

养殖南方大口鲶鱼片贮藏过程中生化特性变化

杨欣怡^{1,2}, 雷宝良^{1,2}, 宋涛^{1,2}, 宋军^{1,2}, 杜雪莉^{1,2*}, 张凤枰^{1,2,3}, 王锡昌³

(1. 四川威尔检测技术股份有限公司, 成都 610041; 2. 通威股份有限公司水产畜禽营养与健康养殖农业农村部重点实验室, 成都 610041; 3. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306)

摘要: **目的** 探究不同冷冻方式和抗冻剂对南方大口鲶鱼肉生化特性及感官特性的影响。**方法** 以鲜活南方大口鲶为原料, 分为急冻组(JB)、单冻组(DB)、急冻+抗冻剂组(JK)、单冻+抗冻剂组(DK)、超低温速冻组(CL)5组鱼片, -18 °C冰柜冷冻贮藏 112 周, 分析南方大口鲶鱼片感官特性、pH 值、挥发性盐基氮值、微生物、组织结构等变化趋势。盐溶性蛋白含量仅分析储藏 40 周的变化情况。**结果** 鱼片贮藏 40 周时, JB、JK、DB、DK、CL 组盐溶性蛋白分别下降至 3.60%、10.94%、9.73%、13.23%、24.05%, 下降速度: JB > DB > JK > DK > CL; 鱼片贮藏 112 周时, JB、JK、DB、DK、CL 试验组 K 值分别为 48.83%、46.67%、45.18%、42.35%、37.14%, 各试验组鱼片 K 值均呈缓慢上升趋势。其中 CL 试验组鱼片 K 值满足二级鲜度要求; 各试验组鱼片 TBA 值均呈缓慢上升趋势, 第 112 周 TBA 值: JB > JK > DB > DK > CL; 5 个试验组鱼片 T-VBN 值、pH、肌肉持水力、感官评分基本一致, 无显著差异($P > 0.05$); 各试验组鱼片冷冻贮藏 112 周, 其菌落总数、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌均全部符合 SC/T 3116 国家相关标准规定要求; 贮藏期间, 各试验组南方大口鲶鱼片肌肉组织结构主要表现为细胞间结缔组织、肌细胞完整性和肌浆的变化差异, 第 112 周鱼片组织结构变化程度为: CL < DK < DB < JK < JB。**结论** 采用单冻或超低温速冻处理、抗冻剂处理后贮藏的南方大口鲶鱼片蛋白质的变性程度有一定的降低。**关键词:** 南方大口鲶; 鱼片; 冻结方式; 抗冻剂; 冷冻贮藏; 生化特性; 感官评定

Changes of biochemical properties of pond farmed *Silurus meridionalis* Chen fillets during storage

YANG Xin-Yi^{1,2}, LEI Bao-Liang^{1,2}, SONG Tao^{1,2}, SONG Jun^{1,2}, DU Xue-Li^{1,2*},
ZHANG Feng-Ping^{1,2,3}, WANG Xi-Chang³

(1. Sichuan Willtest Technology Co., Ltd., Chengdu 610041, China; 2. Key Laboratory of Aquatic, Livestock, Poultry Nutrition and Healthy Culturing, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Tongwei Co., Ltd., Chengdu 610041, China; 3. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

ABSTRACT: Objective To explore the effects of different freezing methods and antifreeze on the biochemical and sensory properties of *Silurus meridionalis* Chen fillets. **Method** Using fresh *Silurus meridionalis* Chen fillets as raw materials, they were divided into quick-freeze group (JB), single-freeze group (DB), quick-freeze+antifreeze group (JK), single-freeze+antifreeze group (DK), ultra-low temperature quick-freezing Group (CL) 5 groups of fillets. The frozen storage at -18 °C for 112 weeks was used to analyze the trends of sensory characteristics, pH value, volatile

基金项目: 四川省青年科技创新研究团队专项计划项目(2019JDTD0025)、成都市技术创新研发项目(2018-YF05-00794-SN)

Fund: Supported by Special Fund Project of Youth Science and Technology Innovation Research team in Sichuan province (2019JDTD0025) and the Technological Innovation Research and Development Project by Chengdu (2018-YF05-00794-SN)

*通讯作者: 杜雪莉, 高级工程师, 主要研究方向为水产品营养与安全。E-mail: duxl@willtest.cn.

*Corresponding author: DU Xue-Li, Senior Engineer, Sichuan Willtest Technology Co., Ltd., No.2, Chuangye road, Gaoxin District, Chengdu 610041, China. E-mail: duxl@willtest.cn.

base nitrogen value, microorganisms, and tissue structure of southern bigmouth catfish filets. The content of salt-soluble protein was only analyzed after 40 weeks of storage. **Results** When the filets were stored for 40 weeks, the salt-soluble proteins in the JB, JK, DB, DK, and CL groups decreased to 3.60%, 10.94%, 9.73%, 13.23%, and 24.05%. Lowering speed was JB > DB > JK > DK > CL. When the filets were stored for 112 weeks, the *K* values of the JB, JK, DB, DK, and CL test groups were 48.83%, 46.67%, 45.18%, 42.35%, and 37.14%, and the *K* values of each test group showed a slowly increasing trend. Among them, the *K* value of the fish fillet in the CL test group met the second-grade freshness requirement; the TBA value of the fish filets in each test group was slowly increasing, and the TBA value of the 112th week was JB > JK > DB > DK > CL. The T-VBN value, pH, muscle water holding capacity, and sensory score of the fish filets in the 5 test groups were basically the same without significant differences ($P > 0.05$). The fish filets of each test group were stored frozen for 112 weeks, and the total number of colonies, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* all met the requirements of the relevant national standards of SC/T 3116. During storage, the muscle tissue structure of southern bigmouth catfish filets in each experimental group mainly showed changes in connective tissue, muscle cell integrity, and sarcoplasm. The degree of tissue structure change of fish fillet at week 112 was: CL < DK < DB < JK < JB. **Conclusion** The degree of protein denaturation of *Silurus meridionalis* Chen filets stored under single-freezing or ultra-low-temperature quick-freezing treatment and antifreeze treatment is reduced a certain extent.

KEY WORDS: *Silurus meridionalis* Chen; fillet; freezing method; antifreeze; frozen storage; biochemical properties; sensory quality evaluation

1 引言

南方大口鲶(*Silurus meridionalis* Chen), 属鲶形目、鲶科、鲶属, 俗称河鲶、大河鲶鱼、鲶巴郎, 主要产于我国长江流域的大江大河中, 目前在四川、江西、辽宁、广东、湖北形成了一定的养殖规模, 2018 年全国鲶鱼总产量为 38.23 万吨, 其中四川养殖总量最多, 为 80276 吨^[1]。南方大口鲶肉质细嫩、味道鲜美、无肌间刺、腴而不腻, 不仅是席上佳肴, 而且有滋补、益阴、利尿、通乳、消渴、治水肿等药用功效, 深受消费者的喜爱^[2]。但因为水产品具有高蛋白、高水分、组织蛋白酶活性较强、蛋白质降解较快等特点, 所以目前很多企业将其加工为冷冻产品, 以满足消费者全年的消费。但在传统的速冻工艺及冻藏条件下, 随着冻藏时间的延长, 鱼肉会变得松软无弹性, 严重影响产品的食用品质, 因此迫切需要开展不同冷冻方式下冻藏南方大口鲶品质变化相关的研究, 从而为南方大口鲶加工和贮藏提供理论依据。

