



## 养殖褐牙鲆的极限品质及锁鲜调控

周进, 刘俊荣\*, 赵前, 曲秦坤,  
刘悦朋, 徐晔, 田元勇  
(大连海洋大学食品科学与工程学院, 辽宁大连 116023)

**摘要:** 为构建工厂化养殖鱼类鲜活品质的渔后调控技术体系, 以极限品质为着眼点, 解读海水养殖白肉鱼刺身级品质形成及变化机制, 以褐牙鲆为研究对象, 从致死方式着手, 探究肌肉品质的极限, 即通过极端处置以探索其鲜活品质的极限。以破髓处置 (SCD) 得到上限品质, 窒息致死 (SA) 得到下限品质, 对照商业操作即断髓处置 (SCC), 3 个致死处理组均于 2 °C 下冷藏 120 h。期间分别对僵直、断裂强度、肌肉收缩率、肌肉 pH 值、ATP 及关联物、白度、显微结构和体表颜色进行分析。致死应激对品质及稳定性的影响至关重要, 最强致死应激 SA 组死后 6~12 h 快速进入僵直, 随即解僵。而最低致死应激 SCD 组死后 48~72 h 方达到最大僵直, 且僵直指数缓慢上升, 呈现出最好的冷藏稳定性。常规商业处置 SCC 组则介于二者之间, 但明显优于下限 SA 组, 逊于上限 SCD 组。同样的, 最低致死应激 SCD 组保留最高的 ATP, 死后 12 h 各处理组肌肉 ATP 含量由初始的 3.13  $\mu\text{mol/g}$  分别下降至 SCD 组 2.13  $\mu\text{mol/g}$ 、SCC 组 1.99  $\mu\text{mol/g}$  及 SA 组 0  $\mu\text{mol/g}$ 。肌肉降至极限 pH 的时间分别为 SCD 组在 48 h, SCC 组在 48 h, SA 组则在死后 12 h 时达到极限。观察及色度分析结果表明, 最强致死应激 SA 组肌肉外观最差, 表现在最低的  $L^*$  值, 更高的  $a^*$  值和较低的  $b^*$  值。肌肉显微结构观察发现, SA 组细胞间隙最大且最不稳定。从鱼体表面也可以明显观察到致死应激强度造成的影响, 应激越大充血越突出。综上, 脊髓破坏这种最低应激强度破坏了运动神经系统, 尽量减少由脊髓反射引起的肌肉运动, 最大限度地减少了活体褐牙鲆的死前应激, 是满足极限品质的关键因素。研究为通过控制致死应激获得最佳品质提供参考。

**关键词:** 褐牙鲆; 致死应激; 锁鲜; 品质上限

**中图分类号:** S 983

**文献标志码:** A

2019 年我国海水养殖鱼类产量约为 160 万 t, 白肉鱼占主要产量, 约为 157 万 t<sup>[1]</sup>。前期调查研究表明, 我国海水养殖鱼类在销售终端产品品质有极大的提升空间, 如市售鲜活大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*) 品质低于离水后即刻断髓速杀的冷鲜大菱鲆<sup>[2]</sup>。目前, 我国水产品领域无论是消费理念还是原料生产方式都面临深刻变革。第一,

我国素有活鱼消费传统, 但活体离水后经运输至销售终端历经多种胁迫因素, 直至死前处于应激状态, 影响鱼肉品质<sup>[3-4]</sup>。第二, 受可持续性发展的影响, 最大限度地减少碳排放, 目前交通运输是全球碳排放的主要制造者, 应当减少水产品在全球碳排放的主要制造者, 应当减少水产品在捕后运输过程中的碳排放量<sup>[5]</sup>。第三, 国内市场对水产品品质的需求不断刷新, 以进口冷鲜大西

收稿日期: 2021-04-24 修回日期: 2021-06-11

资助项目: 国家重点研发计划 (2018YFD0901001)

第一作者: 周进 (照片), 从事水产品保鲜研究, E-mail: zhoujin19952020@163.com

通信作者: 刘俊荣, 从事水产品加工及贮藏工程研究, E-mail: ljunrong@dlou.edu.cn



洋鲑 (*Salmo salar*) 的高端刺身级品质的消费体验为例, 消费者不再满足对以往鱼类产品活而不鲜的品质要求, 而是追求刺身级的新鲜极限品质<sup>[6]</sup>。第四, 科学伦理应受到重视, 动物福利对应的高品质无论社会效益还是经济效益都令人瞩目, 所以亟需在整个产业链中发展和实施特定的鱼类福利要求<sup>[7]</sup>。本研究侧重探索离水后的鱼类福利与销售端产品品质。

改变现有国产水产品品质现状, 从品质形象提升我国养殖水产品产业, 突破传统鲜度品质框架是研究的初衷。以褐牙鲈 (*Paralichthys olivaceus*) 为研究对象, 根据 2020 年《中国渔业统计年鉴》<sup>[1]</sup> 统计显示, 2019 年我国鲈类产量达 11.6 万 t, 是重要的经济养殖品种。国内常见的养殖褐牙鲈商业致死方式为断髓速杀或零售端的疲劳致死, 脊髓破坏这种致死方法是延缓死后过程最有效的方法, 能得到鱼肉最佳品质<sup>[8-9]</sup>。实验方案设计以追求刺身级褐牙鲈品质上限为出发点, 从致死方式入手, 以传统致死方式为品质下限的鱼体生化特性为对比, 旨在动物福利背景下改善国产海水养殖鱼类的品质形象, 为品质易逝期锁鲜的基础研究及实践指导提供科学参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验对象

38 尾健康的养殖褐牙鲈活体 (商品规格为

850~1 000 g/尾) 于 2020 年 11 月 21 日采于山东威海, 在运输箱中充氧包装后运送到实验室。

### 1.2 研究思路

海水养殖鱼类源头品质受多种因素影响, 从活体离水开始, 都存在一个品质易逝期(图 1)。健康活体理论上有其天然属性即为理论品质上限, 但是活体在从捕后到销售端会经历采捕离水应激、致死方法产生的应激和运输过程中挤压、缺氧、碰击等一系列应激源叠加产生的死前应激。本研究探讨不同致死方法对活体产生的应激, 以最小致死应激“破髓处置”得到上限品质, 以最大致死应激“窒息致死”得到下限品质, 对照商业操作断髓处置, 以追求致死操作方法上限来无限接近理论品质上限。

