

文章编号:2095-7386(2021)06-0001-11

DOI:10.3969/j.issn.2095-7386.2021.06.001

烧烤草鱼块干腌过程中的传质动力学分析

冯佳奇¹,陈季旺^{1,2},莫加利¹,廖鄂^{1,2},彭利娟^{1,2},夏文水^{1,3}

(1. 武汉轻工大学 食品科学与工程学院,湖北 武汉 430023;

2. 武汉轻工大学 农产品加工与转化湖北省重点实验室,湖北 武汉 430023;

3. 江南大学 食品学院,江苏 无锡 214122)

摘要:本试验分别采用3%、6%、9%的加盐量,将草鱼块分别干腌2、4、6、8、10、12 h,测定腌制草鱼块的总质量、水分和食盐含量,结合有效扩散系数(De)及鱼块水相和腌制食盐液相间的驱动力,分析达到腌制平衡点前后水分和食盐含量的变化,探讨草鱼块干腌过程中的传质动力学规律,为烧烤草鱼块干腌工艺的优化提供理论指导。结果显示,草鱼块的总质量变化率、水分含量变化率和食盐含量变化率与腌制时间平方根($t^{0.5}$)之间的拟合系数(R^2)分别为0.9008、0.9889、0.9687(3%),0.7341、0.8536、0.9184(6%),0.9214、0.9071、0.9146(9%),具有较高的拟合度;草鱼块干腌过程中的De值分别为 $1.47 \times 10^{-14} \text{ m}^2/\text{s}$ 、 $2.19 \times 10^{-16} \text{ m}^2/\text{s}$ 和 $8.64 \times 10^{-17} \text{ m}^2/\text{s}$,表明随着加盐量的增加,传质速率明显下降。鱼块水相和腌制食盐液相间的驱动力与 $t^{0.5}$ 之间的 R^2 分别为0.9562、0.8147、0.9052,具有良好的线性关系。干腌时间小于6.25 h,加盐量越高,驱动力越大;干腌时间大于6.25 h则呈现相反的变化。感官评价结果显示加盐量6%、腌制4 h,烧烤草鱼块的咸度最适宜,感官评分最高。这些结果表明,通过控制加盐量和干腌时间能改变传质动力学参数,显著提高烧烤草鱼块的品质($P < 0.05$)。

关键词:草鱼;干腌;水分渗透;食盐扩散;动力学

中图分类号:TS 251.6

文献标识码:A

Kinetic modeling for mass transfer of roasted grass carp fillets during dry salting

FENG Jia-qi¹, CHEN Ji-wang^{1,2}, MO Jia-li¹, LIAO E^{1,2}, PENG Li-juan^{1,2}, XIA Wen-shui^{1,3}

(1. School 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. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: In the work, grass carp fillets were dryly salted using salt with 3%, 6%, and 9% for 2, 4, 6, 8, 10, and 12 h, respectively, then the total weight and moisture and salt contents of salting grass carp fillets were measured. Besides, the effective diffusion coefficient (De), with the driving kinetics between the moisture in fillets and the salt

收稿日期:2021-10-20.

作者简介:冯佳奇(1997-),男,硕士研究生,研究方向为水产品加工及贮藏工程,E-mail:fengjiaqi1337@163.com.

通信作者:陈季旺(1970-),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.

夏文水(1958-),男,教授,博士,研究方向为水产品加工及贮藏工程,E-mail:xiaws@jiangnan.edu.cn

基金项目:国家现代农业产业技术体系建设专项研究基金(CARS-45-1).

liquid penetrated from fish meat, was determined, and the change of moisture and salt contents before and after the salting balance was analyzed. Furthermore, the kinetics of mass transfer of grass carp fillets during dry salting was investigated to provide the theoretical guidance for the optimization of dry salting process of roasted grass carp fillets. The results showed that, when the salt with 3%, 6% and 9% was added to the fillets, respectively, the fitting coefficients (R^2) between the weight change rate, water content change rate, and salt content change rate and the square root of salting time ($T^{0.5}$) were 0.9008, 0.9889, and 0.9687; 0.7341, 0.8536, and 0.9184; 0.9214, 0.9071, and 0.9146, witnessing a high degree of fitting. The De values of grass carp fillets during dry salting were $1.47 \times 10^{-14} \text{ m}^2/\text{s}$, $2.19 \times 10^{-16} \text{ m}^2/\text{s}$, and $8.64 \times 10^{-17} \text{ m}^2/\text{s}$, respectively, indicating that the speed of mass transfer significantly decreased as the salt amount added increased. The R^2 values between the driving pressure and $T^{0.5}$ were 0.9562, 0.8147, and 0.9052, showing a good linear relationship. When the dry salting time was less than 6.25 h, the higher the salt amount added, the greater the driving pressure; when the dry salting time was more than 6.25 h, the relationship between salt amount added and driving pressure underwent an opposite trend. The salinity and sensory score of roasted grass carp fillets with 6% of salt for 4 h were better than other salting conditions. These results suggested that the salt amount added and dry salting time may significantly change the mass transfer kinetic parameters ($P < 0.05$), leading to an improvement of quality attributes of roasted grass carp fillets.

Key words: grass carp; dry salting; moisture penetration; salt migration; kinetics

1 引言

草鱼具有个体大、产量高、肉质细嫩、味道鲜美等优点,在我国水产养殖业中占据着重要的经济地位,是我国淡水养殖的“四大家鱼”之一^[1]。草鱼肉的蛋白质属于优质动物蛋白,其氨基酸模式接近人体需要^[2]。目前草鱼主要以鲜销为主,深加工产品少。而且草鱼肉的水分含量和内源蛋白酶、脂肪酶活性高,在加工贮藏过程中极易发生腐败变质,因此相关加工保藏技术的开发和应用非常重要^[3-4]。

腌制是一种传统的食品保藏手段,是鱼肉制品加工过程中的重要环节。同时,腌制具有改善产品色泽、提高产品品质、形成特殊风味等作用^[5]。烧烤鱼制品是指将经过宰杀清洗、腌制等工序后的原料鱼置于火上,烹调至可食用的一类风味食品,具有烹调便捷、嫩度高、风味强等特点,深受年轻消费者的喜爱^[6]。我们的前期研究表明,腌制加工是影响烧烤草鱼品质的关键工艺环节,但目前仍采用传统腌制手段^[7]。传统腌制通常存在加盐量高、腌制时间长等问题,且腌制的工艺参数的确定往往依靠经验,容易造成产品品质不稳定、保质期短、营养物质过多流失等问题^[8]。改进传统腌制手段,制定精确腌制工艺参数,是保障烧烤鱼制品品质的关键。因此,研究腌制过程的传质动力学可以明确水分和食盐的变化规律,为烧烤草鱼块的腌制工艺优化提供理论指导^[9]。

