

复合生物保鲜剂对冷鲜牛肉抑菌效果研究

doi:10.3969/j.issn.1674-7100.2018.01.012

巩雪常江
李丹婷 孙智慧

哈尔滨商业大学
轻工学院
黑龙江 哈尔滨 150028

摘要:以溶菌酶、乳酸链球菌素、壳聚糖、茶多酚及肉桂精油为生物保鲜剂,研究其对冷鲜牛肉的抑菌效果。实验结果表明,在常温下未经保鲜剂处理的冷鲜牛肉在第9 d时变质,而经保鲜剂处理的冷鲜牛肉在第15 d时基本变质。通过单因素实验选出3种抑菌效果较好的生物保鲜剂,并将其进行不同比例的混合,再对冷鲜牛肉进行保鲜处理,在第18 d时对冷鲜牛肉的菌落总数 N 进行测定,利用响应面法对实验数据进行分析,并建立回归方程,经过计算得出复合保鲜剂的最佳比例是质量分数为0.75%的壳聚糖、1.29%的茶多酚、2.91%的溶菌酶,此时 $\lg(N/(CFU \cdot g^{-1}))$ 最大值为5.61,低于国家规定的6.00,达到了较好的保鲜效果。

关键词:生物保鲜剂;冷鲜牛肉;抑菌;响应面分析;参数优化

中图分类号:TS251.5⁺² **文献标志码:**A

文章编号:1674-7100(2018)01-0083-10

0 引言

牛肉是我们餐桌上最常见的畜肉之一,步入21世纪以来,随着人民生活品质的改善,食品安全意识的提高,对牛肉品质的要求更高。冷鲜肉在安全系数、营养价值、感官品质等方面都优于冷冻肉和热鲜肉,在世界范围内冷鲜肉得到了更多消费者的青睐,冷鲜肉逐渐占据肉类消费市场的主导地位^[1-2]。由于冷鲜肉未经过杀菌处理,不能完全抑制微生物繁殖^[3],极易遭到微生物污染而变质,导致冷鲜肉货架期很短^[4],所以,合理使用保鲜技术可以有效地延长冷鲜牛肉的货架期。

利用保鲜剂保鲜是现阶段食品保鲜比较热门的一项技术。生物保鲜剂是以天然的物质代替化学合成物,

具有低毒性、低能耗、低成本的特点,降低了化学物质对人体的危害,逐渐成为研究人员的研究热点^[5-7]。现阶段,应用于食品保鲜的生物保鲜剂的种类繁多,且抑菌机理各有不同。壳聚糖(chitosan)又称脱乙酰甲壳素,是甲壳素脱N-乙酰基的产物,是目前应用比较广泛的抑菌剂之一,具有很强的抑菌效果^[9-10];茶多酚(tea polyphenols),又称抗氧灵,是茶叶中多酚类物质的总称,具有很强的抗氧化性,可以抑制微生物的生长繁殖^[11-13];溶菌酶(lysozyme)可以有效地抑制革兰氏阳性菌,被广泛应用于食品保鲜、医药等领域^[14];乳酸链球菌素(nisin),能抑制多种革兰氏阳性菌,尤其对产生芽孢的革兰氏阳性菌(如枯草芽孢杆菌、嗜热脂肪芽孢杆菌等)有很强的抑制作用^[15];肉桂精油是一种香辛料,具有较强

收稿日期:2017-12-19

基金项目:国家科技支撑计划基金资助项目(2016YFD0400301),哈尔滨市应用技术与开发基金资助项目(2017RAQXJ228),哈尔滨商业大学科研团队支持基金资助项目(2016TD005)

作者简介:巩雪(1981-),女,辽宁锦州人,哈尔滨商业大学副教授,哈尔滨商业大学博士生,主要研究方向为农产品保鲜包装技术, E-mail: gongxue@hrcu.edu.cn

通信作者:孙智慧(1962-),男,辽宁兴城人,哈尔滨商业大学教授,主要从事农产品加工及装备智能化方面的研究, E-mail: sunzhahui1962@163.com

的抑菌作用,已广泛应用于肉品保鲜领域^[16]。

目前,生物保鲜剂保鲜技术的应用主要集中在对水产品的保鲜,对冷鲜肉的保鲜效果研究相对较少,将这种先进的技术引入冷鲜肉保鲜研究领域,可以为冷鲜肉的冷链物流技术提供一定的技术支持,同时可以有效地延长冷鲜肉的货架期^[8]。

1 生物保鲜剂对冷鲜牛肉抑菌效果实验研究

1.1 实验材料与设备

1) 实验材料

新鲜牛肉,3 500 g,购于黑龙江省哈尔滨市松北区前进综合大市场;食品级的壳聚糖、茶多酚、溶菌酶、nisin、肉桂精油均购于河南巧手食品添加剂有限公司;聚乙烯(polyethylene, PE)保鲜袋,购于北京胜宝包装制品有限公司。

2) 实验设备

HH-4 数显恒温水浴锅,国华电器有限公司;JJ-1 精密定时电动搅拌机,天津市泰斯特仪器有限公司;98-1-B 型电子调温电热套,天津市泰斯特仪器有限公司;DS-150 恒温恒湿试验箱,苏州市易维试验仪器有限公司;J-2 菌落计数器,江苏天翎仪器有限公司;台盛电热鼓风干燥箱,吴江市台盛烘箱制造厂;奥德居智能真空保鲜机,广东省东莞市益健包装机械有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 生物保鲜液配制

1) 溶菌酶保鲜液

准确称取 0.05, 0.50, 1.00 g 溶菌酶,分别用无菌蒸馏水溶解并定容至 50 mL,配制成质量分数为 0.1%, 1.0%, 2.0% 的溶菌酶保鲜液。

2) nisin 保鲜液

准确称取 0.002 5, 0.025 0, 0.250 0 g nisin,分别用无菌蒸馏水溶解并定容至 50 mL,配制成质量分数为 0.005%, 0.050%, 0.500% 的 nisin 保鲜液。

