

# 盐水处理下大口黑鲈鱼片在冷藏期间的微生物变化

凌玉钊<sup>1,2</sup>, 黄丽琪<sup>1</sup>, 徐甜甜<sup>1</sup>, 乔宇<sup>2</sup>, 汪兰<sup>2</sup>, 吴文锦<sup>2</sup>, 柳忠虎<sup>3</sup>, 熊光权<sup>2\*</sup>, 魏凌云<sup>1\*</sup>

(1. 武汉工程大学环境生态与生物工程学院, 湖北武汉 430205)

(2. 湖北省农业科学院农产品加工与核农技术研究所农业农村部农产品冷链物流技术重点实验室,

湖北武汉 430064) (3. 潜江市柳伍水产食品有限公司, 湖北潜江 433111)

**摘要:** 该实验通过平板计数法结合 16S rRNA 基因测序, 研究了质量分数 3% 的盐水处理结合真空包装的大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*) 鱼片在冷藏过程中的微生物变化。结果表明, 相较于超纯水浸泡 (CK), 3% 盐水浸泡 (SW) 有效延缓了鱼片在贮藏期间的菌落总数 (Total Viable Count, TVC)、肠杆菌科、乳酸菌 (Lactic Acid Bacteria, LAB)、假单胞菌 (*Pseudomonas*) 和硫化氢产生菌 (Hydrogen Sulfide-Producing Bacteria, HSPB) 的增加。大口黑鲈鱼片在冷藏期间的优势门为变形菌门 (*Proteobacteria*)、拟杆菌门 (*Bacteroides*)、厚壁菌门 (*Firmicutes*) 和放线菌门 (*Actinobacteria*)。贮藏初期的优势属主要为不动杆菌属 (*Acinetobacter*)、鞘脂单胞菌属 (*Phingomonas*)、伊丽莎白菌属 (*Elizabethkingia*) 和金黄杆菌属 (*Chryseobacterium*), 而贮藏末期为不动杆菌属。盐水处理降低了贮藏初期中不动杆菌属、伊丽莎白菌属、栖水菌属 (*Enhydrobacter*)、巨型球菌属 (*Macrococcus*) 和沃氏黄杆菌属 (*Wautersiella*) 等优势菌群的相对丰度。采用盐水处理可以有效延缓大口黑鲈鱼片在贮藏初期的微生物生长, 为大口黑鲈的保鲜应用提供参考。

**关键词:** 盐水; 大口黑鲈; 16S rRNA 基因测序; 不动杆菌属

文章编号: 1673-9078(2023)06-101-107

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.6.0589

## Microbial Changes of Largemouth Bass Fillets Induced by the Treatment with Salt Solution during Cold Storage

LING Yuzhao<sup>1,2</sup>, HUANG Liqi<sup>1</sup>, XU Tiantian<sup>1</sup>, QIAO Yu<sup>2</sup>, WANG Lan<sup>2</sup>, WU Wenjin<sup>2</sup>, LIU Zhonghu<sup>3</sup>,  
XIONG Guangquan<sup>2\*</sup>, WEI Lingyun<sup>1\*</sup>

(1. School of Environmental Ecology and Biological Engineering, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430205, China)

(2. Key Laboratory of Agricultural Products Cold Chain Logistics, Institute of Agricultural Products Processing and Nuclear Agriculture Technology, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430064, China)

(3. Qianjiang Liuwu Aquatic Food and Products Co. Ltd., Qianjiang 433111, China)

**Abstract:** In this study, the microbial changes during the cold storage of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) fillets treated with 3% salt solution and packed in vacuum packaging were studied by the plate count method combined with 16S rRNA gene sequencing. The results showed that compared with ultra-pure water immersion (CK), 3% salt solution immersion (SW) effectively delayed the increases of total viable count (TVC), Enterobacteriaceae, lactic acid bacteria (LAB), *Pseudomonas*, and hydrogen sulfide-producing bacteria (HSPB) in the largemouth bass fillets during storage. The dominant phyla of largemouth bass fillets during cold storage were Proteobacteria, Bacteroides, Firmicutes and Actinobacteria. The dominant genera were mainly *Acinetobacter*, *Sphingomonas*, *Elizabethkingia*, and *Chryseobacterium* in the early storage period, and *Acinetobacter* in final stage of storage. The salt solution treatment reduced the relative abundance of dominant microbiota such as

引文格式:

凌玉钊, 黄丽琪, 徐甜甜, 等. 盐水处理下大口黑鲈鱼片在冷藏期间的微生物变化[J]. 现代食品科技, 2023, 39(6): 101-107.

LING Yuzhao, HUANG Liqi, XU Tiantian, et al. Microbial changes of largemouth bass fillets induced by the treatment with salt solution during cold storage [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(6): 101-107.

收稿日期: 2022-05-11

基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-46); 湖北省农业科技创新中心重大科技研发专项 (2020-620-000-002-03)

作者简介: 凌玉钊 (1996-), 男, 硕士, 研究方向: 水产品保鲜与加工, E-mail: 971290759@qq.com

通讯作者: 熊光权 (1965-), 男, 研究员, 研究方向: 水产品保鲜与加工, E-mail: xionguangquan@163.com; 共同通讯作者: 魏凌云 (1975-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品工艺, E-mail: weilingyun@foxmail.com

*Acinetobacter*, *Elizabethkingia*, *Enhydrobacter*, *Macrocooccus*, and *Wautersiellain* the early storage period. The salt solution treatment can effectively delay the microbial growth of largemouth bass fillets in the early storage period, which provides a reference for the application of preserving largemouth bass.

