、AMP (8.411 min)、HxR (9.133 min)。

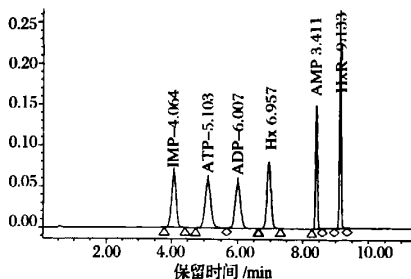


图 1 ATP 关联物标准品的 HPLC 图谱

## 2.2 不同保藏时间下样品的 ATP 及其降解产物的含量变化

采用上述混合标品的测定条件,通过 HPLC 对南美白对虾在  $-3^{\circ}\text{C}$  微冻保藏下不同阶段的样品的 ATP 及其降解产物的含量进行测定。由图 2 可见,微冻保藏 1 d 后,ATP 和 ADP 的含量就呈快速下降趋势,尤其是 ATP 的含量由新鲜时的  $0.2357\text{ }\mu\text{mol/g}$  下降至  $0\text{ }\mu\text{mol/g}$ 。ATP 的快速降解与高活性的 ATP 酶有关。Watabe 等人<sup>[9]</sup>认为,这种现象是由于水产动物在死后的最初阶段,其肌细胞中肌浆网的钙离子吸附能力下降,使钙离子大量释放到胞液中,促使肌原纤维内钙离子的浓度增加,进而激活了肌原纤维 ATP 酶的活性,使 ATP 迅速降解。ADP 的含量约下降了 54.1%,之后基本保持不变。相比之下,AMP 的含量在保藏 2 d 后达到最高,为  $0.2660\text{ }\mu\text{mol/g}$ ,随后也以较快的速度分解。

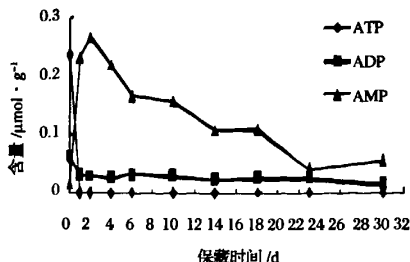


图 2 南美白对虾在微冻保藏期间 ATP、ADP 和 AMP 含量的变化

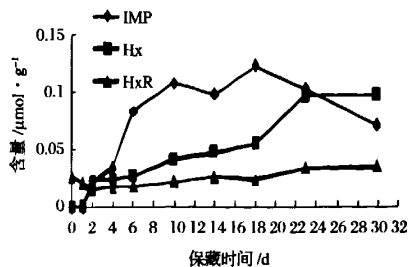


图 3 南美白对虾在微冻保藏期间 IMP、HxR 和 Hx 含量的变化

由图 3 可见,IMP 含量在保藏 1 天后开始至第 10 d 呈快速上升趋势,至第 14 天略有下降,而至第 18 天达到最大值( $0.1228\text{ }\mu\text{mol/g}$ ),之后缓慢下降。IMP 是具有强烈鲜味的呈味物质,本研究结果表明了南美白对虾在微冻保藏下可以较长时间地保持其原有风味。相比之下,Hx 的含量在保藏 1~2 d 后至第 18 天基本保持缓慢上升趋势,18~23 d 呈较明显的上升趋势;而 HxR 的含量在整个保藏期间的变化幅度始终较小。通常,Hx 和 HxR 的含量可用来衡量鱼虾贝类的鲜度,其值越高,则鲜度越差。本研究结果初步表明了南美白对虾在微冻保藏至 18 d 时,仍可基本保持其原有的风味和鲜度。

## 2.3 鲜度指标 K 值的变化

K 值是以分析肌肉中 ATP 及其降解产物的含量为基础,进而通过计算得到的评判鲜度的一个指标,它能够反映水产品低温保藏前期的鲜度变化<sup>[10]</sup>。由图 4 可见,南美白对虾在微冻保藏至第 18 天之前,K 值是呈缓慢上升趋势的,其值在 23.5% 以下。一般就海水鱼而言,K 值在 20% 以下被认为是极新鲜的,在 20%~60% 为新鲜,60%~80% 为鱼体的初期腐败阶段<sup>[11]</sup>,因此,K 值的测定结果表明了南美白对虾在微冻保藏 18 d 的情况下仍能保持较高的鲜度。对比李燕等人<sup>[2]</sup>对  $0^{\circ}\text{C}$  保藏条件下罗氏沼虾 K 值的测定结果,大约保藏至第 10 天 K 值已达到 34.6%。

## 2.4 细菌总数的变化

促使虾鲜度变化的原因通常有 3 个方面:细菌变化、酶促变化和化学变化,其中细菌变化是最主要的因素<sup>[12]</sup>。南美白对虾在微冻保藏期间细菌总数的变化如图 5 所示。新鲜虾的初始细菌总数为  $3.4\times 10^4\text{ cfu/g}$ ,随着保藏时间的延长,细菌总数一直呈较小幅度的增加,当保藏至第 30 天时细菌总数达到  $2.9\times 10^6\text{ cfu/g}$ ,仍未超过规定的腐败临界值 ( $10^7\text{ cfu/g}$ )。

