

文章编号: 1004 - 7271(2006)02 - 0216 - 06

冷藏养殖大黄鱼品质变化特征及细菌相分析

郭全友^{1,2}, 许 钟¹, 杨宪时¹

(1. 中国水产科学研究院东海水产研究所农业部海洋与河口渔业重点开放实验室, 上海 200090;
2. 上海水产大学食品学院, 上海 200090)

摘要:对养殖大黄鱼 5 ℃ 冷藏过程中品质变化特征及新鲜鱼、货架期终点时细菌相进行了定性和定量分析, 用 Gompertz 方程定量描述了冷藏大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea*) 细菌生长情况。新鲜大黄鱼菌落总数 (TVC) 为 $(5.52 \pm 0.41) \log_{10} \text{cfu/g}$, 挥发性盐基氮 (TVBN) 为 $(10.65 \pm 0.41) \text{mg}/100\text{g}$, 细菌相比较复杂, 革兰氏阴性菌占 84.3%, 主要包括气单胞菌属 (*Aeromonas* spp.) 7.1%, 不动杆菌属 (*Acinetobacter* spp.) 15.7%, 弗氏柠檬酸杆菌 (*Citrobacter freundii*) 10.0%, 假单胞菌属 (*Pseudomonas* spp.) 12.9%, 嗜麦芽窄食单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*) 18.6%, 革兰氏阳性菌玫瑰小球菌 (*Micrococcus rose*) 7.1%。货架期终点 216 ~ 264 h 时, 菌落总数为 $(7.63 \pm 0.28) \log_{10} \text{cfu/g}$, 挥发性盐基氮为 $(30.35 \pm 0.95) \text{mg}/100\text{g}$ 。冷藏过程中细菌相发生很大变化, 腐败希瓦氏菌 (*Shewanella putrefaciens*) 增殖比其他细菌快, 货架期终点比例为 86.0%。

关键词:养殖大黄鱼; 菌落总数; 细菌相; 腐败希瓦氏菌

中图分类号: S 984.1 文献标识码: A

Research on quality change characteristics and bacteria flora of chilling cultured *Pseudosciaena crocea*

GUO Quan-you^{1,2}, XU Zhong¹, YANG Xian-shi¹

(1. East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Key and Open Laboratory of Marine Estuarine Fisheries, Ministry of Agriculture, Shanghai 200090, China;
2. Food Science College of Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

Abstract: Quality change characteristics on cultured *Pseudosciaena crocea* during storage at 5 ℃ and bacterial flora on fresh fish and fish at the end of shelf life were qualitatively and quantitatively investigated, growth of bacteria was quantitatively described using Gompertz equation. The total viable count (TVC) and total volatile basic nitrogen (TVBN) of fresh fish reached $(5.522 \pm 0.412) \log_{10} \text{cfu/g}$, and $(10.65 \pm 0.410) \text{mg}/100\text{g}$ respectively, the bacterial flora were much complex, the percentage of gram negative bacteria reached 84.3%, mainly including *Aeromonas* spp. (7.1%), *Acinetobacter* spp. (15.7%), *Citrobacter freundii* (10.0%), *Pseudomonas* spp. (12.9%), *Stenotrophomonas maltophilia* (18.6%), and the gram positive bacteria of *Micrococcus rose* reached 7.1%. TVC and TVBN were $(7.63 \pm 0.28) \log_{10} \text{cfu/g}$, and $(30.35 \pm 0.948) \text{mg}/100\text{g}$ at the end of shelf life 216 - 264 h. The composition of bacteria flora changed quite dramatically, the growth of *Shewanella putrefaciens* was faster than other bacteria during chilling storage, and the percentage of *Shewanella putrefaciens* reached 86.0%

收稿日期: 2005-06-23

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, 河南遂平人, 硕士研究生, 专业方向为水产品微生物安全。

通讯作者: 杨宪时, Tel: 021 - 65678984, E-mail: yangxianshi@21cn.com

at the end of shelf life.

