

# 0 °C冷藏下三文鱼片菌相变化规律及 特定腐败菌的分离鉴定

李婷婷<sup>1, 2</sup>, 丁婷<sup>3</sup>, 邹朝阳<sup>3</sup>, 周凯<sup>3</sup>, 仪淑敏<sup>3</sup>, 励建荣<sup>2, 3</sup>

(1. 大连民族学院生命科学学院, 辽宁大连 116600) (2. 西南大学食品科学学院, 重庆 400715)

(3. 渤海大学食品科学研究院, 辽宁省食品安全重点实验室, 辽宁锦州 121013)

**摘要:** 以冰鲜的三文鱼片为研究对象, 利用形态学观察和 16S rDNA 序列分析法探究其在 0 °C 冷藏过程中腐败菌的变化规律, 并结合 VITEK2 微生物自动鉴定系统对其特定腐败菌进行分离和鉴定。结果表明: 0 °C 冷藏三文鱼片在贮藏初期 (第 0d) 的腐败菌主要为葡萄球菌属(*Staphylococcus* sp.)、假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)、片球菌属(*Pediococcus* sp.)、微球菌属(*Micrococcus* sp.)、气单胞菌属(*Aeromonas* sp.)、肉食杆菌属(*Carnobacterium* sp.)及部分鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas* sp.)。随贮藏时间的延长, 腐败菌菌相逐渐单一, 葡萄球菌属、片球菌属、微球菌属呈明显的下降趋势; 气单胞菌属及鞘氨醇单胞菌属完全消失; 肉食杆菌属变化较小, 而假单胞菌属呈上升趋势且到贮存后期数量占绝对优势。腐败菌的 PCR 产物经测序后通过 NCBI 数据库比对, 并经 MEGA5.05 软件构建系统发育树分析及微生物自动鉴定仪共同鉴定, 确定荧光假单胞菌(*Ps. Fluorescens*)为冷藏三文鱼片的优势腐败菌。

**关键词:** 三文鱼片; 腐败菌; 16S rDNA; 发育树; 荧光假单胞菌

文章编号: 1673-9078(2015)4-36-41

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.4.007

## Differential Prevalence of Spoilage Bacteria in Salmon Fillets during Refrigerated Storage and Identification of Predominant Spoilage Bacterial Species

LI Ting-ting<sup>1,2</sup>, DING Ting<sup>3</sup>, ZOU Zhao-yang<sup>3</sup>, ZHOU Kai<sup>3</sup>, YI Shu-min<sup>3</sup>, LI Jian-rong<sup>2,3</sup>

(1. College of Life Science, Dalian Nationality of University, Dalian 116600, China) (2. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China) (3. Food Science Research Institute of Bohai University, Food Safety Key Lab of Liaoning Province, Jinzhou 121013, China)

**Abstract:** Chilled fresh salmon fillets were used for the study; the differential prevalence of spoilage bacteria during storage at 0 °C was analyzed by morphological observations and 16S rDNA sequence analysis. In addition, the specific spoilage bacteria were separated and identified using the VITEK 2 automated microbial identification system. The major spoilage bacterial species identified in salmon fillets stored at 0 °C during the start of storage (day 0) were *Staphylococcus* sp., *Pseudomonas* sp., *Pediococcus* sp., *Micrococcus* sp., *Aeromonas* sp., *Carnobacterium* sp., and *Sphingomonas* sp. The phase of spoilage bacteria gradually became unitary with the increase in storage time; a significant decrease was observed in the numbers of *Staphylococcus* sp., *Pediococcus* sp., and *Micrococcus* sp., whereas the *Aeromonas* sp. and *Sphingomonas* sp. disappeared completely over time. No significant changes were observed in the *Carnobacterium* sp.; on the other hand, there was a gradual increase in the proportion of *Pseudomonas* sp., leading to its predominance during the end of the storage time. The sequences, amplified by polymerase chain reaction (PCR), were compared against the sequences present in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) database; the phylogenetic tree constructed using the MEGA 5.05 software was used for analysis, and the automated microbial identification system was utilized for all measurements. These results identified *Pseudomonas fluorescens* to be the dominant spoilage bacterium in refrigerated salmon fillets.

