

不同高阻隔包装材料对烤鸭微生物及菌群多样性的影响

穆 罡¹, 罗 欣^{1,2}, 梁荣蓉¹, 董鹏程¹, 毛衍伟¹, 朱立贤¹, 张一敏^{1,*}, 杨啸吟^{1,*}

(1. 山东农业大学食品科学与工程学院, 山东 泰安 271018;

2. 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: 为研究不同阻隔性包装材料对烤鸭品质影响的差异性, 本研究采用3种不同类型高阻隔包装材料(镀氧化硅类、乙烯醇聚合物、聚偏二氯乙烯)对烤鸭进行真空包装, 以聚乙烯/尼龙包装为对照, 然后在4℃下分别贮藏21 d, 检测此期间烤鸭的挥发性盐基氮(total volatile basic nitrogen, TVB-N)含量、肉色、微生物(菌落总数、乳酸菌和肠杆菌数), 并用高通量测序技术观察了不同样品的微生物多样性变化。结果表明: 镀氧化硅包装可以有效抑制TVB-N的产生, 在贮藏第21天时其含量最低, 且低于20 mg/kg, 并可抑制微生物的生长; 通过高通量测序技术观察了不同样品的微生物多样性变化, 贮藏时间和包装材料对烤鸭的微生物菌落结构有明显影响, 在贮藏过程中, 乳酸菌属与魏斯氏菌属是镀氧化硅材料包装烤鸭样品的优势菌群; 乳酸菌属、魏斯氏菌属、假单胞菌属、类香味菌属、肉食杆菌属是乙烯醇聚合物材料包装烤鸭的优势菌群; 乳酸菌属、魏斯氏菌属、热杀索丝菌属、弧菌属是聚偏二氯乙烯材料包装烤鸭的优势菌群。对比发现, 镀氧化硅类材料对假单胞菌、类香味菌属、热杀索丝菌等的抑制是其有效保持烤鸭的品质、延长其货架期的主要原因。综上, 镀氧化硅类高阻隔真空包装材料可有效抑制微生物生长、保持烤鸭的品质。

关键词: 烤鸭; 高阻隔包装材料; 微生物多样性; 高通量测序

Effect of Different High Barrier Packaging Materials on Physicochemical Properties and Microbial Community Diversity of Roast Duck

MU Gang¹, LUO Xin^{1,2}, LIANG Rongrong¹, DONG Pengcheng¹, MAO Yanwei¹, ZHU Lixian¹, ZHANG Yimin^{1,*}, YANG Xiaoyin^{1,*}

(1. College of Food Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China;

2. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Meat Production and Processing, Quality and Safety Control, Nanjing 210095, China)

Abstract: In this present study, the effects of three types of high barrier packaging materials, including silicon oxide plating (SOP), poly(vinyl alcohol) (PVA), and polyvinylidene chloride (PVDC), on the quality of roast duck were compared. Polyethylene/nylon packaging was used as a control. All samples were vacuum packaged and stored for up to 21 days at 4℃. The total volatile basic nitrogen (TVB-N) content, color and microbial counts were determined during the storage period, and the microbial community diversity was analyzed using high-throughput sequencing technology. The results showed that in addition to inhibiting microbial growth, SOP could effectively inhibit the production of TVB-N and the minimum value occurred on day 21 of storage, lower than 20 mg/kg. Both storage time and packaging materials had significant effects on the microbial community structure in roast duck. *Lactobacillus* and *Weissella* were the dominant bacteria in SOP packaged samples. *Lactobacillus*, *Weissella*, *Pseudomonas*, *Myroides*, and *Carnobacterium* were the dominant bacteria in PVA packaged samples. *Lactobacillus*, *Weissella*, *Thermophilus* and *Vibrio* were the dominant strains in PVDC packaged samples. Comparative analysis showed that SOP was effective against *Pseudomonas*, *Myroides* and *Thermophilus*, thereby

收稿日期: 2019-01-09

基金项目: “十三五”国家重点研发计划重点专项(2016YFD040150503); 山东省“双一流”奖补资金项目(SYL2017XTTD12)

第一作者简介: 穆罡(1993—)(ORCID: 0000-0002-3675-8329), 男, 硕士研究生, 研究方向为肉品科学。

E-mail: 469628247@qq.com

*通信作者简介: 张一敏(1985—)(ORCID: 0000-0001-5240-7126), 女, 副教授, 博士, 研究方向为肉品科学。

E-mail: ymzhang@sdau.edu.cn

杨啸吟(1989—)(ORCID: 0000-0002-4693-1121), 男, 副教授, 博士, 研究方向为肉品科学。

E-mail: yangxiaoyin@sdau.edu.cn

maintaining the quality and prolonging the shelf life of roast duck. Taken together, high barrier vacuum packing materials with silicon oxide coating can effectively maintain the quality of roast duck by inhibiting the growth of microorganisms.

