

自然发酵腊肉中细菌的分离鉴定及其发酵特性

张秋会, 孟高歌, 王 晗, 刘 昶, 崔文明, 王小鹏, 祝超智*, 赵改名

(河南农业大学食品科学技术学院 郑州 450002)

摘要 为探究适合发酵肉制品的细菌性发酵菌株,以信阳腊肉、四川腊肉、云南腊肉和湖南腊肉为材料,以菌株的安全性、生产适应性、发酵性能等为指标,通过菌株的分离筛选、16S rDNA 测序、基础发酵特性研究,确定自然发酵腊肉中的细菌种类,以及各菌株作为发酵剂的适宜性。结果表明,分离、鉴定出 5 株具有较高耐盐性、耐亚硝酸盐性、耐酸性且发酵性能优良的菌株,分别为乳链球菌、腐生葡萄球菌、木糖葡萄球菌、马葡萄球菌和肠膜明串珠菌。筛选的 5 株菌株有望作为腊肉生产中的发酵菌种。

关键词 腊肉; 分离; 筛选; 鉴定; 细菌

文章编号 1009-7848(2023)07-0161-08 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.07.017

发酵肉制品是指肉品在自然或人工控制的低温环境中,通过微生物发酵制成的一种营养丰富、风味独特且具有较长保质期的肉制品^[1-2]。腊肉是以畜肉为主要原料,配以其它辅料,经过腌制、烘干、烟熏等工艺加工而成的肉制品,因其多在农历腊月制得而得名,是中国传统的腌腊肉制品^[3]。腊肉凭借较长的保质时间,独特的风味及口感,深受广大消费者的喜爱。

目前,中国市场上的腌腊肉制品多以散户生产、手工作坊制作形式。由于受作坊技术限制以及生产条件的局限性,此类肉制品中的微生物在自然条件下培养、发酵,无法通过科学的方式对产品中微生物的生长情况进行有效调控,导致产品质量参差不齐,货架期不稳定,甚至使产品出现质量与安全问题^[4-5]。鉴于此,需要结合我国传统发酵技术,同时借鉴西式发酵肉加工工艺,使国内发酵肉制品实现规模化、专业化生产,以保障产品质量^[6]。由于我国传统发酵肉制品行业起步较晚,缺少适用于工业化生产的发酵剂,因此,需要筛选出活性强、发酵特性优良的优质菌种^[7]。寻找能够满足人们对风味要求的微生物发酵剂,成为发酵肉制品

的重要研究方向之一^[8-9]。

腌腊肉制品中微生物菌群主要为葡萄球菌、乳酸菌等细菌和酵母菌、霉菌^[10]。这些微生物的存在对于腌腊肉制品的风味、质地、口感以及贮藏时间等均会产生直接影响^[11]。相关研究表明,不同种类的菌株具有不同的发酵性能,赋予制品不同的品质特性。例如,葡萄球菌属于微球菌属,在发酵肉制品的成熟过程中,具有加快上色,缩短成熟时间,降低成本以及控制病原菌和腐败菌的生长等作用^[12]。将葡萄球菌作为肉制品发酵剂具有良好的还原硝酸盐的能力,可以降解亚硝酸盐生成氨,从而减少发酵肉制品中亚硝胺化合物的产生。同时对发酵肉制品特有风味的形成有重要作用。

本研究以市售农家自制信阳腊肉、四川绵阳腊肉、湖南腊肉以及云南腊肉为菌株分离来源,筛选其中优势菌株进行分离、纯化,并进行生物学鉴定。选择具有较高耐盐性、耐亚硝酸盐性、耐酸性的菌株进行发酵特性研究,寻找能够满足腊肉生产所需,同时具有良好发酵特性的菌株,为肉制品发酵剂的开发及发酵肉制品加工的优化提供依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

信阳腊肉,河南信阳农家自制;四川腊肉,四川绵阳农家自制;湖南腊肉,湖南衡阳湘西腊肉农家自制;云南腊肉,云南普洱农家自制;孟加拉红

收稿日期: 2022-07-21

基金项目: 国家现代农业产业技术体系资助项目(CARS-37);河南省级科技研发计划联合基金(应用攻关类)项目(222103810019)

