

传统咸干鲛鱼自然风干过程细菌菌群变化

简 冲^{1,2}, 赵玉然³, 刘 淇², 李西峰³, 曹 荣^{2*}

(1. 江苏海洋大学食品科学与工程学院, 连云港 222005; 2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071; 3. 青岛海关, 青岛 266071)

摘 要: 目的 揭示咸干鲛鱼自然风干过程中细菌菌落结构的变化规律。**方法** 采用高通量测序技术对新鲜鲛鱼以及风干 2、4、6、8、12 d 的鲛鱼样品中的细菌种类及其丰度进行分析。**结果** 新鲜鲛鱼中发光杆菌属 (*Photobacterium*)、嗜冷单胞菌属 (*Psychrobacter*)、交替假单胞菌属 (*Pseudoalteromonas*) 和黄杆菌属 (*Flavobacterium*) 所占比例较高, 是新鲜鲛鱼的优势菌; 风干过程中, *Pseudoalteromonas* 在风干前期比例增加, 4 d 后比例逐渐减少; *Photobacterium* 在风干前 2 d 比例降低, 之后比例迅速增加, 12 d 时比例高达 80%, 是传统咸干鲛鱼的优势菌属。鲛鱼风干过程微生物种类趋向简单化, 菌群功能主要聚焦在化能异养作用、有氧异养作用和发酵, 其中化能异养作用、有氧异养作用对应的丰度相对稳定, 而发酵对应的丰度在风干后期呈增加趋势。胁迫耐受、兼性厌氧、运动性等表型丰度增加, 好氧对应的丰度降低, 这与风干后期发酵功能对应的丰度增加的现象一致。**结论** 高通量测序的结果更加全面地揭示了咸干鲛鱼风干过程细菌菌落结构及其丰度的变化规律, 这为进一步了解传统水产制品中的未培养微生物、优化加工工艺提供了参考。

关键词: 咸干鲛鱼; 高通量测序; 菌群; 功能注释

Change of bacterial flora during natural air drying of traditional dried salted mackerel

JIAN Chong^{1,2}, ZHAO Yu-Ran³, LIU Qi², LI Xi-Feng³, CAO Rong^{2*}

(1. Department of Food Science and Engineering, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222005, China; 2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;

3. Qingdao Customs, Qingdao 266071, China)

ABSTRACT: Objective To reveal the changing rule of bacterial colony structure of dried salted mackerel during natural air drying. **Methods** The bacterial species and abundance of fresh sample and samples dried for 2, 4, 6, 8 and 12 d were analyzed using high throughput sequencing technology. **Results** The fresh mackerel was dominated by the genera *Photobacterium*, *Psychrobacter*, *Pseudoalteromonas* and *Flavobacterium*, with a high proportion; during the air drying process, the proportion of *Pseudoalteromonas* increased in the early stage of air drying and gradually decreased after 4 d; the proportion of *Photobacterium* was decreased 2 d before air drying and then increased rapidly, reaching 80% at 12 d, making it the dominant strain of traditional dried salted mackerel. The microbial species tended to be simplified in the air drying process of mackerel, and the microbial community function

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFD0901004)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of China (2018YFD0901004)

*通信作者: 曹荣, 博士, 研究员, 主要研究方向为水产品加工与保鲜。E-mail: caorong@ysfri.ac.cn

*Corresponding author: CAO Rong, Ph.D, Professor, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, 106 Nanjing Road, Qingdao 266071, China. E-mail: caorong@ysfri.ac.cn

was mainly focused on chemical energy heterotrophic effect, aerobic heterotrophic effect and fermentation, and the abundance corresponding to chemical energy heterotrophic effect and aerobic heterotrophic effect was relatively stable, while that corresponding to fermentation showed an increasing trend in the late air drying. The abundance of such phenotypes as stress tolerance, facultative anaerobic and kinesthetic increased, while the abundance corresponding to aerobic decreased, which was consistent with the increase in abundance corresponding to the fermentation function in the later stage of air drying. **Conclusion** The results of high throughput sequencing reveal more comprehensively the structure of bacterial colonies and their abundance during the air drying process of salted dried mackerel, which provides a reference for further understanding the uncultured microorganisms in traditional aquatic products and optimizing the processing process.

