

基于电子鼻技术对致病菌污染椒麻鸡后挥发性成分研究

徐杰^{1,2}, 高新宇¹, 吴静¹, 张永松¹, 吴江超^{1*}

1. 喀什大学生命与地理科学学院(喀什 844000); 2. 新疆海德企业管理服务有限公司(喀什 844000)

摘要 为实现椒麻鸡食品安全快速检测, 分别用不同浓度梯度的大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门菌标准菌液脱除培养基后加入椒麻鸡样品中, 并基于电子鼻技术对污染不同致病菌的椒麻鸡样品挥发性成分进行分析检测。结果表明, 大肠杆菌与金黄色葡萄球菌挥发性成分雷达图较为相似, 而沙门菌与大肠杆菌和金黄色葡萄球菌挥发性成分雷达图有较大不同, 椒麻鸡的主要风味为硫化成分物、芳香族化合物、烷烃及氮氧化物, 采用传感器阵列表征值结合OmicShare Tool工具进行相关性分析, 不同梯度的金黄色葡萄球菌与传感器W2S的相关系数为-1.00, 呈显著负相关 ($P < 0.05$), 此传感器可作为金黄色葡萄球菌对椒麻鸡样品污染程度的指示传感器。大肠杆菌与W1C、W3C传感器、沙门菌与W6S、W3S传感器均有不同程度正相关, 但显著性不足 ($P > 0.05$), 椒麻鸡在受到不同类型致病菌污染时, 挥发性成分具有较为明显差异。

关键词 电子鼻; 椒麻鸡; 大肠杆菌; 金黄色葡萄球菌; 沙门菌

Study on Volatile Components of Pepper Chicken Contaminated by Common Foodborne Pathogens based on Electronic Nose Technology

XU Jie^{1,2}, GAO Xinyu¹, WU Jing¹, ZHANG Yongsong¹, WU Jiangchao^{1*}

1. College of Life and Geographic Sciences, Kashi University (Kashi 844000);

2. Xinjiang Haide Enterprise Management Service Co., Ltd. (Kashi 844000)

Abstract In order to realize the rapid detection of food safety of pepper sesame chicken, separately add the standard bacterial solution of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and salmonella with different concentration gradients to pepper sesame chicken samples after removing the medium, and analyze and detect the volatile components of pepper sesame chicken samples contaminated with different pathogens based on electronic nose technology. The results show that the radar maps of volatile components of *E. coli* and *Staphylococcus aureus* are similar, while the radar maps of volatile components of *Salmonella* are quite different from those of *E. coli* and *Staphylococcus aureus*. The main flavors of pepper chicken are sulfide components, aromatic compounds, alkane and nitrogen oxides. The characteristic values of the sensor array are combined with the OmicShare tool for correlation analysis. The correlation coefficient of *Staphylococcus aureus* with different gradients and the sensor W2S shows a significant negative correlation of -1.00 ($P < 0.05$). This sensor can be used as an indicator of the degree of contamination of *Staphylococcus aureus* to pepper chicken samples. *Escherichia coli* is positively correlated with W1C, W3C, *Salmonella* with W6S and W3S sensors to varying degrees, but the significance is insufficient ($P > 0.05$). The volatile components of chili chicken are significantly different when contaminated by different types of pathogens.

Keywords electronic nose; chicken with pepper; *E. coli*; *Staphylococcus aureus*; salmonella

椒麻鸡作为西北地区特色菜肴之一, 口感独特, 深受消费者的喜爱, 并作为近年来预制菜的重点开发类别, 大量研究表明, 鸡肉中常见的食源性致病菌有沙门菌、金黄色葡萄球菌、单核细胞增生李斯特菌, 空肠弯曲杆菌等, 严重影响人们的健康。在现有气体分析技术中, 电子鼻分析方法具有灵敏度高、响应快速、实时监测、易用、便携的巨大优势。电子鼻技术是模拟人的嗅觉系统, 用气体传感器的响应图谱识别样品的挥发性成分评价样品整体的新鲜情况^[1], 弥补感官评价中人为因素影响和识别精度低等缺点, 客观、准确、快捷, 重复性好^[2]。