研究表明, 鱼类在死后会发生一系列的变化, 如蛋白质变性^[3-6]、pH 变化^[7,8]、5'-三磷酸腺苷(adenosine 5'-triphosphate, ATP) 降解、肌肉组织结构变化、滋生微生物、脂肪氧化等, 这些变化都严重影响着鱼肉的质量, 均会降低鱼类的商品价值和营养价值^[9]。Wu 等^[10]研究了鳊鱼(*Aristichthys nobilis*)在-10、-20、-30 °C 3 个冻藏温度下的蛋白变性程度, 结果表明冻藏温度越低, Ca²⁺-ATPase 活性和总巯基含量下降的幅度越小, 蛋白质变性程度越小。Li 等^[11]研究了冰藏条件下鲫鱼(*Carassius auratus*)宰后 48 h

变化规律, 发现、肌酐 5'-磷酸(creatinine 5'-phosphate, IMP) 含量在宰后 4 h 达到最高值, 硬度、粘性和阻嚼性在宰后 2 h 达到最大值, 较佳的鲫鱼宰后食用时间为死后 2~4 h。Mazorra 等^[12]研究了黑箭鱼(*Black skipjack*)在冰温藏条件下死后变化, 在的藏过程中化学、微生物和感官参数都发生了变化, 肌肉 pH 值在 5.7 和 6.0 和之间波动, 组胺含量小于 50 mg/kg, 腐胺和尸胺含量小于 40 mg/kg, 脂肪逐渐氧化; 鲢鱼(*Hypophthalmichthys molitrix*)在 0 °C 冷藏 14 d, 4 °C 冷藏 11 d 后, 肌球蛋白重链发生明显降解^[13]。低温保鲜技术是目前常用的保鲜技术之一^[14], 而冻藏保鲜技术水产品的中心温度降至-18 °C 以下, 肌体中的水分几乎完全冻结, 从而有效抑制微生物腐败作用和内源酶引起的品质劣化, 因此产品货架期相对较长^[10]。

冷冻鱼片是目前较为普遍的一种南方大口鲶加工方式, 可用于出口或国内销售延长货架期。目前国内仅有王晓君等^[15]研究表明南方大口鲶在冻藏条件下的品质优于微冻, 但未更加深入研究其在不同冷藏前处理方式及冷藏条件对其生物特性的影响。本研究主要研究不同冷冻方式下大口鲶冷冻鱼片在冻藏过程中蛋白质冷冻变性、鲜度、感官、微观结构、微生物指标等生化特性的变化, 以期为南方大口鲶采取合适加工和贮藏方法提供理论依据、技术支持。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

鲜活南方大口鲶, 挑选鱼体健康, 个体差异小

(1.0~1.5 kg/尾, 300 尾), 成都市双流县永兴镇丹土村永兴渔业养殖专业合作社。

主要试剂: 磷酸、三氯乙酸、牛血清白蛋白、三乙胺(分析纯, 国药集团化学试剂公司); 三羟基氨基甲烷($\geq 99.9\%$)、三羟甲基氨基甲烷马来酸酯(Tris-maleate)(美国 Sigma 公司)。

肉制品 TBA 检测试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

2.2 仪器与设备

1260 液相色谱仪(美国 Agilent 公司); Lambda 35 紫外可见分光光度计(美国 PerkinElmer 公司); 785 DMP Titrimo 电位滴定仪(瑞士 Metrohm 公司); 50i 显微成像系统(日本 Nikon 公司); HR2169 组织捣碎机(荷兰 PHILIPS 公司); T10B ULTRA-TURRAX 均质仪、VORTEX GENIUS 3 漩涡混合器(德国 IKA 公司); AllegraTM 64R 高速冷冻离心机(美国 Beckman 公司); CM1850 冰冻切片机(德国 Leica 公司)、CP225D 电子分析天平(德国 Sartorius 公司); BC/BD-379HBN 卧式冷藏冷冻转换柜(Haier 公司)

2.3 实验方法

2.3.1 原料鱼片的制作流程

原料鱼暂养→放血→剖片(3 cm×2 cm×2 cm)→去皮→修整→摸刺→臭氧消毒→分组(单冻不加抗冻剂组(DB)、单冻加抗冻剂组(DK)、急冻不加抗冻剂组(JB)、急冻加抗冻剂组(JK)、超低温速冻组(CL)、其中 DK 组及 JK 组样品需加抗冻剂、其他组的样品不加)→单冻/急冻/超冷冻→镀冰衣(8%~10%)→真空包装。

鱼片与抗冻剂溶液的比例控制在 1:1~1:3(*m*:*V*)之间, 浸泡时间控制在 30~60 min。抗冻剂组成: 3%蔗糖+3%山梨醇+0.3%三聚磷酸盐。

2.3.2 冻结工艺

冻结工艺分为 3 种:

单冻: 单冻温度为-38~-42 °C, 单冻产品中心温度-18 °C 以下;

急冻: 温度为-26~-28 °C, 急冻产品中心温度-18 °C 以下;

超低温速冻: 真空包装后, 迅速放在-80 °C 条件下超低温速冻。

2.3.3 肌原纤维蛋白的提取与测定

参照 Midde 等^[16]方法提取肌原纤维蛋白, 后采用双缩脲法^[17]测定肌原纤维蛋白含量。

2.3.4 ATP 及其降解产物的测定

采用 Zhang 等^[18]的方法提取和测定 ATP 及其降解产物。

2.3.5 TBA 值

按照南京建成生物工程研究所肉制品 TBA 检测试剂盒说明书测定。

2.3.6 T-VBN

按照 GB 5009.228-2016《食品中挥发性盐基氮的测

定》完成。

2.3.7 pH 值

称取 5.0 g 鱼肉, 加入 50 mL、4 °C 无 CO₂ 的去离子水, 均质 1 min, 使用 pH 计测定 pH 值。

2.3.8 感官评定

感官评定由 7 位受过专业训练的测评人对草鱼片(生鲜和热处理)进行评定, 感官评定方法参照洪惠^[19]的方法。生鲜鱼片以表面颜色、气味和肌肉弹性为检验指标, 评定人员根据感官评价表对应各个指标进行打分。生鱼片感官评价后, 清洗鱼片并放置在直径为 15 cm 的不锈钢锅中, 于沸水锅中蒸至 15 min, 评定人员根据熟鱼片的气味、滋味和汤汁浑浊度进行总体打分。各指标分为好、较好、一般、较差和差 5 个级别, 分值分别为 15、12、9、6、3 分, 7.5 分为感官可接受终点。当评定人员超过半数认为感官不可接受时, 之后不再进行滋味的品尝实验, 为了明确鱼片的腐败特征, 鱼片的其余感官评价将继续进行至储藏末期。感官评定如表 1。

