

# 酸性电解水处理后南美白对虾贮藏过程中肠道微生物的多样性变化

付娇娇<sup>1,2,3</sup>, 彭织云<sup>1,2,3</sup>, 刘海泉<sup>1,2,3</sup>, 孙晓红<sup>1,2,3</sup>, 潘迎捷<sup>1,2,3</sup>, 赵勇<sup>1,2,3,\*</sup>

(1.上海海洋大学食品学院, 上海 201306;

2.上海水产品加工及贮藏工程技术研究中心, 上海 201306;

3.农业部水产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室(上海), 上海 201306)

**摘要:**肠道微生物是引起水产品腐败变质的主要污染源之一。酸性电解水(AEW)作为新型环保消毒剂,因其高效广谱杀菌的特点,已逐渐被应用于水产品安全控制方面并且日益受到人们的重视。本研究采用变性梯度凝胶电泳技术,分析了经自来水(TW)与酸性电解水分别处理的南美白对虾(*Penaeus vannamei*)于0、4、25℃贮藏过程中肠道微生物多样性的变化规律。结果表明,与对照相比,经酸性电解水处理后的样品肠道微生物多样性在贮藏过程中有所减少。因此,酸性电解水能明显改变肠道微生物的多样性,为其保障水产品质量安全提供了理论参考依据。

**关键词:**南美白对虾,酸性电解水,肠道微生物,变性梯度凝胶电泳(DGGE)

## Changes of acidic electrolyzed water on intestinal microflora diversity of *Penaeus vannamei* during storage

FU Jiao-jiao<sup>1,2,3</sup>, PENG Zhi-yun<sup>1,2,3</sup>, LIU Hai-quan<sup>1,2,3</sup>, SUN Xiao-hong<sup>1,2,3</sup>, PAN Ying-jie<sup>1,2,3</sup>, ZHAO Yong<sup>1,2,3,\*</sup>

(1.College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2.Shanghai Engineering Research Center of Aquatic-Product Processing & Preservation, Shanghai 201306, China;

3.Laboratory of Quality Safety Risk Assessment for Aquatic Products on Storage and Preservation (Shanghai), Ministry of Agriculture, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** Intestinal microflora was considered as one of the major sources to cause the corruption of aquatic products. As a new-type environmental disinfectant, acidic electrolyzed water (AEW) had gradually been applied to control the security of aquatic products, which was receiving more and more attentions due to its efficient broad-spectrum sterilization. In this paper, PCR-DGGE technology was used to analyze the variation of intestinal microflora diversity in *Penaeus vannamei* stored at 0℃, 4℃ and 25℃, which were treated by tap-water (TW) and AEW, respectively. Compared with TW group, samples under AEW showed a decreasing diversity of intestinal microflora during storage, which indicated that intestinal microflora diversity was significantly affected by AEW. The results would be used to provide a theoretical reference for the security of aquatic products.

**Key words:** *Penaeus vannamei*; AEW; intestinal microflora; DGGE

中图分类号: TS254.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)04-0344-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.04.066

南美白对虾因其营养价值高、肉质鲜美而广受消费者喜爱,但其在运输、生产加工、贮藏过程中易腐败变质<sup>[1]</sup>。近年来,蓝蔚青等<sup>[2]</sup>探讨了鲳鱼冷藏过程中不同种类细菌的变化规律。陈慧斌等<sup>[3]</sup>研究了4℃冷藏期间牡蛎鳃部菌群的动态变化,但很少有人关注水产品贮藏过程中肠道细菌的种群变化。肠道微

生物是引起水产品腐败变质的主要因素之一,因此,研究水产品肠道细菌结构在贮藏过程中的变化规律尤为重要。通过选择不同的保鲜剂和包装方式,可以改善水产品的贮藏品质,延长货架期<sup>[4]</sup>。已有研究表明乳酸菌生物保护剂可以有效抑制冷冻水产品中单增李斯特菌的生长<sup>[5]</sup>。徐晓瑾等<sup>[6]</sup>研究发现气调包装

收稿日期: 2014-05-06

作者简介: 付娇娇(1989-),女,硕士研究生,研究方向:食品预测微生物学及定量风险评估。

\* 通讯作者: 赵勇(1975-),男,博士,教授,主要从事食品安全与食品生物技术方面的研究。

基金项目: 国家自然科学基金(31271870);上海市科学技术委员会部分地方院校能力建设项目(11310501100);上海市科学技术委员会科技创新行动计划项目(12391901300);上海市科技兴农重点攻关项目(沪农科攻字2014第3-5号)。

