

超高压处理对斜带石斑鱼冷藏期间 细菌多样性的影响

Effects of ultra-high pressure treatment on bacterial diversity of *Epinephelus coioides* during refrigeration

黄 丽^{1,2} 庞庭才¹ 祁 岑¹ 陈德强^{1,2}

HUANG Li^{1,2} PANG Tingcai¹ QI Cen¹ CHEN Deqiang^{1,2}

(1. 北部湾大学, 广西 钦州 535011; 2. 广西高校北部湾海产品高值化利用与

预制食品重点实验室, 广西 钦州 535011)

(1. Beibu Gulf University, Qinzhou, Guangxi 535011, China; 2. Guangxi College and University Key Laboratory of High-value Utilization of Seafood and Prepared Food in Beibu Gulf, Qinzhou, Guangxi 535011, China)

摘要:目的: 有效控制石斑鱼冷藏期间的腐败变质。方法: 采用 Illumina 高通量测序技术, 通过对细菌 16S rDNA V3-V4 区段进行扩增, 分析斜带石斑鱼经 400 MPa 超高压处理 5 min 后在 4 °C 冷藏 3, 6, 9, 12 d 的细菌菌群结构变化。结果: Alpha 多样性分析表明, 随着冷藏时间的延长, 经超高压处理与未经超高压处理鱼样的 Chao1、Ace 指数不断上升, 而 Shannon 指数却逐渐下降, 但在冷藏的各个阶段(3~12 d), 经超高压处理鱼样对应的 Chao1、Ace 和 Shannon 指数均低于未经超高压处理鱼样。菌群结构分析表明, 两种处理鱼样在冷藏过程中的菌群结构变化不尽相同, 未经超高压处理鱼样在冷藏期间出现的主要优势菌群包括 *Streptococcus* (17.70%, 3 d)、*Plesiomonas* (36.66%, 6 d)、*Peptostreptococcus* (67.65%, 9 d; 43.4%, 12 d), 而经超高压处理鱼样分别为 unclassified *Enterobacteriaceae* (27.36%, 3 d)、*Plesiomonas* (40.31%, 6 d)、*Lactococcus* (24.45%, 9 d) 和 *Peptostreptococcus* (77.91%, 12 d); 确定了 *Peptostreptococcus* 为两种处理鱼样冷藏后期(第 12 天)的特定优势菌。PICRUSt 功能基因预测发现, 未经超高压处理与经超高压处理鱼样中与胁迫响应、毒物转运、DNA 重组及信号转导相关的基因丰度分别于冷藏的第 9 天和第 12 天显著上升。结论: 与未经超高压处理相比,

经超高压处理能有效降低斜带石斑鱼在冷藏过程中的细菌菌群丰度与多样性, 改变斜带石斑鱼在冷藏期间的主要优势菌群的演替规律, 影响鱼样在冷藏期间组成菌群的丰度结构变化。

关键词: 高通量测序; 超高压; 斜带石斑鱼; 细菌多样性

Abstract: Objective: This study focused on the effectively control of the spoilage and deterioration of grouper during refrigeration.

Methods: Illumina high-throughput sequencing technology was used to amplify the 16S rDNA V3-V4 segment of bacteria, then analyzed the changes in the bacterial community structure of *E. obliquus* after being treated with 400 MPa UHP for 5 minutes and refrigerated at 4 °C for 3, 6, 9, and 12 d. **Results:** According to Alpha diversity analysis fish samples treated with and without UHP showed increasing Chao1 and Ace indices as refrigeration times were extended, but Shannon indices progressively dropped. Nonetheless, the fish samples treated with UHP had lower Chao1, Ace, and Shannon indices than the ones not treated with UHP at every refrigeration stage (3~12 days). Analysis of microbial community structure showed there was a difference in the changes in microbial community structure during the refrigeration process of the two types of fish samples. During the refrigeration period, the main dominant microbial communities in fish samples without UHP were *Streptococcus* (17.70%, 3 d), *Plesiomonas* (36.66%, 6 d), and *Peptostreptococcus* (67.65%, 9 d; 43.4%, 12 d), while the main dominant microbial communities in fish samples treated with UHP were unclassified *Enterobacteriaceae* (27.36%, 3 d), *Plesiomonas* (40.31%, 6 d), *Lactococcus* (24.45%, 9 d), and *Peptostreptococcus* (77.91%, 12 d). Meanwhile, *Peptostreptococcus* was identified as the specific dominant bacteria for the later stage of cold storage

基金项目: 广西科技计划项目(编号: 桂科 AD19245119); 北部湾大学引进高层次人才科研启动项目(编号: 2019KYQD11)

作者简介: 黄丽, 女, 北部湾大学讲师, 博士。

通信作者: 陈德强(1987—), 男, 北部湾大学讲师, 博士。

E-mail: ems2310@163.com

收稿日期: 2023-09-04 **改回日期:** 2023-12-12

(12th day) of two processed fish samples. PICRUSt functional gene prediction found that the relative abundance of genes related to stress response, toxin transport, DNA recombination, and signal transduction in fish samples treated with and without UHP increased significantly on the 9th and 12th days of refrigeration, respectively. **Conclusion:** Compared with the samples without UHP, UHP treatment can effectively reduce the abundance and diversity of bacterial communities, change the succession pattern of the main dominant bacterial communities, and affect the abundance structure changes of the bacterial communities in the fish samples during refrigeration.

