

# 冷藏大口黑鲈鱼片品质变化规律及 优势腐败菌致腐能力分析

黄爱霞<sup>1</sup>, 林 锋<sup>1</sup>, 崔雁娜<sup>1</sup>, 徐 磊<sup>1</sup>, 沈亚芳<sup>1</sup>, 王雨辰<sup>1</sup>, 孙博悻<sup>1</sup>,  
沈佳敏<sup>2</sup>, 郝贵杰<sup>1\*</sup>

(1. 浙江省淡水水产研究所, 湖州市水产品品质提升与加工技术重点实验室, 浙江省鱼类健康与营养重点实验室, 农业农村部淡水渔业健康养殖重点实验室, 湖州 313001; 2. 湖州众旺禽业有限公司, 湖州 313014)

**摘要: 目的** 分析冷藏大口黑鲈鱼片品质的变化规律并确定其贮藏过程中的优势腐败菌及其致腐能力。

**方法** 以新鲜鲈鱼为原料, 通过测定鱼肉的质构特性、菌落总数、挥发性盐基氮(total volatile basic nitrogen, TVB-N)和 K 值等指标, 对冷藏过程中鱼片的品质和优势腐败菌及其致腐能力进行了分析, 并通过 16S rRNA 序列鉴定分析各腐败菌的种属。**结果** 质构特性、菌落总数、TVB-N、K 值等品质相关指标的测定结果表明, 随着贮藏时间的延长, 鱼片的咀嚼性和胶着性均呈缓慢下降的趋势; 菌落总数逐渐增长; TVB-N 在贮藏前 7 d 变化不大, 在第 7 d 后急速上升; K 值在第 7 d 时超过了 60%, 达到了初期腐败。采用选择性培养基获得鲈鱼腐败期的特定菌落, 结合菌落形态观察、16S rDNA 与革兰氏染色技术, 确定所属菌株属种, 并评价各菌株的致腐能力。筛选出 T2、C1 和 C2 3 株菌为 4°C 贮藏鲈鱼片的疑似优势腐败菌。16S rDNA 鉴定出这 3 株菌分别为希瓦氏菌、假单胞菌和普罗维登斯菌。根据接种这 3 株腐败菌的大口黑鲈鱼片的 TVB-N 产量因子( $Y_{TVB-N/CFU}$ )的评价结果, 确定这 3 株腐败菌的致腐能力为假单胞菌>希瓦氏菌>普罗维登斯菌。**结论** 假单胞菌为 4°C 贮藏的鲈鱼片腐败的优势菌。

**关键词:** 大口黑鲈鱼; 冷藏; 品质变化; 优势腐败菌; 致腐能力

## Analysis of quality changes rule of *Micropterus salmoides* during cold storage and spoilage ability of dominant spoilage bacteria

HUANG Ai-Xia<sup>1</sup>, LIN Feng<sup>1</sup>, CUI Yan-Na<sup>1</sup>, XU Lei<sup>1</sup>, SHEN Ya-Fang<sup>1</sup>,  
WANG Yu-Chen<sup>1</sup>, SUN Bo-Yi<sup>1</sup>, SHEN Jia-Min<sup>2</sup>, HAO Gui-Jie<sup>1\*</sup>

(1. China Huzhou Key Laboratory of Aquatic Product Quality Improvement and Processing Technology, Key Laboratory of Fish Health and Nutrition of Zhejiang Province, Key Laboratory of Healthy Freshwater Aquaculture, Zhejiang Institute of Freshwater Fisheries, Huzhou 313001, China; 2. Huzhou Zhongwang Poultry Industry Co., Ltd., Huzhou 313014, China)

**ABSTRACT: Objective** To analyze the changes rule in quality of *Micropterus salmoides* during refrigeration, as well as the dominant spoilage bacteria and their ability to cause spoilage during cold storage. **Methods** The texture

基金项目: 湖州市重点研发计划项目(2022ZD2052、2021ZD2040)、浙江省属科研院所扶持专项(2023YSZX003)

Fund: Supported by the Key Research and Development Plan Project in Huzhou City (2022ZD2052, 2021ZD2040), and the Special Project Supported by Zhejiang Provincial Research Institutes (2023YSZX003)

\*通信作者: 郝贵杰, 博士, 研究员, 主要研究方向为水产品质量安全与加工。E-mail: melissa511@sina.com

\*Corresponding author: HAO Gui-Jie, Ph.D, Professor, Zhejiang Institute of Freshwater Fisheries, Huzhou 313001, China. Email: melissa511@sina.com

characteristics, total viable count, total volatile basic nitrogen (TVB-N) and K value of *Micropterus salmoides* were measured to evaluate the quality of *Micropterus salmoides* during refrigeration, as well as the dominant spoilage bacteria and their ability to cause spoilage were analyzed. The species of each spoilage bacteria were identified and analyzed through 16S rRNA sequence analysis. **Results** The results of quality related indicators such as texture characteristics, total number of bacterial colonies, TVB-N, and K value showed that the chewiness and adhesiveness of fish fillets declined slowly; the total number of bacterial colonies gradually increases; TVB-N rapidly increased after the 7th day; at the 7th day, the K value exceeded 60%, reaching the initial stage of corruption. The selective culture mediums were used to obtain specific colonies during the decay period of *Micropterus salmoides*. The genus and species of the strains were determined by colony morphology observation, 16S rDNA and Gram staining techniques. The 3 strains of T2, C1 and C2 were selected as suspected dominant spoilage bacteria for storing *Micropterus salmoides* slices at 4°C. The 3 strains were identified as *Shewanella*, *Pseudomonas*, and *Providencia* using 16S rDNA. The spoilage ability of these 3 strains were evaluated by TVB-N yield factor ( $Y_{TVB-N/CFU}$ ). The spoilage ability was *Pseudomonas*>*Shewanella*>*Providencia*. **Conclusion** *Pseudomonas* is the dominant bacteria for the spoilage of *Micropterus salmoides* slices stored at 4°C.