### 1.3 实验设计

实验设破髓组 (SCD)、断髓组 (SCC) 和窒息组 (SA), 以破髓速杀为原料点 (0 h), 各组处理方法见下。

**破髓速杀** 在实验室将活体褐牙鲈从运输箱中逐条捞出, 用铁锥从褐牙鲈眼睛上方平行插入 5 cm 深, 然后用铁丝伸入鱼脊髓快速抽插, 破坏神经系统, 鳃切并断尾在冰海水中放血, 去内脏后在冰海水中降温至 0 °C 后, 将胴体用包装袋

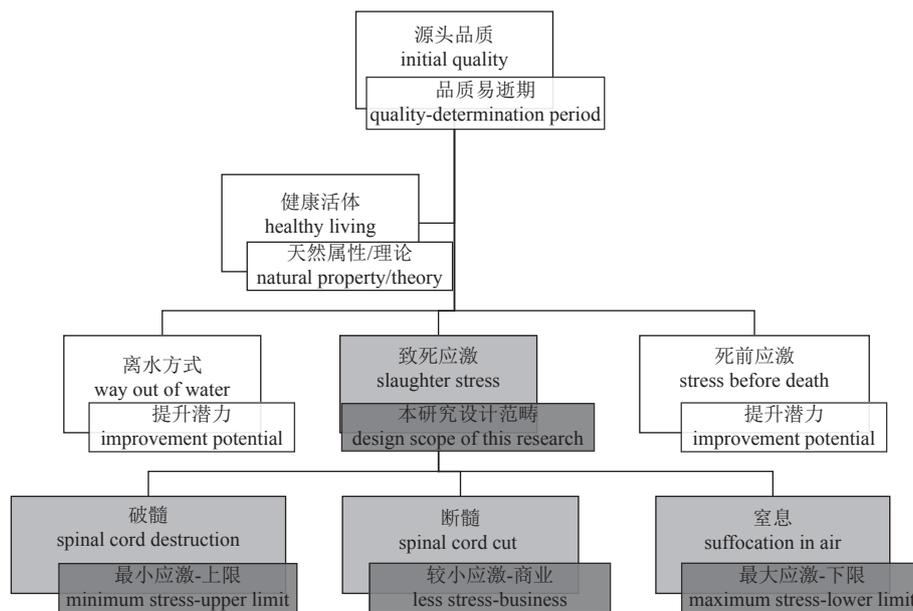


图 1 源头品质因素及上限品质方案

Fig. 1 Initial quality factors and upper limit of quality scheme

单体分装后置于泡沫箱中,在2℃层析柜中贮藏120 h,记为SCD组,破髓速杀鱼头解剖示意图如图2所示。

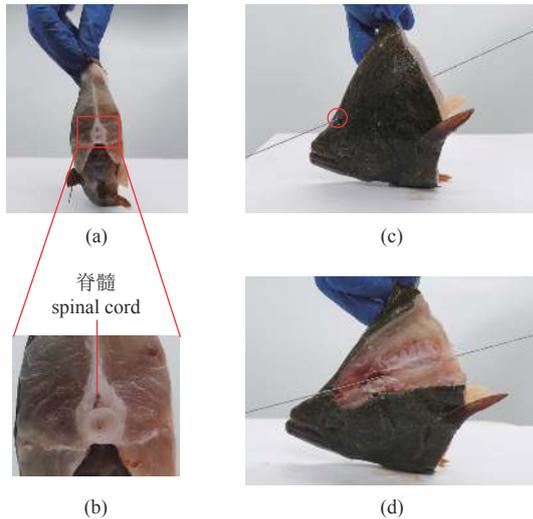


图2 破髓速杀鱼头解剖示意图

(a)-(b) 褐牙鲆脊髓截面; (c)-(d) 铁丝破坏脊髓

Fig. 2 Spinal cord destruction (SCD) illustrations of *P. olivaceus*

(a)-(b) section of spinal cord of *P. olivaceus*; (c)-(d) destruction of spinal cord by a wire

**断髓速杀** 在实验室将活体褐牙鲆从运输箱中逐条捞出随即断髓速杀,鳃切并断尾在冰海水中放血,去内脏并在冰海水中降温至0℃后,将胴体用包装袋单体分装后置于泡沫箱中,在2℃层析柜中贮藏120 h,记为SCC组。

**疲劳致死** 在实验室将活体褐牙鲆从运输箱中逐条捞出置于塑料筐中,在空气中缺氧挣扎90 min致死后鳃切并断尾在冰海水中放血,去内脏后在冰海水中降温至0℃后,将胴体用包装袋单体分装后置于泡沫箱中,在2℃层析柜中贮藏120 h,记为SA组。

#### 1.4 指标分析

**僵直指数** 根据Tulli等<sup>[10]</sup>的方法。将鱼体放在水平板上,测量出整个鱼体的中心位置,从中点作为分界线,将鱼体的前1/2放在水平板上,后1/2置于水平板以外任其垂下,手指轻轻压住鱼头附近起到固定作用,测定尾部与水平板构成的最初下垂距离 $L$  (cm)和在不同僵直程度时的距离 $S$  (cm),计算僵直指数( $R$ )。

$$R(\%) = \frac{L - S}{L} \times 100\%$$

**肌肉收缩率** 肌肉收缩率的测量根据以前的报告进行修改<sup>[11]</sup>。在贮藏6 h,取相同部位的肌肉切成1 cm × 1 cm × 5 cm的小块并置于带有刻度的带盖塑料盒中,在肌肉两端用胶布做记号后,放置于2℃层析柜中,按时测量收缩程度,每组2个平行。肌肉收缩率 $C$  (%)用以下的计算公式表示:

$$C(\%) = \frac{A - B}{A} \times 100\%$$

式中, $A$  (cm)表示初始测量的长度, $B$  (cm)表示每个时间点测量的长度。

**断裂强度** 断裂强度的测量选用Misima等<sup>[8]</sup>的方法并进行修改。选取1 cm × 1 cm × 2 cm的鱼块,在室温下测量肌肉样品的最大剪切力即为断裂强度,每组3个重复。

**pH值**参照刘金洋等<sup>[12]</sup>的测定方法。取2 g肉糜加入10 mL 20 mmol/L碘乙酸钠,用均质机3 000×g均质30 s,静置20 min,测定pH。每组3个重复。

**ATP及关联物** ATP及其关联物含量的测定参照刘慧慧等<sup>[13]</sup>的方法,准确称取1 g肌肉样品,加入10 mL 5%的PCA立即进行组织捣碎10 min,加入2 mol/L KOH调节pH为2~3.5,加水补体积至20 mL,离心(3 000×g, 5 min),取4 mL上清液过膜后加入1 mL 0.1 mol/L的磷酸盐缓冲液(PBS, pH为7.5),用反相高效色谱法测定ATP及其核苷酸关联物含量。

**白度** 肌肉样品的白度用色彩色差仪测量,使用1 cm厚的普通肌肉切片,在每个取样时间每个样品记录一式二份。其中 $L^*$ 值表示亮度(lightness), $a^*$  (redness/greenness)正值表示偏红,负值表示偏绿; $b^*$  (yellowness/blueness)正值表示偏黄,负值表示偏蓝。白度值(whiteness)由下式<sup>[14]</sup>计算:

$$W = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$$

**光学显微镜观察** 普通肌肉横截面的光学显微镜观察选用Ando等<sup>[15]</sup>的方法进行测量,进行了低温恒温器切片制作。即用4%的多聚甲醛和液氮固定并冻结1 cm × 1 cm × 2 cm的肌肉,制成各保存时间的低温恒温器横断切片。将制成的切片进行苏木精-伊红(H.E)染色,用光学显微镜观察,观察倍数为100倍。每组2个重复。

