真空包装冷藏大菱鲆鱼片的货架期及其优势腐败菌群体感应检测

张彩丽，朱素芹，孙秀娇，潘玉荣，曾名湧
（中国海洋大学食品科学与工程学院，山东青岛 266000）

摘要：本研究以真空包装冷藏大菱鲆鱼片为研究对象，通过感官、微生物和化学指标评价其货架期，利用 16SrDNA 方法对其贮藏初期和末期的微生物分布进行鉴定，并采用报告菌株法检测大菱鲆鱼片贮藏过程中两种类型群体感应信号分子（AHLs 和 AI-2）的产生情况，检测其优势腐败菌的群体感应类型。结果显示，大菱鲆鱼片在真空包装冷藏环境下可以贮藏 9 d，此时细菌总数达 6.87 log CFU/g，挥发性盐基氮含量为 28.70 mg/100 g。对比初始和末期微生物种类变化，真空包装大菱鲆鱼片冷藏过程中的优势腐败菌主要为希瓦氏菌，其次为肠杆菌科细菌。群体感应信号分子 AHLs 和 AI-2 含量随贮藏时间延长而增加。贮藏末期分离的希瓦氏菌均能分泌 AI-2 信号分子，分泌能力因菌株而异。利用基因手段可从希瓦氏菌中扩增到 AI-2 的分泌基因 *luxS*，表明 *luxS* 在产 AI-2 菌株中具有一定保守性，可能参与希瓦氏菌的腐败进程。

关键词：大菱鲆；优势腐败菌；群体感应；希瓦氏菌

文章篇号：1673-9078(2016)8-265-270 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.8.040

Shelf-life of Vacuum-packaged Refrigerated Turbot Fillets and the Quorum Sensing Profile of Dominant Spoilage Bacteria

ZHANG Cai-li, ZHU Su-qin, SUN Xiu-jiao, PAN Yu-rong, ZENG Ming-yong
(College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266000, China)

Abstract: Vacuum-packaged refrigerated turbot fillets were used as the study object, and their shelf-life was determined by sensory evaluation, microbiological and chemical indicators, and the distributions of microflora at the beginning and end of the storage period using a 16S rDNA method. Moreover, two types of quorum sensing signaling molecules (N-acyl homoserine lactones (AHLs) and autoinducer-2 (AI-2)) during the storage of turbot fillets were also detected using reporter strains, and the quorum sensing characteristics of dominant spoilage bacteria were examined. The refrigerated turbot fillets packaged under vacuum conditions could be stored for nine days, and the total viable counts and the total volatile basic nitrogen (TVB-N) value reached 6.87 log(CFU/g) and 28.70 mg/100 g, respectively. The changes in the microbial species over the storage period were examined, and the predominant spoilage bacterium was *Shewanella* spp., followed by *Enterobacteriaceae*. The content of quorum sensing signaling molecules (AHLs and AI-2) increased with increasing storage time. All the isolated *Shewanella* spp. strains were capable of secreting AI-2, while the secretion capacity varied by strains. The *luxS* gene responsible for AI-2 production was also present, indicating that *luxS* was relatively conserved in AI-2-producing bacterial strains and AI-2 production may be involved in the spoilage process of *Shewanella* spp.

Key words: turbot, dominant spoilage bacteria, quorum sensing, *Shewanella* spp.

大菱鲆（*Scophthatmus maximus*）原产于欧洲大西洋东侧沿岸，俗称比目鱼，在中国又称“多宝鱼”，是一种名贵的低温经济鱼类。自 1992 年引进中国以来，通过建立温室大棚结合深井海水工厂化的养殖模式，大菱鲆在我国大规模养殖，我国也逐渐成为养殖大菱鲆的主要出口国之一[1]。

水产品因其高蛋白和高水分而适合微生物的生长繁殖，刚捕获的水产品因其捕捞环境和地域等因素而附着多种微生物，然而在贮藏过程中，受环境压力和微生物间竞争的影响，只有几种微生物存活并参与食品的腐败进程，在贮藏末期占据较高比例，成为优势腐败菌[2]。微生物在合适的环境下，生长繁殖并产生

