

冻结方式对中华鲟脂质氧化和肌纤维微观结构的影响

廖锦晗¹, 陈季旺^{1,2,*}, 谭玲¹, 廖鄂^{1,2}, 焦楚壹³

(1.武汉轻工大学食品科学与工程学院, 湖北 武汉 430023; 2.农产品加工与转化湖北省重点实验室(武汉轻工大学), 湖北 武汉 430023; 3.湖北和远气体股份有限公司, 湖北 宜昌 443000)

摘要:为研究中华鲟鱼肉冻藏过程中脂质氧化造成的品质劣变。将中华鲟鱼块分别采用冰柜(-20、-50℃)和液氮(-80、-110℃)冻结后置于-18℃冰柜中冻藏24周,测定中心温度、脂肪质量分数和游离脂肪酸(free fatty acids, FFAs)相对含量、脂肪酸组成、过氧化值(peroxide value, POV)、硫代巴比妥酸反应物(thiobarbituric reactive substances, TBARS)值、荧光化合物含量,观察鱼肉肌纤维微观结构,以探讨不同冻结方式对中华鲟冻藏过程中脂质氧化和肌纤维微观结构的影响。结果显示,随冻藏时间的延长,鱼块脂肪质量分数和多元不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, PUFAs)相对含量下降,FFAs相对含量、POV、TBARS值及饱和脂肪酸(saturated fatty acids, SFAs)、单不饱和脂肪酸(monounsaturated fatty acids, MUFAs)相对含量及荧光化合物含量上升,肌纤维结构间隙变大,肌原纤维断裂。但其中液氮冻结组鲟鱼块的脂肪质量分数和PUFAs相对含量高于冰柜冻结组(冻藏结束时,-20℃冰柜冻结组脂肪质量分数为7.89%,-80℃液氮冻结组脂肪质量分数为9.13%),而POV、TBARS值及FFAs、SFAs、MUFAs相对含量和荧光化合物含量显著低于冰柜冻结组($P<0.05$),且肌纤维结构也保持较完整。以上结果表明,液氮冻结减轻了中华鲟冻藏过程中肌纤维损伤和脂质水解的程度,从而减缓了脂质氧化的速度。

关键词:中华鲟;液氮冻结;冻藏;脂质氧化;肌纤维微观结构

Effects of Freezing Methods on Lipid Oxidation and Microstructure of Muscle Fibers in *Acipenser sinensis*

LIAO Jinhan¹, CHEN Jiawang^{1,2,*}, TAN Ling¹, LIAO E^{1,2}, JIAO Chuyi³

(1. College of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China;

2. Hubei Key Laboratory for Processing and Transformation of Agricultural Products (Wuhan Polytechnic University),

Wuhan 430023, China; 3. Hubei He Yuan Gas Co., Ltd., Yichang 443000, China)

Abstract: This study was executed in order to investigate quality deterioration caused by lipid oxidation during the frozen storage of *Acipenser sinensis*. Fish pieces were stored at -18℃ for 24 weeks after being frozen using a freezer (-20 or -50℃) or liquid nitrogen (-80 or -110℃). The central temperature, fat and free fatty acid (FFA) contents, fatty acid composition, peroxide value (POV), thiobarbituric reactive substance (TBARS) value, and fluorescent compound content were measured and the microstructure of muscle fibers was also observed during the storage period for the purpose of evaluating the influence of freezing methods on lipid oxidation and muscle microstructure in *Acipenser sinensis* during frozen storage. The results showed that with increasing storage time, the fat and polyunsaturated fatty acid (PUFA) contents of the four fish samples decreased, while POV, TBARS value, and the contents of FFAs, saturated fatty acids (SFAs), monounsaturated fatty acids (MUFAs) and fluorescent compounds increased. The gap between muscle fibers increased, which was accompanied by breaking of myofibrils. In addition, the contents of fat and PUFAs in liquid nitrogen frozen samples were significantly higher than those in freezer frozen ones (at the end of storage, the freezer frozen sample frozen at -20℃ contained 7.89% of fat compared to 9.13% for the liquid nitrogen frozen one at -80℃), while POV, TBARS value, and the contents of FFAs,

收稿日期: 2022-09-30

基金项目: 恩施州科技计划研究与开发项目(D20190021)

第一作者简介: 廖锦晗(1998—)(ORCID: 0000-0001-5113-1375),女,硕士研究生,研究方向为水产品加工及贮藏工程。

E-mail: 921500466@qq.com

*通信作者简介: 陈季旺(1970—)(ORCID: 0000-0003-4522-4262),男,教授,博士,研究方向为水产品加工及贮藏工程。

E-mail: jiwangchen1970@126.com

SFAs, MUFAs and fluorescent compounds were significantly lower than those in freezer frozen samples ($P < 0.05$), and the muscle fiber structure was more complete. The above results indicated that liquid nitrogen frozen alleviated the degree of myofibrillar damage and lipid hydrolysis in *Acipenser sinensis* during frozen storage, thereby reducing the speed of lipid oxidation.

Keywords: *Acipenser sinensis*; liquid nitrogen freezing; frozen storage; lipid oxidation; microstructure of muscle fibers

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220930-344

中图分类号: TS254.4

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2023)15-0113-08

引文格式:

廖锦晗, 陈季旺, 谭玲, 等. 冻结方式对中华鲟脂质氧化和肌纤维微观结构的影响[J]. 食品科学, 2023, 44(15): 113-120.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220930-344. <http://www.spkx.net.cn>

LIAO Jinhan, CHEN Jiwang, TAN Ling, et al. Effects of freezing methods on lipid oxidation and microstructure of muscle fibers in *Acipenser sinensis*[J]. Food Science, 2023, 44(15): 113-120. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220930-344. <http://www.spkx.net.cn>

中华鲟 (*Acipenser sinensis*) 为我国特有鲟鱼品种^[1], 鱼肉蛋白质含量高、脂肪含量低, 必需氨基酸种类齐全、比例适宜, 富含不饱和脂肪酸, 且肉质细嫩、风味独特、可食用比例高, 受到消费者的推崇^[2-3]。由于国内人工养殖中华鲟起步较晚, 加工产品种类少, 仍多以活鱼、冰鲜鱼肉销售为主。近年来, 随着人工繁育和养殖技术的发展, 中华鲟养殖产量逐年增加, 2021年全国淡水养殖鲟鱼产量已达121 875 t, 与上年相比增幅达到16.87%^[4]。因此, 亟需提高中华鲟精深加工的水平 and 规模, 保证中华鲟产业健康、可持续发展^[5]。

