

超声联合弱酸性电解水处理对草鱼鱼片冷藏期间品质及菌群的影响

曹 悦^{1,2}, 刘泷泽^{1,2}, 柳红莉^{1,2}, 夏效东^{1,2*}

(1. 大连工业大学食品学院, 大连 116034; 2. 大连工业大学, 国家海洋食品工程技术研究中心, 大连 116034)

摘 要: **目的** 探究超声与弱酸性电解水联合处理对新鲜草鱼鱼片冷藏期间品质变化及菌群的影响。**方法** 将新鲜草鱼鱼片分别使用 40 kHz, 270 W 超声(TW40 组)、弱酸性电解水(TEW 组)、超声联合弱酸性电解水(TEW40 组)处理 15 min, 以无菌水浸渍处理 15 min 样品为对照组(TW 组)。将处理后样品放入自封袋置于 4 °C 冷藏。每天监测样品的菌落总数(the total viable counts, TVC)、总挥发性盐基氮(total volatile base nitrogen, TVBN)值、硫代巴比妥酸(thiobarbituric acid, TBA)值、pH 指标变化, 以及测量冷藏末期菌群的组成。综合评价超声与弱酸性电解水单独或联合处理对新鲜草鱼鱼片 4 °C 冷藏期间品质变化影响。**结果** 超声联合弱酸性电解水处理能明显抑制样品贮藏期间菌落总数的增长, 其 pH、TVBN 值、TBA 值上升速度明显低于 TW 组的样品。通过菌群的分析得出, 超声联合弱酸性电解水能抑制草鱼鱼片优势菌属不动杆菌属以及假单胞菌属的生长繁殖, 且 TEW40 组冷藏末期微生物群落丰富度和多样性高于 TW 组。**结论** 超声联合弱酸性电解水的前处理方式在有效延长冷藏草鱼等水产品货架期方面具有良好的应用潜力。

关键词: 超声; 弱酸性电解水; 草鱼; 冷藏; 菌群组成

Effects of ultrasonic combined with slightly acidic electrolyzed water treatment on quality and bacterial flora of *Ctenopharyngodon idella* fillets during refrigerated storage

CAO Yue^{1,2}, LIU Long-Ze^{1,2}, LIU Hong-Li^{1,2}, XIA Xiao-Dong^{1,2*}

(1. School of Food Science and Technology, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China; 2. National Engineering Research Center of Seafood, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the effects of combination of ultrasound and slightly acidic electrolyzed water on the quality changes and bacterial flora of fresh *Ctenopharyngodon idella* fillets during refrigerated storage. **Methods** Fresh *Ctenopharyngodon idella* fillets were treated with 40 kHz, 270 W ultrasound (TW40), slightly acidic electrolyzed water (TEW) and ultrasound combined with slightly acidic electrolyzed water (TEW40) for 15 min, and the samples were dipped in sterile water for 15 min as the control group (TW). Fillets treated by the 4 treatments were placed in ziplock bags and stored at 4 °C. The total viable counts (TVC), pH, total volatile base nitrogen (TVBN) values and thiobarbituric acid (TBA) values were measured daily to evaluate the effects of single

基金项目: 辽宁省教育厅自然科学基金项目(J2020044)

Fund: Supported by the Natural Science Foundation Project of Liaoning Department of Education (J2020044)

***通信作者:** 夏效东, 博士, 教授, 主要研究方向为食品中活性物质抗菌及健康功能及应用。E-mail: foodscixiaodong@yahoo.com

***Corresponding author:** XIA Xiao-Dong, Ph.D, Professor, School of Food Science and Technology, Dalian Polytechnic University, National Engineering Research Center of Seafood, Dalian 116034, China. E-mail: foodscixiaodong@yahoo.com

treatment or combined treatment on the quality of fresh *Ctenopharyngodon idella* fillets during storage at 4 °C. The effects of ultrasound and slightly acidic electrolyzed water treatment alone or in combination on the quality changes of fresh *Ctenopharyngodon idella* fillets during 4 °C storage were evaluated comprehensively. **Results** Ultrasound combined with slightly acidic electrolyzed significantly inhibited the growth of total bacterial colonies during 4 °C storage, and the pH, TVBN values and TBA values increased at a significantly lower rate than those of the samples in the TW group. The analysis of the bacterial flora composition showed that ultrasonication combined with slightly acidic electrolyzed water could inhibit the growth and reproduction of the dominant genera of *Ctenopharyngodon idella* fillets, *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp. and the abundance and diversity of microbial community at the end of storage were higher in the TEW40 group than in the TW group. **Conclusion** The pretreatment method of ultrasonic combined with slightly acidic electrolyzed water has good application potential in effectively prolonging the shelf life of aquatic products such as refrigerated *Ctenopharyngodon idella* fillets, etc..

KEY WORDS: ultrasound; slightly acidic electrolyzed water; *Ctenopharyngodon idella*; refrigeration; bacterial flora composition

0 引言

草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)是中国重要的淡水养殖鱼类,它和鲢、鳙、青鱼一起,称为中国的“四大家鱼”。据农业部统计,中国草鱼养殖产量占淡水养殖鱼类总产量的 1/4 左右^[1]。草鱼的肉质鲜美、口感滑嫩,是市场上主要消费的鱼类品种以及日常生活中主要的水产品的来源,深受国内外消费者喜爱,有较高的经济价值^[2]。由于草鱼肉质含有较多水分和易氧化的不饱和脂肪酸,鱼体容易在组织酶和细菌的作用下产生腐败^[3],因此开发能减缓草鱼腐败变质,同时不影响草鱼品质的杀菌工艺具有重要的意义。

超声(ultrasound, US)是食品工业有潜力的绿色杀菌技术^[4-6]。当超声波通过液体介质时,会引起液体的机械振动,释放能量产生机械效应。在高频振动的条件下,超声波可以产生大量的微气泡,在超声波场下振荡期间产生高压^[7],从而导致微生物细胞膜的破裂导致细胞死亡^[8]。PINHEIRO 等^[9]研究表明,超声波处理可用于以减少番茄的储存损失,延长新鲜番茄果实的冷藏时间。LIN 等^[10]评估了超声对牛肉质量的影响,得出超声处理可通过改变胶原蛋白结构和调节组织蛋白酶的活性,进而改善牛肉嫩度。

然而,单独超声波处理在食品体系中的杀菌效果有限,将超声同其他杀菌技术如电解水技术联合能取得更好的效果。弱酸性电解水(slightly acidic electrolyzed water, SAEW)是一种主要的电解水类型,SAEW 的 pH 为 5.0~6.5,有效氯浓度的值在 30~60 mg/L 之间^[11-12]。由于其具有广泛的抗菌作用^[13],SAEW 目前被认为是一种具有潜力的非热杀菌技术。SAEW 由于其 pH 接近中性,含有的有效氯浓度较低,相对于化学消毒剂而言对人体健康风险很小。其中的次氯酸成分,能够通过破坏微生物细胞结构和影响微生物生理代谢来杀灭致病菌,同时对食品的物理品质、