Key words: cultured *Pseudosciaena crocea*; total viable count; bacteria flora; *Shewanella putrefaciens*

微生物活动是引起大多数水产品腐败变质的主要原因,十九世纪中期开始国外对捕获、流通、贮藏过程中鱼类细菌学进行了大量研究^[1-4]。大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)是我国六大优势养殖水产品之一,产区主要集中在福建闽东,年产量在 $(3\sim 4)\times 10^4$ t,约占全国总产量的70%,国内对其保鲜技术和品质变化进行了研究^[5,6],未见冷藏过程中细菌相变化分析的报道。本研究养殖大黄鱼2004年9月取自福建闽东三都湾养殖区(26°35'~26°55'N),海水温度变化幅度为27.2~28.6℃,对5℃冷藏过程大黄鱼鲜度品质和新鲜鱼、货架期终点时细菌相进行了定性和定量研究,为优化大黄鱼冷却链技术参数和品质控制提供依据。

1 材料与amp;方法

1.1 样品与贮藏实验

大黄鱼在福建省闽东三都湾养殖场捕获,立即放入冰水中冷休克。选用大小基本一致的个体(300~400 g/尾),加冰保持温度在0~1℃,1~2 d运达上海实验室。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,控制贮藏温度在 (5 ± 0.1) ℃。每隔适当时间取出试样鱼进行感官鲜度评价、挥发性盐基氮(TVBN)、菌落总数(TVC)测定。

1.2 样品处理

随机抽取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),用组织捣碎机打碎,用于TVBN和TVC测定;其余半条鱼蒸熟后用于感官评价。

1.3 感官鲜度评价

由6名经过训练的评价员组成感官评价小组,评价生鱼的气味和蒸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为高品质期,2为明显出现臭味和异味即可接受界限。当半数或以上评价员评价2或以上时,即为货架期终点(感官拒绝点)。

蒸熟时将带头的半条鱼分别用铝箔包好,待锅中水沸腾后,放入锅内的金属篦子上,盖上锅盖蒸20 min,打开锅盖后立即进行感官评价。

1.4 微生物计数和培养基

称取鱼肉浆10.0 g,加入90 mL 0.1%蛋白胨无菌生理盐水,高速振荡后,以10倍稀释将鱼肉浆稀释,取3个浓度合适的稀释液0.1 mL,涂布于营养琼脂培养基(中国科学院上海昆虫科技开发公司康乐培养基有限公司)平板表面。每个稀释液涂布2个平皿,25℃培养48 h。

1.5 TVBN测定

称取打碎鱼肉10.00 g于锥形瓶中,加入20 mL水、20 mL 10%三氯醋酸,用玻璃棒搅匀,振摇,浸渍30 min后过滤,滤液按半微量定氮法进行测定,每个样品至少做2个平行。

1.6 微生物生长曲线拟合

5℃贮藏大黄鱼实验得到的微生物增殖动态数据,采用修正的Gompertz方程^[7]描述其生长动态。修正Gompertz方程如下:

$$\lg N(t) = \lg N_0 + \frac{N_{\max}}{N_0} \times \exp \left\{ - \exp \left[\frac{\mu_{\max} \times 2.718}{\lg(N_{\max}/N_0)} \times (Lag - t) + 1 \right] \right\}$$

式中, t 为时间(h), $N(t)$ 为 t 时的菌数, N_{\max} 、 N_0 为最大和初始菌数(cfu/g), μ_{\max} 为微生物生长的最大比生长速率(/h), Lag 为微生物生长的延滞时间(h)。

实验数据用 Statistica (Release 5.5) 统计软件 (StsatSoft, Inc.) 采用最小平方差法进行非线性回归。

1.7 细菌鉴定

挑选新鲜鱼及货架期终点时菌数合适(30~100个菌落)的计数平板,依据菌落形态、显微镜镜下形态、革兰氏染色等特征分组,接种到肉汤或在琼脂培养基平板上划线、分离、纯化,25℃培养24~48h;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、生理生化等特征进行鉴定;生理生化等特征采用传统方法与英国微生物鉴定分析仪相结合进行测定。

2 结果

2.1 大黄鱼品质变化

新鲜大黄鱼 TVC、TVBN 分别为 $(5.52 \pm 0.41) \log_{10} \text{cfu/g}$ 、 $(10.36 \pm 0.75) \text{mg}/100\text{g}$ 。5℃贮藏大黄鱼感官终点(216~264h)时,TVC、TVBN 分别为 $(7.63 \pm 0.28) \log_{10} \text{cfu/g}$ 、 $(30.35 \pm 0.95) \text{mg}/100\text{g}$ (表1)。TVC 及 TVBN 变化曲线见图1、图2,生长动力学参数见表1。

