

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240807002

真空即食鸭肉制品中致松包细菌的溯源及 灭菌条件探讨

黄惠琳¹, 韦涛^{1*}, 李鑫¹, 谢耐珍¹, 黄丽姣¹, 李雪梅¹, 王茵²,
姚海棠³, 唐雍³, 唐臻睿³

(1. 广西-东盟食品检验检测中心, 南宁 530025; 2. 广西医科大学公共卫生学院, 南宁 530021;
3. 广西春江食品有限公司, 南宁 530313)

摘要: **目的** 检测导致真空即食鸭肉制品松包的细菌, 探讨致松包菌的灭菌条件, 降低松包产品带来的食品安全风险。**方法** 首先对松包和合格产品进行微生物检测, 找出导致产品松包的微生物; 其次对鸭肉制品原料、不同加工程度的鸭肉制品、生产车间环境、生产工具等环节进行微生物检测, 寻找污染源; 对本实验分离的植物乳杆菌进行菌液的温度耐受实验, 探究植物乳杆菌温度耐受条件及灭活温度条件; 并比较在相同的煮制条件下, 不同解冻方式和超高压灭菌参数与植物乳杆菌的阳性检出率的相关性。**结果** 松包鸭肉制品中的主要优势菌为植物乳杆菌, 该菌来源于鸭肉制品生原料。植物乳杆菌的菌液在 60 °C, 10 min 处理后, 存活菌落总数急剧减少。进一步的研究发现, 静水解冻的鸭肉制品在后续的产品灭菌表现中优于室温空气解冻的鸭肉制品。适合本产品的超高压灭菌最佳参数为 600 MPa, 5 min。**结论** 鸭肉制品生原料中的植物乳杆菌, 在煮制环节未被完全杀灭是真空即食鸭肉制品松包的主要原因。通过选择合适的解冻方式和超高压灭菌参数, 有助于食品中微生物的杀灭, 降低松包率。企业应对产品生产流程进行监控, 制定相应的防控措施, 确保食品安全。

关键词: 真空即食鸭肉制品; 松包; 植物乳杆菌; 超高压灭菌; 质量控制; 食品安全

Study on the source and sterilization conditions of bacteria causing loose encapsulation in vacuum-packed ready-to-eat duck meat products

HUANG Hui-Lin¹, WEI Tao^{1*}, LI Xin¹, XIE Nai-Zhen¹, HUANG Li-Jiao¹,
LI Xue-Mei¹, WANG Yin², YAO Hai-Tang³, TANG Yong³, TANG Zhen-Rui³

(1. Guangxi-Asean Food Inspection Center, Nanning 530025, China; 2. School of Public Health Guangxi Medical University, Nanning 530021, China; 3. Guangxi Chunjiang Food Co., Ltd., Nanning 530313, China)

ABSTRACT: Objective To detect the bacteria that cause blown pack spoilage in vacuum-packaged ready-to-eat duck meat products, explore the sterilization conditions for the bacteria causing blown pack spoilage, reduce the

基金项目: 广西壮族自治区市场监督管理局科技计划项目(GXSJKJ2023-24)

Fund: Supported by the Guangxi Zhuang Autonomous Region Market Supervision Administration Science and Technology Plan Project (GXSJKJ2023-24)

*通信作者: 韦涛, 主管技师, 主要研究方向为食品、药品、化妆品质量与安全检测。E-mail: 52137462@qq.com

*Corresponding author: WEI Tao, Technician, Guangxi-Asean Food Inspection Center, No.42, Foziling Road, Nanning 530029, China. E-mail: 52137462@qq.com

food safety risks brought by blown pack spoilage products. **Methods** Firstly, conduct a microbial test on the blown pack spoilage products to identify the microorganisms caused the blown pack spoilage problem and then, perform microbial tested on the raw materials of duck meat products, duck products at different stages of processing, the manufactured facility environment, and production tools to locate the source of contamination. Conduct temperature tolerance experiments on the isolated *Lactobacillus plantarum* to explore its temperature endurance and inactivation conditions, and compared the correlation between different thawing methods and high-pressure sterilization parameters with the positive detection rate of *Lactobacillus plantarum* under the same cooked conditions. **Results** The primary dominant bacteria in blown pack spoilage duck products was *Lactobacillus plantarum*, which originated from the raw materials of the duck products. The viable count of *Lactobacillus plantarum* decreased dramatically after the bacterial suspension was treated at 60 °C for 10 minutes. Further research had found that duck meat products thawed under static water showed better performance in subsequent sterilization processes compared to those thawed in room temperature air. The optimal ultra-high-pressure sterilization parameters suitable for this product were 600 MPa for 5 minutes. **Conclusion** *Lactobacillus plantarum* in raw materials of duck meat products is not completely killed in the cooking process, which is the main reason for the loose packaging of vacuum ready-to-eat duck meat products. By selecting the appropriate defrosting method and ultrahigh pressure sterilization parameters, it is helpful to kill microorganisms in food and reduce the loose packet rate. Enterprises shall monitor the production process of products and formulate corresponding prevention and control measures to ensure food safety.

KEY WORDS: vacuum-packed ready-to-eat duck meat products; blown pack spoilage; *Lactobacillus plantarum*; ultra-high-pressure sterilization; quality control; food safety

0 引言

肉和肉类制品含有丰富的氨基酸,是人类蛋白质的主要来源^[1-2]。随着经济的高速发展,人们生活水平的不断提高,老百姓对肉制品的需求迅速增加。即食肉制品是指开袋即食或仅需要简单加热便可食用的产品^[3]。真空即食鸭肉制品以小巧、便携、便捷的特点,加上其口感鲜美、营养丰富、低含脂量等优点,赢得许多消费者的喜爱。但真空即食鸭肉制品的生产流程复杂,生产环节众多,微生物污染成为影响产品品质的重要因素^[4]。微生物污染使产品出现异味、松包胀气、保质期缩短等现象,极易引起食品安全问题^[5]。目前对真空包装熟肉制品的研究主要集中在微生物污染的监测^[6-7]、包装材料的创新以及保鲜技术的开发^[8-9]等领域。然而,针对特定食品生产条件的微生物防控策略研究相对较少。因此在确保食品安全的基础上,选择能够保持食品风味特性的灭菌条件,对于优化食品生产流程和降低食品安全风险具有重要意义。

