

# 北京烤鸭加工过程中菌相变化规律及其特征

任琳, 赵冰, 赵燕, 陈文华, 李家鹏, 荣慧, 张春江, 乔晓玲\*  
(中国肉类食品综合研究中心, 北京 100068)

**摘要:** 应用微生物选择性培养并结合细菌系统鉴定的方法对北京烤鸭加工过程中的菌相变化规律及其特征进行分析和研究。结果显示: 乳酸菌是整个加工过程中的主要微生物为3.41~5.97(lg(CFU/g)), 受温度影响较小; 假单胞菌属在加工前期(解冻、清洗)分别是4.77(lg(CFU/g))和4.39(lg(CFU/g)), 为仅次于乳酸菌的主要微生物, 受温度影响较大; 肠杆菌科在加工中期(烫皮、晾挂)与乳酸菌达到相同数量级分别是3.18(lg(CFU/g))和5.96(lg(CFU/g)), 成为仅次于乳酸菌的主要微生物。烤鸭的烫皮、烤制工序能有效降低各类菌的含量, 灭菌后菌含量低于1.00(lg(CFU/g)); 晾挂工序是整个加工过程中微生物出现增长的阶段, 各类菌的数值在4.29~6.36(lg(CFU/g)), 因此需严格控制晾挂的温度、湿度和时间, 以确保产品的安全性。本研究表明, 乳酸菌、假单胞菌属和肠杆菌科是北京烤鸭加工过程中的主要微生物。

**关键词:** 菌相变化; 选择性培养; 鉴定; 北京烤鸭

## Microflora Variation and Characteristics of Beijing Roast Duck during Processing

REN Lin, ZHAO Bing, ZHAO Yan, CHEN Wen-hua, LI Jia-peng, RONG Hui, ZHANG Chun-jiang, QIAO Xiao-ling\*  
(China Meat Research Center, Beijing 100068, China)

**Abstract:** The microflora variation and characteristics of Beijing roast duck at different stages of production were analyzed by the traditional selective culture and microflora systematic identification. The results indicated that lactic acid bacteria were the most dominant microorganisms during the entire process (3.41—5.97 (lg(CFU/g)) and influenced little by temperature followed by *Pseudomonas* spp. during the early stages (thawing and cleaning), which was greatly influenced by temperature, or *Enterobacteriaceae* spp., which reached the same order of magnitude as lactic acid bacteria (3.18 (lg(CFU/g)) and 5.96 (lg(CFU/g)), respectively) during the middle stages (skin blanching and natural air drying). The populations of various bacterial species declined to a level lower than 1.00 (lg(CFU/g)) during skin blanching and roasting. Bacterial growth was observed only at the stage of natural air drying during the whole production process, and the populations of various bacterial species ranged from 4.29 to 6.36 (lg(CFU/g)). Accordingly, temperature, humidity and drying time should be strictly controlled to ensure food safety. This study demonstrates that lactic acid bacteria, *Pseudomonas* spp. and *Enterobacteriaceae* spp. are dominant in Beijing roast duck during various stages of processing.

**Key words:** microflora variation; traditional selective culture; identification; Beijing roast duck

中图分类号: TS201.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)01-0281-04

烤鸭是我国熏烧焙烤肉制品的典型代表之一, 根据加工工艺的不同, 主要分为挂炉烤鸭和焖炉烤鸭两大类<sup>[1]</sup>。全国各地都有烤鸭的制作方法<sup>[2-4]</sup>, 其中北京烤鸭由于其鲜嫩适度、肥瘦分明、味道醇厚蜚声海内外, 深受消费者喜爱<sup>[5]</sup>。2011年北京出现的“黑心烤鸭”事件<sup>[6]</sup>引起了社会的广泛关注。由于肉制品的品质变化可以由不同的原料选择、生产工艺以及微生物菌相等多种内外因素共同作用引发<sup>[7]</sup>, 原料肉中的初始微生物由许多种构成<sup>[8]</sup>, 而微生物是造成安全隐患的重要因素之一。因此, 了解

