

## 蓝莓可食性膜机械性能优化及对冰藏三文鱼品质的影响

1, 1\*, 2, 1

1. 上海海洋大学食品学院, 农业部水产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室(上海), 上海水产品加工及贮藏工程技术研究中心, 上海 201306
2. 美国 USDA-ARS 研究中心, 美国 加利福尼亚州 94710

**摘要:** 为优化蓝莓可食性膜的机械性能, 本文以抗拉强度与断裂伸长率为指标评价膜性能, 采用(果胶、壳聚糖、蓝莓提取物、甘油)四因素三水平正交试验法进行试验。将优化后的蓝莓可食性膜对三文鱼进行包裹处理, 通过感官评定、物理指标(硬度)、化学指标(K值)、微生物指标(菌落总数)的测定, 综合评价蓝莓可食性膜对冰藏三文鱼的保鲜效果。结果表明: 制备蓝莓可食性膜的最优配比为果胶1.25%, 壳聚糖0.75%, 蓝莓提取物1.00%, 甘油1.75%; 包膜组的品质显著( $P < 0.05$ )优于对照组, 延长6 d货架期。

**关键词:** 蓝莓; 可食性膜; 三文鱼; 冰藏

**中图分类号:** TS205.9

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1000-2324(2017)04-0481-06

ZHANG Cong<sup>1</sup>, SUN Xiao-hong<sup>1\*</sup>, WU Vivian CH<sup>2</sup>, PAN Ying-jie<sup>1</sup>

1. College of Food Science and Technology/Shanghai Ocean University, Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Aquatic Products on Storage and Preservation (Shanghai), Ministry of Agriculture, Shanghai Engineering Research Center of Aquatic-Product Processing & Preservation, Shanghai 201306, China

2. Produce Safety and Microbiology Research Unit, USDA-ARS, California 94710, USA

: Tensile strength and elongation at break were evaluated in order to optimize the mechanical properties of blueberry edible film. The preferred addition of pectin, chitosan, blueberry extract and glycerin was determined by a single factor test and orthogonal experiment. Sensory evaluation, hardness, K-value and total viable counts were used to evaluate the quality of Atlantic salmon which wrapped with blueberry edible film. The results demonstrated that the optimal concentration of blueberry edible film was p1.25% pectin, 0.75% chitosan, 1.00% blueberry extract and 1.75% glycerin. The shelf-life of Atlantic salmon which wrapped with blueberry edible film could be prolonged for six days, and the quality was significantly ( $P < 0.05$ ) better than the control group.

: Blueberry; edible film; *Salmo salar*; ice storage

蓝莓(Blueberry), 杜鹃花科越橘属, 酸甜可口、口味独特, 被联合国粮农组织(FAO)列为人类五大健康食品之一。蓝莓富含花青素、多酚类、黄酮类等活性物质, 其提取物的抑菌、抗氧化活性被广泛报道。Lacombe等<sup>[1]</sup>证实美国蓝莓能够抑制单增李斯特菌、大肠杆菌等细菌生长。姜文洁<sup>[2]</sup>证实中国不同产区的18个蓝莓品种均具有抑制副溶血弧菌、清除DPPH自由基和羟基自由基的功效。

可食性膜(Edible film)以天然可食性物质为主要原料, 具有可降解、安全无异味的特点。随着人们环保意识的增强和食品安全意识的提高, 针对可食性膜中添加活性物质以达到食品保鲜效果的研究成为趋势。Lacey等<sup>[3]</sup>将绿茶提取物添加到琼脂可食性膜中应用于鳕鱼保鲜, 减缓微生物生长从而延长7 d货架期。此外, 迷迭香提取物<sup>[4]</sup>、阿拉伯树胶<sup>[5]</sup>分别应用于鲫鱼、真鲷的保鲜。