Keywords: roast duck; high barrier packaging materials; microbial diversity; high-throughput sequencing

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190109-105

中图分类号: TS251.68

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2020) 03-0171-07

引文格式:

穆罡, 罗欣, 梁荣蓉, 等. 不同高阻隔包装材料对烤鸭微生物及菌群多样性的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(3): 171-177.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190109-105. <http://www.spkx.net.cn>

MU Gang, LUO Xin, LIANG Rongrong, et al. Effect of different high barrier packaging materials on physicochemical properties and microbial community diversity of roast duck[J]. Food Science, 2020, 41(3): 171-177. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190109-105. <http://www.spkx.net.cn>

北京烤鸭作为中华传统名吃, 经烫皮、上色、制胚、晾胚等步骤, 上炉烤制至色泽红亮, 表皮酥脆、香味醇厚, 享誉海外。目前烤鸭多以散装与真空包装两种方式包装出售。散装烤鸭在室温条件下容易腐败变质, 货架期短, 不适合长途运输; 市面上真空包装的烤鸭产品在贮藏过程中由于高压灭菌及氧化等原因造成产品质量下降, 影响消费者购买欲, 因此选择合适的包装材料对延长贮藏期, 及保证这期间的产品品质稳定性十分重要^[1]。高阻隔包装材料可有效阻隔包装环境中氧气、水蒸气等的渗入, 能够显著延长包装肉品的货架期^[2-3]。

肉品的货架期长短常以微生物数量来判定, 研究发现微生物的繁殖是肉品腐败的主要原因^[4]。微生物的繁殖以及较高的腐败能力会导致肉制品颜色、气味变化, 并产生有害物质^[5]。已有研究发现不同真空包装材料会影响肉制品中微生物的菌群交替与腐败能力, 使微生物菌群多样性不断发生变化, 从而影响肉制品的货架期^[6-9]。因此, 可以以微生物数量和微生物菌群结构为评价指标来选择适合不同肉制品的真空包装材料。

由于环境中微生物多样性极为丰富, 传统的培养分离方法分离出的微生物仅占样品总菌群的极小部分。近几年, 高通量测序 (high-throughput sequencing, HTS) 正逐渐被应用于对微生物多样性的分析, HTS技术能够一次对几十万到几百万条DNA分子进行序列测定, 对环境中的微生物菌群分析更为精准快速, 在食品领域得到了广泛的应用^[10]。如Xiao Xiang^[11]、谢萍^[12]和Li Xinfu^[13]等分别对真空包装下贮藏的肴肉、酱卤鸭翅和烟熏培根进行菌群多样性分析, 通过对不同种类肉与肉制品的微生物多样性分析, 对肉制品贮藏过程中微生物的变化有了更多的认识, 有助于全面解析不同种类肉与肉制品的腐败机制。目前, 针对不同高阻隔包装材料烤鸭的微生物多样性分析鲜有相关研究, 了解不同高阻隔包装材料对烤鸭微生物多样性变化影响有助于对其货架期与品质的控制。

本实验以熟制烤鸭为研究对象, 以工厂生产真空 (聚乙烯 (polyethylene, PE) /尼龙) 包装烤鸭为对照

组, 探究镀氧化硅类、乙烯醇聚合物、聚偏二氯乙烯3种高阻隔包装材料对冷藏条件下真空包装烤鸭的微生物货架期、菌群多样性及品质的影响, 为揭示不同高阻隔材料真空条件下烤鸭的微生物腐败原理及品质变化规律、延长烤鸭货架期提供理论支持。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

烤鸭样品来源于北京恒慧通有限公司。

平板计数琼脂、MRS培养基、结晶紫中性红胆盐葡萄糖琼脂 北京陆桥技术股份有限公司; 氧化镁、盐酸溶液 (0.01 mol/L)、甲基红-溴甲酚绿 国药集团化学试剂有限公司。

镀氧化硅类 (透氧率 $0.61 \text{ cm}^3 / (\text{m}^2 \cdot 24 \text{ h})$)、水蒸气透过度 $0.45 \text{ g} / (\text{m}^2 \cdot 24 \text{ h})$)、乙烯醇聚合物 (透氧率 $3 \text{ cm}^3 / (\text{m}^2 \cdot 24 \text{ h})$)、水蒸气透过度 $4 \text{ g} / (\text{m}^2 \cdot 24 \text{ h})$)、聚偏二氯乙烯 (透氧率 $7 \text{ cm}^3 / (\text{m}^2 \cdot 24 \text{ h})$)、水蒸气透过度 $4 \text{ g} / (\text{m}^2 \cdot 24 \text{ h})$) 包装材料 河北旭日公司; PE/尼龙材料 (透氧率 $50 \text{ cm}^3 / (\text{m}^2 \cdot 24 \text{ h})$)、水蒸气透过度 $2.6 \text{ g} / (\text{m}^2 \cdot 24 \text{ h})$) 北京恒慧通有限公司。

1.2 仪器与设备

K2100半自动凯氏定氮仪 德国布奇公司; HHS型数显式恒温水浴锅 上海博迅实业有限公司医疗设备厂; T6紫外-可见分光光度计 北京普析通用有限公司; BD-132B冷柜 海尔集团; NanoDrop 1000分光光度计 美国illumina公司; DZ-400/2S真空包装机 山东小康机械有限公司; T18 ULTRA-TURRAX高速分散机 德国IKA公司; SPX-400智能型生化培养 宁波江南仪器厂; MiSeq测序仪 美国Thermo Fisher Scientific公司; SP62色差计、SP62便携式积分球分光光度计 美国X-Rite公司。