KEY WORDS: dried salted mackerel; high throughput sequencing technology; microbiota; function annotation

0 引 言

鲛鱼, 学名蓝点马鲛(*Scomberomorus niphonius*), 属于脊索动物门(Chordata)、硬骨鱼纲(Osteichthyes)、鲈形目(Perciformes)、鲭科(Scombrida)、马鲛属(*Scomberomorus*)。鲛鱼体态呈纺锤形, 背部为蓝黑色, 布满蓝色斑点, 由此得名。鲛鱼广泛分布于我国渤海、黄海以及东海海域, 营养丰富、味道鲜美, 深受消费者喜爱。2020 年我国鲛鱼捕捞量为 35.51 万 t, 占海洋鱼类总捕捞量的 3.75%, 其中山东捕捞量 15.85 万 t, 位居全国第一^[1]。

我国是水产品生产和消费大国, 产品种类极为丰富。水产品营养物质和水分含量较高, 特别适宜微生物生长, 同时组织又较为脆弱, 与畜禽肉类相比更加容易腐败^[2]。微生物不仅在水产品鲜度下降中起主要作用^[3], 还会对水产品的食用安全造成隐患^[4]。此外, 一些传统水产制品倍受消费者青睐, 其中很重要的原因是微生物发酵产生的特殊风味^[5]。近年来, 国内外学者在发酵水产品方面进行了诸多研究^[6-8], 其中微生物对发酵水产品的营养、风味、安全性等有着至关重要的影响^[9-10], 而不同种类的微生物在水产品发酵过程中的作用尚未完全明确。微生物群落演替与水产品品质之间的关系成为近年来的研究热点^[11-12]。

研究水产品发酵过程中菌群的演替、代谢规律及其重要的功能基因, 对解析水产品风味形成机制和水产品品质的靶向调控具有重要意义。以往对水产品中微生物的研究大多采用平板培养法和克隆分析^[13-14], 但该方法存在很大的局限性, 无法全面解析水产品中复杂的菌群组成^[15-16]。近年来, 高通量测序技术迅速发展, 突破了传统微生物学基于纯培养的限制, 成为微生物组学研究的强力手段^[17-19]。高通量测序技术具有测定快速、测定范围广泛、高效率等优点。水产品中, 特别是发酵水产品中的微生物菌落结构及其多样性对水产品安全及风味具有重要的影响, 因此采用高通量测序技术测定水产品中的微生物菌落具有非常重要的意义, 目前高通量测序技术被大量运用在测定鱼^[20-22]、虾^[23-24]、贝类^[25-26]等水产品的微生物群落多样性中, 但对

于运用在发酵水产品上的研究较为薄弱。本研究以北方沿海市场较为常见的咸干鲛鱼为研究对象, 通过高通量测序技术明确其中所有细菌菌落结构及其自然风干过程中的变化, 对丰富传统水产制品品质形成的基础理论具有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

鲜鲛鱼, 2021 年 1 月采购自青岛市崂山区埠东海鲜市场, 选取形态完整、体长(35.0±5.0) cm 的个体。

将新鲜鲛鱼用水清洗, 用刀具沿背鳍切入顺延至尾部切开, 去除鳃和内脏, 冲洗干净, 在鱼体表面均匀涂抹一层食盐, 头部朝下悬挂于无阳光直射的通风处自然风干。风干过程环境温度 1~7 °C, 环境湿度约 40%。每 2 d 随机取鲛鱼样品 3 条, 无菌条件下取鱼肉进行实验。

TruSeq® DNA PCR-Free Sample Preparation Kit 试剂盒(美国 Thermo Scientific Fisher 公司); 十六烷基三甲基溴化铵(cetyltrimethylammonium ammonium bromide, CTAB)、琼脂糖等(分析纯, 美国 Sigma 公司)。

1.2 仪器设备

ProFlex 型 PCR 仪(美国 Thermo Scientific Fisher 公司); ECP3000 型电泳仪(上海精密仪器仪表有限公司); 5804 型冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司); HH-4 型数显恒温水浴锅(国华电器有限公司); ZHW-80S 型恒温恒湿培养箱(上海左乐仪器有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 细菌 DNA 提取与聚合酶链式反应扩增

采用十六烷基三甲基溴化铵法^[27]从鱼肉样本中提取细菌基因组 DNA, 用特异引物 341F 和 806R 扩增 16S rDNA 的 V3+V4 区。

引物序列为 341F: CCTACGGGNGGCWGCAG; 806R: GGACTACHVGGGTATCTAAT。

1.3.2 聚合酶链式反应产物纯度检测

采用琼脂糖凝胶电泳对聚合酶链式反应(polymerase

chain reaction, PCR)产物进行纯度检测, 回收目标条带进行后续实验。

1.3.3 文库构建与测序

使用 TruSeq® DNA PCR-Free Sample Preparation Kit 试剂盒构建文库, 经检测合格后, Illumina 上机测序(由广州基迪奥生物科技有限公司协助完成)。

