

农产品贮藏加工

不同贮藏温度下养殖鲤鱼菌相变化分析

朱琳^{1,2}, 郭全友²

(1.华威大学 生命科学学院, 考文垂 CV4 7AL; 2.中国水产科学研究院东海水产研究所, 上海 200090)

摘要: **目的** 通过研究在室温、低温环境下贮藏养殖鲤鱼的菌相、感官、化学和微生物学品质, 确定鲤鱼特定腐败菌、货架期和贮藏中鲜度变化, 为构建货架期预测模型提供基础。**方法** 分别取贮藏初始和贮藏温度分别为 0, 5, 10, 15, 25 °C 货架期终点的鲤鱼鱼肉进行菌落总数、假单胞菌、产 H₂S 菌计数、挥发性盐基氮 (TVBN) 值测定, 并确定特定腐败菌。**结果** 贮藏初始鲤鱼感官指标良好, 菌落总数、产 H₂S 菌、假单胞菌和 TVBN 值分别为 (4.34±0.58), (2.85±0.63), (3.42±0.45) lg(CFU/g) 和 (84.7±5.7) mg/kg。在 0, 5, 10, 15 °C 下贮藏的鲤鱼货架期分别为 (28.9±1.20), 15.9, 6.1, 3.6 d, 特定腐败菌为腐败希氏菌和假单胞菌; 室温货架期为 1.1 d, 特定腐败菌为气单胞菌。**结论** 基于鲤鱼低温和室温贮藏品质特征、货架期和菌群变化的结果, 为货架期模型构建提供了参考。

关键词: 鲤鱼; 鲜度; 货架期; 菌相; 特定腐败菌

中图分类号: S983 文献标识码: A 文章编号: 1001-3563(2021)09-0044-05

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2021.09.007

Changes in Bacteria Flora of Cultured Cyprinus Carpio Stored at Different Temperatures

ZHU Lin^{1,2}, GUO Quan-you²

(1.University of Warwick, School of life science, Coventry CV4 7AL, UK; 2.East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China)

ABSTRACT: In order to provide a basis for building shelf life prediction models of Cyprinus carpio, this report investigated the bacteria flora, sensory, chemical, and microbiological quality of Cyprinus carpio in storage at a room temperature and low temperature, and found out the changes in specific spoilage organisms (SSOs), shelf life and freshness during storage. The total number of bacterial colonies, pseudomonas spp, H₂S-producing bacteria, total volatile base nitrogen (TVBN), and SSOs of the carps were measured at the beginning of storage and at the end of shelf life at 0, 5, 10, 15 and 25 °C, respectively. The sensory quality of carps at the beginning of storage is fine, and the total number of colonies, Pseudomonas spp., H₂S-producing bacteria and TVBN were (4.34±0.58), (3.42±0.45), (2.85±0.63) lg(CFU)/g and (84.7±5.7) mg/kg, respectively. The shelf life of carps stored at 0, 5, 10 and 15 °C are (28.9±1.20), 15.9, 6.1 and 3.6 d, respectively, and the SSOs were Shewanella putrefaction and Pseudomonas spp. The shelf life at a room temperature was 1.1 d, and the SSO was Aeromonas. This report found that the quality, shelf life, and bacterial flora of carps changed under different storage temperature, which provided a reference for constructing shelf life prediction model.

KEY WORDS: Cyprinus carpio; freshness; shelf life; bacteria flora; specific spoilage organism

收稿日期: 2020-10-22

基金项目: 国家自然科学基金 (31871872); 中国水产科学院基本科研业务费资助项目 (2020TD68)

作者简介: 朱琳 (1996—), 女, 英国华威大学硕士生, 主攻食品微生物学和生物技术。

通信作者: 郭全友 (1974—), 男, 博士, 研究员, 主要研究方向为水产品加工与贮藏。

新鲜鱼类具有高水分活度、近中性 pH 的特点, 且鱼肉营养丰富、组织脆弱, 相较其他食品更容易腐败, 其中微生物代谢活动是导致腐败的主要原因^[1-3]。在相同生长条件下, 同种鱼体中的部分菌群生长迅速, 参与腐败过程并产生臭味和异味代谢物, 这些菌群即为该鱼种的特定腐败菌(Specific Spoilage Organism, SSO)^[4-6]。为延长水产品的货架期, 常用的保鲜方法有低温保鲜、气调保鲜、化学保鲜、生物保鲜等。其中, 低温保鲜方法具有加工便利的优点, 因而应用最为广泛。低温可抑制微生物的生长繁殖, 降低酶活性, 从而延长水产品的货架期^[7]。