1.3 方法

1.3.1 样品处理

烤鸭加工工艺：生鸭前处理→生鸭上线→过热水（2~3 min）→沥水（2 min）→挂糖衣（1~2 min）→热风吹干（≥10 min）→烘烤（≥240 °C；≥50 min）→冷却（≥30 min）→熟鸭下线→真空包装→杀菌（90 °C、10 min）

采集熟制后的烤鸭样品，采用3种高阻隔性的真空包装材料（镀氧化硅类、乙烯醇聚合物、聚偏二氯乙烯）真空包装，并用工厂普通高温蒸煮袋（PE/尼龙）为对照，包装后冷链运输回实验室，立即放置在0~4 °C贮藏。于贮藏的第1、7、14、21天测定各理化指标，每个时间点与每个处理组设3个平行，独立重复实验2次。

1.3.2 挥发性盐基氮含量的测定

取烤鸭样品随机取去皮后的瘦肉10 g，加75 mL去离子水，振荡浸渍30 min，参考GB 5009.228—2016《食品安全国家标准 食品中挥发性盐基氮的测定》^[14]的自动凯氏定氮仪法测定挥发性盐基氮（total volatile basic nitrogen, TVB-N）含量。

1.3.3 色泽的测定

采用色差计进行样品肉色 L^* 、 a^* 、 b^* 值的测定。

1.3.4 微生物的测定

测定初始微生物的样品为包装后完成杀菌并经冷却后立即带回实验室的样品。无菌条件下每个样品随机选取25 g肉样，剪碎后放置于225 mL无菌生理盐水中，均质器中高速档拍打90 s。取均质液依次进行10倍梯度稀释选取2~3个合适梯度进行培养。菌落总数与乳酸菌数分别参照GB 4789.2—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》、GB 4789.35—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 乳酸菌检验》培养计数；肠杆菌科用结晶紫中性红胆盐葡萄糖琼脂培养基，于37 °C培养24 h。

1.3.5 DNA提取及HTS

参考Yang Xiaoyin等^[7]的方法，收集菌体并提取总DNA。采用质量分数0.8%琼脂糖凝胶电泳检测DNA活性，并通过紫外分光光度计对提取的DNA进行定量。采用上海派森诺生物公司提供的方法，对细菌的16S rDNA的V3~V4区进行聚合酶链式反应（polymerase chain reaction, PCR）扩增，PCR扩增参数为：98 °C预变性2 min；98 °C变性15 s，55 °C退火30 s，72 °C延伸30 s，进行25~30个循环；终延伸为72 °C、5 min。所得扩增产物序列为338F（5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3'）和806R（5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'）。所得扩增产物通过Agencourt AMPure Beads纯化，由PicoGreen dsDNA Assay Kit定量，再通过Illumina MiSeq平台进行DNA测序。

1.4 数据统计与分析

采用SPSS 18.0软件进行数据处理与分析，以包装材料与贮藏时间为固定因子，运用一般线性模型进行双因素方差分析，用最小显著性差异法对两个因素的主效应进行多重比较， F 检验判断两因素间交互作用是否显著。测序数据分析方法参考Chen Xue等^[15]的方法，通过定量微生物生态软件（quantitative insights into microbial ecology, QIIME）v1.8.0筛选并通过Fast Length Adjustment of Short (FLASH)合并，从而得到高质量有效序列标签数（Effective Tags）。嵌合体检测后，用UCLUST对Effective Tags按97%的序列相似度聚类成操作分类单元（operational taxonomic units, OTUs）并筛选出代表序列，通过BLAST与SILVA数据库中的模板序列对比，进行进一步分析。Alpha多样性包括Shannon和Chao 1指数，均通过QIIME和R软件（Version 3.2.0）分析。使用可视化工具GraPhlAn绘制分类等级树以快速发现优势菌群。用R软件进行聚类分析、绘制热图并对属水平群落组成结构进行主成分分析（principal component analysis, PCA），以二维图像描述样本间的自然分布特征。

2 结果与分析

2.1 不同高阻隔包装材料真空包装对烤鸭TVB-N含量的影响

表1 不同高阻隔包装材料真空包装对烤鸭TVB-N含量的影响
Table 1 Effect of different high barrier packaging materials on TVB-N content of roast duck

包装材料	TVB-N含量/(mg/100 g)				标准误	P值		
	1 d	7 d	14 d	21 d		贮藏时间	包装材料	贮藏时间×包装材料
镀氧化硅	13.84 ^{Ab}	16.38 ^{Ba}	18.08 ^{Bb}	18.27 ^{Ba}	0.85	<0.01	0.72	0.004
乙烯醇聚合物	15.05 ^{Ab}	14.00 ^{Aa}	17.59 ^{Ba}	20.32 ^{Bb}				
聚偏二氯乙烯	11.34 ^{Aa}	15.12 ^{Ba}	18.94 ^{Ca}	22.68 ^{Db}				
对照	12.69 ^{Ab}	14.98 ^{Aa}	19.48 ^{Ba}	21.91 ^{Bb}				

