

基于低压变频电场技术对带鱼(*Trichiurus lepturus*) 保鲜过程中微生物群落影响分析*

史恬恬¹ 谢超^{1①} 张家玮¹ 李远慧¹ 朱亚猛¹
吴玉婷¹ 周卓颖¹ 虞舟²

(1. 浙江海洋大学食品与药学学院 浙江舟山 316022; 2. 舟山汇丰冷藏物流发展有限公司 浙江舟山 316002)

摘要 带鱼(*Trichiurus lepturus*)在低温条件运输和贮藏过程中,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导致腐败。为了研究低压变频电场对微冻带鱼在贮藏过程中的微生物群落特征,采用 Miseq 基因组测序技术,对贮藏至 40 d 的舟山带鱼的微生物群落进行碱基信息测序。将产生的碱基序列通过 OTU 聚类、多样性分析、相关性分析等手段分析了影响带鱼保鲜效果的微生物群落组成和发育信息。在此基础上,研究了不同强度电场(0, 2, 2.5, 3 kV/m)处理对带鱼微生物群落组成的影响。根据菌属相对丰度结果,推测希瓦氏菌属(*Shewanella*)、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,40 d 后,经 3 kV/m 处理的样品其 OTU6 嗜冷菌属和 OTU13 假单胞菌属 c 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,经 3 kV/m 电场强度的低压静电场处理的抑菌保鲜效果最好,表现为在贮藏过程中杂菌种类最少,样本微生物群落物种丰度和多样性均最低,腐败程度最低。

关键词 带鱼(*Trichiurus lepturus*); 低压变频电场; 微生物; 高通量测序
中图分类号 TS254 doi: 10.11693/hyhz20210800189

带鱼(*Trichiurus lepturus*)又名牙带鱼,其风味鲜美、营养物质种类丰富,蛋白质高,易被人体吸收,深受大众喜爱(杨胜平, 2010)。带鱼肉质银白细嫩,富含人体所必需的多种营养元素,而且还可以预防血压较高、动脉狭窄、癌症等疾病的发生(贺莹, 2019)。通常来说带鱼采用低温条件进行运输和贮藏,并且在这期间易受微生物和内源性蛋白酶的影响,易产生一些胺类和醛类物质,导致鱼肉发生腐败,使带鱼体表颜色发生变化,引起品质劣变,而导致鱼肉腐败的一部分原因就是由于微生物的作用(沈妮, 2019)。

在微生物腐败菌的分离培养鉴定等方法中如实时定量荧光聚合酶链式反应、多重聚合酶链式反应等在检测过程中会受到多重因素的干扰,容易造成错

误判定,而高通量测序技术能够更完美、准确反映样品中微生物菌群分布,可以同时完成对测定微生物基因分子的序列测定,更精准、全面地鉴定样品中微生物的单一或全面基因组(Di Bella *et al.*, 2013)。除此之外, Miseq 技术在测序过程中无需大量 PCR 扩增,实现准确、快速、全面的测序及多样性分析(徐鹏昊, 2016; 张国林等, 2021)。而一些优势腐败菌如希瓦氏菌属、嗜冷菌属等是传统分离鉴定方法难以对群落结构进行全面分析的。

低压静电场保鲜是一种物理保鲜方法,通过控制水分子偶极振动减少水的相变时间,冰晶粗糙度均匀并重新排列形成的小冰晶,使蛋白质结构得以完整保留,食物的口感和咀嚼性得到提升,其次就是

* “十三五”国家重点研发计划重点专项, 2019YFD0901604 号; 舟山市科技计划项目, 2020C12016 号; 舟山市普陀区科技计划项目, 2020JH102 号。史恬恬, 硕士研究生, E-mail: 2020033759@qq.com

通信作者: 谢超, 博士, 副教授, E-mail: xc750205@163.com

收稿日期: 2021-08-27, 收修改稿日期: 2021-09-25

降低细胞呼吸速率(Xie *et al.*, 2021), 外部电场还可以改变水分子与活性酶的结合态, 导致酶的活性降低甚至没有活性, 在电场反应下, 空气被电离产生臭氧和负离子, 臭氧能直接氧化并破坏细菌的细胞壁和细胞质膜, 然后进入细胞并作用于其 DNA (丹阳等, 2004; Xanthakis *et al.*, 2013)。

因此, 本研究基于高通量测序技术, 研究低压静电场对贮藏至 40 d 带鱼保鲜过程中微生物组成差异情况, 旨在为保鲜中菌群组成及低压静电保鲜技术提供基础信息(毛俊龙等, 2020)。

