

## 高功率脉冲微波协同丁香酚对河蟹肉的保鲜作用

王帆<sup>1</sup>, 张亚新<sup>1,2</sup>, 杨计林<sup>1,2</sup>, 付龙龙<sup>3</sup>, 潘建林<sup>3</sup>, 刘小莉<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>江苏省农业科学院农产品加工研究所 南京 210014

<sup>2</sup>江苏大学食品与生物工程学院 江苏镇江 212013

<sup>3</sup>江苏省淡水水产研究所 南京 210017)

**摘要** 采用高功率脉冲微波冷杀菌技术以及天然植物源抑菌剂丁香酚对河蟹肉样品进行保鲜处理,贮藏后进行菌落总数、挥发性盐基氮含量测定,并利用高通量测序对不同处理方式样品进行微生物多样性分析。结果表明,河蟹肉初始样品的菌群多样性较高,芽孢杆菌属丰度随贮藏时间的延长明显升高,成为优势腐败菌。添加丁香酚(2 μL/g)后进行高功率脉冲微波(峰值功率 900 kW,工作频率 200 Hz,作用时间 5 min)处理,对河蟹肉样品中的优势腐败菌芽孢杆菌属具有较强的抑制作用,可显著延缓贮藏过程中菌落总数和挥发性盐基氮含量的升高,起到较好的保鲜作用。

**关键词** 河蟹; 保鲜; 高功率脉冲微波; 丁香酚; 微生物多样性

文章编号 1009-7848(2022)06-0251-08 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2022.06.026

河蟹(学名中华绒螯蟹,*Eriocheir sinensis*)营养丰富、味道鲜美,是江苏省最具影响力的淡水水产品之一。由于生鲜河蟹季节性强,且以鲜活销售为主,在流通运输过程中易发生腐败变质,因此需要采用合理的方法对河蟹产品进行保鲜加工。河蟹肉质细嫩,传统加工方法容易破坏其风味和营养,而高功率脉冲微波(high power pulsed microwave, HPPM)是一种在高功率条件下间歇发射的微波方式,作为新型冷杀菌技术具有瞬时作用功率高、穿透力强、不产热、平均能耗低的优点,可在杀灭微生物的同时保持产品原有的风味、色泽、质地<sup>[1-4]</sup>。丁香酚常用于水产品等食品保鲜,是一种天然植物源抑菌剂<sup>[5-8]</sup>。前期研究发现丁香酚对河蟹产品中的腐败菌具有良好的抑制效果<sup>[9-10]</sup>。采用高功率脉冲微波和丁香酚协同作用可提高河蟹的产品品质和保藏性能。

水产品中的蛋白质和游离氨基酸含量丰富,而碳水化合物含量较少,其特征性腐败微生物不同于其它食品<sup>[11-12]</sup>。在研究水产品贮藏过程中的质

量变化和预测货架期时,优先对其特定腐败菌进行分离、鉴定至关重要。目前广泛采用的形态学、生理生化分离鉴定和分析方法操作复杂,且不能真实还原样品实际的微生物多样性<sup>[13-14]</sup>。本研究采用高通量测序技术分析高功率脉冲微波冷杀菌以及天然植物源抑菌剂丁香酚处理条件下河蟹产品的微生物多样性,为河蟹贮藏过程中微生物群落演变,以及多技术组合杀菌工艺的应用提供理论依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料和试剂

鲜活河蟹由泰兴市江之韵科技发展有限公司提供,体重为(150±15)g,经江苏省淡水水产研究所鉴定为中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*, H. Milne-Edwards)。

丁香酚由国药集团化学试剂有限公司提供。

#### 1.2 仪器和设备

NanoDrop2000 超微量分光光度计,美国 Thermo 公司;核酸电泳仪,美国 Bio-Rad 公司;GDS-8000 凝胶成像系统,美国 UVP 公司;S1000 PCR 扩增仪,美国 Bio-Rad 公司;蟹黄吸附设备及采肉设备,山东诸城科力机械有限公司;高功率脉冲微波设备(频率 3GHz,峰值功率 900 kW),南京狮电科技有限公司。

收稿日期: 2021-06-15

基金项目: 江苏省农业科技自主创新资金项目(CX(19)2031);江苏现代农业产业技术体系建设专项资金项目(JATS[2021]447);江苏省科技项目现代农业-重点及面上项目(BE2019303)

