

doi: 10.3969/j. issn. 1673-2227. 2010. 01. 009

## 太平洋牡蛎在-3℃微冻贮藏过程中的品质和细菌菌相变化

曹 荣<sup>1</sup>, 薛长湖<sup>2</sup>, 刘 淇<sup>1</sup>, 殷邦忠<sup>1</sup>

(1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071; 2. 中国海洋大学食品学院, 山东 青岛 266003)

**摘要:** 以太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)为研究对象, 对其在-3℃微冻贮藏过程中的感官品质、细菌总数和细菌菌相变化情况进行了分析。结果表明, 牡蛎在微冻贮藏过程中, 感官评分呈下降的趋势, 至第30天时已接近感官拒绝点。细菌总数呈先减少后增加的趋势, 第60天贮藏期末时为 $4.1 \text{ lg cfu} \cdot \text{g}^{-1}$ 。牡蛎生鲜样品的初始菌相比较复杂, 分离到的菌株分别属于14个属(科), 其中假单胞菌(*Pseudomonas* spp.)和弧菌(Vibrionaceae)为优势菌, 比例分别为22%和20%。微冻贮藏过程中, 各个菌属的比例有不同程度的变化, 其中假单胞菌比例不断增加, 成为牡蛎微冻贮藏过程中的优势菌。

**关键词:** 太平洋牡蛎; -3℃微冻贮藏; 感官品质; 细菌菌相

中图分类号: S 983.30.21 文献标志码: A 文章编号: 1673-2227-(2010)01-0049-05

## Changes in quality and microbial flora of Pacific oyster during -3℃ storage

CAO Rong<sup>1</sup>, XUE Changhu<sup>2</sup>, LIU Qi<sup>1</sup>, YIN Bangzhong<sup>1</sup>

(1. *Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China*;  
2. *Department of Food Science and Technology, Ocean University of China, Qingdao 266003, China*)

**Abstract:** The changes in the sensory property, aerobic plate count (APC) and microbial flora of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) during storage at -3℃ were analyzed. The results showed that the sensory score decreased during storage, and got close to the sensory rejection point at 30<sup>th</sup> day. APC decreased slightly during the first 15 days, then increased afterwards, and the value was  $4.1 \text{ lg cfu} \cdot \text{g}^{-1}$  at 60<sup>th</sup> day. All the strains isolated from raw oysters were identified to belong to 14 genera (families), among which *Pseudomonas* spp. (22%) and Vibrionaceae (20%) were dominant. During -3℃ storage, there were different changes in the proportion of each genus, among which *Pseudomonas* was dominant and its proportion increased from 22% to 54% at the end of storage.

**Key words:** Pacific oyster; -3℃ partial freezing storage; sensory property; microbial flora

牡蛎, 又称蚝、海蛎子, 是一种经济和营养价值都很高的海产贝类, 有“海洋牛奶”的美称<sup>[1]</sup>。牡蛎是一种滤食性的海洋生物, 体内的细菌组成一般较为复杂<sup>[2]</sup>。在细菌和自身酶的作用下, 牡蛎很容易腐败变质, 这给长期贮运带来困难, 影响了商品的流通和销售。如何最大限度地在较长时期内保持牡蛎的商品价值和食用价值, 成为牡蛎贮藏加

工过程中急需解决的重要课题。

微冻保鲜是指将渔获物保藏在冻结点附近(-3℃左右)的一种轻度冷冻保鲜, 也称作过冷却或部分冻结<sup>[3]</sup>。日本于20世纪70年代就开始对一些淡水鱼类、海水鱼类以及部分水产加工制品进行微冻保鲜研究<sup>[4]</sup>。中国也对鲈鱼(*Lateolabrax japonicus*)<sup>[5]</sup>、石斑鱼(*Epinephelus akaara*)<sup>[6]</sup>、罗

非鱼 (*Oreochromis niloticus*)<sup>[7]</sup> 和鲫鱼 (*Carassius auratus*)<sup>[8]</sup> 等一些鱼类品种进行了部分微冻保鲜试验, 但关于牡蛎微冻保鲜的研究报道极少。