目前,国内报道主要通过测定鱼肉制品的有效

扩散系数(D_e)来分析腌制过程中的传质动力学, D_e 反映物质扩散的速率,而腌制条件的改变会影响有效扩散系数,因此可以通过 D_e 的变化来分析腌制条件与传质规律之间的联系^[10-11]。Nguyen等^[12]研究了不同盐水浓度对鳕鱼湿腌过程中传质规律的影响,发现高浓度盐水的传质驱动力较大, D_e 值较高。Boudhrioua等^[12]研究了盐浓度、腌制温度和时间对沙丁鱼水分和食盐迁移的影响,结果显示,随着盐水浓度的增加和温度的升高,沙丁鱼中水的析出速率和盐的扩散速率显著增大。吕飞等^[14]研究了不同食盐添加量(5%~25%, w/v)对草鱼湿腌动力学的影响,发现随着食盐添加量的增加,草鱼的质量和含水量变化率的动力学参数降低,而食盐质量变化率的动力学参数升高。闫瑾等^[15]研究了盐水浓度、料液比、腌制温度对草鱼湿腌过程中传质规律的影响。结果显示,盐水浓度、料液比、腌制温度均对草鱼腌制影响显著,而且得到的食盐预测模型和扩散公式都有良好的线性关系,可以准确地预测鱼肉中食盐含量。目前,鱼肉制品腌制过程传质动力学的相关研究主要集中于湿腌工艺,针对干腌过程的研究还鲜有报道。前期大量报道表明,湿腌在保证原料组织的盐分分布均匀方面具有一定的优势,但也存在着产品蛋白质损失大、产品水分含量高,不利于保存等缺点。干腌工艺通过直接在鱼肉表面均匀涂抹食盐的方式,在降低食盐使用量,缩短腌制时间,减少营养成分流失,增加产品货架期的同时,还能大幅度减少加工废水的排放,更好满足日益严格的环保要求^[16]。

本试验在加盐量为草鱼块的总质量 3%、6%、9% 的条件下,分别测定干腌 2、4、6、8、10、12 h 的草鱼块的总质量、水分和食盐含量,运用菲克第二定律计算草鱼块腌制过程的 D_e ;通过鱼块水相和腌制食盐液相间的驱动力 $(1 - Y_t^s)$ 及腌制平衡时间来分析草鱼块干腌过程中的传质规律,结合草鱼块到达腌制平衡点前后水分和食盐含量的变化,探讨草鱼块干腌过程中的传质动力学,为烧烤草鱼块干腌工艺的优化提供理论指导。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

鲜活草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*, 1.5 kg/尾左右)购于湖北允泰坊食品有限公司;金龙鱼大豆油购于益海嘉里(武汉)粮油工业有限公司;食盐购于湖北盐业集团有限公司;绿茶购于武汉市云雾茶叶有限公司;硝酸(分析纯)、乙酸锌(分析纯)、亚铁氰化钾(分析纯)、硝酸银(分析纯)等购于国药集团化学试剂有限公司。

2.2 仪器与设备

MP-200A 电子天平,上海精密科学仪器有限公司;1101-1-BS 电热恒温鼓风干燥箱,上海跃进医疗器械厂;美的 T3-321B 电烤箱,广东美的实业有限公司。

2.3 试验方法

2.3.1 烧烤草鱼块的制备

鲜活草鱼→预处理→切块→脱腥→腌制→脱盐→穿串→干燥→冷却→烤制→成品

(1)原料的预处理:选用鲜活的草鱼,去鳞、内脏、头、尾、腩、鳍、刺、皮,从腹部沿中轴骨剖片,剖片后逐片清洗,将腹腔内的黑膜刮掉,去刺(注意不要破坏鱼体的完整性),最后流水洗净鱼体。

(2)草鱼块的制作:将鱼片纵向切成大小厚薄基本一致(7 cm × 2 cm × 1.5 cm)的草鱼块,每块质量 17 ~ 21 g。

(3)脱腥:用沸水泡绿茶,茶叶与水的比例为 1:50 (w/v),冷却至室温,滤掉茶叶,将草鱼块浸泡茶汤中于冰箱中脱腥 30 min,草鱼块与茶汤比 1:2 (w/v)。

(4)干腌:草鱼干腌工艺参照蒲亚军^[7]和李新^[17]的方法,稍作修改。将脱腥后的草鱼块放在不锈钢架上,使鱼体中的水分自然滴下,并用滤纸将草鱼块表面水分轻轻吸干,然后将草鱼块放置在洁净干燥的不锈钢盆中,食盐缓慢撒在鱼块表面,边撒边

翻转鱼体,并涂抹均匀,保鲜膜密封。把装有草鱼块的不锈钢盆置于冰箱的冷藏室(4℃)、腌制,加盐量分别为草鱼块质量的 3%、6%、9%,腌制时间分别为 2、4、6、8、10、12 h。将腌制草鱼块去骨、刺后斩拌混匀,测定水分含量、食盐含量和总质量等。

(5)脱盐:草鱼块腌制完成后,放入盛有自来水的的海锈钢盆中脱盐,草鱼块和清水的比例为 1:4 (w/w),淘洗两次,每次 1 min。

(6)穿串:取一块鱼肉用竹签沿鱼块长边穿起。

(7)干燥:将串好的草鱼块同方向等间距的放置在铺有纱布的筛网上,上下两层分别放置 6 块,于热风干燥箱中干燥。干燥温度(烘箱温度)为 40℃,干燥时间为 2 h。干燥后,从烘箱中取出鱼块,置于铺有纱布的不锈钢托盘中,自然冷却至室温(25℃)。

(8)烤制:选取 12 串草鱼块,鱼体两面刷油。烤制前先将烤网刷一层油,能有效避免草鱼块沾网。将鱼块置于烧红的电烤炉烤网上烤制,上下两层分别同方向等间距放置 6 块,在烤制至规定时间一半时翻动一次。烤制温度(烤箱温度)为 180℃,烤制时间为 15 min。

(9)成品:将烤制好的草鱼块置于铺有纱布的不锈钢托盘中,自然冷却至室温,备用。

2.3.2 水分含量的测定

参照 GB 5009.3-2016《食品安全国家标准 食品中水分的测定》^[18]测定。

2.3.3 食盐(Cl^-)含量的测定

参照 GB 5009.44-2016《食品安全国家标准 食品中氯化物的测定》^[19]中的佛尔哈德法。

2.3.4 草鱼块的总质量变化率(ΔM_t^0)、水分含量变化率(ΔM_t^w)和食盐含量变化率(ΔM_t^s)的测定

干腌过程草鱼块和食盐之间的物质交换主要是水分的渗透和食盐的扩散。另外,也会溶解微量的脂肪及蛋白质,可忽略不计^[20,21]。

草鱼块的总质量变化率根据公式(1)计算:

$$\Delta M_t/\% = \frac{M_t^0 - M_0^0}{M_0^0} \times 100 \quad (1)$$

草鱼块水分含量变化率根据公式(2)计算:

$$\Delta M_t^w/\% = \frac{M_t^0 \cdot M_t^w - M_0^0 \cdot M_0^w}{M_0^0} \times 100 \quad (2)$$