Astuti等^[3]在利用电子鼻上的气体传感器阵列

(GSA)系统对新鲜鸡肉和大肠杆菌污染鸡肉的保质期进行表征, 使用RF分类器和SVM分类器对试验中的鸡肉样本进行分类, 取得较高的准确率; 揭示GSA在使用RF和SVM对被大肠杆菌污染的鸡肉进行分类方面的能力。当鸡肉中的蛋白质受损时, 酒精、酮类和碳氢化合物(甲烷和丙烷)的产量会随着时间的推移而显著增加^[4], Górska-Horczyzak等^[5]基于超快速气相色谱(UFGC)的电子鼻(E-nose)技术, 用于识别这些肉制品的新鲜度差异, 结果表明, 该技术可有效识别冷藏和冷冻猪肉。在实践中, 该技术可应用于肉类行业, 以快速、廉价且可靠地评估肉类新鲜度。在食品风味分析^[6-7]、品质判别^[8]、掺假检测^[9]及品种鉴别^[7]

等领域应用广泛。

基于电子鼻技术研究椒麻鸡风味成分差异,并结合Pearson相关性分析实现椒麻鸡品质的快速判别,以期建立一种针对椒麻鸡产品可应用、可推广食品安全快速检测技术,有效降低此类食品在加工、销售过程中安全风险。

1 材料与方 法

1.1 材料

市售椒麻鸡;大肠杆菌标准菌株、金黄色葡萄球菌标准菌株、沙门菌标准菌株(均来自新疆微生物研究所);酵母提取物、胰蛋白胨、琼脂粉(均为生物试剂,北京奥博星生物技术有限责任公司);氢氧化钠、氯化钠(均为分析纯,天津市永大化学试剂有限公司);20 mL顶空瓶。

表1 3种致病菌及其对应的不同稀释梯度

编号	名称	稀释度
S ₁	大肠杆菌	10 ⁻⁵
S ₂	大肠杆菌	10 ⁻⁶
S ₃	大肠杆菌	10 ⁻⁷
S ₄	金黄色葡萄球菌	10 ⁻⁵
S ₅	金黄色葡萄球菌	10 ⁻⁶
S ₆	金黄色葡萄球菌	10 ⁻⁷
S ₇	沙门菌	10 ⁻⁵
S ₈	沙门菌	10 ⁻⁶
S ₉	沙门菌	10 ⁻⁷

1.2 主要仪器与设备

电子鼻(PEN3,德国AIRSENSE公司);高速冷冻离心机(TGL-16,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);洁净工作台(SW-CJ-1FD,苏州安泰空气技术有限公司);高压蒸汽灭菌锅(LDZF-75L-II,上海申安医疗器械厂);电热恒温培养箱(GL12-2,上海申安医疗器械厂);电子天平(MP2008,上海第二天平仪器厂);菌落计数器(XK-97A,上海力辰邦西仪器科技有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 样品预制备

表2 标准菌落计数结果

名称	稀释梯度			
	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
金黄色葡萄球菌/(CFU·mL ⁻¹)	243	152	93	23
大肠杆菌/(CFU·mL ⁻¹)	273	138	9	1
沙门菌/(CFU·mL ⁻¹)	120	32	4	2

挑取已活化标准菌进行液体培养,在37℃,80 r/min摇瓶培养18 h。全程在超净工作台操作以保证无菌环境。取液体培养基中标准菌液0.5 mL,离心弃去上清液,进行梯度稀释,稀释液为0.9%生理盐水,取10⁻⁵,10⁻⁶,10⁻⁷和10⁻⁸这4个梯度浇注法接种于LB培养基,置于电热恒温培养箱37℃培养48 h,计菌落总

