

低温贮藏过程中鱿鱼细菌组成的变化及优势腐败菌鉴定

沈萍^{1,2}, 李学英¹, 杨宪时¹, 迟海¹, 黄洪亮¹

(1. 中国水产科学研究院东海水产研究所, 上海 200090) (2. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306)

摘要: 将鱿鱼在 0、5、10、15 °C 有氧贮藏过程中的细菌菌相进行定性和定量分析。研究表明, 鱿鱼贮藏初期其细菌组成较复杂, 其中 91.48% 是革兰氏阴性菌, 革兰氏阳性菌仅占 4.26%, 优势菌为气单胞菌(*Aeromonas* spp.)、浅金黄色单胞菌(*Chryseomonas luteola*) 和假单胞菌(*Stenotrophomonas* spp.), 比例分别为 27.66%、23.40% 和 17.02%。此外, 还检测出一定量的洛菲氏不动杆菌(*Pantoea agglomerans*)、成团泛菌(*Acinetobacter lwoffii*)。0、5、10、15 °C 贮藏过程中, 细菌菌相逐渐变得单一, 假单胞菌上升趋势明显, 达到高品质期终点分别为 360、239、96、47 h, 货架期终点分别为 525、286、147、86 h。0、5、10、15 °C 贮藏较好品质期时, TVBN 均值为(17.15±0.29) mg/100g, 菌落总数为(5.89±0.40) LgCFU/g, 假单胞菌比例分别为 84.09%、72.09%、65.52% 和 76.36%, 平均比例为 75.92%; 货架期终点时 TVBN 均值为(30.05±0.92) mg/100 g, 菌落总数为(8.33±0.30) LgCFU/g, 假单胞菌比例达到 93.24%、90.53%、88.57% 和 81.95%, 平均比例为 87.63%。由此得出鱿鱼 0~15 °C 贮藏过程中的优势腐败菌是假单胞菌。

关键词: 鱿鱼; 低温贮藏; 菌相变化; 优势腐败菌; 假单胞菌

文章编号: 1673-9078(2015)6-236-242

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.6.037

Changes in Bacterial Flora and Predominant Spoilage Bacteria in Squid during Low Temperature Storage

SHEN Ping^{1,2}, LI Xue-ying¹, YANG Xian-shi¹, CHI Hai¹, HUANG Hong-liang¹

(1. East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China)

(2. Shanghai Ocean University, College of Food Science and Technology, Shanghai 201306, China)

Abstract: Bacterial flora in squid stored at 0, 5, 10, and 15 °C were analyzed qualitatively and quantitatively. The results showed that the bacterial flora of squid was complex on initial storage, with 91.48% gram-negative bacteria and 4.26% gram-positive bacteria. The predominant bacterial flora was composed of *Aeromonas* spp. (27.66%), *Chryseomonas luteola* (23.40%), and *Pseudomonas* spp. (17.02%). In addition, a certain proportion of *Acinetobacter lwoffii* and *Pantoea agglomerans* was also detected. During aerobic storage at 0, 5, 10, and 15 °C, the bacterial flora gradually became more uniform and a trend of increasing *Pseudomonas* spp. was apparent. The high quality lives (HQL) of the squid samples were 360, 239, 96, and 47 h, respectively, while the shelf lives (SL) were 525, 286, 147, and 86 h, respectively. In addition, at the end of HQL at 0, 5, 10, and 15 °C, total volatile base nitrogen (TVBN) was 17.15 ± 0.29 mg/100 g, and total viable count (TVC) was 5.89 ± 0.40 LgCFU/g. The percentages of *Pseudomonas* spp. were 84.09%, 72.09%, 65.52%, and 76.36%, respectively, with an average percentage of 75.92%. At the end of SL at 0, 5, 10, and 15 °C, TVBN was 30.05 ± 0.92 mg/100 g and TVC was 8.33 ± 0.30 LgCFU/g. The percentages of *Pseudomonas* spp. were 93.24%, 90.53%, 88.57%, and 81.95%, respectively, and the average percentage was 87.63%. Therefore, *Pseudomonas* spp. was the predominant spoilage bacteria of squid stored between 0 and 15 °C.

