

不同贮藏温度下稻花鸡肉优势腐败菌变化及Arrhenius货架期预测模型的建立

刘梦竹¹, 徐志宏^{1,2}, 魏琦麟², 涂杜², 康桦华^{2*}

(1. 岭南现代农业科学与技术广东省实验室肇庆分中心, 广东肇庆 526238) (2. 广东省农业科学院动物卫生研究所, 农业农村部兽用药物与诊断技术广东科学观测实验站, 广东省畜禽疫病防治研究重点实验室, 广东广州 510640)

摘要: 为获得稻花鸡肉腐败菌的 Arrhenius 货架期预测模型, 采用培养基初步筛选与 16S rDNA 全基因序列鉴定优势腐败菌, 研究不同贮藏温度 (25、4、0 °C) 下优势腐败菌和菌落总数的生长变化, 通过化学反应动力学方程构建菌落总数、假单胞菌和沙雷氏菌货架期预测模型并进行验证。结果表明, 稻花鸡肉在贮藏过程中逐渐占主导地位的优势腐败菌是假单胞菌属莓实假单胞菌和肠杆菌科沙雷氏菌属液化沙雷氏菌。稻花鸡肉 25 °C 常温贮藏下货架期不超过 0.5 d, 腐败中后期沙雷氏菌占主导地位, 4 °C 冷藏保鲜货架期不超过 4 d, 假单胞菌和沙雷氏菌均随贮藏时间的延长呈增长趋势, 0 °C 冰温贮藏货架期不超过 10 d, 贮藏后期假单胞菌和沙雷氏菌差异性不显著。利用菌落总数、假单胞菌、沙雷氏菌 3 个指标建立货架期预测模型, 3 种货架期预测模型预测值与实测值对比, 平均相对误差均在允许范围内, 预测效果最佳的是假单胞菌货架期预测模型。菌落总数、假单胞菌和沙雷氏菌货架期预测模型均能对稻花鸡肉的货架期进行真实预测。

关键词: 稻花鸡肉; 菌落总数; 假单胞菌; 沙雷氏菌; 货架期预测模型

文章编号: 1673-9078(2024)02-178-186

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.2.0286

Variation in Dominant Spoilage Bacteria in Daohua Chicken and Establishment of an Arrhenius Shelf-life Prediction Model under Different Storage Temperatures

LIU Mengzhu¹, XU Zhihong^{1,2}, WEI Qilin², TU Du², KANG Huahua^{2*}

(1. Zhaoqing Branch, Guangdong Laboratory for Lingnan Modern Agriculture, Zhaoqing 526238, China)
(2. Institute of Animal Health, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Scientific Observation and Experiment Station of Veterinary Drugs and Diagnostic Techniques of Guangdong Province, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Key Laboratory of Livestock Disease Prevention of Guangdong Province, Guangzhou 510640, China)

Abstract: To obtain an Arrhenius shelf-life prediction model of Daohua chicken spoilage bacteria, preliminary culture medium screening and complete 16S rDNA gene sequences were used to identify the dominant spoilage bacteria,

引文格式:

刘梦竹, 徐志宏, 魏琦麟, 等. 不同贮藏温度下稻花鸡肉优势腐败菌变化及 Arrhenius 货架期预测模型的建立 [J]. 现代食品科技, 2024, 40(2): 178-186.

LIU Mengzhu, XU Zhihong, WEI Qilin, et al. Variation in dominant spoilage bacteria in Daohua chicken and establishment of an Arrhenius shelf-life prediction model under different storage temperatures [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(2): 178-186.

收稿日期: 2023-03-09

基金项目: 广东省科技计划项目 (2019B020217002; 2019B020225001; 2021B1212050021); 广东省现代农业产业园项目 ((2021)1024); 广东省农业科学院学科团队建设 (202122TD)

作者简介: 刘梦竹 (1994-), 女, 硕士, 研究方向: 食品加工与安全, E-mail: 1824924342@qq.com

通讯作者: 康桦华 (1979-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 动物疫病与屠宰标准, E-mail: 534011491@qq.com

and the growth changes in the dominant spoilage bacteria and the total number of bacterial colonies under different storage temperatures (25, 4, 0 °C) were studied. The prediction models for the total number of bacterial colonies and the shelf life of *Pseudomonas* and *Serratia* were established and verified based on the kinetic equation of the chemical reaction. The results showed that the dominant spoilage bacteria were *Pseudomonas fragi* and *Serratia liquefaction* at different storage temperatures. The shelf life of Daohua chicken under normal-temperature storage at 25 °C was less than 0.5 d, and *Serratia* was dominant in the middle and late stages of decay. The shelf life with refrigeration at 4 °C was less than 4 d. Both *Pseudomonas* and *Serratia* showed an increasing trend with the extension of storage time. The shelf life with ice storage at 0 °C was less than 10 d. There was no significant difference between *Pseudomonas* and *Serratia* at the later stage of storage. The shelf-life prediction model was established based on the total number of *Pseudomonas* and *Serratia* colonies. The relative errors of the predicted values of the three shelf-life prediction models were all within the permissible range, and the *Pseudomonas* shelf-life prediction model had the best prediction effect. The results showed that shelf-life prediction models based on the total number of *Pseudomonas* and *Serratia* colonies could all predict the shelf life of Daohua chicken.

