

文章编号: 1674-7054(2017)04-0404-05

臭氧—紫外线组合对净化近江牡蛎大肠菌群 及细菌总数的灭菌效果

林 清, 马庆涛, 李春晓, 陈楷亮, 许晓能

(汕头市海洋与水产研究所, 广东 汕头 515031)

摘 要: 为了降低近江牡蛎(*Crassostrea rivularis*)体内大肠菌群和细菌总数的数量, 增加食用牡蛎的安全性, 笔者先采用 0.4、0.8、1.2 mg·L⁻¹ 的臭氧浓度进行海水灭菌, 确定适宜的臭氧浓度后, 再进行臭氧—紫外线系统灭菌海水, 进行各净化处理条件试验, 探讨适宜的净化近江牡蛎的方法。结果表明, 臭氧浓度 0.8 mg·L⁻¹ 为适宜的臭氧浓度; 当在温度 25℃、盐度 8、贝水质量比 1:15、水交换频率 4 次·h⁻¹、净化 24 h 的条件下, 具有较优的净化效果。这说明臭氧—紫外线系统灭菌的海水, 可应用于净化贝类体内的大肠菌群。

关键词: 近江牡蛎(*Crassostrea rivularis*); 臭氧—紫外线系统; 净化; 大肠菌群; 细菌总数

中图分类号: S 968.31+6.9

文献标志码: A

DOI: 10.15886/j.cnki.rdsxb.2017.04.005

牡蛎是滤食性双壳贝类, 由于双壳贝类移动能力弱, 当生长的水环境不够洁净或者受到污染时, 将会滤食水中有害物质如致病菌及海洋毒素等, 这些有害物质会在贝类体内富集, 人们食用这些贝类会有中毒的风险^[1-7]。国外对贝类净化的研究较早, 英国 1914 年建设贝类净化工厂, 采用氯消毒海水, 后改用紫外线消毒; 日本最先采用紫外线消毒双壳贝类暂养海水, 目前紫外线灭菌海水技术主要来源于澳大利亚, 美国、西班牙、丹麦、马来西亚、新加坡、泰国、菲律宾和印尼主要采用此种灭菌方式, 法国主要采用臭氧灭菌海水净化双壳贝类^[8]。中国对贝类净化的研究较晚, 始于 1997 年, 直至 2001 年才建造贝类净化工厂^[9]。贝类净化, 即将滤食性双壳贝类置于洁净水体中使之进行滤食, 依靠自身净化能力或者人工灭菌手段使贝类排出体内致病微生物^[9-10]。人工灭菌方法主要有对养殖水体通过紫外线、臭氧、氯及氯化物等方法进行灭菌^[11-16], 近年来逐渐采用臭氧—紫外线组合系统的方法, 即先将水体进行臭氧灭菌, 再经紫外线灭菌, 联合发挥 2 种方法的优点。利用臭氧—紫外线组合灭菌方式, 王艳等^[17]、潘志忠等^[18]分别通过循环开放式对毛蚶(*Scapharca broughtonii*)、非循环开放式对靓巴非蛤(*Paphia schnellian*)进行净化, 效果明显。目前尚无采用臭氧—紫外线组合方法对近江牡蛎(*Crassostrea rivularis*)进行净化研究的报道, 因此, 笔者采用臭氧—紫外线组合方法, 通过循环开放式对近江牡蛎进行净化, 以细菌总数和大肠杆菌群为指标, 探讨各净化条件(水交换率、贝水质量比及温度)对近江牡蛎净化效果的影响, 旨在为近江牡蛎的净化提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料及仪器 近江牡蛎(*Crassostrea rivularis*)购于阳江, 壳长(13.7±3.1) cm, 壳宽(10.7±2.3) cm, 湿质量(120.8±10.6) g。在汕头市海洋与水产研究所对其进行清洗、暂养, 用作后续试验。在 300 L 聚乙烯水箱中暂养 48 h, 期间水温在 18.0℃, 盐度为 8, 保持连续充气, 不投饵料。紫外线灭菌器

收稿日期: 2017-06-27

修回日期: 2017-08-01

基金项目: 广东省海洋渔业科技与产业发展专项(A201502)

