

基于高通量测序探究空间电场对带鱼保鲜过程中微生物群落的影响

汪倩¹, 谢超^{1*}, 郑霖波¹, 郑炜²

(1. 浙江海洋大学 食品与药学院, 浙江 舟山 316000; 2. 舟山市常青海洋食品有限公司, 浙江 舟山 316000)

摘要:为研究空间电场技术对带鱼的保鲜效果,采用高通量测序(Illumina Miseq)技术,对舟山带鱼在空间电场结合微冻保鲜贮藏期间菌相变化及其碱基段进行基因测序,通过操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU)群落聚类及相关分析、多样性指数分析、菌群组成分析、样本菌落结构分析、相关性分析,分析影响带鱼保鲜效果的微生物菌落组成和生物信息。设置3 kV/m和2 kV/m两组电场参数,并以无电场处理组作为对照,各组均置于-4℃下低温贮藏,探究不同强度电场处理对舟山带鱼微生物群落组成的影响。根据菌属相对丰度结果,推测空间电场结合低温对舟山带鱼保鲜过程中,嗜冷杆菌属(*Psychrobacter*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、紫色杆菌属(*Janthinobacterium*)对带鱼腐败变质的影响显著,20 d后,经3 kV/m处理的样品其OTU6嗜冷杆菌属和OTU13假单胞菌属的相对丰度均小于1%,而且OTU7、OTU14、OTU8、OTU9等菌属未被OTU聚类。结果表明,带鱼在冷藏过程中存在卫生质量风险,而空间电场能够有效抑制带鱼贮藏过程中腐败菌的增殖,从而延长带鱼的货架期。

关键词:空间电场;带鱼;保鲜运输;高通量测序;相关性分析;菌落总数

Effect of Space Electric Field on the Microbial Community of *Trichiurus lepturus* in Freshness Preservation Based on High-Throughput Sequencing

WANG Qian¹, XIE Chao^{1*}, ZHENG Linbo¹, ZHENG Wei²

(1. College of Food and Pharmacy, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316000, Zhejiang, China;

2. Zhoushan Changqing Ocean Food Company, Zhoushan 316000, Zhejiang, China)

Abstract: The preservation effect of space electric field on *Trichiurus lepturus* was studied. High-throughput sequencing (Illumina Miseq) was employed to determine the microbial changes and base segments of *Trichiurus lepturus* collected in Zhoushan and preserved by space electric field combined with micro-freezing preservation. Operational taxonomic unit (OTU) clustering and correlation analysis, diversity analysis, microbial composition analysis, microbial community structure analysis, and correlation analysis were conducted to reveal the microbial community composition and biological information that affect the preservation effect of *T. lepturus*. The electric fields were set at 3 kV/m and 2 kV/m, respectively, and the non-electric field treatment group was taken as the control. Each group of samples was stored at -4℃. The effects of electric field treatments at different intensities on the microbial community composition of *T. lepturus* were compared among the three groups. The microbial relative abundance suggested that during the preservation process of *T. lepturus* under the combination of space electric field and low temperature, the effects of *Psychrobacter*, *Pseudomonas*, and *Janthinobacterium* on the spoilage of *T. lepturus* were significant. After 20 days, the relative abundance of OTU6 (*Psychrobacter*) and OTU13 (*Pseudomonas*) in the samples treated with 3 kV/m electric field was less than 1%, and OTU7, OTU14, OTU8, and OTU9 were not clustered. The results indicated that there were hygiene quality risks in the preservation process of *T. lepturus*, and space electric fields can inhibit the proliferation of spoilage bacteria in *T. lepturus*, thereby extending its shelf life.

Key words: space electric field; *Trichiurus lepturus*; fresh-keeping transportation; high-throughput sequencing; correlation analysis; number of colony species

基金项目:普陀山-朱家尖管委会科技计划项目(202303)

作者简介:汪倩(1998—),女(汉),硕士研究生,研究方向:食品加工与安全。

*通信作者:谢超,副教授,博士。

引文格式:

汪倩,谢超,郑霖波,等.基于高通量测序探究空间电场对带鱼保鲜过程中微生物群落的影响[J].食品研究与开发,2024,45(5):107-113.

WANG Qian, XIE Chao, ZHENG Linbo, et al. Effect of Space Electric Field on the Microbial Community of *Trichiurus lepturus* in Freshness Preservation Based on High-Throughput Sequencing[J]. Food Research and Development, 2024, 45(5): 107-113.