引起真空包装食品腐败变质的主要微生物为兼性厌氧菌,如乳酸菌、肠杆菌等及部分厌氧菌^[10]。此外真空状态是厌氧微生物尤其梭状芽孢杆菌、乳酸菌的适宜生长环境,若其大量繁殖,将引起松包现象^[11]。松包的产品不仅带来食品安全问题,而且影响产品的正常销售,造成企业经济损失。针对松包问题,本研究通过实验对导致产品松

包的微生物进行溯源,探究本产品中致松包微生物的灭菌条件,从而降低松包产品带来的食品安全风险,为即食产品肉类微生物污染的防控提供数据参考。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

鸭制品生原料、煮后鸭制品、泡制卤水(包括冰乙酸、辣椒精、乳酸菌素、乳酸、白砂糖等)、泡制后鸭制品(厂家提供);大肠埃希氏菌 ATCC 8739、植物乳杆菌 ATCC8014(美国菌种保藏中心)。

无菌棉拭子(深圳市梓健生物科技有限公司);灭菌规格板(比克曼生物科技有限公司);平板计数(plate count agar, PCA)琼脂培养基、孟加拉红琼脂培养基、营养琼脂培养基、营养肉汤培养基、德氏乳杆菌(De Man, Rogosa and Sharpe agar, MRS)琼脂培养基、MRS 肉汤培养基、血琼脂平板、无菌生理盐水、乳酸杆菌生化鉴定套装、木糖、鼠李糖、乳糖(北京陆桥技术有限公司);培养皿(浙江拱东医疗器械股份有限公司);厌氧产气包、厌氧指示剂(日本三菱化学株式会社);质谱样品处理基质溶液(生物梅里埃法国股份有限公司)。

CP1502 电子天平(精度 0.01 g, 奥豪斯仪器常州有限公司);GR85DA 压力蒸汽消毒器(美国致微仪器公司);IMH400-S 生化培养箱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);

VITEK 全自动快速微生物质谱检测系统(VITEK Mass Spectrometer 全自动快速微生物质谱鉴定系统, VITEK MS 全自动快速微生物质谱鉴定系统)、VITEK MS-DS 靶板(生物梅里埃法国股份有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 即食鸭肉制品生产的主要工艺流程

以鸭翅、鸭爪等部位为原料, 经过解冻、清洗、煮制(温度 95~100 °C, 15 min)、卤水泡制、真空包装、超高压灭菌等主要工艺制成。

1.2.2 即食肉鸭制品成品的采样及微生物检测

无菌操作采集 5 个不同批次的松包和合格即食鸭制品成品, 每批 10 个样本。将采集的样品分别放入无菌采样袋中, 并将样品置于装有冰袋的样品箱中, 运回实验室进行实验。按照 GB 4789.2—2022《食品安全国家标准 食品微生物学检验菌落总数测定》、GB 4789.15—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验霉菌和酵母计数》、GB 4789.35—2023《食品安全国家标准 食品微生物学检验乳酸菌检验》的方法, 将 25 g 样本放入 225 g 无菌生理盐水中, 均质混匀后, 用无菌吸管取 1 mL 均质液于无菌培养皿中, 并做平行样, 而后倾注 PCA 培养基、MRS 琼脂培养基、孟加拉红琼脂培养基摇匀。待培养基冷却后, PCA 培养基置于 36 °C 培养箱中培养 48 h, MRS 琼脂培养基置于 36 °C 培养箱中厌氧培养 48 h, 孟加拉红琼脂培养基置于 28 °C 培养 5 d。培养结束后, 挑取培养皿上生长形态不同的细菌单菌落接种于营养琼脂培养基上纯化, 直至得到纯菌。

1.2.3 生产线上不同接触面及卤水原料的采样检测

泡制车间员工手套、捞泡制半成品漏勺、泡制车间推车把手、内包装员工衣服、内包装桌面等部分的采样方法参考 GB 15979—2002《中华人民共和国国家标准 一次性使用卫生用品卫生标准》和 GB 14934—2016《食品安全国家标准 消毒餐(饮)具》等标准, 用无菌棉拭子对物体表面进行均匀涂抹, 每种样本收集 5 份。涂抹后的棉拭子用灭菌剪刀剪去与手接触的部分, 置于无菌生理盐水试管中, 随后在无菌实验室检验。卤水原料内含调味料、冰乙酸、辣椒精、乳酸菌素、乳酸等, 无菌采集 5 个批次, 每份 100 mL。以上样本按照 GB 4789.35—2023 的方法进行乳酸菌, 并对培养皿上的细菌进行纯化。

1.2.4 各个加工程度的鸭制品采样检测

参考 1.2.1 的方法对鸭制品生原料、煮后鸭制品、泡制后鸭制品、合格即食鸭制品成品等不同加工程度的鸭制品进行采样。按照 GB 4789.35—2023《食品安全国家标准 食品微生物学检验乳酸菌检验》的方法对以上样本中的乳酸菌进行检验, 并对培养皿上的细菌进行纯化。

1.2.5 菌种的鉴定

为了对菌种进行鉴定, 本实验开展了 VITEK MS 细菌鉴定实验、16S rDNA 测序及糖发酵实验。具体如下, VITEK

MS 细菌鉴定实验按照厂家推荐的操作方法^[12]进行样本前处理。将营养琼脂及 MRS 上得到的新鲜纯菌均匀涂抹于靶板的检测孔位上, 同时将新鲜的 ATCC8739 大肠埃希氏菌涂抹于靶板的校准控上, 而后在涂抹后的孔位上加 1 μ L 基质液。待靶板上的基质液干后上机实验。16S rDNA 测序委托华大基因进行。

1.2.6 植物乳杆菌的发酵实验

糖发酵实验参考《伯杰氏细菌学鉴定手册(第九版)》^[13]以及再海明^[14]对乳酸菌的鉴定方法。

发酵产气实验参考 GB 4789.3—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验大肠菌群计数》中的发酵实验, 在 MRS 肉汤培养基试管中加入倒管, 接种实验中分离纯化后的植物乳杆菌至试管中, 将试管放入培养箱 36 °C, 厌氧培养 48 h 后, 观察植物乳杆菌在该培养基中的产气现象。

