

气调包装酱牛肉贮藏过程中优势腐败菌变化规律和预测模型的初建

胡洁云, 严维凌*, 林露, 陈平
(上海市食品研究所, 上海 200235)

摘 要: 以中式熟食酱牛肉为研究对象, 测定在 5℃ 条件下散装、真空、无氧、低氧和高氧包装的酱牛肉中菌落总数、热死环丝菌、乳酸菌和假单胞菌的变化规律, 并且针对散装酱牛肉菌落总数建立初级预测模型。结果表明: 低氧包装(35% O₂、55% CO₂、10% N₂)能够有效抑制酱牛肉贮藏过程中腐败菌的生长; 比较线性方程和修正的 Gompertz 方程建立的初级模型得知, 修正的 Gompertz 方程所得的决定系数 R^2 均超过 0.98, 模型的可靠性较线性模型高。

关键词: 酱牛肉; 气调包装; 腐败菌; 预测模型

Change Regularity and Predictive Modeling of Dominant Spoilage Microorganisms in Chinese Spiced Beef during Modified Atmosphere Storage

HU Jie-yun, YAN Wei-ling*, LIN Lu, CHEN Ping
(Shanghai Food Research Institute, Shanghai 200235, China)

Abstract: The changes of total bacterial count as well as the counts of *Brochothrix thermosphacta*, lactic acid bacteria and *Pseudomonas* in Chinese spiced beef samples unpackaged and packaged in vacuum, oxygen-free, low-oxygen or high-oxygen environments were measured during storage at 5 °C. Meanwhile, primary prediction models for total bacterial count in unpackaged beef samples were constructed. The growth of spoilage bacteria in spiced beef during 5 °C storage was effectively inhibited by low-oxygen packaging (35% O₂ + 55% CO₂ + 10% N₂). The comparison between the linear and the modified Gompertz prediction models revealed that the determination coefficient R^2 of the latter exceeded 0.98 and had higher reliability.

Key words: Chinese spiced beef; modified atmosphere packaging; spoilage microorganisms; predictive model

中图分类号: TS207.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)23-0142-04

酱牛肉作为一种典型的中式低温熟肉制品, 在我国已有 200 多年的生产历史, 由于其具有口感好、风味佳和食用方便的优点, 深受广大消费者的喜爱^[1]。目前, 熟肉产品多通过简易的保鲜膜包装销售或在完全敞开的条件下销售, 易受环境中微生物的污染, 造成产品的货架期很短, 这严重制约了熟肉品的生产和流通, 限制了其工业化生产。

国内外学者对肉类保鲜技术进行了广泛的研究, 认为“气调包装”技术对提高冷鲜肉的防腐保鲜有明显效果^[2], 利用 CO₂ 抑制微生物生长和延长冷却肉货架期方面也有许多文献报道, 但是关于使用气调包装技术延长熟食牛肉产品货架期则少见报道^[3]。孙承锋等^[4]于 2001

年报道了酱牛肉在低温贮藏环境中微生物的种类, 但未进一步研究低温贮藏酱牛肉中微生物的变化规律。

随着计算机技术的发展, 微生物预报技术在国内外被广泛研究, 利用数学模型定量描述食品特性(如 pH 值、水分活度)和加工流通环境因子(如温度、氛围气体)对食品中微生物生长、残存、死亡动态的影响, 以预测食品的货架期^[5]。

本实验以传统熟食产品酱牛肉为研究对象, 比较分析不同包装方式的酱牛肉贮藏在不同温度条件下的优势腐败微生物的变化规律以及对产品货架期的影响; 尝试使用数学模型对散装酱牛肉菌落总数建立预测微生物学的初级模型, 为快速估测酱牛肉的货架期提供一种有效的手段。

收稿日期: 2010-08-11

基金项目: 上海市科委应用技术专项资金开发项目(08-121)

作者简介: 胡洁云(1985—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品生物技术。E-mail: hjy923@126.com

