

不同降温速率休眠的加州鲈无水保活品质比较

王彩霞^{1,2}, 白婵¹, 李宁¹, 雷小雨², 王炬光¹, 熊光权¹, 廖涛¹

(1. 湖北省农业科学院农产品加工与核农技术研究所, 湖北武汉 430064)

(2. 武汉工程大学化学与环境工程学院, 湖北武汉 430205)

摘要: 为了研究不同降温速率休眠对加州鲈无水保活的影响, 按照 1、3、5 °C/h 降温速率将暂养水温为 10~13 °C 鱼样降至临界温度 0 °C 至其休眠, 3 °C 保活, 分别保活 12、14、16 h 后, 测定该过程加州鲈血液生化指标和肌肉品质的变化, 以期获得最优的降温速率提高存活率。结果表明: 3 °C/h 降温, 3 °C 保活效果最好, 保活 16 h 后复苏率达 85.75%, 复苏率明显高于其他两实验组; 随保活时间延长 3 个降温速率处理组加州鲈血液中皮质醇、谷草转氨酶、丙二醛、尿素氮、乳酸含量均会显著升高($p<0.05$), 鳃 Na^+/K^+ -ATPase、白蛋白含量会显著降低($p<0.05$), 保活 16 h 以上指标升高或降低值基本为对照组的 1~2 倍; 与对照组相比, 粗蛋白含量、全质构指标中硬度、胶黏性、咀嚼性等肌肉指标随保活时间延长会显著降低($p<0.05$)指标, 以上指标 3 °C/h 降温组减小值显著低于其他两实验组($p<0.05$)。综上所述, 3 °C/h 降温保活对鱼肝脏和肾脏影响较小, 既可保证运输较长时间的存活率, 也能保证该过程鱼的肌肉品质变化较小。

关键词: 低温休眠; 无水保活; 加州鲈; 血液指标; 肌肉品质

文章编号: 1673-9078(2020)05-129-137

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.5.018

Comparison of Dormancy at Different Cooling Rates on the Survival of *Micropterus salmoides* without Water

WANG Cai-xia^{1,2}, BAI Chan¹, LI Ning¹, LEI Xiao-yu², WANG Ju-guang¹, XIONG Guang-quan¹, LIAO Tao¹

(1. Institute of Agro-Products Processing and Nuclear Agricultural Technology, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430064, China)

(2. College of Chemistry and Environmental Engineering, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430205, China)

Abstract: In order to study the effect of different cooling rates on the survival of *Micropterus salmoides* without water, the temperature for temporary culture water (10~13 °C) was reduced, at a cooling rate of 1, 3 or 5 °C/h, to the critical temperature (0 °C) to make the fish go dormant, and the fish was kept alive at 3 °C for 12, 14 or 16 hours, respectively. Then, the changes of the blood biochemical indices and muscle quality of *Micropterus salmoides* were determined during this process, to obtain the optimal cooling rate and improve the survival rate. The results showed that a cooling rate of 3 °C/h along with the temperature for keep-alive at 3 °C was the most effective, and the rate of resuscitation from dormancy and after 16-h keep-alive reached 85.75%, which was significantly higher than those of the other two groups; With the extension of keep-alive time, the contents of cortisol, aspartate aminotransferase, malondialdehyde, urea nitrogen and lactate in the blood of the three cooling-treated groups increased significantly ($p<0.05$), whilst the contents of Na^+/K^+ -ATPase and serum albumin in the gills decreased significantly ($p<0.05$). The increases or decreases of the above indices for the group after 16-h keep-alive were 1~2 times those of the control group. Compared with the control, the content of crude protein and the muscular texture indices such as hardness, adhesiveness and chewiness were significantly reduced with the extension of keep-alive time ($p<0.05$). The decreases in the above indices of the 3 °C/h cooling group were significantly lower than those of the other two experimental groups ($p<0.05$). In summary, cooling at 3 °C/h for the keep-alive process had

引文格式:

王彩霞,白婵,李宁,等.不同降温速率休眠的加州鲈无水保活品质比较[J].现代食品科技,2020,36(5):129-137

WANG Cai-xia, BAI Chan, LI Ning, et al. Comparison of dormancy at different cooling rates on the survival of *Micropterus salmoides* without water [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(5): 129-137

收稿日期: 2019-10-28

基金项目: 现代农业产业技术体系专项资金资助 (GARS-46); 湖北省科技特派员项目; 湖北省农业科技创新中心项目 (2019-620-000-001-25)

作者简介: 王彩霞 (1992-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 水产品保活运输研究

通讯作者: 熊光权 (1965-), 男, 研究员, 研究方向: 水产品加工; 共同通讯作者: 廖涛 (1979-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 水产品加工与安全研究

relatively little effect on the liver and kidneys of the fish, which can not only guarantee the survival rate of fish subjected to long distance transport, but also ensure least changes in muscle quality of fish during this process.

Key words: low-temperature dormancy; survival without water; *Micropterus salmoides*; blood index; muscle quality

世界人口每天都在增加,对食物的需求量也在不断增加,鱼肉是人体蛋白质的主要来源,直接引领水产养殖业发展迅速,预计至少到2025年还会持续增长^[1],而在中国,消费者更喜欢购买刚被宰杀的鱼,因为在中国传统文化中,人们认为刚被宰杀的鱼比死鱼营养价值更丰富,而且味道更鲜美^[2]。为满足全国各地广大消费者的需求,水产活运技术迅速引起了广大研究者的关注。

传统活鱼运输主要以有水运输为主,运输过程需要大量的水来辅助运鱼,但运输途中由于鱼的呼吸和排泄水质会迅速恶化,引发鱼的大批量死亡,这样很大程度上增加了运鱼成本。无水运输可以避免以上有水运输的缺点近年来在我国发展迅速,无水保活是通过生态冰温或麻醉剂使水产品进入休眠状态,然后在无水低温状态下进行保活运输。Same^[3]等报道称预冷具有冬眠效应,对虾在运输过程可延长存活时间,Zeng^[4]研究了以1、5 °C/h 降温速率低温驯化鲫鱼至休眠状态,将鲫鱼分别置于0、4 °C保活,结果发现1 °C/h 降温,0 °C保活的条件下,鲫鱼无水保活时间可达24 h,并且发现低温驯化有助于在无水保活的情况下保持好氧和厌氧代谢,降低血液氧化损伤达到延长保活时间的目的。Mi^[5]采用丁香酚麻醉鲫鱼,以90%的氧气和95%的相对湿度,于8 °C保活38 h,然后转移到淡水中复苏,发现无水保活后的鱼样总挥发性盐基氮含量和2-硫代巴比妥酸值显著高于新鲜对照组和复苏组,而汁液损失率和蒸煮损失率均无明显变化,这说明经无水保活后的鲫鱼品质会稍微有所下降。

