

肖欢, 韩燕, 翟建青, 等. 地方风味卤鸭掌辐照综合保鲜技术[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(3): 674-682.  
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2017.03.028

## 地方风味卤鸭掌辐照综合保鲜技术

肖欢, 韩燕, 翟建青, 陈以博, 叶浩, 盖玉芳, 汪兴海, 曹宏  
(江苏里下河地区农业科学研究所, 江苏 扬州 225007)

**摘要:** 为探究辐照处理与保鲜剂对卤鸭掌的联合保鲜作用, 采用传统细菌分离培养法和 16S rDNA 菌群分析法确定卤鸭掌优势腐败菌菌群结构, 设计乳酸链球菌素、山梨酸钾、双乙酸钠、脱氢乙酸钠、辐照 5 个因素, 每个因素 4 水平的正交试验, 采用 4 种剂量对卤鸭掌进行辐照处理, 评定卤鸭掌香气、色泽、质地及口感感官性状。结果表明, 卤鸭掌优势腐败菌由乳酸菌、葡萄球菌属、假单胞菌属、小球菌属、放线菌属、埃希氏菌属、丙酸杆菌属、水栖菌属、寡养单胞菌属、不动杆菌属、贪铜菌属、金黄杆菌属、消化球菌属、考拉杆菌属组成。复配保鲜剂添加量(处理 25 g 卤鸭掌)最优组合为: 2.5 mg 乳酸链球菌素、0.2 mg 山梨酸钾、30.0 mg 双乙酸钠、2.5 mg 脱氢乙酸钠。3 kGy 辐照剂量处理对卤鸭掌香气、色泽、质地及口感的影响最小。

**关键词:** 卤鸭掌; 保鲜; 辐照; 保鲜剂

**中图分类号:** TS205.2      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1000-4440(2017)03-0674-09

## Combining preservation of stewed duck feet with local flavor by irradiation and preservatives

XIAO Huan, HAN Yan, ZHAI Jian-qing, CHEN Yi-bo, YE Hao, GAI Yu-fang, WANG Xing-hai, CAO Hong

(Institute of Agricultural Sciences of the Lixiahe District in Jiangsu Province, Yangzhou 225007, China)

**Abstract:** To explore the fresh-keeping effect of radiation and preservatives on stewed duck feet, a five-factor and four-level orthogonal test was designed. Five factors were set as nisin, potassium sorbate, sodium diacetate, sodium dehydroacetate and irradiation, and four levels were four dosages. The aroma, color, texture and taste sensory traits of stewed duck feet was evaluated. The results showed the dominant spoilage bacteria of stewed duck feet was composed of *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Pediococcus*, *Actinomyces*, *Escherichia*, *Propionibacterium*, *Enhydrobacter*, *Stenotrophomonas*, *Acinetobacter*, *Cupriavidus*, *Chryseobacterium*, *Peptococcus*, *Phascolarctobacterium*. The optimum combination of compound preservatives (for 25 g stewed duck feet) was 2.5 mg nisin, 0.2 mg potassium sorbate, 30.0 mg sodium diacetate, 2.5 mg sodium dehydroacetate. The radiation dose of 3 kGy was favorable for presenting the best aroma, color, texture and taste of stewed duck feet.

**Key words:** stewed duck feet; preservation; radiation; preservative

收稿日期: 2017-01-18

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2014BAA0305); 农业部公益性行业(农业)科研专项(201103007); 江苏省农业科技自主创新基金项目[CX(15)1009]

作者简介: 肖欢(1985-), 男, 江苏扬州人, 硕士研究生, 从事农产品辐照加工保质研究。(E-mail) zgyzrh@163.com

通讯作者: 曹宏, (E-mail) ch88188@163.com

中国是全球规模最大的鸭肉生产和消费国, 鸭肉产品生产已发展成为仅次于鸡肉的第二大畜禽类支柱产业。鸭掌筋多、无肉、皮厚、有嚼劲, 富含饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸, 易为人体消化吸收<sup>[1]</sup>, 是营养丰富的健康食材。卤鸭掌作为中国南方地区禽

肉制品特产,是人们日常食用的一种方便食品,深受消费者的喜爱。经卤水煮制的卤鸭掌包装后易产气胀袋,货架期短<sup>[2]</sup>,致使此类产品只能在生产地销售。传统即烧即食的地方特色风味食品多采用传统高温蒸煮<sup>[3]</sup>保质方式,容易导致食品感官品质不佳,同时失去特有风味。因此,研究卤鸭掌产品的菌群结构,开发保鲜新技术,在保留卤鸭掌优质感官品质的同时达到延长货架期的目的,对提高地方特色产品经济效益,促进中国传统饮食文化传播具有重要意义。

