



冷藏草鱼片新鲜度分级方法的建立

陈红, 杨方*, 夏文水

(江南大学食品学院, 食品科学与技术国家重点实验室,
江苏省食品安全与质量控制协同创新中心, 江苏 无锡 214122)

摘要: 现有淡水鱼片评价方法存在评价体系单一、不稳定的问题, 为提供一种冷藏草鱼片新鲜度分级方法, 实验以生鲜鱼片的色泽、气味、组织形态、肌肉弹性和熟鱼片的气味、滋味、汤汁形态各细分感官描述为指标, 依据主成分分析(PCA)和系统聚类分析(HCA)划分鲜度区间; 将K值等理化指标和肌间线蛋白、肌钙蛋白T等生化指标与细分感官描述指标比较; 最后依据感官、理化、生化指标的PCA和HCA结果, 评价以上冷藏草鱼片新鲜度。结果显示, 根据感官描述分析PCA和HCA, 冷藏草鱼片可分为3个鲜度等级: 0~1 d(一级鲜度), 2~7 d(二级鲜度), 8~10 d(三级鲜度)。一级鲜度终点肌间线蛋白和肌钙蛋白T相对灰度值下降至95.68%和96.75%; 二级鲜度终点肌间线蛋白和肌钙蛋白T分别下降至56.4%和69.6%; 三级鲜度终点肌间线蛋白和肌钙蛋白T相对灰度值分别下降至56.36%和52.85%。研究表明, HCA鲜度划分区间与细分感官描述分析鲜度划分区间一致, 细分感官描述分析可较全面反映冷藏草鱼新鲜度变化情况; 肌钙蛋白T与细分感官描述变化规律一致, 可以根据其变化判定冷藏草鱼片的新鲜度。本研究依据细分感官评价指标划分了鲜度区间并评价了该方法; 在此基础上, 研究了肌间线蛋白和肌钙蛋白T变化规律与感官评价HCA的关系, 得出肌钙蛋白T反映冷藏草鱼片鲜度效果好, 为后续根据新鲜度指示蛋白的变化规律开发鱼肉新鲜度检测试纸奠定基础。

关键词: 草鱼; 鱼片; 鲜度区间; 细分感官描述; 聚类分析; 鲜度蛋白

中图分类号: TS 254.4

文献标志码: A

淡水鱼类营养丰富、含水量高、肌肉组织中蛋白酶活性较高, 容易腐败变质^[1], 因此对于鱼肉的新鲜度评价和分级非常必要, 现在评价新鲜度主要有感官、化学、物理和生化指标。感官评价是用视觉、嗅觉、气味、触觉等来衡量鱼的新鲜度, 现有感官研究主要是作为辅助性指标, 评价者对鱼的整体感觉打分^[2], 没有划分细致的感官评价术语; 化学评价常使用的指标有总挥发性盐基氮(TVB-N)、K值、三甲胺

(TMA)、游离氨基酸(FAA)等, 这些用于评价鱼肉新鲜度的化学指标都有其特定的限值^[3]; 物理特性测定包括颜色、质构、形状、大小、体积等, 其中颜色和质构变化可反映鱼肉的新鲜度^[4], 近年来光谱(荧光光谱、高光谱、可见/近红外光谱)、生物传感、感官仿生等新兴新鲜度检测技术也逐步用于鱼类新鲜度评价, 优点是快速、无损, 不足之处是仪器设备投入大、模型建立比较复杂、建立的模型适用性小; 生化指标基

收稿日期: 2021-05-14 修回日期: 2021-06-21

资助项目: 国家自然科学基金(NSFC31701677); 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-47); 国家食品科学与工程一流学科建设项目(JUFSTR20180201)

第一作者: 陈红(照片), 从事水产品加工与保鲜研究, E-mail: 6190111003@stu.jiangnan.edu.cn

通信作者: 杨方, E-mail: yangfang_8_9@126.com



于鱼肉蛋白组学变化判别鱼肉新鲜度^[5-6], 然而现有的研究只提供了潜在的新鲜度指示蛋白, 未能建立新鲜度指示蛋白变化与新鲜度的关系; 贾胜男^[7]和 Zang 等^[8]发现肌钙蛋白 T 和肌间线蛋白与鱼肉质构的劣化和剪切力的下降有一定的关系。

现有新鲜度研究主要集中在货架期方面^[9-10], 其研究重点在于界定一定保藏条件下鱼肉的可食用期限, 涉及到新鲜度分级的研究^[11-12]主要是以单一指标为划分依据。然而不同指标表征的鲜度等级并无严格的对应关系, 这就导致不同方法划分的鱼肉鲜度品质无法比较, 并且鱼肉的品质下降涉及到物理、化学、生物化学和微生物等多方面的变化, 每种表征和评价新鲜度的方法都有自身的针对性和适用范围, 从多方面检测和评价可以避免单一指标的片面性, 会带来更加客观和全面的评价结果。

主成分分析 (PCA) 是利用降维的思想去除相互重叠的信息以简化数据结构, 将多变量转化为几个不相关的综合变量的多元统计方法, 已被广泛应用于药材、果蔬等品质指标的筛选和品质综合评价研究中^[13]。系统聚类分析 (HCA) 是常用的无监督模式识别技术之一, 可以基于相似性对样本进行分层分组。

草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 因其生长快、产量高、价格低成为我国消费者最喜爱的淡水鱼^[14]。本研究比较细分感官描述分析和理化、生化指标, 提供一种冷藏草鱼片新鲜度分级方法, 并评价肌间线蛋白和肌钙蛋白 T 降解对新鲜度的指示效果。

1 材料与方法

1.1 实验材料

草鱼平均体质量 (2.50±0.25) kg, 购自无锡欧尚超市, 鲜活草鱼击晕后宰杀, 去鳞去头去尾去内脏, 放入冰盒中 30 min 内运至实验室。在实验室用预冷去离子水清洗之后去皮, 取背部肉白色肌肉切成 2 cm × 2 cm × 2 cm 小块, 分装至蒸煮袋中热压密封。将蒸煮袋放置于 4 °C 恒温冰箱, 于 0、1、3、5、7、10 d 取样用于感官评价及各指标分析。

1.2 实验试剂与设备

高效液相色谱分析相关试剂均为色谱纯,

其余试剂若无特殊说明均为分析纯, 购自国药集团化学试剂有限公司。肌间线蛋白和肌钙蛋白 T 一抗、二抗分别购自 Proteintech Group 公司 (中国, 武汉)、Abcam 公司 (中国, 上海)。SDS-PAGE 凝胶配制相关试剂、ECL 发光试剂盒购自碧云天生物技术公司 (中国, 上海)。