**Key words:** salt solution; large mouth bass; 16S rRNA gene sequencing; *Acinetobacter*

大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*), 属鲈形目、鲈科, 一种原产于北美湖泊和小河流的重要淡水运动鱼类<sup>[1,2]</sup>。据统计, 在 2020 年全国特色淡水鱼养殖产量中, 大口黑鲈的养殖产量仅次于罗非鱼<sup>[3]</sup>。大口黑鲈鱼肉极易腐烂, 因为其水分含量高、氨基酸和脂肪酸等小分子物质含量丰富、pH 值为中性, 为微生物的生长提供了适宜的条件<sup>[4]</sup>。因此, 必须采取适当的方法来延长其货架期<sup>[5]</sup>。添加保鲜剂是最常用的延长鱼类保质期的方法。盐除了具有改善食品风味的作用外, 还一直被用作食品防腐剂<sup>[6]</sup>, 它可以降低水分活度, 抑制多种微生物的生长<sup>[7]</sup>。

采用盐处理来延长水产品货架期的研究已有报道。Hong 等<sup>[8]</sup>研究表明 1.1% (*m/m*) 盐水处理延缓鳙鱼片在贮藏期间菌落总数 (TVC) 的升高。2% 盐处理还能延缓鳙鱼片在贮藏期间总挥发性盐基氮 (TVBN) 的上升<sup>[9]</sup>。朱海滨等<sup>[10]</sup>表明 10% (*m/V*) 和 25% (*m/V*) 盐水可以分别延长海鲈鱼的货架期 4 和 8 d。Fan 等<sup>[11]</sup>表明 1.5% 盐处理可以显著抑制青鱼在 4 °C 条件下贮藏过程中腐胺和尸胺等腐败物质含量的增加。Guo 等<sup>[12]</sup>表明 2% (*m/m*) 盐含量的预调制大黄鱼在 5 °C 贮藏条件下的货架期为 12.2~49.1 d。Yanar 等<sup>[13]</sup>表明 5% (*m/V*) 盐熏制的罗非鱼可以在 4 °C 贮藏条件下安全储存 35 d 以上。然而, 有关盐水处理对大口黑鲈鱼片在 4 °C 贮藏过程中优势腐败菌的影响的研究较少。

本研究通过平板计数法结合 16S rRNA 基因测序来分析盐水处理的大口黑鲈鱼片在冷藏期间微生物菌群的变化, 为大口黑鲈的保鲜研究提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

大口黑鲈, 购于湖北省武汉市洪山区南湖大道 53 号武商超市 (农科城店); 氯化钠 (分析纯), 国药集团化学试剂有限公司; 平板计数琼脂 (PCA)、紫红胆盐葡萄糖琼脂 (VRBG)、MRS 琼脂、假单胞菌琼脂培养基 (CFC)、假单胞菌 CFC 选择培养基添加剂、三糖铁琼脂 (IA), 青岛海博生物技术有限公司。

PB-10 型 pH 计、TE214S 型电子天平, 赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司; HPX-9082MBE 型电热

恒温培养箱, 上海博迅实业有限公司; XHF-DY 型高速分散器, 宁波新芝生物科技股份有限公司; YX280 型压力蒸汽灭菌锅, 上海三申医疗器械有限公司; HFsafe-1200LC 型超净工作台, 上海力申科学仪器有限公司; DZD-400/S 型真空包装机, 江苏腾通包装机械有限公司。

### 1.2 试验方法

平均质量约为 1 kg 的大口黑鲈购于超市, 后在 1 h 内运回实验室。将大口黑鲈立即宰杀, 其背部的肌肉切成每块重约 50 g 的鱼片, 长度为 (5±1) cm, 宽度为 (4±1) cm。在实验室环境温度下, 鱼片放入 3% 盐水 (*m/V*) 浸泡 2 h 作为处理组, 并在相同的条件下以超纯水代替 3% 盐水作为对照组。用滤纸擦干鱼片表面的浸泡液, 将鱼片单独放入高温蒸煮袋并进行真空封口, 于 4 °C 冰箱保藏。第 0、2、4 和 6 天分别进行 pH 值测定和微生物计数。除微生物计数采用两个平行样品外, 其他指标均采用三个平行样品。

#### 1.2.1 微生物计数

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测定》进行微生物平板计数<sup>[14]</sup>。在无菌超净台称取 10.0 g 剪碎的鱼片肌肉加入到含有 90.0 mL 无菌生理盐水和少量无菌玻璃珠的锥形瓶, 同时摇晃锥形瓶使混合物分布均匀。菌落总数 (TVC)、肠杆菌科、乳酸菌 (LAB)、假单胞菌和硫化氢产生菌 (HSPB) 的培养方式参考 Angiolillo 等<sup>[15]</sup>并略作修改: PCA 琼脂用于培养总活菌, 30 °C 下培养 3 d; 紫红胆盐葡萄糖琼脂 (VRBG) 用于培养肠杆菌科, 37 °C 下培养 2 d; MRS 琼脂用于培养乳酸杆菌, 30 °C 厌氧培养 3 d; 含有头孢菌素类化合物添加剂的假单胞菌琼脂培养基 (CFC) 用于培养假单胞菌属, 25 °C 下培养 2 d; 三糖铁琼脂 (IA) 用于培养硫化氢产生菌, 25 °C 下培养 3 d, 硫化氢的生成会导致培养皿出现黑色菌落。将凝固后的平板倒置于恒温培养箱, 培养固定时间后选择菌数范围在 30~300 之间的平板进行计数。取重复样本之间的平均值为计数结果, 并表示为菌落形成单位 (CFU) 的十进制对数 lg CFU/g。