保鲜剂在食品保藏领域应用广泛,可以有效抑制腐败菌,延长熟肉制品的货架期和保留该产品特有风味。脱氢乙酸钠在腌制大头菜中对芽孢杆菌的抑制效果比较明显<sup>[4]</sup>。乳酸链球菌素对熟肉制品中腐败菌的生长繁殖具有一定抑制作用<sup>[5]</sup>,对鸡肉中的革兰氏阳性菌和微生物芽孢有很理想的抑制效果<sup>[6]</sup>。山梨酸钾对新鲜猪肉中的霉菌、酵母菌和好氧性细菌有抑制作用<sup>[7-8]</sup>,双乙酸钠对新鲜猪肉中霉菌的抗菌效果较好<sup>[7]</sup>。不同种类的原料肉、不同的加工工艺及加工环境等多种因素,使肉制品中的腐败微生物在种类、比例上存在区别,致使保鲜剂种类的选用及用量上也出现差异。李超<sup>[9]</sup>采用4种复配保鲜剂延长冷却鸭肉的保质期,在第9d时4组添加保鲜剂的冷却鸭肉菌落总数均超过 $5 \times 10^5$  CFU/g,不符合GB16869-2005<sup>[10]</sup>卫生要求。孟静等<sup>[11]</sup>在低温鸭肉中添加了4种保鲜剂(乳酸钠、山梨酸钾、柠檬酸、双乙酸钠),研究发现复合配方能延长贮藏期10d左右,但双乙酸钠和山梨酸钾的添加量之和超过了GB2760-2011<sup>[12]</sup>保鲜剂最大使用量比例之和不应超过1的要求。辐照处理作为现代食品保鲜技术,能够最大限度地保持熟肉制品的营养成分和感官品质<sup>[13]</sup>,可以在常温条件下有效杀灭多种致病菌和致腐微生物<sup>[14]</sup>,达到控制食源性疾病预防和延长食品货架期的目的。李澧等<sup>[15]</sup>研究发现对干鸭肉进行辐照处理,辐照剂量为4kGy时,干制鸭肉中的微生物未检出。杨郡亭等<sup>[16]</sup>研究发现辐照可以显著降低肉制品中瘦肉精的含量,当辐照剂量为3.4kGy时,肉制品中瘦肉精的降解率在80%以上。哈益明等<sup>[17]</sup>研究发现对冷却鸡采用0.9kGy辐照处理时,空肠弯曲杆菌致死率可达到99.99%,表明辐照处理对冷却鸡肉中主要致病污染菌空肠弯曲杆菌的杀灭效果极其显著。

本研究采用传统细菌分离培养法和16S rDNA菌群分析法确定卤鸭掌的优势腐败菌菌相构成;依据卤鸭掌优势腐败菌种类选择保鲜剂,研究保鲜剂与辐照处理相结合对卤鸭掌菌落总数的影响,确定保鲜剂与辐照剂量联合保鲜最优组合;采用不同剂量对试材辐照处理,探索不同辐照剂量对香气、色泽、质地及口感感官品质的影响,为进一步丰富地方特色风味卤鸭掌的保藏方法提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

卤鸭掌由扬州市食为天淮扬食品发展有限公司提供,包装材料为铝膜复合包装袋,真空包装,每袋25g。试验材料于35℃恒温条件贮藏10d,用于卤鸭掌优势腐败菌的分离与鉴定。试验材料于4℃恒温条件贮藏,用于复配保鲜剂与辐照剂量正交试验和辐照处理对感官品质影响试验。

### 1.2 仪器与试剂

PCR仪(美国Bio-rad公司产品),台式高速离心机(德国Eppendorf公司产品),电泳仪(上海Tanon公司产品),电热恒温水浴锅(上海精宏实验设备公司产品),凝胶成像仪(上海Tanon公司产品)。

QIAamp细菌基因组试剂盒购于上海凯杰企业管理有限公司,0.9%生理盐水、1.0%盐酸对氨基二甲基苯氨液、革兰氏染色液、3.0%~10.0%过氧化氢、凡士林石蜡油均为国产分析纯或化学纯,保鲜剂所用试剂乳酸链球菌素、山梨酸钾、双乙酸钠、脱氢乙酸钠均购自国药集团化学试剂有限公司。引物:338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3');806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')

### 1.3 试验方法

1.3.1 菌落的分离与纯化 无菌条件下用灭菌的剪刀将试材剪碎,放入装有225ml无菌生理盐水的三角瓶中,充分振荡后放在摇床上,110r/min振荡5min后取出。吸取1ml上清液,稀释至5个合适的梯度,每个稀释度做3个重复。平板倾注法36℃条件下培养48h<sup>[15]</sup>。从平板上挑取具有典型特征的菌落,在营养琼脂平板上划线培养,纯化后的单菌落用于菌种鉴定。

1.3.2 菌落形态观察 在显微镜下观察单个菌落的形状、大小、颜色、边缘结构、表面光滑度、透明度

等。

1.3.3 生理生化试验 根据《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[18]</sup>和《伯杰氏细菌鉴定手册》<sup>[19]</sup>对菌株进行氧化酶、接触酶、葡萄糖氧化发酵、精氨酸双水解酶、硝酸盐还原、动力情况等生理生化鉴定试验。