营养品质和感官特性影响较小。研究人员对 SAEW 在抑制腐败菌和致病菌方面已进行广泛的探索^[14]。在超声联合电解水研究方面,FORGHANI 等^[15]研究超声波和低浓度电解水(low concentration electrolyzed water, LcEW)结合可显著降低生菜的菌落总数,延长其保质期。AFARI 等^[16]研究表明中性电解水(neutral electrolyzed water, NEO)和超声波联合能显著降低接种于生菜和番茄表面的大肠杆菌数量。SAEW 联合超声波处理对金黄色葡萄球菌的灭活作用显著优于单独使用 SAEW 和超声波处理的效果^[17]。此外,还有研究表明将 SAEW 和超声波技术相结合能有效杀灭鸡肉表面的细菌,同时可以有效保持鸡肉纤维内部结构的稳定,在家禽预冷处理阶段具有应用潜力^[18]。虽然上述研究探讨了超声联合电解水在果蔬及禽肉防腐保鲜中的研究,但二者联用在水产品贮藏保鲜中的应用研究相对较少^[19-24],目前仅在真空包装海鲈鱼中有过报道^[25],而在常规冷藏水产品中的应用尚缺乏研究。因此,本研究探讨了超声联合弱酸性电解水对草鱼鱼片在冷藏过程中的品质相关指标的影响,同时利用 16S rRNA 测序分析贮藏期间草鱼鱼片菌群的组成,以期为弱酸性电解水联合超声波技术应用于水产品的贮藏保鲜奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鲜活草鱼购于生鲜市场(辽宁省大连市)。

平板计数琼脂(plate count agar, PCA, 青岛海博生物技术有限公司);硫代巴比妥酸、丙酮、碘化钾、氯化钠、三氯甲烷、盐酸、三氯乙酸、氧化镁、三氯乙酸(分析纯,上海麦克林生化试剂有限公司);丹磺酰氯、腐胺(putrescine)、尸胺(cadaverine)、组胺(histamine)(色谱纯,美国 Sigma-Aldrich 公司)。

1.2 仪器与设备

SB-5200DTDN 超声清洗器(宁波 Scientz 生物技术公司); WaterGod HD-240L 弱酸性电解水发生器(中国旺旺集团); Five Easy Plus FE28 pH 计、FE438 pH 电极(瑞士梅特勒-托利多公司); Chlorometer Duo 氯测试仪(英国 Palintest 公司); LC-20AD 岛津液相色谱仪、Legend Micro 17R 台式冷冻离心机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); K9840 自动凯氏定氮仪(济南海能仪器股份有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 样品准备

从超市购买鲜活草鱼在 30 min 内运到实验室保证新鲜度,在干净的实验台上对鱼进行处理,将鱼块切成 5 cm×5 cm×1 cm 大小均匀的鱼片,并随机分为 4 组,即超声联合弱酸性电解水组(TEW 40)、弱酸性电解水组(TEW)、超声组(TW40)、空白对照组(TW)。

1.3.2 弱酸性电解水和超声的生成系统

使用 SAEW 发生器电解 6%盐酸溶液产生微酸性电解水(SAEW)。使用氯测试仪在生成后立即检测有效氯浓度(absolute concentration curve, ACC)。使用 pH 计和 pH 电极测定 pH。超声波频率为 40 kHz、功率为 270 W、温度为 20℃。

1.3.3 样品前处理

弱酸性电解水组(TEW): 将鱼片样品在弱酸性电解水中浸泡 15 min; 超声组(TW40): 将鱼片样品浸泡在无菌水中并同时超声处理 15 min; 超声联合弱酸性电解水组(TEW40): 将鱼片样品浸泡在弱酸性电解水中并同时超声处理 15 min; 空白对照组(TW): 将鱼片样品在无菌水中浸泡 15 min。处理后的鱼片放入保鲜袋中并且在 4℃的环境下冷藏,在此过程中保持温度不变。检测时从各组鱼片样品中随机抽取 3 袋,处理后立刻检测的鱼片样品为第 0 d, 各组实验进行 3 次重复。

1.3.4 微生物总数的测定

菌落总数的测定参考 GB 4789.2—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数的测定》。将样品用生理

盐水 1:9 (V:V)稀释、均质后, 10 倍系列稀释。选择适宜稀释度加入 PCA 琼脂培养基,并在相应条件下培养、计数。

1.3.5 pH 的测定

参考 GB 5009.237—2016《食品安全国家标准 食品 pH 的测定》。称取 5 g 切碎的鱼肉并加入 50 mL 无菌水,均质 2 min。静置 30 min, 过滤取上清液,用 pH 计测定。

1.3.6 挥发性盐基氮的测定

总挥发性盐基氮(total volatile base nitrogen, TVBN)值参考 GB 5009.228—2016《食品安全国家标准 食品中挥发性盐基氮的测定》,采用半微量定氮法进行测定。

1.3.7 硫代巴比妥酸的测定

硫代巴比妥酸(thiobarbituric acid, TBA)值的测定根据 GB 5009.181—2016《食品安全国家标准 食品中丙二醛的测定》所采用的分光光度法略有修改: 称取样品 1 g(精确到 0.01 g)置入 50 mL 离心管中,取 10 mL 7.5%三氯乙酸溶液加入离心管中,摇匀,盖子密封,50℃振荡 30 min,取出后冷却至室温并过滤。取 1 mL 上述滤液以及 1 mL 标准品分别加入 1 mL TBA, 3 次平行; 混合液混合均匀,放在 90℃下的水浴锅内进行反应,时间为 30 min; 取出,冷却至室温。

1.3.8 生物胺含量的测定

生物胺含量的测定参考李颖畅等^[26]的方法。

1.3.9 菌群测定

样本收集后于超净台下置于灭菌离心管中, -80℃下储存。本研究样品菌群由上海美吉生物医药科技有限公司进行检测。

1.3.10 感官评定

感官评定方法参考王秀等^[27]的生鱼片感官评定方法: 在实验室选取 6 名研究人员,经过培训后作为感官评定人员对 4 组鱼片进行评定,依据表 1 的标准逐一打分。

1.3.11 统计分析

实验至少进行 3 次重复,数据以平均值±标准偏差表示。通过 SPSS 25 分析数据进行方差分析。通过邓肯多重比较评估组之间的差异($P<0.05$ 为显著性差异),使用 Origin 软件制图。

表 1 草鱼鱼片感官评定标准表
Table 1 Criteria of sensory evaluation for *Ctenopharyngodon idella* fillets