1 材料与方法

1.1 试验材料

新鲜舟山带鱼(*Trichiurus lepturus*)采购自舟山沈家门渔港, 体长约 0.8~1.0 m, 厚约 2~3 cm, 带鱼通体

银白铮亮, 鱼眼小且透明, 鱼皮湿滑, 无破损品质完好, 经过处理后进行包装袋包装, 设定温度为-4 °C, 分别进行电场保存。

1.2 试验试剂

本试验所用试剂包括 AS132 DNA 提取试剂盒、Qubit3.0 DNA 试剂盒、Hieff NGS™ DNA 分选磁珠等, 具体见表 1 所示。

1.3 仪器与设备

本试验所用仪器与设备包括恒温振荡器、电场板、PCR 检测仪等, 具体见表 2 所示。

1.4 方法

1.4.1 样品处理 取同一批次的新鲜带鱼为试验原料, 运送至实验室后进行清洗、分装。

对照组(CK): 将带鱼放入无电场的环境下, 微冻-4 °C 进行保鲜试验, 标记样品为 DY1。

表 1 实验试剂
Tab.1 The experimental reagents used

名称	规格	厂家
AS132 DNA 提取试剂盒	1	Aisen Biological Technology 公司
Qubit3.0 DNA 试剂盒	1	Life 公司
Hieff NGS™ DNA 分选磁珠	1	Yeasen 公司
2×Hieff® Robust PCR Master Mix	1	Yeasen 公司

表 2 仪器与设备
Tab.2 The instruments and equipment applied

名称	厂家
恒温振荡器	上海一恒科学仪器有限公司
超净工作台	江西如益科技发展有限公司
PCR 检测仪	浙江风途科技有限公司
电场装置	浙江驰力科技股份有限公司
电场板	浙江驰力科技股份有限公司
Pico-21 高速离心机	Thermo Fisher 公司
INGENIUS 凝胶成像系统	Syngene 公司
Q32866 Qubit 3.0 荧光计	Invitrogen 公司
MiSeq 测序平台	Illumina 公司

实验组(LVEF): 将带鱼样品放入低压静电场, 微冻-4 °C 下进行持续三种电场强度(2, 2.5, 3 kV/m)处理, 标记样品为(DY2, DY3, DY4), 电场频率为 50 Hz。

1.4.2 带鱼微生物的提取 将贮藏至 40 d 的四组带鱼样品进行研磨搅碎后取 10 g 带鱼样品, 加入 9 倍体积的生理盐水, 之后进行离心分离(12 500 r/min, 10 min), 取菌体沉淀物进行微生物菌群研究, 每组样品进行三次平行实验(Hu *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2020)。

1.4.3 总 DNA 的提取 参考廖娟等(2020)的方

法。使用无菌枪头刮取表面菌落, 转移适量样品至 2 mL 样品管中进行提取。Qubit 定量检测 DNA 样本浓度。DY1、DY2、DY3、DY4 点样浓度分别为 48.6、51.2、53.6、66.2 ng/μL, 上样量 400 ng, DNA 提取电泳如图 1 所示。

1.4.4 PCR 扩增 将 PCR 管置于 PCR 仪中进行扩大范围递增, 第一轮 PCR 作用条件: 94 °C 预变性 3 min; (94 °C 变性 30 s → 45 °C 退火 20 s → 65 °C 延伸 30 s) 5 个循环; (94 °C 预变性 20 s → 55 °C 退火 20 s →

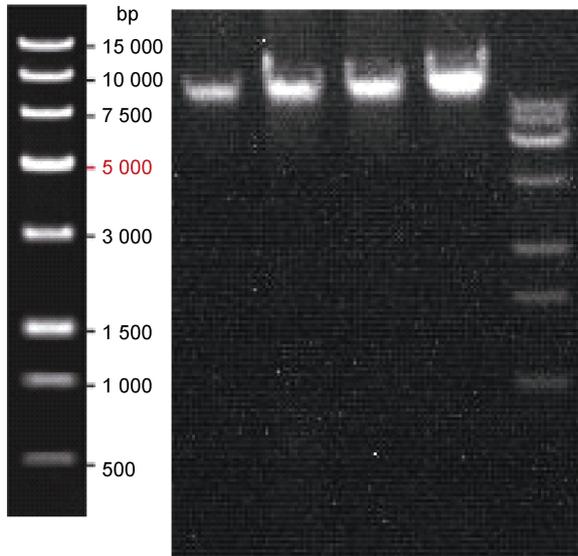


图1 DNA提取电泳图

Fig.1 Electrophoresis diagram of DNA extraction

注: 数据单位为 bp; 从左至右分别为 DY1、DY2、DY3、DY4

72 °C 延伸 30 s) 20 个循环; 72 °C 再延伸 5 min, 10 °C 保存。第二轮引入桥式 PCR 兼容引物, 27F、1492R 为通用引物, 将 PCR 管置于 PCR 仪中进行扩大, PCR 反应条件: 95 °C 预变性 3 min; (94 °C 变性 20 s → 55 °C 退火 20 s → 72 °C 延伸 30 s) 5 个循环; 72 °C 再延伸 5 min, 10 °C 保存。PCR 扩增电泳如图 2 所示(张皖君, 2018)。

