

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2021.01.023

基于高通量测序分析紫贻贝冻藏过程中 菌群组成变化

Bacterial composition analysis of frozen mussels
based on high-throughput sequencing

蒋慧丽¹ 水珊珊¹ 吴琼静¹

JIANG Hui-li¹ SHUI Shan-shan¹ WU Qiong-jing¹

陈晓楠¹ 张 宾¹ 苏来金²

CHEN Xiao-nan¹ ZHANG Bin¹ SU Lai-jin²

(1. 浙江海洋大学食品与药学学院, 浙江 舟山 316022;

2. 温州市农业科学研究院温州市特色食品资源工程技术研究中心, 浙江 温州 325006)

(1. College of Food Science and Pharmacy, Zhejiang Ocean University, Zhoushan, Zhejiang 316022, China;

2. Wenzhou Academy of Agricultural Sciences Wenzhou Research Center of Characteristic Food Resources
Engineering and Technology, Wenzhou, Zhejiang 325006, China)

摘要:以蒸汽开壳后获得的新鲜紫贻贝肉(FS)、-18℃冻藏1周紫贻贝肉(FS-1)、冻藏3周紫贻贝肉(FS-3)和冻藏9周紫贻贝肉(FS-9)为研究对象,采用DNA抽提试剂盒提取贝肉表面微生物基因进行高通量测序分析。各样本的有效序列区间为31 896~42 812条,操作分类单元(Operational taxonomic units, OTU)范围为289~681,其中OTU最少的是冻藏9周样品,最多的是新鲜紫贻贝肉。分析多样性指数可知,菌群丰富度最低的是冻藏3周紫贻贝肉。在属水平上,各样本优势菌群中均包含弧菌属(*Vibrio*)。随冻藏时间的延长,葡萄球菌属(*Staphylococcus*)的占比逐渐降低。冻藏9周时新增希瓦菌属(*Shewanella*)且相对丰度很大,另外仅新鲜紫贻贝和冻藏9周样本的优势菌群中含有不动杆菌属(*Acinetobacter*)。
关键词:高通量测序技术;紫贻贝;冻藏;优势菌群;多样性

Abstract: After opening the shell with steam, the microorganisms on the surface of fresh mussel meat (FS), frozen mussel meat at -18 °C for 1 week (FS-1), frozen mussel meat

for 3 weeks (FS-3) and frozen mussel meat for 9 weeks (FS-9) were extracted with DNA extraction kit and then analyzed by high-throughput sequencing. The effective sequences in all samples ranged from 31 896 to 42 812, and the operational taxonomic unit (OTU) ranged from 289 to 681. Among them, the OTU of FS-9 was the lowest, and the OTU of FS was the highest. Diversity index analysis showed that the lowest microflora richness was found in FS-3. At the genus level, the predominant flora of each sample contains *Vibrio* spp. With the extension of frozen storage time, the proportion of *Staphylococcus* was gradually decreased. The *Shewanella* was newly added and relatively abundant after frozen for 9 weeks. In addition, *Acinetobacter* was only found in samples of FS and FS-9.

Keywords: high throughput sequencing; *mytilus edulis*; frozen; dominant bacteria; diversity

紫贻贝(*Mytilus edulis*)肉质肥美、营养丰富,在中国大部分产自渤海湾、黄海和东海沿岸地区,其中资源最为丰富的地区为浙江嵊泗列岛附近海域,嵊泗枸杞岛素有“贻贝之乡”的美称^[1]。近年来,海鲜食品已成为人们餐桌上获得蛋白质的日常选择,其中紫贻贝深受广大消费者的喜爱。但紫贻贝由于产量大、采收期集中,加上捕后贮藏不当、微生物侵袭等因素,极易损害贝肉品质,造成营养和食用价值降低。其中,微生物侵袭及污染是影响紫贻贝及其制品品质的重要原因之一。另外生长水质、捕后贮运方式及加工环境等,也会影响紫贻贝制品中菌

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:31871871);浙江省自然科学基金项目(编号:LY18C200008);温州市重大科技创新攻关项目(编号:N20180011, ZS2019001)