Key words: squid; low temperature storage; bacterial flora changes; predominant spoilage bacteria; *Pseudomonas* spp.

收稿日期: 2014-09-02

基金项目: 国家 863 科技计划项目 (2012AA092303); 农业部 948 计划项目 (2011-Z12)

作者简介: 沈萍 (1988-), 女, 硕士研究生, 主要从事水产品加工与质量安全控制的研究

通信作者: 李学英 (1983-), 女, 硕士, 助理研究员, 主要从事水产品贮藏加工和质量安全控制技术研究

海产鱼类品质较不稳定, 极易腐败变质, 造成这一现象的主要原因有微生物、脂肪氧化、自溶酶等。而对于高蛋白含量的鱿鱼来说, 其脂肪含量少, 影响最大的还是微生物。微生物分解利用糖类、脂肪、蛋白质等成分产生有异臭味和毒性的物质, 致使水产品腐败变质。复杂的细菌组成不仅使产品贮藏货架期缩短, 还有致食物中毒和引起传染病的危险。因此, 研

究低温贮藏条件下鲑鱼细菌菌相的变化,有利于在保鲜过程中采取相应措施以靶向抑制有害微生物的生长和延长货架期。

国外学者通过对水产食品腐败微生物长期研究发现,水产食品所含微生物中只有部分微生物参与腐败过程,主要是由于不同产品自身所特有的细菌随着其生长条件的逐渐适应而占据优势地位,并产生腐败臭味和异味的代谢产物,因此提出了特定腐败菌(specific spoilage organism, SSO)的概念^[1]。值得注意的是特定腐败菌是在优势腐败菌的基础上即不仅需要数量上占优势还要结合其较强的腐败能力才能称得上特定腐败菌。在有氧冷藏中,水产鲜品最常见的SSO为假单胞菌(*Pseudomonas* spp.)与腐败希瓦氏菌(*Shewanella putrefaciens*)。国内外对水产品的特定腐败菌的研究已有不少,但是尚未见低温贮藏过程中关于鲑鱼的菌相变化及优势腐败菌的研究报道。

鉴于实际生活中鲑鱼的加工、运输及销售一般暴露在0~15℃空气中,为了研究这一温度范围,本文以5℃作为一个温度梯度,即0、5、10℃和15℃,采用简便表现型并结合使用Sensititre细菌鉴定系统,对鲑鱼初始点、高品质期终点和货架期终点的细菌组成进行定性和定量研究,分析鲑鱼的优势腐败菌,为鲑鱼特定腐败菌生长动力学和货架期预测模型的建立以及鲑鱼的品质控制提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与处理

样品为2013年9月在经纬度为155° 42'E, 42° 55'N的公海区域捕捞的北太平洋鲑鱼。船上冻结后经-20℃贮藏运输至实验室, -80℃贮藏备用。将样品从-80℃冰箱取出,室温解冻,去皮去内脏,只保留酮体部分,将鱼肉切成规格一致的小块,分装在各个保鲜袋中,每袋适于一次实验的量。

1.2 仪器与试剂

半微量定氮仪, 国药集团化学试剂有限公司, 上海; SEX-TJ净化工作台, 上海整新电子设备; 生物显微镜, OLYMPUS CX41, 日本; 低温培养箱, SANYO-MR553, 日本; 低温培养箱, SANYO-MR153, 日本; 低温培养箱, SANYO-MR253, 日本; 微生物鉴定和药敏分析仪, TREK Diagnostic Systems LTD, 英国

营养琼脂, 北京陆桥技术有限责任公司, 上海; 氯化钠, 国药集团化学试剂有限公司, 上海; 假单胞

菌专用培养基, Oxoid code CM 559, and supplemented with SR 103, 英国; GNID测试板, TREK Diagnostic Systems LTD, 英国; GPID测试板, TREK Diagnostic Systems LTD, 英国; 液体石蜡油, 国药集团化学试剂有限公司, CP, 上海; 革兰氏染色液试剂盒, 国药集团化学试剂有限公司, 上海

