

养殖大黄鱼冷藏过程中细菌菌相的变化

郭全友¹, 杨宪时¹, 许钟¹, 吴建军²

(1. 农业部海洋与河口渔业重点开放实验室, 中国水产科学研究院 东海水产研究所, 上海 200090; 2. 上海德记行科技发展有限公司, 上海 200086)

摘要: 采用感官、挥发性盐基氮 (TVBN)、菌落总数对大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea*) 在 0℃、5℃ 冷藏过程中的品质变化特征进行分析, 并对细菌菌相进行定性和定量研究。结果表明, 冷藏初期、高品质期和货架期终点菌落总数 N (CFU/g) 的对数值 ($\lg N$) 分别为 5.40 ± 0.17 、 6.98 ± 0.17 、 7.38 ± 0.09 , TVBN 分别为 $(7.00 \pm 1.82) \text{ mg} \cdot 100^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ 、 $(13.00 \pm 1.42) \text{ mg} \cdot 100^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ 、 $(29.92 \pm 1.75) \text{ mg} \cdot 100^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ 。冷藏初期分离获得 211 株菌株, 84.8% 是革兰氏阴性菌, 出现少量革兰氏阳性菌 (6.2%), 优势菌群是肠杆菌科细菌 (6.6%)、气单胞菌属 (14.2%)、不动杆菌属 (13.3%)、摩氏杆菌属 (11.8%), 并出现了一定比例的假单胞菌属、嗜麦芽窄食单胞菌和其他细菌。冷藏过程中细菌菌相逐渐变得单一, 腐败希瓦氏菌上升趋势明显。高品质期时, 0℃ 冷藏大黄鱼优势菌群为腐败希瓦氏菌 (45.8%) 和缺陷短波胞单胞菌 (13.6%); 5℃ 冷藏大黄鱼优势菌群为腐败希瓦氏菌 (37.9%) 和假单胞菌属 (15.6%)。货架期终点时, 0℃、5℃ 冷藏大黄鱼优势菌为腐败希瓦氏菌, 比例分别为 75.5% 和 59.6%。[中国水产科学, 2007, 14 (2): 301–308]

关键词: 大黄鱼; 冷藏; 细菌菌相; 优势菌

中图分类号: S994.3

文献标识码: A

文章编号: 1005–8737–(2007)02–0301–08

鱼类是极易腐败的食物, 受生化、微生物等各种因子影响, 鲜度极易下降。研究表明, 冻结温度以上 (Upper freezing temperature) 细菌活动是引起鱼类腐败变质的主要原因^[1]。19 世纪初期开始国外对新鲜、冰藏及腐败鱼类细菌学进行了积极研究^[1–4], 国内则侧重对鱼类保鲜技术和品质变化进行研究^[5–6], 对于养殖大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea*) 冷藏过程中细菌菌相研究至今未见相关报道。

大黄鱼是中国六大优势养殖水产品之一, 产区主要集中在福建闽东地区, 年产量在 $3 \times 10^4 \sim 4 \times 10^4 \text{ t}$, 约占全国总产量的 70%。本研究室在 2004 年对冰鲜大黄鱼冷却链流通过程中微生物分布状况开展了调查^[7]。在此基础上, 对大黄鱼冷藏过程中感官、化学和微生物学品质特征进行研究, 重点分析细菌菌相的变化规律, 为调查大黄鱼和养殖环境的卫生状况, 了解产品微生物动态变化, 探求导致产品变质的优势细菌, 快速有效监控鲜鱼品质变化和靶向抑制产品腐败提供一定依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品采集和贮藏 样品 1, 2004 年 9 月捕获于福建省宁德市三都湾养殖场, 立即放入冰水中冷却。选用规格基本一致的个体, 加冰保藏 (0~1℃), 2~3 d 运达上海实验室; 样品 2, 2005 年 3 月由福建宁德市宇杰水产有限公司加冰贮藏 (0~1℃), 2~3 d 运达上海实验室; 样品 3, 2005 年 7 月购自上海市铜川路水产品批发市场, 产地为宁德市三都湾, 距离捕获时间不详, 鲜度符合鲜品要求。3 批样品抵达实验室后, 将鱼腹部朝上装入下有篦子能沥水的塑料盆中, 盖上有漏气孔的盖, 放入高精度低温培养箱 (Sanyo MIR 153, 日本) 中, 分别控制贮藏温度在 0℃、5℃, 温度波动范围 $\pm 0.1^\circ\text{C}$ 。

