

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2023.80870

即食脆肠中主要残留菌的鉴定及联合调控

郑瑞生^{1,2,3} 袁思慧^{1,2} 黄依林^{1,2} 李佳霓^{1,2} 韩淑贤^{1,2} 苏昆轮⁴

(1. 泉州师范学院福建省海洋藻类活性物质制备与功能开发重点实验室, 福建 泉州 362002; 2. 泉州师范学院福建省近海资源生物技术福建省高校重点实验室, 福建 泉州 362002; 3. 安记食品股份有限公司, 福建 泉州 362000; 4. 泉州新强食品有限公司, 福建 泉州 362013)

摘要: [目的] 探究脆肠中的主要残留细菌, 并进行有效控制。[方法] 利用 16S rDNA 技术鉴定脆肠中的主要残留菌, 通过高温筛选出耐热性强的优势腐败菌进行复合抗菌试验。[结果] 原辅料、脆肠成品、腐败样品等 5 组样品中共分离出 47 株残留菌, 隶属 8 个属, 分别为芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、链球菌属 (*Streptococcus*)、莫拉菌属 (*Moraxella*)、嗜盐碱芽孢杆菌属 (*Alkalihalobacillus*)、库特氏菌属 (*Kurthia*)、乳球菌属 (*Lactococcus*)、肠球菌属 (*Enterococcus*) 及漫游球菌属 (*Vagococcus*)。脆肠进行拌料时用的配料酱带有芽孢杆菌, 易引入二次污染。经高温灭菌仍残留部分优势腐败菌, 与腐败脆肠的主要残留菌同为芽孢杆菌属, 其中芽孢杆菌属 C7-1 和 C8-3 的耐热性最强; 通过添加 0.2 g/kg ϵ -聚赖氨酸和 0.5 g/kg 的柠檬酸能有效抑制两种芽孢杆菌的生长。[结论] 即食脆肠产品添加 0.2 g/kg ϵ -聚赖氨酸和 0.5 g/kg 的柠檬酸并结合 110 °C 高温杀菌 10 min, (36±2) °C 保藏 30 d 未出现腐败胀袋现象。

关键词: 即食脆肠; 残留菌; 16S rDNA; 耐热性试验; 复合防腐剂

Identification and co-regulation of main residual bacteria in ready-to-eat duck esophagus

ZHENG Ruisheng^{1,2,3} YUAN Sihui^{1,2} HUANG Yilin^{1,2} LI Jiani^{1,2} HAN Shuxian^{1,2} SU Kunlun⁴

(1. Fujian Province Key Lab for the Development of Bioactive Material from Marine Algae, Quanzhou Normal University, Quanzhou, Fujian 362002, China; 2. Fujian Advanced Education Key Laboratory of Inshore Resources Biotechnology, Quanzhou Normal University, Quanzhou, Fujian 362002, China; 3. Ankee Food Stuff Co., Ltd., Quanzhou, Fujian 362000, China; 4. Quanzhou Xinqiang Food Co., Ltd., Quanzhou, Fujian 362013, China)

Abstract: [Objective] This study aimed to analyze the main residual bacteria and control the bacterial growth effectively. [Methods] The 16S rDNA technology was used to identify the main residual bacteria. The compound antibacterial experiments were carried out to kill the heat-resistance residual bacteria which were screened by high temperature test. [Results] A total of 47 strains of genera belonging to 8 strains of genera were isolated from 5 groups of samples, including raw and auxiliary materials, final RDEs products spoiled samples etc. The 8 strains of genera were *Bacillus*, *Streptococcus*, *Moraxella*, *Alkalihalobacillus*, *Kurthia*, *Lactococcus*, *Enterococcus* and *Vagococcus* respectively. It was found the RDEs easily caused secondary pollution after mixing the sauce materials contained *Bacillus*. After high-temperature sterilization, some *Bacillus* remained in the RDEs which were the same as the spoilage RDEs. Among them, *Bacillus* genera C7-1 and C8-3 have the strongest heat resistance. Adding 0.2 g/kg ϵ -polylysine and 0.5 g/kg citric acid effectively inhibited the growth of two types of *Bacillus subtilis*. [Conclusion] For the RDE products, 0.2 g/kg ϵ -polylysine and 0.5 g/kg citric acid were combined with high-temperature sterilization at 110 °C for 10 minutes for validation testing. There was no evidence of spoilage or bagging happening from the RDE products after being stored at (36±2) °C for 30 days.