#### 1.2.2 16S rRNA 基因测序

16S rRNA 基因测序参考 Yu 等<sup>[16]</sup>方法并略作修改。使用 DNA 提取试剂盒 (HiPureSoil DNA Kit) 从

鲈鱼片样品中提取细菌 DNA, 具体操作同试剂盒说明书。使用超微量紫外可见分光光度计 (BioSpec-nano) 测量 DNA 浓度, 并通过 1.0% (*m/m*) 琼脂糖凝胶电泳确认 DNA 质量。使用两种引物 338F (5'-ACTCCCTACGGG AGGCAGCA-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWT CTAAT-3') 来扩增 16S rRNA 基因的 V3-V4 区域。PCR 反应体系包括 PCR 扩增预混液 (KODPCR Master Mix)、引物和模板, 扩增条件如下: 95 °C 下初始变性 2 min 后, 进行 27 个循环的扩增 (98 °C 下保持 10 s, 60 °C 下保持 30 s, 72 °C 下保持 30 s), 然后在 72 °C 保持 10 min。使用 2.0% 琼脂糖凝胶电泳法检测扩增产物并使用胶回收试剂盒 (AxyPrep DNA Gel Extraction Kit) 纯化, 然后使用 DNA 文库制备试剂盒 (TruSeq Nano DNA LT Sample Prep Kit) 生成扩增子文库。下机数据经过过去除低质量测序读数后, 使用软件 FLASH (v1.2.11) 合并、拼接原始测序读数。使用软件 UPARSE (v7.0.1090) 对有效的序列进行聚类, 并将其视为至少 97% 相似度的操作分类单元 (OTU)。基于 Silva (Greengene) 数据库, 使用 RDP 分类器 (v2.2) 将来自每个 OTU 的代表性序列分配给分类群, 置信阈值设置为 0.8。使用软件 Mothur (v1.31.2) 和 QIIME (v1.80) 分别评估 Alpha 多样性和 Beta 多样性, 以表征细菌群落丰富度和多样性。Alpha 多样性包括 Chao 指数、Ace 指数, Shannon 指数以及 Simpson 指数等。前面 4 个指数越大, 最后一个指数越小, 说明样品中的物种越丰富。采用加权 UniFrac (weighted UniFrac) 指数来衡量 Beta 多样性, 该指数考虑了序列丰度, 指数越大表示样品间的差异越大。使用软件 R 语言 (v3.1.1) 对 OTU 结果进行可视化, 以反映样品的细菌群落的组成和差异。

### 1.2.3 pH 值测定

pH 值的测定参考 GB 5009.237-2016《食品安全国家标准食品 pH 值的测定》并略作修改<sup>[17]</sup>。10.0 g 鱼片肌肉被剁碎, 并与 90.0 mL 超纯水混合, 5 000 r/min 均质 2 min, 随后匀浆液于 4 °C 冰箱静置 30 min。使用中速定性滤纸过滤匀浆液, 并用数字 pH 计测定滤液的 pH 值。

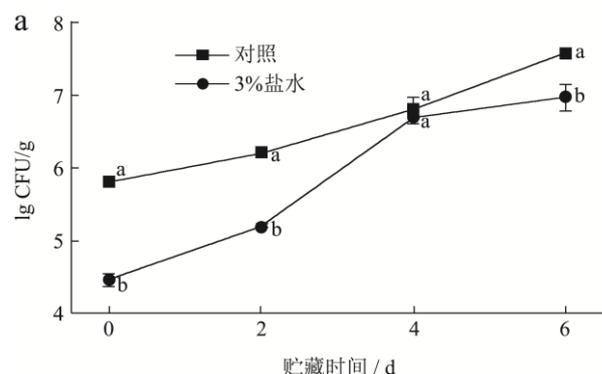
### 1.3 数据处理

使用统计分析软件 SPSS 19.0 通过 Duncan 多重差异检验在显著性水平 ( $P < 0.05$ ) 上确定样品间的差异、可视化软件 Origin 9.4 绘图。实验数据以平均值  $\pm$  标准差表示。