水产品休眠方式不同直接导致无水保活操作繁琐程度存在差异,麻醉剂休眠方式优点是操作简单、高效、快速,但是目前常用的麻醉剂存在安全隐患^[6],且我国并未有相关法律法规作指导,让消费者心存芥蒂不易接受,因此,本文利用物理麻醉法-低温休眠麻醉方式,探索了不同降温速率及不同保活时间过程对加州鲈生理生化及肌肉品质的影响,为研究淡水鱼的无水保活提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

实验用鱼是春季3月份购于湖北嘉鱼县水产养殖市场,将购买后的实验用鱼放在提前曝气的自来水中

暂养2~3 d,挑选无外伤、鳞片完整、眼球明亮有光泽、体长基本一致的健康加州鲈作为实验原材料(质量为300±20 g)。实验用水:自来水经日光暴晒通氧曝气两天后用于实验。水温:10~13 °C,溶氧量:6~8 mg/L, pH 6~7。

1.2 试剂仪器

LRH-250CL 低温生化培养箱,上海一恒科学仪器公司;3k15 高速冷冻离心机,美国Sigma公司;FD5-Serious 真空冷冻干燥机, GOLD SIM 仪器公司;SPARK 酶标仪,瑞士TECAN 仪器公司;K9860 全自动凯氏定氮仪,济南海能仪器公司;哈希多功能pH计,美国哈希分析仪器有限公司;Direct-Q® 5UV 超纯水,美国Millipore公司;塑料箱、充气泵、热电偶、数字温度计、塑料自封袋、秒表材料设备。

1.3 实验方法

1.3.1 临界温度的测定

将实验用鱼于10~13 °C水中缓慢降温,观察并记录加州鲈在不同温度下的呼吸频率及状态,以呼吸开始不规律到极不规律的温度作为其临界温度范围^[7]。

1.3.2 保活温度测定

按照5 °C/h 降温速率将暂养玻璃缸中水温从10~13 °C降至鱼的临界温度,接着在冰水混合物中浸泡至鱼样对外界刺激应激十分微弱后捞出,置于充氧袋中,每袋2条,封口充氧,分别置于1、3、5、7 °C生化培养箱模拟无水运输,模拟运输时间设定为10 h,保活后于室温清水中复苏并计算存活率(每组10条鱼,重复2次),以养殖池中饥饿驯化暂养过,未经降温、运输操作的鲈鱼作为对照组。

1.3.3 样品预处理

取清水暂养两天后的鱼样分装到60 L 玻璃冷水循环小缸,每个缸20尾鱼进行生态冰温麻醉实验(水空调分别按照1、3、5 °C/h 降温速率将暂养玻璃缸中水温从10~13 °C降至鱼休眠的临界温度,接着在冰水混合物中浸泡至鱼样对外界刺激应激十分微弱后捞出,置于充氧袋中,每袋2条,封口充氧,于3 °C生化培养箱模拟无水运输。分别保活0、12、14、16 h后,随机选取3尾鱼尾部静脉采血,取鳃组织、肌肉组织,-40 °C冰箱保存;其他鱼样在10~13 °C玻璃水缸中唤醒,以观察测定在不同降温速率下保活不同时

间的存活率;以养殖池中饥饿驯化暂养过,未经降温、运输操作的鲈鱼作为对照组。

1.3.4 生化指标测定

鳃 Na^+/K^+ -ATPase(NKA)、谷草转氨酶(GOT)、丙二醛(MDA)、尿素(UREA)、乳酸(LA)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)采用南京建成生物工程研究所相关试剂盒测定,皮质醇(COR)采用 Fish Cortisol ELISA KIT 武汉纯度生物试剂盒。

1.3.5 肌肉指标测定

全质构测定:加州鲈背部肌肉切成 2.0 cm×2.0 cm×1.0 cm 小块用于测质构,将鱼样置于 TA.XT.Plus 型物性测试仪上,探头类型为 P36/R,测试前探头下降距离为 25 mm,测试速度为 1 mm/s,测试后探头回程速度为 5 mm/s,测试时接触力是 5 g 压缩 2 次,每个样品平行测定 6 次。

蛋白质测定:蛋白质的测定参照 GB/T 5009.5-2016^[8]的凯氏定氮法进行测定。

1.4 数据分析

应用 SPSS 19.0 软件对实验数据进行统计分析,显著性分析采用 Duncan 多重比较法, ($p<0.05$)表示显著性差异,图表的绘制采用 Origin 9.0 软件。

2 结果与分析

2.1 临界温度

鱼贝类等冷血动物都存在一个区分生死的生态冰温零点或称作临界温度,生态冰温零点不同于温度计的 0 °C,它很大程度上受环境温度的影响,可以通过观察鱼贝类在不同温度下的呼吸状态来确定其临界温度,把生存冰温零点降低或接近冰点是活体动物长时间保活的关键^[9]。对于某些温水鱼即临界温度在 0 °C 以上的鱼类,通过低温暂养驯化其耐寒性,使其在生态冰温范围内仍能存活,这样经过低温驯化的水产动物,即使环境温度低于生存冰温零点也能保持冬眠状态而不死亡。本实验在初春三月开展,所用鱼样为健康加州鲈成鱼,对于广温性加州鲈经过冬季的过渡,其临界温度降低至 0 °C。

表 1 不同温度下加州鲈的呼吸频率及行为状态

Table 1 Breath frequency and behavior of *Micropterus salmoides* at different water temperature