3) 壳聚糖保鲜液

准确称取 0.50, 1.50, 2.50 g 壳聚糖,分别用无菌蒸馏水溶解并定容至 50 mL,配制成质量分数为 1%, 3%, 5% 的壳聚糖保鲜液^[17-19]。

4) 茶多酚保鲜液

准确称取 0.05, 0.50, 1.00 g 茶多酚,分别用无菌

蒸馏水溶解并定容至 50 mL,配制成质量分数为 0.1%, 1.0%, 2.0% 的茶多酚保鲜液^[20-22]。

5) 肉桂精油保鲜液

准确量取 0.25, 0.75, 1.25 mL 肉桂精油,分别用无菌蒸馏水定容至 50 mL,配制成体积分数为 0.5%, 1.5%, 2.5% 的肉桂精油保鲜液^[23-24]。

1.2.2 新鲜牛肉处理

新鲜牛肉→分割至 20 g/块→添加等量已配置的生物保鲜液→浸泡 3 min→沥干→装入 PE 保鲜袋→封口→常温贮藏→待检测。

1.2.3 菌落总数测定

冷鲜牛肉在储藏过程中,微生物的分解作用对其品质产生极其重要的影响,通过菌落总数的测定可以判定生物保鲜剂对冷鲜牛肉的抑菌作用。

参照国家标准 GB/T 4789.2—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》规定的菌落总数测定方法^[25],将 32 g 营养琼脂溶于 1 000 mL 蒸馏水中,调节 pH 值后,煮沸溶解,100 °C 高温下灭菌 15 min,配制成平板计数琼脂培养基;将 8.5 g NaCl 溶于 1 000 mL 蒸馏水中,100 °C 高温下灭菌 15 min,配制成生理盐水,再进行菌落培养及计数,并对菌落总数进行测定。

1) 菌落总数的计算

如果有 2 个连续稀释度的平板菌落数在适宜计数范围内时,计算公式为

$$N = \frac{\sum_{i=1}^n C_i}{(n_1 + 0.1n_2)d}$$

式中: N 为样品中菌落数;

$\sum_{i=1}^n C_i$ 为平板(含适宜范围菌落数的平板)菌落数之和;

n_1 为第一稀释度平板个数;

n_2 为第二稀释度平板个数;

d 为稀释因子。

2) 肉样新鲜度判定标准

$\lg(N/(CFU \cdot g^{-1}))$ 小于 4.00, 属于一级鲜肉;

$\lg(N/(CFU \cdot g^{-1}))$ 为 4.00~6.00, 属于次级鲜肉;

$\lg(N/(CFU \cdot g^{-1}))$ 大于 6.00 属于变质肉^[26-27]。

1.2.4 实验方案

冷鲜牛肉经质量分数为 0.1%, 1.0%, 2.0% 的溶菌酶, 0.005%, 0.050%, 0.500% 的 nisin, 1%, 3%, 5% 的壳聚糖, 0.1%, 1.0%, 2.0% 的茶多酚, 体积分数为 0.5%,

1.5%, 2.5% 的肉桂精油共 15 种保鲜液处理后在常温下贮藏^[28], 分别在第 3, 6, 9, 12, 15, 18 d 进行菌落总数测定, 并记录数据, 分析菌落总数变化趋势, 比较各种生物保鲜剂对冷鲜牛肉的保鲜效果。

1.3 实验结果与分析

1.3.1 实验初始值测定

对所购买的冷鲜牛肉的挥发性盐基氮 (total volatile basic nitrogen, TVB-N) 质量分数、pH 值、水分质量分数及菌落总数等初始值进行测定, 以检验实验试样的新鲜程度, 测定结果如表 1 所示。

由表 1 数据可知, 实验试样的初始值均达到一级

冷鲜肉的国家标准, 可以作为试样进行实验。

表 1 试样初始数据

Table 1 Initial data of samples

TVB-N 质量分数 /%	pH 值	水分 质量分数 /%	$\lg (N/(CFU \cdot g^{-1}))$
0.005	5.81	70.67	3.00

1.3.2 生物保鲜剂对冷鲜牛肉抑菌效果试验结果与分析

随着储存时间的延长, 牛肉本身及环境中的微生物大量繁殖, 冷鲜牛肉的菌落总数不断变化, 不同生物保鲜剂对冷鲜牛肉菌落总数的影响如表 2 所示。

表 2 不同生物保鲜剂对冷鲜牛肉菌落总数的影响

Table 2 Effects of different biological preservatives on total bacterial count in chilled beef $\lg (N/(CFU \cdot g^{-1}))$

保鲜剂种类	质量分数 /%	时间 /d					
		3	6	9	12	15	18
未处理		3.98	4.00	6.00	7.71	8.00	9.13
	0.1	3.83	3.90	4.26	5.75	6.39	7.90
溶菌酶	1.0	3.79	3.85	4.23	5.76	6.23	7.85
	2.0	3.74	3.76	4.00	5.38	5.91	6.74
nisin	0.005	4.00	4.04	4.53	5.41	6.95	7.95
	0.050	3.95	4.00	4.66	5.74	6.90	7.94
	0.500	3.72	3.90	4.36	5.56	6.80	7.81
壳聚糖	1	3.83	3.85	4.15	5.60	6.18	6.85
	3	3.07	3.26	4.08	5.40	5.89	6.31
	5	3.00	3.11	4.04	4.36	5.56	6.18
茶多酚	0.1	3.69	3.70	4.30	5.62	6.67	7.69
	1.0	3.58	3.65	4.18	5.40	6.38	7.48
	2.0	3.49	3.60	4.11	5.26	6.11	7.30
肉桂精油	0.5	3.73	3.77	4.69	5.73	6.41	7.88
	1.5	3.78	3.90	4.56	5.68	6.53	6.90
	2.5	3.79	3.96	4.51	5.70	6.72	7.95