## 2 结果与讨论

### 2.1 微生物计数

图 1 为经盐水处理的大口黑鲈鱼片在 4 °C 贮藏过程中的微生物计数, 包括菌落总数 (a)、肠杆菌科 (b)、乳酸菌 (c)、假单胞菌 (d) 和硫化氢产生菌 (e)。贮藏期间鱼片的微生物变化范围: 菌落总数为 4.46~7.58 lg CFU/g, 肠杆菌科为 3.39~7.37 lg CFU/g, 乳酸菌为 4.52~7.06 lg CFU/g, 假单胞菌属为 2.90~7.08 lg CFU/g, 硫化氢产生菌为 2.83~7.28 lg CFU/g。大口黑鲈鱼片的菌落总数与冷藏时间呈正相关。第 0 天, 对照组和处理组的菌落总数分别为 5.81、4.46 lg CFU/g, 这表明盐处理能显著 ( $P < 0.05$ ) 抑制微生物的生长。对照组在第 2 天时已经超过菌落总数限制值 6.00 lg CFU/g<sup>[18]</sup>, 而处理组显著 ( $P < 0.05$ ) 低于此腐败阈值。第 2 天后, 处理组的菌落总数迅速上升, 这表明 3% 盐水的减菌效果主要作用在贮藏初期 (0~2 d)。贮藏末期 3% 盐水的减菌效果下降归因于低盐浓度不能继续抑制微生物的生长繁殖。与对照组相比, 处理组的肠杆菌科和乳酸菌在贮藏期间 (第 0 天除外) 显著 ( $P < 0.05$ ) 降低。具体而言, 处理组的肠杆菌科在 0、2、4 和 6 d 的数量分别为 3.39、4.08、5.12 和 6.10 lg CFU/g, 而对照组分别为 4.24、5.45、6.33 和 7.37 lg CFU/g。同样, 处理组的乳酸菌在 0、2、4、6 d 的数量分别为 4.52、4.62、5.49 和 6.48 lg CFU/g, 而对照组分别为 4.93、6.14、6.30 和 7.06 lg CFU/g。类似地, Sallam 等<sup>[19]</sup>报道了 3% 盐处理可显著延缓真空包装的生碎牛肉在低温贮藏期间菌落总数、肠杆菌科和乳酸菌的增加, 并将产品的保质期延长至 15 d。至于假单胞菌属和硫化氢产生菌, 3% 盐水处理能明显抑制两者在贮藏前期 (0~2 d) 的生长, 而在第 2 天后其生长繁殖速度迅速上升, 这与 TVC 的变化趋势相似。处理组的 HSPB 在第 6 天比对照组高, 这表明 3% 盐水在贮藏末期不能继续抑制硫化氢产生菌的生长繁殖。通常来说, 食盐浓度与腐败进程呈负相关。Laranjo 等<sup>[20]</sup>也报道了相较于 6% 盐浓度, 3% 低盐香肠导致更多肠杆菌科的生长。



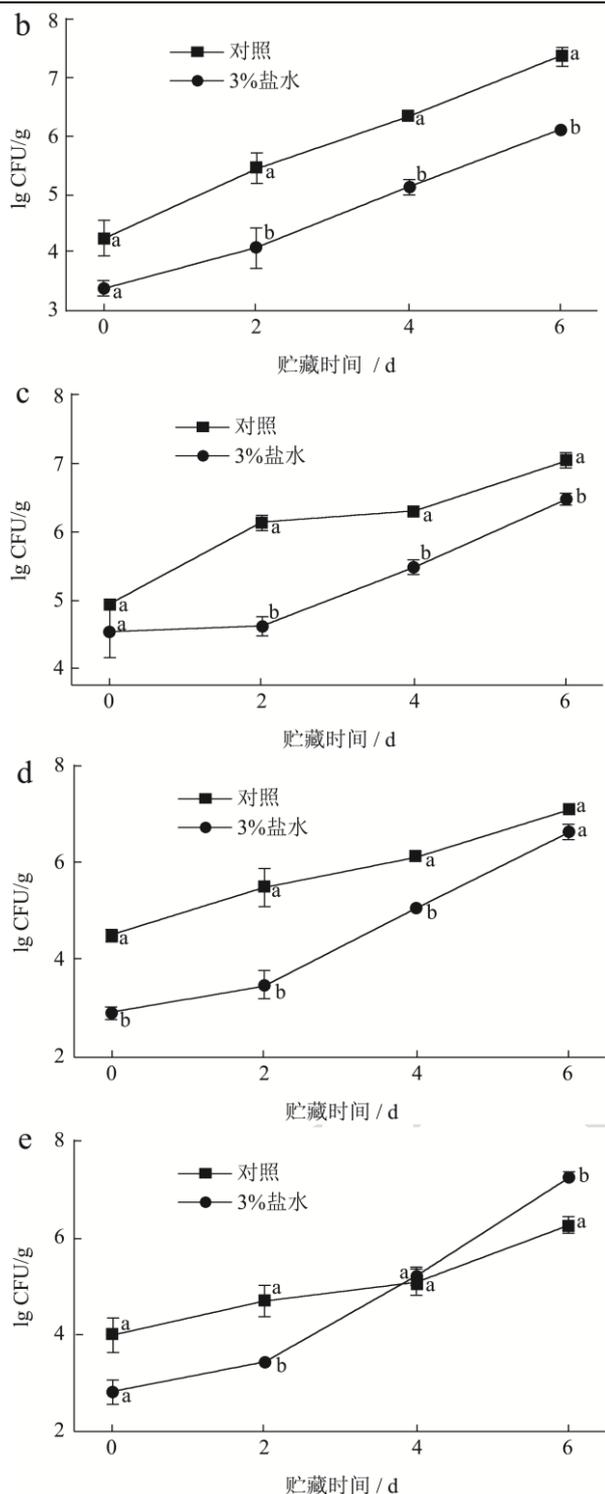


图1 大口黑鲈鱼片在冷藏期间的微生物计数

Fig.1 Microbial count of largemouth bass fillets during refrigeration

注: a 为菌落总数, b 为肠杆菌科, c 为乳酸菌, d 为假单胞菌, e 为硫化氢产生菌。不同字母上标表示同一贮藏时间中不同样品之间的显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

