

鱼体新鲜度快速检测技术的研究进展

杨明远,蔡杨杨,谢晶,卢瑛*

(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)

摘要:鱼类及其制品因营养价值高,近年来消费量急剧上升。但是,由于鱼体中含有大量的水分,鱼类组织的脆弱性以及酶和微生物的作用,使得鱼类及其制品易于腐败,造成鱼体品质迅速下降。因此,能快速有效地检测鱼体新鲜度对现代食品工业具有重要意义。本文综述了鱼体新鲜度快速检测技术的原理和应用,包括生物传感器技术(电化学生物传感器、酶生物传感器),感官仿生技术(电子鼻、电子舌、比色传感器阵列、计算机视觉技术)和光谱技术(可见/近红外光谱、高光谱、荧光光谱),总结了其优缺点,并对今后鱼体新鲜度快速检测技术的研究重点和发展趋势做出展望。
关键词:鱼体新鲜度,检测技术,生物传感器技术,感官仿生技术,光谱技术

Research Progress on Rapid Detection Technology of Fish Freshness

YANG Ming-yuan, CAI Yang-yang, XIE Jing, LU Ying*

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

Abstract: The consumption of fish and its products has risen sharply in recent years due to their high nutritional value. However, due to the large amount of water contained in fish bodies, the fragility of fish tissues and the effects of enzymes and microorganisms make fish and their products easily perishable, resulting in a rapid decline in fish quality. Therefore, the rapid and effective detection of fish freshness is of great significance to the future food industry. This paper introduces the principles and applications of techniques for fish freshness detection, including biosensor technology (electrochemical and enzyme biosensors), sensory bionics (electronic nose, electronic tongue, colorimetric sensor array, and computer vision technology) and spectral techniques (visible/near-infrared spectroscopy, hyperspectral imaging, and fluorescence spectroscopy), and summarizes the advantages and disadvantages of these methods, and makes a prospect for the research focus and development trend of the rapid detection technology of fish freshness in the future.

Key words: fish freshness; detection technology; biosensor technology; sensory bionics; spectroscopy technology

中图分类号: TS254.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2020)09-0334-07

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2020.09.054

引文格式: 杨明远,蔡杨杨,谢晶,等. 鱼体新鲜度快速检测技术的研究进展[J]. 食品工业科技, 2020, 41(9): 334-339, 347.

鱼类富含优质蛋白质,且饱和脂肪酸含量高,容易消化和吸收,是人类营养物质的重要来源^[1]。但与其他肉类相比,鱼体肌肉中水分含量多、肉质柔软、表皮薄易破碎。此外,鱼体内含有许多内源性酶和嗜冷微生物。当鱼体死亡后,鱼体会发生糖酵解反应,磷酸肌酸和三磷酸腺苷(ATP)分解等生理生化反应,导致鱼体pH下降;其后,鱼体在酶作用下发生自溶,腐败微生物快速繁殖,蛋白质分解成氨基酸及其他碱性物质,脂质氧化生成小分子的醛、酮和酸类物质,产生令人难以接受的“酸败味”;在微生物的

进一步作用下,鱼体组织的蛋白质、氨基酸以及其他一些含氮物被分解为氨、三甲胺、硫化氢、吲哚以及尸胺、组胺等腐败产物,从而使鱼体品质迅速下降,腐败变质^[2]。因此,通过检测鱼体死后产生的代谢产物,如TVB-N值、K值等指标可以评价鱼体的新鲜度。

鱼体新鲜度与鱼类品质及其制品安全之间密切相关^[3],也是生产者和消费者关注的重点,因此新鲜度的快速检测在鱼类生产、加工及销售等过程中尤为重要。目前,用于检测鱼体新鲜度的传统方法有

收稿日期:2019-07-19

作者简介:杨明远(1993-),男,硕士研究生,研究方向:水产品检测技术,E-mail:yymy979696195@163.com。

*通讯作者:卢瑛(1971-),女,博士,教授,研究方向:食品生物技术,E-mail:y-lu@shou.edu.cn。

基金项目:2019年上海市科技兴农重点攻关项目;鲜活水产品物流过程中品质监控和违法添加物快速检测技术研究(2019-02-08-00-10-F01143);南太湖精英计划领军型创新项目“淡水鱼的高品质、营养健康方便食品开发及其产业化”。

以下几种:感官评价方法,如质量指数^[4](QIM);化学检测方法,如高效液相色谱法^[5](HPLC)、挥发性盐基氮^[6](TVB-N);物理检测方法,如电导率^[7];以及基于菌落总数(total viable counts, TVC)或特殊腐败微生物的方法^[8]。上述传统方法已被广泛用于检测鱼体新鲜度,其中一些已被用作检测鱼体新鲜度的标准方法。然而,这些传统方法操作繁琐、耗时长且具有破坏性,需要专业技术人员来完成,不能满足现场或实时检测要求。近年来,随着电化学、光学和信息学的快速发展,研究人员相继开发了许多快速有效的鱼体新鲜度检测方法,有的还可以满足实时检测要求,这些新方法包括生物传感器技术、感官仿生技术和光谱技术。关于这些新技术在鱼体新鲜度检测中的应用已经有研究报道,董彩文^[9]分析了生物传感器在鱼肉鲜度测定中的应用,Dowlati等^[10]回顾了机器视觉技术在鱼类质量检测中的应用,Cheng等^[11]概述了光谱技术在鱼类新鲜度检测中的应用。基于此,本文总结了生物传感器技术(电化学生物传感器、酶生物传感器)、感官仿生技术(电子鼻、电子舌、比色传感器阵列、计算机视觉技术)和光谱技术(可见/近红外光谱、高光谱、荧光光谱)在鱼体新鲜度检测中的原理、应用及其优缺点,对鱼体新鲜度快速检测技术的研究重点和发展趋势进行展望。