1.2.7 植物乳杆菌的温度耐受实验

植物乳杆菌菌液的温度耐受实验步骤为: 将分离得到的植物乳杆菌放入 MRS 肉汤中, 厌氧培养 48 h。厌氧培养后的肉汤取 1 mL 置于 9 mL 的生理盐水管中, 在 50、60、70、80、90、100 °C 不同温度水浴锅中处理 10 min, 分别活菌计数, 探讨热致死温度范围。厌氧培养后的 MRS 肉汤及水浴处理后的菌液用 MRS 琼脂培养基注皿, 36 °C 厌氧培养 48 h 后进行平板计数。

1.2.8 解冻方式、超高压灭菌参数与产品灭菌效果实验

参考 1.2.1 的方法采集不同解冻方式的鸭制品, 经过煮熟后在不同超高压灭菌参数下灭菌的样本, 每种样本 30 个。按照 GB 4789.35—2023 的方法对以上样本中的乳酸菌进行检验, 计算其阳性率。

1.3 数据处理

利用 Excel 2016 软件进行数据处理, 采用 SPSS 22.0 进行统计学分析, 采用方差分析进行组间数据差异比较, 若两组数据之间存在显著性差异($P < 0.5$), 则用不同的字母进行标记, 并利用 GraphPad Prism 9.0. 进行绘图。

2 结果与分析

2.1 即食鸭制品成品的微生物检测及发酵实验结果

松包成品 PCA 培养基上检出的细菌较多, 菌落总数平均为 10^4 CFU/g, MRS 琼脂培养基上的细菌总数平均为 10^4 CFU/g, 孟加拉红培养基上未见有霉菌检出。合格成品 PCA 培养基上, 菌落总数平均为 10^2 CFU/g, MRS 琼脂培养基及孟加拉红培养基未见有微生物检出。松包成品 PCA 培养基上, 根据细菌形态, 发现一株优势菌, 数量约占 PCA 平皿上细菌总数的 90%, 该菌形态为圆形, 表面凸起, 编号为 SY。VITEK MS 对 SY 的鉴定结果为植物乳杆菌、类植物乳杆菌或戊糖乳杆菌。松包成品 PCA 培养基上的细菌组成见图 1, SY 质谱图见图 2。菌株 16S rDNA 序列相似比对到了两株菌植物乳杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*), 基因登录号为

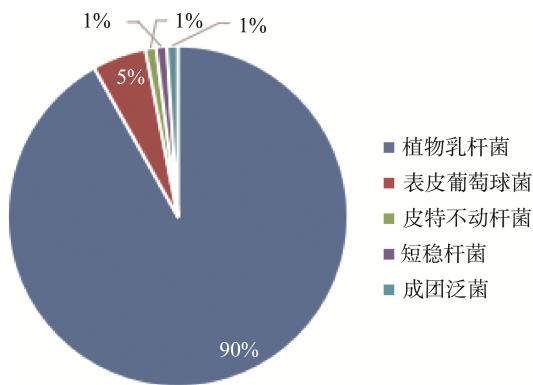


图 1 松包成品 PCA 培养基上的细菌组成
Fig.1 Bacterial composition on PCA agar medium of blown pack spoilage products

NR_042394.1 和戊糖乳杆菌(*Lactiplantibacillus pentosus*), 基因登录号为 NR_029133.1, 序列同源性都是 99.71%。有研究表明^[15], 植物乳杆菌与戊糖乳杆菌由于同源性相似性较高, 16S rDNA 测序后比对结果相似度达 100%, 区分两种菌可通过特异性引物对两菌序列中相似度较低的序列进行 PCR 扩增测序或使用生化试剂观察其生化反应现象。糖发酵实验结果显示, SY 菌株和植物乳杆菌的标准菌株除鼠李糖反应为阴性外, 其余的糖发酵反应为阳性, 而戊糖乳杆菌糖发酵实验结果应为全阳性, 因此该菌株为植物乳杆菌。发酵产气实验显示(表 1), SY 菌株能在 MRS 肉汤培养基中发酵产气, 而植物乳杆菌标准菌株(ATCC8014)发酵不产气。植物乳杆菌是乳杆菌属的一种革兰氏阳性菌, 兼性厌氧, 不产芽孢, 最适生长温度为 30~35 °C, 在肠道及粪便中较为常见, 且对酸性环境和胆盐有较强耐受性, 能定植于肠道中, 拮抗病原菌。根据发酵的产物, 乳酸菌分为同型发酵乳酸菌和异型发酵乳酸菌。其中, 异型发酵乳酸菌能在发酵过程中产生乳酸、乙酸和二氧化碳等^[16]。松包成品 PCA 培养基上检出的表皮葡萄球菌、皮特不动杆菌、短稳杆菌及成团泛菌在生长过程中, 都不产气。而对比细菌形态及 VITEK MS 鉴定结果, 未松包成品 PCA 培养基上数量较多的细菌为表皮葡萄球菌, 其次为皮特不动杆菌, 约氏不动杆菌等, 未见有植物乳杆菌。肉类食品的腐败, 通常是由于微生物生长时, 对肉类营养组织的代谢

引起的^[17]。有文献提示植物乳杆菌为兼性异型发酵和兼性厌氧菌, 结合本研究结果推测, 产品中未被彻底灭菌的植物乳杆菌在真空包装的厌氧状态下, 利用鸭肉制品中的糖类及其他碳水化合物进行发酵产气, 为该即食鸭肉制品松包的重要原因^[18-20]。

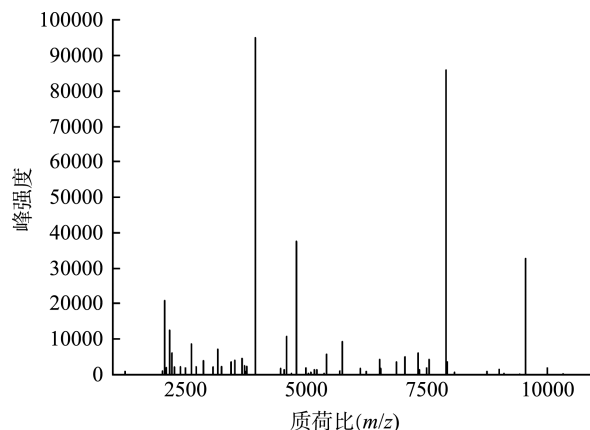


图 2 松包鸭肉制品中植物乳杆菌的质谱图
Fig.2 Mass spectrometry of *Lactobacillus plantarum* from blown pack spoilage duck meat product