Keywords: ready-to-eat duck esophagus; residual bacteria; 16S rDNA; heat resistance test; compound preservative

基金项目: 泉州市科技计划项目(编号: 2021C028R); 福建省大学生创新创业项目(编号: 202213099062S); 福建省科技特派员项目(编号: 2024, 2023)

通信作者: 郑瑞生(1979—), 男, 泉州师范学院教授, 博士。E-mail: zrs6@163.com

收稿日期: 2023-09-04 改回日期: 2024-05-16

以鸭食带等动物边角料为原料,进行方便预制调理食品加工,可制作成即食休闲食品^[1]。但因为原料自身带菌量多,生产过程易受到二次污染,产品包装密闭性差,杀菌不彻底,温度波动大等因素影响,即食脆肠等休闲食品在常温流通过程中容易滋生腐败菌,导致产品发生腐败变质、胀袋等现象^[2]。

研究^[3-4]表明,在肉制品的生产、销售和贮藏过程中,因微生物滋生导致的肉类制品的败坏损失约占总损失的21%。Nikola等^[5]研究发现,在真空包装的肉类产品中,梭状芽孢杆菌属(*Clostridium genera*)为其主要的腐败致病菌。Piotrowska-Cyplik等^[6]研究发现,真空包装火腿中主要优势腐败菌为乳酸菌(*Lactobacillus*)、肠杆菌(*Enterobacter*)和微球菌(*Micrococcus*)。张永杏等^[7]从熟制鲈鱼的胀袋样品中分离出的优势菌为地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)和索诺拉沙漠芽孢杆菌(*Bacillus sonorensis*)。邓灵等^[8]发现即食小龙虾的优势腐败菌主要是以蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)与苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)为代表的芽孢杆菌属。Comi等^[9]对两种典型真空包装低温肉制品贮藏过程中的微生物进行了分析,发现其优势腐败菌为魏斯菌(*Weissella viridescens*)、清酒乳杆菌(*Lactobacillus sakazakii*)、肠膜明串珠菌(*Enterococcus luminescens*)和明串珠菌(*Lactobacillus luminescens*)。综上,不同肉制品中优势腐败菌属存在一定差异,但目前有关即食脆肠中残留腐败菌的研究较少。研究拟针对即食脆肠中残留的腐败菌进行系统分析,旨在为即食脆肠食品的食用安全性及货架稳定性监控提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

即食脆肠等原辅料:福建某食品有限公司;

硅胶模型细菌基因组DNA提取试剂盒:上海赛百盛基因技术有限公司;

胰蛋白胨大豆琼脂(TSA)、蛋白胨、革兰氏染色液试剂盒:北京陆桥技术股份有限公司;

LB培养基:广东环凯微生物科技有限公司;

平板计数琼脂(PCA):青岛海博生物技术有限公司;

酵母浸粉:上海易恩化学技术有限公司;

乳酸链球菌素:山东元泰生物工程有限公司;

山梨酸钾:食品级,宁波王龙科技股份有限公司;

D-异抗坏血酸钠:食品级,诸城华源生物工程有限公司;

乳酸钠:食品级,临沂艾德森生物技术有限公司;

脱氢乙酸钠:食品级,南通醋酸化工股份有限公司;

ϵ -聚赖氨酸:食品级,郑州拜纳佛生物工程股份有限公司;

柠檬酸:食品级,河南万邦化工科技有限公司。

1.2 仪器与设备

高压灭菌锅:YXQ-LS-70A型,上海博迅实业有限公司;

紫外可见分光光度计:UV-1800型,上海美谱达仪器有限公司;

精密pH计:PHS-3C型,上海康仪仪器有限公司;

双人单面净化工作台:SW-CJ-2D型,苏州净化设备有限公司;

PCR反应扩增仪:TC-96/G/H(b)C型,杭州博日科技有限公司;

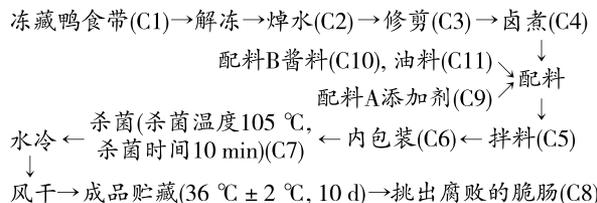
凝胶成像系统:ChemIDoc XRS+型,美国伯乐生命医学产品(上海)有限公司;

电泳仪电源:DYY-8C型,北京六一生物科技有限公司;

集热式恒温加热磁力搅拌器:DF-101S型,上海力辰邦西仪器科技有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 即食脆肠加工工艺流程