温度/°C	呼吸频率/(次/min)	备注
12.8	46±5	呼吸减缓,正常游动
11.2	35±4	活力下降,游动缓慢,反应迟钝
7.6	30±4	尾部充血
6.4	27±3	贴缸底,比较镇静
4.0	25±3	嘴巴大张呼吸开始不规律,游动剧烈,鱼头摇摆不定
3.6	23±3	四处乱游,应激很大
3.1	20±2	浮头,四处乱游
2.0	15±2	呼吸缓慢
1.5	13±2	贴于缸底,基本不游动
0.7	11±1	鳃动缓慢
0.5	10±1	保持平衡,镇静不动
0	5±1	呼吸微弱,保持平衡,镇静不动
-0.3	3±1	弯曲成弓形,咧腮,无呼吸,进入麻醉状态短时存活后全部死亡

由表 1 可知,加州鲈在降温过程 4 °C 开始呼吸不规律,继续降温后一段时间不规律性逐渐加剧,到 3 °C 呼吸极不规律会跳缸浮头,随降温继续进行鱼又会逐渐恢复平静,直至降低到 0 °C,呼吸逐渐消失,咧腮,剧烈扭动身体,对外界已无反应。若鱼一直处于此温度下,30 min 后鱼基本会进入麻醉状态,接着继续浸泡鱼会陆续开始死亡,即此时温度已达到鱼的生态冰温零点。

2.2 保活温度

在无水保活过程中,保活温度对于保活过程中鱼存活率有较大的影响,为确定较佳保活温度,将降温休眠后的鱼样分别置于 1、3、5 和 7 °C 培养箱中模拟保活运输,运输时间设置为 10 h。结果如图 1 所示。

发现随保活温度升高加州鲈的复苏率先升高后降低,保活温度为 3 °C 时复活率达 100%,这可能是 1 °C 保活时温度接近鱼的临界温度,若鱼一直处于该温度下会麻醉过度至其死亡,复苏率大大降低;3 °C 保活既可使鱼在保活过程中不长时间处于生死临界状态,又能让鱼在相对较低的环境温度中减弱呼吸频率

处于休眠状态；随保活温度升高鱼的代谢明显加快，不利保活。即在后续实验中选取 3℃进行无水保活实验。

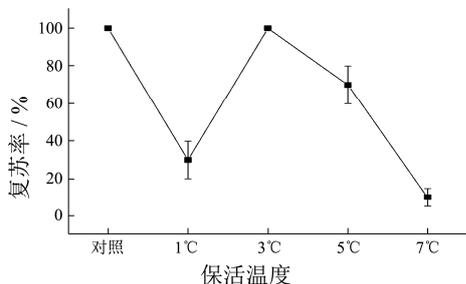


图 1 不同保活温度对加州鲈复苏率的影响

Fig.1 Effect of different temperature on the survival rate of *Micropterus salmoides* in the process of keeping alive without water

2.3 不同降温速率对加州鲈无水活运后存活率的影响

表 2 不同降温速率下加州鲈保活不同时间的存活率

Table 2 Changes of survival rate *Micropterus salmoides* during keep-alive transportation process

降温速率/(°C/h)	存活率/%		
	12 h	14 h	16 h
1	100	100	78.67
3	100	100	85.75
5	100	83.35	57.12

不同降温速率低温休眠保活不同时间后的鱼样，直接置于室温 10~13℃曝气后的清水中进行复苏，可以观察到刚进入清水时身体比较僵硬，基本全部沉在缸底，待恢复几分钟后鱼鳃开始缓慢张合，鱼尾部开始缓慢摆动，鱼处于失去平衡状态，恢复大概 10 min 后，鱼鳃张合次数越来越快呼吸频率越来越大，鱼尾巴摆动也开始变得剧烈，鱼可以正常绕鱼缸游动几圈后，又会失去平衡，恢复 25 min 左右后鱼基本可以正常游动，呼吸频率也会恢复到接近正常状态。表 2 为不同降温速率下加州鲈保活不同时间的存活率状况，由表 2 很容易看出保活时间相对较短时各组间存活率没有差异，存活率均为 100%，随保活时间延长，保活 14 h 后 5℃/h 的降温速率的存活率降低为 83.35%。当保活时间延长至 16 h 时，3℃/h 降温速率组的存活率明显高于其他两组达 85.75%，这可能是鱼在经过低温预处理时并不适合太快或太慢进入麻醉状态，降温速率太快和太慢均对鱼体自身伤害较大，综上所述可以看出，降温速率为 3℃/h 对鲈鱼保活效果最好，实验结果与张玉晗^[10]研究结果一致。

2.4 不同降温速率和无水活运时间对加州鲈生化指标的影响

2.4.1 降温速率和无水活运时间对加州鲈应激的影响

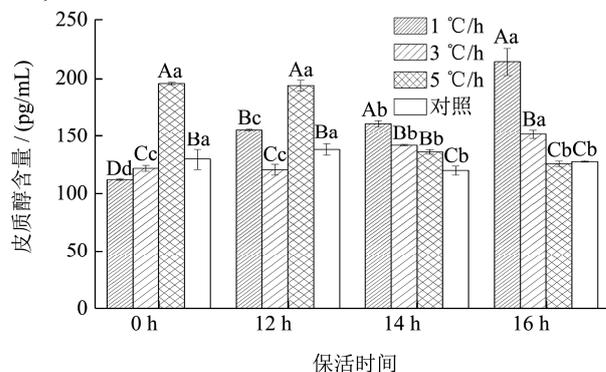


图 2 降温速率和无水活运时间对加州鲈血清中皮质醇的含量影响

Fig.2 Changes of cortisol content of *Micropterus salmoides* during keep-alive transportation process