**Key words:** salmon fillets; spoilage bacteria; 16S rDNA; phylogenetic tree; *Pseudomonas fluorescens*

收稿日期: 2014-07-16

基金项目: 国家自然科学基金 (31301572, 31301418); 中国博士后科学基金 (2014M552302); “十二五”国家科技支撑计划 (2012BAD29B06); 高等学校博士学科点专项科研基金 (优先发展领域) (20113326130001); 作者简介: 李婷婷(1978-), 女, 博士后, 副教授; 通讯作者: 励建荣教授

水产品因其营养丰富、水分含量高等特点,为微生物的生长提供了有利条件,从而导致水产品在贮藏及流通过程中极易受到微生物的污染而发生腐败变质。然而,并不是所有的微生物都参与致腐作用,只有一部分细菌大量繁殖并产生腐败臭味的代谢产物,且在数量上占优势而成为主要腐败菌。Dalgaard<sup>[1]</sup>在1995年就提出优势腐败菌(Specific spoilage organisms, SSO)的概念。Zogul<sup>[2]</sup>指出,SSO的生长繁殖在很大程度上主导着食品的腐败变质。因此,深入了解优势腐败菌的检验以及对食品货架期预测、新型保存及生产方法设计等的影响研究,将会有效减少由于微生物造成的腐败而导致的健康风险<sup>[3]</sup>。

三文鱼(salmon),即鲑鱼,又称大马哈鱼,主要产于北冰洋与大西洋、太平洋的交界水域,其中以挪威海域产出的三文鱼最为出名。三文鱼风味独特、色泽鲜艳、品质优良、营养丰富,深受消费者喜爱,属于高档水产品之一。目前,对冷藏三文鱼品质评定及影响因素的研究较多:包海蓉<sup>[4]</sup>等研究了不同冷藏温度对生鲜三文鱼片品质变化的影响;Indergard等<sup>[5]</sup>研究了长期贮藏、温度及包装材料类型对冷藏三文鱼品质特性的影响。三文鱼常见食用方式为生食,对其微生物要求十分严格,但是对于0℃冷藏下三文鱼片腐败菌的变化规律及优势腐败菌的研究相对较少。靳春秋等<sup>[6]</sup>测定了冰藏条件下三文鱼的品质及菌相变化,但是对于特定腐败菌并没有明确鉴定到种。

本文主要开展三文鱼在贮藏过程中的腐败菌变化的研究,应用形态学观察和16S rDNA序列分析法探究,并结合VITEK2微生物自动鉴定系统的方法,测定其在0℃冷藏过程中腐败菌等指标,以期针对性的提出微生物污染控制措施、延长三文鱼片的货架期,进一步提高三文鱼的品质和安全性提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

冰鲜的挪威三文鱼(从挪威运往大陆需3d左右),购自辽宁锦州林西水产市场立即运往实验室冷藏备用。

### 1.2 试剂与仪器

平板计数琼脂、营养琼脂、营养肉汤培养基 北京奥博星生物技术有限责任公司。

用于PCR扩增的全套试剂和扩增引物 北京天根生化科技有限公司。

革兰氏阳性细菌鉴定卡、革兰氏阴性细菌鉴定卡 美国biomerieux公司。

AL-104型精密电子天平,上海梅特勒-托利多仪器设备有限公司;Avanti J-E型冷冻离心机,德国Beckman制造公司;LDZX-50FBS立式压力蒸汽灭菌器,上海申安医疗器械厂;VITEK 2 COMPECT全自动微生物鉴定仪,生物梅里埃中国有限公司;Nikon DS-Fi1显微镜,日本尼康公司;APPENDROF防蒸发梯度PCR仪,艾本德(上海)国际贸易有限公司;MDF-U32V低温冰箱,日本三洋公司;THZ-D台式恒温振荡器,太仓市实验设备厂;400122E-0032电子比浊仪,生物梅里埃中国有限公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 原料预处理

