

李冉, 朱和源, 叶可萍, 等. 气调包装狮子头冷藏过程中微生物变化及菌群结构分析 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(11): 99-105. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020070316

LI Ran, ZHU Heyuan, YE Keping, et al. Analysis of Microbial Counts and Bacterial Community in Modified Atmosphere Packaging Meatballs[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(11): 99-105. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020070316

· 生物工程 ·

# 气调包装狮子头冷藏过程中微生物变化 及菌群结构分析

李冉, 朱和源, 叶可萍\*, 周光宏, 李春保

(南京农业大学食品科技学院国家肉品质量安全控制工程技术研究中心/农业农村部肉及肉制品质量监督检验测试中心(南京)/江苏省肉类生产与加工质量安全控制协同创新中心, 江苏南京 210095)

**摘要:**以狮子头为研究对象, 设置对照组和气调包装组(100% N<sub>2</sub>、30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub>、40% CO<sub>2</sub>+60% N<sub>2</sub>), 研究其在 4 ℃ 贮藏过程中, 包装顶空气体组成及狮子头微生物数量的变化, 并通过高通量测序技术分析腐败时期气调包装狮子头的菌群结构。结果表明: 与对照组相比, 30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub> 和 40% CO<sub>2</sub>+60% N<sub>2</sub> 气调包装组能够抑制狮子头贮藏过程中菌落总数、假单胞菌属、肠杆菌属的生长繁殖。贮藏 15 d 时, 30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub> 组的菌落总数显著高于 40% CO<sub>2</sub>+60% N<sub>2</sub> 组 ( $P<0.05$ )。因此 40% CO<sub>2</sub>+60% N<sub>2</sub> 组的抑菌效果优于 30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub> 组。腐败时期, 三个气调包装处理组的菌群结构主要由芽孢杆菌属 (*Bacillus* spp.)、假单胞菌属 (*Pseudomonas* spp.)、链球菌属 (*Streptococcus* spp.)、不动杆菌属 (*Acinetobacter* spp.)、热杀索丝菌属 (*Brochothrix* spp.)、肠杆菌属 (*Enterobacter* spp.)、乳酸菌属 (*Lactobacillus* spp.) 以及嗜冷杆菌属 (*Psychrobacter* spp.) 组成。本研究可为延长气调包装狮子头的货架期提供参考。

**关键词:**气调包装, 即食肉制品, 狮子头, 微生物数量, 菌群结构

中图分类号: TS205

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2021)11-0099-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2020070316

## Analysis of Microbial Counts and Bacterial Community in Modified Atmosphere Packaging Meatballs

LI Ran, ZHU Heyuan, YE Keping\*, ZHOU Guanghong, LI Chunbao

(National Center of Meat Quality and Safety Control/Supervision, Nanjing Agricultural University, College of Food Science and Technology, Inspection and Testing Center for Quality of Meat-products (Nanjing), Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Jiangsu Collaborative Innovation Center of Meat Production and Processing, Quality and Safety Control, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** The fresh meatballs were packed with plastic bag and three modified atmosphere packaging treatments (100% N<sub>2</sub>, 30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub>, 40% CO<sub>2</sub>+60% N<sub>2</sub>). The microbial counts of meatballs and gas composition in headspace of package were measured during storage at 4 ℃. The high-throughput sequencing technology was used to analyze bacterial community of meatballs at the end of storage. Results showed that the 30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub> group and 40% CO<sub>2</sub>+60% N<sub>2</sub> group could restrain the total viable counts, *Pseudomonas*, and *Enterobacter* in meatballs during storage compared with the control group. The 30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub> group obtained a significantly higher total bacterial counts than that of 40% CO<sub>2</sub>+60% N<sub>2</sub> group ( $P<0.05$ ). Hence the antibacterial effect was more remarkable in the 40% CO<sub>2</sub>+60% N<sub>2</sub> group than that of the 30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub> group. In addition, *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Streptococcus* spp., *Acinetobacter* spp., *Brochothrix* spp., *Enterobacter* spp., *Lactobacillus* spp., and *Psychrobacter* spp. were dominated in the bacterial community

收稿日期: 2020-07-27

基金项目: 江苏省农业科技自主创新项目 (CX (18) 2024)。

作者简介: 李冉 (1995-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 畜产品加工与质量安全控制, E-mail: 2018108081@njau.edu.cn。

\* 通信作者: 叶可萍 (1986-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 肉品质量安全控制, E-mail: kpye@njau.edu.cn。

of spoiled meatballs. These findings could be contributed to provide the theoretical foundation for prolonging the shelf life in meatballs.

**Key words:** modified atmosphere packaging; ready-to-eat meat products; meatballs; microbial counts; bacterial community

即食肉制品是指经过部分或完全熟制,不需烹调或只需简单加热就能食用的肉制品<sup>[1-2]</sup>。即食肉制品包括高热处理和低热处理的非腌制和腌制肉制品<sup>[3]</sup>。狮子头作为一种传统的中式即食肉制品,其制作方法与地理区域有关<sup>[4-5]</sup>,因其独特的风味和良好的口感而受到全世界的欢迎<sup>[6-8]</sup>。然而,狮子头中较高的水分活度和丰富的营养物质能够促进微生物生长繁殖,缩短了狮子头的货架期<sup>[9-11]</sup>。目前市售的狮子头主要采用彩袋或塑料袋等相对简单的包装方式,较短的货架期严重制约着狮子头的销售流通和传播发展。