2.3.9 肌肉组织结构

选取低温储存的样品, 后取低温冰冻样 1 cm×1 cm×1 cm 大小无刺肌肉组织块数块, 样品经常规 10%甲醛固定后, 进行冰冻切片。在低温密闭室内, 采用 Leica 恒温冰冻切片机进行连续切片厚度 5 μm, 载玻片贴附, 室温放置后 HE 染色。固定组织经水洗、酒精梯度脱水、甲苯透明、石蜡浸泡后常温包埋呈石蜡组织块。在常温下, 采用 Leica 组织切片机进行连续切片厚度 5 μm, 载玻片贴附 37 °C 过夜后, HE 染色。

HE 染色结果细胞核染成蓝色, 细胞质染色红色, 脂滴和水泡不着色。在显微镜 200×、400× 镜头下观察鱼片肌肉组织结构, 对肌肉组织中变化较突出的区域照相。

2.3.10 微生物指标

菌落总数按照 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》^[20]进行测定; 沙门氏菌按照 GB 4789.4-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验》; 按照 GB 4789.10-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验》^[21]测定金黄色葡萄球菌^[22]。

2.4 数据的处理与分析

SPSS 20.0 软件进行数据分析和处理, 采用 Origin8.0 绘图。

3 结果与分析

3.1 盐溶性蛋白含量

鱼肉蛋白质按其在中性盐中的溶解度, 可以分为水溶性肌浆蛋白、盐溶性肌原纤维蛋白和不溶性基质蛋白。肌原纤维蛋白包括肌球蛋白、肌动蛋白、原肌球蛋白、副肌球蛋白、肌钙蛋白、辅肌动蛋白等, 它们可以被离子强度 0.5 以

上的中性盐溶液抽提出来, 所以又称为盐溶性蛋白^[23]。在冻藏过程中, 肌原纤维蛋白分子间由于氢键、疏水键、二硫键、盐键的形成而聚集变性, 因而其盐溶性下降。

盐溶性蛋白含量测定试验周期为 40 周, 其含量变化如图 1 所示。从图 1 可以看出, 在 40 周贮藏期内, 肌肉盐溶性蛋白含量呈下降趋势, 特别是在 0~8 周内, JB、JK、DB、DK、CL 5 组样品均下降特别显著($P < 0.01$), 分别下降 55.44%、43.41%、44.70%、43.68%、43.36%; 8~40 周下降显著($P < 0.05$), 分别下降至 3.60%、10.94%、9.73%、13.23%、24.05%。曾名勇等^[24,25]研究表明不论在 $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 还是在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下冻藏, 罗非鱼的盐溶性蛋白含量都随时间延长而明显减少, 冻藏前 2 个月盐溶性蛋白分别下降 37.6%和 15.7%; 鳊鱼肉在 -10 和 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻藏时其肌动球蛋白的溶出量也一直呈

快速下降趋势, 在前 45 d 的冻藏期内, 肌动球蛋白的溶出量从 28.01 mg/g 分别下降到 1.63、5.66 mg/g。

从抗冻剂效果看, 未添加抗冻剂试验组(JB、DB)盐溶性蛋白含量较添加抗冻剂试验组(JK、DK)下降显著($P < 0.05$); 从样品冻结方式看, 盐溶性蛋白含量下降速度: 急冻组 > 单冻组 > 超低温速冻组, 无论是否添加抗冻剂, 急冻试验组均较单冻试验组下降快, 而超低温速冻试验组效果最好。尽管单冻或超低温速冻处理、抗冻剂处理均不能阻止肌肉盐溶性蛋白质的下降趋势, 但是贮藏期间单冻处理组、超低温速冻处理组、抗冻剂处理组鱼片肌肉盐溶性蛋白含量均高于采用急冻处理组, 说明采用单冻或超低温速冻处理、抗冻剂处理后贮藏的南方大口鲈鱼片蛋白质的变性程度有一定的降低。

表 1 鱼片感官评定评分表
Table 1 Sensory evaluation score table of farmed *Silurus meridionalis* Chen fillet

分值	生鱼片			熟鱼片		
	色泽	气味	弹性	气味	滋味	汤汁形态
15	色泽正常, 肌肉内切面富有光泽	固有的香味, 清新	坚实有弹性、手压后凹陷即消失	固有的香味, 清新	固有的鲜味浓郁, 肉制弹性好	很清晰, 汤内无碎肉
12	色泽正常, 肌肉内切面有光泽	固有的香味, 较清新	坚实有弹性、手压后凹陷较快消失	固有的香味, 较清新	固有的鲜味浓郁, 肉质有弹性	清晰, 汤内无碎肉
9	色泽稍暗, 肌肉切面稍有光泽	固有香味清淡, 略带异味	较有弹性、手压后凹陷消失较慢	固有香味清淡, 略带异味	固有的鲜味平淡, 肉质弹性一般	较清晰, 汤内有少量碎肉
6	色泽较暗, 肌肉切面无光泽	固有香味消失, 有腥臭味和氨臭味	稍有弹性、手压后凹陷消失较慢	固有香味消失, 有腥臭味和氨臭味	无鲜味、无异味、肉质弹性差	肉质悬浮于汤类, 汤汁较浑浊
3	色泽暗淡, 肌肉切面无光泽	有强烈的腥臭味和氨臭味	无弹性、手压后凹陷不消失	有强烈的腥臭味和氨臭味	无鲜味、肉质发粘、肉质腐败	肉质腐败悬浮于汤类、汤汁浑浊

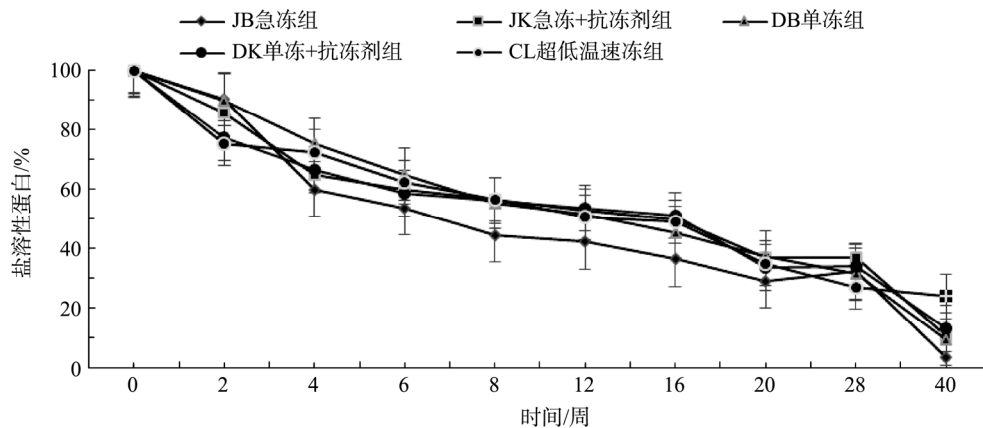


图 1 南方大口鲈鱼片在 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻藏过程中盐溶性蛋白含量的变化($n=3$)

Fig.1 Changes of salted soluble protein contents of farmed *Silurus meridionalis* Chen fillet during $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ frozen storage ($n=3$)

3.2 K 值

K 值能反映鱼体死后 ATP 降解反应进行的程度, 随着水产品贮藏时间的增长, K 值逐渐升高、鲜度下降。国外许多学者认为 K 值作为评价鱼类新鲜度的化学指标应用较准确, 尤其适合对鱼类早期鲜度的评定^[26-28], 认为即杀鱼的 K 值在 10% 以下, 推荐作为生鱼片的新鲜鱼 K 值大约在 20% 以下, 20%~40% 为二级鲜度, 60%~80% 为初期腐败鱼^[26]。