将冰鲜的三文鱼置于无菌操作台内已灭菌的砧板上,用灭菌后的手术刀将三文鱼去皮并取背部鱼肉切成约5cm×5cm×0.3cm左右的三文鱼片,装入已经灭菌的保鲜袋中,封口后置于0℃温度下冷藏。将处于贮藏初期、中期、后期(感官评价后确定)的0℃冷藏三文鱼片取样进行感官评价及腐败菌的鉴定。

#### 1.3.2 感官评价

表1 三文鱼片感官评价标准

Table 1 Standards of sensory evaluation for salmon filets

评分	气味	外观色泽	组织弹性	组织状态
8~10	具有三文鱼特有的鲜香味	淡橘红色,色泽明亮,白色条纹清晰均匀,有明显脂肪层	肌肉有弹性	肌肉结实、饱满、紧密
6~8	鲜味降低,鱼腥味加重	光泽稍逊	弹性稍逊,压出凹印能很快复平	组织紧密
4~6	无鲜味,腥味浓且带不愉快气味	无光泽	弹性差,压后复平慢	肌肉松散
2~4	有浓烈的腥臭味	呈苍白色或灰黄色,有浑浊液体流出	无弹性	肌纤维模糊

参考佟懿<sup>[7]</sup>等感官评价方法且略有修改。由 7 名经过培训的评价员组成感官评价小组,定期(每隔 3 d)评价三文鱼背部鱼片的气味、色泽、组织状态及组织弹性情况,将各项感官评分进行加权平均为最后的感官加权得分,6 分以上为新鲜度较好,6 分以下为变质鱼片。评分标准如表 1 所示。

### 1.3.3 腐败菌计数、分离、纯化及保存

参考 GB/T4789.2-2010《食品卫生微生物学检验:细菌总数测定》中的方法进行。选取数量最多的 7 组菌(分别命名为 S1-S7)作为三文鱼片的主要菌群。将主要腐败菌挑取后在营养琼脂上划线培养,多次纯化后至显微镜观察细胞形态单一,得到腐败菌纯菌株,制成 15% 甘油菌悬液,于 -80 °C 冰箱保存备用。

### 1.3.4 形态学观察

菌落形态:包括菌落的颜色、大小、形状、光滑度、边缘、透明度、隆起程度等。

菌体形态:挑取 24 h 培养的细菌于载玻片制成玻片标本,观察细胞形态及排列方式。

### 1.3.5 16S rDNA 方法鉴定腐败菌

参考文献<sup>[8]</sup>中的方法进行鉴定。无菌条件下挑取纯化后的腐败菌于营养肉汤培养基中,30 °C 摇床培养 24 h 后,120000 r/min 离心 2 min,除去上清液,加入 200  $\mu$ L 4 °C 超纯水,沸水浴 5 min 后,于冰块中降温 5 min,反复 2 次。加入 10  $\mu$ L 预混液和 13  $\mu$ L 超纯水(4 °C)、0.5  $\mu$ L 上引物(27f: AGAGTTTGATCC TGGCTCAG)、0.5  $\mu$ L 下引物(1492r: GGTTACCTT GTTACGACTT)及 1  $\mu$ L 菌液。混匀后放入 PCR 仪进行扩增。

PCR 扩增条件参数设置为:94 °C 预变性 2 min;进行 30 个循环(每个循环包括 94 °C 变性 1 min,56 °C 退火 1 min,72 °C 延伸 95 s),最终于 72 °C 延伸 10 min。结束后置于 4 °C 中保存。扩增后的产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳后,由生工生物公司(北京)进行测序。将所得序列到 NCBI 网站进行 BLAST 比对,获得相似性 99% 以上的菌株,用 MEGA5.05 软件(美国 MEGA 开发公司)构建 Neighbor-Joining 系统发育树。