和研究烤鸭从原料到成品的加工过程中菌相的变化规律是保证产品质量安全以及改良烤鸭品质的基础。

目前, 国内有冷却肉<sup>[9-11]</sup>、腊肉<sup>[12]</sup>和块状火腿<sup>[13]</sup>加工过程以及烧鸡<sup>[14]</sup>、盐水鸭<sup>[15]</sup>和低温熏煮香肠<sup>[16]</sup>等肉制品贮藏过程中腐败微生物初始菌相及其变化规律的研究。但针对熏烧焙烤肉制品如烤鸭产品的研究主要集中在烤鸭的制作工艺<sup>[2-4]</sup>、风味<sup>[17-18]</sup>以及有害物检测<sup>[19-20]</sup>等方面, 而贯穿其从原料到成品加工过程中菌相变化规律的分析 and 鉴定还尚未有相关深入的研究。因此, 本实验通过对北京

收稿日期: 2012-08-28

基金项目: 国家质量监督检验检疫总局质检公益性行业科研专项(201110209)

作者简介: 任琳(1981—), 女, 工程师, 硕士, 研究方向为肉类食品安全。E-mail: renlin7684@sina.com

\*通信作者: 乔晓玲(1964—), 女, 教授级高工, 本科, 研究方向为肉品加工技术。E-mail: cmrcsen@126.com

烤鸭加工过程中菌相变化规律的分析及其特征研究,为进一步改善烤鸭加工工艺、延长产品货架期、制修定烤鸭产品的风险评估、标准和操作规范提供基础数据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料、试剂与培养基

北京烤鸭由中国肉类食品综合研究中心实验厂车间当天生产的,取样后立即进行菌相分析。

革兰氏染液、1%盐酸二甲基对苯二胺、10%过氧化氢、凡士林、液体石蜡(均为分析纯) 北京化学试剂公司。

平板计数琼脂、MRS培养基、MSA琼脂、VRBD琼脂、PSA培养基、孟加拉红培养基、休和利夫森二氏Hugh-Leifson培养基(O/F培养基)、索恩利Thornley培养基北京陆桥技术有限责任公司。

### 1.2 仪器与设备

202A-0恒温干燥箱 上海和盛有限公司; SL502N型电子天平 上海民桥精密科学仪器有限公司; 生物安全柜 新加坡Esco公司; BH-2型生物显微镜 日本Olympus公司; F1-45型恒温培养箱、G154DWS湿热灭菌锅、FSP-625型干热灭菌箱 日本三洋公司; pH计 德国Ebro公司。

### 1.3 方法

烤鸭加工工艺流程:原料解冻→清洗→烫皮→晾挂→烤制→真空包装→灭菌。

主要参数:解冻5℃,清洗8℃,烫皮100℃、2s;晾挂,先4℃,14h,再18℃,3h;烤制150℃,30min;灭菌121℃,40min。

将烤鸭的每一步加工工艺作为取样点,样品处理方法参照GB/T 4789.2—2010《食品卫生微生物学检验 菌落总数测定》<sup>[21]</sup>。

菌相变化分析:采用选择性培养基对烤鸭加工过程中的细菌总数、乳酸菌、葡萄球菌和微球菌、肠杆菌科、假单胞菌属以及酵母和霉菌进行平板计数。具体培养基和培养条件如表1所示。

表1 北京烤鸭加工过程中各类菌的培养基及培养条件

Table 1 Selective media and incubation conditions used for bacterial isolation from Beijing roast duck

菌名称	培养基	培养温度/℃	培养时间
细菌总数	平板计数琼脂	37	48h
乳酸菌	MRS培养基	37	48h
葡萄球菌和微球菌	MSA琼脂	37	48h
肠杆菌科	VRBD琼脂	37	48h
假单胞菌属	PSA培养基	30	48h
酵母和霉菌	孟加拉红培养基	25	5d

主要微生物的分离:从烤鸭加工过程中主要微生物的选择性培养基上挑取特征典型的菌落,进行反复划线分离,得到纯化的单菌落。

主要微生物的特征分析与初步鉴定:观察并详细记录已分离纯化的单个菌落的大小、形态、隆起程度、边缘结构、表面形态、光泽度、透明度、质地及颜色等菌落形态特征;挑取菌落进行革兰氏染色,观察并描述各类菌的细胞形状、胞间排列方式等;进行生长温度、耐盐性、氧化酶、过氧化氢酶、葡萄糖氧化发酵和精氨酸双水解等生理生化实验,根据Brown<sup>[22]</sup>推荐的肉品中微生物鉴定图谱,并结合《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[23]</sup>鉴定主要微生物的科和属。