表1 大黄鱼5℃贮藏微生物品质及生长动力学参数

Tab.1 Microbial quality and growth kinetic parameters of *Pseudosciaena crocea* stored aerobically at 5℃

N_0 ($\log_{10} \text{cfu/g}$)	N_{\max} ($\log_{10} \text{cfu/g}$)	μ_{\max} (/h)	Lag (h)	新鲜时		货架期终点	
				TVC ($\log_{10} \text{cfu/g}$)	TVBN ($\text{mg}/100\text{g}$)	TVC ($\log_{10} \text{cfu/g}$)	TVBN ($\text{mg}/100\text{g}$)
5.47 ± 0.17^a	7.27 ± 0.16	0.013 ± 0.005	39.1 ± 10.4	5.52 ± 0.41	10.36 ± 0.75	7.63 ± 0.28	30.35 ± 0.95

注:a为平均值±标准偏差

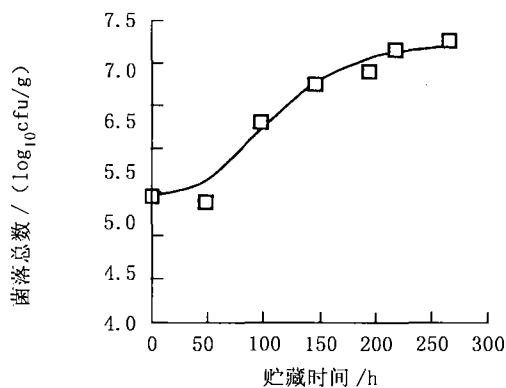


图1 大黄鱼5℃贮藏菌落总数增殖曲线
Fig.1 Growth curve of TVC on *Pseudosciaena crocea* stored aerobically at 5℃

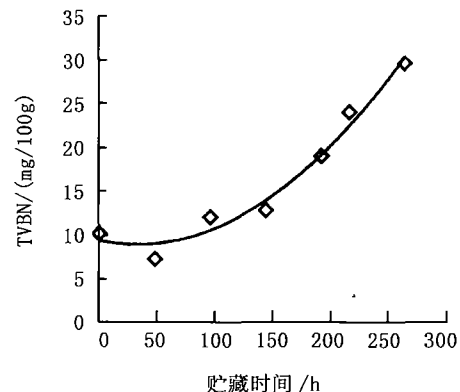


图2 大黄鱼5℃贮藏TVBN的变化
Fig.2 TVBN change of *Pseudosciaena crocea* stored aerobically at 5℃

贮藏初期细菌增殖缓慢,菌落总数变化不大,延滞时间为 $(39.1 \pm 10.4) \text{h}$ 。冷藏过程中鱼体温度逐渐降低,非好冷菌不耐低温生长受到限制。延滞期结束,好冷菌增殖速度加快,进入对数期, μ_{\max} 为 $(0.013 \pm 0.005)/\text{h}$,见表1。

2.2 新鲜和货架期终点大黄鱼细菌相组成

对分离获得的156株细菌进行分组与鉴定,共分为10组,另有14株未鉴定。第7组呈革兰氏阳性,其余各组呈革兰氏阴性;显微镜油镜观察发现第2、4组呈球杆状,第7组呈球状,其他各组均呈杆状;第1、3、5、6、8~10组具有运动性;生理生化、营养特征鉴定结果见表2。5℃贮藏养殖大黄鱼新鲜、货架期终点细菌相见表3。新鲜大黄鱼菌落总数高,细菌相复杂,革兰氏阴性菌占84.3%,革兰氏阳性菌占7.1%。新鲜鱼中优势菌是非发酵革兰氏阴性杆菌嗜麦芽窄食单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*),比例为18.6%。不动杆菌属(*Acinetobacter* spp.)和摩氏杆菌属(*Moraxella* spp.)与革兰氏阳性菌近似,呈