* 通信作者: 严维凌(1967—), 男, 高级工程师, 本科, 研究方向为食品生物技术。E-mail: yanwling@hotmail.com

1 材料与方法

1.1 原料预处理

酱牛肉购自上海某熟食公司。在冰袋中保存, 1h内运至实验室, 立即分割成100g左右的肉块, 进行气调包装。

1.2 仪器与设备

GM-B型气体比例混合器、温度可调式冰箱、高压灭菌锅、恒温培养箱。

1.3 气调包装设计

将购回的酱牛肉用事先消过毒的刀具去掉肉表层的筋膜和脂肪, 然后切分成每块质量约100g的肉块, 随机分成5组, 每组15块, 用真空充气机分别进行真空和充气包装, 充气时间30s, 充气压强为0.2Pa。包装后立即将样品放入5℃的冰箱中贮藏12d, 5组气调包装的分组设计^[6]为: 真空组: 真空包装; 高氧组: 70% O₂、20% CO₂、10% N₂; 低氧组: 35% O₂、55% CO₂、10% N₂; 无氧组: 70% CO₂、30% N₂; 以散装组作为对照组。

1.4 微生物计数

种类: 菌落总数、热死环丝菌、假单胞菌属、乳酸菌。

方法: 在肉块表面取25g左右的样品, 加入到225mL的无菌水中, 搅拌均匀后, 按10倍递增稀释到所需稀释度。每个稀释度取1mL倾注平板, 共取3个稀释度, 每个稀释度做两个重复, 采用平板倾注法计数。

1.5 初级模型的建立

以5℃条件下的散装酱牛肉为研究对象, 对贮藏过程中的菌落总数建立初级模型。

线性模型的表达式^[7]为: $\lg N = A + kt$

式中: $\lg N$ 为微生物在时间 t 时的对数值 $\lg(\text{CFU/g})$; A 为微生物随时间无限减小时渐进的对数值(相当于初始菌数); k 为生长速率 $/\text{d}^{-1}$ 。

修正的 Gompertz 方程表达式^[8]为:

$$\lg N = \lg N_0 + \lg \left(\frac{N_{\max}}{N_0} \right) \times \exp \left\{ - \exp \left[\frac{e \times \mu_{\max}}{\lg \left(\frac{N_{\max}}{N_0} \right)} \times (\lambda - t) + 1 \right] \right\}$$

式中: t 为时间/h; N_t 为微生物在 t 时刻的菌落数/ (CFU/g) ; $\lg \left(\frac{N_{\max}}{N_0} \right)$ 为稳定期细菌数量最大的对数值($\lg N_{\max}$)与初始细菌数量对数值($\lg N_0$)的差值; λ 为微生物学意义上的延滞期/h; μ_{\max} 为细菌最大比生长速率 $/\text{h}^{-1}$ 。

2 结果与分析

2.1 微生物菌相变化分析

对贮藏在5℃不同包装形式酱牛肉初始菌数中的乳酸菌、热死环丝菌和假单胞菌以及在贮存12d后的3种菌所占的百分数进行比较, 结果见表1。

表1 5℃条件下初始菌相和贮藏12d后的菌相比较

Table 1 Comparison of microflora composition after 0 and 12 days of storage at 5℃

组别	不同处理	初始菌相/%			贮存12d后的菌相/%		
		乳酸菌	热死环丝菌	假单胞菌	乳酸菌	热死环丝菌	假单胞菌
1	散装	29	46	25	21	42	37
2	真空	29	46	25	47	42	11
3	高氧	29	46	25	18	40	42
4	低氧	29	46	25	34	36	30
5	无氧	29	46	25	43	39	18

微生物状况是肉类消费品质的重要因素之一, 由表1可知, 在酱牛肉气调贮藏的整个过程中细菌分布发生了很大的变化, 初始菌相中热死环丝菌占46%、乳酸菌占29%、假单胞菌占25%, 说明初始菌中热死环丝菌为优势菌。当贮存12d后, 其菌相发生了变化, 真空组和无氧组均是乳酸菌为优势菌, 假单胞菌数量降低, 分别只占11%和18%。高氧组中的优势菌均为假单胞菌, 热死环丝菌所占比例较高。低氧组各菌比例较为均衡。