大西洋三文鱼(*Salmo salar*), 属于辐鳍鱼纲鲑形目, 因其体内水分含量高, 极易在贮藏过程中受到微生物污染而发生腐败变质。本文以果胶、壳聚糖为成膜材料, 甘油为增塑剂, 蓝莓提取物为抑菌剂, 制备蓝莓可食性保鲜膜。将优化后的蓝莓可食性膜包裹三文鱼, 通过测定感官评定、物理指标(硬度)、化学指标(K值)、微生物指标(菌落总数), 评价冰藏14 d三文鱼的品质变化, 为开发应用新型可食包装材料提供参考。

**收稿日期:** 2016-04-15

**修回日期:** 2016-04-26

**基金项目:** 上海市科技兴农重点攻关项目(沪农科攻字 2014 第 3-5 号);上海海洋大学科技发展专项基金(A2-0209-14-2 00061);上海市科委工程中心建设(11DZ2280300)

**作者简介:** 张琮(1991-),女,硕士研究生,主要从事食品保鲜研究. E-mail:zcc0627@126.com

**\*通讯作者:** Author for correspondence. E-mail:xhsun@shou.edu.cn

## 材料与仪器

### 试验材料与试剂

顶峰蓝莓购自杭州市余杭区仙宅村蓝莓种植基地；大西洋三文鱼 (Atlantic salmon)，购自上海铜川路水产市场。

果胶(白色，酯化度>50%)，烟台安德利果胶股份有限公司；壳聚糖(淡黄色，脱乙酰度>95%，水溶性)，上海维编科贸有限公司；甘油(食品级)，深海食品化工有限公司；食用乙醇(纯度 95%)，江苏博科化工贸易有限公司；平板计数琼脂，北京陆桥技术有限责任公司；标准品三磷酸腺苷等，美国 Sigma 公司。

### 主要仪器与设备

8010S 组织搅碎机，美国 Waring 公司；RE-52AA 旋转蒸发仪，上海亚荣生化仪器厂；六联磁力加热搅拌器，江苏环宇科学仪器厂；DCP-KZ300 电脑测控抗张试验机，四川成都名驰仪器有限责任公司；TA-XT Plus 物质分析仪，英国 Stable Micro System 公司；LC-2010C 高效液相色谱，岛津(中国)有限公司。

## 试验方法

### 蓝莓提取物制备

根据谢庆超等<sup>[6]</sup>方法：取蓝莓冻果，微波炉解冻 1~2 min，放入匀浆机中充分搅碎。称取匀浆后的蓝莓果浆 20.0 g，置于 200 mL 65% 的食用乙醇中，超声破碎 25 min，置于超速离心机离心 10 min (4550 g)，布氏漏斗过滤蓝莓残渣。用旋转蒸发仪 55 °C 进行旋转蒸发，待乙醇挥发完全后，加一定量去离子水使其终浓度为 2000 mg/mL；用 0.45 μm 滤膜过滤，制备所得蓝莓提取物置于 -20 °C 冰箱保存备用。

### 蓝莓可食性膜制备单因素实验

称取适量果胶、壳聚糖溶于水中，使用磁力搅拌器充分搅拌 1 h，依次加入甘油、蓝莓提取物。采用溶液延流法倒入 12×12 cm 方形培养皿中，50 °C 烘干 10 h，揭膜待用。

2.2.1 壳聚糖添加量为 0.50%，蓝莓提取物 1.00%、甘油添加量 2.00%，通过改变果胶添加量 (0.50%，1.00%，1.50%，2.00%，2.50%) 研究其对蓝莓可食性膜机械性能的影响。

2.2.2 果胶添加量 1.00%、蓝莓提取液添加量 1.00%、甘油添加量 2.00%，通过改变壳聚糖添加量 (0.25%，0.50%，0.75%，1.00%，1.25%) 研究其对蓝莓可食性膜机械性能的影响。

2.2.3 果胶添加量 1.00%、壳聚糖添加量 0.50%、甘油添加量 2.00%，通过改变蓝莓提取物添加量 (0.50%，1.00%，1.50%，2.00%，2.50%) 研究其对蓝莓可食性膜机械性能的影响。

2.2.4 果胶添加量 1.00%、壳聚糖添加量 0.50%、蓝莓提取液添加量 1.00%，通过改变甘油添加量 (0.50%，1.00%，1.50%，2.00%，2.50%) 研究其对蓝莓可食性膜机械性能的影响。

