

# 肉枣加工过程中细菌群落消长规律

## The growth and decline of bacterium during the processing of meat jujube

周 晓<sup>1</sup> 尹含靓<sup>1</sup> 谭益升<sup>2</sup> 孙军华<sup>2</sup> 刘 洋<sup>1</sup>

ZHOU Xiao<sup>1</sup> YIN Hanliang<sup>1</sup> TAN Yisheng<sup>2</sup> SUN Junhua<sup>2</sup> LIU Yang<sup>1</sup>

(1. 湖南农业大学食品科学技术学院, 湖南 长沙 410128; 2. 盐津铺子食品股份有限公司, 湖南 长沙 410000)

(1. College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 2. Yanjinpuzi Food Co., Ltd., Changsha, Hunan 410000, China)

**摘要:**目的: 确定导致样品胀袋的关键控制点, 加强肉枣加工过程中微生物污染防控。方法: 采用微生物传统培养法结合高通量测序手段分析肉枣生产全过程中不同加工工序样品及胀袋样品的微生物变化情况。结果: 整体来看, 原料中菌落总数较低, 其中鸡皮中菌落总数最高达  $9.10 \times 10^4$  CFU/g, 蒸煮后菌落总数下降至 30 CFU/g, 但真空包装后菌落总数显著上升, 说明真空包装工序存在较大污染风险。胀袋样品中微生物增殖明显, 菌落总数为  $1.03 \times 10^6 \sim 3.30 \times 10^6$  CFU/g。肉枣原料中的优势菌属为不动杆菌属 (*Acinetobacter*)、嗜冷杆菌属 (*Psychrobacter*) 和假单胞菌属 (*Pseudomonas*)。加工过程中样品的主导菌属为葡萄球菌属 (*Staphylococcus*), 灭菌后其相对丰度降至 0.02%。而胀袋样品中均以枝芽孢菌属 (*Virgibacillus*) 为主, 平均相对丰度为 99.37%; 该属在灌肠工序开始出现, 且耐热性较强, 灭菌后其相对丰度增加。结论: 灌肠和包装工序可能为肉枣加工过程中的关键污染点。

**关键词:** 肉枣; 传统培养法; 高通量测序; 胀袋; 细菌多样性

**Abstract: Objective:** In order to determine the key control points that cause samples bagging and strengthen the prevention and control of microbial contamination during the processing of meat dates. **Methods:** Traditional microbial culture method combined with high-throughput DNA sequencing method was used to analyze the changes of bacterium during the processing of meat jujube and swollen bag of samples. **Results:** The total number of colonies basis was low in soft bones, while in the chicken skin reached to  $9.10 \times 10^4$  CFU/g. And the total number of colonies

decreased to 30 CFU/g after cooking, but increased significantly after vacuum packaging, indicated a greater risk of contamination in the vacuum packaging process. The swollen bag samples showed a significant increase in the number of bacterium, which ranged from  $1.03 \times 10^6 \sim 3.30 \times 10^6$  CFU/g. *Acinetobacter*, *Psychrobacter* and *Pseudomonas* were the dominant spoilage bacteria in meat products. *Staphylococcus* was the dominant bacteria in the samples during processing (Y8~Y12), with the relative abundance decreasing to 0.02% after sterilization. The swollen bag samples (P1~P3) were dominated by *Virgibacillus*, with an average relative abundance of 99.37%. It was firstly founded in samples after sausage-filling (Y8) and with an increase of relative abundance after sterilization. **Conclusion:** The sausage-filling and packaging processes may be the critical points of contamination in the processing of meat jujube.

**Keywords:** meat jujube; traditional culture method; high-throughput sequencing; swollen bag; bacterial diversity

肉枣是一种小香肠, 属于休闲方便肉制品, 又称肉橄榄、肉葡萄, 是一种以动物肉类 (如猪肉、鸡肉等) 为主要原料加工而成的即食产品。肉枣不仅蛋白质、脂肪和碳水化合物含量丰富, 还含有大量的烟酸、维生素 E、核黄素等营养成分<sup>[1]</sup>。因其为常温产品, 不需冷链, 因此贮藏运输方便。但由于肉枣生产原料包括鸡皮、鸡胸肉、肥膘和脆骨, 营养丰富, 若生产过程中出现温度、环境卫生等监测不到位, 极易引起腐败菌的生长繁殖从而出现胀袋、溶烂等质量问题<sup>[2]</sup>。现阶段关于肉制品中腐败菌的研究主要集中在产品中腐败菌的分离鉴定及其相关特性方面。Zhang 等<sup>[3]</sup>从腐败变质的罗非鱼中分离出了 3 种腐败链球菌菌株并对其进行肠道黏附试验, 结果表明其黏附能力与腐败能力呈正相关。谢婷婷等<sup>[4]</sup>对胀袋鲍汁中的腐败菌进行分离鉴定, 得到其主要腐败菌为地衣芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌。陈佳丽等<sup>[5]</sup>从已腐败胀袋的烤鸡中分

**基金项目:** 国家重点研发计划项目 (编号: 2019YFC1606200)

**作者简介:** 周晓, 女, 湖南农业大学在读硕士研究生。

**通信作者:** 刘洋 (1990—), 女, 湖南农业大学讲师, 博士。

E-mail: fs\_yliu@163.com

**收稿日期:** 2023-04-16 **改回日期:** 2023-09-01

离鉴定出 5 株腐败菌,包括 2 株枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、1 株生孢梭状杆菌(*Clostridium sporogenes*)和 2 株短小芽孢杆菌(*B. pumilu*)。但综合来看,对于加工过程中微生物的消长规律及胀袋产品中腐败微生物的来源研究较少。

