

壳聚糖季铵盐复合薄荷提取物涂膜对冷藏草鱼片品质变化的影响

张 晋^{1,2}, 孙 永², 王珊珊², 刘 楠², 崔柯鑫², 周德庆^{2*}

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306; 2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛海洋科学与技术试点国家实验室海洋药物与生物制品功能实验室, 青岛 266071)

摘 要: 目的 研究新型壳聚糖季铵盐复合薄荷提取物涂膜保鲜方法对 4 °C 下冷藏草鱼鱼片品质的影响。

方法 设置壳聚糖季铵盐涂膜组、壳聚糖季铵盐复合薄荷提取物涂膜组与空白对照组 3 组实验, 以 pH 值、离心损失率、色差值、硫代巴比妥酸值、挥发性盐基氮含量、K 值、肌原纤维蛋白含量、活性巯基含量、Ca²⁺-ATP 酶活性、菌落总数、感官评价、电子鼻分析、相关性分析等评价不同涂膜材料对冷藏草鱼肉品质变化的影响。

结果 2 种涂膜材料在贮藏前期可有效抑制蛋白劣变, 通过感官评分结合各品质劣变评价指标得出壳聚糖季铵盐复合薄荷提取物涂膜组与壳聚糖季铵盐涂膜组可分别延长冷藏草鱼货架期 4.5 与 3 d。通过电子鼻结合感官(气味)评分得出, 2 种涂膜均能有效抑制草鱼片气味劣变, 而壳聚糖季铵盐复合薄荷提取物涂膜组抑制作用更为显著($P < 0.05$)。 **结论** 应用壳聚糖季铵盐作为涂膜材料可有效提高冷藏草鱼片货架期, 同时改善壳聚糖只溶于稀酸不溶于水的特性及其有限的抗菌性, 薄荷提取物的加入可进一步延长货架期同时有助于提高涂膜材料对于脂肪氧化的抑制作用以及改善草鱼固有气味。

关键词: 壳聚糖季铵盐; 薄荷提取物; 草鱼; 冷藏; 品质变化

Effects of chitosan quaternary ammonium salt compound mint extract coating on the quality change of refrigerated grass carp fillets

ZHANG Jin^{1,2}, SUN Yong², WANG Shan-Shan², LIU Nan², CUI Ke-Xin², ZHOU De-Qing^{2*}

(1. College of Fishers and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Laboratory of Marine Drugs and Bioproducts Products, Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Qingdao 266071, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the effects of a new coating method of chitosan quaternary ammonium salt compound mint extract on the quality of grass carp fillets in cold storage at 4 °C. **Methods** The 3 experiments were set up in the experiment of chitosan quaternary ammonium salt coating group, chitosan quaternary ammonium salt compound mint extract coating group and blank control group. The influences of the quality change of different coating materials to grass carp fillets of refrigeration were evaluated with pH, centrifugal loss rate, color difference value, thiobarbituric acid reactive substances, volatile base nitrogen content, K value, myofibril protein content,

基金项目: 中国水产科学研究院基本科研业务费资助项目(2020XT0502)、烟台市科技计划项目(2019ZDCX011)

Fund: Supported by the Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund, CAFS (2020XT0502), and Science and Technology Program of Yantai (2019ZDCX011)

***通信作者:** 周德庆, 博士, 研究员, 主要研究方向为水产品资源加工利用与质量安全。E-mail: zhoudq@ysfri.ac.cn

***Corresponding author:** ZHOU De-Qing, Ph.D, Professor, Yellow Sea Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, No.106, Nanjing Road, Qingdao 266071, China. E-mail: zhoudq@ysfri.ac.cn

active sulfhydryl content, Ca^{2+} -ATPase activity, total number of colonies, sensory evaluation, electronic nose analysis and correlation analysis to determinate. **Results** The 2 coating materials could effectively inhibit protein deterioration in the early stage of storage. According to the sensory score and the quality deterioration evaluation indicators, the chitosan quaternary ammonium salt compound mint extract coating group and the chitosan quaternary ammonium salt coating film could extend the shelf life of refrigerated grass carp fillets by 4.5 and 3 d, respectively. The electronic nose combined with sensory (odor) score showed that both coatings could effectively inhibit the deterioration of the odor of grass carp fillets, while chitosan quaternary ammonium salt compound mint extract coating group was more significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The use of chitosan quaternary ammonium salt as a coating material can effectively increase the shelf life of frozen grass carp fillets, and at the same time improve the characteristics of chitosan that is only soluble in dilute acid and insoluble in water and its limited antibacterial properties. The addition of mint extract can further prolong the shelf life, improve the inhibition of lipid oxidation of the coating material, and improve the inherent odor of grass carp.

KEY WORDS: chitosan quaternary ammonium salt; mint extract; grass carp; refrigeration; quality change

0 引 言

草鱼作为中国淡水鱼产业中的重要品种,其生长速度快、营养价值高,2019年草鱼养殖产量达到553.31万t,在全国淡水养殖鱼类中占比最高,为21.72%,深受我国南北方广大消费者的喜爱^[1]。目前随着冷链物流、在线购物的发展以及消费者群体的变化,市场对于预加工鲜鱼片的需求逐渐增大。然而即使在冷藏条件下,由于微生物繁殖、酶的降解作用、脂肪氧化以及蛋白质变性都易导致鲜鱼片的腐败变质,致使感官可接受度降低^[2]。

生物涂膜保鲜作为一种简易、高效方式,近年来被广泛用于水产品保鲜中。相关研究,包括植物提取物以及乳酸链球菌素等在内的天然抗菌剂已经被证实具有显著的抗菌性以及可降解性^[3],特别是壳聚糖作为具有生物可降解性、生物相容性、良好抑菌活性的高分子生物聚合物^[4],广泛应用于各类产品的保鲜。但是壳聚糖只溶于稀酸不溶于中性和碱性溶液的特性及其有限的抗菌性使其应用具有一定的局限性,季铵盐基团的引入大幅提高其水溶性和抗菌性^[5]。薄荷(*Mentha haplocalyx* Briq.)为唇形科薄荷属(*Mentha* L.)多年生宿根草本植物,被广泛应用于食品、化妆品、香料以及烟草行业^[6]。有研究者将其作为风味调料添加于糖果、饮料等产品中^[7]。KANATT等^[8]将壳聚糖与薄荷的混合物用作肉类及其制品的天然防腐剂,黎剑辉等^[9]发现壳聚糖季铵盐相较于壳聚糖对食品保鲜效果更好,赵盼等^[10]利用壳聚糖衍生物研制了抗氧化和抑菌的复合型天然保鲜剂。不同浓度壳聚糖对于草鱼片保鲜效果已有前人研究^[11],但单纯壳聚糖只溶于稀酸不溶于水且抗菌性有限的,鉴于此本研究采用壳聚糖季铵盐,以改善以上缺点,加入薄荷提取物提高涂膜材料对于脂肪氧化的抑制作用,通过比较几种主要品质指标变化,探索添加薄荷提取物的壳聚糖季铵盐生物涂膜对冷藏草鱼片的影响,以期生物