气调包装技术的原理是通过合适的气体组成替换包装内的气体环境,并利用包装材料的阻气性和透气性,使食品始终处于稳定的适宜气体环境中,以抑制微生物的生长繁殖,从而达到延长货架期的目的<sup>[12-13]</sup>。其中,CO<sub>2</sub>和N<sub>2</sub>的混合气体因能抑制大多数微生物生长而特别适合保存熟肉和腌制肉<sup>[14]</sup>。目前关于气调包装在肉及肉制品中的研究主要集中在即食肉制品方面,如牛排<sup>[15]</sup>、卤鸡<sup>[16]</sup>、黄焖鸡<sup>[17]</sup>、酱卤鸭食管<sup>[18]</sup>等肉制品。梁荣蓉等<sup>[17]</sup>研究发现在100% N<sub>2</sub>和80% N<sub>2</sub>+20% CO<sub>2</sub>这两种包装参数下,黄焖鸡产品在冷藏条件下(0~4℃)的货架期能达到28 d,并维持了较好的品质特性和感官特性。然而目前关于气调技术在狮子头中的应用研究鲜有报道,因此本实验选取狮子头作为研究对象,探究其在气调包装贮藏过程中微生物数量的变化情况,以期通过优化气体比例延长狮子头的货架期。

高通量测序技术既能完整覆盖微生物群落,还可根据数百万序列对每个样本中单个操作分类单元的数量进行定量估计,被证明是能精确鉴定微生物种类的有效手段<sup>[12,19]</sup>。Li等<sup>[20]</sup>研究结果表明:肠膜明串珠菌、清酒乳杆菌、弯曲乳杆菌、沙雷菌属、拉恩氏菌属、乳球菌属、梭杆菌属可能是引起培根腐败的优势菌属。目前高通量测序技术在菌群结构的研究方面主要集中在生鲜肉和西式熟肉制品中,鲜有高通量测序技术应用于气调包装传统中式即食肉制品的微生物多样性分析,通过高通量测序技术鉴定腐败时期气调包装中式传统即食肉制品的菌群结构,能够为该类产品的微生物控制提供理论基础。

本实验以狮子头为研究对象,以狮子头原有包装(彩袋包装)作为对照,研究了三种气调包装处理100% N<sub>2</sub>、30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub>、40% CO<sub>2</sub>+60% N<sub>2</sub>对狮子头在0~4℃下贮藏期间微生物品质的变化规律,并采用高通量测序技术研究3种气调包装组狮子头腐败时的菌群结构,探究气调包装对狮子头微生物数量的影响及鉴定气调包装狮子头腐败时期的菌

群结构,为进一步延长气调包装狮子头的货架期提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

狮子头 取自江苏省淮安市苏食肉品有限公司;气调包装托盘包装盒(尺寸224 mm×133 mm×40 mm,透氧率≤10 mL/(m<sup>2</sup>·d)(23℃,0.1 MPa),水蒸气透过率≤15 g/(24 h·m<sup>2</sup>)(38℃,90% RH)、Lid 1050/550Lidstock 塑封包装膜(厚度25.0 μm;主要材质线性低密度聚乙烯,拉伸强度:纵向105 MPa,横向92.9 MPa;透氧率:4.4℃、100% RH条件下低于20.0 mL/(m<sup>2</sup>·d),4.4℃、0% RH条件下低于6.0 mL/(m<sup>2</sup>·d),22.8℃、0% RH条件下低于5.0 mL/(m<sup>2</sup>·d);水蒸气透过率≤1.0 g/(24 h·m<sup>2</sup>)(4.4℃、100% RH);推荐使用温度15~32℃) 美国希悦尔公司;平板计数琼脂(PCA)、乳酸细菌培养基(MRS)、结晶紫中性红胆盐葡萄糖琼脂(VRBGA) 北京陆桥;假单胞菌选择性培养基(CFC)、无菌均质袋 青岛海博;氯化钠 国药集团化学试剂有限公司;土壤DNA基因组提取试剂盒(Omega Biotek公司)、胶回收试剂盒 Axygen 生物科技公司。

OXYBABY6.0 气体成分分析仪 上海众林机电设备有限公司;BagMixer400VW 拍击式均质器 法国 Interscience 公司;SMART500 气调包装机 西班牙 ULMA 公司;HPP260 恒温恒湿箱 德国 Memmert 公司;ABI GeneAmp® PCR 仪 美国 ABI 公司;Quantus™ Fluorometer 荧光定量系统 美国 Promega 公司;Illumina Miseq 测序仪 美国 Illumina 公司;Scan1200 自动影像分析菌落计数仪 法国 Interscience 公司。

### 1.2 试验方法

1.2.1 样品采集、包装与贮藏 从江苏省淮安市苏食肉品有限公司采集200袋新鲜(初始样品为180 g/袋的彩袋密封包装)的狮子头置于冰盒中,3 h内运至实验室。当样品到达实验室时,将样品随机分配和包装在三种气体环境中:Group A:30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub>、Group B:40% CO<sub>2</sub>+60% N<sub>2</sub>、Group C:100% N<sub>2</sub>。所有的样品贮藏在4℃的恒温恒湿箱中,取样时间点为:0、3、6、9、12、15、18 d,每组样品设置三个重复。

1.2.2 包装袋顶空气体比例的测定 参考 Guo 等<sup>[21]</sup>的方法并稍作修改,通过 Oxybaby 6.0i 气体成分分析仪测定三组狮子头包装内的顶空气体组成。将气体比例测定仪的探头插入不同处理组的气调包装盒中,气调包装盒内顶空 CO<sub>2</sub> 以及 O<sub>2</sub> 的含量显示在测定仪的屏幕上。