**体表颜色** 将鱼按照不同的致死方式致死,用照相机对鱼体进行拍照。

#### 1.5 数据分析

实验结果均以平均值±标准差表示,采用

SPSS 17.0 软件对实验数据进行单因素方差分析组间比较, 显著性水平设为 0.05。

## 2 结果

### 2.1 褐牙鲈死后僵直特性

**僵直变化** 鱼死后, 体内 ATP 大量消耗, 肌球蛋白和肌动蛋白的结合逐渐增强, 肌球蛋白和肌动蛋白形成僵硬的复合体, 限制了肌肉的伸缩, 产生了死后僵直<sup>[9]</sup>。在死后 6 h 内, 3 组都开始发生僵直。SA 组僵直发展迅速, 在 6 h 时僵直指数达到 65%, 最大僵直发生在 6~12 h。SCC 组僵直指数在 6 h 内缓慢上升, 6~24 h 内迅速发展, 最大僵直发生在 24~48 h(图 3)。相比于这 2 组, SCD 组在整个贮藏过程中则显示出更慢的僵直发展过程, 最大僵直发生的最晚, 在 48~72 h。

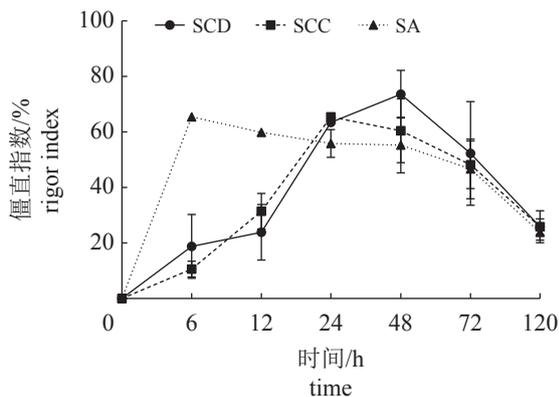


图 3 致死应激强度对褐牙鲈僵直指数的影响

SCD. 破髓处置; SCC. 断髓处置; SA. 窒息致死; 下同

Fig. 3 Changes of slaughter stress intensity on rigidity index of *P. olivaceus*

SCD. spinal cord destruction treatment, SCC. spinal cord cut treatment, SA. suffocation in air treatment; the same below

#### 致死应激强度对褐牙鲈肌肉收缩率的影响

致死应激强度对褐牙鲈肌肉收缩率的影响如图 4 所示。在整个贮藏期间, SA 组没有变化, 肌肉收缩率为 0。SCC 组在 6~12 h 时肌肉收缩率为 0, 之后缓慢上升到 48 h 后肌肉不再收缩。SCD 组肌肉收缩率从贮藏开始逐渐上升到 24 h 后肌肉不再收缩。

#### 致死应激强度对褐牙鲈肌肉断裂强度的影响

随着贮藏时间的延长, 断裂强度整体呈下降趋势并逐渐趋于平缓。从贮藏开始到第 6 小时, SCC 组没有明显变化, 于 24 h 达到最低值 3.70 N。SA 组呈明显下降趋势, 最低值为 3.93 N。SCD 组

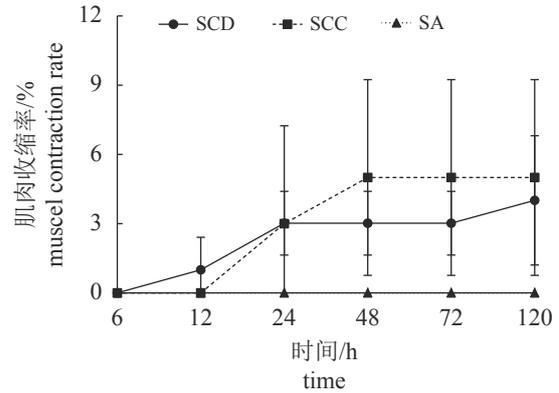


图 4 致死应激强度对褐牙鲈肌肉收缩率的影响

Fig. 4 Effects of slaughter stress on muscle contraction rate of *P. olivaceus*

断裂强度在 6 h 上达到最大值 16.30 N, 之后开始下降, 在 24 h 达到最低值 3.03 N。相比于另外 2 组, SCD 组断裂强度下降延迟 6 h, 延缓了肌肉的软化(图 5)。

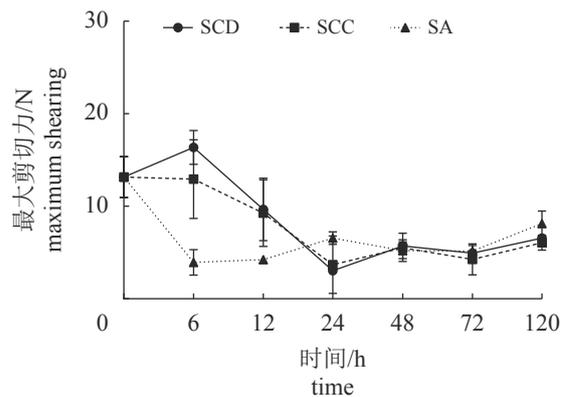


图 5 致死应激强度对褐牙鲈断裂强度的影响

Fig. 5 Effect of slaughter stress on the breaking strength of *P. olivaceus*

## 2.2 致死应激强度与肌肉的生化代谢特性

**致死应激强度对褐牙鲈肌肉 pH 的影响** 水产品肌肉 pH 值变化与其新鲜度密切相关。3 组褐牙鲈肌肉 pH 均随时间的延长呈先下降后上升的趋势。本实验初始 pH 为 7.03, SA 组 pH 前 6 h 内迅速下降至 6.59, 且在 12 h 下降到最低值 6.47, 可能是由于死前处于缺氧环境, 无氧代谢产生大量乳酸, 使 pH 值明显下降。SCC 组 pH 在 6~12 h 内迅速下降, 从 6.96 降到 6.58, 且在第 48 小时达到最低值 6.44。SCD 组 pH 值在整个贮藏期间呈缓慢下降趋势, 同样在第 48 小时达到最低值 6.47(图 6)。