1) 溶菌酶对冷鲜牛肉菌落总数的影响

冷鲜牛肉经过 3 种不同质量分数的溶菌酶保鲜剂处理, 菌落总数随储存时间的变化情况如图 1 所示。

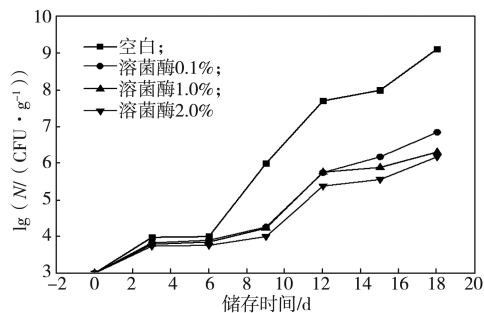


图 1 溶菌酶对冷鲜牛肉菌落总数的影响

Fig. 1 Effect of lysozyme on total bacterial count of chilled beef

由图 1 可知, 冷鲜牛肉菌落总数随存储时间的增加而上升, 但经过溶菌酶处理的试样的菌落总数均低于未处理的试样。未经处理的冷鲜牛肉在第 9 d 时 $\lg (N/(CFU \cdot g^{-1}))$ 超过 6.00, 已变质。经质量分数为 0.1%, 1.0%, 2.0% 的溶菌酶保鲜剂处理的冷鲜牛肉在第 12 d 时, $\lg (N/(CFU \cdot g^{-1}))$ 分别为 5.75, 5.76, 5.38, 均未变质, 并且变化趋势缓慢。但在第 15 d 时, 经质量分数为 0.1%, 1.0% 的溶菌酶保鲜剂处理的冷鲜牛肉 $\lg (N/(CFU \cdot g^{-1}))$ 分别达到 6.39, 6.23, 均已变质; 而经质量分数为 2.0% 的溶菌酶保鲜剂处理的冷鲜牛肉在第 18 d 时, $\lg (N/(CFU \cdot g^{-1}))$ 达到 6.74, 牛肉变质。综上所述, 随着溶菌酶保鲜剂质量分数的增加, 对冷鲜牛肉的抑菌效果越好, 其货架期越长。

2) nisin 对冷鲜牛肉菌落总数的影响

冷鲜牛肉经过 3 种不同质量分数的 nisin 保鲜剂处理, 菌落总数随储存时间的变化情况如图 2 所示。

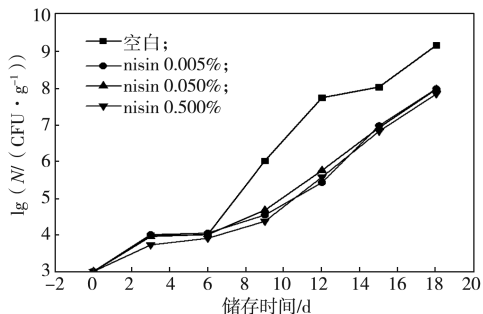


图 2 nisin 对冷鲜牛肉菌落总数的影响

Fig. 2 The effect of nisin on total bacterial count of chilled beef

经不同质量分数的 nisin 保鲜剂处理后的冷鲜牛肉, 菌落总数随着储存时间的延长呈上升趋势; 经质量分数为 0.005%, 0.050%, 0.500% 的 nisin 保鲜剂处理的冷鲜牛肉在第 12 d 时 $\lg(N/(CFU \cdot g^{-1}))$ 分别为 5.74, 5.41, 5.56, 均未变质, 且变化趋势明显较未处理的缓慢; 但在第 15 d 时 $\lg(N/(CFU \cdot g^{-1}))$ 分别为 6.95, 6.90 和 6.80, 均超过国家允许临界值。可见, nisin 保鲜剂对冷鲜牛肉的保鲜效果与其用量成正比。

3) 壳聚糖对冷鲜牛肉菌落总数的影响

冷鲜牛肉经过 3 种不同质量分数的壳聚糖保鲜剂处理后, 菌落总数随储存时间的变化情况如图 3 所示。

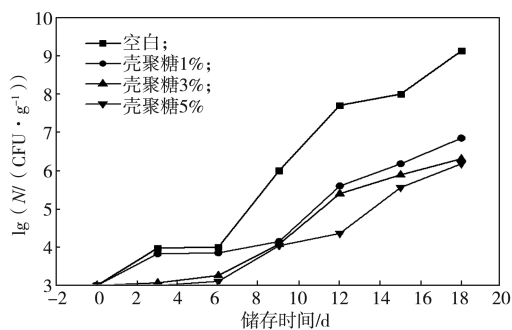


图 3 壳聚糖对冷鲜牛肉菌落总数的影响

Fig. 3 Effect of Chitosan on total bacterial count of chilled beef

经壳聚糖保鲜剂处理过的冷鲜牛肉, 菌落总数在储存时呈缓慢上升趋势; 其中, 经过质量分数为 1%, 3%, 5% 的壳聚糖保鲜剂处理的冷鲜牛肉在第 12 d 时 $\lg(N/(CFU \cdot g^{-1}))$ 分别为 5.60, 5.40, 4.36, 均保持新鲜; 但在第 15 d 时, 经质量分数为 1% 的壳聚

糖保鲜剂处理的冷鲜牛肉, $\lg(N/(CFU \cdot g^{-1}))$ 为 6.18, 已变质; 而另外两组为 5.89 和 5.56, 尚未变质。可见, 经不同质量分数的壳聚糖保鲜剂处理的冷鲜牛肉, 其菌落总数的变化趋势随保鲜剂用量的增加而减缓。