### 蓝莓可食性膜机械性能测定

2.3.1 通过在被测膜上随机取 10 个点，用螺旋测微仪测量取平均值，精确到 0.001 mm。

2.3.2 将可食性膜制成长 50 mm，宽 15 mm 的试样条。使用电脑测控抗张试验机测定蓝莓可食性膜的机械性能。每个样品平行测定 6 次，结果取其平均值。夹距 50 mm，拉伸速率 300 mm/min。公式 1 与公式 2 分别计算蓝莓可食性膜的抗拉强度  $T_s$  (MPa) 与断裂伸长率  $E\%$ ： $T_s = F/S$  (1)

公式 1 中： $T_s$  为抗拉强度，MPa； $F$  为样品所受抗张力，N； $S$  为样品的横截面积， $m^2$ ；

$$E\% = D/L \times 100 \quad (2)$$

公式2中:  $D$  为伸长的距离, mm;  $L$  为夹距, mm。

### 三文鱼保鲜指标测定

2.4.1 将三文鱼去皮, 随机分为两组, 取背部鱼肉并切成  $3 \times 3 \times 1.5$  cm 左右的鱼片, 其中对照组不包裹可食性膜, 实验组包裹可食性膜。放入方形培养皿中, 再置于冰上摆放, 每日换掉融化的冰水, 每隔 2 d 进行三文鱼保鲜指标测定。

2.4.2 参照《DB46 118-2008》<sup>[7]</sup>方法, 由 6 名经过训练的评价员组成感官评定小组, 对冰藏三文鱼的色泽、气味、口感、肉质进行评价打分, 标准如表 1 所示。

表 冰藏三文鱼的感官评定标准

色泽 Color	气味 Odour	口感 Taste	肉质 Texture	评分 Score
颜色桔红、色泽明亮, 纹理清晰	三文鱼特有海鲜味	味道鲜美, 可生食	肌肉有弹性, 紧实	10~8
颜色较鲜亮, 纹理可辨	无异味	味道一般, 不可生食	肌肉有弹性, 较紧实	7~5
颜色略微暗淡, 纹理模糊	有腥味	味道较差, 不可生食	肌肉无弹性, 稍微变粘	4~2
颜色暗淡, 纹理不可辨	腐败味	不可食用	肌肉松散, 变粘	1~0

2.4.3 采用 TA-XT Plus 物质分析仪测定 Texture Profile Analysis (TPA) 模式, 探头型号为 P/20, 测试前速度 1 mm/s, 测试速度 2 mm/s, 测试后速度 1 mm/s, 形变量 50%。

2.4.4 K 参照《SCT 3048-2014》方法<sup>[8]</sup>。其中  $K$  值计算公式如下:

$$K\% = (H_xR + H_x) / (ATP + ADP + AMP + IMP + H_xR + H_x) \times 100 \quad (3)$$

公式3中: ATP、ADP、AMP、IMP、 $H_xR$ 、 $H_x$  分别为腺苷三磷酸、腺苷二磷酸、腺苷酸、肌苷酸、次黄嘌呤核苷、次黄嘌呤。

2.4.5 参照《GB 4789.2-2010》方法<sup>[9]</sup>。

### 数据处理

试验中所有指标均平行测定至少 3 次, 采用 OriginPro 9.0 软件绘制曲线。通过 SPSS statistics 22.0 软件进行方差分析。

## 结果与分析

### 蓝莓可食性膜单因素实验及结果分析

以抗拉强度和断裂伸长率作为指标, 评价蓝莓可食性膜的性能。抗拉强度体现蓝莓可食性膜的力学性能, 抗拉强度越高, 抗压能力越强; 断裂伸长率体现蓝莓可食性膜的延展性和脆性, 断裂伸长率越大, 延展性越好。

3.1.1 果胶添加量为 1.00% 时, 抗拉强度和断裂伸长率都处于最高值 (图 1)。因此正交试验选择最高峰 1.00% 的相邻两点实验, 即最适果胶添加量为 1.00%。