草鱼块食盐含量变化率根据公式(3)计算:

$$\Delta M_t^s/\% = \frac{M_t^0 \cdot M_t^s - M_0^0 \cdot M_0^s}{M_0^0} \times 100 \quad (3)$$

式中: ΔM_t^0 为干腌过程中草鱼块总质量的变化率; ΔM_t^w 为干腌过程中草鱼块水分含量的变化率; ΔM_t^s 为干腌过程中草鱼块食盐含量的变化率; M_t^0 和 M_0^0 为干腌 t 时刻和 0 时刻的草鱼块的质量; X_t^w 和 X_0^w 为干腌 t 时刻和 0 时刻的草鱼块的水分含量; X_t^s 和 X_0^s 为干腌 t 时刻和 0 时刻的草鱼块的食盐含量。

2.3.5 物质迁移动力学

为了分析草鱼干腌过程中物质迁移扩散规律, 本研究引用物质扩散动力学模型分析试验数据。公式(4)表示的是以时间为自变量, 干腌过程中草鱼块质量变化的数学预测模型, 草鱼块的质量变化与时间的平方根有关。

$$\Delta M_t^i = 1 + k_1 + k_2 \cdot t^{0.5} \quad (4)$$

式中: ΔM_t^i 为干腌制过程中的 ΔM_t^0 、 ΔM_t^w 和 ΔM_t^s ; k_1 决定函数图像截距, 即 $t = 0$ 附近的初始状态; k_2 决定函数图像斜率, 即变化率。其中独立系数 k_1 主要受腌制初期盐浓度梯度、水分活度梯度及一定程度上受到的压力梯度的影响; 相关系数 k_2 和扩散动力学相关, 显著影响腌制平衡时间, 主要依赖于腌制后期的质量变化率^[11,22]。

2.3.6 盐平衡方程

蛋白质状态主要与草鱼块水相中的食盐质量分数(Z^s)有关, 在干腌时由于草鱼块水分含量和食盐含量的变化导致草鱼块的肌肉特性发生改变。

$$X^s = \frac{X^s}{X^s + X^w} \quad (5)$$

公式中: X^w 为草鱼块的水分含量, X^s 为草鱼块的食盐含量。

Barat 等^[23]研究发现: 当腌制过程达到平衡时, 肉类水相中的食盐质量分数(Z_e^s)和渗透腌制液中的食盐质量分数(y_e^s)非常接近。腌制后测定肉样的食

盐含量和水分含量, 通过计算可以得到 Z^s 和 y^s , 用腌制不同时间后计算得到的 Z^s 与腌制平衡的理论值 Z_e^s 相比较, 当 Z^s 与 Z_e^s 基本相等时, 就说明此时达到了腌制平衡, 腌制平衡理论值计算见公式(6)。

$$Z_e^s = y_e^s = \frac{\frac{M_0^{SD}}{M_0^{SS}} \cdot X_0^s + y_0^s}{\frac{M_0^{SD}}{M_0^{SS}} \cdot (X_0^w + X_0^s) + (y_0^w + y_0^s)} \quad (6)$$

Z_e^s 和 y_e^s 根据干腌前的草鱼块(SD)与盐水溶液(SS)的质量比(M_0^{SD}/M_0^{SS})即鱼肉与水分之比和干腌初始时草鱼块的 X_0^s 、 X_0^w 和盐水的 y_0^s 和 y_0^w 来计算。

2.3.7 盐有效扩散系数(D_e)的计算

利用干腌过程中草鱼块水相中的食盐质量分数(Z_s)、鱼块渗出液中的食盐质量分数(y_s)和非克第二定律中的一个半无限平板公式(*Semi infinite slab*), 可得到草鱼块干腌过程中的 D_e ^[22]。

$$1 - Y_t^s = 1 - \left(\frac{Z_t^s - y_t^s}{Z_0^s - Z_e^s} \right) = 2 \cdot \left(\frac{D_e \cdot t}{\pi \cdot l_i^2} \right)^{0.5} + K \quad (7)$$

式中: 截距 K 为用来描述干腌起始时的传质驱动力; Y_t^s 为干腌时草鱼块的水相和渗出液之间减少的传质驱动力; Z_t^s 、 Z_0^s 和 Z_e^s 分别为腌制时草鱼块的水相在干腌 t 、0 时刻和平衡时的食盐质量分数; y_t^s 为渗出液在干腌 t 时刻的食盐质量分数; D_e (m^2/s) 为有效扩散系数, 用来描述扩散的速率; l_i 是草鱼块厚度的 1/2, 约为 0.75 cm。

2.3.8 感官评价

由 10 名我校食品专业研究生组成感官评价小组, 对烧烤草鱼块的五个感官指标进行评价。感官评价人员评分前, 先温水漱口, 再按感官评分标准对烧烤草鱼块的各个指标评分, 一次评分完后, 再用温水漱口, 进行下一次评分。评价标准见表 1。

表 1 烧烤草鱼块的感官评价标准

项目	8~10 分	6~7 分	≤5 分
色泽	色泽焦黄色, 有光泽。	色泽稍深或浅, 无光泽。	色泽发灰等异常颜色, 无光泽。
外观	鱼肉结实, 组织完整。	鱼肉较为结实, 组织破损较少。	鱼肉松散, 组织破损严重。
咸度	咸度适中。	稍咸或稍淡。	过于偏咸或偏淡。
气味	具有强烈烧烤鱼块香味, 无焦糊味或异味。	轻度烧烤鱼块香味, 有一点焦糊味或异味。	无烧烤鱼块香味, 焦糊味或异味较强。
口感	口感好, 无油腻感, 鱼块质地细腻并有嚼劲。	口感较好, 稍有油腻感, 鱼块质地较细腻。	口感差, 油腻感强烈, 鱼块无嚼劲。

2.4 数据分析

采用 Microsoft Office Excel 2010 软件和 SPSS 19.0 进行数据处理和分析,试验重复 3 次,平行 3 次,试验结果以平均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,试验数据采用 ANOVA 进行邓肯氏(Dunken)差异分析,以 $P < 0.05$ 为显著。

3 结果与讨论

3.1 干腌草鱼块的水分和食盐含量

加盐量及腌制时间对干腌草鱼块水分和食盐含量的影响见表 2。随着加盐量的增加,草鱼块的水分含量下降速率逐渐升高;随着腌制时间的延长,草鱼块的水分含量呈显著下降趋势($P < 0.05$)。