Key words: Daohua chicken; total number of bacterial colonies; *Pseudomonas*; *Serratia*; shelf-life prediction model

稻花鸡又名雪花鸡，属灵山彩凤鸡种，是灵山香鸡与野山鸡经过 30 多年杂交选育而成的独特品种^[1]，其肌肉组织发达，煮熟后皮脆，脂肪少，口感细腻，鸡味浓郁，是广东地区制作白切鸡等菜肴的重要原料^[2]。鸡肉的营养丰富，适合微生物生长繁殖，因此鸡肉在贮藏过程中易发生腐败变质，货架期缩短，影响消费者的安全健康^[3-5]。鸡肉的贮藏时间、温度、包装气体组成是其腐败变质的重要因素^[6-8]，导致食品腐败变质的微生物即腐败菌是影响肉制品腐败变质的重要因素^[9,10]。在活鸡下架生鲜鸡上市的政策下，有关稻花鸡肉在不同贮藏温度下货架期的研究未见报道，因此研究鸡肉在加工、运输、贮藏和销售等环节中优势腐败菌和菌落总数的变化，建立准确可靠的货架期预测模型，监控鸡肉贮藏过程中品质及微生物变化能够降低鸡肉腐败变质的风险^[11-13]，对稻花鸡行业的发展具有极显著的现实意义和实用价值。

本文前期高通量测序研究稻花鸡肉在不同贮藏温度下细菌组成多样性的结果表明，不同贮藏温度后期鸡肉的优势腐败菌均为假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 和沙雷氏菌属 (*Serratia*)^[14]，本研究在此基础上，纯化与鉴定优势腐败菌，根据鉴定结果探究 25 °C 常温保存、4 °C 冷藏保鲜和 0 °C 冰温贮藏过程中优势腐败菌及菌落总数的变化情况；以菌落总数和两种优势腐败菌为关键品质因子建立 Arrhenius 方程，构建稻花鸡肉货架期预测动力学模型。通过构建的菌落总数货架期预测模型、假单胞菌货架期预测模型、沙雷氏菌货架期预测模型，监控稻花鸡肉的品质变化，为稻花鸡肉的安全贮藏提供一定理论依据。

1 材料与方法

1.1 原料

生鲜稻花鸡（每只约 1.95 kg），恩平兴宇生态农业有限公司；生鲜托盘，桐城市阳光塑业有限公司；25 m×20 cm 聚乙烯保鲜膜，佳能食品级保鲜膜；分析纯甘油，国药集团化学试剂有限公司；假单胞菌 CFC 选择性培养基及添加剂 (*Pseudomonas* CFC Selective Agar)，青岛日水生物技术有限公司；紫红胆盐葡萄糖琼脂培养基 (Violet Red Bile Glucose Agar) 培养基、营养琼脂 (Nutrient Agar)、缓冲蛋白胍水 (Buffered Peptone Water)，广东环凯微生物科技有限公司。

1.2 主要仪器设备

FJ300-SH 均质机，上海标本模型厂；GQZ60-02XG 控温型保鲜箱，天津捷胜东辉保鲜科技有限公司定制；HWS 智能型恒温箱，宁波江南仪器厂制造；5Q6892 威玛德温湿度检测仪，广州威德玛环境仪器有限公司；BCD-648WDBE 海尔冰箱，海尔集团；YC-395L 2~8 °C 医用冰箱，中科美菱生物医疗有限公司；SW-CJ-2D 超净工作台，苏州净化设备有限公司；LRH 生化培养箱，上海一恒科学仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 样品处理

购买于恩平兴宇生态农业有限公司的稻花鸡为当天凌晨屠宰的生鲜稻花鸡，均已度过僵直期。预先紫外杀菌生鲜托盘和保鲜膜，鸡的外包装酒精消

毒后迅速放入超净台中,用灭菌后的手术刀无菌割取完整鸡胸和鸡腿肉,每个预先消毒的生鲜托盘放置一块完整鸡胸肉和一只鸡腿,用保鲜膜覆盖托盘包装^[15],根据不同的实验要求分别置于25、4和0℃贮藏。实验完成后,取鸡胸肉与鸡腿肉1:1混合样本进行菌落总数的测定、假单胞菌属和肠杆菌科沙雷氏菌属的鉴定与测定。

1.3.2 假单胞菌属筛选及纯化鉴定

参考SN/T 4044-2014《出口肉及肉制品中假单胞菌属的计数方法》,方法略作修改。称取0℃冰温贮藏8d的稻花鸡肉25g,置于盛有225mL灭菌生理盐水锥形瓶中,8000~10000 r/min均质2min。10倍系列稀释,选择3个适宜稀释度样品均液,各取0.1mL接种到CFC平板,涂布均匀,(25±1)℃培养(44±4)h,挑选特征菌落进行氧化酶试验验证。挑选氧化酶阳性菌落,接种至LB液体培养基中,(25±1)℃培养(44±4)h后划线CFC培养基,(25±1)℃培养(44±4)h,挑选特征菌落进行氧化酶试验,反复纯化6代,进行鉴定。