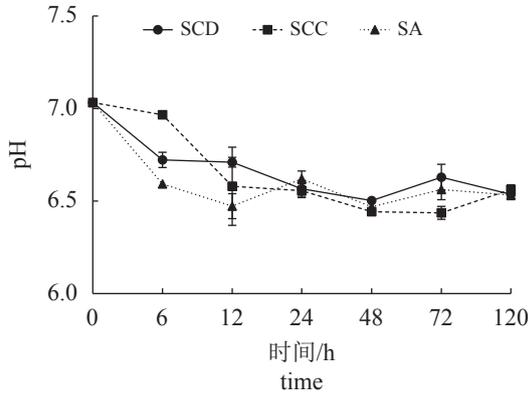


图6 致死应激强度对褐牙鲆肌肉 pH 的影响

Fig. 6 Effect of slaughter stress intensity on pH of muscle of *P. olivaceus*

致死应激强度对褐牙鲆 ATP 降解代谢的影响 褐牙鲆肌肉中初始 ATP 含量为 3.13 μmol/g, SA 组 ATP 在贮藏后 6 h 快速降解为 0.47 μmol/g, 此时 IMP 迅速积累为 7.15 μmol/g, 在 12 h 时 ATP 含量降解为 0 μmol/g。SCC 组 ATP 含量由 6 h 的 2.95 μmol/g 下降至 48 h 全部耗尽。SCD 组 ATP 含量在整个贮藏期间缓慢下降, 由 6 h 的 2.69 μmol/g 下降至 72 h 全部耗尽, 此时 IMP 含量还维持在较高水平 7.82 μmol/g。同时, 初始 Hx 为 0.10 μmol/g, 随着死后时间延长含量逐渐增加, 表明鱼类新鲜度有所下降。SA 组随着贮藏时间的延长, 在第

120 小时, Hx 含量高达 3.56 μmol/g, SCC 组 Hx 含量为 2.54 μmol/g, SCD 组样本中的 Hx 的含量最低, 为 1.56 μmol/g。在整个贮藏期间, 3 组均未检测到 HxR 的存在 (表 1)。

2.3 致死应激强度与肌肉品质的稳定性

致死应激强度对褐牙鲆白度的影响 褐牙鲆鱼肉的白度变化结果显示, 在 6 和 48 h 时, 3 组间有显著差异 ( $P < 0.05$ ), SCD 组和 SCC 组白度值分别为 53.57、54.15 和 53.49、52.92, 略高于 SA 组 50.77、50.96, 其他时间点则无显著差异 ( $P > 0.05$ ) (表 2)。在整个贮藏期间, 相比于另外两组, SA 组则显示出更深、更蓝、更红, 分别由更低的  $L^*$  值、 $b^*$  值以及更高的  $a^*$  值所示。

致死应激强度对褐牙鲆显微结构的影响 在贮藏过程中, 普通肌肉横截面的光学显微镜观察结果显示, 初始点脊髓破坏致死的鲜活褐牙鲆肌肉组织结构紧密, 在死亡后, 几乎所有的肌肉细胞都紧密地连接在一起。SA 组在贮藏到 12 h, 某些地方观察到肌细胞的细胞间隙, 此时 SCD 组和 SCC 组未观察到明显的细胞间隙。在死后 48 h SCD 组细胞间隙开始增大, 且小于 SCC 组的细胞间隙, 此时 SA 组出现更大的细胞间隙 (图版)。

2.4 致死应激强度对感官品质的影响

体表和肌肉的颜色是鱼品鲜度判断的最有效

表 1 致死应激强度对褐牙鲆 ATP 及关联物的影响

Tab. 1 Effects of slaughter stress intensity on ATP and its correlates in *P. olivaceus*

组别 groups	贮藏时间/h storage time							μmol/g
	0	6	12	24	48	72	120	
ATP	SCD	3.13±0.11	2.69±0.27	2.13±0.29	1.34±0.17	0.46±0.08		
	SCC		2.95±0.04	1.99±0.13	0.52±0.04			
	SA		0.47±0.03					
ADP	SCD	0.30±0.06	0.61±0.06	0.72±0.24	0.47±0.02	0.20±0.03	0.23±0.01	0.22±0.01
	SCC		0.61±0.12	0.62±0.12	0.18±0.02	0.18±0.01	0.21±0.01	0.22±0.03
	SA		0.68±0.26	0.64±0.15	0.17±0.00	0.17±0.04	0.21±0.02	0.17±0.04
AMP	SCD	0.22±0.03	0.18±0.02	0.22±0.01	0.49±0.04	0.17±0.02	0.15±0.01	0.15±0.01
	SCC		0.16±0.04	0.22±0.08	0.16±0.02	0.14±0.02	0.15±0.00	0.14±0.00
	SA		0.38±0.07	0.24±0.03	0.15±0.00	0.11±0.01	0.14±0.02	0.14±0.02
IMP	SCD	5.20±0.17	5.52±0.14	5.70±0.21	6.20±0.07	7.74±0.13	7.82±0.16	7.00±0.14
	SCC		5.31±0.39	5.92±0.15	7.61±0.03	7.15±0.41	6.82±0.01	5.89±0.31
	SA		7.15±0.04	7.30±0.44	7.69±0.09	7.16±0.08	6.09±0.02	5.13±0.02
Hx	SCD	0.10±0.04	0.19±0.03	0.25±0.03	0.31±0.00	0.41±0.15	0.90±0.08	1.56±0.16
	SCC		0.16±0.02	0.33±0.11	0.65±0.09	1.02±0.16	1.68±0.21	2.54±0.32
	SA		0.21±0.02	0.61±0.05	0.99±0.01	1.66±0.05	2.34±0.07	3.56±0.12