文章主要研究了太平洋牡蛎在  $-3^{\circ}\text{C}$  微冻贮藏过程中感官品质、细菌总数和细菌菌相的变化情况, 以期为牡蛎的微冻贮藏提供一定的理论参考和技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

太平洋牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 采集自青岛薛家岛牡蛎养殖场, 带壳平均质量为  $(40.3 \pm 5.0)\text{ g}$ 。

### 1.2 处理方法

牡蛎在冰藏条件下, 3 h 内运送至实验室, 用

自来水冲洗干净后立即进行生鲜样品感官评定、细菌总数和细菌菌相分析; 其余样品分装在样品袋中, 在  $(-3.0 \pm 0.5)^{\circ}\text{C}$  冰箱中贮藏, 分别在第 5、15、30 和 60 天时取样, 在无菌操作台上室温解冻, 然后进行各项指标的测定。

### 1.3 感官评定

由 6 名经过训练的评价人员, 按照表 1 分别对牡蛎样品的气味、色泽、粘液外观和组织 4 个方面进行评分, 然后将 4 项分值相加, 取 6 人评分结果的平均值, 总分值在 16 分 (极新鲜) 至 4 分 (完全腐败) 之间, 10 分为感官拒绝点 (即货架期终点)。

表 1 牡蛎感官品质评定表<sup>[9]</sup>  
Tab. 1 Guide to oyster freshness grades

指标 parameter	极新鲜 extremely fresh (4 分)	新鲜 fresh (3 分)	轻度腐败 lightly spoiled (2 分)	严重腐败 extremely spoiled (1 分)
气味 odor	干草香	强烈的海藻味	轻微的酸败味	讨厌的腐败臭
肉体色泽 body color	乳白色	白色	米黄或茶色	黄色或淡褐色
粘液外观 fluid	澄清、光亮	澄清、有点暗	澄清、色较暗	浑浊发暗
组织 texture	结实、弹性好	发软、弹性降低	微显糊状	糊状

### 1.4 细菌总数测定

牡蛎用洁净自来水洗净, 然后在无菌操作台上用灭菌刀具剥去外壳、取肉。牡蛎肉在无菌条件下匀浆, 称取 10 g 肉质匀浆, 加 90 mL 无菌生理盐水制成  $10^{-1}$  稀释液, 用 10 倍递增法按照需要依次制成  $10^{-2}$  和  $10^{-3}$  等稀释度的稀释液, 采用涂布法将 100  $\mu\text{L}$  各稀释度的稀释液涂布在营养琼脂 (用人工海水配制) 平板表面, 置于  $30^{\circ}\text{C}$  恒温培养箱中培养, 48 h 后计数。

### 1.5 细菌菌相分析

选取 1.4 中合适的计数平板, 尽量选取形成菌落数在 50 ~ 150 个之间的平板, 挑取平板表面 1/3 至 1/2 的菌落, 划线分纯后保存在试管斜面中, 以备鉴定。

按照 DORTHE 等<sup>[10]</sup> 提出的海产品细菌鉴定图示, 同时参考文献 [11] 和 [12], 对分离到的菌株进行鉴定。

## 2 结果与分析

### 2.1 感官评分变化情况

牡蛎在  $-3^{\circ}\text{C}$  微冻贮藏过程中感官评分的变化情况见图 1。生鲜牡蛎样品蛎体饱满, 乳白色, 体液澄清, 有牡蛎固有气味, 感官评分达到 15 分以上。随着贮藏时间的延长, 感官评分呈下降的趋势, 至第 30 天时已接近感官拒绝点。试验发现, 在气味、色泽、粘液外观和组织 4 个方面中, 色泽和组织的变化更为明显, 造成总的感官评分的降低; 而主要由微生物生长繁殖所造成的气味劣化和粘液混浊现象并不明显, 这与细菌总数增加缓慢的现象较为一致。