1.3.3 肠杆菌科沙雷氏菌属筛选及纯化鉴定

参考GB 4789.41-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 肠杆菌科检验》,方法略作修改。称取0℃冰温贮藏8d的稻花鸡肉25g,置于盛有225mL BPW 锥形瓶中,8000~10000 r/min均质2min。10倍系列稀释,选择3个适宜稀释度样品均液,各取1mL分别加入无菌培养皿中,每皿倾注15mL VRBGA 培养基,混匀,待琼脂凝固后,倾注一薄层VRBGA 培养基覆盖平板表层,(36±1)℃,培养(24±1)h。挑选典型菌落(有或无沉淀环的粉红色至红色或紫色菌落)划线NA平板,(36±1)℃,培养(24±1)h。挑取菌落进行革兰氏染色镜检、氧化酶试验及葡萄糖发酵试验。选取革兰氏阴性、氧化酶阴性、葡萄糖发酵阳性菌落接种至LB液体培养基中,(36±1)℃培养24h,后划线NA培养基,(36±1)℃培养24h,进行革兰氏染色镜检、氧化酶试验及葡萄糖发酵试验,反复纯化6代,进行鉴定。

1.3.4 优势腐败菌的16S rDNA鉴定

挑选纯化第6代,初步鉴定为假单胞菌属和肠杆菌属的菌落,委托生工生物工程股份有限公司进行16S rDNA全序列鉴定。

按SK8255(细菌)试剂盒操作提取基因组DNA,后进行PCR扩增。扩增序列5'→3',上

游引物7FC:AGAGTTTGATCCTGGCT下游引物1540R:AGGAGGTGATCCAGCCGCA,反应体系为:Template(基因组DNA 20~50 ng/μL) 0.5 μL, 10×Buffer(with Mg²⁺) 2.5 μL, dNTP(各2.5 mmol/L) 1 μL, 酶0.2 μL, F(10 μmol/L) 0.5 μL, R(10 μmol/L) 0.5 μL, 加双蒸H₂O至25 μL。PCR循环条件为:94℃预变性4min,94℃45s,55℃45s,72℃1min,30 cycle,72℃修复延伸10min,降温至4℃终止反应。用1%琼脂糖进行电泳,150V、100mA电泳20min。纯化回收:PCR产物电泳条带切割所需DNA目的条带,纯化方式见附见说明书(SK8131),PCR产物用PCR引物直接测序。测序结果分析:16S rDNA序列在核糖体数据库<http://rdp.cme.msu.edu/index.jsp>上比对。

1.3.5 菌落总数的测定

参考GB 4789.2-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数》。

1.3.6 假单胞菌属菌落数的测定

参考SN/T 4044-2014《出口肉及肉制品中假单胞菌属的计数方法》。

1.3.7 肠杆菌科沙雷氏菌属菌落数的测定

参考GB 4789.41-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 肠杆菌科检验》。

1.3.8 菌落总数及优势腐败菌Arrhenius货架期预测模型的建立

食品品质在贮藏过程中的变化可用化学反应动力学方程式来反映。化学反应动力学的基本公式可表示为:

$$\pm \frac{dA}{dt} = K \times A^n \quad (1)$$

式中:

A ——品质因子的浓度;

t ——贮藏时间;

K ——变化速率常数;

n ——反应级数。

大多数食品的质量与时间关系表现出零级或一级的反应,即 $n=0$ 或 $n=1$,动力学方程如下:

$$\text{零级反应: } A = A_0 - Kt \quad (2)$$

$$\text{一级反应: } A = A_0 \times e^{-Kt} \quad (3)$$

本实验检测25℃常温保存、4℃冷藏保鲜、0℃冰温贮藏3种条件下菌落总数、假单胞菌属和肠杆菌科沙雷氏菌属,随贮藏时间变化的情况,通过对数据的整理,利用反应级数和反应速率常数进

行推导 Arrhenius 方程。通过不同温度贮藏过程中品质因子与贮藏时间的关系图,即可得出反应级数。阿仑尼乌斯(Arrhenius)方程如下:

$$K = K_0 \times e^{-\frac{E_a}{RT}} \quad (4)$$

式中:

T ——绝对温度;

K_0 ——方程常数;

E_a ——为活化能, J/mol;

R ——气体常数。

由式(1)和式(4),可得:

$$\frac{dA}{dt} = K \times A^n = K_0 \times e^{-\frac{E_a}{RT}} \times A^n \quad (5)$$

对式(5)积分后,可得贮藏过程中的品质变化通用动力学模型:

$$F(A) = K \times t = K_0 \times e^{-\frac{E_a}{RT}} \times t \quad (6)$$

根据贮藏过程中品质因子的变化,结合公式(6)可得贮藏过程中菌落总数及优势腐败菌变化的动力学模型:

$$F(A) = K \times t = K_0 \times e^{-\frac{E_a}{RT}} \times t = \ln A_t - \ln A_0$$

$$\text{即 } t = \frac{(\ln A_t - \ln A_0)}{K_0 \times e^{-\frac{E_a}{RT}}} \quad (7)$$

式中:

A_0 ——初始菌落总数值、假单胞菌属值、沙雷氏菌属值;

A_t ——贮藏 t 时间后的菌落总数值、假单胞菌属值、沙雷氏菌属值。单位为 CFU/g。

1.3.9 数据分析

通过 Microsoft Office Excel 2010 软件进行数据处理和统计分析,采用 Prism 软件作图,SPSS 19.0 软件进行动力学模型的构建。