Keywords: high-throughput sequencing; ultra-high pressure; *Epinephelus coioides*; bacterial diversity

石斑鱼 (*Epinephelus* spp.) 是石斑鱼亚科 (*Epinephelinae*) 鱼类的总称, 目前全球有记录的石斑鱼有 400 多种, 分布在中国的有 65 种^[1], 达到规模化养殖的种类主要有斜带石斑鱼 (*E. coioides*)、青石斑鱼 (*E. awoara*)、赤点石斑鱼 (*E. akaara*) 等^[2]。据统计^[3], 2020 年中国石斑鱼近海养殖总产量已达 28.3 万 t。随着石斑鱼产业的快速发展, 开展石斑鱼的贮藏保鲜技术研究显得尤为重要。目前, 除活鱼运输外, 低温贮藏仍是石斑鱼最常规的保鲜方式, 但由于石斑鱼鱼体蛋白质与水分含量较高, 贮藏期间容易受到内在或外来微生物的污染而引起腐败变质^[4]。因此, 如何有效抑制鱼体中微生物的生长繁殖, 同时又能最大限度保持鱼肉肉质新鲜度一直是此类海鱼保鲜研究的热点^[5-7]。据文献报道, 在引起鱼类腐败的过程中起主导作用的微生物通常只有一种或几种, 即为优势腐败菌^[8], 其生长速度和致腐能力均较强, 且随着贮藏时间的延长呈动态变化趋势^[9]。目前, 有关石斑鱼在贮藏期间的菌群组成的研究还相对匮乏。

超高压 (ultra high pressure, UHP) 技术是一种新型的食品非热杀菌加工技术, 与传统的热处理加工技术相比, 超高压处理能更好地保持食品原有的感官品质与风味特征^[10-11]。目前, 该技术已被广泛应用于草鱼^[12]、鲢鱼^[13]、大菱鲆^[14]、牡蛎^[15]、海参^[16]等多种水产品的灭菌保鲜加工过程, 但在石斑鱼中的应用研究相对较少, 而有关石斑鱼在超高压处理后的微生物多样性变化的研究还未见报道。研究拟以超高压处理前后的斜带石斑鱼为研究对象, 采用 Illumina Miseq 高通量测序技术分析经超高压处理对斜带石斑鱼在冷藏期间的细菌多样性的影响, 以期超高压技术在石斑鱼保鲜加工中应用以及靶向抑制石斑鱼的腐败菌群提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

斜带石斑鱼: 体重 800~1 200 g、体长 25~30 cm, 1 h

内运至实验室后立即处理, 市售;

细菌基因组 DNA 提取试剂盒 (E.A.N.A Soil DNA Kit): 美国 OMEGA 公司;

Qubit dsDNA HS 分析试剂盒: 美国 ThermoFisher 公司;

PCR 扩增试剂盒 (2 × Hieff Robust PCR Master Mix)、核酸纯化试剂 (Hieff NGS DNA Selection Beads): 中国翌圣生物科技(上海)股份有限公司。

1.2 仪器设备

超高压设备: L2-600/2 型, 天津华泰森森生物有限公司;

Qubit 荧光计: Q33238 型, 美国 ThermoFisher 公司;

PCR 仪: ETC 811 型, 北京东胜创新生物技术有限公司;

高通量测序仪: NextSeq 500 型, 美国 Illumina 公司。

1.3 方法

1.3.1 鱼样处理 石斑鱼经去鳞清洗后去头切尾, 除去内脏, 取背部鱼肉用无菌袋单独包装, 每份约 100 g。鱼样处理分为两组: 无超高压处理组 (Ba) 和超高压处理组 (Ha), 超高压处理设定参数为压力 400 MPa、常温保压 5 min。两组鱼样均置于 4 °C 冰箱中贮藏, 分别于第 3、6、9、12 天取出备用, 每组每次随机取 5 份鱼样, 在无菌条件下捣匀后记为一个标准样本, 得到无超高压处理组标准样本记为 Ba3、Ba6、Ba9、Ba12, 超高压处理组标准样本记为 Ha3、Ha6、Ha9、Ha12。