品质	色泽	气味	形态	弹性
好(5 分)	光泽好	有香味	肉质紧实,有纹理	回弹好,受力后复原快
较好(4 分)	光泽好	略有香味	肉质紧实,略有纹理	回弹好,受力后复原较快
一般(3 分)	光泽较好	少有香味,略带异味	肉质略紧实,略有纹理	回弹较好,受力后复原慢
差(2 分)	光泽较好	无香味,有氨臭味	肉质略松散,	回弹较差,受力后复原慢
很差(1 分)	光泽差	有较强的氨臭味	肉质完全松散,	回弹较差,受力后难复原

2 结果与分析

2.1 冷藏期间草鱼鱼片菌落总数的变化

由图 1 可观察到对照组第 0 d 菌落总数为 5.04 log CFU/g, TEW 组、TW40 组及 TEW40 组的菌落总数分别为 4.35、4.86、4.25 log CFU/g, 各组样品的菌落总数都随着冷藏天数的增加而增加, 但对照组的菌落总数一直高于其他 3 组, 这说明了弱酸性电解水和超声都具有一定的杀菌效果。从第 0 d 的菌落总数可以看出, TW40 组的菌落总数高于 TEW 组和 TEW40 组, 这表明了单独超声的杀菌效果比较弱, 在联合杀菌处理中弱酸性电解水起到了主要的杀菌作用。之前也有报道^[28]表明超声的杀菌效果在不同的微生物之间存在差异较大, 这可能是因为不同类型的细菌的物理和生物学特性如形状、细胞膜组成等不同造成。岑剑伟等^[29]用微酸性电解水处理后的罗非鱼鱼肉菌落总数相对对照组明显降低, 与本研究一致。由图 1 还可发现对照组的鱼片样品, 在第 2 d 的菌落总数超过 7.00 log CFU/g, 而经 TEW40 组菌落总数在第 3~4 d 时超过 7.00 log CFU/g 并且菌落总数始终低于 TW 组。这可能是因为, 在 TEW40 组中, 超声的高频振动促进了弱酸性电解水大量进入细菌细胞, 对微生物细胞的膜和壁造成损害导致细菌细胞蛋白质泄漏, 增加了弱酸性电解水的接触面积, 从而导致细菌的死亡^[30]。

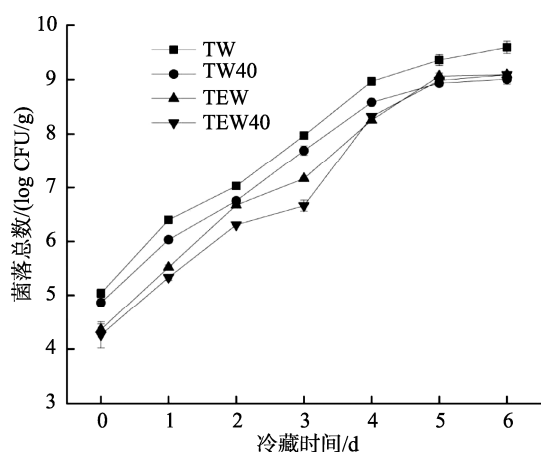


图 1 草鱼鱼片在 4 °C 冷藏过程中菌落总数的变化(n=3)
Fig.1 Total viable counts changes of *Ctenopharyngodon idella* fillets during refrigerated storage at 4 °C (n=3)

2.2 冷藏期间草鱼鱼片 pH 的变化

由图 2 可知, 各组样品在冷藏过程中 pH 变化规律呈先降低后升高的趋势, 这可能是由于冷藏前期由于鱼类宰杀致死, 随着糖原酵解产生的乳酸及 ATP 分解产生的焦磷酸含量的增加, 肌肉的 pH 逐渐下降, 但随着冷藏时间的延长, 蛋白质不断降解成胺类等碱性含氮物, 肌肉 pH 升高^[27]。从

图 2 中可以观察到, 各组样品的 pH 在 2 d 后随着冷藏时间的延长而逐渐增加。有研究表明 pH 的升高与食品变质有一定的关系, 这是由于在微生物的作用下, 蛋白质逐渐降解产生了氨化合物以及三甲胺等物质加快了鱼片的变质^[29], 所以 pH 与鱼片的新鲜程度在 2 d 后呈现负相关的趋势。TW 组的 pH 一直高于其他的实验组, 这表明了经过超声、电解水以及联合处理对鱼片有一定的杀菌作用, 并且 TEW40 组的杀菌效果最好。这表明弱酸性电解水和超声的联合作用可有效抑制鱼片上腐败微生物的生长, 从而减缓了 pH 的升高, 延缓了蛋白质的降解及胺类等碱性含氮物的合成。

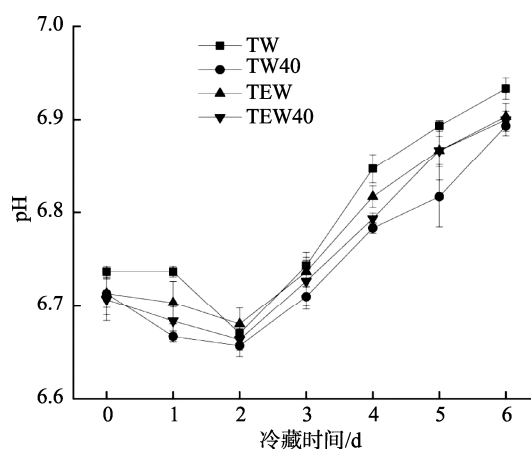


图 2 草鱼鱼片在 4 °C 冷藏过程中 pH 的变化(n=3)
Fig.2 pH changes of *Ctenopharyngodon idella* fillets during refrigerated storage at 4 °C (n=3)

2.3 冷藏期间草鱼鱼片挥发性盐基氮含量的变化

TVBN 是蛋白质分解而产生的氨以及胺类等碱性含氮物质, 主要是由于在腐败过程中酶和细菌的作用所导致的, 通常用来衡量肉类的新鲜度。产生的挥发性氨及胺类物质一般通过 TVBN 值变化来体现, 卫生标准限值为 20 mg/100 g^[31]。冷藏过程中草鱼鱼片的 TVBN 值变化结果如图 3 所示。4 组的初始 TVBN 值都较低, 表明鱼肉较为新鲜, 均在 4.2 mg/100 g 左右, 但是随着时间的增加, TVBN 含量也逐渐增加。TW 组的 TVBN 值的增加速度明显高于其他 3 组, TW 组样品在第 2 d 时迅速升高到(9.3±0.4) mg/100 g, 而 TEW 组在第 5~6 d 才达到 11.2 mg/100 g。在冷藏期内, TW 组的 TVBN 值一直呈现上升趋势。其中 TEW40 组的 TVBN 值变化最小。这主要可能是因为弱酸性电解水为弱酸性, 对大多数中性到碱性的细菌构成不利影响, 有利于减缓碱性含氮物质的合成从而在一定程度上延长了保质期, 因此, TEW40 组通过抑制细菌活性来延缓 TVBN 值的增加, 其中 TEW40 组的联合抗菌作用, 对于 TVBN 的抑制效果最为突出。