### 2.2 细菌总数变化情况

牡蛎在  $-3^{\circ}\text{C}$  微冻贮藏过程中细菌总数的变化情况见图 2。牡蛎在微冻贮藏过程中, 细菌总数呈先减少后增加的趋势, 至第 60 天时, 为  $4.1 \log$

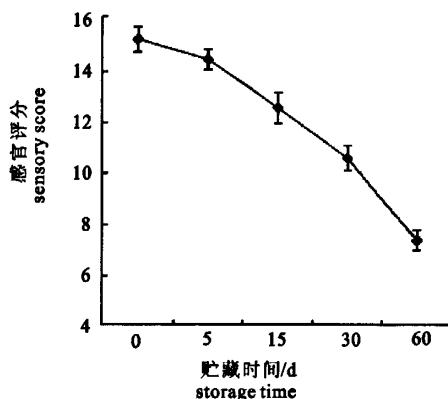


图1 牡蛎在微冻贮藏过程中感官评分的变化

Fig. 1 Changes in the sensory property of oysters during partial freezing storage

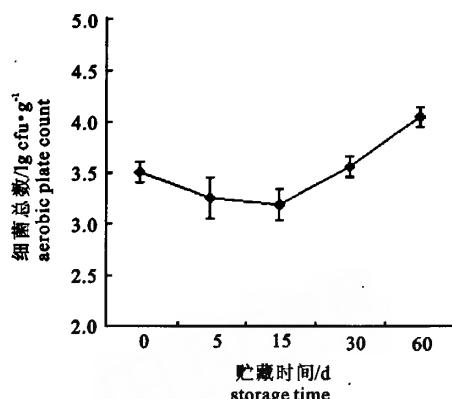


图2 牡蛎在微冻贮藏过程中细菌总数的变化

Fig. 2 Changes in the APC of oysters during partial freezing storage

$\text{cfu} \cdot \text{g}^{-1}$ ，仍然远低于  $10^7 \text{cfu} \cdot \text{g}^{-1}$  的可被食用的上限<sup>[13]</sup>。

关于微冻贮藏过程中细菌总数的变化存在几种现象: 1) 细菌总数一直增加, 如曾名勇等<sup>[8]</sup>发现鲫鱼在 30 d 的微冻期内细菌总数呈增长趋势, 在初期增长速度极其缓慢; 2) 细菌总数一直下降, 如 EHARA 和 FUJI<sup>[14]</sup>发现沙丁鱼 (*Sardinops melanosticta*) 在微冻贮藏过程中细菌总数呈一直下降的趋势; 3) 细菌总数先减少后增加, 如奥积昌世等<sup>[4]</sup>对竹筍鱼 (*Trachurus japonicus*) 的微冻研究就属于这一类型。不同水产品在微冻贮藏过程中, 细菌总数的变化情况是不同的, 这与水产品的初始菌相及初始菌相中各菌株在特定条件下不同的耐受性有关。一些低温耐受性差的菌株在贮藏过程中不生长甚至死亡, 引起细菌总数的减少, 而特定的低温菌仍然可以生长, 造成细菌总数的增加。

### 2.3 细菌菌相变化情况

牡蛎-3℃微冻贮藏过程中的细菌菌相变化情况见表2。其中0 d 时的菌相即为牡蛎的初始菌相。试验发现, 牡蛎的初始菌相较为复杂, 分离到的菌株经鉴定分别属于 14 个属 (科)。其中假单胞菌 (*Pseudomonas* spp.) 和弧菌 (*Vibrionaceae*) 的比例分别达到 22% 和 20%。这一结果与国外的研究结果<sup>[15-16]</sup>有所差异。水产品的菌相反映的是其生长环境的细菌组成, 并受多种因素的影响, 因此, 牡蛎的初始菌相会因生长水域、品种、饵料、渔获季节及方式等的不同而有所差异。