表 2 致死应激强度对褐牙鲈白度的影响

Tab. 2 Effect of slaughter stress intensity on whiteness of *P. olivaceus*

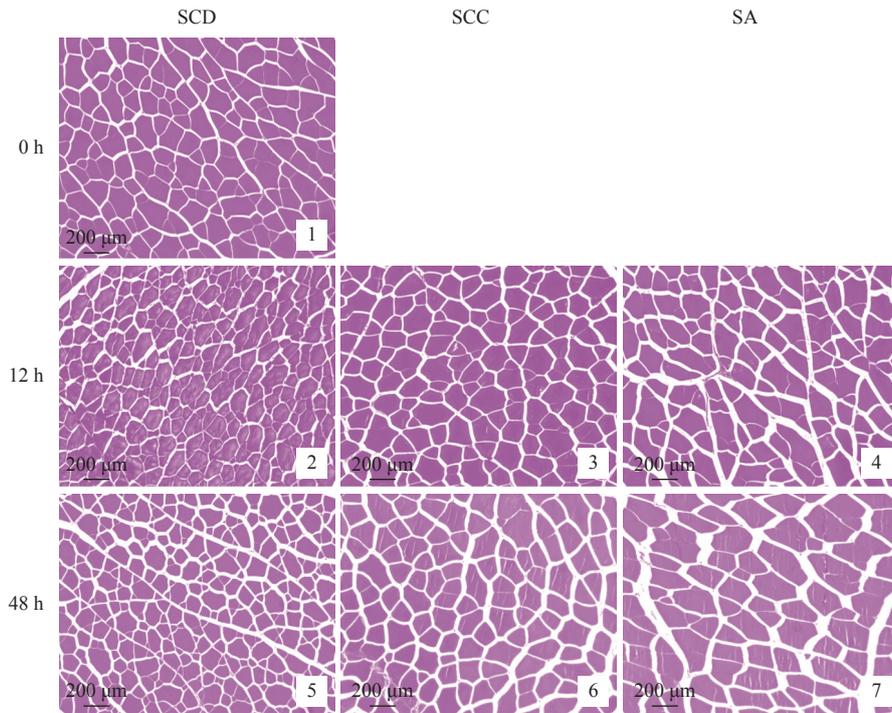
组别 groups		贮藏时间/h storage time						
		0	6	12	24	48	72	120
<i>L</i> *	SCD	52.85±1.89 <sup>a</sup>	53.76±0.59 <sup>a</sup>	52.75±0.40 <sup>a</sup>	52.15±0.18 <sup>a</sup>	53.69±0.66 <sup>a</sup>	54.73±0.38 <sup>a</sup>	54.20±0.37 <sup>a</sup>
	SCC		54.30±0.05 <sup>a</sup>	52.90±0.75 <sup>a</sup>	51.81±0.64 <sup>a</sup>	53.12±0.13 <sup>a</sup>	54.51±0.55 <sup>a</sup>	52.90±0.24 <sup>a</sup>
	SA		51.29±0.48 <sup>b</sup>	51.10±0.32 <sup>a</sup>	50.59±2.40 <sup>a</sup>	51.23±0.05 <sup>b</sup>	53.64±2.20 <sup>a</sup>	52.97±2.30 <sup>a</sup>
<i>a</i> *	SCD	7.62±2.84 <sup>a</sup>	3.91±0.88 <sup>a</sup>	3.13±0.20 <sup>a</sup>	2.88±0.31 <sup>b</sup>	3.42±0.53 <sup>a</sup>	3.53±0.97 <sup>a</sup>	3.58±0.46 <sup>a</sup>
	SCC		3.44±1.07 <sup>a</sup>	2.65±0.20 <sup>a</sup>	3.26±0.31 <sup>b</sup>	3.78±0.53 <sup>a</sup>	3.27±0.32 <sup>a</sup>	4.00±0.11 <sup>a</sup>
	SA		4.47±0.09 <sup>a</sup>	4.06±0.52 <sup>a</sup>	5.55±0.63 <sup>a</sup>	4.24±1.16 <sup>a</sup>	4.22±0.10 <sup>a</sup>	3.94±0.48 <sup>a</sup>
<i>b</i> *	SCD	0.20±0.55 <sup>a</sup>	-0.86±0.02 <sup>b</sup>	-0.66±0.11 <sup>a</sup>	-0.94±0.41 <sup>a</sup>	-2.30±0.00 <sup>a</sup>	-1.85±1.15 <sup>a</sup>	-2.07±0.96 <sup>a</sup>
	SCC		0.18±0.07 <sup>a</sup>	-0.23±0.26 <sup>a</sup>	-1.42±0.46 <sup>a</sup>	-1.96±0.33 <sup>a</sup>	-2.41±0.33 <sup>a</sup>	-2.40±0.25 <sup>a</sup>
	SA		-1.06±0.01 <sup>c</sup>	-1.54±0.55 <sup>a</sup>	-1.50±0.89 <sup>a</sup>	-2.52±0.17 <sup>a</sup>	-2.61±0.28 <sup>a</sup>	-2.47±0.22 <sup>a</sup>
<i>W</i>	SCD	52.13±1.41 <sup>a</sup>	53.57±0.52 <sup>a</sup>	52.63±0.37 <sup>a</sup>	52.03±0.20 <sup>a</sup>	53.49±0.74 <sup>a</sup>	54.53±0.51 <sup>a</sup>	53.99±0.37 <sup>a</sup>
	SCC		54.15±0.13 <sup>a</sup>	52.82±0.74 <sup>a</sup>	51.70±0.64 <sup>a</sup>	52.92±0.10 <sup>a</sup>	54.27±0.61 <sup>a</sup>	52.65±0.26 <sup>a</sup>
	SA		50.77±0.19 <sup>b</sup>	50.89±0.30 <sup>a</sup>	50.38±2.53 <sup>a</sup>	50.96±0.04 <sup>b</sup>	53.34±2.14 <sup>a</sup>	52.72±2.41 <sup>a</sup>

注：表中不同小写字母表示组间差异显著( $P<0.05$ )

Notes: different lowercase letters in the table indicate significant difference between groups ( $P<0.05$ )

方法，影响消费者对鱼肉的接受度。SCD 组褐牙鲈的快速致死方式使得体表颜色无明显变化，与死前体表颜色相似，贮藏 6 h 时鱼片呈半透明白色(图 7)。说明破髓速杀使褐牙鲈死前受到的应激

较小，保持了更好的感官品质。SCC 组褐牙鲈在断髓速杀后，神经未完全死亡，仍能感受到疼痛，鱼鳍中血管在轻微应激条件下充血，贮藏 6 h 时鱼片颜色呈较深的乳白色。SA 组褐牙鲈暴露在空



图版 致死应激强度对褐牙鲈肌肉横截面显微结构的影响

1. 原料点; 2~4. 12 h 的 SCD 组、SCC 组和 SA 组; 5~7. 48 h 的 SCD 组、SCC 组和 SA 组

**Plate Effect of slaughter stress intensity on cross sectional microstructure of muscle of *P. olivaceus***

1. raw material points ; 2-4. SCD group, SCC group and SA group for 12 h; 5-7. SCD group, SCC group and SA group for 48 h

气中长时间缺氧疲劳致死,造成血液淤积在体内,鱼鳍中血管在高应激条件下充血破裂,导致鱼鳍呈明显的红色,贮藏6h时鱼片呈暗红色,说明死前遭受的应激很强。

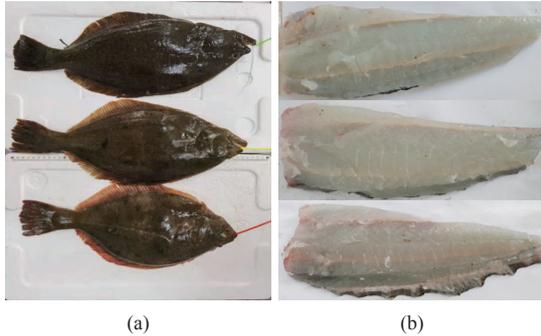


图7 致死应激强度对褐牙鲆感官品质的影响

(a) 致死鱼体体表颜色变化, (b) 6h时解剖鱼片颜色变化;从上到下依次为SCD组、SCC组、SA组

Fig. 7 Effects of slaughter stress intensity on sensory quality of *P. olivaceus*

(a) the color changes of fish body surface after death, (b) the color changes of dissected fish fillets at 6 h, which are SCD group, SCC group and SA group from top to bottom