作者简介: 林清(1986-), 男, 硕士, 从事海洋贝类增养殖技术研究。E-mail: liushuichang2007@163.com

通信作者: 马庆涛, 男(1971-), 男, 高级工程师, 从事海洋生物养殖技术研究。E-mail: stmqt@21cn.com

(UVC25W) 购自定远市优威环保设备科技有限公司,其处理水流量为 $2.0\text{ t}\cdot\text{h}^{-1}$; 臭氧发生器(YT-015-10A) 购自广州佳环电器科技有限公司; 便携式臭氧比色计购自杭州陆恒生物科技有限公司,测量范围 $0\sim 2.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,快速测定水中臭氧浓度。

1.2 微生物指标的测定 细菌总数的测定参照 GB 4789.2-2010、大肠杆菌的测定参照 GB 4789.38-2012。

1.3 臭氧净化海水的制备 人工配制盐度为 8 的实验海水,利用臭氧发生器,使海水中臭氧浓度达到设定值后,立即将臭氧净化海水导入各个 300 L 聚乙烯水箱内开始试验。

1.4 净化方法

1.4.1 臭氧净化海水效果 用臭氧发生器向实验海水中充臭氧气体,当臭氧浓度分别达到 $0.4\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $0.8\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $1.2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时关闭臭氧发生器,分别取未充入臭氧气体的实验海水及臭氧浓度达到设定值并作用 1 h 后的实验海水,进行细菌总数检测。

1.4.2 臭氧—紫外线净化近江牡蛎 牡蛎放入水箱中,并注入臭氧净化海水,净化海水流经紫外线灭菌灯进行紫外线灭菌,然后流回水箱。实验过程中紫外线灭菌灯一直开启。控制净化处理条件(水交换率、贝水质量比及温度)进行净化,净化时间为 24 h,开启增氧机充氧。

1.5 试验设置 分别选取水交换率、贝水质量比及温度 3 个组 3 个水平设置试验,每 150 只牡蛎为 1 组,每组设 3 个平行。将近江牡蛎置于试验水箱中净化 24 h,每 6 h 取 3 个牡蛎测定微生物指标(表 1)。

表 1 近江牡蛎体内细菌总数及大肠杆菌群净化实验
Tab.1 Experiment for depuration of *Crassostrea rivularis*

实验因子 Experimental factors	因子处理水平 Treatments	其他实验因子中此因子条件 Level of the factor in the experiment
水交换率/(次·h ⁻¹) Sea water exchange rate/(time·h ⁻¹)	2 4 8	4
贝水质量比 Ratio of oysters to water	1: 15 1: 10 1: 5	1: 10
水温/℃ Seawater temperature	20 25 30	25

1.6 数据统计分析 试验数据采用 Excel 及 SPSS22 进行数据分析。样品平均数的差异显著性用 *F* 检验,以 $P<0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 海水净化前与净化后检测结果 海水净化前与净化后检测结果见表 2,在未净化前的暂养牡蛎的海水中检出细菌总数为 $4\,000.0\text{ cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。臭氧作用 1 h 后,臭氧浓度为 $0.8\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 及 $1.2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,分别具有 99.5%、99.6% 的灭菌效果,灭菌效果理想。

表 2 不同臭氧浓度对暂养海水细菌总数的处理效果

Tab. 2 Effects of different ozone concentrations on reducing of total colony counts in the sea water for temporarily rearing of oysters

臭氧浓度/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) Ozone concentration	细菌总数/($\text{cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$) Total colony count		灭菌率/% Sterilization rate
	处理前 Prior to treatment	处理后 Post treatment	
0.4	4 000.0	260.0	93.5 ^b
0.8	4 000.0	20.0	99.5 ^a
1.2	4 000.0	15.0	99.6 ^a

注: 上标字母不同表示差异显著($P<0.05$),下同
Note: Superscripts with different lowercase letters mean significant difference($P<0.05$), similarly here in after

2.2 臭氧-紫外线组合系统对近江牡蛎净化效果的影响 臭氧浓度分别为 0.8, 1.2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 对细菌总数的灭菌效果无显著差异, 试验组采用臭氧浓度为 0.8 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的臭氧灭菌海水进行试验。

