

罗非鱼冷藏过程细菌种群的变化

杨宪时, 郭全友, 许 钟

(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)

摘要: 对养殖尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 0~10 ℃ 贮藏过程中感官、化学、微生物品质和细菌种群消长研究表明, 初始样品挥发性盐基氮为 $(8.08 \pm 0.29) \text{ mg}/(100 \text{ g})$, 菌落总数 (CFU/g) 的对数值为 4.79 ± 0.60 ; 细菌种群复杂, 种类繁多, 分离到 570 株菌, 其中 80.5% 为革兰氏阴性菌, 13.6% 为革兰氏阳性菌, 优势菌是假单胞菌 (*Pseudomonas* spp.) (36.5%)、肠杆菌科细菌 (*Enterobacteriaceae*) (14.2%) 和气单胞菌 (*Aeromonas* spp.) (15.3%), 同时检出了一定比例的不动杆菌和其他细菌。冷藏过程中肠杆菌科细菌、气单胞菌等生长受到抑制, 细菌菌相组成逐渐变得单一, 适应低温环境下革兰氏阴性菌比例不断增加, 0 ℃、5 ℃、10 ℃ 贮藏至货架期终点时, 阴性菌的比例分别达到 86.4%、88.9%、100.0%; 假单胞菌增殖显著, 比例分别达到 80.7%、68.1%、60.0%, 可确认其为 0~10 ℃ 贮藏罗非鱼的优势腐败菌。假单胞菌的种类变化趋势显示, 优势顺序分别为荧光假单胞菌 (*P. fluorescens*)、恶臭假单胞菌 (*P. putida*)、铜绿假单胞菌 (*P. aeruginosa*)、产碱假单胞菌 (*P. alcaligenes*), 0 ℃、5 ℃、10 ℃ 贮藏至货架期终点时, 假单胞菌中荧光假单胞菌分别占 52.1%、53.1%、59.3%, 可确认其为最优势种群。[中国水产科学, 2008, 15(6): 1 050-1 055]

关键词: 罗非鱼; 冷藏; 细菌菌相; 优势腐败菌; 假单胞菌

中图分类号: S984.1

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2008)06-1050-06

鱼类贮藏流通过程中, 细菌增殖是导致腐败变质的主要原因, 因鱼种、栖息水域、捕获方式、贮藏条件等不同, 细菌种群和数量的变化亦存在差异。冷藏可以有效抑制细菌的增殖速度, 成为目前应用最广泛、最有效的水产品保鲜方法之一。鲜鱼冷藏期间细菌种群不断发生变化, 某些细菌适应此贮藏条件逐渐占据优势地位, 并产生腐败臭味和异味等代谢产物, 这些细菌就是该产品的特定腐败菌 (Specific Spoilage Organism, SSO)^[1]。由于各种细菌的腐败能力及产生的代谢产物不同, 造成对产品不同的腐败作用^[2], 因此研究鱼类腐败过程不仅需要研究细菌数量的变化, 研究细菌种类的变化显得十分重要。过去几十年来国外对新鲜、冷藏过程和腐败鱼类的细菌学进行了积极研究^[3-5], 但中国在水产品保鲜领域的微生物学研究较少, 鲜鱼捕获、加工、流通过程中细菌相组成和腐败细菌的探讨存在空白, 相关研究的开展能促进鱼类保鲜和物流技术的进步。

本研究在对罗非鱼冷藏过程中品质变化特征和货架期研究的基础上^[6], 重点对新鲜和腐败罗非鱼细菌菌群进行定性和定量研究, 探讨不同种类细菌在产品冷藏过程的变化规律和确定导致产品腐败变质的优势腐败菌, 为进一步阐明特定腐败菌和靶向抑制产品腐败提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料来源

实验用淡水养殖尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*), 由北极品水产 (浙江) 有限公司提供。分别于 2003 年 9 月、11 月、12 月和 2004 年 3 月采集 4 批样品, 活鱼运至实验室后立即放入冰水中致死。

1.2 样品贮藏

以冰水致死罗非鱼为初始样本, 选用体质量均一的样本 (体质量 500~650 g), 剖开腹腔去除内脏、洗净, 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

收稿日期: 2008-02-01; 修订日期: 2008-04-10.