### 3 讨论

#### 3.1 褐牙鲆死后僵直特性

鱼体死后影响僵直状态变化的因素很多,品种、状态、致死方式及死后贮藏温度都会影响僵直进程<sup>[16]</sup>。比如在5℃下脊髓被破坏的五条鲷(*Seriola quinqueradiata*)在死后3h内发生僵直,在死后15h达到最大僵直,相比于断髓组,最大僵直的发生慢了6h<sup>[17]</sup>。本实验中褐牙鲆僵直指数变化趋势与其相似,SA组最大僵直发生在6~12h,随即解僵,SCC组最大僵直发生在24~48h,SCD组最大僵直发生在48~72h,明显慢于其他2组。由此可以看出破坏脊髓能有效减缓死后僵直的发生,呈现出最好的冷藏稳定性。脊髓被破坏致死的褐牙鲆在10℃贮藏条件下,死后12h出现僵直,20h死僵指数达到74.3%<sup>[18]</sup>。本实验SCD组僵直开始的时间发生在6h内,分析原因可能是贮藏温度影响僵直的发生时间,本实验贮藏温度为0~2℃,原因可能为在此温度下,肌浆网对Ca<sup>2+</sup>的吸收能力很低,从肌浆网漏出的Ca<sup>2+</sup>激活了肌动蛋白Mg<sup>2+</sup>ATPase的缘故<sup>[19]</sup>。还可能是因为冰海水中排水,使鱼体温度低于5℃,加快了死后僵直的发生。

鱼体死后,随着肌肉中ATP的分解消失,粗丝肌球蛋白和细丝肌球蛋白之间发生滑动,肌节缩短,肌肉发生收缩<sup>[8]</sup>。活体肌肉收缩是由于神经刺激引起的,Ca<sup>2+</sup>必须从肌小胞体中迅速释放出来;而死后僵直是在没有任何刺激下发生的,肌肉收缩缓慢,而且是不可逆的<sup>[19]</sup>。本实验中,SA组整个贮藏期间肌肉收缩率为0,SCC组和SCD组肌肉发生明显收缩,原因为随着死后时间的延长,SA组鱼体内积蓄Ca<sup>2+</sup>的肌小胞体和线粒体生理功能丧失,导致Ca<sup>2+</sup>泄出,肌肉不再收缩。

肌肉断裂的强度可有效评估冷藏期间肌肉硬度的变化<sup>[20]</sup>。斩首速杀的日本鲭(*Scomber japonicus*)肌肉断裂强度与窒息死亡的对照组相比,下降时间延迟了12h,之后开始软化<sup>[15]</sup>。本实验中SCD组断裂强度下降时间与其他2组相比延迟了6h。大量研究发现,不同鱼种断裂强度的变化有明显差异,在所有报道中,断裂强度变化最快的是沙丁鱼(*Sardina pilchardus*),在4℃条件下贮藏,死后6h就基本全部软化。相对于沙丁鱼,比目鱼等白肉鱼在4℃条件下贮藏,死后3d才开始慢慢软化,红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*)、真鲷(*Pagrus major*)在死后6~12h后断裂强度还一度上升<sup>[9,21]</sup>。此外,肌肉硬度的变化不一定与死后僵直相关,因为该变化分别基于不同的物理因素,死后僵直是由于肌细胞失去伸缩性而导致的,而鱼肉的硬度是由以肌肉为主的肌细胞和存在于肌细胞间的结缔组织共同影响的结果,因此肌肉的硬度是二者硬度的总和<sup>[9]</sup>。在本实验中,SCD组在48~72h达到最大僵直时,断裂强度仅为4.93N,可以认为鱼肉的软化与僵直并非完全一致。

#### 3.2 动物福利是极限品质调控的重要因素

屠宰方法是控制源头品质的关键因素之一,期间涉及到的动物福利问题与品质呈正相关。活鱼在致死时越痛苦,所引发的应激反应导致肉质越差,缩短了货架期<sup>[7]</sup>。破坏脊髓这种致死方法破坏了鱼的神经系统,使鱼死后保持相对平静,产生的应激最小,被认为是最人道的致死方法<sup>[8]</sup>。

在鱼被屠宰时,低pH值被用作急性应激活动的经典指标,有研究发现大西洋鲑、黄鳍金枪鱼(*Thunnus albacares*)和日本鳗鲡(*Anguilla japonica*)较低的初始pH值与较高的死前应激相关<sup>[22]</sup>。CO<sub>2</sub>麻醉的舌齿鲈(*Dicentrarchus labrax*)初始pH为6.31,窒息组pH为6.01<sup>[23]</sup>。在本实验中,褐牙鲆在到达实验室后即刻破髓速杀,得到较高的初

始 pH 7.03, 可以看出破髓速杀对褐牙鲆死前产生的应激较小。Azam 等<sup>[24]</sup>对冰藏虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 品质稳定性的研究发现, 与低致死胁迫相比, 高应激组因激烈的无氧代谢而使肌肉呈现更早的极限 pH。本研究 SA 组极限 pH 发生在死后 12 h, SCD 组极限 pH 发生在 48 h, 且在贮藏前期, SCD 组的 pH 值都维持在较高水平, 之后呈缓慢下降趋势, 由此可以看出, 脊髓破坏是减少死前应激、减缓 pH 下降的有效方法<sup>[25]</sup>。

鱼肉的新鲜度与死后发生的生化变化高度相关。健康鱼体含有丰富的能量物质, 速杀后肌肉中 ATP 含量高, 之后 ATP 迅速降解为 ADP、AMP、IMP、HxR 和 Hx 等代谢产物<sup>[26]</sup>。脊髓被破坏的牙鲆初始 ATP 含量高达 4~5  $\mu\text{mol/g}$ , 高于断髓速杀组<sup>[17]</sup>。本实验中鱼体内初始 ATP 含量较低, 为 3.13  $\mu\text{mol/g}$ , 分析原因, 可能是褐牙鲆在到达实验室后即刻进行处置, 在运输过程中的应激并未恢复, 导致 ATP 的消耗。但本实验结果显示 SCD 组的 ATP 含量在 48 h 后才降解为 0, 降解速率明显慢于另外 2 组。本实验中 120 h 时 SCD 组 IMP 含量仍高达 7.00  $\mu\text{mol/g}$ , 大量研究发现, 鱼肉中主要的鲜味物质核苷酸是 IMP, 它是 ATP 代谢的中间产物, 在食品应用中 IMP 是一种强风味物质, 与谷氨酸钠有强协同作用, 增强其鲜味程度<sup>[26]</sup>。实验在贮藏过程中, 初始 Hx 为 0.10  $\mu\text{mol/g}$ , 随着死后时间延长含量逐渐增加, 表明鱼类新鲜度有所下降。在整个贮藏期间 SCD 组样本中的 Hx 含量较低。有学者认为 Hx 可作为评价鱼肉鲜度的指标, SCD 组低含量的 Hx 表明脊髓被破坏的鱼可以在死后数小时内保持新鲜<sup>[27]</sup>。由此可见破坏脊髓的致死方法可以减缓 ATP 消耗速率, 最大限度地保持 IMP 的含量, 并减少 Hx 的积累。