鲤鱼(*Cyprinus carpio*)是我国淡水养殖的主要鱼种之一, 具有适应性强、耐缺氧、耐寒等特点, 广泛分布于全国各地淡水水体底层, 其肉味鲜美、肉质细嫩、市场需求旺盛, 产业价值十分重要^[7-8]。目前, 我国淡水鱼大多以鲜活或加入冰块的保鲜方式进入市场^[7]。鲤鱼运输和贮藏多采用冰藏或冷藏, 基于存在出现脱离冷链等现象, 对 0~25 °C 条件下的品质和菌相的差异性少见报道。文中通过对低温和室温贮藏养殖鲤鱼菌相、感官、化学和微生物学品质的研究, 确定鲤鱼在 0~25 °C 下贮藏过程的品质特定腐败菌、货架期和各鲜度指标菌相的变化情况, 为构建货架期预测模型提供基础。

1 实验

1.1 材料、试剂和仪器

主要实验材料: 从生产厂家和批发市场分别取 2 批活鲤鱼, 均捕获于福建省宁德市三都湾养殖场, 活鱼运至实验室后立刻使用冰水休克致死。将其分成 5 组, 1 组采用层冰层鱼的方式将鱼装入带有滴水孔的干净塑料泡沫箱中, 放入高精度低温((3.0±0.1) °C)培养箱中, 适时加冰, 即为冰藏(鱼体温度为 0~1 °C); 另外 4 组分别放入下有篦子能沥水的塑料盆中, 盖上有漏气孔的盖, 放入高精度低温培养箱中, 贮藏温度分别为 5, 10, 15, 25 °C。

主要实验试剂: Oxoid code CM 559 and SR 103、IA 培养基、CFC 培养基、胰酶解大豆胨琼脂培养基, 英国 Oxoid 公司; 琼胶培养基, 北京陆桥技术有限公司; 铁琼脂 IA 双层平板, 上海康乐培养基有限公司。

主要实验仪器: Sensititre 微生物鉴定系统, 英国 Trek Diagnostic System 公司; MIR 153, 253, 553 高精度低温培养箱, 日本 Sanyo 公司; CounterMat Flash 自动菌落成像分析系统, Basic Panoramic 拍打式均质器, 西班牙 IUL 公司; 3730 测序分析仪, 美国 ABI 公司。

1.2 方法

取初始试样鲤鱼, 首先对生鱼进行感官评价, 然后采用 GB/T 18108-2019 中的方式取样^[9-10], 将样品鱼去鳞、内脏和腮并清洗, 沿脊骨切开, 取半条鲤鱼蒸熟用于感官评价。另半条鱼使用均质器打碎, 用于菌落总数、产 H₂S 菌数、假单胞菌数和挥发性盐基氮值(Total Volatile Basic Nitrogen, TVBN)的测定。综合感官、化学和微生物指标判断各贮藏温度条件下贮藏的鲤鱼货架期, 取货架期终点的鲤鱼, 采用上述相同的方法对鱼肉进行微生物和化学分析。货架期、感官品质、菌落总数、产 H₂S 菌数、假单胞菌数、TVBN 的测定方法参考文献^[11-12]。

1.3 货架期的判定和菌相分析

1) 感官评价。参考张小伟等^[11]的感官评价方法, 由 6 名经过训练的评价员组成感官评价小组, 评价生鱼的气味和蒸熟后鱼的气味和味道。采用 3 分法进行评分, 0 为最好品质, 1 为鲜鱼的鲜香味消失, 0~1 为高品质期, 2 为明显出现臭味和异味即可接受界限。当半数或以上评价员评价 2 或以上时, 即为货架期终点(感官拒绝点)。各品质的特征参考文献^[11]。

2) 菌相分析。参考许振伟等^[13]的菌相分析方法。

1.4 数据处理

实验数据用 Microsoft Excel 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 鲤鱼感官、理化和微生物品质指标