2.2 生产线上不同接触面及卤水样本的菌种鉴定结果

在生产车间采样所得样本包括泡制车间员工手掌、捞泡制半成品漏勺、泡制车间推车把手、内包装员工衣服、生产车间空气沉降菌等样本中分离的细菌见表 2。从表 2 的鉴定结果中, 并未发现导致即食鸭制品松包的植物乳杆菌。未经泡制的卤水样品在 MRS 琼脂培养基上未见细菌生长。因此, 本研究排除了鸭肉制品在这些环节中被植物乳杆菌污染的可能性。

2.3 不同加工程度鸭肉制品样本的细菌鉴定及发酵实验结果

为了进一步对植物乳杆菌进行溯源, 本研究采集了不同加工程度的鸭肉制品样本进行细菌鉴定实验。从表 3 可知, 鸭肉制品中的细菌主要来源于鸭肉制品生原料。不同加工程度的鸭肉制品中, 都有植物乳杆菌检出。因此植

表 1 松包鸭肉制品中植物乳杆菌的发酵实验结果
Table 1 Fermentation experimental results of *Lactobacillus plantarum* from blown pack spoilage duck meat products

菌株	糖发酵实验										发酵产气实验	
	纤维二糖	麦芽糖	甘露醇	水杨苷	山梨醇	乳糖	棉籽糖	七叶苷	木糖	鼠李糖	蔗糖	MRS 肉汤
植物乳杆菌标准菌株 (ATCC8014)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
SY	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+

注: +表示阳性反应, -表示阴性反应。

表 2 生产线上不同接触面及卤水等样品的菌种鉴定结果
Table 2 Bacterial identification results of samples from various contact surfaces and brines on the production line

样品名称	VITEK MS 鉴定结果
泡制车间员工手套	副氧化微杆菌
	河生肠杆菌
	表皮葡萄球菌
捞泡制半成品漏勺	成团泛菌
	解鸟氨酸拉乌尔菌
	产酸克雷伯菌
泡制车间推车把手	绿色气球菌
	沼泽考克氏菌
内包装员工衣服	嗜根考克菌
	大肠埃希氏菌
内包装桌面	解鸟氨酸拉乌尔菌
	费劳地柠檬酸杆菌
	成团泛菌
	产酸克雷伯菌
生产车间空气沉降菌	坐皮肤球菌
	金黄微杆菌
	嗜根考克氏菌
	产碱假单胞菌
	嗜油假单胞菌
	粘质沙雷菌
未经泡制卤水样本	/

注: /表示样品的 MRS 琼脂培养基上未有菌生长。

表 3 不同加工程度鸭肉制品的细菌鉴定结果
Table 3 Bacterial identification results of duck meat products at different stages of processing

样品名称	VITEK MS 鉴定结果
鸭制品生原料	格氏乳球菌
	约氏不动杆菌
	皮疽诺卡菌
	格氏乳球菌
	阴沟肠杆菌
	乳酸乳球菌
	戊糖片球菌
	沙克乳酸杆菌
	乳酸片球菌
	植物乳杆菌
煮熟后鸭制品	乳酸乳球菌
	戊糖片球菌
	发酵乳杆菌
	植物乳杆菌
泡制后鸭制品	植物乳杆菌
	乳酸乳球菌
	表皮葡萄球菌
	戊糖片球菌
	发酵乳杆菌

物乳杆菌的来源为鸭肉制品生原料。生原料中分离的两株植物乳杆菌命名为 SL1 和 SL2, 质谱图见图 3, 16S rDNA 序列相似比对结果见表 4, 发酵鉴定结果见表 5。且由表 3 可知, 从鸭肉制品生原料到煮熟后的鸭肉制品, 再到卤后鸭肉制品的制作流程中, 这 3 个环节的细菌种类数不同, 鸭肉制品生原料中的有细菌种类有 10 种, 煮熟后的鸭肉制品细菌种类数降至 4 种, 泡制后鸭肉制品中检出的细菌种类数为 5 种, 煮制使得部分细菌被杀灭, 泡制后鸭肉制品的细菌种类数与煮后的鸭肉制品细菌种类数接近。鸭肉制品生原料中除了优势菌乳酸菌外, 还检出肠杆菌, 这与 DOUROU 等^[21]在低温保存的肉类中检测的微生物种类一致。

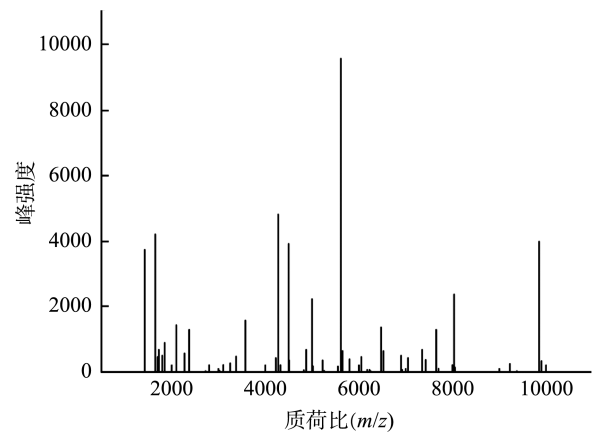


图 3 鸭肉制品生原料中植物乳杆菌质谱图
Fig.3 Mass spectrometry of *Lactobacillus plantarum* from raw materials of duck meat products

