

气调包装冷鲜鹅菌群分析与鉴定

张元嵩¹, 蒋云升^{1*}, 崔杨晨¹, 邹伟冬¹, 侯天奇¹, 邹庆标²

(1. 扬州大学 旅游烹饪学院, 江苏 扬州 225127; 2. 扬州鹅司令食品有限公司, 江苏 扬州 225127)

摘要: 将冷鲜鹅肉块以 N₂ 气调包装, 置 4℃ 冷藏 4 d, 序时测定其菌数变化, 确定菌相构成。结果假单胞菌占 41.8%、肠杆菌占 32.7%、索丝菌占 23.1%、乳酸菌占 2.4%。代表株经染色、镜检、生理生化试验、16 S rDNA 测序鉴定, 结果表明: J1 为莓实假单胞菌(*Pseudomonas fragi*)、C1 为液化沙雷氏菌(*Serratia liquefaciens*)、S1 为热杀索丝菌(*Brochothrix thermosphacta*)、R1 为植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)。

关键词: 气调包装; 冷鲜鹅; 菌群; 烹饪卫生; 细菌鉴定

中图分类号: TS 972.125.2

文献标识码: A

文章编号: 2095-8730(2019)01-0036-03

冷鲜鹅系指将屠宰的鹅胴体体温在 1 h 内降温至 0~4℃, 并持续在 0~4℃ 温度下加工、运输和销售的鲜鹅肉。^[1] 但其不足之处是微生物生长繁殖快而导致产品货架期短。^[2] 气调包装(Modified Atmosphere Packaging, MAP) 系指采用具有阻隔性强的材料制成的包装袋, 通过充入一定比例的混合气体, 防止食品在物理、化学、生物等方面出现品质下降或减缓品质下降的速度, 使食品达到延长保质期目的的一种保鲜技术。但有关气调包装制品的保养技术尚未见报道。

本实验对气调包装冷鲜鹅进行 4℃ 冷藏条件下微生物菌群数变化的序时测定, 采用划线分离方法纯化代表性菌株, 经染色、镜检、观察表型特征、生理生化试验、16 S rDNA 测序加以鉴定。旨在为构建冷鲜鹅综合保鲜技术提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

冷鲜鹅: 扬州市鹅司令食品有限公司; N₂: 北京氩普北分气体工业有限公司; 25 cm × 35 cm PA-PE 复合光面透明包装袋: 扬州市南方仪器设备化工有限公司。

1.2 培养基与试剂

Pseudomonas 培养基、MRS 培养基、VRBGA

培养基、STAA 培养基、营养琼脂培养基均购自扬州市南方仪器设备化工有限公司。微量生化反应管: 明发生物科技有限公司; TIANGEN 试剂盒: 上海生工生物工程技术有限公司。

1.3 主要仪器设备

FR980 型凝胶成像仪: 上海上天精密仪器有限公司; DZ-700/2S 型真空包装机: 郑州鼎盛包装机械有限公司; HC-2518R 高速冷冻离心机: 杭州华创科学仪器有限公司; XSP-13A 型生物显微镜: 江南光学仪器厂。

1.4 方法

1.4.1 样品制备

冷鲜鹅→50 mg/L NaClO 溶液浸泡、淋洗→无菌水冲洗、沥干→气调包装→4℃ 保藏。

气调包装条件: 以无菌操作取 25 g 置于 25 cm × 35 cm PA-PE 复合光面透明包装袋中, 充入 100% N₂, 充气时间 15 s, 加热时间 5 s, 加热温度 60℃, 总压力 5 MPa。

1.4.2 气调包装冷鲜鹅保藏过程中菌群变化

以平板计数法测定菌落总数, 统计菌相构成。

1.4.3 代表株分离与初步鉴定

代表株分离与纯化: 从选择性平板上挑取典型菌落, 经划线, 分离纯化 2~3 次, 将纯化的单菌落接种于斜面, 于 4℃ 冰箱保存, 作为鉴定菌种。

收稿日期: 2018-10-29 * 通信作者

基金项目: 扬州市科技计划项目(YZ2017057)

作者简介: 张元嵩(1994-), 女, 贵州遵义人, 扬州大学旅游烹饪学院硕士研究生, 从事营养与食品卫生学研究;