传统微生物培养法在直观反映样品中可培养微生物数量级的同时,能直接反映出食品的变质情况,目前已被广泛应用于食品中菌落总数的测定和微生物的分离鉴定,但也存在操作过程容易受外部环境污染、无法精确观察和判断微生物的种类、培养基的选择性导致对部分不可培养微生物的研究不全面等问题<sup>[6]</sup>。而高通量测序技术可以同时对上百万条 DNA 分子测序,具有效率高、分析全面的特点,但存在读长较短、序列拼接不完整、容易出错和无法识别活菌/死菌等缺点<sup>[7]</sup>。传统培养法结合高通量测序法常被用来详细分析食品中微生物的存在和生长消减情况。胡蝶等<sup>[8]</sup>基于传统培养法和高通量测序技术分析新疆红枣中真菌多样性,发现这两种方法的检测结果具有较好的一致性。

研究拟采用传统培养方法和高通量测序技术相结合,测定肉枣加工过程样品及胀袋样品中微生物数量的消长情况和群落组成的变化情况,以期为肉枣加工过程中微生物污染防控提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

肉枣不同加工阶段的样品和常温保藏两个月后的胀袋样品:其生产加工工艺主要分为原料处理(清洗,解冻)、切分搅拌(12~15 °C, 25~30 min)、真空灌肠(浆料温度 0~8 °C)、蒸煮(82 °C, 25 min)、冷却剪切(物料温度 ≤15 °C)、真空包装和杀菌(102 °C, 20 min, 0.05 MPa)等阶段,将同一批次生产过程中各阶段的样品采集后装至已消毒的透明 PE 袋中于 -20 °C 冻库冷藏,具体样品信息见表 1,湖南某食品企业公司;

水系滤膜:孔径 0.22 μm,直径 50 mm,常德比克曼生物科技有限公司;

氯化钠:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

平板计数琼脂(PCA):青岛海博生物有限公司。

### 1.2 仪器与设备

立式高压蒸汽灭菌锅:LDZX-50 KBS 型,上海申安医疗器械厂;

智能化培养箱:LRH-250 型,上海飞越实验仪器有限公司;

电子天平:JE502 型,上海浦春计量仪器有限公司;

超低温冷冻储存箱:DW-HL218 型,合肥美的电冰箱有限公司;

表 1 肉枣样品信息表

Table 1 Meat jujube sample information sheet

分类	样品编号	样品名称
原料(冷冻)	Y1	鸡皮
	Y2	肥膘(A)
	Y3	肥膘(B)
	Y4	脆骨
原料(处理后)	Y6	鸡胸肉
	Y5	清洗后脆骨
	Y7	鸡胸肉解冻后
加工过程	Y8	灌肠后半成品
	Y9	蒸煮后肉枣
	Y10	真空包装(杀菌前)
	Y11	真空包装杀菌后
异常样品	Y12	恒温保藏 1 周后肉枣
	P1	恒温保藏 2 个月肉枣 异常 2022-05-06
	P2	恒温保藏 2 个月肉枣 异常 2022-05-07
	P3	恒温保藏 2 个月肉枣 异常 2022-05-10

水浴恒温振荡器:SHZ-82B 型,常州金南仪器制造有限公司;

电磁炉:C21-RT2120 型,广东美的生活电器制造有限公司;

电热恒温三孔水槽:LFT-8D 型,上海龙跃仪器设备有限公司;

循环水式多用真空泵:SHZ-D (III)型,邦西仪器科技(上海)有限公司;

新苗无菌超清工作台:SW-CJ-1F CIMO 型,上海新苗医疗器械制造有限公司。

### 1.3 试验方法

1.3.1 菌落总数测定 按 GB 4789.2—2016 执行。

1.3.2 高通量测序 样品前处理参照尹含靓等<sup>[9]</sup>的方法。将样品和无菌水按  $m_{\text{样品}} : V_{\text{水}}$  为 1 : 10 (g/mL) 混匀,35 °C 振荡 30 min,过水系滤膜(0.22 μm),抽滤,将滤膜装入 50 mL 已灭菌的 EP 管中,于低温环境下送杭州联川生物技术有限公司进行 16S rDNA 高通量测序分析。

### 1.4 数据分析

使用 Excel 2021 软件对试验数据进行分析处理;通过 Origin 2021 软件绘制细菌门水平及属水平柱状图;使用 OmicStudio tools(<https://www.omicstudio.cn/tool>)进行高级聚类热图分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 肉枣加工过程中及胀袋样品菌落总数的变化

由表 2 可知,解冻前肉枣原料检出菌落总数基数为

表 2 肉枣加工过程样品及胀袋样品中菌落总数变化

Table 2 Changes of total number of bacteria in meat jujube samples during different processing processes and swollen bag samples CFU/g

样品	菌落总数	样品	菌落总数
Y1	$(9.10 \pm 0.45) \times 10^4$	Y9	$30.00 \pm 4.00$
Y2	$(2.00 \pm 0.18) \times 10^3$	Y10	$(1.48 \pm 0.16) \times 10^4$
Y3	$(2.52 \pm 0.36) \times 10^3$	Y11	<10
Y4	$(3.60 \pm 0.15) \times 10^3$	Y12	$(7.10 \pm 0.35) \times 10^3$
Y5	$(8.40 \pm 0.60) \times 10^2$	P1	$(1.40 \pm 0.02) \times 10^6$
Y6	$(5.70 \pm 0.60) \times 10^4$	P2	$(1.03 \pm 0.30) \times 10^6$
Y7	$(7.90 \pm 0.40) \times 10^4$	P3	$(3.30 \pm 0.28) \times 10^6$
Y8	$(3.90 \pm 0.20) \times 10^4$		

$10^3 \sim 10^4$ ,可能来源于原料处理时受到操作面板、刀具和环境等方面的污染<sup>[10]</sup>。解冻后鸡胸肉(Y7)较原料(Y6)菌落总数有所增加,达 $(7.90 \pm 0.40) \times 10^4$  CFU/g。而清洗后脆骨(Y5),由于冲淋清洗带走了原料表面的部分微生物<sup>[11-12]</sup>,导致菌落总数较 Y4 降低了 1 个数量级。肉枣原料清洗后,搅拌混匀,经过灌肠后进入蒸煮工序(Y9),由于热处理对微生物杀灭有效果,微生物数量出现明显下降。蒸煮成型后的肉肠于车间晾凉后进行真空包装,包装后样品的菌落总数增加至 $(1.48 \pm 0.16) \times 10^4$  CFU/g,增长幅度较大,提升了 4 个数量级,其原因可能与环境中的微生物、人员在车间的流动造成的交叉污

