

鲈鱼在微冻贮藏下品质及优势腐败菌的变化

王慧敏,王庆丽,朱军莉*

(浙江工商大学食品与生物工程学院,浙江杭州 310035)

摘要:为了分析冷藏温度对鲜活鲈鱼品质影响,研究通过测定感官指标、pH、挥发性盐基氮(TVB-N)、K值、细菌总数并结合PCR-变性梯度凝胶电泳(DGGE)技术评价了微冻条件下鲈鱼品质变化及优势微生物。结果表明,-2℃微冻贮藏能保持良好的感官品质,延缓pH、TVB-N和K值上升,减缓细菌的生长繁殖,鲈鱼在冷藏和微冻贮藏中货架期分别为9d和18d。细菌计数和DGGE图谱均显示,鲈鱼在冷藏和微冻贮藏下产H₂S菌和假单胞菌增长最快,其中腐败希瓦氏菌和假单胞菌是主要优势腐败菌。可见,-2℃微冻贮藏比4℃冷藏能延缓鲈鱼品质劣变,延长货架期。

关键词:鲈鱼,微冻,品质,腐败菌

Quality and dominated spoilage organisms changes of *Lateolabrax japonicus* during partially frozen storage

WANG Hui-min, WANG Qing-li, ZHU Jun-li*

(College of Food Science and Biotechnology, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310035, China)

Abstract: To analyze the effect of different cold temperature on the quality of *Lateolabrax japonicus*, the quality and dominated spoilage-causing organisms were investigated during the cold storage and partially frozen storage, respectively, by culture and PCR-DGGE technique, combined with the sensory evaluation, pH, total volatile basic nitrogen (TVB-N) and K value. These results indicated that a better acceptable sensory, less increase in TVB-N, K value and bacterial growth of sample stored at -2℃ compared with at 4℃. Additionally, the shelf life of *Lateolabrax japonicus* during cold storage at 4℃ and -2℃ was 9d and 18d, respectively. The H₂S producing bacteria and *Pseudomonas* spp. increased rapidly and *Shewanella putrefaciens* and *Pseudomonas* spp. was dominated spoilage bacterial during the cold storage at 4℃ and -2℃ by bacterial count and DGGE analysis. Thus, partial frozen storage could effectively inhibit quality deterioration and extend the shelf life time of *Lateolabrax japonicus*.

Key words: *Lateolabrax japonicus*; partially frozen storage; quality; spoilage bacteria

中图分类号:TS254.1

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2013)20-0330-06

养殖鱼类富含营养,然而鱼肉组织脆弱,水分和蛋白含量高、组织酶活跃,极易导致新鲜度下降及腐败变质。自溶酶、脂肪氧化、外源污染等因素均会引起鱼肉品质劣变,其中微生物生长及代谢形成的胺、硫化物、醛、酮和有机酸等,产生不良气体和风味,是引起腐败的主要原因之一^[1]。而温度是影响鱼类捕捞后贮藏和流通加工中品质变化的重要因素。因此,低温保鲜仍是目前水产鱼类应用最广泛的保鲜技术,其中冷藏保质期短,且在贮藏过程中鱼肉的新鲜度下降快。而微冻保鲜技术是将新鲜鱼放入低于鱼肉冰点以下的冰冻海水中迅速冷却,然后将鱼体保

存在-2~0℃区域内保鲜^[2],该方法可有效保持鱼肉的鲜度。

鲈属鲈形目,脂科,鲈属,在我国沿海以黄海、渤海较多分布,是重要的经济鱼类之一。近年来,随着鲈产量逐年增加,仅仅活体运输销售方式很难满足鲈鱼快速增长的需求。目前鲈的保鲜研究较少,有学者已研究了低温贮藏过程中鲈的鲜度指标和蛋白生化指标的变化^[3-4],并分析了盐水超冷却处理^[5]和微冻贮藏^[6]对鲈鱼的新鲜度和质构变化。然而,从微生物角度分析鲈鱼在低温贮藏过程中细菌菌群变化还鲜有报道。鉴于此,本文通过培养计数和PCR-变性梯度凝胶电泳(DGGE)分析的鲈鱼在冷藏和微冻条件下的菌落总数等的变化趋势及微生物构成,同时测定感官特性、TVB-N值、K值和pH的变化,研究微冻贮藏对鲈品质的变化规律,探索微冻保鲜的作用机制,为养殖鱼类的低温贮藏保鲜新技术提供理论依据。

收稿日期:2013-03-29 * 通讯联系人

作者简介:王慧敏(1988-),女,硕士研究生,研究方向:水产品储藏与加工。

基金项目:国家自然科学基金(31271954);浙江省科技厅项目(2012C22049);国家科技计划项目(2012BAD29B06)。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