作者简介: 王帆(1983—),女,硕士,助理研究员

通信作者: 刘小莉 E-mail: liuxljaas@126.com

### 1.3 方法

1.3.1 样本前处理和理化指标测定 鲜活河蟹清洗后于 100 °C 沸水蒸煮 10 min, 将熟蟹拆分去除腮和内脏, 用蟹黄吸附设备吸取蟹黄或蟹膏, 剩余部分(蟹腹、蟹腿和蟹钳)送入采肉设备挤压采肉<sup>[15]</sup>, 将获得的蟹肉分组装入包装盒中进行不同处理。未处理组以 UN 表示, 添加 2 μL/g 丁香酚处理组以 E 表示, 添加 2 μL/g 丁香酚并进行高功率脉冲微波处理组以 EM 表示, 为避免热效应产生的影响, 高功率脉冲微波作用条件选取工作频率 200 Hz(每分钟脉冲 200 次), 作用时间 5 min。每组处理设置 3 个重复, 处理后的河蟹肉置于 25 °C 恒温培养箱, 分别在 0, 1, 2, 3, 4, 5 d 取样液氮速冻后 -80 °C 保存。河蟹肉样品的菌落总数以及挥发性盐基氮(TVB-N)值的测定方法分别参照食品安全国家标准 GB4789.2-2016《食品微生物学检验菌落总数测定》以及 GB5009.228-2016《食品中挥发性盐基氮的测定》。

1.3.2 DNA 提取和 PCR 扩增 将河蟹肉样品采用 Omega Bio-tek 细菌基因组 DNA 提取试剂盒进行 DNA 提取, 利用 NanoDrop2000 检测 DNA 浓度和纯度, 利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取质量, 检测合格的基因组 DNA 置于 -20 °C 保存待用。以细菌基因组 DNA 为模板, 采用引物 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 对细菌 16S rDNA V3~V4 可变区进行 PCR 扩增。扩增体系为 20 μL: 其中 5×FastPfu 缓冲液 4 μL, 2.5 mmol/L dNTPs 2 μL, 5 μmol/L 上下游引物各 0.8 μL, FastPfu 聚合酶 0.4 μL, BSA 0.2 μL, DNA 模板 10 ng, 加灭菌去离子水补足至 20 μL。PCR 反应程序如下: 首先 98 °C 预变性 3 min, 然后进入扩增循环, 98 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 45 s, 共计 27 个循环, 最后 72 °C 补延伸 10 min。反应结束后利用 AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒回收 PCR 产物并进行纯化, 反应产物经过 2% 琼脂糖凝胶电泳检测合格后送至上海美吉生物医药科技有限公司进行高通量测序。

1.3.3 高通量测序和数据分析 利用 Illumina 公司的 Miseq PE300 高通量测序平台进行测序, 原始测序序列使用 Flash 软件进行 pair-end 双端序

列拼接, 使用 Trimmomatic 软件进行质控和优化, 去除质量值低于 20、碱基模糊、引物错配或长度小于 50 bp 的序列, 将获得的有效基因序列上传至美吉生物云平台进行微生物多样性分析, 使用 Uparse 软件(vsesion 7.1)对序列进行分类操作单元(operational taxonomic units, OTU)聚类, OTU 的相似度设置为 97%, 聚类时同时使用 Uchime 软件剔除嵌合体, 使用 RDP Classifier 软件对每条序列进行物种分类注释, 比对 Silva 数据库(Release132), 得到每个 OTU 对应的物种分类信息, 使用 R 语言软件对数据进行评估, 并生成各类物种组成、样本比较分析图表<sup>[16-17]</sup>。

### 1.4 数据处理与分析

所有试验均进行 3 次重复, 采用 Origin 8.5 软件作图, 应用 SPSS 17.0 软件对试验结果进行显著性和相关性分析( $P < 0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 微生物多样性分析

利用高通量测序并对数据进行拼接、质控、优化后, 共获得河蟹肉经高功率脉冲微波和丁香酚保鲜处理的 30 个样本共 1 380 813 个有效序列, 不同样本有效序列均在 37 010 个以上(样品编号: Control 为河蟹肉初始样品, UN-1、UN-2、UN-3 分别表示未处理组第 1, 3, 5 天河蟹肉样品, E-1、E-2、E-3 分别表示添加丁香酚处理第 1, 3, 5 天河蟹肉样品, EM-1、EM-2、EM-3 分别表示添加丁香酚并进行高功率脉冲微波处理第 1, 3, 5 天河蟹肉样品, 每个样品设置 3 个平行试验), 结合稀释曲线随数据量增大趋势逐渐平缓(图 1), 可评估测序序列质量良好, 可进行下一步数据分析。