**KEY WORDS:** *Micropterus salmoides*; cold storage; quality change; dominant spoilage bacteria; spoilage ability

## 0 引言

大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)又名加州鲈,原产于北美洲,在分类学上隶属于鲈形目、太阳鱼科、黑鲈属,为典型肉食性淡水鱼类。大口黑鲈具有适应性强、生长快、易捕捞、养殖周期短等优点,加之大口黑鲈生长速度快、无肌间刺、滋味鲜美、营养价值高,深受消费者和养殖者的欢迎。《2021年中国渔业统计年鉴》数据表明,我国2020年大口黑鲈养殖产量约为61万t,是养殖产量最高的特色淡水鱼。目前我国大口黑鲈消费还是以鲜活为主,但是随着预制菜的快速发展,大口黑鲈加工鱼片产量也迅速增长。目前大口黑鲈鱼片的保鲜方法主要是冷冻或者冷藏,由于大口黑鲈鱼片水分含量高,在冷冻或者冷藏过程中极易受微生物的污染,这些微生物和鱼片本身存在的内源酶协同作用,使蛋白质和脂肪发生代谢,产生腐败物质,如组胺、醛等,导致鱼片颜色和气味等发生劣变,缩短了鲈鱼片的保质期。微生物是导致大口黑鲈鱼片腐败的主要因素<sup>[1-2]</sup>。据报道,只有部分微生物参与腐败,并且只有少数微生物群能够占据主要地位,这些微生物被称为优势腐败菌(specific spoilage organism, SSO)<sup>[3-4]</sup>。不同的水产品其SSO是不同的,即使是同一品种的水产品SSO也不尽相同,因为贮藏温度以及水产品本身内源酶的活性、包装方式等都会影响微生物的组成<sup>[5]</sup>,目前分离到的淡水鱼SSO主要有希瓦氏菌、假单胞菌、气单胞菌等<sup>[2-3,6]</sup>等。

不同的SSO致腐能力不同,从而对水产品的品质的影响也不同。因此本研究以冷藏储存大口黑鲈鱼片为对象,研究其在冷藏过程中品质的变化规律,并培养分离其鱼肉

的腐败菌。利用挥发性盐基氮(total volatile base nitrogen, TVB-N)、TVB-N产量因子( $Y_{TVB-N/CFU}$ )等指标分析大口黑鲈鱼片中各腐败菌的致腐能力,筛选大口黑鲈SSO,分析大口黑鲈腐败菌的特点,明晰大口黑鲈鱼片的腐败机制,为实现大口黑鲈鱼片加工贮藏过程中的品质控制,延长其货架期奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

体重(500±50)g的鲜活大口黑鲈由德清昊源水产有限公司提供;5种培养基:营养琼脂培养基、假单胞菌CFC选择性培养基、VRBDA肠道菌琼脂培养基、MARS琼脂培养基、铁琼脂培养基(北京陆桥技术股份有限公司);氯化钠、硼酸、氢氧化钠、高氯酸、氢氧化钾、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾(分析纯,上海麦克林生化科技股份有限公司);革兰氏染色液(南京建成生物工程有限公司)。

### 1.2 仪器设备

LRH-250F恒温培养箱(上海一恒科学仪器有限公司);Bosin质构仪(上海保圣仪器有限公司);UPLC I-Class高效液相色谱仪(德国Waters公司);K9840凯氏定氮仪(济南海能仪器有限公司)。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 鱼肉采集

大口黑鲈宰杀后,清理干净,去鳞后取背部肌肉后片成小片,放于保鲜盒中,置于4°C冰箱用于鱼肉品质变化分析和腐败菌筛选。另取10条鲈鱼,取背部肌肉切成2.0 cm×2.0 cm×1.0 cm小块,置于保鲜盒内,4°C贮藏。

### 1.3.2 大口黑鲈肌肉质构分析

取贮藏于 4°C 的鱼肉, 分别于 0、1、3、5、7 d 进行质构分析。将鱼肉置于质构分析仪上进行测定, 选择 TPA (texture profile analysis) 模式(平底柱探头: TA39; 触发力: 5 g; 压缩距离: 3 mm; 测试速率: 30 mm/min; 恢复时间: 3 s), 每条鱼取大小相同的背部肌肉 3 块进行测试, 测试后取平均值进行数据分析。

### 1.3.3 细菌菌落总数测定

细菌菌落总数的测定, 参照 GB 4789.2—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数法》。

### 1.3.4 鱼肉中 TVB-N 含量分析

根据 GB 5009.228—2016《食品安全国家标准 食品中挥发性盐基氮的测定》中规定的方法, 鱼肉用料理机打碎后取 10 g, 采用半自动凯氏定氮仪测定 TVB-N。

### 1.3.5 K 值的测定

K 值作为鱼类新鲜度的判定指标, 是指 ATP 分解的产物次黄嘌呤占 ATP 分解物的百分比, 是反映鱼类新鲜度变化的重要指标。参照 CHOIA 等<sup>[7]</sup>方法测定 K 值, 计算公式如式(1):

$$K = \left[ \frac{HxR + Hx}{ATP + ADP + AMP + IMP + HxR + Hx} \right] \quad (1)$$

式中: ATP、ADP、AMP、IMP、HxR 和 Hx 表示鱼肉中 6 种核苷酸的浓度(mol/g)。

### 1.3.6 优势腐败菌的分离纯化

超净台上称取腐败末期(4°C 贮藏 14 d)的鲈鱼样品 5.0 g, 转移到无菌均质袋中, 加入灭菌生理盐水 45 mL, 均质机拍打 2 min, 取 1 mL 上清液, 10 倍逐级稀释, 选择 3 个合适的稀释度, 每个稀释度做 3 次重复, 吸取 1 mL 稀释后的菌液倾注于含有不同培养基的平板中, 用无菌涂布棒涂抹均匀后放于生化培养箱中培养, 选择培养基种类及培养条件见表 1。

