微冻条件下对生食金枪鱼复合保鲜剂的优化

邓添[a,b]，谢晶[a,b]
（上海海洋大学 a.上海水产品加工及贮藏工程技术研究中心；b.食品学院，上海 201306）

摘要：目的 为了有效延长微冻条件下生食金枪鱼的货架期，通过响应面法确定茶多酚、芥末、食醋组成的复合保鲜剂中各组分的最佳配比。**方法** 使用配制好的复合保鲜剂进行验证，并在第 0，2，4，6，8，10，12 天测定金枪鱼的感官、质构、色差、高铁肌红蛋白含量、总菌落数、TVB-N 值及 *K* 值。**结果** 在复合保鲜剂中茶多酚、稀释后的芥末溶液、食醋的质量分数分别为 0.38%，8%，15.69%时，生食金枪鱼的货架期延长了 4 d。**结论** 在−2 ℃冷藏条件下，优化后的复合保鲜剂能有效延长生食金枪鱼的货架期。

关键词：生食金枪鱼；响应面法；茶多酚；芥末；食醋；复合保鲜剂
中图分类号：TB487 **文献标识码：**A **文章编号：**1001-3563(2017)09-0019-06

Optimization of Complex Preservatives of Uncooked Tuna Sashimi under Partial Freezing

DENG Tian[a,b], *XIE Jing*[a,b]
(Shanghai Ocean University a.Shanghai Engineering Research Center of Aquatic Product Processing and Preservation; b.College of Food Science and Technology, Shanghai 201306, China)

ABSTRACT: The work aims to identify the most appropriate proportion of complex preservatives combined with tea polyphenols, mustard and vinegar by response surface methodology in order to prolong the shelf life of uncooked tuna sashimi effectively under partial freezing. The well prepared complex preservative was used for verification and the sense, texture, color difference, content of met-myoglobin, APC (aerobic plate count), TVB-N and *K* value of tuna sashimi on the 0^{th}, 2^{nd}, 4^{th}, 6^{th}, 8^{th}, 10^{th} and 12^{th} day were measured. The results showed that the best ratio of complex preservatives was tea polyphenols 0.38%, mustard solution 8% and vinegar 15.69%, the shelf life of raw tuna has been extended for 4 d. The improved complex preservatives can effectively prolong the shelf life of uncooked tuna sashimi under the cold storage of −2 ℃.

KEY WORDS: uncooked tuna sashimi; response surface methodology; tea polyphenols; mustard; vinegar; complex preservatives

金枪鱼以生鱼片的消费形式有着极大的市场需求，但是金枪鱼相对于其他水产品更易腐败、货架期更短，常规冷藏保鲜方法难以长时间地保持生食金枪鱼鱼肉的鲜度，从而降低生食金枪鱼的商业价值[1]。为了有效地延长生食金枪鱼的货架期，有学者使用酸性电解水、乳酸菌、植酸等保鲜剂进行了研究，发现处理过的金枪鱼生鱼片总菌数量显著下降，但保鲜剂具有一定的刺激气味，对口感的影响会让消费者产生不适[2—4]。选用天然、安全且感官能被消费者接受的可食用生物保鲜剂具有重要的研究价值和研究意义。

茶多酚，又名茶鞣质、茶单宁，对人体具有解毒、抗辐射的保健功能，是茶叶中提取出来的全天然抗氧化的生理活性物质，可以有效地延缓油脂酸败的过程[5]。芥末（青芥末）具有较广泛的抗菌谱，也是日常食用

收稿日期：2017-03-01
基金项目：国家自然科学基金（31571914）；上海市科技兴农重点攻关项目[沪农科攻字(2016)第 1-1 号]；上海市科委平台能力提升项目（16DZ2280300）
作者简介：邓添（1992—），男，上海海洋大学硕士生，主攻食品科学与工程。
通讯作者：谢晶（1968—），女，博士，上海海洋大学教授，主要研究方向为食品工程。