4) 茶多酚对冷鲜牛肉菌落总数的影响

冷鲜牛肉经过 3 种不同质量分数的茶多酚保鲜剂处理后, 菌落总数随储存时间的变化情况如图 4 所示。

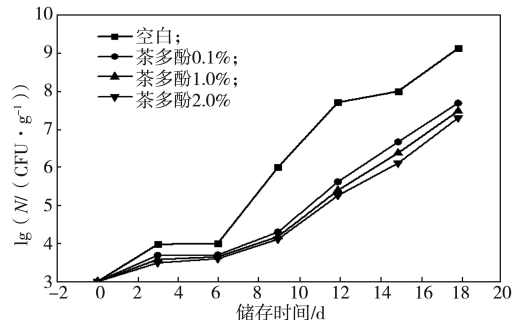


图 4 茶多酚对冷鲜牛肉菌落总数的影响

Fig. 4 Effect of tea polyphenols on total bacterial count of chilled beef

冷鲜牛肉在储存过程中, 菌落总数变化均呈上升趋势; 经质量分数为 0.1%, 1.0%, 2.0% 的茶多酚处理的冷鲜牛肉菌落总数变化均比未处理的的小; 在第 12 d 时, 经质量分数为 0.1%, 1.0%, 2.0% 的茶多酚处理的冷鲜牛肉 $\lg(N/(CFU \cdot g^{-1}))$ 分别为 5.62, 5.40, 5.26, 均在国家规定范围内, 当储存时间达到 15 d 时, 各试样的 $\lg(N/(CFU \cdot g^{-1}))$ 出现了不同程度的增加, 分别达到 6.67, 6.38, 6.11, 均已变质。可见, 茶多酚保鲜剂对冷鲜牛肉的保鲜效果随其用量的增加而增加。

5) 肉桂精油对冷鲜牛肉菌落总数的影响

冷鲜牛肉经过 3 种不同体积分数的肉桂精油保鲜剂处理, 菌落总数随储存时间的变化情况如图 5 所示。

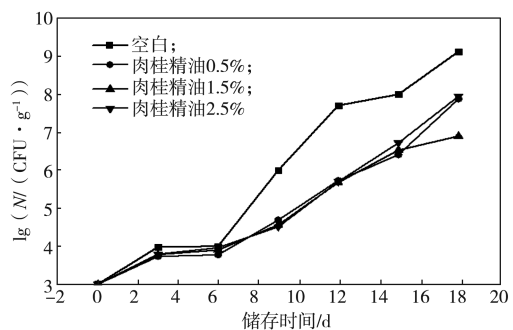


图 5 肉桂精油对冷鲜牛肉菌落总数的影响

Fig. 5 Effect of cinnamon oil on total bacterial count of chilled beef

由图 5 可以看出, 经肉桂精油保鲜剂处理过的冷鲜牛肉, 菌落总数变化呈上升趋势, 且保鲜效果均优于未处理的。其中, 经体积分数为 0.5%, 1.5%, 2.5% 的肉桂精油保鲜剂处理的冷鲜牛肉在第 12 d 时 $\lg(N/(CFU \cdot g^{-1}))$ 分别为 5.98, 5.90, 5.86, 均未变质; 经体积分数为 0.5%、1.5%、2.5% 的肉桂精油保鲜剂处理过的冷鲜牛肉在第 15 d 时, 菌落总数超过了国家标准, 牛肉变质。经不同浓度的肉桂精油保鲜剂处理过的冷鲜牛肉, 其菌落总数在第 15 d 以内变化趋势基本相同, 15 d 以后, 体积分数为 1.5% 的一组变化略低于另两组。

2 复合生物保鲜剂参数优化

根据单因素实验结果进行方差分析, 分析结果如表 3 所示。

表 3 生物保鲜剂对菌落总数影响的方差分析结果

Table 3 Variance Analysis of the effect of biological preservative on total bacterial count

	偏差平方和	自由度	方差	F 值	临界值 F_{α}	显著性
溶菌酶	1.156	2	0.068	4.220	3.68	**
nisin	0.095	2	0.048	0.018	3.68	
壳聚糖	6.443	2	0.379	6.250	3.68	**
茶多酚	2.312	2	0.136	5.050	3.68	**
肉桂精油	0.142	2	0.071	0.030	3.68	

注: ** 为非常显著。

根据方差分析结果并结合生物保鲜剂成本及特性, 得出壳聚糖、茶多酚、溶菌酶对冷鲜牛肉的菌落总数影响比较显著, 利用中心组合理论对试验进行设计, 并进行参数优化, 以得到复合保鲜剂的最佳复合比例^[29]。

2.1 实验安排与结果

2.1.1 实验因素边界值

根据单因素实验结果, 确定符合保鲜剂的种类及质量分数边界值如表 4 所示。

表 4 复合生物保鲜剂实验因素及边界值

Table 4 Experimental factors and boundary value of compound biological antistaling agent

因素	最小值 /%	最大值 /%
A: 壳聚糖质量分数	3	5
B: 茶多酚质量分数	1	2
C: 溶菌酶质量分数	2	3

2.1.2 实验安排与结果

利用 Design Expert 8.0.6 软件, 运用响应面方法

(response surface method, RSM) 的中心组合设计 (central combination design, CCD) 理论, 自变量为壳聚糖、茶多酚、溶菌酶 3 个因素, 以菌落总数为响应值进行实验设计^[29], 实验安排与结果见表 5。

表 5 实验安排与结果

Table 5 Arrangement and result of experiment

实验号	A/%	B/%	C/%	$\lg(N/(CFU \cdot g^{-1}))$
1	3	1	2	5.09
2	5	1	2	4.91
3	3	2	2	4.99
4	5	2	2	4.96
5	3	1	3	5.28
6	5	1	3	5.46
7	3	2	3	5.48
8	5	2	3	5.53
9	2.32	1.5	2.5	5.40
10	5.68	1.5	2.5	5.32
11	4	0.66	2.5	5.57
12	4	2.34	2.5	5.43
13	4	1.5	1.66	5.59
14	4	1.5	3.34	5.80
15	4	1.5	2.5	5.34
16	4	1.5	2.5	5.64
17	4	1.5	2.5	5.82
18	4	1.5	2.5	5.42
19	4	1.5	2.5	5.67
20	4	1.5	2.5	5.81