基金项目: 国家自然科学基金项目资助项目 (30771675); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (2007M05).

作者简介: 杨宪时 (1954-), 男, 研究员, 主要从事水产品贮藏加工和品质保障技术研究. E-mail: xianshiyang@126.com

153, 日本) 中, 温度分别控制在 $(0 \pm 0.1)^\circ\text{C}$ 、 $(5 \pm 0.1)^\circ\text{C}$ 、 $(10 \pm 0.1)^\circ\text{C}$ 。贮藏期间根据鲜度变化选择适当时间点取样, 每次随机取鱼样 2 尾。

1.3 感官质量评价方法

由 6 名经过训练的评价员组成感官评价小组, 在取样时进行生鱼感官评价, 将剖切的另半条鱼煮熟进行熟鱼感官评价。以生鱼的气味和熟鱼的气味和味道为主要评价依据, 结合其他感官特征做出评价, 分为 0~2 等级。0 为初始品质即最高品质; 1 为鲜香味淡或消失, 为高品质期终点; 2 为出现明显腐败味即货架期终点^[1]。煮熟时取鱼体中段鱼块用铝箔包好, 待锅中水沸腾后, 将试样放入锅内的金属篦子上, 盖上锅盖蒸 20 min, 取出后立即进行感官评价。

1.4 样品前处理

去鳞去腮洗净, 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, 用于挥发性盐基氮(TVBN)和菌落总数(TVC)测定。

1.5 TVBN测定

称取打碎鱼肉约 10 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, 结果以每 100 g 样品中所含 N 的 mg 数表示。

1.6 菌落总数测定和培养基

称取打碎鱼肉浆约 10 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, 涂布于营养琼胶培养基表面(中国科学院上海昆虫科技开发公司康乐培养基有限公司), 每个稀释液涂布 2 个平皿。25℃培养 48 h。

1.7 细菌分离、纯化与鉴定

挑选菌落数合适的平板, 对整个平板或一定区域内所有菌落(通常 30~150 个菌落), 依据菌落形态特征分组, 每组挑取所有菌落或若干菌落(至少 2~3 个菌落), 分离纯化 25℃培养 24~48 h; 参照《常见细菌系统鉴定手册》^[7]、海产鱼类细菌鉴定图^[8], 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 Sensititre 细菌鉴定系统(TREK Diagnostic Systems LTD, 英国)进行测定。

2 结果与分析

2.1 0~10℃贮藏过程罗非鱼品质变化

表 1 显示, 罗非鱼初始 TVBN 为 (8.08 ± 0.29) mg/(100 g), 菌落总数(CFU/g)对数值为 4.79 ± 0.60 。0℃、5℃、10℃贮藏, 罗非鱼高品质期分别为 11 d、6 d、3 d, 货架期分别为 20 d、9.5 d、5 d。高品质期终点时, TVBN 为 (11.57 ± 1.62) mg/(100 g), 菌落总数(CFU/g)对数值为 6.62 ± 0.50 , 货架期终点即出现明显异味感官不可接受时, TVBN 为 (20.70 ± 1.40) mg/(100 g), 菌落总数(CFU/g)对数值为 7.90 ± 0.26 。

表 1 0℃、5℃、10℃贮藏中罗非鱼初始、高品质期和货架期终点的 TVBN 值和微生物数
Tab.1 Microbial populations at initial stage, end point of high quality life and shelf life of tilapia stored aerobically at 0℃, 5℃, 10℃ and the value of total volatile nitrogen