1.1.2 样品处理 无菌操作条件下隔天随机取 2 尾试样鱼, 先进行生鱼感官评价, 然后去鳞去内脏去腮洗净, 用干净吸纸擦干。沿脊骨剖切, 取半条鱼肉 (带鱼皮), 用组织匀浆机打碎, 用于挥发性盐基氮

收稿日期: 2006–03–27; 修订日期: 2006–08–23.

基金项目: 农业部引进国际先进农业科学技术项目资助 (2001–478).

作者简介: 郭全友 (1974–), 男, 助理研究员, 硕士, 从事水产品微生物安全研究.

通讯作者: 许钟. Tel: 021–65678984; E-mail: xuzhong@smmail.cn

(Total volatile basic nitrogen, TVBN) 和菌落总数 (Total viable count, TVC) 测定; 其余半条鱼煮熟后用于感官评价。

1.2 实验方法

1.2.1 感官和化学指标 由6名经过训练的评价员组成感官评价小组, 评价生鱼的气味和煮熟后鱼的气味和味道。采用3分法进行评分, 0为最好品质, 1为鲜鱼的鲜香味消失, 0~1为高品质; 2为明显出现臭味和异味, 为可接受界限^[4]; 按照 GB/T5009.44-1996 测定 TVBN。

1.2.2 菌落总数 称取鱼组织匀浆 10.0 g, 加入 90 mL 含 0.1% 蛋白胨无菌生理盐水, 高速振荡后, 将鱼浆以 10 倍稀释, 取 3 个浓度合适的稀释液 0.1 mL, 涂布于盐份含量适当的营养琼脂培养基 (上海昆虫科技开发公司) 表面。每种浓度稀释液涂布 2 个平皿, 25 ℃ 培养 48 h。

1.2.3 细菌分离、纯化与鉴定 挑选菌落数合适的平板, 对整个平板或一定区域内所有菌落 (通常 30~100 个菌落) 依据肉眼观察菌落形态、显微镜镜下形态、革兰氏染色、运动性等特征进行细菌分组, 每组挑取所有菌落或若干菌落 (至少 2~3 个菌落), 分离纯化, 25 ℃ 培养 24~48 h; 参照《常见细菌系统鉴

定手册》^[8]、海产鱼类细菌鉴定图^[9], 综合菌落形态学、细胞形态学、生态学、生理生化等特征, 结合 SENSITITRE 细菌鉴定系统 (TREK Diagnostic Systems LTD, 英国) 进行鉴定。若同组鉴定结果相异, 则对本组再次进行分组、分离、鉴定。

2 结果与分析

2.1 鲜度品质特征

表 1 显示 3 批样品 0 ℃ 和 5 ℃ 冷藏初期 TVBN 为 $(7.00 \pm 1.82) \text{ mg}/(100 \cdot \text{g})$, 菌落总数 N (CFU/g) 对数值 ($\lg N$) 为 5.40 ± 0.17 , 感官品质较好。0 ℃ 冷藏高品质期 $(210 \pm 12) \text{ h}$ 时 TVBN 为 $(14.01 \pm 0.14) \text{ mg} \cdot 100^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$, 菌落总数 N (CFU·g⁻¹) 对数值 ($\lg N$) 为 7.10 ± 0.21 , 货架期终点 $(384 \pm 33) \text{ h}$ 时 TVBN 为 $(31.16 \pm 0.31) \text{ mg} \cdot 100^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$, 菌落总数 N (CFU·g⁻¹) 对数值 ($\lg N$) 为 7.31 ± 0.34 。5 ℃ 冷藏高品质期 $(114 \pm 19) \text{ h}$ 时 TVBN 为 $(12.00 \pm 1.17) \text{ mg} \cdot 100^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$, 菌落总数 N (CFU·g⁻¹) 对数值 ($\lg N$) 为 6.86 ± 0.34 , 货架期终点 $(226 \pm 38) \text{ h}$ 时 TVBN 为 $(28.68 \pm 4.53) \text{ mg} \cdot 100^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$, 菌落总数 N (CFU·g⁻¹) 对数值 ($\lg N$) 为 7.44 ± 0.21 。