生鱼片时最常用的杀菌佐料，对消费者的味觉、嗅觉有着独特的香辛味[6]。食醋具有较高的杀菌、抑菌功能[7]，而且食醋作为调味剂酸味醇厚柔和，食用生鱼片时常与芥末搭配用来调和芥末的刺激气味。文中实验选用天然可食用的生物保鲜剂，如茶多酚、芥末、食醋作为复合保鲜剂来优化生食金枪鱼片的保鲜效果，为生食金枪鱼的生物保鲜剂技术提供技术参考。

1 实验

1.1 材料与仪器

主要材料：金枪鱼，−60 ℃真空包装的金枪鱼块购于浙江丰汇远洋渔业有限公司，用装有冰袋的泡沫箱将其在低温条件下送到实验室取样；茶多酚（食品级，多酚质量分数≥98%），陕西普维生物制药有限公司；芥末（食品级），珠海一统实业有限公司；食醋（食品级），山西水塔醋业股份有限公司。

主要仪器：紫外-可见光分光光度计，UV-1102，上海天美科技仪器有限公司；质构仪，TA.XT plus，英国 Stable Micro System 公司；色差计，ZE-2000，日本尼康公司；FOSS 全自动凯氏定氮仪，Kjeltec8400，丹麦福斯公司；冰箱，BCD-252MHV，苏州三星电子有限公司；高效液相色谱仪，LC-2010C HT，岛津公司；台式高速冷冻离心机，H2050R-1，湖南湘仪实验室仪器开发有限公司。

1.2 方法

1.2.1 样品处理

将金枪鱼放置于含有冰袋的泡沫箱中解冻后，在无菌条件下，以质量为 50 g 的规格等量、随机分为大小均匀、形状相近的 2 组（每组 14 块）。其中一组为实验组，将实验组的金枪鱼块浸泡在不同配方的复合保鲜剂溶液中 1.5 min，取出浸泡后的金枪鱼块沥干分装到无菌自封袋内，并于−2 ℃冰箱中保藏，另一组为不进行保鲜剂处理的对照组。

1.2.2 响应面法优化复合保鲜剂配比

以茶多酚、食醋、芥末的添加量作为响应变量，参考雷志方等[8]的研究发现选择 TVB-N 值为响应值，分别参考黎柳等[4]含茶多酚、植酸生物保鲜剂对鲳鱼保鲜效果的研究和高萌等[9]基于酸性电解水处理的金枪鱼杀菌技术的研究，以及崔竹梅等[10]生鱼片食源性安全性评价的研究，设计三因素三水平的响应面实验来确定复合保鲜剂的最佳添加量，见表 1。其中 *A*，*B*，*C* 分别代表茶多酚、稀释后的芥末溶液（质量分数为 10%）和食醋的质量分数。

1.2.3 感官评定

参照 SC/T 3117—2006《生食金枪鱼》的金枪鱼感官评定表[11]基本要求，邀请 4 名受过感官培训的专业感官评定员对金枪鱼的各评定项目进行评分。

表 1 响应面因素水平设计

Tab.1 Design for factors and levels of RSM %

水平	因素		
	A	*B*	*C*
−1	0.2	8	12
0	0.4	16	24
1	0.6	24	36

1.2.4 菌落总数测定

参照 GB/T 4789.2—2010《食品卫生微生物学检验菌落总数测定》[12]进行测定。

1.2.5 理化指标测定

1）质构。将金枪鱼用无菌手术刀切成 1 cm×1 cm×1 cm 的立方体小肉块，测定硬度、咀嚼性和弹性等指标。设定参数中模式选择 TPA 模式，探头下降速率为 2 mm/s，探头测试速率为 1 mm/s，探头回程速率为 5 mm/s，探头类型为 P/5 圆柱形，触发力值为 50 N。