1.3.2 总 DNA 提取与 PCR 扩增 参照 E.A.N.A Soil DNA Kit(OMEGA)试剂盒说明提取各组石斑鱼标准样品中细菌的总基因组 DNA, 经检测达标后, 置于 -20 °C 备用。使用已融合测序接头的 16S rDNA V3-V4 通用引物 341F (5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3') 与 805R (5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3') 进行 PCR 扩增。第一轮反应体系: DNA 模板 10 ng, 2 × Hieff Robust PCR Master Mix 15 μL, 10 μmol/L 引物各 1 μL, ddH₂O 补至 30 μL, 反应程序: 94 °C 预变性 3 min; 94 °C、30 s, 45 °C、20 s, 65 °C、30 s, 5 个循环; 94 °C、20 s, 55 °C、20 s, 72 °C、30 s, 20 个循环; 72 °C 延伸 5 min。第二轮反应引入 Illumina 桥式 PCR 兼容引物, DNA 模板为 20 ng, 反应程序: 94 °C 预变性 3 min; 94 °C、20 s, 55 °C、20 s, 72 °C、30 s, 5 个循环; 72 °C 延伸 5 min。PCR 产物通过 2% 琼脂糖凝胶电泳进行检测。

1.3.3 高通量测序与数据分析 DNA 产物经 Qubit 荧光定量仪进行定量, 经检测合格样本按等质量混合后送生工生物工程(上海)股份有限公司进行 Illumina MiSeq 高通量测序。获得的原始序列使用 QIIME 软件进行质控和去除嵌合处理, 将 97% 以上相似性序列聚类成操作分

类单元 (OTU); 基于 OTU 聚类结果, 利用 Mothur (<http://mothur.org/>) 软件计算样本生物多样性并进行 Alpha 多样性分析; 采用 PDP-classifer (<https://rdp.cme.msu.edu/>) 在 PDP 16S 数据库中对序列进行物种注释和分类学分析; 基于 OTU 物种信息进行样本间菌群结构差异 PCA 分析; 利用 PICRUST (<http://picrust.github.io/picrust2/>) 工具与 KEGG 数据库比对进行功能预测分析。

1.3.4 数据处理 利用 Excel 2010 软件进行数据处理和分析, 使用 R (version 3.6.0) 工具绘制样本菌群物种注释图、相对丰度聚类热图、菌群结构差异 PCA 图及代谢相关基因丰度分布热图等。

2 结果与分析

2.1 测序数据分析

8 个斜带石斑鱼高通量测序样本经质控、过滤等处理后共得到 253 085 条有效序列, 各样本有效序列数均在 2.4 万条以上, 有效序列数百分比在 60% 以上, 达到进行微生物多样性分析要求。基于 OTU 聚类统计结果表明, Ba 处理组样本获得的 OTU 数量范围为 213~264 个, 而 Ha 处理组为 183~258 个; 两种处理样本的 OTU 数量总

体上随冷藏时间的延长而增加 (表 1)。

2.2 细菌菌群多样性分析

Alpha 多样性分析表明 (表 1), 两种处理样本的 Chao1 和 Ace 指数均随冷藏时间的延长而递增, 说明两种处理鱼样的细菌菌群丰度均随冷藏时间的延长而增加; 而 Shannon 指数则在第 6 天出现下降, 随后变化幅度较少, 说明两种处理鱼样在冷藏第 6 天的细菌菌群多样性开始降低而后趋于稳定, 分析可能与细菌菌群间的竞争和抑制作用有关。同时, Ha 处理的样本在冷藏各阶段 (第 3、6、9、12 天) 的 Chao1、Ace 和 Shannon 指数均低于对应的 Ba 处理样本, 说明经超高压处理能降低斜带石斑鱼在冷藏期间的细菌菌群丰度与多样性。各样本的 Coverage 指数均在 99% 以上, Shannon 稀释曲线趋于平缓 (图 1), 表明测序广度与深度已基本覆盖所有物种信息, 测序结果能真实反映样本的微生物多样性情况。

2.3 细菌菌群结构分析

基于门水平上分析, 8 个斜带石斑鱼样本的细菌菌群主要隶属于 5 个门 [图 2(a)], 其中以 *Firmicutes* (厚壁菌门) 和 *Proteobacteria* (变形菌门) 占绝对优势。在冷藏第

表 1 各处理斜带石斑鱼样本在冷藏期间的细菌多样性指数分析

Table 1 Analysis of bacterial diversity index of *E. coioides* samples in different treatments

分组	样本	有效序列数	OTU 数量	Chao1 指数	Ace 指数	Shannon 指数	Coverage 指数
无超高压处理 (Ba)	Ba3	24 427	213	247.18	243.54	3.11	0.998
	Ba6	34 707	222	279.19	268.03	2.38	0.998
	Ba9	36 128	217	298.36	303.28	2.24	0.998
	Ba12	33 413	264	325.11	323.91	2.29	0.999
超高压处理 (Ha)	Ha3	27 959	183	224.09	226.02	2.76	0.998
	Ha6	28 478	204	248.17	254.36	2.03	0.998
	Ha9	31 114	216	277.22	263.55	1.91	0.998
	Ha12	36 859	258	292.14	290.53	2.05	0.998