贮藏期 Storage period	质量指标 Quality index	贮藏温度/℃ Storage temperature			$\bar{x} \pm \text{SD}$
		0	5	10	
初始 Initial time	TVBN / (mg·100 ⁻¹ ·g ⁻¹)	7.84	8.40	8.00	8.08 ± 0.29
	TVC / lg(CFU·g ⁻¹)	5.29	4.12	4.96	4.79 ± 0.60
高品质期 High quality life	TVBN / (mg·100 ⁻¹ ·g ⁻¹)	10.10	11.30	13.30	11.57 ± 1.62
	TVC / lg(CFU·g ⁻¹)	6.15	6.58	7.14	6.62 ± 0.50
货架期终点 End of shelf life	TVBN / (mg·100 ⁻¹ ·g ⁻¹)	19.70	20.10	22.30	20.70 ± 1.40
	TVC / lg(CFU·g ⁻¹)	7.78	7.73	8.20	7.90 ± 0.26

2.2 罗非鱼初始细菌多样性

采用传统表观型试验对罗非鱼初始细菌计数平板分离获得的 570 株细菌进行分类与鉴定, 共分为

2 种类型 18 组, 第 1~11 组呈革兰氏阴性, 第 12~18 组呈革兰氏阳性。表 2 显示, 罗非鱼初始细菌菌相

组成复杂,由于采样时间存在差异,细菌种群及所占比例亦有较大差异。革兰氏阴性菌占总菌株数的80.5%,优势菌群为假单胞菌(36.5%)、肠杆菌科细

菌(14.2%)、气单胞菌(15.3%),并检出了一定比例的不动杆菌和其他细菌。革兰氏阳性菌所占比例为13.6%,主要为玫瑰小球菌和沃氏葡萄球菌。

表2 罗非鱼初始细菌菌相组成
Tab.2 Bacterial flora composition of tilapia at initial stage

细 菌 Bacteria	样品 1 Sample 1		样品 2 Sample 2		样品 3 Sample 3		样品 4 Sample 4		合计 Total	
	菌株 数量	%	菌株 数量	%	菌株 数量	%	菌株 数量	%	菌株 数量	%
	Isolations		Isolations		Isolations		Isolations		Isolations	
革兰氏阴性菌 Gram negative bacteria	205	80.8	74	80.4	78	75.7	97	83.6	459	80.5
1 假单胞菌 <i>Pseudomonas</i> spp.	98	38.6	36	39.1	30	29.1	44	37.9	208	36.5
2 肠杆菌 <i>Enterobacteriaceae</i>	27	10.6	8	8.7	15	14.6	16	13.8	81	14.2
3 不动细菌属 <i>Acinetobacter</i> spp.	19	7.5	8	8.7	8	7.8	11	9.5	36	6.3
4 气单胞菌属 <i>Aeromonas</i> spp.	41	16.1	17	18.5	11	10.7	18	15.5	87	15.3
5 水生黄杆菌 <i>Flavobacterium aquatilis</i>	5	2.0	0	0	5	4.8	0	0	10	1.8
6 发消化产碱杆菌 <i>Alcaligenes denitrificans</i>	4	1.6	0	0	3	2.9	0	0	7	1.2
7 浅金黄色单胞菌 <i>Chryseomonas luteola</i>	0	0	0	0	0	0	8	6.9	8	1.4
8 栖稻黄色单胞菌 <i>Flavimonas oryzae</i>	0	0	5	5.4	6	5.8	0	0	11	1.9
9 嗜冷杆菌 <i>Psychrobacter</i> spp.	4	1.6	0	0	0	0	0	0	4	0.7
10 鳃弧菌 <i>Vibrio anguillarum</i>	5	2.0	0	0	0	0	0	0	5	0.9
11 短稳黄杆菌 <i>Empedobacter</i> spp.	2	0.8	0	0	0	0	0	0	2	0.4
革兰氏阳性菌 Gram positive bacteria	30	11.9	12	13.0	18	17.5	17	14.6	77	13.6
12 棒状菌属 <i>Corynebacterium</i> spp.	7	2.8	0	0	0	0	0	0	7	1.2
13 玫瑰小球菌 <i>Micrococcus roseus</i>	13	5.1	8	8.7	11	10.7	12	10.3	44	7.8
14 红球菌 <i>Rhodococcus</i> spp.	2	0.8	0	0	0	0	0	0	2	0.4
15 链球菌 <i>Streptococcus</i> spp.	8	3.2	0	0	0	0	0	0	8	1.4
16 屎肠球菌 <i>Enterococcus faecium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17 绿色气杆菌 <i>Aeromonas viridans</i>	0	0	0	0	0	0	5	4.3	5	0.9
18 沃氏葡萄球菌 <i>Staphylococcus warneri</i>	0	0	4	4.3	7	6.8	0	0	11	1.9
未鉴定 No identified	19	7.5	6	6.5	7	6.8	2	1.7	34	6.0
总计 Total	254	100	92	100	103	100	116	99.9	570	100