植物乳杆菌作为一种多功能乳酸菌, 被欧洲食品安全局和美国食品药品监督管理局列入安全资格认证中, 我国卫生部也将该菌列入了新资源食品目录^[22-24]。国家农业农村部已发布 194 号公告, 公告称, 自 2020 年 1 月 1 日起, 我国饲料中全面禁止添加抗生素, 减少滥用抗生素造成的危害。在这个背景下, 乳酸菌作为一类绿色的添加剂, 被添加进饲料中^[25]。TANG 等^[26]的研究发现, 饲料中添加植物乳杆菌 CGMCC 1258 改善了断奶仔猪的肠道形态、肠道通透性、肠道免疫力和抗氧化功能, 降低了腹泻率的发生, 提供动物的免疫。DIVYASHREE 等^[27]开展植物乳杆菌 MYSRD71 的无细胞上清液对副伤寒沙门氏菌的抗菌实验, 发现该菌株的无细胞上清液能明显减少副伤寒沙门氏菌的生物膜, 从而抑制副伤寒沙门氏菌的生长。LI 等^[28]发现植物乳杆菌的 LPS-ZG7 菌株, 通过提高番鸭绒毛高度、绒毛高-隐窝深度比和降低隐窝深度来增强肠黏膜的完整性, 介导肠道的抗菌防御, 从而对抗由鸭疫里默氏杆菌引起鸭疫里默氏杆菌病。WANG 等^[29]的研究发现, 肉鸡在感染了产肠毒素的大肠杆菌 28 d 后, 将植物乳杆菌添加进饲料中喂养, 能显著减少肉鸡肠道中产肠毒素的大肠杆菌数量,

表 4 鸭肉制品生原料中植物乳杆菌 16S rDNA 序列相似比对结果

Table 4 Similarity comparison results of the 16S rDNA sequence of *Lactobacillus plantarum* from raw materials of duck meat products

菌株编号	NCBI 中相似度最高的菌种(基因登录号)	序列同源性/%
SL1	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> (NR_042394.1)	100
	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i> (NR_029133.1)	100
SL2	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> (NR_042394.1)	99.66
	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i> (NR_029133.1)	99.66

表 5 鸭肉制品生原料中植物乳杆菌的发酵实验结果

Table 5 Fermentation experimental results of *Lactobacillus plantarum* from raw materials of duck meat products

菌株	糖发酵实验											发酵产气实验
	纤维二糖	麦芽糖	甘露醇	水杨苷	山梨醇	乳糖	棉籽糖	七叶苷	木糖	鼠李糖	蔗糖	MRS 肉汤
植物乳杆菌标准菌株(ATCC8014)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
SL1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
SL2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+

注: +表示阳性反应, -表示阴性反应。

改善肉鸡状态。综上植物乳杆菌作为饲料添加剂的诸多优点,使得植物乳杆菌在生肉制品中较为常见。

煮熟后鸭肉制品与泡制后鸭肉制品中乳酸菌含量较多,可能是由于原料环节中乳酸菌在细菌总数上占比较大,煮制过程中,杀菌不完全所致。其次,部分乳酸杆菌、乳球菌和片球菌属具有较高的热抗性,从而在胁迫环境下成功生长^[11,30-31]。

泡制后的鸭肉制品中检出表皮葡萄球菌,该菌为条件致病菌,在自然界广泛存在,人皮肤干燥、湿润以及皮脂腺中可见^[32-33],对比 2.2 中采集样本检测出的细菌种类,推测该细菌有可能来源于泡制车间员工手套。张依洁等^[34]在真空包装酱卤鸭肉中检测出表皮葡萄球菌,并且菌落数随着贮藏时间的延长出现明显的上升,并成为腐败终点样本中的优势菌株。ABU-NIAAJ 等^[35]的抗菌实验中,亦将表皮葡萄球菌作为与食物腐败相关的细菌。该研究提示,应关注生产过程中生产车间员工手部的卫生状况,降低产品在生产过程中被表皮葡萄球菌污染的风险。

2.4 植物乳杆菌的温度耐受实验

本研究中分离到的 3 株植物乳杆菌的 MRS 肉汤培养基在不同温度下处理 10 min 后的菌落总数结果见表 6。从表 6 可以观察到 3 株植物乳杆菌的 MRS 培养基在 60 °C,

10 min 处理后,存活菌落总数急剧减少。70 °C, 10 min 处理后,存活菌落总数为 0,这与 DE-ANGELIS 等^[36]在实验中观察到的现象较为一致。该产品的煮后样本中检出植物乳杆菌,可能是由于产品带有骨头,骨头的疏松结构,导致原料内部潜在的植物乳杆菌在煮制过程中不易被杀灭。

2.5 解冻方式、超高压灭菌参数与植物乳杆菌阳性率

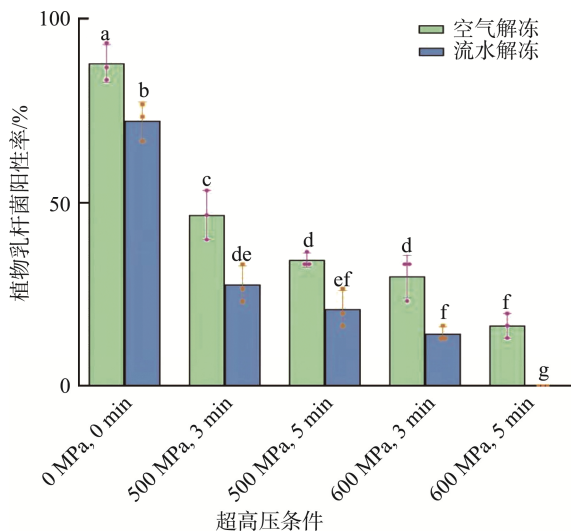
有研究表明,解冻方式对肉制品中菌落总数有显著影响^[37]。而超高压灭菌处理可以杀灭微生物,有效延长食品的保质期。为了保证鸭制品的口感与风味,因此在煮制条件相同的情况下,探讨解冻方式与超高压灭菌参数的组合对植物乳杆菌阳性率的影响。

由图 3 可以看出在煮制条件相同的情况下,未经超高压灭菌的鸭制品中,植物乳杆菌的检出率较高,且空气解冻鸭制品成品的植物乳杆菌阳性率高于静水解冻的鸭制品成品。超高压的灭菌实验中,随着压力的增大,高压时间的延长,植物乳杆菌的阳性率下降。将流水解冻,超高压参数 600 MPa, 5 min 条件下的植物乳杆菌阳性率与其他组进行相比,发现均显示出显著性差异($P < 0.05$),说明植物乳杆菌阳性检出率显著低于其他组。

表 6 植物乳杆菌的 MRS 肉汤培养基在不同温度下处理 10 min 后的菌落总数(CFU/mL)

Table 6 Total number of colonies of *Lactobacillus plantarum* after treatment in MRS broth medium at different temperatures for 10 minutes (CFU/mL)