试验中未鉴定出的菌株少于 4%，这说明笔者

所采用的鉴定体系适用于牡蛎细菌菌相的分析。一般来说, 通过诸多生化试验或是通过分子生物学的方法, 可以将细菌分类鉴定到种 (species) 的水平。但是, 同时测定几十甚至上百数量的菌株, 是非常费时费力的。SHEWAN<sup>[17]</sup>认为, 细菌菌相分析过程中菌株的鉴定水平应根据试验目的而定, 如果是以改善食品贮藏为目的, 分析到属 (genus) 就已足够, 且在属的水平上, 传统的生化鉴定方法与 16S RNA 分子生物学方法的测定结果具有很高的致一致性<sup>[18]</sup>。

牡蛎在微冻贮藏过程中, 各个菌属的比例变化有很大差别, 其中弧菌、希瓦氏菌 (*Shewanella* spp.)、产碱杆菌 (*Alcaligenes* spp.)、肠杆菌 (*Enterobacteriaceae*) 和芽孢杆菌 (*Bacillus* spp.) 在微冻贮藏过程中比例迅速减少, 说明这几个属 (科) 的菌株对于-3℃的条件耐受性差, 特别是弧菌在初始菌相中比例较高, 在微冻贮藏过程中其数量的迅速减少是造成细菌总数下降的主要原因; 莫拉氏菌 (*Moraxella* spp.)、不动杆菌 (*Acinetobacter* spp.)、黄杆菌 (*Flavobacterium* spp.)、棒状杆菌 (*Corynebacterium* spp.)、葡萄球菌 (*Staphylococcus* spp.) 和微球菌 (*Micrococcus* spp.) 在贮藏过程中比例有小幅度的波动, 说明其具有一定的低温耐受性; 假单胞菌在贮藏过程中比例不断增加, 第 60 天时比例已经由最初的 22% 增加到 54%，成为牡蛎微冻贮藏过程中的优势菌。假单胞菌已被证实是多种温带水域海产品低温贮藏的特定腐败菌<sup>[19]</sup>，

表2 牡蛎-3℃微冻贮藏过程中细菌菌相变化情况

Tab. 2 Changes in the microflora of oysters during -3℃ partial freezing storage

细菌种类 bacteria group	比例/% proportion				
	0 d	微冻 5 d	微冻 15 d	微冻 30 d	微冻 60 d
假单胞菌 <i>Pseudomonas</i> spp.	22	40	44	48	54
弧菌 <i>Vibrionaceae</i>	20	2	-	-	-
希瓦氏菌 <i>Shewanella</i> spp.	5	-	-	-	-
产碱杆菌 <i>Alcaligenes</i> spp.	6	2	-	-	-
肠杆菌 <i>Enterobacteriaceae</i>	5	0	-	-	-
莫拉氏菌 <i>Moraxella</i> spp.	7	10	12	10	10
不动杆菌 <i>Acinetobacter</i> spp.	2	2	4	4	4
黄杆菌 <i>Flavobacterium</i> spp.	8	12	12	10	12
棒状杆菌 <i>Corynebacterium</i> spp.	3	4	4	6	4
葡萄球菌 <i>Staphylococcus</i> spp.	3	4	4	4	4
微球菌 <i>Micrococcus</i> spp.	7	8	8	6	4
乳酸菌 Lactic acid bacteria	6	12	10	10	4
芽孢杆菌 <i>Bacillus</i> spp.	2	-	-	-	-
无法识别的 unidentified	4	4	2	2	4

试验证实太平洋牡蛎在微冻贮藏过程中细菌菌相的变化同样符合这一规律。

### 3 结论

牡蛎在-3℃微冻贮藏过程中, 感官评分呈下降趋势, 由感官评分确立的货架期为30 d左右。微生物的生长缓慢, 细菌总数呈先降低后增加的趋势, 第60天时细菌总数仅为 $4.1 \text{ lg cfu} \cdot \text{g}^{-1}$ , 远低于 $10^7 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$ 的可被食用的界限水平。贮藏过程中一部分细菌死亡, 但特定的低温菌仍能存活并缓慢生长, 造成细菌菌相的变化。假单胞菌在贮藏过程中比例不断增加, 第60天时比例已经由最初的22%增加到54%, 成为牡蛎微冻贮藏过程中的优势菌。