带鱼(*Trichiurus lepturus*)体带状,侧扁。舟山带鱼是冷水带鱼,个头小,肉质细腻嫩滑,营养价值高,含有丰富的镁元素,对心血管系统有很好的保护作用,有利于预防高血压、心肌梗塞等心血管疾病。然而,带鱼在捕捞后极易死亡,其属中脂鱼类,不饱和脂肪酸含量高,易受微生物和内源性蛋白酶的影响而产生胺类和醛类物质,发生腐败变质^[1-2],因此,探明带鱼贮藏期间的微生物菌群多样性是控制细菌繁殖、延长带鱼货架期的基础。

空间电场技术是新兴的食品绿色冷加工技术,研究前景十分广阔。电场保鲜是一种物理保鲜手段,能够在很大程度上保留食品的天然感官品质。目前电场保鲜装置主要分为低压静电场、低压变频电场等,研究主要集中于果蔬、禽肉、瘦肉等方面。陈文波等^[3]的研究表明,低压静电场可抑制微生物生长,可通过低压静电处理延长白切鸡货架期。岑剑伟等^[4]研究空间电场对罗非鱼的冷藏保鲜效果,发现高压静电场结合冰温气调组合条件可保持新鲜鱼片的品质,货架期也得到有效延长,为冰鲜罗非鱼鱼片产品在国内超市流通提供可行的技术条件。

高通量测序技术具有通量高、检测范围广、精准等特点,广泛应用在海捕鱼类、土壤、水体、医疗等领域。已有较多研究使用高通量测序对微生物菌落组成进行分析^[5-6],但空间电场结合低温对带鱼微生物群落影响鲜见报道。本文基于高通量测序技术,在进行微生物信息分析、菌落总数等品质指标测定的基础上,对贮藏至20 d的带鱼微生物群落碱基信息测序,产生的碱基序列通过操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU)群落聚类及相关分析、多样性分析、相关性分析等手段分析后,旨在获得影响带鱼保鲜效果的微生物群落组成和发育信息,探究不同电场强度对带鱼微生物群落组成的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜舟山带鱼:舟山市普陀海汇水产有限公司。E.Z.N.A™ Mag-Bind Soil DNA Kit 试剂:艾森生物(杭州)有限公司;Qubit3.0 DNA 试剂盒:美国 Life Technologies 公司;Hieff NGS™ DNA 分选磁珠、2×Hieff® Robust PCR Master Mix 试剂:翌圣生物科技(上海)股份有限公司。

1.2 仪器与设备

商用型空间电场发生器(BX-2000)、电场板:浙江驰力科技股份有限公司;INGENIUS 凝胶成像系统:上海复日科技有限公司;台式离心机(CF-16RN0):Thermo Fisher 公司;数字万用表(208107):福禄克测试仪器(上海)有限公司;荧光计(Q32866 Qubit 3.0):美国 Invitrogen 生物技术有限公司;MiSeq 测序平台:美国 Illumina 公司。

1.3 方法

1.3.1 样品处理

以同一批次新鲜舟山带鱼作为试验原料,挑选鱼体大小均匀、鱼肉饱满有弹性、鱼皮颜色鲜亮、鱼眼明亮无浑浊、品质完好无破损的个体运送至实验室后进行清洗、分装。

对照组(CG):使用无菌水及无菌纱布进行冲洗以及过滤,将带鱼放入无电场的环境下,-4℃微冻保鲜,样品标记为Y1。

试验组(TG):-4℃下将带鱼样品放入2、3 kV/m的电场强度下进行处理,鱼体距离电场板均为15 cm,电场频率为50 Hz,样品标记为Y2、Y3。

选择对照组和试验组的样品分别于0~20 d内定期取菌体沉淀物进行微生物菌群研究,判定其鲜度变化。在贮藏第20天时取出带鱼样本,使用高通量测序对带鱼微生物群落进行提取与进一步分析。

1.3.2 菌落总数的测定

带鱼菌落总数测定依照GB 4789.2—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》^[7]进行。

1.3.3 样品微生物提取

准确称取10.0 g带鱼样本,加入90 mL无菌生理盐水,然后采用无菌纱布过滤并用无菌水淋洗后,于离心机进行离心处理(12 000 r/min、10 min)。取下层沉淀物进行分析,每个样本做3次平行试验^[8]。

1.3.4 DNA 抽取

参照基因组DNA提取试剂盒说明,提取带鱼微生物中总基因组DNA,在琼脂糖凝胶电泳处理下检测样本中的基因组DNA以及纯度,琼脂糖凝胶电泳的体积分数为1%^[9-10]。之后使用生物信息学分析并进行高通量测序。

1.3.5 微生物群落分析

通过聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)引物扩增,对样本的数据进行聚类分析以及拼接

划分,收集各种序列进行进一步分析,对各个级别的菌落结构进行统计,经过处理后,对菌落分布以及变化进行统计分析以及可视化处理。

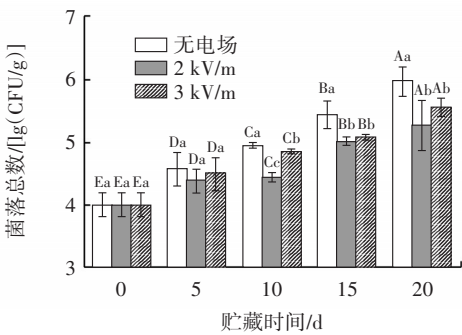
1.4 数据处理

所有试验均重复 3 次。获得的数据采用 Excel 2013 与 SPSS 18.0 进行统计分析,结果以平均值±标准差表示。

2 结果与分析

2.1 空间电场对菌落总数的影响

不同处理条件对带鱼菌落总数的影响见图 1。



不同大写字母表示组内差异显著, $P<0.05$;不同小写字母表示组间差异显著, $P<0.05$ 。

图 1 不同处理条件对带鱼菌落总数的影响
Fig.1 Effects of different treatment conditions on the total colonies of *Trichiurus lepturus*