注：同列肩标小写字母不同表示差异显著（ $P < 0.05$ ）；同行肩标大写字母不同表示差异显著（ $P < 0.05$ ）。表2~5同。

TVB-N是肉品的水浸液在碱性条件下能随水蒸气一起蒸馏出来的总氮，其含量是评价肉品鲜度的重要指标^[16-17]。由表1可知，包装材料与贮藏时间对烤鸭的TVB-N含量存在显著的交互作用（ $P < 0.05$ ），随着贮藏时间的延长，TVB-N含量整体呈上升趋势，这与郭艳婧等^[18]对罐罐肉的研究结果相似。在贮藏末期（21 d）时，除镀氧化硅包装外，对照组与其他两种包装材料包装的样品，TVB-N含量均超过20 mg/100 g，说明镀氧化硅类包装材料能够减缓烤鸭样品的蛋白质降解程度。这可能是由于镀氧化硅对氧气的高阻隔性使得需要氧气条件生长的假单胞菌属和肠杆菌属无法利用氨基酸作为营养物质进行繁殖，无法产生带有异味的含硫化合

物和胺类等,使TVB-N含量维持在较低水平^[19]。此外李升升等^[20]研究发现,高阻隔包装材料可以有效抑制牛肉中微生物的腐败,从而减缓蛋白质的降解,降低TVB-N产生速率,从而得出镀氧化硅包装材料可以显著抑制TVB-N的产生,有效地保持产品品质。

2.2 不同高阻隔包装材料真空包装对烤鸭 b^* 值的影响

表2 不同高阻隔包装材料真空包装对烤鸭 b^* 值变化的影响

Table 2 Effects of different high barrier packaging materials on b^* value of roast duck

包装材料	贮藏时间/d				标准误	P值		
	1	7	14	21		贮藏时间	包装材料	贮藏时间×包装材料
镀氧化硅	28.44 ^{Ab}	28.32 ^{Aa}	30.10 ^{Ba}	30.91 ^{Ba}	0.51	<0.01	0.64	<0.01
乙烯醇聚合物	25.53 ^{Aa}	30.27 ^{Bb}	30.60 ^{Bab}	30.12 ^{Ba}				
聚偏二氯乙烯	27.10 ^{Ab}	29.14 ^{BDbab}	31.72 ^{Cb}	30.40 ^{Ba}				
对照	28.17 ^{Ab}	29.21 ^{ABab}	30.69 ^{Cab}	30.00 ^{Ba}				

本研究对烤鸭在不同包装条件下的肉色 L^* 、 a^* 、 b^* 值均做了测定,发现包装材料与贮藏时间仅对烤鸭 b^* 值交互作用影响显著。由表2可知,随着贮藏时间的延长,除镀氧化硅包装材料,其余材料包装下的烤鸭样品的 b^* 值在第14天达到峰值。贮藏第21天,不同包装材料真空包装样品之间的 b^* 值无显著性差异($P>0.05$)。在贮藏的第7、14天,镀氧化硅类包装材料样品的 b^* 值最低。 b^* 值升高在一定程度上说明烤鸭的色泽可能由红亮转变为暗黄,会降低消费者的购买欲,这可能是微生物与脂肪、蛋白质氧化共同作用的结果^[21-22],这也在一定程度上说明相较其他包装材料,镀氧化硅对微生物和产品氧化的抑制作用更强,可以有效地保持产品品质。

2.3 不同高阻隔包装材料真空包装对烤鸭微生物指标的影响

2.3.1 菌落总数

表3 不同高阻隔包装材料真空包装对烤鸭菌落总数的影响

Table 3 Effects of different high barrier packaging materials on total bacterial count of roast duck

包装材料	菌落总数 (lg (CFU/g))					标准误	P值		
	0 d	1 d	7 d	14 d	21 d		贮藏时间	包装材料	贮藏时间×包装材料
镀氧化硅	4.12 ^{Aa}	4.28 ^{Ba}	4.92 ^{Ca}	5.66 ^{Da}	3.97	0.055	<0.01	<0.01	<0.01
乙烯醇聚合物	4.83 ^{Ab}	5.04 ^{Bc}	5.03 ^{Bab}	5.74 ^{Ca}					
聚偏二氯乙烯	4.88 ^{Abc}	4.88 ^{Ab}	4.93 ^{Aa}	6.00 ^{Bb}					
对照	4.99 ^{Ac}	5.00 ^{Abc}	5.14 ^{Ab}	6.19 ^{Bc}					

贮藏时间与不同包装材料对烤鸭的菌落总数有交互影响($P<0.05$)。由表3可知,随着贮藏时间的延长,4种处理组的菌落总数均呈增加的趋势。贮藏的前7 d,镀氧化硅类高阻隔材料组烤鸭的菌落总数显著低于其他3种包装材料组($P<0.05$);在贮藏的第14天,乙烯醇聚合物组与对照组的菌落总数已经超过GB 2726—2016《食品安全国家标准 熟肉制品》中规定的熟肉制品菌落总数

的最高安全限量值5 (lg (CFU/g)),其他两种高阻隔包装的烤鸭还处于安全范围内;第21天时,4种包装的烤鸭均已不可接受,镀氧化硅对烤鸭微生物保质期接近14 d,且在第14天时具有最少微生物数量。此外,由于本实验样品的初始菌落总数都接近4 (lg (CFU/g)),导致各组样品菌落总数在第14天时都接近GB 2726—2016规定的限量,从而缩短了产品的贮藏时间,如果严格控制原材料的屠宰与加工条件,降低初始微生物的数量,会大大延长烤鸭的货架期。3种高阻隔材料与对照组相比较,高阻隔材料具有显著性优势,这与周辉^[23]、李念^[24]等的研究结果类似,包装材料的阻隔性越高,氧气透过率越低,腐败菌的增长越慢。