2）色差值。将金枪鱼用无菌手术刀剔除表层鱼肉后，使用色差计对固定位置正反面进行多次测定，得到红度值 *a**的平均值。

3）高铁肌红蛋白。参照 Karol Krzywicki 等[13]方法进行测定。

4）TVB-N 值。参照 SC/T 3032—2007《水产品中挥发性盐基氮的测定》[14]进行测定。

5）*K* 值。参考 Yokoyama 等[15]的方法进行测定。

1.3 数据处理方法

用 SPSS 19.0 对实验数据进行统计学分析，利用 origin Pro V8.5 软件和 Excel 软件对数据进行图表处理。

2 结果和分析

2.1 响应面法优化结果

以茶多酚、芥末和食醋为自变量，TVB-N 总和为响应值的实验结果，见表 2，中心实验（试验 13—15）平均值为 85.47±1.11，误差较小，符合实验设计的要求。对表 2 中实验数据进行回归拟合，得到茶多酚、芥末和食醋的质量分数与响应值 TVB-N 值总和的关系式：

$$Y=85.47+5.33A+4.67B+2.91C+1.54AB+3.79AC-14.59BC+7.27A^2+4.20B^2+12.43C^2$$

响应面法回归模型的方差分析见表 3，可知模型的 *P* 值为 0.0009，小于 0.05，即二次模型效果显著；模型变异系数为 2.86%，变异系数越小，模型的可信度越高；模型失拟项的 *P* 值为 0.1324，大于 0.05，即回归模型能较好地预测实际实验过程中金枪鱼的品质变化。由表 3 可知，响应变量茶多酚、芥末和食醋的质量分数对金枪鱼的 TVB-N 值影响显著($P<0.05$)，

对 TVB-N 值的影响大小为 *A*>*B*>*C*，且 *A* 和 *C*，*B* 和 *C* 的交互作用显著($P<0.05$)，而 *A* 和 *B* 的交互作用不显著($P>0.05$)。通过对三维响应面图等高线的形状可以分析出交互作用是否有显著性差异[16]，见图 1。图 1a 的等高线图接近圆形，说明茶多酚和芥末质量分数的交互作用不显著。图 1b 和图 1c 的等高线图为椭圆形，可知食醋和茶多酚质量分数、食醋和芥末质量分数的交互作用显著，与表 3 结果相符。

表 2　响应面实验方案与结果

Tab.2 The experimental scheme and results of RSM

试验	水平			TVB-N 总和/(mg·(100 g)$^{-1}$)
	A	*B*	*C*	
1	−1	−1	0	89.1
2	1	−1	0	94.7
3	−1	1	0	96.1
4	1	1	0	107.84
5	−1	0	−1	101.6
6	1	0	−1	106.66
7	−1	0	1	96.1
8	1	0	1	116.3
9	0	−1	−1	78.4
10	0	1	−1	116.2
11	0	−1	1	117.17
12	0	1	1	96.6
13	0	0	0	86.9
14	0	0	0	85.3
15	0	0	0	84.2

对拟合的二次模型方程求导，得到茶多酚、芥末和食醋组成的复合保鲜剂的最佳质量分数配比：茶多酚质量分数为 0.38%，芥末溶液质量分数为 8%，食醋质量分数为 15.69%，预测 TVB-N 总和最小为 78.7832 mg/(100 g)。

2.2　生食金枪鱼保鲜效果的验证

2.2.1　感官评定

金枪鱼在贮藏期间感官品质的变化见图 2a，可知，感官综合得分随着贮藏天数增加呈下降趋势，实验组和对照组在 0~4 d 从初始值 9.5 分别下降到 8 和 7.5，在 4~12 d，实验组感官综合得分显著高于对照组($P<0.05$)，实验组在 8 d 时感官评分在可接受水平内，而从 K 值和 TVB-N 等理化指标分析，实验组在 10 d 时仍在可接受水平内，这与 Jinadasa 等[17]的研究发现，即相比于其他理化指标，感官指标会更早超过可接受限度相符合。食醋的酸味会中和芥末刺激性的气味，生成令人愉悦的香辛味，类似于生食金枪鱼的酱料香味，使得实验组金枪鱼样品在口感、气味上明显优于对照组，对照组在 6 d 时已达到感官可接受阈值，而实验组在 8 d 时感官评分仍在可接受水平内，这说明复合保鲜剂能改善金枪鱼品质并延长感官在可接受阈值范围内的时间。