由表 1 可知, 贮藏初始时鲤鱼感官指标良好, 菌落总数、产 H₂S 菌数、假单胞菌数和 TVBN 分别为(43.4±5.8), (28.5±6.3), (34.2±4.5)lg(CFU/g)和(84.7±5.7) mg/kg。在 0, 5, 10, 15, 25 °C 环境的贮藏过程中, 当体表粘液由透明变为污浊, 肌肉松软糜烂、眼球浑浊、鱼鳃褐色或灰白色, 蒸煮出现明显异味, TVBN 均值为 210.5 mg/kg (199.9~225.1 mg/kg), 在鲤鱼鲜度临界值(200~250 mg/kg^[14])内, 菌落总数为 10⁷~10⁸ CFU/g, 综合判定在 0~15 °C 下贮藏的鲤鱼货架期为 3.6~28.9 d, 室温(25 °C)下贮藏货架期仅为 1.1 d。TVBN 是食品中的蛋白质在内源性酶和细菌的共同作用下分解产生的含氮物质, 表示鱼体的腐败程度^[14]。低温使酶活性降低, 同时抑制部分细菌生长, 温度越低, 鱼体 TVBN 升至腐败临界值(200 mg/kg)以上所需的时间越长^[15]。有研究得出, 在 4 °C 下贮藏的鲤鱼货架期为 8 d 或 12 d^[14,16], 文中实验得出 5 °C 下贮藏的鲤鱼货架期为 15.9 d, 该差异说明同品种水产品的养殖环境和贮藏捕捞方式可能会对货架期造成显著影响。低温与室温货架期终点的微生物品质相似, 见表 1。

2.2 鲤鱼细菌菌相的变化

实验从4条初始试样鲤鱼中分离得到246株细菌,依据菌落形态、生理生化 and 细胞脂肪酸组成等进行鉴定,其中革兰氏阴性菌包括假单胞菌、肠杆菌、

不动细菌属等11种细菌,从4条试样鲤鱼中共分离出革兰氏阴性菌187株,占总菌株数的76.0%,革兰氏阳性菌包括棒状菌属、微球菌、链球菌、马红球菌等6种细菌,共分离出35株,占总菌株数的14.2%,见表2。

表1 在0~25℃下有氧冷藏鲤鱼的化学、微生物品质和货架期
Tab.1 Shelf life and chemical and microbiological qualities of *Cyprinus carpio* stored aerobically at 0~25℃

温度/℃	重复实验 次数 <i>n</i>	货架期/d	菌落总数/ lg(CFU·g ⁻¹)	产 H ₂ S 细菌/ lg(CFU·g ⁻¹)	假单胞菌数/ lg(CFU·g ⁻¹)	TVBN/(mg·kg ⁻¹)
初始	3		4.34±0.58	3.42±0.45	2.85±0.63	84.7±5.7
低温	0	28.9±1.20	6.70±0.20	5.50±0.28	6.28±0.31	199.9
	5	15.9	7.04	—	6.57	204.1
	10	6.1	7.56	—	7.17	204.3
	15	3.6	7.38	—	6.49	225.1
综合		3.6~28.9	7.17±0.38	5.50±0.28	6.63±0.38	20.84±1.13
室温	25	1.1	7.67±0.65	6.59±0.16	6.26±0.56	219±9.3

注:*n*为重复试验次数;表中部分数据因重复实验或重复测量,以“平均值±标准差”记录

表2 鲤鱼初始细菌种群
Tab.2 Bacterial flora composition of *Cyprinus carpio* at the initial stage