草鱼块的水分含量下降是由于在干腌初期,食盐与鱼块表面水分溶合,导致鱼块内外形成离子浓度差,鱼块内部离子浓度较小而表面离子浓度较大,

表 2 加盐量及腌制时间对草鱼块水分和食盐含量的影响

腌制 时间/h	水分含量/%			食盐含量/%		
	3% 加盐量	6% 加盐量	9% 加盐量	3% 加盐量	6% 加盐量	9% 加盐量
0	78.59 ± 0.11 ^f	78.59 ± 0.11 ^d	78.59 ± 0.11 ^c			
2	75.97 ± 0.06 ^e	74.52 ± 0.07 ^c	71.97 ± 0.80 ^d	0.62 ± 0.03 ^a	1.74 ± 0.05 ^a	2.19 ± 0.03 ^a
4	75.71 ± 0.07 ^d	73.02 ± 0.07 ^b	70.58 ± 0.14 ^c	0.69 ± 0.03 ^a	1.85 ± 0.01 ^b	2.56 ± 0.00 ^a
6	75.70 ± 0.05 ^d	72.57 ± 0.95 ^{ab}	69.76 ± 0.01 ^b	0.98 ± 0.18 ^b	1.92 ± 0.01 ^{bc}	2.64 ± 0.34 ^a
8	75.26 ± 0.02 ^c	72.56 ± 0.11 ^{ab}	69.55 ± 0.01 ^b	1.05 ± 0.03 ^b	1.95 ± 0.01 ^c	2.70 ± 0.00 ^{ab}
10	73.74 ± 0.04 ^b	71.97 ± 0.01 ^a	68.19 ± 0.01 ^a	1.33 ± 0.13 ^c	1.97 ± 0.03 ^c	3.16 ± 0.05 ^{bc}
12	73.15 ± 0.07 ^a	71.68 ± 0.02 ^a	67.66 ± 0.01 ^a	1.60 ± 0.01 ^d	2.14 ± 0.06 ^d	3.21 ± 0.07 ^c

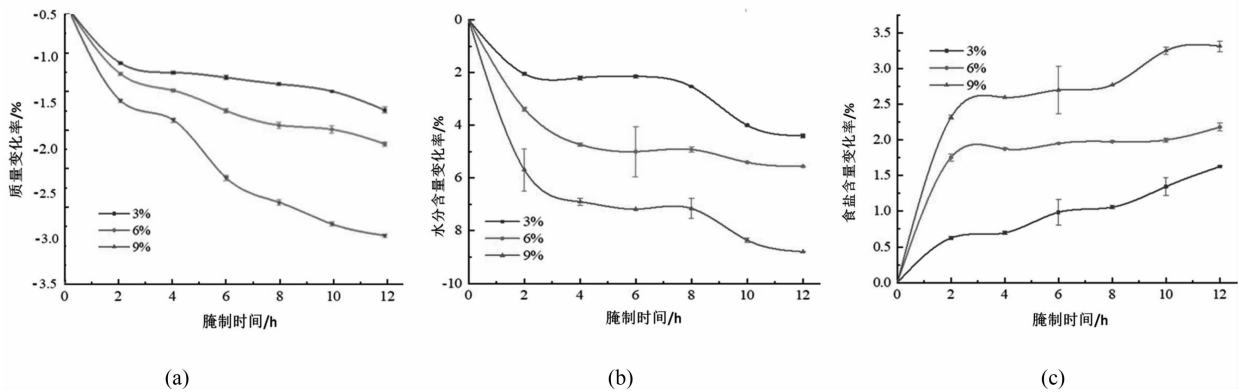
注:在同一列数据中,不同的小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

食盐发生渗透作用,鱼块内部通过不断地失水来保持内外离子浓度相同。干腌制时间延长,高浓度食盐溶液逐渐与鱼肉细胞接触,细胞发生渗透失水,水分透过细胞膜运输到细胞外部,同时鱼肉蛋白质在加盐和极端渗透压力条件下变性失活,蛋白质的持水能力逐步降低,导致鱼块含水量下降^[24,25]。若食盐持续渗透,蛋白质附近的食盐浓度过高,还会破坏蛋白质的水化层和表面电荷,导致蛋白质失去胶体性质,在水中的溶解度降低,发生盐析,从而减少鱼肉蛋白质的持水能力^[26]。

随着加盐量的增加,草鱼块中的食盐含量呈显

著上升的趋势($P < 0.05$),且增加的速率也显著升高($P < 0.05$)。这可能是在干腌过程中,食盐产生的渗透压会使鱼体组织持续渗出水分,这些水分与表面食盐颗粒形成食盐溶液再向鱼体内部扩散,导致食盐分子进入鱼块组织液中。加盐量相同时,腌制时间越长食盐扩散越多;加盐量越多,产生的渗透压差越大,食盐扩散的速率越快,相同时间鱼块中扩散的食盐含量也越高。

3.2 干腌草鱼块的总质量变化率、水分含量变化率、食盐含量变化率



(a) 总质量变化率(ΔM_t^0);(b) 水分含量变化率(ΔM_t^w);(c) 食盐含量变化率(ΔM_t^s)

图 1 干腌过程中草鱼块的总质量变化率(ΔM_t^0)、水分含量变化率(ΔM_t^w)和食盐含量变化率(ΔM_t^s)

鱼肉制品在腌制过程中,质量的变化直接影响出品率,水分含量变化率和食盐含量变化率是影响腌制平衡的重要指标。从图(1-a)中可知,在干腌过程中,草鱼块的总质量变化率呈显著下降趋势,且加盐量越高,总质量变化率越小。这是由于在达到腌制平衡点之前,草鱼块的食盐扩散量与水分渗透量未达到动态平衡,食盐扩散进程小于水分渗透进程,导致草鱼块的质量变化率持续下降,且加盐量越高,食盐扩散量与水分渗透量的差值越大,草鱼块质量的变化越明显。渗透脱水作用和蛋白质在食盐的作用下发生变性,导致鱼肉中的肌原纤维蛋白快速失水,蛋白质溶解度迅速下降,引起鱼肉持水力的降低和质地的变化,从而影响草鱼块的总质量变化率^[27-29]。在0~4 h,草鱼块的总质量变化率减小较快;4 h后,草鱼块的总质量变化率减小速率变缓,这是由于4 h后草鱼块的食盐扩散量与水分渗透量趋近动态平衡。在干腌过程中,加盐量和腌制时间均影响草鱼块的蛋白质持水能力和质地,使得鱼肉中的蛋白质和脂质官能团发生变化,导致水分和蛋白质流失,脂肪发生氧化,大量食盐以溶液的形式扩散进鱼块组织液中^[30]。

由图(1-b)可知,草鱼块的水分含量变化率

随着干腌时间的延长而降低,且加盐量越高,水分含量变化率越小,这与表2中得到的结果一致。在0~4 h,草鱼块的水分含量变化率降低较快,在4~8 h,下降变得较为平缓,而在8~10 h,又出现了水分含量变化较快的现象。这是由于,在0~4 h,草鱼块内外离子浓度差较大,鱼块内部通过不断失水来保持内外离子浓度相同,此阶段水分含量变化率降低较快;在4~8 h时,鱼块内外离子浓度差较小,水分渗透速率变慢;在8~10 h,鱼肉蛋白质的变性甚至盐析过程不断加深,鱼肉细胞内部的蛋白质持水能力大大下降,这极大地促进了水分损失的进程,从而又出现了水分含量急剧减小的现象^[31]。