球状杆菌,通常被认为是非腐败菌,比例分别为 15.7%和 11.4%。阴沟肠杆菌(*Enterobacter cloacae*)和弗氏柠檬酸杆菌(*Citrobacter freundii*)属肠杆菌科(Enterobacteriaceae),在干净未污染海域鱼类中应该检出率低,但在新鲜大黄鱼中比例分别为 4.3%和 10.0%,表明大黄鱼养殖场距生活区域和动物活动区域较近,受海水非原有细菌污染较大。假单胞菌属(*Pseudomonas* spp.)是海产鱼类常见细菌占 12.9%,气单胞菌属(*Aeromonas* spp.)弧菌科(Vibrionaceae),非好盐性,低温可以生长,能还原 TMAO 和产生腐败气味,比例为 7.1%。

表 2 分离细菌形态学、生理生化及营养特征鉴定结果

Tab.2 Results for morphologic, biochemical and nutritional characters of isolated strains

鉴定项目	组别									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
革兰氏染色	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
形态	杆菌	球杆	杆菌	球杆	杆菌	杆菌	球菌	杆菌	杆菌	杆菌
运动性	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+
鞭毛	极毛	-	极毛	-	周毛	极毛	-	极毛	周毛	极毛
氧化酶	+	+	+	-	-	+	ND	+	-	+
7AMC+ 赖氨酸	+	+	-	-	-	+	ND	+	-	-
木糖	-	-	+	-	-	-	ND	-	+	-
4MU+ 磷酸盐	+	-	-	-	+	+	ND	+	+	+
麦芽糖	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
7AMC+ 脯氨酸	-	-	-	+	-	-	ND	+	-	+
阿拉伯糖	-	-	-	-	-	+	ND	-	+	-
7AMC+ 谷氨酸盐	-	-	+	-	+	+	ND	+	+	+
丙二酸盐	-	-	+	-	-	-	ND	-	-	-
尿素	-	-	-	-	-	-	ND	-	-	-
FR12	+	-	-	-	+	+	ND	+	+	+
海藻糖	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
4MU- α -D-吡喃葡萄糖	-	-	-	-	-	-	ND	-	-	-
果糖	-	-	-	-	-	+	ND	-	+	-
赖氨酸	+	-	+	-	+	+	ND	-	-	-
精氨酸	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-
丙酮氨酸	+	-	+	-	-	+	ND	-	+	-
鸟氨酸	+	-	-	-	-	-	ND	-	-	-
蔗糖	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-
4MU-双磷酸盐	-	-	-	+	-	+	ND	+	-	+
肌醇	-	-	-	-	-	-	ND	-	-	-
七叶苷	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
色氨酸	-	-	-	-	-	-	ND	-	+	-
4MU- α -D-吡喃半乳糖	-	-	-	-	+	-	ND	-	+	-
柠檬酸盐	-	-	+	-	-	-	ND	-	+	-
山梨醇	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4MU-葡萄糖醛酸化物	-	-	-	-	-	-	ND	-	+	-
甘露醇	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
4MU- β -D 吡喃半乳糖	-	-	-	+	-	+	ND	-	+	-
阿拉伯醇	-	-	-	-	-	-	ND	-	-	-
棉子醇	-	-	-	-	-	-	ND	-	+	-
纤维二糖	-	-	-	-	-	-	ND	-	-	-
胍丁胺	+	-	+	+	+	+	ND	+	+	-
H-丙氨酸 7AMC	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND
H-鸟氨酸 7AMC	ND	DN	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND
H-胱氨酸 7AMC	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND
H-苏氨酸 7AMC	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND
H-甲氨酸 7AMC	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND
H-缬氨酸 7AMC	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND
瓜氨酸 7AMC	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND
吡咯烷酮焦谷氨	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND
H-酪氨酸 7AMC	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND
H-白氨酸 7AMC	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND

注: FR12:4MU-2-乙酰氨基-乙去氧吡喃葡萄糖 + 4MU- α -L-阿拉伯吡喃葡萄糖苷; 4MU: 4-甲基-伞形酮; 7AMC: 7-甲基-香豆素酰胺; ND: 未检测

冷藏过程细菌相发生了很大变化,腐败希瓦氏菌(*Shewanella putrefaciens*)即原来属于假单胞菌属非好盐性Ⅲ/Ⅳ群(*Pseudomonas* Ⅲ/Ⅳ - NH)的腐败假单胞菌(*Pseudomonas putrefaciens*),后来根据GC%转归交替单胞菌属(*Alteromonas* spp.),但依据5SRNA又重新归为一个新属希瓦氏菌属(*Shewanella* spp.)^[10],在新鲜大黄鱼中检出比例为5.7%,低温下比其他细菌生长速度快,感官终点比例上升到86.0%。另外出现了少量的缺陷短波单胞菌(*Brevendimonas diminuta*),比例为4.7%。