第一作者: 张秋会,女,博士,副教授

通信作者: 祝超智 E-mail: zhuchaozhi66@163.com

琼脂,北京奥博兴生物技术有限责任公司;YPD 液体培养基,青岛海博生物;细菌 DNA 提取试剂盒,北京天根试剂;牛肉浸粉、蛋白胨、TTC、葡萄糖、碳酸钙、氯化钠、亚硝酸钠、盐酸萘乙二胺等均为分析纯级。

1.2 仪器与设备

AIRTECH-SW-CJ-2FD 无菌工作台,美国 Airtech 公司;TU-1901 紫外-可见分光光度计,北京普析通用仪器有限公司;梯度 PCR 仪,Tprofessional Thermocycler;DYY-12 电泳仪,北京市六一仪器厂;均质机,Easy MIX;VORTEX GENIUS3 涡旋震荡器,美国 Scientific Industries 公司;低温培养箱,BINDER。

1.3 方法

1.3.1 乳酸菌的分离纯化 取农家腊肉样品 25 g 置于无菌均质袋中,并加入生理盐水 225 mL,混合后使用均质机进行均质。将均质后的样品倒入无菌试管中,使用无菌生理盐水稀释(1:10),取 100 μ L 的稀释液在孟加拉红琼脂平板上进行涂布,将平板置于 37 $^{\circ}$ C 无菌培养箱中培养 24~72 h,从中挑选出符合酵母菌形态的菌落,进行反复划线纯化^[13-14]。试验全程遵循无菌操作。

1.3.2 16S rDNA 分子生物学鉴定 生物学鉴定参考赵改名等^[15]的方法。挑取单菌落于 PCR 管中,使用细菌 DNA 提取试剂盒细菌提取的 DNA 作为模板,使用 16S rDNA 通用引物 27F(5-A GAGTTTGATCCTGGCTCA-3)和 1482R(5-GGT TACCTTGTTACGACTT-3)作为上、下游引物进行 PCR 扩增。

PCR 反应体系(50 μ L):模板 5 μ L,Taq PCR Master Mix 25 μ L,ITS1 5 μ L,ITS4 5 μ L,ddH₂O 10 μ L;PCR 反应条件:第 1 阶段:95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;第 2 阶段:95 $^{\circ}$ C 变性 30 s,50 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s,30 个循环;第 3 阶段:72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min;第 4 阶段:4 $^{\circ}$ C 终止反应。

1.3.3 菌株特性的研究

1.3.3.1 生长曲线和产酸曲线的测定 生长曲线和产酸曲线的测定参考高绍金^[16]的方法,并稍作修改。按体积分数为 1% 将活化 3 次的菌液接种于 YPD 液体培养基中,在 37 $^{\circ}$ C 培养 36 h,平均 2 h 取 1 次样,测定其 pH 值,并使用紫外分光光度计

测量其在波长 600 nm 下 OD 值。

1.3.3.2 菌株耐盐特性 参考徐鑫等^[17]的方法,将活化后的菌株按照体积分数 1% 接种于 NaCl 含量为 0%,2%,4%,6% 的 4 组 YPD 液体培养基中,并将培养基置于 37 $^{\circ}$ C 无菌培养箱中培养 24 h,将所得产物用紫外分光光度计在波长 600 nm 下测定 OD 值。

1.3.3.3 菌株耐亚硝酸盐特性 菌种耐亚硝酸盐特性的测定方法:将活化后的菌株按照体积分数 1% 接种于 NaNO₂ 含量为 0,50,100,150 mg/kg 的 4 组 YPD 液体培养基中,并将培养基置于 37 $^{\circ}$ C 无菌培养箱中培养 24 h,将所得产物用紫外分光光度计在波长 600 nm 下测定 OD 值^[18-19]。

1.3.3.4 菌株耐酸特性 将活化后的菌株按照体积分数 1% 接种于 pH 为 3.0,3.5,4.0,4.5,5.0,5.5,6.0 的 7 组 YPD 液体培养基中,并将培养基置于 37 $^{\circ}$ C 无菌培养箱中培养 24 h,将所得产物用紫外分光光度计在波长 600 nm 下测定 OD 值^[19]。

1.3.3.5 产醇试验 将活化 3 次的菌液在孟加拉红固体培养基上划线,倒置于 37 $^{\circ}$ C 无菌恒温培养箱中培养 2 h。后将 TTC 上层培养基倒入孟加拉红固体培养基中覆盖初始菌落,再次于 37 $^{\circ}$ C 无菌恒温培养箱中培养 4 h 后取出培养基,观察并记录菌落的呈色情况^[19]。