2.2 复合保鲜剂对冷鲜牛肉菌落总数影响的回归方程及响应面优化

2.2.1 回归分析及回归模型的建立

根据实验方案对冷鲜肉进行处理, 贮存 18 d 后分别对 20 组试样的菌落总数值进行测定。采用 Design Expert 8.0.6 软件对表 5 数据进行回归分析, 其中 A, B, C 分别表示壳聚糖、茶多酚、溶菌酶保鲜液的质量分数, 经过分析, 得到了多元二次回归方程为:

$$Y=2.31+0.941 31A+0.832 07B+0.347 01C+0.005AB+0.11AC+0.16BC-0.154 02A^2-0.418 11B^2-0.142 34C^2。$$

为了检验方程的显著性, 对所建立的回归方程进行了方差分析, 分析结果如表 6 所示。分析结果表明, 回归模型的 P 值为 0.004 2 < 0.01, 表明所建立的回归方程具有显著性, 能够很好地反映实验结果, $r=0.945 5 > r_{0.01(3, 9)}=0.800$, 说明实验误差较小, 实验数据可靠。分析结果表明方程拟合效果较好, 方程可以比较准确地预测保鲜剂作用下冷鲜牛肉的菌落总数变化规律。同时, 3 种保鲜剂对菌落总数的影响均具有显著性, 且存在这一定的交互作用^[30-32]。

表 6 方差分析结果

Table 6 Results of variance analysis

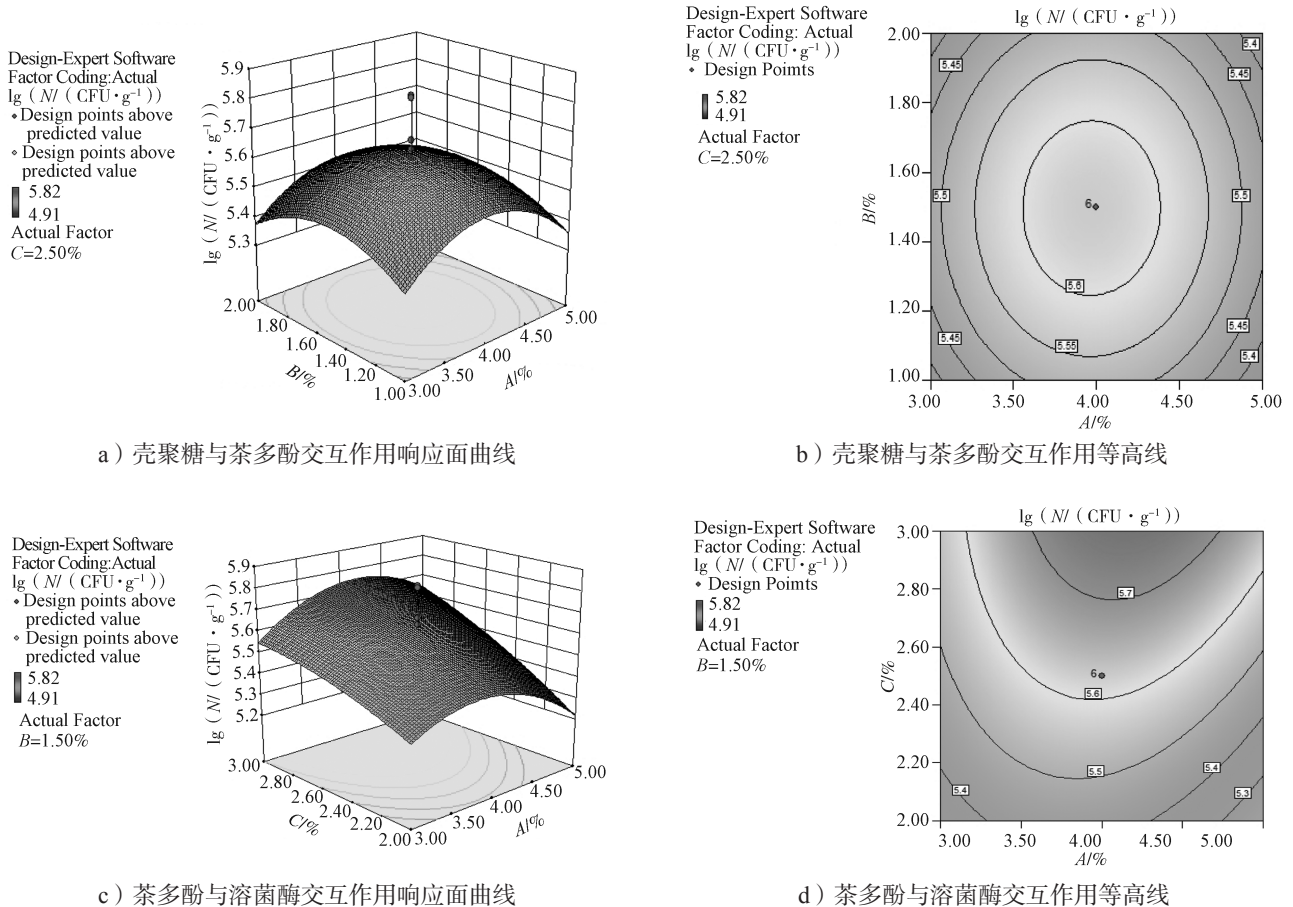
方差来源	总和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	0.84	9	9.33×10^{-2}	1.55	0.004 2	**
A	9.60×10^{-4}	1	9.60×10^{-4}	1.60×10^{-2}	0.009 6	**
B	1.748×10^{-5}	1	1.748×10^{-5}	2.913×10^{-4}	0.003 5	**
C	0.34	1	0.34	3.66×10^{-2}	0.001 1	**
AB	5.00×10^{-5}	1	5.00×10^{-5}	8.30×10^{-2}	0.382 4	
AC	2.40×10^{-2}	1	2.40×10^{-2}	0.40	0.247 8	
BC	1.30×10^{-2}	1	1.30×10^{-2}	0.13	0.210 0	
A ²	0.34	1	0.34	3.82×10^{-2}	0.570 0	
B ²	0.16	1	0.16	2.62×10^{-1}	0.136 3	
C ²	1.80×10^{-2}	1	1.80×10^{-2}	0.30	0.593 4	
残差	0.60	10	0.06	—	—	
失拟项	0.40	5	0.08	2.40	2.620 0	
纯误差	0.20	5	0.04	—	—	
总和	1.44	19	—	—	—	