## 2 结果与分析

### 2.1 烤鸭加工过程中的菌相变化分析

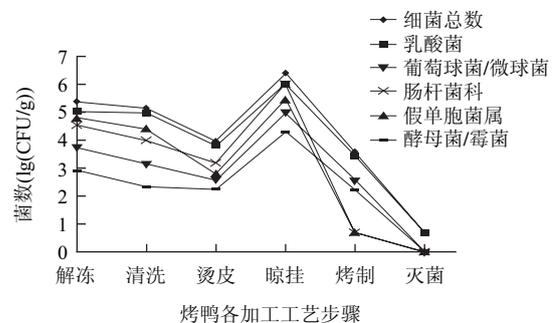


图1 北京烤鸭加工过程中的菌相变化规律

Fig.1 Microflora variation in Beijing roast duck during processing

由图1可知,各种菌的变化趋势基本一致。经过清洗和烫皮工序后,各种菌逐渐减少,数值在2.24~5.11(lg(CFU/g));晾挂后,各种菌数值上升,为4.29~6.36(lg(CFU/g));经过烤制后,各种菌数大幅下降,在0.70~3.57(lg(CFU/g));灭菌后,菌数低于1.00(lg(CFU/g))。其中,在烫皮、烤制和灭菌步骤中,各目标菌的数值降低,这是由于在这些加工工序中,温度均达到100℃及以上,分别是100、150、121℃。较高温度使得微生物中的蛋白质发生变性,一些酶失活<sup>[24]</sup>,从而可以有效杀死各类菌。而晾挂工序使得各目标菌的数值上升,是由于晾挂工序中的相对湿度为80%~90%,在本实验所取的样品生产过程中为达到烤鸭表皮干燥的效果,需要在4℃和18℃的条件下晾挂14~17h。由于肉制品的菌相变化与水分含量和水分活度的变化息息相关,相关性在95%以上<sup>[25]</sup>。因此,较大的相对湿度以及较长的操作时间有利于各类菌的生长繁殖,这可能是造成晾挂工序中各类菌数值升高的原因。

另外,从图1中还可以看出:在解冻、清洗、烫皮、晾挂和烤制过程中,细菌总数在3.57~6.36(lg(CFU/g)),灭菌后细菌总数<1.00(lg(CFU/g))。目前在食品工业中,热处理仍然是最简便易行的杀菌方法之一<sup>[26-28]</sup>。烤鸭的灭菌采用的是高温高压(121℃,40min)灭菌方式,食品经过

表2 北京烤鸭加工过程中主要微生物的初步鉴定结果  
Table 2 Results of primary identification of dominant microorganisms in Beijing roast duck

菌株来源	M-1 MRS培养基	M-2 MRS培养基	P-1 PSA培养基	P-2 PSA培养基	V-1 VRBD培养基
菌落描述	乳白色, 扁平, 稍隆, 圆形, 边缘整齐, 湿润, 黏稠, 有光泽, 不透明	黄白色, 较小, 圆形, 边缘整齐, 湿润, 黏稠, 有光泽, 不透明	米黄色, 中央隆起, 圆形, 光滑, 奶油状, 半透明, 边缘整齐	白色, 圆形, 湿润, 稍隆起, 有光泽, 奶油状, 半透明, 边缘整齐	菌落较大, 红色, 中间有紫色沉淀, 湿润, 圆形, 扁平, 表面褶皱, 半透明
革兰氏染色	G <sup>+</sup>	G <sup>+</sup>	G <sup>-</sup>	G <sup>-</sup>	G <sup>-</sup>
细胞形态	杆状	球形, 短链	杆状, 短直	杆状, 较短	杆状, 较小且密
氧化酶	阴性	阴性	阳性	阳性	阴性
接触酶	阴性	阴性	阳性	阳性	ND
30℃生长	生长良好	生长良好	生长良好	生长良好	ND
41℃生长	生长良好	生长缓慢	不生长	不生长	ND
5% NaCl	生长良好	不生长	ND	ND	ND
葡萄糖氧化发酵	ND	ND	氧化产酸	氧化产酸	发酵产酸
精氨酸双水解	ND	ND	阳性	阳性	ND
初步鉴定结果	乳杆菌属	乳球菌属	假单胞菌属	假单胞菌属	肠杆菌科