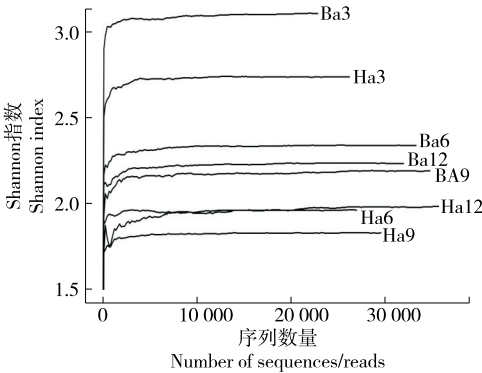


图 1 各处理斜带石斑鱼样本的 Shannon 稀释曲线

Figure 1 Shannon dilution curve of *E. coioides* samples in different treatments

3 天的 Ba3 和 Ha3 样本中, *Firmicutes* 与 *Proteobacteria* 的相对丰度之和已分别达到 90.73% 和 85.29%; 在冷藏的第 6 天, 两种菌群相对丰度之和在各样本 (Ba6、Ba9、Ba12、Ha6、Ha9、Ha12) 中的占比均超过 98%。其中, *Proteobacteria* 作为多种海鱼表面的优势菌群已有广泛报道 [17-18]。在属水平上 [图 2(b)], 两种处理样本中出现的主要菌群有 *Peptostreptococcus* (消化链球菌属)、*Plesiomonas* (邻单胞菌属)、unclassified *Enterobacteriaceae*、*Vagococcus* (漫游球菌属)、*Lactococcus* (乳球菌属)、*Morganella* (摩根氏菌属)、*Streptococcus* (链球菌属)、*Enterococcus* (肠球菌属)、*Proteus* (变形杆菌属)、*Sarcina* (八叠球菌属) 等。从结构组成来看, 两种处理样本在冷藏前期 (3 d) 的主要菌群结

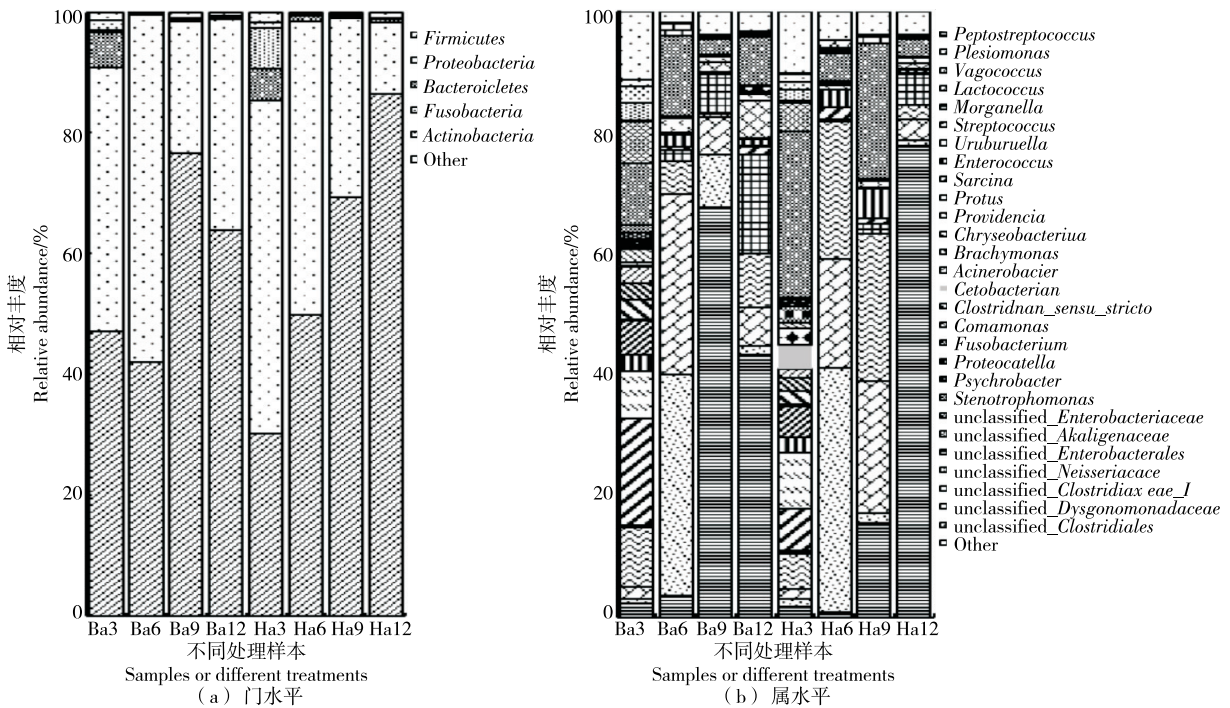


图2 各处理样本细菌菌群在门和属水平上的物种注释结果

Figure 2 Species annotation of bacterial communities at the phylum and genus levels in different treatments