鲈鱼 购于杭州市文二路农贸市场,平均尾重(603.4±31.8)g,平均体长(28.4±0.7)cm,36尾;平板计数琼脂(PCA)、Long-Hammer培养基(LH)、含铁琼脂(IA)、假单胞菌CFC选择性培养基(CFC)、结晶紫中性胆盐葡萄糖琼脂(VRBGA)和乳酸菌培养基(MRS) 购买于青岛海博生物有限公司;PBS缓冲液和Biospin基因组抽提试剂盒 购买于杭州昊天生物技术有限公司。

LRH-250A型生化培养箱 广东省医疗器械厂; LDZM-40KCS型灭菌锅 上海申安医疗器械厂; KJELTEC 2300型凯氏定氮仪 丹麦FOSS公司;BCD-277型西门子冰箱 博西华家用电器有限公司; DELTA 320型pH计 梅特勒-托利多仪器有限公司; HPLC 1100型高效液相色谱仪 美国安捷伦科技公司; DCodeTM型变性梯度凝胶电泳仪、Quantity One system型凝胶成像仪 美国Bio-Rad公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品处理 将运回实验室的鲜活鲈采用冰水混合物致死,保鲜袋包装后分成两组,每组18尾,分别置于微冻(-2±0.1)℃和冷藏(4±0.5)℃冰箱贮藏备用。

1.2.2 感官评价 采用缺点评分法^[7]对鲈鱼的气味、外观、眼球、鳃和尾部、腹部、肌肉组织为指标进行感官评定,评定人员由经过专门训练的10名人员组成,具体评分标准见表1。

1.2.3 pH测定 参考GB/T 5009.45-2003中的酸度计法,称取10g匀浆鱼肉,加入新煮沸后冷却的双蒸馏水90mL,拍打均匀,过滤静置后,测定pH。

1.2.4 挥发性盐基氮(TVB-N)测定 参考FOSS应用子报^[8]测定鱼肉中的TVB-N值。TVB-N值单位为mg/100g。

1.2.5 K值测定 K值采用HPLC测定,参考John的方法^[9]。

1.2.6 微生物计数 细菌总数(TVC)、产H₂S菌、假单胞菌、肠杆菌和乳酸菌计数均采用GB 4789.2-2010平板倾注计数测定。PCA和LH^[10]培养基测定TVC,IA培养基测定产H₂S菌,CFC培养基测定假单胞菌,MRS

琼培养基分析乳酸菌,VRBGA琼脂培养基分析肠杆菌。

1.2.7 PCR-DGGE分析方法 细菌总DNA的抽提:鱼肉组织中细菌收集和总DNA的提取参考文献[11],LH和PCA培养基中细菌用PBS缓冲液洗涤2次,采用Biospin基因组总DNA,分别对鲈鱼0d、品质转变期和货架终点期的样品提取其总DNA。采用16S rDNA的V3区进行PCR扩增^[11]。前引物(F):5'-ACTCCTACGGAGGCAGCAG-3',后引物(B):5'-GTATTACCGCGGCTGCTGG-3',发卡前引物(F):5'-CGCCGCGCCGCGCGCGCGGGCGGGGCGGGGGCACGGGGGGCTCTACGGGAGGCAGCAG-3'。50μL的反应体系如下:前后引物各2μL,Taq酶0.5μL,10×Buffer(含Mg²⁺)5μL,dNTP 4μL,ddH₂O 34.5μL。PCR反应程序:94℃ 5min,94℃ 40s,52℃ 1min,72℃ 40s,72℃ 5min,4℃保存。DGGE分析,采用40%丙烯酰胺/甲叉双丙烯酰胺(37.5:1),50×TAE缓冲液,配制35%和55%变性胶溶液进行DGGE电泳。电泳后对DGGE胶清晰明亮条带的割胶回收DNA,进行测序。

1.3 数据处理

采用SPSS 13.0进行重复测量方差分析,Origin 8.5软件(美国OriginLab公司)绘图, $p < 0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 感官分析

图1显示了鲈鱼在不同冷藏温度下新鲜度的感

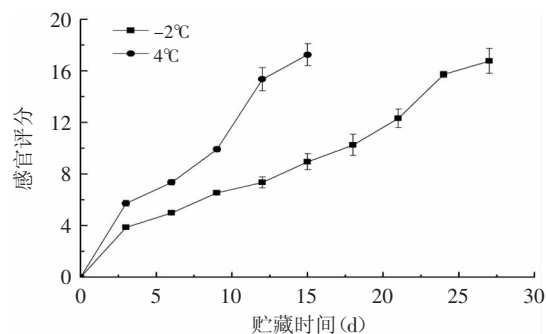


图1 鲈鱼在低温贮藏期间感官评分的变化

Fig.1 Changes in sensory attributes of *Lateolabrax japonicus* during the refrigerated storage