注：不同大写字母为不同处理组同一时间点的差异显著；不同小写字母为同一组在不同时间点的差异显著， $p < 0.05$, (n=3), 下同。

目前已经有研究证明麻醉会引起缺氧和酸碱紊乱^[11]，儿茶酚胺、皮质醇的释放以及高糖血症等这些都是众所周知的引起应激反应的应激源^[12]。本研究通过不同降温速率将加州鲈逐渐麻醉至休眠状态，该过程应激情况结果如图 2 所示，明显可以看出降温至休眠状态时 5℃/h 降温后的鱼样血液中皮质醇的含量比其他 2 个降温组升高 65%左右，即与长时间慢速降温相比，较短时间快速降温对鱼产生的应激更为剧烈，随保活时间的延长，1、3℃/h 降温处理的鱼样血清中皮质醇含量会一直显著升高($p < 0.05$)，与对照组相比，保活 16 h 后 1、3℃/h 组分别升高 67.27%、18.79%。刘骁^[13]研究团头鲂经过 14 h 无水保活后血清中皮质醇含量明显增加，这与本研究结果一致。5℃/h 组在降温阶段，由于降温速率较快对鱼造成强烈刺激，皮质醇含量升高到相对较高的水平，短时间内皮质醇含量升高会促进机体自身来应对不利因素以便保证正常生命活动，且现有研究表明应激引起的血浆皮质醇升高可抑制鲑类鱼的免疫能力^[14,15]，即 5℃/h 组鱼的免疫能力受到抑制，在保活过程中随保活时间的延长，免疫能力继续降低，皮质醇含量下降无法应对不利因素以保证正常生命活动^[14]，这与随保活时间延长鱼的复苏率降低明显结果一致，与缓慢降温结果相反，即 5℃/h 不适合作为加州鲈无水休眠的降温速率。

2.4.2 降温速率和无水活运时间对加州鲈肝脏器官的影响

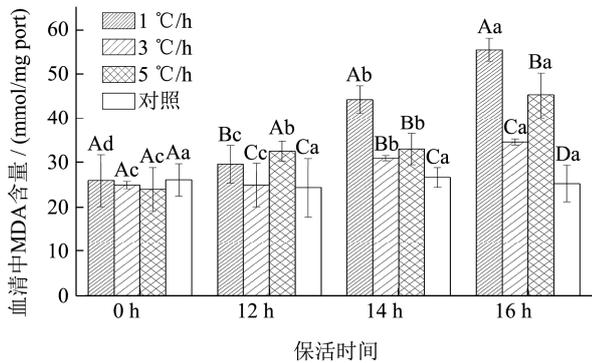


图3 降温速率和无水活运时间对加州鲈血清中MDA酶活性的影响

Fig.3 Effect of cooling rate on MDA concentration in liver tissue of *Micropterus salmoides* during live transportation without using water

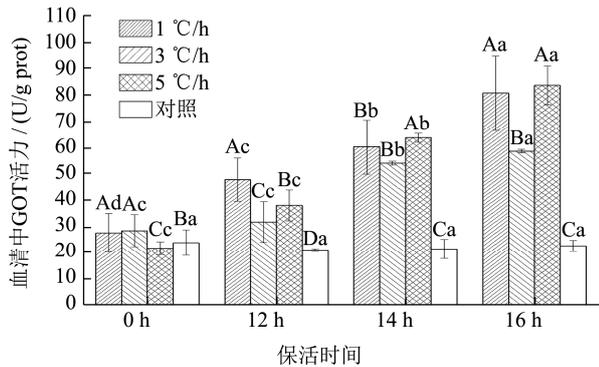


图4 降温速率和无水活运时间对加州鲈血清中GOT酶活性的影响

加州鲈在无水生保活过程中一直处于不利环境，自身会遭受伤害，该过程体内活性氧会不断积累进而诱发膜脂过氧化，膜脂氧化的产物有脂类过氧化物、丙二醛(MDA)、乙烷等，其中MDA是膜脂过氧化最重要的产物之一，因此可以通过测定MDA的含量了解膜脂氧化的程度，以间接测定肝脏细胞膜系统受损程度^[16]。如图3所示，降温结束鱼样进入麻醉状态后，3个不同降温速率组与对照组相比MDA浓度无显著差异，但随着运输时间的延长，3个不同降温速率处理组血清中MDA浓度均会显著增加($p < 0.05$)；保活至16h时3 °C/h降温组MDA含量分别低于1、5 °C/h降温组60.58%、31.3%，这可能是因为3 °C/h降温对于加州鲈氧化应激影响较小，使鱼处于抗逆性较强的水平，对鱼肝脏影响最小，这一实验结果与张玉晗^[10]等研究的低温休眠处理花鲈无水保活过程，3 °C/h组处理后无水活运8h对花鲈肝组织损害程度低完全一致。正常状况下GOT主要分布肝脏和心肌细胞中，

血清中含量极低，肝脏细胞膜系统受损后，GOT会渗透到血液中，使血液中的GOT水平升高，即判断肝脏细胞是否受损需测定血清中GOT含量，来判断肝脏细胞是否受到损伤。如图4所示，降温结束后1、3 °C/h这两个不同降温速率组与对照组相比GOT浓度有所升高，对鱼的肝脏有一定程度损伤；但随着运输时间的延长，3个不同降温速率处理组血清中GOT浓度与对照组相比显著升高分别升高2.57、1.59、2.71倍，对鱼肝脏损伤加重，这与上述研究结果一致，3 °C/h降温对鱼肝细胞膜脂过氧化影响最小，即3 °C/h降温对鱼肝脏损伤较小。