构分布相对均匀,但在随后的冷藏阶段,两种处理样本中会出现个别菌群发展成为绝对优势菌群并占据较高丰度比例,这与 Alpha 多样性指数分析相符。

基于各样本的菌群(属水平)丰度聚类热图进行分析(图3),发现随着冷藏时间的延长,两种处理样本的菌群结构变化不尽相同。冷藏第3天,两种处理样本中的主要优势菌群(相对丰度 $\geq 5\%$)结构较为相似,包括 *Streptococcus* (Ba3, 17.70%; Ha3, 6.90%), unclassified_ *Enterobacteriaceae* (Ba3, 10.25%; Ha3, 27.35%), *Lactococcus* (Ba3, 9.68%; Ha3, 5.73%), *Uruburuella* (Ba3, 7.73%; Ha3, 9.15%), *Sarcina* (Ba3, 5.68%; Ha3, 5.04%)。冷藏第6天,两种处理样本中的 *Plesiomonas* (Ba6, 36.66%; Ha6, 40.31%) 和 *Vagococcus* (Ba6, 29.65%; Ha6, 17.94%) 菌群相对丰度急剧上升,其他菌群除 unclassified_ *Enterobacteriaceae* (Ba6, 13.26%), *Lactococcus* (Ba6, 5.47%; Ha6, 22.86%) 外相对丰度均低于5%。冷藏第9天,两种处理样本的主要优势菌群均发生较大变化,在 Ba 处理组中, *Peptostreptococcus* 发展成为绝对优势菌群,相对丰度达到 67.65%,其次为 *Plesiomonas* (8.82%), *Morganella* (6.45%), *Vagococcus* (6.10%);而在 Ha 处理组中,主要优势菌群按相对丰度大小依次为 *Lactococcus* (24.45%), unclassified_ *Enterobacteriaceae* (22.24%), *Vagococcus* (21.77%), *Plesiomonas* (15.60%)。冷藏第12天,两种处理样本的主要优势菌群结构仍存在一定差异,在 Ba 处理组中,

Peptostreptococcus (43.43%) 相对丰度有所下降,但依然是主要优势菌群,其他优势菌群包括 *Morganella* (16.43%), *Lactococcus* (8.97%), unclassified_ *Enterobacteriaceae* (8.88%), *Proteus* (6.28%), *Vagococcus* (6.22%);而在 Ha 处理组中,只有 *Peptostreptococcus* (77.91%) 和 *Morganella* (5.15%) 菌群相对丰度大于5%,其中, *Peptostreptococcus* 同样演变为绝对优势菌群。此外,在两种处理样本中有相当一部分菌群如 unclassified_ *Alcaligenaceae*, *Sarcina*, *Uruburuella*, *Brachymonas* (短单胞菌属)、unclassified_ *Neisseriaceae*, *Chryseobacterium* (金黄杆菌属)、*Acinetobacter* (不动杆菌属)、unclassified_ *Clostridiaceae* 等,其在冷藏第3天时的相对丰度为1%~5%,而冷藏第6天,各菌群相对丰度出现急剧下降,均下降至0.1%以下,分析可能与冷藏条件或菌群竞争有关,同时发现这些菌群在亲缘关系上较为接近^[19]。无论是 Ba 或 Ha 处理组的斜带石斑鱼样本,在冷藏的不同阶段其主要优势菌群均会发生相应变化,而经超高压处理能在一定程度上改变鱼样在冷藏期间的主要优势菌群的演替规律及其他组成菌群的相对丰度变化趋势。

2.4 细菌菌群结构主成分分析(PCA)

基于 OTU 物种丰度信息,在属水平上对各样本菌群结构的差异性进行 PCA 分析。从图4可知, Ba 处理组 (Ba3、Ba6、Ba9、Ba12) 和 Ha 处理组 (Ha3、Ha6、Ha9、Ha12) 的组内样本分布较为分散,距离区分度明显,说明

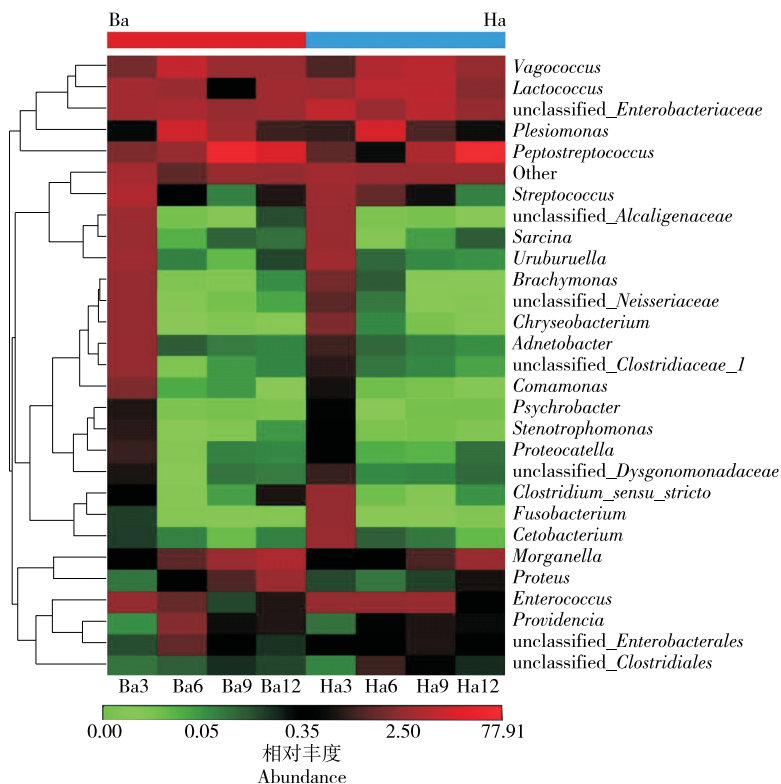


图 3 各样本菌群相对丰度聚类热图(属水平)