表 1 选择性培养基的种类及培养条件

Table 1 Types of selective culture-medium and culture condition

| 种类    | 培养基种类          | 培养温度及时间   |
|-------|----------------|-----------|
| 常规细菌  | 营养琼脂培养基        | 30°C、72 h |
| 假单胞菌属 | 假单胞菌CFC选择性培养基  | 30°C、48 h |
| 肠杆菌属  | VRBDA-肠道菌琼脂培养基 | 30°C、48 h |
| 乳酸菌属  | MRS琼脂培养基       | 30°C、48 h |
| 希瓦氏菌属 | 铁琼脂培养基         | 25°C、72 h |

从各选择性平板中挑取典型生长的菌落, 在大豆胰蛋白胨琼脂(tryptic soy agar, TSA)培养基上进行至少 3 次划线分离后得到纯化的单菌落。然后, 挑取纯化后的单菌落, 置于胰蛋白大豆肉汤(tryptic soy broth, TSB)中进行培

养, 30°C 摇床培养 12 h, 在细菌浓度达到  $10^8$  CFU/mL 后置入 4°C 冰箱保存待用。

### 1.3.7 大口黑鲈鱼片优势腐败菌筛选

将纯化的菌株培养至对数期, 用高压灭菌过的生理盐水制成菌悬液, 摇匀, 用分光光度计法测定菌液浓度, 调整菌液浓度为  $10^5 \sim 10^6$  CFU/mL。用灭菌手术刀将鲈鱼背部肉分割成 5 g 大小均匀的肉块, 首先使用 75% 酒精喷洒鱼块表面, 静置 15 s 后用灭菌超纯水清洗 2 遍, 然后使用酒精喷灯对鲈鱼表面进行灭菌, 然后再将鲈鱼块浸泡于调整过浓度的菌液中 30 s 后取出放入无菌保鲜盒中, 每种菌株接种 500 g 肉块, 以 500 g 未接种菌液的鱼肉块作为对照, 贮藏于 4°C 冰箱。参照 PARLAPANI 等<sup>[8]</sup>方法, 取样品进行 TVB-N、菌落总数分析, 根据分析结果综合评价所接种菌的致腐能力。

### 1.3.8 优势腐败菌鉴定

通过 16S rRNA 高通量测序法对 SSO 进行鉴定。挑取重新培养 18 h 的单菌落至液体培养基中过夜后提取 DNA 备用。采用通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1429R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') 来扩增目的基因片段。聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增采用 50 μL 体系, 即模板 1 μL 引物 27F 1 μL、引物 1429R 1 μL、dNTP 10 mmol/L 1 μL、Taq Buffer 5 μL、25 mmol/L MgCl 25 μL、Taq 酶 0.5 μL (5 U/μL)、水 35.5 μL。PCR 扩增程序为 94°C 预变性 5 min, 94°C 变性 1 min, 55°C 退火 1 min, 72°C 延伸 2 min, 完成 30 个循环, 最后 72°C 延伸 5 min, 4°C 保存。取 5 μL 16S rDNA 扩增产物进行 1% 的琼脂糖凝胶电泳检验。将 PCR 扩增产物送至天霖生物科技(上海)有限公司测序。

## 1.4 数据处理

使用 Microsoft Excel 2007 进行数据处理和图片绘制, 数据采用平均数±标准偏差表示, 使用 Mega 10.0 来构建系统发育树。

## 2 结果与分析

### 2.1 质构分析

质构分析灵敏性较高, 避免了主观因素的影响, 可更好地反映肌肉的特性<sup>[9]</sup>, 4°C 贮藏对鲈鱼肉质构的影响结果见图 1。由图 1 可见, 大口黑鲈鱼肉的胶着性、咀嚼性都在缓慢下降, 其原因可能是贮藏过程中, 鱼肉中的腐败菌大量繁殖, 在鱼肉中的酶和腐败菌的作用下使得蛋白质发生降解, 水分等汁液流失增加, 肌纤维结构发生变化, 鱼肉的组织结构变疏松, 从而导致鱼肉的咀嚼性、胶着性都降低, 品质发生了劣变, 缩短了货架期, 这与赵宏强<sup>[10]</sup>的研究结果一致。

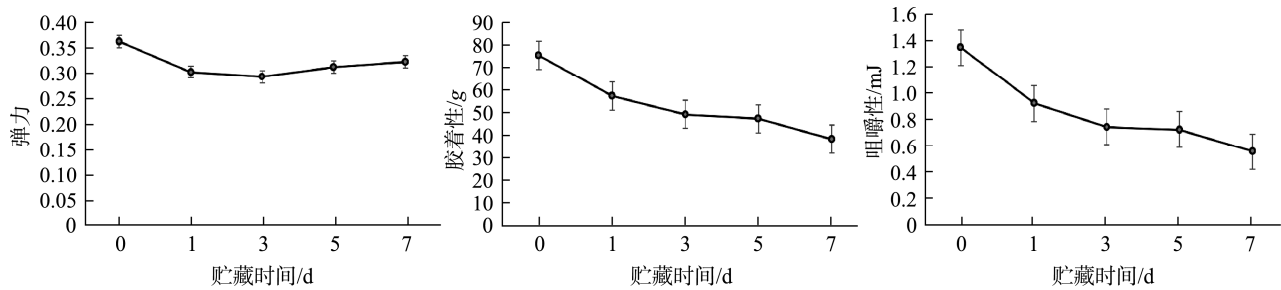


图1 大口黑鲈鱼片4°C贮藏期间质构分析结果(n=10)