2.2.1 水交换率对近江牡蛎的净化效果 水交换率对近江牡蛎的净化效果见表 3。表 3 表明, 随着时间增加, 各个试验组的细菌总数及大肠菌群值呈下降趋势。在净化 24 h 后, 水交换率为 4 次 $\cdot \text{h}^{-1}$ 的试验组对细菌总数灭菌率为 91.7%, 与 2 次 $\cdot \text{h}^{-1}$ 的试验组灭菌效果有显著差异 ($P < 0.05$), 且 4 次 $\cdot \text{h}^{-1}$ 的试验组的大肠杆菌群降至 3.0 $\text{MPN} \cdot \text{g}^{-1}$ 以下, 符合贝类净化规范 (SC/T3013-2002) 要求的大肠菌群 $\leq 3 \text{MPN} \cdot \text{g}^{-1}$ 。水交换率为 2 次 $\cdot \text{h}^{-1}$ 与 8 次 $\cdot \text{h}^{-1}$ 试验组对细菌总数灭菌效果无显著差异 ($P > 0.05$), 并且在净化 24 h 后, 这两组的大肠菌群数仍超过 3 $\text{MPN} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

表 3 水交换率对近江牡蛎细菌总数及大肠菌群的灭菌效果

Tab. 3 Effect of seawater exchange rate on the total colony count and the coliform group in *Crassostrea rivularis*

水交换率/ (次 $\cdot \text{h}^{-1}$) Seawater exchange rate / (time $\cdot \text{h}^{-1}$)	菌落总数 / ($\times 10^3 \text{cfu} \cdot \text{g}^{-1}$) Total colony count					大肠菌群 / ($\text{MPN} \cdot \text{g}^{-1}$) Coliform group				
	0	6 h	12 h	18 h	24 h	0	6 h	12 h	18 h	24 h
2	15.6	9.4	6.2	2.6	1.9 ^a	13.4	11.9	8.0	5.1	3.6
4	15.6	7.9	4.6	1.9	1.3 ^b	13.4	8.6	5.5	3.7	<3.0
8	15.6	8.2	5.8	2.2	1.6 ^{ab}	13.4	10.7	7.7	5.6	3.4

2.2.2 贝水质量比对近江牡蛎的净化效果 贝水质量比对近江牡蛎的净化效果见表 4。表 4 表明, 随着贝水质量比值降低及时间增加, 各个试验组的细菌总数及大肠菌群值呈下降趋势。在净化 24 h 后, 贝水质量比为 1:15 试验组对细菌总数灭菌率最高, 为 86.5%, 但与其他试验组灭菌效果没有显著差异 ($P > 0.05$)。经过 24 h 净化, 贝水质量比为 1:15 试验组的大肠菌群降至 3.0 $\text{MPN} \cdot \text{g}^{-1}$ 以下, 贝水质量比为 1:10 及 1:5 试验组的大肠菌群值仍超过 3.0 $\text{MPN} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

表 4 贝水质量比对近江牡蛎细菌总数及大肠菌群的灭菌效果

Tab. 4 Effect of ratio of oysters to seawater on the total colony count and the coliform group in *Crassostrea rivularis*

贝水质量比 Variable ratio of oysters to water	菌落总数 / ($\times 10^3 \text{cfu} \cdot \text{g}^{-1}$) Total colony count					大肠菌群 / ($\text{MPN} \cdot \text{g}^{-1}$) Coliform group				
	0	6 h	12 h	18 h	24 h	0	6 h	12 h	18 h	24 h
1: 15	15.6	10.3	7.5	3.8	2.1	13.4	9.9	6.9	4.8	<3.0
1: 10	15.6	10.9	8.2	4.2	2.7	13.4	10.0	7.6	5.3	3.3
1: 5	15.6	11.3	9.3	4.8	2.8	13.4	11.5	8.1	5.6	3.8

表 5 温度对近江牡蛎细菌总数及大肠菌群的灭菌效果

Tab. 5 Effect of temperature on the total colony count and the coliform group in *Crassostrea rivularis*