菌株	初始菌液含菌量	温度/°C					
		50	60	70	80	90	100
SY	2.1×10^8	1.2×10^5	3.6×10^4	0	0	0	0
SL1	1.9×10^8	1.3×10^5	3.9×10^4	0	0	0	0
SL2	2.4×10^8	1.6×10^5	4.2×10^4	0	0	0	0



注: 不同小写字母表示同一处理组不同处理条件差异显著, $P < 0.05$ 。

图 3 不同解冻方式和超高压条件对植物乳杆菌阳性率的影响

Fig.3 Impacts of different thawing methods and ultra pressure conditions on the positive rate of *Lactobacillus plantarum*

解冻是即食鸭制品生产中不可或缺的一环, 选择合适的解冻方法, 是保证肉制品质量的关键因素。常见的解冻方式有空气解冻和静水解冻^[38]。空气解冻是指以空气为热传导介质, 与冻结的产品进行热交换的解冻方式, 其优点为成本低。但同时肉中的含有营养成分的汁液损失较多, 且由于解冻时间较长, 容易受到微生物影响^[39]。静水解冻是指将冻结的产品放入水中, 与水进行热交换达到解冻的目的, 其优点为解冻效率高, 解冻过程中食品品质损耗少^[40-41]。静水解冻组猪肉样本中细菌的变化趋势与空气解冻组的猪肉样本相近, 静水解冻组样本的菌落总数和乳酸菌数量低于空气解冻组^[37]。因此选择合适的解冻方式, 减少细菌繁殖数量, 有助于提高后期灭菌的效果。

超高压灭菌技术是以液体作为传压介质, 对密封在食品柔性包装中的产品, 进 100~1000 MPa 加压处理, 维持一定时间后, 通过对共价键的作用, 破坏细菌细胞膜和功能蛋白, 使细胞形态发生变化, 从而达到杀菌的目的^[42-45]。超高压灭菌技术属于非热杀菌技术, 可在较低温下实现杀菌的特性, 使其被广泛地运用到即食肉类和饮料的加工中^[46-50]。虽然超高压灭菌处理可以杀灭微生物, 有效延长食品的保质期, 但一些耐压的微生物如果杀灭不彻底, 可能通过自我修复进行繁殖, 并在数量积累到一定程度时, 导致食物的腐败现象^[51]。本研究参照 GB/T 41645—2022 《超高压食品质量控制通用技术规范》, 对标准规定范围内的压强和时间组合进行探讨, 发现 500 MPa 下, 3~5 min 及 600 MPa, 3 min 时仍能观察到植物乳杆菌阳性。适合本产品的超高压灭菌最佳参数为 600 MPa, 5 min。这提示, 应针对产品特性探索合适的超高压灭菌参数。

3 结论

鸭肉制品生原料中的植物乳杆菌, 在煮制环节未被完全杀灭是真空即食鸭肉制品松包的主要原因。内未被完全灭菌的植物乳杆菌在真空包装的厌氧状态下, 利用鸭制品中的碳水化合物进行发酵产气, 影响产品的真空状态, 导致松包现象的发生。植物乳杆菌在真空包装中发酵产酸产气, 不仅降低产品的 pH, 影响产品口感, 而且还会破坏产品的真空状态, 引发食品安全风险。植物乳杆菌来源于鸭制品的生原料, 合适的解冻方式显得尤为重要, 冰水解冻鸭制品, 能减缓生原料中植物乳杆菌的繁殖, 在后续的产品灭菌表现中优于室温空气解冻的鸭制品。超高压灭菌作为产品出厂前最后一道灭菌程序, 最佳参数为 600 MPa, 5 min。在其他生产环节参数不变的情况下, 冰水解冻方式与该参数的组合, 有效降低了植物乳杆菌的检出率。此外企业应加强生产过程中的质量监控, 制定相应的防控措施, 降低食品安全风险, 确保食品安全。

参考文献

- PEREIRA PM, VICENTE AF. Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet [J]. *Meat Sci*, 2013, 93(3): 586–592.
- OKUBO H, SASAKI S, MURAKAMI K, *et al.* The ratio of fish to meat in the diet is positively associated with favorable intake of food groups and nutrients among young Japanese women [J]. *Nutr Res*, 2011, 31(3): 169–177.
- 刘阳, 唐莉娟, 王凌云, 等. 即食肉制品产业发展现状与市场前景[J]. *食品工业*, 2017, 38(2): 275–279.
LIU Y, TANG LJ, WANG LY, *et al.* Industry development status and market prospects of ready-to-eat meat products [J]. *Food Ind*, 2017, 38(2): 275–279.
- 李迪. 食品中微生物危害的分析和控制[J]. *现代食品*, 2018, 3(11): 77–79.
LI D. Analysis and control of microbial hazards in food [J]. *Mod Food*, 2018, 3(11): 77–79.
- 朱虹霖, 孙宏虎, 周浩, 等. 真空包装粽子中致酸败微生物的分离与鉴定[J]. *实验室检测*, 2024, 2(1): 52–57.
ZHU HL, SUN HH, ZHOU H, *et al.* Isolation and identification of microorganisms causing rancidity in vacuum packed rice dumplings [J]. *Lab Test*, 2024, 2(1): 52–57.
- MAKINDE OM, SULYOK M, ADELEKE RA, *et al.* Bacteriological quality and biotoxin profile of ready-to-eat foods vended in Lagos, Nigeria [J]. *Foods*, 2023, 12(6): 1224.
- 沈托, 焦莉萍, 魏惠琴, 等. 陕西省渭南市市售熟肉制品微生物污染状况监测与分析[J]. *医学动物防制*, 2017, 33(6): 610–613.
SHEN T, JIAO LP, WEI HQ, *et al.* The microbial contamination monitoring and analysis of cooked meat products in Weinan City of Shanxi Province [J]. *J Med Pest Control*, 2017, 33(6): 610–613.
- WAZIR H, CHAY SY, IBADULLAH WZW, *et al.* Lipid oxidation and protein co-oxidation in ready-to-eat meat products as affected by temperature, antioxidant, and packaging material during 6 months of storage [J]. *RSC Adv*, 2021, 11(61): 38565–38577.