3K15 冷冻离心机: Sigma 公司; LE438 pH 计: 梅特勒-托利多仪器上海有限公司; SMP500-16295-OBVN 酶标仪: 美国 Molecular Devices 公司; TA-XT plus 质构分析仪: 英国 SMS 公司; Ultimate3000 高效液相色谱系统: 美国赛默飞世尔科技公司; TS20 分光色差仪: 深圳三恩时科技公司; T10 basic ULTRA-TURRAX 均质机: 广州 IKA 仪器设备有限公司; UV-1000 紫外分光光度计: 上海天美科学仪器有限公司 BIO-RAD MiniPROTEIN® 3 cell 型电泳仪, Trans-blot 转印槽, 美国 BIO-RAD 公司; Tanon 凝胶成像系统, 上海天能科技有限公司。

1.3 感官评价

7 人组成的测评小组对生鲜和热处理草鱼片进行评定, 参考 Wang 等^[15]的方法并略作修改。色泽、气味、组织形态、肌肉弹性为生鱼片的评价指标; 气味、滋味、汤汁形态为热处理鱼片的评价指标。感官评定人员根据鱼片状态对其打分, 当感官评定人员超过半数认为鱼片感官不可接受时, 不再进行滋味的测评, 其余指标进行到贮藏期结束。感官得分 35 分时鱼片非常新鲜, 15 分时是感官品质的最低可接受分值。感官评定标准如表 1 所示。

1.4 草鱼理化指标的测定

K 值 K 值预处理和测定方法参考 SC/T 3048—2014^[16]“高效液相色谱法”。每个样品 3 组平行测定。

TVB-N TVB-N 按照 GB 5009.228—2016^[17]“自动凯氏定氮法”预处理和测定。TVB-N 值通过消耗的盐酸溶液体积计算, 每个样品做 3 组平行测定。

TMA 参照胡金鑫^[18]的方法预处理和测定。每个样品 3 组平行测定。

滴水损失率和系水力 (WHC) 测定 参考 Zang 等^[8]的方法并做部分修改。称量鱼片初始净重并作记录, 擦干表面水分后称重。汁液流失率 (%)=(初始重量-贮藏后质量)/初始重量×100 %。

表1 草鱼肌肉感官评定标准

Tab. 1 Criteria of sensory assessment applied for the *C. idella* muscle

得分 score	生鲜鱼片 raw fish				熟鱼片 boiled fish		
	色泽 color	气味 odor	组织形态 morphology	肌肉弹性 texture	气味 odor	滋味 taste	汤汁形态 broth turbidity
5	色泽正常, 肌肉切面富有光泽	固有香味, 清新	肌肉组织致密完整, 纹理很清晰	坚实有弹性, 手压后凹陷即消失	固有的香味, 清新	固有鲜味浓郁, 肉质弹性好	很清澈, 汤内无碎肉
4	色泽正常, 肌肉切面有光泽	固有香味, 较清新	肌肉组织致密, 纹理较清晰	坚实有弹性, 手压后凹陷较快消失	固有香味, 较清新	固有鲜味较浓郁, 肉质较有弹性	清澈, 汤内无碎肉
3	色泽稍暗淡, 肌肉切面稍有光泽	固有香味清淡, 略带异味	肌肉组织不紧密, 但不松散	较有弹性, 手压后凹陷消失较慢	固有香味清淡, 略带异味	固有鲜味平淡, 肉质弹性一般	较清澈, 汤内有少量碎肉
2	色泽较暗淡, 肌肉切面无光泽	固有香味消失, 有腥臭味或氨臭味	肌肉组织不紧密, 局部松散	稍有弹性, 手压后凹陷消失很慢	固有香味消失, 有腥臭味或氨臭味	无鲜味, 无异味, 肉质弹性差	肉质悬浮于汤内, 汤汁较浑浊
1	色泽暗淡, 肌肉切面无光泽	有强烈腥臭味或氨臭味	肌肉组织不紧密, 松散	无弹性, 手压后凹陷不消失	有强烈腥臭味或氨臭味	无鲜味, 肉质发黏, 无弹性, 有氨臭味	肉质腐败悬浮于汤内, 汤汁浑浊

用滤纸包覆 3 g 鱼背部肉, 常温下 3000 ×g 离心 15 min 后去除滤纸重新称重。样品保留水分的百分比即为 WHC。

剪切力 鱼肉剪切力参考 Yang 等^[19]的方法, 采用 TA.Plus 质构分析仪测定, A/CKB 探头。参数设置: 测试百分比为 50%, 触发力为 5 g, 测试前速度为 2 mm/s, 测试速度为 2 mm/s, 测试后速度为 10 mm/s。

色差测定 参考 Zhu 等^[20]的方法, 采用 CIE 推荐的 LAB 表色系统测量草鱼片的色差变化。L*表示亮度、a*表示红绿值、b*表示黄蓝值。

1.5 冷藏草鱼片肌间线蛋白和肌钙蛋白 T 的测定

参考 Yang 等^[19]的方法进行测定。利用 SDS-PAGE 分离肌间线蛋白和肌钙蛋白 T, 浓缩胶浓度 5%, 分离胶浓度 10%, 初始电压 80 V, 待蓝色线泳动到浓缩胶与分离胶界限处升至 120 V, 蓝色线泳动至胶板底部停止电泳。将胶取出放入染色、脱色后, 在 Tanon 凝胶系统中凝胶成像; SDS-PAGE 结束后, 依据肌间线蛋白和肌钙蛋白 T 相对分子量和 marker 将凝胶切下, 湿法转膜 (PVDF 膜, 0.45 μm), 参数参考 Yang 等^[19]的方法。采用 ECL 显色试剂盒在 Tanon 凝胶系统中发光成像, 用 Tanon 图像软件分析灰度值, 计算冷藏草鱼肌间线蛋白和肌钙蛋白 T 的变化。

1.6 数据分析

采用 Excel 2013 软件进行数据间的显著性差异分析, 差异显著水平 0.05; SPSS 19.0 数据处理软件对数据进行 PCA; 电泳凝胶及蛋白免疫印迹数据分析采用 Tanon 凝胶图像分析软件处理