1.3 实验方法

1.3.1 贮藏实验

将各个小袋装的鲑鱼(有氧包装)放置于贮藏温度分别控制为(5±0.1)、(10±0.1)、(15±0.1)℃的高精度低温培养箱中,而冰与水的混合物是保证0℃温度波动最小的最佳选择,本文按层冰层鱼装入带有滴水孔的塑料泡沫箱内,再置于(5±0.1)℃培养箱中,并适时加冰,即为0℃贮藏(冰藏)。根据预实验的分析,每隔适当时间随机抽取样品,用绞肉机搅碎,称取适量进行挥发性盐基氮(Total Volatile Base Nitrogen, TVBN)的检测和菌落总数计数,其中一份样品专门作为感官实验,保持样品评价的连续性。在预实验基础上,采用感官评分并结合TVBN值来确定鲑鱼的高品质期和货架期终点。高品质期(High Quality Life, HQL)终点即为鲜鱼特有的鲜香味消失;货架期(Shelf Life, SL)终点为明显出现腥臭味,即可接受界限。

1.3.2 感官评定

由6名经过训练的评价员组成感官评定小组,为了更详细地评价感官的变化过程,根据表1的5分制鲑鱼感官评价标准,分数收集采用现场打分的原则,以鲑鱼的色泽、气味、体表粘液、肌肉弹性为指标分别进行打分,各项指标满分为5分,总分12为高品质期终点,4分为最差品质。

1.3.3 TVBN测定

称取10.0 g绞碎的鲑鱼样品于锥形瓶中,加入90 mL蒸馏水,用玻璃棒搅匀,浸渍30 min后,在5000 r/min条件下离心10 min,取上清液按半微量定氮法进行测定,每个样品做3个平行。TVBN单位表示为mg/100g,即每100 g样品中所含TVBN毫克数。

1.3.4 菌落总数的测定

在无菌室内操作,称取绞碎的25.0 g鲑鱼样品,放入无菌均质袋中,加入225 mL无菌生理盐水,用拍击式均质器拍打1次,制成1:10的样品匀液,并将上述样品匀液依次进行10倍梯度稀释。选择2~3个适宜稀释度的样品匀液,吸取0.1 mL涂布于已制备好的无菌平板内。每个稀释度做2个平行,置于37℃培养48 h后计数。

1.3.5 细菌分离、纯化与鉴定

从初始点、高品质期终点和货架期终点的培养基

中, 挑选菌落数在30~150的平板, 根据菌落的基本形态特征分为n个细菌类型, 并对同一种细菌进行微生物计数, 分别挑取每个类型的若干菌落(至少2~3个菌落)进行划线分离和纯化, 在37 °C条件下培养48 h, 重复

划线分离, 所有纯化后的细菌先进行革兰氏染色初步鉴定, 然后利用 Sensititre 细菌鉴定系统 (TREK Diagnostic Systems LTD, 英国) 进行上机鉴定。

表 1 鱿鱼的感官评价标准

Table 1 Criteria for the sensory evaluation of squid

分值	色泽	气味	粘液	肌肉弹性
5	色泽正常, 肌肉切面富有光泽	具有鱼特有的风味, 无异味	无粘液, 干净	肌肉坚实富有弹性, 手指压后凹陷立即消失
4	色泽正常, 肌肉切面有光泽	具有鱼特有的风味, 无明显异味	稍有粘液, 无腐烂	肌肉坚实有弹性, 手指压后凹陷消失较快
3	色泽稍暗淡, 肌肉切面稍有光泽	鱼特有的风味消失	粘液较多, 稍有腐烂	肌肉较有弹性, 手指压后凹陷消失稍慢
2	色泽较暗淡, 肌肉切面无光泽	略有鱼腥味	粘液多, 稍有腐烂	肌肉稍有弹性, 手指压后凹陷消失很慢
1	色泽暗淡, 肌肉切面无光泽	腥臭味明显	粘液多, 腐烂较明显	肌肉无弹性, 手指压后凹陷明显