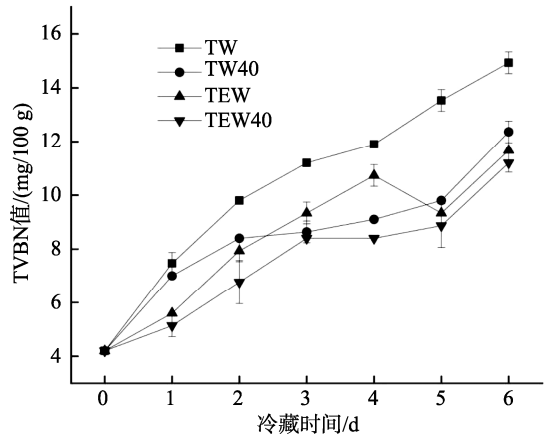


图 3 草鱼鱼片在 4 °C 冷藏过程中 TVBN 值的变化(n=3)
Fig.3 TVBN values changes of *Ctenopharyngodon idella* fillets during refrigerated storage at 4 °C (n=3)

2.4 冷藏期间草鱼鱼片硫代巴比妥酸含量的变化

TBA 是反映脂类氧化的指标^[32], TBA 值与脂肪的氧化程度呈正相关, TBA 的值越大, 腐败程度就越严重。因此, TBA 值反映脂肪氧化程度, 可用来判断水产品新鲜度的重要指标^[26]。草鱼鱼片 TBA 值的变化趋势如图 4 所示。随着冷藏时间的延长, TBA 值逐渐升高, 用弱酸性电解水、超声以及超声联合弱酸性电解水处理的草鱼鱼片的 TBA 值均低于 TW 组的 TBA 值。在冷藏前期第 0~3 d 时 TBA 值缓慢升高, 在冷藏后期第 4~6 d 时快速上升。在冷藏 6 d 内, TW 组的 TBA 值由第 0 d 的 0.39 mg/kg 变化到第 6 d 的 1.64 mg/kg; TW40 组、TEW 组、TEW40 组的 TBA 值的分别由第 0 d 的 0.39、0.40、0.39 mg/kg 变化到第 6 d 的 1.40、1.27、1.33 mg/kg。在第 6 d 时 TW 组与其他 3 组出现显著性差异($P<0.05$)而且随着冷藏期的延长, 上升的幅度在冷藏第 4 d 后明显增大, TEW 组和 TEW40 组鱼肉的 TBA 值在冷藏过程中的上升幅度相近($P>0.05$), 而 TW40 组的 TBA 值在贮藏期第 3~6 d 时的上升幅度略大于其他实验组($P<0.05$)。有研究表明, 这可能由于超声空化效应引起水分子裂解, 产生羟基自由基, 通过自由基链式反应, 导致脂肪的过度氧化, 但是弱酸性电解水

对脂肪酶的活性有着钝化作用, 从而降低水产品脂肪氧化速率^[18]。结果表明, TEW40 组对于减缓草鱼鱼肉的脂肪氧化有较好的效果。

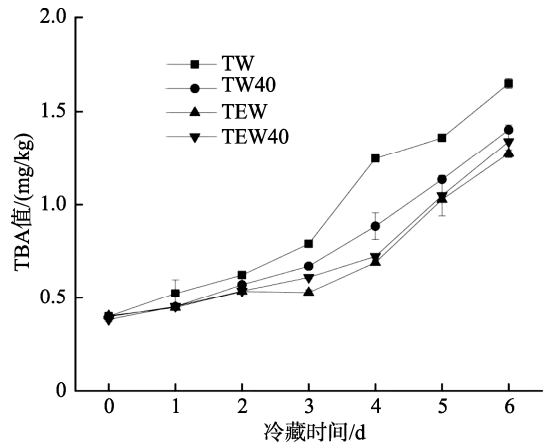


图 4 草鱼鱼片在 4 °C 下储存过程中 TBA 值的变化(n=3)
Fig.4 TBA values changes in *Ctenopharyngodon idella* fillets during refrigerated storage at 4 °C (n=3)

2.5 冷藏期间草鱼鱼片生物胺含量的变化

生物胺的结果(表 2)显示, TEW40、TEW、TW40、TW 4 组的腐胺含量在第 3 d 无显著变化($P>0.05$)且未超过水产品中组胺含量的限量(50 mg/kg)^[33], 但第 6 d 时, TW 组的腐胺含量与 TEW 相比显著增加($P<0.05$)。TW 组与 TEW40 组、TEW 组的尸胺含量相比, 在第 3 d 时都有显著变化($P<0.05$); 与 TW40 组相比, 尸胺含量没有显著变化($P>0.05$)。TW 组鱼片的组胺含量在第 3 d 和第 6 d 时显著高于其他实验组($P<0.05$)。在第 6 d 时, TW 组尸胺含量高达(309.39±32.88) mg/kg, 远远高于 TW40 和 TEW 两个处理组的(189.98±33.81)、(238.63±38.17) mg/kg ($P<0.05$); 同样, TW 组的组胺含量高达(630.19±73.54) mg/kg, 远远高于 TEW40、TEW 和 TW40 3 个处理组的(462.25±91.10)、(454.07±72.46)、(420.46±45.24) mg/kg ($P<0.05$); 超声联合弱酸性电解水处理后的鱼片在一定程度上能够抑制腐败菌的生长, 从而抑制生物胺的产生。

表 2 草鱼鱼片在 4 °C 下储存过程中生物胺的变化(mg/mL, n=3)				
Table 2 Biogenic amine content changes in <i>Ctenopharyngodon idella</i> fillets during refrigerated storage at 4 °C (mg/mL, n=3)				
天数/d	组别	腐胺	尸胺	组胺
3	TEW40	56.71±41.86 ^A	28.65±15.61 ^B	21.97±9.69 ^C
	TEW	74.87±37.91 ^A	80.30±9.79 ^B	—
	TW40	105.78±22.09 ^A	140.05±39.19 ^A	110.70±62.75 ^B
	TW	88.70±13.78 ^A	170.31±40.23 ^A	187.44±25.94 ^A
6	TEW40	954.22±42.77 ^A	252.59±36.06 ^{AB}	426.25±91.10 ^B
	TEW	701.740±89.42 ^B	238.63±38.17 ^B	454.07±72.46 ^B
	TW40	716.79±178.10 ^{AB}	189.98±33.81 ^B	420.46±45.24 ^B
	TW	958.22±138.45 ^A	309.39±32.88 ^A	630.19±73.54 ^A