目前, 市场上中华鲟生鲜产品主要有冻藏保鲜、冰袋保鲜和整条活鱼等运输方式, 运输成本昂贵, 保鲜保质期短; 而且生鲜中华鲟的肌肉组织软嫩、内源蛋白酶活性高, 鱼肉易腐败变质^[6-7]。冷冻贮藏在水产类产品中应用广泛、经济有效。将水产品降温后保持冻结状态贮藏, 可以抑制水产品腐败变质, 延长贮藏时间, 扩大供应范围, 调节市场供需关系^[8-9]。但是在冻藏过程中, 水产品中的不饱和脂肪酸容易氧化, 影响产品色泽, 使水产品特有风味变淡, 产生不良风味等, 也会使水产品营养价值降低, 导致水产品商业价值下降, 减弱了消费者的购买意愿^[10-11]。Shi Yali等^[12]研究-4 °C下冻藏49 d罗非鱼的脂质和蛋白质氧化, 结果显示, 随着冻藏时间的延长, 硫代巴比妥酸反应物(thiobarbituric reactive substances, TBARS)值和共轭烯烃等脂质氧化产物增加, 罗非鱼肉亮度降低, 冷冻罗非鱼品质发生劣变。Romotowska等^[13]通过测定鲭鱼在-18 °C和-25 °C冻藏期间的TBARS值、脂肪和游离脂肪酸(free fatty acids, FFAs)含量和脂肪酸组成发现, 随着冻藏时间的延长, 冷冻鲭鱼的脂质明显降解, 较低的冻藏温度能够延缓鲭鱼中的脂质氧化。

液氮无色无味, 常压下快速汽化, 安全稳定, 不会对食品造成污染。液氮冷冻能够以很短的时间通过最大冰晶生成带, 在食品中快速形成大量分布均匀的细小晶体,

对食品组织结构的破坏程度低, 解冻后能很好地保持原有品质, 使冻结产品具有高的商品价值^[14-15]。前期预实验表明, 冻结方式(冰柜冷冻、液氮冷冻)明显影响了中华鲟冻藏过程中品质和蛋白质的理化性质。本研究采用冰柜(-20、-50 °C)和液氮(-80、-110 °C)冻结中华鲟, 然后置于-18 °C冰柜中冻藏24周, 测定冻藏中华鲟鱼块中心温度、脂肪和FFAs含量、过氧化值(peroxide value, POV)、TBARS值、荧光化合物、脂肪酸组成, 观察鱼肉肌纤维微观结构, 分析冻藏过程中脂质氧化规律, 探讨冻结方式对中华鲟脂质氧化和肌纤维微观结构变化的影响, 旨在为中华鲟的保鲜保质加工提供科学指导。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

中华鲟, 养殖约1年, (1.50±0.25) kg/尾, 由恩施州国硒冷水渔业开发有限公司提供。

石油醚、三氯甲烷、冰乙酸、碘化钾、甲苯、噻乙酸铜、正丁醇(均为分析纯)和正己烷(色谱纯)国药集团化学试剂有限公司; 0.01 mol/L硫代硫酸钠溶液、三氟化硼-甲醇(1:3, V/V) 上海源叶生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

LN2液氮速冻机 科威嘉尼(北京)科技有限公司; DW-60W388超低温冰柜 青岛海尔生物医疗有限公司; S2F-06C脂肪测定仪 浙江托普仪器有限公司; SSN-61热电偶温度计 深圳源恒通科技有限公司; 7890B GC-MS气相色谱-质谱仪 美国安捷伦公司; SU8010高分辨场发射扫描电子显微镜 日本Hitachi公司。

1.3 方法

1.3.1 中华鲟样品的处理

鲜活中华鲟在养殖基地直接宰杀, 用清水冲洗干净

后去头、内脏和鱼鳞，剔除上表皮，清洗表面黏液及血渍后，置于装有冰袋的泡沫箱内迅速运至实验室。

将原料切割成6.5 cm×3.5 cm×1.5 cm大小一致的鱼块，约200 g为一份装入生鲜塑料盒中，随机分为4组，每组10盒，共40盒，并进行标记。将4组鱼块分别于液氮（-110、-80℃）和冰柜（-50、-20℃）中进行冻结，液氮冷冻温度由液氮速冻柜控制液氮喷淋量调节。将热电偶测温计插入鲟鱼块中心测定温度，待中心温度达到-18℃时立即将鱼块转入-18℃冰柜冻藏。冻藏周期为24周，每6周取样，流水解冻后用于测定脂质氧化指标和观察肌纤维微观结构。

1.3.2 中心温度的测定

将热电偶测温计插入鲟鱼块中心，放入液氮速冻机中进行冻结，记录时间和中心温度。冻结结束后，以时间为横坐标、中心温度为纵坐标，绘制液氮（-110、-80℃）和冰柜（-50、-20℃）冻结中华鲟鱼块的冻结曲线。

1.3.3 脂肪质量分数的测定

参考GB 5009.6—2016《食品安全国家标准 食品中脂肪的测定》^[16]中的索氏抽提法。取中华鲟鱼肉于料理机内搅碎，称取（3.0±0.2）g搅碎后的中华鲟鱼肉，移入两端塞入脱脂棉的滤纸筒中。将滤纸筒用脱脂棉线固定后置于抽提筒中，然后将抽提筒置于已烘干至恒质量的接收瓶内。接收瓶内加入约瓶容积2/3的石油醚，60℃水浴加热抽提3.5 h。提取结束后，于60℃水浴加热0.5 h，蒸发接收瓶内多余的石油醚。蒸发完全后置于105℃烘箱中干燥1 h，置于干燥器内冷却至室温后称质量。脂肪质量分数按式（1）计算。

$$\text{脂肪质量分数}/\% = \frac{m_1 - m_0}{m_2} \times 100 \quad (1)$$

式中： m_1 为恒质量接收瓶和脂肪质量/g； m_0 为接收瓶质量/g； m_2 为中华鲟鱼肉质量/g。

1.3.4 FFAs相对含量的测定

参考杨海琦等^[17]的方法，略作修改。称取0.05~0.10 g于1.3.3节中已提取的中华鲟油样品溶于5 mL甲苯中，然后加入1 mL 5 mg/mL吡啶乙酸铜溶液，将混合溶液振荡2 min，室温3 000 r/min离心5 min，取上清液于715 nm波长处测定吸光度。结果以每100 g脂肪中含FFA的质量表示。

1.3.5 POV的测定

参照GB 5009.227—2016《食品安全国家标准 食品中过氧化值的测定》中的滴定法^[18]。称取2~3 g中华鲟油样品（精确至0.001 g），置于250 mL碘量瓶中，加入30 mL三氯甲烷-冰乙酸混合液，轻轻振摇使油样完全溶解。准确加入1 mL饱和碘化钾溶液，塞紧瓶盖，并轻轻振摇0.5 min，在暗处放置3 min。取出加100 mL水，摇匀后立即用0.01 mol/L硫代硫酸钠标准溶液滴定析出的碘，滴定至淡黄色时，加1 mL淀粉指示剂，继续滴定并