从图(1-c)可以看出,随着腌制的进行,草鱼块中的食盐含量变化率呈不断升高的趋势,且加盐量越大,食盐变化率越大。此外,食盐扩散量在腌制初期时相对较大,导致食盐变化率的增加也较大,这与Barat等^[32]在有关传统干腌法(有超压和无超压)和湿腌法(有真空脉冲和无真空脉冲)腌制新鲜鳊鱼的研究中发现的规律一致,即在腌制初期细胞内外食盐浓度的差异最大,所产生的驱动力是最大的,导致食盐的扩散速率更快,食盐含量变化率的变化也越明显。

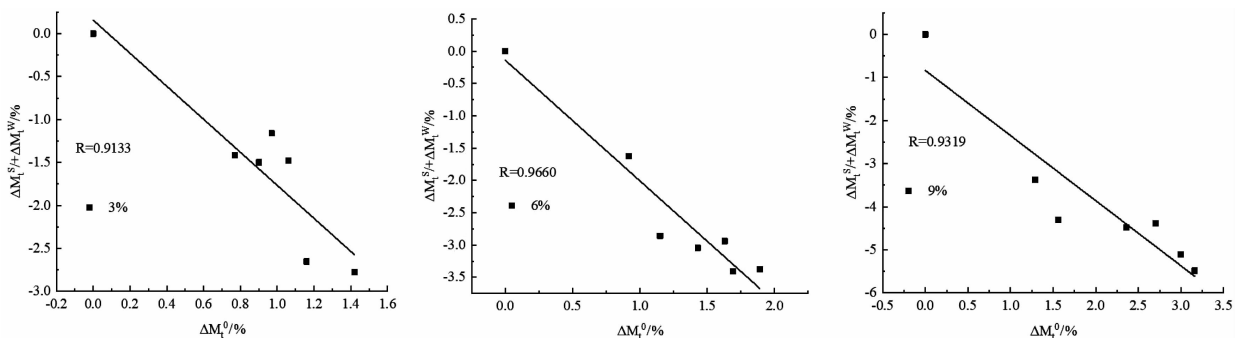


图2 水分、食盐含量变化率之和与质量变化率的回归曲线

以水分含量变化率与食盐含量变化率之和为纵坐标,质量变化率为横坐标得到回归曲线,结果如图2所示。加盐量为3%、6%和9%时,回归曲线的相关系数 R^2 值分别率之间有较强的相关性。同时,数据点大多分布在回归曲线以上,可能是干腌过程中少量分解的蛋白质和脂肪随着水分的迁移而流失,使测得的水分变化量大于实际的水分损失量^[16]。

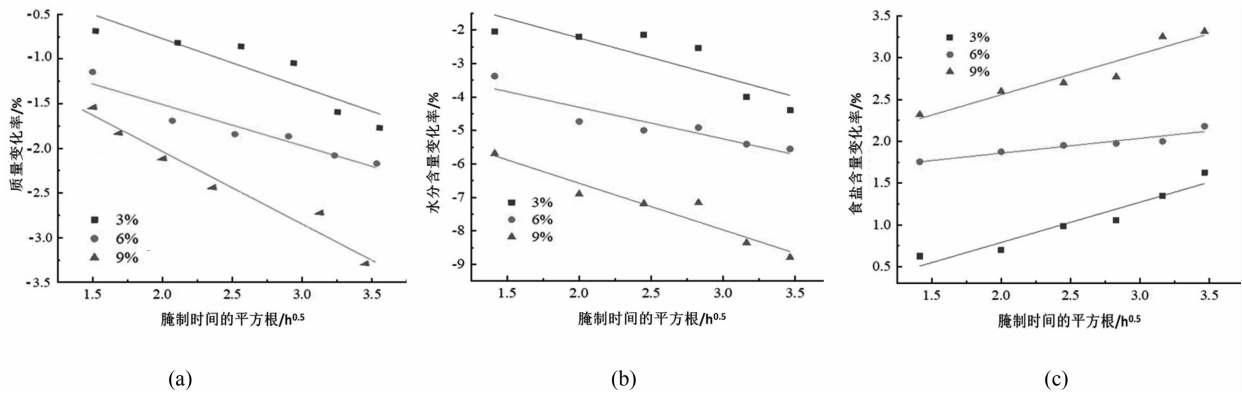
3.3 运用预测模型描述干腌过程中草鱼块质量、水分和食盐含量的变化

草鱼块在干腌过程中质量变化率(ΔM_1^Q)、水分含量变化率(ΔM_1^W)和食盐含量变化率(ΔM_1^S)与腌制时间平方根($t^{0.5}$)的回归关系曲线如图3所示,其

相关性系数见表3。加盐量3%、6%和9%条件下的质量变化率、水分变化率和食盐含量变化率与腌制时间平方根($t^{0.5}$)之间的拟合系数 R^2 分别为0.9008、0.9889、0.9687;0.7341、0.8536、0.9184;0.9214、0.9071、0.9146。其中,水分含量变化率的拟合系数为0.7341和0.8536,这是因为干腌先让鱼块组织液渗透失水,进而导致内部蛋白质持水能力下降,两个阶段的水分渗透差异较大,使得水分含量变化率的拟合系数稍低。该模型对质量变化率、水分变化率和食盐变化率与腌制时间平方根之间的变化拟合能力较好($R^2 \geq 0.9008$),说明运用该模型可较好地描述和预测草鱼块干腌过程中的质量、水分

和食盐含量变化,用来作为优化烧烤草鱼块干腌工艺的理论工具。且图(3-b)和图(3-c)中,6%加盐量组水分含量变化率的斜率和食盐含量变化率的斜率均小于另外两组,斜率小,则代表水分和食盐含

量增减较为平缓,这表明6%加盐量组的水分渗透的速率和食盐扩散的速率差距更小,即更接近腌制平衡点。



(a)总质量变化率(ΔM_t^0);(b)水分含量变化率(ΔM_t^w);(c)食盐含量变化率(ΔM_t^s)

图3 总质量变化率(ΔM_t^0)、水分含量变化率(ΔM_t^w)、食盐含量变化率(ΔM_t^s)与干腌时间平方根($t^{0.5}$)的回归关系曲线

鱼肉制品腌制过程中,独立系数 k_1 和相关系数 k_2 是用来分析腌制初期物质变化及预测腌制后期腌制速率的重要参数。用本试验原始数据和模型计算,得到用于反映总质量变化率、水分含量变化率和食盐含量变化率的独立系数 k_1 和相关系数 k_2 [11], 结果如表3所示。