K 值测定试验周期为 112 周, 其含量变化如图 2 所示。从图 2 可以看出, 各试验组鱼片 K 值均呈缓慢上升趋势, 从第 112 周各试验组 K 值可以看出, K 值: 急冻组 > 急冻+抗冻剂组 > 单冻组 > 单冻组+抗冻剂组 > 超低温速冻组; 从抗冻剂效果看, 无论是急冻还是单冻, 添加抗冻剂组 K 值均较未添加抗冻剂组低; 从鱼片冻结方式看, K 值上升趋势: 急冻组 > 单冻组 > 超低温速冻组, 急冻组效果最差, 单冻组效果次之, 而超低温速冻效果最好, 这与盐溶性蛋白含量测定结果所反映得效果一致。另外, 从 112 周贮藏试验周期看, 贮藏 88 周后, JB、JK、DB、DK、CL 试验组 K 值分别为 41.96%、39.33%、42.44%、40.32%、37.64%, 各试验组鱼片 K 值基本符合二级鲜度要求^[29]; 贮藏 112 周后, JB、JK、DB、DK、CL 试验组 K 值分别为 48.83%、46.67%、

45.18%、42.35%、37.14%, CL 试验组鱼片 K 值满足二级鲜度要求。

3.3 TBA 的变化

硫代巴比妥酸试验法(即 TBA 值法)是测定肉类食品中脂肪氧化情况通常采用的方法。TBA 能够反映肉及肉类制品中脂肪氧化变质程度, 是肉类食品安全性的重要指标^[30]。许多实验证明, 即使在很低的温度下, 脂肪也会进行氧化^[31]。

TBA 值测定试验周期为 112 周, 其含量变化如图 3 所示。从图 3 可以看出, 各试验组鱼片 TBA 值均呈缓慢上升趋势, 0、2、4、6、8、12、16、24、28、40、64、88 周各试验组鱼片 TBA 值无显著差异($P > 0.05$), 112 周 JB、JK、DB、DK 试验组无显著差异($P > 0.05$), 而 CL 试验组与 JB、JK、DB、DK 试验组差异显著($P < 0.05$)。从第 112 周各试验组 TBA 值可以看出, TBA 值: 急冻组 > 急冻+抗冻剂组 > 单冻组 > 单冻组+抗冻剂组 > 超低温速冻组; 从抗冻剂效果看, 无论是急冻还是单冻, 添加抗冻剂组 TBA 值均较未添加抗冻剂组低; 从鱼片冻结方式看, TBA 值上升趋势: 急冻组 > 单冻组 > 超低温速冻组, 急冻组效果最差, 单冻组效果次之, 而超低温速冻效果最好, 这与盐溶性蛋白、K 值测定结果所反映的效果是一致的。

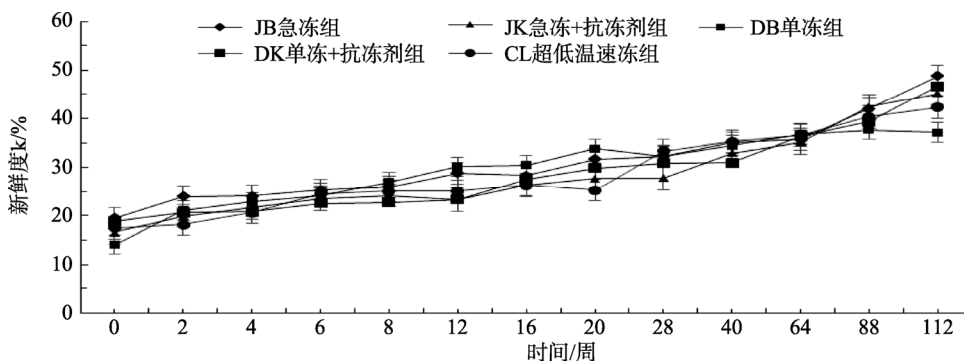


图 2 南方大口鲶鱼片在 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻藏过程中 K 值的变化($n=3$)

Fig.2 K value Changes of farmed *Silurus meridionalis* Chen fillets during $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ frozen storage ($n=3$)

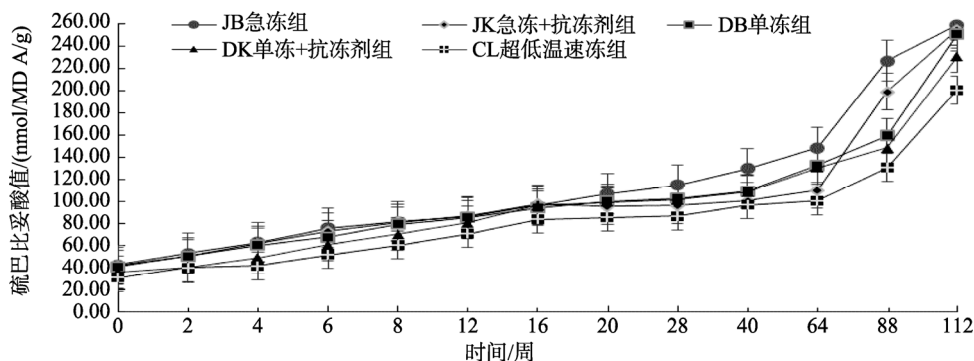


图 3 南方大口鲶鱼片在 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻藏过程中 TBA 值的变化($n=3$)

Fig.3 TBA changes of farmed *Silurus meridionalis* Chen fillets during $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ frozen storage ($n=3$)

3.4 T-VBN 的变化

鱼死后,由于细菌的生长代谢,鱼肉蛋白质分解产生大量的挥发性氨和三甲胺等低级胺类化合物。由于这些氨和胺类化合物沸点低、易挥发、呈碱性,能与酸作用生成相应的盐,所以统称为挥发性盐基氮(TVB-N)。TVB-N 是用于评价水产品的新鲜程度的重要指标之一,GB 2733-2015《食品安全国家标准鲜、冻动物性水产品》指出我国鲜、冻淡水鱼中的 TVB-N 含量应低于 20 mg/100 g^[32]。

TVB-N 值测定试验周期为 112 周,不同冷冻方式和抗冻剂对南方大口鲈 TVB-N 含量变化趋势如图 4 所示。结果表明,在 112 周贮藏期内,5 个试验组鱼片的 TVB-N 值在 5.0 mg/100 g 上下波动,均值在 5.31~5.68 mg/100 g 之间,TVB-N 值最低值为 4.46 mg/100 g,最高值为 7.34 mg/100 g。5 个试验组,在贮藏期间,TVB-N 值一直未超过 20 mg/100 g,符合国家相关标准的要求。这可能是贮藏低温对于微生物及酶活动抑制作用的结果^[33]。