温度/ $^{\circ}\text{C}$ Temperature	菌落总数 Total colony count / ($\times 10^3 \text{cfu} \cdot \text{g}^{-1}$)					大肠菌群 Coliform group / ($\text{MPN} \cdot \text{g}^{-1}$)				
	0	6 h	12 h	18 h	24 h	0	6 h	12 h	18 h	24 h
20	15.6	11.3	8.5	5.6	3.1 ^a	13.4	8.8	6.8	5.1	3.3
25	15.6	10.8	7.3	5.2	2.7 ^b	13.4	8.8	7.5	4.8	<3.0
30	15.6	11.5	9.1	5.8	3.2 ^a	13.4	9.5	7.2	5.6	3.5

2.2.3 温度对近江牡蛎的净化效果 温度对近江牡蛎的净化效果见表5。由表5可见,随着时间增加,各个试验组的细菌总数及大肠菌群值呈下降趋势。在净化24 h后,菌落总数在25℃降至最低(2.7×10^3 cfu·g⁻¹)与20℃、30℃组有显著差异($P < 0.05$)。25℃组大肠菌群低于3 MPN·g⁻¹,20℃、30℃组均高于3 MPN·g⁻¹。25℃组对细菌总数及大肠菌群有较优的灭菌效果。

3 讨 论

臭氧是一种强氧化剂,能使微生物细胞膜的通透性增加从而导致细胞内物质流出,细胞失去活力而逐渐死亡^[19]。紫外线能造成致病菌的DNA和RNA不可逆的破坏^[10]。这两种方法常用于贝类净化,如夏远征等^[20]对虾夷扇贝(*Patinopecten yessoensis*)体内大肠菌群进行臭氧净化;费星等^[21]对近江牡蛎(*Crassostrea rivularis*)体内菌落总数及大肠菌群进行臭氧净化;慕翠敏等^[22]对太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)体内大肠杆菌进行紫外线净化;祁剑飞等^[23]对葡萄牙牡蛎(*Crassostrea angulata*)进行紫外线净化;蒋伟明等^[13]对近江牡蛎(*Crassostrea rivularis*)进行紫外线净化;王学娟等^[24]对波纹巴非蛤(*Paphia Undulata*)体内菌落总数及大肠菌群进行紫外线净化,以上研究结果均表明对双壳贝类的净化具有明显效果。但臭氧及紫外线灭菌都有一定的局限性,一定浓度的臭氧对海水具有良好的灭菌效果,浓度过低则灭菌效果不明显,而浓度过高会对贝类产生不良影响^[25-27];紫外线的杀菌效果受海水的浑浊度、颜色和可溶性铁盐直接影响^[10],联合这两种方法进行养殖水体的灭菌是一种趋势。王艳等^[17]通过紫外线、臭氧以及紫外线—臭氧组合方法对毛蚶进行粪大肠杆菌的灭菌试验,结果表明紫外线—臭氧组合方法的灭菌效率最高。曹朝清等^[25]对泥蚶进行超声波与臭氧的净化试验,泥蚶在0.1~0.3 mg·L⁻¹的臭氧灭菌水中经过3 h净化,细菌总数无显著下降。陈栋等^[26]的设置臭氧浓度为1.6 mg·L⁻¹的砂滤海水灭菌试验,臭氧作用1 h后,对细菌总数的灭菌率达到99.65%,但牡蛎暴露在此臭氧浓度中壳开口较小,对牡蛎的滤食产生负面影响,臭氧浓度较低的牡蛎壳则开口较大。乔庆林等^[27]研究结果表明,臭氧会与海水中的多种元素产生氧化反应生成氧化物,氧化物过多会对贝类产生毒性。该试验中,海水臭氧浓度为0.8、1.2 mg·L⁻¹作用1 h后,对海水中的细菌总数的灭菌率分别99.5%、99.6%,此灭菌率与陈栋等^[26]的试验结果类似,臭氧浓度为0.8、1.2 mg·L⁻¹对细菌总数的灭菌率无显著差异($P > 0.05$),故笔者以0.8 mg·L⁻¹作为本试验浓度。