## 2.2 16S rRNA 基因测序

16S rRNA 基因测序用于评估大口黑鲈鱼片的细菌群落多样性。从 12 个鱼片样本中获得了 708 390 个有效的 16S rRNA 基因序列。采用 Alpha 多样性分析来评估鱼片细菌群落的丰富度和多样性 (表 1), 包括 Shannon、Simpson、Ace 和 Chao 指数。第 0 天, 处理组的 Ace、Chao 指数与对照组均无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 这表明处理组的物种丰富度与对照组差别不大。相较于对照组, 处理组的 Shannon、Simpson 指数分别显著 ( $P < 0.05$ ) 增加和下降, 这可能归因于样品间的差异导致了处理组具有更大的群落多样性。贮藏末期, 四个多样性指数在对照组与处理组之间均无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 这与 TVC 的变化趋势相符。

鲈鱼片样本中 OTU 主要属于 4 个细菌门, 包括变形菌门、拟杆菌门、厚壁菌门和放线菌门 (图 2a)。具体来说, 变形菌门、拟杆菌门、厚壁菌门和放线菌门在整个贮藏期间的平均相对丰度分别为 75.14%、11.89%、9.57% 和 1.73%。贮藏初期, 相较于对照组, 处理组的拟杆菌门、厚壁菌门和放线菌门的相对丰度轻微上升 ( $P > 0.05$ ), 而变形菌门的相对丰度下降。此外, 贮藏初期的优势菌群是变形菌门、拟杆菌门和厚壁菌门, 而贮藏末期只有变形菌门。图 2b 显示了相对丰度高于 0.5% 的 50 个属 (至少一个样本)。尽管处理组和对照组分别占据一些独有的低丰度物种, 但主要的优势菌为两者共享。整个贮藏期间前 10 种菌群的平均相对丰度按从大到小的顺序分别为不动杆菌属、鞘脂单胞菌属、伊丽莎白菌属、金黄杆菌属、沃氏黄杆菌属、巨单胞菌属、普雷沃氏菌属、栖水菌属、巨型球菌属和黄杆菌属。贮藏期间的优势菌群大多数为革兰氏阴性菌。通常来说, 鱼产品的初始微生物群主要是假单胞菌属、希瓦氏菌属、不动杆菌属和黄杆菌属等嗜冷性革兰氏阴性菌, 而腐败微生物群以假单胞菌属和希瓦氏菌属为主<sup>[21,22]</sup>。属水平的群落丰度图表明, 贮藏初期的优势菌群主要为不动杆菌属、鞘脂单胞菌属、伊丽莎白菌属和金黄杆菌属, 而贮藏末期只有不动杆菌属。Zhang 等<sup>[23]</sup>报道了 10% 盐处理结合真空包装的草鱼的初始优势菌为不动杆菌属, 而贮藏末期的优势菌为乳球菌属。2% 盐处理的鳙鱼片的初始微生物菌群以不动杆菌属为主, 而贮藏末期的优势菌为假单胞菌属<sup>[9]</sup>。这种现象可能归因于微生物种群间的竞争关系以及不动杆菌对低盐溶液的耐受性。

表 1 大口黑鲈鱼片在冷藏期间的 Alpha 多样性指数

**Table 1 Alpha diversity indexes of largemouth bass fillets during refrigeration**

样本	Shannon 指数	Simpson 指数	Ace 指数	Chao 指数
CK-day0	2.89±0.12 <sup>a</sup>	0.14±0.01 <sup>a</sup>	130.03±21.35 <sup>a</sup>	130.06±20.44 <sup>a</sup>
SW-day0	3.65±0.33 <sup>b</sup>	0.06±0.02 <sup>b</sup>	174.08±54.53 <sup>a</sup>	172.81±60.13 <sup>a</sup>
CK-day6	0.74±0.12 <sup>a</sup>	0.67±0.12 <sup>a</sup>	55.93±18.08 <sup>a</sup>	51.75±13.99 <sup>a</sup>
SW-day6	0.62±0.20 <sup>a</sup>	0.71±0.15 <sup>a</sup>	43.21±15.23 <sup>a</sup>	39.69±12.30 <sup>a</sup>