2 结果与讨论

2.1 优势腐败菌的初步鉴定结果

纯化至 6 代的菌落初步鉴定结果如表 1 所示,根据参考标准,可初步认定为假单胞菌属和肠杆菌科沙雷氏菌属。

2.2 优势腐败菌的 16S rDNA 鉴定结果

根据表 2 可知,假单胞菌 16S rDNA 全序列方

法菌种鉴定结果为假单胞菌属中的莓实假单胞菌(*Pseudomonas fragi*)。莓实假单胞菌是肉源性假单胞菌属的优势菌,莓实假单胞菌是有氧贮藏条件下冷鲜牛肉、禽肉和海产品中的优势腐败菌^[16]。根据表 3 可知,肠杆菌 16S rDNA 全序列方法菌种鉴定结果为沙雷氏菌属中的液化沙雷氏菌(*Serratia liquefaciens*)。液化沙雷氏菌是肠杆菌科,沙雷氏菌属中的条件致病菌,可以引起冷冻蔬菜及肉类制品腐败变质,是与食物中毒相关的最常见菌株之一^[17]。本研究表明稻花鸡肉在贮藏过程中占主导地位的优势腐败菌为假单胞菌属中的莓实假单胞菌和肠杆菌科沙雷氏菌属中的液化沙雷氏菌,这与王光宇和 Wang 等^[18,19]研究结果一致。莓实假单胞菌随着贮藏时间的增加,在食品菌相体系中的优势地位越明显^[20],在肉中的污染比例高达 56.7%~79.0%^[21,22]。莓实假单胞菌在肉制品中代谢活跃,可分解糖、蛋白质和脂肪等营养物质,导致肉品出现质构软化、变色、发黏,分解肉中的肽和氨基酸产生多种挥发性化合物,产生异味,通过胞外聚合物的作用抑制其他菌生长,成为优势腐败菌,且在肉制品表面形成大块菌落和黏液^[23]。液化沙雷氏菌可引起肠炎、呼吸道感染、败血症等系列病变^[24],液化沙雷氏菌能发酵葡萄糖等产酸,分解蛋白质,水解邻-硝基酚- β -D-半乳糖苷(ONPG),可产生红色素,能够引起肉制品及蔬菜腐败变质,影响消费者的健康^[25]。

2.3 不同贮藏温度下菌落总数及优势腐败菌变化趋势

稻花鸡肉在 25 °C 常温贮藏条件下微生物生长曲线如图 1 所示。25 °C 常温保存条件下稻花鸡肉第 0.5 天的菌落总数值为 6.66 lg CFU/g,超过 GB 16869-2005《鲜、冻禽产品》中规定鲜禽产品菌落总数 $\leq 1 \times 10^6$ CFU/g 或 6 lg CFU/g 规定限值。25 °C 常温贮藏条件下稻花鸡肉货架期不超过 0.5 d,且在腐败中后期肠杆菌科沙雷氏菌属占主导地位,增长量高于假单胞菌属。腐败后期肠杆菌科沙雷氏菌属与菌落总数无显著性差异,均与假单胞菌有显著性差异。

表 1 纯化菌落初步鉴定结果

Table 1 Preliminary identification results of purified colonies

菌属	选择性生长培养基	氧化酶试验	革兰氏染色镜检	葡萄糖发酵实验
假单胞菌属	CFC	+	/	/
沙雷氏菌属	VRBGA	-	阴性、无芽孢杆菌	+

表 2 莓实假单胞菌鉴定结果

Table 2 Identification results of *Pseudomonas fragi*

类型	匹配分值	总分值	覆盖率/%	随机匹配可能性	匹配值/%	登记号
<i>Pseudomonas fragi</i> strain DBC genome	2 732	21 705	99	0.0	100.00	CP021986.1
<i>Pseudomonas fragi</i> strain NMC25, complete genome	2 732	21 744	99	0.0	100.00	CP021132.1
<i>Pseudomonas fragi</i> strain NRRL B-727 genome assembly, chromosome: I	2 732	21 753	99	0.0	100.00	LT629783.1
Uncultured bacterium clone A4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2 732	2 732	99	0.0	100.00	GQ422760.1
<i>Pseudomonas psychrophila</i> strain KM02 chromosome, complete genome	2 726	21 780	99	0.0	99.93	CP049044.1
<i>Pseudomonas psychrophila</i> strain BS3667 genome assembly, chromosome: I	2 726	24 502	99	0.0	99.93	LT629795.1
<i>Pseudomonas</i> sp. TMW 2.1634 chromosome, complete genome	2 726	21 753	99	0.0	99.93	CP016849.1
Uncultured bacterium partial 16S rRNA gene, clone clone AF-35726	2 726	2 726	99	0.0	99.93	LT595831.1
Uncultured <i>Pseudomonas</i> sp. clone 6Q-26 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2 726	2 726	99	0.0	99.93	KT461484.1
<i>Pseudomonas psychrophila</i> strain Den-03 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2 726	2 726	99	0.0	99.93	JQ782901.1