1.3.4 测序数据处理

采用 HUPTAS 等^[28]的质量控制流程, 对测序数据进行处理, 过滤掉连续高质量碱基长度低于序列总长 75% 的数据。经过以上处理后得到的序列与数据库^[22]进行比对, 去除嵌合体序列, 得到最终的有效数据。

1.3.5 物种注释与信息分析

采用 Uparse 软件^[29]对有效数据进行聚类, 以 97% 的一致性将序列聚类为操作分类单元(operational taxonomic units, OTUs)。采用 RDP Classifier 方法^[30], 通过比对 GreenGene 数据库^[31], 对 OTUs 代表序列进行物种注释, 在属的分类水平上进行统计, 并进行优势菌种类、物种丰度、指示物种、功能注释等分析。

2 结果与分析

2.1 细菌 DNA 提取与 PCR 扩增结果

细菌的 16S rRNA 位于核糖体小亚基上, 包括 10 个保守区域和 9 个高变区域(V 区), 其中保守区在细菌间差异不大, 而高变区具有种属的特异性。16S rDNA 具有突变率低、分子大小适中的特点, 被认为是最适于细菌种类鉴定与系统发育分析的分子标签。鲜鲢鱼以及风干样品中细菌 16S rDNA V₃-V₄ 区序列扩增的电泳图见图 1。可以看出, PCR 产物目标条带符合 V₃+V₄ 区特征, 总量满足后续建库需要。

2.2 优势菌种类分析结果

优势菌很大程度决定了微生物群落的生态结构和功能结构。咸干鲢鱼自然风干过程中菌群结构变化见图 2。在属的分类水平上, 初始样本中发光杆菌属(*Photobacterium*)、嗜冷单胞菌属(*Psychrobacter*)、交替假单

胞菌属(*Pseudoalteromonas*)和黄杆菌属(*Flavobacterium*)所占比例较高, 是新鲜鲢鱼的优势菌。水产品的初始菌群波动较大, 受到品种、生长环境、饵料及捕获方式等多种因素的影响^[2]。侯温甫等^[3]认为虽然水产品的初始菌群组成差异较大, 但在特定条件的贮运过程中只有部分细菌可以大量繁殖, 成为导致水产品品质劣化的优势腐败菌。而特定的发酵或加工条件下, 同样存在某一种或几种微生物成为优势菌的情况。

在风干过程中, *Pseudoalteromonas* 在风干前期比例迅速增加, 第 4 d 时比例达 65%, 而 4 d 以后比例逐渐减少。*Photobacterium* 在风干前 2 d 比例降低, 2 d 后比例迅速增加, 12 d 时比例高达 80% 以上, 是咸干鲢鱼的优势菌属。这与 JÉRÔME 等^[32]研究发现 *Photobacterium* 在三文鱼肉中比例较高的现象一致。*Photobacterium* 属兼性厌氧, 化能异养菌, 具有呼吸和发酵代谢类型^[33]。另外, *Photobacterium* 和 *Pseudoalteromonas* 呈现出“此消彼长”的变化规律, 表明这两个属的细菌可能存在竞争关系。

2.3 物种丰度分析结果

根据科水平的物种注释及其丰度信息, 选取丰度排名前 20 的科进行聚类, 并绘制成热图, 结果见图 3。可以看出, 咸干鲢鱼的菌群在风干过程中发生显著变化。根据变化趋势基本上可以分为 3 类, 以黄杆菌科(Flavobacteriaceae)、芽孢杆菌科(Bacillaceae)、气单胞菌科(Aeromonadaceae)、小球藻科(Micrococcaceae)等为代表的菌群, 在风干过程中丰度显著下降, 这可能与环境耐受性差有关; 以弧菌科(Vibrionaceae)、干湿菌科(Psychromonadaceae)等为代表的菌群环境适应能力较强, 在风干过程中丰度增加, 成为优势菌群; 以假交替单胞菌科(Pseudoalteromonadaceae)、希瓦氏菌科(Shewanellaceae)为代表的菌群呈现丰度先升高后下降的趋势, 表明这几个菌属的环境耐受性较强, 但在后期可能受其他优势菌属的影响较大。而变化趋势相似的菌群在进化关系上往往较为接近。