振摇至溶液蓝色消失为终点。同时进行空白实验，空白实验所消耗0.01 mol/L硫代硫酸钠溶液体积（ V_0 ）不得超过0.1 mL。POV按式（2）计算。

$$\text{POV}/(\text{g}/100 \text{ g}) = \frac{(V - V_0) \times c \times 0.1269}{m} \times 100 \quad (2)$$

式中： V 为中华鲟油样品消耗的硫代硫酸钠标准溶液体积/mL； V_0 为空白样品消耗的硫代硫酸钠标准溶液体积/mL； c 为硫代硫酸钠标准溶液浓度/（mol/L）； m 为中华鲟油样品质量/g。

1.3.6 TBARS值的测定

参考Özen等^[19]的方法，略作修改。取中华鲟鱼肉于料理机内搅碎，称取2 g搅碎的中华鲟鱼肉，加入20 mL 10%三氯乙酸溶液，均质1 min后过滤。取5 mL滤液加入5 mL 0.02 mol/L硫代巴比妥酸溶液，沸水浴加热20 min，混合物冷却至室温后用分光光度计测定532 nm波长处吸光度。TBARS值表示为中华鲟鱼肉中所含丙二醛质量，按式（3）计算。

$$\text{TBARS值}/(\text{mg}/\text{kg}) = \frac{\rho \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000} \quad (3)$$

式中： ρ 为从标准系列曲线中得到的丙二醛质量浓度/（ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）； V 为中华鲟鱼肉溶液定容体积/mL； m 为中华鲟鱼肉质量/g。

1.3.7 荧光化合物含量的测定

采用Folch等^[20]的方法提取总脂，将10 g中华鲟鱼肉用200 mL三氯甲烷-甲醇（2:1， V/V ）溶解并匀浆。在室温下搅拌15~20 min后用滤纸过滤匀浆物，收集液相。用一定量去离子水清洗收集的液相，涡旋10 s，5 000 r/min离心分离两相。用体积分数50%甲醇溶液冲洗两相交界面两次。将混合液移入分液漏斗中，静置分层3 h，取下层液相，在旋转蒸发器中蒸发下层氯仿相，即得到脂质。

取脂肪提取分离时的水相溶液，分别测定其在393、463、327、415 nm波长处的荧光吸收强度，确定荧光化合物的组成。荧光化合物含量采用荧光比率表示，按式（4）计算。

$$\text{荧光比率} = \frac{\text{RF}_1}{\text{RF}_2} \times 100 \quad (4)$$

式中： RF_1 为激发波长393 nm、发射波长463 nm处的相对荧光强度； RF_2 为激发波长327 nm、发射波长415 nm处的相对荧光强度；其中 $\text{RF} = F/F_{st}$ ， F 为 RF_1 或 RF_2 的荧光强度最大值， F_{st} 为奎宁硫酸溶液在相同波长条件下的荧光强度。

1.3.8 脂肪酸组成的测定

样品甲酯化：取1.3.3节制得的脂肪样品20 mg，氮气吹干，加入2 mL 0.5 mol/L氢氧化钠-甲醇溶液，65℃水浴加热振荡反应30 min，取出冷却后加入2 mL新配制的三氟化硼-甲醇（1:3， V/V ）溶液，于70℃振荡反应

5 min, 取出冷却后加入2 mL正己烷萃取, 同时加入2 mL饱和氢氧化钠溶液促进溶液体系分层, 静置后取上层液过膜移入样品瓶以备分析。

色谱条件: 色谱柱: HP-88 色谱柱 (100 cm×0.25 mm×0.10 μm); 进样量1 μL; 分流比100:1; 进样口温度280 °C; 升温程序: 150 °C保持5 min, 以3 °C/min升至170 °C, 保持5 min, 以3 °C/min升至210 °C, 保持2 min, 最后以10 °C/min升至260 °C, 保持5 min, 载气为氦气 (99.99%), 流速1.2 mL/min。

质谱条件: 传输线温度250 °C, 离子源温度230 °C; 离子化模式为电子电离, 电子能量70 eV, 扫描范围 m/z 50~650; 扫描模式: 全扫描; 溶剂延迟: 5 min。

1.3.9 肌纤维微观结构的观察

挑选解冻后的中华鲟鱼块 (鱼块较厚, 鱼块纹理清晰均匀), 取中华鲟鱼背部肌肉, 沿肌原纤维方向切为3 mm×3 mm×6 mm的鱼块, 使用戊二醛固定肌肉组织, 固定后漂洗, 随后依次使用体积分数50%、70%、80%、90%乙醇溶液和无水乙醇梯度脱水, 中华鲟鱼肌肉样品干燥后使用扫描电子显微镜观察肌原纤维横切面的微观结构, 放大倍数200倍。

1.4 数据处理与分析

采用Origin 2018和SPSS 19.0软件进行数据处理和分析, 每个实验重复3次, 结果以平均值±标准差表示, 采用方差分析进行Duncan检验, $P<0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 冻结过程中中华鲟鱼肉中心温度的变化

在冻结过程中, 通过最大冰晶生成带的时间对水产品品质具有较大影响^[21]。如图1所示, 中心温度达到-18 °C时, 液氮冻结组所用平均时间仅为-50 °C冰柜冻结用时的约1/8, 仅为-20 °C冰柜冻结用时的约1/50, 冻结速率明显加快。4组鲟鱼块通过最大冰晶生成带的时间明显不同, -110、-80 °C液氮冻结和-50、-20 °C冰柜冻结所需时间分别为65、210 s和2 810、19 380 s, 液氮冻结所用平均时间较冰柜冻结缩短了约20~141倍。表明液氮冻结中华鲟鱼块的速率快, 形成的冰晶小, 对肌肉细胞损害小。

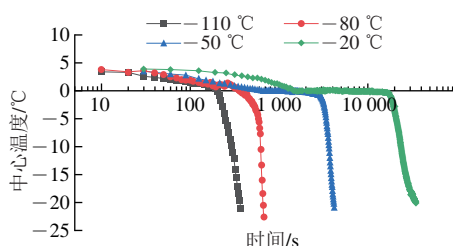
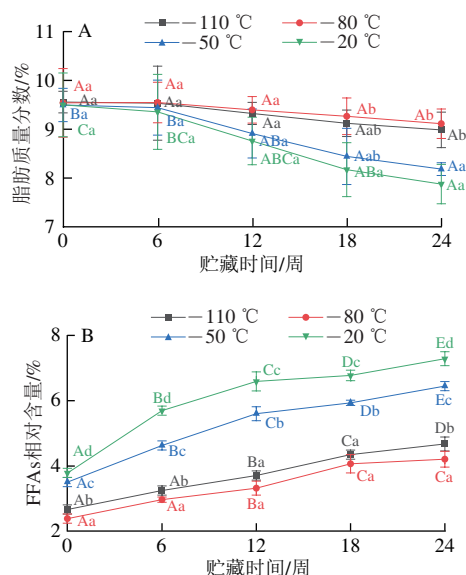