组别	细 菌	样品 1		样品 2		样品 3		样品 4		综合	
		菌株	占总菌株 比例/%	菌株	占总菌株 比例/%	菌株	占总菌株 比例/%	菌株	占总菌株 比例/%	菌株	占总菌株 比例/%
1	假单胞菌	17	34.69	4	7.4	20	26.31	3	4.5	44	17.9
2	肠杆菌	2	4.08	2	3.7	1	1.32	14	20.9	19	7.7
3	不动细菌属	2	4.08	6	11.11	5	6.58	0	0	13	5.3
4	气单胞菌属	6	12.24	14	25.93	9	11.84	12	17.9	41	1.7
5	黄杆菌属	1	2.04	0	0	4	5.26	6	9.5	11	4.5
6	脉放线杆菌	0	0	6	11.11	4	5.26	0	0.0	10	4.1
7	嗜冷杆菌属	2	4.08	10	18.52	9	11.84	8	11.9	29	11.8
8	巴斯德氏菌属	2	4.08	0	0	0	0	0	0	2	0.8
9	腐败希瓦氏菌	1	2.04	2	3.7	2	2.63	0	0	5	2.0
10	弧菌	0	0	0	0	0	0	10	14.9	10	4.1
11	皮氏罗尔斯顿菌	0	0	0	0	0	0	3	4.5	3	1.2
革兰氏阴性菌小计		33	67.33	44	81.47	54	71.04	56	83.6	187	76.0
12	棒状菌属	0	0	2	3.7	0	0	3	4.5	5	2.0
13	藤黄微球菌	1	2.04	0	0	7	9.1	2	3.0	10	4.0
14	链球菌	0	0	0	0	1	1.32	0	0	1	0.4
15	马红球菌	0	0	2	3.7	2	2.63	0	0	4	1.6
16	蜡样芽孢杆菌	8	16.33	2	3.7	3	3.95	0	0	13	5.3
17	沃氏葡萄球菌	1	2.04	0	0	0	0	1	1.5	2	0.8
革兰氏阳性菌小计		10	20.41	6	11.10	13	17.11	6	9.0	35	14.2
未鉴定		6	12.24	4	7.4	9	11.84	5	7.5	24	9.8
总计		49	99.98	54	99.97	76	99.99	67	100	246	100

在 0~15 ℃下贮藏货架期终点时，腐败希瓦氏菌和假单胞菌为鲤鱼的特定腐败菌，两者菌株数所占比例接近，分别为 35.6%和 38.4%，同时出现了一定比例的气单胞菌(占总菌株数的 10.9%)。在室温(25 ℃)下贮藏鲤鱼的特定腐败菌为气单胞菌，其菌株数所占比例为 53.8%，同时出现了假单胞菌和成团泛菌等，见表 3。许振伟^[13]研究发现，接种假单胞菌和腐败希瓦氏菌的鲤鱼鱼块在冷藏货架期终点时假单胞菌的产量因子大于腐败希瓦氏菌，得出鲤鱼的特定腐败菌为假单胞菌，但两菌的菌数十分相近，与该实验基本相符。

表 3 在 0~25 ℃下贮藏鲤鱼货架期终点时的细菌种群
Tab.3 Bacterial flora composition of *Cyprinus carpio* at the end of shelf life in low and ambient temperatures at 0~25 ℃

类别	细菌群落	0~15 ℃		25 ℃	
		菌株数	占总菌株比例/%	菌株数	占总菌株比例/%
1	腐败希瓦氏菌	52	35.6	2	3.8
2	假单胞菌	56	38.4	9	17.3
3	不动杆菌	5	3.4	2	3.8
5	气单胞菌	16	10.9	28	53.8
6	黄单胞菌	2	1.4	0	0
8	嗜冷杆菌	3	2.1	3	5.8
9	成团泛菌	0	0	5	9.6
10	未鉴定	12	8.2	3	5.8
合计		146	100	52	100

3 结语

通过研究低温和室温下贮藏鲤鱼的菌相、感官、化学和微生物学品质，确定了鲤鱼在不同贮藏温度下的鲜度指标、货架期和菌相的变化，为构建鲤鱼货架期预测模型提供了基础。结果表明，在 0，5，10，15，25 ℃下贮藏的鲤鱼货架期分别为(28.9±1.20)，15.9，6.1，3.6，1.1 d；在 0~15 ℃下贮藏时，假单胞菌和腐败希瓦氏菌为鲤鱼的特定腐败菌；在室温下贮藏时，气单胞菌为鲤鱼的特定腐败菌。实验得出鲤鱼在低温和室温下的贮藏品质特征、货架期和菌群的变化，为靶向抑菌和鲜度保持提供了参考。

参考文献：

[1] GHALY A, DAVE D, BUDGE S M, et al. Fish Spoilage Mechanisms and Preservation Techniques: Review[J]. American Journal of Applied Sciences,