1.3.4 腐败菌总 DNA 的提取 取 25 mg 试材放入研钵,加液氮后充分研磨并装入 2 ml 离心管,加入 180  $\mu$ l ATL Buffer(组织裂解缓冲液)和 20  $\mu$ l 蛋白酶 K,56  $^{\circ}$ C 放置 1~3 h,待组织裂解完全后离心 10 s,加入 4  $\mu$ l RNA 酶,室温环境下放置 2 min,再加入 200  $\mu$ l AL Buffer(裂解液),充分振荡 15 s,在 70  $^{\circ}$ C 放置 10 min 后离心去除管壁上液体;加入 200  $\mu$ l 无水乙醇,振荡混匀后离心,将得到的溶液和絮状沉淀都加入吸附柱中,8 000 r/min 离心 30 s,倒掉液体,将吸附柱放入新收集管中,在吸附柱内加 500  $\mu$ l AW1 缓冲液,8 000 r/min 离心 30 s,去掉废液并将吸附柱放入新收集管中,加 500  $\mu$ l AW2 缓冲液至吸附柱内,8 000 r/min 离心 30 s,倒掉废液并将吸附柱置于新收集管内,13 000 r/min 离心 3 min,去废液,将吸附柱放入干净的离心管中,加入 40  $\mu$ l 洗脱缓冲液 AE,室温静置 2~5 min,8 000 r/min 离心 30 s,将溶液收集到离心管中,重复操作 1 次。盖好后 -20  $^{\circ}$ C 保存待用。

1.3.5 16S rDNA 基因的 PCR 扩增 PCR 反应体系:10 ng 模板 DNA,0.8  $\mu$ l 正向引物(5 pmol/ $\mu$ l),

0.8  $\mu$ l 反向引物(5 pmol/ $\mu$ l),2.0  $\mu$ l dNTPs(2.5 mmol/L),4.0  $\mu$ l 5 $\times$ FastPfu(快速 PCR 扩增)缓冲液,0.4  $\mu$ l FastPfu 聚合酶,总体积 20.0  $\mu$ l。扩增反应程序:95  $^{\circ}$ C 预变性 3 min;95  $^{\circ}$ C 变性 30 s,55  $^{\circ}$ C 退火 30 s,72  $^{\circ}$ C 延伸 45 s,27 个循环;72  $^{\circ}$ C 延伸 10 min。反应结束后 4  $^{\circ}$ C 保存待用。

1.3.6 菌群鉴定和结构分析 提取样品中腐败菌群总 DNA,通过 PCR 扩增 16S rDNA v3-v4 区基因片段,对目的基因进行序列测定<sup>[20-23]</sup>,测序工作在上海欧易生物医学科技有限公司完成。在 BLAST 中对获得的序列进行比对,序列比对分析软件为 PyNAST,运用 FastTree 软件构建进化树,分析试材中含有的菌群结构信息。

1.3.7 复配保鲜剂与辐照剂量正交试验 在参考《食品添加剂学》<sup>[24]</sup>和前期试验的基础上,选取乳酸链球菌素、山梨酸钾、双乙酸钠、脱氢乙酸钠添加量以及辐照剂量 5 个因素,按照  $L_{16}(4^5)$  正交试验设计筛选最佳保藏方案。保鲜剂处理:按照  $L_{16}(4^5)$  正交试验设计保鲜剂添加方案在 16 袋试验材料中添加对应的保鲜剂,真空包装,每个处理重复 2 次,共 32 袋试验材料,4 个不同水平保鲜剂添加量及其在各自允许最大添加量中的比例见表 1。辐照处理:经保鲜剂处理的试验材料在扬州辐照中心进行辐照处理,辐照源为  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  射线,辐照处理剂量分别为 0 kGy、3 kGy、6 kGy 和 9 kGy,剂量率为 667 Gy/h。

表 1 保鲜剂添加量(处理 25 g 卤鸭掌)及各自允许最大添加量的比例

Table 1 The amount of preservative (for 25 g stewed duck feet) and the respective proportion in the allowable maximum amount

水平	乳酸链球菌素		山梨酸钾		双乙酸钠		脱氢乙酸钠	
	添加量 (mg)	比例 (%)	添加量 (mg)	比例 (%)	添加量 (mg)	比例 (%)	添加量 (mg)	比例 (%)
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1.3	10	0.2	10	7.5	10	1.3	10
3	2.5	20	0.4	20	15.0	20	2.5	20
4	5.0	40	0.8	40	30.0	40	5.0	40

1.3.8 感官评定 对不同辐照剂量处理的样品进行感官评定。按照 GB/T16291.1-2012<sup>[25]</sup>培训感官评价员,选取 12 人组成评定小组,评价地点为江苏里下河地区农业科学研究所感官评价实验室。感官评定按照标准 GB/T22210-2008<sup>[26]</sup>进行,采用 5 分制评价方法,评分精确到小数点后 1 位。从食品的

气味、色泽、质地及口感 3 个方面对样品进行评定,最后通过统计学方法分析评价分数。辐照处理:将复配保鲜剂处理的试验材料在扬州辐照中心进行辐照处理,复配保鲜剂组合为 2.5 mg(20%)乳酸链球菌素、0.2 mg(10%)山梨酸钾、30.0 mg(40%)双乙酸钠、2.5 mg(20%)脱氢乙酸钠,辐照源为  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  射