2.3 冷藏过程中细菌相的变化

新鲜罗非鱼初始细菌相组成复杂,冷藏过程中非好冷菌不耐低温生长受到限制,菌群组成逐渐变得单一。假单胞菌由于适应低温环境,0℃冷藏至高品质期终点时即为优势菌(40.1%),肠杆菌

科细菌和气单胞菌仍有一定比例,分别为9.5%和8.6%,其他细菌比例均较少。0℃、5℃、10℃冷藏至货架期终点时,假单胞菌均为优势菌,比例分别为80.7%、68.1%和60.0%,气单胞菌、不动细菌、水生黄杆菌、浅金黄色单胞菌等也有一定比例(表3)。

表 3 罗非鱼在 0 ℃、5 ℃、10 ℃贮藏过程的细菌种群变化

Tab.3 Bacterial species changes in tilapia during chilled storage at 0 ℃, 5 ℃, 10 ℃

细 菌 Bacteria	0 ℃				5 ℃		10 ℃	
	高品质期终点 High quality life		货架期终点 End of shelf life		货架期终点 End of shelf life		货架期终点 End of shelf life	
	菌株 Isolation	%	菌株 Isolation	%	菌株 Isolation	%	菌株 Isolation	%
革兰氏阴性菌 Gram negative bacteria	231	76.0	76	86.4	64	88.9	45	100
1 假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i> spp.	122	40.1	71	80.7	49	68.1	27	60.0
2 肠杆菌 <i>Enterobacteriaceae</i>	29	9.5	2	2.3	0	0	0	0
3 不动细菌属 <i>Acinetobacter</i> spp.	15	4.9	0	0	1	1.4	4	8.9
4 气单胞菌属 <i>Aeromonas</i> spp.	26	8.6	0	0	8	11.1	7	15.6
5 水生黄杆菌 <i>Flavobacterium aquatilis</i>	9	3.0	0	0	6	8.3	0	0
7 浅金黄色单胞菌 <i>Chryseomonas luteola</i>	0	0	0	0	0	0	5	11.1
8 栖稻黄色单胞菌 <i>Flavimonas oryzihabitans</i>	0	0	0	0	0	0	2	4.4
9 嗜冷杆菌 <i>Psychrobacter</i> spp.	16	5.3	3	3.4	0	0	0	0
10 鳃弧菌 <i>Vibrio anguillarum</i>	6	2.0	0	0	0	0	0	0
11 短稳黄杆菌 <i>Empedobacter</i> spp.	8	2.6	0	0	0	0	0	0
革兰氏阳性菌 Gram positive bacteria	47	15.5	4	4.5	0	0	0	0
12 棒状菌属 <i>Corynebacterium</i> spp.	18	5.9	2	2.3	0	0	0	0
13 玫瑰小球菌 <i>Micrococcus rose</i>	18	5.9	0	0	0	0	0	0
16 屎肠球菌 <i>Enterococcus faecium</i>	4	1.3	0	0	0	0	0	0
17 绿色气球菌 <i>Aeromonas viridans</i>	7	2.3	0	0	0	0	0	0
18 沃氏葡萄球菌 <i>Staphylococcus warneri</i>	0	0	2	2.3	0	0	0	0
未鉴定 No identified	26	8.6	8	9.1	8	11.1	0	0
合计 Total	304	100	88	100	72	100	45	100