保鲜在淡水鱼鱼片的实际应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

鲜活草鱼[平均体重(2 ± 0.2) kg/条,山东省青岛市胶南市场];薄荷提取物,为唇形科植物薄荷的地上部分的10:1(m:m)比例提取物(西安沣禾生物科技有限公司);壳聚糖季铵盐(取代度83%,平均分子量250 kDa,陕西塞恩生物科技有限公司)。

氢氧化钠、盐酸、硫酸、硼酸、氯化钾、三氯乙酸、乙醇、溴甲酚绿、甲基红、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、2-硫代巴比妥酸(thiobarbituric acid reactive substances, TBA)(分析纯)、平板计数琼脂(国药集团化学试剂有限公司);磷酸盐缓冲液(pH=6.8,北京雷根生物技术有限公司);甲醇(色谱级,瑞典Oceanpak公司); Ca^{2+} -ATP酶试剂盒(南京建成生物工程研究所);5,5'-二硫代双(2-硝基)苯甲酸[5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid), DTNB](美国Sigma公司)。

T18匀浆机[艾卡(广州)仪器设备有限公司];YS3010光栅分光测试仪(深圳市三恩时科技有限公司);HH-6数显恒温水浴锅(常州国华电器有限公司);FE20 pH计(上海梅特勒-托利多科学仪器有限公司);Neofuge 15R高速冷冻离心机(上海力申科学仪器有限公司);UV1102II单光束紫外/可见分光光度计(上海天美科学仪器有限公司);Agilent 1260 Infinity 高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司);Isensoinose电子鼻(上海瑞玢智能科技有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 涂膜溶液制备及样品处理

(1) 抑菌保鲜溶液的制备

根据余达威^[11]研究的涂膜溶液最适浓度,设计2%壳聚糖季铵盐(chitosan quaternary ammonium salt, HACC)、2%壳聚

糖季铵盐+1%薄荷提取物(HACC+mint) 2 个实验组及对照组(Control)。分别将 60 g 壳聚糖季铵盐溶于 3 L 去离子水中制备 2%HACC 溶液, 将一定量的 60 g 壳聚糖季铵盐与 30 g 薄荷提取物按比例溶于 3 L 去离子水中制备 2%HACC+1%mint 溶液, 室温条件下磁力搅拌 1 h 至溶液完全溶解, 预冷至 4 °C。

(2)样品处理

鲜活草鱼敲击致死, 去头去鳞去内脏, 用无菌去离子水冲洗干净, 取鱼背部白肉切成约 4 cm×3 cm×1.5 cm 鱼片, 经去离子水冲洗干净沥干后平均分成 3 组。以 1:5 (m:V) 比例分别浸渍于上述涂膜溶液或无菌去离子水中, 浸泡 5 min 后取出沥干, 用聚乙烯自封袋分袋包装后置于 4 °C 冷藏, 每隔 3 d 取样一次。

1.2.2 pH 测定

参考 GB 5009.237—2016《食品安全国家标准 食品 pH 值的测定》规定的方法进行检测。

1.2.3 离心损失率测定

参考赵峰等^[12]的方法, 称取 2 g 左右鱼肉, 滤纸包裹放入 50 mL 离心管中, 4 °C、3000 r/min 离心 10 min, 取出鱼肉, 称量离心后鱼肉质量, 计算离心前后质量比率, 取 3 次平均值。

1.2.4 色差值的测定

参考胡亚芹等^[13]的方法, 固定 3 个检测点, 选择光栅分光测色仪的包含镜面正反射光(specular component include, SCI)测量模式, 测量各点的色度值 W(白度值)、L*(亮度)、a*(红度)和 b*(黄度)。

1.2.5 挥发性盐基氮含量的测定

参考 GB 5009.228—2016《食品安全国家标准 食品中挥发性盐基氮的测定》规定的方法, 采用自动凯氏定氮仪法进行测定。

1.2.6 TBA 值的测定

参考 KHAN 等^[14]的方法, 取 2.00 g 绞碎的鱼肉于 50 mL 离心管中, 依次加入 10%三氯乙酸 8 mL、蒸馏水 8 mL, 混匀, 匀浆 4000 r/min×30 s×4 次, 再 5000 r/min 离心 5 min, 双层滤纸过滤。取 4 mL 滤液于试管中, 加入 1 mL 0.01 mol/L 的 TBA, 混匀, 沸水浴 40 min, 取出冷却至室温, 于 532 nm 处测定吸光度。

1.2.7 K 值测定

ATP 关联化合物测定参照余达威^[11]的方法。取 2 g 搅碎样品置于离心管中, 加入 7.5 mL 预冷 0.6 mol/L 高氯酸溶液均质 2 min。匀浆在 10000 g 离心力和 4 °C 条件下离心 10 min, 取上清液。上述步骤重复操作一次, 合并上清液。用 1 mol/L 和 10 mol/L 的 KOH 溶液将提取的上清液 pH 值调至 6.5~6.8。将调节 pH 值后的溶液在 4 °C 条件下离心, 后取上清液。白色沉淀用预冷去离子水洗涤, 离心。合并 2 次得到的上清液并用去离子水定容至 25 mL。待测样液用 0.22 μm 水系膜过滤后进行高效液相色谱仪测定分析。通过与标准品峰面积比较得到样品中三磷酸腺苷

(5'-adenylate triphosphate, ATP)关联化合物含量。K 值计算公式如下:

$$K \text{ value}(\%) = \frac{W_{\text{HxR}} + W_{\text{Hx}}}{W_{\text{ATP}} + W_{\text{ADP}} + W_{\text{AMP}} + W_{\text{IMP}} + W_{\text{HxR}} + W_{\text{Hx}}} \times 100 \quad (1)$$

