

# 冷藏哈氏仿对虾肌肉品质和微生物群落组成变化

叶洲琳<sup>1</sup>, 周婷<sup>1</sup>, 水珊珊<sup>1,2\*</sup>, 郑文雄<sup>1</sup>, 涂传海<sup>1</sup>, 李川<sup>3</sup>, 张宾<sup>1</sup>

(1. 浙江海洋大学食品与药学学院, 浙江舟山 316022) (2. 浙江省海洋开发研究院, 浙江舟山 316021)

(3. 海南大学食品科学与工程学院, 海南海口 570228)

**摘要:** 由于冷藏哈氏仿对虾易腐败变质, 且虾头的存在会影响其肌肉品质和微生物群落情况, 该研究以完整和去头哈氏仿对虾为研究对象, 0℃冷藏0、2、4和6d, 探究其相关变化情况, 分别进行肌肉理化指标测定和高通量测序。结果表明: 随冷藏时间延长, 两组虾肌肉水分含量、水分活度、 $L^*$ 值和 $a^*$ 值呈显著下降趋势 ( $P<0.05$ ),  $b^*$ 值呈显著上升趋势 ( $P<0.05$ )。苏木精伊红 (Hematoxylin and Eosin, H&E) 染色和透射电镜结果显示, 新鲜虾肌纤维排列紧密有序, 而冷藏后其间隙增大。冷藏过程中, 去头虾肌肉水分含量、水分活度、 $L^*$ 值、 $a^*$ 值和 $b^*$ 值均高于完整虾, 且前者肌原纤维被破坏程度更低。虾肌肉微生物丰富度在贮藏初期最高, 后逐渐下降。门水平上, 变形菌门 (Proteobacteria) 占绝对优势 (89.23%~99.82%); 属水平上, 代尔夫特菌属 (*Delftia*) 及假交替单胞菌属 (*Pseudoalteromonas*) 和嗜冷菌属 (*Psychrobacter*) 分别为冷藏初期和后期优势菌属。 $\beta$ 多样性分析表明两个主坐标叠加占 89.36% 的解释度, 冷藏 2 d 去头虾菌群组成与其他组差异明显。综上, 将哈氏仿对虾去头贮藏能有效降低虾肌肉劣变速率和微生物丰富度。该研究为明确哈氏仿对虾肌肉品质变化规律提供了理论依据。

**关键词:** 哈氏仿对虾; 冷藏; 品质变化; 高通量测序; 微生物群落

文章编号: 1673-9078(2025)08-131-139

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.8.0762

## Changes in Sword Prawn Muscle Quality and Microbial Community (*Parapenaeopsis hardwickii*) during Chilled Storage

YE Zhoulin<sup>1</sup>, ZHOU Ting<sup>1</sup>, SHUI Shanshan<sup>1,2\*</sup>, ZHENG Wenxiong<sup>1</sup>, TU Chuanhai<sup>1</sup>, LI Chuan<sup>3</sup>, ZHANG Bin<sup>1</sup>

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

(2.Zhejiang Marine Development Research Institute, Zhoushan 316021, China)

(3.School of Food Science and Engineering, Hainan University, Haikou 570228, China)

**Abstract:** Due to the tendency of refrigerated sword prawn (*Parapenaeopsis hardwickii*) to spoil quickly, affecting both muscle quality and microbial community characteristics in the shrimp heads, intact and headless sword prawn were used as the research object. To explore relevant changes, muscle physicochemical indexes and high-throughput sequencing results of two shrimp types were assessed after 0, 2, 4, and 6 d of chilled storage at 0℃. The results showed that the moisture content, water activity,  $L^*$  values, and  $a^*$  values in the muscle of both groups significantly decreased ( $P<0.05$ ), while  $b^*$  values increased ( $P<0.05$ ) with the extension of chilled storage. The muscle fibers of fresh shrimp were

引文格式:

叶洲琳,周婷,水珊珊,等.冷藏哈氏仿对虾肌肉品质和微生物群落组成变化[J].现代食品科技,2025,41(8):131-139.

YE Zhoulin, ZHOU Ting, SHUI Shanshan, et al. Changes in sword prawn muscle quality and microbial Community (*Parapenaeopsis hardwickii*) during chilled storage [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(8): 131-139.

收稿日期: 2024-05-31

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32301972; U23A20263); 国家重点研发计划项目 (2021YFD2100504); 浙江省教育厅科研项目 (Y202352894)

作者简介: 叶洲琳 (2000-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 水产品加工与贮藏, E-mail: Ye\_zhoulin@163.com

通讯作者: 水珊珊 (1989-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 水产品精深加工, E-mail: shuiss@zjou.edu.cn

closely and orderly arranged, while the gaps between myofibrils increased after chilled storage, as indicated by hematoxylin and eosin (H&E) staining and transmission electron microscopy. During chilled storage, the moisture content, water activity, and  $L^*$ ,  $a^*$ , and  $b^*$  values of headless shrimp were higher than those of intact shrimp, and the degree of myofibrillar fiber damage was lower. The microbial richness and diversity in shrimp muscle was the highest at the early stage of storage and diminished gradually. Proteobacteria were dominant at the phylum level (89.23%~99.82%). *Delftia*, *Pseudoalteromonas*, and *Psychrobacter* were dominant in the early and late stages of chilled storage at the genus level, respectively. The  $\beta$  diversity analysis revealed that two first principal coordinates accounted for 89.36% of the variance, and the bacteria community composition in headless shrimp after 2 d of chilled storage significantly differed from that in the other sample groups. In conclusion, head removal before sword prawn storage can effectively reduce the rate of muscle deterioration and microbial richness. These findings provide a theoretical basis for clarifying the changes in the muscle quality of sword prawn.