收稿日期：2015-09-29
基金项目：国家自然科学基金项目(31071613)
作者简介：张彩丽（1987-），女，博士研究生，研究方向：水产品加工及贮藏
通讯作者：曾名湧（1965-），男，博导，教授，研究方向：水产品高值化利用

胞外酶等物质分解基质导致食品的腐败，因此，有效控制微生物的代谢是延长水产品货架期的一种有效手段。

群体感应（Quorum Sensing，QS）是细菌之间相互交流的一种方式，细菌通过产生、释放、感受信号分子而启动一系列级联反应。群体感应信号分子类型主要包括，在革兰氏阴性菌中广泛存在的 N-酰基高丝氨酸内酯类化合物（AHLs），在革兰氏阳性菌中广泛存在的寡肽（AIP）类物质，以及在革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌中广泛存在的呋喃硼酸内酯类化合物(AI-2)[3]。群体感应通过调控微生物的生长代谢而参与食品的腐败，如假单胞菌分泌的 AHLs 导致牛奶的腐败，外源群体感应信号分子的添加加速冷藏凡纳滨对虾的腐败进程。

目前对大菱鲆贮藏特性的研究主要集中在不同温度下以整条方式贮藏的货架期评价，如流化冰、冰温、冷藏条件等。对于大菱鲆鱼片以真空包装方式冷藏的贮藏特性尚无报道。其贮藏过程中优势腐败菌的鉴定和群体感应检测更是鲜有研究。

本研究结合微生物和化学分析评价了真空包装冷藏大菱鲆鱼片的货架期，并检测了其贮藏过程中群体感应信号分子的分泌情况；通过 16S rDNA 对其菌相变化研究获得其优势腐败菌，并初步探究了优势腐败菌分泌群体感应信号分子的能力，为开发以群体感应系统为靶点的群体感应抑制剂，延长大菱鲆鱼片的货架期提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料和试剂

鲜活大菱鲆购自青岛市南山水产市场，保活运回实验室，敲头致死，去头、去皮、去内脏，获得鱼片，清洗干净，100±5 g 置于真空包装袋中贮藏于 4±1 ℃培养箱中。每次实验，随机挑选三个独立真空包装袋，取样测定。

微生物培养基（PCA-平板计数琼脂，VRBA-结晶紫中性红胆盐琼脂，MRS-乳酸细菌培养基）购自青岛市海博公司，5-溴-4 氯-3-吲哚-β-D-半乳糖苷购自 Sigma 公司，其他化学试剂均购自国药集团化学试剂公司。反相 C18 薄层层析板购自德国默克公司。

1.2 群体感应报告菌株

检测 AHLs 的报告菌株-根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*) A136 (pCF218) (pCF372)，由美国德克萨斯州立大学 McLeanRJC 教授惠赠。当感受到外源 AHLs 时，会启动自身 lacZ 基因，水解底物 X-gal 产生蓝色现象。A136 在 30 ℃培养于 LB 肉汤中并补充终浓度为4.5 μg/mL 四环素和 50 μg/mL 壮观霉素[4]。

检测 AI-2 的报告菌株-哈维氏弧菌（*Vibrio harveyi*）BB170，当 AI-2 浓度达到一定阈值时会诱导 BB170 生物发光，利用荧光酶标仪检测 460 nm 波长处的荧光值[5]。

1.3 实验方法

1.3.1 大菱鲆鱼片感官评价标准

参照罗非鱼片感官评定方法略作修改[6]，由 10 名感官评价人员每隔 3 d 对大菱鲆鱼片的色泽、气味、组织形态和肌肉弹性进行评价，按照表 1 的标准以 1~5 间的分值表示，综合分值在 17~20 为新鲜，9~16 为品质良好，8 分以下为品质劣变。