1.3.3.6 葡萄糖产气试验 采用杜氏小管发酵法,将活化 3 次的菌株按照体积分数 1% 接种到葡萄糖产气培养基中,在 37 $^{\circ}$ C 无菌恒温培养箱中培养 24 h 后,观察杜氏小管中是否有气泡产生并记录^[19]。

1.3.3.7 产黏液试验 吸取适量菌液接种于 MRS 固体平板培养基中,将其在 30 $^{\circ}$ C 恒温条件下培养 48 h,挑取菌落观察、记录^[19]。

1.3.3.8 蛋白质降解活性试验 将培养好的菌液取 0.1 mL 滴入添加 15% 脱脂乳的固体 MRS 培养基中,涂布均匀,于 37 $^{\circ}$ C 恒温条件下培养 48 h。当牛乳中酪蛋白被分解后,观察菌落周围出现的透明环,根据现象判定菌种有无蛋白质降解活性^[20]。

蛋白质降解培养基:在孟加拉红固体培养基中加入 15% 的脱脂牛奶,121 $^{\circ}$ C 灭菌 15 min。

1.3.3.9 脂肪分解活性试验 将培养好的菌液取 0.1 mL 滴入添加了 15% 猪油和中性红指示剂的固

体 MRS 和乳清培养基中,涂布均匀,于 37 ℃ 恒温培养 48 h。观察并记录结果。如培养基上出现红色斑点,表明菌株分解脂肪并产生脂肪酸,反之为不分解^[20]。

1.4 数据统计处理与分析

所有试验均重复 3 次,试验结果表示为“平均值±标准差”。所得数据均使用 SPSS 22.0 统计软件进行统计学分析,使用 Origin 作图。数据间的分析采用单因素方差分析(One-way ANOVA),显著性水平均设定为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 腊肉中微生物的分离与鉴定

利用菌株分离纯化方法,对市售 4 种农家自制腊肉中的细菌进行分离纯化,获得 16 株细菌,分别标记为 X49、X51、X52、S48、S50、S51、Y50、Y51、Y54、H39、H40、H42、H43、X9、X10、X12。

将筛选出的 16 株菌株的基因组进行 PCR 扩增,并进行电泳检测,电泳结果见图 1。由图 1 可

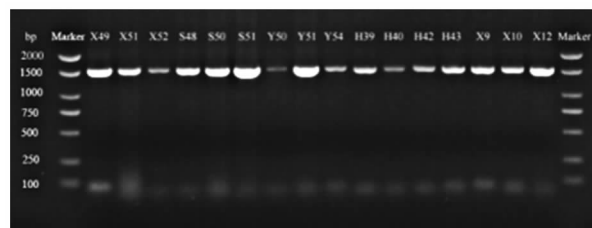


图 1 PCR 凝胶成像

Fig.1 PCR gel imaging

知样品的扩增产物约为 1 500 bp,所有条带分子质量大小符合理论预期。

利用 NCBI 数据库,对 16 株菌株的 DNA 序列进行比对,BLAST 分析,鉴定出腊肉中细菌的种类,鉴定结果见表 1。由表 1 可知,信阳腊肉中含有乳链球菌、肠膜明串珠菌,四川腊肉中含有腐生葡萄球菌,云南腊肉中含有木糖葡萄球菌,湖南腊肉中含有马葡萄球菌。从中选取 X49、X10、S50、Y51、H42 作为代表进行后续试验。

表 1 腊肉中 16 株分离菌株的鉴定结果

Table 1 Identification results of 16 strains isolated from bacon

菌株编号	原料肉	鉴定结果	碱基对
X49、X51、X52	信阳腊肉	乳链球菌	1 405
S48、S50、S51	四川腊肉	腐生葡萄球菌	1 405
Y50、Y51、Y54	云南腊肉	木糖葡萄球菌	1 405
H39、H40、H42、H43	湖南腊肉	马葡萄球菌	1 400
X9、X10、X12	信阳腊肉	肠膜明串珠菌	1 453