是一种有效地抑菌包装方式,可延长生鲜冷却牛肉的保鲜期。相比于其他化学杀菌剂,酸性电解水具有安全性好,快速、广谱杀菌的特点<sup>[7-9]</sup>。因此,研究电解水在食品安全方面的应用具有现实意义。蓝蔚青等<sup>[9]</sup>研究表明酸性电解水能在短时间内抑制细菌生长,使带鱼的冷藏货架期延长2~3d。谢军等<sup>[10]</sup>发现酸性电解水能有效减少虾体细菌总数,但酸性电解水在延长水产品货架期的同时是否改变了其肠道微生物的结构尚未见报道。

PCR-DGGE技术被广泛应用于微生物群落多样性和种群差异研究,目前已经成为微生物分子生态学的主要方法之一<sup>[11-13]</sup>。本文基于PCR-DGGE技术,分析了经自来水与酸性电解水处理后南美白对虾肠道微生物种群结构多样性的变化规律,为进一步控制南美白对虾贮藏过程中的腐败变质及酸性电解水技术在水产品安全中的应用提供了参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与仪器

南美白对虾 购于上海市普陀区铜川路水产品市场。实验选取相同规格的个体(平均约25g),将其分为A、B两组,样品分别编号a~r。A组用自来水,B组用50ppm的酸性电解水分别浸泡1min后放入均质袋中,置于0、4、25℃条件下贮藏。分别采集贮藏0、1、3、4、6d虾肠道0.1g于1.5mL离心管中,-80℃保存。

FW-200型强酸性电解水生成器 日本Amano公司;高精度恒温培养箱 日本Sanyan公司;BagMixer 400 VW型拍打式均质器 法国Interscience公司;离心机、PCR扩增仪 德国Eppendorf公司;DGGE电泳仪、Bio-Rad凝胶成像仪分析系统 美国BioRad公司;PCR试剂盒 中国上海LifeFeng公司;肠道DNA提取试剂盒 德国Qiagen公司;酶标仪 美国BioTek公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 肠道微生物群落总DNA提取 使用肠道DNA提取试剂盒提取肠道样品的总DNA,提取步骤按说明书操作,提取后的DNA置于-20℃保存待用。

1.2.2 PCR扩增 选取细菌16S rDNA的V3可变区进行PCR扩增。引物序列如下:上游引物V3-2:5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3'和带GC夹子的下游引物V3-3:5'-CGCCCCGCGCGCGCGGGCGGGGCGGGGACGGGGGGCCTACGGGAGGCAGCAG-3'。25μL PCR反应体系为:PCR mix 12.5μL、引物V3-2和V3-3各1μL、ddH<sub>2</sub>O 8.5μL,DNA模板2μL。PCR扩增程序为:95℃预变性3min;95℃变性1min,55℃退火1min,72℃延伸30s,20个循环;72℃延伸10min。取5μL PCR扩增产物进行1%琼脂糖凝胶电泳,DNA Marker选用DL2000,紫外检测扩增产物,凝胶成像。

1.2.3 变性梯度凝胶电泳(denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE) 将PCR产物用DGGE分离,凝胶的配制采用8%聚丙烯酰胺凝胶,其中变性剂浓度梯度为35%~60%(100%的变性胶包含7mol/L尿素和40%甲酰胺)。PCR扩增产物上样量为8μL,上样前调整PCR产物的浓度使浓度一致。采用D code DGGE (Bio-Rad)进行电泳,电泳缓冲液为1×TAE(Tris-磷

酸),在60℃条件下120V电压电泳4h左右。凝胶染色,电泳结束后,凝胶于EB染液中染色20min,用Bio-Rad凝胶成像系统采集图像。

### 1.3 数据分析

利用Quantity One 4.6.2软件将DGGE图谱数字化后得到每个样品中可检测条带的细菌丰度,有条带记为“1”,无条带则记为“0”。将输出的数据结果导入NTSYS-pc 2.10e软件,比较各个泳道之间的相似性,并进行UPGAMA聚类分析并采用Canoco for Windows 4.5软件进行主成分分析。根据电泳图谱中每个条带的亮度,用香浓-威纳多样性指数(Shanno-Wiener index, H)分析各样品多样性。公式如下:

$$H = - \sum_{i=1}^S P_i \ln P_i$$

式中,H为香浓-威纳多样性指数,S为DGGE胶中条带数量,P<sub>i</sub>为i条带所占百分比。

## 2 结果与分析

### 2.1 DGGE图谱分析及多样性分析

18个样品的DGGE电泳结果如图1所示。不同位置的条带代表不同种属细菌,条带的荧光强度则反映了该细菌的丰富度,条带信号越亮,表示该种属细菌的相对数量越多<sup>[14]</sup>。由图1可知,每个样品中强度高的条带在泳道中的迁移率不同,说明各样品中优势菌群有所不同,直观地反映了南美白对虾贮藏过程中肠道微生物的多样性。比较图1中0℃贮藏条件下自来水(TW)与酸性电解水(AEW)分别处理的样品,其肠道细菌的结构存在明显的多样性差异,此现象同样出现在4℃及25℃条件贮藏过程中。表明酸性电解水改变了肠道微生物的多样性。

根据DGGE图谱数字化结果可得,经自来水处理于0、4、25℃条件下贮藏的三组样品(a、c、e、g、i、k、m、o、q)分别在DGGE图谱上产生11、9、12、13、11、10、13、10、11条可以鉴别的条带;同样,经酸性电解水处理于0、4、25℃条件下贮藏的三组样品(b、d、f、h、j、l、n、p、r)分别在DGGE图谱上产生11、10、13、9、15、13、10、11、10条可以鉴别的条带,条带数量的多少反映了该样品代表的肠道环境中细菌的多样性程度。结果显示,自来水处理的样品在0、4、25℃条件下贮藏过程中,其肠道微生物菌群结构多样性呈上升趋势,

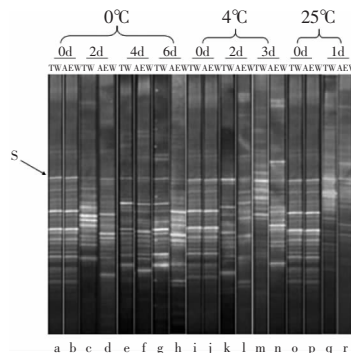


图1 各样品16S rDNA基因扩增产物的DGGE电泳结果  
Fig.1 DGGE electrophoresis of 16S rDNA gene amplification products from the samples

而在酸性电解水处理样品中有所下降,表明酸性电解水对虾肠道细菌增殖有一定的抑制作用。观察DGGE图谱中S位置上的条带,发现其在泳道上处于相似位置。该结果可推测贮藏过程中对虾肠道内存在某一稳定增殖的细菌,但并不能认为这些条带所代表的就一定是同样的细菌。

多样性指数(H', Shannon-wiener index)是研究群落物种数和个体数及其分布均匀度的综合指标<sup>[15]</sup>。由表1可知,多样性指数在整个监测周期内呈周期性波动变化,说明了对虾肠道内微生物群落结构在时间上的演替变化。分析0℃及4℃贮藏条件下的两组样品,发现贮藏时间达到48h之后,肠道菌群的多样性开始明显增加,表明肠道细菌种类在贮藏前期发生了改变。此外,酸性电解水处理后的样品在贮藏48h时肠道细菌的多样性指数最低,表明其高效的抑菌作用。分析25℃条件下贮藏的样品,实验结果显示当贮藏时间达到24h时,酸性电解水处理样品的肠道细菌多样性指数略低于自来水处理样品,可进一步表明酸性电解水的抑菌作用。

表1 样品细菌种群多样性指数  
Table 1 Shannon-Wiener index

	0℃			4℃		25℃	
	0h	48h	96h	124h	48h	72h	24h
TW	2.58	2.60	2.54	2.66	2.61	2.59	2.67
AEW	2.58	2.38	2.70	2.59	2.59	2.70	2.57