作者简介:蒋慧丽,女,浙江海洋大学在读硕士研究生。

通信作者:水珊珊(1989—),女,浙江海洋大学讲师,博士。

E-mail: shuiss@zjou.edu.cn

收稿日期:2020-08-12

群组成及其丰度变化^{[2][3][17]}。据广东省动物性水产品微生物污染调查研究^[4]发现,2017—2019 年广东省部分地区虾、蟹、贻贝类中致病菌阳性检出水平超过半数。赵金丽等^[5]研究发现,不同紫贻贝制品中的微生物组成情况不同;新鲜和自制紫贻贝干的微生物中,占比较大的是不动杆菌属和嗜冷杆菌属,而市售紫贻贝干产品中优势菌为肠球菌属和葡萄球菌属。不同状态下的紫贻贝样品的菌群组成均存在较大差异,关于紫贻贝肉冻藏过程中优势菌组成及其丰度变化情况还尚未见报道。

以往研究人员通常采用传统分离培养的方法来获取食品表面菌群信息,选取合适的样品稀释液涂布于各类平板上进行分离、纯化及鉴定,但该方法耗时长,人工成本高,且获取的菌群信息尚不准确。此外,采用传统分离方式培养得到的菌群信息较少,同时存在较大偏差。伴随科技的进步,现代基因测序技术已能够满足通量强、成本低、深度高和检测快速的需求,其中高通量测序技术作为一种分子生物学方法,可以实现一次检测大量样本,每次运行可产出几十千兆字节,甚至几百千兆字节的数据分析量,目前已被广泛应用于食品、养殖、生物医药等各个领域^[6-7]。该技术将待测样品的全部基因进行提取分析,能够全面地反映菌群特征,兼具安全性高、误差小、分析全面等优势^[8]。目前,已有多篇高通量测序技术应用于水产品微生物组成分析的报道,检测对象包括牡蛎^[9]、南美白对虾^[10-11]、蟹糊^[12]、小龙虾^[13]等,而利用该技术方法剖析冻藏过程中紫贻贝的细菌菌群结构变化情况的相关研究还鲜见报道。基于此,研究拟应用高通量测序技术,从基因水平层面全面揭示不同冻藏时间的紫贻贝肉中菌群的多样性和群落结构的动态变化情况,结合近期研究成果剖析其优势菌群的形成原因和发展趋势,为解决紫贻贝及其制品的贮藏品质问题提供基础理论支持。

1 材料与方法

1.1 材料

活体紫贻贝样品:壳(10.0±0.5) cm,壳宽(2.5±0.5) cm,壳高(5.1±0.5) cm,质量(50.0±3.0) g,运至实验室后,立即进行试验,浙江省舟山市东河市场。

1.2 试剂与仪器

TransStart FastPfu DNA Polymerase 等测序试剂:化学纯,美国 Illumina 公司;

AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒:美国 Axygen 公司;

PCR 仪:ABI GeneAmp © 9700 型,美国 ABI 公司;

蓝色荧光定量系统:QuantiFluor™-ST 型,美国 Promega 公司。

1.3 样品处理与分组

鲜活的紫贻贝蒸汽处理 2 min,开壳后解剖取出完整的紫贻贝肉样品,无菌纱布轻拭去表面水分,装入无菌袋中,参考吕丹丹^{[3][17-25]}的研究,根据冻藏期间理化指标变化

节点,将紫贻贝肉分为:新鲜紫贻贝肉组(FS)、冻藏 1 周紫贻贝肉组(FS-1)、冻藏 3 周紫贻贝肉组(FS-3)和冻藏 9 周紫贻贝肉组(FS-9)。将以上各组样品置于-18℃冰箱中冻藏,分别在解剖即时和冻藏 1,3,9 周时取样测定。

1.4 贝肉表面微生物提取

向各组紫贻贝肉加入无菌生理盐水,配置成 $m_{\text{紫贻贝}} : V_{\text{生理盐水}} = 1 : 9$ (g/mL) 的浊液,每组设置 3 个平行组,置于 360 r/min 下提取 1 h,将表面微生物提取到生理盐水中,过滤,无菌水淋洗;然后将滤液 10 000 r/min 离心 25 min,对获得的下层沉淀物进行微生物组成分析^[14]。

1.5 微生物群落分析

根据赵金丽等^[5]的方法进行高通量测序,从而进行生物学信息分析。

1.6 贝肉微生物信息分析

将测序得到的 PE reads 进行拼接,并对所得序列进行质控和过滤质量^[15],再进行操作分类单元(Operational taxonomic units, OTU)聚类分析和物种分类学分析。最后进行多样性分析和主成分分析。基于物种分类学信息利用软件绘制出各试验组的群落柱形图和丰度聚类热图^[5,16]。