1.2.3 狮子头微生物数量的测定 菌落总数的测定参照 GB4789.2-2016《食品微生物学检验 菌落总数测定》方法进行; 在无菌环境下从每组样品中随机剪取 25 g 肉样, 剪碎放入含 225 mL 灭菌生理盐水 (0.85%) 的无菌采样袋中, 采样袋在均质器中中速均质 2 min, 随后按照 10 倍梯度稀释到所需要的稀释度。从稀释液中选取合适的梯度, 取 1 mL 稀释液置于无菌培养皿中, 倒入 15 mL 左右的 PCA 培养基, 混合均匀后冷却至培养基凝固, 将凝固的培养基置于 37 °C 培养箱中培养 48 h 计数。取 1 mL 稀释液置于无菌培养皿中, 倒入 15 mL 左右的 CFC 培养基, 混合均匀后冷却至培养基凝固, 将凝固的培养基置于 25 °C 培养箱中培养 48 h 计数。取 1 mL 稀释液置于无菌培养皿中, 倒入 15 mL 左右的 VRBGA 培养基, 混合均匀后冷却至培养基凝固, 将凝固的培养基置于 37 °C 培养箱中培养 48 h 计数。微生物数量以 lg(CFU/g) 表示。

1.2.4 DNA 提取及高通量测序 参考赵嘉越等<sup>[14]</sup>的方法并做适当的修改, 选取腐败时的样品提取细菌总 DNA 并通过 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。对细菌的 16S rDNA 的 V3-V4 区设计特异引物并进行 PCR 扩增, 特异性引物为 338F (5'-ACTCCTACG GGAGGCAGCA-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGG TWTCTAAT-3'), PCR 反应体系为: 5×FastPfu Buffer 4 μL, 2.5 mmol/L dNTPs 2 μL, 上游和下游引物 (5 μmol/L) 各 0.8 μL, FastPfu DNA 聚合酶 (2.5 U/μL) 0.4 μL, 模板 DNA 10 ng, 重蒸水补足至 20 μL。PCR 反应参数为: 98 °C 预变性 2 min, 进入热循环; 98 °C 变性 15 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 27 个循环; 最后一个延伸为 72 °C、5 min。将 PCR 产物用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 使用凝胶回收试剂盒 (AXYGEN 公司) 切胶回收 PCR 产物, 并用 QuantiFluor™ -ST 蓝色荧光定量系统进行检测定量, 将 PCR 产物通过 Illumina MiSeq PE250 平台进行 DNA 测序。

### 1.3 数据处理与分析

显著性差异分析使用 SAS 软件的 Duncan's 多重比较进行分析, 当  $P < 0.05$  时认为有显著性差异;

当  $P < 0.01$  时认为有极显著性差异。采用 GraphPad Prism 5 软件绘图。将 Illumina PE250 测序得到的 PE reads 首先根据 overlap 关系进行拼接, 同时对序列质量进行质控和过滤, 区分样本后进行物种分类学分析, 基于分类学信息, 可以在各个分类水平上进行群落结构的统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 狮子头贮藏过程中包装内顶空 CO<sub>2</sub> 和 O<sub>2</sub> 含量变化

由图 1 可知, 贮藏过程中, 气调包装处理组的顶空 CO<sub>2</sub> 含量波动变化, 而对照组的顶空 CO<sub>2</sub> 含量稳定不变。这可能是处理组和对照组之间微生物代谢活动不同导致的。30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub> 在前 6 d 的贮藏过程中, 顶空 CO<sub>2</sub> 含量不断减少, 第 9 d 时 CO<sub>2</sub> 含量迅速增加然后不断减少。在前 12 d 的贮藏过程中, 40% CO<sub>2</sub>+60% N<sub>2</sub> 的顶空 CO<sub>2</sub> 含量不断减少, 随后略有增加, 在贮藏末期时降至 30%。100% N<sub>2</sub> 在第 6 d 时, 顶空 CO<sub>2</sub> 含量突然增加, 在第 9 d 时达到最大值, 在贮藏末期顶空 CO<sub>2</sub> 含量不断减少, 直至接近 0。气调包装处理组的氧气含量始终为 0, 而对照组中的氧气含量不断减少。这是因为存在于肉制品中的细菌主要为好氧菌或兼性厌氧菌, 细菌在生长代谢过程中会不断消耗氧气, 从而导致对照组顶空内的氧气含量不断减少。

### 2.2 狮子头贮藏过程中微生物数量变化

在贮藏过程中, 样品中菌落总数、假单胞菌 (*Pseudomonas*) 数、肠杆菌 (*Enterobacteriaceae*) 数的变化情况如图 2 所示。样品包装后的初始菌落总数在 3.5 (lg(CFU/g)) 左右, 在贮藏过程中, 样品的菌落总数随着贮藏时间的增加而增加。贮藏 15 d 时, 30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub> 组和 40% CO<sub>2</sub>+60% N<sub>2</sub> 的菌落总数显著低于对照组 ( $P < 0.05$ ), 40% CO<sub>2</sub>+60% N<sub>2</sub> 的菌落总数显著低于 30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub> 组 ( $P < 0.05$ ), 而 100% N<sub>2</sub> 组与对照组的菌落总数没有显著性差异 ( $P > 0.05$ )。在 15 d 时, 30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub> 组、100% N<sub>2</sub> 组以及对照组的菌落总数超过 6 lg, 而 40% CO<sub>2</sub>+60% N<sub>2</sub> 的菌落总数仍在 6 lg 范围之内。我国《NYT 2073-2011 调理肉制品加工技术规范》中规定