3.5 pH 值

随着鱼肉死后酵解反应的进行,肌糖原分解为乳酸或琥珀酸,并在体内累积,同时 ATP 和磷酸肌酸等物质分解,产生磷酸等酸性物质,从而使 pH 逐渐下降;但伴随其

鲜度的降低,氨基酸分解产生的挥发性碱性含氮物质和其他碱性物质的生成,又使得 pH 逐渐回升,故可根据 pH 的变化来评定鱼肉的鲜度^[34,35]。南方大口鲈鱼片 pH 值测定试验周期为 112 周,pH 值变化趋势如图 5 所示。南方大口鲈的在储藏期间的 pH 值阶段性的呈现先下降后上升的趋势。第一次 pH 下降周期在 2 周,这一结果与杨利艳^[34]研究结果一致。总体来说,南方大口鲈在贮藏期间 pH 无明显变化趋势规律,5 组试验组之间没有明显差异。

3.6 感官评定

感官分析被广泛的运用于鱼类的新鲜度评价^[37]。感官评定试验周期为 112 周,测定结果见表 2。结果表明,各试验组贮藏 0 周时评分基本一致,20、40、64、88 周各试验组之间存在一定差异,但无明显变化规律,贮藏 112 周各试验组鱼片评分值基本一致,无显著差异。

3.7 微生物指标的变化

微生物是限制新鲜鱼肉贮藏期的主要因素。菌落总数、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌测定试验周期为 112 周,测定结果见表 3~5。结果表明,各试验组菌落总数均小于 SC/T 1.0×10⁵ CFU/g,金黄色葡萄球菌均小于 3.0 MPN/g,沙门氏菌均未检出。

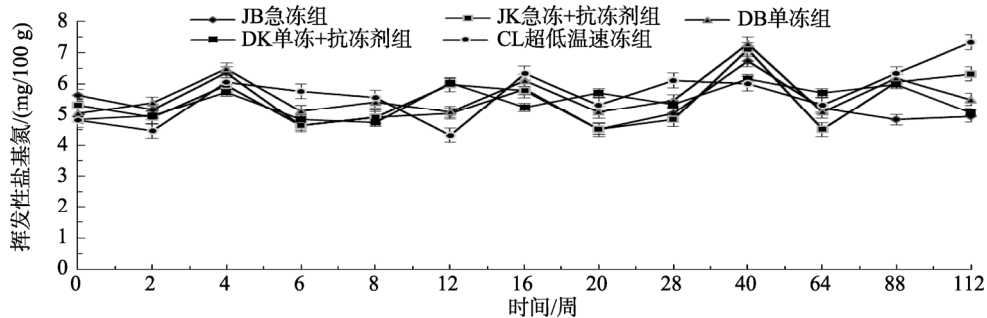


图 4 南方大口鲈鱼片在-18 °C冻藏过程中 T-VBN 值的变化(n=3)

Fig.4 TVB-N changes of farmed *Silurus meridionalis* Chen fillets during -18 °C frozen storage (n=3)

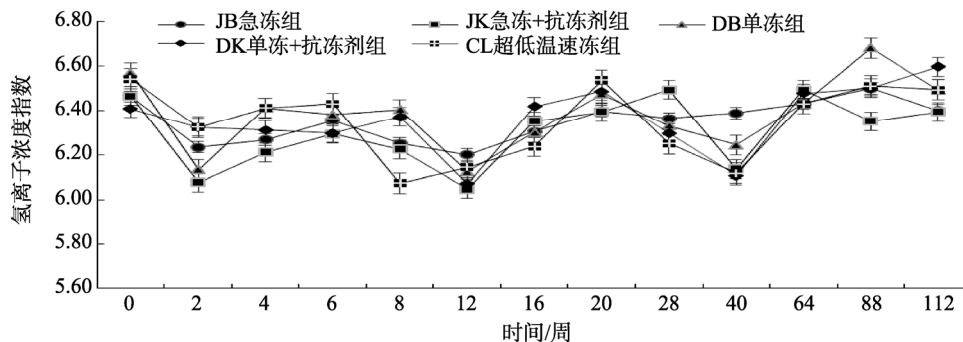


图 5 南方大口鲈鱼片在-18 °C冻藏过程中 pH 值的变化(n=3)

Fig.5 pH changes of farmed *Silurus meridionalis* Chen fillets during -18 °C frozen storage (n=3)

表 2 南方大口鲶鱼片感官评定测定结果($n=7$)Table 2 Sensory evaluation results of farmed *Silurus meridionalis* Chen fillets during $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ frozen storage ($n=7$)

贮藏时间(周)	JB	JK	DB	DK	CL
0	85±3	84±3	86±3	84±3	84±3
20	86±4	83±4	87±3	82±2	83±5
40	83±3	84±2	85±5	81±3	85±3
64	81±4	82±1	80±6	79±3	78±5
88	76±3	78±4	81±3	76±5	79±4
112	77±4	76±3	78±5	77±5	76±6

表 3 菌落总数测定结果 (CFU/g)

Table 3 Detection results of aerobic bacterial count (CFU/g)

贮藏时间/周	JB	JK	DB	DK	CL
0	4.6×10^4	4.5×10^4	5.0×10^4	9.8×10^4	7.6×10^4
20	6.5×10^4	1.1×10^4	8.2×10^4	4.0×10^4	6.1×10^4
40	4.5×10^4	3.8×10^4	2.2×10^4	2.4×10^4	6.4×10^4
64	3.1×10^4	4.6×10^4	6.0×10^4	7.2×10^4	7.1×10^4
88	3.7×10^4	8.4×10^4	1.1×10^4	8.4×10^4	6.8×10^4
112	4.2×10^4	1.0×10^4	3.3×10^4	6.6×10^4	7.8×10^4

表 4 沙门氏菌测定结果

Table 4 Detection results of *Salmonella*

贮藏时间/周	JB	JK	DB	DK	CL
0	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出
20	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出
40	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出
64	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出
88	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出
112	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出

表 5 南方大口鲶鱼片金黄色葡萄球菌测定结果(MPN/g)

Table 5 Detection results of *Staphylococcus aureus* (MPN/g)

贮藏时间/周	JB	JK	DB	DK	CL
0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0
20	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0
40	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0
64	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0
88	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0
112	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0

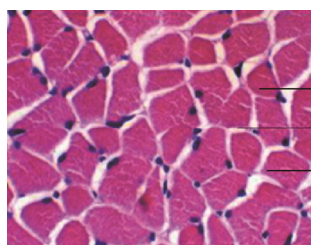
水产行业标准 SC/T 3116《冻淡水鱼片》规定, 冻淡水鱼片的菌落总数应小于 1×10^7 CFU/g, 且 5 个检样中有 3 个或 3 个以上的检出值小于 5×10^5 CFU/g; 金黄色葡萄球菌应小于 1×10^4 MPN/g; 沙门氏菌不得检出。

从表 3~5 测定结果可以看出, 按照上述鱼片制作流程生产的南方大口鲶鱼片, 各试验组鱼片的菌落总数、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌均符合 SC/T 3116 规定要求; 经 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻贮藏 112 周后, 各试验组鱼片的菌落总数、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌均符合 SC/T 3116 规定要求。

3.8 肌肉组织结构

3.8.1 不同冷冻处理的鱼片在储存期间的冰冻切片图

图 6 为健康草鱼肌肉组织石蜡切片后 H.E 染色图片。图 7~11 分别为 JB、DB、JK、DK、CL 在储存期间的冷冻切片图, 肌肉组织结构的切片图周期为 0、40、64、112 周; 骨骼肌由骨骼肌纤维组成, 骨骼肌纤维呈长圆柱形, 有横纹, 横切呈圆形或椭圆形。由肌膜(由肌细胞的外质浓缩而成)、肌核、肌浆(含有丰富的肌纤维, HE 染色的切片中为均质红染)组成。