**Key words:** *Parapenaeopsis hardwickii*; chilled storage; quality change; high-throughput sequencing; microbial community

哈氏仿对虾 (*Parapenaeopsis hardwickii*), 属节肢动物门, 甲壳纲, 仿对虾属, 适宜生长在广温广盐性海域, 多分布在马来群岛、日本群岛、印度半岛, 以及我国南海、东海及黄海南部等近岸浅海海域<sup>[1]</sup>。根据中国渔业统计年鉴<sup>[2]</sup>, 2022 年我国哈氏仿对虾淡水养殖产量为 226 312 t, 较 2021 年增加 0.85%, 外加海洋捕捞, 其年产量较为丰富。哈氏仿对虾繁殖能力强、生长周期短, 市场上多以鲜销或虾干、虾仁出售, 是舟山沿海重要出口经济虾类<sup>[3]</sup>。作为高蛋白高水分物种, 虾捕捞后极易发生机体代谢紊乱<sup>[4]</sup>, 不适宜的贮藏或运输条件易使其发生脂质氧化、微生物侵袭或体内酶降解等, 引起腐败导致肌肉品质下降。低温贮藏是肉类食品贮藏的主要方式<sup>[5]</sup>, 相较于冻藏, 冷藏成本更低廉、操作更简便<sup>[6]</sup>, 因此适用范围更广。但冷藏温度范围控制有限, 贮藏过程中易造成水产品腐败变质。因此, 探究哈氏仿对虾冷藏过程中肌肉组织理化性质的变化十分有必要。

目前, 关于哈氏仿对虾的研究有: 乔毅等<sup>[3]</sup>综述哈氏仿对虾资源分布和人工养殖前景等, 为其资源保护和人工养殖提供了参考; Yang 等<sup>[7]</sup>利用 AMOVA 和成对 FST 对黄海和东海的哈氏仿对虾进行遗传分化分析, 结果表明其种群间不存在显著差异; Mao 等<sup>[8]</sup>通过线粒体基因组测序, 得到东海哈氏仿对虾完整基因组, 有助于其分子系统学和群体遗传学的发展。本课题组前期探究了内源酶对冷藏和冻藏哈氏仿对虾肌肉品质的影响, 发现胰蛋白酶、钙蛋白酶和组织蛋白酶是造成虾品质劣变的主要原因; 也探究了虾肌肉质构特性在贮藏时的变化<sup>[9,10]</sup>; 但关于其冷藏过程中肌肉品质和微生物群落组成变

化的研究尚待进行。

尽管有关虾冷藏过程中品质和微生物方面的变化研究已有报道: Wu 等<sup>[11]</sup>利用冷等离子体改善冷藏红虾品质, 显著降低了微生物多样性; He 等<sup>[12]</sup>探究微酸性电解水和葡萄籽提取物对南美白对虾的保鲜效果; Liu 等<sup>[13]</sup>对比分析流化冰、碎冰和冷藏三种处理方式对南美白对虾品质特性和菌群组成的影响, 发现流化冰能维持肌肉品质, 显著抑制微生物生长; Zhu 等<sup>[14]</sup>以不同强度静磁场辅助冷冻处理探究其对南美白对虾黑变抑制效果, 结果表明 2 mT 磁场强度能有效保护肌肉微观结构, 降低微生物丰度。然而, 未见以哈氏仿对虾为研究对象的文献被报道。

本文以完整和去头哈氏仿对虾为研究对象, 分别测定其肌肉理化指标和进行高通量测序, 并对对比分析变化情况, 阐述优势菌群在冷藏过程中的形成原因和发展趋势, 旨在为冷藏海水虾品质保障提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

新鲜哈氏仿对虾 (体长约为 6 cm、均重约为 12 g) 在舟山国际水产城购入, 装入有冰块的泡沫箱内并打包完好, 30 min 内送至实验室。

无水乙醇、硫酸铝钾、碘酸钠、钼酸、戊二醛、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、柠檬酸铅等, 国药集团化学试剂有限公司; PFA 固定液、DNA 抽提试剂盒, 碧云天生物技术有限公司; AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒、TruSeqTM DNA Sample Prep Kit 测序试剂,

美国 Axygen 公司。

HD-3A 型水分活度测定仪, 北京福星; CR-10 型色差计, 柯尼卡美能达公司; JEM-1011 透射电子显微镜, 上海百贺仪器科技有限公司; YC-III 卧式恒温调速回转式摇床, 倍辉北京产品部; CF16RN 型高速冷冻离心机, 日本日立公司; NanoDrop One 超微量分光光度计, 美国 Thermo Scientific 公司; Veriti Dx PCR 仪, 美国 ABI 公司; QuantiFluor™-ST 蓝色荧光定量系统, 美国 Promega 公司; TransStart FastPfu DNA, 北京全式金生物技术有限公司。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 样品处理

选取新鲜且完整无破损 (55~60 mm、12 g) 哈氏仿对虾, 分为完整虾组和去头虾组, 每组 20 只。用食品聚乙烯 (Polyethylene, PE) 自封袋对虾进行分装, 0℃ 冰箱低温贮藏。分别在 0、2、4 和 6 d, 测定样本各项实验指标。

### 1.2.2 水分含量和水分活度测定

根据 GB 5009.3-2016, 对虾肌肉水分含量进行测定<sup>[15]</sup>; 根据 GB 5009.238-2016 使用水分活度测定仪检测虾肌肉水分活度<sup>[16]</sup>。

### 1.2.3 色泽测定

取虾第二腹节肌肉, 使用 CR-10 型色差仪测试其表面颜色:  $L^*$  值 (亮度)、 $a^*$  值 (红度) 和  $b^*$  值 (黄度)。

### 1.2.4 微观组织结构

#### 1.2.4.1 HE染色分析

参考 Luan 等<sup>[17]</sup>方法, 选取虾第二腹节肌肉, 取 1×1×0.5 cm 肌肉块, 浸没于 4 wt.% PFA 固定液 24 h, 梯度乙醇脱水后, 浸蜡包埋, 切片机切片 (5 μm 小块、横向切片), 最后, 用苏木精-伊红对切片染色, 光学显微镜下观察肌肉组织结构, 检查组织学变化。

#### 1.2.4.2 透射电镜分析

参考郑文涌<sup>[18]</sup>的方法, 选取虾第二腹节肌肉, 取 1×1×0.5 cm 肌肉块, 分别用 2.5% (φ) 戊二醛、0.1 mol/L 磷酸 buffer、1% (φ) 锇酸、0.1 mol/L 磷酸 buffer、梯度乙醇、Epon 812 环氧树脂进行预固定 3 d, 漂洗, 固定, 漂洗, 脱水, 包埋后, 切片机切片成 (5 μm 小块、纵向切片), 柠檬酸铅染色,

JEM-1011 透射电子显微镜观察。

### 1.2.5 微生物提取与分析

#### 1.2.5.1 微生物提取

虾肉: 10 g, 无菌生理盐水: 1:9 ( $m/V$ ), 共同加入无菌锥形瓶, 摇床: 300 r/min, 60 min。无菌水彻底淋洗、砂布过滤去除杂质, 离心机 12 000×g 条件下运转 15 min, 取沉淀分析微生物菌落。

#### 1.2.5.2 微生物群落分析

DNA 抽提: 虾表面微生物 DNA 分别通过基因组 DNA 提取试剂盒和 1 wt.% 琼脂糖凝胶电泳进行提取, 测定纯度和浓度后, 测定基因组 DNA。

PCR 扩增: 样本 16S rRNA 基因的 V3/V4 区域, 引物序列: 338F 5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3', 806R 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'。每一样本做三次平行, 检测同一样本 PCR 混合产物: 2 wt.% 琼脂糖凝胶电泳, 切胶回收 PCR 产物: AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒; Tris-HCl 洗脱后, 2 wt.% 琼脂糖电泳检测, 定量 PCR 产物: QuantiFluor™-ST 蓝色荧光定量系统。