- [9] 陈文文, 朱立贤, 罗欣, 等. 基于生物可降解材料的活性包装在熟肉制品中的应用进展[J]. 肉类研究, 2020, 34(3): 75–81.
CHEN WW, ZHU LX, LUO X, *et al.* Recent progress in the application of biodegradable active packaging in cooked meat products [J]. Meat Res, 2020, 34(3): 75–81.
- [10] DORN-IN S, FÜHRER L, GAREIS M, *et al.* Cold-tolerant microorganisms causing spoilage of vacuum-packed beef under time-temperature abuse determined by culture and qPCR [J]. Food Microbiol, 2023, 109: 104147.
- [11] 马含笑. 真空包装熟肉制品中兼性厌氧污染微生物生物防腐技术的研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2011.
MA HX. The antiseptic study on facultative anaerobic contamination microbes in vacuum-packed cooked meat products [D]. Shihezi: Shihezi University, 2011.
- [12] 柳婷婷, 夏苏苏, 宋合兴, 等. 3 种 MALDI-TOF MS 微生物鉴定系统的比较研究[J]. 军事医学, 2022, 46(3): 173–178.
LIU TT, XIA SS, SONG HX, *et al.* Comparative research of three MALDI-TOF MS microbial identification systems [J]. Mil Med Sci, 2022, 46(3): 173–178.
- [13] JOHN G, HOLT PHD. Bergey's Manual of determinative bacteriology [M]. Ninth Edition. USA: Lippincott Williams & Wilkins, 1994.
- [14] 冉海明. 植物乳杆菌质粒表达系统的构建[D]. 武汉: 华中农业大学, 2019.
RAN HM. Construction of plasmid expression system in *Lactobacillus plantarum* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2019.
- [15] 刘冬梅, 费永涛, 王盼, 等. 通过 *L*-乳酸脱氢酶 1 的上下游 DNA 序列鉴定 *Lactobacillus* sp. DMDL 9010[J]. 华南理工大学学报(自然科学版), 2014, 42(3): 137–144.
LIU DM, FEI YT, WANG P, *et al.* Identification of *Lactobacillus* sp. DMDL 9010 by upstream and downstream DNA sequences of *L*-lactate dehydrogenase 1 [J]. J South China Univ Technol (Nat Sci Ed), 2014, 42(3): 137–144.
- [16] 刘畅, 郭晓奎. 乳酸菌基因组学研究进展[J]. 中国微生态学杂志, 2006, 18(4): 328–330.
LIU C, GUO XK. Progress on the genomics of *Lactic Acid Bacteria* [J]. Chin J Microecol, 2006, 18(4): 328–330.
- [17] KAUR M, WILLIAMS M, BISSETT A, *et al.* Effect of abattoir, livestock species and storage temperature on bacterial community dynamics and sensory properties of vacuum packaged red meat [J]. Food Microbiol, 2021, 94: 103648.
- [18] 张哲. 植物乳杆菌 β -D-葡萄糖苷酶的胞内定位及性质研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2014.
ZHANG Z. Intracellular localization and characterization and characterization of β -D-glucosidase from *Lactobacillus plantarum* [D]. Yangling: Northwest Agriculture & Forestry University, 2014.
- [19] 张维清, 王博, 刘艳香, 等. 不同类型乳酸菌对全麦面团发酵特性的影响[J]. 中国食品学报, 2022, 22(11): 247–255.
ZHANG WQ, WANG B, LIU YX, *et al.* Effect of different types *Lactic Acid Bacteria* on the fermentation characteristics of whole wheat sourdough [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2022, 22(11): 247–255.
- [20] SIEZEN RJ, VAN H, VLIEG JE. Genomic diversity and versatility of *Lactobacillus plantarum*, a natural metabolic engineer [J]. Microb Cell Fact, 2011, 10(1): S3.
- [21] DOUROU D, SPYRELLI ED, DOULGERAKI AI, *et al.* Microbiota of chicken breast and thigh fillets stored under different refrigeration temperatures assessed by next-generation sequencing [J]. Foods, 2021, 10(4): 765.
- [22] YILMAZ B, BANGAR SP, ECHEGARAY N, *et al.* The impacts of *Lactiplantibacillus plantarum* on the functional properties of fermented foods: A review of current knowledge [J]. Microorganisms, 2022, 10(4): 826.
- [23] FIDANZA M, PANIGRAHI P, KOLLMANN TR. *Lactiplantibacillus plantarum*-Nomad and ideal probiotic [J]. Front Microbiol, 2021, 12: 712236.
- [24] World Health Organization. FAO/WHO guidance to governments on the application of HACCP in small and/or less-developed food businesses [J]. FAO, 2006, 86: 1–74.
- [25] 蔡红英, 李道捷, 孟昆, 等. 植物乳杆菌的生理功能及其在家禽中的应用研究进展[J]. 动物营养学报, 2023, 35(6): 3410–3421.
CAI HY, LI DJ, MENG K, *et al.* Research progress on physiological functions of *Lactobacillus plantarum* and its application in poultry [J]. Chin J Anim Nut, 2023, 35(6): 3410–3421.
- [26] TANG Q, YI H, HONG W, *et al.* Comparative effects of *L. plantarum* CGMCC 1258 and *L. reuteri* LRI on growth performance, antioxidant function, and intestinal immunity in weaned pigs [J]. Front Vet Sci, 2021, 8: 728849.
- [27] DIVYASHREE S, ANJALI PG, SOMASHEKARAI AH R, *et al.* Probiotic properties of *Lactobacillus casei*-MYSRD 108 and *Lactobacillus plantarum*-MYSRD 71 with potential antimicrobial activity against *Salmonella paratyphi* [J]. Biotechnol Rep (Amst), 2021, 32: e00672.
- [28] LI Z, GUO Q, LIN F, *et al.* *Lactobacillus plantarum* supernatant inhibits growth of *Riemerella anatipestifer* and mediates intestinal antimicrobial defense in Muscovy ducks [J]. Poult Sci, 2024, 103(2): 103216.
- [29] WANG S, PENG Q, JIA HM, *et al.* Prevention of *Escherichia coli* infection in broiler chickens with *Lactobacillus plantarum* B₁ [J]. Poult Sci, 2017, 96(8): 2576–2586.
- [30] SHIN Y, KANG CH, KIM W, *et al.* Heat adaptation improved cell viability of probiotic *Enterococcus faecium* HL7 upon various environmental stresses [J]. Probio Antimicro, 2019, 11(2): 618–626.
- [31] ANNOUS BA, KOZEMPEL MF, KURANTZ MJ. Changes in membrane fatty acid composition of *Pediococcus* sp. strain NRRL B-2354 in response to growth conditions and its effect on thermal resistance [J]. Appl Environ Microbiol, 1999, 65(7): 2857–2862.
- [32] 胡新月, 王德娟, 宋丽雅. 表皮葡萄球菌对皮肤健康的作用研究进展[J]. 微生物学通报, 2023, 50(1): 368–376.
HU XY, WANG DX, SONG LY. Emerging roles of *Staphylococcus epidermidis* in skin health [J]. Microbiol China, 2023, 50(1): 368–376.
- [33] NAKATSUJI T, CHIANG HI, JIANG SB, *et al.* The microbiome extends to subepidermal compartments of normal skin [J]. Nat Commun, 2013, 4: 1431.
- [34] 张依洁, 程薇, 吴文锦, 等. 真空包装酱卤鸭肉优势腐败菌的初步鉴定与精油抑菌作用的研究[J]. 现代食品科技, 2017, 33(6): 142–149.
ZHANG YJ, CHENG W, WU WJ, *et al.* Preliminary identification of dominant spoilage bacteria in vacuum-packed bittern duck and their sensitivity to essential oils [J]. Mod Food Sci Technol, 2017, 33(6): 142–149.