2.2 腊肉中细菌的发酵特性研究

2.2.1 耐盐特性研究 传统腊肉通常依靠添加大量食盐以降低产品的水分活度,来达到抑制微生物生长的目的,导致传统腊肉的食盐含量普遍较高,因此耐盐性是选择腊肉发酵菌种的重要指标之一^[21]。腊肉中食盐添加量一般为 4%~6%,且随着发酵时间的延长,产品水分含量逐渐降低,盐浓度会相应升高,因此要求菌株对 NaCl 有较高的耐受性,使其能够在发酵过程中保持一定的活性并发挥作用。

图 2 是 5 种细菌的耐盐特性研究结果。由图 2 可知,乳链球菌、腐生葡萄球菌、木糖葡萄球菌、马葡萄球菌对食盐有很强的耐受性。肠膜明串珠

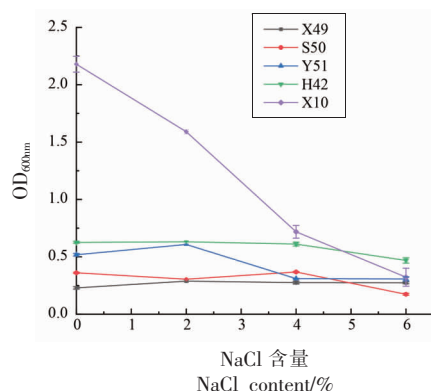


图 2 5 种细菌的耐盐性

Fig.2 Salt tolerance of 5 species of bacteria

菌对 NaCl 比较敏感。随着 NaCl 浓度的增大, X10 活性下降最为明显, 盐的添加量增长至 4% 的过程中, X10 的活性几乎呈现直线型下降趋势, 而在含量为 4%~6% 区间内, 下降趋势稍缓, 推测是菌株几乎完全失活所致; Y51 与 S50 的活性总体呈下降趋势, 当添加量达到 6% 时, 菌株活性几乎丧失; 而 H42 与 X49 在整个试验过程中表现十分稳定, 对食盐有较强的耐受性, 而在整个试验过程中, H42 活性始终强于 X49 活性。

就菌株耐盐性能而言, 当盐的添加量到达 6% 时, X10 菌株的吸光度下降了 85.2%, H42 菌株吸光度下降了 25.14%, Y51 菌株吸光度下降了 47.06%, S50 菌株的吸光度下降了 51.85%, X49 菌株吸光度升高了 19.49%。H42 表现稳定, 耐受性较高, 且活性较强, 能够满足腌腊肉制品食盐浓度所需; 其次 X49 耐受性最高, 而初始活性不足; Y51 和 S50 菌株耐盐性差异不明显; X10 菌株对食盐最为敏感, 且初始活度最好。结果表明, 在高盐浓度下, H42 较为合适; 在盐含量为 4% 时, H42 与 X10 较为适宜; 在盐含量低至 2% 时, H42、X10 与 Y51 菌株表现良好。因此筛选出 5 株菌株, H42 与 X10 适用作为发酵肉中的细菌发酵剂, 而 H42 对食盐表现最为优异。

2.2.2 耐亚硝酸盐特性研究 亚硝酸盐一直作为食品添加剂广泛应用于肉制品加工中, 其主要目的是促进产品发色, 改善产品风味, 抑制有害菌的生长^[2]。根据国标规定亚硝酸钠和亚硝酸钾最大使用量为 0.15 g/kg, 最大残留量不得超过 50 mg/kg。本试验设置亚硝酸盐最高浓度梯度为最大使用量上限。

图 3 是 5 种细菌的耐亚硝酸盐特性研究结果。由图 3 可知, 乳链球菌、肠膜明串珠菌对亚硝酸盐有较强的耐受性。腐生葡萄球菌、木糖葡萄球菌、马葡萄球菌对亚硝酸盐比较敏感。

随着亚硝酸盐浓度增加, S50、Y51、H42 均呈明显下降趋势, 说明这 3 种菌株对亚硝酸盐较为敏感; X49 与 X10 在试验进程中, 吸光度并无明显的波动, 证明这两种菌具有较强的耐亚硝酸盐性。当亚硝酸盐含量到达 150 mg/kg 时, X10 菌株吸光度下降了 4.66%, H42 菌株吸光度下降了 95.36%, Y51 菌株吸光度下降了 94.40%, S50 菌株吸光度下降