肌核
肌膜
肌浆

图 6 正常草鱼骨骼肌

Fig.6 Normal grass carp skeletal muscle

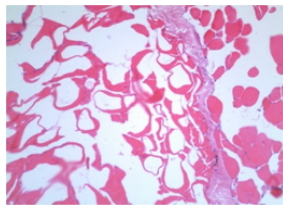
通过上述组织切片和 HE 染色观察, 肌细胞主要表现为细胞间结缔组织、肌细胞完整性和肌浆的变化差异。冰冻切片结果显示, 针对样品以肌细胞间离散程度、肌细胞膜完整性、肌浆空泡化程度为参考, 0 周的变化程度由轻到重的顺序依次推断为 JB、DK、CL、JK、DB; 40 周的变化程度由轻到重的顺序依次推断为: DB、DK、JB、CL、JK; 64 周的变化程度由轻到重的顺序依次推断为: JK、JB、CL、DK、DB; 112 周的变化程度由轻到重的顺序依次推断为: CL、DK、DB、JK、JB。

综合 4 次测定结果, 可以看出, 贮藏期间, 各试验组南方大口鲶鱼片肌肉组织结构主要表现为细胞间结缔组织、肌细胞完整性和肌浆的变化差异, 这与柳佳彤^[38]在研究罗氏沼虾在冻藏过程中的微观结构变化一致。有研究表明^[39]肌肉纤维是通过胶原纤维和结缔组织相连接, 贮藏过程中因为内源酶的作用, 肌纤维和胶原纤维被降解, 从而导致肌纤维和肌内膜之间脱离, 进一步形成间隙。

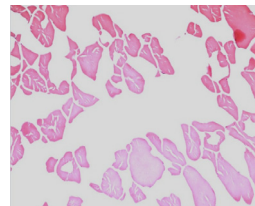
随着贮藏期的延长, 特别是 112 周后, 冻结方式、是否加抗冻剂对鱼片的组织结构有影响, 且与盐溶性蛋白含量、K 值、TBA 值等生化特性指标反映的结果一致, 即从抗冻剂效果看, 无论是急冻还是单冻, 添加抗冻剂组均较未添加抗冻剂组好; 从鱼片冻结方式看, 急冻组效果最差, 单冻组效果次之, 而超低温速冻效果最好。



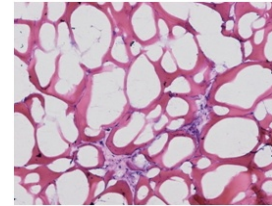
0周,肌细胞间可见残存的
结缔组织,肌细胞结构
清晰,有轻微肌纤维
溶解现象)



40周,肌细胞内空腔化
明显(空箭头),肌膜
溶解,肌细胞间隙增宽



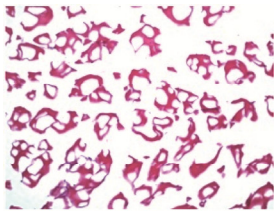
64周,肌细胞间结缔组织增
宽(实箭头),肌细胞浓缩
呈深染色,并有部分
肌浆正在溶解



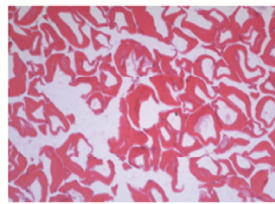
112周,肌细胞严重空
泡化,大部分细胞肌
膜断裂

图 7 JB 组在贮藏期间的冷冻切片图(放大倍数: $\times 200$)

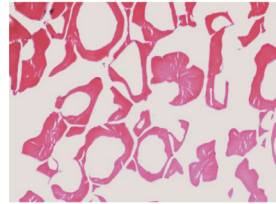
Fig.7 Frozen section diagrams of the JB group during storage ($\times 200$)



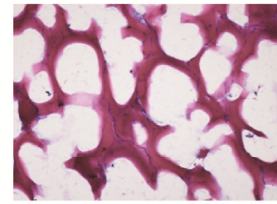
0周,肌细胞间可见残存的
结缔组织,肌细胞结构清晰,
有轻微肌纤维溶解现象)



40周,肌细胞内肌浆溶解
形成空腔(箭头),严重的
肌膜破裂



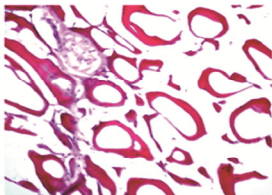
64周,肌细胞内肌浆溶解
形成空腔,肌膜破裂



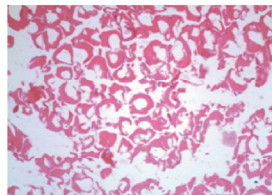
112周,肌细胞空泡化明显,
细胞间间隙消失,
细胞内肌浆浓缩,
周边聚集,严重的肌膜破裂

图 8 DB 组在贮藏期间的冷冻切片图(放大倍数: $\times 200$)

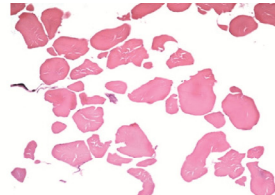
Fig.8 Frozen section diagrams of the DB group during storage ($\times 200$)



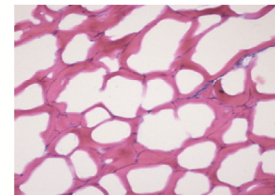
0周,肌细胞间结缔组织减少,
肌细胞结构较清晰,
及细胞内肌浆溶解呈空泡化,
严重的仅残存肌膜



40周,肌细胞空腔化明显
(空箭头),肌膜溶解,
肌细胞间有溶解的肌浆碎片



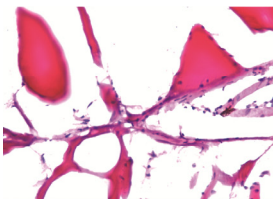
64周,肌细胞内肌浆浓缩
呈深染的红色(实箭头),
肌细胞间间隙增宽



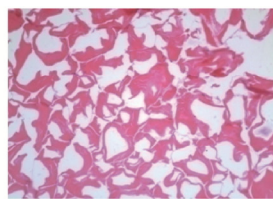
112周,肌细胞严重空泡化,
部分肌细胞肌膜破裂,
肌浆溶解消失

图 9 JK 组在贮藏期间的冷冻切片图(放大倍数: $\times 200$)

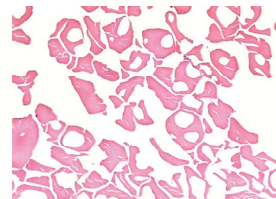
Fig.9 Frozen section diagrams of the JK group during storage ($\times 200$)



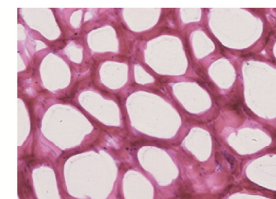
0周,肌细胞内肌纤维溶解,
肌浆呈网洞化或空腔化



40周,肌细胞内空腔化明显
(空箭头),肌膜变薄溶解



64周,肌细胞内空腔化明显
(实箭头),肌间结缔组织溶解,
细胞间间隙增宽



112周,大部分区域肌细胞内
肌浆溶解形成空腔

图 10 DK 组在贮藏期间的冷冻切片图(放大倍数: $\times 200$)