由图 1 可知,随着贮藏时间的延长,整个贮藏期内带鱼菌落总数呈明显增长的趋势,组内存在显著差异($P<0.05$),电场组与无电场组增长趋势较为相似。贮藏 10~20 d 时,对照组(CG)的菌落总数一直高于试验组(TG),贮藏 0~5 d 时菌落总数无显著差异($P>0.05$)。

带鱼在贮藏过程中,鱼体中的微生物生长对带鱼鱼体产生一定的分解作用并生成各种物质从而影响带鱼的鲜度,所以菌落总数是判断鱼鲜度的重要指标之一。带鱼样本的最初菌落总数值为 3.99 lg(CFU/g),这主要是由鱼体中自身携带的内源性微生物与船舶捕捞以及车辆运输过程中从外界环境中接触的外源性微生物作用导致。在贮藏期间电场组的菌落总数始终低于无电场组,说明空间电场作用能够对带鱼中部分微生物的生长繁殖起到抑制作用。根据 GB 4789.2—2016 的规定,当菌落总数数值大于 6.00 lg(CFU/g)时带鱼已经变质不可食用。3 组带鱼菌落总数均随着时间延长而增长,贮藏第 5 天到第 20 天时,3 kV/m 的菌落总数始终高于 2 kV/m 组的菌落总数。在贮藏至第 20 天时,2 kV/m 组菌落总数最低,为 5.27 lg(CFU/g),说明在贮藏期间 2 kV/m 电场较 3 kV/m 电场更能抑制微生物的生长繁殖,应进一步对电场参数进行优化,研究不同电场强度对带鱼保鲜过程中不同贮藏时间微生物菌

落总数的抑制效果。

2.2 样品测序数据分析

样品测序数据分析结果见表 1~表 3。

表 1 不同电场强度处理下带鱼序列数据统计

Table 1 Sequencing data of <i>Trichiurus lepturus</i> treated under electric fields at different intensities			
样本	有效序列数	碱基数	平均长度
Y1	61 636	26 459 690	429.29
Y2	61 388	26 362 318	429.44
Y3	58 748	25 237 476	429.59

表 2 OTU 序列数统计

Table 2 Number of OTU sequences of <i>Trichiurus lepturus</i>			
OTU 序号	Y1	Y2	Y3
OTU1	16 471	5 085	31 245
OTU5	5 569	13	5
OTU3	13 472	4 252	2 234
OTU2	2 883	6 798	5 979
OTU4	1 396	3 838	2 669
OTU6	1 711	4 805	2 428
OTU7	497	365	8
OTU9	368	153	0
OTU12	153	1	0
OTU23	112	524	18
OTU20	48	24	0
OTU13	59	65	150
OTU16	60	38	55
OTU14	40	42	45

MiSeq 测序会产生大量的 16S 序列,OTU 是在遗传生物学和统计系统学研究中,为方便分析而人为对微生物菌群分类添加的标志。由表 1 中数据可以得出,带鱼样本的有效序列、碱基数目和平均序列长度大致相同,表明电场强度越大,检测出的有效序列与碱基数目越少。

表 2 中为所有优化序列与 OTU 代表序列对比,选取与代表性序列相似性大于 97% 的序列及其输出名,可得到不同样品间的 OTU 和序列数目的差异,需结合物种注释加以分析。OTU 物种的注释表明,带鱼在空间电场与-4 ℃结合处理贮藏条件下带鱼微生物群落均为细菌,并未发现真菌群落。门水平上,舟山新鲜带鱼样品总细菌组成主要以变形菌门与厚壁菌门为主。纲水平上,丙型变形菌纲(Gammaproteobacteria)为优势菌纲,丙型变形菌纲分布广泛,各组样品均有 OTU 聚类^[11-13]。科水平表现出了较高的丰度,聚类结果为希瓦氏菌科(Shewanellaceae)、假单胞菌科(Pseudomonadaceae)、鞘脂杆菌科(Sphingobacteriaceae)、微球菌科(Micrococcaceae)、莫拉氏菌科(Moraxellaceae)、草