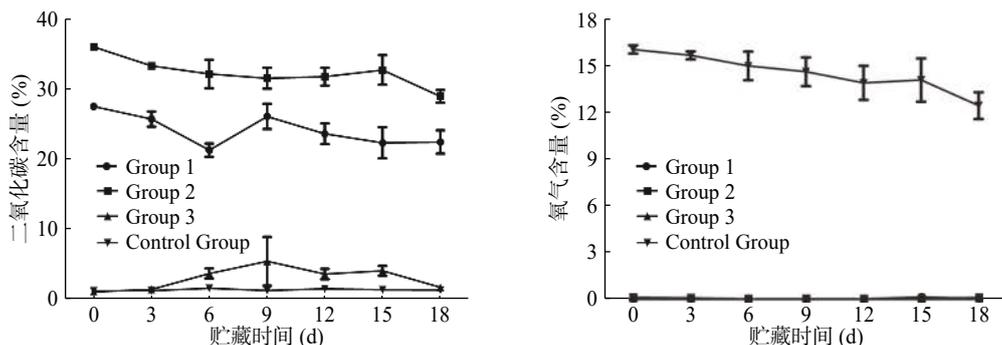


图 1 狮子头贮藏过程中包装内顶空 CO<sub>2</sub> 和 O<sub>2</sub> 含量变化图

Fig.1 Changes of CO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> contents in headspace of packages during storage