表1 鲈鱼感官评分表

Table 1 Sensory evaluation of *Lateolabrax japonicus*

指标	新鲜(0分)	较新鲜(1分)	腐败(2分)	严重腐败(3分)
气味	无异味,新鲜为浓郁海藻味	无异味,较淡海藻味	有发酸气味,有腐败的鱼腥臭味	浓烈酸臭味,有腐败的鱼腥臭味
外观	粘液稀薄透明;鳞片有光泽,紧贴鱼体,不易脱落	粘液增多;鳞片光泽暗淡,少部分鳞片脱落	粘液浓稠,有异味;鳞片微微发绿,易脱落	粘液变稀薄但严重浑浊;鳞片大面积脱落
眼球	眼球饱满,角膜透明清澈	眼角膜起皱	角膜浑浊	眼球内陷,浑浊,充血
鳃和尾部	鳃丝鲜红且分明,粘液稀薄透明	鳃丝暗红,稍有黏连;粘液透明较稠	鳃丝黏连严重	鳃丝呈红褐色,灰白,浑浊
腹部	正常不膨胀,肛门凹陷	不膨胀,肛门稍凸出	有点膨胀,肛门突出明显	严重膨胀变软,肛门突出严重
肌肉组织	光泽有弹性,肉质紧致白嫩;色泽正常,肉质稍有松软;致密完整,纹理清晰	色泽正常,肉质稍有松软;紧密,纹理较清晰	色泽偏暗,肉质带糜感;按压有液体流出;紧密,纹理较清晰	色泽偏黄,肉质松软有黄色液体流出

官评分变化。随着贮藏时间延长,鲈鱼在冷藏条件下感官评分明显高于微冻贮藏的样品($p<0.05$)。在整个冷藏过程中,感官评分随着贮藏时间的延长而迅速增加,其中在贮藏的第3d上升显著($p<0.05$)。鲈鱼可接受货架期时的感官评分为12,经冷藏的样品在第12d时感官不可接受,而微冻贮藏的样品第18d时在感官上才达到不可接受程度。因此,微冻贮藏比冷藏能更有效的延缓鲈鱼感官品质的下降,结果与高昕等^[9]结果相似。

2.2 pH

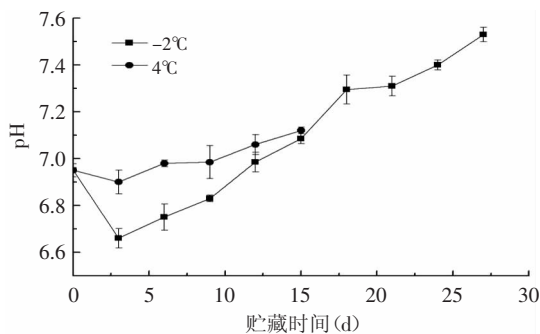


图2 鲈鱼在低温贮藏期间pH的变化

Fig.2 Changes in pH of *Lateolabrax japonicus* during the refrigerated storage

鲈鱼的初始pH为6.96,在贮藏初期pH呈现先下降后逐渐升高的趋势。其原因可能是鲈鱼被宰死后,体内的糖原被降解,生成乳酸等酸类物质,造成肌肉pH下降,pH下降程度与肌肉中糖原的含量有关。而随着贮藏时间的延长,冷藏3d后鱼肉的pH显著增加^[4],鲜度下降,随着微生物的繁殖,蛋白质被分解为氨、三甲胺、吲哚、组胺等碱性物质,使肌肉pH上升。相对于冷藏,微冻贮藏下鱼肉的pH下降得更低,而上升更缓慢。因此,微冻贮藏能有效延长鱼肉僵直与解僵之间的时间。一般认为,低温有助于缓解鱼体内ATP的下降,从而推迟僵硬期的到来和解僵的产生,鱼体处于僵硬期时鲜度保持较高的水平。

2.3 TVB-N

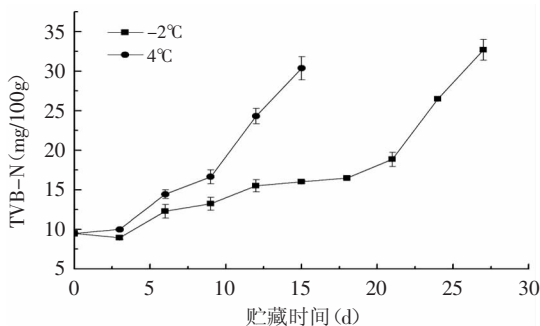


图3 鲈鱼在低温贮藏期间TVB-N值的变化

Fig.3 Changes in TVB-N of *Lateolabrax japonicus* during the refrigerated storage