高通量测序数据分析: 采用 Illumina MiSeq PE300 平台分析序列, 遵循 Majorbio bio-pharma Technology Co. Ltd. 提供的标准化方案, Majorbio 云平台对微生物群进行数据处理和生物信息学分析。

## 1.3 数据分析与统计

各指标的测定均采用  $n=3$  的平行试验, Origin 2022、Excel 2010 分析统计实验数据 (平均值 ± 标准差)。SPSS 27 中最小显著差异法 (LSD) 和沃勒-邓肯 (W) 比较平均值并分析显著性差异。

## 2 结果与讨论

### 2.1 冷藏哈氏仿对虾肌肉水分含量和水分活度变化

水分含量对水产品的贮藏稳定性起决定作用, 能够直接或间接地影响水产品整体质量<sup>[19]</sup>。如图 1a 所示, 随着冷藏时间增加, 完整虾和去头虾肌肉水分含量均呈显著下降趋势 ( $P<0.05$ ), 贮藏 6 d 后, 完整虾肌肉水分含量由新鲜时的 76.62% 下降至 74.65%, 去头虾由 76.67% 降至 74.88% (图 1a), 主要因为哈氏仿对虾肌肉组织结构随着冷藏时间延长被破坏, 造成水分流失, 进一步导致水分含量下降<sup>[20]</sup>。



表 1 冷藏哈氏仿对虾肌肉色泽变化

Table 1 Changes in color of sword prawn (*P. hardwickii*) muscle during chilled storage

| 贮藏<br>时间/d | 完整虾组                       |                             |                           | 去头虾组                       |                             |                            |
|------------|----------------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
|            | <i>L</i> <sup>*</sup> 值    | <i>a</i> <sup>*</sup> 值     | <i>b</i> <sup>*</sup> 值   | <i>L</i> <sup>*</sup> 值    | <i>a</i> <sup>*</sup> 值     | <i>b</i> <sup>*</sup> 值    |
| 0          | 42.56 ± 0.67 <sup>Aa</sup> | -1.62 ± 1.04 <sup>Ba</sup>  | 6.81 ± 0.47 <sup>Ca</sup> | 42.41 ± 1.69 <sup>Aa</sup> | -2.49 ± 0.35 <sup>Ba</sup>  | 7.29 ± 0.41 <sup>Ca</sup>  |
| 2          | 40.15 ± 0.89 <sup>Ab</sup> | -2.32 ± 0.93 <sup>Bab</sup> | 8.92 ± 0.44 <sup>Cb</sup> | 40.31 ± 0.80 <sup>Aa</sup> | -3.49 ± 0.29 <sup>Bb</sup>  | 8.08 ± 1.10 <sup>Cab</sup> |
| 4          | 35.36 ± 0.79 <sup>Ac</sup> | -3.43 ± 0.66 <sup>Bb</sup>  | 9.05 ± 0.20 <sup>Cb</sup> | 35.64 ± 0.97 <sup>Ab</sup> | -3.98 ± 0.67 <sup>Bbc</sup> | 8.59 ± 0.72 <sup>Cab</sup> |
| 6          | 32.64 ± 0.89 <sup>Ad</sup> | -5.10 ± 0.68 <sup>Bc</sup>  | 9.14 ± 0.29 <sup>Cb</sup> | 33.49 ± 0.84 <sup>Ac</sup> | -4.45 ± 0.44 <sup>Bc</sup>  | 9.20 ± 0.85 <sup>Cb</sup>  |

注：表中数据为平均值 ± 标准差。每行不同小写字母表示相同组别不同冷藏时间存在差异显著 ( $P<0.05$ )，不同大写字母分别表示  $L^*$  值、 $a^*$  值和  $b^*$  值在相同贮藏时间不同组别存在差异显著 ( $P<0.05$ )。

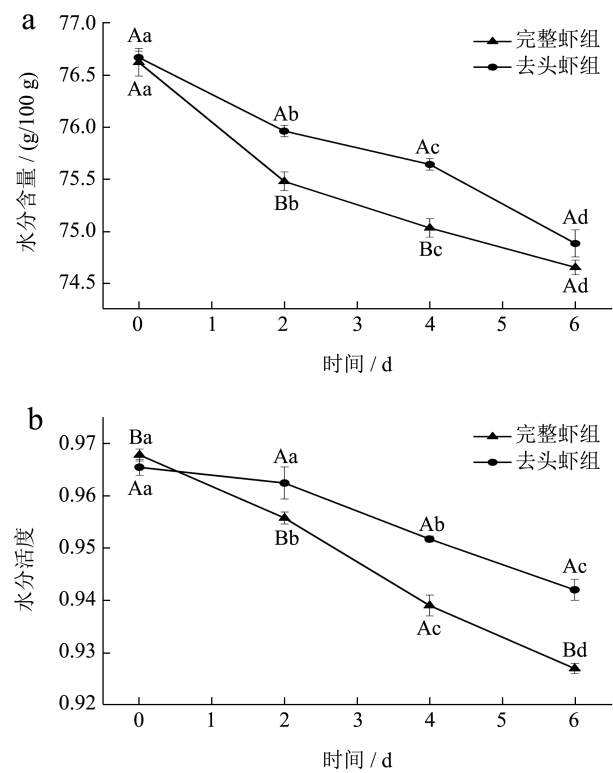


图 1 冷藏哈氏仿对虾肌肉水分含量 (a) 和水分活度 (b) 变化

Fig.1 Changes in moisture content (a) and water activity (b) of sword prawn (*P. hardwickii*) muscle during chilled storage

注：不同小写字母表示相同组别不同贮藏时间存在差异显著 ( $P<0.05$ )，不同大写字母表示相同贮藏时间不同组别存在差异显著 ( $P<0.05$ )。

水分活度关系着微生物生长繁殖，影响虾的货架期、质构特性和口感等<sup>[21]</sup>。图 1b 显示冷藏过程中虾肌肉水分活度变化情况。新鲜完整虾和去头虾肌肉水分活度分别为 0.968 和 0.965，说明哈氏仿对虾肌肉新鲜度高<sup>[22]</sup>。贮藏 6 d 后，两组虾肌肉水分活度分别下降至 0.927 和 0.942（图 1b），与新鲜虾相比呈显著下降趋势 ( $P<0.05$ )，可能与虾肌肉