2.2.2　菌落总数

金枪鱼在贮藏期间菌落总数的变化见图 2b，实验组和对照组的菌落总数随着贮藏天数增加呈上升趋势，且实验组菌落总数明显少于对照组($P<0.05$)，对照组在 2 d 时达到规定阈值，而实验组在 6 d 时还未达到生食金枪鱼的菌落总数阈值[11]，实验组延长了 4 d 可生食期限。实验组菌落总数变化是先略微下降再呈上升趋势，与雷志方等[8]研究结果一致，这是因为茶多酚可以延缓金枪鱼油脂酸败的过程，抑制细菌生长，芥末、食醋有着广谱的杀菌、抑菌功能，从而浸渍过复合保鲜剂溶液后的样品菌落总数在 2 d 时略微下降，这说明了茶多酚、芥末和食醋的复合保鲜剂对微生物有着明显的抑制作用，能够有效延长金枪鱼的生食货架期。

表 3　响应面法回归模型的方差分析

Tab.3 The variance analysis of fitted regression model of RSM

方差来源	平方和	自由度	均方	*F* 值	*P* 值
模型	2135.287	9	237.2541	29.058 45	0.0009
A	226.845	1	226.845	27.783 57	0.0033
B	174.5646	1	174.5646	21.380 36	0.0057
C	67.919 51	1	67.919 51	8.318 66	0.0344
AB	9.4249	1	9.4249	1.154 345	0.3317
AC	57.3049	1	57.3049	7.018 601	0.0455
BC	851.7642	1	851.7642	104.3225	0.0002
A^2	195.1715	1	195.1715	23.904 26	0.0045
B^2	65.067 71	1	65.067 71	7.969 376	0.0370
C^2	570.2884	1	570.2884	69.8479	0.0004
残差	40.823 59	5	8.164 718		
失拟项	37.136 93	3	12.378 98	6.715 538	0.1324
纯误差	3.686 667	2	1.843 333		
总误差	2176.11	14			