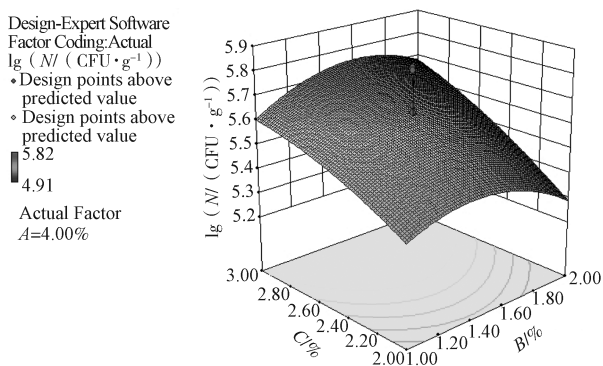
注: ** 为非常显著。

2.2.2 响应曲面分析与优化

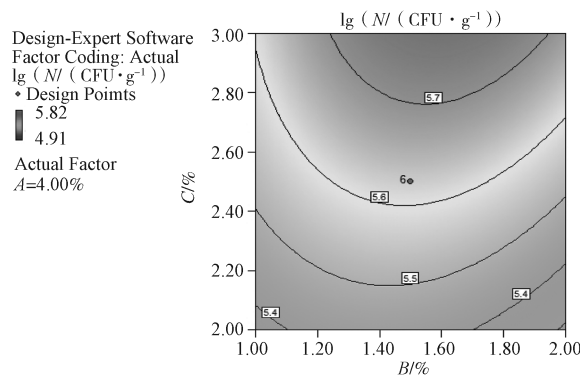
采用 Design Expert 8.0.6 软件分析, 多元回归拟

合得出 3 个因素壳聚糖、茶多酚、溶菌酶对冷鲜牛肉的菌落总数的响应面分析优化结果如图 7 所示。





e) 壳聚糖与溶菌酶交互作用响应面曲线



f) 壳聚糖与溶菌酶交互作用等高线图

图7 实验因素的交互作用对冷鲜牛肉的菌落总数的响应面曲线及等高线图

Fig. 7 Response surface curve and contour map of the interaction of experimental factors on total bacterial count of chilled beef

优化结果表明溶菌酶与壳聚糖的交互作用对菌落总数的影响最为显著, 响应面曲面较陡, 菌落总数的数值随着保鲜剂浓度的增加而发生不同程度的降低, 与方差分析结果一致; 各因素间的交互作用的强弱可通过等高线图的形状反映出来, 当交互作用较弱时, 等高线呈现为圆形; 当交互作用较强时, 等高线呈椭圆形^[33]。由图7可知, 茶多酚与溶菌酶、壳聚糖与溶菌酶的交互作用对冷鲜肉菌落总数的影响较强, 壳聚糖与茶多酚的交互作用较弱。对所建立的回归方程进行求导, 并令其一阶导数为0, 求得 $A=0.75\%$, $B=1.29\%$, $C=2.91\%$, 即3种生物保鲜剂最佳配比是质量分数为0.75%的壳聚糖、1.29%的茶多酚、2.91%溶菌酶。此时回归方程具有极大值, $\lg(N/(CFU \cdot g^{-1}))$ 为5.61, 与实验值比较接近, 说明所建立的回归方程能够很好地反映实验规律。

3 结论

研究了在实验室条件下, 利用溶菌酶、nisin、壳聚糖、茶多酚、肉桂精油5种生物保鲜剂对冷鲜牛肉进行处理, 分别在贮存的第3, 6, 9, 12, 15, 18 d对试样的菌落总数进行测定。经过测定, 在第12 d时, 保鲜剂处理过的冷鲜牛肉在常温下仍较新鲜; 到第15 d时, 出现了不同程度的变质; 到第18 d时全部腐败变质。通过单因素实验结果分析, 在室温下进行了复合保鲜剂保鲜实验, 并在第18 d测定冷鲜牛肉的菌落总数, 根据实验结果, 经保鲜剂处理过的冷鲜肉基本保持新鲜, 说明复合保鲜剂加强了单一保

鲜剂的保鲜效果, 有效地延长了冷鲜牛肉的货架期。通过回归方程和响应面分析, 得出了复合保鲜剂的最佳比例为质量分数是0.75%的壳聚糖、1.29%的茶多酚、2.91%的溶菌酶。

参考文献:

- [1] 许洋. 不同包装方式对猪肉食用及安全品质的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2012.
XU Yang. Influence of Different Packaging Methods on Pork Consumption and Safety Quality[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2012.
- [2] 史艳萍. 消费者视角下冷鲜肉销售的影响因素: 基于A公司的实证分析[J]. 商业经济研究, 2017(4): 54-56.
SHI Yanping. The Influence Factors of Cold Meat Sales From the Perspective of Consumers: An Empirical Analysis Based on A Company[J]. Business Economy Research, 2017(4): 54-56.
- [3] 张玉琴, 齐小晶, 梁敏, 等. 冷鲜肉贮藏前处理及保鲜包装技术进展[J]. 肉类研究, 2016, 30(9): 35-39.
ZHANG Yuqi, QI Xiaojing, LIANG Min, et al. Advance in Pre-Storage Treatment, Preservation and Packaging Technologies for Chilled Meat[J]. Meat Research, 2016, 30(9): 35-39.
- [4] 金鑫, 周光宏, 徐幸莲, 等. 冷却肉微生物腐败与冷链系统[J]. 食品工业科技, 2012, 33(6): 417-420.
JIN Xin, ZHOU Guanghong, XU Xinglian, et al.