图1 中华鲟冻结过程中中心温度的变化

Fig. 1 Changes in central temperature of *Acipenser sinensis* during frozen storage

2.2 冻结方式对冻藏中华鲟脂肪和FFAs含量的影响

脂肪和FFAs含量是影响鱼肉脂质水解的主要因素之一, 可反映冻藏中华鲟鱼肉脂质的水解程度^[22]。脂质在脂肪酶催化下发生水解反应, 生成甘油和FFAs, 使得鱼肉品质劣变, 促进腥味物质的产生^[23]。如图2A、B所示, 随着冻藏时间的延长, 4组中华鲟鱼块的脂肪质量分数整体呈下降趋势, FFAs相对含量呈上升趋势, 说明脂肪在冻藏过程中不断进行水解。这可能是在冻藏过程中, 中华鲟鱼肉中的冰晶不断增大, 脂质在冰晶的压迫下被挤出肌肉细胞, 从而被脂肪酶水解^[24-25]。



小写字母不同表示相同时间组间差异显著 ($P<0.05$); 大写字母不同表示组内不同时间差异显著 ($P<0.05$)。下同。

图2 冻结方式对中华鲟冻藏过程中脂肪质量分数 (A) 和FFAs相对含量 (B) 的影响

Fig. 2 Effect of freezing methods on fat (A) and free fatty acid (B) contents in *Acipenser sinensis* during frozen storage

在冻藏0周时, 液氮冻结组和冰柜冻结组鲟鱼块脂肪质量分数无显著差异 ($P>0.05$)。冻藏至18周, 冰柜冻结组的脂肪质量分数较初始时显著下降 ($P<0.05$), 且显著低于液氮冻结组 ($P<0.05$)。冻藏结束时, 液氮冻结-110、-80 °C组的脂肪质量分数较其初始时分别下降了5.97%、4.48%, 冰柜冻结-50、-20 °C组的脂肪质量分数分别下降了13.8%、17.1%。冻藏结束时, -20 °C冰柜冻结组脂肪质量分数为7.89%, -80 °C液氮冻结组脂肪质量分数为9.13%。与冰柜冻结组相比, 液氮冻结中华鲟鱼块的脂肪质量分数变化较小, 表明液氮冻结可以延缓冻藏中华鲟鱼肉脂肪的水解。

液氮冻结组鲟鱼块的FFAs相对含量在冻藏过程中缓慢上升, 第24周液氮冻结-110、-80 °C组的FFAs相对含量较第0周分别增加了74.9%、76.1%。冰柜冻结组的FFAs相对含量在贮藏前期快速上升, 后期上升缓慢, 第24周冰柜冻结-50、-20 °C组的FFAs含量较第0周分别

增加了83.8%、92.3%。冻藏过程中，液氮冻结组的FFAs相对含量显著低于冰柜冻结组 ($P < 0.05$)，且在24周前，-110、-80 °C组间无显著差异 ($P > 0.05$)。这进一步表明相对于冰柜冻结，液氮冻结可以延缓冻藏中华鲟鱼肉脂质的水解。

2.3 冻结方式对冻藏中华鲟POV和TBARS值的影响

脂质氧化生成的初级产物是过氧化物，因此POV可以反映中华鲟鱼肉脂质氧化的程度^[26]。如图3A所示，随着冻藏时间的延长，4组中华鲟鱼块的POV呈上升趋势。液氮冻结-110、-80 °C组中华鲟鱼块的POV分别从第0周的0.23、0.21 μmol/kg增加到第24周的0.39、0.37 μmol/kg；冰柜冻结-50、-20 °C的POV分别从第0周的0.28、0.31 μmol/kg增加到第24周的0.49、0.65 μmol/kg。在冻藏过程中，液氮冻结组中华鲟鱼块的POV显著低于冰柜冻结组 ($P < 0.05$)，液氮冻结-110、-80 °C组间无显著差异 ($P > 0.05$)。这是因为冰柜冻结中华鲟鱼块的冰晶较大，过大的冰晶破坏了细胞膜结构，使膜上的非血红铁素被释放、氧自由基转化成羟自由基，加快了脂质氧化，得POV更高^[27-28]。这表明液氮冻结中华鲟鱼块的脂质氧化程度低于冰柜冻结，液氮冻结可延缓冻藏中华鲟鱼肉脂质的氧化。

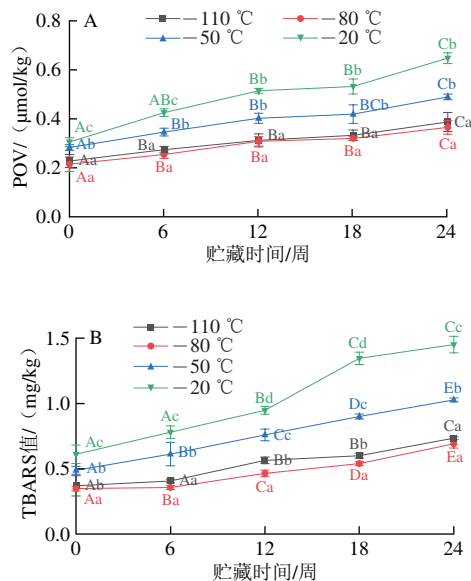


图3 冻结方式对中华鲟冻藏过程中POV (A) 和TBARS值 (B) 的影响
Fig. 3 Effect of freezing methods on POV (A) and TBARS value (B) of *Acipenser sinensis* during frozen storage

TBARS值反映了中华鲟鱼肉脂质氧化次级产物的数量^[29]。如图3B所示，随着冻藏时间的延长，4组中华鲟鱼块的TBARS值呈上升趋势，与Shi Yali等^[12]的研究结果类似。在冻藏过程中液氮冻结-110、-80 °C组和冰柜冻结-50、-20 °C组的TBARS值分别增加了103%、100%、113%、140%。其中液氮冻结组的TBARS值