为了比较不同处理河蟹肉样品中所共有和独有的 OTU 数量, 绘制了物种 Venn 分析图(图 2), 10 组不同处理的样品共有 82 个共有的 OTUs, 各组之间的数据都有重叠, 说明各组之间存在相同的细菌菌群。Control 组独有 38 个 OTUs, UN-1、UN-2、UN-3 组分别独有 17, 1, 2 个 OTUs, E-1、E-2、E-3 组分别独有 81, 69, 41 个 OTUs, EM-1、EM-2、EM-3 组分别独有 32, 23, 44 个 OTUs。

丰富度等级图(Rank-Abundance 曲线)可以反映物种丰富度和群落均匀度, 曲线在水平方向

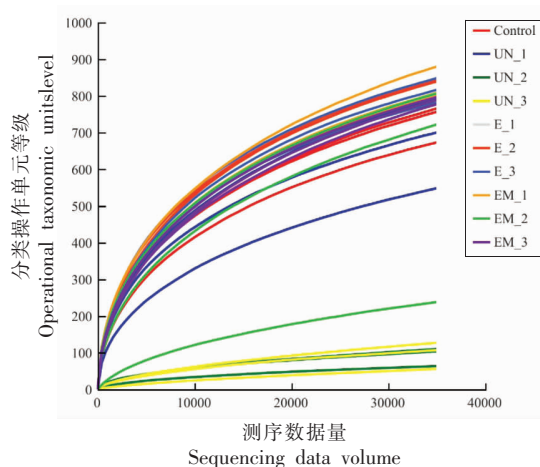


图 1 样品稀释曲线

Fig.1 Rarefaction curves of samples

的范围越宽,趋势越平缓,物种的丰富度就越高、分布就越均匀。从图 3 可以看出,UN-2、UN-3 组在水平方向的曲线相比其它组跨度窄、趋势陡,说明 UN-2、UN-3 组物种的丰富度和均匀度较其它组别低。

将样本中的有效序列聚类成为 OTU,对 OTU 代表序列进行物种组成分析。图 4 以直方图的形式在属水平上注释了 10 组样品中菌群的物种信息。河蟹肉初始样品(control 组)的菌群多样性较高,主要有黄杆菌属(*Flavobacterium*)、短波单胞菌属(*Brevundimonas*)、假阿伦西亚氏菌属(*Pseu-*