表 1 大黄鱼感官、化学、微生物学品质

Tab.1 Sensory, chemical and microbiological quality of *Pseudosciaena crocea*

温度 /℃ Temperature	冷藏初期 Initial storage			高品质期 High quality			货架期终点 Shelf life end-point		
	感官 Sensory	TVBN /(mg·100 ⁻¹ ·g ⁻¹)	lgN _{TVC}	感官 Sensory	TVBN /(mg·100 ⁻¹ ·g ⁻¹)	lgN _{TVC}	感官 Sensory	TVBN /(mg·100 ⁻¹ ·g ⁻¹)	lgN _{TVC}
0	0.1	7.00±1.82	5.40±0.17	1.0	14.01±0.14	7.10±0.21	2.0	31.16±0.31	7.31±0.34
5	0.1	7.00±1.82	5.40±0.17	1.1	12.00±1.17	6.86±0.34	2.1	28.68±4.53	7.44±0.21
$\bar{X} \pm \text{SD}$	0.1	7.00±0.00	5.40±0.00	1.05±0.07	13.00±1.42	6.98±0.17	2.05±0.07	29.92±1.75	7.38±0.09

注: N_{TVC}—群落总数, CFU·g⁻¹。

Note: N_{TVC}—Total viable count, CFU·g⁻¹。

2.2 细菌分类与鉴定

采用传统表现型试验对实验过程中总共分离获得的 859 株细菌进行分类与鉴定。分为 G⁺ 和 G⁻ 2 种类型和 14 组, 第 1~12 组呈革兰氏阴性, 第 13、14 组呈革兰氏阳性; 第 1、2、5 组和第 7~10 组具有运动性; 显微镜油镜观察发现第 4、6、11 组呈球杆状, 第 13、14 组呈球状, 其他各组均呈杆状; 各组细菌的形态学、生理生化及酶学特征鉴定结果如表 2、表 3 所示。根据表 2、表 4, 可以判定第 1、2、3 组分

别为爱德华菌属 (*Edwardsiella* spp.)、阴沟肠杆菌 (*Enterococcus cloaca*)、弗氏柠檬酸杆菌 (*Citrobacter freundii*)。此 3 组均为肠杆菌科 (Enterobacteriaceae) 细菌。第 4~12 组依次为不动细菌属 (*Acinetobacter* spp.)、气单胞菌属 (*Aeromonas* spp.)、摩氏杆菌属 (*Moraxella* spp.)、假单胞菌属 (*Pseudomonas* spp.)、嗜麦芽窄食单菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*)、腐败希瓦氏菌 (*Shewanella putrefaciens*)、缺陷短波胞单胞菌 (*Brevendimonas diminuta*)、嗜冷杆菌属

(*Psychrobacter* spp.)、短稳黄杆菌 (*Empedobacter* spp.)。依据表 3、表 4 判断第 13、14 组为革兰氏阳性菌, 分别为玫瑰小球菌 (*Micrococcus rose*) 和棒状杆菌属 (*Corynebacterium* spp.)。

表 2 革兰氏阴性细菌形态学、生理生化及酶学特征测试结果

Tab.2 Morphological, physiological, biochemical and enzymatic characteristic of gram negative bacteria