Figure 3 Heatmap of the relative abundance of microbial groups in each sample (genus level)

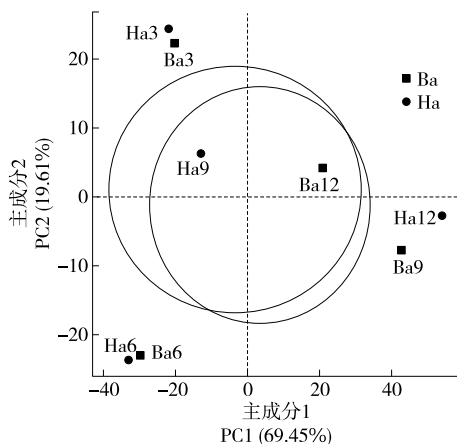


图 4 各样本菌群结构差异的 PCA 分析

Figure 4 Principal component analysis (PCA) of differences in microbial community structure among different samples

两种处理的鱼样在冷藏的不同阶段,其组内的菌群结构差异变化较大。在对两种处理组组间的样本比较中发现,Ba3 与 Ha3、Ba6 与 Ha6 相距较近;而 Ba9 与 Ha9、Ba12 与 Ha12 却相距较远。表明在冷藏第 3 天和第 6 天,经超高压处理与未经超高压处理鱼样的菌群结构较为相似,差异较少,但在冷藏第 9 天和第 12 天,两种处理鱼样

的菌群结构差异变大,推测引起这种差异变化可能与超高压处理对微生物的抑制与钝化作用有关^[20-23]。同时,样本 Ha12 与 Ba9 较为相近,说明经超高压处理鱼样在冷藏第 12 天的菌群结构与未经超高压处理鱼样在冷藏第 9 天的菌群结构趋于相近。

2.5 PICRUSt 功能预测

利用 PICRUSt 软件对各样本进行 COG 功能基因预测(相对丰度>1%,图 5)。结果获得各样本间主要包括与蛋白质代谢、碳水化合物代谢、氨基酸代谢、脂质代谢、物质转运、核糖体结构、转录调节、冷激与胁迫响应、能量转换及信号转导等相关的功能基因。此外,发现在样本 Ba9 和 Ha12 中与胁迫响应、毒物转运、DNA 重组及信号转导相关的基因的相对丰度显著高于同种处理的其他样本,结合此阶段的鱼样已开始腐败变质,推测上述基因的丰度变化可能与细菌的致腐进程有关,但具体作用机制还有待进一步研究。

3 结论

研究基于高通量测序技术分析超高压处理(400 MPa,5 min)对斜带石斑鱼在 4 ℃冷藏期间细菌多样性的影响。结果表明,经超高压处理的斜带石斑鱼样本在冷藏各个阶段的细菌菌群丰度指数与多样性指数均低于未经超高压处理的样本,说明经超高压处理对斜带