1.7 数据处理

选择 MiSeq 测序平台进行数据分析,用 FLASH 对各试验组样品的 reads 进行拼接。基于相似性为 97% 的范围使用 Uparse 软件(v7.0.1001)进行 OTU 聚类分析。测序获得的基因序列与 Silva 数据库进行比对。

2 结果与分析

2.1 测序数据统计

基于 97% 相似水平下,对各样品序列信息进行聚类分析并统计得知,样品的有效序列区间为 31 896~42 812 条,平均长度区间为 441.83~453.62 bp(表 1)。统计各试验组 OTU 生物信息发现,OTU 区间为 289~681,新鲜紫贻贝肉 OTU 数量最高为 681,其余 3 组紫贻贝肉的 OTU 数量依次为 623,504,289。

2.2 Rank-Abundance 曲线

Rank-Abundance 曲线能够反映微生物的丰富度和均匀度。曲线越宽样品的物种丰度越高,曲线越平滑样品的均匀度越大^[17]。分析结果可知,新鲜紫贻贝肉和冻

表 1 样品信息统计表

Table 1 Sample information statistics

组别	有效序列	平均长度	最小长度	最大长度	OTU 数量
FS	31 896	441.83	263	473	681
FS-1	42 812	442.89	332	507	623
FS-3	42 417	453.62	431	507	504
FS-9	35 589	452.97	269	502	289

藏1周紫贻贝肉的曲线较宽,而冻藏3周紫贻贝肉曲线宽度最小(图1),说明了前两组的紫贻贝肉中微生物的丰度很高。由于低温环境会抑制不耐冷微生物的生长繁殖,因此冻藏后期丰度降低。与新鲜样本和冻藏1周样本的曲线相比,冻藏3周和冻藏9周样本的曲线相对陡峭,说明冻藏3周和冻藏9周紫贻贝肉中的微生物分布不均匀,原因可能是冻藏后期贝肉表面聚集了对低温耐受性较高的微生物,致使贝肉中微生物的分布不均匀^[18]。结果可知,由于长时间的低温胁迫,紫贻贝肉微生物丰度和分布均匀性降低。

2.3 稀释曲线和 Shannon-Wiener 曲线

稀释曲线能够反映测序数据是否合理。由图2可知,当测序深度>25 000时,所有样品曲线上点的斜率均已趋于零,表示再扩大数据量也不会测出更多新微生物物种^[19],说明该样本测序深度科学,样本中大多数的微生物物种能够被反映出来^[20]。Shannon-Wiener 曲线中各点的值愈大,群落所含的信息量愈大,能够反映测量序列的多样性。由图3可知,前两组样本菌群更多样。所有样本的曲线趋于平缓,说明测序数量充足,即能够反映样本绝大部分的菌群信息。稀释曲线和 Shannon-Wiener 曲线均表明试验中各贝肉样品测序数据合理,获得的测序结果真实有效。