Fig.1 Results of texture analysis of *Micropterus salmoides* fillets during storage at 4°C (n=10)

## 2.2 菌落总数分析

水产品在整个储运过程中受污染和本身带有的微生物,是导致水产品腐败变质的主要原因,这些微生物在适宜的环境下大量生长繁殖,分解鱼体的脂肪、蛋白质等成分,产生有异味和毒性的物质,导致水产品腐败变质。鲈鱼片菌落总数的变化如图2所示,由图2可知,鲈鱼片的起始菌落总数为2.25 lg CFU/g,低于GB 10136—2015《食品安全国家标准 动物性水产制品》中规定的微生物限量5.00 lg CFU/g,说明鱼片是新鲜的。随着贮藏时间的增加,菌落总数持续增长<sup>[11]</sup>,在贮藏第5 d时达到5.53 lg CFU/g超过了GB 10136—2015的微生物限量。AL-DAQAL等<sup>[12]</sup>提出水产品菌落总数达到6.0 lg CFU/g,表明鱼肉腐败。本研究中鱼肉在第7 d菌落总数均达到6.0 lg CFU/g以上,表示其已开始腐败。因此,为了延长大口黑鲈鱼片的货架期,首先应该抑制腐败微生物的生长。

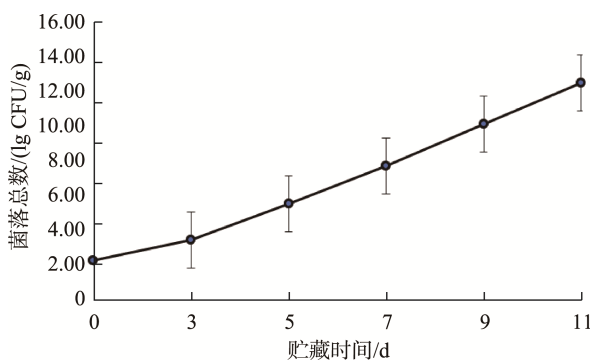


图2 4°C贮藏大口黑鲈鱼片菌落总数的变化(n=3)

Fig.2 Changed in total bacterial count of *Micropterus salmoides* fillets stored at 4°C (n=3)

## 2.3 TVB-N 含量变化的测定

TVB-N 指动物性食品由于酶和细菌的作用,在腐败过程中,使蛋白质分解而产生氨以及胺类等碱性含氮物质。此类物质具有挥发性,其含量越高,表明氨基酸被破

坏的越多,特别是蛋氨酸和酪氨酸,因此营养价值大受影响,所以 TVB-N 值是评价水产品品质的重要指标之一<sup>[13]</sup>。一般新鲜鱼的 TVB-N 值在 15 mg/100 g 以下,而其安全指标按 GB 2733—2015《食品安全国家标准 鲜、冻动物性水产品》规定,淡水鱼、虾的 TVB-N 含量要求不大于 20 mg/100 g,水产品中可被消费者接受的 TVB-N 上限为 30 mg/100 g<sup>[14-15]</sup>。4°C贮藏条件下 TVB-N 的变化如图3所示。起始时鲈鱼片的 TVB-N 的含量为 10.68 mg/100 g,表明鲈鱼片新鲜度良好,鱼肉中 TVB-N 值在贮藏的前 7 d 变化缓慢,之后迅速升高,表明此时鱼肉腐败加剧,代谢产物增多,处于极度腐败阶段,产生了刺激性气味,表明在 4°C贮藏期间,微生物的快速生长繁殖会消耗更多的营养物质,产生越来越多的代谢产物。

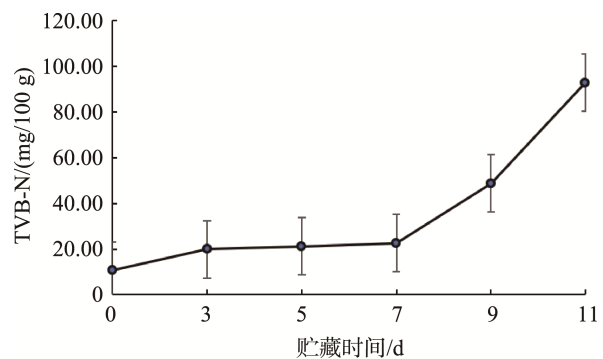


图3 4°C贮藏大口黑鲈鱼片TVB-N的变化(n=3)

Fig.3 Changes in TVB-N content of *Micropterus salmoides* fillets stored at 4°C (n=3)

## 2.4 K 值

通常:即杀鱼的 K 值一般≤10%、生鱼片 K 值≤20%、20%~40%为一级鲜度、40%~60%为二级新鲜度,60%~80%则是为初期腐败。K 值在 4°C贮藏条件下的变化如图4所示。随着贮藏时间的延长,K 值一直在升高,在第 5 d 时开始超过 40%,随后在第 7 d 时超过了 60%,达到了初期腐败<sup>[16]</sup>。因此,4°C贮藏 7 d 后鱼肉不再适合食用。

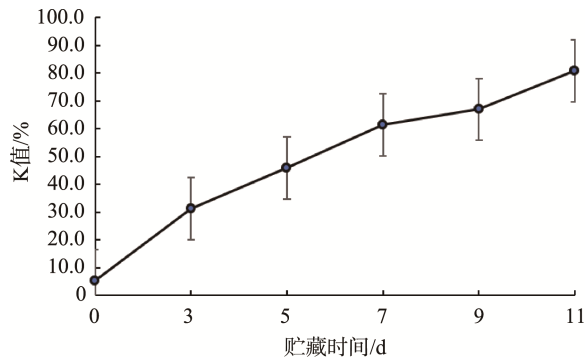


图4 4°C贮藏大口黑鲈鱼片K值的变化(n=3)

Fig.4 Changes in K value of *Micropterus salmoides* fillets stored at 4°C (n=3)