注：不同字母上标表示同一贮藏时间中不同样品之间的显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

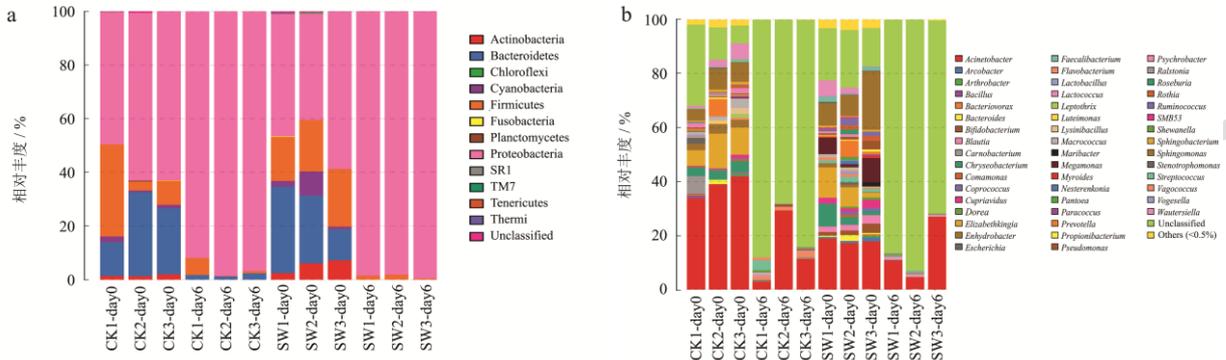


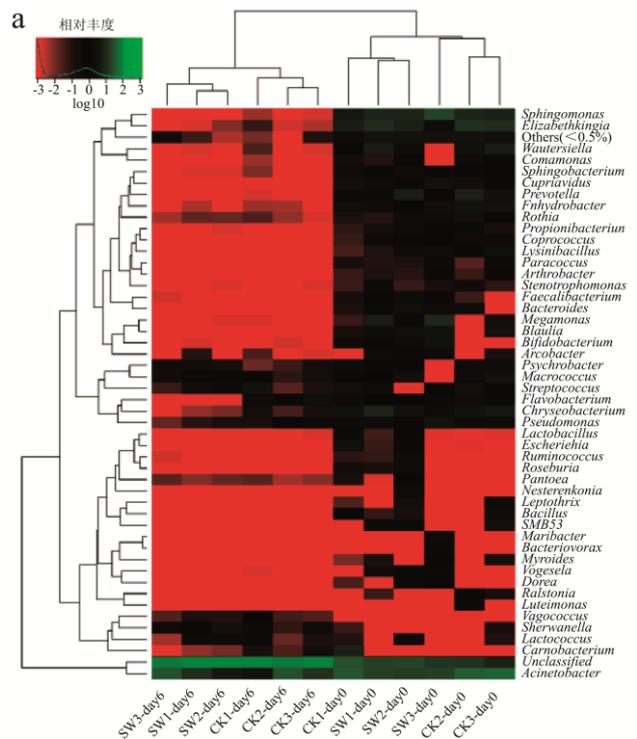
图 2 基于门 (a) 和属 (b) 水平上大口黑鲈鱼片在冷藏期间的群落相对丰度

Fig.2 Community relative abundance of largemouth bass fillets during refrigeration based on phylum (a) and genus (b) level

3% 盐水处理降低了贮藏初期中不动杆菌属、伊丽沙白菌属、栖水菌属、巨型球菌属和沃氏黄杆菌属等优势菌群的相对丰度，而金黄杆菌属、黄杆菌属、巨单胞菌属、普雷沃氏菌属和鞘脂单胞菌属等表现为不同程度的增加。在贮藏末期，处理组的大多数细菌群落的相对丰度与对照组接近，这表明 3% 盐水的减菌效果在贮藏末期并不明显，与 TVC 的变化趋势相符。贮藏期间处理组的假单胞菌的平均相对丰度 (0.83%) 比对照组高 (0.51%)，但总体上假单胞菌在整个贮藏期间的相对丰度仍然较低。假单胞菌通常是有氧冷藏的鱼产品的优势腐败菌<sup>[24,25]</sup>，其在贮藏期间表现出较低的相对丰度，这可能归因于真空环境抑制了假单胞菌的生长。尽管乳酸菌被认为不属于水生环境，但某些属如肉食杆菌属、漫游球菌属、肠球菌属、乳杆菌属和乳球菌属在淡水鱼中并不少见<sup>[26,27]</sup>。与假单胞菌相似，3% 盐水处理轻微增加了这些非优势菌的相对丰度，原因可能是革兰氏阳性菌较厚的细胞膜能耐受盐水的高渗透环境。相较于革兰氏阳性菌，盐溶液的低水分活度对革兰氏阴性菌的影响更大<sup>[28]</sup>。希瓦氏菌，属于肠杆菌科，其大多数种可以产生硫化氢，并且大多数菌株会还原三甲胺-N-氧化物 (TMAO)<sup>[29]</sup>。相较于对照组，处理组的希瓦氏菌的相对丰度在贮藏后期有所增加，这与 HSPB 计数结果一致。

从图 3a 可以看出，对照组和处理组中大多数优势菌群的相对丰度在贮藏前期有较明显的区别，而在贮藏末期，处理组中大多数菌群的相对丰度与对照组差

别不明显。采用加权 UniFrac (Weighted UniFrac) 矩阵热图可视化 Beta 多样性，进而比较样品间的细菌群落组成差异 (图 3b)。从图中可以看出贮藏初期与末期的细菌群落组成差异明显，而贮藏末期的处理组和对照组具有相似的细菌群落结构。相较于对照组，3% 盐水处理的大口黑鲈鱼片在贮藏前期表现出良好的减菌效果，而随着贮藏时间的延长，减菌效果逐渐减弱，这与 TVC 和 OTU 结果相符。