注: M1 为 100 bp ladder; 上样量 2 μ L; 0、2、4、6、8、12 为样本序列号, 分别对应第 0、2、4、6、8、12 d 的样品, 每组 3 个平行样。

图 1 细菌基因组 PCR 扩增产物的电泳图

Fig.1 Electrophoretic analysis of PCR amplification products of bacterial genomes

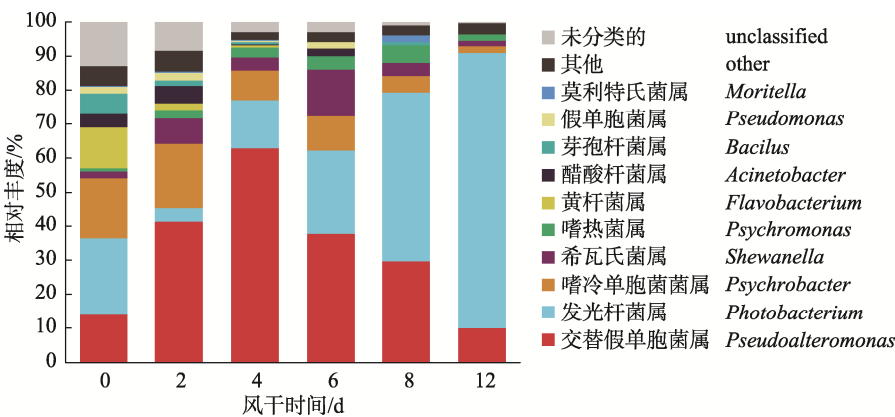


图 2 咸干鲛鱼风干过程属水平上的细菌种类分布堆叠图

Fig.2 Stacking diagram of bacterial species distribution at genus level during air drying of dried salted mackerel

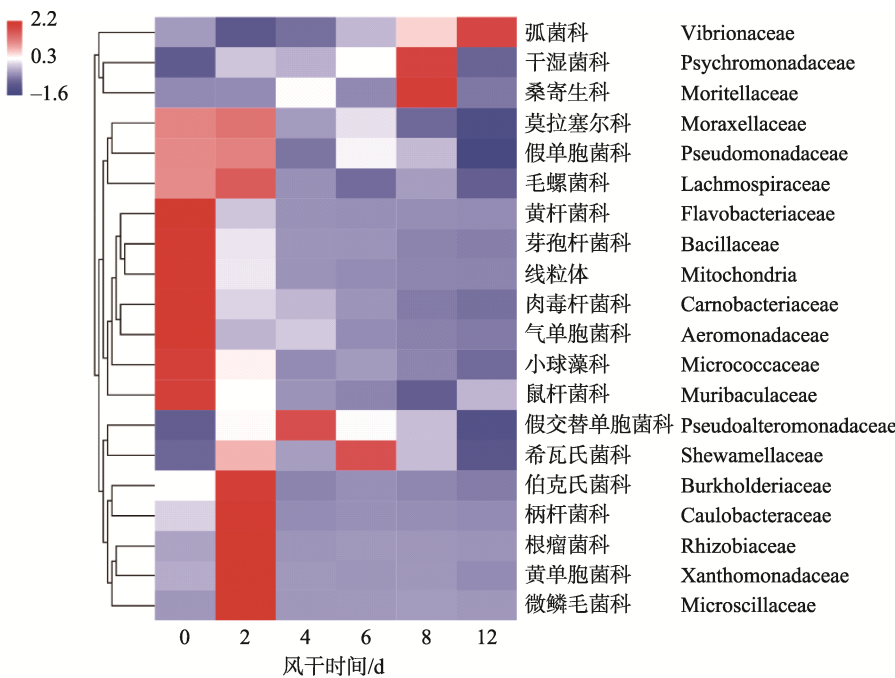


图 3 咸干鲛鱼风干过程科分类水平上的细菌物种丰度热图

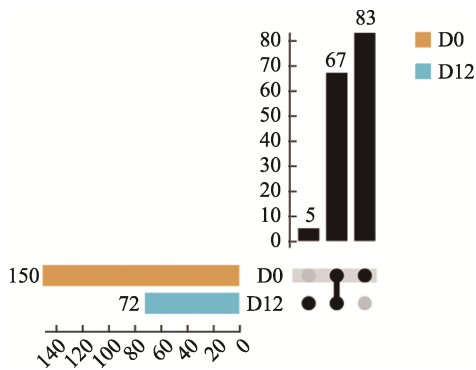
Fig.3 Heat map of bacteria species abundance of mackerel at the family level during drying process