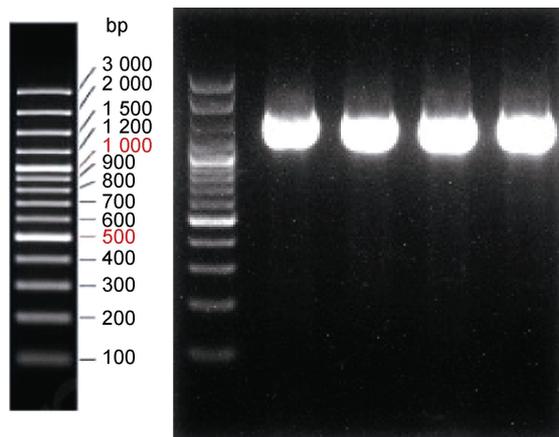


图2 PCR扩增电泳图

Fig.2 The electrophoresis diagram of PCR amplification

注: 从左至右分别为 DY1、DY2、DY3、DY4

1.4.5 MiSeq 测序 为了得到均匀的长簇效果和高质量的测序数据, 使用 Qubit 4.0 荧光定量系统进行文库浓度的定量测定。文库经完整性查验后送往上海生工生物公司进行 Illumina MiSeq 测序(郭倩倩等, 2019)。

1.4.6 菌群生物信息学分析 采用 cutadapt、PEAR、PRINSEQ、RDP classifier、GraPhlAn 等软件分析微生物群落生物信息。

2 结果与讨论

2.1 OTU 聚类

MiSeq 测序过程中会产生数以万计的 16S 序列, 逐一进行物种标注耗时太长, 且第二代测序在经 PCR 扩增后会发生碱基错配的概率会大大提升, 故引入 OTU 聚类, 且后续微生物信息学分析都是 OTU 聚类结果展开的。OTU (Operational Taxonomic Units) 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。通常所有样本去除冗余序列合并, 去除没有重复的单序列, 相似度 95% 以下认为不同属, 相似度 97% 以下可以认为测序微生物不同种, 一般采用 Usearch 作 OTU 聚类(Edgar, 2013)。

由表 3 可知, 带鱼样本的有效序列信息, DY1、DY2、DY3、DY4 的碱基信息分别是 CGTATC、AGCAGT、GAGGAA、CGAGTC, 有效序列条数分别为 88 714、84 447、83 544、74 711, 碱基数分别为 38 137 408、36 304 277、35 919 079、32 124 163, 序列平均长度大致相同。差异说明电场强度与检出有效序列条数、碱基数呈负相关。

表 4 列出了各电场所优化序列参数对应的 OTU 代表的序列阈值数, 选出与对应代表序列相似性在 97% 以上的序列 OTU 名称, 可以看出各个组间样品 OTU 类别和序列数不尽相同, 需要结合表 5 的 OTU 物种注释分析。OTU 物种注释表明, 带鱼贮藏过程中体内微生物群落全部由细菌群组成, 并没有产生真菌群落。在门水平上, 变形菌门(Proteobacteria) 为优势菌门, 仅有 OTU3 聚类为厚壁菌门(Firmicutes)。在纲水平上, 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。在目水平上, 假单胞菌目(Pseudomonadales) 聚类水平较高。在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)、微球菌科(Micrococcaceae)、莫拉氏菌科(Moraxellaceae)、李斯特菌科(Listeriaceae)、柄杆菌科(Caulobacteraceae)、草酸杆菌科(Oxalobacteraceae)、鞘脂杆菌科(Sphingobacteriaceae)。属水平是 MiSeq 测序 OTU 分类信息学 Usearch 分析的最小单位(Caporaso *et al*, 2012), 能较客观地描述该菌的生理特征和作用, 可以用于腐败原因分析, 本

表 3 样本有效序列统计
Tab.3 Valid sequence statistics of *T. lepturus* samples

组别	Barcode	有效序列条数	碱基数	平均长度/bp	最短长度/bp	最长长度/bp
DY1	CGTATC	88 714	38 137 408	429.89	385	474
DY2	AGCAGT	84 447	36 304 277	429.91	381	473
DY3	GAGGAA	83 544	35 919 079	429.94	384	473
DY4	CGAGTC	74 711	32 124 163	429.98	364	473

表 4 OTU 序列数统计表
Tab.4 Statistics of the number of OTU sequences of *T. lepturus*

OTU ID	DY1	DY2	DY3	DY4
OTU2	20 550	0	0	0
OTU1	40 458	58 260	64 765	67 490
OTU7	636	0	0	0
OTU14	578	0	0	0
OTU13	2 315	2 998	60	12
OTU4	996	10 760	0	0
OTU8	173	0	0	0
OTU9	87	0	0	0
OTU10	111	0	0	0
OTU3	35	3 704	6 280	1 843
OTU15	8	3	2	0
OTU6	1 204	488	288	5
OTU5	0	770	1 731	0
OTU11	0	58	0	0