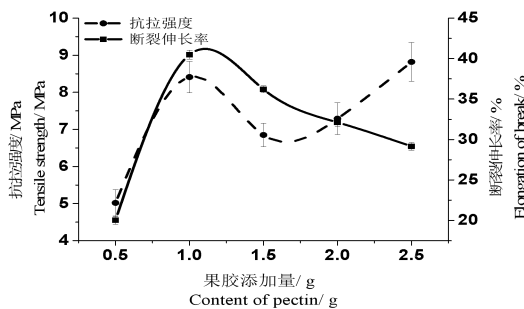


图 果胶添加量对可食性膜机械性能的影响

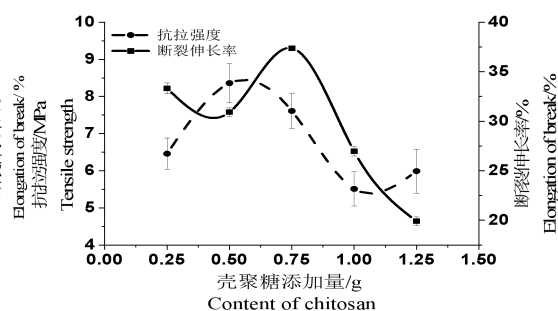


图 壳聚糖添加量对蓝莓可食性膜机械性能的影响

3.1.2 壳聚糖添加量为 0.50% 时抗拉强度最大 (图 2)。随着壳聚糖浓度进一步增大, 壳聚糖分子上带正电的氨基相互排斥力增强, 致使分子排列困难, 导

致可食性膜的致密性下降, 抗拉强度下降。实验表明壳聚糖添加量为 0.75% 时断裂伸长率处于最高值, 因此最适壳聚糖添加量为 0.75%。

3.1.3

蓝莓添加量在 0.50% 到 1.50% 之间变化不大, 超过 1.50% 时抗拉强度下降 (图 3)。

同时添加量为 1.00% 时, 断裂伸长率处于最高峰, 因此最适蓝莓提取物添加量为 1.00%。

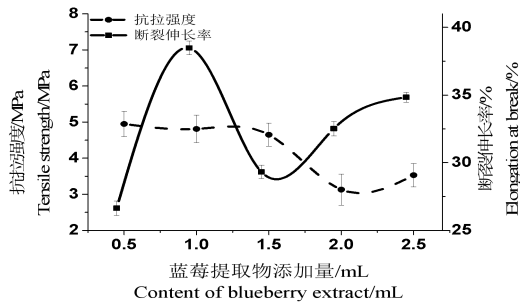


图 蓝莓提取物添加量对可食性膜机械性能的影响

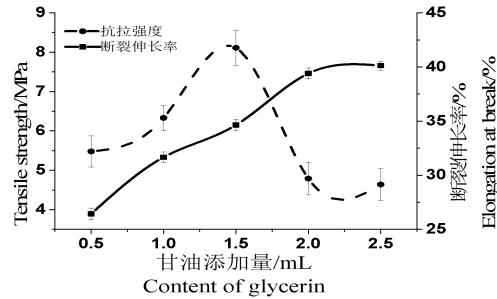


图 甘油添加量对可食性膜机械性能的影响

3.1.4

随着甘油添加量的增加, 抗拉强度呈先上升后下降趋势, 当甘油添加量为 1.50% 时抗拉强度达到最大值, 而伸长率总体呈上升趋势 (图 4)。

因此, 综合抗拉强度和断裂伸长率两个指标, 最适甘油添加量为 1.50%。

蓝莓可食性膜机械性能的优化

为确定蓝莓可食性膜的最优配方, 选取果胶、壳聚糖、蓝莓提取物、甘油添加量为因素, 进行 4 因素 3 水平正交试验, 采用 L<sub>9</sub> (3<sup>4</sup>) 正交表, 因素水平如表 2 所示, 结果如表 3 所示。