### 2.5 优势腐败菌筛选

大口黑鲈鱼肉片在 4°C贮藏一定时间, 均质后用营养琼脂培养基、VRBDA、CFC、MRS、铁琼脂培养基进行细菌分离, 共分离鉴定出 25 株 6 种不同种属的细菌。其中营养琼脂培养基平板上分离鉴定出 2 株菌, 编号为 T1、T2, CFC 培养基平板上 2 株, 编号为 C1、C2, VRBAD 培养基平板上 1 株, 编号为 V1, 铁琼脂培养基平板上 1 株, 编号为 F1。将筛选到的 6 株菌冷藏保存, 随后进行腐败特性分析及菌种鉴定。

#### 2.5.1 优势腐败菌的腐败特性

分别挑选代表性的 6 种菌, 摇菌后测浓度, 分别用 250 mL 生理盐水配制菌液, 起始浓度全部为  $5 \times 10^6$  CFU/mL, 鱼肉片在其中浸泡 1 min 后沥水捞出, 4°C连续贮藏 7 d 测定每组的菌落总数, 结果如图 5 所示。鱼肉中的营养成分被腐败菌利用, 产生代谢产物, 随着贮藏时间的增加, 菌落总数也在逐渐升高, 根据菌落总数筛选出 T2、C1 和 C2 3 株菌为 4°C贮藏鲈鱼片的疑似 SSO, 通过 16S rRNA 高通量测序法对筛选出的腐败菌进行鉴定<sup>[17]</sup>。

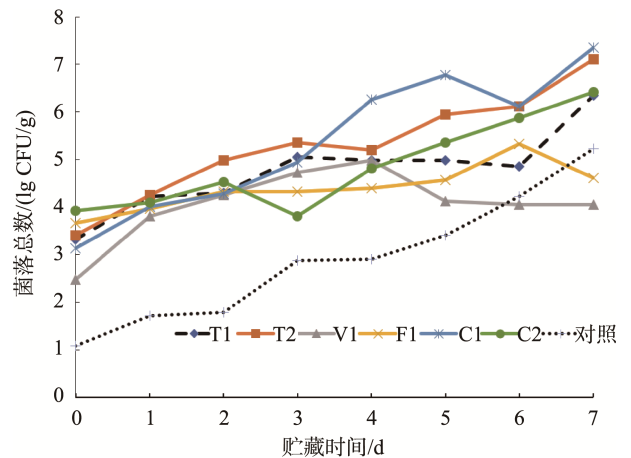


图5 接种腐败菌后大口黑鲈鱼片菌落总数的变化(n=3)

Fig.5 Changes in total bacterial count of *Micropterus salmoides* fillets inoculated with spoilage bacteria (n=3)

#### 2.5.2 优势腐败菌的分子鉴定

将纯化的 T2、C1、C2 3 株腐败菌进行 16S rDNA 测序鉴定分析, 在美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)数据中通过碱基局部对准检索工具(basic local alignment search tool, BLAST)分析, 筛选出同源性在 99%以上的菌株序列, 然后使用 MEGA 10.0 软件进行多种序列对比, 并构建系统发育树<sup>[18]</sup>。图 6 所示为细菌系统发育树, 如图 6 所示, C2 菌株与 *Providencia* sp.亲缘关系最近, C1 菌株与 *Pseudomonas* sp.亲缘关系最近, T2 菌株与 *Shewanella* sp.亲缘关系最近。最终确定 T2、C1、C2 这 3 株菌分别为希瓦氏菌、假单胞菌和普罗维登斯菌, 该 3 株菌均为革兰氏阴性菌。这 3 株菌在低温下生长依然良好, 是低温冷藏水产品中常见的腐败菌<sup>[19]</sup>。

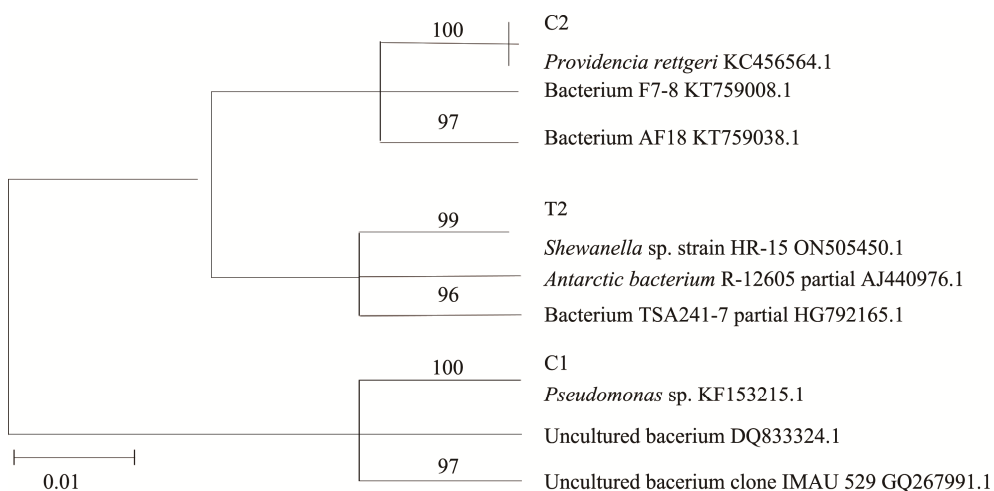


图6 基于16S rDNA序列同源性的3株优势腐败菌系统发育树

Fig.6 Phylogenetic tree of 3 dominant spoilage bacteria based on 16S rDNA sequence homology