2.3.2 乳酸菌数

表4 不同高阻隔包装材料真空包装对烤鸭乳酸菌数的影响

Table 4 Effects of different high barrier packaging materials on *Lactobacillus* count of roast duck

包装材料	乳酸菌数 (lg (CFU/g))					标准误	P值		
	0 d	1 d	7 d	14 d	21 d		贮藏时间	包装材料	贮藏时间×包装材料
镀氧化硅	4.69 ^{Aa}	4.73 ^{Aa}	5.26 ^{Ba}	5.88 ^{Ca}	3.73	0.094	<0.01	<0.01	0.018
乙烯醇聚合物	5.12 ^{Ab}	5.15 ^{Ab}	5.59 ^{Bb}	5.93 ^{Cab}					
聚偏二氯乙烯	5.04 ^{Ab}	4.87 ^{Aa}	5.88 ^{Bc}	6.16 ^{Cb}					
对照	5.19 ^{Ab}	5.27 ^{Ab}	6.05 ^{Bc}	6.54 ^{Cc}					

由表4可知,贮藏时间与包装材料对烤鸭乳酸菌数的交互作用显著。熟制后的烤鸭经真空包装后,在包装材料内部形成厌氧环境,这促进了厌氧微生物的大量繁殖,乳酸菌数量不断上升,使得货架期缩短^[25]。有研究发现乳酸菌在真空包装条件下增长速率较快,是导致肉品腐败的主要原因^[26]。通过分析得出,乳酸菌的数量随贮藏时间的延长不断增加,而3种高阻隔包装材料与对照组相比均具有显著抑制乳酸菌生长的作用($P<0.05$),其中镀氧化硅类包装材料组乳酸菌数量最少,抑制乳酸菌生长的效果最好。

2.3.3 肠杆菌数

表5 不同高阻隔包装材料真空包装对烤鸭中肠杆菌数的影响

Table 5 Effects of different high barrier packaging materials on *Enterobacteria* count of roast duck

包装材料	肠杆菌数 (lg (CFU/g))					标准误	P值		
	0 d	1 d	7 d	14 d	21 d		贮藏时间	包装材料	贮藏时间×包装材料
镀氧化硅	3.06 ^{Aa}	3.83 ^{Ba}	4.59 ^{Ca}	7.13 ^{Da}	3.05	0.071	<0.01	<0.01	<0.01
乙烯醇聚合物	3.30 ^{Ab}	4.37 ^{Bb}	4.92 ^{Cb}	7.21 ^{Da}					
聚偏二氯乙烯	3.59 ^{Ac}	3.88 ^{Ba}	4.79 ^{Cb}	7.13 ^{Da}					
对照	3.82 ^{Ad}	4.79 ^{Bc}	5.04 ^{Cc}	7.27 ^{Da}					

由表5可知,包装材料与贮藏时间对烤鸭肠杆菌数量的交互作用影响显著。随着贮藏时间的延长,3种处理组的肠杆菌数都呈增加的趋势。与对照组相比,镀氧化硅复合材料包装在第1、7、14天时均能显著降低肠杆菌的

数量 ($P < 0.05$), 与选用的另外两种高阻隔材料(乙烯醇聚合物、聚偏二氯乙烯)相比, 抑制肠杆菌微生物生长的效果最好。

2.4 不同高阻隔包装材料真空包装的烤鸭微生物HTS结果

2.4.1 不同高阻隔包装材料真空包装对烤鸭的微生物多样性的影响

表6 不同高阻隔包装材料真空包装对烤鸭中菌群多样性影响
Table 6 Effects of different high barrier packing materials on the diversity of microflora in roast duck

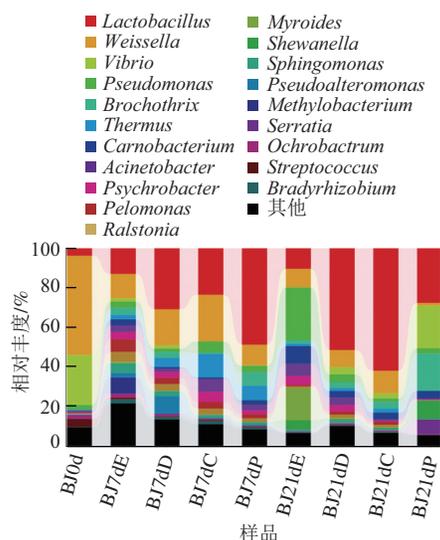
指标	包装材料	贮藏时间/d		
		0	7	21
有效序列 标签数	镀氧化硅		64 680	75 214
	乙烯醇聚合物	58 269	63 177	68 656
	聚偏二氯乙烯		78 484	73 720
	对照		67 204	69 078
OTUs				
OTUs	镀氧化硅		1 266	1 433
	乙烯醇聚合物	701	1 090	884
	聚偏二氯乙烯		1 271	904
	对照		827	1 181
Shannon 指数				
Shannon 指数	镀氧化硅		6.45	6.48
	乙烯醇聚合物	4.65	6.79	5.63
	聚偏二氯乙烯		5.90	5.81
	对照		6.04	5.38
Chao 1 指数				
Chao 1 指数	镀氧化硅		2 104.53	2 583.56
	乙烯醇聚合物	1 420.42	1 854.44	1 662.00
	聚偏二氯乙烯		2 053.47	1 783.33
	对照		1 631.19	1 766.89
覆盖度/%				
覆盖度/%	镀氧化硅		99	99
	乙烯醇聚合物	99	99	99
	聚偏二氯乙烯		99	99
	对照		99	98