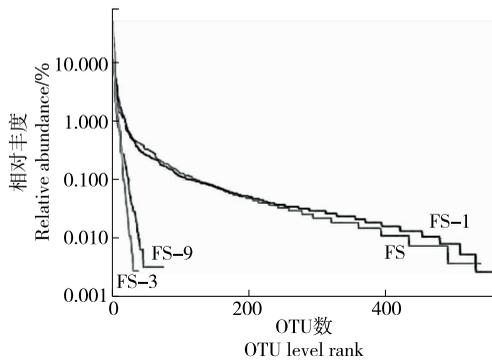


图1 Rank-Abundance 曲线图

Figure 1 Rank-Abundance Graph

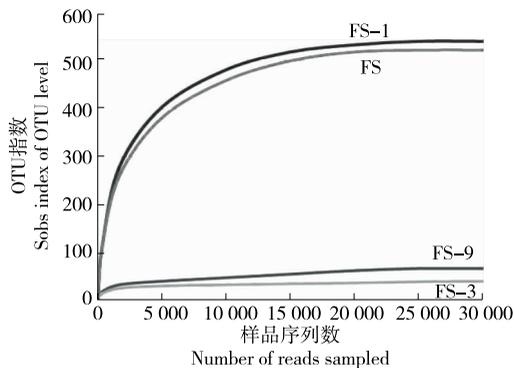


图2 稀释曲线

Figure 2 Rarefaction curve

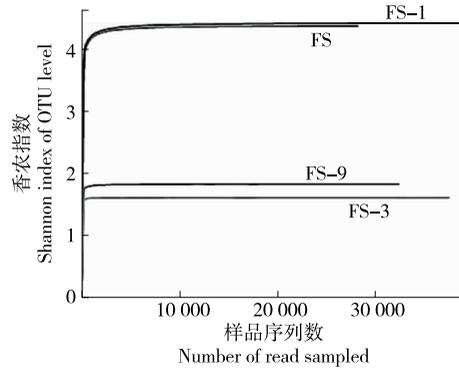


图3 Shannon-Wiener 曲线

Figure 3 Shannon-Wiener curve

2.4 Alpha 多样性

由表2可知,各样本的 Coverage 值都高于 0.998,说明检测序列深度足够,细菌多样性分析结果科学可信^[21]。新鲜和冻藏1周样品的 Ace、Chao1 和 Shannon 指数均高于冻藏3周和9周的样品,说明新鲜和冻藏1周紫贻贝肉的群落丰富度高于冻藏3周和9周紫贻贝肉。这是由于随着冻藏时间的延长,一些对温度耐受性低的菌种(如嗜温菌)失去生理活性,致使贝肉中优势菌菌群结构发生了显著性变化,翁佩芳等^[22]的研究也表明冻藏环境可抑制鲧鱼鳃体系中细菌的生长,与试验结果相似。此外,冻藏1周样品的丰富度和多样性均略高于新鲜样品,可能是因为短时间的冻藏只减缓了细菌的生长繁殖速度,并未完全抑制细菌生长活动。相较于冻藏3周,最后一组紫贻贝肉样品的 Ace、Chao 和 Shannon 指数值均增大,而且 Simpson 指数值减小,说明其菌群的丰度和多样性均升高。多半是因为此时贝肉已被很多腐败菌污染,同时其表面残留的部分嗜冷微生物,由亚致死状态逐渐恢复活力,从而导致紫贻贝肉表面菌群多样性升高。

2.5 微生物组成

在某一分类学水平上,群落柱形图能反映各样本中微生物的种类和序列数,即各微生物的相对丰度。在属水平上,各样本的优势菌群中均包含弧菌属(*Vibrio*),随着冻藏时间的延长,葡萄球菌属(*Staphylococcus*)的占比逐渐降低。冻藏1周时优势菌群增加了嗜冷菌属(*Psychrobacter*)。冻藏3周新增芽胞杆菌属(*Bacillus*)和肠杆

表2 多样性指数表

Table 2 Diversity index

分组	Ace	Chao1	Coverage	Shannon	Simpson
FS	559	561	0.998 3	4.40	0.037 4
FS-1	563	570	0.999 5	4.44	0.033 6
FS-3	57	49	0.999 7	1.63	0.310 2
FS-9	251	150	0.999 2	1.85	0.244 1

菌属 (*Enterobacter*), 冻藏 9 周时新增希瓦菌属 (*Shewanella*) 且相对丰度很大, 另外仅新鲜紫贻贝和冻藏 9 周样本的优势菌群中含有不动杆菌属 (*Acinetobacter*)。

新鲜紫贻贝肉中不动杆菌为优势菌群, 伴随长时间的低温胁迫, 不动杆菌属的相对丰度逐渐降低, 是由于其耐低温能力较弱导致的。由于各种腐败菌的生存能力是不同的, 冻藏 9 周紫贻贝肉中不动杆菌亦为优势菌群, 叶萍萍^[23] 在微冻鲮鱼保鲜研究中发现, 微冻后期鲮鱼的优势菌中也含有不动杆菌属, 与试验中冻藏 9 周的结果相似。与前两组相比, 后两组的微生物组成存在显著的不同, 菌群多样性减小, 丰度升高。由于长时间的冻藏, 葡萄球菌属的占比逐渐减小, 尤其在第 9 周时葡萄球菌的占比减小至零。长时间的低温胁迫使葡萄球菌从鲜活到亚致死状态直至死亡。希瓦氏菌属也是水产品的腐败菌之一, 耐低温^[24], 冻藏 9 周时其丰度占比非常高, 表示此时紫贻贝肉已被很多腐败菌污染, 会对其品质产生很大影响。虽然冻藏环境可以降低贝肉中菌群的多样性, 但是依然会存在以上几种常见的嗜冷菌, 所以对冻藏贝类产品, 需要对这些腐败菌进行重点调控。另外, Illumina MiSeq 测序目前无法鉴定到种, 所以无法确定样品中是否还存在其他致病性菌株, 但也应引起重视。