注: ND 为未检测。

高温高压灭菌后虽然不能杀死其中的全部微生物, 但却可以大大降低产品初始细菌总数, 达到商业无菌状态, 从而延长产品的货架期<sup>[29]</sup>。乳酸菌在烤鸭加工过程中是3.41~5.97(lg(CFU/g)), 为加工过程中的主要微生物。这是由于乳酸菌在有氧和低氧条件下均可良好生长, 而且乳酸菌在其生长繁殖的过程中可导致微生物生长环境中的pH值降低, 并产生一些如乳杆菌素(lactocidin)等物质, 对其他微生物的生长和繁殖具有抑制作用<sup>[30]</sup>。另外, 实验数据显示灭菌后仍有含量低于1.00(lg(CFU/g))的乳酸菌存活, 这可能是由于乳酸菌具有良好的耐温性<sup>[16]</sup>, 同时这也提示, 对于产品热加工时应予以特别注意以及开发针对乳酸菌的抑制技术。假单胞菌属在加工前期的解冻和清洗过程中分别是4.77(lg(CFU/g))和4.39(lg(CFU/g)), 是仅次于乳酸菌的主要微生物, 烫皮后降为2.80(lg(CFU/g)), 烤制后菌落总数<1.00(lg(CFU/g)), 灭菌后未检出。这显示, 假单胞菌属的生长和存活状况受温度影响较大。由于假单胞菌属在有氧和较低温度条件下, 生长速率具有明显优势<sup>[31]</sup>, 在烤鸭生产过程中原料的解冻和清洗分别在5℃和8℃条件下进行, 因此较低的温度有利于假单胞菌属的生长, 这和大部分研究结果显示的假单胞菌属是引起冷却肉腐败的主要微生物结论一致<sup>[32-35]</sup>。肠杆菌科在加工中期的烫皮和晾挂过程中分别增加到3.18(lg(CFU/g))和5.96(lg(CFU/g)), 成为仅次于乳酸菌的主要微生物, 烤制后<1.00(lg(CFU/g)), 灭菌后未检出。这是由于在适宜的环境条件下, 肠杆菌科会富集, 同样具有很强的致腐能力并产生含有胺类物质的异味<sup>[36]</sup>。因此, 应对晾挂工序中的温度、湿度和操作时间予以严格控制, 以确保食品的食用安全性。葡萄球菌和微球菌以及酵母菌和霉菌在解冻、清洗、烫皮、晾挂和烤制过程中为2.22~4.94(lg(CFU/g)), 灭菌后均未检出。因此, 葡萄球菌和微球菌以及酵母菌和霉菌不是烤鸭生产过程中的主要微生物。

### 2.2 主要微生物的特征研究

对来源于MRS、PSA和VRBD选择性培养基平板上的典型菌落进行划线分离, 将得到的纯化菌落进行初步鉴定。表2为北京烤鸭加工过程中主要微生物的初步鉴定结果: M-1为革兰氏阳性、杆状、氧化酶和接触酶皆阴性、41℃和5% NaCl条件下均能良好生长的细菌; M-2为革兰氏阳性、氧化酶和接触酶皆阴性、30℃生长良好、5% NaCl不能生长的球菌; P-1和P-2是革兰氏阴性、短杆、氧化酶阳性、接触酶阳性、葡萄糖氧化产酸型细菌; V-1为革兰氏阴性、杆状、氧化酶阴性、葡萄糖发酵产酸型细菌。根据Brown<sup>[22]</sup>推荐的肉品中微生物鉴定图谱, 并结合《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[23]</sup>初步鉴定M-1为乳杆菌属(*Lactobacillus*), M-2为乳球菌属(*Lactococcus*), P-1、P-2为假单胞菌属(*Pseudomonas*), V-1为肠杆菌科(*Enterbacteriaceae*)。