表 1 大菱鲆鱼片的感官评价标准

Table 1 The sensory evaluation standard of *Scophthatmu smaximus* fillets

分值	色泽	气味	组织形态	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	肌肉组织致密完整，纹理清晰	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	肌肉组织紧密，纹理较清晰	肌肉坚实有弹性，手指压后凹陷消失较快
3	色泽暗淡，肌肉切面稍有光泽	略有鱼腥味	肌肉组织略有松散	肌肉较有弹性，手指压后凹陷消失较慢
2	色泽较暗淡，肌肉切面无光泽	有明显的鱼腥味	局部肌肉组织松散	肌肉稍有弹性，手指压后凹陷消失较慢
1	色泽暗淡，肌肉切面无光泽	有强烈腥臭味或氨味	肌肉组织松散	肌肉无弹性，手指压后凹陷明显

1.3.2 微生物检测

采用 GB 4789.2-2010 倾注平板法，每隔 3 d 取样，因肠杆菌科细菌和乳酸菌是真空包装食品贮藏过程中的常见菌群，本实验选用三种培养基测定不同贮藏阶段的细菌总数，其中 PCA 培养基用于细菌总数的测定，VRBGA 培养基用于肠杆菌科细菌的培养，MRS 用于乳酸菌总数的测定。

1.3.3 化学指标检测

挥发性盐基氮（TVB-N）含量测定参照 SC/T 3032-2007 方法，结果表示为 mg/100 g 鱼肉。

pH 测定参照 GB/T 5009.45-2003 的方法并略作修改，称取 10 g 搅碎鱼肉，加入 90 mL 蒸馏水，均质后用雷磁 pHS-3C 测定 pH 值。

1.3.4 16S rDNA 鉴定微生物变化

贮藏初期（0 d）和末期（15 d）的 PCA 平板，菌落计数后，挑取单菌落划线培养至对数期（OD_{600}≈1.00），利用天根柱式细菌基因组抽提试剂盒提取各细菌基因组 DNA，利用 27F/1492R 作为引物扩增其 16S rDNA 区域，PCR 产物送往华大基因公司测序，测序结果利用 NCBI 网站进行 BLAST 比对，并计算各细菌所占的比例。

1.3.5 群体感应信号分子检测

N-酰基高丝氨酸内酯（AHLs）检测[7]：50 g 大菱鲆鱼片加入 50 mL 酸化的乙酸乙酯（含 0.5%甲酸）打浆过滤，重复三次，收集滤液混合后于 30 ℃旋蒸至干，溶于 1 mL 二甲亚砜中。利用 A136 制备报告平板：在融化到 40 ℃的含 0.7%琼脂的 LB 培养基中加入 3~5%过夜培养的 A136 菌株（OD_{600}≈1.00），终浓度为 100 mg/L 的 X-gal，适当浓度的抗生素。振荡摇匀后倾注平板，待凝固后，用无菌枪头于中心处打孔，加入 40 μL 乙酸乙酯提取物，过夜培养 24~36 h，观察诱导蓝色直径大小。反相 C18-薄层层析方法参照[8]的方法，将 2~5 μL 标准品和提取物点样到反相 C18-薄层层析板，利用 60:40 (*V*/*V*)的甲醇/超纯水展开，晾干后，表面覆盖含有 A136 的报告琼脂，凝固后置于 30 ℃培养箱中培养 24~36 h，根据蓝色斑点的迁移值比对 AHLs 类型。

AI-2 检测[5]：10 g 大菱鲆鱼片加入 40 mL 生理盐水，打浆、均质、过滤后，8000 r/min 离心 5 min，获得上清用 0.22 μm 的膜过滤，过滤液于-20 ℃保存备用。过夜培养的 BB170 (OD_{600}≈1.00)，在 AB 培养基中按照 1:3000 稀释，置于 30 ℃摇床培养 2~3 h 后，在 96 孔黑色酶标板中，加入 180 μL 稀释的 BB170 和 20 μL 样品上清或对照，30 ℃静置培养 2~3 h，利用荧光酶标仪测定其在 460 nm 波长处的荧光值。

1.3.6 优势腐败菌 AI-2 检测

随机挑选 8 株优势腐败菌，于营养肉汤（NB）中过夜培养至 OD_{600}≈0.80~1.00，按照如上描述的方法利用 BB170 体系检测 AI-2 的分泌情况。