与分析。Origin 8.6 软件对数据进行 HCA 和作图。

2 结果

2.1 感官描述分析

冷藏过程中草鱼片的感官得分随着储藏时间而下降 (图 1-a)。贮藏第 10 天时, 草鱼片已经出现腐败氨臭味, 感官品质不可接受, 此时不再进行熟鱼片滋味的评定。

生鱼片及熟鱼片的各项品质属性在贮藏期间总体变化趋势一致 (图 1-b)。生鱼片的色泽、组织形态、肌肉弹性、熟鱼片的气味总体呈下降趋势。生鱼片前期气味变化较快, 清新味到 1 d 评定时基本消失, 3~7 d 气味品质逐渐下降, 到 10 d 时出现腐败氨臭味, 对应熟鱼片气味变化也是如此。感官得分由开始的 5.00 分下降至 2.71 分。色泽由开始的莹润光泽逐渐变为黯淡无光泽。组织形态和肌肉弹性反映的是鱼肉的质构变化, 在冷藏过程中鱼肉质变得松软, 弹性逐渐消失。这两种属性在冷藏前 3 d 下降较为明显, 之后下降趋势趋缓。滋味品尝中鱼肉鲜味逐渐消失, 口感变柴。熟鱼肉的汤汁形态开始清澈, 贮藏期结束有少量碎肉, 该项指标分值区间变化较其他指标小。由感官评价结果来看, 气味是感官评价人员界定鱼片不可食用的主要因素, 新鲜鱼肉具有清新味道, 随着冷藏时间的增加, 清新味消失, 腥味逐渐加重, 到贮藏中后期氨味逐渐加重, 出现腐败臭味。

根据感官各指标 PCA 结果, 采用组间联接和 Euclidean 平方距离对标准化的冷藏草鱼片进行 HCA (图 1-c)。根据 HCA 结果, 冷藏草鱼片可

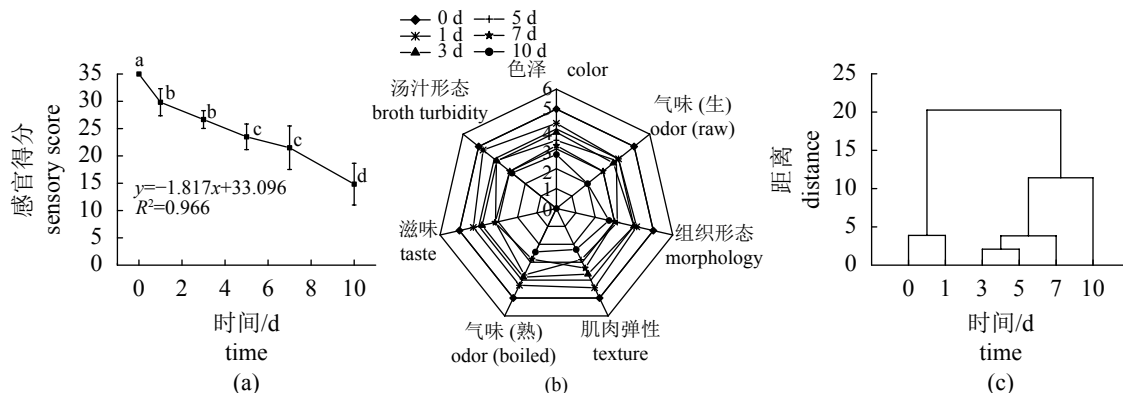


图 1 冷藏 10 d 草鱼片感官得分及 HCA

(a) 感官得分; (b) 感官指标; (c) 感官指标 HCA 聚类分析。不同的字母 a-d 表示差异显著性 ($P < 0.05$)。误差棒显示为标准偏差

Fig. 1 Changes in sensory score of *C. idella* fillets during 10 days of refrigerated storage

(a) sensory score; (b) sensory indexes; (c) sensory indexes HCA. Points with different letters a-d are significantly different ($P < 0.05$). Error bars show the standard deviation

分为 3 个鲜度等级: 0~1 d (一级鲜度), 2~7 d (二级鲜度), 8~10 d (三级鲜度)。一级鲜度下, 色泽、气味(生)、组织形态、肌肉弹性、气味(熟)、滋味、汤汁形态得分分别下降至初始分数的 85.5%、80.0%、82.8%、88.6%、85.8%、85.8%、94.2%; 二级鲜度下色泽、气味(生)、组织形态、肌肉弹性、气味(熟)、滋味、汤汁形态得分分别下降至 63.4%、60.0%、60.0%、66.6%、56.6%、63.4%、60.0%; 三级鲜度下色泽、气味(生)、组织形态、肌肉弹性、气味(熟)、汤汁形态得分分别下降至 54.2%、40.0%、54.2%、45.8%、48.6%、57.2%, 此时不再进行滋味的品评。由各等级分值也可以看出, 气味品质在草鱼片冷藏过程中下降最快。

2.2 鲜度指标变化

K 值变化 草鱼片冷藏过程中, K 值在冷藏过程中呈增加趋势, 初始值在 10% 以下, 10 d 时 K 值已达到 72.0% (图 2-a)。

K 值随时间变化的拟合方程: $y = 8.966e^{0.211x}$ ($R^2 = 0.983$)。将感官分级结果代入拟合公式: 一级鲜度 0%~11.18%, 二级鲜度 11.18%~42.12%, 三级鲜度 42.12%~81.73%。根据文献^[21], 最佳新鲜度限值 20%、拒绝值 60%, 而用感官描述进行冷藏草鱼片新鲜度分级更为细化。

TVB-N 和 TMA 变化 冷藏草鱼片 TVB-N 在冷藏过程中显著升高 (图 2-b) ($P < 0.05$)。对 TVB-N 值和贮藏时间进行线性拟合, 得草鱼片冷藏期间 TVB-N 的变化方程: $y = 1.074x + 6.528$ ($R^2 = 0.995$)。将感官分级结果代入拟合公式: 一

级鲜度 0~7.60 mg/100 g, 二级鲜度 7.60~14.05 mg/100 g, 三级鲜度 14.05~17.23 mg/100 g。GB 2733—2015 和我国水产品行业标准 SC/T 3108—2011 中仅有合格品和非合格品划分 ($TVB-N \leq 20$ mg/100 g 即为合格品), 已超过本实验三级鲜度最高限值。随着时间的延长, TMA 含量显著增加 (图 2-c) ($P < 0.05$)。前 7 天 TMA 升高趋势比较平缓, 冷藏后期 TMA 含量升高较快。TMA 与贮藏时间的关系方程: $y = 0.087x^2 - 0.057x + 0.691$ ($R^2 = 0.978$), 将感官分级结果代入拟合公式: 一级鲜度为 0~0.72 mg/100 g, 二级鲜度为 0.72~4.56 mg/100 g, 三级鲜度为 4.56~8.82 mg/100 g。以文献中 10 mg/100 g TMA 作为限值^[22], 超过本实验三级鲜度最高限值。由此可见, TVB-N 和 TMA 只是提供一个限值范围, 而不是新鲜度的真实反映。因此, 可参考当前 TVB-N 标准, 采用其他方法划分新鲜度等级。