数。计数结果如表2所示。

1.3.2 电子鼻检测条件

电子鼻评估为WinMuster软件平台完成,清洗时间40 s,样品准备时间5 s,进样流量400 mL/min,大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门菌分析时间均为70 s。采用57~59 s稳定数据段的平均值作为表征变量,取椒麻鸡汤汁2 mL取样于20 mL顶空瓶中,加盖密封,37℃培养10 h。每个样本测定完成后,连续清洗电子鼻传感器阵列,直至每个传感器的响应值回到基线水平再进行下一个样品测定。气体检测系统有10个金属氧化物气体传感器,不同的传感器识别不同的气味(表3)。

表3 电子鼻传感器阵列及其性能特性^[9]

序号	传感器	性能描述
1	W1C	对芳香成分灵敏
3	W3C	对氨水、芳香类化合物灵敏
4	W6S	对氢气有选择性
5	W5C	对烷烃、芳香类化合物和弱极性化合物灵敏
6	W1S	对甲烷等短链烷烃灵敏
7	W1W	对无机硫化物灵敏
8	W2S	对醇、醛、醚等灵敏
9	W2W	对芳香族化合物、有机硫化物灵敏
10	W3S	对烷烃灵敏

1.3.3 数据处理

电子鼻数据采用OriginPro 2021和OmicShare Tool对数据进行绘图和统计分析。

2 结果与讨论

2.1 椒麻鸡电子鼻风味分析

电子鼻系统对可测量范围内的气味敏感^[10],用雷达图显示椒麻鸡在侵染不同梯度致病菌时的强度,由图1(A)可知,3个不同梯度的大肠杆菌样本的信号响应随稀释度的增大而逐渐减弱,其中传感器W1W、W2W响应最为敏感,响应较微弱的传感器有W5S、W6S、W1S、W1S。根据电子鼻传感器阵列中10个传感器性能的描述(表3)可知:椒麻鸡挥发性组分中含有无机硫化、芳香族化合物、有机硫化物;W2S的响应值较弱,表明挥发性成分中含有少量醇、醛及醚等物质。

由图1(B)可知:不同梯度的金黄色葡萄球菌稀释度的增大而逐渐降低,传感器W1W、W2W响应最为敏感,表明无机硫化物、芳香族化合物、有机硫化物的含量较高;响应值随着梯度的增大而降低,W2S、W5S、W6S、W3S、W5C传感器响应微弱。

由图1(C)可知:不同梯度的沙门氏菌随稀释度的增大而增强,椒麻鸡中W1W、W1S传感器的响应值随着梯度的增大而显著增加,响应最为敏感,表明对无机硫化物、芳香族化合物、有机硫化物和甲烷等短链烷烃化合物的含量最高;W2S、W5S、W6S、

W3C、W3C、W1C传感器响应微弱，芳香类物质、氮氧化物、醇、醛、醚等含量较低。

大肠杆菌等微生物很容易污染肉制品，产生令人不愉悦的气味。电子鼻能通过感知生物体代谢过程产生的气味模式感知食品中微生物污染的存在^[11]，由于电子鼻的响应信号无法直观获得VOCs组分的空间分布信息，因此，需要借助模式识别方法进行进一步分析^[12]，对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门菌选择OmicShare Tool工具，开展不同梯度的大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门菌分别与传感器响应值间的相关性

分析。

由图2可知：不同梯度的大肠杆菌与传感器W1C、W3C、W5C的相关系数为0.74，0.73和0.73，呈正相关但不显著 ($P>0.05$)；与W5S、W6S、W1S、W1W、W2S、W2W、W3S的相关系数均为-0.59，-0.73，-0.70，-0.50，-0.69，-0.48和-0.77，呈负相关但不显著 ($P>0.05$)，可能与菌落代谢有关。不同梯度金黄色葡萄球菌与传感器W2S的相关系数为-1.00，呈显著负相关 ($P<0.05$)；与W1C、W3C、W5C的相关系数均为0.95，0.71和0.75，呈正相关但不显著 ($P>0.05$)。