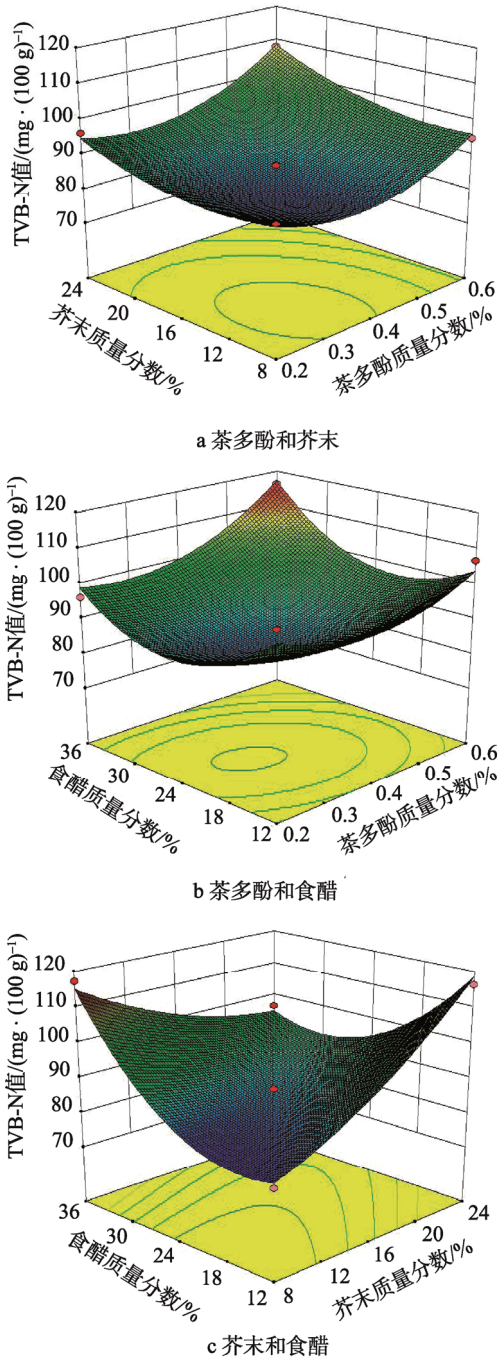

图 1　复合保鲜剂的交互作用对 TVB-N 含量的影响

Fig.1 Effects of interaction between complex preservatives on TVB-N value

2.2.3　质构分析

通过质构仪可更客观地对样品的弹性、咀嚼性和硬度等指标进行分析，见图 2c—e，在 0~12 d，弹性、咀嚼性和硬度都呈下降趋势，且对照组下降程度明显大于实验组(P<0.05)，这是因为茶多酚是纯天然的抗氧化剂，具有清除自由基的功能[18]，抑制了实验组金枪鱼油脂的氧化酸败，而食醋和芥末更是有效的灭菌剂，能够有效抑制微生物的生长繁殖，这说明复合保鲜剂能够明显改善金枪鱼口感。

2.2.4　色差值

金枪鱼在贮藏期间红度值 a*的变化见图 2f，金枪鱼的红度值 a*随着贮藏天数的变化，实验组和对照组在 0~4 d 内下降迅速，分别从刚处理时的 14.09 和 15.09 下降到第 4 天时的 8.3 和 7.9，这可能是因为复合保鲜剂浸渍对金枪鱼肉色有影响，而使得浸渍后的实验组红度值 a*初始值低于对照组，与李婷婷等[19]研究茶多酚对冷藏带鱼品质及抗氧化效果影响的结果一致，而实验组在 4~12 d 下降速度减缓，实验组和对照组在 12 d 时的红度值 a*分别为 5.5 和 2.1，实验组的红度值 a*明显大于对照组(P<0.05)，说明以茶多酚、芥末和食醋组成的复合保鲜剂对金枪鱼肉色的影响效果显著。

2.2.5　高铁肌红蛋白

金枪鱼鱼肉的颜色是由肌红蛋白、氧合肌红蛋白和高铁肌红蛋白的相对含量共同决定的。肌红蛋白与氧气相结合呈特有的鲜红色，而辅基中的亚铁离子逐渐被氧化，颜色变成不受消费者欢迎的暗褐色[20]。金枪鱼在贮藏期间高铁肌红蛋白含量的变化见图 2g，在 0~4 d 内，实验组的高铁肌红蛋白含量高于对照组，这可能是由于茶多酚、芥末和食醋复配的复合保鲜剂浸渍样品加速高铁肌红蛋白的生成，而在 4~12 d 内，实验组高铁肌红蛋白含量明显少于对照组(P<0.05)，这可能是因为复合保鲜剂可抑制细菌生长和金枪鱼的氧化酸败，因此减少实验组高铁肌红蛋白的生成，这说明复合保鲜剂可以优化金枪鱼贮藏期间的色泽。

2.2.6　TVB–N 值

金枪鱼在贮藏期间 TVB-N 值的变化见图 2h，可知，实验组和对照组的 TVB-N 值随着贮藏天数增加呈上升趋势，对照组在第 6 天时 TVB-N 值为 24.43 mg/(100 g)，即将超过生食金枪鱼规定阈值(25 mg/(100 g))，而实验组在第 12 天时 TVB-N 值为 25.67 mg/(100 g)，刚超过规定阈值，这是因为复合保鲜剂抑制微生物生长繁殖，可减缓蛋白质的分解，因而实验组的金枪鱼肉中 TVB-N 值相比于对照组明显处于较低水平(P<0.05)，杨少玲等[21]研究了 3 种保鲜剂对金枪鱼冻藏品质的影响，发现了茶多酚能明显抑制微生物生长繁殖和代谢产物的生成，高萌等[9]研究了基于酸性电解水处理的金枪鱼杀菌技术，发现了芥末、食醋对金枪鱼生鱼片杀菌、抑菌效果显著。