表 5 OTU 分类学信息表
Tab.5 The OTU taxonomy information

OTU ID	分类信息
OTU2	d Bacteria; p Proteobacteria; c Gammaproteobacteria; o Alteromonadales; f Shewanellaceae; g Shewanella;
OTU1	d Bacteria; p Proteobacteria; c Gammaproteobacteria; o Pseudomonadales; f Pseudomonadaceae; g Pseudomonas;
OTU7	d Bacteria; p Bacteroidetes; c Sphingobacteriia; o Sphingobacteriales; f Sphingobacteriaceae; g Pedobacter;
OTU14	d Bacteria; p Proteobacteria; c Gammaproteobacteria; o Pseudomonadales; f Pseudomonadaceae; g Pseudomonas;
OTU13	d Bacteria; p Proteobacteria; c Gammaproteobacteria; o Pseudomonadales; f Pseudomonadaceae; g Pseudomonas;
OTU4	d Bacteria; p Proteobacteria; c Gammaproteobacteria; o Pseudomonadales; f Pseudomonadaceae; g Pseudomonas;
OTU8	d Bacteria; p Actinobacteria; c Actinobacteria; o Actinomycetales; f Micrococcaceae; g Arthrobacter;
OTU9	d Bacteria; p Proteobacteria; c Gammaproteobacteria; o Pseudomonadales; f Moraxellaceae; g Acinetobacter;
OTU10	d Bacteria; p Proteobacteria; c Betaproteobacteria; o Burkholderiales; f Oxalobacteraceae; g Janthinobacterium;
OTU3	d Bacteria; p Firmicutes; c Bacilli; o Bacillales; f Listeriaceae; g Brochothrix;
OTU15	d Bacteria; p Proteobacteria; c Gammaproteobacteria; o unclassified Gammaproteobacteria; f unclassified Gammaproteobacteria; g unclassified Gammaproteobacteria;
OTU6	d Bacteria; p Proteobacteria; c Gammaproteobacteria; o Pseudomonadales; f Moraxellaceae; g Psychrobacter;
OTU5	d Bacteria; p Proteobacteria; c Gammaproteobacteria; o Pseudomonadales; f unclassified Pseudomonadales; g unclassified Pseudomonadales;
OTU11	d Bacteria; p Proteobacteria; c Alphaproteobacteria; o Caulobacterales; f Caulobacteraceae; g Caulobacter;

次 Miseq 测序的 OTU 聚类属主要有希瓦氏菌属 (*Shewanella*)、节杆菌属 (*Arthrobacter*)、柄杆菌属 (*Caulobacter*)、工地杆菌属 (*Pedobacter*)、假单胞菌属

(*Pseudomonas*)、索丝菌属 (*Brochothrix*)、嗜冷菌属 (*Psychrobacter*)、紫色杆菌属 (*Janthinobacterium*)、不动杆菌属 (*Acinetobacter*) (曹荣等, 2016)。

2.2 多样性分析

Miseq 测序后的 OTU 聚类能够表征微生物群落的具体信息, 但仅靠 OTU 聚类的分析仍不够全面, 还需要结合 Mothur 和 R 软件对 OTU 菌属做多样性分析(Lu *et al*, 2014)。

表 6 列出了 DY1、DY2、DY3、DY4 的 Alpha 多样性指数。在 97%的 OTU 聚类水平上, 微生物丰

度指数 Chao 和 Ace 越大, 样本丰度指数越高(杨春敏等, 2019); 微生物菌群的多样性指数 Shannon 越大, 样本多样性越高, Simple 指数趋势则与 Shannon 相反(Gong *et al*, 2019)。可以看出四组样品 Chao 和 Ace 丰度指数大小排序为 DY1>DY2>DY3>DY4, Shannon 多样性指数大小排序与 Chao 和 Ace 相同, Simple 则相反。样本文库覆盖率均为 1, 各样本测序可信度高。

表 6 Alpha 多样性指数统计表
Tab.6 The statistics of alpha diversity index

样本	数目	OTUs	Shannon 指数	Chao 指数	Ace 指数	Simpson 指数	平均 Shannon 指数	均值
DY1	65 948.0	12.0	0.97	12.0	13.83	0.48	0.39	1.00
DY2	77 061.0	9.0	0.84	9.0	9.0	0.60	0.38	1.00
DY3	74 021.0	7.0	0.49	7.0	7.0	0.77	0.25	1.00
DY4	69 393.0	3.0	0.13	3.0	3.0	0.95	0.12	1.00