### 1.3.6 微生物自动鉴定系统鉴定腐败菌进行鉴定

将纯化后的腐败菌进行革兰氏染色后,用 VITEK2 微生物自动鉴定仪对其进行鉴定。其中,革兰氏阳性菌用 VITEK 2 革兰氏阳性鉴定卡(VITEK 2 Gram-Positive Identification Card, GP)板鉴定,革兰氏阴性菌用 VITEK 2 革兰氏阴性鉴定卡(VITEK 2 Gram-Negative Identification Card, GN)板进行鉴定。挑取纯培养后的菌株于已加入 3 mL 灭菌生理盐水的

测试管中,漩涡振荡后,用比浊仪测试菌悬液浊度达到 0.5~0.63。将微生物鉴定卡按要求插入菌液中,放入 VITEK2 微生物鉴定仪中进行鉴定。

## 1.4 数据处理与统计分析

三文鱼片腐败菌分离鉴定每个样品做 3 个平行,均值和标准差的统计显著差异性分析采用 SPSS 软件中的单因素 ANOVA 分析,且显著性水平设置为 0.05。

用 Microsoft Excel 2003 软件、SPSS Statistics 21 软件(美国 IBM 公司)和 Origin 8.0 软件(美国 OriginLab 公司)进行数据处理和作图及分析。用 MEGA5.05 软件(美国 MEGA 公司)对菌株序列进行分析并构建系统发育树。

## 2 结果与分析

### 2.1 感官评价结果

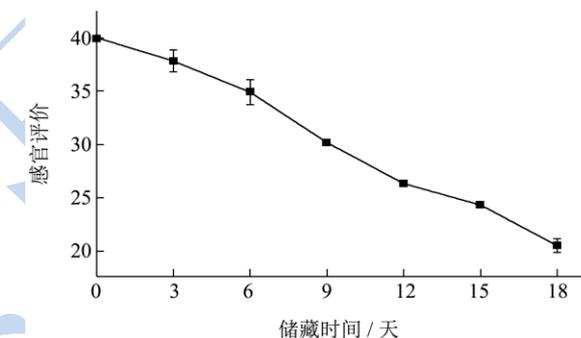


图 1 0 °C 冷藏三文鱼片感官评价结果

Fig.1 Results of sensory evaluation of salmon fillets stored at 0 °C

图 1 为三文鱼片在冷藏过程中的感官评价分数变化图。从图 1 中可以看出,随贮藏时间的延长,三文鱼片感官评分呈现降低的趋势。相比于第 0 d 贮藏,冷藏前 6 d 感官评分减小不明显;到贮藏第 9 d 前后,感官总评分降低极显著( $P \leq 0.01$ ),为 30 分,贮藏第 12 d 感官评分也减少显著( $P \leq 0.05$ ),随后变化不大。当感官评价总分数降低到 24 分时,三文鱼片已达感官不可接受程度。后续研究分别选取贮藏第 0、9、15 d 作为三文鱼片的贮藏前、中、末期进行腐败菌的分离鉴定。