1.3.6 数据分析

实验数据采用 Microsoft Excel2007 进行统计分析, 并采用平均数±标准差来表示。

2 结果与分析

2.1 鱿鱼高品质期和货架期终点的确定

结合感官评分和 TVBN 值, 按照感官评价每隔一定时间(按不同贮藏温度下的腐败速率进行调整, 如 15 °C 大致每隔 6 h, 后期按照腐败速率增加频率)进

行 TVBN 检测, 参照表 1 的感官评价标准以及 GB2733-2005 《鲜(冻)动物性水产品卫生标准》规定海水鱼、虾、头足类 TVBN 值应不超过 30 mg/100 g, 由此最终确定鱿鱼的高品质期和货架期终点。表 2 是鱿鱼在不同贮藏温度下较好品质期和货架期的贮藏时间、TVBN 值和菌落总数。由表可见, 鱿鱼在 4 种贮藏温度下, 较好品质期和货架期终点时 TVBN 均值分别为 17.15±0.29、30.05±0.92 mg/100 g; 菌落总数均值分别为 5.89±0.40、8.33±0.30 LgCFU/g, 感官评价和 TVBN、菌落总数具有较好的一致性。

表 2 鱿鱼 0、5、10、15°C 贮藏中较好品质期和货架期终点的 TVBN 和菌落总数

Table 2 TVC and TVBN at the end of high quality life and shelf life of squid stored aerobically at 0, 5, 10, and 15°C

鲜度等级	质量指标	贮藏温度/°C				平均值
		0	5	10	15	
较好品质期终点	贮藏时间/h	360	239	96	47	-
	TVBN/(mg/100 g)	17.45	17.36	16.80	16.99	17.15±0.29
	菌落总数/(LgCFU/g)	5.93	5.41	5.56	6.07	5.89±0.40
货架期终点	贮藏时间/h	525	286	147	86	-
	TVBN/(mg/100 g)	31.17	30.43	29.50	29.12	30.05±0.92
	菌落总数/(LgCFU/g)	7.97	8.63	8.63	8.12	8.33±0.30

2.2 鱿鱼初始点细菌组成

刚运到实验室的鱿鱼经解冻至同一温度后作为初始点, 经检测得到菌落总数为 3.04 LgCFU/g, TVBN 值为 10.45 mg/100 g, 这与 Tomac 等人^[2]的 TVBN 初始值相似。依据细菌菌落形态和革兰氏染色以及 Sensititre 细菌鉴定系统鉴定将 47 株菌大致分为 8 种, 革兰氏阳性菌仅一种, 另有一种未鉴定, 革兰氏阴性

菌中, 一种只能鉴定为假单胞菌属, 一种鉴定到气单胞菌属, 而产碱假单胞菌也属于假单胞菌属, 至于浅金黄色单胞菌则较有争议, 有学者说归于假单胞菌属也有归于金色单胞菌属的, 因而本研究直接将其列出。具体生理生化、细菌形态特征鉴定结果见表 3。一般而言, 初始点细菌菌相比较复杂, 种类较多, 这主要与其生活环境以及捕捞时的季节和卫生状况等多种因素相关。在初始点时, 表 4 可以看出优势菌为浅黄金

色单胞菌、气单胞菌和假单胞菌,比例分别为 23.40%、27.66%和 17.02%,革兰氏阳性菌出现蜡样芽胞杆菌,比例为 4.26%,另外有少量的洛菲氏不动杆菌、嗜麦