2.4.3 降温速率和无水活运时间对加州鲈肾脏代谢器官的影响

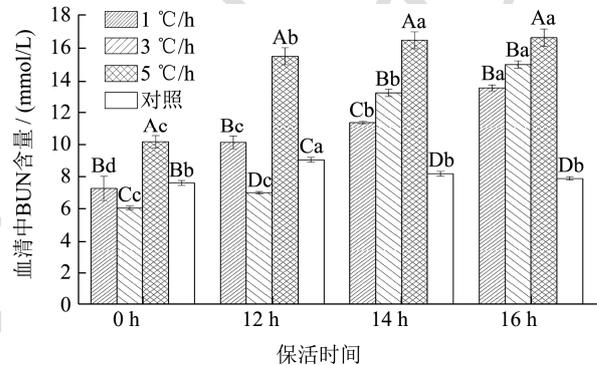


图5 降温速率和无水活运时间对加州鲈血清中BUN酶活性的影响

在鱼体内蛋白质代谢过程中，首先在肝脏产生氨，氨被分解成尿素，肾脏将多余的尿素过滤到尿液中，但有些尿素作为血清尿素进入血液，血清尿素浓度是决定肾脏功能是否正常的重要因素，高水平的血清尿素意味着肾脏不能正常过滤。尿素增加与代谢紊乱特别是排泄有关。在代谢改变的情况下，尿素的产量增加更多，会造成肾功能问题^[17]。如图5所示，在降温休眠阶段，5 °C/h组与其他组相比，血清尿素氮含量显著高于其他组水平($p < 0.05$)，3 °C/h组结果显著低于对照组($p < 0.05$)，这可能是因为5 °C/h降温速率较快，对鱼造成应激强烈鱼体皮质醇增大，刺激血清尿素的释放；3 °C/h降温速率较为缓慢，降温速率合适对鱼造成的应激刺激较弱，血清中尿素氮的含量释放较少。保活阶段，随保活时间延长5 °C/h组升高最为迅速且升高后一直保持在较高水平，整体来看3个降温组血清中尿素氮的含量会一直升高，这与刘卫东^[18]研究的无水保活的大菱鲆血液中的尿素氮含量显著高于对照组的的结果一至。保活16h时，1、3、5 °C/h组尿素氮含量分别为13.55±0.18、14.99±0.23、16.64±0.54 mmol/L，说明5 °C/h降温对加州鲈无水保活过程中肾

脏的损伤相对较大。

2.4.4 降温速率和无水活运时间对加州鲈免疫方面的影响

在脊椎动物血浆中，白蛋白占血浆总蛋白含量的52%~60%，主要通过特定结合位点形成非共价复合物，在转运内源性配体和外源性生物方面发挥重要作用^[19]，它可以运输金属离子、脂肪酸、胆固醇、胆色素和药物，与代谢有密切关系，当鱼处于休眠状态，呼吸代谢较弱时白蛋白的含量会显著降低^[20]。如图6所示，清水养殖的对照组随时间变化血清中的白蛋白含量处于相对稳定水平，数值变化无显著性差异($p>0.05$)，在降温休眠过程，3个降温速率与对照组相比血清中白蛋白含量分别降低18.44%、10.5%、15.87%。保活过程随保活时间延长，降温组白蛋白含量会显著降低($p<0.05$)，保活16h，1、3、5℃/h与对照组鱼血清白蛋白含量分别为 9.15 ± 0.48 、 10.38 ± 0.65 、 7.26 ± 0.54 、 16.91 ± 0.59 g/L，3℃/h组与对照组值最接近，这可能是因为在保活过程中，鱼长期处于无水休眠不利环境状态，其代谢较低，对氨基酸等营养物质吸收不良，白蛋白分解加剧，同时肝脏组织损伤炎症加重、肾病综合症等多发炎症加剧了白蛋白的流失，进而导致保活时间延长白蛋白含量减少，这与何蓉^[21]等研究的无水保活条件下的中华鳖于4℃和18℃组的ALB浓度在保活初期显著下降结果一致。

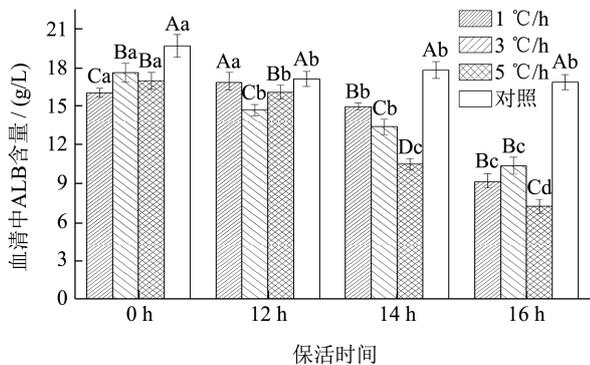


图6 降温速率和无水活运时间对加州鲈血清中白蛋白含量的影响

Fig.6 Changes of albumin *Micropterus salmoides* during keep-alive transportation process

2.4.5 降温速率和无水活运时间对加州鲈呼吸方式的影响

血清乳酸是反应细胞内是否缺氧的敏感标志物，也是无氧糖代谢的产物，血清乳酸只能在肝脏和肾脏中代谢清除，当肝、肾功能处于障碍状态时，可导致细胞膜通透性增高造成血清乳酸不同程度升高^[22]。在实验过程中加州鲈体内的乳酸水平发生了不同程度的变化，由图7所示，在降温阶段3个不同降温速率组

鱼样血清乳酸含量与对照组相比显著减少($p<0.05$)，1℃/h降温组降低至对照组的1/2。保活阶段随保活时间的延长，各实验组中血清乳酸含量均会显著增加($p<0.05$)，王立红^[23]研究的温度对黄颡鱼无水保活工艺的影响中随保活时间延长黄颡鱼体内乳酸含量会大量积累，与此结果完全一致。5℃/h组血清含量升高明显高于另外两个实验组，保活16h时，5℃/h组比1、3℃/h乳酸含量分别高32.81%、20.76%，在降温麻醉阶段鱼样一直处于有水状态，随温度的降低鱼的呼吸频率一直减弱，鱼处于富氧状态即降温过程实验组血清乳酸含量明显低于对照组；在保活阶段5℃/h降温组乳酸含量高于其他两组原因可能是，5℃/h降温对鱼造成强烈应激胁迫会直接引起血清乳酸含量升高^[24,25]，随保活时间延长鱼处于无水状态肝、肾功能出现障碍，血清乳酸无法及时清除以致在鱼体内积累对鱼造成更大程度的伤害，即5℃/h降温组保活至14h后就会出现复苏率降低的情况。

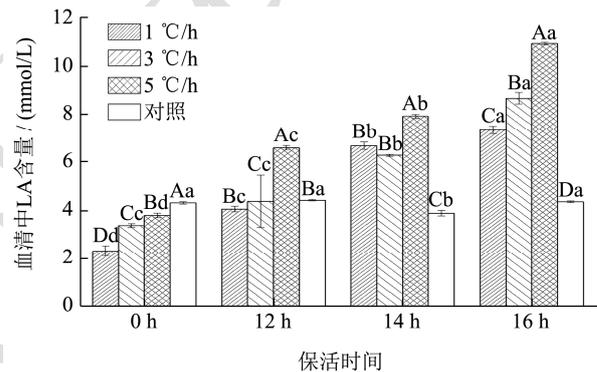


图7 降温速率和无水活运时间对加州鲈血清中乳酸含量的影响

Fig.7 Changes of lactic acid *Micropterus salmoides* during keep-alive transportation process