1.3.2 样品中残留菌落总数测定 参照 GB 4789.2—2022测定 C1~C11 样品中残留的菌落总数。

1.3.3 主要原辅料中残留菌的分离、纯化 参照徐素云等^[10]的方法对即食脆肠的原料、辅料、成品及腐败样品进行残留菌的分离、纯化。

1.3.4 残留菌的鉴定 按照 DNA 试剂盒说明书提取残留菌菌落 DNA。选择 16S rDNA 细菌通用反应引物(27F: 5' - AGAGTTGATCCTGGCTCAG - 3' ; 1492R: 5' - GGTTACCTTGTTACGACTT - 3') 进行 PCR 扩增。PCR 反应体系: 5 μ L 10 \times PCR Buffer、4 μ L dNTP、2 μ L (10 μ mol/L)引物 1 和引物 2、0.25 μ L Taq 酶、1 μ L DNA、36 μ L ddH₂O。PCR 扩增条件: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 45 s, 52 $^{\circ}$ C 退火 45 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 90 s, 35 个循环, 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。PCR 扩增产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后, 委托厦门铂瑞生物科技有限公司测序。将测序得到的 DNA 序列拼接并进行人工校对, 去除干扰序列后采用 NCBI 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 进行同源相似性比较, 选取同源性高 ($\geq 98\%$) 的菌株序列, 确定菌种并上传获得登录号。

1.3.5 残留菌的耐热性测定 取 200 μ L 菌悬液 (OD_{600nm} 为 0.10~0.15) 至 10 mL LB 培养液中, 混匀。90, 95, 100,

105 °C 油浴及 110 °C 高压灭菌锅中, 高温处理 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60 min, 以 0 min 作为阴性对照组, 其余为试验组。冷却至室温, 36 °C 培养 18 h, 测定 OD_{600 nm} 值。取澄清菌液在 TSA 平板上验证菌株灭活情况。按式(1)计算杀菌率, 每组 3 次平行。

$$\eta = \frac{A_{阴} - A_{试验}}{A_{阴}} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

η ——杀菌率, %;

$A_{阴}$ ——阴性对照组 OD_{600 nm} 值;

$A_{试验}$ ——试验组 OD_{600 nm} 值。

1.3.6 主要残留菌的防腐试验

(1) 7 种防腐剂的筛选: 结合企业生产实际及 GB 2760—2014 规定, 分别选取 0.5 g/kg 乳酸链球菌素(Nisin)、0.075 g/kg 山梨酸钾、1.5 g/kg D-异抗坏血酸钠、15 g/kg 乳酸钠、0.2 g/kg 脱氢乙酸钠、0.25 g/kg ϵ -聚赖氨酸、0.5 g/kg 柠檬酸 7 种防腐剂对主要残留菌进行防腐试验。移取 1 mL 菌悬液(OD_{600 nm} 为 0.10~0.15)置于 10 mL LB 中(分别含有上述浓度防腐剂), 混匀, 36 °C 培养 18 h, 测定 OD_{600 nm} 值。未添加防腐剂处理作为阴性对照组。按式(1)计算杀菌率, 每组 3 次平行。

(2) 防腐剂复配试验: 根据防腐剂的筛选试验结果, 选取 ϵ -聚赖氨酸与柠檬酸进行复配试验(表 1)。取 100 μ L 菌悬液(10⁶, 10⁷ CFU/mL)涂布于含有复合防腐剂的 PCA 培养基中, 36 °C 培养 48 h, 观察是否有菌落长出。未添加防腐剂的平板为阴性对照, 每组重复 3 次。

表 1 防腐剂复配表

Table 1 Preservative compounding table

组合	A ϵ -聚赖氨酸添加量/(g·kg ⁻¹)	B 柠檬酸添加量/(g·kg ⁻¹)
1	0.20	0.5
2	0.25	1.0

1.3.7 验证实验 将 0.2 g/kg ϵ -聚赖氨酸和 0.5 g/kg 的柠檬酸复合防腐剂添加到即食脆肠中, 110 °C 高温杀菌 10 min, 以未添加复合防腐剂的即食脆肠作为对照处理。各取添加与未添加复合防腐剂的真空包装脆肠产品 50 包 \times 20 g, (36 \pm 1) °C 贮藏 30 d, 观察其感官变化及胀袋与否。