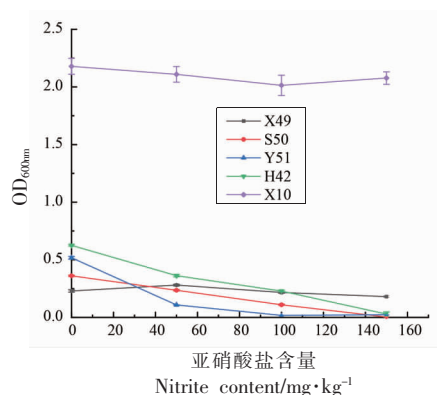


图 3 5 种细菌的耐亚硝酸盐性

Fig.3 Nitrite tolerance of five kinds of bacteria

了 91.96%, X49 菌株吸光度下降了 21.24%。

因此就菌株耐亚硝酸盐性能而言, X10 菌株对亚硝酸盐的耐受性最强, 同时活度较高^[21]; X49 菌株对亚硝酸盐耐受性次之, 较为稳定, 而菌株活度较低。结果证明: 高亚硝酸盐浓度对 5 株菌株均有明显的抑制现象, 在 100 mg/kg 时, H42、X10、X49 较为适宜, 其中 X10 和 X49 对亚硝酸盐的表现更为稳定。

2.2.3 耐酸性的研究 在肉制品的发酵过程中, 乳酸菌具有较强的产酸能力, 会改变肉品的 pH 环境, 因此要求所筛选得到的细菌发酵剂应该具有较高的耐酸能力^[23]。

图 4 是 5 种细菌的耐酸特性研究结果。由图 4 可知, 5 株菌株对酸性都十分敏感。

根据调查, 传统腌腊肉制品 pH 值在 5.5~6.0 的范围中, 此时菌株中 X10 的活性最强, 远高于其它 4 株菌株的活度, 其它 4 株菌株的吸光度无明显差异且较低。当 pH 值下降至 5.5 时, X10 吸光

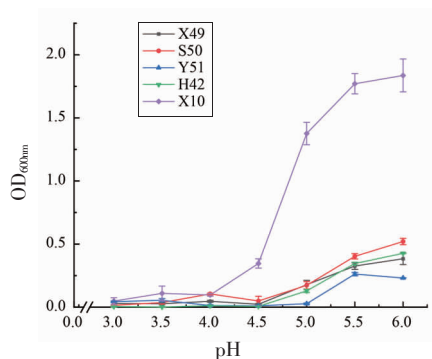


图 4 5 种细菌的耐酸性

Fig.4 ACID resistance of 5 species of bacteria

度下降了 3.58%,S50 吸光度下降了 22.54%,H42 吸光度下降了 23.62%,X49 吸光度下降了 15.12%,Y51 吸光度升高了 13.27%,可知在较高 pH 值时,X10 菌株与 Y51 菌株具有较好的耐受性,适用于肉制品的发酵;当 pH 值下降至 4.5 时,X10 菌株吸光度下降了 81.29%,S50 菌株吸光度下降了 90.52%,H42 菌株吸光度下降了 99.46%,X49 吸光度下降了 99.40%,Y51 的吸光度下降了 98.70%,可知当 pH 值下降至一定程度时,菌株几乎完全失活,X10 菌株由于初始活度更高,依旧具有较高的吸光度。

就菌株耐酸性能而言,在正常发酵肉制品的 pH 值条件下,5 株菌株均可以作为微生物发酵剂使用,然而 X10 菌株的表现更加优异。然而当环境 pH 值过低时,严重抑制菌株生长,因此可以在发酵过程中通过一些手段控制酸度,使发酵正常进行。

2.2.4 菌株的生长曲线和产酸曲线的研究 图 5 为 5 株菌株的生长曲线。由图 5 可知 S50、X49、Y51、H42 菌株在 0~8 h 时为迟缓区,此阶段菌株的生长速度较为缓慢。X10 菌株的迟缓区较短,很快就进入对数区,在 12 h 之后进入稳定期。而 X10 菌种的活性最强,菌液浓度全程显著高于另外 4 株菌株。

图 6 为 5 株菌株的产酸曲线。由图 6 可知 H42 菌株的 pH 值下降最快,初始 pH 值为 6.68,在 6 h 时 pH 值下降为 6.04;其次为 H42 菌株,初始 pH 值为 5.54,在 6 h 时 pH 值下降为 4.95;而其余 S50、X49、Y51 菌株的产酸能力差异不明显。