2.2 DGGE图谱的聚类分析及主成分分析

UPGAMA相似性聚类分析结果(表2)显示,所有样品相似性在0.44~1.0,说明各样品肠道种群结构有

表2 样品肠道微生物相似系数

Table 2 Similarity coefficients of intestinal microorganisms of samples

	TW 0℃ 0d	TW 0℃ 2d	TW 0℃ 4d	TW 0℃ 6d	TW 4℃ 0d	AEW 4℃ 0d	TW 4℃ 3d	TW 25℃ 0d	TW 25℃ 1d	AEW 0℃ 0d	AEW 0℃ 2d	AEW 0℃ 4d	AEW 0℃ 6d	TW 4℃ 2d	AEW 4℃ 2d	AEW 4℃ 3d	AEW 25℃ 0d	AEW 25℃ 1d
TW-0℃-0d	1.00																	
TW-0℃-2d	0.67	1.00																
TW-0℃-4d	0.83	0.72	1.00															
TW-0℃-6d	0.77	0.78	0.83	1.00														
TW-4℃-0d	0.89	0.78	0.83	0.89	1.00													
AEW-4℃-0d	0.83	0.83	0.78	0.83	0.94	1.00												
TW-4℃-3d	0.67	0.55	0.72	0.67	0.55	0.50	1.00											
TW-25℃-0d	0.94	0.72	0.78	0.72	0.83	0.89	0.61	1.00										
TW-25℃-1d	0.66	0.55	0.61	0.55	0.55	0.50	0.78	0.61	1.00									
AEW-0℃-0d	1.00	0.66	0.83	0.78	0.89	0.83	0.67	0.94	0.67	1.00								
AEW-0℃-2d	0.72	0.72	0.78	0.72	0.83	0.78	0.61	0.67	0.61	0.72	1.00							
AEW-0℃-4d	0.67	0.78	0.61	0.78	0.67	0.61	0.77	0.61	0.78	0.67	0.61	1.00						
AEW-0℃-6d	0.78	0.55	0.72	0.78	0.78	0.72	0.55	0.72	0.55	0.78	0.72	0.55	1.00					
TW-4℃-2d	0.55	0.44	0.61	0.67	0.55	0.50	0.67	0.50	0.55	0.55	0.61	0.67	0.55	1.00				
AEW-4℃-2d	0.55	0.44	0.50	0.44	0.55	0.50	0.55	0.50	0.55	0.55	0.72	0.55	0.44	0.78	1.00			
AEW-4℃-3d	0.61	0.50	0.67	0.61	0.50	0.44	0.72	0.55	0.72	0.61	0.67	0.61	0.72	0.61	0.50	1.00		
AEW-25℃-0d	1.00	0.67	0.83	0.78	0.89	0.83	0.67	0.94	0.67	1.00	0.72	0.67	0.77	0.55	0.55	0.61	1.00	
AEW-25℃-1d	0.50	0.50	0.67	0.61	0.50	0.44	0.72	0.44	0.61	0.50	0.67	0.61	0.72	0.61	0.50	0.78	0.50	1.00

所差异。由图2可知,不同贮藏温度下,自来水与酸性电解水处理的第0d肠道样品被聚为一类,显示出它们具有较为相似的种群结构,其平均相似系数为0.93。随着贮藏时间的增加,样品间的相似系数逐渐降低,如酸性电解水处理样品于4℃贮藏第0d与第3d的相似系数仅为0.44,表明酸性电解水明显改变了肠道微生物的多样性及肠道微生物种类变化主要发生在贮藏前期。

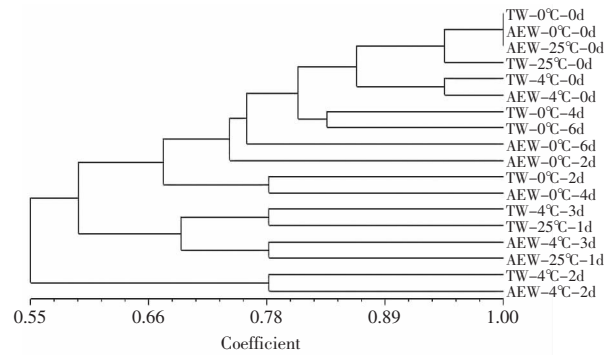


图2 DGGE图谱的聚类分析

Fig.2 Cluster analysis of DGGE fingerprinting profile

DGGE图谱的PCA分析结果如图3所示。样品之间的距离代表了它们的差异大小。主成分因子1(PC1)的贡献率为32.9%,主成分因子2(PC2)的贡献率为14.4%;PC1明显地将样品分成2个部分,自来水处理的样品(1~9)集中分布在图的左边,酸性电解水处理的样品(10~18)分散在图的右边。表明自来水处理与酸性电解水处理的样品肠道细菌结构多样性存在明显差异。此外,图中酸性电解水处理的样品分布比较