中水分含量降低有关，贮藏过程中游离水和部分结合水的析出，引起肌肉水分活度降低<sup>[23]</sup>。王馨云等<sup>[24]</sup>在探究不同冷藏条件对金枪鱼水分迁移情况影响时发现，随着贮藏时间延长，金枪鱼水分活度也均呈下降趋势。

完整虾和去头虾肌肉水分含量在冷藏的第 0 天无显著差别（图 1a），但完整虾在冷藏的第 2、4 和 6 天水分含量下降趋势较去头虾更为明显，说明虾头的存在加速了水分流失。此外，冷藏过程中完整虾肌肉水分活度也显著低于去头虾 ( $P<0.05$ )，原因可能是虾头中存在的组织蛋白酶随冷藏时间延长发生外迁，导致虾肌肉纤维在酶的作用下快速裂解，引起细胞间隙增大，水分含量降低，最终使得水分流失加重<sup>[25]</sup>。由于虾头内部微生物生长繁殖，利用了部分水，导致水分活度降低，说明去头虾肌肉新鲜度优于完整虾。

2.2 冷藏哈氏仿对虾肌肉色泽变化

色泽能反应食品新鲜度，为消费者提供直接的视觉指示<sup>[26]</sup>。冷藏过程中哈氏仿对虾肌肉色泽变化情况由表 1 所示。完整虾和去头虾肌肉  $L^*$  值和  $a^*$  值随冷藏时间增加呈下降趋势，6 d 后，其  $L^*$  值分别降低 9.96 和 8.92， $a^*$  值分别降低 3.48 和 1.96。两组虾  $b^*$  值则呈上升趋势，冷藏初期上升速度较快，中后期速度减缓，表明虾肉有发黄趋势。Wei 等<sup>[27]</sup>研究发现静磁场辅助冷冻处理南美白对虾时，冰晶膨胀会引起细胞膜破裂，导致细胞组织液渗漏，增强虾肌肉表面对光的反射，使得  $L^*$  值增加，这与本研究略有差异。这可能是由于本研究在 0℃ 冷藏条件下进行，不会引起虾体内冰晶过度膨胀引起组织液渗出，因而不会有光反射使  $L^*$  值增加这一因素的存在。水产品贮藏过程中色泽变化的主要原因是脂肪氧化和色素改变，其中  $a^*$  值降低

和  $b^*$  值上升均与脂肪氧化有关, 氧化导致自由基生成, 虾肉中游离氨基与其发生反应, 生成棕色色素<sup>[28]</sup>;  $L^*$  值降低与肌肉组织中高铁血红蛋白和高铁肌红蛋白积累在虾肉表面, 导致肌肉发生褐变反应有关<sup>[29]</sup>; 两组虾  $a^*$  值均为负数, 表明虾肉呈深褐色, 可能是哈氏仿对虾在代谢时体内虾青素含量逐渐减少所致。此外, 完整虾肌肉的  $L^*$  值和  $a^*$  值下降程度与  $b^*$  值上升程度均大于去头虾, 可能原因是虾头中存在能够导致肌肉氧化褐变的物质, 导致两组虾之间存在差异。

2.3 冷藏哈氏仿对虾肌肉组织HE染色分析

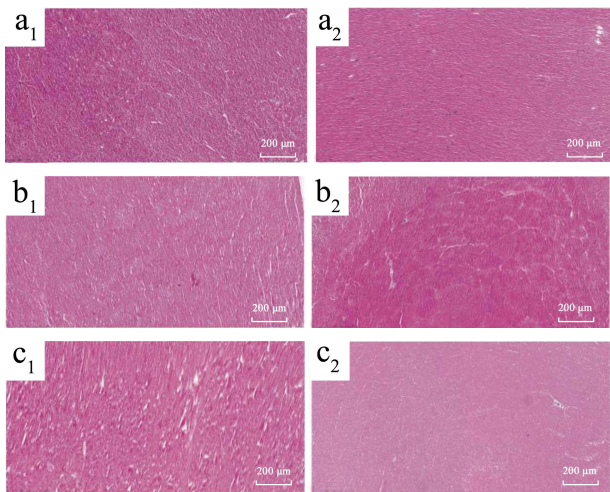


图 2 冷藏哈氏仿对虾肌肉 H&E 染色图  
Fig.2 H&E staining micrographs of sword prawn (*P. hardwickii*) muscle during chilled storage

注:  $a_1$ : 新鲜完整虾;  $a_2$ : 新鲜去头虾;  $b_1$ : 完整虾 (2 d);  $b_2$ : 去头虾 (2 d);  $c_1$ : 完整虾 (6 d);  $c_2$ : 去头虾 (6 d)。图 3 同。

H&E 染色法可被用来显示组织结构和细胞形态, 观察样品肌肉的横截面微观结构变化。图 2 展示了冷藏过程中完整虾和去头虾肌纤维垂直截面的变化情况。图 2a 显示新鲜虾肌肉组织在肌束间间隙较窄, 肌周光滑平坦, 肌纤维间仅有少量空隙。2 d 和 6 d 冷藏后, 肌纤维间距增大, 呈现明显分离, 肌周变得杂乱无章 (图 2b 和 2c), 表明冷藏过程中小冰晶的形成挤压了细胞并增大了肌纤维间距所致<sup>[30]</sup>, 并且虾肌肉出现不同程度劣变。相同贮藏时间下, 与去头虾相比, 完整虾肌纤维间缝隙更明显, 肌肉结构受损更严重。原因可能是完整虾在贮藏过程中由于虾头中内源性蛋白酶降解胶原蛋

白和肌原纤维蛋白等, 导致肌纤维与肌内膜脱落, 进一步造成细胞间隙增大<sup>[31]</sup>。沈妮<sup>[32]</sup>发现冷藏带鱼体内组织蛋白酶会使蛋白质发生氧化变性, 导致肌肉结构发生劣变, 扩大细胞外空间, 致使鱼死后体内蛋白质结构瓦解并形成小碎片。