1.4 数据处理

采用 Excel 2016 软件进行数据分析并作图。采用 SPSS Statistics 23.0 软件进行差异显著性分析, 3 次平行试验取其平均值。

2 结果与讨论

2.1 即食脆肠加工过程中残留菌的变化

由图 1 可知, 样品中残留菌量依次为 C8 > C3 > C10 >

C6 > C1 > C5 > C2 > C11 > C9 > C7 > C4, 腐败脆肠 C8 中带菌量最高, 其次为剪切脆肠 C3、配料 B 酱料 C10、拌料脆肠 C5、内包脆肠 C6、冷冻鸭食带 C1 等。C1 中菌落总数为 (4.97 \pm 0.12) lg(CFU/g), 未超过 GB 16869—2005 的要求。脆肠经过高温卤煮后, 菌落总数降低至 < 10 CFU/g, 说明高温卤煮有利于杀死原料中的残留细菌。但拌料 C5 及内包脆肠 C6 的菌落总数分别增至 (4.90 \pm 0.17), (5.09 \pm 0.07) lg(CFU/g), 可能是配料 B 酱料 C10 引入的污染, 使成品的微生物更加复杂。白艳红^[11]认为辅料处理不当也容易导致二次污染。内包装贮藏时间过长, 未及时杀菌也容易引起细菌的滋生。经 105 °C、10 min 高温灭菌脆肠中菌落总数降至 (1.15 \pm 0.17) lg(CFU/g), 但不能完全杀灭残留菌。耐受性较强的残留菌在产品的贮藏、运输和销售过程中可能再次生长繁殖, 对产品的安全性造成不利影响^[12]。因此, 拌料后的鸭食带中菌落总数急剧增加, 与配料 B 酱料中引入的二次污染有关, 需引起重视。脆肠经高温灭菌后仍残留部分细菌, 存在安全隐患。

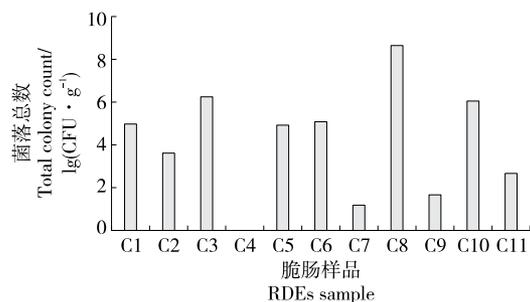


图 1 各生产环节脆肠中的菌落总数

Figure 1 The total number of bacterial colonies of different RDEs from each production process

2.2 残留菌的分离、纯化及鉴定

对主要原辅料冷冻鸭食带 C1、杀菌后脆肠 C7、腐败脆肠 C8、配料 B-酱料 C10 及配料 B-油料 C11 5 组样品进行残留菌的分离、纯化及鉴定, 共分离出 47 株残留菌, 利用 16S rDNA 对其进行鉴定, 结果见表 2。

由表 2 可知, 47 株菌株分别属于 8 个属。其中 27 株为芽孢杆菌属(*Bacillus*), 6 株为链球菌属(*Streptococcus*), 4 株为莫拉菌属(*Moraxella*)、4 株为嗜盐碱芽孢杆菌属(*Alkalihalobacillus*), 2 株为库特氏菌属(*Kurthia*), 2 株为乳球菌属(*Lactococcus*), 其余分别为肠球菌属(*Enterococcus*)及漫游球菌属(*Vagococcus*)。冷冻鸭食带 C1 的优势菌为链球菌属(占比 50.00%), 其次为卡他莫拉菌(占比 33.33%)。研究^[13-14]发现, 链球菌属为鸭食带、回肠内的主要微生物菌群。C7 样品的主要优势菌为芽孢杆菌属(占比 83.33%)。说明经过高温杀菌, 残留菌主要以

表2 残留菌的鉴定结果

Table 2 Identification results of residual bacteria

样品	分离菌数/株	编号	比对结果	登录号	相似度/%	所占比例/%
C1	12	C1-1	卡他莫拉菌(<i>Moraxella_g2</i>)	CP014234	99.87	33.33
		C1-11	链球菌属(<i>Streptococcus</i>)	AEUT02000001	100.00	50.00
		C1-5	格氏乳球菌(<i>Lactococcusgarvieae</i>)	CP065637	100.00	8.33
		C1-7	肠球菌(<i>Enterococcus</i>)	HF679036	100.00	8.33
C7	6	C7-1	芽孢杆菌属(<i>Bacillus</i>)	AYTO01000043	100.00	83.33
		C7-2	克劳斯碱性卤杆菌(<i>Alkalihalobacillus</i>)	CP019985	95.04	16.67
C8	10	C8-3	芽孢杆菌属(<i>Bacillus</i>)	JOTP01000061	100.00	50.00
		C8-2	库特氏菌属(<i>Kurthia</i>)	X70320	99.87	20.00
		C8-8	乳球菌属(<i>Lactococcus</i>)	MUIZ01000023	100.00	10.00
		C8-9	克劳斯碱性卤杆菌(<i>Alkalihalobacillus</i>)	CP019985	95.13	10.00
		C8-10	漫游球菌属(<i>Vagococcus</i>)	PXZH01000010	99.87	10.00
C10	14	C10-4	芽孢杆菌属(<i>Bacillus</i>)	AYTO01000043	99.87	85.71
		C10-13	克劳斯碱性卤杆菌(<i>Alkalihalobacillus</i>)	CP019985	98.76	14.29
C11	5	C11-2	芽孢杆菌属(<i>Bacillus</i>)	AYTO01000043	100.00	100.00