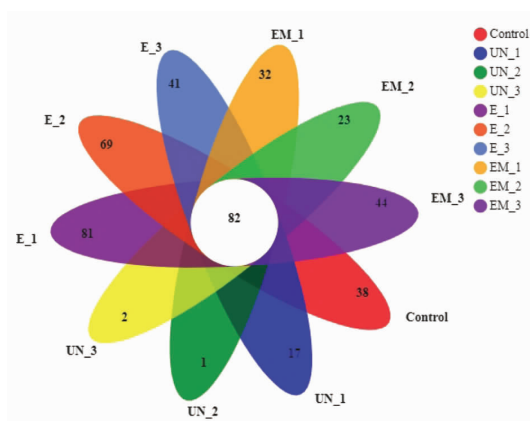


图 2 物种 Venn 分析图

Fig.2 Venn diagrams on OTU level

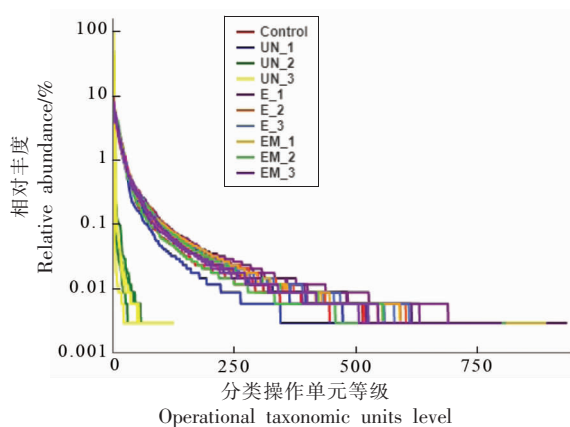


图 3 丰度等级图

Fig.3 Rank-abundance distribution curves

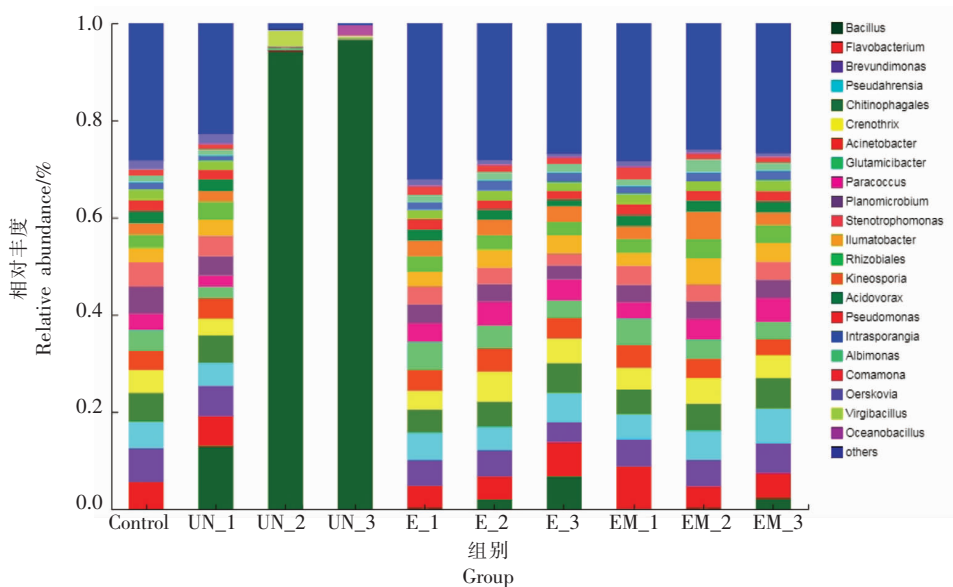


图 4 属水平物种组成分析直方图

Fig.4 Community barplot analysis on genus level

*dahrensia*)、噬几丁质菌属(*Chitinophagales*)、铁细菌属(*Crenothrix*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、谷氨酸杆菌属(*Glutamicibacter*)、副球菌属(*Paracoccus*)、动性杆菌属(*Planomicrobium*)、寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas*)、沉积岩杆菌属(*Ilumatobacter*)、根瘤菌属(*Rhizobiales*)、动孢囊菌属(*Kineosporia*)、嗜酸菌属(*Acidovorax*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)等。未处理组第1,3,5天河蟹肉样品(UN-1、UN-2、UN-3)中芽孢杆菌属丰度随着贮藏时间的延长逐渐升高,尤其第3,5天样品中芽孢杆菌属成为优势腐败菌。丁香酚处理组(E-1、E-2、E-3)和高功率脉冲微波协同丁香酚处理组(EM-1、EM-2、EM-3)各样品菌群组成与初始样品相似,丰度比例稍有不同,样品贮藏后期开始出现芽孢杆菌属,但其丰度显著低于未处理组,说明丁香酚和高功率脉冲微波处理对河蟹肉样品中的优势腐败菌具有较强的抑制作用。

图5以群落 Heatmap 图的形式呈现了不同处理河蟹肉样品在属水平上物种组成和丰度的分析结果,群落 Heatmap 图以颜色梯度来表征数据大小,颜色深浅变化表示物种在各组样品中所占比例情况。图中芽孢杆菌属在未处理组第3,5天的样品(UN-2、UN-3)中成为优势腐败菌,而其它菌群所占比例降低。丁香酚处理和高功率脉冲微波

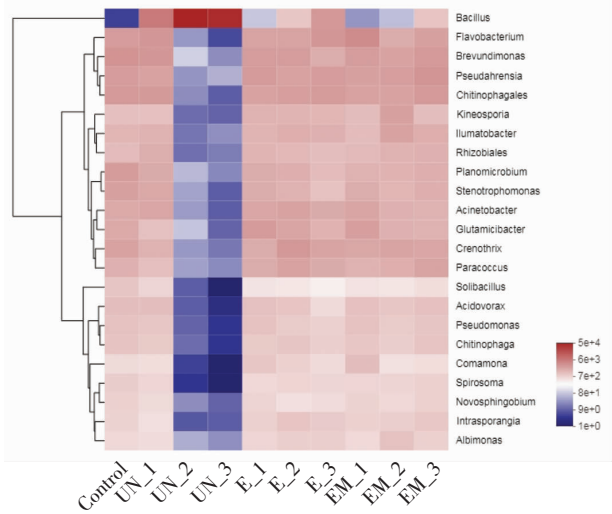


图5 属水平物种组成分析 Heatmap 图

Fig.5 Community heatmap analysis on genus level

协同丁香酚处理在一定程度上能延缓优势腐败菌群芽孢杆菌属的增殖,经过保鲜处理后其它菌群的组成和丰度与初始样品相比变化不大,该结果与直方图一致。

根据属水平上的物种组成和丰度分析结果,进一步对所有样本进行了层级聚类分析,图6以样本层级聚类树的形式展现了不同样本属水平群落结构相似或差异关系,图中树之间的长度代表样本间的距离,由图可知未处理组第3,5天的样