WHC 和滴水损失的变化 冷藏过程滴水损失在冷藏期间显著上升, WHC 则趋势相反 (图 2-d)。滴水损失在 0~3 d 升高比较明显 ($P < 0.05$), 之后略有下降后升高速率趋缓, 可在一定程度上反映草鱼片新鲜度的变化。WHC 冷藏 1 d 下降较快 ($P < 0.05$), 1~3 d 无明显差异 ($P > 0.05$), 3 d 以后基本呈线性下降, 可以较好地反映新鲜度的变化。

剪切力和色差变化 草鱼冷藏过程中, 0~1 d 剪切力下降较快 ($P < 0.05$) (图 2-e), 后期下降趋势趋于平缓 (图 2-f)。草鱼冷藏过程中, L^* 值增加, a^* 值逐渐下降, b^* 值没有一致的趋势, 呈

先减小后增加的变化趋势。

2.3 新鲜度指示蛋白的变化

肌原纤维蛋白在冷藏过程中, 肌原纤维蛋白各条带没有明显变化, 可能是冷藏过程中有

些蛋白降解有些蛋白聚集导致电泳条带变化不明显(图3-a)。图3-b是肌间线蛋白和肌钙蛋白T的蛋白免疫印迹结果, 图3-c~d分别是肌间线蛋白和肌钙蛋白T相对灰度变化趋势图。肌间线

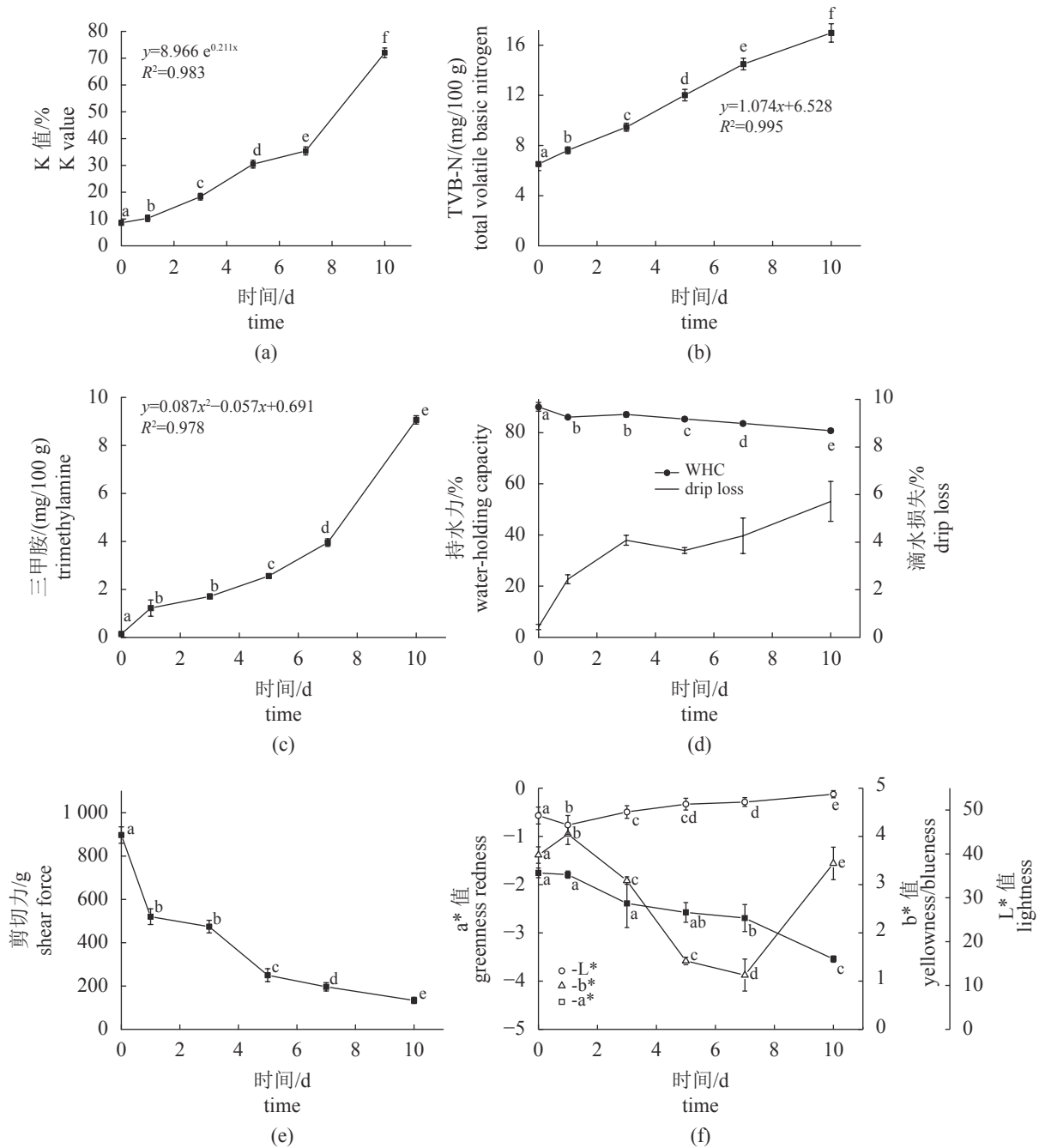


图2 冷藏10天草鱼片理化指标变化

(a) K值变化; (b) TVB-N变化; (c) TMA变化; (d) WHC和滴水损失变化; (e)剪切力变化; (f)色差变化。不同的小写字母表示差异显著性 ($P < 0.05$)。误差棒显示为标准偏差

Fig. 2 Changes in physical and chemical indicators of *C. idella* fillets during 10 days of refrigerated storage

(a) changes in K value, (b) changes in TVB-N, (c) changes in TMA, (d) changes in WHC and drip loss, (e) changes in shear force, (f) changes in color. Points with different letters are significantly different ($P < 0.05$). Error bars show the standard deviation