注: —表示未检测到; 不同大写字母表示相同冷藏时间内不同处理组间差异显著性($P<0.05$), 下同。

2.6 冷藏期间草鱼鱼片的菌群分析

图 5a、b 分别表示了在不同处理方法的条件下, 细菌属水平和种水平上菌种丰度的变化情况。在冷藏第 6 d 时, 草鱼鱼片中的主要细菌种类包括: 大球菌属(*Macrococcus* spp.)、不动杆菌属(*Acinetobacter* spp.)、嗜冷菌属(*Psychrobacter* spp.)、假单胞菌属(*Pseudomonas* spp.)、热死环丝菌(*Brochothrix* spp.)、肉食杆菌属(*Carnobacterium* spp.)、漫游球菌属(*Vagococcus* spp.)、库特氏菌属(*Kurthia* spp.)、肉食杆菌属(*Carnobacterium* spp.)、链球菌属(*Streptococcus* spp.)、杆菌属(*Bacilli* spp.)。

从草鱼肉中共分析得出 13 个属的细菌, 并且以革兰氏阴性菌为主。不动杆菌属(*Acinetobacter* spp.)在空白对照组与联合处理组中都占主导地位, 分别约占总菌数的 47% 和 31%。不动杆菌是海水鱼和淡水鱼的常见成分, PARLAPANI 等^[34]得出在初始时期鲷鱼肉中菌群主要由不动杆菌主导。WANG 等^[35]发现在腐败期间鱼类微生物菌属的组成, 不动杆菌在第 6 d 占分离物的 35%, 成为草鱼微生

物菌群中第二大菌属。

在第 6 d 时, 对照组和联合处理组中假单胞菌属(*Pseudomonas* spp.)、热死环丝菌(*Brochothrix* spp.)、漫游球菌属(*Vagococcus* spp.)、库特氏菌属(*Kurthia* spp.)、肉食杆菌属(*Carnobacterium* spp.)等优势腐败菌的所占比例略有不同。在对照处理组分别占 12%、6%、13%、9%、3%, 而在联合处理组中分别占 7%、12%、2%、3%、5%。许振伟等^[36]以腐败菌的生长动力学参数和腐败代谢产物的产量因子为指标通过分析接种腐败菌的鲤鱼和罗非鱼无菌鱼块, 得出在冷藏过程中罗非鱼和鲤鱼的特定腐败菌是假单胞菌。李婷婷等^[37]发现葡萄球菌属、片球菌属、肉食杆菌属在鱼肉冷藏期间呈明显的下降趋势, 气单胞菌属及少动鞘氨醇单胞菌属完全消失; 假单胞菌呈上升趋势且数量占优势, 且确定荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)为冷藏三文鱼片的优势腐败菌。刘爱芳等^[38]得出冷藏金枪鱼在货架期第 8 d 逐渐形成以不动杆菌(*Acinetobacter* spp.)、假单

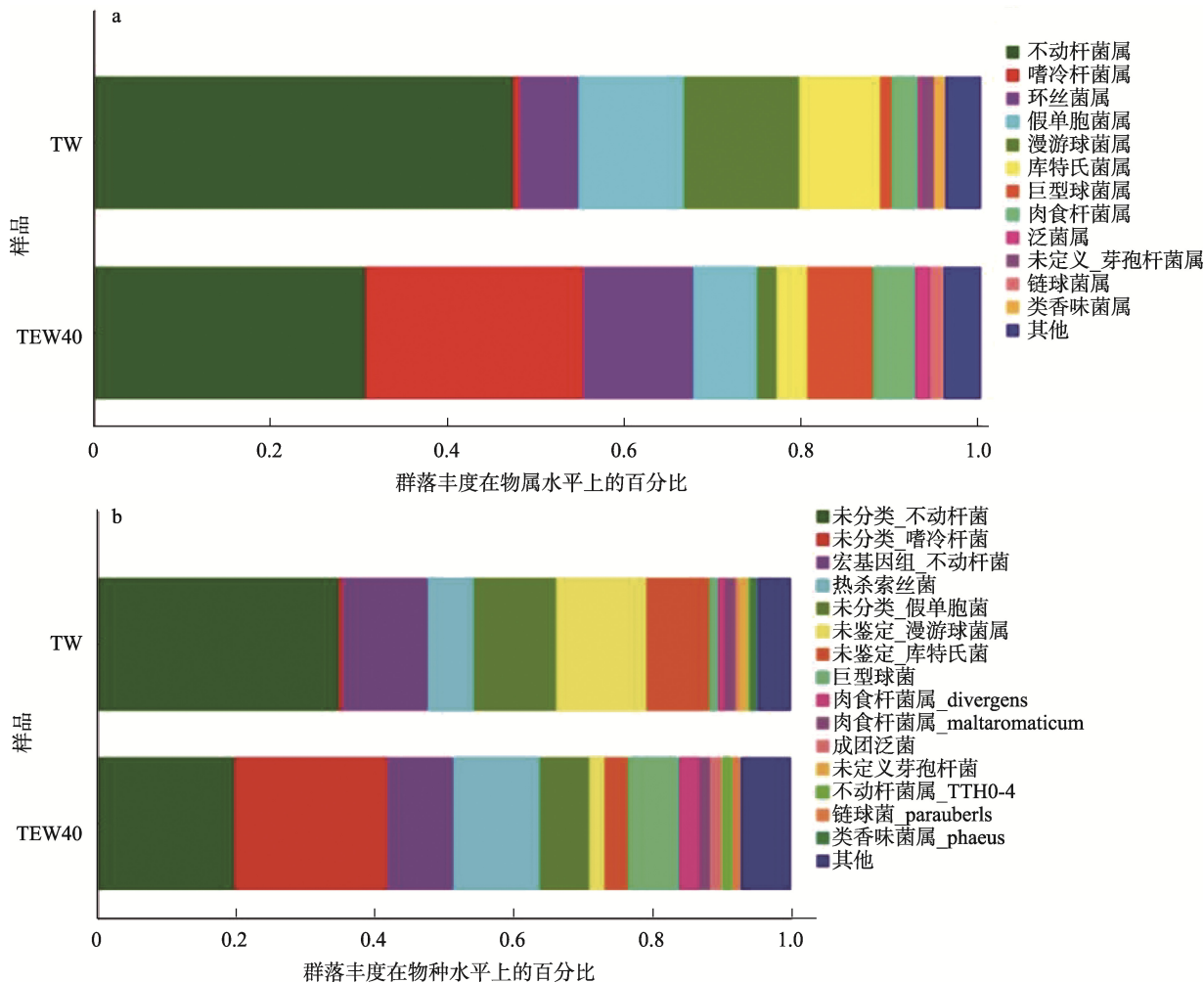


图 5 16S rRNA 测定的草鱼鱼片在 4 °C 下储存第 6 d 后的属(a)和种(b)水平上的菌种丰度(n=6)
Fig.5 Relative abundances of dominant bacteria at the genus (a) and species (b) level assigned to 16S rRNA sequences detected in *Ctenopharyngodon idella* fillets (TW, TEW40) stored at 4 °C for 6 days (n=6)