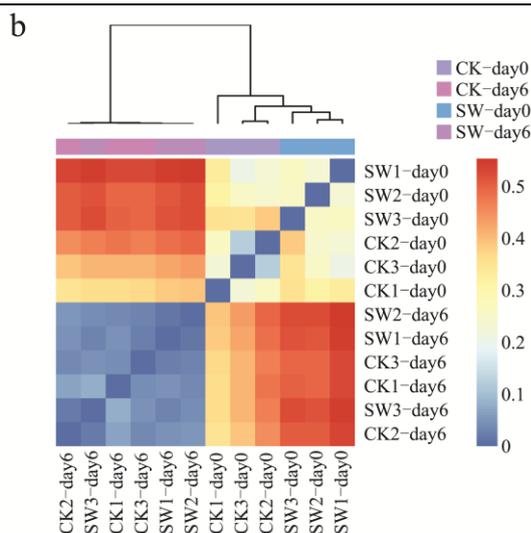


图3 (a) 基于属水平上大口黑鲈鱼片在冷藏期间的热图, (b) 加权 UniFrac 矩阵热图

Fig.3 (a) Heat-map of largemouth bass fillets during refrigeration based on genus level, (b) weighted UniFrac matrix heat-map

### 2.3 pH 值

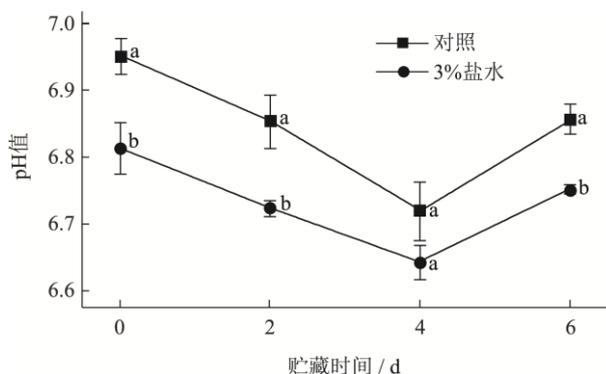


图4 大口黑鲈鱼片在冷藏期间的 pH 值

Fig.4 pH value of largemouth bass fillets during refrigeration

注: 不同字母上标表示同一贮藏时间中不同样品之间的显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

如图 4 所示, 大口黑鲈鱼片在贮藏期间的 pH 值均为酸性, 从 6.64 到 6.95 不等。对照组的初始 pH 值为 6.95, 显著 ( $P < 0.05$ ) 高于处理组 (6.81)。这种差异可能归因于血红蛋白溶液和盐溶液之间扩散引起的氢离子和未离子化的氯化蛋白的形成<sup>[30]</sup>。总的来说, 对照组和处理组的 pH 值均先下降后上升, 这种现象归因于贮藏初期鱼片肌肉糖原的分解和贮藏后期蛋白质的水解<sup>[30]</sup>。相较于对照组, 由于抑制腐败菌的生长, 3% 盐水处理能显著 ( $P < 0.05$ ) 减少碱性物质的堆积并延缓 pH 值的上升。在第 4 天时, 处理组的肠杆菌科、乳酸菌、假单胞菌和硫化氢产生菌的数量分别为 5.12、5.49、5.05 和 5.22 lg CFU/g。pH 值的下

降和乳酸菌的增殖相关。Xu 等<sup>[31]</sup>也报道了类似的结果, 即由于盐渍过程, pH 值显著降低。

### 3 结论

本文研究了 3% 盐水处理结合真空包装的大口黑鲈鱼片在 4 °C 贮藏过程中的微生物变化。结果表明, 3% 盐水处理有效延缓了鱼片在贮藏期间菌落总数、肠杆菌科、乳酸菌、假单胞菌和硫化氢产生菌的增加。3% 盐水处理降低了贮藏初期中不动杆菌属、伊丽莎白菌属、栖水菌属、巨型球菌属和沃氏黄杆菌属等优势菌群的相对丰度。尽管 3% 盐水处理在贮藏末期的减菌效果较弱, 但其仍然可作为一种短期延缓大口黑鲈鱼片微生物生长的有效措施。此外, 不动杆菌属在贮藏初期和末期均是相对丰度最高的优势菌, 为了延长大口黑鲈的货架期, 控制不动杆菌属的生长非常重要。

### 参考文献

- [1] Chen Y J, Yuan R M, Liu Y J, et al. Dietary vitamin C requirement and its effects on tissue antioxidant capacity of juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides* [J]. *Aquaculture*, 2015, 435: 431-436.
- [2] Portz L, Cyrino J E P J A R. Comparison of the amino acid contents of roe, whole body and muscle tissue and their A/E ratios for largemouth bass *Micropterus salmoides* (Lacepede, 1802) [J]. *Aquaculture Research*, 2003, 34(8): 585-592.
- [3] 农业农村部渔业渔政管理局. 2021 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2021.
- [4] Ramezani Z, Zarei M, Raminnejad N. Comparing the effectiveness of chitosan and nanochitosan coatings on the quality of refrigerated silver carp fillets [J]. *Food Control*, 2015, 51: 43-48.
- [5] Kaale L D, Eikevik T M, Rustad T, et al. Superchilling of food: A review [J]. *Journal of Food Engineering*, 2011, 107(2): 141-146.
- [6] Inguglia E S, Zhang Z, Tiwari B K, et al. Salt reduction strategies in processed meat products - A review [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2017, 59: 70-78.
- [7] Yotsuyanagi S E, Contreras-Castillo C J, Hagiwara M M, et al. Technological, sensory and microbiological impacts of sodium reduction in frankfurters [J]. *Meat Science*, 2016, 115: 50-59.
- [8] Hong H, Luo Y, Zhou Z, et al. Effects of low concentration of salt and sucrose on the quality of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) fillets stored at 4 °C [J]. *Food Chemistry*, 2012, 133(1): 102-107.