- Chilled Meat Microbial Spoilage and Chill Chain System [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33 (6): 417-420.
- [5] 施建兵, 谢晶, 高志力, 等. 响应面法优化鲷鱼复合生物保鲜剂配方 [J]. 食品科学, 2014, 35(20): 37-42.
SHI Jianbing, XIE Jing, GAO Zhili, et al. Optimization of Complex Biopreservatives to Improve Quality Preservation of Pomfret Fillet by Response Surface Methodology[J]. Food Science, 2014, 35 (20): 37-42.
- [6] 王玮, 葛毅强, 王永涛, 等. 超高压处理保持猪背最长肌冷藏期间肉色稳定性 [J]. 农业工程学报, 2014, 30(10): 248-253.
WANG Wei, GE Yiqiang, WANG Yongtao, et al. High Pressure Treatment to Maintain Color Stability of Porcine *M. Longissimus Dorsi* Muscle During Refrigeration Storage[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2014, 30 (10): 248-253.
- [7] 谢晶, 侯伟锋, 朱军伟, 等. 复合生物保鲜剂在南美白对虾防黑变中的应用 [J]. 农业工程学报, 2012, 28(5): 267-272.
XIE Jing, HOU Weifeng, ZHU Junwei, et al. Application of Combined Preservative in Anti-Melanosis of *Penaeus Vannamei* Affiliation[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2012, 28 (5): 267-272.
- [8] 张杨俊娜, 张润光, 吴文晓, 等. 生物保鲜剂研究进展 [J]. 农产品加工 (学刊), 2013(4): 18-22.
ZHANG YANG Junna, ZHANG Runguang, WU Wenxiao, et al. Research Progress on Biological Preservative[J]. Academic Periodical of Farm Products Processing, 2013 (4): 18-22.
- [9] MOHAN C O, RAVISHANKAR C N, LALITHA K V, et al. Effect of Chitosan Edible Coating on the Quality of Double Filleted Indian Oil Sardine (*Sardinella Longiceps*) During Chilled Storage[J]. Food Hydrocolloids, 2012, 26(1): 167-174.
- [10] 张秀凤, 党美珠, 郝修振, 等. 天然保鲜剂在冷鲜肉保鲜中的研究进展 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2017(4上): 88-90.
ZHANG Xiufeng, DANG Meizhu, HAO Xiuzhen, et al. Research Progress of Natural Preservative in the Preservation of Cold Fresh Meat[J]. Heilongjiang Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2017 (4): 88-90.
- [11] DONG Liangliang, ZHU Junli, LI Xuepeng, et al. Effect of Tea Polyphenols on the Physical and Chemical Characteristics of Dried Seasoned Squid (*Dosidicus Gigas*) During Storage[J]. Food Control, 2013, 31(2): 586-592.
- [12] 彭乃才. 茶多酚对肉品保鲜的机理及其应用研究 [J]. 肉类工业, 2015(5): 47-50.
PENG Naicai. Study on Mechanisms of Tea Polyphenols and Its Application in Meat Preservation[J]. Meat Industry, 2015 (5): 47-50.
- [13] 孔令明, 侯伟伟, 焦彦桃. 茶多酚等生物保鲜剂结合气调包装对冷却羊肉保鲜效果的研究 [J]. 农产品加工, 2009(9): 71-73.
KONG Lingming, HOU Weiwei, JIAO Yantao. Study on the Effect of Tea Polyphenols and Other Biological Preservatives on the Fresh-Keeping of Chilled Mutton[J]. Agricultural Products Processing, 2009 (9): 71-73.
- [14] RAO M S, CHANDER R, SHARMA A. Synergistic Effect of Chit Oligosaccharides and Lysozyme for Meat Preservation[J]. LWT-Food Science Technology, 2008, 41(10): 1995-2001.
- [15] 李昊阳, 孔繁东, 刘兆芳. 不同天然保鲜剂及包装材料对牛肉品质的影响 [J]. 食品工业, 2017, 38(6): 170-174.
LI Haoyang, KONG Fandong, LIU Zhaofang. Effects of Different Natural Preservatives and Packaging Materials on the Beef Quality[J]. The Food Industry, 2017, 38 (6): 170-174.
- [16] 党晓燕, 王凯丽, 王玮, 等. 天然保鲜剂对猪肉微冻贮藏中生物胺含量的影响 [J]. 食品科学, 2017, 38(7): 253-259.
DANG Xiaoyan, WANG Kaili, WANG Wei, et al. Effect of Natural Preservatives on Inhibition of Biogenic Amine Formation during Superchilled Storage of Pork[J]. Food Science, 2017, 38 (7): 253-259.
- [17] 黄燕, 刘力. 壳聚糖保鲜研究及其在冷却肉保鲜中的应用 [J]. 动物医学进展, 2010, 31(增刊): 61-65.
HUANG Yan, LIU Li. Study on Preservation of Chitosan and Its Application in Chilled Meat Preservation[J]. Progress In Veterinary Medicine, 2010, 31(S1): 61-65.
- [18] SAGOO S, BOARS R, ROLLER S. Chitosan Inhibits Growth of Spoilage Micro-Organisms in Chilled Pork