2.4 优势腐败菌种群的消长

表 4 显示在优势腐败菌假单胞菌属的细菌中, 0 ℃、5 ℃、10 ℃贮藏优势腐败菌种主要为荧光假单胞菌, 恶臭假单胞菌、铜绿假单胞菌和产碱假单胞菌, 其中荧光假单胞菌为最优势种群。

初始时荧光假单胞菌比例为 29.3%, 冷藏过程中荧光假单胞菌呈一直上升趋势, 0 ℃贮藏高品质期终点为 49.2%, 0 ℃、5 ℃、10 ℃贮藏货架期终点时, 荧光假单胞菌比例分别为 52.1%、53.1%、59.3%。

表 4 罗非鱼中优势腐败菌种群的变化

Tab.4 Species changes in dominated bacteria of tilapia

细 菌 Bacteria	初 始 Initial time		0 ℃				5 ℃		10 ℃	
			高品质期终点 High quality life		货架期终点 End of shelf life		货架期终点 End of shelf life		高品质期终点 High quality life	
	菌株 Isolation	%	菌株 Isolation	%	菌株 Isolation	%	菌株 Isolation	%	菌株 Isolation	%
1 荧光假单胞菌 <i>P. fluorescens</i>	61	29.3	60	49.2	37	52.1	26	53.1	16	59.3
2 铜绿假单胞菌 <i>P. aeruginosa</i>	51	24.5	26	21.3	13	18.3	5	10.2	3	11.1
3 恶臭假单胞菌 <i>P. putida</i>	39	18.8	19	15.6	21	29.6	11	22.4	6	22.2
4 产碱假单胞菌 <i>P. alcaligenes</i>	57	27.4	17	13.9	0	0	7	14.3	2	7.4
合计 Total	208	100.0	122	100.0	71	100.0	49	100.0	27	100.0

3 讨论

本研究采用感官、化学和细菌学方法对同一水域不同季节养殖罗非鱼 0~10℃贮藏过程的鲜度变化进行评价,确定 0℃、5℃和 10℃货架期分别为 20 d、9.5 d 和 5 d,表明与鲤、鲮等淡水鱼相比,罗非鱼属于鲜度下降慢的鱼种^[9-10]。冷藏鱼类货架期与其栖息水域密切相关,一般认为栖息水域温度越高其冷藏货架期越长,例如热带水域捕获鱼类冷藏时,其携带细菌的增殖要经历 1~2 周延滞期^[11],然后进入对数生长期,货架期比冷、温水域鱼要长,主要原因是鱼体中中温菌数量多,要逐渐适应冷藏温度,所以有益于延长货架期;其次是腐败菌系差异或细菌腐败活性不同。

新鲜鱼体细菌多数来自生长水域,水域和地域差异对细菌菌群种类影响较大。本次测试 4 批罗非鱼样品携带的细菌菌群表现出一定的相似性,革兰氏阴性菌占据优势地位,分别为 80.8%、80.4%、75.7%、83.6%,细菌相主要由假单胞菌 (36.5%)、肠杆菌科细菌 (14.2%)、气单胞菌 (15.3%) 等革兰氏阴性菌组成,并出现了一定数量的革兰氏阳性菌 (13.6%),如棒状菌属、玫瑰小球菌等。相比其他研究者报道的不同水域捕获的罗非鱼,本研究中罗非鱼的初始菌相存在较大差异又有相似之处,如维多利亚湖淡水水域野生罗非鱼的菌相中革兰氏阴性菌占 61%,阳性菌占 39%,主要包括摩氏杆菌 (35.8%)、微球菌 (20.8%)、产碱杆菌 (9.4%) 等^[12],而沙特阿拉伯半咸水养殖的罗非鱼初始菌相主要包括弧菌、链球菌、单胞菌 (*Chryseomonas* spp.) 等^[13],表明鱼类栖息水域温度和盐分含量差异对细菌相组成有明显影响。养殖鱼类细菌类群分布受人为影响因素制约,特别在养殖密度较大和卫生控制不良水域细菌量较高(如表 1 所示菌落总数的对数值高达 4.79 ± 0.60 ,肠杆菌科细菌比例高,而未污染海域野生鱼类肠杆菌科细菌比例较少,如亚德里亚海沙丁鱼以假单胞菌、嗜冷杆菌、不动杆菌为主^[14]。不同水域、不同鱼类中具有不同的细菌群落,因此对地域性产品进行微生物学研究非常必要。