2.2.7　K 值

金枪鱼在贮藏期间 K 值的变化见图 2i，生食金枪鱼的 K 值要求比较严格，K 值≤20%视为可生食。由图 2i 可知，对照组在第 6 天时 K 值为 16.4%，而实验组的 K 值明显小于对照组(P<0.05)，实验组在第 10 天时 K 值为 20%，刚好到达 K 值上限，这是因为

茶多酚有抑制 ATP 关联物分解的功能，参与 ATP 分解及相关化学反应的酶活性下降，实验组 *K* 值上升缓慢[1]，由茶多酚、食醋和芥末复配的复合保鲜剂，能够有效抑制微生物，显著优化实验组的保鲜效果。

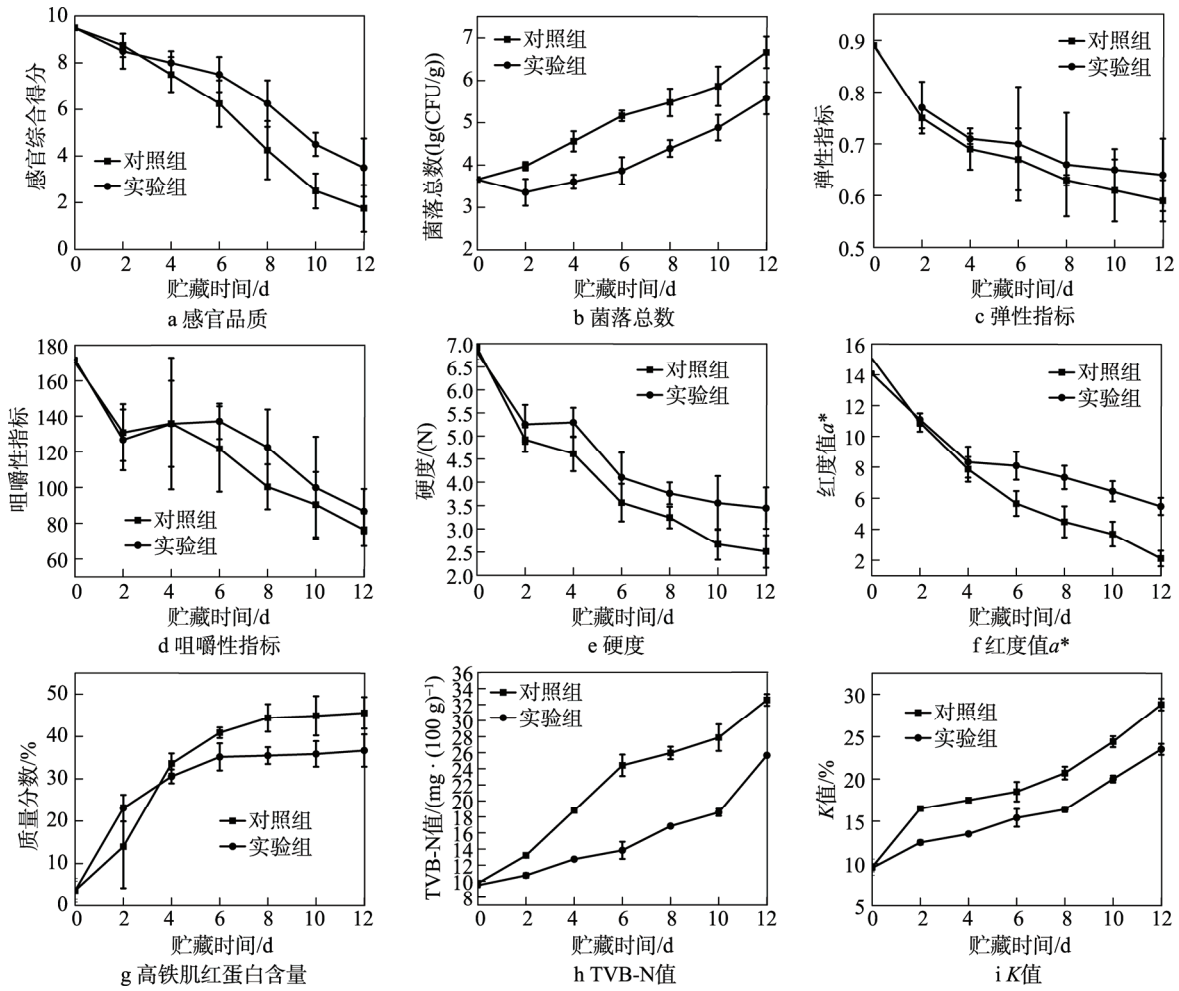

图 2　金枪鱼在贮藏期间各指标的变化

Fig.2 Changes of indexes of tuna during storage

3　结语

通过响应面分析法得到金枪鱼复合保鲜剂的最佳配比中茶多酚、稀释后的芥末溶液（质量分数为 10%）、食醋的质量分数分别为 0.38%，8%，15.69%。经验证试验发现，相较于对照组，实验组将货架期延长了近 4 d，而且该复合保鲜剂所用原料均为可食用品或调味品，实验组在气味、口感等方面更容易被消费者接受，更适合生鱼片的保鲜。

参考文献：

[1] KAMALAKANTH C K, GINSON J, BINDU J, et al. Effect of High Pressure on K-value, Microbial and Sensory Characteristics of Yellowfin Tuna (Thunnus Albacares) Chunks in EVOH Films during Chill Storage[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2011, 12(4): 451—455.

[2] 张越扬，高萌，柳佳娜，等. 酸性电解水冰衣对于冷冻金枪鱼品质的影响研究[J]. 食品工业，2013(12): 34—37.
ZHANG Yue-yang, GAO Meng, LIU Jia-na, et al. Effect of Acidic Electrolyzed Water Coating Ice on Quality of Frozen Tune[J]. The Food Industry, 2013(12): 34—37.