表 3 液化沙雷氏菌鉴定结果

Table 3 Identification results of *Serratia liquefaciens*

类型	匹配分值	总分值	覆盖率/%	随机匹配可能性	匹配值/%	登记号
<i>Serratia liquefaciens</i> strain S1 chromosome, complete genome	2 595	18 130	100	0.0	99.86	CP048784.1
<i>Serratia liquefaciens</i> strain FG3 chromosome, complete genome	2 595	18 130	100	0.0	99.86	CP033893.1
<i>Serratia liquefaciens</i> strain FDAARGOS_125 chromosome, complete genome	2 595	18 110	100	0.0	99.86	CP014017.2
<i>Serratia liquefaciens</i> strain HUMV-21, complete genome	2 595	18 103	100	0.0	99.86	CP011303.1
<i>Serratia liquefaciens</i> strain CCMM_B1274 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2 595	2 595	100	0.0	99.86	MW303470.1
<i>Serratia proteamaculans</i> strain CCMM_B1280 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2 595	2 595	100	0.0	99.86	MW303468.1
<i>Serratia liquefaciens</i> strain MT49 chromosome, complete genome	2 595	18 158	100	0.0	99.86	CP061082.1
<i>Serratia</i> sp. strain BZSmr3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2 595	2 595	100	0.0	99.86	MT815621.1
Enterobacteriaceae bacterium SAP268.1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2 591	2 591	100	0.0	99.79	JX067664.1
<i>Serratia liquefaciens</i> strain 390 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2584	2584	100	0.0	99.57	KR150417.1

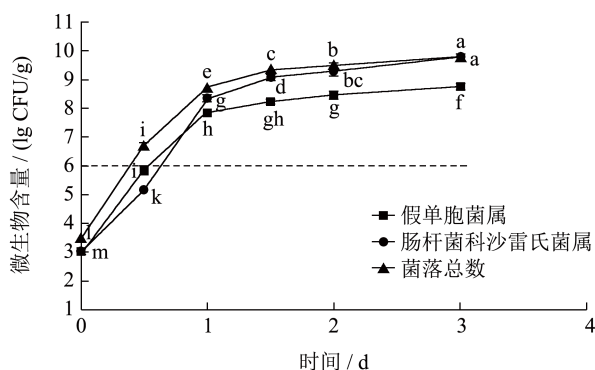


图1 稻花鸡肉在 25 °C 常温贮藏条件下微生物生长曲线

Fig.1 Microbial growth curve of Daohua chicken under 25 °C normal temperature storage

注：图中不同小写字母表示存在显著性差异 ($P < 0.05$)。

下同。

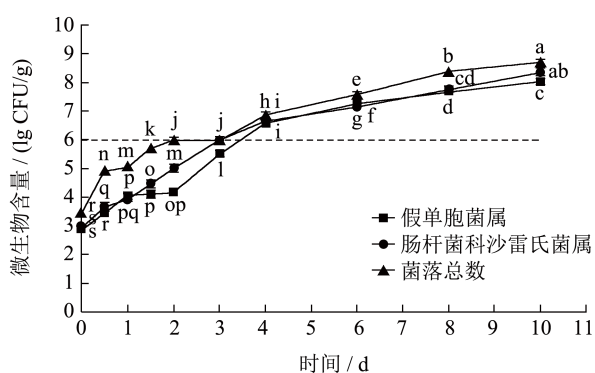


图2 稻花鸡肉在 4 °C 冷藏保鲜条件下微生物生长曲线

Fig.2 Microbial growth curve of Daohua chicken under 4 °C cold storage

稻花鸡肉在 4 °C 冷藏保鲜条件下微生物生长曲线如图 2 所示。4 °C 冷藏保鲜条件下第 4 天的菌落总数值为 6.77 lg CFU/g，超过国家标准规定限值。4 °C 冷藏保鲜条件下稻花鸡肉的货架期不超过 4 d，且在腐败过程中，优势腐败菌假单胞菌属和肠杆菌科沙雷氏菌属均随贮藏时间呈增加趋势。贮藏前期和腐败后期，假单胞菌属和肠杆菌科沙雷氏菌属差异性不显著，但在整个贮藏过程中均与菌落总数有显著性差异。

稻花鸡肉在 0 °C 冰温贮藏条件下微生物生长曲线如图 3 所示。0 °C 冰温贮藏条件下第 10 天的菌落总数值为 6.94 lg CFU/g，超过国家标准规定限值。0 °C 冰温贮藏条件下稻花鸡肉的货架期不超过 10 d，且在整个贮藏周期内，假单胞菌属、肠杆菌科沙雷氏菌属均呈缓慢增长的趋势。在贮藏后期假单胞菌属和肠杆菌科沙雷氏菌属差异性不显著，但均与菌