线,辐照处理剂量分别为 0 kGy、3 kGy、6 kGy 和 9 kGy,剂量率为 667 Gy/h。

1.4 数据处理

采用 PyNAST 软件对基因进行序列比对,采用 FastTree 软件建立系统发育树,采用 SPSS 软件和 Data Processing System 软件进行数据处理、分析。

2 结果与分析

2.1 卤鸭掌优势腐败菌的确定

从细菌菌落总数平板上挑取 5 株具有典型菌落形态特征的菌株进行分离纯化,对纯化后的菌株进行革兰氏染色镜检,其中 4 株为革兰氏阳性菌,1 株为革兰氏阴性菌,革兰氏染色结果与菌落形态见表 2。革兰氏阳性菌占比较大,可能与卤鸭掌及调味料自带微生物种类有关。

参考《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[17]</sup> 和《伯杰氏

细菌鉴定手册》<sup>[19]</sup>对表 2 中的 5 株菌株进行生理生化鉴定,鉴定结果(表 3)表明:1、2、4 号为葡萄球菌,3 号为乳酸菌,5 号为假单胞菌属,这 3 种微生物都是食品中常见的微生物。

表 2 菌株特征以及菌落形态

Table 2 Characteristics of colony and shape of bacterial strains

菌株编号	菌落形态	菌落颜色	细菌形态	革兰氏染色
1	圆形,直径 2 mm,边缘整齐	乳白	球状	G+
2	圆形,边缘整齐	乳白,不透明	球状	G+
3	圆形	半透明	椭圆	G+
4	梭形,扁平	土褐色	球状	G+
5	圆形,扁平,直径 2~4 mm	半透明	杆状	G-

表 3 菌株生理生化试验结果

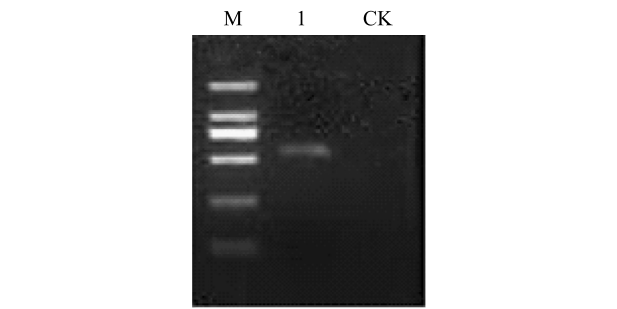
Table 3 Physiological and biochemical properties of bacterial strains

菌株编号	接触酶	氧化酶	葡萄糖氧化发酵	精氨酸双水解酶	动力情况	硝酸盐还原
1	阳性	阴性	F	NT	NT	NT
2	阳性	阴性	F	NT	NT	NT
3	阴性	阴性	F	NT	NT	阴性
4	阳性	阴性	F	NT	NT	NT
5	阳性	阳性	O	阳性	阳性	阳性

F 代表发酵型,O 代表氧化型,NT 表示未检测。

提取腐败菌总 DNA,经 PCR 扩增得到了 16S rDNA 保守序列,片段大小约 600 bp(图 1)。将回收的 DNA 片段连接到质粒载体上,转化大肠杆菌感受态细胞。将转化后的感受态细胞涂布在固体 LB 培养基平板上,经过蓝白斑筛选获得带有目的基因的阳性克隆子。阳性克隆子通过酶切验证后进行测序。经测序共获得 11 959 条 16S rDNA v3-v4 区序列,其中长度为 400~449 bp 的序列有 11 925 条,450~499 bp 的序列有 31 条,300~399 bp 的序列有 3 条。

利用 CD-HIT<sup>[27]</sup> 分类方法,依据序列的相似性,将所有序列以 97%的相似度进行 OTU(操作分类单元)分类,序列相似度大于或等于 97%时被归为一个 OTU 单元。统计试验材料中包含的 OTU 种类以及每个 OTU 含有序列的比例。在每个 OTU 中挑选出代表序列,将所有代表序列在 Greengenes 数据库



M:DNA Marker;1:菌群 16S rDNA;CK:阴性对照。

图 1 PCR 扩增细菌 16S rDNA 基因

Fig.1 PCR amplification of bacterial 16S rDNA

中<sup>[28-30]</sup>进行比对。试验材料中共检出 OTU 数目 30 个,菌相构成鉴定到 13 个属,其中葡萄球菌属(Staphylococcus)所占比例为 92.582 9%,说明葡萄球菌属是卤鸭掌中的优势菌群,与常规菌群鉴定结



果相一致。其余 12 个属为小球菌属 *Pediococcus* (2.759 4%)、放线菌属 *Actinomyces* (1.429 9%)、假单胞菌属 *Pseudomonas* (0.183 9%)、埃希氏菌属 *Escherichia* (0.041 8%)、丙酸杆菌属 *Propionibacterium* (0.025 1%)、水栖菌属 *Enhydrobacter* (0.025 1%)、寡养单胞菌属 *Stenotrophomonas* (0.016 7%)、不动细菌属 *Acinetobacter* (0.016 7%)、贪铜菌属 *Cupriavidus* (0.008 4%)、金黄杆菌属 *Chryseobacterium* (0.008 4%)、消化球菌属 *Peptococcus* (0.008 4%)、考拉杆菌属 *Phascolarctobacterium*