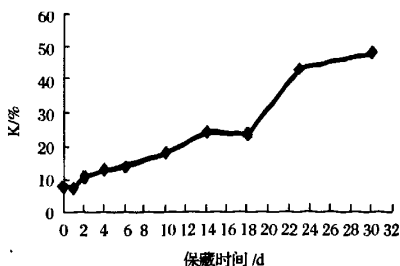


图4 南美白对虾在微冻保藏期间K值的变化  
g)<sup>[13]</sup>。究其原因可能是因为微冻条件下可以促使虾体表面形成一层“冰膜”,从而有效防止了外来细菌的入侵。另一方面,当环境温度低于微生物生长发育的温度范围下限时,其代谢活动大大降低,从而抑制了其生长和繁殖,使虾的保藏期延长。何定芬等人<sup>[13]</sup>对0℃保藏条件下的南美白对虾的细菌总数进行了测定,发现至第12天细菌总数已达到 $1.5 \times 10^7$  cfu/g。

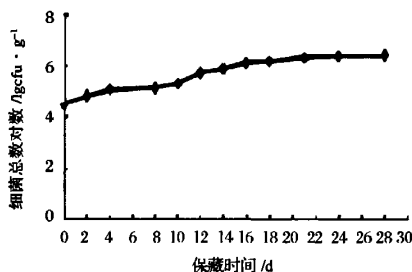


图5 南美白对虾在微冻保藏期间细菌总数的变化

## 2.5 保藏后期总挥发性盐基氮(TVBN)的变化

研究发现,当南美白对虾在-3℃保藏至第30天时其细菌总数仍未超过腐败临界值,因此对保藏至第30天、31天和32天的虾体进行了总挥发性盐基氮(TVBN)含量的测定,其结果分别为17.8、18.0、19.5 mg/100 g。根据中华人民共和国国家食品卫生标准中的河虾卫生标准 GB2740-94 规定:肌肉中TVBN≤20 mg/100 g可认作虾体新鲜,因此,若根据TVBN的测定结果,可以认为南美白对虾在微冻保藏条件下,其保质期约可达到将近1个月。而根据李燕等人<sup>[2]</sup>对0℃罗氏沼虾保藏期限的研究,其保质期仅为11天。

## 2.6 感官评分结果

对南美白对虾的感官评定主要是从肉质、体表色泽和气味等3方面进行综合评分。由图6可见,南美白对虾在整个微冻保藏过程中感官评分的下降速度还是比较缓慢的。保藏至第12天为止,感官评分一

且保持住8分;保藏至第16天,感官评分仍为7,这时虾体除了壳显轻微粉色、头部稍有黑斑外,仍基本保持鲜虾所具有的肌肉组织和气味特点;当保藏至第18天,感官评分下降为5,然后一直保持至第26天。因此,根据感官评分的结果,可以认为南美白对虾在微冻保藏条件下,至少在18 d之内其保鲜效果是较好的,该结果与上述Hx、HxR和K值等测定的结果基本上是一致的。另外,研究发现当虾体保藏至18~26 d时,虽然TVBN仍低于20 mg/100 g、无腐败气味、体表仍有冰膜,但头部略发黑、体表色泽略显黄色;而保藏至30 d时,则虾体头部发黑、体表暗黄、出现大量黑斑,证明已失去食用价值。根据戚晓玉等人<sup>[14]</sup>对0℃保藏的日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)的感官评分结果,发现保藏至第6天虾体已开始出现腐败味。

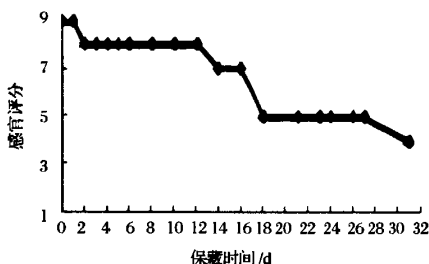


图6 南美白对虾在微冻保藏期间的感官评分

## 3 结论

(1) 南美白对虾在-3℃的微冻保藏条件下,至18天时其IMP达到最高值、Hx和HxR仍维持在较低水平,而K值则低于23.5%,证明了微冻保藏可使南美白对虾在保藏期为18 d的情况下,仍能保持其原有的风味和鲜度。

(2) 根据对南美白对虾的细菌总数及其相关的TVBN测定和感官评分的结果,发现微冻保藏期限为26天时,其细菌总数、TVBN值和感官评分仍未超过腐败临界值;而保藏至26~30 d时,虽然细菌总数和TVBN值尚未超标,但感官上已失去食用价值,证明南美白对虾在微冻保藏条件下的保质期约为26 d。