以上给出的是各选择性培养基平板上典型菌落的初步鉴定结果, 其他菌落的鉴定结果未列出。从初步鉴定结果可以进一步说明乳酸菌、假单胞菌属和肠杆菌科细菌是北京烤鸭加工过程中的主要微生物。另外, 如需对北京烤鸭生产过程中主要微生物进行更精确的菌种分析和鉴别, 则需进行碳源实验<sup>[10]</sup>并结合分子生物学方法进行。目前, 16S rRNA基因克隆和序列分析的方法正在被应用于对冷却肉的微生物菌相分析的实验中<sup>[37-38]</sup>。因此, 利用16S rRNA基因克隆和序列分析以及碳源实验等方法对烤鸭加工过程中主要微生物进行菌种鉴别需要进一步的实验研究。

### 3 结论

实验通过对北京烤鸭加工过程中菌相变化规律的分析及其特征的研究得到: 在烤鸭加工过程中, 各种菌的变化趋势基本一致, 其中乳酸菌是烤鸭加工过程中的主要微生物, 为3.41~5.97(lg(CFU/g)); 假单胞菌属和肠杆菌科分别为加工前期(解冻、清洗)和加工中期(烫皮、晾

挂)仅次于乳酸菌的主要微生物,分别达到4.77、4.39、3.18、5.96(Ig(CFU/g))。另外,在烫皮、烤制以及灭菌步骤中,各目标菌的数值降低,其中受温度影响最大和最小的菌群分别是假单胞菌属和乳酸菌;而晾挂工序中,在4℃和18℃的条件下,较大的相对湿度(80%~90%)以及较长的操作时间(14~17h),可能是导致各类菌增加的原因。

