

冷鲜猪肉的新鲜度评价研究进展

石丽敏¹, 黄 岚², 梁志宏^{1,*}

(1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083; 2. 中国农业大学信息与电气工程学院, 北京 100083)

摘 要: 围绕肉品新鲜度变化的本质因素——微生物因素进行讨论, 同时介绍冷鲜猪肉新鲜度的评价指标及检测方法, 概述国内外在肉品新鲜度检测领域的研究进展, 在此基础上探讨今后冷鲜猪肉安全分析研究的发展趋势, 提出研究冷鲜猪肉新鲜度检测方法应迫切解决的问题。

关键词: 冷鲜肉; 腐败; 微生物; 挥发性盐基氮(TVB-N)

Research Progress of Freshness Evaluation of Chilled Pork

SHI Li-min¹, HUANG Lan², LIANG Zhi-hong^{1,*}

(1. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China;

2. College of Information and Electrical Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: In this paper, our discussion is centered around the natural factor responsible for the spoilage of fresh meat products, microbial activity. The indicators and methods for evaluating the freshness of fresh chilled meat that we have found in the published literature are reviewed. Meanwhile, we present an overview of recent progress that has been made in determining meat freshness at home and abroad. Based on these efforts, we explore future trends of safety study of fresh chilled pork and put forward some problems to be solved imperatively in determining the freshness of fresh chilled pork.

Key words: chilled pork; spoilage; microbe; total volatile basic nitrogen (TVB-N)

中图分类号: TS251.51

文献标识码: A

文章编号: 1001-8123(2011)12-0040-04

冷却肉也称冷鲜肉, 是指严格执行检疫制度宰杀后的温热畜肉, 迅速经过各种方法使其温度降至 0~4℃ (此温度高于肉组织的冰点而避免冻结), 并在后续的分割加工、流通和零售过程中始终处于 0~4℃, 不超过 7℃ 的冷却链控制下的生鲜肉, 在此期间, 冷鲜肉的腐败微生物生长繁殖受到有效抑制, 且完成了僵直与成熟的生物化学变化, 使其具有安全卫生、滋味鲜美、口感细腻和营养价值较高等优点^[1]。

在冷却肉生产中, 人们希望获得感官品质好、经济价值和安全性高的鲜肉, 为此制定了许多评价肉质的指标, 冷鲜猪肉水分多、营养物质丰富, 是一种高度易腐的产品^[2], 其中新鲜度是冷鲜猪肉质量的重要指标之一, 直接影响着消费者的购买取向, 因此, 评价猪肉的新鲜度备受领域学者关注。微生物的增殖是冷鲜猪肉产生安全问题的本质因素, 微生物侵染肉品后大量繁殖, 消耗分解肉中的蛋白质、脂类和糖类等营养成分导致的, 会产生不悦风味, 品质下降并可能产毒, 对

食用者造成危害。特定腐败菌^[3]是指在致腐竞争中占优势的细菌, 特定腐败微生物在达到 10⁷CFU/g 后, 产品中 pH 值、TVB-N 值和一些生物胺类物质随之发生急速的变化, 对腐败现象的综合影响最大, 包括色泽、气味和黏性等。朱维军等^[4]证实冷鲜猪肉中常见的腐败微生物种类包括假单胞菌属(*Pseudomonas*)、肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)、乳酸菌属(*Lactobacillus*)、热杀索丝菌(*Brochothrix thermosphacta*)、李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*), 其中以假单胞菌属为优势菌^[5], 这些菌对人体都有极大危害。

目前, 国内市场常以感官性状评价肉的新鲜度, 配合一些理化检测、微生物检验、仪器分析等快速检测方法进行综合判断。电子鼻、光谱分析法、计算机视觉检测技术等新技术预测肉制品的新鲜程度的研究逐渐增多, 对实现肉品快速实时检测有很好的应用前景。应用聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)技术可以定量检测肉品中微生物, 更接近于冷鲜肉腐败变质的本质, 对未来该领域的基础研究意义重大。

收稿日期: 2011-11-24

基金项目: 国家“863”计划项目(4092025)

作者简介: 石丽敏(1986—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品工程。E-mail: shilimineleven@163.com

* 通信作者: 梁志宏(1969—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为微生物与食品安全。E-mail: hongzil@sina.com.cn