其中 W_{ATP} 、 W_{ADP} 、 W_{AMP} 、 W_{IMP} 、 W_{HxR} 和 W_{Hx} 是鱼肉中 6 种核苷酸的浓度(mol/g)。

ATP 关联化合物高效液相色谱测定条件: 采用 Agilent ZORBAX Extend-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm)和 Agilent 1260 Infinity 紫外可见检测器; 检测波长 254 nm; 柱温 30 °C; 进样量 10 μL; 流动相 A 液为 pH=6.8 的磷酸盐缓冲液, B 液为甲醇, 等度洗脱(A:B=98:2, V:V), 流速为 1 mL/min。

1.2.8 肌原纤维蛋白含量的测定

参考仪淑敏等^[15]和 KONNO 等^[16]的方法, 准确称取 3.00 g 鱼肉, 加入 15 mL 0.1 mol/L KCl-20 mmol/L Tris-HCl 缓冲液, 匀浆 8000 r/min×30 s×4 次, 4 °C 条件下转速 10000 r/min, 离心 20 min, 弃上清液。以上步骤重复 3 次。在沉淀物中加入 5 倍质量 0.5 mol/L KCl-20 mmol/L Tris-HCl 缓冲液, 4 °C 浸提 1 h, 离心取上清液, 即为肌原纤维蛋白溶液, 双缩脲法测定其含量。

1.2.9 活性巯基含量的测定

参考 ZHOU 等^[17]的方法, 取上述肌原纤维蛋白溶液 0.5 mL, 加入 4.5 mL 0.2 mmol/L Tris-HCl(内含 10 mmol/L EDTA, 2% SDS, pH=6.8)溶液, 混合均匀。再加入 0.5 mL 溶液浓度为 0.1%的 5,5'-二硫代双(2-硝基)苯甲酸溶液(0.2 mol/L Tris-HCl, pH=6.8), 混匀后 40 °C 水浴 25 min, 于波长 412 nm 处测定吸光度。

1.2.10 Ca²⁺-ATPase 活性测定

利用南京建成生物研究所 ATP 酶测试试剂盒测定, 按说明书进行。

1.2.11 菌落总数测定

参考 GB 4789.2—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验菌落总数测定》规定的方法, 采用稀释平板计数法进行测定。

1.2.12 感官评价

参考邹朝阳等^[18]的方法。6 人组成感官评定小组, 根据草鱼鱼片的色泽、气味、组织形态和肌肉弹性打分评定。

1.2.13 电子鼻分析

参考蒋慧珠等^[19]的方法取草鱼肉用电子鼻进行检测。

1.2.14 数据分析

用 SPSS 26.0、Excel 和 GraphPad Prism 8.2.1 软件对实验数据进行分析并作图, 采用 Duncan's 进行显著性分析($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 复合涂膜对冷藏草鱼片理化品质的影响

2.1.1 pH 值变化

各处理组鱼片 pH 值变化如图 1 所示, pH 值总体变化

呈先下降后上升再下降趋势, 贮藏至第 3 d 时 3 组样品 pH 值均较新鲜样品有所下降, 贮藏 3 d 后 3 组样品 pH 值开始上升($P<0.05$)。这与 HUI 等^[20]和 QIU 等^[21]研究结果基本一致, 鱼肉贮藏前期发生糖酵解反应, 使糖原分解为丙酮酸与乳酸以及 ATP 降解产生磷酸, 导致 pH 值下降; 贮藏中期 pH 值的上升是鱼肉中滋生的微生物对于蛋白质及其他营养物质的分解代谢产生大量碱性物质所导致; 后期的 pH 值下降则是由于脂肪氧化过氧化值及硫代巴比妥酸值升高所导致。因为贮藏期间 pH 值变化往往小于 1 个单位值, 且受多种因素影响, 故其只可以简单反应鱼类新鲜度, 却不适用于作为评判鱼类新鲜度的指标。

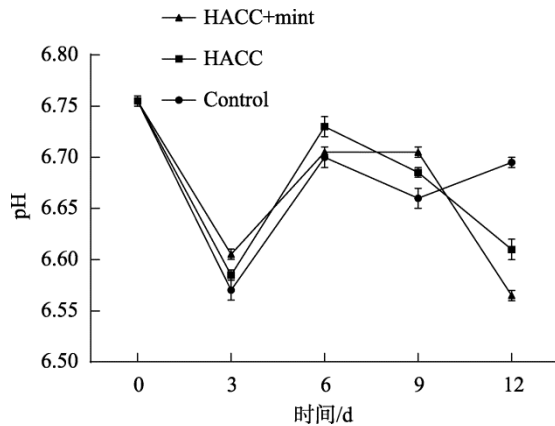


图 1 4 °C 冷藏下草鱼片 pH 变化趋势($n=3$)

Fig.1 pH trend of grass carp fillets during 4 °C refrigerated storage ($n=3$)

2.1.2 白度值变化

图 2 是不同处理下草鱼片白度值变化情况, 可以看出 HACC 组和 HACC+mint 组白度值 6 d 始终维持在 55 左右, 与新鲜鱼片 55.5 并无显著性差异($P>0.05$)。而 Control 组在前 3 d 与新鲜样品无显著性差异($P>0.05$), 第 6 d 时 Control 组白度值降低至 52 左右存在显著性差异($P<0.05$), 表明 2 组实验组处理均对草鱼片 6 d 白度值有一定保持作用。草鱼肌肉主要以白肌为主, 其颜色变化主要与脂肪氧化有关, 随贮藏时间延长, 色差变化通常表现为红度值与黄度值不断上升而亮度变暗, 导致鱼肉白度值降低。TBA 值变化也显示 Control 组贮藏 3 d 以后脂肪开始氧化, 与白度值变化相符。

2.1.3 离心损失率变化

样品离心损失率主要与样品品质呈反比, 损失率越高代表肌肉持水力越差, 肌肉汁液流失越多。有研究表明壳聚糖可以通过控制酶活性来提高其质构特性, 除此之外壳聚糖涂膜可以隔绝样品并抑制脱水, 从而使涂膜处理后的样品有更低的样品损失率^[21]。如图 3 所示, 从第 3 d 起至第 6 d Control 组离心损失率维持在 0.3 左右且显著高于 2 组样品处理组($P<0.05$), 而 HACC 组与 HACC+mint 组间并无显著性差异($P>0.05$)且离心损失率始终维持在 0.25 左右, 第 6 d 开始 3 组样品离心损失率, Control 组高于 HACC