2.6 菌群组成 (门水平)

Heatmap 图是用定义的色彩深浅及相似水平来反映各样品在某一分类水平上微生物组成的相似程度和差异程度^[25]。对各样本进行 OTU 聚类, 绘制出各试验组的微生物丰度聚类热图, 如图 5 所示。总的来说, 由于长时间的低温胁迫, 在冻藏后期紫贻贝肉样品中的微生物组

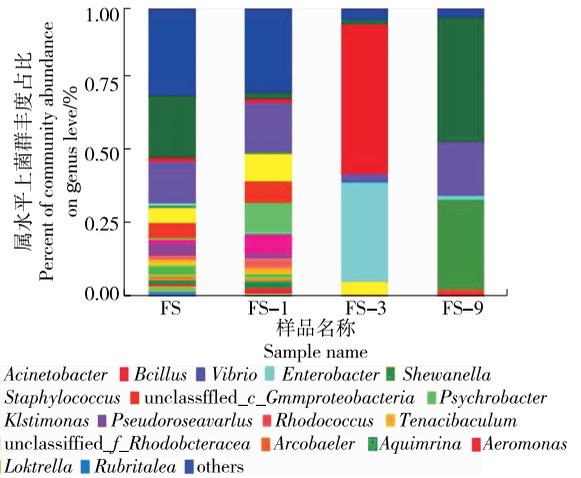


图 4 不同冻藏时间贝肉微生物物种组成 (属水平)
Figure 4 Bacterial community composition at genus level in different frozen times mussel meat

成动态变化剧烈, 菌群种类不断减少。由于冻藏时间较短, 新鲜的和冻藏 1 周的紫贻贝肉菌群结构相似。分析丰度聚类热图可知, 在门水平上, 各试验组中变形菌门 (*Proteobacteria*) 均是占比最大的微生物。伴随长时间的低温胁迫, 拟杆菌门 (*Bacteroidetes*)、硬壁菌门 (*Firmicutes*)、热脱硫杆菌门 (*Thermodesulfobacteria*) 和硝化菌 (*Nitrospinae*) 等微生物的占比均逐渐减小。可能是这些菌种生长繁殖需要较高水分活度, 而冻藏后贝肉水分活度降低导致其占比降低。这与高乾坤等^[26] 关于冷藏带鱼的研究中菌群变化情况相同。对比各试验组, 腐败菌、致病菌的相对丰度、菌群结构和组成菌发生了剧烈变化。

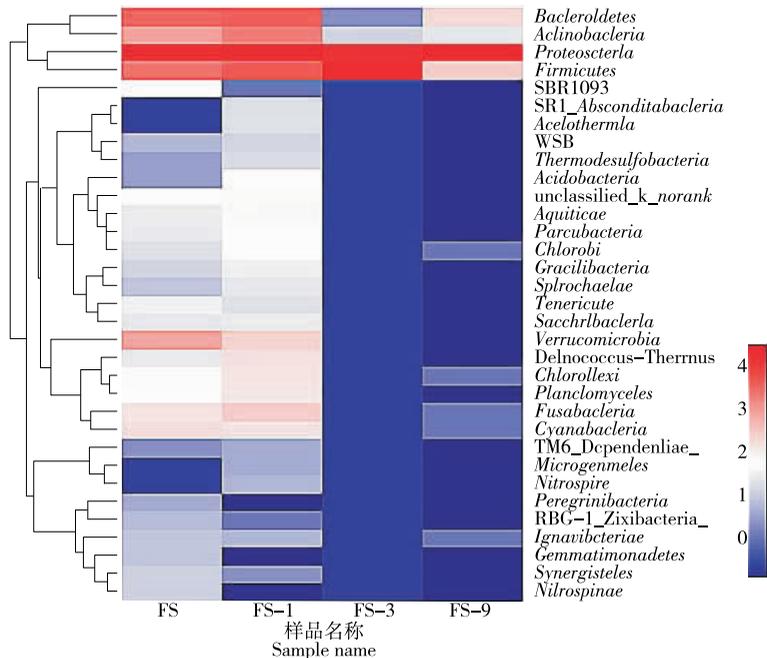


图 5 不同冻藏时间样品微生物丰度聚类热图 (门水平)
Figure 5 Microbial community heatmap analysis at door level in different frozen times samples