蒋云升(1962-), 男, 江苏启东人, 扬州大学旅游烹饪学院教授, 从事营养与食品卫生学研究。

表型特征观察:经涂片固定,染色,镜检观察其备检形态。对其菌落的隆起度、形状、颜色、透明度进行描述。

生理生化试验:依次进行糖发酵试验、醇发酵试验、接触酶试验、氧化酶试验、精氨酸脱羧酶试验以及 O/F 等试验。

1.4.5 代表株的 PCR 检测

采用 TIANGEN 试剂盒提取代表株 DNA。参照周涛等^[3]法进行 PCR 扩增,同时按高磊等^[4]法进行 16 S rDNA 测序。

将所测序列在 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> 中使用 Basic Local Alignment Search Tool 程序进行同源性比较,获得典型菌的 DNA 序列,运用 MEGA7.0 软件构建系统发育树。

2 结果与讨论

2.1 气调包装冷鲜鹅冷藏过程中菌群的变化

气调包装冷鲜鹅样品在 4℃ 保藏过程中菌群的变化如图 1 所示。

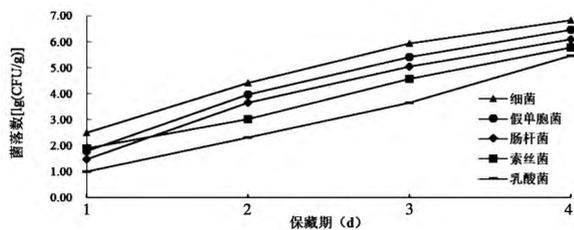


图 1 气调包装冷鲜鹅 4℃ 保藏过程中细菌菌群构成的变化

由图 1 可见,在 4℃ 保藏过程中,冷鲜鹅在保藏第 1 d 起,假单胞菌快速生长,最终成为第一优势菌。在 4℃ 保藏条件下,肠杆菌虽然初始菌落总数较低,但 1 d 后一直呈增长趋势,最终成为第二大优势菌。索丝菌一直稳定生长,保藏末期占比也较高。乳酸菌也稳定增长,但不显优势。

经计算,菌相构成成为假单胞菌占 41.8%、肠杆菌占 32.7%、索丝菌占 23.1%、乳酸菌占 2.4%。冷鲜鹅气调制品 4℃ 冷藏至第 4 d,肉色稍有绿变,有氨臭味,肉的表面出现发黏的现象。

2.2 细菌代表株的鉴定

2.2.1 表型特征观察

从 4 类菌株中各选 1 株为代表株,编号分别为 J1、C1、R1、S1,其特征形态见表 1。

2.2.2 生理生化实验

代表株的生理生化结果见表 2。

表 1 气调包装冷鲜鹅中代表株的菌落特征及菌体形态

指 标	纯 化 菌 种			
	J1	C1	R1	S1
菌落颜色	乳黄色	紫色	白色	白色
菌落形状	圆形	圆形	圆形	圆形
菌落表面	光滑	皱褶	皱褶	光滑
隆起程度	稍隆	隆起	稍隆	稍隆
芽孢	无	无	无	无
个体形态	短杆	短杆	杆状	杆状
鞭毛	周身	周身	无	无
革兰氏染色	G ⁻	G ⁻	G ⁺	G ⁺

表 2 气调包装冷鲜鹅中代表株的生理生化试验结果

指 标	纯 化 菌 种			
	J1	C1	R1	S1
接触酶试验	+	+	+	+
MR 试验	/	-	/	-
V-P 试验	/	-	-	-
甘露醇	+	+	-	/
水杨苷	/	+	+	/
棉籽糖	-	+	+	/
麦芽糖	-	+	+	/
水解淀粉	-	/	/	/
果糖	-	+	+	/
山梨糖	-	-	+	/
O/F 试验	F	F	F	F
硝酸盐还原	/	/	+	/
精氨酸脱羧酶	-	-	-	/

注 “+”表示阳性,“-”表示阴性。

根据《常见细菌系统鉴定手册》^[5]及《伯杰氏细菌鉴定手册》^[6],通过显微镜观察的菌落形态特征、革兰氏染色阴阳性等特征,并结合表 2,经初步鉴定:J1 为 *Pseudomonas*、C1 为 *Enterobacteriaceae*、R1 为 *Lactobacillus*、S1 为 *Brochothrix*。