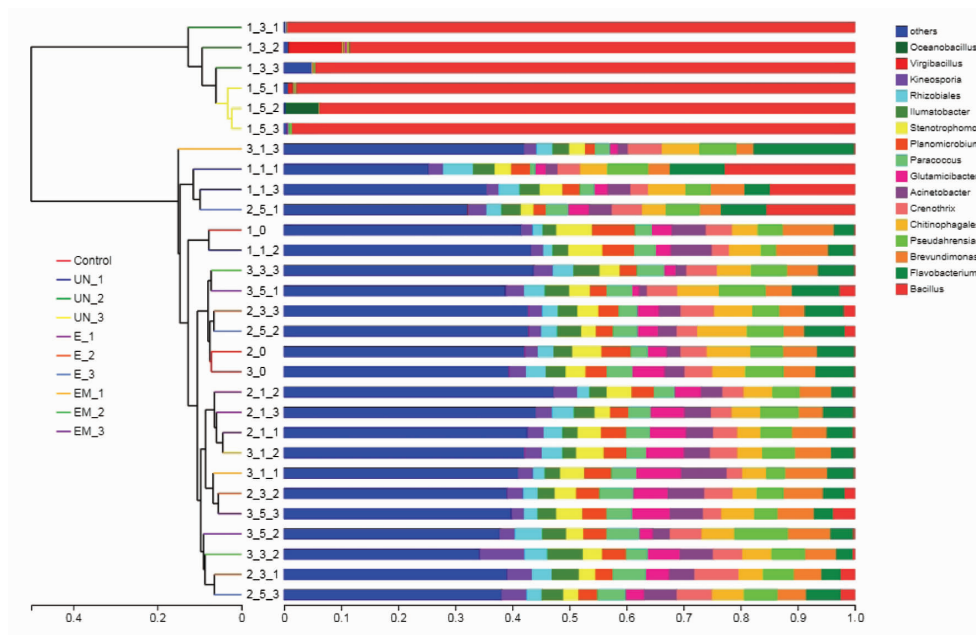


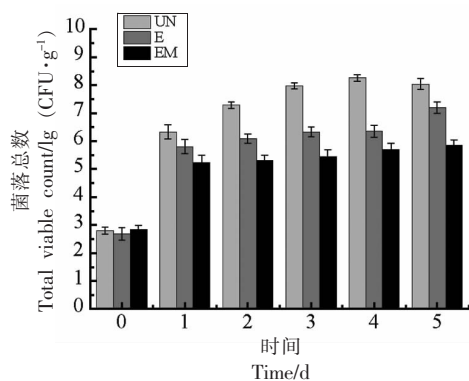
图6 属水平样本层级聚类树

Fig.6 Hierarchical clustering tree on genus level

品(UN-2、UN-3)与其余组群落组成差异显著,经过丁香酚和高功率脉冲微波保鲜处理的样品和初始样品均在同一个分支上,说明其菌群组成相类似。

## 2.2 理化指标测定

不同处理对河蟹肉样品贮藏过程中菌落总数的影响如图7所示。河蟹肉初始样品的菌落总数为2.80 lg(CFU/g),所有样品的菌落总数随着贮藏时间的增加而逐渐升高,UN组升高最为迅速。Cai等<sup>[18]</sup>研究提出,水产品腐败变质或者到达货架期终点的限量应为7 lg(CFU/g),UN组在贮藏的第2天菌落总数即达到了7.29 lg(CFU/g),在贮藏的第5天达到了8.04 lg(CFU/g)。而经过保鲜处理的E组和EM组,菌落总数在贮藏的第5天分别达到7.2 lg(CFU/g)和5.85 lg(CFU/g),与UN组相比显著( $P<0.05$ )降低。试验结果表明,丁香酚处理以及高功率脉冲微波协同丁香酚处理对河蟹肉样品菌落总数的升高有一定的抑制作用,