1.3.7 *luxS* 基因扩增

对产 AI-2 活性最强的优势腐败菌的 *luxS* 基因进行扩增，PCR 反应体系：25 μL PCR mix，模板 3 μL，前后引物各 1 μL，利用双蒸水补足至 50 μL。引物和 PCR 运行程序均参照朱素琴的方法[8]，PCR 产物送至华大基因测序，并利用 NCBI 进行相似度比对。

1.3.8 数据处理与统计分析

数据结果均为 3 次重复试验的平均值，采用 SPSS 和 Excel 软件进行数据分析和处理，显著性水平设置为 0.05。

2 结果与讨论

2.1 感官分析

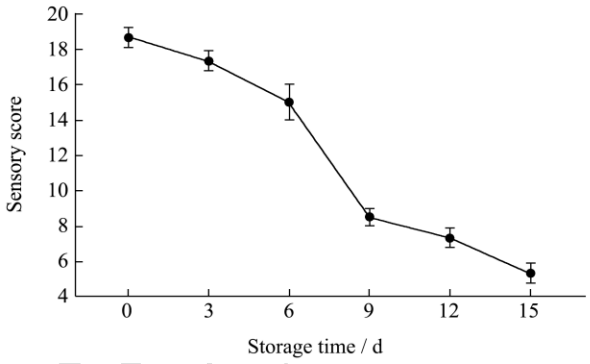


图 1 真空包装大菱鲆鱼片在 4 ℃贮藏过程中感官分值变化

Fig.1 Sensory evaluation result of vacuum-packaged turbot fillets stored at 4 ℃

从图 1 可知，真空包装大菱鲆鱼片在 4℃贮藏过程中，感官分值呈现显著下降的趋势。参照表 1 的感官评价标准，冷藏前 6 d，感官分值下降趋势缓慢，从 18.67 分降至 15.00 分，鱼片色泽风味、组织形态仍保持良好状态。贮藏到第 9 d，感官分值迅速下降到 8.50 分，接近鱼片品质劣变分值（8.00 分），此时鱼片肌肉组织变软，有不愉快的气味产生，达到感官拒绝点。

2.2 微生物分析

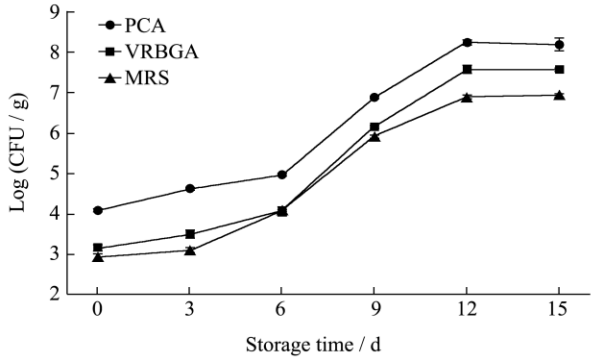


图 2 真空包装大菱鲆鱼片在 4 ℃贮藏过程中微生物变化

Fig.2 Microbiological changes in vacuum-packaged turbot fillets stored at 4 ℃

注：PCA、VRBGA 和 MRS 培养基分别用于测定为细菌总数，肠杆菌科细菌数量和乳酸菌总数。

真空包装条件下，肠杆菌科细菌和乳酸菌因其兼性厌氧的特性而占主要地位，利用选择性培养基对这两类细菌进行监测。如图 2 所示，各微生物数量在贮藏过程中逐渐上升，贮藏到 9 d 时，细菌总数已达水产品鲜度要求限量标准（7.00 log CFU/g），和感官评价结果保持一致。肠杆菌科细菌和乳酸菌生长趋势相似，其中肠杆菌科细菌总是比细菌总数低约 0.50 log CFU/g，而乳酸菌数量则比细菌总数低 1.00 log CFU/g 左右。达到感官拒绝点时，肠杆菌科细菌和乳酸菌含量分别为 6.15 log CFU/g 和 5.91 log CFU/g。