### 2.5.3 革兰氏染色结果

对筛选出的 3 株菌进行革兰氏染色, 染色结果如图 7 所示。革兰氏阴性菌的染色结果为红色, 因此 3 种菌均为革兰氏阴性菌。

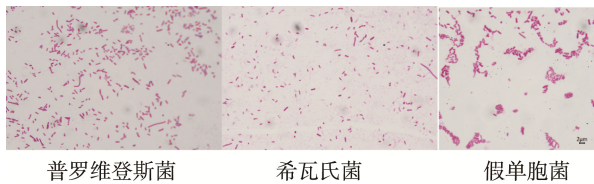


图7 腐败菌革兰氏染色结果

Fig.7 Gram staining results of spoilage bacteria

### 2.5.4 腐败菌对大口黑鲈鱼片致腐能力评价

TVB-N 产量因子( $Y_{TVB-N/CFU}$ )可以被用来评价腐败菌致腐能力, 即当样品达到感官拒绝点时单位腐败菌产生的腐败代谢物的量<sup>[20-22]</sup>。接种腐败菌后鱼肉的菌落总数和 TVB-N 的结果如图 8、9 所示。根据公式计算得到表 2 的结果, 可以看出 3 种菌的  $Y_{TVB-N/CFU}$  的大小顺序为假单胞菌>希瓦氏菌>普罗维登斯菌, 这表明不同的 SSO 导致了大口黑鲈鱼片腐败能力的差异<sup>[23-24]</sup>。

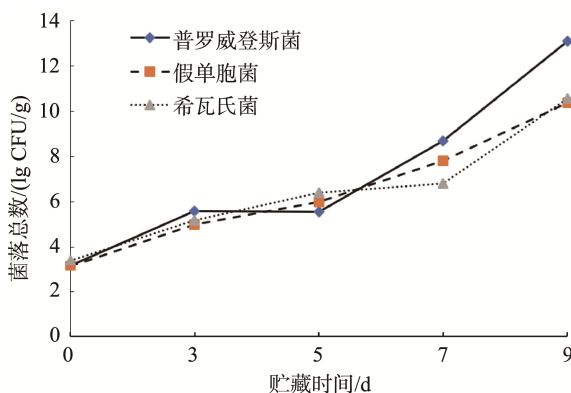


图8 接种3种腐败菌后大口黑鲈鱼片菌落总数( $n=3$ )

Fig.8 Total bacterial count of *Micropterus salmoides* fillets after inoculation with 3 kinds of spoilage bacteria ( $n=3$ )

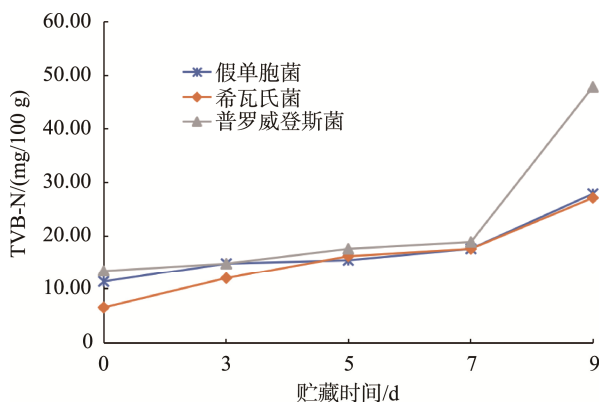


图9 接种3种腐败菌后大口黑鲈鱼片TVB-N的结果( $n=3$ )

Fig.9 TVB-N results of *Micropterus salmoides* fillets after inoculation with 3 kinds of spoilage bacteria ( $n=3$ )

表 2 优势腐败菌的  $Y_{TVB-N/CFU}$  测定结果( $n=3$ )

| 腐败菌种类  | 贮藏时间/d                |                       |                       |                        |
|--------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|
|        | 3                     | 5                     | 7                     | 9                      |
| 普罗威登斯菌 | $3.60 \times 10^{-6}$ | $1.15 \times 10^{-5}$ | $1.17 \times 10^{-8}$ | $2.87 \times 10^{-12}$ |
| 假单胞菌   | $3.64 \times 10^{-5}$ | $4.31 \times 10^{-6}$ | $9.34 \times 10^{-8}$ | $6.89 \times 10^{-10}$ |
| 希瓦氏菌   | $3.69 \times 10^{-5}$ | $3.77 \times 10^{-6}$ | $1.74 \times 10^{-6}$ | $5.74 \times 10^{-10}$ |

在有氧冷藏的环境中假单胞菌可分泌活性较高的脱羧酶和蛋白酶, 加速了鱼肉的腐败<sup>[25]</sup>。研究发现不同鱼种在不同温度下的 SSO 不同, 即使在同一培养温度下, 不同种类鱼的 SSO 仍有差异<sup>[26-29]</sup>。同一品种的大口黑鲈在不同贮藏条件下的 SSO 也有不同<sup>[2,30-31]</sup>。

## 3 结论

4°C贮藏条件下, 综合对鱼片的质构特性、菌落总数、TVB-N和K值的分析结果, 发现大口黑鲈鱼片在贮藏第 5 d 时品质严重下降, 已经不适合食用, 其货架期仅为 5 d, 因此延长其货架期, 可以提高大口黑鲈的保鲜质量, 提高大口黑鲈销售商的经济效益。

通过对 4°C冷藏鲈鱼片 SSO 的分离、筛选与鉴定, 并对其致腐能力进行分析, 发现筛选到的 3 株 SSO 的致腐能力大小顺序为假单胞菌>希瓦氏菌>普罗维登斯菌, 这表明假单胞菌是 4°C冷藏鲈鱼片的 SSO。本研究可为冷藏大口黑鲈鱼片保鲜技术的发展提供理论依据。

根据本研究结果, 下一步将开展生物保鲜剂在冷藏大口黑鲈鱼片中的应用效果评价, 筛选出能有效抑制冷藏大口黑鲈鱼片腐败菌生长、延长其货架期的绿色、高效、安全的保鲜剂。