2.4.6 降温速率和无水活运时间对加州鲈鳃Na⁺/K⁺-ATP酶活性的影响

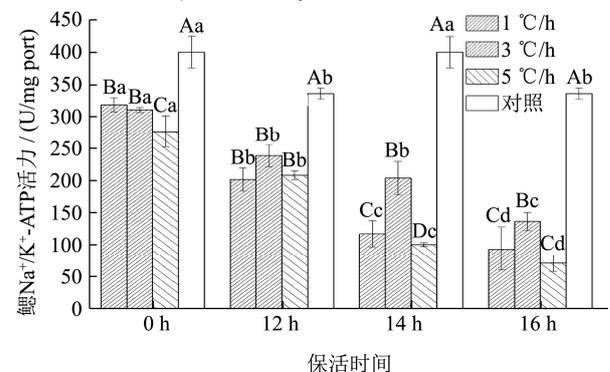


图8 降温速率和无水活运时间对加州鲈鳃Na⁺/K⁺-ATP酶活性的影响

Fig.8 Changes of Na⁺/K⁺-ATPase in gills *Micropterus salmoides* during keep-alive transportation process

Na^+/K^+ 泵(Na^+/K^+ ATP-ase)存在于一切动物细胞的细胞膜上,通过ATP分子的水解作用协调主动运输 Na^+ 离开细胞, K^+ 进入细胞,以维持细胞膜两侧 Na^+/K^+ 分布不均衡性,保持渗透平衡和膜电位,支持葡萄糖和氨基酸的连续主动转运。在鳃上皮中,丰富的线粒体细胞是渗透调节的关键,受多种激素控制^[26,27]。鱼鳃细胞 Na^+/K^+ -ATPase活性对温度的依赖关系在5~50℃之间呈线性, Na^+/K^+ -ATPase活性会随着水温的降低而降低^[28],本研究在降温阶段,各实验组由13℃降低至0℃并持续在0℃冷水中浸泡过程,鱼鳃细胞 Na^+/K^+ -ATPase活性与对照组相比均显著降低($p<0.05$),这是因为在冷休克过程,鱼鳃内的 Na^+/K^+ -ATPase酶水平的靶基因表达显著减少^[29];保活过程随保活时间延长,3组实验组与对照组相比鱼鳃细胞 Na^+/K^+ -ATPase活性分别降低72.92%、59.93%、78.94%,这可能是在保活过程加州鲈一直处于无水状态,鳃细胞正常工作出现功能性障碍,且随保活时间延长对鱼鳃损伤逐步加重,3℃/h降温组与其他两组相比鱼鳃细胞 Na^+/K^+ -ATPase活性较强,这说明3℃/h降温为人工降温休眠加州鲈的较佳降温速率。

2.5 降温速率和无水活运时间对加州鲈肌肉品质的影响

2.5.1 降温速率和无水活运时间对加州鲈全质构的影响

质构是衡量鱼肉品质的重要指标^[30],本实验通过考察全质构参数来判断低温休眠运输过程加州鲈品质的变化。由表3可知在降温阶段,1℃/h降温组的加州鲈背部肌肉与对照组比硬度、胶黏性、咀嚼性会显著下降($p<0.05$),粘附性会显著升高($p<0.05$),回复性、凝聚性、弹性无明显变化,导致鱼肉口感下降;3、5℃/h降温组只有粘附性会显著升高,其他参数均无显著性变化鱼的肌肉品质得到一定保证。这可能是因为1℃/h降温组鱼样需要长时间在冷水中浸泡驯化肌肉活动力受到严重限制,该结果与胡芬^[31]的研究冬季鱼肌肉质构指标低于夏季结果相似。保活阶段,随保活时间的延长3个降温实验组与对照组相比,1、5℃/h降温组的加州鲈背部肌肉硬度、胶黏性、咀嚼性会显著下降($p<0.05$),3℃/h降温组硬度、胶黏性、咀嚼性稍微下降,3个实验组中回复性、凝聚性、弹性均无明显变化,这与刘骁的研究结果一致^[13],这可能是因为5℃/h降温加州鲈受到较强的应激,氧化应激较强加快肌肉中糖原等能量物质的消耗,进而对鱼的肌肉品质受到一定影响。3℃/h降温组较好的规避了以上两个缺陷,对加州鲈肌肉品质影响较小,保证了无水活运过程鱼肉自身的品质。

表3 降温速率和无水活运时间对加州鲈背部肌肉组织全质构的影响

Table 3 Changes of the total texture of the back tissue at different keep-alive time (n=6)

样品	硬度/g	粘附性/g.sec	回复性/%	凝聚性	弹性/%	胶黏性	咀嚼性
对照	129.28±6.69 ^a	-2.88±0.61 ^c	40.19±2.37	0.69±0.02	83.10±5.11	90.54±13.96 ^a	75.43±13.84 ^a
1℃/h 降温	保活 0 h	107.46±1.58 ^b	-1.32±0.16 ^b	38.13±3.62	0.66±0.02	80.99±1.71	55.96±2.23 ^b
	保活 12 h	102.48±1.62 ^b	-1.40±0.91 ^b	36.78±7.06	0.66±0.03	77.45±1.69	50.30±2.45 ^b
	保活 14 h	108.99±4.30 ^b	-0.83±0.90 ^a	36.37±3.27	0.68±0.72	79.81±2.82	44.55±2.49 ^b
	保活 16 h	101.00±7.70 ^b	-0.60±0.16 ^a	38.76±5.93	0.71±0.12	75.03±6.36	54.26±1.16 ^b
3℃/h 降温	保活 0 h	121.69±17.45 ^a	-1.58±0.17 ^b	38.7±4.33	0.67±0.02	77.44±5.22	96.79±15.69 ^a
	保活 12 h	123.49±3.27 ^b	-0.79±0.69 ^a	40.99±1.45	0.71±0.03	81.30±3.44	92.80±2.34 ^a
	保活 14 h	125.93±4.65 ^b	-2.44±0.87 ^c	38.77±3.60	0.67±0.01	78.56±4.23	84.10±5.67 ^b
	保活 16 h	127.26±8.43 ^b	-1.15±1.30 ^b	38.13±2.33	0.67±0.02	76.92±4.16	73.35±2.53 ^c
5℃/h 降温	保活 0 h	115.10±15.49 ^a	-3.47±0.99 ^b	39.19±4.62	0.71±0.01	84.56±4.13	86.59±12.28 ^b
	保活 12 h	103.24±3.47 ^a	-1.13±0.28 ^a	36.51±3.02	0.72±0.03	80.06±2.27	88.89±4.18 ^b
	保活 14 h	106.30±3.91 ^a	-1.11±0.43 ^a	41.11±1.52	0.69±0.03	77.16±1.26	99.28±6.81 ^a
	保活 16 h	105.42±2.93 ^a	-0.94±1.23 ^a	40.13±5.86	0.67±0.04	76.17±5.87	71.27±4.42 ^c