芽窄食单胞菌、成团泛菌,比例分别为 8.51%、6.38%和 8.51%。

表 3 细菌形态及生理生化鉴定结果

Table 3 Results of morphological and biochemical identification

特征	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8
形态和颜色	杆状 浅黄色	杆状 白色	杆状 青黄色	杆状 金黄色	细长杆状 淡黄色	杆状 乳白色	杆状 金黄色	杆状白色 半透明
FR1	-	-	+	-	-	-	ND	-
木糖	+	-	-	-	+	-	ND	-
FR3	-	-	-	-	-	-	ND	-
麦芽糖	+	-	+	-	+	-	+	-
FR5	-	-	-	-	-	-	ND	-
阿拉伯糖	-	-	-	-	+	-	ND	-
FR7	+	-	-	+	+	+	ND	-
丙二酸	+	-	-	-	-	-	ND	-
尿素	-	-	-	-	-	-	-	-
FR12	-	-	-	-	+	-	ND	+
海藻糖	+	-	-	-	+	-	+	+
FR4	-	-	-	-	-	-	ND	-
果糖	+	-	-	-	+	-	ND	+
赖氨酸	-	-	-	-	-	-	ND	+
精氨酸	-	-	-	-	-	+	-	+
丙酮酸	+	+	-	-	-	+	ND	-
鸟氨酸	-	-	+	-	-	-	ND	-
蔗糖	-	-	-	-	+	-	+	+
FR8	-	-	-	-	-	-	ND	-
肌醇	-	-	-	-	-	-	ND	-
七叶苷	+	-	-	-	+	-	-	+
TDA	-	-	-	-	-	-	ND	-
FR6	+	-	-	-	+	-	ND	-
枸橼酸盐	-	-	-	-	-	+	ND	-
山梨醇	-	-	-	-	-	+	-	-
FR9	-	-	-	-	-	-	ND	-
甘露醇	-	-	-	-	-	-	+	-
FR10	-	-	-	-	+	-	ND	-
阿糖醇	-	-	-	-	+	-	ND	-
棉子糖	-	-	-	-	+	-	ND	-
纤维二糖	-	-	-	-	+	-	ND	-
鲱精胺	+	+	-	+	+	+	ND	+
FR22	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND
FR25	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND
FR19	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND
葡萄糖	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND

转下页

接上页

β-甲基葡萄糖苷	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND
FR30	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND
FR15	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND
FR20	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND
丙三醇	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND
FR28	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND
FR31	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND
FR32	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND

鉴定结果	浅金黄色单胞菌	洛菲氏不动杆菌	嗜麦芽窄食单胞菌	产碱假单胞菌	成团泛菌	假单胞菌	蜡样芽孢杆菌	气单胞菌
------	---------	---------	----------	--------	------	------	--------	------

注: +: 为阳性; -: 为阴性; ND: 为未检测。

表4 鱿鱼初始点细菌组成

Table 4 Composition of bacterial flora in fresh squid

细菌	菌株	比例/%
G ⁻ 菌	43	91.48
1 浅金黄色单胞菌 <i>Chryseomonas luteola</i>	11	23.40
2 洛菲氏不动杆菌 <i>Acinetobacter lwoffii</i>	4	8.51
3 嗜麦芽窄食单胞菌 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	3	6.38
4 假单胞菌 <i>Pseudomonas</i> spp.	8	17.02
5 成团泛菌 <i>Pantoea agglomerans</i>	4	8.51
6 气单胞菌 <i>Aeromonas</i> spp.	13	27.66
G ⁺ 菌	2	4.26
7 蜡样芽孢杆菌 <i>Bacillus cereus</i>	2	4.26
未鉴定	2	4.26
合计	47	100

2.3 鱿鱼较好品质期终点细菌组成

从表5可看到, 鱿鱼低温贮藏达到高品质期终点时共分离出7种细菌, 与初始点对比菌相呈现较单一, 其中革兰氏阴性菌占绝对优势, 革兰氏阳性菌仅占0.67%, 且假单胞菌主导地位越来越显著。0、5、10、15℃贮藏至较好品质期终点时, 假单胞菌比例分别为84.09%、72.09%、65.52%和76.36%, 平均比例为75.92%; 其次, 洛菲氏不动杆菌和浅金黄色单胞菌只占少量, 平均比例分别为9.70%和6.68%。可见较好品质期终点假单胞菌属是优势腐败菌。此外, 0℃贮藏鱿鱼较好品质期终点, 有少量的气单胞菌, 比例为2.27%, 5℃较好品质期终点有若干的成团泛菌, 比例为4.65%, 而10和15℃较好品质期终点存在若干嗜麦芽窄食单胞菌和气单胞菌, 但是15℃还发现2株蜡样芽孢杆菌, 数量虽少, 但是这种革兰氏阳性菌值得重视, 它属于β溶血性的需氧型杆状细菌, 会产生防御性的内芽孢, 达到一