2.2 微生物生长变化规律分析

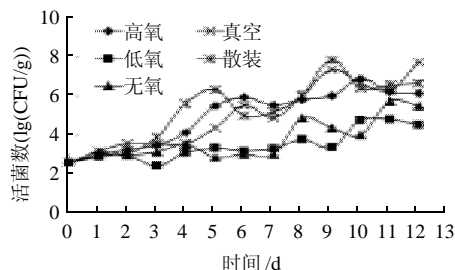


图1 酱牛肉贮藏过程中菌落总数的变化

Fig.1 Changes in total bacteria count of Chinese spiced beef packaged in different environments during storage

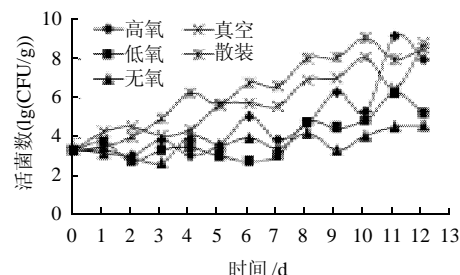


图2 酱牛肉贮藏过程中热死环丝菌的变化

Fig.2 Changes in *Brochothrix thermosphacta* count of Chinese spiced beef packaged in different environments during storage

由图1可知,散装组在5℃条件下贮存3d后,菌落总数超过 10^4 CFU/g,真空组在贮藏前期的细菌总数变化不大,高氧组从第6天起菌落总数开始上升,与低氧组和无氧组相比有了显著差异。

热死环丝菌是肉类食品中的一种重要腐败菌,由于其具有微需氧的特性,因此在真空包装肉类腐败中起着很重要的作用^[9]。由图2可知,在本实验中真空组的热死环丝菌数量增加较快,高氧组在贮藏后期的增长趋势很快。据报道,热死环丝菌在有氧条件下生成乙酸,无氧条件下产生乳酸,因此氧气的存在有利于它的生长,但是 CO_2 对热死环丝菌的生长也有较强的抑制作用,而且随着 CO_2 浓度的增加而加强^[10]。在本实验中,无氧组的 CO_2 体积分数最高,且无氧气存在,所以无氧组的热死环丝菌变化最为平缓,其次是低氧组;高氧组本身 CO_2 体积分数较小,高氧环境为热死环丝菌的生长提供了有利的条件, CO_2 对热死环丝菌的抑制作用降为最低,因此高氧组热死环丝菌在贮藏后期上升很快。

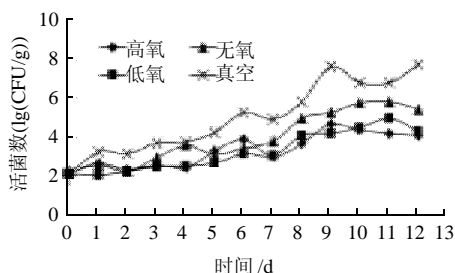


图3 酱牛肉贮藏过程中乳酸菌的变化

Fig.3 Changes in lactic acid bacteria count of Chinese spiced beef packaged in different environments during storage

乳酸菌是一种厌氧菌,由图3可知,在贮藏过程中真空组和无氧组因无 O_2 ,乳酸菌成为优势菌,乳酸菌数量增加显著;高氧组和低氧组虽然含有 CO_2 ,但因 O_2 的存在使得乳酸菌在贮藏初期的生长受到了影响^[11],在贮藏末期才有所增加,进而达到最大值。

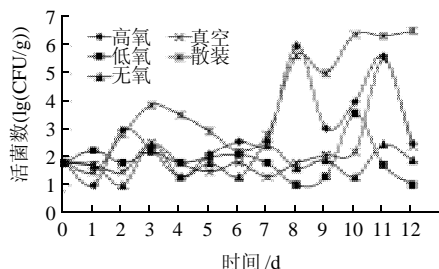


图4 酱牛肉贮藏过程中假单胞菌的变化

Fig.4 Changes in *Pseudomonas* count of Chinese spiced beef packaged in different environments during storage