特性 Characteristics	组别 Group											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
形状 Shape	r	r	r	c/r	r	c/r	r	r	r	r	r	r
氧化酶 Oxidase	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-
运动性 Mobility	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-
鞭毛 Flagellum	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-
TMAO 还原 TMAO Reduction	- / +	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-
H ₂ S	-	- / +	- / +	-	- / +	-	-	-	+	-	-	-
糖发酵测试 ^a Sugar fermentation tests												
阿拉伯糖 Arabinose	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
阿拉伯醇 Arabitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
纤维二糖 Cellobiose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
果糖 Fructose	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
肌醇 Inositol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
麦芽糖 Maltose	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
甘露醇 Mannitol	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
棉子醇 Raffinose	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
蔗糖 Sucrose	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-
山梨醇 Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
海藻糖 Trehalose	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
木糖 Xylose	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
荧光底物测试 ^a Fluorogenic substrate tests												
7AMC+ 赖氨酸 Lysine	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+
4MU+ 磷酸盐 Phosphate	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	
7AMC+ 脯氨酸 Proline	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	
7AMC+ γ -谷氨酸盐 Glutamine	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+
4MU- 双磷酸盐 Bisphosphate	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+
FR4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
FR6	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
FR9	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
FR10	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
FR12	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-
碳源利用测试 ^a Carbon utilization tests												
丙二酸盐 Malonate	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
赖氨酸 Lysine	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-
精氨酸 Arginine	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-
丙酮酸 Pyruvate	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-
鸟氨酸 Ornithine	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
柠檬酸盐 Citrate	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
胍丁胺 Agmatine	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-
其他特殊测试 ^a Other specific tests												
七叶苷 Aesculin	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+
TDA	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
尿素 Urease	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-

注: a: 使用 SENSITITRE 系统 GNID 试剂板测试结果; c/r: 球杆菌; r: 杆菌; 4MU: 4-甲基-伞形酮; 7AMC: 7-甲基-香豆素酰胺; FR4: 4MU- α -D-吡喃葡萄糖; FR6: 4MU- α -D-吡喃半乳糖; FR9: 4MU- β -D-葡萄糖醛化物; FR10: 4MU- β -D-吡喃半乳糖; FR12: 4MU-2-乙酰氨基-乙去氧吡喃葡萄糖 + 4MU- α -L-阿拉伯吡喃葡萄糖; TDA: 色氨酸脱氨酶; “+”: 阳性; “-”: 阴性; “- / +”: 阴性或阳性。

Note: a: test results by GNID plate of sensititre system; c/r: coccobacillus; r: rod; 4MU: 4-methyl umbelliferone; 7AMC: 7-methyl coumarin amide; FR4: 4MU- α -D-glucopyranoside; FR6: 4MU- α -D-galactopyranoside; FR9: 4MU- β -D-glucuronide; R10: 4MU- β -D-galactopyranoside; FR12: 4MU-2-acetamido-2-deoxyglucopyranoside plus 4MU- α -L-arabinopyranoside; TDA: Tryptophan-deaminase; “+”: positive; “-”: negative; “- / +”: negative or positive.

表 3 革兰氏阳性细菌形态学、生理生化及酶学特征测试结果

Tab.3 Morphological, physiological, biochemical and enzymatic characteristics of gram positive bacteria

特性 Characteristics	组别 Group		特性 Characteristics	组别 Group	
	13	14		13	14
形状 Shape	c	r	7AMC+ 丙氨酸 Alanine	+	+
过氧化氢酶 Catalase	+	+	7AMC+ 精氨酸 Arginine	-	-
运动性 Mobility	-	-	7AMC+ 苏氨酸 Threonine	+	+
鞭毛 Flagellum	-	-	7AMC+ 蛋氨酸 Methionine	+	-
TMAO 还原 Reduction	-	-	7AMC+ D-丙氨酸 Alanine	-	-
H ₂ S	-	-	7AMC+ 白氨酸 Leucine	+	+
糖发酵测试 ^a Sugar fermentation tests			7AMC+ 缬氨酸 Valine	-	-
葡萄糖 Glucose	-	-	FR13	-	-
丙三醇 Glycerol	-	-	FR14	-	-
麦芽糖 Maltose	-	-	FR16	-	-
甘露糖醇 Mannitol	-	-	FR18	-	-
B 甲基葡萄糖苷 Methy glucoside	-	-	FR21	-	-
鼠李糖 Rhamnose	-	-	FR22	-	-
蔗糖 Sucrose	-	-	FR29	+	-
山梨醇 Sorbitol	-	-	其他特殊测试 ^a Other specific tests		
海藻糖 Trehalose	-	-	7AMC+ 瓜氨酸 Citrulline	+	-
荧光底物测试 ^a Fluorogenic substrate tests			精氨酸 Arginine	-	+
7AMC+ 鸟氨酸 Ornithine	+	-	七叶苷 Aesculin	-	-
7AMC+ 半胱氨酸 Cysteine	+	-	尿素 Urease	-	+
7AMC+ 丝氨酸 Serine	+	-	7AMC+ 脯氨酸 Proline	-	-
7AMC+ 酪氨酸 Tyrosine	+	+			