(0.008 4%)。

## 2.2 复配保鲜剂与辐照剂量的正交试验结果

为寻找具有最佳防腐效果的保鲜方案,将复配保鲜剂与辐照处理相结合,根据卤鸭掌特有的优势腐败菌种类及菌相构成,有针对性地以乳酸链球菌素、山梨酸钾、双乙酸钠、脱氢乙酸钠为溶质,以水为溶剂制备成卤鸭掌贮藏专用保鲜剂。设计 5 个因素(乳酸链球菌素、山梨酸钾、双乙酸钠、脱氢乙酸钠添加量及辐照剂量)、每个因素 4 水平的正交试验(表 4),通过菌落总数评价保鲜方案的优劣。

表 4 复配保鲜剂与辐照剂量正交试验表

Table 4 Orthogonal experiment table of compound preservative and radiation dose

样品号	因素水平					菌落总数 (CFU/g)			
	乳酸链球菌素	山梨酸钾	双乙酸钠	脱氢乙酸钠	辐照	第 3 d		第 10 d	
						重复 1	重复 2	重复 1	重复 2
1	1	1	1	1	1	9 500	6 600	76 400 000	68 000 000
2	1	2	2	2	2	0	0	0	0
3	1	3	3	3	3	0	0	0	0
4	1	4	4	4	4	0	0	0	0
5	2	1	2	3	4	0	0	0	0
6	2	2	1	4	3	0	0	0	0
7	2	3	4	1	2	0	0	0	0
8	2	4	3	2	1	820	980	153 000	140 000
9	3	1	3	4	2	0	0	0	0
10	3	2	1	3	1	290	210	300	280
11	3	3	4	2	4	0	0	0	0
12	3	4	2	1	3	0	0	0	0
13	4	1	4	2	3	0	0	0	0
14	4	2	3	1	4	0	0	0	0
15	4	3	2	4	1	1 000	910	153 000	140 000
16	4	4	1	3	2	0	0	0	0

乳酸链球菌素因素水平 1、2、3、4 分别为用量 0 mg、1.3 mg、2.5 mg、5.0 mg;山梨酸钾因素水平 1、2、3、4 分别为用量 0 mg、0.2 mg、0.4 mg、0.8 mg;双乙酸钠因素水平 1、2、3、4 分别为用量 0 mg、7.5 mg、15.0 mg、30.0 mg;脱氢乙酸钠因素水平 1、2、3、4 分别为用量 0 mg、1.3 mg、2.5 mg、5.0 mg;辐照因素水平 1、2、3、4 分别为剂量 0 kGy、3 kGy、6 kGy、9 kGy。

对不同时期菌落总数数据进行方差分析,结果(表 5)显示 5 个因素  $F$  检验的  $P$  值均小于 0.05,说明 5 个因素对第 3 d 和第 10 d 菌落总数均有显著影响。

由表 6 看出,当复配保鲜剂组合为  $A_3B_2C_4D_3$  时,即样品中含有 2.5 mg (20%) 乳酸链球菌素、0.2 mg (10%) 山梨酸钾、30.0 mg (40%) 双乙酸钠、2.5

mg (20%) 脱氢乙酸钠时,第 3 d 时菌落总数最少。第 10 d 的分析结果与第 3 d 结果一样,最优组合也是  $A_3B_2C_4D_3$ 。根据表 1 中保鲜剂允许最大添加量中的比例,复配保鲜剂最优组合  $A_3B_2C_4D_3$  的比例之和为 90%,符合 GB 2760-2011 规定的同一功能食品添加剂(相同色泽着色剂、保鲜剂、抗氧化剂)在混合使用时,各自用量占其最大使用量的比例之和不

应超过 1 的要求。

表 7 显示,与辐照剂量 0 kGy 对照相比,3 kGy、6 kGy、9 kGy 3 个剂量处理菌落总数第 3 d 和第 10 d 时都显著减少 ( $P<0.05$ ),3 个处理之间无显著差异。

由此可见,辐照处理对菌落总数有显著影响,但是辐照剂量的增加对菌落总数的减少没有显著影响,因此选择辐照剂量为 3 kGy。

表 5 不同贮藏期主体间效应的检验

Table 5 The test of inter-subject effect in different storage periods

项目	第 3 d			第 10 d		
	自由度	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值	自由度	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
校正模型	15	30.367	0.000 1	15	295.353	0.000 1
截距	1	48.816	0.000 1	1	297.917	0.000 1
乳酸链球菌素	3	25.755	0.000 1	3	294.712	0.000 1
山梨酸钾	3	25.755	0.000 1	3	294.712	0.000 1
双乙酸钠	3	25.755	0.000 1	3	294.712	0.000 1
脱氢乙酸钠	3	25.755	0.000 1	3	294.712	0.000 1
辐照	3	48.816	0.000 1	3	297.917	0.000 1