有氧低温贮藏过程中,随着贮藏时间的延长,罗非鱼菌相变的较为单一,适应低温环境的革兰氏阴性菌增殖显著,比例不断增加,且贮藏温度越低,阴性菌的比例越高,0℃、5℃、10℃贮藏至货架期终点时,阴性菌的比例分别达到 86.4%、

88.9%、100.0%。0℃贮藏至腐败点时,水生黄杆菌等逐渐消失,假单胞菌大量增殖,明显占据绝对优势 (80.7%); 5℃、10℃时,虽然仍有肠杆菌、气单胞菌、不动杆菌存在,但其生长受到抑制,数量较少,而且温度越低,假单胞菌的比例越高,依次为 68.1%、60.0%。假单胞菌种类变化趋势显示优势顺序分别为荧光假单胞菌、恶臭假单胞菌、铜绿假单胞菌、产碱假单胞菌。可以确定假单胞菌为 0℃、5℃、10℃冷藏罗非鱼的优势腐败菌,荧光假单胞菌为其最优势种群。许多研究者认为,尽管初始菌的差异导致腐败点的细菌菌相有所不同,但有氧冷藏和冰藏海水鱼的腐败过程中,最常见的微生物是假单胞菌和(或)腐败希瓦氏菌,同样条件贮藏的淡水鱼的腐败过程中,假单胞菌占统治地位,而海洋性腐败微生物腐败希瓦氏菌几乎不出现^[14-15]。本研究罗非鱼所处养殖水域为亚热带,0~10℃冷藏过程假单胞菌为优势腐败菌,与冷藏冷水海洋鱼类的优势腐败菌为腐败希瓦氏菌是不同的^[16-17],表明有必要对具有中国地域特色养殖鱼类的特定腐败菌进行系统研究。

参考文献:

- [1] Taoukis P S, Koutsoumanis K, Nychas G J E. Use of time temperature integrators and predictive modeling for shelf life control of chilled fish under dynamic storage conditions[J]. Int J Food Microbiol, 1999, 53: 21-31.
- [2] 杨宪时,许钟,肖琳琳. 水产食品特定腐败菌与货架期的预测和延长[J]. 水产学报, 2004, 28(1): 106-111.
- [3] Surendran P K, Jose J, Shenoy A V, et al. Studies on spoilage of commercially important tropical fishes under iced storage[J]. Fish Res, 1989, 7: 1-9.
- [4] Gram L, Huss H H. Microbiological spoilage of fish and fish product[J]. Int J Food Microbiol, 1996, 33: 121-137.
- [5] Gillespie N C, Macrae I C. The bacterial flora of some Queensland fish and its ability to cause spoilage[J]. J Appl Bact, 1975, 39: 91-100.
- [6] 许钟,杨宪时,肖琳琳. 低温贮藏罗非鱼微生物质量变化特征和保藏期[J]. 中国海洋大学学报, 2005, 35(4): 621-625.
- [7] 东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [8] 須山三千三,鴻巣章二. 水产食品学[M]. 東京: 恒星社厚生閣, 1987: 111-118.