2.4 指示物种分析结果

新鲜鲛鱼与风干鲛鱼共有及特有菌属情况见图 4。图 4 中左侧横向柱子表示各分组中菌属的数量, 新鲜鲛鱼样品和风干 12 d 的鲛鱼样品中的菌属数量分别为 150 个和 72 个, 表明风干过程微生物多样性趋于简单化。右侧为交集部分的点阵, 单个节点表示对应分组特有的信息, 而多个点的连线则表示组间共有的信息。新鲜鲛鱼样品和风干 12 d 的鲛鱼样品中共有的菌属数量为 67 个, 新鲜鲛鱼样品中特有的为 83 个, 而风干 12 d 的鲛鱼样品中特有的仅 5 个, 表明风干过程主要是初始菌群中的部分微生物在起作用, 基本没有新的外源微生物影响。

2.5 微生物功能注释结果

基于原核分类群的功能注释(functional annotation of prokaryotic taxa, FAPROTAX)的鲛鱼风干过程中微生物群落的功能注释结果见图 5。FAPROTAX 通过整合原核生物类群功能数据库, 构建“物种-生态功能分类”的关系网络, 包含超过 4600 个物种的 7600 多个功能信息, 这些信息共分为 92 个功能分组。鲛鱼自然风干过程中微生物群落的功能注释主要聚焦在化能异养作用、有氧异养作用和发酵, 其中化能异养作用、有氧异养作用对应的微生物功能相对丰度相对稳定, 而发酵对应的功能丰度在风干后期呈增加趋势, 这可能与咸干鲛鱼特有风味的形成相关^[34]。