1 生物传感器技术

生物传感器是检测鱼体新鲜度最重要的技术之一,其检测速度快、准确性高、成本低,特异性主要是基于生物结合反应^[12]。生物传感器主要由负责检测生物成分的生物识别元件和将特定生化信息转换为电信号、热信号或光信号的物理或化学换能器组成^[13]。生物传感器可分为电化学生物传感器和酶生物传感器。

1.1 电化学生物传感器

电化学生物传感器的电极能够与被测气体发生反应,对一些鱼体变质产生的化合物的氧化还原反应具有良好的电催化能力或可被这些腐败物吸附,从而影响电极的电子特性,产生与气体浓度相关的电信号^[14],实现对鱼体新鲜度的快速检测。Chang等^[15]开发了一种胺气体传感器,可以在短时间内(60 s)检测生鱼肉的挥发性胺类气体。Lee等^[16]开发了一种以磷酸铜为主体电极的电化学组胺传感器,其对pH=8.5溶液中组胺的检测具有良好的选择性,检测限达到了3.0 ppm,用上述传感器测定的腐败鱼样品的组胺浓度与商品化液相色谱-质谱法测定的组胺浓度的偏差小于10%。虽然电化学生物传感器具有快速和准确检测鱼体新鲜度的潜力,特别是用于测定挥发性胺成分,并且成本较低。但是,因为其原理是基于物理吸附或电催化能力,因此容易受到杂质的干扰,导致精确度下降。

1.2 酶生物传感器

在酶生物传感器中,电极上的固定化酶可与靶材料反应产生电活性物质,电极将电活性物质转化为电信号,然后通过获得的标准曲线计算目标浓度^[17]。酶生物传感器在鱼体新鲜度方面的应用主

要集中在检测鱼死后的化学代谢产物。目前,检测鱼体新鲜度最常用的酶识别元件是参与三磷酸腺苷分解反应链的黄嘌呤氧化酶。Boryana等^[18]构建了基于杂化纳米材料(XOD/MNP-PAMAM-PtNP/rGO-CMC/GCE)的新型电极来检测鳕鱼的黄嘌呤,发现稳态电流和黄嘌呤浓度(50 nmol/L~12 μmol/L)之间具有线性关系,同时,该传感器检测到的黄嘌呤浓度与HPLC的结果非常接近。Gastón等^[19]提出了一种基于边缘平面热解石墨电极的电分析方法,测定了在-18℃下储存的四种鱼的次黄嘌呤、黄嘌呤和尿酸,检测限分别达到了0.08、0.06和0.03 μmol/L。除此之外,Irina等^[20]开发了一种新型的丝网印刷碳(DAO/nPt/GPH/壳聚糖/CSPE)电极酶生物传感器,用于死后淡水鱼的组胺分析,该新型生物传感器具有高灵敏度(0.0631 μA·μmol/L)、低检测限(2.54 nmol/L)和宽线性范围(0.1~300 μmol/L)等特点,且准确性高。由于固定化酶的特异性,酶生物传感器具有高度选择性,比电化学生物传感器更敏感。但是,对于高精度的定量分析,样品需要预处理。此外,酶的分离和纯化步骤繁琐,并且酶可能受外部环境影响而失活,导致检测准确度下降。

2 感官仿生技术

感官仿生技术在鱼体新鲜度快速检测中的应用包括电子鼻、电子舌、比色传感器阵列和计算机视觉技术,它们分别基于嗅觉、味觉和视觉评价鱼的新鲜度^[21]。感官仿生技术克服了传统感官检测方法存在的主观性强、重复性差等缺点,与生物传感器方法相比更易于实现。

2.1 电子鼻

电子鼻的原理是传感器阵列中的每个气体传感器对被测气体具有不同的灵敏度。根据所采用的原理不同,可分为金属氧化物、电化学、导电聚合物、光电离传感器等^[22-23]。在鱼体新鲜度检测中,应用最为广泛的是金属氧化物气体传感器。Hui等^[24]开发出了一种由8种金属氧化物半导体组成的电子鼻系统,用于预测4℃贮藏条件下草鱼的新鲜度,结果表明8种传感器的响应强度随草鱼贮藏时间的增加而增加,基于主成分分析方法,可将样品分为新鲜、中等和腐败三个不同的类别,预测样品贮藏时间的非线性拟合回归模型的精度为87.5%。Ana等^[25]研发了一种气敏混合凝胶材料的光学鼻,用于监测罗非鱼的腐败情况,光信号随时间的变化与微生物的繁殖状况一致。电子鼻在检测鱼体新鲜度方面具有可靠性、易操作性、快速性和精确性等优势,可以补充或取代其他昂贵和耗时的分析技术。但是,不同传感器对气味分子的敏感性和选择性可能不够,导致结果不准确;另外,有些气体传感存在工作温度高,长时间工作后,导致响应基线容易出现偏差,一定程度上限制了其在鱼体新鲜度方面的应用。