芽孢杆菌属为主,芽孢杆菌具有较高的耐受性能。腐败脆肠C8的主要优势菌为芽孢杆菌属(占比50.00%)、库特氏菌属(占比20.00%)和漫游球菌(占比10.00%)。库特氏菌在环境中分布广泛,在腐败豆腐^[15]及卤牛肉^[16]的加工环境中均有出现。袁先铃等^[17]从冷吃兔生产车间生产人员手部分离出2株库特氏菌,说明脆肠中的库特氏菌可能来源于环境或加工人员。漫游球菌属在不少禽肉类边角料中属于优势腐败菌^[18],需引起重视。配料B酱料C10中也分离出芽孢杆菌属(占比85.71%)和克劳斯碱性卤杆菌(占比14.29%)。配料B油料C11中分离出的5株菌均为芽孢杆菌属(占比100.00%)。配料B酱料C10与配料B油料C11样品由天然香辛料调配而成,与脆肠进行拌料易引起耐热性芽孢杆菌残留,应引起重视。克劳斯碱性卤杆菌在水^[19]、土壤^[20]及湖沉积物^[21]中均有存在。因此,为提高脆肠食用安全性,建议对生产设备及加工环境等进行严格消杀,对拌料环节用的酱料与油料进行灭菌处理。

2.3 耐热性试验

选取6株主要残留菌进行耐热性试验,结果见表3。由表3可知,110℃处理5min均能有效杀灭残留菌,其中C7-1菌株的耐热性最强,需在110℃处理5min才能被完全杀灭。其次是C8-3需在(105±3)℃处理10min后才能被完全杀灭。C7-1与C8-3均属于芽孢杆菌属,高温杀菌可作为主要调控手段^[22],但杀菌温度过高容易导致脆肠产品口感变差,失去弹性。因此,拟挑选C7-1及C8-3进行生物防腐试验。

2.4 两株残留菌的防腐试验

2.4.1 7种防腐剂的防腐效果 由图2可知,针对C7-1的防腐效果为ε-聚赖氨酸>柠檬酸>D-异抗坏血酸钠>脱

氢乙酸钠>乳酸钠>乳酸链球菌素>山梨酸钾。针对C8-3的防腐效果为柠檬酸>ε-聚赖氨酸>脱氢乙酸钠>山梨酸钾>乳酸钠>D-异抗坏血酸钠>乳酸链球菌素。ε-聚赖氨酸和柠檬酸对C7-1与C8-3的杀菌效果最好,均达到90%以上。ε-聚赖氨酸具有广谱抗菌性,能导致细胞塌陷,对耐热脂肪芽孢杆菌、凝结芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌等有显著的抑制作用^[23]。柠檬酸可以降低产品的pH值,抑制细菌繁殖。因此,进行ε-聚赖氨酸与柠檬酸复配试验,以期获得更优的防腐效果。

2.4.2 防腐剂复配试验 由图3可知,2株芽孢杆菌在添加复合防腐剂的平板上均未生长,在对照平板上均正常生长。ε-聚赖氨酸与盐酸、柠檬酸、苹果酸、甘氨酸和高级脂肪甘油酯等进行复配,其防腐效果显著^[24]。ε-聚赖氨酸与柠檬酸复配防腐效果好,是由于柠檬酸在降低pH值抑制残留菌生长的同时,ε-聚赖氨酸阳离子与柠檬酸阴离子结合,加速了ε-聚赖氨酸破坏C7-1、C8-3细胞形态结构,导致芽孢杆菌细胞破裂塌陷死亡^[25]。考虑到企业生产成本及口感,建议选取0.2g/kgε-聚赖氨酸+0.5g/kg柠檬酸作为脆肠的防腐剂进行验证实验。

2.5 验证实验

虽然高温可达到杀菌目的,但温度过高会影响即食脆肠产品的口感。为满足客户对于高品质即食脆肠的需求,同时又能保证脆肠的杀菌效果,拟加入适当生物防腐剂来提高即食脆肠产品的口感及贮藏稳定性。通过添加0.2g/kgε-聚赖氨酸+0.5g/kg柠檬酸的复配防腐剂,结合110℃高温杀菌10min,即食脆肠产品于(36±2)℃贮藏30d后,未出现任何腐败胀袋现象,而未添加防腐剂的处理出现部分腐败胀袋现象。说明该项防腐杀菌技术适用

表 3 6 株残留菌的耐热性试验[†]