定量甚至会引起食物中毒。

2.4 鱿鱼货架期终点细菌组成

由表6可知, 鱿鱼贮藏货架期终点菌相更为单一。在鱼类低温贮藏过程中, 不同微生物具有特定的环境适应能力, 非好冷菌不耐低温, 生长受到限制, 故低温贮藏过程中鱼体细菌菌相逐渐变得单一。随着贮藏时间的延长, 四个温度下的洛菲氏不动杆菌逐渐消失, 0℃贮藏只有假单胞菌属和少量的成团泛菌, 10℃和15℃货架期终点时细菌组成均有浅金黄色单胞菌和嗜麦芽窄食单胞菌, 比例分别为2.86%、6.77%和4.29%、4.51%。但是5℃和15℃都又出现了蜡样芽孢杆菌, 比例为1.05%和2.26%。而高品质期时15℃也出现蜡样芽孢杆菌, 故此推测蜡样芽孢杆菌不耐低温, 嗜好较高的温度。本实验也说明15℃较0、5、10℃更能适应其生长。蜡样芽孢杆菌在室温(16~40℃)下易繁殖产生肠毒素, 因此鱿鱼食品在低温下只能短时间存放。鱿鱼0、5、10、15℃贮藏货架期终点时假单胞菌比例分别为93.24%、90.53%、88.57%和81.95%, 平均比例为87.63%。货架期终点假单胞菌属呈现非常高的比例, 显然是低温贮藏鱿鱼的优势腐败菌。

4 讨论

4.1 在有氧冷藏中, 水产鲜品最常见的SSO为假单胞菌与腐败希瓦氏菌, 本研究只出现假单胞菌这一种优势腐败菌, 这与冷藏南极大磷虾^[3]、冷藏养殖大黄鱼^[4]等结论相一致。但是有一点值得探究的是很多鱼类不只有一种优势腐败菌或者尽管只有一种特定腐败菌, 假单胞菌和腐败希瓦氏菌会同时存在, 如郭全友等^[3]冷藏养殖大黄鱼优势腐败菌是腐败希瓦氏菌, 同时存在假单胞菌。国外报道Gennari认为假单胞菌多为热带淡水鱼的SSO, 腐败希瓦氏菌多为海洋温带水域鱼的SSO^[5], 而本文中的北太平洋鱿鱼是于经纬度为155°

42°E, 42° 55'N的公海区域捕捞的, 该区域属于温带海水鱼, 而优势腐败菌却为假单胞菌, 与该理论不一致。Cao Rong^[6]发现太平洋牡蛎冷藏条件下优势腐败菌也是假单胞菌, 同样属于海水中的南极大磷虾、大黄鱼也是如此。这也证明了低温贮藏海水鱼的特定腐败菌

种类与其生存环境休戚相关, 但是就其生存环境来断定其特定腐败菌还是不科学的。对于为什么本研究中只有假单胞菌而没有发现腐败希瓦氏菌, 与环境的特定性已经不成缘由, 那么是鱿鱼的肉质机理缘故或是这两种菌是否有什么关联性尚有待继续研究。

表5 鱿鱼0、5、10、15℃贮藏较好品质期终点细菌组成

Table 5 Composition of bacterial flora at the end of high quality life of squid stored aerobically at 0, 5, 10, and 15 °C