2.3 化学变化分析

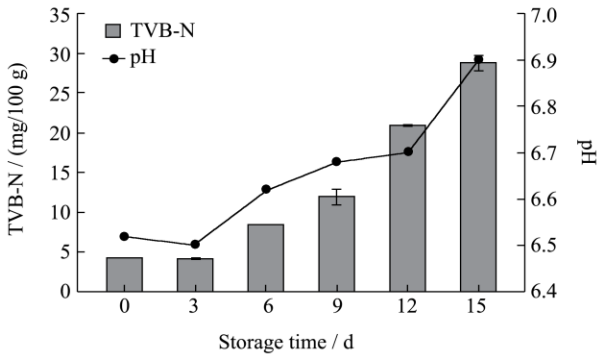


图 3 真空包装大菱鲆鱼片在 4 ℃贮藏过程中挥发性盐基氮和 pH 变化

Fig.3 Changes in TVB-N and pH of vacuum-packaged turbot fillets stored at 4 ℃

水产品在贮藏过程中，因酶类和微生物的相互作用，导致蛋白质分解而产生一系列氨类物质，因此，挥发性盐基氮（TVB-N）含量是评价水产品鲜度的常用化学指标。从图 3 可知，在感官拒绝点时（第 9 d），TVB-N 含量还在一级鲜度范围内，贮藏到 15 d，大菱鲆鱼片中 TVB-N 含量（28.70 mg/100 g）才接近 TVB-N 限量标准（30 mg/100 g）。这个结果与牛保卫测定的冰温真空包装大菱鲆结果相一致，大菱鲆贮藏到 30 d 时，微生物含量（约 6.50 log CFU/g）接近可接受阈值，但其 TVB-N 含量（18 mg/100 g）仍在鲜度标准范围内[9]。在评价水产品货架期评价方面，化学指标相对于感官和微生物指标产生的滞后性主要与贮藏条件下的细菌分布、微生物代谢类型和致腐能力不同有关。

大菱鲆鱼片贮藏前 3 d，因为糖原降解、三磷酸腺苷和磷酸肌酸分解等原因，pH 有轻微的下降，随着贮藏时间延长，内源酶和微生物代谢产生的氨类物质积累，使得 pH 增高，贮藏末期升至 6.90。

2.4 菌相分析

从表 2 可知，大菱鲆鱼片初期菌相构成复杂，主要以不动杆菌、假单胞菌和希瓦氏菌为主，在贮藏过程中，具有兼性厌氧特性的希瓦氏菌逐渐占据优势地位，肠杆菌科细菌和气单胞菌比例也稍有增加。假单胞菌是低温保藏水产品中常见的腐败菌，但在本实验中比例较少，主要由于假单胞菌为好氧菌，真空包装的缺氧环境抑制了其生长。乳酸菌是真空包装食品中的优势菌，俞龙浩测定的真空包装哈尔滨红肠贮藏末期乳酸菌比例达 60%[10]，本实验中乳酸菌比例与报道的真空包装食品相比较低，只有 1.7%，可能由于食品基质的差异，或初始菌相中希瓦氏菌比例较高，其兼性厌氧以及耐低温的特性使其成为大菱鲆鱼片冷藏末期的优势腐败菌。

表 2 真空包装大菱鲆鱼片 4 ℃下贮藏初期和末期菌相

Table 2 Changes in the microflora of vacuum-packaged turbot over time in storage at 4 ℃

	初始菌相(0 d)/%	末期菌相(15 d)/%
希瓦氏菌属	13.80	60.50
假单胞菌属	19.00	7.90
不动杆菌属	26.70	6.60
肠杆菌属	8.60	10.50
气单胞菌属	5.20	7.90
黄杆菌属	9.50	0
纤维菌属	3.40	0
乳酸菌	0	1.70
芽孢杆菌属	6.90	0
其他	6.90	4.90