表3 OTU 分类学信息
Table 3 OTU taxonomy information

OTU 序号	OTU 分类
OTU1	d 拟杆菌属(<i>Bacteria</i>);p 变形杆菌门(<i>Proteobacteria</i>);c 丙型变形菌纲(<i>Gammaproteobacteria</i>);o 假单胞菌目(<i>Pseudomonadales</i>);f 莫拉氏菌科(<i>Moraxellaceae</i>);g 嗜冷杆菌(<i>Psychrobacter</i>)
OTU5	d 拟杆菌属(<i>Bacteria</i>);p 变形杆菌门(<i>Proteobacteria</i>);c 丙型变形菌纲(<i>Gammaproteobacteria</i>);o 交替单胞菌目(<i>Alteromonadales</i>);f 希瓦氏菌科(<i>Shewanellaceae</i>);g 希瓦氏菌属(<i>Shewanella</i>)
OTU3	d 拟杆菌属(<i>Bacteria</i>);p 变形杆菌门(<i>Proteobacteria</i>);c 丙型变形菌纲(<i>Gammaproteobacteria</i>);o 假单胞菌目(<i>Pseudomonadales</i>);f 假单胞菌科(<i>Pseudomonadaceae</i>);g 假单胞菌属(<i>Pseudomonas</i>)
OTU2	d 拟杆菌属(<i>Bacteria</i>);p 厚壁菌门(<i>Firmicutes</i>);c 芽孢杆菌纲(<i>Bacilli</i>);o 芽孢杆菌目(<i>Bacillales</i>);f 李斯特氏菌科(<i>Listeriaceae</i>);g 环丝菌属(<i>Brochothrix</i>)
OTU4	d 拟杆菌属(<i>Bacteria</i>);p 变形杆菌门(<i>Proteobacteria</i>);c 丙型变形菌纲(<i>Gammaproteobacteria</i>);o 假单胞菌目(<i>Pseudomonadales</i>);f 莫拉氏菌(<i>Moraxellaceae</i>);g 放线菌(<i>Acinetobacter</i>)
OTU6	d 拟杆菌属(<i>Bacteria</i>);p 变形杆菌门(<i>Proteobacteria</i>);c 丙型变形菌纲(<i>Gammaproteobacteria</i>);o 假单胞菌目(<i>Pseudomonadales</i>);f 莫拉氏菌(<i>Moraxellaceae</i>);g 嗜冷杆菌(<i>Psychrobacter</i>)
OTU7	d 拟杆菌属(<i>Bacteria</i>);p 放线菌(<i>Acinetobacter</i>);c 放线菌属(<i>Actinobacteria</i>);o 不动杆菌目(<i>Actinomycetales</i>);f 微球菌科(<i>Micrococcaceae</i>);g 节杆菌(<i>Arthrobacter</i>)
OTU9	d 拟杆菌属(<i>Bacteria</i>);p 变形杆菌门(<i>Proteobacteria</i>);c 丙型变形菌纲(<i>Gammaproteobacteria</i>);o 假单胞菌目(<i>Pseudomonadales</i>);f 假单胞菌属(<i>Pseudomonadaceae</i>);g 假单胞菌属(<i>Pseudomonas</i>)
OTU12	d 拟杆菌属(<i>Bacteria</i>);p 拟杆菌属(<i>Bacteroidetes</i>);c 鞘脂杆菌纲(<i>Sphingobacteriia</i>);o 鞘脂杆菌目(<i>Sphingobacteriales</i>);f 鞘脂杆菌属(<i>Sphingobacteriaceae</i>);g 土地杆菌(<i>Pedobacter</i>)
OTU23	d 拟杆菌属(<i>Bacteria</i>);p 变形杆菌门(<i>Proteobacteria</i>);c 丙型变形菌纲(<i>Gammaproteobacteria</i>);o 假单胞菌目(<i>Pseudomonadales</i>);f 莫拉氏菌(<i>Moraxellaceae</i>);g 嗜冷杆菌(<i>Psychrobacter</i>)
OTU20	d 拟杆菌属(<i>Bacteria</i>);p 变形杆菌门(<i>Proteobacteria</i>);c 丙型变形菌纲(<i>Gammaproteobacteria</i>);o 假单胞菌目(<i>Pseudomonadales</i>);f 莫拉氏菌(<i>Moraxellaceae</i>);g 放线菌(<i>Acinetobacter</i>)
OTU13	d 拟杆菌属(<i>Bacteria</i>);p 厚壁菌门(<i>Firmicutes</i>);c 芽孢杆菌纲(<i>Bacilli</i>);o 乳杆菌科(<i>Lactobacillales</i>);f 肉杆菌科(<i>Carnobacteriaceae</i>);g 肉品杆菌属(<i>Carnobacterium</i>)
OTU16	d 拟杆菌属(<i>Bacteria</i>);p 变形杆菌门(<i>Proteobacteria</i>);c 丙型变形菌纲(<i>Gammaproteobacteria</i>);o 肠杆菌目(<i>Enterobacteriales</i>);f 肠杆菌科(<i>Enterobacteriaceae</i>);g 大肠杆菌属(<i>Escherichia coli</i>)
OTU14	d 拟杆菌属(<i>Bacteria</i>);p 变形杆菌门(<i>Proteobacteria</i>);c 丙型变形菌纲(<i>Gammaproteobacteria</i>);o 假单胞菌目(<i>Pseudomonadales</i>);f 莫拉氏菌(<i>Moraxellaceae</i>);g 放线菌(<i>Acinetobacter</i>)

注:小写字母 d、p、c、o、g 为 OTU 分类菌属序号。

酸杆菌科(*Oxalobacteraceae*)、李斯特菌科(*Listeriaceae*)、柄杆菌科(*Caulobacteraceae*)。在属水平上,拟杆菌属(*Bacteria*)、嗜冷菌属(*Psychrobacter*)一直占据优势,在舟山带鱼冷藏期间丰度呈上升趋势,在带鱼腐败变质中起重要作用。此次 OTU 分析中属类有嗜冷杆菌属(*Psychrobacter*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、肉杆菌属(*Carnobacterium*)。