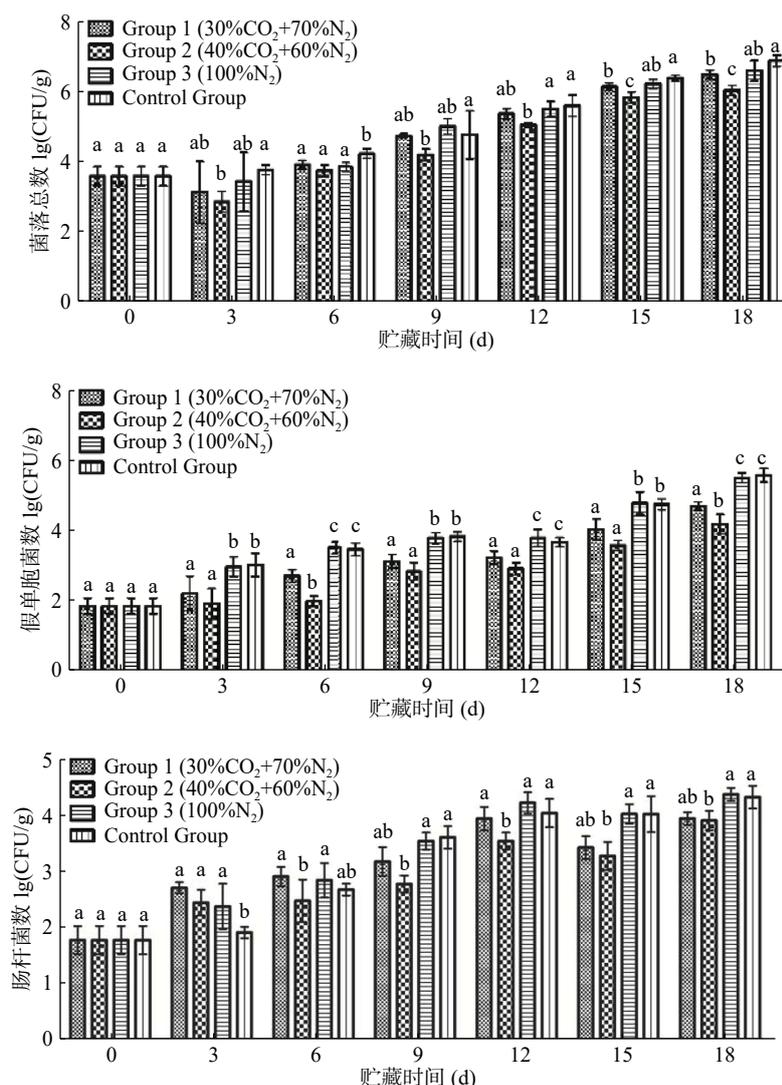


图2 狮子头贮藏过程中微生物数量的变化图

Fig.2 Changes of the microbial counts in meatballs during storage

注: 不同小写字母表示相同贮藏时间不同处理组之间的差异显著( $P < 0.05$ )。

的菌落总数最高安全限量为  $6(\lg(\text{CFU/g}))$ ( $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  条件下), 说明 15 d 时,  $30\% \text{CO}_2+70\% \text{N}_2$  组、 $100\% \text{N}_2$  组和对照组的样品已经完全腐败。18 d 时,  $40\% \text{CO}_2+60\% \text{N}_2$  组的菌落总数在  $6 \lg$  范围内, 因此  $40\% \text{CO}_2+60\% \text{N}_2$  组能够将狮子头的货架期延长 3 d。对于假单胞菌来说, 贮藏 3~18 d 时,  $30\% \text{CO}_2+70\% \text{N}_2$  组和  $40\% \text{CO}_2+60\% \text{N}_2$  的假单胞菌数均显著低于对照组和  $100\% \text{N}_2$  组 ( $P < 0.05$ ), 而  $100\% \text{N}_2$  组与对照组的假单胞菌数没有显著性差异 ( $P > 0.05$ )。  $40\% \text{CO}_2+60\% \text{N}_2$  组的肠杆菌数在贮藏末期显著低于  $30\% \text{CO}_2+70\% \text{N}_2$  组,  $100\% \text{N}_2$  组和对照组 ( $P < 0.05$ ), 而  $30\% \text{CO}_2+70\% \text{N}_2$  组,  $100\% \text{N}_2$  组和对照组的肠杆菌数在贮藏末期没有显著性差异 ( $P > 0.05$ )。本实验研究发现, 气调包装技术的抑菌作用随着  $\text{CO}_2$  含量的增加而增强。气调包装是在包装中充入  $\text{CO}_2$ 、 $\text{O}_2$  和  $\text{N}_2$  等保护气体来抑制食品中微生物的生长繁殖, 从而延长食品货架期的一种绿色包装方式<sup>[22]</sup>。其中,  $\text{CO}_2$  是使气调包装具有抑菌作

用的重要气体成分,  $\text{CO}_2$  溶于水形成的碳酸能够破坏细菌的细胞膜, 降低胞内 pH 并裂解细胞, 最终抑制微生物的代谢活动<sup>[13]</sup>。

### 2.3 气调包装狮子头优势腐败菌的分析

从 2.2 的微生物结果可知:  $40\% \text{CO}_2+60\% \text{N}_2$  组在菌落总数、假单胞菌数、肠杆菌数以及乳酸菌属上的抑菌效果优于  $30\% \text{CO}_2+70\% \text{N}_2$  组和  $100\% \text{N}_2$  组, 在 18 d 时, 三个处理组样品均已接近腐败, 而 18 d 的贮藏期限严重缩小了狮子头的销售和流通范围, 制约了企业在调理肉制品领域的经济效益。因此, 实验选取贮藏末期的气调包装狮子头测定其菌群结构, 从而为优势腐败菌的筛选提供参考, 最终选取合适的杀菌技术来靶向抑制优势腐败菌的生长繁殖, 延长狮子头的货架期。图 3 表示贮藏末期三个处理组的菌群结构, 在门水平上, 三个处理组的优势菌门均为厚壁菌门(Firmicutes)和变形菌门(Proteobacteria)。其中厚壁菌门在  $100\% \text{N}_2$  组、 $30\% \text{CO}_2+70\% \text{N}_2$  组和  $40\% \text{CO}_2+60\% \text{N}_2$  组的丰度值分别为 19.75%、