表3 新鲜和货架期终点大黄鱼细菌相组成

Tab.3 Composition of bacteria flora on fresh *Pseudosciaena crocea* and on *Pseudosciaena crocea* at the end of shelf life

组别	细菌相	新鲜		货架期终点	
		菌株	比例(%)	菌株	比例(%)
1	嗜麦芽窄食单胞菌	13	18.6	0	0
2	不动细菌属	11	15.7	0	0
3	假单胞菌属	9	12.9	0	0
4	摩氏杆菌属	8	11.4	0	0
5	弗氏柠檬酸杆菌	7	10	0	0
6	气单胞菌属	5	7.1	0	0
7	玫瑰微球菌	5	7.1	0	0
8	腐败希瓦氏菌	3	5.7	74	86
9	阴沟肠杆菌	3	4.3	0	0
10	缺陷短波单胞菌	0	0	4	4.7
	未鉴定	6	8.6	8	9.3
合计		70	100	86	100

3 讨论

Gram等^[11]指出捕获于温带海域的鱼死后细菌增殖几乎立即进入对数生长期,而热带海域鱼类在冰藏条件下,延滞时间为1~2w,然后进入对数生长期。捕获于温带地中海海域的金头鲷(*Sparus aurata*)和地中海养殖锯鳍(*Dichentrachus labrax*)5℃贮藏货架期分别为98~152h和104h;捕获自日本海域的鲷5℃贮藏货架期为120h,延滞期几乎为零^[1,12,13]。5℃贮藏养殖大黄鱼捕获于暖水海域,货架期为216~264h,比来自地中海和日本海等温带海域鱼货架期长,主要原因之一是暖带海域水温高于温带海域,中温菌数量多,低温贮藏时许多细菌不能生长,甚至好冷菌生长也比较缓慢,延滞期较长。另一方面,延滞期结束,好冷菌增殖速度达到高峰,细菌数呈几何级数增加,进入对数期,同时增殖速度受温度、鱼种等因素影响而存在差异,对货架期也有影响。本研究结果与Curran等^[14]认为暖带水域鱼类低温贮藏货架期比温带水域鱼类货架期长相一致。

鱼和贝类是冷血型动物,初始细菌相组成与鱼类生活及捕获环境、季节、捕获方法和处理有关,在流通、加工、贮藏过程中的变化受多种因子制约,温度是主要影响因子之一。暖、温水域鱼根据微生物生长温度范围被分为嗜冷菌或好冷菌,前者最大生长温度为20℃,最适温度15℃,好冷菌0℃可以生长,最适温度25℃^[15]。干净未污染的温带水域中革兰氏阴性嗜冷菌占优势,主要包括假单胞菌属,腐败希瓦氏菌,不动细菌属,摩氏杆菌属,但气单胞菌属,弧菌属(*Vibrio* spp.)也是常见水生菌和鱼类典型菌。例如日本海小坪港捕获的海产鱼初始细菌相革兰氏阴性菌假单胞菌属Ⅲ/Ⅳ-H(36.2%),弧菌属占17.6%,地中海沙丁鱼初始菌以假单胞菌属,嗜冷杆菌属(*Psychrobacter* spp.),不动杆菌属等革兰氏阴性菌为主^[1,16]。热、暖水域鱼中温菌被分离的比例高,例如澳大利亚昆士兰(Queensland)海域鱼初始细菌相以革兰氏阳性菌微球菌属(*Micrococcus* spp.)占主导(49%),在热带水域鱼中微球菌、杆状菌(*Bacillus* spp.)占优,但有人研究表明与温带水域鱼细菌相相似^[17,18]。捕获于福建闽东三都湾的新鲜大黄鱼细菌相与温、暖水域鱼相比较弗氏柠檬酸杆菌(10%),阴沟肠杆菌(4.3%)占有相当比例,此差异性与养殖水域受到污染及近海岸相关,受海水非原有菌污染较大。