2.3 多样性指数分析

Alpha 指数稀释性曲线见图 2。

Miseq 测序后的 OTU 聚类能够表征微生物群落的具体信息,从图 2 中可以看出,当样本读取次数超过 30 000 时各组样本曲线接近平缓,说明测序合理,进一步增加测序数量不会带来更多的 OTU 聚类,进而影响试验结果与分析^[14]。当读取次数小于 10 000 时,随着抽样数量的增加,样本中检测出的 OTU 数量快速上升,当读取次数大于 10 000 之后,随着读取次数的增

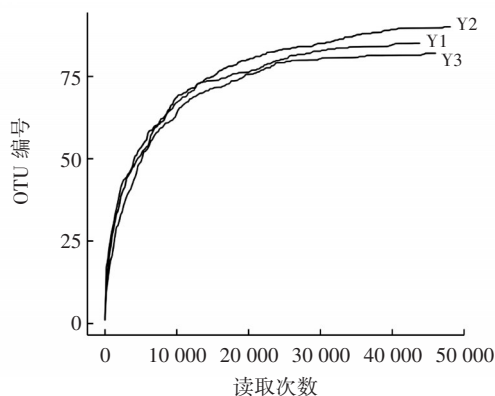


图2 Alpha 指数稀释性曲线

Fig.2 Rarefaction curve of alpha index

加,样本中所检测出的 OTU 数量缓慢上升并且逐渐趋于稳定,但从整体来看 Y2 所检测出的样本中 OTU 数量要高于 Y1 与 Y3,并且 Y1 中随着读取次数上升所

检测出的样本 OTU 数量要大于 Y3,当读取次数大于 20 000 后样本中所检测出 OTU 数量在 2 kV/m 电场组中最高而 3 kV/m 电场组中最低,说明电场强度的大小对从样本中检测 OTU 有较大的影响。

2.4 菌群组成分析

不同电场强度下属水平上群落丰度表现热图见图 3。

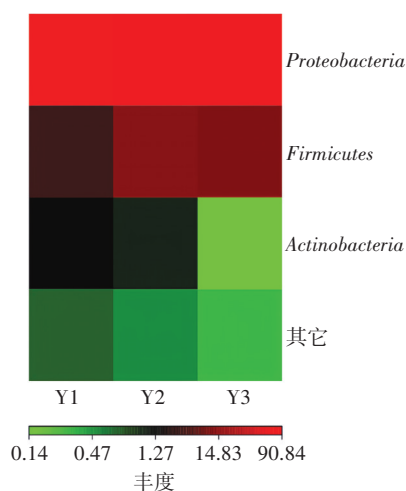


图 3 不同电场强度下属水平上群落丰度表现热图

Fig.3 Heat map of abundance of microbial genera under different electric field intensities

群落丰度表现热图用颜色对比来反映数据的信息情况,可以直观显示样本中菌落含量的变化。由图 3 可以看出,在施加外部空间电场的处理下,带鱼中菌落组成发生了明显的改变。施加空间电场后带鱼中变形杆菌(*Proteobacteria*)的群落丰度减少,说明在一定程度上施加外部空间电场能够抑制变形杆菌的生长繁殖,但 Y2 和 Y3 之间差异不明显,说明电场强度的大小对抑制变形杆菌生长繁殖影响不明显,需要进一步进行研究。厚壁菌(*Firmicutes*)的群落丰度在施加空间电场之后变大,说明空间电场对厚壁菌的影响不明显。可能是由于空间电场抑制了其他菌种的生长繁殖,导致对电场不敏感的厚壁菌生长繁殖速度加快。放线菌(*Actinobacteria*)在施加电压变频电场之后菌落丰度降低,并且 Y3 的降低幅度大于 Y2,说明空间电场对放线菌的生长繁殖具有一定的抑制作用并且随着电场强度的增大抑制的作用愈发明显。除以上 3 种主要菌群外,空间电场对其他菌群也有一定的抑制效果,并且随着电场强度的增大抑制效果明显^[15-19]。说明空间电场能够抑制变形杆菌以及放线菌的生长繁殖,但厚壁菌对空间电场可能不敏感。