[3] WANG Q F, HOU Y H, YAN P S. Effect of Cold- Active Protease Treatments on Bigeye Tuna (Thunnus obesus) Meat during Chilled Storage[C]// International Conference on Cellular, 2010: 1—7.

[4] 黎柳，谢晶，苏辉，等. 含茶多酚、植酸生物保鲜剂冰对鲳鱼保鲜效果的研究[J]. 食品工业科技，2015, 36(1): 338—343.
LI Liu, XIE Jing, SU Hui, et al. Fresh Keeping Effect of the Icing with Tea Polyphenols and Physic Acid on Pomfret[J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(1): 338—343.

[5] SONG Y, LIU L, SHEN H, et al. Effect of Sodium Alginate-Based Edible Coating Containing Different Anti-oxidants on Quality and Shelf Life of Refrige-

rated Bream (Megalobrama Amblycephala)[J]. Food Control, 2011, 22(3): 608—615.

[6] 左勇, 潘训海, 廖家银. 芥末有效成分抑菌条件的研究[J]. 食品与发酵科技, 2009, 45(6): 28—30.
ZUO Yong, PAN Xun-hai, LIAO Jia-yin. Study on Antibacterial Activity of Effective Composition in Mustard[J]. Food and Fermentation Technology, 2009, 45(6): 28—30.

[7] 杨转琴, 魏红, 曹雯, 等. 大蒜提取液及食醋抑菌作用的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(1): 69—73.
YANG Zhuan-qin, WEI Hong, CAO Wen, et al. Antimicrobial Activity of Vinegar and Garlic Extracts[J]. Food Science, 2008, 29(1): 69—73.