Table 3 Heat resistance test results of 6 strains of residual bacteria

加热温度/ °C	加热时间/ min	菌株编号					
		C1-11	C7-1	C8-2	C8-3	C8-10	C10-13
90	10	ND	+	ND	+	ND	+
	20	ND	+	ND	+	ND	+
	30	ND	+	ND	+	ND	ND
	40	ND	+	ND	+	ND	ND
	50	ND	+	ND	+	ND	ND
	60	ND	+	ND	+	ND	ND
95	10	ND	+	ND	+	ND	ND
	20	ND	+	ND	+	ND	ND
	30	ND	+	ND	+	ND	ND
	40	ND	+	ND	+	ND	ND
	50	ND	+	ND	+	ND	ND
	60	ND	+	ND	+	ND	ND
100	10	/	+	/	+	/	/
	20	/	+	/	+	/	/
	30	/	+	/	+	/	/
	40	/	+	/	+	/	/
	50	/	+	/	+	/	/
	60	/	+	/	+	/	/
105	10	/	+	/	ND	/	/
	20	/	+	/	ND	/	/
	30	/	+	/	ND	/	/
	40	/	+	/	ND	/	/
	50	/	+	/	ND	/	/
	60	/	+	/	ND	/	/
110	5	/	ND	/	ND	/	/
	10	/	ND	/	ND	/	/
	15	/	ND	/	ND	/	/
	20	/	ND	/	ND	/	/
	25	/	ND	/	ND	/	/
	30	/	ND	/	ND	/	/

[†] “+”表示细菌正常生长;“ND”表示无细菌生长;“/”表示未做该试验。

于即食脆肠产品,能有效抑制芽孢杆菌的生长,确保即食脆肠产品的贮藏稳定性。

3 结论

(1) 对即食脆肠加工过程菌群变化进行了分析。结果表明,拌料后的脆肠菌落总数急剧增加,这与拌料用的酱料有关。脆肠经高温灭菌后仍残留部分细菌。针对残留菌进行分离、鉴定,获得 47 株菌,分别属于 8 个属,其中 27 株芽孢杆菌属、6 株链球菌属、4 株莫拉菌属、4 株嗜盐碱芽孢杆菌属、2 株库特氏菌属、2 株乳球菌属,其余为肠

球菌属和漫游球菌属。

(2) 对主要残留菌进行了耐高温试验。加热至 110 °C 处理 5 min,所有残留菌均能被有效杀灭,其中 C7-1 和 C8-3 的耐热性最强。高温杀菌可作为主要调控手段,但杀菌温度过高又容易导致即食脆肠产品口感变差。对 C7-1 与 C8-3 芽孢杆菌进行防腐试验,复配比为 0.2 g/kg ϵ -聚赖氨酸与 0.5 g/kg 柠檬酸能取到较好的防腐效果。综上,添加 0.2 g/kg ϵ -聚赖氨酸和 0.5 g/kg 的柠檬酸,并结合 110 °C 高温杀菌 10 min 后,即食脆肠产品于 (36±2) °C 贮藏 30 d 未出现任何腐败胀袋现象,能确保即食脆肠产品

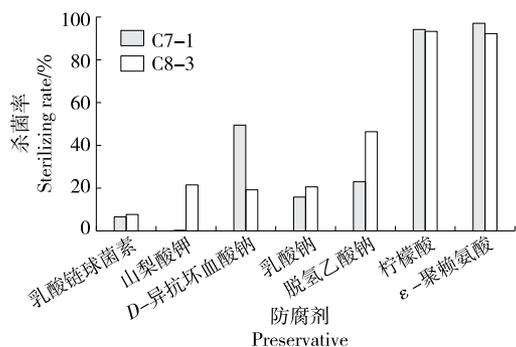


图2 7种防腐剂对2株残留菌的杀菌效果

Figure 2 Bactericidal effects of seven preservatives on 2 strains of residual bacteria

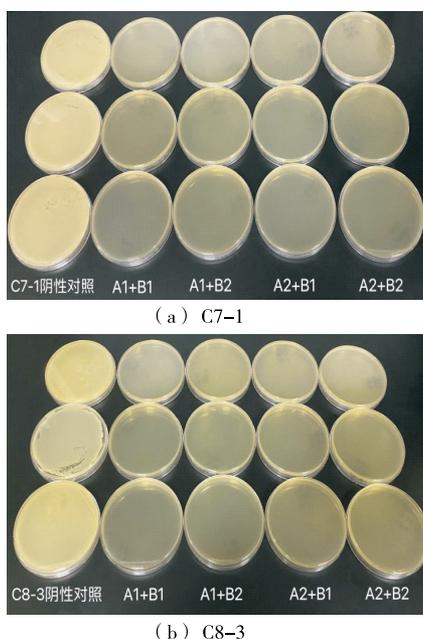


图3 抑菌平板上2株芽孢杆菌的生长情况

Figure 3 Growth of two strains of *Bacillus* on antibacterial plates

的食用安全。后续将对不同微生物在即食脆肠腐败过程中的变化规律,以及样品介质对于腐败菌的滋生影响等作进一步探索。

参考文献

[1] 任媛媛. 猪皮边角料综合利用的研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨商业大学, 2013: 1-6.
REN Y Y. Study on the comprehensive utilization of the pigskin scrap[D]. Harbin: Harbin University of Commerce, 2013: 1-6.