表3 草鱼块的质量、水分和食盐含量变化率的动力学参数

变量	加盐量/%	k_1	k_2	R^2
ΔM_t^0	3	-0.6749	0.2826	0.9008
	6	-0.7568	0.4733	0.9889
	9	-1.1929	0.9941	0.9687
ΔM_t^w	3	-0.8982	-1.1704	0.7341
	6	-3.4255	-0.9419	0.8536
	9	-4.7859	-1.3948	0.9184
ΔM_t^s	3	-1.1722	0.4814	0.9214
	6	0.5049	0.1768	0.9071
	9	0.5846	0.4863	0.9146

3%加盐量组的水分的 k_1 值明显大于其他两组,食盐的 k_1 值明显小于其他两组,而6%与9%加盐量组的 k_1 值差异不明显。这说明干腌初期(2 h前),3%加盐量组与其他两组在食盐溶解后的盐浓度梯度、水分活度梯度以及压力梯度上具有明显差异,导致干腌初期3%加盐量组的食盐扩散缓慢;干腌后期(6.25 h后),6%加盐量组的水分的 k_2 绝对

值最小(水分析出的 k_2 值以负数绝对值计斜率),盐分的 k_2 值也最小,即该组食盐含量变化率和水分含量变化率增加最缓慢。这说明6%加盐量组相较于其他两组率先到达腌制平衡点,可能是干腌时草鱼块的表面水分有限,较低加盐量(3%)的食盐会更快溶解扩散,但食盐扩散量较少且大多在鱼肉较浅的位置渗透,不利于鱼块组织液的流出,也难以使鱼肉蛋白质变性。较高加盐量组(9%)由于盐分高,对食盐含量变化率和水分含量变化率的改变更明显,但鱼肉析出的水分不足以充分溶解鱼块表面多余的食盐,较难达到腌制平衡点。

综上所述,干腌过程食盐的扩散进程与草鱼块的含水量密切相关,加盐量过低,难以使鱼块内部充分失水;加盐量过高,鱼块本身的含水量不足以溶解多余的食盐。因此,适宜的加盐量(6%)既能大大节省食盐的用量,还能使干腌过程更快达到平衡。

3.4 De 值的计算

鱼肉制品腌制过程实际上是溶质扩散和溶剂渗透相结合的过程,是一个动态平衡过程,其根本驱动力就是内外浓度差。当浓度差逐渐降低直至消失时,扩散和渗透过程就达到平衡。草鱼块干腌时,鱼块的外部溶液和组织细胞的内部溶液借助溶剂的渗透过程及溶质的扩散过程,浓度逐渐趋向平衡。根据公式(6)计算得出:在达到腌制平衡时,加盐量3%、6%和9%的草鱼块水相中的食盐质量分数 Z_s^* 理论值分别为0.0213、0.0801和0.1638;结合公式(7)可计算出草鱼块干腌过程中水相和干腌食盐液

相间的驱动力($1 - Y_i^s$)及 D_e 值。

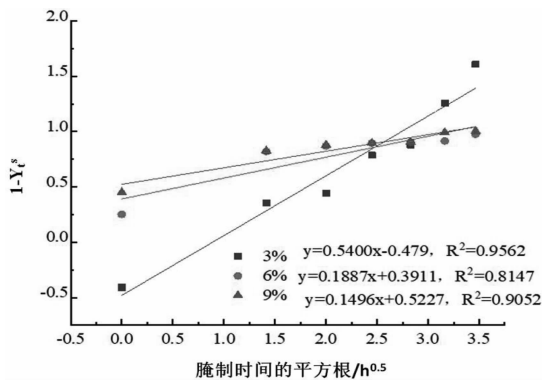


图4 驱动力与干腌时间平方根($t^{0.5}$)的回归关系曲线

草鱼块干腌过程中水相和干腌食盐液相间的驱动力($1 - Y_i^s$)与腌制时间的平方根($t^{0.5}$)的回归曲线如图4所示。加盐量为3%、6%和9%时,回归曲线的相关系数 R^2 值分别为 0.9562、0.8147 和 0.9052,说明草鱼块水相和干腌食盐液相间的驱动力与干腌时间的平方根间存在较好的线性关系。在干腌初期,驱动力随着加盐量的增加而变大;而在 6.25 h 时,3% 加盐量组的驱动力开始超过其他两组;随着腌制时间的继续增加,6% 加盐量组的驱动力也逐渐超过 9% 加盐量组。这表明加盐量仅对干腌前期的驱动力产生显著影响,随着干腌时间延长,较高的加盐量反而会降低草鱼块水相和腌制食盐液相间的驱动力。

表4 不同添加量食盐干腌的动力学参数值

加盐量/%	D_e (m^2/s)	K	R^2
3	1.47×10^{-14}	-0.4790	0.9562
6	2.19×10^{-16}	0.3911	0.8147
9	8.64×10^{-17}	0.5227	0.9052

不同加盐量草鱼块干腌过程中的 D_e 差异明显(表4)。加盐量 3%、6% 和 9% 的草鱼块干腌过程中的 D_e 值分别为 $1.47 \times 10^{-14} m^2/s$ 、 $2.19 \times 10^{-16} m^2/s$ 和 $8.64 \times 10^{-17} m^2/s$,即随着加盐量的增加, D_e 值减小,水分、食盐、蛋白质和脂肪等物质的传质速率减慢,这与湿腌过程传质动力学变化规律有明显的差异。湿腌传质动力学 D_e 值大部分介于 $10^{-9} m^2/s \sim 10^{-11} m^2/s$,明显大于本试验的 D_e 值,且湿腌过程中,随着盐浓度的增加, D_e 值普遍增大,在过高的盐浓度下 D_e 值才会出现减少^[14,22-33]。这表明鱼肉干腌时的传质动力并非单纯受加盐量影响,还与肌肉中水分、蛋白质、脂肪等的迁移以及肌肉微观结构变化等综合因素有关^[34]。干腌过程中,草鱼块蛋白质和脂质的官能团发生变化,导致鱼块肌肉组织变得松散,使得蛋白质、水分流失,脂肪发生氧化,并引起传质动力大幅降低,且加盐量与 D_e 值呈负相关,肌肉中水分的迁移、蛋白质和脂肪等物质的变化是影响干腌过程中传质动力的关键因素。