Fig.10 Frozen section diagrams of the DK group during storage ($\times 200$)

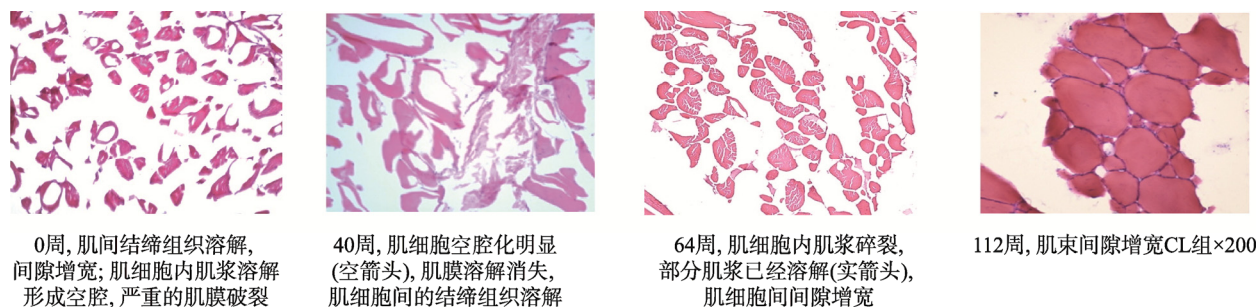


图 11 CL 组在贮藏期间的冷冻切片图(放大倍数: ×200)

Fig.11 Frozen section diagrams of the CL group during storage (×200)

4 结 论

试验采集 1.0~1.5 kg/尾南方大口鲈, 随机分组制作急冻组(JB)、单冻组(DB)、急冻+抗冻剂组(JK)、单冻+抗冻剂组(DK)、超低温速冻组(CL)等 5 组鱼片, -18 °C 冰柜冻藏 112 周, 考察了急冻、单冻、超低温速冻以及抗冻剂处理对南方大口鲈鱼片生化特性变化、感官品质、微生物等的影响。结果表明贮藏 112 周, 盐溶性蛋白下降速度: JB > DB > JK > DK > CL; K 值: JB > DB > JK > DK > CL; TBA 值: JB > JK > DB > DK > CL; T-VBN 值、pH 值、肌肉持水力、品尝评分基本一致, 无显著差异($P > 0.05$); 菌落总数、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌均全部符合 SC/T 3116-2006 规定要求; 肌肉组织结构主要表现为细胞间结缔组织、肌细胞完整性和肌浆的变化差异, 变化程度为: CL < DK < DB < JK < JB。

结合盐溶性蛋白含量、K 值、TBA、组织结构等变化趋势, 从抗冻剂效果看, 无论是急冻还是单冻, 添加抗冻剂组均较未添加抗冻剂组效果好; 从鱼片冻结方式效果看, 急冻 < 单冻 < 超低温速冻, 急冻效果最差, 单冻效果次之, 而超低温速冻效果最好, 说明采用单冻或超低温速冻处理、抗冻剂处理后贮藏的南方大口鲈鱼片蛋白质的变性程度有一定的降低。

参考文献

- [1] 农业部渔业渔政管理局. 2018 年中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2018.
- [2] Fisheries and Fisheries Administration Bureau of the Ministry of Agriculture. 2018 China fishery statistics yearbo [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2018.
- [3] 张凤桦, 宋军, 张瑞, 等. 养殖南方大口鲈肌肉营养成分分析和品质评价[J]. 食品科学, 2012, 33(17): 274-278.
- [4] Zhang FP, Song J, Zhang R, et al. Evaluation of nutritional composition and quality of farmed silurus meridionalis chen muscle [J]. Food Sci, 2012, 33(17): 274-278
- [5] Badii F, Howell NK. Changes in the texture and structure of cod and haddock fillets during frozen storage [J]. Food Hydrocoll, 2002, 16(4): 313-319.
- [6] Elida PM, Vido DE, Mattio ND, et al. Biochemical properties of actomyosin of cold stored striated adductor muscles of *Aulacomya ater* (Molina) [J]. J Food Sci, 1990, 55(6): 1567-1570.
- [7] Wang H, Liceaga-Gesualdo AM, Li-Chan ECY. Biochemical and physicochemical characteristics of muscle and natural actomyosin isolated from young *Atlantic salmon (Salmo salar)* fillets stored at 0 and 4 °C [J]. J Food Sci, 2003, 68(3): 784-789.
- [8] Hultmann L, Rustad T. Iced storage of Atlantic salmon (*Salmo salar*)-effects on endogenous enzymes and their impact on muscle proteins and texture [J]. Food Chem, 2004, 87(1): 31-41.
- [9] 张丽娜, 胡素梅, 王瑞环, 等. 草鱼片在冷藏和微冻条件下品质变化的研究[J]. 食品科技, 2010, 35(8): 175-179.
- [10] Zhang LN, Hu SM, Wang HH, et al. Changes in quality of grass carp tablets during storage between refrigeration and partial freezing [J]. Food Sci Technol, 2010, 35(8): 175-179.
- [11] 吕斌, 陈舜胜, 邓德文. 三种淡水鱼肌肉的糖元、乳酸含量和 pH 值及在冷藏中的变化[J]. 上海水产大学学报, 2001, (3): 239-242.
- [12] Lv B, Chen SS, Deng DW. Variations of glycogen, lactic acid content and pH value in muscle of three species of cultured freshwater fisher during storage [J]. J Shanghai Fisher Univ, 2001, (3): 239-242.
- [13] Burggaard MG, Jorgensen BM. Effect of frozen storage temperature on quality-related changes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. J Aquat Food Prod Technol, 2011, 20(1): 53-63.
- [14] Wu H, Wang Z, Luo Y, et al. Quality changes and establishment of predictive models for bighead carp (*Aristichthys nobilis*) fillets during frozen storage [J]. Food Bioproc Technol, 2014, 7(12): 3381-3389.
- [15] Li K, Luo Y, Shen H. Postmortem changes of crucian carp (*Carassius auratus*) during storage in ice [J]. Intern J Food Propert, 2015, 18(1): 205-212.
- [16] Mazorra MMA, Pacheco-Aguilar R, Diaz-Rojas EI, et al. Postmortem changes in black skipjack muscle during storage in ice [J]. J Food Sci, 2000, 65(5): 774-779.
- [17] 张凌晶, 杜雪莉, 梁银龙, 等. 冷藏条件下鲢鱼肌肉蛋白的变化[J]. 福建农业大学学报, 2006, (3): 314-318.
- [18] Zhang LJ, Du XL, Liang YL, et al. Changes of silver carp muscle proteins during chilled storage [J]. J Fujian Agric Univ, 2006, (3): 314-318.
- [19] 李威娜, 徐松滨, 张玲, 等. 低温肉制品保鲜技术综述[J]. 食品工程, 2013, (3): 13-15, 40.
- [20] Li WN, Xu SB, Zhang L, et al. Review on preservation technologies of low-temperature meat products [J]. Food Eng, 2013, (3): 13-15, 40.
- [21] 王晓君, 沈秋霞, 卢朝婷, 等. 南方大口鲈在微冻和冻藏条件下鲜度及品质的变化[J]. 食品工业科技, 2018, 39(23): 300-304, 311.
- [22] Wang XJ, Shen QX, Lu CT, et al. Changes in the quality and freshness of silurus meridionalis Chen under partial freezing and frozen conditions [J]. Sci Technol Food Ind, 2018, 39(23): 300-304, 311
- [23] Midde K, Rich R, Marandos P, et al. Comparison of orientation and