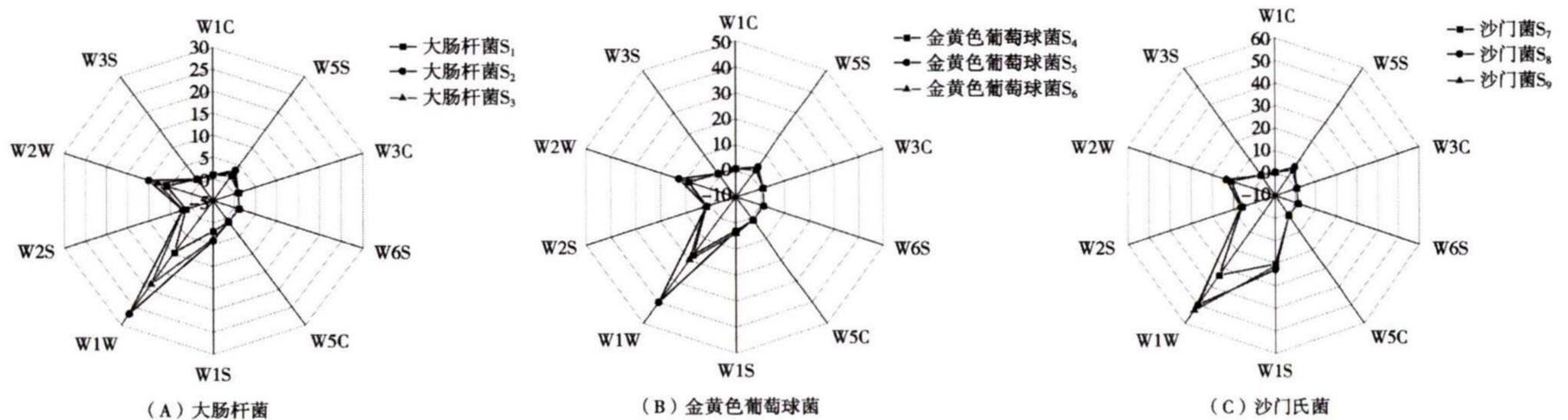
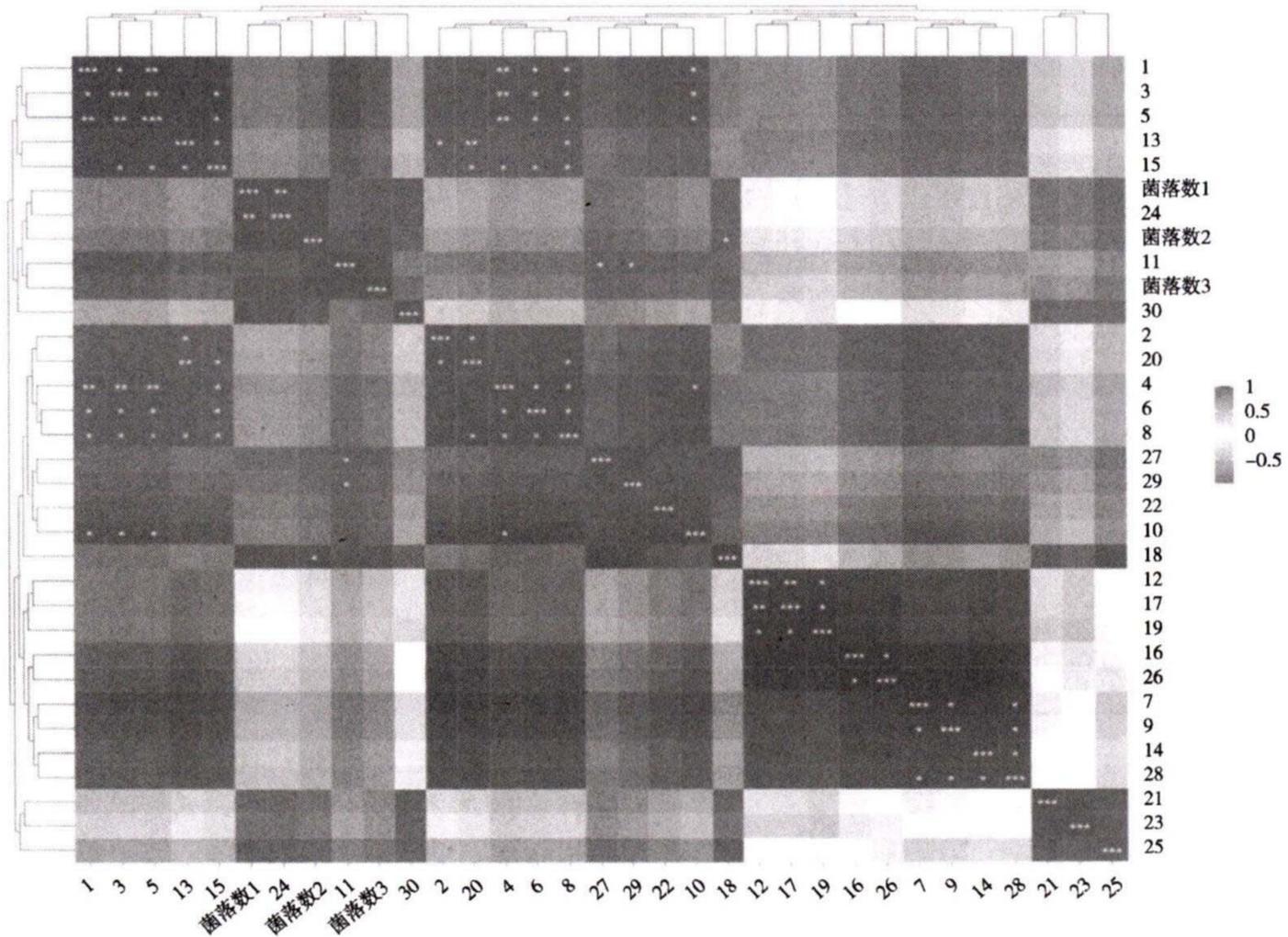