表 正交试验因素水平

水平 Level	因素 Factor			
	A 果胶添加量/g Content of pectin/g	B 壳聚糖添加量/g Content of chitosan/g	C 蓝莓提取物添加量/mL Content of blueberry extract/mL	D 甘油添加量/mL Content of glycerin/mL
1	0.75	0.50	0.75	1.25
2	1.00	0.75	1.00	1.50
3	1.25	1.00	1.25	1.75

表 正交试验结果

试验号 No.	因素 Factor				测定指标 Index determination	
	A 果胶/g Content of pectin/g	B 壳聚糖/g Content of chitosan/g	C 蓝莓提取物/MI Content of blueberry extract/mL	D 甘油/mL Content of glycerin/mL	抗拉强度/MPa Tensile strength/MPa	伸长率/% Elongation at break/%
1	1	1	1	1	11.37	35.03
2	1	2	2	2	11.65	26.77
3	1	3	3	3	13.03	23.63
4	2	1	2	3	9.06	30.80
5	2	2	3	1	10.72	29.43
6	2	3	1	2	13.48	20.40
7	3	1	3	2	15.58	23.03
8	3	2	1	3	13.09	43.13
9	3	3	2	1	18.83	29.63
<i>K<sub>1</sub></i>						
<i>K<sub>2</sub></i>						
<i>K<sub>3</sub></i>						
<i>R<sub>1</sub></i>						
<i>K<sub>1</sub></i>						
<i>K<sub>2</sub></i>						
<i>K<sub>3</sub></i>						
<i>R<sub>2</sub></i>						

对于抗拉强度而言,果胶和壳聚糖的添加量影响较大,根据极差 $R_1$ 值分析可知,四个因素对抗拉强度影响的主次为:果胶>壳聚糖>甘油>蓝莓提取物,最优成膜条件为 $A_3B_3C_2D_1$ 。而仅考虑断裂伸长率指标,根据极差 $R_2$ 值分析可知,四个因素对伸长率影响的主次为:甘油>壳聚糖>蓝莓提取物>果胶,最优成膜条件为 $A_3B_2C_1D_3$ 。

本试验采用综合平衡法,综合考虑四个因素对两个指标影响的主次顺序,并依据降低消耗、提高效率的原则,壳聚糖添加量选择 $B_2$ 、蓝莓提取物作为抑菌剂选择 $C_2$ 、甘油作为伸长率影响最大的因素选择 $D_3$ 。因此,最优的蓝莓可食性膜制备配方为:果胶1.25%,壳聚糖0.75%,蓝莓提取物1.00%,甘油1.75%。在此条件下进行验证试验,抗张强度均值为17.94 MPa,伸长率均值为39.15%,与正交试验中两个指标的最优结果接近。

### 三文鱼保鲜指标测定

3.3.1 感官评定是消费者判断三文鱼新鲜度的最直观指标。冰藏初期,微生物未大量繁殖,感官评定分数较高。冰藏4 d后,对照组和包膜组的感官评定分数都明显下降,感官评定员出现拒绝生食的情况。冰藏8 d后,由于微生物的生长和脂质氧化,对照组样品开始腐败、产生异味。冰藏10 d后,对照组的鱼肉变软、没有恢复力,三文鱼到达不可食用阶段(图5)。冰藏期间,包膜组评分显著( $P<0.05$ )高于对照组,说明可食性膜中添加壳聚糖和蓝莓提取物,起到了抗菌和天然屏障作用,减缓了三文鱼品质下降。感官评定小组成员具有一定的主观成分,因此对冰藏期三文鱼保鲜度的测定还需结合理化指标、微生物指标进行判断。