#### 参考文献:

- [1] 赵霖,鲍善芬,宋曙辉,等. “蔬香酥烤鸭”与普通焖炉烤鸭营养成分的研究[J]. 中国食品学报, 2009, 9(3): 174-179.
- [2] 谢文锋,喻长春,陈丹,等. 大胤风香鸭的研制[J]. 肉类工业, 2002(7): 19-21.
- [3] 倪洪锦. 常温风味烤鸭的加工工艺研究[J]. 中国食品学报, 2012(2): 16-18.
- [4] 刘卫民. 如何制作川式挂炉烤鸭[J]. 四川烹饪, 2005(6): 29-30.
- [5] 张超,施建辉. 关于北京烤鸭工艺特点及创新的研究[J]. 广州食品工业科技, 2004(3): 86-88.
- [6] 冯华. “黑心烤鸭”的判决是一大进步[N]. 中国食品安全报: 中国食品质量报, 2011-11-23(2).
- [7] ARRAGE A A, PHELPS T J, BENOIT R E, et al. Survival of subsurface microorganisms exposed to UV radiation and hydrogen peroxide[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1993, 59(11): 3545-3550.
- [8] JACKSON T C, ACUFF G R, VANDERZANT C. Identification and evaluation of volatile compounds of vacuum and modified atmosphere package beef strip loins[J]. Meat Science, 1992, 31: 175-190.
- [9] 傅鹏,李平兰. 冷却猪肉初始菌相分析与冷藏过程中的菌相变化规律研究[J]. 食品科学, 2006, 27(11): 119-124.
- [10] 陈亚莉. 冷却猪肉菌相分析及生物保鲜剂的筛选[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2010.
- [11] 马丽珍,南庆贤,戴瑞彤. 冷却猪肉中腐败菌的分离、初步鉴定与初始菌相分析[J]. 天津农学院学报, 2005, 12(3): 39-43.
- [12] 刘洋. 腊肉加工和贮藏期间菌相变化和理化变化[D]. 北京: 中国农业大学, 2005.
- [13] 董盛月,梁锋,赵一楠,等. 块状火腿生产过程中的菌相及理化变化[J]. 食品科学, 2009, 30(19): 96-99.
- [14] 郭光平. 烧鸡腐败菌相分析及保鲜技术的研究[D]. 烟台: 烟台大学, 2011.
- [15] 李艳亮,金邦荃,刘芳,等. 冷藏条件下盐水鸭菌相消长规律研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(8): 157-159.
- [16] 张春江,罗欣,王海燕. 低温熏煮香肠的菌相分析及腐败菌的分离[J]. 肉类工业, 2004(4): 25-28.
- [17] 马家津,吕跃钢,张文. 北京烤鸭香味分析[J]. 北京工商大学学报: 自然科学版, 2006, 24(2): 1-4.
- [18] 陈耿俊,宋焕禄,何洁,等. 北京烤鸭香味气相指纹图谱技术研究初探[J]. 食品工业科技, 2008, 29(11): 108-111.
- [19] 廖倩,高振江,张世湘,等. 高效液相荧光法测定“北京烤鸭”鸭皮中的多环芳烃[J]. 食品科学, 2009, 30(10): 149-152.
- [20] 姜新杰,高振江,杨文侠,等. 高效液相色谱法测定“北京烤鸭”中多环芳烃含量的研究[J]. 现代生物医学进展, 2007, 7(11): 1612-1614.
- [21] GB/T 4789.2—2010 食品卫生微生物学 检验菌落总数测定[S]. 2010.
- [22] BROWN M H. Meat microbiology[M]. London, New York: Applied Science Publishers Ltd., 1982: 474-475.
- [23] 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: 66-294.
- [24] 钱存柔,黄仪秀. 微生物学实验教程[M]. 北京: 北京大学出版社, 1999: 61-224.
- [25] 刘洋,崔建云,任发政,等. 低盐腊肉在加工过程中的菌相变化初探[J]. 食品工业科技, 2005, 26(8): 49-53.
- [26] von HOLY A, MEISSNER D, HOLZAPFEL W H. Effects of pasteurization and storage temperature on vacuum-packaged Vienna sausage shelf life[J]. S Afr J Sci, 1991, 87: 387-390.
- [27] 孙承锋,戴瑞彤,南庆贤. 低温杀菌对真空包装酱牛肉货架期及品质的影响[J]. 食品科技, 2003(3): 21-24.
- [28] 康怀彬,肖枫,徐幸莲. 二次杀菌方式对烧鸡保质期影响的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(7): 174-177.
- [29] GARRIGA M, GRÉBOL N, AYMERICH M T, et al. Microbial inactivation after high-pressure processing at 600 MPa in commercial meat products over its shelf life[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2004, 5(4): 451-457.
- [30] SAMELI J, KAKOURI A, REMENTZIS J. Selective effect of the product type and the packaging conditions on the species of lactic acid bacteria dominating the spoilage microbial association of cooked meats at 4 °C[J]. Food Microbiology, 2000, 17(3): 329-340.
- [31] GILL C O, NEWTON K G. The ecology of bacterial spoilage of fresh meat at chill temperatures[J]. Meat Science, 1978, 2: 21.
- [32] von HOLY A, CLOETE T E, HOLZAPFEL W H. Quantification and characterization of microbial populations associated with spoiled, vacuum-packed Vienna sausages[J]. Food Microbiology, 1991, 8(2): 95-104.
- [33] von HOLY A, HOLZAPFEL W H, DYKES G A. Bacterial populations associated with Vienna sausage packaging[J]. Food Microbiology, 1992, 9: 45-53.
- [34] DYKES G A, MARSHALL L A, MEISSNER D, et al. Acid treatment and pasteurization affect the shelf life and spoilage ecology of vacuum-packaged Vienna sausages[J]. Food Microbiology, 1996, 13: 69-74.
- [35] FRANZ C M A P, von HOLY A. Bacterial populations associated with pasteurized vacuum-packed Vienna sausages[J]. Food Microbiology, 1996, 13: 165-174.
- [36] McMEEKIN T A. Microbial spoilage of meats[M]//DAVIES R. Developments in food microbiology: Vol 1. London: Applied Science Publishers, 1982: 1-40.
- [37] OLSSON C, AHRNE S, PETTERSSON B, et al. The bacterial flora of fresh and chill-stored pork: analysis by cloning and sequencing of 16S rRNA genes[J]. International Journal of Food Microbiology, 2003, 83: 245-252.
- [38] 孙彦雨,周光宏,徐幸莲. 冰鲜鸡肉贮藏过程中微生物菌相变化分析[J]. 食品科学, 2011, 32(11): 146-151.