显著低于冰柜冻结组 ($P < 0.05$)，液氮冻结-110、-80 °C组间TBARS值无显著差异 ($P > 0.05$)，冰柜冻结-50 °C组中华鲟鱼块的TBARS值显著低于冰柜冻结-20 °C组 ($P < 0.05$)，与鲁珺^[30]的研究结果类似。这是因为随着冻藏时间的延长，初级氧化阶段产生的不稳定氢过氧化物降解成醛、酮等物质，冰柜冻结组中华鲟鱼块的脂质在初级氧化阶段氧化程度较高，加速冻藏后期的脂质氧化，次级氧化产物含量迅速增加；同时，因为冰柜冻结过程中氧化暴露时间过长，导致脂肪氧化酶活性高及氧化反应速度快，冻藏后期脂质氧化生成的氢过氧化物能以共价键与含硫蛋白结合，提高了脂质的氧化水平^[31]，进一步表明液氮冻结延缓了冻藏中华鲟鱼肉脂质的氧化。

2.4 冻结方式对冻藏中华鲟荧光化合物含量的影响

冻藏期间，脂质氧化形成的次级产物在脂质与蛋白质的相互作用中与氨基酸侧链反应产生席夫碱，产生的席夫碱含量可利用荧光分光光度计测定^[32]。因此，荧光化合物含量的变化可以间接反映中华鲟鱼肉的脂质氧化程度。如图4所示，随着冻藏时间的延长，4组中华鲟鱼块的荧光化合物含量呈上升趋势。液氮冻结-110、-80 °C组的荧光比率分别从第0周的0.33、0.26增加到第24周的0.70、0.64，在冻藏18周后，-110、-80 °C组间无显著差异 ($P > 0.05$)。冰柜冻结-50、-20 °C组的荧光比率分别从第0周的0.44、0.74增加到第24周的0.96、1.31，在冻藏过程中冰柜冻结-50 °C组的荧光比率显著低于-20 °C组，且冰柜冻结组的荧光比率显著高于液氮冻结组 ($P < 0.05$)。这表明液氮冻结对冻藏过程中中华鲟鱼肉荧光化合物含量有显著影响，液氮冻结能更好地抑制荧光化合物的产生，延缓冻藏过程中中华鲟鱼肉的脂质氧化。

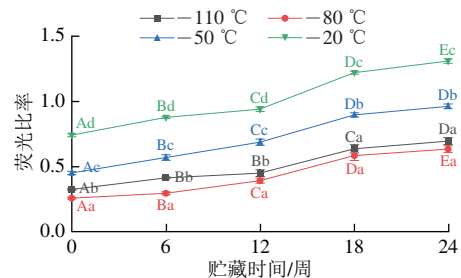


图4 冻结方式对中华鲟冻藏过程中荧光化合物含量的影响
Fig. 4 Effect of freezing methods on fluorescent compounds content in *Acipenser sinensis* during frozen storage

2.5 冻结方式对冻藏中华鲟脂肪酸组成的影响

如表1、2所示，中华鲟鱼肉的不饱和脂肪酸含量最高，约占总脂肪含量的80%，其中不饱和脂肪酸中多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acids, PUFAs) 高于单不饱和脂肪酸 (monounsaturated fatty acids,

表1 冻结方式对中华鲟第0~12周冻藏过程中脂肪酸组成的影响

Table 1 Effect of freezing methods on fatty acid composition in *Acipenser sinensis* during 0–12 weeks of frozen storage

脂肪酸	第0周				第6周				第12周			
	-110 °C	-80 °C	-50 °C	-20 °C	-110 °C	-80 °C	-50 °C	-20 °C	-110 °C	-80 °C	-50 °C	-20 °C
C ₁₄₀	1.25±0.01 ^A	1.26±0.01 ^A	1.25±0.01 ^A	1.28±0.01 ^A	1.37±0.01 ^C	1.36±0.01 ^C	1.4±0.01 ^B	1.45±0.01 ^A	1.45±0.01 ^B	1.43±0.01 ^B	1.48±0.04 ^B	1.64±0.05 ^A
C ₁₅₀	0.21±0.01 ^A	0.21±0.01 ^A	0.21±0.01 ^A	0.22±0.01 ^A	0.23±0.01 ^C	0.22±0.01 ^C	0.26±0.01 ^B	0.29±0.01 ^A	0.24±0.01 ^B	0.26±0.01 ^B	0.27±0.02 ^B	0.30±0.01 ^A
C ₁₆₀	14.7±0.02 ^B	14.7±0.07 ^B	15.0±0.04 ^B	15.7±0.02 ^A	14.9±0.07 ^C	14.8±0.03 ^C	15.6±0.06 ^B	15.9±0.08 ^A	15.0±0.06 ^C	14.9±0.01 ^C	15.3±0.02 ^B	16.0±0.08 ^A
C ₁₇₀	0.33±0.07 ^B	0.32±0.02 ^B	0.39±0.02 ^B	0.48±0.05 ^A	0.34±0.01 ^C	0.36±0.01 ^C	0.41±0.01 ^B	0.44±0.01 ^A	0.38±0.01 ^C	0.40±0.01 ^C	0.48±0.02 ^B	0.54±0.03 ^A
C ₁₈₀	2.61±0.02 ^B	2.89±0.02 ^B	3.30±0.01 ^A	3.29±0.08 ^A	2.85±0.03 ^C	2.93±0.04 ^C	3.31±0.1 ^B	3.59±0.01 ^A	3.00±0.01 ^C	3.03±0.04 ^C	3.28±0.01 ^B	3.57±0.01 ^A
C ₁₆₁	2.34±0.06 ^B	2.35±0.01 ^B	2.52±0.01 ^A	2.57±0.07 ^A	2.85±0.01 ^C	2.85±0.01 ^C	2.98±0.01 ^B	3.04±0.02 ^A	2.97±0.01 ^C	2.96±0.02 ^C	3.04±0.03 ^B	3.68±0.01 ^A
C ₁₈₁	31.90±0.12 ^B	31.50±0.01 ^B	33.40±0.34 ^A	33.40±0.29 ^A	32.00±0.16 ^C	31.90±0.01 ^C	33.80±0.01 ^B	34.30±0.08 ^A	32.60±0.04 ^C	32.60±0.03 ^C	35.30±0.05 ^B	36.50±0.11 ^A
C ₁₈₂	30.90±0.01 ^A	31.30±0.13 ^A	29.80±0.28 ^B	29.90±0.41 ^B	30.80±0.19 ^A	31.00±0.01 ^B	29.20±0.01 ^B	28.40±0.21 ^C	30.60±0.01 ^B	30.90±0.03 ^A	28.60±0.08 ^C	26.10±0.13 ^D
C ₁₈₃	3.69±0.01 ^A	3.6±0.11 ^{AB}	3.40±0.01 ^{BC}	3.20±0.13 ^C	3.57±0.01 ^A	3.41±0.01 ^B	3.32±0.07 ^B	3.14±0.01 ^C	3.54±0.01 ^A	3.39±0.07 ^A	3.04±0.05 ^B	3.04±0.14 ^B
C ₂₀₄	2.83±0.04 ^A	2.66±0.04 ^A	2.29±0.01 ^B	2.24±0.01 ^C	2.37±0.01 ^A	2.36±0.01 ^A	1.91±0.03 ^B	2.01±0.02 ^C	1.89±0.02 ^A	1.75±0.01 ^B	1.49±0.03 ^C	1.37±0.01 ^D
C ₂₀₅	2.63±0.04 ^A	2.65±0.01 ^A	2.39±0.01 ^B	2.11±0.01 ^C	2.45±0.01 ^A	2.45±0.02 ^A	2.03±0.01 ^B	2.21±0.01 ^C	2.29±0.01 ^A	2.38±0.01 ^A	2.28±0.01 ^B	2.07±0.04 ^C
C ₂₂₆	6.58±0.04 ^A	6.57±0.01 ^A	6.07±0.01 ^B	5.6±0.09 ^C	6.33±0.02 ^A	6.31±0.02 ^A	5.82±0.01 ^B	5.20±0.06 ^C	6.08±0.04 ^A	5.99±0.03 ^A	5.50±0.01 ^B	5.22±0.03 ^C
∑SFAs	19.10±0.05	19.30±0.01	20.10±0.06	21.00±0.14	19.70±0.05	19.70±0.06	20.90±0.05	21.70±0.12	20.00±0.05	20.00±0.09	20.80±0.05	22.10±0.09
∑MUFAs	34.30±0.06	33.90±0.01	35.90±0.35	36.00±0.36	34.90±0.16	34.80±0.01	36.80±0.02	37.40±0.10	35.60±0.04	35.50±0.01	38.30±0.02	40.20±0.09
∑PUFAs	46.60±0.02	46.80±0.01	44.00±0.3	43.00±0.50	45.50±0.20	45.50±0.06	42.30±0.03	40.90±0.22	44.40±0.09	44.40±0.10	40.90±0.04	37.80±0.18