- Products[J]. Food Microbiol, 2002, 19(2/3): 175-182.
- [19] 王振, 王英, 张欣茜, 等. 天然栅栏保鲜技术对冷鲜羊肉保鲜效果的研究[J]. 农产品加工(学刊), 2011(3): 27-30.
WANG Zhen, WANG Ying, ZHANG Xinqian, et al. Preservation of Natural Barrier on the Cold Preservation of Fresh Mutton[J]. Academic Periodical of Farm Products Processing, 2011(3): 27-30.
- [20] 杨新磊, 丁武. 茶多酚对冷却猪肉保鲜效果的研究应用[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(14): 127-129.
YANG Xinlei, DING Wu. Study on Application of Tea Polyphenols Extracts in Preservation of Chilled Pork Meat[J]. Food Research and Development, 2013, 34(14): 127-129.
- [21] 蒋建平, 陈洪, 周晓媛. 以茶多酚为主体的抗氧化剂联用对冷却肉保鲜作用的研究[J]. 株洲工学院学报, 2005, 19(1): 17-19.
JIANG Jianping, CHEN Hong, ZHOU Xiaoyuan. Study on the Extraction of Tea Polyphenols by Ion Precipitation Technology and Analyses of Preservation of Chilled Pork[J]. Journal of Zhuzhou Institute of Technology, 2005, 19(1): 17-19.
- [22] 殷文, 胡萍. 抗氧化剂在冷却牛肉保鲜中的应用[J]. 贵州农业科学, 2013, 41(1): 174-177.
YIN Wen, HU Ping. Application of Antioxidants in the Storage of Chilled Beef[J]. Guizhou Agricultural Science, 2013, 41(1): 174-177.
- [23] 孙卫青. 几种天然香辛料抑菌性能的研究[J]. 湖北农学院学报, 2004, 24(3): 207-209.
SUN Weiqing. Study on Antimicrobial Effect of Several Natural Perfumes[J]. Journal of Hubei Agricultural College, 2004, 24(3): 207-209.
- [24] 贺红军, 姜竹茂. Nisin 与香辛料提取液在五香牛肉保鲜中的应用研究[J]. 食品工业科技, 2004, 25(9): 59-61.
HE Hongjun, JIANG Zhumao. The Application of Nisin and Spice Extract in the Fresh-Keeping of Spiced Beef[J]. Science and Technology of Food Industry, 2004, 25(9): 59-61.
- [25] 中华人民共和国卫生部. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定: GB/T 4789.2—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 1-12.
The Ministry of Health of People's Republic of China. National Food Safety Standard Food Microbiological Examination: Aerobic Plate Count: GB/T 4789.2—2016[S]. Beijing: Standard Press of China, 2016: 1-12.
- [26] 郇延军, 许伟, 赵雅娟, 等. 冷鲜肉品质评价指标的探讨[J]. 食品科学, 2012, 33(21), 107-110.
HUAN Yanjun, XU Wei, ZHAO Yajuan, et al. Potential Biochemical Parameters for Quality Evaluation of Chilled Fresh Pork[J]. Food Science, 2012, 33(21), 107-110.
- [27] 崔英丽, 张慜, 刘振彬, 等. 气调包装和天然复合保鲜剂对冷却牛肉联合保鲜效果影响的研究[J]. 食品与生物技术学报, 2017, 36(4): 352-356.
CUI Yingli, ZHANG Min, LIU Zhenbin, et al. Chilled Beef Preservation with a Combination of MAP and Natural Preservatives[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2017, 36(4): 352-356.
- [28] 蔚蓝青, 谢晶. 壳聚糖复合生物保鲜剂对冷藏带鱼保鲜效果的优化配比[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2011, 40(3): 311-317.
WEI Lanqing, XIE Jing. Optimized Proportion of Chitosan Complex Biological Fresh-Keeping Agents for the Preservation of Trichiurus Haumela Under the Cold Storage[J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University(Natural Science Edition), 2011, 40(3): 311-317.
- [29] SHI Jianbing, XIE Jing, GAO Zhi li, et al. Effects of Tea Polyphenols, Lysozyme and Chitosan on Improving Preservation Quality of Pomfret Fillet[J]. Advanced Materials Research, 2013, 781: 1582-1588.
- [30] 李志西, 杜双奎. 试验优化设计与统计分析[M]. 北京: 科学出版社, 2014: 226-238.
LI Zhixi, DU Shuangkui. Experimental Optimization Design and Statistical Analysis[M]. Beijing: Science Press, 2014: 226-238.
- [31] 张泽志, 韩春亮, 李成未. 响应面法在试验设计与优化中的应用[J]. 河南教育学院学报(自然科学版), 2011, 20(4): 34-37.
ZHANG Zezhi, HAN Chunliang, LI Chengwei. Application of Response Surface Method in Experimental Design and Optimization[J]. Journal of Henan Institute of Education(Natural Science Edition), 2011, 20(4): 34-37.
- [32] 李莉, 张赛, 何强, 等. 响应面法在试验设计与优化中的应用[J]. 实验室研究与探索, 2015, 34(8): 41-45.

LI Li, ZHANG Sai, HE Qiang, et al. Application of Response Surface Methodology in Experimental Design and Optimization[J]. Research and Exploration in Laboratory, 2015, 34(8): 41-45.

[33] 王 威, 张 轲, 张亚南, 等. Box-Behnken 法对马奶啤酒发酵条件的优化及稳定性预测 [J]. 食品科技,

2017, 42(6): 99-105.

WANG Wei, ZHANG Ke, ZHANG Yanan, et al. Optimization and Stability Prediction on the Fermentation Condition of Koumiss Beer by Box-Behnken Method[J]. Food Science and Technology, 2017, 42(6): 99-105.

Experimental Study on Antibacterial Effect of Compound Biological Antistaling Agent on Chilled Beef

GONG Xue, CHANG Jiang, LI Danting, SUN Zhihui

(Light Industry College, Harbin University of Commerce, Harbin 150028, China)

Abstract: The bacteriostasis effect of biological preservative such as lysozyme, nisin, chitosan, tea polyphenols and cinnamon essential oil on chilled beef was studied. The experimental results showed that chilled beef treated with no preservatives at room temperature deteriorated on ninth day, but the chilled beef treated with preservative treatment deteriorated on fifteenth day. The regression equation was established based on response surface methodology to analyze the total colony counts of chilled beef on the eighteenth day after mixed treatment with 3 optimal preservatives obtained by single factor experiment. The antistaling agent had the optimal preservation effect with the mass fraction of 0.75% chitosan, 1.29% tea polyphenols and 2.91% lysozyme, while the maximum number of $\lg (N / (CFU \cdot g^{-1}))$ was 5.61, which was lower than the 6.00 prescribed by the state.

Keywords: biological preservative; chilled beef; bacteriostasis; response surface analysis; parameter optimization