### 2.2 腐败菌形态学鉴定结果

选取贮藏初期菌落合适的平板,根据菌落形态特征对数量最多的 7 组腐败菌 S1-S7 进行分组,形态如表 2 所示。

### 2.3 冷藏三文鱼片腐败菌的 16S rDNA 鉴定结

果

表 2 冷藏三文鱼片腐败菌的形态特征

**Table 2 Morphological characteristics of spoilage bacteria present in refrigerated salmon fillets**

特征	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	
菌体形态	形状	球状	球状	球状	杆状	球状	杆状	杆状
	革兰氏染色	阳性	阳性	阳性	阴性	阳性	阳性	阴性
菌落形态	菌落大小	较小	小	较小	大	小	小	较大
	菌落形状	圆形	圆形	圆形	圆形	圆形	椭圆形	圆形
	菌落颜色	白色	乳白色	乳白色	黄色	淡黄色	乳白色	乳白色
	菌落隆起度	隆起	隆起	隆起	隆起	微隆起	低凹	隆起
	菌落边缘形状	整齐	整齐	整齐	整齐	不整齐	不整齐	整齐
	菌落透明度	不透明	不透明	不透明	不透明	半透明	半透明	半透明
	菌落表面状态	光滑						

将冷藏三文鱼贮藏初期、中期和后期的分离纯化后的菌种经 16S rDNA 测序后，在 NCBI 数据库进行比对，所得结果如表 3 所示，表明冷藏三文鱼片在贮藏初期的腐败菌经 16S rDNA 测序比对后，分别为葡萄球菌属、气单胞菌属、片球菌属、鞘氨醇单胞菌属、微球菌属、肉食杆菌属及假单胞菌属。且置信度≥98%。

微生物的 rDNA 结构具有保守性又具有高变性，保守性反映生物物种的亲缘关系，高变性揭示生物物种的特征核酸序列，这是属种鉴定的分子基础。且 16S rDNA 系统发育分析具有准确、快速、灵敏的优点，所以 16S rDNA 序列分析已成为国际上细菌分类鉴定的常用技术手段。

表 3 冷藏三文鱼腐败菌 16S rDNA 鉴定结果

**Table 3 Results of 16S rDNA identification of spoilage bacteria present in refrigerated salmon fillets**

菌种序号	16S rDNA 测序结果	菌株名称	Ident /%	序列号
S1	<i>Staphylococcus</i> sp.	葡萄球菌属	99	KJ936905
S2	<i>Aeromonas</i> sp.	气单胞菌属	99	KJ936906
S3	<i>Pediococcus</i> sp.	片球菌属	99	KJ936907
S4	<i>Sphingomonas</i> sp.	鞘氨醇单胞菌属	99	KJ936908
S5	<i>Micrococcus</i> sp.	微球菌属	99	KJ936910
S6	<i>Carnobacterium</i> sp.	肉食杆菌属	98	KJ936911
S7	<i>Pseudomonas</i> sp.	假单胞菌属	99	KJ936904

葡萄球菌属在自然界中分布广泛，葡萄球菌属中金黄色葡萄球菌是食品、医院内感染及化妆品领域重要的致病菌之一，金黄色葡萄球菌产生的肠毒素已成为世界性的卫生问题。气单胞菌属广泛分布在水生和陆生环境中，气单胞菌中的维氏气单胞菌已成为一种重要的人-鱼共患致病菌。片球菌属多见于蔬菜和食品，对植物或动物不致病。肉食杆菌属属于乳酸菌一

类，可分解葡萄糖产生乳酸，它们存在于不同种类的食物，包括鱼、肉和日用品中，且关于它们对食物的生态、作用和影响的科学研究也越来越多<sup>[11]</sup>。冷藏三文鱼片初始菌相中有致病菌出现可能是因为是在贮藏、运输及销售过程中受到污染所致。

本文的结果与前人研究类似：Li<sup>[9]</sup>的研究发现，葡萄球菌属、假单胞菌属、气单胞菌属、不动杆菌属是冷却肉在储藏过程中的主要菌群。崔正翠<sup>[10]</sup>等对冷藏大菱鲆细菌组成鉴定后发现，微球菌属、假单胞菌属在新鲜的大菱鲆中出现。而假单胞菌多为有氧冷藏的鱼、贝类和甲壳类的优势腐败菌。有学者按照生理生化性状的分类标准，将某些非典型的乳杆菌-奇异乳杆菌和鱼乳杆菌，连同另外两个新种-鸡肉食杆菌和游动肉食杆菌建立了一个新属-肉食杆菌属。