组, HACC 组高于 HACC+mint 组, 但 2 个处理组间并无显著性差异($P>0.05$), 由此可见壳聚糖季铵盐覆膜处理对草鱼片肌肉持水力有一定改善作用, 添加薄荷提取物也有一定作用但差异并不明显。

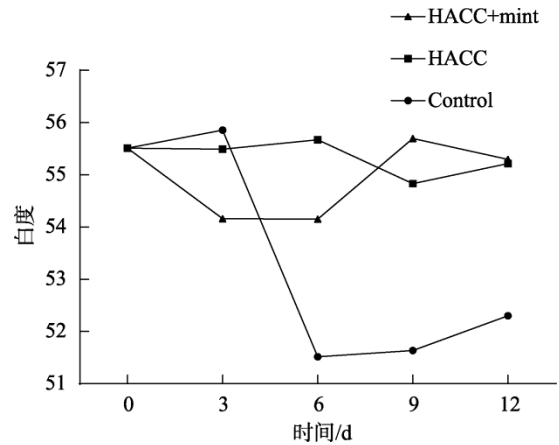


图 2 4 °C 冷藏下草鱼片白度值变化趋势($n=3$)

Fig.2 Whiteness value trend of grass carp fillets during 4 °C refrigerated storage ($n=3$)

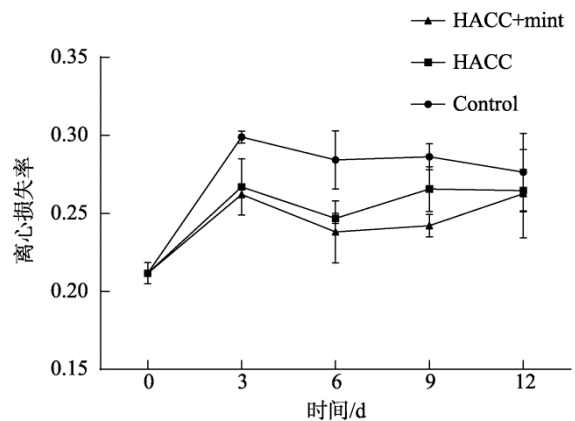


图 3 4 °C 冷藏下草鱼片离心损失率变化趋势($n=3$)

Fig.3 Centrifugal loss rate trend of grass carp fillets during 4 °C refrigerated storage ($n=3$)

2.1.4 挥发性盐基氮变化

挥发性盐基氮(total volatile basic nitrogen, TVB-N)指蛋白质分解产生的氨以及其他挥发性含氮有机物, 是一种用于评价鱼类变质的常用指标。根据 GB 2733—2015《食品安全国家标准鲜、冻动物性水产品》, 以 TVB-N ≤ 13 mg/100 g 作为草鱼一级鲜度值、20 mg/100 g 为鲜淡水鱼 TVB-N 限值。由图 4 可以看出, 在前 6 d 时 3 组样品的 TVB-N 值均低于 13 mg/100 g 且样品间并无显著性差异($P>0.05$), 到第 9 d 3 组都在升高, Control 超过一级鲜度值(13 mg/100 g)。贮藏至第 12 d 时 Control 组 TVB-N 值已达到 32 mg/100 g, 已远超草鱼鲜度限值 20 mg/100 mg, 此

时HACC组与HACC+mint组达到限度值,可见壳聚糖季铵盐与薄荷提取物均对草鱼片TVB-N积累有一定抑制作用,草鱼片最佳冷藏时间6d,不能超过9d。

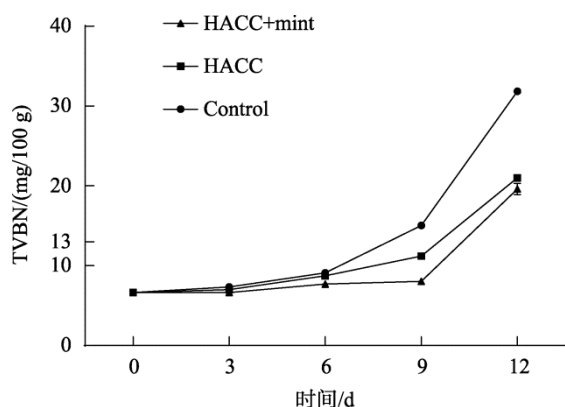


图4 4 °C冷藏下草鱼片TVB-N变化趋势(n=3)

Fig.4 TVB-N trend of grass carp fillets during 4 °C refrigerated storage (n=3)

2.1.5 TBA 值变化

各组鱼片TBA值变化随着时间变化总体呈上升趋势见图5,贮藏开始时样品鱼片TBA值为0.27 mg/kg,在贮藏前6d 3组样品并无显著区别,贮藏9d开始到12d时样品HACC+mint组、HACC组和Control组分别上升至0.33、0.55、0.69 mg/kg,3组间存在显著性差异($P<0.05$),HACC+mint组与HACC组分别较Control组低52%与20%,由此可见壳聚糖季铵盐与薄荷提取物对鱼肉脂肪氧化有一定抑制作用且添加薄荷提取物抑制效果更好。YU等^[22]研究壳聚糖涂膜处理对于冷藏草鱼片脂肪氧化抑制效果不明显,表明壳聚糖季铵盐较壳聚糖在脂肪氧化抑制效果上有所提高,与LIU等^[23]研究壳聚糖季铵盐衍生物相较于壳聚糖拥有更强的抗氧化活性,SWEETIE等^[24]研究薄荷提取物有非常好的抗氧化活性,相一致。

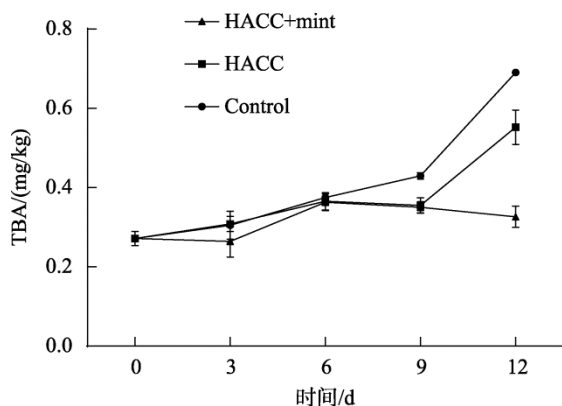


图5 4 °C冷藏下草鱼片TBA值变化趋势(n=3)