## 参考文献

- 秦娜, 宋永令, 罗永康. 鱼类贮藏保鲜技术研究进展[J]. 肉类研究, 2014, 28(12): 28-33.  
QIN N, SONG YL, LUO YK. Fish storage and preservation: A review [J]. Meat Res, 2014, 28(12): 28-33.
- 刘舒彦, 熊光权, 李海蓝, 等. 加州鲈优势腐败菌的分离鉴定[J]. 现代食品科技, 2019, 35(11): 120-126.  
LIU SY, XIONG GQ, LI HL, et al. Isolation and identification of the dominant spoilage bacteria from california bass (*Micropterus salmoides*) [J]. Mod Food Sci Technol, 2019, 35(11): 120-126.
- 夏秀东, 刘小莉, 王英, 等. 白鱼腐败细菌的分离与鉴定[J]. 食品科学, 2015, 36(21): 175-179.  
XIA XD, LIU XL, WANG Y, et al. Isolation and identification of spoilage organisms in whitefish [J]. Food Sci, 2015, 36(21): 175-179.
- 夏秀东, 单成俊, 李莹, 等. 白鱼腐败菌产生生物胺能力分析[J]. 食品科学, 2016, 37(23): 196-204.  
XIA XD, SHAN CJ, LI Y, et al. Biogenesis amines-producing capacity of



- spoilage microorganisms isolated whitefish [J]. Food Sci, 2016, 37(23): 196–204.
- [5] CASABURI A, PIOMBINO P, NYCHAS G, *et al.* Bacterial populations and the volatilome associated to meat spoilage [J]. Food Microbiol, 2015, 45: 83–102.
- [6] 赵欣宇, 孙卫青, 熊光权, 等. 冷藏鲶鱼片中优势腐败菌的分离鉴定[J]. 食品工业科技, 2020, 41(17): 104–108.
- ZHAO XY, SUN WQ, XIONG GQ, *et al.* Isolation and Identification of dominant spoilage bacteria in refrigerated catfish fillets [J]. Sci Technol Food Ind, 2020, 41(17): 104–108.
- [7] CHOIA YJ, LINB TM, TOMLINSONB K, *et al.* Effect of salt concentration and temperature of storage water on the physicochemical properties of fish proteins [J]. LWT-Food Sci Technol, 2008, 41(3): 460–468.
- [8] PARLAPANI FF, MALLOUCHOS A, HAROUTOUNIAN SA, *et al.* Microbiological spoilage and investigation of volatile profile during storage of seabream fillets under various conditions [J]. Int J Food Microbiol, 2014, 189: 153–163.
- [9] 关文静, 朱艺峰, 陈芝丹. 鱼类肌肉纤维特性与鱼肉品质关系[J]. 水产科学, 2008, 27(2): 101–104.
- GUAN WJ, ZHU YF, CHEN ZD. Muscle quality in fish related to characteristic of muscular fibers [J]. Fish Sci, 2008, 27(2): 101–104.
- [10] 赵宏强. 超高压处理对冷藏鲈鱼片品质变化的影响及对腐败希瓦氏菌的作用机制研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2018.
- ZHAO HQ. Effects of high hydrostatic pressure (HHP) treatment on the quality of *Lateolabrax japonicus* during chilled storage and its antibacterial mechanism [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2018.
- [11] 曹悦, 刘泷泽, 柳红莉, 等. 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[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(8): 2465–2473.
- CAO Y, LIU LZ, LIU HL, *et al.* Effects of ultrasonic combined with slightly electrolyzed water treatment on quality and bacterial flora of *Ctenopharyngodon idella* fillets during refrigerated storage [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(8): 2465–2473.
- [12] AL-DAQAL MM, BAZARAA WA. Extension of shelf life of whole and peeled shrimp with organic acid salts and bifidobacteria [J]. J Food Prot, 1999, 62(1): 51–56.
- [13] OCANO-HIGUERA VM, MARQUEZ-RIOSB E, CANIZALES-DOVILA M, *et al.* Postmortem changes in cazon fish muscle stored on ice [J]. Food Chem, 2009, 116(4): 933–938.
- [14] GOKODLU N, OZDEN O, ERKAN N. Physical, chemical and sensory analyses of freshly harvested sardines (*Sardina pilchardus*) stored at 4 deg C [J]. J Aquat Food Prod Technol, 1998, (2): 7.
- [15] 刘明爽, 李婷婷, 马艳, 等. 真空包装鲈鱼片在冷藏与微冻贮藏过程中的新鲜度评价[J]. 食品科学, 2016, 37(2): 201–213.
- LIU MS, LI TT, MA Y, *et al.* Freshness evaluation of vacuum packaged perch fillets during refrigeration and partial freezing [J]. Food Sci, 2016, 37(2): 201–213.
- [16] 余达威. 壳聚糖涂膜对冷藏草鱼片的品质影响研究[D]. 无锡: 江南大学, 2019.
- YU DW. Study on effect of chitosan-based coating on the quality of refrigerated grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2019.
- [17] 周慧, 盖园明, 徐超, 等. 基于 16S rDNA 测序及培养基法探究虹鳟鱼贮藏优势腐败菌[J]. 微生物学杂志, 2021, 41(1): 25–32.
- ZHOU H, GAI YM, XU C, *et al.* Based on 16S rDNA sequencing and culture medium method to explore the dominant spoilage bacteria in storage of rainbow trout [J]. J Microbiol, 2021, 41(1): 25–32.
- [18] 刘洋帆, 王迪, 李春生, 等. 冷藏鲑鱼优势腐败菌产胺菌分离鉴定及其致腐产胺能力分析[J]. 食品工业科技, 2022, 43(23): 168–175.
- LIU YF, WANG D, LI CS, *et al.* Isolation and identification of dominant spoilage biogenic amine producing bacteria from refrigerated skipjack tuna and analysis of their production ability [J]. Sci Technol Food Ind, 2022, 43(23): 168–175.
- [19] 孟凌云, 戴泽川, 李娇, 等. 冷藏小龙虾优势腐败菌的筛选鉴定及细菌群落结构和多样性分析[J]. 肉类研究, 2022, 36(6): 16–22.
- MENG LY, DAI ZC, LI J, *et al.* Screening and identification of dominant spoilage organisms and analysis of bacterial community structure and diversity in refrigerated crayfish [J]. Meat Res, 2022, 36(6): 16–22.
- [20] 刘爱芳, 谢晶, 钱韵芳. 冷藏金枪鱼优势腐败菌致腐能力[J]. 食品科学, 2018, 19(3): 7–14.
- LIU AIF, XIE J, QIAN YF. Spoilage potential of pominant spoilage bacteria from chilled tunna (*Thunnus obesus*) [J]. Food Sci, 2018, 19(3): 7–14.
- [21] DALGAARD P, GRAM L, HUSS HH. Spoilage and shelflife of cod fillets packed in vacuum or modified atmospheres [J]. Int J Food Microbiol, 1993, 19(4): 283–294.
- [22] 冯豪杰, 蓝蔚青, 臧一宇, 等. 优势腐败菌对暗纹东方鲀冷藏期间品质变化影响及致腐能力分析[J]. 食品科学, 2022, 43(1): 191–197.
- FENG HJ, LAN WQ, ZANG YY, *et al.* Effects of dominant spoilage bacteria on quality change in obscure pufferfish (*Takifugu obscurus*) during cold storage and analysis of their spoilage ability [J]. Food Sci, 2022, 43(1): 191–197.
- [23] 王筱梦, 孙芝兰, 诸永志, 等. 羊肉屠宰加工厂主要污染菌的分布及其对熟制羊肉的致腐能力[J]. 食品科学, 2017, 38(16): 261–267.
- WANG XM, SUN ZL, ZHU YZ, *et al.* Distribution of the main contaminating bacteria in mutto slaughter and processing plant and their potential for cooked mutton spoilage [J]. Food Sci, 2016, 38(16): 261–267.
- [24] 于淑池, 杨毅, 冯紫蓝, 等. 冷藏卵形鲳优势腐败菌的分离鉴定及致腐能力分析[J]. 食品工业科技, 2021, 42(1): 101–109.
- YU SC, YANG Y, FENG ZL, *et al.* Isolation and identification of