- [9] 杨鸣玉. 建立罗非鱼保鲜期实验方程及其应用性探讨 [J]. 湛江水产学院学报, 1996, 16(1): 35-37.
- [10] 蔡慧农, 陈发河, 吴光斌, 等. 罗非鱼冷藏期间鲜度变化及控制的研究 [J]. 中国食品学报, 2003, 3(4): 46-50.
- [11] Surendran P K, Jose J, Shenoy A V, et al. Studies on spoilage of commercially important tropical fishes under iced storage [J]. Fish Res, 1989, 7: 1-9.
- [12] Gram L, Wedell-Neergaard C, Huss H H. The bacteriology of fresh and spoiling Lake Victorian Nile perch (*Lates niloticus*) [J]. Int J Food Microbiol, 1990, 10: 303-316.
- [13] Al-Harbi A H, Uddin N. Bacterial diversity of tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in Brackish water in Saudi Arabia [J]. Aquaculture, 2005, 250: 566-572.
- [14] Gennari M, Tomaselli S, Cotroneo V. The microflora of fresh and spoiled sardines (*Sardina pilchardus*) caught in Adriatic (Mediterranean) Sea and stored in ice [J]. Food Microbiol, 1999, 16: 15-28.
- [15] Jorgensen B R, Gibson D M, Huss H H. Detection of special spoilage bacteria from fish stored at low (0) and high (20 °C) temperatures [J]. Int J Food Microbiol, 1987, 4: 65-72.
- [16] 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.
- [17] 郭全友, 杨宪时, 许钟, 等. 养殖大黄鱼冷藏过程中细菌相变化的研究 [J]. 中国水产科学, 2007, 14(2): 301-308.

Bacterial species changes in cultured tilapia during chilled storage

YANG Xian-shi, GUO Quan-you, XU Zhong

(Key and Open Laboratory of Marine Estuarine Fisheries, Ministry of Agriculture, East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China)

Abstract: Bacteria activity was the main cause of fish spoilage during processing, distribution and storage. Microbial degradation may manifest itself as spoilage, that is, changes in sensory properties of a food product rendering it unsuitable for human consumption. Different dominated spoilage microorganisms were found in different seafoods and may be a single species. It is very important to investigate the bacterial counts and bacterial flora changes for understanding its spoilage. Quality changes in tilapia stored at low temperatures (0 °C, 5 °C and 10 °C) were investigated in the aspects of sensory, total volatile basic nitrogen (TVBN) and total viable count (TVC), and its bacterial flora changes were also qualitatively and quantitatively studied. The results showed that its freshness were excellent, with TVC and the mean values of TVBN reaching $(4.79 \pm 0.60) \lg(\text{CFU/g})$, $(8.08 \pm 0.29) \text{ mg/(100 g)}$ at the initial storage. 570 strains of bacteria were isolated at the initial storage and 80.5% of them were gram negative bacteria, a small percent of gram positive bacteria were found (13.6%). The predominant bacterial flora were composed of *Pseudomonas* spp. (36.5%), Enterobacteriaceae (14.2%) and *Aeromonas* spp. (15.3%). A few percent of Acinetobacter spp. and other bacteria were also found. The growth of Enterobacteriaceae and *Aeromonas* spp. were inhibited during storage at low temperatures, and then the composition of bacteria flora gradually became simple, and the percent of gram negative bacteria which are suitable for low temperatures increased significantly during storage. The gram negative bacteria were 86.4%, 88.9% and 100.0% at the end of shelf life at 0 °C, 5 °C and 10 °C, respectively, and *Pseudomonas* spp. reached 80.7%, 68.1% and 60.0%, respectively, indicating *Pseudomonas* spp. was the most predominated spoilage bacteria of tilapia stored from 0 °C to 10 °C. The species changes of *Pseudomonas* spp. indicated that the major four species were *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. aeruginosa* and *P. alcaligenes*. *P. fluorescens* was the most dominated spoilage species of chilled-storage tilapia, reaching 52.1%, 53.1% and 59.3% at 0 °C, 5 °C and 10 °C, respectively. [J. of Fishery Sciences of China, 2008, 15(6): 1050-1055]

Key words: tilapia; chilled storage; bacterial flora; dominated spoilage bacteria; *Pseudomonas* spp.