蛋白在冷藏期间相对灰度值呈下降趋势, 0 d 开始检测到肌间线蛋白的初级降解产物条带 (48 ku) 并随着时间的延长灰度加深。肌钙蛋白 T 整体也呈下降趋势, 0~1 d 的肌钙蛋白 T 比较稳定 ($P < 0.05$), 3~10 d 下降程度较大 ($P < 0.05$)。一级新鲜度下限时肌间线蛋白和肌钙蛋白 T 相对灰度值下降至 95.68% 和 96.75%; 二级新鲜度下限时肌间线蛋白和肌钙蛋白 T 分别下降至 56.4% 和 69.6%; 三级新鲜度下限时肌间线蛋白和肌钙蛋白 T 相对灰度值分别下降至 56.36% 和 52.85%。贮藏期结束时肌钙蛋白 T 的降解程度大于肌间线蛋白。由实验结果可知, 肌间线蛋白和肌钙蛋白 T 随冷藏时间呈一定的规律性变化, 有作为草鱼新鲜度评价指标的潜力。

2.4 新鲜度指标的确定及鲜度分级

相关性分析 为了确定冷藏草鱼片品质评价指标间的关系, 采用相关性分析 (correlation analysis, CA)。K 值、TVB-N、TMA 之间呈显著正相关 ($P < 0.01$); 剪切力与感官得分和 WHC 呈显著正相关 ($P < 0.01$), 与 TVB-N 和滴水损失呈显著负相关 ($P < 0.01$); 感官指标得分与 K 值、TVB-N、TMA、滴水损失之间呈显著负相关 ($P < 0.05$); a* 值变化与感官得分、K 值、TMA 显著相关 ($P < 0.05$); 滴水损失与 K 值、TVB-N、TMA 呈显著正相关 ($P < 0.05$); WHC 与感官得分呈显著正相关 ($P < 0.05$), 与 TVB-N 和滴水损失呈显著负相关 ($P < 0.05$); 肌间线蛋白与感官评价和剪切力

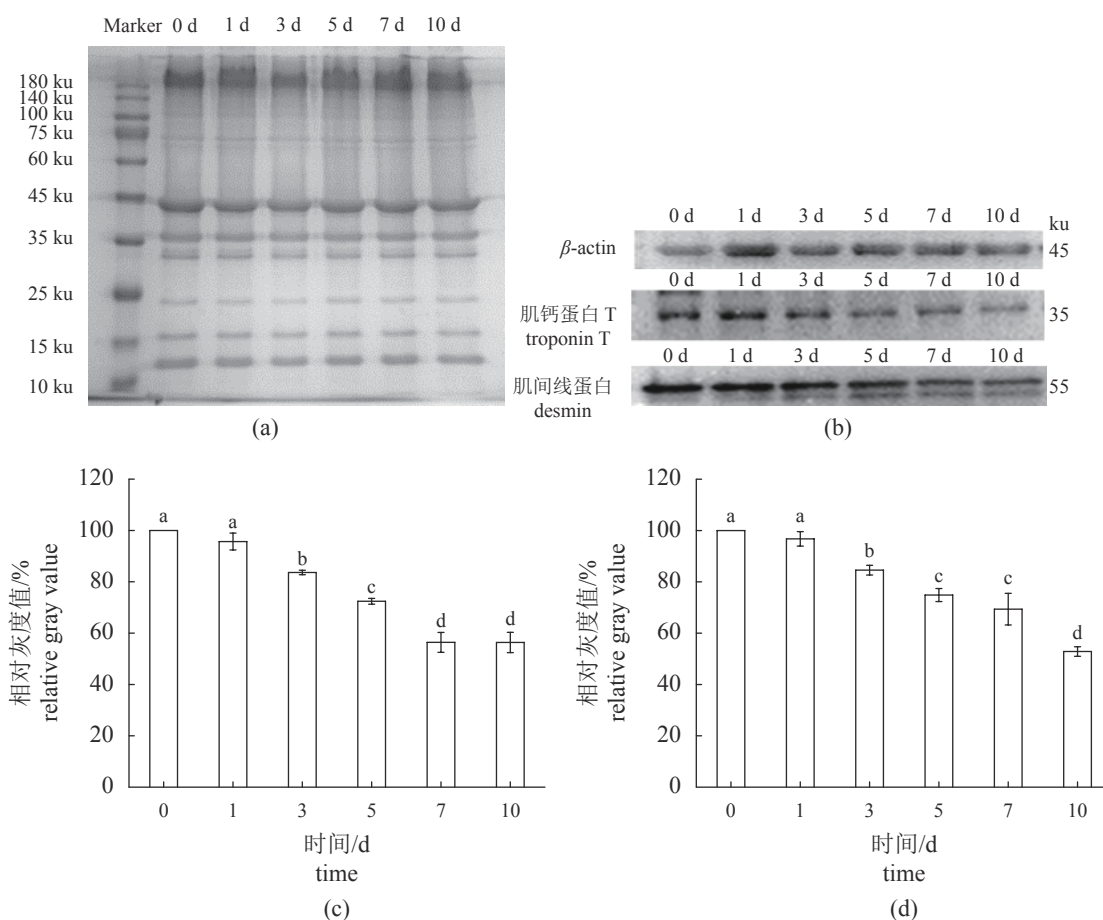


图 3 冷藏 10 d 草鱼肌原纤维蛋白、肌间线蛋白和肌钙蛋白 T 变化

(a) 肌原纤维蛋白电泳图; (b) 肌间线蛋白和肌钙蛋白 T 免疫印迹图; (c) 肌间线蛋白相对灰度值分析; (d) 肌钙蛋白 T 相对灰度值分析。不同的字母表示差异显著性 ($P < 0.05$)。误差棒显示为标准偏差

Fig. 3 Changes in fibrillin, desmin and troponin T of *C. idella* fillets during 10 days of refrigerated storage

(a) SDS-PAGE image of fibrillin in *C. idella* fillets during 10 days of refrigerated storage, (b) Western blotting image of desmin and troponin T in *C. idella* fillets during 10 days of refrigerated storage, (c) relative gray values calculated from Western blotting image of desmin, (d) relative gray values calculated from Western blotting image of troponin T. Points with different letters are significantly different ($P < 0.05$). Error bars show the standard deviation