胞菌(*Pseudomonas* spp.)为主的微生物群落结构, 并且研究了假单胞菌属、不动杆菌属及热死环丝菌属对金枪鱼的致腐能力, 结果表明假单胞菌属致腐能力较强。本研究也表明弱酸性电解水与超声联合处理对致腐能力较强的假单胞菌属有较强的抑制作用, 在一定程度上延长了保质期。PIN 等^[39]发现特氏菌属在肉类的腐败变质时不占主导地位, 目前也尚未有研究表明漫游球菌(*Vagococcus* spp.)与肉类的腐败变质有直接相关性。LUO 等^[40]以空气包装和真空包装冷藏鲤鱼片, 在第 6 d 也观察到了革兰氏阳性细菌大球菌属(*Macrococcus* spp.)和肉食杆菌属(*Carnobacterium* spp.)的存在, 占真空包装样品中总分离物的 15%。这与本次研究中分析得到的微生物种类相一

致。因此, 得出超声联合弱酸性电解水能抑制草鱼鱼片优势菌不动杆菌属以及假单胞菌属的生长繁殖, 从而延长其保质期。

由图 6 可以看出, TW 组的菌群多样性低于 TEW40 组的菌群多样性。有研究表明, 随着冷藏时间的延长, 鱼中的微生物多样性降低, 种类趋于单一。腐败的程度越高微生物的多样性越低^[41-42]。LUO 等^[40]在 4 °C 保存条件下得出空气包装的鲤鱼鱼片在第 4 d 时有 5 种菌属, 而在第 8 d 保质期结束时只有一种假单胞菌属。由此可知, 菌群的多样性与鱼片的新鲜度有一定关联, 超声联合弱酸性电解水处理鱼片保持了鱼片菌种的多样性, 表明其能延缓鱼片的腐败。

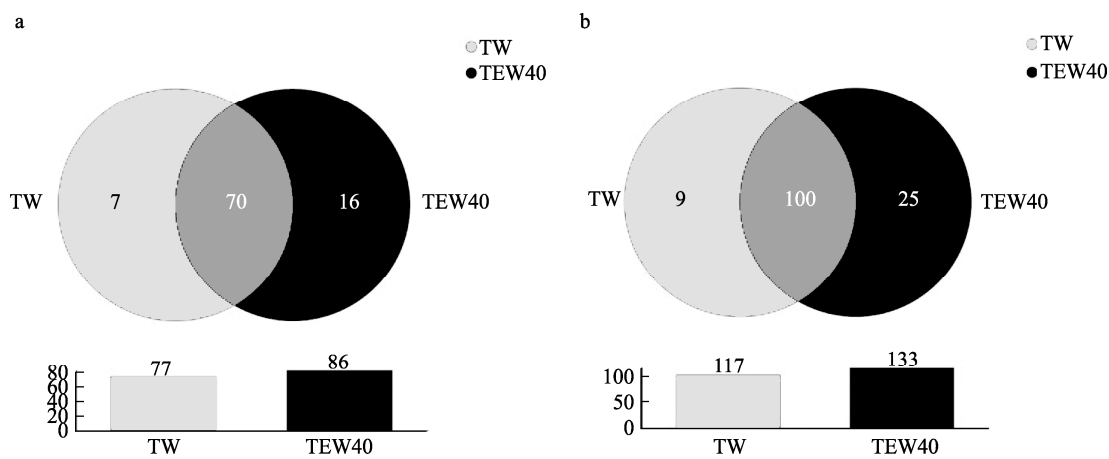


图 6 在属(a)和种(b)水平上草鱼鱼片中菌群组成相似性及重叠情况维恩图表(n=6)
Fig.6 Venn's diagrams indicates number of genus (a) and species (b) in samples of *Ctenopharyngodon idella* fillets (TW, TEW40) stored at 4 °C (n=6)

2.7 冷藏期间草鱼鱼片感官评分的变化

感官评价结果如图 7 所示, 草鱼鱼片冷藏期间感官分值随着冷藏时间的增加而下降, 在第 0 d 时, 草鱼鱼片固有香味浓郁、肌肉组织紧密、纹理很清晰并且坚实富有弹性, 手指压后凹陷立即消失; 但是在第 6 d 的 TW 组鱼肉本身白色逐渐变浅、表面变黄; 质地发软发黏肌肉弹性消失; 产生了强烈的腥臭味和氨臭味等。同时 TW40、TEW40、TEW 组的鱼肉的感官品质都发生了改变, 并且变化趋势相似, 但是鱼肉感官的变化慢于对照组, 原有的白色、鱼片弹性消失较慢, 出现腥臭味和氨臭味程度较轻。在冷藏前 2 d, 各实验组的感官分值无显著性差异 ($P>0.05$), 并且感官分值均在 15 分以上。但冷藏过程中感官分值一直呈下降趋势, 且 TW 组的感官分值一直显著低于 TEW40 组 ($P<0.05$)。实验结果显示, 利用弱酸性电解水和超声处理, 更能有效地保护鱼片的色泽、气味、形态及肉质的弹性。

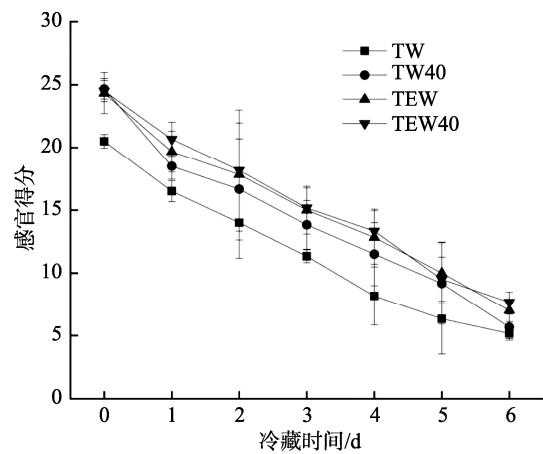


图 7 草鱼鱼片在 4 °C 冷藏过程中感官评分的变化(n=6)
Fig.7 Sensory scores changes of *Ctenopharyngodon idella* fillets during refrigerated storage at 4 °C (n=6)