注: a: 使用 SENSITITRE 系统 GPID 试剂板测试结果: FR13: 4MU-β-D 吡喃半乳糖; FR14: 4MU-β-D-吡喃葡萄糖; FR16: 4MU 吡喃稀糖苷; FR18: 4MU-β-D 吡喃甘露糖; FR21: 4MU-β-D 葡萄糖醛; FR22: 4MU-β-D 吡喃葡萄糖; FR29: 吡咯烷酮焦谷氨 7AMC; “+”: 阳性; “-”: 阴性。

Note: a: test results by GPID plate of sensititre system: R13: 4MU-β-D-galactopyranoside; FR14: 4MU-β-D-glucopyranoside; FR16: 4MU-β-D-ribofuranoside; FR18: 4MU-β-D-mannopyranoside; FR21: 4MU-β-D glucuronide; FR22: 4MU-α-D glucopyranoside; FR29: Pyroglutamate 7AMC; “+”: positive; “-”: negative.

2.3 新鲜大黄鱼细菌菌相组成

表 4 显示, 冷藏初期细菌菌相复杂, 种类繁多, 革兰氏阴性菌占总菌株数的 84.8%, 优势菌群为肠杆菌科 (16.6%) 细菌, 气单胞菌属 (14.2%), 不动杆菌属 (13.3%) 和摩氏杆菌属 (11.8%) 细菌, 出现了一定比例的革兰氏阳性菌 (6.2%), 分别为玫瑰小球菌和棒状杆菌属。

2.4 大黄鱼冷藏过程中细菌菌相变化

表 5 显示, 冷藏过程中非好冷菌不耐低温生长

受到限制, 菌相逐渐变得单一。0℃ 冷藏高品质期时, 腐败希瓦氏菌和缺陷短波单胞菌为优势菌, 分别占 45.8%、13.6%; 5℃ 冷藏高品质期时, 腐败希瓦氏菌、假单胞菌和不动杆菌为优势菌, 分别占 37.9%、15.6% 和 10.3%。0℃ 和 5℃ 冷藏货架期终点, 腐败希瓦氏菌为优势菌, 比例分别为 75.5% 和 59.6%。

表4 冷藏初期大黄鱼细菌菌相组成

Tab.4 Bacterial flora composition in *Pseudosciaena crocea* at early storing stage