2.4 冷藏哈氏仿对虾肌肉组织透射电镜分析

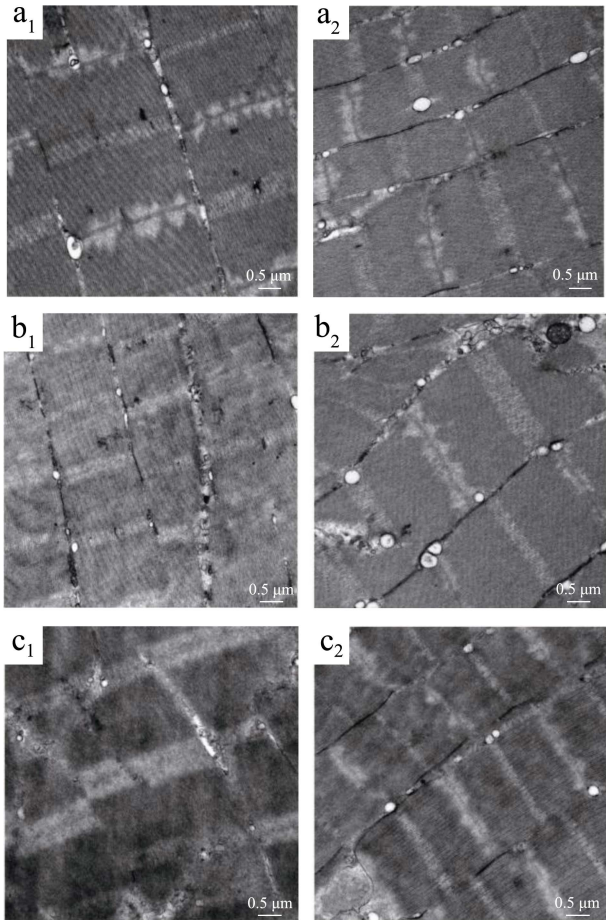


图 3 冷藏哈氏仿对虾肌肉透射电镜图  
Fig.3 Transmission electron microscopy micrographs of sword prawn (*P. hardwickii*) muscle during chilled storage

透射电子显微镜因其具有高放大倍数和高分辨率等特点, 适用于观察水产品肌肉组织微观结构。图 3 显示, 新鲜虾肌内膜与肌束膜紧紧相连, 肌纤维束间缝隙极小。随着冷藏时间增加, 完整虾和去头虾肌纤维束间的界限开始模糊, 这一现象证实冷藏使肌纤维发生劣变, 且随冷藏时间增加劣变越明显。卢涵<sup>[33]</sup>在探究蛋白氧化、组织蛋白酶活性对低温贮藏的鳙鱼品质影响时发现, 肌肉汁液流失会造成肌纤维束间的空隙增大。这与本研究 2.1 和 2.4 结果一致。

2.5 冷藏哈氏仿对虾肌肉表面菌落组成及其丰度变化

2.5.1 测序数据分析

高通量测序获得冷藏哈氏仿对虾的原始序列信息，各组有效序列数量范围为 34 934~68 576 条，平均长度范围为 427.41~428.96 bp（表 2）。统计各组 OTU（Operational Taxonomic Unit）生物信息（97%）发现，OTU 区间为 43~367。冷藏 2 d 去头虾 OTU 最高为 367；其次分别是新鲜虾、冷藏 6 d 完整虾和冷藏 2 d 完整虾，为 278、121 和 73；冷藏 6 d 去头虾最低，为 43。

表 2 各组样本有效序列与OTU数量统计

| Table 2 Observed valid sequence and OTU numbers in different samples |      |        |            |         |        |
|----------------------------------------------------------------------|------|--------|------------|---------|--------|
| 时间/d                                                                 | 组别   | 优化有效序列 | 碱基数量       | 平均长度/bp | OTU 数量 |
| 0                                                                    | 新鲜组  | 68 576 | 29 338 595 | 427.83  | 278    |
| 2                                                                    | 完整虾组 | 34 934 | 14 975 532 | 428.68  | 73     |
|                                                                      | 去头虾组 | 47 622 | 20 354 154 | 427.41  | 367    |
| 6                                                                    | 完整虾组 | 50 780 | 21 775 117 | 428.81  | 121    |
|                                                                      | 去头虾组 | 57 294 | 24 577 041 | 428.96  | 43     |

2.5.2 Rank-Abundance曲线

微生物群落的丰富度和均匀度可通过 Rank-Abundance 曲线反映，丰富度由曲线宽度表示，均匀度由平滑程度表示，曲线越平坦，表示物种组成越均匀<sup>[34]</sup>。如图 4，新鲜虾的曲线较宽，表明其微生物丰度较高，可能的原因是其在市场流通过程中已被环境微生物所污染，导致虾体本身带有较多细菌。经 6 d 冷藏后的去头虾曲线宽度最小，表明其细菌丰度较新鲜虾降低。这主要是不耐冷微生物的生长繁殖被低温环境所抑制，导致细菌丰富度在冷藏后期下降。与新鲜虾和冷藏 2 d 去头虾相比，冷藏 6 d 去头虾的曲线显著陡峭，说明冷藏 6 d 去头虾肉微生物分布不均匀，因为虾肉表面经过低温贮藏聚集有耐低温微生物，且占据主要地位，具有生长优势<sup>[35]</sup>。此外，冷藏 6 d 完整虾微生物丰度略高于冷藏 2 d 完整虾，可能是贮藏时间延长，有部分嗜冷微生物生长所致。而冷藏 6 d 去头虾相较于完整虾，微生物丰度降低，可能是因为除去了富含微生物的虾头，导致微生物数量大幅下降。综合以上分析结果，将哈氏仿对虾长时间存放于低温胁迫环境，并除去其头部，可使虾肌肉表面微生物丰度和分布均匀性显著降低。

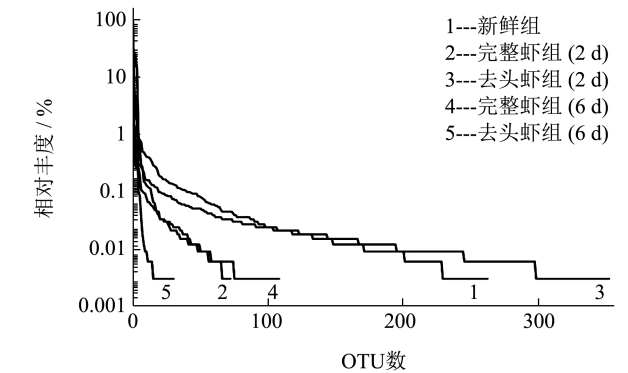


图 4 Rank-Abundance 曲线图

Fig.4 Rank-Abundance graph

2.5.3 多样性指数分析

表 3 显示，各样本组覆盖率均高于 0.99，表明虾样本微生物多样性分析结果科学可信<sup>[36]</sup>。新鲜虾 ACE、Chao 1 和 Simpson 指数分别为 285、292 和 0.814 9，均高于冷藏 6 d 的完整虾（150、156 和 0.253 3）和去头虾（81、72 和 0.780 2），表明随着冷藏时间延长，虾表面微生物群落丰度和多样性下降，可能是贮藏时间增加导致不耐低温微生物丧失生理活性，其他微生物新陈代谢未及时调整所致，并且虾表面优势菌群以嗜冷微生物为主，致使微生物种类和数量呈下降趋势。与翁佩芳等<sup>[37]</sup>研究冻藏环境对鲈鱼腮体系中微生物生长抑制情况的结果类似。冷藏 2 d 去头虾的丰富度和多样性均高于完整虾和新鲜虾，高于完整虾可能是因为去头时遭受了微生物污染<sup>[38]</sup>，导致大量微生物残留在虾表面；而高于新鲜虾可能是冷藏时间较短，微生物生长繁殖并未完全抑制，只是其代谢速度减缓，且有部分嗜冷微生物开始生长繁殖，导致其种类和数量略有增加。