## 2.4 冷藏三文鱼片腐败菌变化

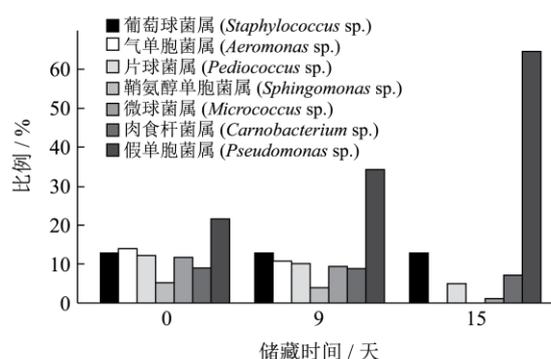


图 2 冷藏三文鱼片腐败菌变化

**Fig.2 Changes in prevalence of spoilage bacteria in refrigerated salmon fillets over time**

图 2 为冷藏三文鱼片腐败菌的变化趋势图。从图中可以看出，在贮藏初期（第 0 d），腐败菌菌相比较复杂，7 种菌数量差异不大，葡萄球菌属、气单胞菌

属、片球菌属、鞘氨醇单胞菌属、微球菌属、肉食杆菌属及假单胞菌属所占比例分别为 12.74%、14.03%、12.18%、5.13%、11.80%、8.97%和 21.62%。假单胞菌所占比例相对较大，其次为气单胞菌属。到贮藏中期时，三文鱼片的腐败菌所占比例有所变化，假单胞菌所占比例提高较大，葡萄球菌属、气单胞菌属、片球菌属及微球菌属所占比例有所减小，而鞘氨醇单胞菌属和肉食杆菌属基本不变。到贮藏后期时，腐败菌相逐渐单一，假单胞菌所占比例最大，为 64.48%，其他腐败菌所占比例较小，而气单胞菌属、鞘氨醇单胞菌属则完全消失。由此可知，冷藏三文鱼片在贮藏过程中假单胞菌属数量占优势，成为优势腐败菌。

假单胞菌属为专性需氧的革兰氏阴性杆菌，无芽孢，具运动性。是假单胞菌科 (*Pseudomonadaceae*) 的细菌模式属。广泛存在于海水、淡水和土壤中。假单胞菌属中的荧光假单胞菌可引起草鱼赤皮病，也会感染大鲵、罗非鱼等鱼类。有研究表明，冷藏海水鱼、冷藏淡水鱼、真空或气调包装冷藏鲜鱼的优势腐败菌分别为腐败希瓦氏菌、假单胞菌属和磷发光杆菌<sup>[12]</sup>。也有研究表明，假单胞菌是太平洋牡蛎在 0℃、5℃和 10℃条件下的优势腐败菌，且是不同温度贮藏条件下养殖罗非鱼货架期终点的优势腐败菌。

### 2.5 冷藏三文鱼片优势腐败菌的鉴定

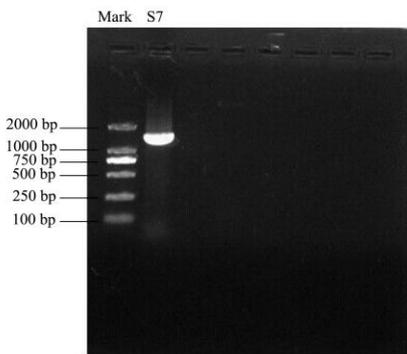


图 3 菌株的 PCR 扩增产物电泳图

Fig.3 Electropherogram of PCR amplified strain sequences

以细菌的通用引物 27f 和 1492r 对菌株的 DNA 进

表 4 三文鱼片优势腐败菌的 VITEK2 系统鉴定结果

Table 4 Identification of the dominant bacterium infecting salmon fillets by VITEK 2

菌株	中文名称	英文名称	概率/%	ID 信息置信水平	Bionumber
S7	荧光假单胞菌	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	98	Excellent identification	4001011100500210