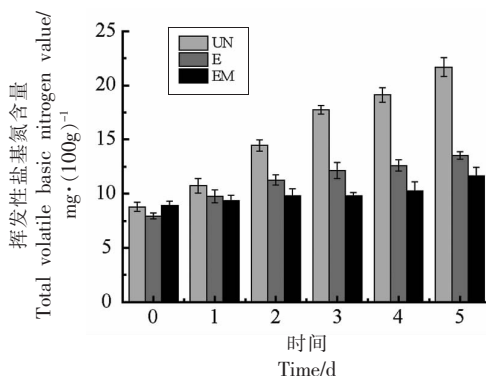
注:UN:未处理组;E:丁香酚处理组;EM:丁香酚协同高功率脉冲微波处理组。

图7 不同处理对河蟹肉样品贮藏过程中菌落总数的影响

Fig.7 Effect of different treatments on total viable count in crab meat during storage

且协同处理组保鲜效果更好,可延长样品贮藏期。

挥发性盐基氮(TVB-N)含量可作为判断水产品腐败程度的指标,根据食品安全国家标准GB 2733-2015《鲜、冻动物性水产品》TVB-N限量不应超过15 mg/100 g。由图8可知,河蟹肉初始样品的TVB-N含量为8.77 mg/100g,在贮藏过程中3组样品的TVB-N含量随着时间的延长呈现上升趋势,E组和EM组TVB-N含量与UN组相比增长缓慢。UN组在贮藏的第3天TVB-N含量已经达到17.74 mg/100 g,在贮藏的第5天达到了21.67 mg/100 g。E组和EM组的TVB-N含量在5 d的贮藏过程中一直小于15 mg/100 g,在贮藏的第5天分别达到13.53 mg/100 g和11.67 mg/100 g,与UN组相比显著( $P<0.05$ )降低。试验结果表明,丁香酚处理以及高功率脉冲微波协同丁香酚处理具有较好的保鲜作用,可以延缓河蟹肉样品的腐败。



注:UN:未处理组;E:丁香酚处理组;EM:丁香酚协同高功率脉冲微波处理组。

图8 不同处理对河蟹肉样品贮藏过程中TVB-N值的影响

Fig.8 Effect of different treatments on TVB-N values in crab meat during storage

## 3 结论与讨论

本研究采用丁香酚以及高功率脉冲微波技术对河蟹肉样品进行保鲜处理。未处理组样品在贮藏的第2天菌落总数已达到腐败标准,在贮藏的第3天挥发性盐基氮含量超过限量15 mg/100 g,而丁香酚处理组和高功率脉冲微波协同丁香酚处理组分别在样品贮藏的第4天和第5天仍可以保

持新鲜度。通过高通量测序技术对不同处理方式河蟹肉样品贮藏过程中微生物的多样性进行分析,结果显示各组样品微生物的多样性以及丰富度存在相似性和差异性。河蟹肉初始样品的菌群多样性较高,主要有黄杆菌属(*Flavobacterium*)、短波单胞菌属(*Brevundimonas*)、假阿伦西亚氏菌属(*Pseudahrensia*)、噬几丁质菌属(*Chitinophagales*)、

铁细菌属 (*Crenothrix*)、不动杆菌属 (*Acinetobacter*)、谷氨酸杆菌属 (*Glutamicibacter*)、副球菌属 (*Paracoccus*)、动性杆菌属 (*Planomicrobium*)、寡养单胞菌属 (*Stenotrophomonas*)、沉积岩杆菌属 (*Ilumatobacter*)、根瘤菌属 (*Rhizobiales*)、动孢囊菌属 (*Kineosporia*)、嗜酸菌属 (*Acidovorax*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 等。未处理组样品中芽孢杆菌属丰度随着贮藏时间的延长明显升高成为优势腐败菌, 微生物的多样性和丰富度相比其余组差异显著。耐热的芽孢杆菌属成为样品中的优势腐败菌可能是因为在河蟹在前处理过程中经过沸水的蒸煮<sup>[19]</sup>。丁香酚处理组和高功率脉冲微波协同丁香酚处理组各样品菌群组成与初始样品相似, 丰度比例稍有不同, 样品贮藏后期开始出现芽孢杆菌属, 但其丰度显著低于未处理组。试验结果表明, 高功率脉冲微波协同丁香酚处理对河蟹肉样品中的优势腐败菌芽孢杆菌属具有较强的抑制作用, 显著延缓了河蟹肉在贮藏过程中菌落总数和挥发性盐基氮含量的增长速度, 起到保鲜作用。黄明等<sup>[20]</sup>研究表明, 在相同的加热温度和时间下, 微波对枯草杆菌芽孢的致死率要高于水浴的致死率, 是热效应和非热效应综合作用的结果。高功率脉冲微波具有瞬时高能和间歇作用的特点, 如果控制其作用条件, 避免热效应产生的影响, 则可以利用非热效应达到杀菌保鲜的目的, 为冷杀菌工艺提供了新的思路和方法, 后期将进一步深入开展高功率脉冲微波对芽孢杆菌的杀灭机理研究。