注:数据采用平均数±标准差表示,同一列不同上标字母表示差异有统计学意义($p<0.05$)。

2.5.2 降温速率和无水活运时间对加州鲈粗蛋白含量的影响

由表4可知,降温阶段,3个不同降温速率对鱼肉粗蛋白含量影响均不明显,保活阶段随保活时间延

长,1、5℃/h降温鱼样肌肉组织中蛋白质的含量均有显著减少($p<0.05$),且随保活时间的延长蛋白质含量会显著降低,保活16h后降低最为明显,3℃/h降温组鱼样随保活时间延长蛋白质含量降低不明显,这可能

是因为在无水保活过程, 3 °C/h 对鱼伤害较小, 降温后鱼体内蛋白质含量基数与对照组基本保持不变, 随保活时间延长鱼自身呼吸代谢会消耗一部分氨基酸等营养物质, 使得粗蛋白含量降低。

表 4 降温速率和无水活运时间对加州鲈粗蛋白含量的影响

Table 4 Changes of crude protein after different keep-alive time

降温 速率	保活时间 (n=3)			
	0 h	12 h	14 h	16 h
1 °C/h	20.35±0.25 ^a	20.50±0.17 ^b	20.44±0.08 ^b	19.53±0.16 ^c
3 °C/h	20.77±0.22 ^a	20.98±0.08 ^a	20.58±0.08 ^a	20.02±0.16 ^a
5 °C/h	20.64±0.08 ^a	20.57±0.09 ^a	19.94±0.16 ^b	19.05±0.24 ^c
对照	20.46±0.16 ^a	20.89±0.08 ^a	21.18±0.30 ^a	21.55±0.22 ^a

注: 数据采用平均数±标准差表示, 同一行不同上标字母表示差异有统计学意义($p < 0.05$)。

3 结论

加州鲈可以通过低温诱导休眠的方式进行无水保活, 加州鲈分别按照 1、3、5 °C/h 降温速率将暂养水温为 10~13 °C 鱼样降至鱼的临界温度, 接着在冰水混合物中浸泡至鱼处于完全麻醉状态, 通过测定不同保活温度下加州鲈的复苏率确定最佳保活温度为 3 °C, 在最佳保活温度下, 分别保活 12、14、16 h, 随保活时间延长 3 组存活率均会降低, 保活 16 h 后 1、3、5 °C/h 3 降温组的存活率分别为 78.6%、85.7%、57.1%, 在 3 个不同降温阶段, 5 °C/h 降温后的鱼样血液中皮质醇、尿素氮的含量显著高于其他组, 谷草转氨酶、丙二醛、白蛋白 3 个实验组与对照相比均无明显变化, 3 个不同降温速率组鱼样血清乳酸含量、鳃 $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$ 与对照组相比显著减少, 保活阶段随保活时间延长 3 个实验组血液中皮质醇、谷草转氨酶、丙二醛、尿素氮、乳酸含量均会显著升高, 鳃 $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$ 、血清中白蛋白含量会显著降低, 3 °C/h 降温处理组以上指标变化显著下于其他两个降温组, 即降温 and 保活阶段 3 °C/h 降温对鱼肝脏、肾脏损伤较小; 降温阶段, 3 °C/h 降温鱼肌肉指标粗蛋白含量全质构指标与对照组相比均变化不大, 另外两实验组以上指标均减小; 保活阶段随保活时间延长以上 3 个肌肉指标均会显著减小, 但 3 °C/h 降温减小值依然显著低于其他两实验组, 因此 3 °C/h 降温处理后无水活运对加州鲈的损伤最小。

参考文献

[1] Villa P D, Marahrens M, Calvo A V, et al. Project to develop animal welfare risk assessment guidelines on transport [J].

Efsa Supporting Publications, 2009, 6(9): 1-143

- [2] Yongjun Z, Wang W, Liu Y, et al. Development and evaluation of an intelligent traceability system for waterless live fish transportation [J]. Food Control, 2018, 95(2019): 283-297
- [3] Samet M, Nakamura K, Nagayama T. Tolerance and respiration of the prawn (*Penaeus japonicus*) under cold air conditions [J]. Aquaculture, 1996, 143(2): 205-214
- [4] Zeng P, Chen T, Shen J. Effects of cold acclimation and storage temperature on crucian carp (*Carassius auratus gibelio*) in a waterless preservation [J]. Fish Physiology & Biochemistry, 2014, 40(3): 973-982
- [5] Mi H, Qian C, Mao L. Quality and biochemical properties of artificially hibernated crucian carp for waterless preservation [J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2012, 38(6): 1721-1728
- [6] 吕书为,雷红涛,孙远明.鱼用麻醉剂安全性研究进展[J].食品科学,2012,33(1):267-270
- LYU Shu-wei, LEI Hong-tao, SUN Yuan-ming. Research progress in safety of fish anesthetics [J]. Food Science, 2012, 33(1): 267-270
- [7] 刘洪,殷邦忠,姚健,等.牙鲈无水保活技术[J].中国水产科学, 1999,6(2):101-104
- LIU Qi, YIN Bang-zhong, YAO Jian, et al. Non-stick keep-alive technology of ginseng [J]. Chinese Journal of Fisheries Sciences, 1999, 6(2): 101-104
- [8] GB/T 5009.5-2016,食品中蛋白质的测定[S]
- GB/T 5009.5-2016, Determination of protein in food [S]
- [9] 王晓飞,张桂,郭晓燕.麦穗鱼无水保活技术的初步研究[J].内陆水产,2008,3:19-21
- WANG Xiao-fei, ZHANG Gui, GUO Xiao-yan. Preliminary study on waterless keeping technique of wheat spike [J]. Inland Aquatic Products, 2008, 3: 19-21
- [10] 张玉晗,谢晶.低温休眠预处理对花鲈无水保活效果的影响[J].食品科学,2018,39(23):230-235
- ZHANG Yu-han, XIE Jing. Effect of Low Temperature dormancy pretreatment on waterless maintenance of flower bud [J]. Food Science, 2018, 39(23): 230-235
- [11] Iwama G K, Mcgeer J C, Pawluk M P. The effects of five fish anaesthetics on acid-base balance, hematocrit, blood gases, cortisol, and adrenaline in rainbow trout [J]. Canadian Journal of Zoology, 1989, 67(8): 2065-2073
- [12] Harper C, Wolf J C. Morphologic effects of the stress response in fish [J]. ILAR Journal, 2009, 50(4): 387-396
- [13] 刘骁,谢晶,杨茜,等.无水保活条件下团头鲂生理应激及鱼