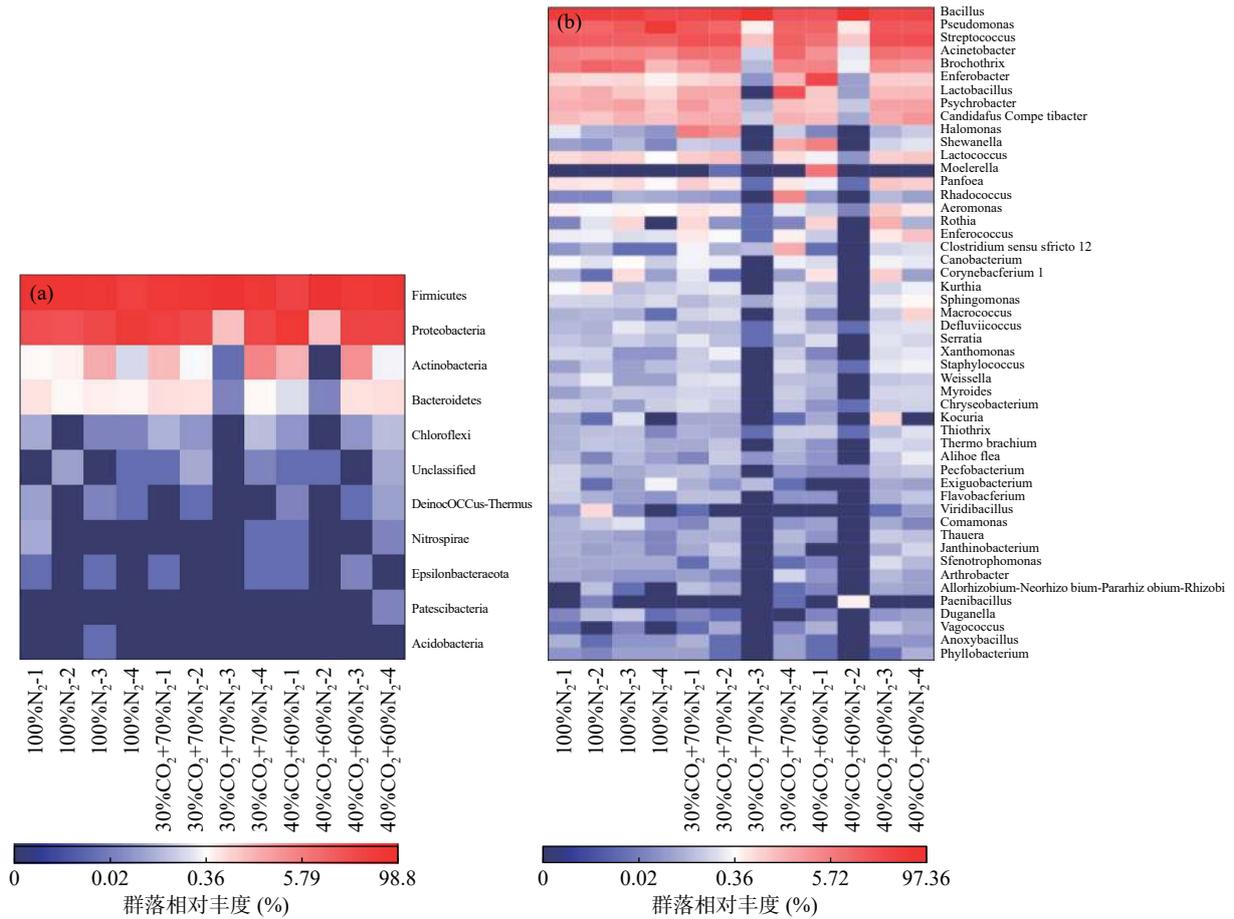


图 3 腐败时期气调包装狮子头门水平(a)和属水平(b)细菌群落分析

Fig.3 Analysis of the bacterial community at the phyla level(a)and at the genus level(b)of the modified atmosphere packaging meatballs during spoilage period

32.69%、32.13%。变形菌门在 100% N<sub>2</sub> 组、30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub> 组和 40% CO<sub>2</sub>+60% N<sub>2</sub> 组的丰度值分别为 12.38%、7.24%、13.28%。在属水平上,三个处理组的菌群结构主要由芽孢杆菌属(*Bacillus* spp.)、假单胞菌属(*Pseudomonas* spp.)、链球菌属(*Streptococcus* spp.)、不动杆菌属(*Acinetobacter* spp.)、热杀索丝菌属(*Brochothrix* spp.)、肠杆菌属(*Enterobacter* spp.)、乳酸菌属(*Lactobacillus* spp.)以及嗜冷杆菌属(*Psychrobacter* spp.)组成。其中芽孢杆菌属在 100% N<sub>2</sub> 组、30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub> 组和 40% CO<sub>2</sub>+60% N<sub>2</sub> 组的丰度值分别为 11.69%、27.27%、26.56%。假单胞菌属在 100% N<sub>2</sub> 组、30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub> 组和 40% CO<sub>2</sub>+60% N<sub>2</sub> 组的丰度值分别为 6.16%、2.18%、3.36%。链球菌属在 100% N<sub>2</sub> 组、30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub> 组和 40% CO<sub>2</sub>+60% N<sub>2</sub> 组的丰度值分别为 4.39%、3.04%、3.68%。不动杆菌属在 100% N<sub>2</sub> 组、30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub> 组和 40% CO<sub>2</sub>+60% N<sub>2</sub> 组的丰度值分别为 1.46%、3.04%、1.51%。热杀索丝菌属在 100% N<sub>2</sub> 组、30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub> 组和 40% CO<sub>2</sub>+60% N<sub>2</sub> 组的丰度值分别为 2.52%、0.67%、0.98%(图 4)。

### 3 讨论

贮藏过程中,气调包装处理组的顶空 CO<sub>2</sub> 含量

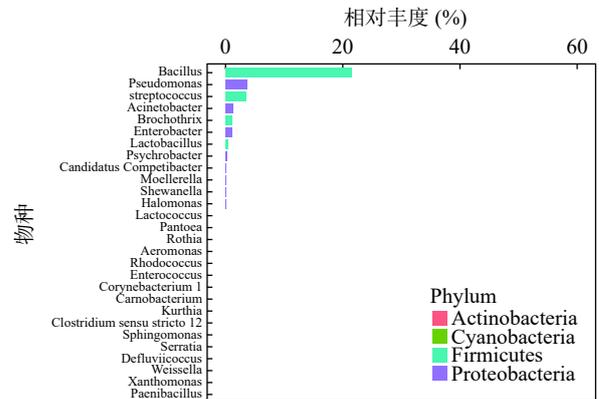


图 4 腐败时期气调包装狮子头优势腐败菌的组成图

Fig.4 Composition of dominant spoilage bacteria in modified atmosphere packaging meatballs during spoilage period

波动变化,而对照组的顶空 CO<sub>2</sub> 含量稳定不变。这可能是由于处理组和对照组之间微生物代谢活动不同的缘故。Ye 等<sup>[23]</sup>研究发现贮藏过程中顶空 CO<sub>2</sub> 含量在卤鸭翅包装中波动变化,这与本研究结果一致。但 Zhai 等<sup>[24]</sup>比较盐水鸭在气调包装和正常包装条件下的货架期时发现,样品包装内顶空 CO<sub>2</sub> 含量在贮藏过程中不断减少,这与本研究结果不同。这可能是由于样品差异导致贮藏过程中顶空 CO<sub>2</sub> 含量在不同样品中变化规律不同的缘故。具体

机理有待于今后进一步探讨。

本研究发现:在贮藏末期,30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub>组和40% CO<sub>2</sub>+60% N<sub>2</sub>组的菌落总数、假单胞菌数均显著低于对照组( $P<0.05$ ),这与之前的研究结果一致<sup>[15]</sup>。40% CO<sub>2</sub>+60% N<sub>2</sub>组的菌落总数、假单胞菌数、乳酸菌数显著低于30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub>组( $P<0.05$ ),这说明包装中CO<sub>2</sub>含量越高,抑菌效果越好。张新笑等<sup>[12]</sup>在研究不同CO<sub>2</sub>比例气调对冷鲜鸡肉中荧光假单胞菌的抑制作用时发现:荧光假单胞菌总数、挥发性盐基氮和腐胺含量随着贮藏时间延长而上升,随二氧化碳体积分数的升高而下降,这与我们的研究结果一致。但Sivertsvik<sup>[25]</sup>研究认为:当CO<sub>2</sub>含量超过50%时,肉类包装在储藏过程中会出现凹陷,降低产品的外观可接受度。