组别 Group	细菌 Bacteria	样品1 Sample1		样品2 Sample2		样品3 Sample3		综合分析 Complex-analysis	
		菌株 Isolation	%	菌株 Isolation	%	菌株 Isolation	%	菌株 Isolation	%
G ⁻ 菌	Gram negative bacteria	59	84.3	56	87.5	64	83.1	179	84.8
	肠杆菌科 <i>Enterobacteriaceae</i>	10	14.3	10	15.6	15	16.9	35	16.6
1	爱德华菌属* <i>Edwardsiella</i> spp.	—	—	6	9.4	5	6.5	11	5.2
2	阴沟肠杆菌* <i>Enterococcus cloaca</i>	3	4.3	4	6.3	7	9.1	14	6.6
3	弗氏柠檬酸杆菌* <i>Citrobacter freundii</i>	7	10	—	—	3	3.9	10	4.7
4	不动细菌属 <i>Acinetobacter</i> spp.	11	15.7	11	17.2	7	9.1	29	13.3
5	气单胞菌属 <i>Aeromonas</i> spp.	5	7.1	8	12.5	17	22.1	30	14.2
6	摩氏杆菌属 <i>Moraxella</i> spp.	8	11.4	9	14.1	8	10.4	25	11.8
7	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i> spp.	9	12.9	3	4.7	4	5.2	16	7.6
8	嗜麦芽窄食单胞菌 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	13	18.6	—	—	—	—	13	6.2
9	腐败希瓦氏菌 <i>Shewanella putrefaciens</i>	3	5.7	2	3.1	8	10.4	13	6.2
10	缺陷短波单胞菌 <i>Brevendimonas diminuta</i>	—	—	5	7.8	2	2.6	7	3.3
11	嗜冷杆菌属 <i>Psychrobacter</i> spp.	—	—	6	9.4	—	—	6	2.8
12	短稳黄杆菌 <i>Empedobacter</i> spp.	—	—	2	3.1	5	6.5	7	3.3
G ⁺ 菌	Gram positive bacteria	5	7.1	2	3.1	6	7.8	13	6.2
13	玫瑰小球菌 <i>Micrococcus rose</i>	57.1	—	—	—	6	7.8	11	5.2
14	棒状杆菌属 <i>Corynebacterium</i> spp.	—	—	2	3.1	—	—	2	1.0
未鉴定 Unidentified		6	8.6	6	9.4	7	9.1	19	9.0
合计 Total		70	100	64	100	77	100	211	100

注: * 表示该菌属肠杆菌科; “—”表示未检出。

Note: * indicates the bacterium is *Enterobacteriaceae*; “—” indicates not detected.

表5 冷藏过程中细菌菌相变化

Tab.5 Bacterial flora change in *Pseudosciaena crocea* during chilled storage

组别 Group	细菌 Bacteria	高品质期 High quality stage				货架期终点 End of shelf life			
		0 ℃		5 ℃		0 ℃		5 ℃	
		菌株 Isolation	%	菌株 Isolation	%	菌株 Isolation	%	菌株 Isolation	%
G ⁻ 菌	Gram negative bacteria	106	89.8	192	85.7	91	92.9	188	90.4
4	不动杆菌属 <i>Acinetobacter</i> spp.	9	7.6	23	10.3	4	4.1	7	3.4
5	气单胞菌属 <i>Aeromonas</i> spp.	—	—	5	2.2	—	—	16	7.7
6	摩氏杆菌属 <i>Moraxella</i> spp.	8	6.8	17	7.6	—	—	3	1.4
7	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i> spp.	4	3.4	35	15.6	5	5.1	26	12.5
9	腐败希瓦氏菌 <i>Shewanella putrefaciens</i>	54	45.8	85	37.9	74	75.5	124	59.6
10	缺陷短波单胞菌 <i>Brevendimonas diminuta</i>	16	13.6	18	8.0	8	8.2	8	3.8
11	嗜冷杆菌属 <i>Psychrobacter</i> spp.	15	5.6	9	4.0	—	—	4	1.9
G ⁺ 菌	Gram positive bacteria	—	—	2	0.9	—	—	—	—
14	棒状杆菌属 <i>Corynebacterium</i> spp.	—	—	2	0.9	—	—	—	—
未鉴定	Unidentified	12	10.2	30	13.4	7	7.1	20	9.6
合计	Total	118	100	224	100	98	100	208	100

3 讨论

海产鱼细菌菌相与鱼类生存及捕获环境、季节、捕获方法相关。鱼类栖息水域的温度和盐度是影响细菌菌群组成的主要因子,干净未污染的冷、温水域鱼类优势菌群为非发酵革兰氏阴性菌,如假单胞菌属、嗜冷杆菌属、摩氏杆菌属、不动杆菌属和黄杆菌属(*Flavobacterium* spp.)等^[10-11],弧菌属(*Vibrio* spp.)和发光杆菌属(*Photobacterium* spp.)也是典型海洋性细菌; Gillespie 等^[12-13]发现,澳大利亚和非洲等热、暖带水域鱼优势菌群为微球菌属、芽孢杆菌(*Bacillus* spp.)等革兰氏阳性菌,其他菌群与温带水域相似。然而,另一些研究者^[2]发现热带鱼类与温带水域细菌菌群组成相似,只是革兰氏阳性菌和肠杆菌含量稍高。本研究发现捕获于暖带水域的大黄鱼革兰氏阴性菌占 84.8%,出现一定比例的微