挥发性盐基氮(TVB-N)值是评价水产品品质的重要指标之一^[12]。TVB-N主要包括鱼体腐败过程中

形成的三甲胺、二甲胺、氨类和其他含氮物质。随着鱼体死后逐步腐败,TVB-N相应的增加,在某些鱼体中发现TVB-N的增加与贮藏时间呈现良好的线性。水产品品质可被消费者接受的TVB-N上限为30mg/100g^[13]。鲈鱼在不同冷藏温度条件下TVB-N值的变化如图1所示,鱼肉贮藏初期在TVB-N的含量为10.27mg/100g,表明鲈鱼鲜度良好,其结果与感官分析结果相似。鱼肉中TVB-N值在贮藏的前3d无显著变化,之后迅速升高。相对于冷藏,微冻贮藏的鱼肉TVB-N增加显著变慢($p<0.05$),可能是由于低温抑制了鱼肉优势腐败菌活动,从而导致非蛋白化合物氧化脱氨基速度减慢。

2.4 K值

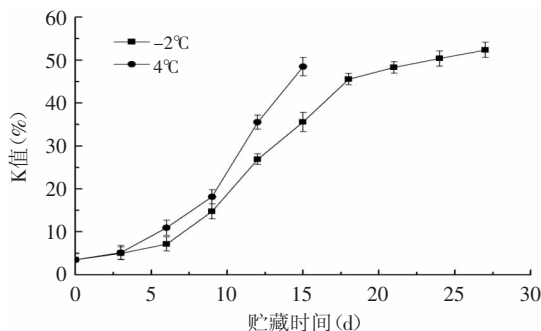


图4 鲈鱼在低温贮藏期间K值的变化

Fig.4 Changes in K value of *Lateolabrax japonicus* during the refrigerated storage

K值是反映水产品低温贮藏前期的鲜度变化,其以肌肉中ATP及其降解产物的含量为基础,通过计算得到的一个指标。Saito等^[14]认为K值小于20%时,鱼肉为一级新鲜度;20%~40%时为二级新鲜度,50%为初期腐败。鲈鱼在冷藏的前3d K值增加缓慢,两个贮藏温度样品均在一级新鲜度。3d后随着贮藏时间的延长,K值迅速升高($p<0.05$),冷藏15d的样品K值达到48.45%,出现了明显的腐败,而微冻贮藏的样品K值为35.56%,到18d超过40%。因此微冻贮藏能显著的抑制鲈鱼鱼肉中ATP的降解($p<0.05$)。

2.5 细菌计数

鲈鱼在冷藏和微冻贮藏过程中细菌计数如表2所示。结果显示,鲈鱼的初始菌落总数为2.44lg cfu/g,表明鲈鱼品质良好,与感官和化学指标结果相似。随着贮藏时间的延长,冷藏样品微生物增长迅速,在9d接近6lg cfu/g,15d超过7lg cfu/g。而微冻贮藏的样品微生物增长缓慢,在贮藏前6d维持低的细菌数,在18d细菌总数接近6log cfu/g,21d超过7lg cfu/g。研究中采用PCA和LH两种培养基评价细菌总数,结果显示LH培养基计数明显多于PCA培养基,与Broekaert等^[15]报道一致,LH等含盐培养基比非含盐培养基的PCA菌落总数要高许多,表明海水鱼类微生物更适宜在含NaCl的培养基上生长。

鲈鱼低温贮藏过程中产H₂S细菌、假单胞菌、肠杆菌和乳酸菌的变化如表2所示。鲈鱼中四种细菌的初始值含量在1.08~1.65lg cfu/g,随着贮藏时间的延

长,细菌的增长趋势与细菌总数的变化表现相似的增长趋势。 H_2S 细菌、假单胞菌、肠杆菌和乳酸菌在冷藏15d细菌数分别为7.59、6.05、5.78和5.90lg cfu/g,而在微冻贮藏21d细菌数分别为6.38、5.60、5.02和4.77lg cfu/g,两个贮藏温度之间细菌的增长存在显著的差异($p<0.05$),其中冷藏条件下细菌增长快于微冻贮藏。在冷藏过程中4种细菌中产 H_2S 细菌和假单胞菌增长最快,货架期终点产 H_2S 细菌数接近细菌总数,肠杆菌和乳酸菌次之。研究表明,养殖鲟在冷藏的货架期终点优势腐败菌鉴定为假单胞菌和西瓦氏菌^[16],腐败西瓦氏菌和或假单胞菌是养殖大黄鱼等冷藏鱼的主要腐败菌^[17]。可见,鲟鱼冷藏过程中 H_2S 细菌和假单胞菌是鲟鱼冷藏过程中主要的优势腐败菌,其中微冻贮藏能显著抑制优势腐败菌的生长。