3.5 感官评价

表5 加盐量及干腌时间对烧烤草鱼块感官品质的影响

加盐量/%	腌制时间/h	色泽	外观	咸度	气味	口感	总分
3	2	7.40 ± 0.55^{ab}	7.80 ± 0.45^{ab}	5.80 ± 0.84^a	7.00 ± 0.00^{ab}	7.40 ± 0.55^b	35.40 ± 1.34^a
	4	6.80 ± 0.45^a	7.20 ± 0.45^a	7.00 ± 0.71^c	7.00 ± 0.71^{ab}	8.00 ± 0.00^{bc}	36.00 ± 1.22^a
	6	8.00 ± 0.00^{ab}	7.80 ± 0.45^{ab}	8.00 ± 0.71^d	7.60 ± 0.55^b	8.20 ± 0.45^{bc}	39.60 ± 1.14^b
	8	8.00 ± 0.00^{ab}	7.40 ± 0.55^a	6.80 ± 0.84^{bc}	6.80 ± 1.10^a	7.00 ± 1.22^{ab}	36.00 ± 2.65^a
	10	7.20 ± 0.45^a	7.40 ± 0.89^a	6.60 ± 0.55^b	6.80 ± 0.45^a	6.80 ± 0.84^a	34.80 ± 1.48^a
	12	7.00 ± 0.71^a	7.00 ± 0.71^a	6.60 ± 0.89^b	6.60 ± 0.55^a	6.60 ± 0.89^a	33.80 ± 2.77^a
6	2	7.20 ± 0.45^{ab}	6.60 ± 0.55^a	7.20 ± 0.84^c	6.60 ± 0.55^b	7.40 ± 0.89^b	35.00 ± 1.22^b
	4	8.00 ± 0.00^b	8.00 ± 0.71^b	8.40 ± 0.55^d	7.80 ± 0.45^{bc}	8.20 ± 0.84^{bc}	40.40 ± 2.07^c
	6	7.80 ± 0.45^b	7.60 ± 0.55^{ab}	5.60 ± 0.55^b	7.20 ± 0.45^{bc}	7.00 ± 0.71^{ab}	35.20 ± 1.92^b
	8	7.80 ± 0.45^b	6.80 ± 0.45^a	5.20 ± 0.84^b	6.60 ± 0.55^b	6.60 ± 0.55^{ab}	33.00 ± 1.58^b
	10	7.20 ± 0.45^{ab}	7.00 ± 0.71^a	4.60 ± 0.55^a	5.40 ± 0.55^a	6.20 ± 0.84^a	30.40 ± 2.41^a
	12	7.00 ± 0.71^a	6.80 ± 0.45^a	4.40 ± 0.55^a	6.40 ± 0.89^b	5.80 ± 1.48^a	30.40 ± 2.88^a
9	2	7.00 ± 0.00^a	7.20 ± 0.45^{ab}	4.40 ± 0.55^{bc}	6.60 ± 0.89^{ab}	6.00 ± 1.00^b	31.20 ± 2.28^b
	4	7.80 ± 0.45^{ab}	6.80 ± 1.30^a	5.40 ± 0.55^c	6.60 ± 0.89^{ab}	6.60 ± 0.89^{bc}	33.20 ± 3.56^{bc}
	6	7.40 ± 0.55^a	7.40 ± 0.55^{ab}	4.20 ± 0.45^b	7.00 ± 1.00^b	5.40 ± 1.52^{ab}	31.40 ± 2.19^b
	8	7.80 ± 0.45^{ab}	7.00 ± 0.00^a	4.20 ± 0.45^b	6.00 ± 0.71^a	5.60 ± 0.55^{ab}	30.60 ± 1.14^b
	10	7.40 ± 0.55^a	7.20 ± 0.45^{ab}	3.00 ± 0.71^a	5.80 ± 0.45^a	6.40 ± 0.89^{bc}	29.80 ± 1.79^b
	12	7.20 ± 0.84^a	6.80 ± 0.45^a	2.80 ± 0.45^a	5.60 ± 0.89^a	4.40 ± 2.19^a	26.80 ± 3.83^a

注:同列标注不同小写字母表示显著性差异($P < 0.05$)。

对不同加盐量、腌制时间处理后制作的烧烤草鱼块进行感官评价,结果如表 5 所示。在相同加盐量时,感官评分均随腌制时间的延长呈现先上升后下降的趋势;在相同腌制时间时,加盐量 3% 和 6% 的感官评分均高于加盐量 9%。不同腌制条件下色泽、外观、气味和口感并没有显著性差异,其中咸度的变化规律与总分的变化规律基本一致,说明咸度可能是影响烧烤鱼块感官评价总分的主要因素。当草鱼块干腌时间接近 4 h 时,加盐量 6% 组的咸度最适宜,感官评分最高。

表 6 加盐量及腌制时间与色泽、外观、咸度、气味、口感和总分之间的相关性分析

工艺参数	加盐量		腌制时间	
	相关性(皮尔逊系数)	显著性	相关性(皮尔逊系数)	显著性
色泽	-0.382	0.117	-0.324	0.189
外观	0.035	0.890	-0.168	0.504
咸度	-0.730**	0.001	-0.544*	0.020
气味	-0.464	0.105	-0.409	0.092
口感	-0.669**	0.002	-0.526*	0.025
总分	-0.659**	0.003	-0.449*	0.035

注:* 表明在 0.05 水平上显著相关,** 表明在 0.01 水平上显著相关。

为了进一步明确腌制工艺与不同感官指标间的关系,对表 5 中数据进行皮尔逊相关性分析,结果如表 6 和表 7 所示。由表 6 中的皮尔逊(Pearson)系数可知,加盐量与咸度、口感和总分呈极显著负相关,即加盐量越大,鱼块中的咸度越不适宜,口感越差、总分越低;腌制时间与咸度、口感和总分呈显著负相关。结合表 7 可知,与草鱼块外观最相关的是气味,与草鱼块咸度最相关的是总分,与草鱼块气味最相关的是咸度,与草鱼块口感最相关的是总分,与草鱼块感官总分最相关的是咸度,因此感官评分的变化主要是由咸度决定的。

表 7 烧烤草鱼块色泽、外观、咸度、气味、口感和总分的相关性分析

指标	参数	色泽	外观	咸度	气味	口感	总分
色泽	相关性	1	0.423	0.278	0.386	0.284	0.446
	显著性		0.080	0.264	0.113	0.254	0.064
外观	相关性	0.423	1	0.464	0.699**	0.545*	0.667**
	显著性	0.080		0.052	0.001	0.019	0.003
咸度	相关性	0.278	0.464	1	0.775**	0.881**	0.948**
	显著性	0.264	0.052		0.000	0.000	0.000
气味	相关性	0.386	0.699**	0.775**	1	0.726**	0.880**
	显著性	0.113	0.001	0.000		0.01	0.000
口感	相关性	0.284	0.545*	0.881**	0.726**	1	0.929**
	显著性	0.254	0.019	0.000	0.001		0.000
总分	相关性	0.446	0.667**	0.948**	0.880**	0.929**	1
	显著性	0.064	0.003	0.000	0.000	0.000	

注:* 表明在 0.05 水平上显著相关,** 表明在 0.01 水平上显著相关。

4 结论

干腌引起草鱼块的食盐含量上升、总质量和水分含量下降,直到达到腌制平衡点。干腌草鱼块水分流失的快慢直接影响食盐扩散的速率,水分流失

与组织液渗透失水和蛋白质持水能力下降有关。加盐量与干腌初期(<2 h)的盐浓度梯度、水分活度梯度和压力梯度呈正相关,影响草鱼块达到腌制平衡的时间;6% 加盐量比 3% 和 9% 加盐量更快到达腌制平衡点,6% 加盐量腌制后的草鱼块的咸度适宜,