- [35] ABU-NIAAJ LF, AL-DAGHISTANI HI, KATAMPE I, *et al.* Pomegranate peel: Bioactivities as antimicrobial and cytotoxic agents [J]. *Food Sci Nutr*, 2024, 12(4): 2818–2832.
- [36] DE-ANGELIS M, DI-CAGNO R, HUET C, *et al.* Heat shock response in *Lactobacillus plantarum* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70(3): 1336–46.
- [37] 郑旭, 曾露, 柏先泽, 等. 不同解冻处理对猪肉理化特性及微生物数量的影响[J]. *肉类研究*, 2018, 32(4): 14–19.
ZHENG X, ZENG L, BAI XZ, *et al.* Effects of different thawing methods on pork physicochemical properties and microbial counts [J]. *Meat Res*, 2018, 32(4): 14–19.
- [38] 张馨月. 不同冻结及解冻方式对白切鸡食用品质的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2021.
ZHANG XY. Effects of different freezing and thawing methods on the eating quality of soft-boiled chicken [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2021.
- [39] 陈怡璇, 焦阳. 冻藏及解冻过程对水产品品质的影响[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(2): 306–311.
CHEN YX, JIAO Y. Effects of frozen preservation and thawing on the quality changes of aquatic products [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(2): 306–311.
- [40] 刘瑜, 李保国. 解冻技术在肉制品中的应用研究进展[J]. *包装工程*, 2021, 42(5): 65–72.
LIU Y, LI BG. Research progress of the application of thawing technology in meat products [J]. *Pack Eng*, 2021, 42(5): 65–72.
- [41] AQ S, BB K, AS L, *et al.* Ultrasound-assisted thawing accelerates the thawing of common carp (*Cyprinus carpio*) and improves its muscle quality [J]. *LWT*, 2021, 141: 111080.
- [42] 李仁杰, 王永涛, 廖小军. 超高压对食品中微生物的影响[J]. *食品安全质量检测学报*, 2014, 5(8): 2523–2531.
LI RJ, WANG YT, LIAO XJ. Effects of high hydrostatic pressure on microorganisms in foods [J]. *J Food Saf Qual*, 2014, 5(8): 2523–2531.
- [43] AGANOVIC K, HERTEL C, VOGEL RF, *et al.* Aspects of high hydrostatic pressure food processing: Perspectives on technology and food safety [J]. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 2021, 20(4): 3225–3266.
- [44] PATTERSON MF. Microbiology of pressure-treated foods [J]. *J Appl Microbiol*, 2005, 98(6): 1400–1409.
- [45] SMELT JP, HELLEMONS JC, PATTERSON M. Effects of high pressure on vegetative microorganisms [M]. Springer: *Ultra High Pressure Treatments of Foods*, 2001.
- [46] 张诺, 邹纯, 余启明, 等. 现制饮料中腐败微生物及其检测与防控技术研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(9): 1–10.
ZHANG N, ZOU C, YU QM, *et al.* Research progress of spoilage microorganism and its detection and control technology in freshly-made beverages [J]. *J Food Saf Qual*, 2024, 15(9): 1–10.
- [47] GAN X, CHEN Z, WANG L, *et al.* Evaluation of ultra-high-pressure sterilization in terms of bactericidal effect, qualities, and shelf life of ‘Xinli No.7’ (*Pyrus sinkiangensis*) pear juice [J]. *Foods*, 2023, 12(14): 2729.
- [48] LI N, WANG Y, TAN Z, *et al.* Effect of ultra-high pressure heat-assisted technology combined with L-cysteine on the color of ready-to-eat shrimp during storage [J]. *Food Chem*, 2024, 460(2): 140634.
- [49] LIAN F, DE-CONTO E, DEL-GRIPPO V, *et al.* High-pressure processing for the production of added-value claw meat from edible crab (*Cancer pagurus*) [J]. *Foods*, 2021, 10(5): 955.
- [50] CAI W, FEI L, ZHANG D, *et al.* Impact of ultra-high-pressure treatment on microbial community composition and flavor quality of jujube juice: Insights from high-throughput sequencing technology, intelligent bionic sensory system, and metabolomics approach [J]. *Food Res Int*, 2024, 191: 114688.
- [51] TOOMIK E, ROOD L, BOWMAN JP, *et al.* Microbial spoilage mechanisms of vacuum-packed lamb meat: A review [J]. *Int J Food Microbiol*, 2023, 387: 110056.

(责任编辑: 蔡世佳 韩晓红)

作者简介



黄惠琳, 硕士, 主管药师, 主要研究方向为食品、药品、化妆品质量与安全检测。
E-mail: 78772815@qq.com



韦涛, 主管技师, 主要研究方向为食品、药品、化妆品质量与安全检测。
E-mail: 52137462@qq.com