2010, 7: 859—877.
[2] 曲敏. 鲜鱼冷却链物流技术与货架期预测[J]. 现代农业科技, 2011(21): 334—336.
QU Min. Cold Chain Logistics Technology and Shelf Life Prediction for Fresh Fish[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2011(21): 334—336.
[3] ODEYEMI O A, BURKE C M, BOLCH C C J, et al. Seafood Spoilage Microbiota and Associated Volatile Organic Compounds at Different Storage Temperatures and Packaging Conditions[J]. International Journal of Food Microbiology. 2018, 2(280): 87—99.
[4] GRAM L, HUSS H H. Microbiological Spoilage of Fish and Fish Products[J]. International Journal of Food Microbiology, 1996, 33(1): 121—137.
[5] 唐文静, 王楚文, 柳云龙, 等. 冷藏海鲈鱼优势腐败菌的筛选和鉴定[J]. 食品科学, 2016, 37(3): 170—174.
TANG Wen-jing, WANG Chu-wen, LIU Yun-long, et al. Isolation and Identification of Specific Spoilage Organisms in Chilled Sea Bass[J]. Food Science, 2016, 37(3): 170—174.
[6] LIU Xiao-chang, ZHANG Huang, JIA Shi-liang, et al. The Roles of Bacteria in the Biochemical Changes of Chill-Stored Bighead Carp (*Aristichthys Nobilis*): Proteins Degradation, Biogenic Amines Accumulation, Volatiles Production, and Nucleotides Catabolism[J]. Food Chemistry, 2018, 255: 174—181.
[7] 李静雪. 天然保鲜剂对冰温鲤鱼鱼肉保鲜效果的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014: 1—6.
LI Jing-xue. The Effect of Preservation of Carp Surimi Added Natural Preservatives during Superchilling Storage[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2014: 1—6.
[8] 何雪莹. 冰温保鲜对鲤鱼鱼肉品质特性及其理化特性影响的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2012: 1—9.
HE Xue-ying. Influence of Regulating Superchilling on the Quality and Physicochemical Properties of Common Carp Muscle during Storage[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2012: 1—9.
[9] GRAM L, DALGAARD P. Fish Spoilage Bacteria-Problems and Solutions[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2002, 13: 262—266.
[10] GB/T 18108—2019, 中国国家标准鲜海水鱼通则[S]. GB/T 18108—2019, Chinese Standard General Rules of Fresh Marine Fish[S].
[11] 张小伟, 许钟, 郭全友, 等. 去除内脏对冰藏鲤鱼感官、化学和微生物变化的影响[J]. 中国水产科学, 2010, 17(2): 337—343.
ZHANG Xiao-wei, XU Zhong, GUO Quan-you, et al.

- Effect of Gutting on Sensory Chemical and Microbiological Changes of Carp (*Cyprinus Carpio*) Stored in Ice[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17(2): 337—343.
- [12] 郭全友, 许钟, 杨宪时. 冷藏养殖大黄鱼品质变化特征及细菌相分析[J]. 上海水产大学学报, 2006, 15(2): 216—221.
- GUO Quan-you, XU Zhong, YANG Xian-shi. Research on Quality Change Characteristics and Bacteria Flora of Chilling Cultured *Pseudosciaena Crocea*[J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2006, 15(2): 216—221.
- [13] 许振伟. 冷藏鱼类腐败菌腐败能力分析[D]. 上海: 上海海洋大学, 2011: 36—40.
- XU Zhen-wei. Analysis of Spoilage Ability of Spoilage Bacteria Stored from Chilly Stored Fishes[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2011: 36—40.
- [14] 胡素梅, 张丽娜, 罗永康, 等. 冷藏和微冻条件下鲤鱼品质变化的研究[J]. 渔业现代化, 2010, 37(5): 38—42.
- HU Su-mei, ZHANG Li-na, LUO Yong-kang, et al. Study on the Quality Changes of Common Carp during Chilled Storage and Partial-Freezing Storage[J]. Fishery Modernization, 2010, 37(5): 38—42.
- [15] 王敬, 钱坤, 任连泉. 鲤鱼在冷冻贮藏下鱼肉品质变化研究[J]. 农产品质量与安全, 2020(1): 91—93.
- WANG Jing, QIAN Kun, REN Lian-quan. Carp Fish Quality Changes in Frozen Storage[J]. Quality and Safety of Agro-Products, 2020(1): 91—93.
- [16] 王立娜, 朱丹实, 吴晓菲, 等. 两种贮藏温度对鲤鱼肉感官品质影响的差异性分析[J]. 食品工业科技, 2016, 37(5): 343—370.
- WANG Li-na, ZHU Dan-shi, WU Xiao-fei, et al. Difference Analysis on Sensory Quality of Carp during Two Storage Temperatures[J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(5): 343—370.