呈显著正相关($P < 0.05$),与 K 值、TVB-N、TMA、和滴水损失呈显著负相关关系($P < 0.05$);肌钙蛋白T与感官得分、WHC呈显著正相关关系($P < 0.05$),与 K 值、TVB-N、TMA、滴水损失呈显著负相关关系($P < 0.05$)。由相关性分析结果可知,各指标间均存在不同程度的相关性,说明不同品质评价指标存在信息重叠。为了提高评价效率和准确性,有必要对相关指标进一步分类和简化。

主成分分析(PCA) 采用SPSS 19.0软件对冷藏草鱼片的原始数据进行PCA,抽取特征值大于1的因子。冷藏草鱼片品质评价指标得出两个主成分:第一主成分的特征值为15.983,贡献率84.120%,主要代表了贮藏时间、感官各指标、 K 值、TVB-N、TMA、 L^* 值、 a^* 值、滴水损失、WHC、剪切力、肌间线蛋白和肌钙蛋白T,说明这些指标是影响冷藏草鱼片新鲜度品质的主要因素。第二主成分的特征值为1.446,贡献率为7.612%,主要代表了 b^* 值。两个主成分累计贡献率达到91.732%,基本能够反映原有变量信息。传统指标结果中感官各指标对草鱼片新鲜度变化的敏感程度普遍较高(表2),可以很好地反映冷藏草鱼片新鲜度的变化,其次是化学指标中的TVB-N、 K 值、TMA和物理指标中的滴水损失、剪切力、WHC,色差变化对新鲜度的反映程度相对较弱。由CA和PCA结果可知,肌间线蛋白和肌钙蛋白T与贮藏时间和感官得分均具有良好的相关性($P < 0.01$),肌钙蛋白T与感官得分的相关性系数(0.978**)大于肌间线蛋白与感官得分的相关性系数(0.897*)(*和**分别代表在0.05和0.01水平上显著相关),因此肌钙蛋白T对新鲜度的反映程度较肌间线蛋白强。

品质指标的系统聚类分析(HCA) 根据PCA结果,采用组间联接和Euclidean平方距离对标准化的冷藏草鱼片感官、理化、蛋白指标进行系统聚类分析(图4-a)。在Euclidean平方距离为10时,草鱼从刚宰杀到初期腐败可以分为3个阶段:第一阶段为0~1 d(一级新鲜),第二阶段为2~7 d(二级新鲜),第三阶段为8~10 d(三级新鲜)。感官指标HCA结果与理化和蛋白HCA对冷藏草鱼片的分级结果具有一致性。

冷藏草鱼片新鲜度评价方法的建立 根据PCA和HCA鲜度分级结果,一级新鲜度终点肌间线蛋白和肌钙蛋白T相对灰度值分别下降

至95.68%和96.75%;二级新鲜度终点肌间线蛋白和肌钙蛋白T分别下降至56.4%和69.6%;三级鲜度终点肌间线蛋白和肌钙蛋白T相对灰度值分别下降至56.36%和52.85%。肌间线蛋白在冷藏前期中期变化趋势较好,后期相对灰度值基本不变。肌钙蛋白T的相对灰度值在草鱼片冷藏期间有较好的变化趋势,且肌钙蛋白T与感官描述分析的HCA分组结果与感官描述分析HCA分组结果一致(图4-b),因此可根据肌钙蛋白T相对灰度值来确定冷藏草鱼片的新鲜度等级。

3 讨论

本研究细分了感官各项指标,并将其与多项理化指标对冷藏草鱼片新鲜度指示效果进行了比较分析,结果表明细分感官描述对鲜度分级效果较好,尤其以气味描述分析更为敏感,且感官描述分析的HCA与综合各项指标评价的HCA分级区间一致,说明其用于新鲜度评价的可靠性。进一步的,通过对两种潜在鲜度指示蛋白的变化规律进行了研究,发现了肌钙蛋白T的HCA与综合指标HCA分级区间的一致性,挖掘了其用作鲜度指示蛋白的有效性。以往的评价方法主要以理化指标为依据,研究重点集中在货架期方面^[2]。本研究在鱼肉新鲜度分级方法上提供了一种思路。

3.1 感官描述分析对鲜度指标的指示效果

在 K 值划分的冷藏草鱼片的一级新鲜度阶段,感官品质不断下降,其中气味和肌肉弹性得分下降最快。 K 值的一级新鲜度阶段,草鱼的清新气味已被土腥味取代,肌肉弹性下降,按压后凹陷消失较慢,说明 K 值在前期对鱼肉新鲜度的界定不敏感。7 d时滋味品尝中鲜味平淡或已基本消失。TVB-N和TMA由微生物外源酶分解蛋白质、多肽、非蛋白氮等产生,是评价鱼肉腐败的重要指标,与肉的新鲜度、感官特性密切相关^[23]。TVB-N和TMA的产生和积累是草鱼不愉快气味产生的主要原因,导致感官评分中气味得分的下降,但总体熟鱼片的气味优于生鱼片的气味。滴水损失和持水力的变化可直观反映感官指标中的肌肉形态和弹性,滴水损失的升高不仅会使肌肉组织失去原有形态,也会造成肌肉色泽和营养的损失,WHC下降则使得肌肉细胞失水,失去弹性。采用剪切力对

表 2 冷藏草鱼数据的旋转因子负荷矩阵及因子方差分析

Tab. 2 Rotated factor loading matrix for the communality attributes and values and factor statistics of refrigerated *C. idella* filets

变量类别 variable categories	变量 variable		主成分 principal Component	
	名称 name	代号 code Name	1	2
贮藏时间 storage time	时间 time	X1	-0.991*	0.080
感官得分 sensory score	色泽 color	X2	0.988*	0.146
	气味(生) odor (raw)	X3	0.957*	-0.079
	组织形态 morphology	X4	0.962*	0.177
	肌肉弹性 texture	X5	0.959*	0.104
	气味(熟) odor (boiled)	X6	0.980*	0.052
	滋味 taste	X7	0.931*	-0.320
	汤汁形态 broth turbidity	X8	0.959*	0.138
	化学指标 chemical indexes	TVB-N	X9	-0.986*
TMA		X10	-0.927*	0.360
K值 K value		X11	-0.942*	0.328
物理指标 physical indexes		L^* lightness	X12	-0.690
	a^* redness/greenness	X13	0.765*	-0.236
	b^* yellowness blueness	X14	0.546	0.761*
	剪切力 shear force	X15	0.938*	0.271
	WHC	X16	0.878*	0.189
	滴水损失 drip loss	X17	-0.945*	-0.189
	蛋白变化 protein changes	肌间线蛋白 desmin	X18	0.956*
肌钙蛋白T troponin T		X19	0.991*	-0.070
特征值 eigenvalue			15.983	1.446
总方差/贡献率/% total variance			84.120	7.612
累计特征值 cumulative eigenvalue			15.983	17.429
累计贡献率/% cumulative			84.120	91.732