注：SFAs.饱和脂肪酸（saturated fatty acids）；同行大写字母不同表示相同时间组间显著差异（ $P < 0.05$ ）。下同。

表2 冻结方式对中华鲟第18~24周冻藏过程中脂肪酸组成的影响

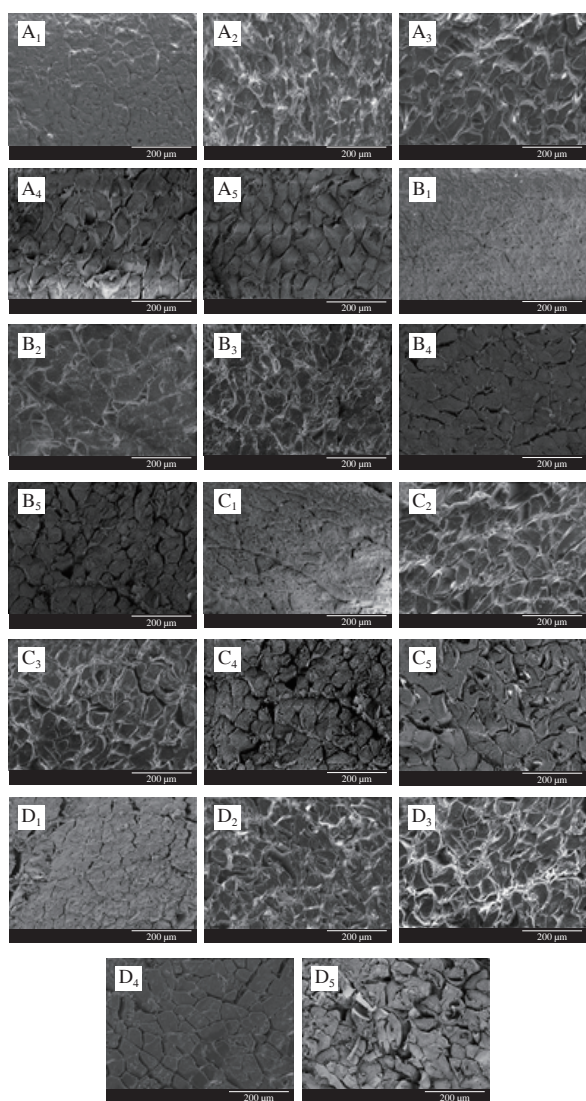
Table 2 Effect of freezing methods on fatty acid composition in *Acipenser sinensis* during 18–24 weeks of frozen storage

脂肪酸	第18周				第24周			
	-110 °C	-80 °C	-50 °C	-20 °C	-110 °C	-80 °C	-50 °C	-20 °C
C ₁₄₀	1.54±0.01 ^C	1.56±0.01 ^C	1.74±0.01 ^B	1.78±0.01 ^A	1.69±0.01 ^C	1.66±0.01 ^C	1.84±0.03 ^B	1.98±0.02 ^A
C ₁₅₀	0.28±0.01 ^{BC}	0.26±0.01 ^C	0.30±0.01 ^B	0.33±0.01 ^A	0.30±0.01 ^B	0.31±0.01 ^B	0.32±0.01 ^B	0.37±0.01 ^A
C ₁₆₀	15.1±0.06 ^C	15.1±0.07 ^C	15.9±0.09 ^B	16.6±0.01 ^A	15.6±0.01 ^B	15.8±0.01 ^B	16.8±0.02 ^A	17.5±0.02 ^A
C ₁₇₀	0.42±0.01 ^C	0.42±0.01 ^C	0.61±0.01 ^B	0.67±0.03 ^A	0.44±0.01 ^C	0.44±0.01 ^C	0.71±0.04 ^B	0.85±0.01 ^A
C ₁₈₀	3.20±0.03 ^C	3.11±0.01 ^B	3.41±0.03 ^A	3.43±0.01 ^A	3.39±0.02 ^B	3.26±0.01 ^B	3.60±0.04 ^A	3.63±0.09 ^A
C ₁₆₁	3.08±0.05 ^C	3.09±0.04 ^C	3.56±0.04 ^B	3.74±0.01 ^A	3.20±0.01 ^B	3.07±0.07 ^B	3.91±0.04 ^A	3.94±0.05 ^A
C ₁₈₁	33.10±0.05 ^C	33.10±0.03 ^C	37.40±0.01 ^B	38.90±0.04 ^A	33.60±0.01 ^C	33.50±0.02 ^D	38.00±0.01 ^B	40.50±0.04 ^A
C ₁₈₂	30.40±0.01 ^B	30.70±0.03 ^A	25.80±0.01 ^C	24.20±0.01 ^D	29.50±0.09 ^B	29.80±0.08 ^A	24.30±0.05 ^C	22.10±0.04 ^D
C ₁₈₃	3.21±0.01 ^B	3.29±0.01 ^A	2.69±0.01 ^C	2.30±0.01 ^D	3.04±0.04 ^A	3.01±0.01 ^A	2.91±0.01 ^B	2.37±0.01 ^C
C ₂₀₄	1.70±0.01 ^A	1.74±0.01 ^A	1.69±0.01 ^A	1.41±0.01 ^B	1.68±0.01 ^A	1.61±0.01 ^A	1.41±0.01 ^B	1.43±0.01 ^C
C ₂₀₅	2.04±0.02 ^A	2.05±0.02 ^A	1.91±0.01 ^B	1.80±0.01 ^C	2.07±0.01 ^A	2.08±0.01 ^A	1.39±0.01 ^B	1.09±0.01 ^C
C ₂₂₆	5.95±0.02 ^B	5.67±0.01 ^A	5.05±0.01 ^C	4.86±0.01 ^D	5.57±0.03 ^A	5.49±0.01 ^A	4.82±0.01 ^B	4.24±0.01 ^C
∑SFAs	20.50±0.04	20.40±0.08	22.00±0.08	22.80±0.04	21.40±0.01	21.50±0.01	23.20±0.01	24.30±0.07
∑MUFAs	36.20±0.10	36.20±0.08	40.90±0.04	42.70±0.05	36.80±0.01	36.60±0.09	41.90±0.03	44.40±0.01
∑PUFAs	43.30±0.06	43.40±0.01	37.10±0.05	34.60±0.01	41.80±0.01	42.00±0.10	34.90±0.03	31.30±0.06