2.5 群体感应分析

由图 4a 可知，直接从鱼肉中提取的 N-酰基高丝氨酸内酯类信号分子，利用报告平板法在第 12 d 样品中才可检出，此时微生物总数达 8.24 log CFU/g。信号分子的分泌具有细菌密度依赖性，Gram.L 从冷熏三文鱼中分离的产 AHLs 菌株，细菌密度达到 6.00 log CFU/g 时，才可通过体外方法检测到 AHLs[11]。薄层层析结果(图 4b)显示，第 12 d 样品中只有一种类型 AHLs，其 Rf 值与 C6-HSL 相等，而 15 d 样品中则检测到两种类型 AHLs 且其含量均较 12 d 有所增加，根据 AHLs 的极性和碳链长度推断，新出现的信号分子可能为 C4-HSL。

由图 4c 看出，AI-2 分子随贮藏时间的延长活性逐渐增加，AI-2 作为种间交流的信号分子，可以调控多种微生物的行为特征。已有报道希瓦氏菌和乳酸菌具有产 AI-2 的能力，从菌相分析看，希瓦氏菌属作为真空包装冷藏大菱鲆鱼片中的优势腐败菌，其菌落总数逐渐增加与 AI-2 活性呈上升趋势相一致。

已有研究表明微生物群体感应可能参与食品腐败过程。目前已从不同食品中直接提取检测到信号分子的存在，如从鸡肉、牛肉[12]中提取到 C4-HSL、C6-HSL 及长链信号分子；从冷藏凡纳滨对虾中检测到 AHLs 和 AI-2[8]。群体感应信号分子与微生物的种类和数量有关，在大菱鲆鱼片腐败过程中，希瓦氏菌逐渐增加，肠杆菌科和气单胞菌比例也呈上升趋势，假单胞菌和不动杆菌比例呈减少趋势。现有研究结果显示，希瓦氏菌和乳酸菌大多能产 AI-2[8,12]，而肠杆菌科和气单胞菌大多能产 AHLs[13]，但其产生的 AHLs 类型存在一定差异。群体感应信号分子调控着细菌的群体行为，影响食品的腐败进程，已有报道希瓦氏菌属能感受 AHLs 去调控自身的行为特征[8]。在真空包装大菱鲆鱼片冷藏过程中，希瓦氏菌和产 AHLs 菌之间的相互作用还需进一步研究。

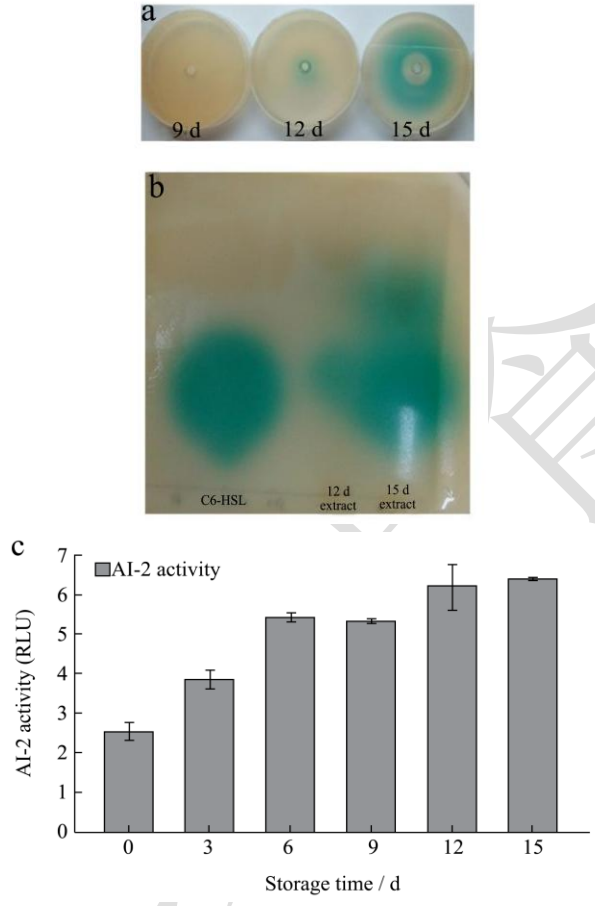


图 4 真空包装冷藏大菱鲆鱼片贮藏过程中 AHLs(a)和 AI-2(C)的活性检测及利用反相薄层层析板鉴定 AHLs 类型（b）

Fig.4 Detection of AHLs (a) and AI-2 (c) in vacuum-packaged turbot stored at 4 ℃ and identification of AHL types using the RP-TLC method (b)