Fig.5 TBA value trend of grass carp fillets during 4 °C refrigerated storage (n=3)

2.1.6 K 值变化

如图6所示,新鲜草鱼样品K值为25.9%,贮藏至第3d时3组样品K值达到50%左右,处于中等鲜度水平,贮藏至6d时Control组、HACC组、HACC+mint组样品K值分别达到71.3%、68.8%、65.8%,3组样品具有显著性差异($P<0.05$),此时3组样品均已超过60%腐败临界值而两实验组可一定程度抑制K值的增长。研究表明,K值可作为反映鱼肉贮藏前期腐败的一项基本指标,K值的生长主要取决于鱼肉内部ATP关联物肌苷酸(inosinemonophosphate, IMP)的分解以及Hx与HxR的累积,结果初步表明壳聚糖季铵盐及薄荷提取物可有效抑制ATP分解为IMP以至于进一步产生Hx,这与HUANG等^[25]和HUI等^[20]研究结果基本一致。

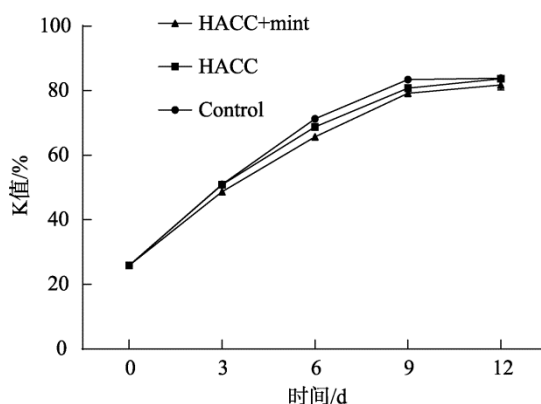


图6 4 °C冷藏下草鱼片K值变化趋势(n=3)

Fig.6 K-value trend of grass carp fillets during 4 °C refrigerated storage (n=3)

2.2 复合涂膜对冷藏草鱼片蛋白氧化的影响

2.2.1 肌原纤维蛋白含量变化

如图7所示,3组鱼片肌原纤维蛋白含量随贮藏时间延长均有所下降。3d时3组样品无显著性差异($P>0.05$),贮藏至第6d时Control组肌原纤维蛋白含量降低至76 mg/mL,与两实验组存在显著性差异($P<0.05$),此时Control组、HACC组、HACC+mint组肌原纤维蛋白含量分别较新鲜样品下降7.8%、3.4%、4.2%,表明2组涂膜处理均对草鱼片肌原纤维蛋白降解有一定抑制作用,而贮藏6d时草鱼片白度值也发生显著降低,表明草鱼白度值下降与肌原纤维蛋白降解有一定相关性。贮藏至第12d,Control组、HACC组、HACC+mint组肌原纤维蛋白含量分别降低至76.2、76.7、77.6 mg/mL($P>0.05$),表明贮藏后期2组实验组草鱼片肌原纤维蛋白含量逐渐下降至与对照组相近,只是下降趋势较对照组缓慢。

2.2.2 活性巯基含量及Ca²⁺-ATP酶活性变化

由图8可知,新鲜样品活性巯基含量为12.5 mol/10⁵ g,贮藏至第3d时3组鱼片大幅下降至10.5 mol/10⁵ g左右

($P>0.05$), 贮藏至第 6 d 时 Control 组、HACC 组、HACC+mint 组活性巯基含量分别 9.81、10.38、10.11 mol/ 10^5 g, 3 组间并无显著性差异($P>0.05$), 可以看出前期活性巯基含量下降趋势两实验组较对照组有所减缓。贮藏至第 9 d 3 组鱼片均降低至 9.6 mol/ 10^5 g 左右。而贮藏至 3 d 时 Control 组、HACC 组、HACC+mint 组 Ca^{2+} -ATP 酶活性分别较新鲜鱼片 0.3 $\mu\text{mol Pi}/(\text{mg prot}/\text{min})$ 下降了 47%、13%、20%, 对照组显著低于两实验组($P<0.05$), 表明 2 组涂膜处理对于前期 Ca^{2+} -ATP 酶活性降低有一定的抑制作用。贮藏至第 6 d 3 组样品 Ca^{2+} -ATP 酶活性降至 0.1 $\mu\text{mol Pi}/(\text{mg prot}/\text{min})$ 以下。第 6 d 肌原纤维蛋白中活性巯基与 Ca^{2+} -ATP 酶活性含量均较新鲜鱼片大幅降低, 而 HACC 组与 HACC+mint 组在贮藏前中期能够有效缓解肌原纤维蛋白变性, 使能够直观反映肌原蛋白活性及完整性的活性巯基与 Ca^{2+} -ATP 酶活性下降趋势明显延缓。

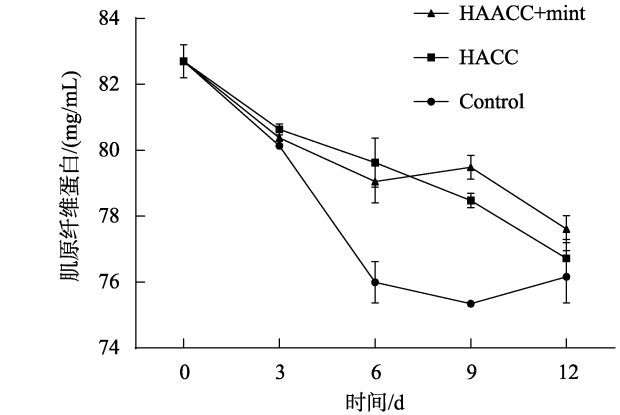
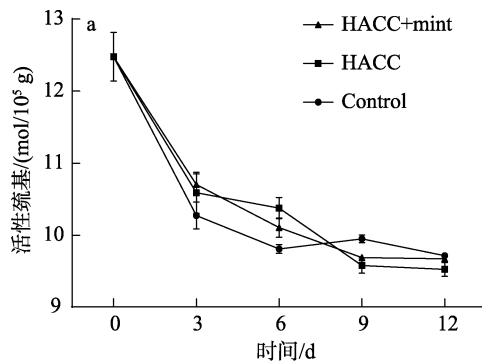
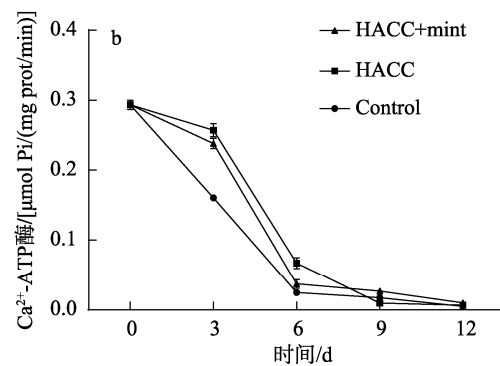