落总数存在显著性差异。

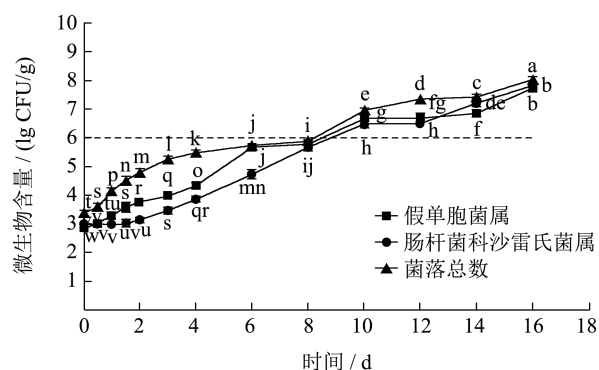


图3 稻花鸡肉在 0 °C 冰温贮藏条件下微生物菌生长曲线

Fig.3 Microbial growth curve of Daohua chicken under 0 °C ice storage

稻花鸡肉 25 °C 常温贮藏下货架期不超过 0.5 d，腐败中后期沙雷氏菌占主导地位，4 °C 冷藏保鲜货架期不超过 4 d，假单胞菌和沙雷氏菌随贮藏时间呈增加趋势，0 °C 冰温贮藏货架期不超过 10 d，贮藏后期假单胞菌属和肠杆菌科沙雷氏菌属差异性不显著。这是因为肠杆菌科菌属是嗜温好氧和兼性厌氧微生物，在 25 °C 左右能良好生长^[26,27]，而假单胞菌为好氧嗜冷菌，因此 25 °C 常温保存条件下稻花鸡肉在腐败中后期占主导优势的腐败菌为肠杆菌科沙雷氏菌，且增长量显著高于假单胞菌。假单胞菌在有氧情况下，贮藏温度降低，生长优势明显^[28-30]，且假单胞菌与肠杆菌科沙雷氏菌存在强相关性^[31]，因此 4 °C 冷藏保鲜和 0 °C 冰温贮藏的稻花鸡肉在腐败后期是沙雷氏菌和假单胞菌占主导优势，且差异性不显著。

2.4 菌落总数、假单胞菌属和肠杆菌科沙雷氏菌属 Arrhenius 货架期预测模型的建立

根据图 2、图 3、图 4 在不同贮藏温度下菌落总数、假单胞菌属、肠杆菌科沙雷氏菌属与贮藏时间的关系可知，3 个温度下菌落总数、假单胞菌属、肠杆菌科沙雷氏菌属均与时间 t 近似呈指数关系，菌落总数、假单胞菌属和肠杆菌科沙雷氏菌属的自然对数均与时间 t 近似呈线性关系，相关系数 R^2 均在 0.8 以上，根据 (3) 式可得在贮藏中菌落总数、假单胞菌属、肠杆菌科沙雷氏菌属的变化均为一级反应，即反应级数 $n=1$ 。由菌落总数、假单胞菌属、肠杆菌科沙雷氏菌属与时间 t 成指数关系可知，对菌落总数、假单胞菌属和肠杆菌科沙雷氏菌属取自然对数后与时间 t 进行线性回归和相关性分析，可

得到3种不同贮藏温度下,不同微生物的反应速率常数。菌落总数的动力学参数见表4,假单胞菌属的动力学参数见表5,肠杆菌科沙雷氏菌属的动力学参数见表6。

表4 在不同贮藏温度下菌落总数的动力学参数

Table 4 Kinetic parameters of the total number of colonies at different storage temperatures

贮藏温度 /℃	回归方程	R^2	K	R^2 最小值
25	$Y=5.3616x+11.513$	0.8131	5.3616	
4	$Y=1.0883x+10.398$	0.9167	1.0883	0.8131
0	$Y=0.5715x+9.7282$	0.9312	0.5715	

表5 在不同贮藏温度下假单胞菌属的动力学参数

Table 5 Kinetic parameters of *Pseudomonas* at different storage temperatures

贮藏温度 /℃	回归方程	R^2	K	R^2 最小值
25	$Y=5.0609x+9.6647$	0.8186	5.0609	
4	$Y=1.2611x+7.7015$	0.9168	1.2611	0.8186
0	$Y=0.7962x+6.9051$	0.9722	0.7962	

表6 在不同贮藏温度下沙雷氏菌属的动力学参数

Table 6 Kinetic parameters of *Serratia liquefactionat* at different storage temperatures

贮藏温度 /℃	回归方程	R^2	K	R^2 最小值
25	$Y=7.9516x+7.6082$	0.9299	7.9516	
4	$Y=1.3403x+8.0263$	0.9428	1.3403	0.9299
0	$Y=0.8016x+6.0987$	0.9815	0.8016	

根据(4)式对反应速率常数K及温度T进行回归,得到菌落总数变化的活化能 $E_a=57967$ J/mol,反应常数 $K_0=7.87\times 10^{10}$,平均相关系数 R^2 在0.88以上,能较好的反映样品中菌落总数随时间变化的反应速率常数与贮藏温度的关系。

将活化能 $E_a=57967$ J/mol,反应常数 $K_0=7.87\times 10^{10}$ 代入式(7)可得:

$$t = \frac{(\ln A_t - \ln A_0)}{7.87 \times 10^{10} \times e^{-\frac{57967}{RT}}} \quad (8)$$

式(8)可用来预测不同贮藏温度下稻花鸡肉的货架期。

根据(4)式对反应速率常数K及温度T进行回归,得到假单胞菌变化的活化能 $E_a=48634$ J/mol,反应常数 $K_0=1.70\times 10^9$,平均相关系数 R^2 在0.90以上,能较好的反映样品中假单胞菌随时间变化的反

应速率常数与贮藏温度的关系。

将活化能 $E_a=48634$ J/mol,反应常数 $K_0=1.70\times 10^9$ 代入式(7)可得:

$$t = \frac{(\ln A_t - \ln A_0)}{1.70 \times 10^9 \times e^{-\frac{48634}{RT}}} \quad (9)$$

式(9)可用来预测不同贮藏温度下稻花鸡肉的货架期。

根据(4)式对反应速率常数K及温度T进行回归,得到肠杆菌科沙雷氏菌属变化的活化能 $E_a=60922$ J/mol,反应常数 $K_0=3.79\times 10^{11}$,平均相关系数 R^2 在0.95以上,能较好的反映样品中肠杆菌科沙雷氏菌属随时间变化的反应速率常数与贮藏温度的关系。