结合图 5 与图 6 曲线可知,5 株菌株的产酸曲线与生长曲线相对应,其中迟缓区、对数区和稳定期时间基本一致。其中 X10 的产酸能力最强,且增长较快,具有较高的活度;H42 在前期具有较强的产酸能力以及生长能力;而其它 3 株菌株并无明显差异,这与张晓琼等^[20]的结果相差不大。

2.2.5 细菌的主要发酵特性 表 2 是细菌的主要发酵特性结果。根据表 2 可知,产气、产醇、产黏液、脂肪分解能力、蛋白质降解能力试验结果均为阴性。

在肉制品生产过程中,微生物可以利用发酵基质中的糖分,并将其转化为醇类物质,从而赋予

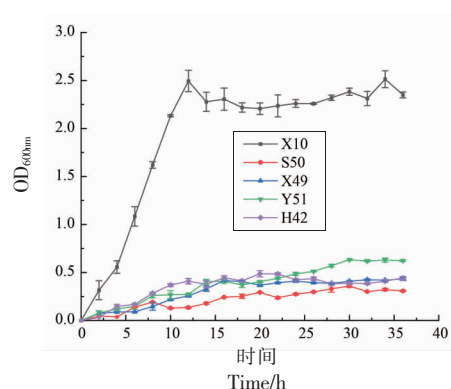


图 5 菌株的生长曲线

Fig.5 Growth curve of the strain

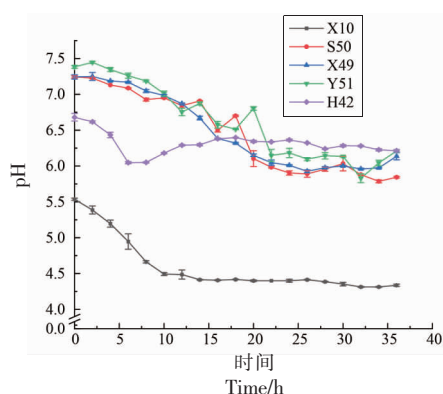


图 6 菌株的产酸曲线

Fig.6 Acid production curve of the strain

表 2 细菌的主要发酵特性

Table 2 Main fermentation characteristics of bacteria

菌株编号	X49	S50	Y51	H42	X10
产醇	-	-	-	-	-
产气	-	-	-	-	-
产黏液	-	-	-	-	-
蛋白质降解	-	-	-	-	-
脂肪分解	-	-	-	-	-

注:“-”表示阴性,“+”表示阳性。

发酵肉制品独特的风味。由表 2 可知,产醇试验中,根据最终菌落的呈色情况判断,5 株菌株均不产醇,可以认为肉制品的风味物质是由其它种类微生物发酵而来。

在肉制品的发酵过程中,微生物会产生气体,破坏肉制品的品质、风味以及产品外观,对产品质量造成严重的影响,甚至会产生安全问题。由表 2 可知,产气试验结果中,杜氏小管内均没有产生气

泡,表明5株菌株均不产气。

肉制品表面产生黏液,是在肉制品加工或者贮存过程中,由于微生物作用导致。黏液的存在会影响产品的质量、风味以及感官,甚至引发产品安全问题。因此进行产黏液试验是十分必要的。由表2可知,产黏液试验中,挑取菌落观察可知,5株菌株均不产黏液。表明在试验条件下,5株菌株的安全性均符合作为发酵剂的要求。

在肉制品中,微生物具有过强的蛋白质降解能力以及脂肪分解能力,会消耗营养物质产生过多的芳香物质,从而导致产品不被消费者接受,销量降低^[24]。由表2可知,5株菌株在试验的生长过程中均不消耗蛋白质与脂肪,可以认为5株菌株的蛋白质与脂肪的分解能力较低,未被检出。

3 结论

本试验从4个特色自制腊肉产品中筛选出16株细菌,鉴定为乳链球菌、肠膜明串珠菌、腐生葡萄球菌、木糖葡萄球菌、马葡萄球菌。从中选择5株细菌进行发酵特性研究,结果表明,肠膜明串珠菌的生长速率最快,可以作为肉制品发酵剂的潜在菌株;马葡萄球菌和肠膜明串珠菌可以在高盐环境下发酵;乳链球菌、肠膜明串珠菌可以在高亚硝酸盐的环境下发酵;在肉制品发酵的正常酸度下,5株菌株均可正常发酵,肠膜明串珠菌可以在酸性较低的环境下发酵。同时,5株菌株均不分解蛋白质和脂肪,不产生黏液、不产气、不产氨、不产 H_2S ,因此,乳链球菌、马葡萄球菌、肠膜明串珠菌有望在腊肉的工业生产中作为细菌发酵剂进行使用。