对腐败时三组气调包装样品进行菌群结构分析,发现三个处理组菌群结构主要由芽孢杆菌属(*Bacillus* spp.)、假单胞菌属(*Pseudomonas* spp.)、链球菌属(*Streptococcus* spp.)、不动杆菌属(*Acinetobacter* spp.)、热杀索丝菌属(*Brochothrix* spp.)、肠杆菌属(*Enterobacter* spp.)、乳酸菌属(*Lactobacillus* spp.)以及嗜冷杆菌属(*Psychrobacter* spp.)组成。张志刚等<sup>[26]</sup>在分析低温狮子头冷藏过程中的品质变化规律时发现:冷藏末期狮子头中的优势菌群为梭状芽孢杆菌属和类芽孢杆菌属,这与本研究结果一致。其他菌属也曾在多种气调包装肉制品的菌群结构中发现,如气调包装(70% O<sub>2</sub>+30% N<sub>2</sub>)盐水鹅的菌群结构由假单胞菌(52.5%)、肠杆菌(31.1%)和热杀索丝菌(12.4%)构成<sup>[27]</sup>。气调包装(25% CO<sub>2</sub>+75% N<sub>2</sub>)酱卤鸭食管的优势腐败菌主要有副黄假单胞菌、特基拉芽孢杆菌、肉芽肿克雷伯氏菌和香坊肠杆菌<sup>[16]</sup>。气调包装(30% CO<sub>2</sub>+70% O<sub>2</sub>)生香肠的优势腐败菌主要有热杀索丝菌、乳酸菌等菌属<sup>[4]</sup>。

芽孢杆菌属(*Bacillus* spp.)、假单胞菌属(*Pseudomonas* spp.)、肠杆菌属(*Enterobacter* spp.)、热杀索丝菌属(*Brochothrix* spp.)经常在包装肉制品的腐败末期检测到,在多篇研究中证明参与肉制品的腐败过程,出现异味<sup>[28]</sup>、胀袋<sup>[29]</sup>、变色<sup>[30]</sup>等感官缺陷。最近的研究表明,不动杆菌属(*Acinetobacter* spp.)是食品服务环境中的主要微生物种类之一,如预处理表面、储藏间和厨房等<sup>[31]</sup>,这可能是气调包装样品中贮藏末期不动杆菌属丰度高的原因。Esmer<sup>[32]</sup>、Gill等<sup>[33]</sup>研究证实,假单胞菌属是肉及肉制品中主要优势腐败菌属,它通过利用肉及肉制品中的葡萄糖和蛋白质,加速其自身的增殖和代谢,从而产生具有异味的含硫化合物、酯类和酸类。虽然假单胞菌属是好氧菌,但在多篇研究中证实了假单胞菌属在无氧的气调环境下能够生长繁殖<sup>[32]</sup>。芽孢杆菌是一种常见的革兰氏阳性菌,其中部分好氧菌或兼性厌氧菌可以利用蛋白质、多糖及淀粉,分解色氨酸形成具有异味的挥发性化合物。

## 4 结论

与对照组相比,30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub>和40% CO<sub>2</sub>+60% N<sub>2</sub>气调包装组能够抑制狮子头贮藏过程中菌落总数、假单胞菌属、肠杆菌属的生长繁殖,其中40% CO<sub>2</sub>+60% N<sub>2</sub>组在狮子头贮藏过程中微生物的控制方面效果更加明显。高通量测序技术鉴定狮子头贮藏末期的菌群结构结果显示,三个处理组的菌群结构主要由芽孢杆菌属(*Bacillus* spp.)、假单胞菌属(*Pseudomonas* spp.)、链球菌属(*Streptococcus* spp.)、不动杆菌属(*Acinetobacter* spp.)、热杀索丝菌属(*Brochothrix* spp.)、肠杆菌属(*Enterobacter* spp.)、乳酸菌属(*Lactobacillus* spp.)以及嗜冷杆菌属(*Psychrobacter* spp.)组成。Lefse差异分析表明三个处理组之前的菌群结构没有显著差异。本研究结果为企业开发延长气调包装狮子头货架期技术提供参考。

## 参考文献

- [1] 张志刚,林祥木,胡涛,等.即食肉制品微生物污染及其控制技术进展[J].肉类研究,2020,34(1):94-102.
- [2] 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.
- [3] 王文洁,赵电波,李可,等.非热杀菌技术在即食肉制品中的应用研究进展[J].肉类研究,2019,33(10):69-75.
- [4] Raimondi S, Nappi M R, Sirangelo T M, et al. Bacterial community of industrial raw sausage packaged in modified atmosphere throughout the shelf life[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2018, 280: 78-86.
- [5] Liu R, Wang N, Li Q, et al. Comparative studies on physicochemical properties of raw and hydrolyzed oat  $\beta$ -glucan and their application in low-fat meatballs[J]. *Food Hydrocolloids*, 2015, 51: 424-431.
- [6] Ran M, Chen C Y, Li C Q, et al. Effects of replacing fat with *Perilla* seed on the characteristics of meatballs[J]. *Meat Science*, 2015: 161.
- [7] Morsy M K, Mekawi E, Elsabagh R. Impact of pomegranate peel nanoparticles on quality attributes of meatballs during refrigerated storage[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2018, 89: 489-495.
- [8] Oz F, Cakmak I H. The effects of conjugated linoleic acid usage in meatball production on the formation of heterocyclic aromatic amines[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2016, 65: 1031-1037.
- [9] Turp G Y. Effects of four different cooking methods on some quality characteristics of low fat Inegol meatball enriched with flaxseed flour[J]. *Meat Science*, 2016, 121: 40-46.
- [10] Turgut S S, Soyer A, Işıkçı F. Effect of pomegranate peel extract on lipid and protein oxidation in beef meatballs during refrigerated storage[J]. *Meat Science*, 2016, 161: 126-132.
- [11] İncili G K, Karatepe P, İlhak O İ. Effect of chitosan and *Pediococcus acidilactici* on *E. coli* O157: H7, *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* in meatballs[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2020: 117.