图 3 列出了 OTU 聚类微生物的属级相对丰度, 不同颜色区块代表各菌属所占样本的百分比。DY1、DY2、DY3、DY4 中相对丰度最高的是假单胞菌属 a, 分别占了 OTU 总量的 61%、76%、87%、97%。对照组 DY1 颜色区块最多, 有多个独有 OTU 聚类菌属, 其中希瓦氏菌属(31%)、假单胞菌属的恶臭假单胞菌(4%)、紫色杆菌属(1%)是水产品主要致腐菌(曹荣等, 2019)。电场处理组 DY2、DY3、DY4 也有多个独有菌属, 经分析均无强致腐性和致病性, 说明电场能够有效抑制带鱼贮藏过程中腐败菌的生长, 这与段伟文(2019)的结论相同。DY4 微生物群落丰度最小, 表现为嗜冷菌属(0.1%)、假单胞菌属 c (0%)的相对丰度较少。DY4 在 40 d 时 OTU6 嗜冷菌属和 OTU13 假单胞菌属 c 的相对丰度均小于 1%, 还有 OTU7、OTU14、OTU8、OTU9 等菌属未被 OTU 聚类。说明 3 kV/m 电场强度的低压静电场抑菌保鲜效果最好, DY2、DY3 次之, DY1 效果最差。印证了前文中贮藏理化特性、蛋白质特性和水分迁移情况的数据。

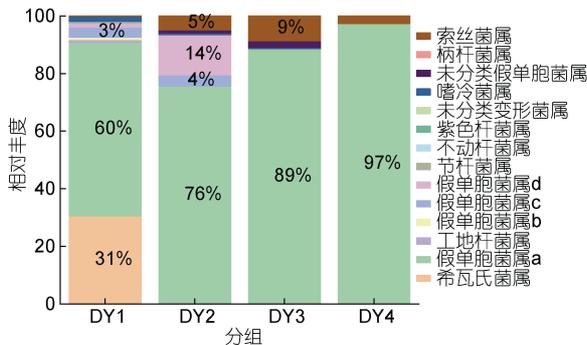


图 3 菌属相对丰度柱状图

Fig.3 Bar graph of relative abundance of bacteria

Alpha 稀释性曲线图变化情况如图 4 所示, 横轴代表多样性分析抽取的数据量, 纵轴代表 Alpha 指数, 根据曲线是否能达到平缓来判断 Miseq 测序数据量的充分性。从曲线趋平程度来看, Alpha 稀释性曲线中 DY1>DY2>DY3>DY4, DY4 最先趋平, DY3、DY2 次之, DY1 直至最后仍未趋平。说明 DY1 贮藏过程中杂菌种类多, 样本微生物群落物种丰度和多样性均高于电场组, 腐败程度也最大。电场处理组 DY2、DY3、DY4 也有多个独有菌属, 但均无致腐性和致病性。

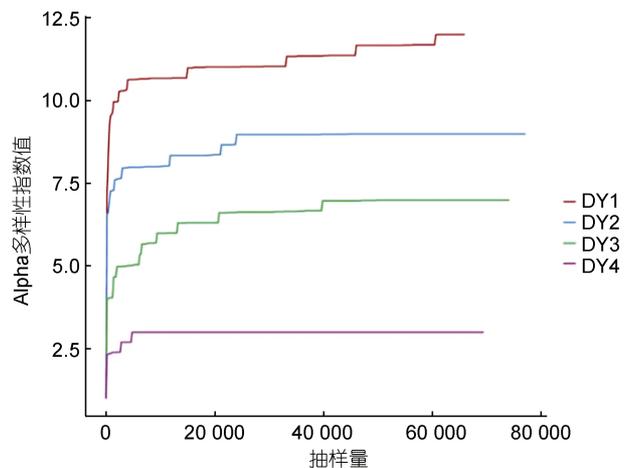


图 4 Alpha 指数稀释性曲线图

Fig.4 Curves of alpha index dilution

样本共线性关系如图 5 所示。以门水平为标准, 右弧表征微生物群落物种组成情况, 左弧表征微生物群落的分布比例情况, 一个颜色代表一个物种, 长度代表丰度比例, 第三圈的彩色区带一角连接样本, 另一角连接物种, 区带宽度代表具体物种丰度。样本