参 考 文 献

- [1] 潘晓倩,成晓瑜,张顺亮,等. 腌腊肉制品中乳酸菌的筛选鉴定及其在腊肠中的应用[J]. 食品科学, 2017, 38(16): 57-63.
PAN X Q, CHENG X Y, ZHANG S L, et al. Screening and identification of lactic acid bacteria from cured meat products and its application in Chinese sausage[J]. Food Science, 2017, 38(16): 57-63.
- [2] 龙强,聂乾忠,刘成国. 发酵肉制品功能性发酵剂研究现状[J]. 食品科学, 2016, 37(17): 263-269.
LONG Q, NIE Q Z, LIU C G. Research status of functional starter for fermented meat products [J]. Food Science, 2016, 37(17): 263-269.
- [3] 付浩华. 低盐腊肉加工工艺优化[J]. 肉类工业, 2019(7): 14-18, 22.
FU H H. Optimization of low-salt bacon processing [J]. Meat Industry, 2019(7): 14-18, 22.
- [4] 王晓婷,贺银凤. 肉制品发酵剂菌种筛选及发酵工艺条件优化[J]. 食品工业, 2012, 33(7): 5-8.
WANG X T, HE Y F. Screening of starter cultures and optimization of fermentation conditions for meat products[J]. Food Industry, 2012, 33(7): 5-8.
- [5] MACEDO R E F, LUCIANO F B, CORDEIRO R P, et al. Sausages and other fermented meat products[J]. Starter Cultures in Food Production, 2017, 16: 324-354
- [6] VINNIKOVA L, MUDRYK V, AGUNOVA L. Modern production trends of fermented meat products[J]. Food Science and Technology, 2019, 13(4): 1556.
- [7] 叶翠,张香美,卢涵,等. 肉制品发酵剂研究现状与趋势[J]. 食品科技, 2019, 44(12): 290-294.
YE C, ZHANG X M, LU H, et al. Research status and trend of meat starter[J]. Food Technology, 2019, 44(12): 290-294.
- [8] BIS-SOUZA C V, BARBA F J, LORENZO J M, et al. New strategies for the development of innovative fermented meat products: A review regarding the incorporation of probiotics and dietary fibers[J]. Food Reviews International, 2019, 35(5): 1-18.
- [9] GARCÍA-DÍEZ J, SARAIVA C. Use of starter cultures in foods from animal origin to improve their safety[J]. Int J Environ Res Public Health, 2021, 18(5): 2544.
- [10] 王正莉,王卫,陈林,等. 传统腌腊肉制品中微生物多样性研究进展[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(8): 202-206.
WANG Z L, WANG W, CHEN L, et al. Research progress on microbial diversity in traditional cured meat products[J]. Food Research and development, 2021, 42(8): 202-206.
- [11] 张乐. 微生物发酵剂对发酵肉制品安全性的影响[J]. 中国食品, 2021(21): 110-112.
ZHANG L. Effect of microbial starter on the safety of fermented meat products[J]. Chinese Food, 2021(21): 110-112.