- rotational motion of skeletal muscle cross-bridges containing phosphorylated and dephosphorylated myosin regulatory light chain [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(10): 7012–7023.
- [17] 杨建雄. 生物化学与分子生物学实验技术教程[M]. 北京: 科学出版社, 2009.
- Yang JX. Biochemistry and molecular biology laboratory course [M]. Beijing: Sciences Press, 2009.
- [18] Zhang L, Shen H, Luo Y. A nondestructive method for estimating freshness of freshwater fish [J]. *Eur Food Res Technol*, 2011, 232(6): 979–984.
- [19] 洪惠. 鲮脂脂肪酸组成及贮藏过程中品质变化规律与控制技术的研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2015.
- Hong H. Fatty acid profile, quality changes and controlling techniques of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) during storage [D]. Beijing: China Agric Univ, 2015, (1): 49–50.
- [20] 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[S].
- GB 4789.2-2016 National food safety standard-Determination of aerobic plate count in food-Microbiological examination [S].
- [21] GB 4789.4-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验 [S].
- GB 4789.4-2016 National food safety standard-Microbiological examination in food-Determination of *Salmonella* [S].
- [22] GB 4789.10-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验[S].
- GB 4789.10-2016 National food safety standard-Microbiological examination in food-Determination of *Staphylococcus aureus* [S].
- [23] 鸿巢章二, 桥本周久编, 郭晓风, 等. 水产利用化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994.
- Hong CZE, Qian BZJB, Guo XF, et al. Aquatic utilization chemistry [M]. Beijing: China Agricultural Press, 1994.
- [24] 曾名勇, 刘树青. 罗非鱼在冻藏过程中的质量变化[J]. *中国水产科学*, 1998, 5(4): 122–125.
- Zeng MY, Liu SQ. Quality changes of tilapia during frozen storage [J]. *J Fisher Sci China*, 1998, 5(4): 122–125.
- [25] 曾名勇, 黄海, 李八方. 鲮肌内蛋白质生化特性在冻藏过程中的变化 [J]. *水产学报*, 2003, 27(5): 480–485.
- Zeng MY, Huang H, Li BF. Changes of biochemical properties of *Aristichthys nobilis* muscle protein during frozen-storage [J]. *J Fisher China*, 2003, (5): 480–485.
- [26] 董彩文. 鱼肉鲜度测定方法研究进展 [J]. *食品与发酵工业*, 2004, (4): 99–103.
- Dong CW. Advances in the studies on fish freshness determination [J]. *Food Ferment Ind*, 2004, (4): 99–103.
- [27] 周德庆, 马敬军, 徐晶晶. 水产品鲜度评价方法研究进展[J]. *莱阳农学院学报*, 2004, (4): 312–315, 320.
- Zhou DQ, Ma JJ, Xu JJ. Research progress on freshness evaluation of aquatic products [J]. *J Laiyang Agric Coll*, 2004, (4): 312–315, 320.
- [28] Ghosh S, Sarker D, Misra TN. Development of an amperometric enzyme electrode biosensor for fish freshness detection [J]. *Sensor Actuat B Chem*, 1998, 53(1-2): 58–62.
- [29] 温彬. 配合饲料喂养南方大口鲈技术[J]. *河南水产*, 2009, (3): 18–19.
- Wen B. Feeding technology of *Silurus soldatovi meridionalis* chen with formula feed [J]. *Henan Fisher*, 2009, (3): 18–19.
- [30] 彭欢欢, 刘小莉, 张金振, 等. 不同冷冻方式对斑点叉尾鲴鱼片品质的影响 [J]. *食品研究与开发*, 2017, 38(8): 177–182.
- Peng HH, Liu XL, Zhang JG, et al. Effects of freezing methods on quality of channel *Catfish fillets* [J]. *Food Res Dev*, 2017, 38(8): 177–182.
- [31] 赵巧灵, 廖明涛, 刘书臣, 等. 蓝鳍金枪鱼脂肪氧化和鱼肉色泽的变化研究 [J]. *中国食品学报*, 2014, 14(7): 79–86.
- Zhao LQ, Liao MT, Liu SC, et al. The changes of the color and lipid oxidation of bluefin tuna fish meat [J]. *J Chin Instit Food Sci Technol*, 2014, 14(7): 79–86.
- [32] GB 2733-2015 食品安全国家标准 鲜、冻动物性水产品 [S].
- GB 2733-2015 National food safety standard-Fresh and frozen animal aquatic products [S].
- [33] Yongsawatdigul J, Park JW. Thermal denaturation and aggregation of threadfin bream actomyosin [J]. *Food Chem*, 2003, 83(3): 409–416.
- [34] 杨利艳. 冻结方式对凡纳滨对虾贮藏特性的影响[D]. 广州: 广东海洋大学, 2012.
- Yang LY. Effects of different freezing process on the quality characteristics of *Litopenaeus vannamei* during frozen storage [D]. Guangzhou: Guangdong Ocean University, 2012.
- [35] Yu D, Xu Y, Jiang Q, et al. Effects of chitosan coating combined with essential oils on quality and antioxidant enzyme activities of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets stored at 4 °C [J]. *Inter J Food Sci Technol*, 2017, 52(2): 404–412.
- [36] Xia X, Kong B, Liu J, et al. Influence of different thawing methods on physicochemical changes and protein oxidation of porcine longissimus muscle [J]. *Lwt-Food Sci Technol*, 2012, 46(1): 280–286.
- [37] Calanche J, Samayoa S, Alonso V, et al. Assessing the effectiveness of a cold chain for fresh fish salmon (*Salmo salar*) and sardine (*Sardina pilchardus*) in a food processing plant [J]. *Food Control*, 2013, 33(1): 126–135.
- [38] 柳佳彤, 姜启兴, 杨方, 等. 罗氏沼虾冻藏过程中质构与理化特性研究 [J]. *食品与机械*, 2018, 34(12): 95–100.
- Liu JT, Jiang QX, Yang F, et al. The changes in texture and physicochemical properties of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) during frozen storage [J]. *Food Mach*, 2018, 34(12): 95–100.
- [39] Bremner HA, Hallett IC. Muscle fiber-connective tissue junctions in the fish blue grenadier (*Macruronus novaezelandiae*) A scanning electron microscope study [J]. *J Food Sci*, 1985, 50(4): 975–980.

(责任编辑: 陈雨薇)

作者简介



杨欣怡, 助理工程师, 硕士, 研究方向为水产品营养与安全。

E-mail: yangxinyime@163.com



杜雪莉, 高级工程师, 硕士, 主要研究方向为水产品营养与安全。

E-mail: duxl@willtest.cn