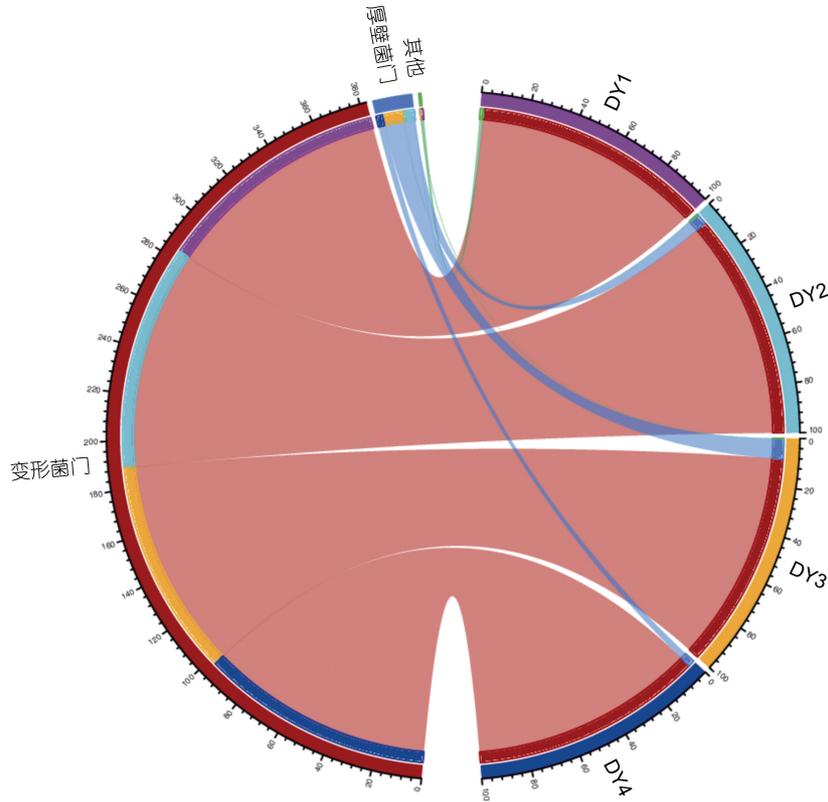


图 5 共线性关系图

Fig.5 The collinearity diagram

门中 96.82%为变形菌门(Proteobacteria), 仅有 2.81%厚壁菌门(Firmicutes), 其他菌门占比均小于 1%。

2.3 相关性分析

组间相关性是检验实验可靠性和样本合理性的重要标准, R^2 越接近 1, 表示关联性越好。由图 6 可知, DY4 与 DY3、DY2、DY1 相关系数分别为 0.72、0.67、0.49, 相关程度逐渐缩小。DY3 与 DY2、DY1 相关系数分别为 0.45、-0.07, 相关性不强。DY2 与 DY1 相关性仅为 0.32。DY4、DY3、DY2 与对照组 DY1 主成分差异显著($P < 0.05$), DY4 与 DY3 样本最相似($P > 0.05$)。表明了四组电场中 DY4 与 DY3 的关联密切程度最好, 而与 DY1 呈极度不相关。

图 7 为 PCA 主成分分析结果, PCA 可以通过数据降维运用 ANOVA 方差分析不同样本组间差异和距离, 其 X 轴和 Y 轴并无实际意义, 百分比表示差异解释度值, 点越接近, 其菌群组成越相似。数据表明除样本本身外, 电场处理的 DY4、DY3、DY2 与未经电场处理 DY1 样本间点的距离远, 表明主成分差异显著($P < 0.05$), DY4 与 DY3 样本最相似($P > 0.05$), 表明了经电场设备处理后对带鱼微生物菌群组成结构有相当显著的影响。

3 结论

采用 Miseq 基因组测序技术, 对贮藏至 40 d 的带鱼微生物群落碱基信息测序, 产生的碱基序列通过 OTU 聚类、多样性分析、相关性分析等手段分析影响带鱼保鲜效果的微生物群落组成和发育信息, 研究电场强度(0, 2, 2.5, 3 kV/m)对带鱼微生物群落组成的影响。OTU 聚类属主要有希瓦氏菌属(*Shewanella*)、工地杆菌属(*Pedobacter*)、节杆菌属(*Arthrobacter*)等菌属, Chao 和 Ace 丰度指数大小排序为 DY1 > DY2 > DY3 > DY4。对照组 DY1 的 OTU 多样性高, 有多个独有 OTU 聚类菌属, 电场处理组 DY2、DY3、DY4 也有多个独有菌属, 但均无致病性和致病性。说明 3 kV/m 电场强度的低压静电场抑菌保鲜效果最好, DY2、DY3 次之, DY1 效果最差; Alpha 稀释性曲线中 DY4 最先趋平, DY3、DY2 次之, DY1 直至最后仍未趋平。DY4 与 DY3、DY2、DY1 相关系数分别为 0.72、0.67、0.49, 相关程度逐渐缩小。综上所述, 电场能够有效抑制带鱼贮藏过程中腐败菌的繁衍生长, 3 kV/m 电场强度的抑菌保鲜效果最好, 2、2.5 kV/m 次之, 未施加电场效果最不理想。研究结果为低压静电保鲜技术提供了基础信息。