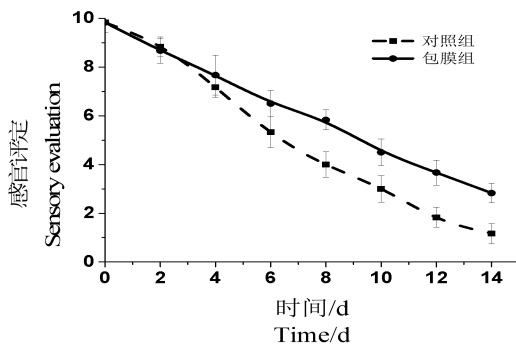


图 5 冰藏三文鱼感官评定的变化

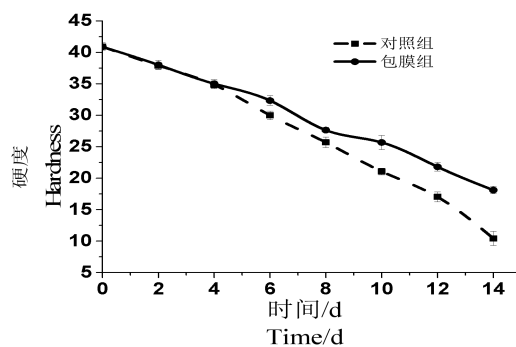


图 6 冰藏三文鱼硬度的变化

3.3.2 质构分析(Texture Profile Analysis, TPA),是衡量鱼肉新鲜度的重要指标之一,与鱼肉组织中脂肪和胶原蛋白的含量、鱼致死方法、贮藏温度和时间等因素有关。硬度是质构分析中的重要指标,鱼类死后,肌体会出现僵直、软化等变化。对照组和包膜组随着冰藏时间的延长都明显下降,冰藏6 d后,对照组和包膜组的组间差异明显,具有显著性差异( $P<0.05$ )。冰藏14 d后,对照组和包膜组硬度分别下降74%和58%,说明包膜组相对保持硬度,延缓了三文鱼品质的下降(图6)。

3.3.3 K值 K值是评价水产品新鲜度的重要指标,K值大小受到鱼的种类、饲料、肌肉类型、被捕获时所受压力以及贮藏温度等因素影响<sup>[10]</sup>,K值越大,样品品质越差。根据《DB35T 925-2009》<sup>[11]</sup>,三文鱼K值低于20%可生食,此外,一般认为K值达到60%即为消费者食用可接受的上限。本文冰藏初始值为 $13.8\pm 0.12\%$ ,随着鱼体内的酶的降解作用,导致ATP含量下降,K值上升,三文鱼的鲜度变差。对照组和包膜组分别在4 d、6 d超过生食标准20%,因此在此之后不能生食。随着冰藏时间的延长,对照组和包膜组8 d、14 d的K值为 $58.78\pm 0.42\%$ 、 $59.77\pm 0.47\%$ ,达到食用终点(图7)。靳春秋等<sup>[12]</sup>研究冰藏三文鱼10 d,K值为68.7%,与本文结果相似。在整个冰藏期间,对照组和包膜组始终存在显著性差异( $P<0.05$ ),说明蓝莓可食性膜有效延缓三文鱼的腐败、保持鱼肉品质,延长6 d货架期。