3 结论与讨论

本研究对超声、弱酸性电解水及超声联合弱酸性电解水处理对草鱼鱼片 4℃ 冷藏期间菌群总数菌种丰度变化、TVBN 值、TBA 值、pH 等影响进行研究。结果表明, 随着冷藏天数的增加, 草鱼鱼片菌落总数、TBA 值、TVBN 值呈现上升趋势, pH 则是先降低后升高, TW 组在这些方面的变化均大于 TW40 组、TEW 组、TEW40 组, 这说明了超声和电解水不论是单独处理还是联合处理都能一定程度延长鱼片的贮藏时间。进一步分析表明联合处理组的鱼片要更加优于单独处理组。另外, 各组感官分值随着冷藏时间的增加而下降, 对照组与其他实验组相比得分的差距较为明显。与单独处理组相比, 弱酸性电解水和超声联合处理更能有效地维持其原本的品质。草鱼中的 3 种优势生物胺(腐胺、尸胺和组胺)含量随着冷藏时间的延长而增加, 并且与菌落总数、TVBN、感官评分有较强相关性, 可作为草鱼鱼片品质评价的共同参考指标。在菌群方面, 弱酸性电解水和超声联合处理组鱼片在冷藏末期微生物群落丰富度和多样性高于对照组 TW, 不动杆菌属以及假单胞菌属的在联合处理组显著减少。综上所述, 弱酸性电解水和超声的联合处理能有效抑制草鱼冷藏期间的品质变化及腐败菌的增殖, 将来可被广泛开发用于草鱼及其他鱼的贮藏保鲜。

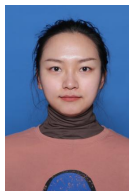
参考文献

- [1] 农业部渔业局. 中国渔业统计年鉴. 2021[M]. 北京: 中国农业出版社, 2021.
Bureau of Fisheries, Ministry of Agriculture. China Fisheries Yearbook. 2021 [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2021.
- [2] 程汉良, 蒋飞, 彭永兴, 等. 野生与养殖草鱼肌肉营养成分比较分析[J]. 食品科学, 2013, 34(13): 5.
CHENG HL, JIANG F, PENG YX, *et al.* Comparison of nutrient composition of muscles of wild and farmed grass carp, *Ctenopharyngodon idellus* [J]. Food Sci, 2013, 34(13): 5.
- [3] 周强, 刘蒙佳, 蔡倩敏, 等. 壳聚糖复合膜在草鱼保鲜中的应用[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(3): 4.
ZHOU Q, LIU MJ, CAI QM, *et al.* Application of chitosan composite film in grass carp preservation [J]. Jiangsu Agric Sci, 2017, 45(3): 4.
- [4] CHANDRAPALA J, OLIVER C, KENTISH S, *et al.* Ultrasonics in food processing-Food quality assurance and food safety [J]. Trends Food Sci Technol, 2012, (26): 88–98.
- [5] ATAMALEKI A, MIRANZADEH MB, MOSTAFAI GR, *et al.* Effect of coagulation and sonication on the dissolved air flotation (DAF) process for thickening of biological sludge in wastewater treatment [J]. Env Health Eng Manag, 2020, 7(1): 59–65.
- [6] CORDOVA A, ASTUDILLO-CASTRO C, RUBY-FIGUEROA R, *et al.* Recent advances and perspectives of ultrasound assisted membrane food processing [J]. Food Res Int, 2020, 133: 109163.
- [7] ASHOKKUMAR M. The characterization of acoustic cavitation bubbles-An overview [J]. Ultrason Sonochem, 2011, 18(4): 864–872.
- [8] O'DONNELL CP, TIWARI BK, BOURKE P, *et al.* Effect of ultrasonic processing on food enzymes of industrial importance [J]. Trends Food Sci Technol, 2010, 21(7): 358–367.
- [9] PINHEIRO J, ALEGRIA C, ABREU M, *et al.* Influence of postharvest ultrasounds treatments on tomato (*Solanum lycopersicum*, cv. Zinac) quality and microbial load during storage [J]. Ultrason Sonochem, 2015, 27: 552–559.
- [10] LIN WA, JL B, SHUANG TA, *et al.* Changes in collagen properties and cathepsin activity of beef *M. semitendinosus* by the application of ultrasound during post-mortem aging [J]. Meat Sci, 2021, 185: 108718.
- [11] HUAN R, QINGFA W, XUE H, *et al.* Quantitative proteomics reveals the mechanism of slightly acidic electrolyzed water-induced buckwheat sprouts growth and flavonoids enrichment [J]. Food Res Int, 2021, 148: 110634.
- [12] SARAVANAKUMAR K, SATHIYASEELAN A, MARIADOSS A, *et al.* Slightly acidic electrolyzed water combination with antioxidants and fumaric acid treatment to maintain the quality of fresh-cut bell peppers [J]. LWT Food Sci Technol, 2021, 147(3): 111565.
- [13] LIU X, ZHANG M, MENG X, *et al.* Inactivation and membrane damage mechanism of slightly acidic electrolyzed water on pseudomonas deceptionensis CM2 [J]. Molecules, 2021, 26(4): 1012.
- [14] SHIROODI SG, OVISSIPOUR M, ROSS CF, *et al.* Efficacy of electrolyzed oxidizing water as a pretreatment method for reducing *Listeria monocytogenes* contamination in cold-smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. Food Control, 2016, 60: 401–407.
- [15] FORGHANI F, RAHMAN SME, PARK MS, *et al.* Ultrasonication enhanced low concentration electrolyzed water efficacy on bacteria inactivation and shelf life extension on lettuce [J]. Food Sci Biotechnol, 2013, 22(1): 131–136.
- [16] AFARI GK, HUNG Y, KING CH, *et al.* Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* DT 104 on fresh produce using an automated washer with near neutral electrolyzed (NEO) water and ultrasound [J]. Food Control, 2016, 63: 246–254.
- [17] LI J, DING T, LIAO X, *et al.* Synergetic effects of ultrasound and slightly acidic electrolyzed water against *Staphylococcus aureus* evaluated by flow cytometry and electron microscopy [J]. Ultrason Sonochem, 2016, 38: 711–719.
- [18] CICHOSKI AJ, FLORES D, MENEZES C, *et al.* Ultrasound and slightly acid electrolyzed water application: An efficient combination to reduce the bacterial counts of chicken breast during pre-chilling [J]. Int J Food Microbiol, 2019, 301: 27–33.
- [19] CHEN GW, CHEN YA, CHANG HY, *et al.* Combined impact of high-pressure processing and slightly acidic electrolysed water on *Listeria monocytogenes* proteomes [J]. Food Res Int, 2021, 147(12): 110494.
- [20] KUMAR N, PRATIBH A, NEERA J, *et al.* Effect of active chitosan-pullulan composite edible coating enrich with pomegranate peel extract on the storage quality of green bell pepper [J]. LWT-Food Sci Technol, 2020, 138: 110435.
- [21] GUO L, ZHANG X, XU L, *et al.* Combined impact of high-pressure processing and slightly acidic electrolysed water on *Listeria monocytogenes* proteomes [J]. Food Res Int, 2021, 147(12): 110494.
- [22] SONG H, LEE JY, LEE HW, *et al.* Inactivation of bacteria causing soft rot disease in fresh cut cabbage using slightly acidic electrolyzed water [J].