所以,控制好紫贻贝肉的冻藏时间,对避免紫贻贝肉腐败至关重要。

2.7 β 多样性

在主成分分析图中不同样本之间愈近,表示其菌群组成和结构愈类似。如图6所示,新鲜紫贻贝肉和冻藏1周的紫贻贝肉样本距离较近,而冻藏3周和冻藏9周的紫贻贝肉样本均相距较远,说明新鲜紫贻贝肉和冻藏1周的紫贻贝肉的菌群组成和结构相似,而在冻藏过程中各样本的微生物结构动态变化剧烈。这与丰度聚类热图的分析结果相同。

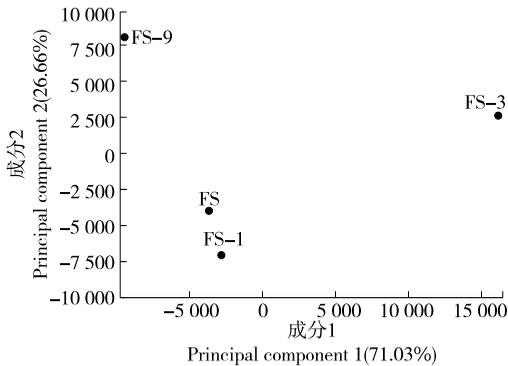


图6 不同冻藏时间样品主成分分析

Figure 6 Principal component analysis of different frozen times samples

3 结论

采用高通量测序技术得到不同冻藏时间的紫贻贝肉中微生物基因序列,聚类分析了其微生物组成及结构变化情况。结果表明,各样品中 OTU 最少的是冻藏 9 周样本,最多的是新鲜紫贻贝肉。多样性指数分析得知,菌群丰富度和多样性最低的是冻藏 3 周紫贻贝肉。这可能是由于冻藏时间的延长,多数微生物在长期低温胁迫环境下,生命活动减弱直至死亡,仅有部分嗜冷菌存活。冻藏后期多样性、丰富度降低后又升高,说明冻藏 9 周时已污染较多腐败微生物。主成分分析得知,前 2 组的紫贻贝肉中的菌群组成和结构相似。聚类分析发现,在门水平上,各试验组中变形菌门均是占比最大的微生物,由于长时间的低温胁迫,拟杆菌门、硬壁菌门等占比均减少,多半是这些菌种生长繁殖需要高水分活度。在属水平上,各样本的优势菌群中均包含弧菌属,其可能是导致贝肉腐败的微生物之一。随着冻藏时间的延长,葡萄球菌属的占比逐渐降低。冻藏 9 周时希瓦菌属的相对丰度很大。低温贮藏环境虽可减少贝肉中微生物种类,但仍存在以上几种典型的嗜冷菌,而且希瓦氏菌属、不动杆菌属和弧菌属均是腐败菌和致病菌。在冻藏紫贻贝肉时,保证其品质和质量安全需要针对以上几种腐败菌重点调控。

参考文献

[1] 白璇, 罗海忠, 宋伟华. 枸杞乡“一乡一品”发展思路研究[J].