细菌	0℃		5℃		10℃		15℃		合计	
	菌株	%	菌株	%	菌株	%	菌株	%	菌株	%
G ⁻ 菌	86	97.73	40	93.02	57	98.28	108	98.18	291	97.32
1 浅金黄色单胞菌 <i>Chryseomonas luteola</i>	4	4.55	2	4.65	5	8.62	9	8.18	20	6.68
2 洛菲氏不动杆菌 <i>Acinetobacter lwoffii</i>	6	6.82	5	11.63	11	18.97	7	6.36	29	9.70
3 嗜麦芽窄食单胞菌 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	-	-	-	-	1	1.72	2	1.82	3	1.00
4 假单胞菌 <i>Pseudomonas spp.</i>	74	84.09	31	72.09	38	65.52	84	76.36	227	75.92
5 成团泛菌 <i>Pantoea agglomerans</i>	-	-	2	4.65	-	-	4	3.64	6	2.01
6 气单胞菌 <i>Aeromonas spp.</i>	2	2.27	-	-	2	3.45	2	1.82	6	2.01
G ⁺ 菌	-	-	-	-	-	-	2	1.82	2	0.67
7 蜡样芽孢杆菌 <i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-	-	-	2	1.82	2	0.67
未鉴定	2	2.27	3	6.98	1	1.72	-	-	6	2.01
合计	88	100	43	100	58	100	110	100	299	100

表6 鱿鱼0、5、10、15℃贮藏货架期终点细菌组成

Table 6 Composition of bacterial flora at the end of shelf life of squid stored aerobically at 0, 5, 10, and 15 °C

细菌	0℃		5℃		10℃		15℃		合计	
	菌株	%	菌株	%	菌株	%	菌株	%	菌株	%
G ⁻ 菌	72	97.30	90	94.74	69	98.57	124	93.23	355	95.43
1 浅金黄色单胞菌 <i>Chryseomonas luteola</i>	-	-	4	4.21	2	2.86	9	6.77	15	4.03
2 洛菲氏不动杆菌 <i>Acinetobacter lwoffii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3 嗜麦芽窄食单胞菌 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	-	-	-	-	3	4.29	6	4.51	9	2.42
4 假单胞菌 <i>Pseudomonas spp.</i>	69	93.24	86	90.53	62	88.57	109	81.95	326	87.63
5 成团泛菌 <i>Pantoea agglomerans</i>	3	4.05	-	-	-	-	-	-	3	0.81
6 气单胞菌 <i>Aeromonas spp.</i>	-	-	-	-	2	2.86	-	-	2	0.54
G ⁺ 菌	-	-	1	1.05	-	-	3	2.26	4	1.08
7 蜡样芽孢杆菌 <i>Bacillus cereus</i>	-	-	1	1.05	-	-	3	2.26	4	1.08
未鉴定	2	2.70	4	4.21	1	1.43	6	4.51	13	3.49
合计	74	100	95	100	70	100	133	100	372	100

4.2 鱿鱼在0、5、10℃和15℃低温贮藏下, 假单胞菌

的比例从初始点的17.02%, 到较好品质期的84.09%、

72.09%、65.52%和76.36%，一直到货架期终点时分别达到93.24%、90.53%、88.57%和81.95%，可以看出同一时期温度的差异对细菌组成的变化，温度越低，尤其是货架期终点时，假单胞菌比例也越高。原因可能是假单胞菌是一种嗜冷菌，能在0℃生长，最高生长温度不超过20℃，最适宜温度为15℃，而低温下因一些不耐冷的细菌逐渐因生长受到抑制而消亡，从而凸显了假单胞菌所占的比例优势。