[2] JOFRÉ A, LATORRE-MORATALLA M L, GARRIGA M, et al. Domestic refrigerator temperatures in Spain: assessment of its impact on the safety and shelf-life of cooked meat products[J]. Food Research International, 2019, 126: 108578.

[3] SHAO L T, CHEN S S, WANG H D, et al. Advances in

understanding the predominance, phenotypes, and mechanisms of bacteria related to meat spoilage[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 118: 822-832.

- [4] HELMOND M, NIEROP GROOT M N, HERMIEN B V D V. Characterization of four *Paenibacillus* species isolated from pasteurized, chilled ready-to-eat meals[J]. International Journal of Food Microbiology, 2017, 252(13): 35-41.
- [5] NIKOLA P, PALEVICH F P, MACLEAN P H, et al. Comparative genomics of *Clostridium* species associated with vacuum-packed meat spoilage[J]. Food Microbiology, 2021, 95: 103687.
- [6] PIOTROWSKA-CYPLIK A, KAMILA M, JAKUB C, et al. Characterization of specific spoilage organisms (SSOs) in vacuum-packed ham by culture-plating techniques and MiSeq next-generation sequencing technologies[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2017, 97(2): 659-668.
- [7] 张永杏, 唐峰华, 郭全友, 等. 轻微加工熟制鲈鱼品质特性及腐败菌鉴定[J]. 食品科学, 2020, 41(5): 207-213.
ZHANG Y X, TANG F H, GUO Q Y, et al. Quality characteristics of lightly preserved cooked mackerel and identification of spoilage bacteria[J]. Food Science, 2020, 41(5): 207-213.
- [8] 邓灵, 赵康, 夏开, 等. 小龙虾(*Procambarus clarkii*)加工前后优势腐败菌的分离与鉴定[J]. 食品工业科技, 2020, 41(18): 100-104.
DENG L, ZHAO K, XIA K, et al. Isolation and identification of specific spoilage organisms in crayfish (*Procambarus clarkii*) before and after processing[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(18): 100-104.
- [9] COMI G, IACUMIN L. Identification and process origin of bacteria responsible for cavities and volatile off-flavour compounds in artisan cooked ham[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2012, 47(1): 114-121.
- [10] 徐素云, 李李佳, 方伟, 等. 红茶菌菌相分析及优势菌的分离与鉴定[J]. 食品与机械, 2022, 38(4): 47-53.
XU S Y, LI J J, FANG W, et al. Analysis of kombucha microflora and the isolation and identification of dominant bacteria[J]. Food & Machinery, 2022, 38(4): 47-53.
- [11] 白艳红. 低温熏煮香肠腐败机理及生物抑菌研究[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2005: 5.
BAI Y H. Study on spoilage mechanism and biologic inhibition of spoilage microorganism for low temperature-heated smoked and cooked sausage[D]. Xianyang: Northwest A & F University, 2005: 5.
- [12] 宣伟, 李铁, 薛锡佳, 等. 臭氧杀菌联合壳聚糖涂膜对冷鲜黄牛肉的保鲜效果[J]. 食品与机械, 2023, 39(11): 173-178.
XUAN W, LI T, XUE X J, et al. Effects of ozone sterilization edible combined with coatings chitosan on the preservation of chilled yellow cattle[J]. Food & Machinery, 2023, 39(11): 173-178.
- [13] 李德红. 气调包装酱鸭食管优势腐败菌分离鉴定及抑菌研