图 7 4 °C 冷藏下草鱼片肌原纤维蛋白含量变化趋势($n=3$)
Fig.7 Myofibrillar protein content trend of grass carp fillets during 4 °C refrigerated storage ($n=3$)



注: a 为活性巯基随时间变化趋势; b 为 Ca^{2+} -ATP 酶随时间变化趋势。

图 8 4 °C 冷藏下草鱼片活性巯基含量及 Ca^{2+} -ATP 酶活性变化趋势($n=3$)

Fig.8 Active thiol content and Ca^{2+} -ATPase trend of grass carp fillets during 4 °C refrigerated storage ($n=3$)

2.3 复合涂膜对冷藏草鱼片菌落总数和感官品质的影响

2.3.1 菌落总数变化

目前, 现有国标及行标各标准对于生鲜鱼制品菌落总数限值要求有所差异, 一般认为菌落总数至 6~7 lg(CFU/g) 冷藏鱼片已初步腐败, 根据国际食品微生物标准委员会标准, 生鲜鱼制品的菌落总数最大允许值为 7 lg(CFU/g)。贮藏前期 HACC 与 HACC+mint 组对冷藏草鱼片微生物抑制作用明显, 见图 9。新鲜样品冷藏时菌落总数为 4.89 lg(CFU/g), 贮藏 6 d 后 Control 组、HACC 组、HACC+mint 组菌落总数分别为 5.98、5.05、5.52 lg(CFU/g) 均未超过 6 lg(CFU/g)($P<0.05$), 而贮藏 9 d 后 3 组鱼片菌落总数分别上升至 7.26、6.07、6.47 lg(CFU/g) ($P<0.05$), 此时对照组鱼片菌落总数已超过 7 lg(CFU/g) 表明已初步腐败, 而 HACC 组则刚超过 6.07 lg(CFU/g), 表明壳聚糖季铵盐涂膜能够有效抑制冷藏草鱼片中微生物生长, 这与 TVB-N 实验结果一致。贮藏至 9、12 d, 3 组鱼片已超过 7 lg(CFU/g)。整个贮藏阶段,

HACC 组与 HACC+mint 组均产生一定抑菌效果, 且 HACC 组抑菌效果更明显, 可能由于薄荷提取物的加入造成与壳聚糖季铵盐产生拮抗作用, 导致抑菌效果有所减弱。

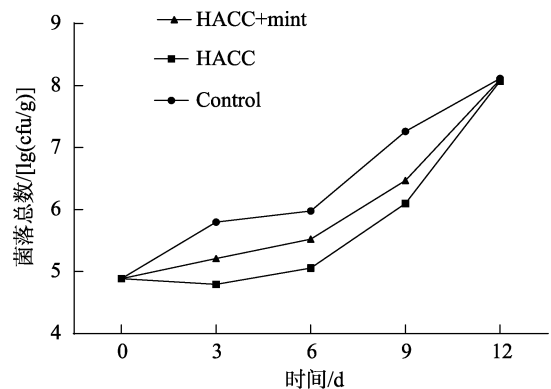


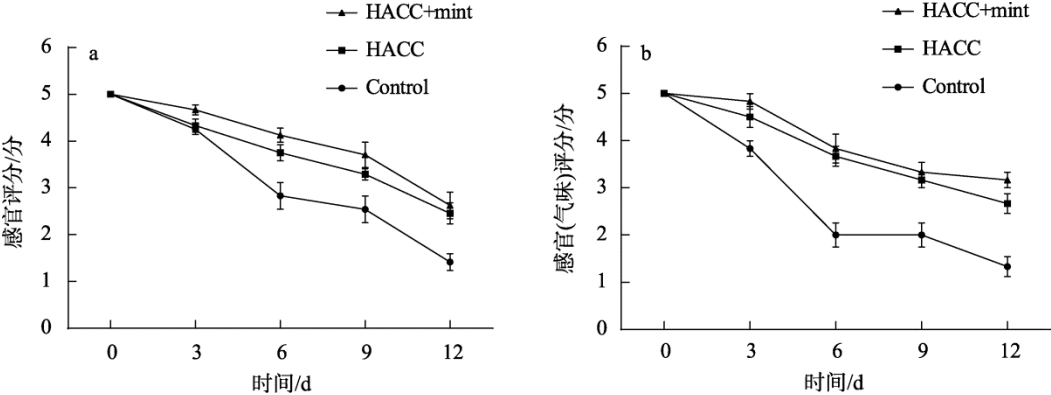
图 9 4 °C 冷藏下草鱼片菌落总数变化趋势($n=3$)
Fig.9 Total viable counts change trend of grass carp fillets during 4 °C refrigerated storage ($n=3$)

2.3.2 感官评分及感官(气味)评分变化

4℃冷藏下草鱼片感官评分及感官(气味)评分总体呈下降趋势,如图 10 所示。鱼肉感官评价平均分 ≥ 4 分为新鲜产品,3~4 分为中等鲜度产品,<3 分则视为腐败产品。贮藏 3 d 时感官评分 3 组均高于 4 分,但贮藏至 6 d 时 HACC+mint 组、HACC 组、Control 组感官评分分别降低至 4.13、3.75、2.83 分,3 组感官(气味)评分降低至 3.7、3.42、2,表明此时 Control 组已腐败且显著低于另外两实验组($P<0.05$)。贮藏至 12 d 时 3 组感官评分均已低于 3 分表明已腐败。HACC+mint 组、HACC 组、Control 组感官评分与贮藏时间的线性回归方程分别为: $Y=-0.1903X+5.1667$, $r^2=0.9493$; $Y=-0.2042X+4.9917$, $r^2=0.9925$; $Y=-0.2958X+4.9833$, $r^2=0.9736$; 3 组样品的新鲜货架期分别为 6.13、4.86、3.32 d,中等鲜度货架期分别为 6.71、9.75、11.39 d。得出壳聚糖季铵盐复合薄荷提取物涂膜与壳聚糖季铵盐涂膜可分别延长冷藏草鱼片货架期 4.5 与 3 d,相较于余达威^[11]研究得出不同浓度壳聚糖涂膜对冷藏草鱼片延长货架期 1~3 d 有一定延长。