发散,表明其明显影响了肠道微生物的多样性。图中8、9是经自来水处理于25℃条件下贮藏第0d与第1d的肠道样品,该贮藏温度下的样品间距相差较大,此现象同样出现在酸性电解水处理组(17~18)。表明在25℃环境条件下,细菌适宜生长从而使肠道微生物多样性发生了较大的改变。

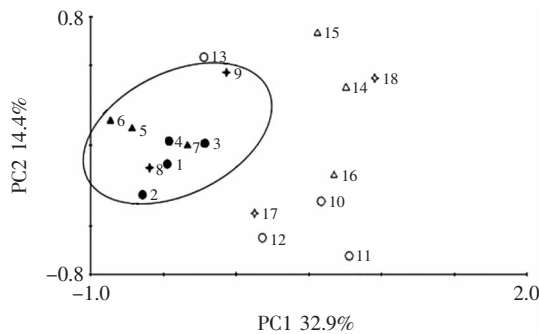


图3 DGGE图谱的PCA分析

Fig.3 PCA analysis of DGGE fingerprinting profile

注:1~9:自来水处理的样品(1~4:0℃;5~7:4℃;8~9:25℃);  
10~18:酸性电解水处理的样品(10~13:0℃;14~16:4℃;  
17~18:25℃)。

### 3 结论与讨论

DGGE方法有不需要培养、分辨率高、结果准确可靠、重复性好、检测速度快、可同时检测多种微生物等优点<sup>[16]</sup>,在本研究中,16S rDNA V3区的PCR-DGGE图谱能够很好地区分虾肠道内的细菌,虽然数据不能代表所有对虾肠道内细菌群落的情况,但可以说明PCR-DGGE技术能够有效地用于肠道菌群的分析。

酸性电解水作为一种新型的环保杀菌剂,已逐步应用于食品保鲜中。近年来,国内外学者均有关于电解水杀菌效果的研究报道。李秀丽等<sup>[17]</sup>研究表明酸性电解水能有效减少熟制虾仁中的细菌总数;李华贞等<sup>[18]</sup>研究表明酸性电解水可以抑制新鲜果蔬中的细菌增殖,延长其保鲜期。林婷、Abdulsudi等<sup>[19-20]</sup>研究结果同样表明酸性电解水具有高效的抑菌作用,而这些研究都是基于酸性电解水对食品表面微生物的作用效果。由于肠道微生物也是引起水产品腐败变质的主要污染源之一,所以本研究重点关注酸性电解水处理后的水产品在贮藏过程中肠道微生物多样性的变化。由实验结果可知,酸性电解水处理的虾样肠道微生物多样性在贮藏过程中有所减少并且与对照组存在明显差异,不仅进一步证明了酸性电解水具有高效抑菌的作用,同时揭示了其能够显著影响水产品肠道微生物的多样性,这可能与延长水产品货架期有关。研究还发现经两种不同方式处理的样品,其肠道微生物优势种群在贮藏前期都发生了明显的改变,因此在鲜虾安全控制中应在前期采取有效措施以改善食品品质。此外,DGGE图谱中S位置上的条带细菌在样品贮藏过程中稳定存在,但不能认为就是同一种细菌,这些细菌可能是引起水产品贮藏过程中腐败变质的特定腐败菌。因为本文重点

关注的是酸性电解水处理的水产品在贮藏过程中肠道微生物多样性的变化,所以没有对单一条带进行深入的分析。

酸性电解水研究主要集中在其高效的杀菌效果,而其在影响水产品品质方面也有相关报道。已有研究表明电解水能够减少冷藏河豚鱼中挥发性盐基氮、pH、硫代巴比妥酸值等品质指标的变化,同时还可以减少河豚鱼肉的硬度、弹性和回复性等质构结果的变化,从而延长了冷藏河豚鱼的货架期<sup>[21]</sup>。谢军等<sup>[22]</sup>研究表明电解水浸泡生虾后基本上不影响其感官品质,可以代替自来水用于原料虾的清洗。结合本研究结果表明,酸性电解水具有高效、广谱杀菌的作用且能够显著改变肠道微生物的多样性,为其保障水产品质量安全提供了参考依据以及为探讨酸性电解水延长水产品货架期的机理提供了理论支撑。