MUFAs），含量最高的脂肪酸是油酸（C_{18:1}），其次是亚油酸（C_{18:2}）和棕榈酸（C_{16:0}），这与宋敏^[33]在冻结方式和低盐腌制对鲟鱼片品质影响研究中的结果类似。随着冻藏时间的延长，中华鲟鱼肉PUFAs的相对含量减少，MUFAs和SFAs的相对含量增加。 Ω -3多不饱和脂肪酸的融化温度在-11（ α -亚麻酸）~ -54 °C（二十碳五烯酸）之间，因此大部分脂肪酸在冷冻贮藏下呈液态，而液体层主要存在于脂肪晶体表面，随着冰晶的增大，变形脂肪晶体受到挤压，使这些液态脂肪酸更易发生氧化^[34]。冻藏24周时，液氮-110、-80 °C冻结组和冰柜-50、-20 °C冻结组中华鲟鱼肉PUFAs相对含量分别较第0周降低了10.3%、10.3%、20.7%、27.2%，液氮冻结组中华鲟鱼肉PUFAs相对含量明显高于冰柜冻结组。这表明中华鲟冻藏过程中主要是PUFAs发生氧化降解，液氮冻结降低了冻藏中华鲟鱼肉PUFAs氧化降解的程度。

2.6 冻结方式对冻藏中华鲟肌纤维的微观结构的影响

如图5所示，冻藏第0周，4组鲟鱼块肌纤维横切面差异不明显，切面平整，肌纤维排列紧密，冰柜冻结组的肌肉组织有细微间隙。随着冻藏时间的延长，4组鲟鱼块肌肉组织的微观结构均出现不同程度的变化：从冻藏第12周开始，冰柜冻结组肌肉组织的间隙变大；冻藏第24周，冰柜冻结组的肌纤维排列松散，间隙明显增大。相对于冰柜冻结组，液氮冻结组肌肉组织微观结构变化不明显，冻藏第18周肌肉组织才开始出现少量间隙，但肌纤维排列仍然整齐。这是因为在冻结和冻藏过程中，冰晶的形成和生长导致肌肉组织结构受到不同程度的机械损伤，液氮冻结形成的细小冰晶减少了肌肉组织损伤。该结果与唐佳楣等^[35]研究冻结方式对冻藏大黄鱼品质影响的结果类似。鱼肉肌纤维微观结构变化进一步验证了液氮冻结减轻了中华鲟冻藏过程中脂质的水解，从而减缓了脂质氧化的速率。



A~D.分别表示-110、-80、-50、-20℃；
下标1~5.分别表示贮藏0、6、12、18、24周。

图5 冻结方式对中华鲟冻藏过程中肌肉组织微观结构的影响
Fig.5 Effect of freezing methods on microstructure of muscle in *Acipenser sinensis* during frozen storage

3 结论

本研究证明了冻结方式可显著影响中华鲟冻藏过程中脂质的水解和氧化。相比冰柜冻结，液氮冻结显著提升了热交换速率，使鱼块迅速降温，缩短了鱼肉通过最大冰晶生成带的时间，从而减小了鱼肉中的冰晶尺寸，对中华鲟肌肉组织结构的机械损伤更小，表现出肌纤维排列紧密和整齐，延缓了脂质的水解，使冻藏中华鲟鱼肉的脂肪质量分数较高。本研究认为，中华鲟冻藏过程中主要是PUFAs发生氧化，而液氮冻结比冰柜冻结更好地抑制了PUFAs的氧化，因此冻藏过程中中华鲟鱼肉的POV、TBARS值和荧光化合物含量低，脂质水解和氧化