图1 不同致病菌污染椒麻鸡挥发性成分雷达图



注：*， $P\leq 0.05$ ；**， $P\leq 0.05$ ；***， $P\leq 0.05$ ；菌落数1，大肠杆菌菌落总数；菌落数2，金黄色葡萄球菌菌落总数；菌落数3，沙门菌菌落总数；大肠杆菌电子鼻传感器，1-10；金黄色葡萄球菌电子鼻传感器，11-20；沙门菌电子鼻传感器，21-30。

图2 椒麻鸡中3种致病菌不同浓度梯度菌落数及挥发性成分在电子鼻中对应传感器响应值热图

禽肉中被污染的沙门菌仍是一个重要的食品安全问题，因为这种病原体会导致世界范围内严重的食

源性疾病^[13]。不同梯度沙门菌与传感器W6S、W3S相关系数分别为0.96和0.85，呈正相关但不显著 ($P>$

0.05)；与传感器W1C、W3C、W5C、W1W、W2W、W2S相关系数均为-0.79, -0.72, -0.90, -1.00, -0.98和-0.67, 呈负相关但不显著($P>0.05$)；可能的原因有变量之间不存在相关关系, 无关变量过多或者样本量过少也容易导致相关性不显著。沙门菌和金黄色葡萄球菌是动物源性食品(ASF)中最常见的2种食源性细菌, 在世界范围内引起疾病。电子技术作为一种筛选污染的新工具, 在食品加工环境中腐败生物体有机会成倍繁殖之前检测它们的存在并不容易, Gobbi等^[14]基于电子鼻技术快速诊断蔬菜汤中的肠杆菌科, 诊断能力得到证明, 分类率接近100%。对同一科的2种不同细菌污染的样品, 在接种24 h后, 采用相同的机器训练, 均能正确鉴别。但对于研究椒麻鸡中致病菌不同浓度梯度菌落数及挥发性成分在电子鼻中对应传感器响应值相关性还有待进一步研究。