2.2 电子舌

与电子鼻一样,电子舌是通过模仿味觉的机制而发展起来的^[26]。电子舌传感器阵列对样品中的某些化学成分具有高交叉敏感性,而不是单个成分^[27],

电子舌评价的是样本整体滋味信息。María 等^[28]研究了使用带有八个金属工作电极的伏安舌评估冷藏库中的鳕鱼腐败情况,成功地将存储 0 和 1 d 的样品与其他样品区分开。但是,Apetrei 等^[29]研究表明,电子舌的信号与鱼类的储存时间相关,可以监测鱼类新鲜度的下降。事实上,与鱼肉等固体样品相比,电子舌更适用于牛奶和葡萄酒等液体食品。电子舌可以对鱼体腐败早期产生的一些低浓度物质产生响应,较好地对比鱼体腐败早期阶段进行检测,但是由于检测样品必须为液体样品,且受传感器阵列的局限,使其检测范围受限。

2.3 比色传感器阵列

比色传感器阵列又称嗅觉可视化技术,主要是基于金属卟啉等化学显色剂与气体之间通过金属键、氢键或 $\pi-\pi$ 相互作用发生化学键合反应,而引起颜色变化。当显色剂与气体之间发生化学键合后,显色剂的吸收峰发生明显偏移,产生的光谱变化在可见光范围内,用肉眼可观察到传感器的颜色变化。为了精确量化,也可由图像采集装置提取传感器阵列图像,并进一步处理以量化结果^[30]。Patricia 等^[31]使用八种敏感材料组装成一个显色阵列来评估冷藏新鲜海鲷的保质期,发现第 0、2、4、7、9 和 11 d 的传感器颜色的显示各不相同。Morsy 等^[32]提出了一种由十六种化学敏感物质组成的比色传感器,用于监测大西洋鲑鱼腐败产生的化合物。Angélica 等^[33]开发了一种检测共聚物颜色变化的邻苯二胺-邻苯胺比色法,发现共聚物的颜色变化与 10 °C 下贮藏的罗非鱼鱼片的 TVB-N 值和微生物生长模式(假单胞菌属)相关。比色传感器在准确度和灵敏度方面具有明显的优势^[34],可以制造成便携式装置,应用于智能包装,持续监测鱼的新鲜度。因为传感器阵列和气体之间的反应主要是由于金属键、氢键或 $\pi-\pi$ 之间相互作用的强化学键作用,因此,比色传感器不能重复使用。

2.4 计算视觉技术

计算机视觉或机器视觉技术已被用来获取和分析真实场景的计算机图像,并且它在检测食品质量方面具有自动化、非破坏性和低成本的优势^[35-36]。计算机视觉技术通过计算机硬件和软件程序分析由物理传感器获得的视觉图像,执行预定义的视觉任务,以此来达到检测的目的。Shi 等^[37]利用计算机视觉系统对 4 °C 贮藏罗非鱼的瞳孔和鳃部颜色参数进行提取,研究基于颜色参数的多元回归模型对 TVB-N、菌落总数(TVC)和硫代巴比妥酸(TBA)值进行预测, R^2 值达到 0.989~0.999,并采用图像算法生成 TVB-N、TVC 和 TBA 的可视化图,方便了新鲜度的检测。Amin 等^[38]通过计算机视觉系统获取了鲤鱼整体图片的 RGB、HIS 和 $L^* a^* b^*$ 三个色彩空间的 9 个参数,采用支持向量机(SVM),K-最近邻(K-NN)和人工神经网络(ANN)算法对鲤鱼新鲜度进行分类,结果证明:ANN 的分类效果最好,准确度为 93.01%。值得注意的是,鳃颜色变化的预测模型通常比眼睛或瞳孔的预测模型更精确,但是需要去除

鳃盖才能完成图像拍摄^[37],因此基于鳃颜色来评估鱼体新鲜度是一种破坏性的耗时的方法。另一方面,计算机视觉技术虽然可以实现快速无损检测,但是在鱼体腐败的初期,鱼体表面的变化通常不明显。因此,该技术在鱼的新鲜度检测中具有一定的局限性。

3 光谱技术

随着化学计量学的发展,许多光谱技术,包括可见/近红外光谱、高光谱和荧光光谱技术已被应用于鱼类新鲜度的检测。利用光谱技术检测鱼体新鲜度的核心是建立通过光谱采集和预处理获得的光谱指纹与传统技术确定的新鲜度参数相关联的模型。