程度低，冻藏品质好。该研究可为中华鲟的冻藏保鲜保质与加工提供理论和技术支撑。

参考文献：

- [1] 周晓华. 中国鲟鱼保护与产业发展管理[J]. 中国水产, 2019(9): 34-39.
- [2] 唐征县, 薛洋, 杨成年, 等. 重庆市鲟鱼养殖现状及可持续发展建议[J]. 中国水产, 2021(11): 68-70.
- [3] NOMAN A, JIANG Q X, XU Y S, et al. Effects of ultrasonic, microwave, and combined ultrasonic-microwave pretreatments on the enzymatic hydrolysis process and protein hydrolysate properties obtained from Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*)[J]. Food Biochemistry, 2020, 44(8): e13292. DOI:10.1111/jfbc.13292.
- [4] 农业农村部, 渔业渔政管理局全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 2022中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2022: 24-25.
- [5] 储倩. 醇溶性鲟鱼软骨多肽的制备及抗炎活性研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2021: 8-9. DOI:0.27170/d.cnki.gjsuu.2021.000496.
- [6] ZANG J H, XU Y S, XIA W S, et al. The impact of desmin on texture and water-holding capacity of ice-stored grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fillet[J]. Trends in Food Science & Technology, 2016, 45(1): 130-146. DOI:10.1111/tjfs.13302.
- [7] HUNG S S O. Recent advances in sturgeon nutrition[J]. Animal Nutrition, 2017, 3(3): 191-204. DOI:10.1016/j.aninu.2017.05.005.
- [8] 李秀霞, 刘孝芳, 刘宏影, 等. 超声波辅助冷冻与低温速冻对海鲈鱼冰晶形态及冻藏期间鱼肉肌原纤维蛋白结构的影响[J]. 中国食品学报, 2021, 21(10): 169-176. DOI:10.16429/j.1009-7848.2021.10.019.
- [9] SAHARI M A, PIRESTANI S, BARZEGAR M. Effect of frozen storage on quality changes of five fish species from South caspiansea[J]. Current Nutrition & Food Science, 2013, 9(4): 315-320. DOI:10.2174/15734013113099990004.
- [10] 杜宇凡, 姜晴晴, 施文正, 等. 冷冻水产品脂肪和蛋白质氧化及其控制措施研究进展[J]. 食品工业科技, 2022, 43(6): 429-435. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2021030282.
- [11] 王灵昭, 王善宇, 简冲, 等. 水产品加工与储藏过程中脂质氧化及其对品质影响的研究进展[J]. 江苏海洋大学学报(自然科学版), 2021, 30(2): 42-49.
- [12] SHI Yali, WEI Peiyu, SHI Qiuge, et al. Quality changes and deterioration mechanisms in three parts (belly, dorsal and tail muscle) of tilapia fillets during partial freezing storage[J]. Food Chemistry, 2022, 385: 132503. DOI:10.1016/j.foodchem.2022.132503.
- [13] ROMOTOWSKA P E, KARLSDOTTIR M G, GUDJONSDOTTIR M, et al. Influence of feeding state and frozen storage temperature on the lipid stability of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*)[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2016, 51(7): 1711-1720. DOI:10.1111/ijfs.13146.
- [14] TAN M T, MEI J, XIE J. The formation and control of ice crystal and its impact on the quality of frozen aquatic products: a review[J]. Crystals, 2021, 11(1): 68-85. DOI:10.3390/CRYST11010068.
- [15] 周俊鹏, 朱萌, 章蔚, 等. 不同冷冻方式对淡水鱼品质的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(17): 247-254. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20180913-137.
- [16] 国家卫生和计划生育委员会. 食品中脂肪的测定: GB 5009.6—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 1-13.
- [17] 杨海琦, 陈季旺, 徐言, 等. 冻结及冻藏温度对小龙虾冻藏过程中脂质氧化的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(23): 220-227. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20211206-07.

- [18] 国家卫生和计划生育委员会. 食品中过氧化值的测定: GB 5009.227—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 1-8.
- [19] ÖZEN B Ö, EREN M, PALA A, et al. Effect of plant extracts on lipid oxidation during frozen storage of minced fish muscle: Effect of plant extracts on lipid oxidation in minced fish muscle[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2011, 46(4): 724-731. DOI:10.1111/j.1365-2621.2010.02541.x.
- [20] FOLCH J, LEES M, SLOANE S G H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues[J]. Journal of Biological Chemistry, 1957, 226(1), 497-509. DOI:0.1016/S0021-9258(18)64849-5.
- [21] PAN B S, YEH W T. Biochemical and morphological changes in grass shrimp (*Penaeus monodon*) muscle following freezing by air blast and liquid nitrogen methods[J]. Journal of Food Biochemistry, 1993, 17(3): 147-160. DOI:10.1111/j.1745-4514.1993.tb00464.x.
- [22] KARLSDOTTIR M G, SVEINSDOTTIR K, KRISTINSSON H G, et al. Effects of temperature during frozen storage on lipid deterioration of saithe (*Pollachius virens*) and hoki (*Macruronus novaezelandiae*) muscles[J]. Food Chemistry, 2014, 156: 234-242. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.01.113.
- [23] 毛俊龙. 茶黄素对大黄鱼贮藏过程中品质特性的影响作用[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2021: 20-40. DOI:10.27747/d.cnki.gzjhy.2021.000195.
- [24] CHAIJIAN M, BENJAKUL S, VISESSANGUAN W, et al. Changes of lipids in sardine (*Sardinella gibbosa*) muscle during iced storage[J]. Food Chemistry, 2006, 99(1): 83-91. DOI:10.1016/j.foodchem.2005.07.022.
- [25] BARTHET V J, GORDON V, DAUN J K. Evaluation of a colorimetric method for measuring the content of FFA in marine and vegetable oils[J]. Food Chemistry, 2008, 111(4): 1064-1068. DOI:10.1016/j.foodchem.2008.05.026.
- [26] 白京, 臧明伍, 乔晓玲, 等. 拉曼光谱快速测定冷冻猪肉酸价和过氧化值[J]. 食品科学, 2023, 44(8): 301-306. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220422-286.
- [27] 刘文博, 柯志刚, 徐霞, 等. 镀冰衣对鲮鱼冷冻贮藏过程中鲜度品质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(17): 214-221. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.032098.
- [28] TIAN J, WALAYAT N, DING Y, et al. The role of trifunctional cryoprotectants in the frozen storage of aquatic foods: Recent developments and future recommendations[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2022, 21(1): 321-339. DOI:10.1111/1541-4337.12865.
- [29] 张建友, 赵瑜亮, 张梦雨, 等. 不同贮藏温度酱鸭品质变化及其货架期预测[J]. 食品科学, 2019, 40(5): 250-257. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20180102-018.
- [30] 鲁琨. 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: 29-30; 59-60.
- [31] PIGOTT G M, TUCKER B W. Science opens new horizons for marine lipids in human nutrition[J]. Food Reviews International, 1987, 3(1): 105-138. DOI:10.1080/87559128709540809.
- [32] HEMATYAR N, RUSTAD T, SAMPELS S, et al. Relationship between lipid and protein oxidation in fish[J]. Aquaculture Research, 2019, 50(5): 1393-1403. DOI:10.1111/are.14012.
- [33] 宋敏. 冻结方式和低盐腌制对鲷鱼片品质影响研究[D]. 无锡: 江南大学, 2018: 28-30.
- [34] TOLSTOREBROV I, EIKEVIK T M, BANTLE M. Effect of low and ultra-low temperature applications during freezing and frozen storage on quality parameters for fish[J]. International Journal of Refrigeration, 2016, 63: 37-47. DOI:10.1016/j.ijrefrig.2015.11.003.
- [35] 唐佳楣, 廖媛媛, 汤海青, 等. 不同冻结方法对大黄鱼冻藏期间品质的影响[J]. 宁波大学学报(理工版), 2019, 32(6): 35-42. DOI:10.3969/j.issn.1001-5132.2019.06.007.