### 参考文献:

- [1] 谭桂利. 牡蛎的化学成分和药用价值 [J]. 中国海洋药物, 1993, 12 (3): 26.
- [2] KUEH C S W, CHAN K Y. Bacteria in bivalve shellfish with special reference to the oyster [J]. J Appl Bacteriol, 1985, 59 (1): 41-47.
- [3] MAGNUSSON H, MARTINSDOTTIR E. Storage quality of fresh and frozen-thawed fish in ice [J]. Food Sci, 1995, 60 (2): 273-278.
- [4] 奥积昌世, 清水哲也, 松本明. Partial freezingによる贮藏海産魚の細菌アロラ [J]. 日本水产学会志, 1980, 46 (4): 451-454.
- [5] 曾名勇, 黄海. 鲈鱼在微冻保鲜过程中的质量变化 [J]. 中国水产科学, 2001, 8 (4): 67-69.
- [6] 陈申如, 洪冬英. 石斑鱼的低温盐水微冻保鲜的特点 [J]. 渔业现代化, 1996 (6): 21-24.
- [7] 沈月新. 罗非鱼的微冻保鲜 [J]. 水产学报, 1986, 10 (2): 177-183.
- [8] 曾名勇, 黄海, 李玉环, 等. 鲫鱼在微冻保鲜过程中的质量变化 [J]. 青岛海洋大学学报, 2001, 31 (3): 351-355.
- [9] CAO Rong, XUE Changhu, LIU Qi, et al. Microbiological, chemical and sensory assessment of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) stored at different temperatures [J]. Czech J Food Sci, 2009, 27 (2): 102-108.
- [10] DORTHE B R, YIN N, METTE H, et al. The microbial ecology of processing equipment in different fish industries - analysis of the microflora during processing and following cleaning and disinfection [J]. Int J Food Microbiol, 2003, 87 (3): 242-243.
- [11] HOLT J G, KRIEG N R, SNEATH P H A, et al. Bergey's manual of determinative bacteriology [M]. 9<sup>th</sup> Edition. Baltimore: Williams & Wilkins, 1993: 274-553.
- [12] 卢振祖. 细菌分类学 [M]. 武昌: 武汉大学出版社, 1994: 342-381.
- [13] YOUNG M K, HYUN D P, DONG S L. Shelf-life characteristics of

fresh oysters and ground beef as affected by bacteriocin-coated plastic packaging film [J]. *J Sci Food Agric*, 2002, 82 (9): 998 – 1002.

[14] EHIRA S, FUJI T. Changes in viable bacterial count of sardine during partially frozen storage [J]. *Bull Jap Soc Sci Fish*, 1990, 46 (11): 1419 – 1424.

[15] PUCHENKOVA S G. Sanitary-microbiological investigation of oysters and water from the North Caucasus region of the Black Sea [J]. *Gigiena i Sanitaria*, 1991, 3 (3): 22 – 24.

[16] ORTIGOSA M, GARAY E, PUJALTE M J. Numerical taxonomy of aerobic, Gram-negative bacteria associated with oysters and surrounding seawater of the Mediterranean coast [J]. *Syst Appl Microbiol*, 1994, 17 (4): 589 – 600.

[17] SHEWAN J M. The microbiology of fish and fishery products [J]. *J Appl Bacter*, 1971, 34 (2): 299 – 315.

[18] SPANGGAARD B, HUBER I, NIELSEN J. The microflora of rainbow trout intestine: a comparison of traditional and molecular identification [J]. *Aquac*, 2000, 182 (1): 1 – 15.

[19] GRAM L, HUSS H H. Fresh and processed fish and shellfish [M] //LURID B M, BAIRD-PARKER T C, GOULD G W. The microbiological safety and quality of food. Gaithersburg Maryland, USA: Aspen Publishers Inc, 2000: 472 – 506.