3.1 可见/近红外光谱技术

近些年来,可见/近红外光谱(400~2500 nm)已被用于分析食品质量,因为它能够代表食品成分与光源发出的电磁辐射之间的相互作用^[39-40]。可见/近红外光辐射可被用于测定鱼中的有机官能团吸收强度,随着贮藏时间的变长,鱼的内部和外部会发生各种生化变化产生不同的物质或官能团,导致吸收光谱和吸收强度的变化。因此,可见/近红外光谱学具有检测鱼体新鲜度的能力^[41]。Nthabiseng 等^[42]通过近红外光谱测定了在 4 °C 贮藏条件下大西洋鲑鱼中的微生物含量,基于主成分分析方法,新鲜鲑鱼鱼片与保存 9 d 的鱼片相比,具有明显的分离性。Wu 等^[43]将可见/近红外光谱法和双层叠加去噪自动编码器神经网络(SDAE-NN)算法相结合,对鲑鱼新鲜度进行检测,与偏最小二乘回归(PLSR)和反向传播神经网络(BP-NN)等常用的数据处理方法相比,SDAE-NN 建立了一个比较有效的鲑鱼肉和鱼皮的评价模型, R^2 分别为 0.98 和 0.92。与传统方法相比,可见/近红外光谱法具有快速、简便、无损、可实现在线分析与远程检测等优点,在检测鱼体新鲜度方面更具优势^[44],即使在微生物生长不显著的初始阶段,样品的特征光谱仍然会改变,所以,即使在鱼储藏的初始阶段仍可检测其新鲜度。但是,可见/近红外光谱法总是需要校准,因为不同的存储条件需要不同的模型,如 0 °C 下的模型可能不适合 4 °C 的模型。

3.2 高光谱技术

与传统的计算机视觉技术和可见/近红外光谱技术相比,高光谱结合了这两种技术,获得一个三维数据集,其中光谱和空间信息都重新呈现了样品的物理和化学特征及其分布^[45-47]。近年来,高光谱技术在鱼体新鲜度的检测中得到了广泛的发展。Cheng 等^[48]将高光谱(400~1000 nm)技术与数据融合技术相结合,预测在 (4 ± 1) °C 下储存 2、4 和 6 d 的草鱼鱼片的感官指标,得到模型的 $R^2 = 0.944$,又利用图像处理算法,实现了图像质量指数的空间分布可视化。在另一项研究中,Cheng 等^[49]采用多光谱成像技术结合最小二乘支持向量机(LS-SVM)和多元线性回归(MLR)对草鱼鱼片的理化指标(TVB-N、TBA 和 K 值)进行建模和预测,其中 LS-SVM 模型被认为是预测 TVB-N、TBA 和 K 值的最佳拟合模型, R^2 分别为 0.922、0.867、0.936。Shi 等^[50]利用 HSI 技术,开发了

一种基于径向基函数神经网络(RBFNNS)来评价不同储存温条件下的罗非鱼片的新鲜度的方法。通过连续投影算法(SPA)选择的最佳波长与TVB-N、总需氧量(TAC)、K值和感官评价的值建立SPA-RBFNNS模型,结果表明,罗非鱼片储存在-3、4、10和15℃条件下,TVB-N,TAC和K值增加,而感官评分随着储存时间的增加而降低。高光谱技术结合了光谱学和视觉技术的优点,光谱数据可以说明样品的化学成分和结构,而图像信息可以反映样品的空间分布、外部性质和几何结构。因此,高光谱技术可以实现新鲜度属性的快速、无损和可视化,并可用于实时监测。但是,由于算法和化学计量学发展的限制,光谱数据利用率不高。

3.3 荧光光谱技术

荧光光谱法原理是建立荧光强度与发射波长的函数关系。其中,前表面荧光光谱(FFFS)技术以特殊入射角照射样品,可以最大限度地减少散射、反射光以及去极化,因此FFFS更适合于分析复杂的食品基质^[51]。因此,基于该技术,鱼类样品的固有荧光光谱可以识别为含有理化信息和质构信息的指纹,以识别新鲜和腐败的鱼片^[52]。Hassoun等^[53]使用FFFS对4℃不同条件(黑暗、光照、部分或全真空)下储存12d的白鲑鱼片进行检测,研究发现,色氨酸的发射光谱和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸可被视为鱼体的新鲜度检测指纹。传统的荧光光谱法仅记录单个激发波长的荧光光谱,不能同时扫描样品的所有固有荧光。所以,Elmasry等^[54]应用荧光光谱结合荧光激发-发射矩阵(EEM)检测整条竹荚鱼及其鱼片的新鲜度。对于整条冷冻鱼,以8个发射波长预测K值获得最佳拟合模型,交叉验证的 $R^2 = 0.85$ 。对于鱼片,使用7个发射波长建立预测模型,交叉验证的 $R^2 = 0.94$ 。

但是,Shibata等^[55]指出,鱼死后早期(48h),冷冻马鲛鱼的K值增长非常缓慢,在其研究中,ATP含量更适合评价冷冻马鲛鱼的死后新鲜度。以上研究仅在一个点上检测鱼体新鲜度,不能追踪到鱼体的其他部位。因此,Bui等^[56]将EEM与图像技术结合,开发荧光成像方法,用于可视化鲭鱼理化参数的空间分布,如K值和肌苷酸含量,精确度分别为 $R^2 = 0.78$ 和 $R^2 = 0.82$ 。与其他常规仪器或感官评价相比,荧光光谱法能够直接检测冷冻的鱼样品,无需解冻。但是,需要更多的研究来识别最有效的发射波长。