### 参考文献

- [1] 周娟娟,马海霞,李来好. 南美白对虾冰温气调保鲜效果评价[J]. 食品科学,2012,33(22):332-336.
- [2] 蓝蔚青,谢晶,施建兵,等. 冷藏鲳鱼贮藏期间的细菌种群变化[J]. 食品与生物技术学报,2013,32(11):1141-1148.
- [3] 陈慧斌,刘智禹,陈绍军,等. 基于PCR-DGGE技术的冷藏牡蛎鳃部菌群分析[J]. 西南大学学报:自然科学版,2013,35(4):151-156.
- [4] 谢晶,杨胜平. 生物保鲜剂结合气调包装对带鱼冷藏货架期的影响[J]. 农业工程学报,2011,27(1):376-380.
- [5] 吕欣然,白凤翎,励建荣. 乳酸菌生物保鲜在水产品种的应用研究进展[J]. 食品工业科技,2014,35(2):340-345.
- [6] 徐晓瑾,欧杰,严维凌,等. 气调包装生鲜冷却牛肉贮藏中微生物多样性分析[J]. 微生物学通报,2012,39(12):1852-1858.
- [7] Venkitanarayanan K S, Ezeike G O. Efficacy of electrolyzed oxidizing water for inactivating *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999,65(9):4276-4279.
- [8] Tanaka N, Fujisawa T, Daimon T, et al. The effect of electrolyzed strong acid aqueous solution on hemodialysis equipment[J]. Artificial Organs, 1999,23(12):1055-1062.
- [9] 蓝蔚青,谢晶. 酸性电解水与溶菌酶对冷藏带鱼品质变化的影响[J]. 福建农林大学学报:自然科学版,2013,42(1):100-105.
- [10] 谢军,孙晓红,潘迎捷,等. 应用PCR-DGGE监测酸性电解水对虾的杀菌效果[J]. 食品科学,2011,32(9):1-6.
- [11] 谢科,余晓峰,郑海松,等. 传统分离培养结合PCR-DGGE技术分析广式腊肠中优势菌[J]. 食品科学,2013,34(4):157-160.
- [12] Susana D, Caio T C C R, Elena F, et al. Diversity of thermophilic bacteria in raw, pasteurized and selectively-cultured milk, as assessed by culturing, PCR-DGGE and pyrosequencing [J]. Food Microbiology, 2013, 36: 103-111.
- [13] Edna F A, Aly F EL S, Tomasz R, et al. Determination of cheese origin by using 16S rDNA fingerprinting of bacteria

(下转第356页)

能是通过炎症因子的调控实现的。本文的研究为虾青素酯的生物活性研究提供理论依据。对虾青素酯在食品中的应用具有重要的意义。

虾青素酯的脂肪酸组成复杂,结构及含量较难鉴定。目前提取的天然虾青素酯多以混合物形式存在。建议研究改进虾青素酯纯化鉴定的方法,纯化虾青素酯混合物的各组分及其构效关系,实现虾青素酯的高值化利用。

### 参考文献

- [1] 詹莉莉,杨志秋,傅正伟. 肥胖与慢性炎症的研究进展[J]. 中国细胞生物学报,2011,33(3):297-305.
- [2] 郑艳华,赖毛华,刘华,等. 慢性炎症及氧化应激与PCOS远期患病风险的研究进展[J]. 现代妇产科进展,2013,22(8):674-676.
- [3] Hotamisligil G S. Inflammatory pathways and insulin action[J]. Int J Obes Relat Metab Disord,2003,27(Suppl 3):53-55.
- [4] Creager M A,Luscher T F,Cosentino F,et al. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy:Part II[J]. Circulation,2003,108(12):1527-32.
- [5] Dietmar E. Breithaupt. Identification and Quantification of Astaxanthin Esters in Shrimp (*Pandalus borealis*) and in a Microalga (*Haematococcus pluvialis*) by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Using Negative Ion Atmospheric Pressure Chemical Ionization[J]. Agric Food Chem,2004,52(12):3870-3875.
- [6] Lorenz R T, Cysewski G R. Commercial potential for *Haematococcus* microalgae: a natural source of astaxanthin[J]. Tibtech,2000,18:160-167.
- [7] Orosa M, Valero J F, Herrero C, et al. Comparison of the accumulation of astaxanthin in *Haematococcus pluvialis* and other green microalgae under N-starvation and high light conditions[J]. Biotech Lett,2001,23:1079-1085.
- [8] 李浩明,高蓝. 虾青素的结构,功能与应用[J]. 精细化工,2003,20(1):32-37.
- [9] 尹蕾. 虾青素及其复方产品抗炎性能的研究[D]. 天津:天津科技大学. 2010.
- [10] Rao A R, Sindhuja H N, Dharmesh S M, et al. Effective

inhibition of skin cancer, tyrosinase, and antioxidative properties by astaxanthin and astaxanthin esters from the green alga *haematococcus pluvialis*[J]. Agric Food Chem,2013,61,3842-3851.