2.2.3 构建系统发育树

用 Basic Local Alignment Search Tool 软件将 4 株菌种的所测序列与 DNA 序列数据库中已知序列进行比对分析,选取同源性较高的菌株序列构建系统发育树,结果见表 3 和图 2。

表3 冷鲜鹅代表菌株测序的种属关系

序号	Genbank 中最接近的细菌种类	相似性(%)
J1	<i>Pseudomonas fragi</i>	96
C1	<i>Serratia liquefaciens</i>	100
R1	<i>Lactobacillus plantarum</i>	99
S1	<i>Brochothrix thermosphacta</i>	98

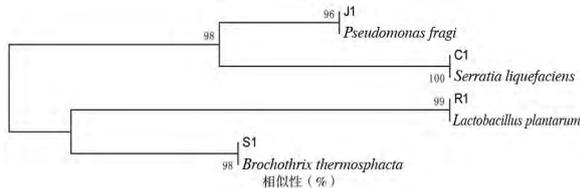


图2 菌株系统发育树

由表3和图2可知: J1与莓实假单胞菌同源性最高; C1与液化沙雷氏菌(*Serratia liquefaciens*)同源性最高; R1与植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)同源性最高; S1与热杀索丝菌(*Brochothrix thermosphacta*)同源性最高。

3 结论

本实验通过研究气调包装冷鲜鹅在4℃冷藏条件下保藏4d的菌群变化,可知优势菌数量关系为:假单胞菌>肠杆菌>索丝菌>乳酸菌。从

相应选择性培养基中分离纯化出典型单个菌落,通过观察其菌落形态和生理生化试验及16S rDNA鉴定结果,据此确定,气调包装冷鲜鹅由莓实假单胞菌、液化沙雷氏菌、植物乳杆菌、热杀索丝菌构成共生菌相。据此进行栅栏控制,可进一步提高冷鲜鹅的保鲜技术。

参考文献:

- [1] 戴阳军,张卫东,沈燕君. 响应曲面法优化冷鲜鸡的加工工艺[J]. 美食研究, 2014, 31(4): 39-43.
- [2] AMÉLIE R, NICOLAS M, HERVÉ P, et al. Diversity of bacterial communities in French chicken cuts stored under modified atmosphere packaging[J]. Food Microbiology, 2018, 70: 7-16.
- [3] 周涛,于娟,毛杨敏. 真空包装盐水鹅中腐败细菌的分离鉴定[J]. 食品工业科技, 2016, 37(14): 219-232.
- [4] 高磊,谢晶,叶藻,等. 冷鲜鸡腿肉中优势腐败菌的分离鉴定及腐败能力研究[J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(8): 48-53.
- [5] 东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 364-370.
- [6] 布坎南 R E, 吉本斯 N E. 伯杰鉴定手册(第八版)[M]. 中国科学院微生物研究所《伯杰细菌鉴定手册》翻译组,译. 北京: 科学出版社, 1995: 591-611.

Analysis and identification of spoilage bacteria flora in modified atmosphere packaged chilled goose

ZHANG Yuansong¹, JIANG Yunsheng^{1*}, CUI Yangchen¹,
ZOU Weidong¹, HOU Tianqi¹, ZOU Qingbiao²

(1. College of Tourism and Culinary Science, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225127, China;

2. Yangzhou Goose Commander Company Ltd, Yangzhou, Jiangsu 225127, China)

Abstract: The chilled goose was packaged in modified atmosphere adjusted with N₂ in the process refrigerated of 4℃ for 4 days. Determination of the changes of bacteria and microbiological composition was conducted. The results showed that *Pseudomonas* account for 41.8%, *Enterobacter* account for 32.7%, *Brochothrix thermosphactum* account for 23.1%, *Lactic acid* bacteria account for 2.4%. The representative strain by Gram stain, microscopic examination, physiology biochemistry experiment and the method of sequencing called 16S rDNA. The results indicated that the J1 was *Pseudomonas fragi*, C1 was *Serratia liquefaciens*, S1 was *Brochothrix thermosphacta*, R1 was *Lactobacillus plantarum*.

Key words: modified atmosphere packaging; chilled goose; bacterial diversity; culinary hygiene; identification of bacteria

(责任编辑:赵勇)