染以及残留微生物在包装过程中生长繁殖所致。Y11 肉枣样品的微生物处于可控范围内,但依据微生物耐热性,芽孢类细菌无法杀死<sup>[13]</sup>,推测此为存放 1 周后肉枣样品 Y12 的菌落总数增加的原因之一。

相较于恒温保藏 1 周的肉枣样品(Y12),3 个胀袋样品的菌落总数显著增加,可能是样品胀袋的主要原因之一。目前国内外对于食品的胀袋现象已有较多研究,大多数研究证明胀袋原因与微生物生长代谢有关,如产酸、产气等。孟利等<sup>[14]</sup>以胀袋的红烧肉酱料包为研究对象,确定了导致包装食品胀袋的主要原因为芽孢杆菌等产气微生物的生长代谢活动。也有研究<sup>[1]</sup>指出,产品在高温条件下流通销售时,由于袋内较高的水分、湿度,会产生较大的蒸气压,进而出现胀袋、漏油等问题。因此,需对肉枣样品胀袋的原因进行进一步的分析鉴定。

## 2.2 样品 Alpha 多样性分析

Alpha 多样性又称生境内多样性,常用来反映样品中物种组成的多样性和丰富度,包括 Shannon、Simpson、OTUs 和 Chao1 指数,前两者主要反映物种多样性;后两者用来描述群落丰富度<sup>[15]</sup>。由表 3 可知,所有样品的 OTU 覆盖率(Good coverages)高达 99.90%,说明试验中建立的文库准确可靠,基本能够反映样品中微生物群落的多样性。加工过程中 Y9 和 Y11 的 OTUs 值出现了降低,且 Y11 的 Chao1 值相较于 Y10 出现了显著降低,反映其群落中包含的物种数目较少,与菌落总数结果一致,说明煮制和高温灭菌均能起到有效杀灭肉枣中存在的部分

表 3 不同加工工序肉枣及胀袋样品微生物菌群 Alpha 多样性分析

Table 3 Alpha diversity analysis of microbial flora in in meat jujube samples during different processes and swollen bag samples

样品	OTUs	Shannon	Simpson	Chao1	Good coverages
Y1	$359.67 \pm 25.79$	$6.23 \pm 0.06$	$0.97 \pm 0.00$	$367.39 \pm 29.32$	$99.96 \pm 0.02$
Y2	$227.00 \pm 17.69$	$1.84 \pm 0.25$	$0.34 \pm 0.04$	$201.63 \pm 69.45$	$99.95 \pm 0.04$
Y3	$235.33 \pm 11.59$	$3.08 \pm 0.45$	$0.58 \pm 0.07$	$210.86 \pm 73.67$	$99.96 \pm 0.03$
Y4	$198.67 \pm 17.79$	$4.79 \pm 0.18$	$0.90 \pm 0.01$	$166.81 \pm 64.76$	$99.98 \pm 0.01$
Y5	$126.00 \pm 15.72$	$3.36 \pm 0.72$	$0.82 \pm 0.06$	$154.88 \pm 167.10$	$99.96 \pm 0.04$
Y6	$221.33 \pm 4.04$	$5.59 \pm 0.08$	$0.96 \pm 0.00$	$223.89 \pm 5.42$	$99.98 \pm 0.00$
Y7	$271.00 \pm 94.73$	$6.24 \pm 0.20$	$0.97 \pm 0.00$	$274.50 \pm 100.33$	$99.98 \pm 0.03$
Y8	$276.00 \pm 36.37$	$6.18 \pm 0.20$	$0.97 \pm 0.00$	$278.47 \pm 36.93$	$99.98 \pm 0.01$
Y9	$258.33 \pm 48.95$	$5.53 \pm 0.68$	$0.93 \pm 0.02$	$436.32 \pm 239.19$	$99.91 \pm 0.01$
Y10	$389.67 \pm 43.10$	$6.32 \pm 0.45$	$0.97 \pm 0.03$	$395.42 \pm 44.72$	$99.95 \pm 0.01$
Y11	$286.33 \pm 36.12$	$3.47 \pm 0.45$	$0.73 \pm 0.06$	$257.44 \pm 89.19$	$99.96 \pm 0.03$
Y12	$383.22 \pm 40.51$	$6.06 \pm 0.18$	$0.96 \pm 0.01$	$396.68 \pm 51.46$	$99.92 \pm 0.04$
P1	$50.33 \pm 16.29$	$0.09 \pm 0.04$	$0.01 \pm 0.01$	$53.86 \pm 17.42$	$99.97 \pm 0.01$
P2	$33.67 \pm 1.53$	$0.11 \pm 0.02$	$0.02 \pm 0.00$	$34.58 \pm 2.50$	$99.99 \pm 0.01$
P3	$22.67 \pm 7.09$	$0.84 \pm 0.03$	$0.26 \pm 0.01$	$26.28 \pm 11.69$	$99.99 \pm 0.01$

微生物的效果。Y10 样品中 Shannon 和 Simpson 值最高,由此可知在真空包装后(灭菌前)微生物多样性增加,与尹含靓等<sup>[9]</sup>的研究结果相似,可能是由于车间机器和真空包装袋等接触产品而造成的外部污染。P1、P2 和 P3 各项指数相较于 Y12 均出现了显著下降,推测由于初期菌群未适应环境变化,导致菌群多样性较高,而胀袋样品中腐败菌出现并抑制其他细菌生长发展成为优势菌属<sup>[16]</sup>,导致样品中丰富度逐渐降低。