表 6 不同保鲜剂的水平检验

Table 6 Bacterial colony count affected by different dosages of preservatives

水平	第 3 d 菌落总数				第 10 d 菌落总数			
	乳酸链球菌素(A)	山梨酸钾(B)	双乙酸钠(C)	脱氢乙酸钠(D)	乳酸链球菌素(A)	山梨酸钾(B)	双乙酸钠(C)	脱氢乙酸钠(D)
1	2 012	2 012	2 012	2 012	18 050 000	18 050 000	18 050 000	18 050 000
2	225	62	239	225	36 625	72	36 625	36 625
3	62	239	225	62	72	36 625	36 625	72
4	239	225	62	239	36 625	36 625	72	36 625

表 7 不同辐照剂量对菌落总数影响的多重比较

Table 7 Multiple comparison of radiation dose on the total number of bacterial colonies

辐照剂量(kGy)	菌落总数(CFU/g)	
	第 3 d	第 10 d
0	2 539±514a	18 123 322±1 489 525a
3	0b	0b
6	0b	0b
9	0b	0b

不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P<0.05$ )。

2.3 辐照处理对感官品质的影响

根据卤鸭掌的自身风味特点,建立卤鸭掌感官分析指标。3 项评分指标香气、色泽、质地及口感的权重分别为 30%、30%、40%,具体评分指标见表 8。

由表 9 可知,辐照后第 1 d,3 kGy、6 kGy 和 9

kGy 剂量辐照后的卤鸭掌香气与未辐照对照组间差异极显著 ( $P<0.01$ ),3 kGy 和 6 kGy、9kGy 剂量辐照处理组间也有极显著 ( $P<0.01$ ) 差异。未辐照对照组(0 kGy)的卤鸭掌香气得分为 4.63,优于其他各辐照处理组,卤鸭掌样品香气随着辐照剂量的增加而降低,6 kGy 和 9 kGy 剂量辐照组间无极显著差异;辐照后第 90 d,0 kGy 处理组的卤鸭掌高度腐败,无法食用,3 kGy、6 kGy、9 kGy 剂量辐照组间香气得分差异极显著 ( $P<0.01$ ),9 kGy 处理的卤鸭掌香气得分为 2.47,低于其他各辐照处理组。

卤鸭掌经过辐照处理后第 1 d,3 kGy 剂量辐照处理组色泽与未辐照对照组间无显著差异,6 kGy、9 kGy 剂量辐照处理组间无显著差异,6 kGy、9kGy 处理组与 0 kGy、3 kGy 处理组间差异极显著 ( $P<0.01$ );辐照后第 90 d,0 kGy 处理的鸭掌高度腐败,

无法食用,3 kGy、6 kGy、9 kGy 剂量辐照组间色泽评分差异极显著( $P<0.01$ ),9 kGy 处理的卤鸭掌色泽

得分为 2.84,低于其他各辐照处理组。

表 8 卤鸭掌感官分析指标

Table 8 Sensory index of stewed duck feet

分值	气味	色泽	质地及口感
5.0	具有浓郁的卤鸭掌特有的麻辣香气	色泽淡黄、表面有淡红色光泽	质地脆嫩,有韧性;有卤鸭掌特有的麻辣鲜味,滋味鲜美
4.0	具有卤鸭掌特有的麻辣香气味,但略淡	色泽淡黄、淡红色光泽略暗	质地较脆嫩,基本有韧性;有卤鸭掌特有的麻辣鲜味,但麻辣味变淡
3.0	基本具有卤鸭掌特有的麻辣香气味,无异味	色泽淡黄、淡红色光泽度较差	质地尚可,韧性差;有卤鸭掌特有的麻辣鲜味,但麻辣味很淡
2.0	有淡淡的异味(如硫化氢,焦糊,酸败等气味)	色泽灰白、无光泽	质地变软,无韧性;麻辣味很淡,口感差
1.0	有较浓的不良气味及其他异味	色泽灰、无光泽	质地软无韧性;麻辣滋味全无

3 kGy、6 kGy、9 kGy 辐照处理后 1 d 时,卤鸭掌质地及口感与未辐照对照组相比无显著差异,各辐照处理组间也未出现显著差异;辐照处理后 90 d

时,未辐照处理的卤鸭掌高度腐败,无法食用,辐照处理组鸭掌的菌落总数都未检出,各辐照处理组间的质地及口感评价差异不显著。

表 9 辐照后 1 d 和 90 d 后卤鸭掌感官评价得分

Table 9 Sensory scores of stewed duck feet one day and 90 d after irradiation

辐照剂量 (kGy)	储存时间 (d)	菌落总数 (CFU/g)	气味评分	色泽评分	质地及口感评分
0	1	8 050±2 050	4.63±0.15A	4.56±0.17A	4.14±0.24A
3	1	0	4.19±0.18B	4.32±0.20A	4.16±0.22A
6	1	0	3.28±0.26C	3.54±0.36B	4.02±0.32A
9	1	0	3.35±0.32C	3.45±0.28B	4.22±0.23A
0	90	—	—	—	—
3	90	0	4.01±0.17A	4.02±0.25A	4.09±0.24A
6	90	0	3.03±0.31B	3.19±0.21B	4.01±0.25A
9	90	0	2.47±0.27C	2.84±0.35C	4.14±0.31A