注: D0 为新鲜鲛鱼样品; D12 为风干 12 d 的鲛鱼样品。

图 4 鲛鱼菌群结构中的指示物种分析图

Fig.4 Analysis chart of indicator species in mackerel flora structure

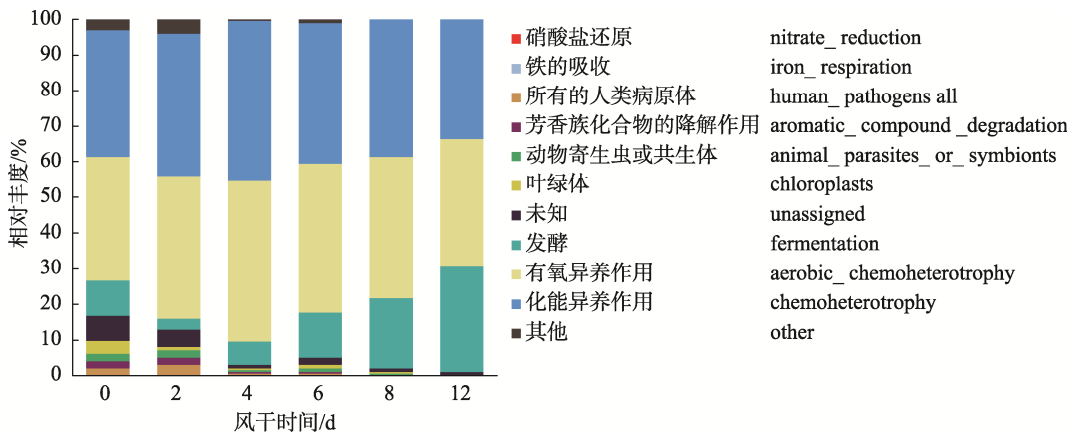


图 5 细菌菌群的功能注释结果

Fig.5 Functional annotation results of bacterial flora

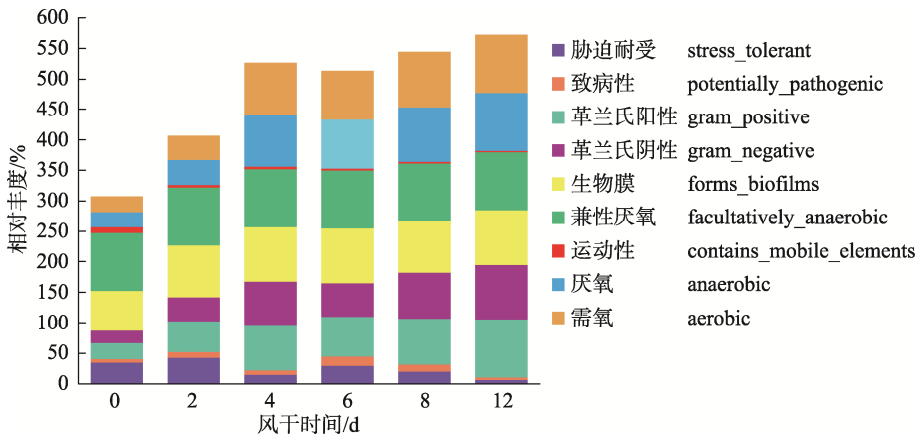


图 6 微生物表型分类与丰度分析结果

Fig.6 Results of phenotypic classification and abundance analysis of microorganisms

3 结 论

鲛鱼初始菌群中丰度较高的菌属为 *Photobacterium*、*Psychrobacter*、*Pseudoalteromonas* 和 *Flavobacterium*。自然风干过程中, 咸干鲛鱼中 *Pseudoalteromonas* 丰度呈先升高后降低的趋势。*Photobacterium* 丰度呈先下降后升高的趋势,

进一步, 通过整合集成微生物基因组(integrated microbial genomes, IMG)、京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)和细菌生物信息学资源中心(pathosystems resource integration center, PATRIC) 3 大数据库中物种的基因信息, 将微生物表型特征分为 9 类: 革兰氏阳性、革兰氏阴性、生物膜、致病性、运动性、需氧、厌氧、兼性厌氧和胁迫耐受。咸干鲛鱼风干过程微生物表型分类及丰度情况见图 6。可以看出, 随着风干时间的延长, 胁迫耐受、兼性厌氧、运动性对应的表型丰度增加, 好氧对应的丰度降低, 这与风干后期发酵功能丰度增加的现象一致。与此同时, 潜在致病性的表型丰度有所升高, 提示风干后期微生物的生长繁殖可能会产生部分有害人体健康的次级代谢产物, 如生物胺^[35]。

12 d 时比例高达 80%, 是咸干鲛鱼的优势菌属。鲛鱼风干过程微生物种类趋向简单化, 菌群功能主要聚焦在化能异养作用、有氧异养作用和发酵, 其中化能异养作用、有氧异养作用对应的丰度相对稳定, 而发酵对应的丰度在风干后期呈增加趋势。胁迫耐受、兼性厌氧、运动性等表型丰度

增加,好氧对应的丰度降低,这与风干后期发酵功能对应的丰度增加的现象一致。功能注释结果表明,发酵对应的功能丰度在风干后期呈增加趋势,这可能与咸干鲮鱼特有风味形成有关,后续研究应重点关注。