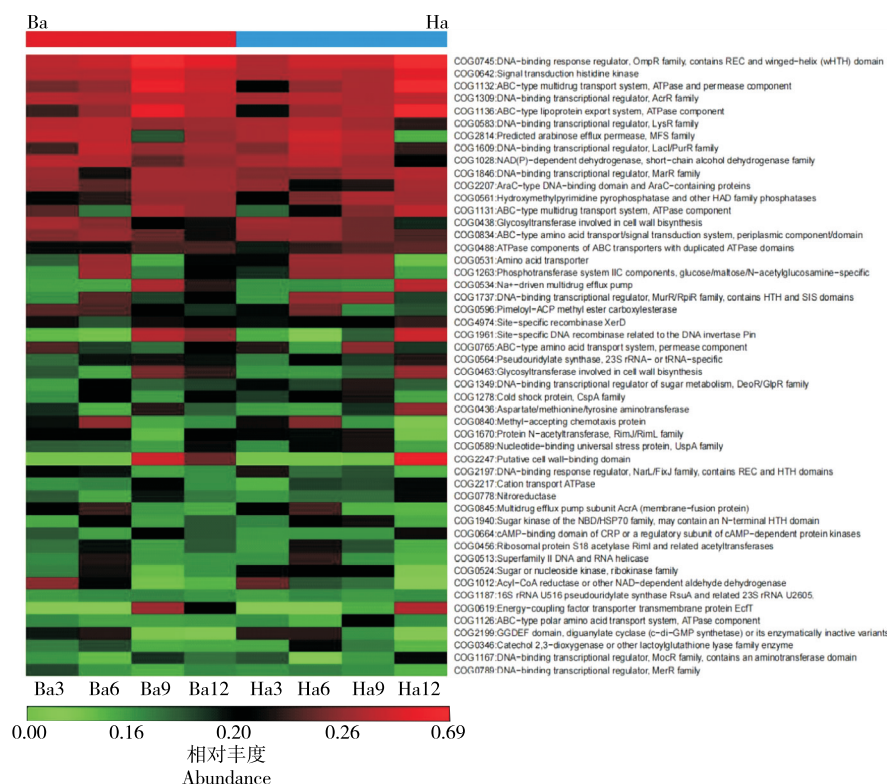


图5 各样本菌群代谢相关基因丰度分布热图

Figure 5 Heatmap of the abundance distribution of microbial metabolism related genes in each sample

石斑鱼的细菌菌群具有一定的抑制作用。细菌菌群结构分析表明,经超高压处理与未经超高压处理的斜带石斑鱼样本在冷藏期间的主要优势菌群均会发生变化,但经超高压处理会改变鱼样在冷藏期间主要优势菌群的演替规律,并对其他组成菌群的相对丰度变化造成一定影响;同时,明确 *Peptostreptococcus* 为斜带石斑鱼在冷藏后期(第12天)的特定优势菌。基于 PICRUSt 功能基因预测发现,在 Ba9(未经超高压处理冷藏第9天)和 Ha12(经超高压处理冷藏第12天)的鱼样中与胁迫响应、毒物转运、DNA重组及信号转导相关的基因丰度明显上升,其具体的作用机制仍需进一步研究。

参考文献

- [1] 丁少雄, 刘巧红, 吴昊昊, 等. 石斑鱼生物学及人工繁育研究进展[J]. 中国水产科学, 2018, 25(4): 737-752.
DING S X, LIU Q H, WU H H, et al. A review of research advances on the biology and artificial breeding of groupers[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2018, 25(4): 737-752.
- [2] 张涛, 吴燕燕, 林婉玲. 石斑鱼的营养、保鲜与加工技术现状[J]. 食品工业科技, 2018, 39(8): 324-329.
ZHANG T, WU Y Y, LIN W L. Status of nutrition, preservation and processing technology of grouper (*Epinephelus*) [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(8): 324-329.
- [3] 农业农村部渔业渔政管理局. 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中

国农业出版社, 2021: 21-23.

Fisheries and Fisheries Administration Bureau of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs. China fisheries statistical yearbook [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2021: 21-23.

- [4] SHARIFIAN S, ALIZADEH E, MORTAZAVI M S, et al. Effects of refrigerated storage on the microstructure and quality of grouper (*Epinephelus coioides*) fillets [J]. Journal of Food Science and Technology, 2014, 51(5): 929-935.
- [5] 于林, 陈舜胜, 王娟娟, 等. 茶多酚改性胶原蛋白—壳聚糖复合膜对冷藏斜带石斑鱼的保鲜效果[J]. 食品科学, 2017, 38(3): 220-226.
YU L, CHEN S S, WANG J J, et al. Preservation effect of collagen-chitosan blend film modified by tea polyphenols on grouper (*Epinephelus coioides*) fillets stored at 4 °C [J]. Food Science, 2017, 38(3): 220-226.
- [6] 吴燕燕, 张涛, 李来好, 等. 不冻液处理对石斑鱼在常温物流过程中的品质和货架期的影响[J]. 水产学报, 2019, 43(12): 2 574-2 583.
WU Y Y, ZHANG T, LI L H, et al. Effects of unfrozen liquid treatment on the quality and shelf life of grouper in normal temperature direct-sale logistics course [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2019, 43(12): 2 574-2 583.
- [7] 吴燕燕, 王悦齐, 张涛, 等. 不同致死条件对冷鲜石斑鱼肉品质的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2023, 32(2): 377-386.
WU Y Y, WANG Y Q, ZHANG T, et al. Effects of different lethal