注: *表示负荷的绝对值>0.7

Notes: *represents the absolute value of load > 0.7

冷藏草鱼片的质构进行评价。冷藏过程中肌肉形态由紧密到松散可能是造成剪切力下降的主要原因, 而肌肉失水、肌肉细胞的完整性、内源酶的活性、能量代谢的速率和程度则是导致肌肉质地松散的主要原因^[24]。颜色也是重要的品质属性, 直接关系到鱼的新鲜度和消费者的接受度^[25]。 L^* 值在冷藏过程中增加, 而感官评价表明新鲜鱼肉莹润透红有光泽, 到贮藏期结束, 鱼肉表面暗黄无光泽, 与测定值趋势相反。 a^* 值在冷藏后期下降, b^* 值在冷藏过程中先减小后增

加。色差变化对鱼肉新鲜度的反映程度较其他指标弱。

3.2 蛋白变化与新鲜度的关系

现有报道不乏对鱼类新鲜度指示蛋白的研究, 但研究重点在于寻找潜在的新鲜度指示蛋白, 未能将新鲜度指示蛋白的变化与新鲜度对应^[10]。肌间线蛋白和肌钙蛋白 T 与感官得分和贮藏时间均具有良好的相关性, 可以用来表征冷藏草鱼片新鲜度的变化。肌间线蛋白对钙蛋白

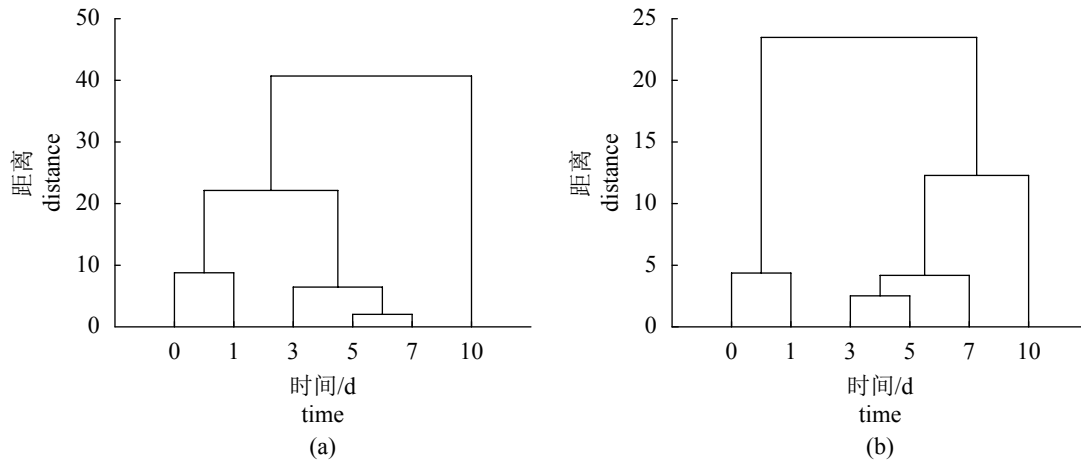


图4 冷藏草鱼片品质指标聚类图

(a) 感官、理化和蛋白指标聚类分析; (b) 感官指标与肌钙蛋白 T 聚类分析

Fig. 4 Clustering trees of *C. idella* fillets quality indexes

(a) sensory indexes, physicochemical and protein indexes HCA; (b) sensory indexes and troponin T HCA

酶比较敏感,其降解会导致肌原纤维结构的破坏,最终导致持水力的下降、质构的劣化。Zang等^[8]研究显示,肌间线蛋白在贮藏前期下降趋势较明显,10 d以后基本不变,与本研究结果一致。因此,肌间线蛋白在冷藏前期对新鲜度的指示效果比较灵敏,适于指示冷藏草鱼片可食用时期的新鲜度。肌钙蛋白 T 属于小分子量的细胞骨架蛋白,位置上与肌动蛋白相近,对维持细丝的强度有重要作用^[19]。本研究的肌钙蛋白 T 相对灰度值变化和剪切力的相关性系数 ($P < 0.05$) 也印证了这点。

3.3 展望

本实验研究了冷藏草鱼新鲜度变化规律并提供了新鲜度分级的方法,对于其他鱼类和冷藏条件的体系适用性还需要进一步研究和探讨。后续研究可以对肌间线蛋白和肌钙蛋白 T 进行定量,根据不同时间肌间线蛋白和肌钙蛋白 T 含量直接判定冷藏草鱼片的新鲜度等级;并可根据肌间线蛋白和肌钙蛋白 T 的结构和性质开发快速检测方法或依据其变化特性拟定水产品新鲜度变化标准。

参考文献 (References):

- [1] Wu L L, Pu H B, Sun D W. Novel techniques for evaluating freshness quality attributes of fish: a review of recent developments[J]. Trends in Food Science & Technology, 2019, 83: 259-273.
- [2] Yu D W, Xu Y S, Jiang Q X, et al. Freshness assess-

ment of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets during storage at 4 °C by physicochemical, microbiological and sensorial evaluations[J]. Journal of Food Safety, 2017, 37(2): e12305.

- [3] Cheng J H, Sun D W, Qu J H, et al. Developing a multispectral imaging for simultaneous prediction of freshness indicators during chemical spoilage of grass carp fish fillet[J]. Journal of Food Engineering, 2016, 182: 9-17.
- [4] Olafsdottir G, Nesvadba P, Natale C D, et al. Multisensor for fish quality determination[J]. Trends in Food Science & Technology, 2004, 15(2): 86-93.
- [5] Men L, Li Y Z, Wang X L, et al. Protein biomarkers associated with frozen Japanese puffer fish (*Takifugu rubripes*) quality traits[J]. Food Chemistry, 2020, 327: 127002.
- [6] Huang C Y, Hou C L, Ijaz M, et al. Proteomics discovery of protein biomarkers linked to meat quality traits in post-mortem muscles: current trends and future prospects: a review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 105: 416-432.
- [7] 贾胜男, 杨方, 臧金红, 等. 骨架蛋白降解对冰鲜草鱼质构的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(13): 1-7.
- Jia S N, Yang F, Zang J H, et al. Effect of cytoskeletal protein degradation on texture of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) during ice storage[J]. Food Science, 2019, 40(13): 1-7(in Chinese).
- [8] Zang J H, Xu Y S, Xia W S, et al. The impact of desmin on texture and water-holding capacity of ice-stored grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fillet[J]. International