不同大写字母表示不同辐照组间得分差异极显著( $P<0.01$ )。—:表示已严重腐败,不进行评判。

3 讨论

近年来,研究人员多采用培养和非培养的方法研究环境中的微生物菌群特性<sup>[31-37]</sup>。本研究通过传统微生物鉴定方法从卤鸭掌中鉴定出 3 种类型菌株,16S rDNA 菌群分析结果显示卤鸭掌中含有 13 个属的微生物,2 种不同分析方法得到不同结果。这可能与以下原因有关:传统方法步骤繁琐,生理生化鉴定试验多,微生物形态观察时易发生人为误差;16S rDNA 菌群分析测序时选择的克隆子数量不能包含检测对象中的全部微生物,同时选择不同的试

验条件和数据分析工具可能也会导致出现不同的试验结果。以上 2 种微生物分离鉴定分析方法都有局限性,将两者试验结果综合利用才可以得到较为准确、全面的试验结果<sup>[38-39]</sup>。

微生物的生长与繁殖会影响食品的品质与货架期<sup>[40]</sup>,菌落总数是食品保藏过程中品质检测的重要参数<sup>[41]</sup>。复配保鲜剂与辐照剂量正交试验结果显示,5 种因素的不同水平对第 3 d 和第 10 d 菌落总数都产生了显著影响,当辐照剂量为 0kGy 时,第 10 d 菌落总数超过了国家熟肉制品卫生标准要求<sup>[41]</sup>(菌落总数≤80 000 CFU/g),表明仅使用复配防腐

剂时卤鸭掌的贮藏期小于 10 d,而辐照剂量为 3 kGy、6 kGy、9 kGy 时,第 3 d 和第 10 d 的菌落总数都为 0,说明辐照处理与添加保鲜剂联合保鲜处理可以有效降低卤鸭掌中的微生物含量,经辐照处理卤鸭掌的贮藏期可以达到 90 d。

肉类和禽类制品经过辐照后类脂和蛋白质等物质会产生典型的辐照味<sup>[42]</sup>,猪肉和牛肉经过辐照会出现增色现象<sup>[43]</sup>。这些现象影响了辐照食品的感官品质并让部分消费者对辐照食品产生了质疑,因此对辐照食品的感官品质研究必不可少。本试验中,辐照处理的卤鸭掌质地及口感与未辐照对照相比无显著差异,与高美须等<sup>[14]</sup>对泡椒凤爪的研究结果一致,但气味和色泽感官评价得分都有一定程度的降低,且随着辐照剂量的增加而降低,3 kGy 辐照剂量对卤鸭掌感官品质的影响最小,其感官品质最接近未辐照对照的感官评价结果。