2.6 DGGE图谱及序列分析

研究从不同冷藏时间的鱼片和两种培养基中均得到了细菌总DNA,以细菌总DNA为模板进行扩增,获得目的条带。冷藏和微冻贮藏过程中鲟鱼鱼肉和培养样品中16S rDNA扩增的DGGE结果如图5所示。结果显示,冷藏和微冻样品微生物变化表现相似的趋势,随着贮藏时间的延长,条带数目的增加并发生一定的变化。直接抽提DNA样品与LH和PCA抽提的样品中大部分条带位置相同,培养后的样品中出现条带多于直接抽提样品,主要是由于经过培养后提取DNA的总量和质量都优于从鱼肉中抽提的DNA。并且,鱼肉基质中存在的某些成分可能也会影响PCR效果。与生鲜罗非鱼中细菌PCR-DGGE结果相似^[18],直接抽提DNA获得的微生物多样性较低。LH和PCA培养基抽提的DNA获得的DGGE图谱相比,LH培养具有更多条带,表明具有更多种类的细菌在该培养基上生长,与计数结果相似。

将图5中DGGE凝胶上的10个主要条带切下,经割胶回收试剂盒纯化后,PCR扩增进行测序。从上述DGGE凝胶上的条带经测序后,获得9个16S rDNA片段序列,提交Genbank比对分析,结果见表3。结果显示,所获得的序列分别属于希瓦氏菌属(*Shewanella*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)和奥斯陆莫拉氏菌,其中希瓦氏菌和假单胞菌属分别占55.5%和33.3%。

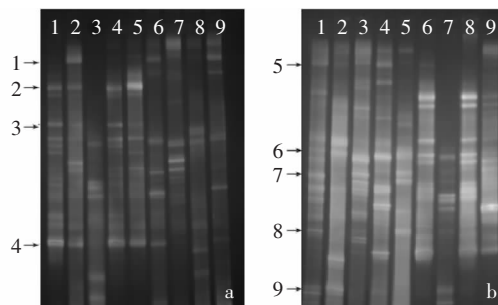


图5 鲟鱼在低温贮藏期间DGGE图谱

Fig.5 Changes in K value of *Lateolabrax japonicus* during storage

注:a:冷藏;b:微冻;泳道:1:4℃ 15d/-2℃ 21d LH;2:4℃ 15d/-2℃ 21d PCA;3:4℃ 15d/-2℃ 21d鱼肉;4:4℃ 9d/-2℃ 15d LA;5:4℃ 9d/-2℃ 15d PCA;6:9d/-2℃ 15d鱼肉;7:0d LA;8:0d PCA;9:0d鱼肉。

由PCR-DGGE图谱及细菌计数结果可知,鲟鱼有氧冷藏和微冻贮藏过程条件下的细菌群落变化和优势腐败菌。希瓦氏菌属(*Shewanella.spp*)和假单胞菌属(*Pseudomonas.spp*)细菌在整个冷藏过程中均存在,并成为主要优势菌,特别是腐败希瓦氏菌。上世纪90年代,Dalgaard^[19]提出了特定腐败菌(specific spoilage organism, SSO)的概念,水产品所含的微生物

表2 鲟鱼在低温贮藏过程细菌的变化(lg cfu/g)

Table 2 Changes in the microbiology of *Lateolabrax japonicus* during the refrigerated storage (lg cfu/g)

温度	时间	培养基种类(菌种)					
		PCA(细菌)	LH(细菌)	IA(H_2S 细菌)	CFC(假单胞菌)	VRBGA(肠杆菌)	MRS(乳酸菌)
4℃	0d	2.44±0.02 ^a	2.64±0.12 ^a	1.65±0.10 ^a	1.87±0.04 ^a	1.08±0.08 ^a	1.36±0.08 ^a
	3d	3.95±0.02 ^b	4.03±0.05 ^b	3.30±0.09 ^b	2.28±0.11 ^a	2.37±0.11 ^b	3.15±0.16 ^b
	6d	4.67±0.24 ^c	5.52±0.14 ^c	5.51±0.05 ^c	3.75±0.17 ^b	3.87±0.07 ^c	3.99±0.06 ^c
	9d	6.03±0.17 ^d	6.18±0.04 ^d	6.46±0.6 ^d	4.28±0.12 ^c	4.66±0.10 ^d	4.03±0.16 ^d
	12d	6.74±0.17 ^e	6.92±0.06 ^e	6.77±0.05 ^e	5.38±0.17 ^d	5.78±0.02 ^e	5.51±0.01 ^e
	15d	7.27±0.06 ^e	7.62±0.08 ^f	7.59±0.03 ^f	6.05±0.07 ^e	5.78±0.09 ^e	5.90±0.01 ^e
-2℃	0d	2.44±0.01 ^a	2.66±0.14 ^a	1.61±0.05 ^a	1.90±0.08 ^a	1.08±0.07 ^a	1.36±0.09 ^a
	3d	2.50±0.06 ^a	3.18±0.36 ^a	2.10±0.54 ^a	2.21±0.06 ^{ab}	1.33±0.05 ^a	1.73±0.03 ^a
	6d	2.70±0.19 ^a	4.21±0.03 ^b	4.25±0.02 ^b	2.53±0.05 ^{bc}	2.64±0.11 ^b	2.41±0.35 ^b
	9d	4.14±0.31 ^b	5.37±0.02 ^c	4.82±0.20 ^{bc}	2.85±0.14 ^{cd}	3.17±0.28 ^c	2.64±0.12 ^b
	12d	5.10±0.31 ^{bc}	5.54±0.03 ^c	5.20±0.07 ^{bc}	3.28±0.13 ^d	3.53±0.12 ^c	3.58±0.23 ^c
	15d	5.42±0.09 ^c	5.73±0.04 ^c	5.50±0.12 ^{cd}	3.83±0.12 ^c	4.32±0.07 ^d	4.27±0.14 ^d
	18d	6.07±0.45 ^c	6.71±0.31 ^d	6.37±0.27 ^{de}	4.56±0.13 ^f	4.74±0.06 ^{de}	4.54±0.10 ^{de}
	21d	7.48±0.10 ^d	7.48±0.06 ^e	6.38±0.20 ^{de}	5.60±0.14 ^e	5.02±0.03 ^{ef}	4.77±0.08 ^{de}
	24d	8.07±0.40 ^{de}	8.12±0.07 ^{ef}	6.48±0.05 ^{de}	5.41±0.10 ^e	5.19±0.10 ^{ef}	4.97±0.02 ^e
	27d	8.68±0.19 ^e	8.71±0.09 ^f	6.69±0.05 ^e	5.45±0.19 ^e	5.26±0.16 ^f	5.06±0.12 ^e