- 究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨商业大学, 2020: 26-27.
- LI D H. Isolation, identification of the predominant spoilage bacteria and bacteriostasis in the MAP pot-Stewed duck esophagus[D]. Harbin: Harbin University of Commerce, 2020: 26-27.
- [14] FU Z X, YANG H, XIAO Y P, et al. Ileal microbiota alters the immunity statues to affect body weight in muscovy ducks[J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 844102.
- [15] 李除夕. 豆腐特定腐败菌研究及货架期预测模型建立[D]. 南京: 南京农业大学, 2008: 26.
- LI C X. Study on the specifics spoilage organisms in tofu and shelf life prediction model[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2008: 26.
- [16] 刘彩云, 祝泉馨, 方彦昊, 等. 市售卤牛肉中腐败菌的分离鉴定[J]. *肉类工业*, 2020(5): 38-43.
- LIU C Y, ZHU Q X, FANG Y H, et al. Isolation and identification of spoilage bacteria insaled stewed beef[J]. *Meat Industry*, 2020(5): 38-43.
- [17] 袁先铃, 郑贻丹, 罗焱, 等. 自贡冷吃兔生产环境中细菌的鉴定及溯源分析[J]. *现代食品科技*, 2022, 38(1): 112-125.
- YUAN X L, ZHENG Y D, LUO Y, et al. Identification and traceability analysis of bacteria in the production environment of Zigong Lengchitu[J]. *Modern Food Science & Technology*, 2022, 38(1): 112-125.
- [18] 孟静南, 黄现青, 宋莲军, 等. 储藏温度对鸭皮中细菌多样性的影响[J]. *河南农业大学学报*, 2019, 53(1): 106-114.
- MENG J N, HUANG X Q, SONG L J, et al. Effect of storage temperature on bacterial diversity in duck skin[J]. *Journal of Henan Agricultural University*, 2019, 53(1): 106-114.
- [19] AISHVARYA G, ANAMIKA K, RADHA R. Reduction of hexavalent chromium [Cr(VI)] by heavy metal tolerant bacterium *Alkalihalobacillus clausii* cral and its toxicity assessment through flow cytometry[J]. *Current Microbiology*, 2021, 79(1): 33.
- [20] 邓丽颖. 海南省文昌市铜鼓岭森林土壤嗜盐和耐盐菌多样性研究[D]. 吉首: 吉首大学, 2021: 12-16.
- DENG L Y. Biodiversity of Halophilic and Halotolerant bacteria isolated from forest soil from Tongguling in Wenchang city, Hainan province[D]. Jishou: Jishou University, 2021: 12-16.
- [21] AMARAJA J, SONIA T, PRACHI K, et al. *Alkalihalobacterium elongatum* gen. nov. sp. nov.: an antibiotic-producing bacterium isolated from lonar lake and reclassification of the genus *Alkalihalobacillus* into seven novel genera[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 722369.
- [22] 韩静文, 姜启兴, 许艳顺, 等. 可得然胶对高温杀菌鱼糜凝胶特性的影响[J]. *食品与机械*, 2018, 34(4): 37-41, 98.
- HAN J W, JIANG Q X, XU Y S, et al. Effects of curdlan on gel properties of high-temperature sterilization surimi[J]. *Food & Machinery*, 2018, 34(4): 37-41, 98.
- [23] 张伟娜, 李迎秋. ϵ -聚赖氨酸在食品中应用的进展[J]. *中国调味品*, 2012, 37(12): 5-9.
- ZHANG W N, LI Y Q. Advance on application of ϵ -poly-L-lysine in food[J]. *China Condiment*, 2012, 37(12): 5-9.
- [24] 冯艳芸, 郭海娟, 李海亮, 等. 生物防腐剂聚赖氨酸研究进展[J]. *农产品加工*, 2019(7): 57-62.
- FENG Y Y, GUO H J, LI H L, et al. Research progress of ϵ -polylysine as biological preservative[J]. *Farm Products Processing*, 2019(7): 57-62.
- [25] 史文艳, 孙震. ϵ -聚赖氨酸盐酸盐与 Nisin 对蜡状芽孢杆菌的协同作用及机理[J]. *食品与机械*, 2019, 35(3): 15-19.
- SHI W Y, SUN Z. Synergistic effect and mechanism of ϵ -polylysine hydrochloride and Nisin on *Bacillus cereus*[J]. *Food & Machinery*, 2019, 35(3): 15-19.
-
- (上接第 78 页)
- [15] 索婷, 杨书林, 林娜, 等. 小麦粉特性与生湿面品质的关系研究[J]. *食品与生物技术学报*, 2024, 43(3): 54-65.
- SUO T, YANG S L, LIN N, et al. A study on the relationship between wheat flour characteristics and wet noodle quality[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2024, 43(3): 54-65.
- [16] 贾哲, 陈晓婷, 潘南, 等. 基于电子舌快速检测冷藏双斑东方鲀的新鲜度[J]. *现代食品科技*, 2021, 37(5): 220-229.
- JIA Z, CHEN X T, PAN N, et al. Rapid detection of freshness of refrigerated pufferfish based on electronic tongue[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2021, 37(5): 220-229.
- [17] 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.
- [18] 刘光宪, 王丽, 李雪, 等. 3 种天然抗氧化剂对腊肉理化性质的影响[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(15): 6 177-6 184.
- LIU G X, WANG L, LI X, et al. The effects of three natural antioxidants on the physicochemical properties of cured meat [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2021, 12(15): 6 177-6 184.
- [19] 范传会, 黄文俊, 钟彩虹, 等. 猕猴桃品种对猕猴桃脆片品质影响的评价[J]. *食品与机械*, 2022, 38(12): 21-27.
- FAN C H, HUANG W J, ZHONG C H, et al. Evaluation of the impact of kiwifruit varieties on the quality of kiwifruit chips [J]. *Food & Machinery*, 2022, 38(12): 21-27.
- [20] 王彩霞, 王松磊, 贺晓光, 等. 高光谱图谱融合检测羊肉中饱和脂肪酸含量[J]. *光谱学与光谱分析*, 2020, 40(2): 595-601.
- WANG C X, WANG S L, HE X G, et al. Hyperspectral fusion detection of saturated fatty acid content in lamb[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2020, 40(2): 595-601.