4.3 干净未污染的冷、温水域鱼类优势菌群为假单胞菌属、嗜冷杆菌属、不动杆菌属和黄杆菌属等革兰氏阴性菌。实验初始点细菌组成中，优势菌为气单胞菌、浅金黄色单胞菌、和假单胞菌，比例分别为27.66%、23.40%和17.02%，一直到货架期终点，其优势腐败菌变为假单胞菌属，仅存在少量浅金黄色单胞菌、嗜麦芽窄食单胞菌，基本均是革兰氏阴性菌且未有大肠杆菌等污染指示菌的出现，说明该批次北太平洋鲑鱼在大洋中基本没有受到污染。但是，在贮藏过程中出现了蜡样芽孢杆菌，尽管只偶有几株，但还存有安全隐患。周帼萍等^[7]调查表明引发食物中毒的食品中蜡样芽孢杆菌含菌量(*B.cereus*)绝大多数在 10^5 CFU/g(mL)以上，但也有部分案例中*B.cereus*含菌量较少。部分*B.cereus*菌株能产生致呕吐型和腹泻型胃肠炎肠毒素两类肠毒素，从而引起人类食物中毒，而且蜡样芽孢杆菌其芽孢能耐住100℃的高温，干热灭菌也需要120℃，60 min才能杀死。对于新鲜鲑鱼出现了这一少数菌落，这很有可能是运输环境中沾染而导致，因此运输环节的卫生状况极其重要，此外还需严格控制温度，减少食物中毒的发生。

4.4 我国关于低温贮藏鲜水产品特定腐败菌的鉴定方法较成熟，且品质监控和剩余货架期预报应用模型较国外软件预测的准确度高，但每种鱼都需要单独建模，工作量大，尚需我们研究人员继续开展相关工作^[8]。鱼种类不同，鱼肉组织不同，特定腐败菌及其比例则会存在差异，不可一概而论。通过本实验特定腐败菌的确定，可直接研发相应保鲜剂来抑制其生长或是利用微生物之间相互作用如拮抗作用等改变其菌相组成。因而低温贮藏鲑鱼的菌相分析对于我们接下来建立其特定腐败菌的生长动力学和货架期预测模型及其开发应用于实际的保鲜技术都至关重要。

参考文献

- [1] Dalgaard P. Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish [J]. Food Microbiology, 1995, 26: 319-333
- [2] Tomac A, Mascheroni R H, Yeannes M I. Modeling total volatile basic nitrogen production as a dose function in gamma irradiated refrigerated squid rings [J]. LWT-Food Science and Technology, 2014, 56(2): 533-536
- [3] 迟海,李学英,杨宪时,等.南极大磷虾 0、5 和 20℃贮藏中的品质变化[J].海洋渔业,2010,32(4):447-453
CHI Hai, LI Xue-ying, YANG Xian-shi, Sensory, microbiological and chemical changes of *Euphausia superba* during storage at 0, 5 and 20℃ [J]. Marine Fisheries, 2010, 32(4): 447-453
- [4] 郭全友,杨宪时,许钟,等.冷藏养殖大黄鱼菌相组成和优势腐败菌鉴定[J].水产学报,2006,30(6):824-830
GUO Quan-you, YANG Xian-shi, XU Zhong, et al. Research on quality change characteristics and bacteria flora of chilling cultured *Pseudosciaena crocea* [J]. Journal of Fisheries of China, 2006, 30(6): 824-830
- [5] Gennari M, Tomaselli S, Cotrona V. The microflora of fresh and spoiled sardines (*Sardina pilchardus*) caught in Adriatic (Mediterranean) sea and stored in ice [J]. Food Microbiology, 1999, 16(1): 15-28
- [6] Rong Cao, Chang-hu Xue, Qi Liu. Changes in microbial flora of pacific oysters (*crassostrea gigas*) during refrigerated storage and its shelf-life extension by chitosan [J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 131(2-3): 272-276
- [7] 周帼萍,梁天光,丁淑娟.1986-2007年中国299起蜡样芽孢杆菌食物中毒案例分析[J].中国食品卫生杂志,2009,21(5): 450-453
ZHOU Guo-ping, LIANG Tian-guang, DING Shu-juan. Analysis on 299 *Bacillus cereus* food poisoning cases in 1986-2007 [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2009, 21(5): 450-453
- [8] 罗庆华.水产品特定腐败菌研究进展[J].食品科学,2010, 31(23):468-472
LUO Qing-hua. Research advances on specific spoilage organisms of aquatic products [J]. Food Science, 2010, 31(23): 468-472