贝类净化,即将滤食性双壳贝类置于洁净水体中使之进行滤食,依靠自身净化能力或者人工灭菌手段使贝类排出体内致病微生物^[4-5],因此,单位体积海水中微生物的含量减少,有利于贝类排出体内微生物。过高或过低的水交换率都不利于海水中微生物含量减少,水交换率较低,则对海水的灭菌效率较低,不利于净化池中微生物总的含量减少;水交换率过高,则不利于流经紫外线灭菌器中海水的有效灭菌^[9]。本试验中,经过24 h净化,水交换率为4次·h⁻¹组对细菌总数灭菌率为91.7%,与2次·h⁻¹实验组灭菌效果有显著差异($P < 0.05$),同时此组大肠杆菌群降至3.0 MPN·g⁻¹以下,表明水交换率为4次·h⁻¹对近江牡蛎的菌落总数及大肠菌群均有较优的灭菌效果。水交换率为4次·h⁻¹灭菌效果优于8次·h⁻¹组,但无显著差异($P > 0.05$),原因可能是水交换率过高,不利于流经紫外线灭菌器中海水的有效灭菌,影响牡蛎体内微生物的排出。贝水比较高,单位体积海水中微生物含量少,并有足够的空间使牡蛎张壳,利于排除体内微生物。在本试验中,经过24 h净化,贝水质量比1:15组对细菌总数灭菌率最高,为86.5%,大肠菌群低于3 MPN·g⁻¹,符合贝类净化规范。细菌总数及大肠菌群随时间和温度的变化呈下降趋势,原因可能是温度影响贝类的生理代谢及细胞酶活性^[28-31]。温度增加,贝类代谢活动及细胞酶活性增强,促进细菌排出体外,利于净化。但温度过高,贝类代谢活动及细胞酶活性减弱,且水中及贝类体内细菌大量繁殖,不利于净化。温度对近江牡蛎净化试验结果显示,25℃对细菌总数及大肠菌群的灭菌效果优于20℃及30℃,30℃灭菌效果略低于20℃,表明合适的温度有利于近江牡蛎的净化。

根据试验结果,臭氧—紫外线组合系统净化近江牡蛎的条件为臭氧浓度0.8 mg·L⁻¹、盐度8、水交换率4次·h⁻¹、贝水质量比为1:15、温度25℃、净化时间24 h。该结果与蒋伟明等^[13]及费星等^[21]近江牡蛎净化的实验结果有不同之处。蒋伟明等^[13]通过紫外灭菌方法,实验结果为盐度25、水交换率4次·h⁻¹、贝水质量比为1:4、温度30℃、净化时间36 h;费星等^[21]通过臭氧灭菌方法,臭氧浓度0.15 mg·L⁻¹、温度20℃、