由图4可知,在低氧组、无氧组和真空组中假单

胞菌数量增加缓慢,这与包装袋具有一定的通透性有关^[12];高氧组在整个贮藏过程中变化趋势较快,假单胞菌属于好氧菌群,高氧的贮藏环境为需氧的革兰氏阴性菌——假单胞菌的生长提供了有利的条件,而 CO_2 在此时对它已起不到应有的抑菌作用。

根据国标GB 2726—2005《熟肉制品卫生标准》,酱卤肉菌落总数要控制在 10^4 CFU/g之内。本实验中,低氧包装的熟肉制品在整个贮藏过程中变化平缓,货架期可达5d,能够很好的延长酱牛肉微生物生长的迟滞期,这可能与低氧组中一定体积分数的 O_2 含量和较高体积分数的 CO_2 对好氧和厌氧微生物均起到了一定的抑制作用有关。

2.3 酱牛肉贮藏期间pH值变化

酱牛肉贮藏期间,pH值受到肉质本身因素及微生物的影响而有所变化,可以间接考察酱牛肉品质变化情况。对样品pH值的测定选择3个平行样的平均值,结果如图5所示。

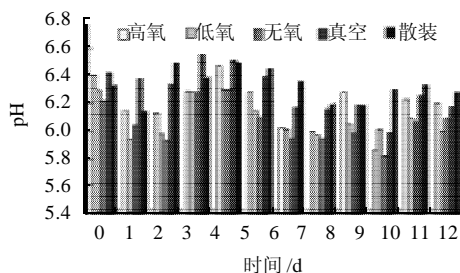


图5 酱牛肉贮藏过程中的pH值变化

Fig.5 Changes in pH value of Chinese spiced beef packaged in different environments during storage

由图5可知,不同包装酱牛肉在贮藏过程中pH值的变化不显著且规律性不强,但总的来看,低氧组和无氧组所测数值较其他组要低,这可能与 CO_2 的浓度有关,随着贮藏时间的延长,部分 CO_2 溶解在肉的表面形成碳酸,从而降低了pH值。

2.4 散装酱牛肉菌落总数初级预测模型的建立

表2 菌落总数的预测模型统计分析结果

Table 2 Comparison on determination coefficient and significance between linear and modified Gompertz prediction models

温度/℃	线性模型		修正 Gompertz 模型	
	R^2	$P > F^*$	R^2	$P > F^*$
5	0.9401	< 0.0001	0.9821	< 0.0001
15	0.943	0.00125	0.9928	< 0.0001
25	0.9289	0.06274	0.9901	< 0.0001

注: *. $\alpha=0.05$ 。

线性模型和修正的 Gompertz 模型为描述微生物生长较为常用的初级模型。运用 Matlab7.0 和 SAS 统计

软件^[13], 对不同温度条件下的酱牛肉菌落总数生长曲线进行拟合, 结果见表2。

由表2相关系数可知, 温度升高到25℃, 线性模型拟合的 R^2 值降低了, 而修正的Gompertz模型拟合的 R^2 值在所有温度下均为0.98以上, 这表明线性模型不如修正的Gompertz模型拟合效果好, 从显著性上分析, 修正Gompertz模型在0.05水平也是极显著的。

表3 菌落总数修正Gompertz模型拟合参数表

Table 3 Characteristic parameters of linear and modified Gompertz prediction models

温度/℃	$\lg N_0/(\lg(\text{CFU/g}))$	$\lg N_{\max}/(\lg(\text{CFU/g}))$	μ_{\max}/h^{-1}	λ/h
5	3.5798	2.3476	0.2671	3.1737
15	2.8623	3.9589	0.3903	1.5763
25	2.7739	2.3574	0.4002	0.9562

修正Gompertz模型拟合生长曲线得到的参数如表3所示, 随着温度的升高, 微生物最大比生长速率也不断增大; 温度对于延滞期的影响, 是随着温度的升高而延滞期缩短。影响延滞期的因素有很多, 如计数时间、条件的波动和微生物之间的差异, 这些因素导致了延滞期的规律性不如生长速率明显。