1 感官评价

1.1 感官评价的传统方法

感官评价主要是专业人员通过观察肉的表面和切面的状态、色泽、黏度、弹性和气味、组织状态、滋味等判定肉的腐败程度,该法快捷、方便、实用,其结果接近消费者的判定标准,但受主观因素影响,且对周围环境有一定要求,光线需明亮,最适温度 $15\sim 20^{\circ}\text{C}$,空气清新无挥发性物质,而且对初期变质肉,难以得出正确结论,需辅以实验室检测^[6]。张金兰等^[7]应用定量描述分析法(quick defect analysis, QDA)对冷鲜肉的色泽、纹理、气味、弹性、出水率和黏度评价来判断冷鲜肉的新鲜度, QDA 评价原理上忽略抽象性质,系统地评价普遍特性,是一种非正式的方法^[8]。

1.2 感官评价的新型方法

光谱分析技术利用猪肉腐败过程中的蛋白质变化对不同波长下可见光吸收峰不同来预测猪肉的腐败程度。猪肉的颜色主要由肌红蛋白的量和状态^[9]决定的,是肉的重要感官属性。Liao Yitao 等^[10]利用近红外光谱技术在线研究显现猪肉肌肉中脂肪、蛋白和水分含量及其剪切力来预测其品质属性。

随着基于生物嗅觉的理解和气体采样方式^[11]的电子舌、电子鼻^[3,12-13]相继出现,检测肉品产生气体的种类、浓度,定性定量地客观判断冷鲜肉的腐败程度。目前,基于视觉的计算机检测技术、多传感器信息融合检测技术^[14-16]应用于冷鲜肉的新鲜度评定只是初步的研究,可以进一步加强探讨。

这些利用仪器并结合感官特点的新型方法弥补了感官评价中主观意识判断的缺点。

2 理化评价

2.1 理化指标评价的传统方法

挥发性盐基氮(total volatile basic nitrogen, TVB-N)测定是国标规定评价理化指标的经典方法^[17],它是外界微生物侵染肉品及肉本身含有的微生物分泌酶引起的脱氨脱羧等作用使蛋白质分解形成的碱性物质,主要是含氮以及少量胺类等组分。检测 TVB-N 采用国标法即半微量凯氏定氮法,测量精确度较高,但过程繁琐,耗时长,需 $4\sim 5\text{h}$,实验人员需有一定经验,才可取得较好实验结果。目前,判别分级已被我国和世界上大多数国家作为鉴定肉和水产腐败程度的标准^[18],国外研究中则将 TVB-N 作为检测鱼类腐败的主要指标,而几乎没有出现在冷鲜肉中^[19],根据 GB/T 2707—2005《鲜(冻)肉卫生标准》方法测定鲜猪肉挥发性盐基氮指标(TVB-N 值 $\leq 15\text{mg}/100\text{g}$)来判断样品的新鲜度,新鲜度分为3个等级:新鲜肉、次鲜肉和腐败肉,该分级方法对评价

迅速发展的冷鲜猪肉品质来讲稍显滞后,肉品生产采用精细化形式,3个等级的分类法已经不能满足企业和消费者的需求。目前,已有研究证明感官评价肉品已属于次品,TVB-N 仍然反映肉处在良品状态^[20]。肖虹等^[21]检测猪肉时, 5°C 时 TVB-N 达到 $21.6129\text{mg}/100\text{g}$,细菌总数可达到 $10^5\text{CFU}/\text{g}$;李苗云等^[22]在检测冷鲜肉时,TVB-N 达到 $17\text{mg}/100\text{g}$ 左右时,菌落总数已经接近 $10^6\text{CFU}/\text{g}$,TVB-N 达到 $25\text{mg}/100\text{g}$ 时,菌落总数早已达到 $10^8\text{CFU}/\text{g}$,而国家推荐菌落总数达到 $10^6\text{CFU}/\text{g}$ 可视为腐败,这明显反映出 TVB-N 按照国家规定的参数评价肉品腐败程度的滞后性。郭培源等^[23]在猪肉腐败过程中采集了多个 TVB-N 值序列,利用自组织特征映射网络(self-organizing feature maps, SOM)对这些序列进行聚类,将猪肉新鲜度重新划分为5类:新鲜肉、中鲜肉、次鲜肉、中腐肉及腐败肉,对应的 TVB-N 值区间分别是 $[0,11.5)$ 、 $[11.5,16.8)$ 、 $[16.8,24.6)$ 、 $[24.6,32.9)$ 及 > 32.9 ,此分类方法与国标相比更加精细,实际中可考虑应用。