净化海水流量 $1.68 \text{ t} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-3}$ 、贝水比 1: 10、净化时间 24 h。产生不同实验结果的原因可能是灭菌方法、牡蛎规格、牡蛎体内细菌数量、处理条件设置均有不同导致的。除了臭氧浓度、紫外线、水交换率、贝水质量比及温度、盐度及牡蛎规格对近江牡蛎的灭菌效果也可能产生影响, 这有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Love D C, Lovelace G L, Sobsey M D. Removal of *Escherichia Coli*, *Enterococcus fecalis*, coliphage Ms2, poliovirus, and hepatitis A virus from oysters (*Crassostrea virginica*) and hard shell clams (*Mercinaria mercinaria*) by depuration [J]. International Journal of Food Microbiology, 2010(143): 211 – 217.
- [2] Kay D, Kershaw S, Lee R et al. Results of field investigations into the impact of intermittent sewage discharges on the microbiological quality of wild mussels (*Mytilus edulis*) in a tidal estuary [J]. Water Res 2008 42(12): 3033 – 3046.
- [3] Correa A D, Albarnaz J D, Moresco V, et al. Depuration dynamics of oysters (*Crassostrea gigas*) artificially contaminated by *Salmonella enterica* serovar Typhimurium [J]. Marine Environmental Research, 2007, 63(5): 479 – 489.
- [4] Marino A, Lombardo L, Fiorentino C, et al. Uptake of *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* non-O1 and *Enterococcus durans* by and depuration of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) [J]. International Journal of Food Microbiology, 2005 (99): 281 – 286.
- [5] Croci L, Suffredini E, Cozzi L, et al. Effects of depuration of molluscs experimentally contaminated with *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* O1 and *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Journal of Applied Microbiology, 2002(92): 460 – 465.
- [6] Lees D. Viruses and bivalve shellfish [J]. International Journal of Food Microbiology, 2000(59): 81 – 116.
- [7] 葛长宇. 大型海藻在海水养殖系统中的生物净化作用 [J]. 渔业现代化, 2006(4): 11 – 13.
- [8] 乔庆林. 贝类养殖区分类与净化技术研究 [J]. 现代渔业信息, 2007 22(10): 11 – 14 26.
- [9] 杨华, 姜永江. 贝类净化现状及净化技术研究进展 [J]. 中国水产, 2004(5): 72 – 73.
- [10] 周剑君, 徐善良, 王丹丽. 双壳贝类的微生物污染途径及净化技术 [J]. 生物学通报, 2008, 43(6): 15 – 17.
- [11] 沈和定, 张饮江, 吴建中, 等. 双壳贝类的净化技术(二) [J]. 中国水产, 2001(12): 78 – 79.
- [12] 乔庆林, 蔡友琼, 徐捷, 等. 紫外线系统净化文蛤中大肠杆菌的研究 [J]. 海洋渔业, 2008, 30(4): 371 – 375.
- [13] 蒋伟明, 吴卫君, 潘志忠, 等. 紫外线系统净化近江牡蛎(*Crassostrea rivularis*) 中细菌的研究 [J]. 西南农业学报, 2011, 24(5): 1981 – 1986.
- [14] 陈坚, 柯爱英, 洪小括. 泥蚶与牡蛎净化工艺优化初探 [J]. 上海海洋大学学报, 2012 21(1): 132 – 138.
- [15] 许永安, 廖登远, 章超桦, 等. 菲律宾蛤仔净化技术研究 [J]. 渔业现代化, 2007 34(4): 9 – 12.
- [16] 陶晶, 杨瑞金, 张文斌, 等. 牡蛎净化工艺的研究 [J]. 食品科技, 2008 33(7): 108 – 112.
- [17] 王艳, 周培根, 徐文达, 等. 臭氧 – 紫外组合法净化贝类研究 [J]. 水产科学, 2004, 23(5): 31 – 33.
- [18] 潘志忠, 何为, 吴卫君, 等. 臭氧 – 紫外线组合系统净化靓巴非蛤(*Paphia schnellian*) 微生物的研究 [J]. 南方农业学报, 2011, 42(1): 94 – 97.
- [19] 张延青. 海水养殖贝类苗种循环水高效净化技术研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2007.
- [20] 夏远征, 辛丘岩, 李冬梅, 等. 虾夷扇贝中大肠杆菌的累积及净化技术研究 [J]. 食品与机械, 2010 26(3): 72 – 75.
- [21] 费星, 秦小明, 林华娟, 等. 臭氧净化对近江牡蛎的存活率和主要营养成分的影响 [J]. 食品工业科技, 2009(7): 91 – 93.
- [22] 慕翠敏, 孔令峰, 于红, 等. 太平洋牡蛎中大肠杆菌净化的实验研究 [J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2012(S1): 83 – 86.
- [23] 祁剑飞, 曾志南, 宁岳, 等. 葡萄牙牡蛎的净化及其低温贮藏研究 [J]. 渔业现代化, 2016 43(5): 36 – 41.
- [24] 王学娟, 秦小明, 林华娟, 等. 波纹巴非蛤净化关键技术研究 [J]. 食品科技, 2008 33(7): 101 – 104.
- [25] 曹朝清, 杨性民, 刘青梅, 等. 超声波技术在泥蚶净化中的应用 [J]. 中国水产, 2006(2): 68 – 72.
- [26] 陈栋, 陈慧燕, 吴跃进. 牡蛎净化方法及其效果研究 [J]. Chinese Journal of Disinfection, 2010, 27(5): 564 – 566.
- [27] 乔庆林, 蔡友琼, 徐捷, 等. 采用臭氧系统净化太平洋牡蛎中的大肠杆菌 [J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(5): 72 – 75.
- [28] 许友卿, 吴卫君, 蒋伟明, 等. 温度对贝类免疫系统的影响及其机理研究进展 [J]. 水产科学, 2012 31(3): 176 – 180.
- [29] 吴爱春, 张永普, 贾守菊, 等. 温度和 pH 对橄榄蚶消化酶活性的影响 [J]. 生物技术通报, 2008(S1): 397 – 400.
- [30] 孙业勇, 高如承, 温扬敏, 等. 温度对中国血蛤、双线血蛤肝脏中水解酶和抗氧化酶活性的影响 [J]. 水产科学, 2008 27(10): 543 – 544.
- [31] 董志国, 李家乐, 李晓英, 等. 温度、pH 和摄食作用对西施舌胃蛋白酶活力的影响 [J]. 上海水产大学学报, 2005, 14(4): 397 – 400.