- [9] Liu X, Zhang Y, Li D, et al. Characterization of the microbiota in lightly salted bighead carp (*Aristichthys nobilis*) fillets stored at 4 °C [J]. Food Microbiol, 2017, 62: 106-111.
- [10] 朱海滨,洪扬,王则金,等.真空包装结合食盐水处理对海鲈鱼冷藏保鲜品质的影响[J].渔业研究,2021,43(1):53-60.
- [11] Fan H, Luo Y, Yin X, et al. Biogenic amine and quality changes in lightly salt- and sugar-salted black carp (*Mylopharyngodon piceus*) fillets stored at 4 °C [J]. Food Chemistry, 2014, 159: 20-28.
- [12] Quanyou G, Yanqi Z, Lumin W, et al. Shelf life prediction and Bacterial flora for the fresh and lightly salted *Pseudosciaena crocea* stored at different temperatures [J]. Emirates Journal of Food and Agriculture, 2018, 30(1): 39-48.
- [13] Yanar Y, Çelik M, Akamca E. Effects of brine concentration on shelf-life of hot-smoked tilapia (*Oreochromis niloticus*) stored at 4 °C [J]. Food Chemistry, 2006, 97(2): 244-247.
- [14] 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].北京:中国标准出版社,2016.
- [15] Angiolillo L, Conte A, Del Nobile M A. A new method to bio-preserve sea bass fillets [J]. International Journal of Food Microbiology, 2018, 271: 60-66.
- [16] Yu D, Regenstein J M, Zang J, et al. Inhibition of microbial spoilage of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets with a chitosan-based coating during refrigerated storage [J]. International Journal of Food Microbiology, 2018, 285: 61-68.
- [17] GB 5009.237-2016 食品安全国家标准食品pH值的测定[S].北京:中国标准出版社,2016.
- [18] Al Dagal M M, Bazaraa W A. Extension of shelf life of whole and peeled shrimp with organic acid salts and bifidobacteria [J]. Journal of Food Protection, 1999, 62(1): 51-56.
- [19] Sallam K I, Samejima K. Microbiological and chemical quality of ground beef treated with sodium lactate and sodium chloride during refrigerated storage [J]. LWT - Food Science and Technology, 2004, 37(8): 865-871.
- [20] Laranjo M, Gomes A, Agulheiro Santos A C, et al. Impact of salt reduction on biogenic amines, fatty acids, microbiota, texture and sensory profile in traditional blood dry-cured sausages [J]. Food Chemistry, 2017, 218: 129-136.
- [21] Gram L, Dalgaard P. Fish spoilage bacteria - problems and solutions [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2002, 13(3): 262-266.
- [22] Koutsoumanis K, Nychas G J E. Application of a systematic experimental procedure to develop a microbial model for rapid fish shelf life predictions [J]. International Journal of Food Microbiology, 2000, 60(2): 171-184.
- [23] Zhang J, Li Y, Liu X, et al. Characterization of the microbial composition and quality of lightly salted grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets with vacuum or modified atmosphere packaging [J]. International Journal of Food Microbiology, 2019, 293: 87-93.
- [24] Noseda B, Islam M T, Eriksson M, et al. Microbiological spoilage of vacuum and modified atmosphere packaged Vietnamese *Pangasius hypophthalmus* fillets [J]. Food Microbiology, 2012, 30(2): 408-419.
- [25] Zhang Y, Li Q, Li D, et al. Changes in the microbial communities of air-packaged and vacuum-packaged common carp (*Cyprinus carpio*) stored at 4 °C [J]. Food Microbiology, 2015, 52: 197-204.
- [26] C J González, Encinas J P, M L García López, et al. Characterization and identification of lactic acid bacteria from freshwater fishes [J]. Food Microbiology, 2000, 17(4): 383-391.
- [27] Ringø, Gatesoupe F J. Lactic acid bacteria in fish: a review [J]. Aquaculture, 1998, 160(3-4): 177-203.
- [28] Delgado Pando G, Fischer E, Allen P, et al. Salt content and minimum acceptable levels in whole-muscle cured meat products [J]. Meat Science, 2018, 139: 179-186.
- [29] Fønnesbech Vogel B, Venkateswaran K, Satomi M, et al. Identification of *Shewanella baltica* as the most important H<sub>2</sub>S-producing species during iced storage of Danish marine fish [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(11): 6689-6697.
- [30] Chen Y W, Cai W Q, Shi Y G, et al. Effects of different salt concentrations and vacuum packaging on the shelf-stability of Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedti*) stored at 4 °C [J]. Food Control, 2019, 109: 106865.
- [31] Xu Y, Li L, Regenstein J M, et al. The contribution of autochthonous microflora on free fatty acids release and flavor development in low-salt fermented fish [J]. Food Chemistry, 2018, 256: 259-267.