鱼类主要腐败菌根据鱼种、海域、贮藏条件差异而不同,低温冷藏过程好冷菌生长增殖速度比其他种类细菌快,产生感官不能接受的代谢产物而导致鱼品腐败,部分微生物参与腐败过程并最终占优势地位。上世纪九十年代中期 Dalgaard 明确提出了特定腐败菌(specific spoilage organism)的概念^[19],国外对海产食品的特定腐败菌进行了广泛研究,认为有氧冰藏温带水域鱼类中腐败希瓦氏菌为特定腐败菌,热带海域鱼中假单胞菌属和(或)腐败希瓦氏菌为优势腐败菌^[16,20]。一些作者认为温带海水鱼-1.4~15℃贮藏,腐败希瓦氏菌是优势腐败菌^[11,16,21]。本研究养殖大黄鱼捕获于东海暖水海域,5℃有氧冷藏货架期终点腐败希瓦氏菌比例为86.0%,被确认为优势腐败菌。

感谢福建宁德海洋与环境检测站刘家富研究员,闽东水产研究所刘振勇副研究员,林小金助理研究员在实验中给予的帮助和协作;感谢上海水产大学沈月新教授,张庆华老师对本文提出有益的修改意见。

参考文献:

- [1] 奥积昌世. 鮮魚のチルド・フローズン貯蔵における細菌相の變化[J]. 冷凍, 1986, 61(1): 120-130.
- [2] Gillespie N C, Macrae I C. The bacterial flora of some Queensland fish and its ability to cause spoilage[J]. J Appl Bacteriol, 1975, 39: 91-100.
- [3] Gram L, Wedell-Neergaard, Huss H H. The bacteria of fresh and spoilage Lake Victorian Nile perch (*Lates niloticus*)[J]. Int J Food Microbiol, 1990, 10: 303-316.
- [4] Surette M E, Gill T A, Leblanc P J. Biochemical basis of post-mortem nucleotide catabolism in cod (*Gadus morhua*) and its relationship to spoilage[J]. J Agric Food Chem, 1988, 6: 19-22.
- [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] Zwietering M H, Jongenburger I, Rombouts F M, et al. Modeling of the bacterial growth curve[J]. Appl Environ Microbiol, 1990, 56: 1875-1881.
- [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] MacDonnell M T, Colwell R R. Phylogeny of the vibronaceae and recommendation for two new genera, *Listonella* and *Shewanella*[J]. Syst Appl Microbiol, 1985, 6: 171-182.
- [11] Gram L, Trolle G, Huss H H. Detection of specific spoilage bacteria from fish stored at low (0℃) and high (20℃) temperatures[J]. Int J Food Microbiol, 1987, 4: 65-72.
- [12] Koutsoumanis K. Predictive modeling of the shelf life of fish under nonisothermal conditions[J]. Appl Environ Microbiol, 2001, 67(4): 1821-1829.
- [13] Koutsoumanis K, Giannakourou M C, Taoukis P S, et al. Application of shelf life decision system (SLDS) to marine cultured fish quality[J]. Int J Food Microbiol, 2002, 73: 375-382.
- [14] Curran C A, Poulter R G, Brueton A, et al. Effect of handling treatment on fillet yields and quality of tropical fish[J]. J Food Technol, 1986, 21: 301-307.
- [15] Morita R Y. Psychrophilic bacteria[J]. Bacteriol Rev, 1975, 9: 144-167.
- [16] El Marrakchi A, Bouchriti N, Hamama A, et al. Sensory, chemical and microbiological assessment of Moroccan sardin (*Sardina pilchadus*) stored in ice[J]. J Food Prot, 1990, 53: 600-605.
- [17] Surendran P K, Joseph J, Shenoy A V, et al. Studies on spoilage of commercially important tropical fishes under icced storage[J]. Fish Res, 1989, 7: 1-9.
- [18] Acuff G, Izat A L, Finne G. Microbial flora on pond-reared tilapia (*Tilapia aurea*) held on ice[J]. J Food Prot, 1984, 47: 778-780.
- [19] Dalgaard P. Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish[J]. Int J Food Microbiol, 1995, 26: 319-333.
- [20] Gram L, Huss H H. Microbiological spoilage of fish and fish products[J]. Int J Food Microbiology, 1996, 33: 121-137.
- [21] Jorgensen B R, Huss H H. Growth and activity of *Shewanella putrefaciens* isolated from spoiling fish[J]. Int J Food Microbiol, 1989, 9: 51-62.