将活化能 $E_a=60922$ J/mol,反应常数 $K_0=3.79\times 10^{11}$ 代入式(7)可得:

$$t = \frac{(\ln A_t - \ln A_0)}{3.79 \times 10^{11} \times e^{-\frac{60922}{RT}}} \quad (10)$$

式(10)可用来预测不同贮藏温度下稻花鸡肉的货架期。

2.5 Arrhenius货架期预测模型的验证

根据GB 16869-2005《鲜、冻禽产品》规定,可食用鲜禽的菌落总数 $\leq 1\times 10^6$ CFU/g。因此可以确定菌落总数限制值为 1×10^6 CFU/g,而假单胞菌属、肠杆菌科沙雷氏菌属没有国家标准规定的具体限制值,则根据前期实验25℃常温保存稻花鸡肉的货架期为0.5d,假单胞菌属值为 6.1×10^5 CFU/g,肠杆菌科沙雷氏菌属值为 1.4×10^5 CFU/g。4℃冷藏保鲜稻花鸡肉的货架期为4d,假单胞菌属值为 3.6×10^6 CFU/g,肠杆菌科沙雷氏菌属值为 4×10^6 CFU/g。0℃冰温贮藏稻花鸡肉的货架期为8d,假单胞菌属值为 6.1×10^5 CFU/g,肠杆菌科沙雷氏菌属值为 4.8×10^5 CFU/g。分别取25、4、0℃货架期终点时假单胞菌和沙雷氏菌的中间值作为限制值,因此假单胞菌的限制值为 6.1×10^5 CFU/g、肠杆菌科沙雷氏菌属的限制值为 4.8×10^5 CFU/g,菌落总数,假单胞菌属,肠杆菌科沙雷氏菌属货架期预测模型的验证如下表7所示,通过与实测各指标到达限制值时的货架期进行对比,验证3种货架期预测模型的精确性。

货架期预测模型的预测值与实测值平均相对误差在15%以内即可,结果如表7所示,本实验建立的稻花鸡肉3种货架期预测模型相对误差最大的为菌落总数货架期预测模型11.58%,其次沙雷氏菌属

货架期预测模型的相对误差为 7.04%，假单胞菌属货架期预测模型的相对误差仅为 6.48%。3 个货架期预测模型的误差均在允许范围内，表明菌落总数货架期预测模型、假单胞菌属货架期预测模型、肠杆菌科沙雷氏菌属货架期预测模型均可有效的预测稻花鸡肉的货架期，其中预测效果最佳的为假单胞菌属货架期预测模型，相对误差仅为 6.48%，且贮藏温度越低，货架期越久，3 个货架期预测模型的预测效果越好。

表 7 稻花鸡肉货架期预测值和实测值

Table 7 Shelf life prediction and measured values of Daohua chicken

指标	贮藏温度/℃	货架期预测值/d	差值/d	平均相对误差/%
菌落总数	25	1.08	0.58	11.58
	4	4.5	0.5	
	0	9.4	0.6	
假单胞菌属	25	0.83	0.33	6.48
	4	4.4	0.4	
	0	7.92	0.08	
沙雷氏菌属	25	0.78	0.28	7.04
	4	4.06	0.06	
	0	7.46	0.54	

3 结论

本研究表明稻花鸡肉在贮藏过程中占主导地位的优势腐败菌为假单胞菌属中的莓实假单胞菌和肠杆菌科沙雷氏菌属中的液化沙雷氏菌。稻花鸡肉 25℃ 常温贮藏下货架期不超过 0.5 d，腐败中后期沙雷氏菌占主导地位，4℃ 冷藏保鲜货架期不超过 4 d，假单胞菌和沙雷氏菌随贮藏时间呈增加趋势，0℃ 冰温贮藏货架期不超过 10 d，腐败后期假单胞菌属和沙雷氏菌属差异性不显著。利用菌落总数、假单胞菌、沙雷氏菌 3 个指标建立的货架期预测模型分别为

$$t = \frac{(\ln A_t - \ln A_0)}{7.87 \times 10^{10} \times e^{-\frac{57967}{RT}}}, t = \frac{(\ln A_t - \ln A_0)}{1.70 \times 10^9 \times e^{-\frac{48634}{RT}}}, t = \frac{(\ln A_t - \ln A_0)}{3.79 \times 10^{11} \times e^{-\frac{60922}{RT}}}$$

经过验证，3 种货架期预测模型均能对各自的指标进行真实的预测，预测效果最佳的为假单胞菌属货架期预测模型，其相对误差仅为 6.48%，其次是沙雷氏菌货架期预测模型的相对误差为 7.04%，菌落总数货架期预测模型为 11.58%，相对误差均在允许范围内。综上，稻花鸡肉优势腐败菌为莓实假单胞菌和液化沙雷氏菌，降低温度能够延长其货架期，且构建的 3 个货架期预测模型均能良好的监控其货架期。