由表6可知, 初始菌落的有效序列标签数为58 269, 对照组和镀氧化硅、乙烯醇聚合物、聚偏二氯乙烯处理组的平均有效序列标签数(7 d与14 d的平均值)分别为69 947、65 917、76 102和68 141。3种包装材料及对照组烤鸭的细菌OTUs数目存在差异, 表明3种包装材料组及对照组烤鸭在贮藏期间具有各自平衡的菌落结构与微生物多样性。镀氧化硅类材料的Chao 1指数与Shannon指数均呈先上升后平稳的趋势, 表明菌群多样性贮藏前期急剧变化, 随着时间的延长, 贮藏后期无明显改变, 乙烯醇聚合物、聚偏二氯乙烯包装组与对照组均呈现先上升后下降趋势, 表明在7 d之后微生物多样性变化明显。所有样品的测序覆盖度最低为98%, 其余均在99%, 说明烤鸭中主要的微生物均被检测出, 数据足够反映样品的多样性。

2.4.2 不同高阻隔包装材料真空包装烤鸭的微生物菌群结构变化

由图1可知, 在属水平上, 烤鸭中所含主要有乳酸菌属(*Lactobacillus*)、魏斯氏菌属(*Weissella*)、弧菌

属(*Vibrio*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、栖热菌属(*Brochothrix*)、热杀索丝菌属(*Thermus*)等。在贮藏初期, 优势菌群为魏斯氏菌属、弧菌属; 在贮藏的第7天, 微生物菌落发生变化, 但4种包装材料之间较为相似, 烤鸭的乳酸菌菌属相对丰度增加, 成为优势菌群, 魏斯氏菌属相对丰度降低, 弧菌属明显下降, 假单胞菌属、热杀索丝菌属相对丰度增多。贮藏第21天, 包装材料间微生物结构出现差异, 镀氧化硅类包装材料与对照组菌群结构相似, 都是以乳酸菌、魏斯氏菌属为优势菌群; 而与第7天相比, 乙烯醇聚合物样品在第21天的微生物多样性下降, 假单胞菌属相对丰度(26.82%)升高, 成为优势菌群。在聚偏二氯乙烯材料中, 21 d时乳酸菌的相对丰度(27.64%)降低, 弧菌属(21.52%)、热杀索丝菌属(18.93%)具有较高的相对丰度, 成为优势菌群。



样品命名中, BJ表示样品原产地北京; 数字代表贮藏时间; E: 乙烯醇聚合物; D: 镀氧化硅; C: 对照组; P: 聚偏二氯乙烯。图2同。

图1 不同高阻隔包装材料真空包装对烤鸭的微生物菌群结构变化(属水平)

Fig. 1 Changes in microfloral community structure in roast duck vacuum packaged with different high barrier packaging materials at genus level

3种包装材料的样品在贮藏的后期, 微生物的多样性差异明显, 镀氧化硅材料与对照组菌群结构较为相似, 但是可以明显降低乳酸菌的比例, 说明可以替代对照组成为新的可选包装材料。而另外两种包装材料因具有一定的透气性, 微生物组成存在较大差异。假单胞菌是导致乙烯醇聚合物材料组样品腐败的主要原因, 包装材料的透气率与假单胞菌的生长有较大关系, 透气率较高的包装材料, 烤鸭的假单胞菌数量较多^[26]; 而在聚偏二氯乙烯材料中的样品, 乳酸菌、弧菌与热杀索丝菌是导致腐败的主要原因, 3种主要微生物为兼性厌氧或厌氧性细菌, 热杀索丝菌可能会产生乳酸等物质导致肉品

产生不愉快的气味,并抑制假单胞菌的生长,从而出现微生物多样性差异^[27]。镀氧化硅类包装材料可以有效地降低贮藏期间微生物菌落多样性变化,如抑制假单胞菌、热杀索丝菌的生长,较低的透气率可以保障贮藏期间内部环境的稳定,抑制好氧类腐败优势菌生长。吴海虹等^[28]发现,无氧环境能显著抑制专性与严格好氧菌的生长,降低其优势菌群的丰度,较高阻隔性的镀氧化硅类包装材料可以起到相同的保护效果。赵嘉越等^[29]也发现50% (体积分数,下同) CO₂+50% N₂包装与100% N₂包装中烤鸭腿的微生物多样性存在差异,其中50% CO₂+50% N₂包装中泛菌属、假单胞菌属、类香味菌属及不动杆菌属交替成为优势菌群,100% N₂包装烤鸭腿中的优势菌群为索丝菌属、泛菌属、假单胞菌属、肉食杆菌属及明串珠菌属。推测CO₂有抑制微生物生长的作用,使得50% CO₂+50% N₂包装显著降低了烤鸭中索丝菌属、肉食杆菌属的相对丰度。而高阻隔类的包装材料可以降低气体的透过率,起到同样的抑菌效果。