参考文献

- [1] 农业部渔业局. 2020 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2021.
- Bureau of Fisheries, Ministry of Agriculture. 2020 China fisheries statistical yearbook [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2021.
- [2] 曹荣, 林瑞环, 赵玲, 等. 基于高通量测序技术分析凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 冷藏过程菌群结构变化[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(8): 2127–2131.
- CAO R, LIN RH, ZHAO L, *et al.* Analysis of structural changes in the bacteriophage of *Litopenaeus vannamei* during cold storage based on high-throughput sequencing [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(8): 2127–2131.
- [3] 侯温甫, 李贝贝, 刘伟, 等. 加工工艺对新鲜草鱼鱼腩微生物及鲜度品质的影响[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(3): 181–184.
- HOU WF, LI BB, LIU W, *et al.* Effect of processing process on microorganisms and freshness quality of cold grass carp fish belly [J]. Jiangsu Agric Sci, 2018, 46(3): 181–184.
- [4] 刘丽梅, 高永超, 王玘. 食品中微生物危害的风险评估建模方法改进与应用[J]. 农业工程学报, 2014, 30(6): 8.
- LIU LM, GAO YC, WANG D. Improvement and application of risk assessment modeling methods for microbial hazards in food [J]. Trans Chin Soc Agric Eng, 2014, 30(6): 8.
- [5] PHEWPAN A, PHUWAPRISIRISAN P, TAKAHASHI H, *et al.* Microbial diversity during processing of Thai traditional fermented shrimp paste, determined by next generation sequencing [J]. LWT, 2020, 122: 108989.
- [6] HE Z, YAN L, XU K, *et al.* Microbiological changes and biodiversity of cultivable indigenous bacteria in Sanbao larger yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*), a Chinese salted and fermented seafood [J]. J Food Sci, 2015, 80(4-5-6): 776–781.
- [7] MARUI J, BOULOM S, PANTHAVEE W, *et al.* Culture-independent analysis of the bacterial community during fermentation of pa-som, a traditional fermented fish product in Laos [J]. Fish Sci, 2014, 80(5): 1109–1115.
- [8] PHEWPAN A, PHUWAPRISIRISAN P, TAKAHASHI H, *et al.* Investigation of kokumi substances and bacteria in fermented Thai freshwater fish (Pla-ra) [J]. J Agric Food Chem, 2019, 68(38): 10345–10351.
- [9] 吴燕燕, 陈茜, 王悦齐, 等. 传统发酵水产品微生物群落与品质相关性的研究进展[J]. 水产学报, 2021, 45(7): 1248–1258.
- WU YY, CHEN X, WANG YQ, *et al.* Research progress on the correlation between microbial community and quality of traditional fermented aquatic products [J]. J Fish China, 2021, 45(7): 1248–1258.
- [10] 李春生, 王悦齐, 李来好, 等. 传统鱼露发酵过程中细菌群落演替及其挥发性风味形成的影响分析[J]. 食品科学, 2018, 39(24): 85–92.
- LI CS, WANG YQ, LI LH, *et al.* Bacterial community succession during fermentation of Chinese fish sauce and its effect on formation of volatile flavor components [J]. Food Sci, 2018, 39(24): 85–92.
- [11] OHSHIMA C, TAKAHASHI H, INSANG S, *et al.* Next-generation sequencing reveals predominant bacterial communities during fermentation of Thai fish sauce in large manufacturing plants [J]. LWT, 2019, 114: 108375.
- [12] 陶飞燕, 潘创, 陈胜军, 等. 基于高通量测序技术分析微冻凡纳滨对虾的微生物[J]. 南方水产科学, 2021, 17(2): 104–113.
- TAO FY, PAN C, CHEN SJ, *et al.* Microbial analysis of *Litopenaeus vannamei* during partial freezing storage by Illumina high throughput sequencing [J]. South China Fish Sci, 2021, 17(2): 104–113.
- [13] 李改燕. 糟鱼发酵过程中微生物菌群和风味变化的研究[D]. 宁波: 宁波大学, 2009.
- LI GY. Study on microbial flora and flavor changes during the fermentation of dried fish [D]. Ningbo: Ningbo University, 2009.
- [14] 曾雪峰. 淡水鱼发酵对酸鱼品质影响的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2013.
- ZENG XF. Study on the effect of freshwater fish fermentation on the quality of sour fish [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2013.
- [15] PARENTE E, RICCIARDI A, ZOTTA T. The microbiota of dairy milk: A review [J]. Int Dairy J, 2020, 1014(4): 104714.
- [16] DEWHIRST FE, CHEN T, IZARD J, *et al.* The human oral microbiome [J]. J Bacteriol, 2010, 192(19): 5002–5017.
- [17] POLKA J, REBECCHI A, PISACANE V, *et al.* Bacterial diversity in typical Italian salami at different ripening stages as revealed by high-throughput sequencing of 16S rRNA amplicons [J]. Food Microbiol, 2015, 46: 342–356.
- [18] 韩齐, 李媛媛, 孙方达, 等. 新一代测序技术在食品微生物学中的应用[J]. 食品工业, 2016, 37(1): 278–283.
- HAN Q, LI YY, SUN FD, *et al.* Application of next-generation sequencing technology in food microbiology [J]. Food Ind, 2016, 37(1): 278–283.
- [19] LI Q, KANG J, MA Z, *et al.* Microbial succession and metabolite changes during traditional serofluid dish fermentation [J]. Food Sci Technol, 2017, 84: 771–779.
- [20] 马肖肖, 赵利. 高通量测序分析酒糟鱼中微生物群落多样性[J]. 河北农机, 2020, (8): 67–70.
- MA XX, ZHAO L. Analysis of microbial community diversity in distiller's grains fish by high throughput sequencing [J]. Hebei Agric Mach, 2020, (8): 67–70.
- [21] ZANG JH, XU YS, XIA WS, *et al.* Dynamics and diversity of microbial community succession during fermentation of Suan yu, a Chinese traditional fermented fish, determined by high throughput sequencing [J]. Food Res Int, 2018, 111: 565–573.
- [22] ZENG XF, CHEN XH, ZHAN GW. Characterization of the microbial flora from Suan Yu, a Chinese traditional low salt fermented fish [J]. J Food Process Pres, 2016, 40(5): 1093–1103.
- [23] 戴玲瑛, 齐曼婷, 王立梅, 等. 虾酱中间产物细菌群落结构及多样性[J]. 食品科学, 2018, 39(22): 173–178.
- DAI LY, QI MT, WANG LM, *et al.* Bacterial community structure and diversity of shrimp sauce intermediate products [J]. Food Sci, 2018, 39(22): 173–178.
- [24] 李文亚, 刘洋, 李宁, 等. 蛋白酶制剂对虾酱发酵过程中理化性质和微生物区系的影响[J]. 食品科学, 2021, 42(10): 184–192.
- LI WY, LIU Y, LI N, *et al.* Effect of protease preparation on