### 参 考 文 献

- [1] 卢智远, 石频频, 朱满座, 等. 微波及高强电磁脉冲灭菌的机理分析[J]. 生物医学工程学杂志, 2008, 25(4): 811-813.  
LU Z Y, SHI P P, ZHU M Z, et al. Study of microorganism sterilization by instant microwave and electromagnetic pulse[J]. Journal of Biomedical Engineering, 2008, 25(4): 811-813.
- [2] 邓桦, 王德文, 彭瑞云, 等. 高功率脉冲微波和电磁脉冲辐照对心肌细胞膜电穿孔效应及机理的研究[J]. 生物医学工程学杂志, 2005, 22(4): 672-676.  
DENG H, WANG D W, PENG R Y, et al. The electroporation effects of high power pulse microwave and electromagnetic pulse irradiation on the membranes of cardiomyocyte cells and the mechanism therein involved[J]. Journal of Biomedical Engineering, 2005, 22(4): 672-676.
- [3] BALLARDIN M, TUSA I, FONTANA N, et al. Non-thermal effects of 2.45 GHz microwaves on spindle assembly, mitotic cells and viability of Chinese hamster V-79 cells[J]. Mutation Research, 2011, 716(11): 1-9.
- [4] GUO Q, SUN D, CHENG J, et al. Microwave processing techniques and their recent applications in the food industry[J]. Trends in Food Science & Technology, 2017, 67(9): 236-247.
- [5] LIU Z, ZENG M. Review of biological preservation technology in aquatic product[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2014, 5(12): 4063-4067.
- [6] 蔡路昀, 马帅, 曹爱玲, 等. 香辛料在水产品保鲜应用中的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(10): 3935-3940.  
CAI L Y, MA S, CAO A L, et al. Research progress in application of spices on preservation of aquatic products[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2015, 6(10): 3935-3940.
- [7] 刘小莉, 贾洋洋, 夏秀东, 等. 调味料和保鲜剂协同对淡水鱼特征性腐败菌的抑制作用[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(8): 389-391.  
LIU X L, JIA Y Y, XIA X D, et al. Synergistic inhibitory effect of spices and preservative on specific spoilage bacteria in freshwater fish[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2016, 44(8): 389-391.
- [8] 钱卫东, 刘婵婵, 王婷, 等. 丁香酚对多重耐药大肠杆菌的抑菌活性及其作用机制研究[J]. 现代食品科技, 2019, 35(1): 14, 31-36.  
QIAN W D, LIU C C, WANG T, et al. Antibacterial activity and mechanism of eugenol against multidrug-resistant *Escherichia coli*[J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(1): 14, 31-36.
- [9] 图尔荪阿依·图尔贡, 葛达娥, 潘建林, 等. 香辣蟹中特征性腐败菌的分离鉴定以及香料的抑制作用研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(9): 107-112.  
TURSUNAY T, GE D E, PAN J L, et al. Isolation and identification of specific spoilage bacteria in spicy crab and antibacterial evaluation of spices[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2019, 10(9): 107-112.