2.4.3 不同高阻隔包装材料下烤鸭的微生物群落结构比较

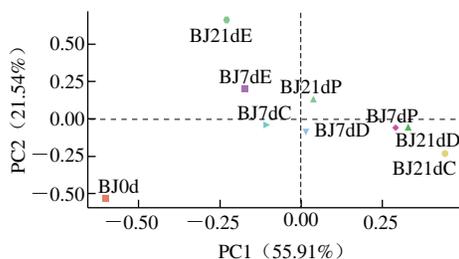


图2 不同高阻隔包装材料下烤鸭的微生物群落结构比较

Fig. 2 Comparison of microbial community structure of roast duck with different packagings

为进一步分析贮藏期间微生物菌群的结构变化与差异性,进行了PCA。从图2中可看出,PCA能展现不同贮藏时间点微生物菌群的相似程度,第一主成分(PC1)和第二主成分(PC2)贡献率分别为55.91%、21.54%,不同样本间的距离越近,表明两个样本间的微生物菌落结构相似度越高,差异越小。贮藏3个时间点的样品微生物结构存在较大差异,并随贮藏时间的延长,差异性增大,其中,第7天样品聚集在一起,说明相似度较高,贮藏7 d的镀氧化硅材料样品与聚偏二氯乙烯材料样品微生物菌落聚集在同一象限中,表明结构较为相似,21 d时镀氧化硅类材料与对照组样品微生物菌群聚集在同一象限,结构较为相似。镀氧化硅类材料样品在7、14 d的距离较其他3种材料相比最近,表明微生物菌群结构变化较小,镀氧化硅材料能够抑制微生物多样性的增加。

3 结论

本实验通过微生物、理化品质指标研究了3种包装材料(镀氧化硅、乙烯醇聚合物、聚偏二氯乙烯)对烤鸭货架期的影响。相比于聚偏二氯乙烯与乙烯醇聚合物材料,镀氧化硅类高阻隔材料可以有效地抑制贮藏期间烤鸭菌落总数、乳酸菌及肠杆菌的增长,抑制微生物增长等导致品质下降的问题;并且能有效抑制因微生物生长导致的TVB-N含量增加,降低烤鸭的*b**值;综合比较,优选出镀氧化硅类材料为适合于烤鸭的包装。

本实验的微生物多样性结果表明,贮藏时间与包装材料对烤鸭的微生物多样性产生了较大影响。贮藏第7天与第0天相比较,烤鸭的微生物多样性发生明显变化,但3种包装材料及对照组包装条件之间微生物菌落较为相似,在第21天时,微生物多样性相似度降低。其中,镀氧化硅包装材料与对照组中烤鸭的乳酸菌属与魏斯氏菌属始终为优势菌群,但镀氧化硅材料可以有效降低乳酸菌比例;在乙烯醇聚合物材料包装的烤鸭样品,乳酸菌属、假单胞菌属交替成为优势菌群;聚偏二氯乙烯材料包装样品弧菌属、热杀索丝菌属代替魏斯氏菌属成为贮藏后期的优势菌群。总体来看,镀氧化硅材料可以有效抑制烤鸭微生物菌群的多样性,降低微生物的数量,抑制微生物的生长,更好地保障烤鸭在贮藏期间的品质。通过对微生物菌落的演变规律研究,为开发真空包装烤鸭的靶向抑菌物质提供了理论依据。

参考文献:

- [1] BELCHER J N. Industrial packaging developments for the global meat market[J]. *Meat Science*, 2006, 74(1): 143-148. DOI:10.1016/j.meatsci.2006.04.31.
- [2] 岳青青. 阻隔性包装材料的应用现状及发展趋势[J]. *塑料包装*, 2011, 21(3): 19-21.
- [3] 万重, 朱立民, 刘燕. 新型高阻隔包装材料在乳品包装领域的应用[J]. *食品研究与开发*, 2009, 30(5): 175-177.
- [4] CHAILLOU S, CHAULOT-TALMON A, CAEKEBEKE H, et al. Origin and ecological selection of core and food-specific bacterial communities associated with meat and seafood spoilage[J]. *The ISME Journal*, 2014, 9(5): 1105-1118. DOI:10.1038/ismej.2014.202.
- [5] REMENANT B, JAFFRÈS E, DOUSSET X, et al. Bacterial spoilers of food: behavior, fitness and functional properties[J]. *Food Microbiology*, 2015, 45(Pt A): 45-53. DOI:10.1016/j.fm.2014.03.009.
- [6] FERROCINO I, GREPPI A, LA STORIA A, et al. Impact of nisin-activated packaging on microbiota of beef burgers during storage[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2016, 82(2): 549-559. DOI:10.1128/AEM.03093-15.
- [7] YANG Xiaoyin, ZHU Lixian, ZHANG Yimin, et al. Microbial community dynamics analysis by high-throughput sequencing in chilled beef longissimus steaks packaged under modified atmospheres[J]. *Meat Science*, 2018, 141: 94-102. DOI:10.1016/j.meatsci.2018.03.010.
- [8] CASABURI A, PIOMBINO P, NYCHAS G J, et al. Bacterial populations and the volatome associated to meat spoilage[J].