表 3 各组样本多样性指数分析

| Table 3 Diversity of bacterial community in different samples |      |        |        |           |            |            |             |
|---------------------------------------------------------------|------|--------|--------|-----------|------------|------------|-------------|
| 时间/d                                                          | 组别   | OTU 数量 | ACE 指数 | Chao 1 指数 | Shannon 指数 | Simpson 指数 | Coverage 指数 |
| 0                                                             | 新鲜组  | 278    | 285    | 292       | 0.78       | 0.814 9    | 0.999 70    |
| 2                                                             | 完整虾组 | 73     | 76     | 75        | 0.24       | 0.939 8    | 0.999 80    |
|                                                               | 去头虾组 | 367    | 385    | 385       | 1.47       | 0.598 2    | 0.999 12    |
| 6                                                             | 完整虾组 | 121    | 150    | 156       | 1.58       | 0.253 3    | 0.999 32    |
|                                                               | 去头虾组 | 43     | 81     | 72        | 0.51       | 0.780 2    | 0.999 61    |



图5为各组虾稀释曲线和Shannon-Wiener曲线,其表明样本测序数量能充分反映虾微生物群落多样性信息。

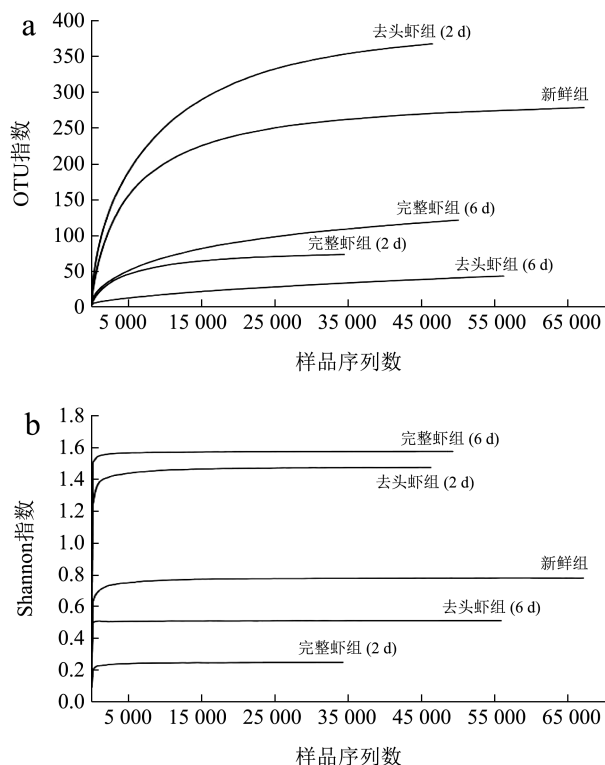


图5 稀释曲线 (a) 和 Shannon-Wiener 曲线 (b) 分析  
Fig.5 Results of the rarefaction curves (a) and Shannon-Wiener curves (b)

#### 2.5.4 菌群门水平变化

由图6可知,不同贮藏时间门水平上,完整和去头哈氏仿对虾有变形菌门(Proteobacteria, 89.23%~99.82%)、放线菌门(Actinobacteriota, 0.02%~4.02%)、厚壁菌门(Firmicutes, 0.13%~3.82%)和其他菌门。变形菌门数量在所有样本中相对丰度始终在80%以上,为优势菌门。与新鲜虾、冷藏2 d完整虾和去头虾相比,冷藏6 d虾中放线菌门和厚壁菌门等数量趋向减少,可能是冷藏6 d后两组虾水分活度显著下降无法满足这两种细菌生长繁殖。这与吴琼静等<sup>[39]</sup>关于冻藏鲑鱼的研究中菌群变化情况相似。冷藏6 d去头虾中变形菌门占比高达99%以上,高于完整虾中的比例,说明去头虾微生物丰富度较低,可能是去除了富含微生物的虾头,且6 d的冷藏环境抑制了部分不嗜冷微生物的生长,导致微生物种类下降。与2.5.2所述结果一致。此外,冷藏2 d去头虾中含有变形菌门(Proteobacteria, 89.23%)、放线菌门(Actinobacteriota, 4.02%)、厚壁菌门(Firmicutes, 3.82%)和其他菌门(2.94%),

与新鲜虾的菌群丰富度一致,可能是在操作去虾头时虾肉受到微生物污染<sup>[38]</sup>,导致微生物残留在虾表面。整体而言,虾表面菌群门水平组成随着冷藏时间延长,种类不断减少。

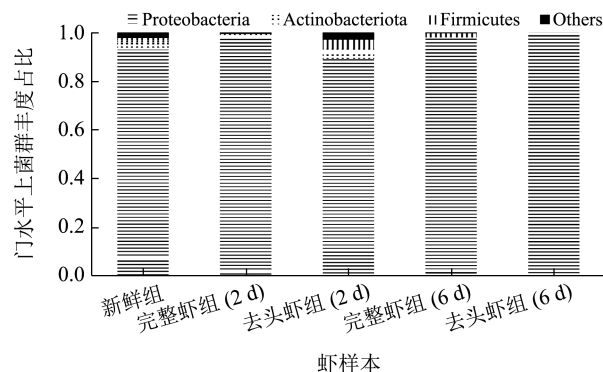


图6 冷藏哈氏仿对虾细菌门水平相对丰度

Fig.6 Bacterial phylum relative abundance in sword prawn (*P. hardwickii*) during chilled storage

#### 2.5.5 菌群属水平变化

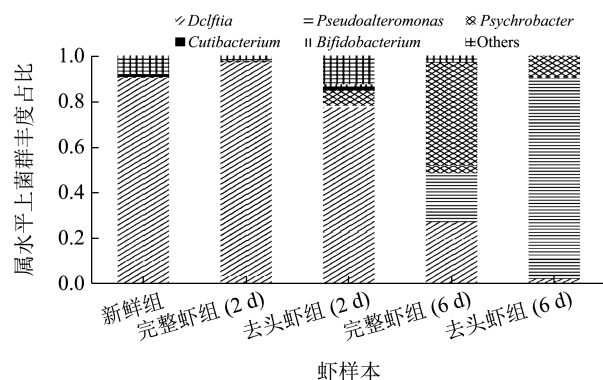


图7 冷藏哈氏仿对虾细菌属水平相对丰度

Fig.7 Bacterial genus relative abundance in sword prawn (*P. hardwickii*) during chilled storage