- 107-112.
- [10] 图尔荪阿依·图尔贡, 王帆, 付龙龙, 等. 丁香酚对水产品中普罗威登斯菌的抑制作用[J]. 食品与机械, 2020, 36(11): 118-121.
- TURSUNAY T, WANG F, FU L L, et al. Inhibitory effect of eugenol on *Providencia vermicolain* aquatic products[J]. Food and Machinery, 2020, 36(11): 118-121.
- [11] 夏秀东, 刘小莉, 王英, 等. 常温条件下白鱼中特定腐败菌的鉴定[J]. 食品科学, 2016, 37(19): 183-189.
- XIA X D, LIU X L, WANG Y, et al. Identification of specific spoilage organisms in whitefish at room temperature[J]. Food Science, 2016, 37(19): 183-189.
- [12] 李学英, 许钟, 杨宪时, 等. 大黄花鱼腐败菌腐败能力分析与其特定腐败菌鉴别[J]. 上海海洋大学学报, 2010, 19(4): 118-123.
- LI X Y, XU Z, YANG X S, et al. Analysis of microbial spoilage ability and characterization of specific spoilage organism for *Pseudosciaenacrocea*[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2010, 19(4): 118-123.
- [13] 汤纯, 诸永志, 吴海虹, 等. 基于传统培养和宏基因组测序分析泗洪小龙虾不同部位的菌群多样性[J]. 肉类研究, 2019, 33(10): 44-50.
- TANG C, ZHU Y Z, WU H H, et al. Analysis of bacterial diversity in different parts of crayfish from Sihong, east China's Jiangsu province by traditional culture method and metagenomic analysis[J]. Meat Research, 2019, 33(10): 44-50.
- [14] 姜晓娜, 孟璐, 冯俊丽, 等. 鲈鱼贮藏过程中的品质变化及腐败微生物多样性分析[J]. 中国食品学报, 2019, 19(10): 197-205.
- JIANG X N, MENG L, FENG J L, et al. Analysis of quality change and microbial assessment of chub mackerel in storage[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2019, 19(10): 197-205.
- [15] ZHANG J, YIN T, XIONG S B, et al. Thermal treatments affect breakage kinetics and calcium release of fish bone particles during high-energy wet ball milling[J]. Journal of Food Engineering, 2016, 183(16): 74-80.
- [16] EDGAR R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. Nature Methods, 2013, 10(10): 996-998.
- [17] 杨胜平, 谢晶, 钱韻芳. 基于16S rRNA的高通量测序和 DGGE 法对比新鲜与 4 °C 贮藏腐败的凡纳滨对虾微生物菌群变化[J]. 中国食品学报, 2018, 18(9): 280-287.
- YANG S P, XIE J, QIAN Y F. Comparative analysis of microbial communities of fresh and spoiled Pacific white shrimp stored at 4 °C by 16s rRNA-based pyrosequencing and DGGE[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(9): 280-287.
- [18] CAI L, CAO A, LI Y, et al. The effects of essential oil treatment on the biogenic amines inhibition and quality preservation of red drum (*Sciaenops ocellatus*) fillets[J]. Food Control, 2015, 56(8): 1-8.
- [19] ZHANG Z, JIANG B, LIAO X, et al. Inactivation of *Bacillus subtilis* spores by combining high-pressure thermal sterilization and ethanol[J]. International Journal of Food Microbiology, 2012, 160(2): 99-104.
- [20] 黄明, 黄峰, 周兴虎, 等. 微波处理对枯草杆菌芽孢致死效果研究[J]. 食品科学, 2010, 31(9): 34-36.
- HUANG M, HUANG F, ZHOU X H, et al. Lethal effect of microwave treatment on *Bacillus subtilis* var. *nigrespores*[J]. Food Science, 2010, 31(9): 34-36.

### River Crab (*Eriocheirsinensis*) Preserved with High Power Pulsed Microwave and Eugenol

Wang Fan<sup>1</sup>, Zhang Yaxin<sup>1,2</sup>, Yang Jilin<sup>1,2</sup>, Fu Longlong<sup>3</sup>, Pan Jianlin<sup>3</sup>, Liu Xiaoli<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Institute of Farm Product Processing, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014

<sup>2</sup>School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, Jiangsu

<sup>3</sup>Freshwater Fisheries Research Institute of Jiangsu Province, Nanjing 210017)

**Abstract** River crab meat samples were preserved with high power pulse microwave (HPPM) and eugenol. The total vi-

able counts (TVC) and total volatile base nitrogen (TVB-N) contents were determined during 5-day storage. The microbial diversity of samples treated with different preservation methods was analyzed by high-throughput sequencing. Results showed that HPPM combined with eugenol could significantly delay the increase of TVC and TVB-N contents during storage. The dominant spoilage bacteria in crab meat samples was *Bacillus*. Addition of 2  $\mu\text{L/g}$  eugenol and treating with HPPM at 900 kW, 200 Hz for 5 min had a strong inhibitory effect on the growth of *Bacillus*.

**Keywords** river crab; preservation; high power pulse microwave; eugenol; microbial diversity