### 2.3 Beta 多样性分析

基于样本加权 Uni-Frac 距离分析,对序列数据进行 PCoA 处理,可以用来直观分析样品之间的相似性<sup>[17]</sup>。由图 1 可知,前两个主成分解释了细菌群落的方差总数为 60.34%(PC1 为 41.73%,PC2 为 18.61%),可代表绝大部分的变量信息。细菌群落的组成和结构明显分为两组,胀袋样品 P1、P2 和 P3 呈明显的聚类趋势,与其他样品间距离较远,说明二者之间细菌群落组成差异较大<sup>[18]</sup>。从原料特性角度分析,肥膘 Y2 和 Y3 属于相同部位,因此微生物组成差异较小。原料 Y1、Y4、Y5 和蒸煮后工序 Y9 距离较近,表明这些样品的细菌群落组成结构相似。而原料鸡胸肉(Y6、Y7)、加工过程(Y8、Y11)和成品 Y12 组间出现部分重叠,说明这 5 个工序微生物组成基本一致,鸡胸肉原料中的细菌组成和灌肠过程中接触到的外部污染可能对样品变质的贡献较大,与微生物菌落计数结果相吻合。

### 2.4 物种组成分析

2.4.1 基于门水平的细菌菌群结构分析 由图 2 可知,变形菌门(*Proteobacteria*)和厚壁菌门(*Firmicutes*)是肉枣加工过程中的优势菌门,二者在多种肉制品中被检测为优势菌门,如西班牙香肠<sup>[19]</sup>和传统腌制肉制品<sup>[20]</sup>。除 Y9 和 Y10 样品外,变形菌门(*Proteobacteria*)是肉枣加工工序其他样品中最丰富的菌门(55.8%~98.17%),Y6 中变形菌门的相对丰度最高。有研究<sup>[21]</sup>证明鲜鸡肉在冷冻

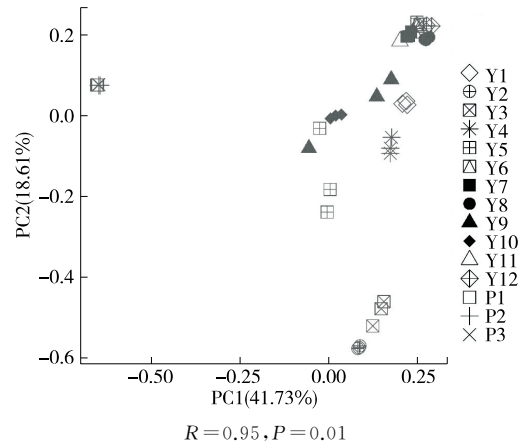


图 1 不同加工工序肉枣及胀袋样品微生物菌群 PCoA 分析

Figure 1 PCoA analysis of microbial flora in meat jujube samples during different processes and swollen bag samples

贮藏过程微生物丰度比较集中,变形菌门为主导菌门,与试验结果相吻合。经 Y9、Y10 工序后厚壁菌门(*Firmicutes*)相对丰度分别增加至 47.03%和 72.41%,很多厚壁菌能够抵抗较为极端的环境,如脱水和高温蒸煮,这与张锦雯等<sup>[22]</sup>的结果类似。而胀袋样品中均以厚壁菌门为主(平均占比 99.52%),说明肉枣的菌群结构组成在样品腐败过程中发生了较大变化。目前,厚壁菌门已被证明为不同胀袋和变质产品中的优势菌门,容易在肉类腌制的过程中被引入从而造成产品污染<sup>[23]</sup>。

2.4.2 基于属分类水平的分析 由图 3 可知,经序列比对,从肉枣不同工序样品和胀袋样品中共鉴定出 31 个属,不动杆菌属(*Acinetobacter*)是原料 Y1~Y7 样品中最优势的菌属,其平均相对丰度为 23.75%、其次是嗜冷杆菌属(*Psychrobacter*, 25.90%)和假单胞菌属(*Pseudomonas*, 16.81%),这三种菌属在生猪肉<sup>[24]</sup>、冷鲜

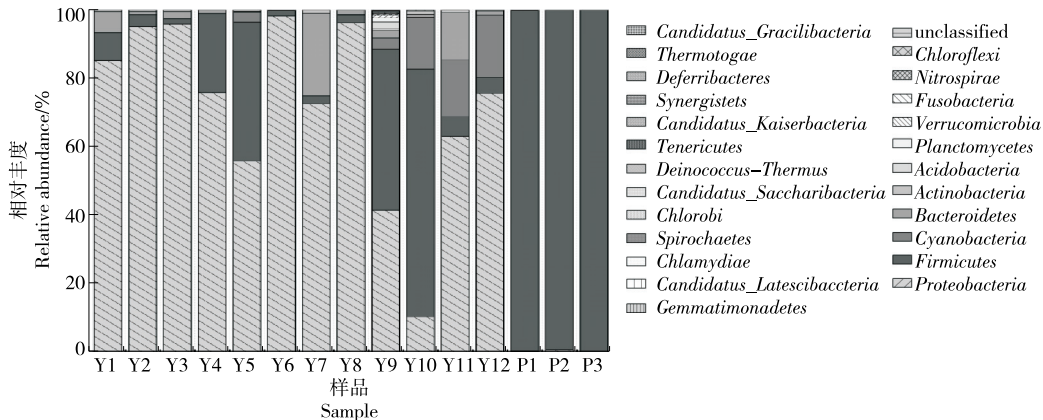


图 2 肉枣样本微生物在门水平上的相对丰度分布

Figure 2 The relative abundance of bacterium in meat jujube samples at phylum level