- [11] Miao F,Lu D,Li Y,et al. Characterization of astaxanthin esters in *Haematococcus pluvialis* by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry[J]. Anal Chem,2006,352(2):176-181.
- [12] 张冬燕,刘保林,刘康. 氧化应激与胰岛素抵抗分子机制之联系[J]. 海峡药学,2012,24(9):1-5
- [13] 马向红,黄体钢,杨万松,等. 胰岛素抵抗大鼠血清NO、血管紧张素II和超氧阴离子水平的变化[J]. 中国慢性病预防和控制,2005,13(1):9-19.
- [14] 张豫文,洪洁. 炎症因子与胰岛素抵抗[J]. 诊断学理论与实践,2010,9(1):90-94.
- [15] Rotter V,Nagaev I,Smith U. Interleukin-6(IL-6) induces insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes and is,like IL-8 and tumor necrosis factor-alpha,overexpressed in human fat cells from insulin-resistant subjects[J]. J Biol Chem,2003,278(46):45777-45784.
- [16] Banks W A, Willoughby L M, Thomas D R, et al. Insulin resistance syndrome in the elderly: assessment of functional, biochemical, metabolic, and inflammatory status[J]. Diabetes Care,2007,30(9):2369-2373.
- [17] Charles A, Dinarell O, Marc Y, et al. Role of IL-1 $\beta$  in type 2 diabetes[J]. Current opinion in endocrinolog. Diabetes & Obesity,2010,17:314-321.
- [18] Charles A, Dinarell O. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory disease[J]. Blood,2011,117:3720-3732.
- [19] 吕敬雷,王鹏,隋雪琴,等. 缺血后处理对脑缺血再灌注大鼠TNF- $\alpha$ 和IL-1 $\beta$ 表达影响[J]. 齐鲁医学杂志,2012,27(4):319-322.
- [20] Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects[J]. Nature,2003,423:762-769.
- [21] 沈国函. 牙周基础治疗对慢性牙周炎合并冠心病的老年患者IL-8、IL-10水平的影响[D]. 大连:大连医科大学,2012.

(上接第347页)

- communities by PCR-DGGE: Preliminary application to traditional Minas cheese[J]. Food Control,2013,30:1-6.
- [14] 李江宇,樊景凤,穆贵强,等. 利用PCR-DGGE分析海水浴场细菌多样性[J]. 海洋环境科学,2013,32(4):523-528.
- [15] Ogino A, Koshikawa H, Nakahara T, et al. Succession of microbial communities during a biostimulation process as evaluated by DGGE and clone library analyses[J]. Journal of Applied Microbiology,2001,91:625-635.
- [16] 罗佳捷,李丽立,张彬. PCR-DGGE技术及其在微生物群落结构研究中的应用[J]. 广东畜牧兽医科技,2009,34(5):17-19.
- [17] 李秀丽,吴冬梅,罗红宇. 酸性电解水对熟制虾仁抑菌作用的研究[J]. 食品工业,2013,34(9):108-110.

- [18] 李华贞,郑淑方,宋曙辉,等. 酸性电解水对果蔬杀菌及保鲜效果的研究[J]. 现代食品科技,2011,27(3):361-365.
- [19] 林婷,王敬敬,潘迎捷,等. 酸性电解水对纯培养及食品中食源性致病细菌杀菌效果比较研究[J]. 食品科学,2013,34(15):69-74.
- [20] Abdulsudi I, Yoshinori K, Nami M, et al. Application of slightly acidic electrolyzed water as a potential non-thermal food sanitizer for decontamination of fresh ready-to-eat vegetables and sprouts[J]. Food Control,2011,22:601-607.
- [21] 周然,刘源,谢晶,等. 电解水对冷藏河豚鱼肉质及品质变化的影响[J]. 农业工程学报,2011,27(10):365-369.
- [22] 谢军,孙晓红,潘迎捷,等. 电解水和有机酸对虾的杀菌效果及感官品质影响[J]. 食品与发酵工业,2010,36(5):57-63.