- Food Control, 2021, 128: 108217.
- [23] YANG G, SHI Y, ZHAO Z, *et al.* Comparison of inactivation effect of slightly acidic electrolyzed water and sodium hypochlorite on *Bacillus cereus* spores [J]. Foodborne Pathog Dis, 2020. DOI: 10.1089/fpd.2020.2811
- [24] LI X, XIONG Q, XU B, *et al.* Bacterial community dynamics during different stages of processing of smoked bacon using the 16S rRNA gene amplicon analysis [J]. Int J Food Microbiol, 2021, 351: 109076.
- [25] 周大鹏, 蓝蔚青, 莫雅娴, 等. 超声联合微酸性电解水处理对真空包装海鲈鱼冷藏期间品质变化的影响[J]. 食品科学, 2021. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.024252
- ZHOU DP, LAN WQ, MO YX, *et al.* Effects of ultrasonic combined with slightly acidic electrolyzed water treatment on quality changes of vacuum-packaged sea bass (*Lateolabrax japonicus*) during refrigerated storage [J]. Food Sci, 2021. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.024252
- [26] 李颖畅, 曹娜娜, 韩笑, 等. 贮藏过程中阿根廷鲈鱼生物胺的变化及产胺菌的分离鉴定[J]. 中国食品学报, 2021. DOI: 10.16429/j.1009-7848.2021.04.029
- LI YC, CAO NN, HAN X, *et al.* Changes of biogenic amines in *illex argentatus* during storage and isolation and identification of amine bacteria [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2021. DOI: 10.16429/j.1009-7848.2021.04.029
- [27] 王秀, 李宗权, 刘永乐, 等. 冷藏期间草鱼和鲢鱼鱼片特征生物胺变化差异[J]. 食品与机械, 2017. DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2017.03.023
- WANG X, LI ZQ, LIU YL, *et al.* Study on the difference of characteristic biogenic amines in grass and silver carp fillets during cold storage [J]. Food Mach, 2017. DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2017.03.023
- [28] PAGÁN R, MANAS P, RASO J, *et al.* Bacterial resistance to ultrasonic waves under pressure at nonlethal (manosonication) and lethal (manothermosonication) temperatures [J]. Appl Environ Microb, 1999, 65(1): 297–300.
- [29] 岑剑伟, 于福田, 杨贤庆, 等. 微酸性电解水对罗非鱼片保鲜效果的研究[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(18): 6.
- CEN JW, YU FT, YANG XQ, *et al.* Study on the effect of slightly acidic electrolyzed water on the preservation of tilapia fillets [J]. Food Ferment Ind, 2019, 45(18): 6.
- [30] NANDHINI P, BRENT S, ADRIAN T, *et al.* Low frequency ultrasound inactivation of thermophilic bacilli (*Geobacillus* spp. and *Anoxybacillus flavithermus*) in the presence of sodium hydroxide and hydrogen peroxide [J]. Ultrason Sonochem, 2019, 5(51): 325–331.
- [31] 樊丹敏, 莫新春. 海水鱼低温保鲜过程中鲜度和风味研究现状[J]. 食品工业, 2015, 36(10): 248–251.
- FAN DM, MO XC. Current status of research on freshness and flavor during low-temperature preservation of marine fish [J]. Food Ind, 2015, 36(10): 248–251.
- [32] ZHAN H, LIU X, JIA S, *et al.* The effect of essential oils on microbial composition and quality of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets during chilled storage [J]. Int J Food Microbiol, 2018, 266: 52–59.
- [33] US Food and Drug Administration. Scombrotoxin (histamine) formation [Z].
- [34] PARLAPANI FF, MEZITI A, KORMAS KA, *et al.* Indigenous and spoilage microbiota of farmed sea bream stored in ice identified by phenotypic and 16S rRNA gene analysis [J]. Food Microbiol, 2013, 33(1): 85–89.
- [35] WANG H, LUO Y, HUANG H, *et al.* Microbial succession of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) filets during storage at 4 °C and its contribution to biogenic amines formation [J]. Int J Food Microbiol, 2014, 190: 66–71.
- [36] 许振伟, 李学英, 杨宪时, 等. 冷藏淡水鱼腐败菌腐败能力分析[J]. 食品科学, 2012, 33(4): 243–246.
- XU ZW, LI XY, YANG XS, *et al.* Analysis of spoilage capacity of frozen freshwater fish spoilage bacteria [J]. Food Sci, 2012, 33(4): 243–246.
- [37] 李婷婷, 丁婷, 邹朝阳, 等. 0 °C冷藏三文鱼片菌相变化规律及特定腐败菌的分离鉴定[J]. 现代食品科技, 2015, (4): 6.
- LI TT, DING T, ZOU ZY, *et al.* Differential prevalence of spoilage bacteria in salmon fillets during refrigerated storage and identification of predominant spoilage bacterial species [J]. Mod Food Sci Technol, 2015, (4): 6.
- [38] 刘爱芳, 钱颖芳, 谢晶, 等. 不同时期冷藏金枪鱼优势腐败菌多样性及生物胺变化规律的研究[C]. 中国食品科学技术学会年会, 2016.
- LIU AIF, QIAN YF, XIE J, *et al.* Changes of diversity of dominant spoilage bacteria and biogenic amines in tuna (*Thunnus obesus*) from different growing seasons during chilled storage [C]. Annual Meeting of the Chinese Society of Food Science and Technology, 2016.
- [39] PIN C, BARANYI J. Predictive models as means to quantify the interactions of spoilage organisms [J]. Int J Food Microbiol, 1998, 41(1): 59–72.
- [40] LUO YK, DONG P, QIAN L, *et al.* Changes in the microbial communities of air-packaged and vacuum-packaged common carp (*Cyprinus carpio*) stored at 4 °C [J]. Food Microbiol, 2015. DOI: 10.1016/j.fm.2015.08.003
- [41] 刘爱芳, 谢晶, 钱颖芳, 等. PCR-DGGE 结合生理生化鉴定分析冷藏金枪鱼细菌菌相变化[J]. 中国食品学报, 2018, 18(10): 12.
- LIU AIF, XIE J, QIAN YF, *et al.* PCR-DGGE combined with physiological and biochemical identification for analysis of bacterial phase changes in frozen tuna [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2018, 18(10): 12.
- [42] LI X, XIONG Q, XU B, *et al.* Bacterial community dynamics during different stages of processing of smoked bacon using the 16S rRNA gene amplicon analysis [J]. Int J Food Microbiol, 2021, 351: 109076.

(责任编辑: 于梦娇 张晓寒)

作者简介



曹悦, 硕士研究生, 主要研究方向为食品微生物特性及其控制技术。
E-mail: 843532293@qq.com



夏效东, 博士, 教授, 主要研究方向为食品中活性物质抗菌及健康功能及应用。
E-mail: foodscixiaodong@yahoo.com