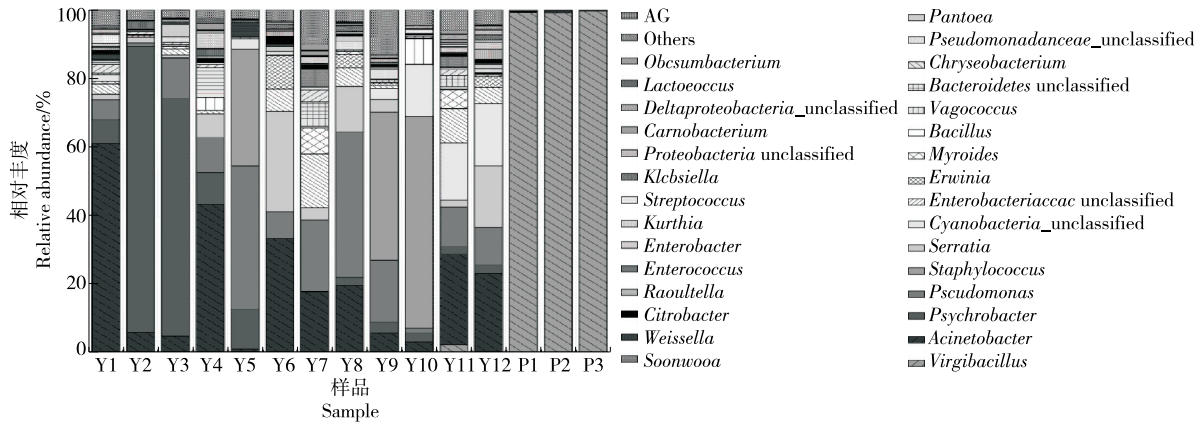


图3 样本微生物在属水平上的相对丰度分布

Figure 3 The relative abundance of bacterium in meat jujube sample at genus level

猪肉<sup>[25]</sup>、带鱼<sup>[26]</sup>和鸡爪<sup>[9]</sup>等多种肉类中被检测为优势菌属。加工过程中的样品(Y8~Y11)的主导菌属为葡萄球菌属(*Staphylococcus*, 21.04%)。经灌肠后(Y8),不动杆菌属和嗜冷杆菌属相对丰度出现明显降低,可能与灌肠前加入的调味料和防腐剂有关。而拌料后的浆料于0~4℃冷库中腌制24h,微生物的生长活动不能完全被抑制,假单胞菌属作为优势嗜冷菌迅速增长繁殖<sup>[27]</sup>,在灌肠后(Y8)达到最高值(42.96%)。高温蒸煮(Y9)可以在很大程度上抑制微生物的生长繁殖,真空包装后(Y10),芽孢菌属和葡萄球菌属在所有工序中达到峰值,推测该结果可能来源于外部的交叉污染,比如工作人员和产品的接触以及车间环境<sup>[28]</sup>,加工过程中可以加强车间环境微生物监测和人员卫生监控。不动杆菌属具有较强的耐热性<sup>[29]</sup>,在Y11样品中被检测为主要优势菌。Y12中相对丰度较高的不动杆菌属、假单胞菌属和沙雷氏菌属均具有一定的产脂肪酶和蛋白酶的能力,常与食品的腐败变质有关<sup>[9,30]</sup>,恒温保存1周后,枝芽孢菌属(*Virgibacillus*)发展成为优势菌属,成为造成产品胀袋的主要目标菌,与张春江等<sup>[31]</sup>的结果类似。

恒温保藏2个月后的胀袋肉枣(P1、P2和P3)中均以枝芽孢菌属(*Virgibacillus*)为主,平均相对丰度为99.37%。肉枣原料中的枝芽孢菌属相对丰度极低(<0.01%),在灌肠后开始出现,其已被证明广泛存在于环境中且在多种产品中被检测到<sup>[32]</sup>。杀菌后的样品中也检测出一定数量的枝芽孢菌属(2.21%),说明杀菌工序不能完全将其杀灭,且随着肉枣的贮藏及销售过程逐渐增殖,成为最优势腐败菌。为减少污染,可加强灌肠前的污染防控,比如调整香辛料的比例和防腐剂的用量或种类来抑制耐高温和难以杀灭的腐败微生物。不动杆菌属细菌属于非发酵条件致病菌,在胀袋样品中的平均相对丰度为0.42%,是许多肉及其肉制品的重要腐败菌,广泛存

在于肉制品加工环境中<sup>[33]</sup>。

2.4.3 基于属水平的热图分析 根据各样本中的菌属丰度信息,选取丰度排名较高的前30个菌属进行聚类分析,结果见图4。由横向聚类分析可以看出,样品可分为两大类,P1、P2和P3单独为一类,肉枣不同加工工序样品为一类,由此看出胀袋样品中的微生物种类及组成与不同加工工序样品差异较大。从颜色梯度来看,Y8样品物种种类最为丰富,Y11样品的微生物减少,不动杆菌属成为优势菌属,其广泛存在于外部环境且在多种鲜肉中被检出,是肉制品的腐败微生物<sup>[34-35]</sup>。Y12样品中,沙雷氏菌属增加,李英等<sup>[36]</sup>研究发现,沙雷氏菌属是肠杆菌属的优势腐败微生物,可在动植物食品中生长繁殖。胀袋样品中沙门氏菌含量较低(相对丰度<0.20%),说明其增殖速度远低于枝芽孢杆菌属的菌种,如*V. pantothenicus*、*V. halodenitrificans*以及*V. alimentarius*等。

### 3 结论

通过传统的培养方法与高通量测序法相结合,探究了肉枣原料、解冻后原料、灌肠、蒸煮、真空包装、高温杀菌和恒温保藏1周后各阶段样品以及保藏2个月后的胀袋样品中的细菌污染情况。结果表明:原料中脆骨微生物基数较低,而鸡皮中微生物达 $9.10 \times 10^4$  CFU/g,经蒸煮后(Y9)微生物含量显著降低,但真空包装后(Y10)增长至 $1.48 \times 10^4$  CFU/g,说明真空包装工序存在较大污染风险。原料中主要的微生物不动杆菌属、嗜冷杆菌属和假单胞菌属均被证明为肉制品中的腐败优势菌。在肉枣加工过程中,灌肠后(Y8)样品中物种种类最为丰富,假单胞菌属相对丰度达到最高值(42.46%),同时枝芽孢菌属开始出现。真空包装后(Y10),芽孢菌属和葡萄球菌属在所有加工工序中达到峰值。而杀菌工艺后(Y11),芽孢菌属和葡萄球菌属相对丰度显著降低(<0.1%),但仍有一