球菌属和棒状杆菌,其他菌群与温带水域鱼类相似,只是出现了较高数量的肠杆菌科细菌(16.6%),说明大黄鱼养殖区受污染较重。

盐度是影响鱼体细菌菌群组成的另一个重要因子,从淡水鱼分离的细菌中非好盐菌比例比海产鱼高。气单胞菌为非好盐性菌,是淡水鱼的典型菌株,但气单胞菌为海水养殖大黄鱼的优势菌,比例为 14.2%,可能因为养殖海区距岸近,岸上淡水与海水混和,海水盐度下降利于其生长。样品 1(新捕获)气单胞菌属比例高达 34.1%^[14];其他耐盐性细菌如希瓦氏菌属、摩氏杆菌属、不动杆菌属在淡水鱼中也常被检出;腐败希瓦氏菌是海洋性革兰氏阴性菌,假单胞菌属是淡水鱼和海水鱼常见细菌,本研究比例分别为 6.2%和 7.6%,海洋细菌与陆上细菌相混合,构成了复杂的细菌相。

鲜鱼捕获后僵硬期将要结束时,微生物生长及

其新陈代谢加快, 菌群在各种贮藏条件下具有不同耐受力, 适应此环境菌群比其他菌优先生长, 产生感官不可接受的味道和气味并逐渐占据优势地位, 成为该产品的特定腐败菌 (Specific spoilage organism, SSO)^[15]。同类型产品中只有一种或几种微生物总是作为腐败菌出现, 而且 SSO 可能只有一种。例如有氧冷藏温、热带水域淡水鱼的 SSO 为假单胞菌属, 有氧冰藏海产鱼的 SSO 为腐败希瓦氏菌, 有氧冷藏温、热带水域海水鱼的 SSO 是腐败希瓦氏菌和 (或) 假单胞菌属^[16]。腐败希瓦氏菌活性较强, 能产生 H_2S 、不良气味产物和还原 TMAO 等, 是冷藏海产鱼类腐败菌之一, 大黄鱼有氧冷藏初期比例仅为 6.2%, 冷藏过程较其他低温细菌生长速率快, 比例上升趋势明显。货架期终点时, 0℃、5℃ 冷藏大黄鱼优势菌为腐败希瓦氏菌, 比例分别为 75.5% 和 59.6%。对其腐败活性和腐败范围有待进一步深入探讨, 为最终确定特定腐败菌打下基础。

参考文献:

- [1] Gennari M, Tomaselli S, Cotroneo V. The microflora of fresh and spoiled sardines (*Sardina pilchardus*) caught in Adriatic (Mediterranean) sea and stored in ice[J]. Food Microbiol, 1999, 16: 15-28.
- [2] Surendran P K, Joseph J, Shenoy A V, et al. Studies on spoilage of commercially important tropical fishes under iced storage[J]. Fish Res, 1989, 7: 1-9.
- [3] Gram L, Troll G, Huss H H. Detection of specific spoilage bacteria from fish stored at low (0℃) and high (20℃) temperature[J]. Int J Food Microbiol, 1987, 4: 65-72.
- [4] Taoukis P S, Koutsoumanis K, Nychas G J E. Use of time temperature integrators and predictive modelling for shelf life control of chilled fish under dynamic storage conditions[J]. Int J Food Microbiol, 1999, 53: 21-31.
- [5] 许钟, 蔡作斌, 肖琳琳, 等. 养殖大黄鱼冰藏流通的货架期试验[J]. 海洋渔业, 2004, 26(4): 306-311.
- [6] 姚果琴, 何利平, 银鲳和大黄鱼冰藏保鲜和货架期[J]. 上海水产大学学报, 1992, 1(1-2): 91-94.
- [7] 许钟, 郭全友, 杨宪时. 养殖大黄鱼冷却链全程细菌定性和定量研究[J]. 食品发酵与工业, 2005, 31(12): 46-49.
- [8] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册: 第一版[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [9] 須山三千三, 鴻巣章二. 水産食品学[M]. 東京: 恒星社厚生閣, 1987: 111-118.
- [10] 奥積昌世. 鮮魚のチルド・フローゼン貯蔵における細菌相の變化[J]. 冷凍, 1986, 61: 120-130.
- [11] Gram L, Wedell N, Huss H H. The bacterial of fresh and spoilage Lake Victorian Nile perch (*Lates niloticus*) [J]. Int J Food Microbiol, 1990, 10: 303-316.
- [12] Ola J B, Oladipo A E. Storage life of croaker (*Pseudolithus senegalensis*) in ice and ambient temperature[J]. Afr J Biomed Res, 2004, 7: 13-17.
- [13] Gillespie N C, Macrae I C. The bacterial flora of some Queensland fish and its ability to cause spoilage[J]. J Appl Bact, 1975, 39: 91-100.
- [14] 郭全友, 许钟, 杨宪时. 东海养殖大黄鱼细菌多样性分析[J]. 海洋渔业, 2005, 27(3): 306-311.
- [15] Dalgaard P. Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish[J]. Int J Food Microbiol, 1995, 26: 319-333.
- [16] Gram L, Huss H H. Microbiological spoilage of fish and products[J]. Int J Food Microbiol, 1996, 33: 121-137.

Bacterial flora changes on cultured *Pseudosciaena crocea* during chilled storage

GUO Quan-you¹, YANG Xian-shi¹, XU Zhong¹, WU Jian-jun²

(1. Key and Open Laboratory of Marine Estuarine Fisheries, Ministry of Agriculture, East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China; 2. Chinmax Medical Systems, INC., Shanghai 200086, China)

Abstract: Microbiological activity is responsible for spoilage of most fresh fish, which is greatly influenced by temperature. The most bacteria are unable to grow when fish are stored at low temperatures, whereas, it is important to study quality and micro-flora changes. In this paper, quality changes in *Pseudosciaena crocea* stored at low temperature (0 °C, 5 °C) were investigated in the aspects of sensory, total volatile basic nitrogen (TVBN) and total viable count (TVC), and its bacterial flora changes were also qualitatively and quantitatively studied. The results showed that mean logarithmic value (lgN) of TVC reached 5.40 ± 0.17 , 6.98 ± 0.17 , 7.38 ± 0.09 , and the mean values of TVBN were $(7.00 \pm 1.82) \text{ mg} \cdot 100^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$, $(13.00 \pm 1.42) \text{ mg} \cdot 100^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ and $(29.92 \pm 1.75) \text{ mg} \cdot 100^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ at the initial storage, the time of high quality point and the shelf life end-point, respectively. Totally 211 strains of bacteria were isolated at the initial storage and 84.8% of them were gram negative bacteria, a small percentage of gram positive bacteria were found (6.2%). The predominant bacterial flora were composed of Enterobacteriaceae (16.6%), *Aeromonas* spp. (14.2%), *Acinetobacter* spp. (13.3%) and *Moraxella* spp. (11.8%). A small percentage of *Stenotrophomonas maltophilia* and other bacteria were also found. The composition of bacterial flora became gradually simple, and the percentage of *Shewanella putrefaciens* increased significantly during storage, the dominating bacteria of *Shewanella putrefaciens* and *Brevendimonas diminuta* reached 45.8% and 13.6% at the time of high quality point at 0 °C, and the predominant bacteria of *Shewanella putrefaciens* and *Pseudomonas* spp. were 37.9% and 15.6% at the time of high quality point at 5 °C. The dominating bacteria of *Shewanella putrefaciens* were 75.5% and 59.6% at the end of shelf life at 0 °C and 5 °C, respectively. [Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14 (2): 301–308]

Key words: *Pseudosciaena crocea*; chilled storage; bacterial flora; dominating bacteria

Corresponding author: XU Zhong. E-mail: xuzhong@smmail.cn