2.6 希瓦氏菌属产 AI-2 分析

希瓦氏菌属能产生 AI-2 信号分子已有报道，但产 AI-2 是否为希瓦氏菌的共性及希瓦氏菌属产 AI-2 能力是否一致鲜有评价。通过对贮藏末期的希瓦氏菌分离，随机挑取 12 株在铁琼脂上具有产硫化氢能力的希瓦氏菌，通过纯培养，AI-2 检测，评价其产 AI-2 能力。图 5 结果显示，分离的希瓦氏菌属均具有不同程度的产 AI-2 能力，这与朱素琴的研究结果相似[8]，推测产 AI-2 是希瓦氏菌属自身的一个共性，该特征可能调控着其致腐特性。

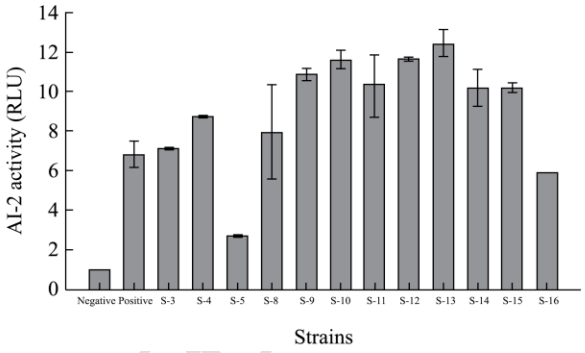


图 5 随机挑选的希瓦氏菌 AI-2 活性检测

Fig.5 Detection of AI-2 activity in randomly selected *Shewanella* spp.

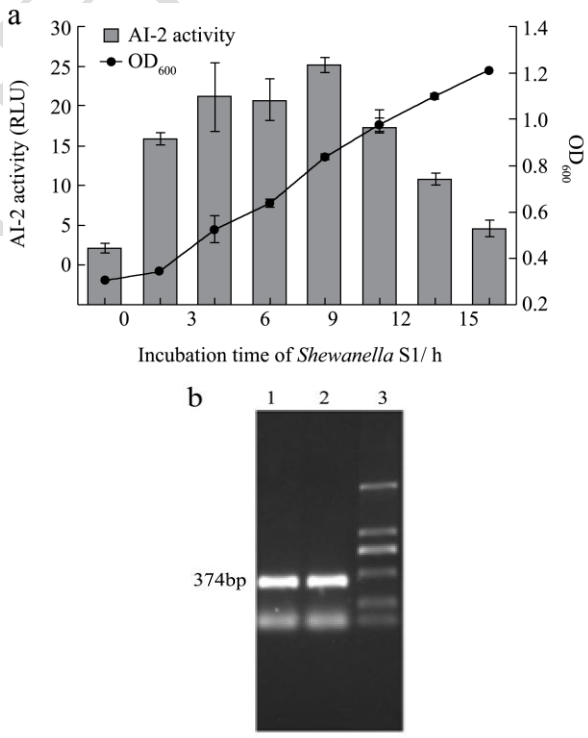


图 6 a:希瓦氏菌生长过程中 AI-2 检测；b:*luxS* 基因扩增

Fig.6 a: Detection of AI-2 activity in *Shewanella* spp. b. Amplification of *luxS* gene.

注：1 和 2 为希瓦氏菌 S1 条带，3 为 DNA marker DL 2000 条带。

对产 AI-2 能力较强的希瓦氏菌在最适生长条件下产 AI-2 的情况进行监测，结果如图 6a 所示。AI-2

活性呈现先增加后减少的趋势，在对数中期达到最大值。大肠杆菌和沙门氏菌也具有相似的产 AI-2 特性，在对数中期产生 AI-2，且到达稳定期时降解，这可能与细菌生长的特性相关[14]。AI-2 的产生受 *luxS* 基因调控，对希瓦氏菌的 *luxS* 基因进行扩增，获得 374bp 的基因片段（图 6b），通过 NCBI 基因库比对，结果显示与已报道 *Vibrio*spp 的 *luxS* 具有 77%的相似性，*luxS* 基因在产 AI-2 的细菌中具有一定的保守性。