- 浙江海洋大学学报(人文科学版), 2018, 35(5): 30-35.
- [2] 虞铭霞, 张怡, 张宾. 海藻糖和褐藻胶寡糖对冻藏紫贻贝品质的影响[J]. 现代食品科技, 2019, 35(9): 163-169, 95.
- [3] 吕丹丹. 紫贻贝体内金属含量分析及品质保障技术研究[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2019.
- [4] 屠鸿薇, 池岚, 黄盼盼, 等. 2017~2019年广东省动物性水产品7种致病微生物污染状况分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(9): 2980-2985.
- [5] 赵金丽, 魏婉莹, 沈春蕾, 等. 基于高通量测序的紫贻贝中微生物群落分析[J]. 现代食品科技, 2019, 35(2): 253-258, 78.
- [6] 李桂澜, 匡华. 高通量测序技术在食品微生物检测中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(15): 5091-5097.
- [7] 吴林寰, 陆震鸣, 龚劲松, 等. 高通量测序技术在食品微生物研究中的应用[J]. 生物工程学报, 2016, 32(9): 1164-1174.
- [8] 刘亚文, 刘芳, 孙芝兰, 等. 基于传统培养和高通量测序方法分析羊肉加工过程中的菌群多样性[J]. 食品工业科技, 2020, 41(9): 95-101, 107.
- [9] 曹荣, 张井, 孟辉辉, 等. 高通量测序与传统纯培养方法在牡蛎微生物群落分析中的应用对比[J]. 食品科学, 2016, 37(24): 137-141.
- [10] 邓晓影, 张宾, 汤贺, 等. 基于高通量测序的南美白对虾中微生物群落分析[J]. 食品科学, 2018, 39(24): 149-155.
- [11] 陈俊羽. 低温等离子体对南美白对虾品质及优势腐败菌 AHLs 的影响研究[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2019: 10-11.
- [12] 李成, 孔晓雪, 余炬波, 等. 基于高通量测序分析蟹糊微生物菌群多样性[J]. 食品科学, 2020, 41(4): 134-139.
- [13] 周涛, 吴晓营, 罗海波, 等. 贮藏温度对即食小龙虾品质及微生物菌群多样性的影响[J]. 食品与机械, 2019, 35(9): 141-146.
- [14] 赵金丽. 冻藏鲈鱼蛋白质和脂肪氧化及其控制技术研究[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2019: 24-25.
- [15] 隋勇. 燕麦 β -葡聚糖提高荔枝果皮原花青素生物利用率和调节高脂大鼠脂代谢及其机制[D]. 武汉: 华中农业大学, 2016: 44-46.
- [16] LU Xiao-ming, LU Peng-zhen. Characterization of bacterial communities in sediments receiving various wastewater effluents with High-Throughput sequencing analysis[J]. Microbial Ecology, 2014, 67(3): 612-623.
- [17] CHAN F T, BRADIE J, BRISKI E, et al. Assessing introduction risk using species' rank-abundance distributions[J]. Proceedings Biological Sciences, 2015, 282(1799): 1517.
- [18] 蓝蔚青, 车旭, 巩涛硕, 等. 基于高通量分析流通方式对大目金枪鱼品质与微生物种群变化影响[J]. 食品科学, 2019, 40(20): 178-184.
- [19] 刘元, 李守婷, 申进文, 等. 基于 GSS 高通量测序技术的怀山药根、茎中内生真菌群落多样性分析[J]. 浙江农业科学, 2018, 59(1): 64-68.
- [20] 王伟, 冷凯良, 刘均忠, 等. 微生物扩增子高通量测序技术在水产品加工与贮藏中的应用[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(10): 263-268.

(下转第 155 页)

- [14] 曹继璇, 张颖, 姜湘琴, 等. 减压结合 1-甲基环丙烯处理通过调控中华寿桃能量代谢控制其采后冷害[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(12): 213-219.
- [15] 侯忠友, 孙海长, 罗晓琴, 等. 以色列 AGRO 与国内超市气调袋在小白杏上的对比试验初报[J]. 新疆林业, 2015(2): 18-20.
- [16] LIZ S Patiño, DIEGO A Castellanos, ANÍBAL O. Influence of 1-MCP and modified atmosphere packaging in the quality and preservation of fresh basil[J]. Postharvest Biology and Technology, 2018, 136(10): 57-65.
- [17] 卢继霞, 郭瑞宇, 王成, 等. 基于固体颗粒尺寸分布的微孔滤膜堵塞机理分析[J]. 机械工程学报, 2018, 54(20): 145-151.
- [18] 张四普, 牛佳佳, 韩立新, 等. 1-MCP 结合微孔、打孔气调袋对‘富士’苹果贮藏品质的影响[J]. 食品工业科技, 2020, 41(9): 278-284, 290.
- [19] 范宽秀, 谢国芳, 刘珊珊, 等. 1-MCP 结合 PE 袋对金刺梨贮藏品质的影响[J]. 食品科技, 2019, 44(2): 71-76.
- [20] 牛佳佳, 袁云凌, 鲁云凤, 等. 冷藏条件下不同保鲜处理对金桃猕猴桃果实品质的影响[J/OL]. 河南农业科学. (2020-10-20) [2020-11-19]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/41.1092.s.20201020.1424.038.html>.
- [21] 谢丽娟, 刘东红, 张宇环, 等. 近红外光谱技术定量测定杨梅汁可溶性固形物[J]. 光谱学与光谱分析, 2007(7): 1 332-1 335.
- [22] 鲁兴凯, 张秀英, 张丹, 等. 西南冷凉高地‘红富士’苹果不同采收时间和套袋对果实品质的影响[J]. 果树学报, 2017, 34(2): 196-203.
- [23] 杨绍琼, 陈伟强, 邓成菊, 等. 云南河口地区香蕉黑星病与炭疽病发生规律的再研究[J]. 农业热带科学, 2015, 35(2): 45-50.
- [24] 樊航宏, 薛瑾瑾, 李志英, 等. 水杨酸法测定蔬菜水果中过氧化氢酶活性[J]. 海南师范大学学报, 2016, 29(1): 61-64.
- [25] 贾艳萍, 张鹏, 曹森, 等. 1-MCP 处理对葡萄保鲜的影响[J]. 中国食品学报, 2016, 16(12): 185-192.
- [26] 朱世江, 马丽艳, 刘少群. 不同套袋对香蕉主要品质和耐久性的影响[J]. 农业工程学报, 2009, 25(7): 304-307.
- [27] 刘和平, 补建华, 胡桂兵. 套袋对‘双肩玉荷包’荔枝果实品质的影响[J]. 热带农业科学, 2016, 36(5): 7-12.
- [28] XU Fang-xu, LIU Shi-yang, LIU Ye-fei, et al. Effectiveness of lysozyme coatings and 1-MCP treatments on storage and preservation of kiwifruit [J]. Food Chemistry, 2019, 288: 201-207.