注:同列不同字母间表示差异显著($p<0.05$)。

表3 DGGE割胶条带的16S rDNA序列鉴定

Table 3 Sequence and homology of *Lateolabrax japonicus* at 4℃

序号	相似菌株	序列长度	同源性(%)
1	希瓦氏菌(<i>Shewanella chilikensis</i>) (AB682249)	158	99
2	奥斯陆莫拉氏菌(<i>Moraxella osloensis</i>) (JX293292)	159	98
3	假单胞菌(<i>Pseudomonas kilonensis</i>) (JX122168)	159	93
4	恶臭假单胞菌(<i>Pseudomonas putida</i>) (HQ599264)	155	99
5	腐败希瓦氏菌(<i>Shewanella putrefaciens</i>) (U91593)	150	100
6	产气肠杆菌(<i>Enterobacter aerogenes</i>) (JX112620)	164	98
7	腐败希瓦氏菌(<i>Shewanella putrefacie</i>) (JX415533)	152	98
8	腐败希瓦氏菌(<i>Shewanella putrefaciens</i>) (AB681068)	152	99
9	荧光假单胞菌(<i>Pseudomonas fluorescens</i>) (AB681068)	152	97

只有部分微生物参与腐败过程,在冷藏中能生存并繁殖,产生三甲胺、胺和 H_2S 等腐败臭味和异味代谢产物的微生物就是该水产品特定腐败菌。研究表明,在有氧冷藏中,鱼、贝类和甲壳类的SSO多为假单胞菌或者腐败西瓦氏菌,其中腐败西瓦氏菌多为海洋温带水域的SSO,假单胞菌多为热带淡水鱼的SSO。1985年希瓦氏菌被划分为新的属—希瓦氏菌属^[20],希瓦氏菌属于嗜冷性菌、革兰氏阴性、具有运动性、非发酵型,大部分菌株能还原氧化三甲胺(TMAO)为三甲胺,产 H_2S ,是水生动物和富含蛋白食品相关的典型腐败菌^[18]。产 H_2S 菌在刚捕获的鱼中比例小,在贮藏中逐步成为优势菌,细菌数可以达到 $10^7 \sim 10^9 CFU/g$ 。因此,利用还原TMAO和产硫化氢的细菌数量可预测冰藏鱼中剩余的货架期^[21]。

3 结论

研究结果表明,与4℃冷藏相比,-2℃微冻贮藏的鲈鱼样品感官评分和pH上升缓慢,TVB-N值、K值及细菌总数增长较慢,表明微冻贮藏能显著减缓鲈鱼品质的劣变,延长了货架期。微生物计数和PCR-DGGE及测序结果显示,低温贮藏过程中鲈鱼中细菌总数和产 H_2S 细菌数增长趋势相似,经鉴定优势腐败菌为腐败西瓦氏菌和假单胞菌属。