2.4 复合涂膜对冷藏草鱼片风味的影响

各组鱼片 PCA 分析结果如图 11 所示,分析区别指数为 94.4%,同时主成分 1 方差贡献率为 83.1%,主成分 2 方差贡献率为 6.6%,二者相加达到 89.7%,表明此主成分二维分析图可以很好地表示出被测样品的整体信息且不同样品间气味有很大区分度。从不同样品在主成分 1 坐标轴上投影(图 11)可看出,同一天数所在的位置较为集中(不同贮藏天数由红色虚线分割),6 d 时 3 组样品距离 0 d 新鲜样品较近,而 12 d 时 3 组样品距离 0 d 新鲜样品较远,通过此主成分二维分析图可以判断随贮藏时间延长鱼片气味有明显变化。而各组样品在主成分 2 坐标轴上投影可以看出, HACC+mint 组相对于新鲜样品距离最远且 6 d 时与 12 d 时位置基本一致且与其他样品无重叠,表明薄荷提取物的添加对于草鱼片固有风味有所改变。综上所述,结合感官(气味)评分表明,2 种涂膜均能有效抑制草鱼片气味劣变以稳定其风味品质,而薄荷提取物结合壳聚糖季铵盐复合涂膜抑制作用更显著。



注: a 为感官评分随时间变化趋势; b 为感官(气味)评分随时间变化趋势。

图 10 4℃冷藏下草鱼片感官评分及感官(气味)评分变化趋势($n=6$)

Fig.10 Sensory scores and sensory (odor) scores change trend of grass carp fillets during 4℃ refrigerated storage ($n=6$)

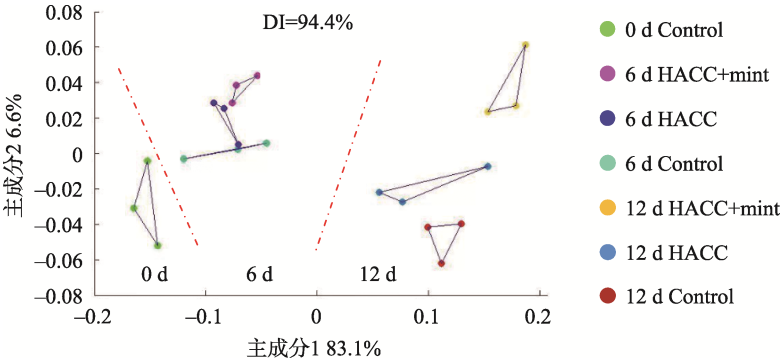


图 11 4℃冷藏下草鱼片电子鼻主成分分析图

Fig.11 Principal components analysis of the electronic nose of grass carp fillets during refrigerated storage at 4℃

2.5 不同组鱼片 TVB-N、K 值、菌落总数、感官评分间相关性分析

如表 1 相关性分析表明, HACC 组 K 值与 TVB-N、菌落总数、感官评分间均呈显著相关性($P<0.05$)。Control 组和 HACC+mint 组 K 值与菌落总数呈极显著相关($P<0.01$), 与感官评分呈显著相关($P<0.05$)。3 组鱼片感官评分、TVB-N、菌落总数间呈极显著相关($P<0.01$), 感官评分与 K 值呈显著相关($P<0.05$), 表明感官评分综合其他指标可较好代表草鱼片劣变情况。

3 结 论

本研究在参考前人研究壳聚糖对草鱼保鲜效果基础上, 将壳聚糖季铵盐及薄荷叶提取物应用于草鱼鱼肉保鲜

上。研究结果表明, 从蛋白相关指标肌原纤维蛋白含量、活性巯基含量、 Ca^{2+} -ATP 酶活性变化上可以看出, 壳聚糖季铵盐复合薄荷提取物与壳聚糖季铵盐 2 种涂膜材料在贮藏前期(6 d)有效抑制蛋白劣变。通过感官评分结果结合 K 值、TBA 值、TVB-N、菌落总数等品质劣化指标得出壳聚糖季铵盐复合薄荷提取物涂膜与壳聚糖季铵盐涂膜可分别延长冷藏草鱼片货架期 4.5 与 3 d。通过电子鼻结合感官(气味)评分得出, 2 种涂膜均能有效抑制草鱼片气味劣变, 而薄荷提取物结合壳聚糖季铵盐复合涂膜抑制作用更为显著。应用壳聚糖季铵盐作为涂膜材料改善了壳聚糖只溶于稀酸不溶于中性和碱性溶液的特性及其有限的抗菌性, 薄荷提取物的加入则有助于提高涂膜材料对于脂肪氧化的抑制作用以及改善草鱼固有风味。

表 1 不同组鱼片品质劣化指标间皮尔逊相关性系数

Table 1 Pearson' correlation coefficients between changes in quality deterioration of refrigerated grass carp fillets among groups				
实验组		TVB-N	K 值	菌落总数
Control	K 值	0.617	1	
	菌落总数	0.907**	0.864**	1
	感官评分	-0.876**	-0.689*	-0.914**
HACC	K 值	0.658*	1	
	菌落总数	0.989**	0.652*	1
	感官评分	-0.893**	-0.679*	-0.929**
HACC+mint	K 值	0.545	1	
	菌落总数	0.925**	0.781**	1
	感官评分	-0.932**	-0.652*	-0.958**

注: *为在 0.05 水平上显著相关; **为在 0.01 水平上显著相关。

参考文献

[1] 农业部渔政渔业管理局. 中国渔业统计年鉴. 2020 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2020.
Ministry of Agriculture, Fisheries Bureau. China fishery statistical year book. 2020 [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2020.

[2] SUN L, SUN J, THAVARAJ P, *et al.* Effects of thinned young apple polyphenols on the quality of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) surimi during cold storage [J]. Food Chem, 2017, 224(1): 372-381.

[3] YU D, JIANG Q, XU Y, *et al.* The shelf life extension of refrigerated grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets by chitosan coating combined with glycerol monolaurate [J]. Int J Biol Macromol, 2017, 101: 448-454.

[4] LI T, LI J, HU W, *et al.* Quality enhancement in refrigerated red drum (*Sciaenops ocellatus*) fillets using chitosan coatings containing natural preservatives [J]. Food Chem, 2013, 138(2-3): 821-826.