(下转第 423 页)

Effects of Different Hormone Combinations on Callus Inducing of Shoot Explant from Bitter Leaf (*Vernonia amygdalina* Del)

HUANG Wei¹, LI Xiuqiong², LIU Jiao², WEI Qing², WU Jinshan²

(1. The Archives, Hainan University, Haikou, Hainan 570228;

2. Institute of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Danzhou, Hainan 571737, China)

Abstract: Young shoots of the stem of Bitter Leaf (*Vernonia amygdalina* Del) were used as explants and cultured in the 1/2 MS with supplements of combinations of three plant hormones, ie. NAA, 6-BA and 2 4-D, at different concentrations to screen the optimum hormone combinations for tissue culture. An orthogonal experimental design was arranged for the 3 plant hormones at 5 levels of concentration, and 25 optimal treatments were selected with 3 replicates each treatment for the experiment. The 1/2 MS with the combinations of the plant hormones was added with 50 g · L⁻¹ sucrose and 1.0 g · L⁻¹ Hyponex in each petri dish to induce calli from the explants. The results showed that in the combinations of NAA and 6-BA the callus inducing rate was the highest, upto 97.8%, in the medium supplemented with 2 mg · L⁻¹ NAA and 0.5 mg · L⁻¹ 6-BA, and that in the combinations of NAA and 2 4-D the callus inducing was the highest in the medium supplemented with 1.5 mg · L⁻¹ NAA and 1.0 mg · L⁻¹ 2 4-D. No calli were induced in the medium supplemented only with NAA.

Keywords: *Vernonia amygdalina* Del; stem explants; different hormones; callus; inducing rate

(上接第408页)

Effect of Combined Ozone-Ultraviolet on the Total Colony Count and the Coliform Group in *Crassostrea rivularis*

LIN Qing, MA Qingtao, LI Chunxiao, XU Xiaoneng

(Shantou Ocean and Fisheries Research Institute, Shantou 515041, China)

Abstract: An experiment was carried out to reduce the number of the coliform group and the total colony count in *Crassostrea rivularis* cultured in sea water to ensure food safety. Sea water used for culture of *C. rivularis* was disinfected with ozone at concentrations of 0.4, 0.8 and 1.2 mg · L⁻¹ to select an appropriate ozone concentration for a combined ozone-ultraviolet system used for depuration of the seawater. The seawater was disinfected under the combined ozone-ultraviolet system for 24hrs at different temperatures, seawater exchange rate, and ratio of shellfish to water, and used to rear *C. rivularis* to find out a seawater depuration method for *C. rivularis*. The results indicated that the sea water when depurated for 24 hrs with ozone at a concentration of 0.8 mg · L⁻¹, a temperature at 25 °C, a ratio of shellfish to water at 1:15, salinity at 8 and an water exchange rate at 4 times/h, had a better depuration rate against the coliform group of bacteria in *Crassostrea rivularis*. This indicates that the combined ozone-ultraviolet system is effective to disinfect the coliform group in *Crassostrea rivularis*.

Keywords: *Crassostrea rivularis*; ozone-ultraviolet system; depuration; coliform group; total colony count