参考文献

- [1] Jos H J, Huis I V. Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview[J]. International Journal of Food Microbiology, 1996, 33(2): 1-18.
- [2] 励建荣. 生鲜食品保鲜技术研究进展[J]. 中国食品学报, 2010, 10(3): 1-12.
- [3] 叶盛权. 冰藏贮存中鲈鱼鲜度的化学指标分析[J]. 食品研究与开发, 2003, 24(2): 111-112.
- [4] 曾名勇, 黄海, 李八方. 不同冻藏温度对鲈鱼肌肉蛋白质生化特性的影响[J]. 青岛海洋大学学报, 2003, 33(4): 525-530.
- [5] 徐小宝, 刘书来, 沈鹰, 等. 盐水超冷却处理对冰藏鱼品质的影响研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(1): 264-267.
- [6] 高昕, 韩芳, 许加超, 等. 微动贮藏条件下鲈鱼鲜度和质构变化[J]. 水产学报, 2010, 34(8): 1294-1302.
- [7] Branch A C, Vail A M A. Bringing fish inspection into the computer age[J]. Food Technology in Australia, 1985, 37(8): 352-355.
- [8] Foss公司. 鲜鱼和冻鱼中挥发性盐基氮(TVB-N)的测定[J]. FOSS应用子报, 2002, 1(8): 8-16.
- [9] John M R. Determination of adenosine triphosphate and its breakdown products in fish muscle by high-performance liquid chromatography[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1985, 33(4): 678-680.
- [10] Van Spreekens KJA. The suitability of a modification of Long and Hammer's medium for the enumeration of more fastidious bacteria from fresh fishery products[J]. Archiv Für Lebensmittelhygiene, 1974, 25: 213-219.
- [11] Hovda M B, Lunestad B T, Sivertsvik M, et al. Characterisation of the bacterial flora of modified atmosphere packaged farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*) by PCR-DGGE of conserved 16S rRNA gene regions[J]. Food Microbiology, 2007, 117: 68-75.
- [11] Shin H, Shintaro U, Isao E. Succession of bacterial and fungal communities during a traditional pot fermentation of rice vinegar assessed by PCR-DGGE mediated denaturing gradient gel electrophoresis[J]. Food Microbiology, 2006, 109(12): 79-87.
- [12] Ocano-Higuera V M, Marquez-Rios E, Canizales-Dovila M, et al. Postmortem changes in cazon fish muscle stored on ice[J]. Food Chemistry, 2009, 116(4): 933-938.
- [13] Gökodlu N, Özden Ö, Erkan N. Physical, chemical and sensory analyses of freshly harvested sardines (*Sardina pilchardus*) stored at 4℃[J]. Journal of Aquatic Food Product Technology, 1998, 7(2): 5-15.
- [14] Saito T, Matsuyoshi M A. New method for estimating the freshness of fish[J]. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 1959, 24: 749-750.
- [15] Broekaert K, Heyndrickx M. Seafood quality analysis: Molecular identification of dominant microbiota after ice storage on several general growth media[J]. Food Microbiology, 2011, 28: 1162-1169.
- [16] Tryfinopoulou P, Tsakalidou E, Nychas GJE. Characterization of *Pseudomonas* spp associated with spoilage of gilt-head sea bream stored under various conditions[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68: 65-72.
- [17] 郭全友, 杨宪时, 许钟, 等. 冷藏养殖大黄鱼细菌相组成和优势腐败菌鉴定[J]. 水产学报, 2006, 30(6): 824-830.
- [18] 孟晓华, 段杉. 生鲜罗非鱼片在冷藏过程中细菌群落演替的PCR-DGGE分析[J]. 食品工业科技, 2012, 22(11): 343-347.

- [19] Dalgaard P. Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacterial form packed fish[J]. International Journal of Food Microbiology, 1995, 26: 319-333.
- [20] Macdonell M T, Colwell R R. Phylogeny of the Vibrionaceae and recommendation for two new genera, Listonella and

- Shewanella[J]. Systematic and Applied Microbiology, 1985(6): 171-182.
- [21] Jorgensen B R D, Gibson M, Huss H H. Microbiological quality and shelf-life prediction of chilled fish[J]. International Journal of Food Microbiology, 1988(6): 295-307.

(上接第325页)

肪氧化抑制作用由大到小顺序为:处理组6、处理组5、处理组3、处理组4、处理组2,说明花椒和大茴香添加的量越多,效果越明显,两种香辛料混合添加效果最好。

过氧化值是衡量脂肪酸一级氧化产物——氢过氧化物的指标,是表示对人体产生不良影响的氧化初期自由基的生成量。在腌制初期均未测出过氧化值,可能是由于肌肉组织含水量较高,不利于与空气接触有关。到了风干阶段,特别是随着风干时间延长,鹅肉体内水分含量减少,鹅肉组织与氧气充分接触,过氧化值迅速增加。但比较处理组2~6与处理组1风干阶段的过氧化值可以看出,处理组2~6要明显低于处理组1,说明添加香辛料对鹅肉脂肪氧化有一定的抑制作用。处理组6过氧化值最低,花椒和大茴香混合添加效果最好。