- conditions on meat quality of chilled grouper [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2023, 32(2): 377-386.
- [8] DALGAARD P. Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish[J]. International Journal of Food Microbiology, 1995, 26(3): 319-333.
- [9] 程三红, 汤海青, 欧昌荣, 等. 鲈鱼和大黄鱼冷藏期间体表细菌群落组成和代谢功能的比较分析[J]. 食品科学, 2018, 39(19): 218-225.
- CHENG S H, TANG H Q, OU C R, et al. Comparative analysis of compositions and metabolic functions of bacterial communities on the surface of mackerel and large yellow croaker during refrigerated storage[J]. Food Science, 2018, 39(19): 218-225.
- [10] SHI L, XIONG G, YIN T, et al. Effects of ultra-high pressure treatment on the protein denaturation and water properties of red swamp crayfish (*Procambarus clarkia*) [J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 133: 110-124.
- [11] FERNANDES P A R, MOREIRA S A, FIDALGO L G, et al. Food preservation under pressure (hyperbaric storage) as a possible improvement/alternative to refrigeration [J]. Food Engineering Reviews, 2015, 7(1): 1-10.
- [12] 马海建, 施文正, 宋洁, 等. 超高压处理对草鱼肉品质的影响[J]. 现代食品科技, 2015, 31(12): 291-298.
- MA H J, SHI W Z, SONG J, et al. Effects of ultra-high pressure treatment on the quality of grass carp[J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 31(12): 291-298.
- [13] FIDALGO L G, SARAIVA J A, AUBOURG S P, et al. Effect of high-pressure pre-treatments on enzymatic activities of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) during frozen storage [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2014, 23: 18-24.
- [14] 刘剑侠, 李婷婷, 密娜, 等. 超高压处理对大菱鲆品质的影响[J]. 食品工业科技, 2013, 34(20): 102-106.
- LIU J X, LI T T, MI N, et al. Effect of ultra-high pressure treatment on quality of *Scophthalmus maximus* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(20): 102-106.
- [15] 梁山泉, 刘枝浩, 王敬宇, 等. 超高压处理对太平洋牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 肠道菌群的影响[J]. 食品研究与开发, 2021 (10): 7-15.
- LIANG S Q, LIU Z H, WANG J Y, et al. Effects of ultra-high pressure (UHP) treatment on the gut microbiota of pacific oysters (*Crassostrea gigas*) [J]. Food Research and Development, 2021 (10): 7-15.
- [16] 郑明静, 周美龄, 陈妮, 等. 超高压处理对海参组织结构及品质影响的研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(4): 187-191.
- ZHENG M J, ZHOU M L, CHEN N, et al. Effect of ultra-high pressure treatment on tissue structure and quality of sea cucumber [J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(4): 187-191.
- [17] ANDREA L, ZHEN T, BULLARD S A, et al. Diversity of the skin microbiota of fishes: Evidence for host species specificity [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2013, 85(3): 483-494.
- [18] 蒋慧丽, 水珊珊, 吴琼静, 等. 基于高通量测序分析紫贻贝冻藏过程中菌群组成变化[J]. 食品与机械, 2021, 37(1): 143-147.
- JIANG H L, SHUI S S, WU Q J, et al. Bacterial composition analysis of frozen mussels based on high-throughput sequencing [J]. Food & Machinery, 2021, 37(1): 143-147.
- [19] 曹荣, 刘淇, 赵玲, 等. 基于高通量测序的牡蛎冷藏过程中微生物群落分析[J]. 农业工程学报, 2023, 32(20): 275-280.
- CAO R, LIU Q, ZHAO L, et al. Microbial flora analysis of oyster during refrigerated storage by high throughput sequencing technology[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2023, 32(20): 275-280.
- [20] 叶锐, 时瑞, 吴曼铃, 等. 超高压技术在水产品保鲜加工中的应用[J]. 渔业现代化, 2019, 46(6): 8-13.
- YE R, SHI R, WU M L, et al. Application of high hydrostatics pressure in preservation of aquatic products [J]. Fishery Modernization, 2019, 46(6): 8-13.
- [21] 锁冠文, 周春丽, 苏伟, 等. 超高压在果蔬、肉类、乳制品保鲜中的应用[J]. 食品工业, 2021, 42(6): 338-342.
- SUO G W, ZHOU C L, SU W, et al. Application of ultrahigh pressure technology in fresh keeping of fruits, vegetables, meat and dairy products[J]. The Food Industry, 2021, 42(6): 338-342.
- [22] 张根生, 孙维宝, 岳晓霞, 等. 超高压在冷藏肉类产品贮藏保鲜中的应用研究进展[J]. 肉类研究, 2020, 34(11): 84-88.
- ZHANG G S, SUN W B, YUE X X, et al. A literature review on the application of ultra-high pressure in the preservation of chilled meat products[J]. Meat Research, 2020, 34(11): 84-88.
- [23] 张和平, 郑艺. 高通量测序技术在乳制品研究中的应用[J]. 中国食品学报, 2015, 15(3): 1-7.
- ZHANG H P, ZHENG Y. Application of high-throughput sequencing technology in dairy product [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2015, 15(3): 1-7.

(上接第 108 页)

- [15] 舒望. 色彩在食品包装设计中的运用[J]. 包装工程, 2018, 39 (16): 270-273.
- SHU W. The application of color in food packaging design[J]. Packaging Engineering, 2018, 39(16): 270-273.
- [16] 夏俐. 食品包装设计中色彩联想性的表达、强化与发展趋势[J]. 食品与机械, 2020, 36(10): 106-109.
- XIA L. Expression, strengthening, and development of color association in food packaging design[J]. Food & Machinery, 2020, 36(10): 106-109.
- [17] 沈健. 色彩在儿童食品包装中的效用研究[J]. 湖南包装, 2023, 38(1): 176-178, 192.
- SHEN J. Research on the effect of color in children's food packaging[J]. Hunan Packaging, 2023, 38(1): 176-178, 192.