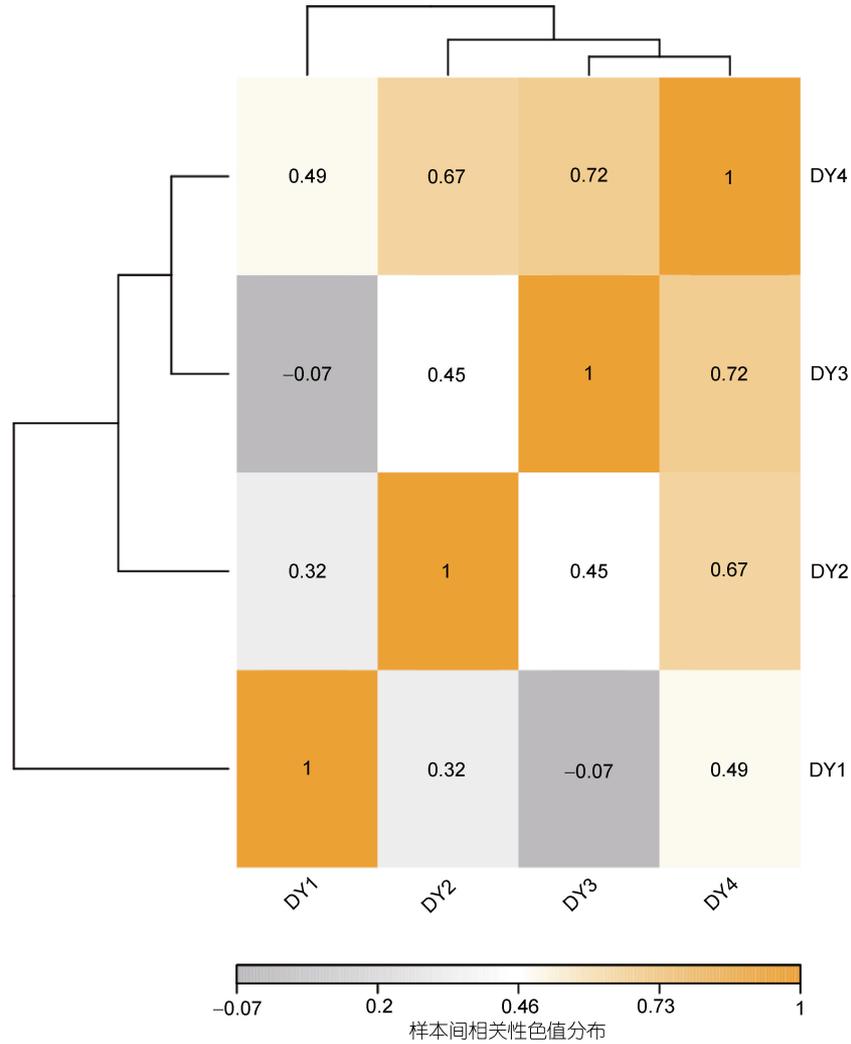


图 6 相关性热图
Fig.6 The correlation heat map

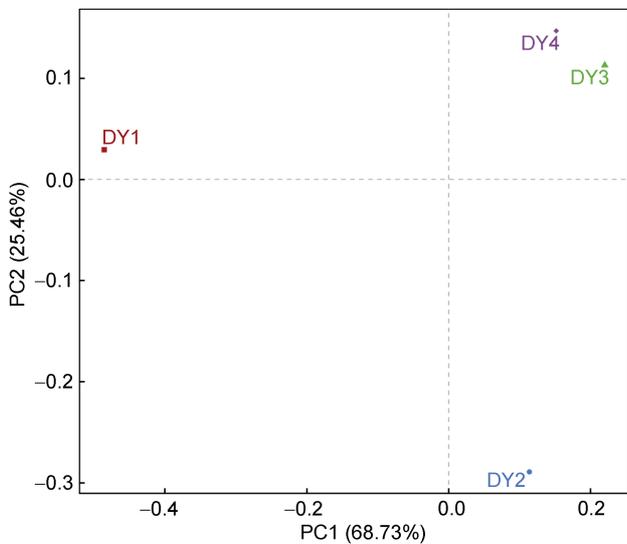


图 7 PCA 主成分分析
Fig.7 Principal component analysis

参 考 文 献

毛俊龙, 祁雪儿, 张宾, 等, 2020. 基于高通量测序的大黄鱼表面微生物群落组成及变化分析[J]. 现代食品科技, 36(12): 27-35, 167.

丹阳, 李里特, 2004. 高压静电场(HVEF)臭氧产生能力以及所产生臭氧对毛霉菌的抑制作用[J]. 食品工业科技, 25(1): 49-51.

杨春敏, 黄建初, 查丽艳, 2019. 海南山兰米酒酒曲微生物多样性分析[J]. 食品工程(4): 44-48, 59.

杨胜平, 2010. 带鱼生物保鲜剂及气调包装保鲜技术的研究[D]. 上海: 上海海洋大学: 1-64.

沈妮, 2019. 带鱼低温贮藏蛋白氧化、组织蛋白酶活性及鱼肉质地结构的变化规律[D]. 杭州: 浙江大学: 1-91.

张国林, 景荣先, 刘昆梅, 等, 2021. 新一代测序技术进展及其在药品质量控制中应用和发展趋势[J]. 药物分析杂志, 41(1): 1-12.

张皖君, 2018. 流化冰处理对鲈鱼流通期间品质及微生物菌群变化影响[D]. 上海: 上海海洋大学: 1-71.