羰基值反映的是脂肪酸氧化分解产物醛和酮的含量,这些物质是形成鹅肉风味的重要因素^[13]。而双烯值反映的氢过氧化物生成和进一步分解的变化。皖西白鹅在腌制阶段,羰基和双烯值均增幅不大,但在腌制后期至风干第5d,羰基值和双烯值变化明显,这是由于脂肪与空气充分接触,脂肪氧化所致。在风干5d后,羰基值和双烯值均增幅较为稳定,这是由于脂肪降解速度增加,氧化产物生成了较为稳定的醛类和酮类。在风干初期处理组2~6羰基值均高于处理组1,其中处理组6羰基值最高。添加香辛料有助于鹅肉风味的产生。

4 结论

皖西白鹅加工过程中,添加花椒和大茴香能不同程度地抑制皖西白鹅脂肪氧化,其中花椒和大茴香混合添加对抑制鹅肉脂肪氧化效果最明显,添加香辛料有助于鹅肉风味的产生。

参考文献

- [1] 安徽皖西白鹅进入国家级保护名录[J]. 北方牧业, 2009(8): 30.
- [2] 汤青萍, 章双杰, 郭军, 等. 5个地方鹅品种肉品质测定与分析比较[J]. 家畜生态学报, 2010, 31(6): 61-66.
- [3] SUHAJ M. Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2006, 19(6): 531-537.
- [4] YOO C, LEEK M, LEE C H, et al. Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs[J]. Food Chemistry, 2008, 106(3): 929-936.

- [5] 马同锁, 张红兵, 刘月英, 等. 十三种天然香辛料的抑菌作用研究[J]. 山西食品工业, 2005(1): 8-10.
- [6] 张桂, 周妍红, 张东春, 等. 关于香辛料保鲜猪肉技术的研究[J]. 河北科技大学学报, 1999, 22(2): 59-62.
- [7] 陈璐, 孔保华, 刘莺, 等. 香辛料提取物对速冻牛肉丸脂肪氧化控制的研究[J]. 食品科学, 2012, 33(14): 281-285.
- [8] 史培磊. 风鹅腌制工艺改进及其品质变化规律的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2011.
- [9] 史培磊, 闵辉辉, 李春保, 等. 滚揉腌制前后鹅肉品质的变化[J]. 食品科学, 2011, 32(11): 54-56.
- [10] 潘道东, 吕丽爽, 罗永康, 等. 风鹅腌制优化工艺技术的研究[J]. 食品科学, 2002, 23(6): 66-69.
- [11] 潘道东, 罗永康, 姜梅. 风鹅风干工艺条件的优化[J]. 无锡轻工大学学报, 2002, 21(4): 376-383.
- [12] 徐为民, 徐幸莲, 周光宏, 等. 风鹅风干过程中挥发性风味成分的变化[J]. 中国农业科学, 2007, 40(10): 2309-2315.
- [13] 徐为民, 匡一峰, 徐幸莲, 等. 风鹅风干过程中蛋白质分解及其对产品风味的影响[J]. 扬州大学学报: 农业与生命科学版, 2005, 26(2): 1-3.
- [14] 徐为民, 匡一峰, 周光宏, 等. 风鹅风干过程中脂肪氧化作用的研究[J]. 江苏农业科学, 2005(5): 105-108.
- [15] 彭珊珊, 朱瑞玲, 郑从赞. 6种中草药对豆制品的防腐作用研究[J]. 食品科学, 2004, 27(11): 440-442.
- [16] 胡国华. 食品添加剂在禽畜及水产品中的应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 45-47.
- [17] Folch J, Lees M, Sloane Stanley G H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues[J]. J Biol Chem, 1957, 226(1): 296-307.
- [18] Faustman C, Specht S M, Malkus L A, et al. Pigment oxidation in ground veal: influence of lipid oxidation, iron and zinc[J]. Meat Science, 1992, 31(5): 351-362.
- [19] 周富炎. 咸鱼制品硫代巴比妥酸值测定方法探讨[J]. 中国公共卫生, 1987, 6(4): 247-249.
- [20] Maria B M, Aaby K. Commercial antioxidation control lipid oxidation in mechanically deboned turkey meat[J]. Meat Science, 2003, 65: 1147-1155.
- [21] Coutron-Gambotti C, Gandemer G. Lipolysis and oxidation in subcutaneous adipose tissue during dry-cured ham processing[J]. Food Chemistry, 1999, 64: 95-101.
- [22] 马长伟, 张松山, 刘欢, 等. 对反映腌腊肉制品脂肪氧化酸败程度指标的探讨[J]. 肉类研究, 2007(6): 4-6.
- [23] 郭艳华. 常用天然香辛料抗氧化活性的比较研究[J]. 中国酿造, 2010(7): 154-156.