3 结 论

3.1 结合微生物菌相分析和不同包装酱牛肉中菌落总数、乳酸菌、热死环丝菌和假单胞菌的生长曲线, 结果表明: 低氧包装(35% O_2 、55% CO_2 、10% N_2)对酱牛肉中腐败菌的生长有明显的抑制作用, 除对乳酸菌抑制作用较弱外, 对假单胞菌和热死环丝菌均具有较强的抑制作用, 其整体保鲜效果明显好于其他包装酱牛肉。

3.2 在本实验中, 不同包装酱牛肉的pH值变化不大, 且规律性不强。不能单纯依据pH值的变化确定包装方式对肉类的保鲜效果优劣^[14], 胡长利等^[15]在对冷却牛肉的研究中也得到了相类似的结论。

3.3 以散装酱牛肉为建模对象, 利用Matlab7.0程序, 对5℃酱牛肉菌落总数生长数据进行拟合, 比较两种不

同初级模型的相关系数, 结果表明修正的Gompertz模型比线性模型能够更好的拟合菌落总数生长情况, R^2 值均超过0.98, 模型在0.05水平上显著。

参考文献:

- [1] 董寅初. 现代肉类科技对中国传统风味肉制品的影响[J]. 肉类研究, 1999(1): 3-5.
- [2] 马丽珍, 南庆贤, 戴瑞彤, 等. 不同气调包装方式的冷却猪肉在冷藏过程中的微生物变化[J]. 农业工程学报, 2004, 20(4): 160-164.
- [3] MARTINEZ L, DJENANE D, CILLA I, et al. Effect of different concentrations of carbon dioxide and low concentration of carbon monoxide on the shelf life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere[J]. Meat Science, 2005, 71(3): 563-570.
- [4] 孙承锋, 南庆贤, 牛天贵, 等. 酱牛肉中腐败菌的分离与鉴定[J]. 中国食品学报, 2001(1): 56-60.
- [5] 胡洁云, 欧杰, 李柏林, 等. 预报微生物学在食品安全风险评估中的应用[J]. 微生物学通报, 2009, 36(9): 1-7.
- [6] MCMILLIN K W. Where is MAP going? A review and future potential of modified atmosphere packaging for meat[J]. Meat Science, 2008, 80(1): 43-65.
- [7] ZWIETERING M H, JONGENBURGER I, ROMBOUTS F M, et al. Modeling of the bacterial growth curve[J]. Appl Environ Microbiol, 1990, 56(6): 1875-1881.
- [8] RATKOWSKY D A, OLLEY J, MCMEEKIN T A, et al. Relationship between temperature and growth rate of bacterial culture[J]. J Bacteriol, 1982, 149(1): 1-5.
- [9] EGAN A F, FORD A L, SHAY B J, et al. A comparison of *Microbacterium thermosphactum* and *Lactobacilli* as spoilage organisms of vacuum packaged sliced luncheonmeats[J]. Journal of Food Science, 1980, 45(6): 1745-1748.
- [10] THAYER D W, BOYD G, JENKINS R K, et al. Low-dose gamma irradiation and refrigerated storage in vacuo affect microbial flora of fresh pork[J]. Journal of Food Science, 1993, 58(4): 717-719.
- [11] HUFFMAN D L, DAVIS K A, MARPLE D N, et al. Effect of gas atmospheres on microbial growth, colour and pH of beef[J]. Journal of Food Science, 1975, 40(6): 1229-1231.
- [12] 戴瑞彤. 冷却牛肉表面变色现象的控制及其机理研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2002.
- [13] 冯力. 回归分析方法原理及SPSS实际操作[M]. 北京: 中国金融出版社, 2004.
- [14] 隋继学, 刘太宇, 杨宝进, 等. 优质牛肉小包装冷却保鲜技术研究[J]. 冷藏技术, 1999(3): 4-6.
- [15] 胡长利, 郝慧敏, 刘文华, 等. 不同组分气调包装牛肉冷藏保鲜效果的研究[J]. 农业工程学报, 2007, 23(7): 241-246.