参考文献

- [1] 苏家联,廖荣,梁彩梅,等.灵山彩凤鸡资源调查报告[J].中国畜禽种业,2017,13(2):131-134.
- [2] 甘有豪.灵山香鸡[J].农村百事通,2012,24:49,81.
- [3] ANANG D M, RUSUL G, BAKAR J, et al. Effects of lactic acid and lauricidin on the survival of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* and *Escherichia coli* O157:H7 in chicken breast stored at 4 °C [J]. Food Control, 2007, 18(8): 961-969.
- [4] HASAPIDOU A, SAVVAIDIS I N. The effects of modified atmosphere packaging, EDTA and oregano oil on the quality of chicken liver meat [J]. Food Research International, 2011, 44(9): 2751-2756.
- [5] WALK C L, ROMERO L F, COWIESON A J. Towards a digestible calcium system for broiler chicken nutrition: a review and recommendations for the future [J]. Animal Feed Science and Technology, 2021, 276: 114930.
- [6] 刘梦竹,魏琦麟,向蓉,等.鸡肉低温储藏保鲜技术研究进展[J].保鲜与加工,2022,22(3):104-110,120.
- [7] MANSUR A R, SONG E J, CHO Y S, et al. Comparative evaluation of spoilage-related bacterial diversity and metabolite profiles in chilled beef stored under air and vacuum packaging [J]. Food Microbiology, 2019, 77(FEB.): 166-172.
- [8] MOHSEN Z, NADINE B, LOOS H M, et al. Evaluation of volatile organic compound release in modified atmosphere-packaged minced raw pork in relation to shelf-life [J]. Food Packaging and Shelf Life, 2018, 18: 51-61.
- [9] WANG G, MA F, ZENG L, et al. Modified atmosphere packaging decreased *Pseudomonas fragi* cell metabolism and extracellular proteolytic activities on meat [J]. Food Microbiology, 2018, 76: 443-449.
- [10] IULIETTO M F, SECHI P, BORGOGNI E, et al. Meat spoilage: A critical review of a neglected alteration due to ropy slime producing bacteria [J]. Italian Journal of Animal Science, 2015, 14(3): 316-326.
- [11] 刘琳,张德权,贺稚非.天然保鲜剂延长生鲜调理鸡肉货架期的研究[J].食品科技,2010,9:154-159.
- [12] 李苗云,张建威,樊静,等.生鲜鸡肉货架期预测模型的建立与评价[J].食品科学,2012,33(23):60-63.
- [13] 瞿洋,周昌艳,索玉娟,等.冷鲜鸡货架期微生物预测系统的构建[J].食品与机械,2020,36(10):110-115.
- [14] 刘梦竹,向蓉,魏琦麟,等.稻花鸡肉不同贮藏温度下品质及细菌组成多样性变化[J].现代食品科技,2023, 39(8):112-123.
- [15] 张莉,尹德凤,张大文,等.不同贮藏条件下鸡胸肉特征腐败菌分析[J].食品与机械,2019,35(12):113-118.
- [16] 王光宇.气调包装对冷鲜鸡肉中莓实假单胞菌致腐效应的抑制机制[D].南京:南京农业大学,2018.

- [17] 骆业巧,司波.低温保存肉制品中液化沙雷氏菌的分离鉴定与耐药性分析[J].食品安全质量检测学报,2019,10(18):6119-6123.
- [18] 王光宇,邱伟芬,徐幸莲,等.冷鲜鸡肉中莓实假单胞菌NMC25的全基因组测序及分析[J].食品科学,2021,42(16):233-238.
- [19] WANG G Y, WANG H H, HAN Y W, et al. Evaluation of the spoilage potential of bacteria isolated from chilled chicken *in vitro* and *in situ* [J]. Food Microbiology, 2017, 63(5): 139.
- [20] 梅佳林,李婷婷,张星晖,等.芳樟醇对三文鱼源莓实假单胞菌的抑菌机理[J].食品科学,2022,43(9):199-206.
- [21] MOHAREB F, IRIONDO M, DOULGERAKI A I, et al. Identification of meat spoilage gene biomarkers in *Pseudomonas putida* using gene profiling [J]. Food Control, 2015, 57: 152-160.
- [22] NYCHAS G J E, SKANDAMIS P N, TASSOU C C, et al. Meat spoilage during distribution [J]. Meat Science, 2008, 78(1/2): 77-89.
- [23] 王光宇,李晴,唐文倩,等.nuoB对莓实假单胞菌生理特性及在冷鲜鸡肉中致腐能力的影响[J].中国农业科学, 2021,54(8):1761-1771.
- [24] 姜岩,苏维奇,孔繁荣,等.沙雷菌属细菌医院感染的分布特点及耐药性分析[J].中国实验诊断学,2008,10:1301-1303.
- [25] 郑瑞生,邹菊琴,王曲芳,等.环境条件对熟成肉中腐败菌液化沙雷氏菌的群体感应现象及生物膜形成的影响[J].食品科技,2021,46(11):321-325.
- [26] 翁丽华.热鲜肉贮藏过程菌相分析及肠杆菌科生长预测模型建立[D].南京:南京农业大学,2012.
- [27] 叶青华.食源性致病菌肠杆菌科细菌数值鉴定系统和耐药性研究[D].广州:华南理工大学,2016.
- [28] 彭勇.冷却猪肉常见腐败微生物致腐能力的研究[D].北京:中国农业大学,2005.
- [29] 綦国红,董明盛.碳源及温度对食源假单胞菌群体感应信号分子产生的影响[J].中国生物工程杂志,2006,26(8): 72-76.
- [30] 傅鹏,李平兰,周康,等.冷却肉中假单胞菌温度预测模型的建立与验证[J].农业工程学报,2008,24(4):229-234.
- [31] 王新惠,孙劲松,赵芮,等.冷鲜猪肉贮藏过程中细菌群落结构演替规律分析[J].中国食品学报,2021,21(9):233-240.