表 4 为冷藏三文鱼片优势腐败菌的 VITEK2 系统鉴定结果，从表 4 中可以看出，冷藏三文鱼的优势腐败菌为荧光假单胞菌。且概率为 98%。ID 置信水平也较好，因此可确定为荧光假单胞菌，这与 16S rDNA

行 PCR 扩增，基因片段进行琼脂糖凝胶电泳后，获得一条明亮的条带，所得电泳图谱如图 3 所示。由图 3 可知，将冷藏三文鱼片优势腐败菌的 DNA 为模板 PCR 进行扩增以后，经 DNA 凝胶电泳图谱检测可以看出，条带大小约在 1500 bp 左右。

### 2.6 冷藏三文鱼片优势腐败菌系统发育树的

建立

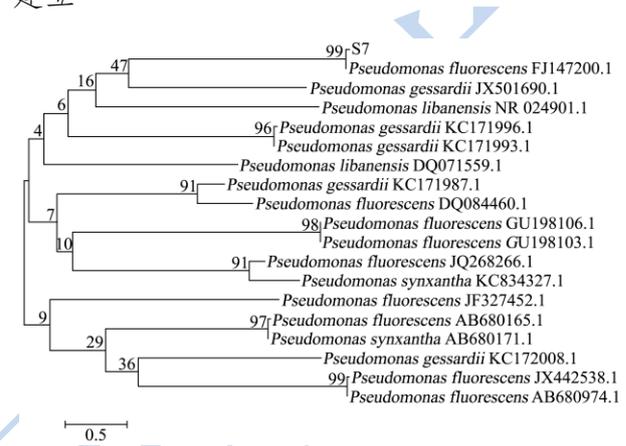


图 4 基于 16S rDNA 序列的系统发育树

Fig.4 Phylogenetic tree constructed from 16S rDNA sequencing data

在 NCBI 数据库中对假单胞菌菌株的 16S rDNA 序列在 Genbank 数据库中进行对比分析，选取了 18 个同源性大于 99% 的菌株序列，用 Mega 5.05 软件进行序列对比，建立的系统发育树如图 4 所示。

从图 4 中可以看出，S7 菌株与荧光假单胞菌 (*Ps. fluorescens*) (登录号: FJ147200.1) 同源性最高，可达 99%。表明 S7 菌株与荧光假单胞菌亲缘关系最近，由此推断冷藏三文鱼片的优势腐败菌为荧光假单胞菌。

### 2.7 冷藏三文鱼片优势腐败菌的 VITEK2 微生物自动系统鉴定结果

物自动系统鉴定结果

系统发育树所得结果相一致。

荧光假单胞菌比其他腐败菌能更加迅速的附着到物体的表面<sup>[13]</sup>，导致物体的腐败。郭全友等<sup>[14]</sup>通过表型和细胞脂肪酸组成特征等方面分析了罗非鱼货架期

终点的优势腐败菌,推论荧光假单胞菌是罗非鱼中的优势腐败菌,这与本文结果一致。

### 3 结论

0 °C 贮藏的冰鲜三文鱼片在贮藏初期的主要菌群为葡萄球菌属、假单胞菌属、片球菌属、微球菌属、气单胞菌属、肉食杆菌属及少部分少动鞘氨醇单胞菌属。随着冷藏期的延长,腐败菌菌相逐渐单一,葡萄球菌属、片球菌属、肉食杆菌属呈明显的下降趋势,气单胞菌属及少动鞘氨醇单胞菌属完全消失;假单胞菌呈上升趋势且数量占优势。通过 16S rDNA 序列分析法构建系统发育树分析及微生物自动共同鉴定系统,确定荧光假单胞菌 (*Pseudomonas fluorescens*) 为冷藏三文鱼片的优势腐败菌。