为进一步研究哈氏仿对虾冷藏过程中微生物群落变化差异,本研究又分析了其属水平菌群结构,包括代尔夫特菌属(*Delftia*, 2.09%~96.94%)、假交替单胞菌属(*Pseudoalteromonas*, 0.79%~88.03%)、嗜冷菌属(*Psychrobacter*, 0.40%~48.43%)、丙酸杆菌属(*Cutibacterium*, 0.003%~1.64%)、双歧杆菌属(*Bifidobacterium*, 0.007%~1.04%)和其他菌属。如图7所示,代尔夫特菌属(*Delftia*)是新鲜虾(90.26%)和冷藏2 d虾(96.94%, 77.18%)的优势菌;冷藏6 d后,完整虾优势菌为嗜冷菌属(*Psychrobacter*, 48.43%),去头虾优势菌属为假交替单胞菌属(*Pseudoalteromonas*, 88.03%),说明随冷藏时间增加,代尔夫特菌属相对丰度逐渐降低,可能是由于其耐低温能力较弱;而嗜冷菌属和假交

替单胞菌属对低温适应性较强<sup>[40]</sup>,特别是嗜冷菌属随冷藏时间增加呈上升趋势。郑振霄等<sup>[41]</sup>发现,温度在-1℃至0℃之间的冰鲜鲈鱼微生物的构成相当繁杂,优势菌属为假单胞菌属和嗜冷菌属,且随贮藏时间延长,鲈鱼样品中的菌种也逐渐单一。

### 2.5.6 $\beta$ 多样性分析

PCoA 分析(Principal Component Analysis)通过方差分解,可分析不同样本 OTU(97% 相似性)组成。如图 8 所示,横轴为第 1 主成分(PC1, 50.65%),纵轴为第 2 主成分(PC2, 38.71%),PC1 和 PC2 叠加解释为 89.36%。整体来看,冷藏 2 d 和 6 d 的完整虾以及冷藏 6 d 去头虾距离较近,而新鲜虾和冷藏 2 d 去头虾相距较远,说明冷藏 2 d、6 d 的完整虾以及冷藏 6 d 去头虾的菌群组成和结构相似。对于主成分 PC1-2 分析,冷藏 2 d 去头虾组与其他组之间的距离较远,表明该组虾微生物种类和组成与其他组虾之间差异明显。

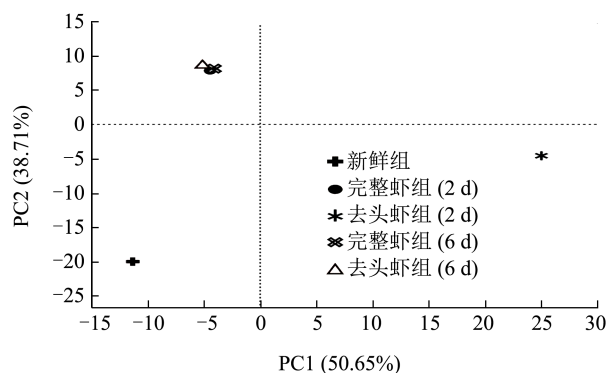


图 8 冷藏哈氏仿对虾样品主成分分析

Fig.8 Principal component analysis in sword prawn (*P. hardwickii*) during chilled storage

## 3 结论

通过研究冷藏完整和去头哈氏仿对虾肌肉品质和微生物群落变化,发现哈氏仿对虾肌肉的水分含量、水分活度、 $L^*$ 值和 $a^*$ 值随贮藏时间增加持续下降, $b^*$ 值呈上升趋势。H&E 染色和透射电镜结果表明,贮藏过程中哈氏仿对虾肌原纤维间隙不断增大,肌肉劣变程度加深。此外,完整虾肌肉水分含量、水分活度、 $L^*$ 值、 $a^*$ 值和 $b^*$ 值整体较去头虾低,表明去头虾肌肉劣变速率更低。对高通量测序进行分析可知,哈氏仿对虾的有效序列数量范围为 34 934~68 576, OTU 数量范围为 43~367,在冷藏环境下各样本组 OTU 数量存在显著差异;由于新鲜虾的 Rank-Abundance 曲线较宽,推断所购入的哈

氏仿对虾在市场销售环节已被微生物污染,但经过 6 d 冷藏后的去头虾肌肉中微生物群落丰度和多样性较新鲜虾大幅降低,该结果肯定了冷藏条件下去头贮藏的意义。门水平上,变形菌门(Proteobacteria)占绝对数量优势;属水平上,冷藏初期代尔夫特菌属(*Delftia*)占数量优势,后期假交替单胞菌属(*Pseudoalteromonas*)和嗜冷菌属(*Psychrobacter*)占数量优势。本研究全面分析了哈氏仿对虾冷藏期间肌肉品质和微生物菌群变化,研究结果认为哈氏仿对虾在冷藏条件下去头贮藏更有助于提高其肌肉品质特性。

## 参考文献

- [1] SHI Y H, ZHANG G Y, XU J B, et al. Effects of salinity on survival, growth, haemolymph osmolality, gill  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase activity, respiration and excretion of the sword prawn *Parapenaeopsis hardwickii* [J]. Aquaculture Research, 2022, 53(2): 603-611.
- [2] 农业农村部渔业渔政管理局,全国水产技术推广总站,中国水产学会,2023中国渔业统计年鉴[M].北京:中国农业出版社,2023.
- [3] 乔毅,沈辉,蒋葛,等.我国哈氏仿对虾资源分布、保护及开发利用现状[J].浙江海洋大学学报(自然科学版),2022, 41(6):550-557.
- [4] SAMIRA M, HADI A, MEHRAN M. Immobilization of *Echium amoenum* anthocyanins into bacterial cellulose film: a novel colorimetric pH indicator for freshness/spoilage monitoring of shrimp [J]. Food Control, 2020, 113: 107169.
- [5] YU Q, PAN H J, QIAN C R, et al. Determination of the optimal electron beam irradiation dose for treating shrimp (*Solenocera melanthero*) by means of physical and chemical properties and bacterial communities [J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 153: 112539.
- [6] HU Y M, ZHANG N H, WANG H, et al. Effects of pre-freezing methods and storage temperatures on the qualities of crucian carp (*Carassius auratus* var. pengze) during frozen storage [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2021, 45: e15139.
- [7] YANG M, LI X Z. Population genetic structure of the sword prawn *Parapenaeopsis hardwickii* (Miers, 1878) (Decapoda: Penaeidae) in the Yellow Sea and East China Sea [J]. Journal of Crustacean Biology, 2018, 38(1): 27-33.
- [8] MAO Z C, LIU P, DUAN Y F, et al. Sequencing of complete mitochondrial genome of sword prawn *Parapenaeopsis hardwickii* (Miers) (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) [J]. Mitochondrial and Part B-Resources, 2016, 1(1): 259-260.