2.5 样本群落结构

不同电场强度下微生物群落结构见图 4,共线性关系见图 5。

由图 4 可知,在施加空间电场并在-4℃环境中贮

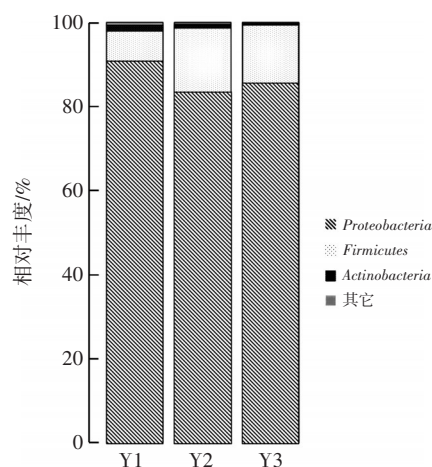


图 4 不同电场强度下微生物群落结构

Fig.4 Microbial community structures under different electric field intensities

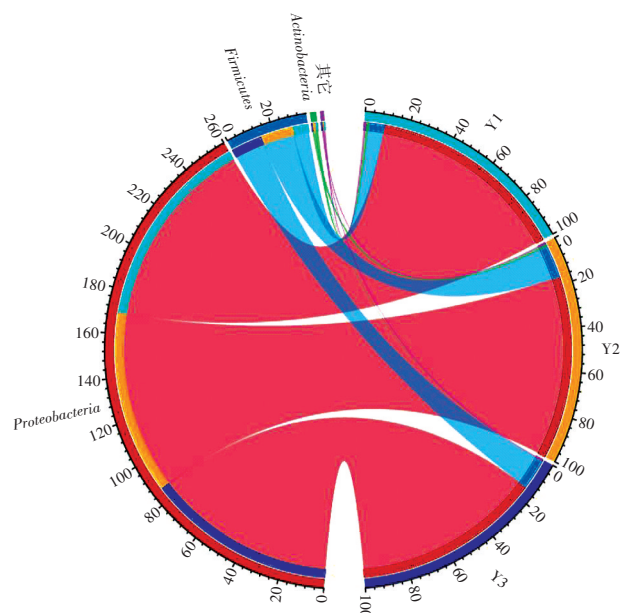


图 5 共线性关系

Fig.5 Collinearity diagram

藏,带鱼样本中的优势微生物为嗜冷菌(*Psychrobacter*),Y1、Y2、Y3 组中嗜冷菌占比微生物群落结构均达到了 80% 以上,说明嗜冷菌比较适应-4℃贮藏环境。在施加空间电场之后嗜冷菌的含量均发生了下降,2 kV/m 组下降的幅度要略大于 3 kV/m 组,说明空间电场在一定程度上能够抑制嗜冷菌的生长繁殖,而且 2 kV/m 的电场参数对嗜冷菌的抑制效果要优于 3 kV/m。从图 5 可以看出,在施加空间电场之后厚壁菌(*Firmicutes*)的相对丰度升高,说明空间电场对厚壁菌生长繁殖影响不明显,可能是由于空间电场抑制了嗜冷菌的生长繁殖导致厚壁菌有更多的空间进行繁衍,从而使厚壁菌的相对丰度上升^[20-23]。放线菌(*Actinobacteria*)对空间电场比较敏感,随着电场强度的增加,放线

菌的相对丰度逐渐降低,说明空间电场对放线菌的生长繁殖具有一定的抑制效果。

2.6 相关性分析

样本距离热图见图6,主成分分析见图7。

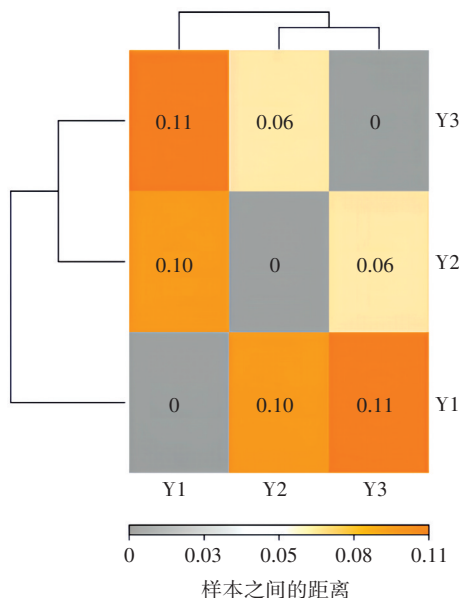


图6 样本距离热图

Fig.6 Heat map of sample distance

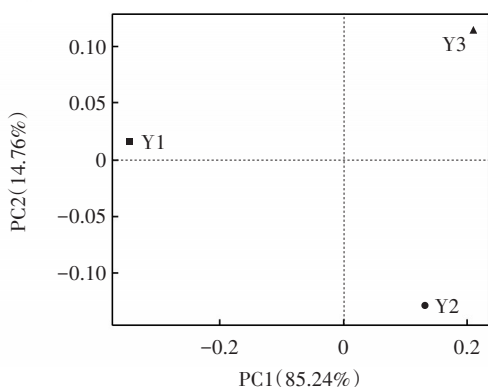


图7 主成分分析

Fig.7 Principal component analysis

样本组之间的相关性检验是验证试验可靠以及样本合理的重要标准之一,越接近0,分离度越小,相关性越好^[24]。从图6可以看出,Y1与Y2、Y3之间的分离度分别为0.10与0.11,Y2与Y3的分离度为0.06,说明电场组(Y2、Y3)与Y1相比分离度较小,相关性较大。

成分分析是通过分析数据,使用方差分析分析不同样本之间的距离及差异。使用百分比判断差异度,两点之间越近,说明具有相似的菌群组成^[25]。由图7可知,电场组Y2与Y3样本具有较大差异,而无电场组Y1与两组电场组距离较远差异明显,说明施加空间电场,对微生物菌群具有一定影响,并且电场强度的大小对微生物菌群也有部分影响。