在贮藏过程中, 肌纤维强度减弱, 胶原纤维崩溃, 不能抵抗与固定液高渗透压引起的肌肉细胞收缩相关的物理强度, 导致肌肉细胞之间的整合力下降, 细胞之间间隙变大, 鱼肉软化<sup>[28-29]</sup>。据报道, 当日本鲭在死亡前挣扎时, V 型胶原蛋白的降解就会得到加强, 证明了鱼的 V 型胶原蛋白优先分布在细胞外周结缔组织中, V 型胶原蛋白溶解可能与细胞外周结缔组织的恶化和鱼肉的软化有关<sup>[30]</sup>。本实验 SA 组由于长时间在空气中缺氧, 挣扎的应激可能会引发肌肉组织崩溃, 导致细胞之间的结合力下降, 产生较大的细胞间隙。这与 SA 组的断裂强度也迅速下降的结果相符合,

由此可以看出肌肉细胞间的空间延长可能与肌肉软化有密切关系。相比于 SA 组, SCD 组肌肉细胞的间隙在 2 d 才有明显的扩散, 但始终小于 SCC 组和 SA 组。进一步说明 SCD 组在死前遭受的应激较小, 使得肌原纤维排列紧密, 细胞间隙较小。

### 3.3 构建我国海水养殖鱼类的品质评价与调控体系的迫切性

我国传统原料生产及消费模式下的水产品品质评价体系越来越凸显其局限性。我国素有活品消费传统习惯, 但现有市售产品品质远低于离水后即刻速杀的冷鲜品品质, 导致“活而不鲜”的尴尬, 活品品质评价仅依靠经验判断下的活力及规格, 活体活力与活品品质之间的盲区长期没有受到关注和重视。同时活鱼消费模式带来的弊端愈发凸显, 一是高碳排放的流通运输销售; 二是高成本的动物福利维护保活, 所以迫切需要构建我国海水养殖鱼类的品质评价与调控体系。从本实验结果中可以看出, 褐牙鲆到达实验室时由于运输过程中的应激反应未恢复, 已经出现疲劳状态。但对比窒息组, 经过破坏脊髓致死的方法延缓了褐牙鲆品质下降过程, 增加了品质的稳定性, 同时在感官方面也得到较高的品质, 实现了用致死方法对品质源头进行调控。因此, 我国海水养殖活品品质提升具有一定 d 潜力(图 1), 本研究只针对致死应激方法对品质进行调控, 如果能在源头进行锁鲜, 活体在养殖工厂离水后即刻破髓速杀, 能避免活体在离水和运输过程中发生应激反应造成品质的下降, 不仅保持了源头的品质, 还减少活鱼死前痛苦, 使整个货架期品质稳定。

## 4 结论

健康养成活体存在一个天然品质属性亦即理论上限, 离水后受多种因素影响。本研究从致死应激强度探索了最佳品质可行性。研究表明, 破坏脊髓这种最低应激强度破坏了鱼体运动神经系统, 尽量减少由脊髓反射引起的肌肉运动, 最大限度地减少了活体褐牙鲆的死前应激。褐牙鲆僵直状态能持续 2~3 d, 延缓了 ATP 的消耗和肌肉组织结构瓦解的进程, 保持了更好的感官品质, 得到最佳的鱼肉品质。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

## 参考文献 (References):

- [1] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 中国渔业统计年鉴 2020[M]. 北京: 中国农业出版社, 2020.
- Fishery Administration of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. China fishery statistical yearbook 2020[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2020 (in Chinese).
- [2] 衣鸿莉, 刘俊荣, 王选飞, 等. 养殖大菱鲈死前应激状态对肌肉代谢与品质的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2020, 35(4): 570-576.
- Yi H L, Liu J R, Wang X F, et al. Effects of pre-slaughter stress on muscular metabolism and quality of farmed turbot *Scophthalmus maximus*[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2020, 35(4): 570-576 (in Chinese).
- [3] Bagni M, Civitareale C, Priori A, et al. Pre-slaughter crowding stress and killing procedures affecting quality and welfare in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus aurata*)[J]. *Aquaculture*, 2007, 263(1-4): 52-60.
- [4] Thomas P M, Pankhurst N W, Bremner H A. The effect of stress and exercise on post-mortem biochemistry of Atlantic salmon and rainbow trout[J]. *Journal of Fish Biology*, 1999, 54(6): 1177-1196.
- [5] Chang C C, Chang K C, Lin W C, et al. Carbon footprint analysis in the aquaculture industry: assessment of an ecological shrimp farm[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2017, 168: 1101-1107.
- [6] Lee C L, Kominami Y, Ushio H. Mechanism of delayed convulsion in fish: the actions of norepinephrine in spinal cord[J]. *Fishes*, 2021, 6(2): 12.
- [7] Daskalova A. Farmed fish welfare: stress, post-mortem muscle metabolism, and stress-related meat quality changes[J]. *International Aquatic Research*, 2019, 11(2): 113-124.
- [8] Misima T, Fujii J, Tachibana K, et al. Influence of contracture on breaking strength in carp muscle[J]. *Fisheries Science*, 1995, 61(2): 209-213.
- [9] 渡部终五. 水产利用化学基础 [M]. 林华娟, 毛伟杰, 译. 北京: 化学工业出版社, 2017: 14.
- Dubu Z W. Aquatic use of chemical based[M]. Lin H J, Mao W J, trans. Beijing: Chemical Industry Press, 2017: 14.
- [10] Tulli F, Fabbro A, D'Agaro E, et al. The effect of slaughtering methods on actin degradation and on muscle quality attributes of farmed European sea bass (*Dicentrarchus labrax*)[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2015, 52(11): 7182-7190.
- [11] Lee K H, Tsuchimoto M, Onishi T, et al. Differences in progress of rigor mortis between cultured Red Sea bream and cultured Japanese flounder[J]. *Fisheries Science*, 1998, 64(2): 309-313.
- [12] 刘金洋, 刘俊荣, 田元勇, 等. 捕后处置对活品底播虾夷扇贝生化代谢的影响[J]. 水产学报, 2017, 41(1): 81-87.
- Liu J Y, Liu J R, Tian Y Y, et al. Effects of post-harvest handling on biochemical metabolism of bottom cultured live scallop (*Patinopecten yessoensis*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2017, 41(1): 81-87 (in Chinese).
- [13] 刘慧慧, 周晏琳, 张晴, 等. 菲律宾蛤仔捕后干露处置对其复水湿藏稳定性的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2018, 33(2): 244-250.
- Liu H H, Zhou Y L, Zhang Q, et al. Effect of air exposure on biochemical metabolism of harvested Manila clam *Ruditapes philippinarum* during live wet storage[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2018, 33(2): 244-250 (in Chinese).
- [14] Morrissey M T, Wu J W, Lin D, et al. Protease inhibitor effects on torsion measurements and autolysis of Pacific whiting surimi[J]. *Journal of Food Science*, 1993, 58(5): 1050-1054.
- [15] Ando M, Joka M, Mochizuki S, et al. Influence of death struggle on the structural changes in chub mackerel muscle during chilled storage[J]. *Fisheries Science*, 2001, 67(4): 744-751.
- [16] 冷寒冰, 刘俊荣, 徐美禄, 等. 红鳍东方鲀死后僵直及生化变化特性[J]. 水产学报, 2020, 44(1): 156-165.
- Leng H B, Liu J R, Xu M L, et al. Postmortem biochemistry and rigor development of pufferfish (*Takifugu rubripes*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2020, 44(1): 156-165 (in Chinese).
- [17] Ando M, Banno A, Haitani M, et al. Influence on post-mortem rigor of fish body and muscular ATP consumption by the destruction of spinal cord in several fishes[J]. *Fisheries Science*, 1996, 62(5): 796-799.
- [18] Min J G, Joung B C, Jung W Y. Postmortem changes in