4 鱼体新鲜度快速检测技术总结

目前,鱼体新鲜度快速检测技术主要有生物传感器技术、感官仿生技术和光谱技术。表1列出了鱼体新鲜度快速检测技术的优缺点。与传统的感官评价、理化指标和菌落总数等检测技术相比,快速检测技术在鱼体新鲜度检测方面具有快速、无损和实时检测等优势。生物传感器技术可以直接检测鱼类腐败产生的化学成分,搭配微型设备使用更简单,更经济省时。感官仿生技术通过模仿人类的感官而发展起来,可以作为传统感官评价方法的补充和替代方法。值得注意的是,仿生技术只能定性分类鱼体的新鲜度而不能进行准确定量检测。光谱技术通常可以用于非破坏性实时监测,并可以通过优化获取最佳波长确定鱼体新鲜度的光谱指纹信息,实现新鲜度的快速鉴别和检测。当前,鱼体的新鲜度检测仍以理化检测等传统检测技术为主,生物传感器技术、感官仿生技术和光谱技术等快速检测技术尚未得到普遍应用,其主要原因是缺乏统一技术标准,技术专业性强,且没有形成完整的检测体系等。

5 展望

鱼体新鲜度快速检测技术在当前食品工业的需

表1 鱼体新鲜度快速检测技术的优缺点

Table 1 Advantages and disadvantages of rapid detection technology for fish freshness

检测类型	检测方法	优点	缺点	参考文献
生物传感器技术	电化学生物传感器	操作简便,分析速度快,灵敏度高,成本低	不能测定所有气体成分,易受外界气体杂质干扰,稳定性差	[9,12,14]
	酶生物传感器	特异性强,灵敏度高,可用于高精度的定量分析	成本较高,酶易受使用环境影响失活,稳定性差	[9,17]
	电子鼻	响应时间短,预处理简单,评估范围广,重复性好	不适合腐败之前的阶段,实际操作中气味分子的敏感性和选择性可能不够	[22-23]
感官仿生技术	电子舌	适用于鱼体腐败早期阶段	检测样品必须为液体,且必须进行前处理,感受器寿命短且昂贵	[26-27]
	比色传感器阵列	检测线低,便于携带,可持续监测	不能重复使用,成本高	[30,34]
	计算机视觉技术	自动化程度高,操作简单,可实现快速、无损检测	不适合鱼体腐败初期阶段,不能检测鱼体内部成分	[10,37]
光谱技术	可见/近红外光谱	检测快速、无损、简便,适用范围广	模型的精确度、灵敏度和适用性低	[11,40,44]
	高光谱	可实现快速、无损、可视化和实时监测	光谱数据分析繁琐,模型构建耗时间	[11,47]
	荧光光谱	能直接检测冷冻的鱼样品,无需解冻	需要更多的研究来识别最有效的发射波长	[51]

求中具有自己独特的一面,但是将这些新技术用作鱼体新鲜度的常规检测方式还有很多困难需要克服,然而其快速、无损和实时检测等特点非常符合市场需求,作为传统检测方法的补充或取代,具有较好的市场潜力和应用价值。因此,在未来的研究中,可着重考虑以下几点:a.生物传感器技术需要简化样品预处理过程,提高稳定性,确保重现性和精确度;b.感官仿生技术需要开发更好和更合适的检测系统,以满足各种复杂的检测条件,促进其向鱼体新鲜度实时监测方面发展;c.光谱技术需要进一步开发算法和化学计量学,以提高光谱信息的利用率,提高鱼体新鲜度检测的可靠性,促进其在无损、实时检测和通用性方面的应用。