- [9] 周婷,水珊珊,李志鹏,等.基于内源酶活性变化的冷藏哈氏仿对虾肌肉品质研究[J].食品工业科技,2022,43(24):338-346.
- [10] ZHOU T, DING Y X, BENJAKUL S, et al. Characterization of endogenous enzymes in sword prawn (*Parapenaeopsis hardwickii*) and their effects on the quality of muscle proteins during frozen storage [J]. LWT-Food Science and Technology, 2023, 177: 114563.
- [11] WU Y R, WU Q J, LIN H M, et al. Effects of cold atmospheric plasma pre-treatment on maintaining the quality of ready-to-eat drunken red shrimp (*Solenocera crassicornis*) stored at chilled conditions [J]. Food Chemistry: X, 2023, 20: 100934.
- [12] HE Y, GUO C X, LE Y, et al. Preservation of shrimp quality using slightly acid electrolysed water combined with grape seed extract: microbiological and quality analyses with proteomic insights [J]. Food Bioscience, 2024, 60: 104333.
- [13] LIU T Y, LIU J, WANG P P, et al. Effect of slurry ice on quality characteristics and microbiota composition of Pacific white shrimp during refrigerated storage [J]. Journal of Agriculture and Food Research, 2023, 14: 100792.
- [14] ZHU Q J, FU S Q, YANG H C, et al. Effects of static magnetic field-assisted freezing on physicochemical indices and bacterial communities of shrimp (*Penaeus vannamei*) [J]. Food Bioscience, 2023, 56: 103412.
- [15] GB 5009.3-2016,食品安全国家标准 食品中水分的测定[S].
- [16] GB 5009.238-2016,食品安全国家标准 食品水分活度的测定[S].
- [17] LUAN L L, WANG L P, WU T T, et al. A study of ice crystal development in hairtail samples during different freezing processes by cryosectioning versus cryosubstitution method [J]. International Journal of Refrigeration, 2018, 87: 39-46.
- [18] 郑文涌.酿酒酵母培养物对育肥猪肌肉品质和肠道微生物的影响[D].武汉:华中农业大学,2019.
- [19] YU M J, DING Y X, DU Q, et al. Efficacy of chitosan oligosaccharide combined with cold atmospheric plasma for controlling quality deterioration and spoilage bacterial growth of chilled pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. Foods, 2023, 12(9): 1763.
- [20] 陈晓楠.海鳗鱼低温贮藏过程中肌肉品质特性变化及其发生规律[D].舟山:浙江海洋大学,2022.
- [21] ZHUANG S, LIU Y Y, GAO S, et al. Mechanisms of fish protein degradation caused by grass carp spoilage bacteria: a bottom-up exploration from the molecular level, muscle microstructure level, to related quality changes [J]. Food Chemistry, 2023, 403: 134309.
- [22] LAN W Q, YANG X, LIU J L, et al. Effects of phenolic acid grafted chitosan on moisture state and protein properties of vacuum packaged sea bass (*Lateolabrax japonicus*) during refrigerated storage [J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 159: 113208.
- [23] 董儒仪,杜琪,吴盈茹,等.冷藏三疣梭子蟹腹部和螯足肌肉品质特性变化[J].食品工业科技,2024,45(2):92-100.
- [24] 王馨云,谢晶.不同冷藏条件下金枪鱼的水分迁移与脂肪酸变化的相关性[J].食品科学,2020,41(5):200-206.
- [25] MONIKA M K, RENATA P F, ZDZISLAW Z, et al. Assessment of fatty acid composition and technological properties of northern pike (*Esox lucius*) fillets: the effects of fish origin and sex [J]. Journal of Aquatic Food Product Technology, 2017, 26(10): 1312-1323.
- [26] LI D N, ZHAO H H, ALIYU I M, et al. The comparison of ultrasound-assisted thawing, air thawing and water immersion thawing on the quality of slow/fast freezing bighead carp (*Aristichthys nobilis*) fillets [J]. Food Chemistry, 2020, 320: 126614.
- [27] WEI Q H, SUN Q X, DONG X P, et al. Effect of static magnetic field-assisted freezing at different temperatures on muscle quality of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. Food Chemistry, 2024, 438: 138041.
- [28] 张艳凌,向俊飞,朱亚军,等.鲜活和死后小龙虾的冷藏特性比较[J].食品科学,2022,43(1):206-212.
- [29] MONIL A D, POULSON J, SURENDRANATH P S, et al. Proteome basis of red color defect in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fillets [J]. LWT-Food Science and Technology, 2014, 57(1): 141-148.
- [30] JOSEPH S, HAIM G, ISRAEL R, et al. Do physical forces contribute to cryodamage [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2009, 104(4): 719-728.
- [31] 孙良格,徐佳美,吕经秀,等.肌肽联合超高压对黑鱼肉质脂质氧化及肌原纤维蛋白的影响[J].食品工业科技,2022,43(4):114-122.
- [32] 沈妮.带鱼低温贮藏蛋白氧化、组织蛋白酶活性及鱼肉质地的变化规律[D].杭州:浙江大学,2019.
- [33] 卢涵.鲮鱼肉低温贮藏过程中蛋白氧化、组织蛋白酶活性与品质变化规律的研究[D].北京:中国农业大学,2017.
- [34] 曾鹭,刘淑集,陈晓婷,等.基于Illumina MiSeq测序技术探究冷藏菊黄东方鲀菌群演替规律[J].食品科学,2023,44(18):149-156.
- [35] 张莉,马云昊,王颖,等.冷藏过程中气调包装烧鸡的理化特性及腐败菌分析[J].食品科学,2023,44(15):188-195.
- [36] 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.
- [37] 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.
- [38] 柳佳彤.冻藏罗氏沼虾品质劣变现象及其机理研究[D].无锡:江南大学,2019.
- [39] 吴琼静,赵金丽,水珊珊,等.基于高通量法分析鲈鱼冻藏期间的微生物群落变化[J].包装工程,2020,41(17):7-14.
- [40] HANAN M A, GEHAN M A, HANAN A G, et al. Characterization and bioremediation potential of marine *Psychrobacter* species [J]. Egyptian Journal of Aquatic Research, 2016, 42(2): 193-203.
- [41] 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.