- Food Microbiology, 2015, 45(Pt A): 83-102. DOI:10.1016/j.fm.2014.02.002.
- [9] WANG T J, ZHAO L, SUN Y N, et al. Changes in the microbiota of lamb packaged in a vacuum and in modified atmospheres during chilled storage analysed by high-throughput sequencing[J]. Meat Science, 2016, 121: 253-260. DOI:10.1016/j.meatsci.2016.06.021.
- [10] 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. DOI:10.1016/j.fm.2014.08.023.
- [11] XIAO Xiang, DONG Ying, ZHU Ying, et al. Bacterial diversity analysis of Zhenjiang Yao meat during refrigerated and vacuum-packaged storage by 454 pyrosequencing[J]. Current Microbiology, 2013, 66(4): 398-405. DOI:10.1007/s00284-012-0286-1.
- [12] 谢萍, 徐明生, 尹忠平, 等. MiSeq测序研究散装酱卤鸭肉贮藏期间微生物群落多样性[J]. 现代食品科技, 2015, 31(11): 120-126; 106. DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.11.020.
- [13] LI Xinfu, LI Cong, YE Hua, et al. Changes in the microbial communities in vacuum-packaged smoked bacon during storage[J]. Food Microbiology, 2019, 77: 26-37. DOI:10.1016/j.fm.2018.08.007.
- [14] 国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中挥发性盐基氮的测定: GB 5009.228—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003: 3-5.
- [15] CHEN Xue, ZHANG Yimin, YANG Xiaoyin, et al. Shelf-life and microbial community dynamics of super-chilled beef imported from Australia to China[J]. Food Research International, 2019, 120: 784-792. DOI:10.1016/j.foodres.2018.11.039.
- [16] 田璐, 李苗云, 赵改名, 等. 气调包装冷却肉生物胺及腐败特性研究[J]. 中国食品学报, 2013, 13(8): 75-82. DOI:10.16429/j.1009-7848.2013.08.036.
- [17] LUND M N, LAMETSCH R, HVIID M S, et al. High-oxygen packaging atmosphere influences protein oxidation and tenderness of porcine longissimus dorsi during chill storage[J]. Meat Science, 2007, 77(3): 295-303. DOI:10.1016/j.meatsci.2007.03.016.
- [18] 郭艳婧, 杨勇, 李静, 等. 不同包装材料对罐罐肉理化特性的影响[J]. 食品科学, 2014, 35(22): 336-339. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201422065.
- [19] GILL C O, BRYANT J. The contamination of pork with spoilage bacteria during commercial dressing, chilling and cutting of pig carcasses[J]. International Journal of Food Microbiology, 1992, 16(1): 51-62. DOI:10.1016/0168-1605(92)90125-M.
- [20] 李升升, 靳义超, 谢鹏. 包装材料阻隔性对牛肉冷藏保鲜效果的影响[J]. 食品工业科技, 2015, 36(15): 256-260. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2015.15.045.
- [21] CULLERE M, HOFFMAN L C, DALLE ZOTTE A, et al. First evaluation of unfermented and fermented rooibos (*Aspalathus linearis*) in preventing lipid oxidation in meat products[J]. Meat Science, 2013, 95(1): 72-77. DOI:10.1016/j.meatsci.2013.04.018.
- [22] 孙卫青, 樊康, 顾炜, 等. 蒸煮腌肉色素氧化与脂肪氧化互促效应关系的研究动态[J]. 食品工业科技, 2009(2): 348-351.
- [23] 周辉, 张三平, 李锋, 等. 复合包装材料对台湾香肠货架期的影响[J]. 食品工业科技, 2006, 27(1): 146-147; 151. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2006.01.042.
- [24] 李念. 抗菌衬垫及包装材料对肉品保鲜效果影响的研究[D]. 重庆: 西南大学, 2007: 24-28.
- [25] 包海蓉, 张元元, 王锡昌. 真空包装鱼片冷藏货架期预测[J]. 食品科学, 2011, 32(24): 285-290.
- [26] BORCH E, KANT-MUERMANS M L, BLIXT Y. Bacterial spoilage of meat and cured meat products[J]. International Journal of Food Microbiology, 1996, 33(1): 103-120. DOI:10.1016/0168-1605(96)01135-X.
- [27] ZHANG J L, LIU G R, LI P L, et al. Pentocin 31-1, a novel meat-borne bacteriocin and its application as biopreservative in chill-stored tray-packaged pork meat[J]. Food Control, 2010, 21(2): 198-202. DOI:10.1016/j.foodcont.2009.05.010.
- [28] 吴海虹, 孙芝兰, 张新笑, 等. 不同包装方式下冷链青虾的菌群多样性分析[J]. 食品科学, 2019, 40(3): 251-258. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20171027-318.
- [29] 赵嘉越, 罗欣, 张一敏, 等. 气调包装对烤鸭腿货架期及微生物多样性的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(19): 272-280. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20181015-126.