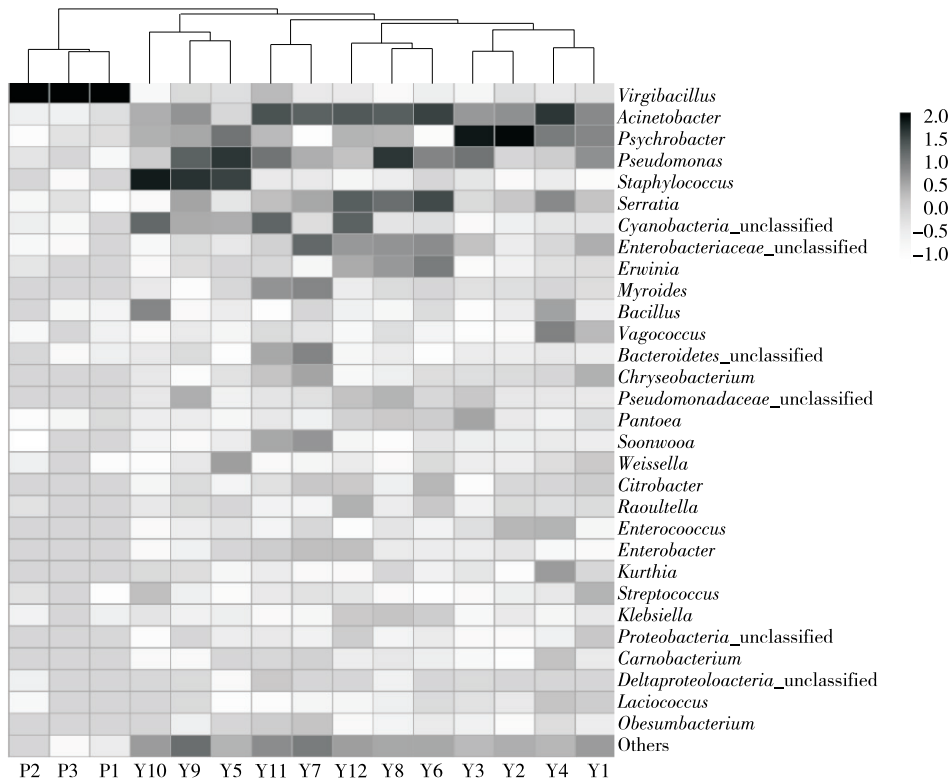


图 4 肉枣不同加工工序中微生物菌群属水平热图

Figure 4 Microbe level heat map in different processes of meat jujube samples

定量的枝芽胞菌属存在(2.21%),并逐步变成胀袋样品中的优势菌属(>90%)。因此,在生产过程中可以考虑加强原料入厂监测,增加灌肠及真空包装工序的微生物控制,提高杀菌温度和延长杀菌时间,确保样品达到商业灭菌的要求,从而提高产品在贮藏及销售过程中的质量及安全性。而在了解产品在生产贮藏过程中菌群结构与变化规律的基础上,需对引起产品变质的特定腐败菌进行深入研究,从而达到靶向抑制产品腐败变质的目的。

参考文献

[1] 韩冰,姜晓涵,姬纹羽,等.散装香肠保鲜技术的研究进展[J].中国调味品,2022,47(7):205-209.  
HAN B,JIANG X H,JI W Y,et al. Research progress on the preservation technology of bulk sausages [J]. China Condiment, 2022, 47(7): 205-209.

[2] ZHAO S, LI N, LI Z, et al. Shelf life of fresh chilled pork as affected by antimicrobial intervention with nisin, tea polyphenols, chitosan, and their combination [J]. International Journal of Food Properties, 2019, 22(1): 1 047-1 063.

[3] ZHANG W, YU Y, HE H, et al. The Adhesion and Spoilage of Shewanella putrefaciens in Tilapia[J]. Foods, Basel: Mdpi, 2022, 11 (13): 1 913.

[4] 谢婷婷,王应妮,陈秋骏,等.胀袋鲍汁中腐败菌的分离与鉴定

[J]. 中国调味品, 2015, 40(5): 27-29.

XIE T T, WANG Y N, CHEN Q J, et al. Isolation and identification of spoilage bacteria in bulging bag abalone juice [J]. China Condiment, 2015, 40(5): 27-29.

[5] 陈佳丽,皮钰珍,赵敏.香辛料对鸡肉制品抑菌作用的研究[D].辽宁:沈阳农业大学,2019.  
CHEN J L, PI Y Z, ZHAO M. Study on the antibacterial effect of Spice on chicken products [D]. Liaoning: Shenyang Agricultural University, 2019.

[6] NAM Y D, LEE S Y, LIM S I. Microbial community analysis of Korean soybean pastes by next-generation sequencing [J]. International Journal of Food Microbiology, 2012, 155(1/2): 36-42.

[7] MQ N, MARTA H, DAVID R L. High-throughput sequencing and food microbiology [J]. Advances in Food and Nutrition Research, 2020, 91: 275-300.

[8] 胡蝶,熊琳,薛雅文,等.基于传统培养法和高通量测序技术分析新疆红枣中真菌多样性[J].食品安全质量检测学报,2022,13(24):8 101-8 108.  
HU D, XIONG L, XUE Y W, et al. Analysis of fungal diversity in Xinjiang jujube based on traditional cultivation methods and high-throughput sequencing technology [J]. Journal of Food Safety & Quality Testing, 2022, 13 (24): 8 101-8 108.

[9] 尹含靓,杜秋,谭益升,等.泡椒凤爪加工过程中细菌群落组成及变化分析[J].现代食品科技,2022,38(10):79-85.