3 结论

以舟山带鱼为研究对象,采用 Illumina Miseq 高通量测序技术,对不同电场强度下贮藏至20 d的带鱼微生物群落碱基信息测序,研究不同电场强度下带鱼样品中菌群组成及微生物变化情况。通过 OTU 聚类、多样性指数分析、菌群组成分析、样本菌落结构分析、相关性分析手段,探究空间电场对带鱼微生物组成的变化。OTU 聚类属主要有希瓦氏菌属(*Shewanella*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、工地杆菌属(*Pedobacter*)、节杆菌属(*Arthrobacter*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、紫色杆菌属(*Janthinobacterium*)、索丝菌属(*Brochothrix*)、嗜冷菌属(*Psychrobacter*)、柄杆菌属(*Caulobacter*),根据菌属相对丰度结果和经验,推测嗜冷菌属(*Psychrobacter*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、紫色杆菌属(*Janthinobacterium*)是带鱼微生物腐败主要致腐菌。结果表明,新鲜舟山带鱼样品以嗜冷菌属、栖热菌属与假交替单胞菌为主,相对丰度分别为23.24%、24.27%和17.98%;其中嗜冷菌属作为主要优势腐败菌在带鱼腐败过程中起重要作用。对照组Y1的OTU多样性高,有多个独有OTU聚类菌属,电场处理组Y2、Y3也有多个独有菌属,但均无致腐性和致病性。综上所述,空间电场保鲜技术在带鱼低温贮藏过程中能够有效抑制腐败菌的滋生,延缓带鱼的腐败变质,有利于带鱼品质控制;同时,Miseq 基因组测序技术能够实现产品贮藏期间腐败菌的快速检测。上述相关技术能够为水产品贮藏保鲜和质量安全监测领域提供理论依据,具有较好的产业化应用前景。

参考文献:

- [1] 胡玥,杨水兵,余海霞,等.微冻保鲜方法对带鱼品质及组织结构的影响[J].食品科学,2016,37(18):290-297.
HU Yue, YANG Shuibing, YU Haixia, et al. Effect of superchilling on the quality and muscle tissue structure of *Trichiurus haumela*[J]. Food Science, 2016, 37(18): 290-297.
- [2] 高乾坤,焦琳舒,杜贺超,等.高通量测序分析不同产地带鱼冷藏时微生物群落多样性[J].食品科学,2018,39(18):127-132.
GAO Qiankun, JIAO Linshu, DU Hechao, et al. High-throughput sequencing analysis of microbial community diversity of hairtail from different waters during chilled storage[J]. Food Science, 2018, 39(18): 127-132.
- [3] 陈文波,胡宏海,张春江,等.静电场对白切鸡贮藏中微生物总数的影响[J].肉类研究,2015,29(6):15-19.
CHEN Wenbo, HU Honghai, ZHANG Chunjiang, et al. Influence and mechanism of electrostatic field on total microbial count in chopped cold chicken[J]. Meat Research, 2015, 29(6): 15-19.
- [4] 岑剑伟,蒋爱民,李来好,等.高压静电场结合冰温技术对罗非鱼片贮藏期品质的影响[J].食品科学,2016,37(22):282-288.
CEN Jianwei, JIANG Aimin, LI Laihao, et al. Effect of high voltage electrostatic field combined with modified atmosphere packaging and controlled freezing-point storage on the quality of tilapia fillet[J]. Food Science, 2016, 37(22): 282-288.