感官评分最高。

干腌时间小于 6.25 h, 加盐量与食盐液相驱动力($1 - Y_i^*$)之间呈正相关; 干腌时间大于 6.25 h, 两者呈负相关。草鱼块干腌的 D_e 值远小于传统湿腌, 干腌过程中随着加盐量的增加, D_e 值显著减小, 传质速率减慢, 呈现出与湿腌完全相反的变化规律, 说明鱼肉干腌时的传质驱动力并非单纯受加盐量的影响, 可能还与肌肉中水分、蛋白质、脂肪等的迁移以及肌肉微观结构的变化等综合因素有关, 具体物质的迁移变化规律有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 张四明, 邓怀, 汪登强, 等. 长江水系鲢和草鱼遗传结构及变异性的 RAPD 研究[J]. 水生生物学报, 2001, 25(4): 324-330.
- [2] Zhang Y, Liu W, Li G, et al. Isolation and partial characterization of pepsin - soluble collagen from the skin of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. Food Chemistry, 2007, 103(3): 906-912.
- [3] Wu L L, Pu H B, Sun D W. Novel techniques for evaluating freshness quality attributes of fish: A review of recent developments [J]. Trends in Food Science and Technology, 2019, 83: 259-273.
- [4] 吴燕燕, 邱澄宇, 李来好, 等. 草鱼加热过程中肌肉蛋白质的热变性[J]. 水产学报, 2005, 29(1): 133-136.
- [5] Graiver N, Pinotti A, Califano A, et al. Diffusion of sodium chloride in pork tissue [J]. Journal of Food Engineering, 2006, 77(4): 910-918.
- [6] 蔡路昀, 马帅, 程煊茹, 等. 不同烤制时间对沙丁鱼片风味及品质的影响[J]. 水产学报, 2016, 40(5): 785-798.
- [7] 蒲亚军, 石元江, 王莉, 等. 速冻烧烤草鱼的工艺研究[J]. 肉类工业, 2015, 414(10): 20-21.
- [8] 杜垒, 李艳逢, 周光宏, 等. 不同浓度盐水对鸭肉湿腌时传质动力的影响[J]. 食品工业科技, 2011, 32(06): 79-82.
- [9] 娄永江, 朱东艳, 黄晓春, 等. 带鱼腌制动力学模型的建立及应用[J]. 中国食品学报, 2011, 11(5): 81-86.
- [10] 匡威, 安亮, 徐军, 等. 鸭腿减盐滚揉腌制过程中的传质动力学[J]. 食品科学, 2019, 40(23): 1-7.
- [11] Gallart-Jornet L, Barat J M, Rustad T, et al. Influence of brine concentration on Atlantic salmon fillet salting [J]. Journal of Food Engineering, 2007, 80(1): 267-275.
- [12] Nguyen M V, Arason S, Thorarinsdottir K A, et al. Influence of salt concentration on the salting kinetics of cod loin (*Gadus morhua*) during brine salting [J]. Journal of Food Engineering, 2010, 100(2): 225-231.
- [13] Boudhrioua N, Djendoubi N, Bellagha S, et al. Study of moisture and salt transfers during salting of sardine fillets [J]. Journal of Food Engineering, 2009, 94(1): 83-89.
- [14] 吕飞, 刘然, 刘书来, 等. 食盐添加量对草鱼腌制动力学的的影响 [J]. 中国食品学报, 2013, 13(5): 135-140.
- [15] 闫瑾, 卞欢, 诸永志, 等. 不同腌制条件对草鱼湿腌传质动力的影响[J]. 食品工业科技, 2015, 36(2): 143-148.
- [16] 刘然, 吕飞, 丁玉庭. 不同腌制方式对草鱼腌制速率和理化性质的影响 [J]. 食品工业, 2012(12): 67-71.
- [17] 李新, 汪兰, 吴文锦, 等. 风干草鱼块加工工艺分析 [J]. 湖北农业科学, 2016, 55(23): 6208-6210.
- [18] 国家卫生和计划生育委员会. 食品中水分的测定: GB 5009.3-2016 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 1-2.
- [19] 国家卫生和计划生育委员会. 食品中氯化物的测定: GB 5009.44-2016 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 1-2.
- [20] Yao Z, Maguer M L. Analysis of mass transfer in osmotic dehydration based on profiles of concentration shrinkage, transmembrane flux and bulk flow velocity in the domain of time and space [J]. Journal of Food Process Engineering, 1997, 20(5): 401-414.
- [21] Raoultwack A L. Recent advances in the osmotic dehydration of foods [J]. Trends in Food Science and Technology, 1994, 5(8): 255-260.
- [22] Barat J M, Rodríguez B S, Andrés A, et al. Modeling of the cod desalting operation [J]. Food Engineering and Physical Properties,

- 2004,69(4):183-189.
- [23] Barat J M, Gallart J L, Andrés A, et al. Influence of cod freshness on the salting, drying and desalting stages[J]. *Journal of Food Engineering*, 2006, 73(1):9-19.
- [24] 夏文水, 罗永康, 熊善柏. 大宗淡水鱼贮运保鲜与加工技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2014.
- [25] 邢云霞, 马敏杰, 巴吐尔·阿不力克木, 等. 食盐添加量对草鱼腌制效果的影响[J]. *肉类研究*, 2018, 32(10):38-43.
- [26] Goli T, Bohuon P, Ricci J, et al. Mass transfer dynamics during the acidic marination of turkey meat[J]. *Journal of Food Engineering*, 2011, 104(1):161-168.
- [27] Dunajski E. Texture of fish muscle[J]. *Journal of Texture Studies*, 1979, 10(4):301-318.
- [28] Duerr J D, Dyer W J. Proteins in fish muscle iv denaturation by salt[J]. *Journal of The Fisheries Research Board of Canada*, 1952, 8(5):325-331.
- [29] Hadizadeh Z. The effect of stacking of narrow barred spanish mackerel (*Scomberoides commersonnianus*) on protein composition and amino acid profile[J]. *Food Biosciences and Technology*, 2014, 4(1):1-12.
- [30] 郭丽媛, 刘登勇, 徐幸莲, 等. 猪肉腌制过程中的传质动力学研究[J]. *食品科学*, 2015, 36(1):31-36.
- [31] 柴子惠, 李洪军, 李少博, 等. 低盐腊肉加工期间品质和菌相变化[J]. *肉类研究*, 2018, 32(11):1-8.
- [32] Barat J M, Rodriguez B S, Andres A, et al. Cod salting manufacturing analysis[J]. *Food Research International*, 2003, 36(5):447-453.
- [33] Boudhrioua N, Djendoubi N, Bellagha S, et al. Study of moisture and salt transfers during salting of sardine fillets[J]. *Journal of Food Engineering*, 2009, 94(1):83-89.
- [34] Graiver N, Pinotti A, Califano A, et al. Mathematical modeling of the uptake of curing salts in pork meat[J]. *Journal of Food Engineering*, 2009, 95(4):533-540.