除此之外,常见的理化评价还有组织结构镜检法和肉清冰点判别法、pH 值测定、粗氮的测定、球蛋白沉淀实验、腺苷酸测定、K 值测定、脂肪测定、过氧化物酶的测定、硫化氢、显色反应等^[17,24-25]。

2.2 理化指标评价的新型方法

高显明^[26]利用分光光度计测定挥发性盐基氮含量,灵敏度在 $0.14\text{mg}/100\text{g}$,回收率高达97%。姚焱等^[27]采用奈斯勒试剂处理的分子筛吸收挥发性盐基氮,形成显色的同相混合体,用漫反射光谱法监测鱼、肉 TVB-N 的变化,证实鱼比肉更易腐败。文星等^[28]基于生物光子学原理及近红外稳态空间分辨光谱技术,设计了可见-短波近红外多通道光学参数检测装置,在系统校准基础上获得猪肉在新鲜度变化过程中的有效衰减系数谱,并在短波近红外范围内建立近红外光谱与 TVB-N 的相关关系,从而评价肉类腐败程度。

3 微生物评价

3.1 微生物传统检测方法评价

检测肉的新鲜度一般有两种方式,检测致腐菌的数量和致病菌存在与否。肉致腐菌的微生物检验常采用传统方法^[29]分为一般检验法、鲜肉压印片镜检,一般检验法即根据 GB 4789.2—2010《食品微生物学检验 菌落总数测定》在平板计数培养基 37°C 有氧培养 24h ,判断肉新鲜度;鲜肉压印片镜检主要检测猪肉表层和深层肌肉的球菌和杆菌的分布情况及数量,来粗略地判断肉的新鲜程度。刘玉娥等^[30]将待测标本 1mL 接种于微孔滤膜上,以真空泵负压抽滤,取下滤膜将其贴于营养琼脂平板表面, 37°C 微菌落法培养 $3\sim 5\text{h}$,沙黄染色,通过显微



摄像电脑放大系统进行计数, 比了对 36 份食品中细菌总数测得的结果最大相差为 20CFU/mL, 无显著差异。

假单胞菌属的检测根据 ISO 13720—1995《肉和肉制品假单胞菌的计数》, 聂炎炎等^[31]结合国际标准对肉和肉制品假单胞菌属进行计数, 得出冷藏猪肉的实验结果, 表层样品为 1.2×10^5 CFU/g, 深层样品小于 1×10^2 CFU/g。刘超群等^[32]以市售冷托盘冷鲜猪肉作为研究对象使用 STAA 琼脂培养基在 25℃ 条件下培养 48h 进行菌落计数, 测定热杀索丝菌的数量变化情况与感官、挥发性盐基氮和菌落总数的变化, 结果证明了冷鲜猪肉的腐败限量为 5.3161CFU/g。

冷鲜肉中的常见菌有腐败菌假单胞菌属、肠杆菌科、热杀索丝菌^[4], 在检测肉的新鲜度时多以菌落总数为典型性代表结合感官评价进行评价。

3.2 微生物新型检测方法评价

肉致病菌的检测常采用新型方法, 近几年 PCR 技术在微生物致病菌检测中得到应用。徐晓可等^[33]利用多重 PCR 的特异性准确鉴别大肠杆菌 O157:H7; 同时对 30 份猪肉样品进行了检测, 在干扰菌存在情况下, 37℃ 培养 6h 即可检测出猪肉中菌量为 1~4CFU/mL 的大肠杆菌 O157:H7。Gordillo 等^[34]利用免疫磁珠分离 DNA, 设计了多重 PCR 技术, 在 37℃ 培养 10h 即可特异性检测出鲜猪肉和即食肉产品中的大肠杆菌 O157:H57, 检测限为 10CFU/mL。Kingsford 等^[35]在铜绿假单胞菌的 16S rRNA 的可变区域选择两个寡核苷酸, 作为 PCR 引物来检测铜绿假单胞菌, 并在多种假单胞菌中进行了此种引物的特异性验证, 这些引物对 DNA 的检测敏感度是 1pg 或 1×10^5 CFU/g 且具有特异性。Pennacchia 等^[36]建立一种实时 PCR 检测方法对热死环丝菌进行中特异性检测, 采用含有不同浓度的热杀索丝菌的肉汤培养物, 肉提取物和肉类样品建立 3 种不同的标准曲线, 这些肉样选用更接近于实际情况的人工污染的本, 标准曲线的范围在 2.2×10^2 CFU/g 到 2.2×10^7 CFU/g, 同时采用枚举法列举热杀索丝菌在 20 个新鲜肉品和腐败肉品中的结果来评估实时 PCR 检测技术, 引物的设计基于热死环丝菌的 16S rRNA 基因序列, 其特异性可通过从与肉相关的细菌种属菌株提取 DNA 来验证。McGuinness 等^[37]建立了快速实时检测鲜肉中沙门氏菌的方法, 可在 26h 检测完成, 检出限为 1~10CFU/cm², PCR 方法检测肉中的大肠杆菌沙门氏菌等快速准确灵敏, 可进行大量抽样检测。Tyagi 等^[38]建立了一种快速、灵敏和高效检测贝类肉中副溶血性弧菌的实时 PCR 检测方法, 最低检测限为 10CFU/mL。大多数应用于肉中的 PCR 技术检测肉中的食源性病原菌^[39-42], 应用于检测细菌总数判断肉的腐败状况的还甚少, Dolan 等^[43]利用传统法和实时定量 PCR 法来定量牛肉、鸡、猪肉的细菌总数, 在检测牛肉、鸡肉和猪