(上接第 33 页)

- [6] 刘胜辉, 孙伟生, 陆新华, 等. 6 个菠萝品种成熟果实香气成分分析[J]. 热带作物学报, 2015, 36(6): 1 179-1 185.
- [7] 张钰乾. 菠萝芳香物质组成及影响因子研究[D]. 南宁: 广西大学, 2013: 11-43.
- [8] 曹明宇, 杨志豪, 罗凌, 等. 基于神经网络的药物实体与关系联合抽取[J]. 计算机研究与发展, 2019, 56(7): 1 432-1 440.
- [9] 胡欣颖, 李洪军, 李少博, 等. 对比研究响应面法和 BP 神经网络一粒子群算法优化调理松板肉加工工艺[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(24): 179-187.
- [10] 万赐晖, 贾文坤, 王纪华, 等. 基于人工神经网络算法的电子鼻系统在食品无损检测中的应用[J]. 食品与机械, 2016, 32(10): 221-225.
- [11] 石佳超, 罗坤, 樊建人, 等. 基于 CMAQ 与前馈神经网络的区域大气污染物浓度快速响应模型[J]. 环境科学学报, 2018, 38(11): 4 480-4 489.
- [12] 杨志锐, 郑宏, 郭中原, 等. 基于网中网卷积神经网络的红枣缺陷检测[J]. 食品与机械, 2020, 36(2): 140-145, 181.
- [13] 张婷, 梁逸曾, 赵晨曦, 等. 基于分子结构预测气相色谱程序升温保留指数[J]. 分析化学, 2006, 34(11): 1 607-1 610.
- [14] 秦文斌, 冷检, 秦正龙, 等. 金莲花挥发性组分色谱保留值的构效关系研究[J]. 日用化学工业, 2014, 44(12): 680-682.
- [15] 孙运佳, 张荣荣, 施宇靖, 等. 新型苯并噻(噁)唑酮衍生物抑制黄瓜炭疽菌活性的 QSAR 研究[J]. 化学研究与应用, 2016, 28(6): 818-823.
- [16] 许禄, 邵学广. 化学计量学方法[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 287.
- [17] 冯长君. 物质构效学与应用[M]. 徐州: 中国矿业大学出版社, 2017: 3.

(上接第 147 页)

- [21] 戈子龙, 张泽金, 周爱梅, 等. 基于高通量测序与培养方法分析新鲜佛手与老香黄中的细菌多样性[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(3): 250-256.
- [22] 翁佩芳, 李微微, 吴祖芳, 等. 水产品鲈鱼 (*Pneumatophorus japonicus*) 细菌多样性及优势微生物分析[J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(3): 788-795.
- [23] 叶萍萍. 微冻鲮鱼保鲜技术研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2011: 11-24.
- [24] 郑振霄, 周聃, 冯俊丽, 等. 冷海水保藏下鲈鱼 (*Pneumatophorus japonicus*) 菌相变化规律及优势腐败菌的分离鉴定[J]. 现代食品科技, 2016, 32(4): 81-86.
- [25] ZHAO Chao-min, YUE Zhen-feng, WU Hui, et al. Determination of the origin of progesterone in butter by gas chromatography/combustion/isotope ratio mass spectrometry (GC/C/IRMS) [J]. Analytical Methods, 2014, 6(17): 6 760.
- [26] 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.