[8] 雷志方, 谢晶, 刘爱芳, 等. 复合保鲜剂优化及其对生食金枪鱼的保鲜效果[J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(10): 170—176.
LEI Zhi-fang, XIE Jing, LIU Ai-fang, et al. The Effect of Complex Preservative on Quality and the Freshness of Tuna and Optimization[J]. Food and Fermentation Industries, 2015, 41(10): 170—176.

[9] 高萌, 张宾, 励建荣, 等. 基于酸性电解水处理的金枪鱼杀菌技术研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(6): 230—234.
GAO Meng, ZHANG Bin, LI Jian-rong, et al. Study on the Sterilization Effect of Acidic Electrolyzed Water on the Tuna[J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(6): 230—234.

[10] 崔竹梅, 汪梅, 蒋云升. 生鱼片食源性安全性评价[J]. 食品科学, 2003, 24(12): 128—131.
CUI Zhu-mei, WANG Mei, JIANG Yun-sheng. Evaluation of Food-derived Safety of Sashimi[J]. Food Science, 2003, 24(12): 128—131.

[11] SC/T 3117—2006, 生食金枪鱼[S].
SC/T 3117—2006, Raw Tuna[S].

[12] GB/T 4789.2—2010, 食品卫生微生物学检验菌落总数测定[S].
GB/T 4789.2—2010, Microbiological Examination of Foodhygiene-Detection of Aerobic Bacterial Count[S].

[13] KRZYWICKI K. The Determination of Haem Pigments in Meat[J]. Meat Science, 1982, 7(1): 29.

[14] SC/T 3032—2007, 水产品中挥发性盐基氮的测定[S].
SC/T 3032—2007, Determination of Total Volatile Basic Nitrogen in Aquatic Products[S].

[15] YOKOYAMA Y, SAKAGUCHI M, KAWAI F, et al. Changes in Concentration of ATP-related Compounds in Various Tissues of Oyster during Ice Storage[J]. Nihon-suisan-gakkai-shi, 2008, 58(11): 2125—2136.

[16] GUO Y C, SHUANG Q H, YAN H Y, et al. Response Surface Methodology with Prediction Uncertainty: A Multi-Objective Optimisationapproach[J]. Chemical Engineering Research and Design, 2012, 90(9): 1235—1244.

[17] JINADASA B K K K, GALHENA C K, LIYANAGE N P P. Histamine Formation and the Freshness of Yellowfin Tuna, Stored at Different Temperatures[J]. Cogent Food & Agriculture, 2015, 1(1): 55—58.

[18] MUELA E, ALONSO V, MORAGO P, et al. Effect of Gas Packaging Conditions on Thawed Thunnus Obesus Preservation[J]. Food Control, 2014(6): 217—224.

[19] 李婷婷, 胡文忠, 励建荣. 茶多酚对冷藏带鱼品质及抗氧化效果的影响[C]// 中国食品科学技术学会年会, 2014.
LI Ting-ting, HU Wen-zhong, LI Jian-rong. Effect of Tea Polyphenols on the Quality of Trichiurus Haumela during Cold Storage[C]// Annual Meeting of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2014.

[20] 王玮, 汤祥明, 金邦荃. 高铁肌红蛋白含量和高铁肌红蛋白还原酶活性与冷鲜肉肉色稳定性关系的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(7): 94—97.
WANG Wei, TANG Xiang-ming, JIN Bang-quan. Study on Correlation of Metmyoglobin Content and Metmyoglobin Reductase Activity with Color Stability of Chilled Pork[J]. Food Science, 2008, 29(7): 94—97.

[21] 杨少玲, 于刚, 戚勃, 等. 3 种保鲜剂对金枪鱼冻藏品质的影响[J]. 广东农业科学, 2015, 42(6): 91—96.
YANG Shao-ling, YU Gang, QI Bo, et al. Effects of three Preservation Agents on Quality of Tuna during Frozen Storage[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2015, 42(6): 91—96.