3 结论

电子鼻技术能对不同梯度的大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门菌挥发性成分进行分析判别, 电子鼻系统检测出椒麻鸡的主要风味成分为硫化物、芳香族化合物、烷烃及氮氧化物, 依据传感器阵列的表征值结合OmicShare Tool工具进行相关性分析, 结果表明, 大肠杆菌与金黄色葡萄球菌挥发性成分雷达图较为相似, 而沙门菌与大肠杆菌和金黄色葡萄球菌挥发性成分雷达图有较大不同, 椒麻鸡在受到不同类型致病菌污染时, 挥发性成分具有较为明显差异。不同梯度的金黄色葡萄球菌与传感器W2S的相关系数为-1.00, 呈显著负相关($P<0.05$), 此传感器可作为沙门菌对椒麻鸡样品污染程度的指示传感器。大肠杆菌、沙门菌均有不同程度正相关性, 但显著性不足($P>0.05$), 还需进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 潘冰燕, 鲁晓翔, 张鹏, 等. GC-MS结合电子鼻分析1-MCP处理对线椒低温贮藏期挥发性物质的影响[J]. 食品科学, 2016, 37(2): 238-243.
- [2] ZHANG M X, WANG X C, et al. Species discrimination among three kinds of puffer fish using an electronic nose combined with olfactory sensory evaluation[J]. Sensors, 2012, 12: 12562-12571.
- [3] ASTUTI S D, TAMIMI M H, PRADHANA A A S, et al. Gas sensor array to classify the chicken meat with *E. coli* contaminant by using random forest and support vector machine[J]. Biosensors and Bioelectronics: X, 2021, 9: 100083.
- [4] LAZARO C A, CONTE-JUNIOR C A, CANTO A C, et al. Biogenic amines as bacterial quality indicators in different poultry meat species[J]. LWT-Food Science and Technology, 2015, 60(1): 15-21.
- [5] GÓRSKA-HORCZYCZAK E, WOJTASIK-KALINOWSKA I, GUZEK D, et al. Differentiation of chill-stored and frozen pork necks using electronic nose with ultra-fast gas chromatography[J]. Journal of Food Process Engineering, 2017, 40(5): e12540.
- [6] WOJNOWSKI W, MAJCHRZAK T, DYMERSKI T, et al. Electronic noses: Powerful tools in meat quality assessment[J]. Meat Science, 2017, 131: 119-131.
- [7] 乔森, 张磊, 母芳林. 基于电子鼻与LightGBM算法判别葡萄酒品种的研究[J]. 食品与机械, 2020, 36(5): 76-79.
- [8] 吴忠红, 谭慧林, 赵雅霞, 等. GC-MS结合电子鼻分析甜瓜籽油挥发性风味成分[J]. 中国油脂, 2020, 45(12): 28-33.
- [9] 张宾惠, 高嵩, 贾飞, 等. 基于电子鼻技术结合化学计量法鉴别北京油鸡肉[J]. 肉类研究, 2020, 34(2): 53-59.
- [10] 田晓静. 基于电子鼻和电子舌的羊肉品质检测[D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
- [11] HUANG G L, LIU T T, MAO X M, et al. Insights into the volatile flavor and quality profiles of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) during shelf-life via HS-GC-IMS, E-nose, and E-tongue[J]. Food Chemistry: X, 2023, 20: 100886.
- [12] ARSHAK K, MOORE E, LYONS G M, et al. A review of gas sensors employed in electronic nose applications[J]. Sensor Review, 2004, 24(2): 181-198.
- [13] 陈通, 祁兴普, 陈斌, 等. 基于电子鼻技术的猪肉脯品质判别分析[J]. 肉类研究, 2021, 35(2): 31-34.
- [14] PELYUNTHA W, VONGKAMJAN K. Combined effects of Salmonella phage cocktail and organic acid for controlling Salmonella enteritidis in chicken meat[J]. Food Control, 2022, 133: 108653.
- [15] GOBBI E, FALASCONI M, ZAMBOTTI G, et al. Rapid diagnosis of Enterobacteriaceae in vegetable soups by a metal oxide sensor based electronic nose[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2015, 207: 1104-1113.