[5] HU H, YAO X, QIN Y, *et al.* Development of multifunctional food packaging by incorporating betalains from vegetable amaranth (*Amaranthus tricolor* L.) into quaternary ammonium chitosan/fish gelatin blend films [J]. Int J Biol Macromol, 2020, 159(15): 675-684.

[6] JIANG P, MENG W, SHI F, *et al.* Structural characteristics, antioxidant properties and antiaging activities of galactan produced by *Mentha haplocalyx* Briq [J]. Carbohydr Polym, 2020, 234(15): 115936.

[7] ZHAO D, XU YW, YANG GL, *et al.* Variation of essential oil of *Mentha haplocalyx* Briq. and *Mentha spicata* L. from China [J]. Ind Crop Prod, 2013, 42: 251-260.

[8] KANATT SR, CHANDER R, SHARMA A. Chitosan and mint mixture: A new preservative for meat and meat products [J]. Food Chem, 2008, 107(2): 845-852.

[9] 黎剑辉, 庄少玲, 刘长坤, 等. 壳聚糖及壳聚糖季铵盐的应用研究进展 [J]. 中国食品添加剂, 2015, (6): 167-172.
LI JH, ZHUANG SL, LIU CK, *et al.* Research progress of application of chitosan and its quaternary ammonium salt [J]. China Food Addit, 2015, (6): 167-172.

[10] 赵盼, 王丽, 孟祥红. 壳聚糖及其衍生物的抗氧化性能及应用研究进展 [J]. 食品科学, 2010, 31(15): 299-303.

- ZHAO P, WANG L, MENG XH. Research progress of antioxidant properties and applications of chitosan and its derivatives [J]. Food Sci, 2010, 31(15): 299–303.
- [11] 余达威. 壳聚糖涂膜对冷藏草鱼片的品质影响研究[D]. 无锡: 江南大学, 2019.
- YU DW. Study on effect of chitosan-based coating on the quality of refrigerated grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fillets [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2019.
- [12] 赵峰, 蒋慧珠, 王轰, 等. 不同冻结工艺条件对蓝点马鲛品质的影响[J]. 中国渔业质量与标准, 2019, 9(2): 9–15.
- ZHAO F, JIANG HZ, WANG H, *et al.* Effects of different freezing conditions on quality of *Scomberomorus niphoniu* [J]. Chin Fish Qual Stand, 2019, 9(2): 9–15.
- [13] 胡亚芹, 胡庆兰, 杨水兵, 等. 不同冻结方式对带鱼品质影响的研究[J]. 现代食品科技, 2014, (2): 23–30.
- HU YQ, HU QL, YANG SB, *et al.* Effects of different freezing methods on the quality of *Trichiurus haumela* [J]. Mod Food Sci Technol, 2014, (2): 23–30.
- [14] KHAN MA, PARRISH CC, SHAHIDI F. Quality indicators of cultured Newfoundland blue mussels (*Mytilus edulis*) during storage on ice: Microbial growth, pH, lipid oxidation, chemical composition characteristics, and microbial fatty acid contents [J]. J Agric Food Chem, 2005, 53(18): 7067–7073.
- [15] 仪淑敏, 叶贝贝, 张诗雯, 等. 菊粉对冻藏鲢鱼鱼糜肌原纤维蛋白抗冻性的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(12): 16–21.
- YI SM, YE BB, ZHANG SW, *et al.* Cryoprotective effect of inulin on myofibrillar protein from silver carp surimi during frozen storage [J]. Food Sci, 2019, 40(12): 16–21.
- [16] KONNO K, YOUNG-JE C, YOSHIOKA T, *et al.* Thermal denaturation and autolysis profiles of myofibrillar proteins of mantle muscle of jumbo squid *Doedicus gigas* [J]. Fish Sci, 2010, 69(1): 204–209.
- [17] ZHOU A, LIN L, LIANG Y, *et al.* Physicochemical properties of natural actomyosin from threadfin bream (*Nemipterus* spp.) induced by high hydrostatic pressure [J]. Food Chem, 2014, 156(1): 402–407.
- [18] 邹朝阳, 赵峰, 欧帅, 等. 冷藏和冰藏条件下大菱鲆品质变化与蛋白质氧化相关性[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(22): 213–219.
- ZOU ZY, ZHAO F, OU S, *et al.* Correlation between quality change and protein oxidation of turbot (*Scophthalmus maximus*) during refrigerated and ice storage [J]. Food Ferment Ind, 2019, 45(22): 213–219.
- [19] 蒋慧珠, 赵峰, 马玉洁, 等. 不同冷冻温度对鲈鱼理化指标及新鲜度的影响[J]. 食品工业科技, 2018, 39(21): 258–262.
- JIANG HZ, ZHAO F, MA YJ, *et al.* Effects of different freezing temperatures on physicochemical properties and freshness of spanish mackerel [J]. Sci Technol Food Ind, 2018, 39(21): 258–262.
- [20] HUI G, LIU W, FENG H, *et al.* Effects of chitosan combined with nisin treatment on storage quality of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) [J]. Food Chem, 2016, 203: 276–282.
- [21] QIU X, CHEN S, LIU G, *et al.* Quality enhancement in the Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicas*) fillets stored at 4 °C by chitosan coating incorporated with citric acid or licorice extract [J]. Food Chem, 2014, 162: 156–160.
- [22] YU D, LI P, XU Y, *et al.* Physicochemical, microbiological, and sensory attributes of chitosan-coated grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets stored at 4 °C [J]. Int J Food Prop, 2017, 20(2): 390–401.
- [23] LIU J, SUN H, DONG F, *et al.* The influence of the cation of quaternized chitosans on antioxidant activity [J]. Carbohydr Polym, 2009, 78(3): 439–443.
- [24] KANATT S R, CHANDER R, SHARMA A. Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation-processed lamb meat [J]. Food Chem, 2007, 100(2): 451–458.
- [25] HUANG Z, LIU X, JIA S, *et al.* The effect of essential oils on microbial composition and quality of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets during chilled storage [J]. Int J Food Microbiol, 2018, 266: 52–59.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介

张 晋, 硕士研究生, 主要研究方向
为水产品贮运与加工。
E-mail: 18616832101@163.com

周德庆, 博士, 研究员, 主要研究方向
为水产品资源加工利用与质量安全。
E-mail: zhoudq@ysfri.ac.cn