参考文献

- [1] Usyodus Z, Szlinder-Richert J. Functional properties of fish and fish products: A review [J]. International Journal of Food Properties, 2012, 15(4): 823-846.
- [2] 许澄, 赵启蒙, 黄雯, 等. 几种鱼体新鲜度快速检测方法的研究进展[J]. 食品工业科技, 2014(9): 372-376.
- [3] Dutta M K, Issac A, Minhas N, et al. Image processing based method to assess fish quality and freshness [J]. Journal of Food Engineering, 2016, 177: 50-58.
- [4] Kriton G, Maria A, Ioannis G, et al. Sensory, microbiological, and chemical spoilage of cultured common sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice: A seasonal differentiation [J]. European Food Research and Technology, 2004, 219(6): 584-587.
- [5] Itoh D, Koyachi E, Yokokawa M, et al. Microdevice for on-site fish freshness checking based on K-value measurement [J]. Analytical Chemistry, 2013, 85(22): 10962-10968.
- [6] Cheng J H, Sun D W, Zeng X A, et al. Non-destructive and rapid determination of TVB-N content for freshness evaluation of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) by hyperspectral imaging [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2014, 21: 179-187.
- [7] Yao L, Luo Y K, Sun Y Y, et al. Establishment of kinetic models based on electrical conductivity and freshness indicators for the forecasting of crucian carp (*Carassius carassius*) freshness [J]. Journal of Food Engineering, 2011, 107(2): 147-151.
- [8] Santos J, Lisboa F, Pestana N. Shelf life assessment of modified atmosphere packaged turbot (*Psetta maxima*) fillets: Evaluation of microbial, physical and chemical quality parameters [J]. Food and Bioprocess Technology, 2013, 6(10): 2630-2639.
- [9] 董彩文. 生物传感器在鱼肉新鲜度测定中的应用[J]. 食品工业, 2005(1): 48-50.
- [10] Dowlati M, De La Guardia, Dowlati M, et al. Application of machine-vision techniques to fish-quality assessment [J]. Trends in Analytical Chemistry, 2012, 40: 168-179.
- [11] Cheng J H, Dai Q, Sun D W, et al. Applications of non-destructive spectroscopic techniques for fish quality and safety evaluation and inspection [J]. Trends in Food Science and Technology, 2013, 34(1): 18-31.
- [12] Chandra S P, Neelam Y, Anil K C. Occurrence, synthesis, toxicity and detection methods for acrylamide determination in processed foods with special reference to biosensors: A review [J]. Trends in Food Science and Technology, 2019, 85: 211-225.
- [13] Kavitha T, Sakthivel G, Swaminathan S, et al. Development of electrochemical biosensor with nano-interface for xanthine sensing—a novel approach for fish freshness estimation [J]. Food Chemistry, 2013, 139: 963-969.
- [14] 谭红霞, 马良, 郭婷, 等. 玉米赤霉烯酮新型生物传感器检测技术研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(2): 240-246.
- [15] Chang L Y, Chuang M Y, Zan H W. One-minute fish freshness evaluation by testing the volatile amine gas with an ultrasensitive porous-electrode-capped organic gas sensor system [J]. ACS Sensors, 2017, 2(4): 531-539.
- [16] Lee M Y, Wu C C, Sari M I, et al. A disposable non-enzymatic histamine sensor based on the nafion-coated copper phosphate electrodes for estimation of fish freshness [J]. Electrochimica Acta, 2018, 283: 772-779.
- [17] Manju B G, Noel Nesakumar S S, Uma M K. Determination of putrescine in tiger prawn using an amperometric biosensor based on immobilization of diamine oxidase onto ceria nanospheres [J]. Food and Bioprocess Technology, 2016, 9(4): 717-724.
- [18] Boryana B, Alfredo S, Sandra J F, et al. Reduced graphene oxide-carboxymethylcellulose layered with platinum nanoparticles/pamam dendrimer/magnetic nanoparticles hybrids. Application to the Preparation of Enzyme Electrochemical Biosensors [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2016, 232: 84-90.
- [19] Gastón D P, Sebastian N R, María A Z, et al. Development of an electroanalytical method to control quality in fish samples based on an edge plane pyrolytic graphite electrode. Simultaneous determination of hypoxanthine, xanthine and uric acid [J]. Microchemical Journal, 2018, 138: 58-64.
- [20] Irina M A, Constantin A. Amperometric biosensor based on diamine oxidase/platinum nanoparticles/graphene/chitosan modified screen-printed carbon electrode for histamine detection [J]. Sensors (Basel), 2016, 16(4): 422-437.
- [21] Shi C, Yang X T, Han S, et al. Nondestructive prediction of tilapia fillet freshness during storage at different temperatures by integrating an electronic nose and tongue with radial basis function neural networks [J]. Food and Bioprocess Technology, 2018, 11(10): 1840-1852.
- [22] 顾欣哲, 潘磊庆, 张伟, 等. 电子鼻技术检测肉品腐败的研究进展[J]. 南京晓庄学院学报, 2015(11): 1-6.
- [23] Manki S, Tai H P. The bioelectronic nose and tongue using olfactory and taste receptors: Analytical tools for food quality and safety assessment [J]. Biotechnology Advances, 2018, 36(2): 371-379.
- [24] Hui G H, Wang L Y, Mo Y H, et al. Study of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) quality predictive model based on electronic nose [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2012, 166: 301-308.
- [25] Ana T S S, Daniele F M, Susana P, et al. Tilapia fish microbial spoilage monitored by a single optical gas sensor [J]. Food Control, 2018, 89: 72-76.
- [26] 黄嘉丽, 黄宝华, 卢宇靖, 等. 电子舌检测技术及其在食