3 结论

结合感官评价和微生物指标，真空包装冷藏大菱鲆鱼片的货架期为 9 d，化学指标评价贮藏终点因微生物的分布和代谢类型不同而具有一定的滞后性。在贮藏过程中，其 AHLs 和 AI-2 型群体感应信号分子均随细菌密度增加而增加，且 AHLs 随贮藏时间延长种类有所增加。希瓦氏菌为冷藏大菱鲆的优势腐败菌并且是主要的 AI-2 产生者，分离的希瓦氏菌均可产 AI-2，推测产 AI-2 是希瓦氏菌的共性，且 *luxS* 基因在产 AI-2 细菌中具有一定保守性。

参考文献

[1] 雷霁霖,刘新富,关长涛.中国大菱鲆养殖 20 年成就和展望-庆祝大菱鲆引进中国 20 周年[J].渔业科学进展,2012,33(4): 123-130
LEI Ji-lin, LIU Xin-fu, GUAN Chang-tao. Turbot culture in China two decades:achievements and prospect [J]. Fisheries Science Progress, 2012, 33 (4): 123-130

[2] Dalgaard P. Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish [J]. International Journal of Food Microbiology, 1995, 26: 319-333

[3] Bassler B L, Miller M B. Quorum sensing [M]. The prokaryotes. Springer Berlin Heidelberg, 2013

[4] Fuqua C, Winans S C. Conserved cis-acting promoter elements are required for density-dependent transcription of *Agrobacterium tumefaciens* conjugal transfer genes [J]. Journal of Bacteriology, 1996, 178(2): 435-440

[5] Taga M E, Xavier K B. Methods for analysis of bacterial autoinducer-2 production [J]. Current Protocols in Microbiology, 2005: 1C-1

[6] 李莎,李来好,杨贤庆,等.罗非鱼片在冷藏过程中的品质变化研究[J].食品科学,2010,31(20):444-447
LI Sha, LI Lai-hao,YANG Xian-qing, et al. Quality change of Tilapia fillets during chilling storage [J]. Food science, 2010, 31(20): 444-447

[7] Chu W, Vattem D A, Maitin V, et al. Bioassays of quorum sensing compounds using *Agrobacterium tumefaciens* and *Chromobacterium violaceum* [M]. Quorum Sensing. Humana Press, 2011

[8] Zhu S, Wu H, Zeng M, et al. The involvement of bacterial quorum sensing in the spoilage of refrigerated *Litopenaeus vannamei* [J]. International Journal of Food Microbiology, 2015, 192: 26-33

[9] 牛宝卫.大菱鲆冰温气调保鲜技术研究[D].青岛:中国海洋大学,2009
NIU Bao-wei. Research on preservation technology of cultured turbot [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2009

[10] 俞龙浩,贺旺林,李晶晶,等.真空包装哈尔滨红肠菌相分析及优势腐败菌初步鉴定[J].现代食品科技,2015,31(3):66-70
YU Long-Hao, HE Wang-Lin, LI Jing-Jing, et al. Microflora and dominant spoilage bacteria identification in vacuum packing harbin red sausage [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 31(3): 66-70

[11] Gram L, Christensen A B, Ravn L, et al. Production of acylated homoserine lactones by psychrotrophic members of the *Enterobacteriaceae* isolated from foods [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(8): 3458-3463

[12] Blana V A, Nychas G J E. Presence of quorum sensing signal molecules in minced beef stored under various temperature and packaging conditions [J]. International Journal of Food Microbiology, 2014, 173: 1-8

[13] Rasch M, Kastbjerg V G, Bruhn J B, et al. Quorum sensing signals are produced by *Aeromonas salmonicida* and quorum sensing inhibitors can reduce production of a potential virulence factor [J]. Diseases of Aquatic Organisms, 2007, 78(2): 105

[14] Surette M G, Miller M B, Bassler B L. Quorum sensing in *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, and *Vibrio harveyi*: a new family of genes responsible for autoinducer production [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1999, 96(4): 1639-1644