- dominant spoilage bacteria in *Trachinotus ovatus* during chilled storage and their spoilage capability [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2021, 42(1): 101–109.
- [25] 蔡国红. 食源假单胞菌群体感应信号分子的产生及其对食品腐败的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2006.
- QI GH. Production of quorum sensing signal molecules and effect on food spoilage in *Pseudomonas* isolated from food [D]. Nanjing: Nanjing Agriculture University, 2006.
- [26] 徐先栋, 付辉云, 陈文静, 等. 南昌市周边主要水产养殖区池塘养殖草鱼体内优势细菌调查[J]. *江西农业学报*, 2019, 31(2): 91–97.
- XU XD, FU HY, CHEN WJ, *et al.* Investigation on dominant bacteria in reared grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) in main ponds around Nanchang City [J]. *Acta Agric Jiangxi*, 2019, 31(2): 91–97.
- [27] 许振伟, 李学英, 杨宪时, 等. 冷藏鲤鱼和罗非鱼优势腐败菌腐败能力分析[J]. *食品科学*, 2012, 33(4): 4.
- XU ZW, LI XY, YANG XS, *et al.* Analysis of spoilage ability of dominant bacteria from stored chilled *Cyprinus carpio* and *Oreochromis niloticus* [J]. *Food Sci*, 2012, 33(4): 4.
- [28] 杨兵, 李婷婷, 励建荣. 大菱鲆优势腐败菌的分离鉴定及其群体感应[J]. *中国食品学报*, 2017, 17(7): 139–145.
- YANG B, LI TT, LI JR. Isolation, identification and quorum sensing of dominant spoilage bacteria from *Scophthalmus maximus* [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2017, 17(7): 139–145.
- [29] 王慧敏, 王庆丽, 朱军莉, 等. 鲈鱼在微冻贮藏下品质及优势腐败菌的变化[J]. *食品工业科技*, 2013, 34(20): 6.
- WANG HM, WANG QL, ZHU JL, *et al.* Quality and dominated spoilage organisms changes of *Lateolabrax japonicus* during partially frozen storage [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2013, 34(20): 6.
- [30] 赵宏强, 蓝蔚青, 孙晓红, 等. 冷藏鲈鱼片优势腐败菌的分离鉴定及致腐能力分析[J]. *中国食品学报*, 2019, 19(8): 8.
- ZHAO HQ, LAN WQ, SUN XH, *et al.* Isolation and Identification of dominant spoilage bacteria in *Lateolabrax japonicus* fillets during chilled storage and their spoilage capability [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2019, 19(8): 8.
- [31] 吴燕燕, 钱茜茜, 朱小静, 等. 气调包装的调理啤酒鲈鱼片在微冻贮藏过程中的微生物群落多样性分析[J]. *食品科学*, 2019, 40(3): 7.
- WU YY, QIAN QQ, ZHU XJ, *et al.* Microbial community diversity of prepared sea bass fillet (*Lateolabrax japonicus*) with beer during partially frozen storage under modified atmosphere packaging [J]. *Food Sci*, 2019, 40(3): 7.

(责任编辑: 于梦娇 张晓寒)

## 作者简介



黄爱霞, 博士, 副研究员, 主要研究方向为水产品品质提升与精深加工。  
E-mail: imhaxia@aliyun.com



郝贵杰, 博士, 研究员, 主要研究方向为水产品质量安全与加工。  
E-mail: melissa511@sina.com