- 品领域的应用研究进展[J].中国调味品,2019,5(44):189-198.
- [27] Jiang H Y, Zhang M, Bhandari B, et al. Application of electronic tongue for fresh foods quality evaluation: A review[J]. Food Reviews International, 2018, 3: 1-24.
- [28] María R R, Ana F, Rafael M, et al. Use of the voltammetric tongue in fresh cod (*Gadus morhua*) quality assessment [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2013, 18: 256-263.
- [29] Apetrei I M, Maria L R M, Constantin A, et al. Fish freshness monitoring using an e-tongue based on polypyrrole modified screen-printed electrodes [J]. IEEE Sensors Journal, 2013, 13(7): 2548-2554.
- [30] Huang X Y, Xin J W, Zhao J W. A novel technique for rapid evaluation of fish freshness using colorimetric sensor array [J]. Journal of Food Engineering, 2011, 105(4): 632-637.
- [31] Patricia Z, Ana F, Isabel F S, et al. Evaluation of sea bream (*Sparus aurata*) shelf life using an optoelectronic nose [J]. Food Chemistry, 2013, 138(2-3): 1374-380.
- [32] Morsy M K, Zor K, Kostesha N, et al. Development and validation of a colorimetric sensor array for fish spoilage monitoring [J]. Food Control, 2016, 60: 346-352.
- [33] Angélica D A, Jorge A O M, E. Armando Z C. Colorimetric sensor based on a poly(ortho-phenylenediamine-co-aniline) copolymer for the monitoring of tilapia (*Oreochromis niloticus*) freshness [J]. Sensors and Actuators, B: Chemical, 2018, 259: 170-176.
- [34] 贾明艳, 冯亮. 光化学比色传感器阵列的研究进展 [J]. 分析化学, 2013, 5(41): 795-802.
- [35] Xu J L, Riccioli C, Sun D W. Comparison of hyperspectral imaging and computer vision for automatic differentiation of organically and conventionally farmed salmon [J]. Journal of Food Engineering, 2017, 196: 170-182.
- [36] Xu J L, Sun D W. Identification of freezer burn on frozen salmon surface using hyperspectral imaging and computer vision combined with machine learning algorithm [J]. International Journal of Refrigeration, 2017, 74: 151-164.
- [37] Shi C, Qian J P, Han S, et al. Developing a machine vision system for simultaneous prediction of freshness indicators based on tilapia (*Oreochromis niloticus*) pupil and gill color during storage at 4 °C [J]. Food Chemistry, 2018, 243: 134-140.
- [38] Amin T G, Soodabeh F, Ashkan B, et al. Real-time nondestructive monitoring of common carp fish freshness using robust vision-based intelligent modeling approaches [J]. Computers and Electronics in Agriculture, 2019, 159: 16-27.
- [39] Feng Y Z, Downey G, Sun D W, et al. Towards improvement in classification of *Escherichia coli*, *Listeria innocua* and their strains in isolated systems based on chemometric analysis of visible and near-infrared spectroscopic data [J]. Journal of Food Engineering, 2015, 149: 87-96.
- [40] Wang L, Sun D W, Pu H B, et al. Quality analysis, classification, and authentication of liquid foods by near-infrared spectroscopy: A review of recent research developments [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2017, 57: 1524-1538.
- [41] Cheng J H, Dai Q, Sun D W, et al. Applications of non-destructive spectroscopic techniques for fish quality and safety evaluation and inspection [J]. Trends in Food Science & Technology, 2013, 34(1): 18-31.
- [42] Nthabiseng Tito, Thomas Rodemann, Shane Powell. Use of near infrared spectroscopy to predict microbial numbers on Atlantic salmon [J]. Food Microbiology, 2012, 32(2): 431-436.
- [43] Wu T, Zhong N, Yang L. Application of Vis/NIR spectroscopy and SDAE-NN algorithm for predicting the cold storage time of Salmon [J]. Journal of Spectroscopy, 2018(12): 1-9.
- [44] 何鸿举, 王魏, 马汉军, 等. 近红外光谱技术在肉品掺假检测方面的研究进展 [J/OL]. 食品工业科技: 1-14 [2020-02-07]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1759.ts.20190903.1334.010.html>.
- [45] Cheng W W, Sun D W, Pu H B, et al. Chemical spoilage extent traceability of two kinds of processed pork meats using one multispectral system developed by hyperspectral imaging combined with effective variable selection methods [J]. Food Chemistry, 2017, 221: 1989-1996.
- [46] Cheng W W, Sun D W, Pu H B, et al. Characterization of myofibrils cold structural deformation degrees of frozen pork using hyperspectral imaging coupled with spectral angle mapping algorithm [J]. Food Chemistry, 2018, 239: 1001-1008.
- [47] Xu J L, Esquerre C, Sun D W. Methods for performing dimensionality reduction in hyperspectral image classification [J]. Journal of Near Infrared Spectroscopy, 2018, 26: 61-75.
- [48] Cheng J H, Sun D W. Data fusion and hyperspectral imaging in tandem with least squares-support vector machine for prediction of sensory quality index scores of fish fillet [J]. LWT-Food Science and Technology, 2015, 63: 892-898.
- [49] Cheng J H, Sun D W, Qu J H. Developing a multispectral imaging for simultaneous prediction of freshness indicators during chemical spoilage of grass carp fish fillet [J]. Journal of Food Engineering, 2016, 182: 9-17.
- [50] Shi C, Qian J P, Zhu W Y, et al. Nondestructive determination of freshness indicators for tilapia fillets stored at various temperatures by hyperspectral imaging coupled with RBF neural networks [J]. Food Chemistry, 2019, 275: 497-503.
- [51] Karoui R, Blecker C. Fluorescence spectroscopy measurement for quality assessment of food systems-a review [J]. Food and Bioprocess Technology, 2011, 4(3): 364-368.
- [52] Karoui R, Hassoun A, Ethuin P. Front face fluorescence spectroscopy enables rapid differentiation of fresh and frozen-thawed sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets [J]. Journal of Food Engineering, 2017, 202: 89-98.
- [53] Hassoun A, Karoui R. Front-face fluorescence spectroscopy coupled with chemometric tools for monitoring fish freshness stored under different refrigerated conditions [J]. Food Control, 2015, 54: 240-249.