- 段伟文, 2019. 应用低压静电场与气调包装进行凡纳滨对虾保鲜的研究[D]. 湛江: 广东海洋大学: 1-63.
- 贺莹, 2019. 紫外线杀菌结合气调包装技术对带鱼品质的影响[J]. 肉类研究, 33(1): 37-41.
- 徐鹏昊, 2016. 高通量测序中拼接问题的研究现状[J]. 山东农业工程学院学报, 33(1): 42-44.
- 郭倩倩, 卢彪, 2019. 基于高通量测序不同生产工艺嗜酸乳酸菌多样性分析[J]. 中国酿造, 38(8): 73-76.
- 曹荣, 刘淇, 赵玲, 等, 2016. 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, 32(20): 275-280.
- 曹荣, 孟辉辉, 刘淇, 等, 2019. 超高压处理对牡蛎冷藏过程腐败菌群结构的影响及典型菌株——腐败希瓦氏菌致死机理研究[J]. 中国食品学报, 19(2): 192-198.
- 廖娟, 王钢, 喻世刚, 等, 2020. 利用 Illumina MiSeq 测序平台分析沐川乌骨黑鸡空肠微生物多样性[J]. 江苏农业科学, 48(24): 178-182.
- CAPORASO J G, LAUBER C L, WALTERS W A, *et al*, 2012. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms [J]. The ISME Journal, 6(8): 1621-1624.
- DI BELLA J M, BAO Y G, GLOOR G B, *et al*, 2013. High throughput sequencing methods and analysis for microbiome research [J]. Journal of Microbiological Methods, 95(3): 401-414.
- EDGAR R C, 2013. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads [J]. Nature Methods, 10(10): 996-998.
- GONG X W, LIU C J, LI J, *et al*, 2019. Responses of rhizosphere soil properties, enzyme activities and microbial diversity to intercropping patterns on the Loess Plateau of China [J]. Soil and Tillage Research, 195: 104355.
- HU D X, PAN L Q, ZHAO Q, *et al*, 2015. Transcriptomic response to low salinity stress in gills of the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* [J]. Marine Genomics, 24: 297-304.
- LI H M, MENG Q L, CHEN T, *et al*, 2020. Transcriptomic response to low pH stress in gills of the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* [J]. Aquaculture Research, 51(1): 175-186.
- LU X M, LU P Z, 2014. Characterization of bacterial communities in sediments receiving various wastewater effluents with high-throughput sequencing analysis [J]. Microbial Ecology, 67(3): 612-623.
- XANTHAKIS E, HAVET M, CHEVALLIER S, *et al*, 2013. Effect of static electric field on ice crystal size reduction during freezing of pork meat [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 20: 115-120.
- XIE Y, ZHOU K, CHEN B, *et al*, 2021. Applying low voltage electrostatic field in the freezing process of beef steak reduced the loss of juiciness and textural properties [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 68: 102600.

EFFECT OF LOW-VOLTAGE ALTERNATING FREQUENCY ELECTRIC FIELD ON MICROBIAL COMMUNITY OF HAIRTAIL *TRICHIURUS LEPTURUS* DURING PRESERVATION

SHI Tian-Tian¹, XIE Chao¹, ZHANG Jia-Wei¹, LI Yuan-Hui¹, ZHU Ya-Meng¹,
WU Yu-Ting¹, ZHOU Zhuo-Ying¹, YU Zhou²

(1. Zhejiang Ocean University College of Food and Medicine, Zhoushan 316022, China; 2. Zhoushan HSBC Cold Storage Logistics Development, Co. Ltd., Zhoushan 316002, China)

Abstract To study the effect of low-voltage variable-frequency electric field on the microbial community characteristics of microfrozen hairtail (*Trichiurus lepturus*) during storage, Miseq genome sequencing technology was used to sequence the base information of the microbial community of Zhoushan hairtail stored for 40 days. The microbial community composition and development information affecting the preservation effect of hairtail were analyzed by OTU clustering, diversity analysis, and correlation analysis. On this basis, the effects of electric field in different intensities (0, 2, 2.5, 3 kV/m) on the microbial community composition of hairtail were studied. According to the results of relative abundance of bacteria, we speculated that *Shewanella*, *Pseudomonas*, and *Janthinobacterium* were the main spoilage bacteria of hairtail microbial spoilage. The results show that after 40-day storage, the relative abundances of OTU6 psychrophilic bacteria and OTU13 *Pseudomonas* C were less than 1%, and OTU7, OTU14, OTU8, OTU9 and other bacterial genera were not clustered by OTU. Specifically, the antibacterial and fresh-keeping effect of low-voltage electrostatic field in 3 kV/m intensity was the best, under which the species of miscellaneous bacteria were the least, the species abundance and diversity of microbial community were the lowest, and the degree of corruption was the lowest.

Key words hairtail *Trichiurus lepturus*; low-voltage electrostatic field; microorganism; high-throughput sequencing