- [ 12 ] 张新笑, 章彬, 卞欢, 等. 不同二氧化碳比例气调对冷鲜鸡肉中荧光假单胞菌的抑制作用[J]. *食品科学*, 2018, 39(13): 266–271.
- [ 13 ] 席丽琴, 杨君娜, 许随根, 等. 肉及肉制品气调包装技术研究进展[J]. *肉类研究*, 2019, 33(9): 64–68.
- [ 14 ] 赵嘉越, 罗欣, 杨啸吟, 等. 气调包装对烤鸭腿货架期及生物多样性的影响[J]. *食品科学*, 2019, 40(9): 272–280.
- [ 15 ] 杨鸿博, 杨啸吟, 张一敏, 等. 包装方式对牛排贮藏期间微生物数量和演替的影响[J]. *食品科学*, 2020. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20200831.1335.032.html>.
- [ 16 ] 秦安澜, 张铭凯, 易阳. 气调包装对卤鸡冷藏品质的影响[J]. *食品科技*, 2020(7): 137–142.
- [ 17 ] 梁荣蓉, 刘璐, 翟朝宇. 黄焖鸡气调包装保鲜技术[J]. *食品与发酵工业*, 2018, 44(12): 188–193.
- [ 18 ] 李德红, 祝传海, 岳晓霞, 等. 气调包装酱卤鸭食管冷藏期间理化指标变化及优势腐败菌的分离鉴定[J]. *肉类研究*, 2019, 33(9): 59–63.
- [ 19 ] Polka J, Rebecchi A, Pisacane V, et al. Bacterial diversity in typical Italian salami at different ripening stages as revealed by high-throughput sequencing of 16S rRNA amplicons[J]. *Food Microbiology*, 2015, 46: 342–356.
- [ 20 ] Li X F, Li C, Ye H, et al. Changes in the microbial communities in vacuum-packaged smoked bacon during storage[J]. *Food Microbiology*, 2019, 77: 26–37.
- [ 21 ] Guo Y C, Huang J C, Sun X B, et al. Effect of normal and modified atmosphere packaging on shelf life of roast chicken meat[J]. *Journal of Food Safety*, 2018, 38: 12493.
- [ 22 ] 范萌, 惠腾, 刘毅, 等. 包装材料与方式对熟肉制品贮藏品质的影响[J]. *食品科技*, 2017, 42(11): 126–130.
- [ 23 ] Ye K P, Jiang J, Wang Y F, et al. Microbial analysis of modified atmosphere packaging pot-stewed duck wings under different conditions during 15 °C storage[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2017, 54(5): 1073–1079.
- [ 24 ] Zhai Y, Huang J C, Khan I A, et al. Shelf life of boiled salted duck meat stored under normal and modified atmosphere[J]. *Food Microbiology & Safety*, 2018, 83(1): 147–152.
- [ 25 ] Sivertsvik M, Rosnes J T, Bergslien H, et al. Modified atmosphere packaging[J]. *Postharvest Biology & Technology*, 2002, 8: 237–238.
- [ 26 ] 张志刚, 林祥木, 胡涛, 等. 低温狮子头冷藏过程品质变化规律[J]. *肉类研究*, 2020, 34(2): 73–79.
- [ 27 ] 张元嵩, 蒋云升, 崔杨晨, 等. 气调包装盐水鹅优势菌的初步研究[J]. *现代食品*, 2018(21): 192–196.
- [ 28 ] Casaburi A, Piombino P, Villani F, et al. Bacterial populations and the volatilome associated to meat spoilage[J]. *Food Microbiology*, 2015, 45: 83–102.
- [ 29 ] Li R, Cai L L, Gao T X, et al. Comparing the quality characteristics and bacterial communities in meatballs with or without blown pack spoilage[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2020, 130: 109529.
- [ 30 ] Säde E, Murros A, Björkroth J. Predominant *Enterobacteria* on modified-atmosphere packaged meat and poultry[J]. *Food Microbiology*, 2013, 34: 252–258.
- [ 31 ] Wang H H, Zhang X X, Wang G Y, et al. Bacterial community and spoilage profiles shift in response to packaging in yellow-feather broiler, a highly popular meat in Asia[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 2588.
- [ 32 ] Esmer O K, Irkin R, Degirmencioglu N, et al. The effects of modified atmosphere gas composition on microbiological criteria color and oxidation values of minced beef meat[J]. *Meat Science*, 2011, 88(2): 221–226.
- [ 33 ] Gill C O. Extending the storage life of raw chilled meats[J]. *Meat Science*, 1996, 43S1(12): 99–109.