- 肉品质的变化[J].农业工程学报,2016,32(3):295-300
- LIU Xiao, XIE Jing, YANG Xi, et al. Physiological stress and quality of fish meat under the condition of water-free preservation [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2016, 32(3): 295-300
- [14] Maule A G, Tripp R A, Kaattari S L, et al. Stress alters immune function and disease resistance in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) [J]. Journal of Endocrinology, 1989, 120(1): 135-142
- [15] Pickering A D, Pottinger T G. Stress responses and disease resistance in salmonid fish: Effects of chronic elevation of plasma cortisol [J]. Fish Physiology and Biochemistry, 1989, 7(1-6): 253-258
- [16] 宋志明,刘鉴毅,庄平等.低温胁迫对点篮子鱼幼鱼肝脏抗氧化酶活性及MDA含量的影响[C].2014年中国水产学会学术年会
- SONG Zhi-ming, LIU Jian-yi, ZHUANG Ping, et al. Effects of low temperature stress on antioxidant enzyme activities and MDA content in the liver of juveniles of spotted basket fish [C]. 2014 Annual Meeting of China Fisheries Society
- [17] Praveen Kumar. Toxicological evaluation of serum urea, creatinine and blood urea nitrogen in fish, *Clarias batrachus* under stress of lead nitrate [J]. International Journal of Interdisciplinary Research, 2016, 3(3): 39-45
- [18] 刘伟东.大菱鲂(*Scophthalmus maximus*)保活的基础研究[D].青岛:中国海洋大学,2009
- LIU Wei-dong. Basic research on the preservation of *Scophthalmus maximus* [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2009
- [19] Kragh-Hansen U. Molecular aspects of ligand binding to serum albumin[J]. Pharmacological Reviews, 1981, 33(1): 17
- [20] Friedrichs B. Th. Peters. Jr.: All about albumin. Biochemistry, genetics, and medical applications. XX and 432 pages, numerous figures and tables. Academic press, Inc. San Diego, California, 1996. Price: 85.00 US [J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2010, 41(6): 382-382
- [21] 何蓉,谢晶,苏辉,等.不同温度对无水保活条件下的中华鳖肌肉营养成分及血液生化指标影响[J].食品科学,2014,35(6):194-199
- HE Rong, XIE Jing, SU Hui, et al. Effects of different temperatures on nutrient composition of muscle and blood biochemical indexes of *Trionyx chinensis* under the condition of no water retention [J]. Food science, 2014, 35(6): 194-199
- [22] 邱春红,丘春东.血乳酸检测的临床应用研究[J].检验医学, 2013,28(4):337-341
- QIU Chun-hong, QIU Chun-dong. Clinical application of blood lactate detection [J]. Laboratory Medicine, 2013, 28(4): 337-341
- [23] 王立红,李韬,刘悦,等.温度对黄颡鱼无水保活工艺的影响[J].食品研究与开发,2018,328(3):215-219
- WANG Li-hong, LI Tao, LIU Yue, et al. The Effect of Temperature on Waterless preservation of alive *Teobagrus fulvidraco* [J]. Food Research and Development, 2008, 328(3): 215-219
- [24] Small B C. Effect of isoeugenol sedation on plasma cortisol, glucose, and lactate dynamics in channel catfish *Ictalurus punctatus* exposed to three stressors [J]. Aquaculture, 2004, 238(1-4):469-481
- [25] Virani N A, Rees B B. Oxygen consumption, blood lactate and inter-individual variation in the gulf killifish, *Fundulus grandis*, during hypoxia and recovery [J]. Comparative Biochemistry and Physiology - Part A Molecular & Integrative Physiology, 2000, 126(3): 397-405
- [26] D KÜ L, Somero G N. Osmotic and thermal effects on in situ ATPase activity in permeabilized gill epithelial cells of the fish *Gillichthys mirabilis* [J]. Journal of Experimental Biology, 1995, 198(Pt9): 1883-1894
- [27] Metz J R, Burg E H V D, Wendelaar Bonga S E, et al. Regulation of branchial Na^+/K^+ -ATPase in common carp *Cyprinus carpio* L. acclimated to different temperatures [J]. Journal of Experimental Biology, 2003, 206(13): 2273-2280
- [28] Lagerspetz K Y H, Pivovarova N B, Senius K E O. Monovalent cation activated ouabain-insensitive ATPase in the gills of freshwater mussel *Anodonta cygnea* [J]. Comparative Biochemistry and Physiology B Comparative Biochemistry, 1992, 103(4): 903-908
- [29] Mladineo I, Block B A. Expression of cytokines IL-1 β and TNF- α in tissues and cysts surrounding *Didymocystis wedli* (*Digenea*, *Didymozoidae*) in the Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*) [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2010, 29(3): 487-493
- [30] Taylor R G, Fjaera S O, Skjervold P O. Salmon fillet texture is determined by myofiber cm yofiber and myofiber cm yocommata attachment [J]. Journal of Food Science, 2006, 67(6): 2067-2071

(下转第 41 页)