- (6):938-947.
- [72] Zahm J A, Padrick S B, Chen Z C, et al. The bacterial effector VopL organizes actin into filament-like structures [J]. Cell, 2013, 155(2):423-434.
- [73] Chiawwit P, Boonyahong M, Thawornwan U, et al. Identification of VPA1327 (vopT) as a novel genetic marker for detecting pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Journal of Pure and Applied Microbiology, 2018, 12(2):429-438.
- [74] Hiyoshi H, Kodama T, Saito K, et al. VopV, an F-actin-binding type III secretion effector, is required for *Vibrio parahaemolyticus*-induced enterotoxicity [J]. Cell Host Microbe, 2011, 10(4):401-409.
- [75] Hiyoshi H, Okada R, Matsuda S, et al. Interaction between the Type III effector VopO and GEF-H1 activates the RhoA-ROCK pathway [J]. PLoS Pathogens, 2015, 11(3):e1004694.
- [76] Zhou X H, Gewurz B E, Ritchie J M, et al. A *Vibrio parahaemolyticus* T3SS effector mediates pathogenesis by independently enabling intestinal colonization and inhibiting TAK1 activation [J]. Cell Reports, 2013, 3(5):1690-1702.
- [77] Calder T, Kinch L N, Fernandez J, et al. *Vibrio* type III effector VPA1380 is related to the cysteine protease domain of large bacterial toxins [J]. PLoS One, 2014, 9(8):e104387.
- [78] Pukatzki S, Ma A T, Sturtevant D, et al. Identification of a conserved bacterial protein secretion system in *Vibrio cholerae* using the *Dictyostelium* host model system [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, 103(5):1528-1533.
- [79] Mougous J D, Cuff M E, Raunser S, et al. A virulence locus of *Pseudomonas aeruginosa* encodes a protein secretion apparatus [J]. Science, 2006, 312(5779):1526-1530.
- [80] Salomon D, Gonzalez H, Updegraff B L, et al. *Vibrio parahaemolyticus* type VI secretion system I is activated in marine conditions to target bacteria, and is differentially regulated from system 2 [J]. PLoS One, 2013, 8(4):1-11.
- [81] Yu Y, Yang H, Li J, et al. Putative type VI secretion systems of *Vibrio parahaemolyticus* contribute to adhesion to cultured cell monolayers [J]. Archives of Microbiology, 2012, 194(10):827-835.
- [82] Ma L Z, Zhang Y Q, Yan X J, et al. Expression of the type VI secretion system I component Hcp1 is indirectly repressed by OpaR in *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Scientific World Journal, 2012, 2012.
- [83] Salomon D, Kinch L N, Trudgian D C, et al. Marker for type VI secretion system effectors [J]. Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America, 2014, 111(25):9271-9276.
- [84] Salomon D, Klimko J A, Trudgian D C, et al. Type VI secretion system toxins horizontally shared between marine bacteria [J]. PLoS Pathogens, 2015, 11(8):e1005128.
- [85] Zheng J, Ho B, Mekalanos J J. Genetic analysis of anti-amoebae and anti-bacterial activities of the type VI secretion system in *Vibrio cholerae* [J]. PLoS one, 2011, 6(8):e23876.
- [86] Hachani A, Wood T E, Filloux A. Type VI secretion and anti-host effectors [J]. Current Opinion in Microbiology, 2016, 29:81-93.
- [87] Tekedar H C, Abdelhamed H, Kumru S, et al. Comparative genomics of *Aeromonas hydrophila* secretion systems and mutational analysis of hcp1 and vgrG1 genes from T6SS [J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9.
- [88] Toska J, Ho B T, Mekalanos J J. Exopolysaccharide protects *Vibrio cholerae* from exogenous attacks by the type 6 secretion system [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2018, 115(31):7997-8002.
- [89] Logan S L, Thomas J, Yan J, et al. The *Vibrio cholerae* type VI secretion system can modulate host intestinal mechanics to displace gut bacterial symbionts [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2018, 115(16):E3779-E3787.
- [90] Parsons D A, Heffron F. sciS, an icmF homolog in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, limits intracellular replication and decreases virulence [J]. Infection and Immunity, 2005, 73(7):4338-4345.
- [91] Chow J, Mazmanian S K. A pathobiont of the microbiota balances host colonization and intestinal inflammation [J]. Cell Host & Microbe, 2010, 7(4):265-276.
- [92] Weber B, Hasic M, Chen C, et al. Type VI secretion modulates quorum sensing and stress response in *Vibrio anguillarum* [J]. Environmental Microbiology, 2009, 11(12):3018-3028.
- [93] Dharmaprakash A, Mutt E, Jaleel A, et al. Proteome profile of a pandemic *Vibrio parahaemolyticus* SC192 strain in the planktonic and biofilm condition [J]. Biofouling, 2014, 30(6):729-739.
- [94] Elexson N, Afsah-Hejri L, Rukayadi Y, et al. Effect of detergents as antibacterial agents on biofilm of antibiotics-resistant *Vibrio parahaemolyticus* isolates [J]. Food Control, 2014, 35(1):378-385.
- (上接第 339 页)
- [54] ElMasry G, Nakazawa N, Okazaki E. Non-invasive sensing of freshness indices of frozen fish and fillets using pretreated excitation-emission matrices [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2016, 228:237-250.
- [55] Shibata M, ElMasry G, Moriya K, et al. Smart technique for accurate monitoring of ATP content in frozen fish fillets using fluorescence fingerprint [J]. LWT-Food Science and Technology, 2018, 92:258-264.
- [56] Bui M V, Rahman M M, Nakazawa N, et al. Visualize the quality of frozen fish using fluorescence imaging aided with excitation-emission matrix [J]. Optics Express, 2018, 26(18):22954-22964.