## 参考文献:

- [1] 史奎春,侯增跃,阎跃文.野山椒泡鸭掌加工工艺研究[J].肉类研究,2009(9):37-39.
- [2] 林 睿,王亚楠,王宏勋.裸装卤制鸭掌中乳酸菌生长预测模型的构建[J].食品工业科技,2013(9):112-114,118.
- [3] 曾庆孝,李汴生,陈 中,等.食品加工与保藏原理[M].北京:化学工业出版社,2014:104-105.
- [4] 王征征,李玉峰,李明元,等.防腐剂对腌制大头菜中腐败微生物的抑制效果研究[J].中国食品添加剂,2016(1):119-126.
- [5] 王 明,雷 激,李铁志.防腐剂对熟肉制品保质期影响的研究[J].食品工业,2016,37(5):175-178.
- [6] 农绍庄,耿玉秋,张嘉颖,等.新型鸡肉制品防腐保鲜剂研究[J].食品科技,2007,3(48):173-177.
- [7] 任 杰,邱春强,朱 伟,等.几种主要防腐剂抑菌性和肉品保鲜的作用研究[J].肉类工艺,2016(7):52-56.
- [8] 余 倩,温冬玲.冷鲜肉中腐败菌抑菌技术研究进展[J].江苏农业科学,2015,43(8):296-299.
- [9] 李 超.四种保鲜剂处理对冷却鸭肉保鲜效果的研究[J].肉类研究,2011,25(2):17-20.
- [10] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局.GB 16869-2005 鲜、冻禽产品[S].北京:中国标准出版社,2006:3.
- [11] 孟 静,范远景,龚 涛,等.不同防腐剂对低温鸭肉制品保鲜工艺优化研究[J].肉类工业,2015(12):30-34.
- [12] 中华人民共和国卫生部.GB 2760-2011 食品添加剂使用标准[S].北京:中国标准出版社,2011:3.
- [13] 程安玮,杜方岭,徐同成,等.辐照对食品营养成分的影响[J].山东农业科学,2009(11):57-60.
- [14] 高美须,陈 浩,刘春泉,等.食品辐照技术在中国的研究和商业化应用[J].核农学报,2007,21(6):606-611.
- [15] 李 澧,朱佳廷,冯 敏,等.辐照灭菌对干制鸭肉品质的影响[J].江苏农业科学,2012,40(12):278-280.
- [16] 杨郡亭,冯 敏,赵永富,等. $\gamma$ 辐照降解肉制品中克隆特罗的初步研究[J].江苏农业科学,2010(6):414-416.
- [17] 哈益明,居 华,王 锋,等. $\gamma$ 射线辐照控制冷却鸡肉中的致病菌及贮藏期变化研究[J].辐射研究与辐射工艺学报,2009,27(5):275-279.
- [18] 东秀珠,蔡妙英.常见细菌系统鉴定手册[M].北京:科学出版社,2001:370-371,377,381.
- [19] 布坎南 R E,吉本斯 N E.伯杰细菌鉴定手册[M].8版.北京:科学出版社,1984:274-275,667-675,797-820.
- [20] 丁衬村,周艳红,林凡云,等.转基因小麦田土壤细菌 16S rDNA V3 片段的 DGGE 分析[J].江苏农业学报,2011,27(1):66-70.
- [21] THOROLFSDOTTIR B O, MARTEINSSON V T. Microbiological analysis in three diverse natural geothermal bathing pools in iceland[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health,2013, 10(3):1085-1099.
- [22] FADROSH D W, MA B, GAJER P, et al. An improved dual-indexing approach for multiplexed 16S rRNA gene sequencing on the Illumina MiSeq platform[J]. Microbiome,2014,2(1):1-7.
- [23] 宋金龙,林勇平,梁 颖,等.16S rDNA 序列分析在临床不常见细菌鉴定中的初步应用[J].热带医学杂志,2014,14(5):611-614,630.
- [24] 秦卫东,白青云,陈学红,等.食品添加剂学[M].北京:中国纺织出版社,2014:36-60.
- [25] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局.GB/T 16291.1-2012 感官分析选拔、培训与管理评价员一般导则第 1 部分:优选评价员[S].北京:中国标准出版社,2012:1-17.
- [26] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局.GB/T 22210-2008 肉与肉制品感官评定规范[S].北京:中国标准出版社,2008:1-3.
- [27] LI W Z, GODZIK A. Cd-hit: a fast program for clustering and comparing large sets of protein or nucleotide sequences[J]. Bioinformatics, 2006,22(13):1658-1659.
- [28] DESANTIS T Z, HUGENHOLTZ P, LARSEN N, et al. Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB[J]. Appl Environ Microbiol, 2006,72(7):5069-5072.
- [29] 徐 瑛,孙永明,郑 涛,等.高通量测序技术辅助筛选脱硫菌[J].化工学报,2014,65(5):1808-1814.
- [30] 张 正,李 彬,王印庚,等.基于高通量测序的池塘养殖半滑舌蛔消化道菌群的结构特征分析[J].水生生物学报,2015,39(1):38-45.
- [31] 许文涛,郭 星,罗云波,等.微生物菌群多样性分析方法的研究进展[J].食品科学,2009,7(30):258-265.
- [32] 李引强,朱宝利,吴 俊,等.16S rRNA 的分子生物学方法分析牛奶中的细菌菌群[J].食品科学,2013,34(20):255-260.
- [33] 舒 畅,吴春生,钟慈平,等.发酵食品微生物多样性研究方法进展[J].食品科学,2013,34(15):397-402.
- [34] 涂 晨,骆永明,马露瑶,等.分子生物学与系统生物学技术在



- 土壤污染微生物生态研究中的应用[J].土壤学报,2013,50(3):609-617.
- [35] 丁新彪,丛柏林,张 扬,等.南极普里兹湾及邻近海域沉积物微生物多样性与生理生化研究[J].海洋科学进展,2014,32(2):209-218.
- [36] 何建华,蒋 玮,吕贝贝,等.ART-PCR 诱变筛选草菇优良菌株及 RAPD 分析[J].核农学报,2014,28(11):1950-1955.
- [37] 熊冬梅,曾 璐,熊兴耀,等.基于  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  射线辐照的木糖乙醇发酵差异性突变菌株筛选及其发酵特性[J].核农学报,2015,29(2):290-295.
- [38] 谢 科,余晓峰,郑海松,等.传统分离培养结合 PCR-DGGE 技术分析广式腊肠中优势菌[J].食品科学,2013,34(4):157-160.
- [39] 董晓婉,李宝坤,卢士玲,等.传统分离培养结合 PCR-DGGE 技术分析传统乳制品中的乳酸菌[J].食品与发酵工业,2014,40(3):97-101.
- [40] 赵文红,林慧珍,陈海光,等.冰鲜鸭优势腐败菌的鉴定[J].现代食品科技,2012,28(7):728-732.
- [41] 中华人民共和国卫生部.GB 2726-2005 熟肉制品卫生标准[S].北京:中国标准出版社,2005:1-5.
- [42] MERFITT C. Chemical Changes associated with flavor in irradiated meat[J].Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1975, 23: 1037.
- [43] 王 锋,哈益明,周洪杰,等.辐照对食品营养成分的影响[J].食品与机械,2005,21(5):45-48.

(责任编辑:张震林)