- [5] 董彦生. 高通量测序数据误差分析方法研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工程大学, 2014.
DONG Yansheng. The error analysis method research of high-throughput sequencing data[D]. Harbin: Harbin Engineering University, 2014.
- [6] 李碧瀚, 于洋, 刘桂嘉, 等. 基于三代测序技术的凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)高通量候选基因关联分析方法的建立[J]. 海洋与湖沼, 2021, 52(5): 1255-1264.
LI Bihan, YU Yang, LIU Guijia, et al. A high-throughput method for candidate gene association analysis in *Litopenaeus vannamei* based on the third-generation sequencing technology[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2021, 52(5): 1255-1264.
- [7] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定: GB 4789.2—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China, State Food and Drug Administration. National food safety standard Food microbiological examination Aerobic plate count: GB 4789.2—2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017.
- [8] ZHANG Q Q, JIANG M, RUI X, et al. Effect of rose polyphenols on oxidation, biogenic amines and microbial diversity in naturally dry fermented sausages[J]. Food Control, 2017, 78: 324-330.
- [9] 袁东芳, 于乐军, 刘晨光. 海洋微生物高通量培养方法和分选技术的研究进展[J]. 微生物学通报, 2014, 41(6): 1180-1187.
YUAN Dongfang, YU Lejun, LIU Chenguang. Progress in high-throughput culturing and sorting of marine microorganisms[J]. Microbiology China, 2014, 41(6): 1180-1187.
- [10] 刘水平, 罗志勇. 琼脂糖凝胶电泳实验技巧[J]. 实用预防医学, 2006, 13(4): 1068-1069.
LIU Shuiping, LUO Zhiyong. Experimental skills of agarose gel electrophoresis[J]. Practical Preventive Medicine, 2006, 13(4): 1068-1069.
- [11] 于腾飞, 王英, 葛芹玉. 高通量 DNA 测序技术及其应用进展[J]. 南京晓庄学院学报, 2010, 26(3): 1-5.
YU Pinfei, WANG Ying, GE Qinyu. High-fluxed DNA sequencing technology and its application development[J]. Journal of Nanjing Xiaozhuang University, 2010, 26(3): 1-5.
- [12] ZHU J L, ZHAO A F, FENG L F, et al. Quorum sensing signals affect spoilage of refrigerated large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) by *Shewanella baltica*[J]. International Journal of Food Microbiology, 2016, 217: 146-155.
- [13] 李俊锋. 基于 16S rRNA 和宏基因组高通量测序的微生物多样性研究[D]. 北京: 清华大学, 2015.
LI Junfeng. Microbial diversity research based on high-throughput sequencing data of 16S rRNA and metagenome[D]. Beijing: Tsinghua University, 2015.
- [14] 王丽平, 李苑, 余海霞, 等. 高压电场对生鲜食品保鲜机理研究进展[J]. 食品科学, 2017, 38(3): 278-283.
WANG Liping, LI Yuan, YU Haixia, et al. Progress in the knowledge of the preservation mechanism of raw fresh foods by high voltage electric field[J]. Food Science, 2017, 38(3): 278-283.
- [15] 赵良, 岑剑伟, 李来好, 等. 高压静电场结合冰温气调保鲜技术对罗非鱼鱼片品质的影响[J]. 南方水产科学, 2016, 12(3): 91-97.
ZHAO Liang, CEN Jianwei, LI Laihao, et al. Effect of high voltage electrostatic field combined with modified atmosphere packaging technology on quality of tilapia fillets[J]. South China Fisheries Science, 2016, 12(3): 91-97.
- [16] 谢晶, 杨茜, 张新林, 等. 超高压技术结合气调包装保持冷藏带鱼品质[J]. 农业工程学报, 2015, 31(12): 246-252.
XIE Jing, YANG Xi, ZHANG Xinlin, et al. High hydrostatic pressure treatment combined with modified atmosphere package keeping quality characteristic of *Trichiurus lepturus* during cold storage[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2015, 31(12): 246-252.
- [17] 高志立, 谢晶, 施建兵, 等. 不同贮藏条件下带鱼品质的变化[J]. 食品科学, 2013, 34(16): 311-315.
GAO Zhili, XIE Jing, SHI Jianbing, et al. Quality changes of *Trichiurus haumela* under different storage conditions[J]. Food Science, 2013, 34(16): 311-315.
- [18] 李里特, 方胜. 对静电场下果蔬保鲜机理的初步分析[J]. 中国农业大学学报, 1996, 1(2): 62-65.
LI Lite, FANG Sheng. Preliminary analysis on mechanism of fruit and vegetable preservation using electrostatic field[J]. Journal of China Agricultural University, 1996, 1(2): 62-65.
- [19] BAI Y X, HU Y C, QU M. Preliminary studies on Spanish mackerel fresh-keeping method in high-voltage electric field[J]. Journal of Aquatic Food Product Technology, 2015, 24(8): 732-739.
- [20] 熊宇飞, 王立爽, 王津, 等. 高压静电场结合制冷对刀额新对虾的保鲜作用[J]. 现代食品科技, 2020, 36(12): 125-132, 292.
XIONG Yufei, WANG Lishuang, WANG Jin, et al. Preservative effect of high-voltage electrostatic field combined with refrigeration on fresh prawn(*Metapenaeus ensis*)[J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(12): 125-132, 292.
- [21] 吴连连, 李新建. 高压静电场保鲜技术的研究现状[J]. 现代农业科技, 2007(3): 123-124.
WU Lianlian, LI Xinjian. Research status of high voltage electrostatic field preservation technology[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2007(3): 123-124.
- [22] HU D X, PAN L Q, ZHAO Q, et al. Transcriptomic response to low salinity stress in gills of the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*[J]. Marine Genomics, 2015, 24: 297-304.
- [23] 王绍祥, 杨洲祥, 孙真, 等. 高通量测序技术在水环境微生物群落多样性中的应用[J]. 化学通报, 2014, 77(3): 196-203.
WANG Shaoxiang, YANG Zhouxiang, SUN Zhen, et al. Application of high throughput sequencing in the diversity of water microbial communities[J]. Chemistry, 2014, 77(3): 196-203.
- [24] CAMPOS C A, RODRÍGUEZ Ó, LOSADA V, et al. Effects of storage in ozonised slurry ice on the sensory and microbial quality of sardine (*Sardina pilchardus*)[J]. International Journal of Food Microbiology, 2005, 103(2): 121-130.
- [25] FALLAH-JOSHAQANI S, HAMDAMI N, KERAMAT J. Qualitative attributes of button mushroom (*Agaricus bisporus*) frozen under high voltage electrostatic field[J]. Journal of Food Engineering, 2021, 293: 110384.

责任编辑:冯娜

收稿日期:2022-07-19