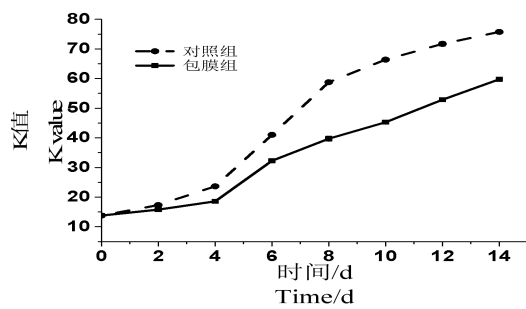


图 冰藏三文鱼 K 值的变化

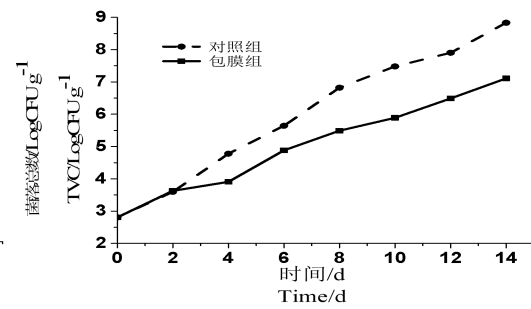


图 冰藏三文鱼菌落总数的变化

3.3.4 TVC 随着冰藏时间的延长,各组的菌落总数不断增长(图8)。根据《DB35T 925-2009》<sup>[11]</sup>,消费者生食鱼肉微生物含量应低于4 log CFU/g,对照组在第4 d达到4.78±0.03 log CFU/g、包膜组第6 d的菌落总数为4.88±0.02 log CFU/g,因此对照组和包膜组在4 d、6 d之后不能作为生鱼片生食,可进行煎、蒸等其他烹饪处理。国际微生物食品委员会(ICMSF)<sup>[13]</sup>规定,消费者食用的海水鱼类中微生物含量应低于7 log CFU/g。对照组在第8 d达到6.82±0.01 log CFU/g,接近消费者接受下限;而包膜组第14 d菌落总数为7.11±0.03 log CFU/g,超出规定标准。因此,蓝莓可食性膜具有抑制微生物生长的作用,延长6 d货架期,与K值测定结果一致。

### 结论

本文采用正交试验优化蓝莓可食性膜的机械性能,得到最优配比:果胶、壳聚糖、蓝莓提取物、甘油添加量为1.25%:0.75%:1.00%:1.75%。将制膜配方优化后的蓝莓可食性膜包裹三文鱼,测定感官评定、物理指标(硬度)、化学指标(K值)、微生物指标(菌落总数),结果表明:包膜组三文鱼品质显著优于对照组,延长6 d货架期。本文为延长冰藏三文鱼的货架期提供了有效方案,具有一定的市场开发价值。

### 参考文献

- [1] Lacombe A, Wu VCH, White J, et al. The antimicrobial properties of the lowbush blueberry (*Vaccinium angustifolium*) fractional components against food borne pathogens and the conservation of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* [J]. Food Microbiology, 2012,30(1):124-131
- [2] 姜文洁,孙晓红,朱颖,等.不同产区18种蓝莓提取物抗氧化与抑菌作用研究[J].食品工业科技,2015,36(1):119-123
- [3] Lacey A, López-Caballero ME, Montero P. Agar films containing green tea extract and probiotic bacteria for extending fish shelf-life[J]. LWT - Food Science and Technology, 2014,55(2):559-564
- [4] Li T, Li J, Hu W, et al. Shelf-life extension of crucian carp (*Carassius auratus*) using natural preservatives during chilled storage[J]. Food Chemistry, 2012,135(1):140-145
- [5] Cai L, Wu X, Dong Z, et al. Physicochemical responses and quality changes of red sea bream (*Pagrosomus major*) to gum arabic coating enriched with ergothioneine treatment during refrigerated storage[J]. Food Chemistry, 2014,160(11):82-89
- [6] 谢庆超,孙晓红,沈潇,等.蓝莓提取物对副溶血性弧菌的抑制作用[J].天然产物研究与开发,2012,24(8):1094-1097
- [7] 海南大学,海南卫生监督总队.生食三文鱼、龙虾卫生标准 DB46 118-2008[S].海口:海南省质量技术监督局,2008
- [8] 中华人民共和国农业部.鱼类鲜度指标K值的测定:高效液相色谱法 SCT 3048-2014[S].北京:中国农业出版社,2014
- [9] 中华人民共和国卫生部.食品微生物学检验:菌落总数测定 GB 4789.2-2010[S].北京:中国标准出版社,2010
- [10] Okuma H, Watanabe E. Flow system for fish freshness determination based on double multi-enzyme reactor electrodes[J]. Biosensors & Bioelectronics, 2002,17(5):367-372
- [11] 福建省水产研究所,农业部渔业产品质量监督检验测试中心(厦门).生食动物性水产品卫生要求 DB35T 925-2009[S].厦门:福建省质量技术监督局,2009
- [12] 靳春秋,迟海,杨宪时,等.冰藏三文鱼品质变化及菌相分析[J].食品与发酵工业,2013,39(4):220-226
- [13] International Commission on Microbiological Specification for Foods(ICMSF). Microorganisms in foods 6: Microbial Ecology of Food Commodities[M]. 2<sup>nd</sup> edition. US: Springer, 2005