- [12] 田媛, 吕重阳, 张玲玲, 等. 发酵肉制品中葡萄球菌的分离、鉴定及其对肉蛋白的降解能力[J]. 中国食品学报, 2021, 21(7): 300-306.
TIAN Y, LÜ C Y, ZHANG L L, et al. Isolation and identification of *Staphylococcus* from fermented meat products and its ability to degrade meat protein[J]. Chinese Journal of Food, 2021, 21(7): 300-306.
- [13] LOPEZ C M, CALLEGARI M L, PATRONE V, et al. Assessment of antibiotic resistance in staphylococci involved in fermented meat product processing[J]. Current Opinion in Food Science, 2020, 31: 17-23.
- [14] HU M Z, YU J S, YU J P, et al. Isolation and screening of *Staphylococcus xylosum* P2 from Chinese bacon: A novel starter culture in fermented meat products[J]. International Journal of Food Engineering, 2018, 15(1/2): 1-7.
- [15] 赵改名, 李珊珊, 崔文明, 等. 云南自然发酵火腿中乳酸菌的分离鉴定及发酵特性研究[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(1): 56-61.
ZHAO G M, LI S S, CUI W M, et al. Isolation, identification and fermentation characteristics of lactic acid bacteria from naturally fermented ham in Yunnan[J]. Food and Fermentation Industry, 2020, 46(1): 56-61.
- [16] 高绍金. 鲁氏酵母菌对发酵香肠的性能及品质影响研究[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2019.
GAO S J. Study on the effect of yeast on the performance and quality of fermented sausage[D]. Daqing: Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2019.
- [17] 徐鑫, 王茜茜, 王晓蕊, 等. 传统农家大酱中耐盐性乳酸菌的分离与鉴定[J]. 食品与发酵工业, 2014, 40(11): 33-40.
XU X, WANG Q Q, WANG X R, et al. Isolation and identification of salt-tolerant lactic acid bacteria from traditional farm sauce[J]. Food and Fermentation Industries, 2014, 40(11): 33-40.
- [18] 帅瑾. 传统自然发酵四川香肠中乳酸菌的分离、鉴定及其应用[D]. 四川: 四川农业大学, 2013.
SHUAI J. Isolation, identification and application of lactic acid bacteria from traditional natural fermented sichuan sausage [D]. Sichuan: Sichuan Agricultural University, 2013.
- [19] 张秋会, 王晗, 祝超智, 等. 自然发酵腊肉中酵母菌的分离鉴定及其发酵特性研究[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(14): 113-117.
ZHANG Q H, WANG H, ZHU C Z, et al. Isolation and identification of yeast from naturally fermented bacon and study on its fermentation characteristics[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(14): 113-117.
- [20] 张晓琼, 桂萌, 靳晓娇, 等. 不同发酵肉中优良葡萄球菌的筛选鉴定[J]. 肉类研究, 2011, 25(8): 17-21.
ZHANG X Q, GUI M, JIN X J, et al. Screening and identification of excellent *Staphylococcus* in different fermented meat[J]. Meat Studies, 25(8): 17-21.
- [21] SANTOS B A D, CAMPAGNOL P C B, FAGUNDES M B, et al. Adding blends of NaCl, KCl, and CaCl₂ to low-sodium dry fermented sausages: Effects on lipid oxidation on curing process and shelf life[J]. Journal of Food Quality, 2017(2): 1-8.
- [22] HAMMES W P. Metabolism of nitrate in fermented meats: The characteristic feature of a specific group of fermented foods[J]. Food Microbiology, 2012, 29(2): 151-156.
- [23] 赵俊仁, 孔保华. 自然发酵风干肠中酵母菌生产性能的研究[J]. 食品科技, 2010, 35(10): 27-31.
ZHAO J R, KONG B H. Study on the production performance of yeast in naturally fermented air-dried sausage[J]. Food Technology, 2010, 35(10): 27-31.
- [24] 赵振玲, 孙春禄, 王成忠, 等. 不同发酵香肠中微生物与葡萄球菌的筛选与鉴定[J]. 肉类工业, 2008(3): 20-23.
ZHAO Z L, SUN C L, WANG C Z, et al. Screening and identification of *Micrococcus* and *Staphylococcus* in different fermented sausages [J]. Meat Industry, 2008(3): 20-23.

Isolation and Identification of Bacteria from Naturally Fermented Bacon and Its Fermentation Characteristics

Zhang Qiuhui, Meng Gaoe, Wang Han, Liu Chang, Cui Wenming,

Wang Xiaopeng, Zhu Chaozhi*, Zhao Gaiming

(College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002)

Abstract To explore the bacterial strains suitable for fermented meat products, Xinyang Bacon, Sichuan Bacon, Yunnan Bacon and Hunan Bacon were used as materials, based on the safety, production adaptability and fermentation performance of the strain, the species of bacteria in naturally fermented bacon were determined through isolation, screening, 16S rDNA sequencing and basic fermentation characteristics, and the suitability of each strain as a starter. The results showed that 5 strains with high salt tolerance, nitrite tolerance, acid tolerance and excellent fermentation performance were isolated and identified, *Streptococcus lactis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus xyloides*, *Staphylococcus equi* and *Leuconostoc enteritidis*. The 5 strains screened are expected to be used as fermentation strains in bacon production.

Keywords bacon; separation; screening; identification; bacteria