## 参考文献

- 李燕,周培根,戚晓玉. 肌苷酸和肌苷作为评价虾鲜度质量指标的研究[J]. 上海水产大学学报, 2002, 11(3): 264~267

- 2 李燕,周培根,戚晓玉. 罗氏沼虾在不同温度贮藏期间鲜度的变化[J]. 上海水产大学学报,2002,11(1):62~66
- 3 Shamshad S I, Kher-un-nisa M, Riaz M, et al. Shelf life of shrimp (*Penaeus merguensis*) stored at different temperature [J]. Journal of Food Science, 1990, 55(5):1 201~1 205
- 4 Shyi-neng Lou. Purine content in grass shrimp during storage as relate to freshness [J]. J Food Sci, 1998, 63(3):442~444
- 5 王四维,过世东. 南美白对虾复合型涂膜保鲜的效果研究[J]. 食品研究与开发,2005,26(5):164~167
- 6 沈月新. 水产品冷藏加工[M]. 北京:中国轻工业出版社,1996. 50~51
- 7 孙新华. 虾的鲜度鉴别[J]. 内陆水产,1994,11:18
- 8 鸿巢章二,桥本周久. 水产利用化学[M]. 北京:中国农业出版社,1994. 133~136
- 9 Watabe S, Ushio H, Iwamoto M, et al. Temperature-dependency of rigor-mortis of fish muscle; myofibrillar  $Mg^{2+}$  - ATPase activity and  $Ca^{2+}$  uptake by sarcoplasmic reticulum [J]. Journal of Food Science, 1989, 54:1 107~1 115
- 10 Saito T, Arai K, Matsugoshi. A new method for estimating the freshness of fish [J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1959, 24(9):749~750
- 11 沈月新,魏鹤声,童瑞璜,等. 罗非鱼的微冻保鲜[J]. 水产学报,1986,10(2):177~183
- 12 章红兵. 对虾加工与检验[M]. 青岛:青岛海洋大学出版社,1991. 179~186
- 13 何定芬,乐建盛. 贮藏温度和时间对南美白对虾鲜度的影响[J]. 浙江国际海运职业技术学院学报,2006,(3):24~26
- 14 戚晓玉,李燕,周培根. 日本沼虾冰藏期间 ATP 降解产物变化及鲜度评价[J]. 水产学报,2001,25(5):482~484

## Changes in Freshness of *Penaeus vannamei* During Partial Freezing Storage

Li Weidong<sup>1</sup>, Tao Yan<sup>1</sup>, Yuan Qi<sup>2</sup>, Ma Jizhen<sup>2</sup>

<sup>1</sup>(College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

<sup>2</sup>(East China Sea Fishery Research Institute Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China)

**ABSTRACT** In this paper, the effects of the partial freezing ( $-3^{\circ}\text{C}$ ) on keeping freshness of *Penaeus vannamei* were investigated. The contents of ATP and ATP-related compounds such as IMP, HxR and Hx in shrimps which stored at  $-3^{\circ}\text{C}$  for different periods were determined by HPLC. The K values, the assessing index of freshness were calculated. In addition, total bacteria count and total volatile base-nitrogen (TVBN) in shrimps were determined. Sensory evaluation was carried out in order to examine the changes in freshness and quality of *Penaeus vannamei*. The results obtained were summarized as follows: IMP had a maximal value when the shrimps were stored at  $-3^{\circ}\text{C}$  for 18 days, but Hx and HxR always kept at low levels, and the K value was 23.5%, indicating that *Penaeus vannamei* can remain intrinsic flavor and freshness under the partial freezing storage condition. On the other hand, the total bacteria counts and TVBN and sensory scores demonstrate that these values didn't exceed the critical point of deterioration at  $-3^{\circ}\text{C}$  for 26 days. However, the sensory evaluation for shrimps stored  $-3^{\circ}\text{C}$  for 26—30 days showed their lost of edibleness although total bacteria counts and TVBN were still lower than the critical point of deterioration. Therefore, the shelf life for *Penaeus vannamei* under the partial freezing storage condition is about 26 days.

**Key words** *Penaeus vannamei*, partial freezing storage, K value, total volatile base-nitrogen, total bacteria count, sensory evaluation

会  
讯

### 国际饮料供应商巨头聚焦 CBST2009

中国饮料市场作为高速发展的市场之一,已成为世界饮料市场的重要组成部分。据统计,2008年前3季度中国饮料总产量比去年同期增长22.22%,预计全年将突破6 000万t,这些表明饮料已经成为人们生活的必需品,中国饮料的消费将不断地深化和升级。有理由相信,2009年中国饮料市场将继续保持高速增长。中国饮料市场这个大蛋糕正在不断的吸引新的品尝者加入,并成为新的发展点。