- physicochemical properties and microbiota of shrimp paste during fermentation [J]. Food Sci, 2021, 42(10): 184–192.
- [25] 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, 155.
- JIANG HL, SHUI SS, WU QJ, *et al.* Analysis of changes in flora composition of purple mussel during frozen storage based on high throughput sequencing [J]. Food Mach, 2021, 37(1): 143–147, 155.
- [26] 张大为, 张洁, 田永航. 白贝自然发酵调味液中乳酸菌的分离鉴定及生物学特性的研究[J]. 现代食品科技, 2019, 35(11): 76–82, 292.
- ZHANG DW, ZHANG J, TIAN YH. Isolation and identification of lactic acid bacteria from natural fermented sauce of *monetaria moneta* and study of their biological characteristics [J]. Mod Food Sci Technol, 2019, 35(11): 76–82, 292.
- [27] SHARMA P, PUROHIT SD. An improved method of DNA isolation from polysaccharide rich leaves of *Boswellia serrata* Roxb. [J]. Indian J Biotechnol, 2012, 11(1): 67–71.
- [28] HUPTAS C, SCHERER S, WENNING M. Optimized Illumina PCR-free library preparation for bacterial whole genome sequencing and analysis of factors influencing de novo assembly [J]. BMC Res Notes, 2016, 9(1): 269.
- [29] AVERSHINA E, FRISLI T, RUDI K. De novo semi-alignment of 16S rRNA gene sequences for deep phylogenetic characterization of next generation sequencing data [J]. Microbes Environ, 2013, 28(2): 211–216.
- [30] BOKULICH NA, SUBRAMANIAN S, FAITH JJ, *et al.* Quality-filtering vastly improves diversity estimates from Illumina amplicon sequencing [J]. Nat Methods, 2013, 10(1): 57–59.
- [31] EDGAR RC. UPARSE: Highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads [J]. Nat Methods, 2013, 10(10): 996.
- [32] JÉRÔME M, MACÉ S, DOUSSET X, *et al.* Genetic diversity analysis of isolates belonging to the *Photobacterium phosphoreum* species group collected from salmon products using AFLP fingerprinting [J]. Int J Food Microbiol, 2016, 217(9): 101–109.
- [33] 励建荣, 刘永吉, 朱军莉, 等. 真空、空气和气调包装对冷藏鱼糜制品品质的影响[J]. 水产学报, 2011, 35(3): 446–455.
- LI JR, LIU YJ, ZHU JL, *et al.* Effect of vacuum, air and gas packaging on the quality of frozen surimi products [J]. J Fish China, 2011, 35(3): 446–455.
- [34] 李莹, 白凤翎, 励建荣. 发酵海产品中微生物形成挥发性代谢产物研究进展[J]. 食品科学, 2015, 36(15): 255–259.
- LI Y, BAI FL, LI JR. Progress of microbial formation of volatile metabolites in fermented seafood [J]. Food Sci, 2015, 36(15): 255–259.
- [35] WANG S, WAN X, FAN H, *et al.* Study on the mobility of water and its correlation with the spoilage process of salmon (*Salmo solar*) stored at 0 and 4 °C by low-field nuclear magnetic resonance (LF NMR ¹H) [J]. J Food Sci Technol, 2018, 55(1): 173–182.

(责任编辑: 张晓寒 韩晓红)

作者简介



简 冲, 硕士研究生, 主要研究方向为水产品加工。
E-mail: 909391902@qq.com



曹 荣, 博士, 研究员, 主要研究方向为水产品加工与保鲜。
E-mail: caorong@ysfri.ac.cn