- Journal of Food Science & Technology, 2017, 52(2): 464-471.
- [9] Kuvei F G, Khodanazary A, Isaac Z. Quality index method (QIM) sensory scheme for gutted greenback grey mullet *Chelon subviridis* and its shelf life determination[J]. *International Journal of Food Properties*, 2019, 22(1): 618-629.
- [10] Li X P, Chen Y, Cai L Y, *et al.* Freshness assessment of turbot (*Scophthalmus maximus*) by Quality Index Method (QIM), biochemical, and proteomic methods[J]. *LWT*, 2017, 78: 172-180.
- [11] 姚丽娅. 鲢鱼新鲜度的可视化嗅觉检测技术及检测标准研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2014.
- Yao L Y. Study on olfactory visualization technique and detection standard for silver carp freshness[D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2014 (in Chinese).
- [12] Kuda T, Fujita M, Goto H, *et al.* Effects of freshness on ATP-related compounds in retorted chub mackerel[J]. *LWT*, 2007, 40(7): 1186-1190.
- [13] Lyu J, Zhou L Y, Bi J F, *et al.* Quality evaluation of yellow peach chips prepared by explosion puffing drying[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2015, 52(12): 8204-8211.
- [14] He F, Kong Q, Jin Z H, *et al.* Developing a unidirectionally permeable edible film based on κ -carrageenan and gelatin for visually detecting the freshness of grass carp fillets[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 241: 116336.
- [15] Wang H L, Chen X X, Zhang J J, *et al.* Postmortem changes in the freshness and volatile compounds of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2020, 14(1): 584-596.
- [16] 中华人民共和国农业部. SC/T 3048—2014 鱼类鲜度指标 K 值的测定 高效液相色谱法[S]. 北京: 中国农业出版社, 2014: 1-4.
- Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. SCT 3048—2014 Determination of K value as fishery freshness index-High performance liquid chromatography[S]. Beijing: China Standard Press, 2014: 1-4. (in Chinese).
- [17] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB 5009.228—2016 食品安全国家标准 食品中挥发性盐基氮的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017: 3-5.
- National Standard of the People's Republic of China. GB 5009.228—2016 National food safety standard-determination of volatile basic nitrogen in food[S]. Beijing: China Standard Press, 2017: 3-5 (in Chinese).
- [18] 胡金鑫. 应用挥发胺/氧化三甲胺摩尔比值评价鱼产品新鲜程度的研究[D]. 柳州: 广西科技大学, 2014.
- Hu J X. Evaluating the fish product freshness by the ratio of volatile amine and TMAO[D]. Liuzhou: Guangxi University of Science and Technology, 2014 (in Chinese).
- [19] Yang F, Jia S N, Liu J X, *et al.* The relationship between degradation of myofibrillar structural proteins and texture of superchilled grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fillet[J]. *Food Chemistry*, 2019, 301: 125278.
- [20] Zhu S, Ramaswamy H S, Simpson B K. Effect of high-pressure versus conventional thawing on color, drip loss and texture of Atlantic salmon frozen by different methods[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2004, 37(3): 291-299.
- [21] 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 D W. Study on effect of chitosan-based coating on the quality of refrigerated grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fillets[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2019 (in Chinese).
- [22] Prabhakar P K, Srivastav P P, Pathak S S. Kinetics of total volatile basic nitrogen and trimethylamine formation in stored rohu (*Labeo rohita*) fish[J]. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 2019, 28(5): 452-464.
- [23] Bekhit A E D A, Holman B W B, Giteru S G, *et al.* Total volatile basic nitrogen (TVB-N) and its role in meat spoilage: a review[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 109: 280-302.
- [24] Lu H, Liu X C, Zhang Y M, *et al.* Effects of chilling and partial freezing on *Rigor mortis* changes of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) fillets: cathepsin activity, protein degradation and microstructure of myofibrils[J]. *Journal of Food Science*, 2015, 80(12): C2725-C2731.
- [25] Lalabadi H M, Sadeghi M, Mireei S A. Fish freshness categorization from eyes and gills color features using multi-class artificial neural network and support vector machines[J]. *Aquacultural Engineering*, 2020, 90: 102076.

Freshness assessment and grading of refrigerated grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fillets

CHEN Hong, YANG Fang*, XIA Wenshui

(State Key Laboratory of Food Science and Technology, School of Food Science and Technology, Collaborative Innovation Center of Food Safety and Quality Control in Jiangsu Province, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: The current freshwater fish grading methods are simple and unrepeatable. This paper was aimed to provide a grading method for refrigerated grass carp fillets. The color, odor, morphology, texture of raw grass carp fillets and the odor, taste and broth turbidity of boiled grass carp fillets were used for sensory description analysis. According to principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA), the freshness grading of refrigerated grass carp fillets was provided. Physical and chemical indicators including the K value and biochemical indicators such as desmin and troponin T were compared with specified sensory properties. The evaluation of the grading method was given. According to the results of PCA and HCA based on sensory description, refrigerated grass carp fillets can be divided into three freshness levels: 0-1 d (first-level freshness), 2-7 d (second-level freshness), and 8-10 d (three-level freshness). The relative gray values of desmin and troponin T decreased to 95.68 % and 96.75 % at the end of first-level freshness; to 56.4 % and 69.6 % at the end of second-level freshness; to 56.36 % and 52.85 % at the end of third-level freshness respectively. HCA reflected by physical and chemical indicators was consistent with that by specified sensory indicators, indicating that specified sensory properties could reflect the change of freshness of freshwater fish. Troponin T had a similar trend in the change and a potential as freshness indicator. This study provided freshness grading ranges based on specified sensory indicators, and made an evaluation. On this basis, the relationship between the change of desmin and troponin T, and HCA reflected by specified sensory indicators was investigated. Troponin T could reflect the freshness of refrigerated grass carp fillets effectively. This provides a foundation for developing testing paper for fish in future.

Key words: *Ctenopharyngodon idella*; fillet; freshness grading; specified sensory description analysis; hierarchical cluster analysis; protein for freshness indicator

Corresponding author: YANG Fang. E-mail: yangfang_8_9@126.com

Funding projects: National Nature Science Foundation of China (NSFC31701677); China Agriculture Research System (CARS-47); National First-Class Discipline Programme of Food Science and Technology (JUFSTR20180201)