- YIN H L, DU Q, TAN Y S, et al. Analysis of bacterial community composition and changes during the processing of pickled pepper and chicken feet[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2022, 38(10): 79-85.
- [10] 唐林, 郭柯宇, 赖鲸慧, 等. 屠宰过程中猪胴体表面及环境的细菌菌相分析[J]. *食品科学*, 2022, 43(12): 203-209.
- TANG L, GUO K Y, LAI J H, et al. Analysis of bacterial flora on the surface and environment of pig carcasses during slaughter[J]. *Food Science*, 2022, 43(12): 203-209.
- [11] 张仲航. 反硝化浅层滤池(DSB)脱氮效能与微生物群落结构研究[D]. 福州: 福建工程学院, 2019.
- ZHANG Z H. A study on the nitrogen removal efficiency and microbial community structure of denitrifying shallow layer filter (DSB)[D]. Fuzhou: Fujian University of Engineering, 2019.
- [12] 李长宽, 罗红霞, 贾红亮, 等. 传统清真屠宰厂屠宰过程中微生物变化[J]. *食品科技*, 2015, 40(8): 113-118.
- LI C K, LUO H X, JIA H L, et al. Microbial changes during the slaughter process in traditional halal slaughterhouses [J]. *Food Technology*, 2015, 40(8): 113-118.
- [13] 吴兴雨, 李新昊, 姚玥, 等. 亚麻蛋白冰淇淋品质影响因素及评价[J]. *粮油食品科技*, 2020, 28(5): 150-155.
- WU X Y, LI X H, YAO Y, et al. Factors affecting the quality of flaxseed protein ice cream and their evaluation [J]. *Science and Technology of Cereals, Oils and Foods*, 2020, 28(5): 150-155.
- [14] 孟利, 雷虹, 高磊, 等. 辣酱胀袋原因分析及加热处理条件优化[J]. *中国调味品*, 2016, 41(5): 11-15.
- MENG L, LEI H, GAO L, et al. Analysis of the causes of spicy sauce bulging and optimization of heating treatment conditions[J]. *China Condiment*, 2016, 41(5): 11-15.
- [15] 车丽娜, 赵良忠, 周晓洁. 基于高通量测序的湘派卤牛肉细菌多样性分析[J]. *食品与机械*, 2023, 39(2): 113-119, 197.
- CHEN L N, ZHAO L Z, ZHOU X J. Analysis of bacterial diversity in Xiangpai braised beef based on high-throughput sequencing[J]. *Food & Machinery*, 2023, 39(2): 113-119, 197.
- [16] 刁体伟, 陈晓蛟, 魏鑫, 等. 基于可培养法与高通量测序对大头菜致腐菌筛选及细菌结构分析[J]. *中国调味品*, 2022, 47(6): 44-49, 60.
- DIAO T W, CHEN X J, WEI X, et al. Based on culturable method and high-throughput sequencing, screening of rot causing bacteria and bacterial cell structure analysis of turnip[J]. *China Condiment*, 2022, 47(6): 44-49, 60.
- [17] CHEN G U, JIYAN S H I, JIANG LIANG R U I, et al. Halophyte vegetation influences soil microbial community of coastal salt marsh[J]. *Journal of Ocean University of China*, 2022, 21(6): 1 549-1 556.
- [18] 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 H L, SHUI S S, WU Q J, et al. Analysis of changes in bacterial community composition during frozen storage of purple mussels based on high-throughput sequencing [J]. *Food & Machinery*, 2021, 37(1): 143-147, 155.
- [19] JUAREZ-CASTELAN C, GARCIA-CANO I, ESCOBAR-ZEPEDA A, et al. Evaluation of the bacterial diversity of Spanish-type chorizo during the ripening process using high-throughput sequencing and physicochemical characterization[J]. *Meat Science*, Oxford: Elsevier Sci Ltd, 2019, 150: 7-13.
- [20] BHUTIA M O, THAPA N, SHANGPLIANG H N J, et al. Metataxonomic profiling of bacterial communities and their predictive functional profiles in traditionally preserved meat products of Sikkim state in India[J]. *Food Research International*, Amsterdam: Elsevier, 2021, 140: 110002.
- [21] 温冬玲, 成淑君, 刘悦, 等. 高通量测序分析不同增菌温度下冷鲜鸡肉细菌的群落多样性[J]. *食品科学*, 2018, 39(24): 156-161.
- WEN D L, CHENG S J, LIU Y, et al. High throughput sequencing analysis of bacterial community diversity in cold fresh chicken at different enrichment temperatures[J]. *Food Science*, 2018, 39(24): 156-161.
- [22] 张锦雯, 姜启兴, 许艳顺, 等. 基于高通量测序分析的冷冻熟制小龙虾加工过程中微生物的消长规律[J]. *食品科学*, 2023, 44(6): 151-157.
- ZHANG J W, JIANG Q X, XU Y S, et al. Microbial growth and decline patterns during the processing of frozen cooked crayfish based on high-throughput sequencing analysis[J]. *Food Science*, 2023, 44(6): 151-157.
- [23] 孙胜敏, 张宇鑫, 王一村, 等. 番茄酱中关键致腐菌快速筛选方法的建立[J]. *中国果菜*, 2022, 42(8): 64-69.
- SUN S M, ZHANG Y X, WANG Y C, et al. Establishment of a rapid screening method for key rot causing bacteria in tomato sauce[J]. *China Fruit & Vegetable*, 2022, 42(8): 64-69.
- [24] YANG C, CHE Y, QI Y, et al. High-throughput sequencing of viable microbial communities in raw pork subjected to a fast cooling process: Investigate the effect of the fast cooling process [J]. *Journal of Food Science*, 2017, 82(1): 145-153.
- [25] 王新惠, 孙劲松, 赵芮, 等. 冷鲜猪肉贮藏过程中细菌群落结构演替规律分析[J]. *中国食品学报*, 2021, 21(9): 233-240.
- WANG X H, SUN J S, ZHAO R, et al. Analysis on the succession law of bacterial community structure during the storage of cold fresh pork[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2021, 21(9): 233-240.
- [26] 高乾坤, 焦琳舒, 杜贺超, 等. 高通量测序分析不同产地带鱼冷藏时微生物群落多样性[J]. *食品科学*, 2018, 39(18): 127-132.
- GAO Q K, JIAO L S, DU H C, et al. High throughput sequencing analysis of microbial community diversity in hairtail fish from different regions during cold storage[J]. *Food Science*, 2018, 39(18): 127-132.
- [27] 张莉, 尹德凤, 张大文, 等. 不同贮藏条件下鸡胸肉特征腐败