### 参考文献

- [1] Dalgaard P. Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish [J]. International Journal of Food Microbiology, 1995, 26: 319-333
- [2] Zogul Y, Zyurt G, Zogul F, et al. Freshness assessment of European eel (*Anguilla anguilla*) by sensory, chemical and microbiological methods [J]. Food Chemistry, 2005, 92: 745-751
- [3] Sabrina Mac é Mireille Cardinal, Emmanuel Jaffr ès, et al. Evaluation of the spoilage potential of bacteria isolated from spoiled cooked whole tropical shrimp (*Penaeus vannamei*) stored under modified atmosphere packaging [J]. Food Microbiology, 2014, 40: 9-17
- [4] 包海蓉,张奎.不同冷藏温度对生鲜三文鱼品质变化的影响 [J].食品工业科技,2012,33(14):344-347  
BAO Hai-rong, ZHANG Kui. Effect of different refrigeration temperatures on quality changes of fresh salmon [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(14): 344-347
- [5] E Indergard, I Tolstorebrov, H Larsen, et al. The influence of long-term storage, temperature and type of packaging materials on the quality characteristics of frozen farmed Atlantic salmon (*Salmo Salar*) [J]. International Journal of Refrigeration, 2014, 41: 27-36
- [6] 靳春秋,迟海,杨宪时,等.冰藏三文鱼品质变化及菌相分析 [J].食品与发酵工业,2013,39(4):220-226  
JIN Chun-qi, CHI Hai, YANG Xian-shi, et al. Quality and bacterial phase changes of salmon during iced storage [J]. Food and Fermentation Industries, 2013, 39(4): 220-226
- [7] 佟懿,谢晶.鲜带鱼不同贮藏温度的货架期预测模型 [J].农业工程学报,2009,25(6):301-305.  
Tong Yi, Xie Jing. Prediction model for the shelf-life of *Trichiurus haumela* stored at different temperatures [J]. Transactions of the CSAE, 2009, 25(6): 301-305
- [8] 江华珍,翁佩芳,沈宁春.鱿鱼丝菌像分析与腐败菌的分离鉴定 [J].食品工业科技,2011,32(8):195-201  
JIANG Hua-zhen, WENG Pei-fang, SHEN Ning-chun. Isolation and identification of spoilage bacteria in squid thread [J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 32(8): 195-201
- [9] LI M, ZHOU G, XU X. Changes of bacterial diversity and main flora in chilled pork during storage using PCR-DGGE [J]. Food Microbiology, 2006, 23(7): 607-611
- [10] 崔正翠,许钟,杨宪时,等.冷藏大菱鲆细菌组成变化和优势腐败菌 [J].食品科学,2011,32(13):184-187  
CUI Zheng-cui, XU Zhong, YANG Xian-shi, et al. Change of bacterial flora and predominant spoilage bacteria in *Scophthalmus maximus* during chilled storage [J]. Food Science, 2011, 32(13): 184-187
- [11] Muhammad Inam Afzal, Thibaut Jacquet, Stéphane Delaunay, et al. *Carnobacterium maltaromaticum*: Identification, isolation tools, ecology and technological aspects in dairy products [J]. Food Microbiology, 2010, 27(5): 573-579
- [12] Gram L, Dalgaard P. Fish spoilage bacteria: problems and solutions [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2002, 13(3): 262-266
- [13] Ellis D I, Broadhurst D, Goodacre R. Rapid and quantitative detection of the microbial spoilage of beef by Fourier transform infrared spectroscopy and machine learning [J]. Analytica Chimica Acta, 2004, 514(2): 193-201
- [14] 郭全友,许钟,杨宪时.冷藏罗非鱼特定腐败菌的鉴定和生长动力学 [J].渔业科学进展,2009,30(4):117-123  
GUO Quan-you, XU Zhong, YAGN Xian-shi. Identification and growth dynamics of specific spoilage organisms in chilled tilapia [J]. Progress in Fishery Sciences, 2009, 30(4): 117-123