- spinal cord-damaged olive flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. *Journal of Food and Nutrition Research*, 2019, 7(7): 500-505.
- [19] 沈月新. 水产食品学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 71-77.  
Shen Y X. Aquatic food science[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2001: 71-77.
- [20] Jacobsen Á, Joensen H, Eysturskarð J. Gaping and loss of fillet firmness in farmed salmon (*Salmo salar* L.) closely correlated with post - slaughter cleaning of the abdominal cavity[J]. *Aquaculture Research*, 2017, 48(1): 321-331.
- [21] Ando M. Histological and biochemical studies on post-mortem tenderization of fish muscle[D]. Kyoto: Kyoto University, 1994.
- [22] Morzel M, Sohler D, Van de Vis H. Evaluation of slaughtering methods for turbot with respect to animal welfare and flesh quality[J]. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 2002, 83(1): 19-28.
- [23] Acerete L, Reig L, Alvarez D, *et al.* Comparison of two stunning/slaughtering methods on stress response and quality indicators of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*)[J]. *Aquaculture*, 2009, 287(1-2): 139-144.
- [24] Azam K, Mackie I M, Smith J. The effect of slaughter method on the quality of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) during storage on ice[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 1989, 24(1): 69-79.
- [25] Maeda T, Yaguchi S, Fukushima H, *et al.* Post-catch fish handling for high quality fish products[J]. *Journal of National Fisheries University*, 2014, 62(4): 155-158.
- [26] Hong H, Regenstein J M, Luo Y K. The importance of ATP-related compounds for the freshness and flavor of post-mortem fish and shellfish muscle: a review[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2017, 57(9): 1787-1798.
- [27] Kuda T, Fujita M, Goto H, *et al.* Effects of freshness on ATP-related compounds in retorted chub mackerel *Scomber japonicus*[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2007, 40(7): 1186-1190.
- [28] Ando M, Toyohara H, Sakaguchi M. Post-mortem tenderization of rainbow trout muscle caused by the disintegration of collagen fibers in the pericellular connective tissue[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1992, 58(3): 567-570.
- [29] Ando M, Mizuochi S, Tsukamasa Y, *et al.* Suppression of fish meat softening by strict control of storage temperature[J]. *Fisheries Science*, 2007, 73(3): 705-712.
- [30] Sato K, Uratsujt S, Sato M, *et al.* Effect of slaughter method on degradation of intramuscular type V collagen during short-term chilled storage of chub mackerel *Scomber japonicus*[J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2002, 26(5): 415-429.

## Upper limit of quality and freshness control of the culture *Paralichthys olivaceus*

ZHOU Jin, LIU Junrong\*, ZHAO Qian, QU Qinkun,  
LIU Yuepeng, XU Tanye, TIAN Yuanyong

(College of Food Science and Engineering, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China)

**Abstract:** Post-harvest fish suffer slow and painful deaths by asphyxiation, crowding, or even crushing. Stress and stress-related quality changes of farmed fish is necessary to explore. Instead of live fish in poor condition at the market, providing freshness-locked products with sushi-grade near to upper-limited quality of farmed fish is more valuable. In order to establish a technical system for post-fishing regulation of freshness of factory farmed fish, the formation and change mechanism of sashimi grade quality of mariculture white meat fish were analyzed from the point of limit quality. The brown flounder (*Paralichthys olivaceus*) was taken as the research object. The limit of muscle quality was explored via different slaughter methods. That is, extreme treatment was used to explore the upper limit of fresh quality. The upper limit of quality was obtained by spinal cord destruction treatment (SCD), and the lower limit of quality was obtained by suffocation in air treatment (SA). The two limits of quality were compared with the spinal cord cut treatment (SCC), which is in wide commercial use. The three slaughter treatment groups were refrigerated at 2 °C for 120 h. During this period, rigidity, breaking strength, muscle shrinkage, muscle pH, ATP and its related compounds, whiteness, microstructure and surface color were analyzed. The results showed that the effects of slaughter stress on quality and stability were very important. The SA group with the strongest slaughter stress rapidly got into postmortem rigidity after 6-12 h and then the stiffness was relieved. The SCD group with the lowest slaughter stress reached the maximum postmortem rigor from 48 h to 72 h, and the rigor index increased slowly, showing the best stability of cold storage. The SCC group of conventional commercial disposal was between the two groups, and the quality was significantly better than the lower limit quality of SA group and inferior to the upper limit quality of SCD group. Similarly, the lowest slaughter stress group retained the highest ATP, and the ATP content in muscles decreased from 3.13 μmol/g to 2.13 μmol/g in SCD group, compared with the 1.99 μmol/g in SCC group and 0 μmol/g in SA group at postmortal 12 h after slaughter, respectively. The time to drop to the limit pH in muscles was 48 h in the SCD group, 48 h in the SCC group, and 12 h after death in the SA group. The results of observation and colorimetric analysis showed that the strongest slaughter stress SA group had the worst muscle appearance, showing the lowest  $L^*$  value, higher  $a^*$  value and lower  $b^*$  value. The microscopic structure of the muscle showed that the intercellular space was the largest and most unstable in the SA group. The effects of slaughter stress intensity can also be obviously observed on the surface of fish body. The greater of stress, the more serious of congestion in fins. In conclusion, spinal cord destruction disrupts the motor nervous system with minimum stress intensity, minimizes muscle movements caused by spinal reflexes, and minimizes slaughter stress in living *P. olivaceus*, which is the key factor to meet the limit quality. This study provides a reference for controlling slaughter stress to obtain the best quality.

**Key words:** *Paralichthys olivaceus*; slaughter stress; freshness-lock; upper limit of quality

**Corresponding author:** LIU Junrong. E-mail: ljunrong@dlou.edu.cn

**Funding projects:** National Key R & D Program of China (2018YFD0901001)