- 菌分析[J]. 食品与机械, 2019, 35(12): 113-118.
- ZHANG L, YIN D F, ZHANG D W, et al. Analysis of spoilage bacteria in chicken breast meat under different storage conditions [J]. Food & Machinery, 2019, 35(12): 113-118.
- [28] DI Y T, KOESOEMO W D. Risk factors for bacterial contamination of bovine meat during slaughter in ten Indonesian abattoirs [ J ]. Veterinary Medicine International, 2019, 2 019: 2707064.
- [29] HESS M, SCZYRBA A, EGAN R, et al. Metagenomic discovery of biomass-degrading genes and genomes from cow rumen [J]. Science, American Association for the Advancement of Science, 2011, 331(6 016): 463-467.
- [30] HU Y, ZHANG L, LIU Q, et al. The potential correlation between bacterial diversity and the characteristic volatile flavour of traditional dry sausages from Northeast China [ J ]. Food Microbiology, 2020, 91: 103505.
- [31] 张春江, 黄峰, 张良, 等. 扒鸡加工中主要致腐菌群落结构解析[J]. 中国食品学报, 2017, 17(2): 227-234.
- ZHANG C J, HUANG F, ZHANG L, et al. Analysis of the community structure of main rotting fungi in braised chicken processing[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2017, 17(2): 227-234.
- [32] 赵帅东, 尹轩威, 刘宇, 等. 不同发酵方式制备沙丁鱼下脚料速酿鱼露[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(23): 143-148.
- ZHAO S D, YIN X W, LIU Y, et al. Preparation of sardine offal instant fermented fish sauce by different fermentation methods[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(23): 143-148.
- [33] 史云娇, 刘芳, 孙芝兰, 等. 藏羊肉中优势腐败不动杆菌的分离鉴定及其生物膜形成特性[J]. 江苏农业学报, 2019, 35(1): 195-203.
- SHI Y J, LIU F, SUN Z L, et al. Isolation, identification, and biofilm formation characteristics of dominant spoilage Acinetobacter in Tibetan lamb meat [ J ]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2019, 35(1): 195-203.
- [34] 麦翎滔, 王文卓, 郑宇航, 等. 不同包装方式对冷鲜肉肉微生物菌群多样性的影响[J]. 食品工业科技, 2023, 44(13): 367-374.
- MAI X T, WANG W Z, ZHENG Y H, et al. The effect of different packaging methods on the microbial diversity of cold fresh chicken[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44 (13): 367-374.
- [35] 韦佩贝, 戚穗坚. 疫情全球化常态化趋势下中国预制调理食品市场发展现状[J]. 食品与机械, 2020, 36(9): 18-25.
- WEI P B, QI S J. The development status of China's prefabricated and conditioned food market under the normalization trend of epidemic globalization[J]. Food & Machinery, 2020, 36(9): 18-25.
- [36] 李英, 张公亮, 毕景然, 等. 蜂房哈夫尼菌胞外蛋白酶的特性[J]. 大连工业大学学报, 2020, 39(3): 179-183.
- LI Y, ZHANG G L, BI J R, et al. Characteristics of extracellular proteases from Hafnia honeycomb [ J ]. Journal of Dalian Polytechnic University, 2020, 39(3): 179-183.
- 
- (上接第 59 页)
- [14] 杨双艳, 杨紫刚, 张四伟, 等. 基于近红外光谱和 PSO-SVM 算法的烟叶自动分级方法[J]. 贵州农业科学, 2018, 46(12): 141-144.
- YANG S Y, YANG Z G, ZHANG S W, et al. Automatic tobacco grading method based on near infrared spectroscopy and PSO-SVM algorithm[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2018, 46(12): 141-144.
- [15] 王阳阳, 黄勋, 陈浩, 等. 基于同态滤波和改进 K-means 的苹果分级算法研究[J]. 食品与机械, 2019, 35(12): 47-51, 112.
- WANG Y Y, HUANG X, CHEN H, et al. Apple grading algorithm based on homomorphic filtering and improved K-means[J]. Food & Machinery, 2019, 35(12): 47-51, 112.
- [16] 王立扬, 张瑜, 沈群, 等. 基于改进型 LeNet-5 的苹果自动分级方法[J]. 中国农机化学报, 2020, 41(7): 105-110.
- WANG L Y, ZHANG Y, SHEN Q, et al. Automatic apple classification method based on improved LeNet-5 [J]. Chinese Journal of Agricultural Mechanochemistry, 2020, 41(7): 105-110.
- [17] 于蒙, 李雄, 杨海潮, 等. 基于图像识别的苹果的等级分级研究[J]. 自动化与仪表, 2019, 34(7): 39-43.
- YU M, LI X, YANG H C, et al. Apple grading based on image recognition[J]. Automation and Instrumentation, 2019, 34 (7): 39-43.
- [18] 刘英, 周晓林, 胡忠康, 等. 基于优化卷积神经网络的木材缺陷检测[J]. 林业工程学报, 2019, 4(1): 115-120.
- LIU Y, ZHOU X L, HU Z K, et al. Wood defect detection based on optimized convolutional neural network [J]. Journal of Forestry Engineering, 2019, 4(1): 115-120.
- [19] 王泽霞, 陈革, 陈振中. 基于改进卷积神经网络的化纤丝饼表面缺陷识别[J]. 纺织学报, 2020, 41(4): 115-120.
- WANG Z X, CHEN G, CHEN Z Z. Surface defect recognition of chemical fiber cake based on improved convolutional neural network[J]. Journal of Textile Research, 2020, 41(4): 115-120.
- [20] 习鸿杰, 宋利君, 邓玉明, 等. 基于 BP 神经网络的 UHT 纯牛奶包装货架期预测[J/OL]. 食品工业科技. (2023-07-26) [2023-08-19]. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023020107>.
- XI H J, SONG L J, DENG Y M, et al. Shelf life prediction of UHT pure milk packaging based on BP neural network [J/OL]. Food Industry Technology. (2023-07-26) [2023-08-19]. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-03 06.2023020107>.
- [21] BONAHE, HUANG X, YI R, et al. Vis-NIR hyperspectral imaging for the classification of bacterial foodborne pathogens based on pixel-wise analysis and a novel CARS-PSO-SVM model [J]. Infrared Physics & Technology, 2020, 105(3): 1-11.