肉时, 平板计数法和实时定量 PCR 相关性分别达 0.83、0.32 和 0.55。

除此之外, 王伟等^[44]基于高光成像技术结合最小二乘支持向量机建模预测菌落总数, 与标准平板菌落计数法对比, 决定系数分别为 0.9872 和 0.9426。罗金平等^[45]研制的便携生物荧光传感器, 通过检测生物中 ATP 含量间接预测细菌总数。

传统微生物检测方法操作繁琐, 测量周期长在实际应用中有局限性; PCR 技术对微生物的检测已有较快的发展, 但在检测冷鲜猪肉腐败方面的研究尚少, 需进一步探讨; 网络技术与显像技术结合预测菌落总数的研究也渐渐起步。

4 结 语

微生物是肉品腐败的主要原因, 微生物大量繁殖消耗降解肉中的蛋白质、脂类和糖类等大分子物质, 产生各种挥发性物质甚至有毒物质, 并可能引起食物中毒, 但检测微生物的方法繁琐, 难以完成现场快速检测, 目前利用显像技术和神经网络技术预测菌落总数的研究也初见端倪, 分子检测研究现阶段多为检测猪肉中的致病菌存在与否, 在细菌总数检测直接判断猪肉新鲜度的研究非常之少见。理化评价普遍被大家接受, 能直观揭示微生物致使肉品腐败的本质, 目前最普遍的方式就是将理化检测与感官评价结合起来判断肉品新鲜度。

尽管电子鼻、光谱法、计算机视觉技术和多传感器信息融合技术的研究也有较快发展, 并可快速检测肉品腐败, 但肉品本身品质及储存条件等不尽相同, 这些方法很难将所有因素考虑周全, 应用于实践还需要更进一步的探究。

参考文献:

- [1] 张振江, 方海田, 刘慧燕. 冷却肉肌肉保水性及其影响因素[J]. 肉类研究, 2008, 22(12): 15-19.
- [2] JIANG Yun, GAO Feng, XU Xinglian, et al. Changes in the bacterial communities of vacuum-packaged pork during chilled storage analyzed by PCR-DGGE[J]. Meat Science, 2010, 86(4): 889-895.
- [3] ROGERS E K, D'COSTA E J, SOLLARS J E, et al. Measurement of meat freshness *in situ* with a biosensor array[J]. Food Control, 1993, 4 (3): 149-154.
- [4] 朱维军, 焦镭, 石明生, 等. 冷鲜肉中常见腐败细菌的分离与鉴定[J]. 中国农学通报, 2009, 25(18): 99-101.
- [5] 马俪珍, 南庆贤, 戴瑞彤. 冷却猪肉腐败菌的分离、初步鉴定与初始菌相分析[D]. 北京: 中国农业大学, 2005.
- [6] 吴定. 肉新鲜度检测指标评价[J]. 肉品卫生, 1994(8): 23.
- [7] 张金兰. 戊糖乳杆菌素 31-1 的纯化鉴定及对托盘包装冷却肉的防腐保鲜效果研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2009.
- [8] HOWDEN W E, WIEAND B. QDA: a method for systematic informal program analysis[J]. Software Engineering, 1994, 20(6): 445-462.
- [9] 彭彦昆, 张雷蕾. 光谱技术在生鲜肉品质安全快速检测的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2010, 27(2): 62-66.



- [10] LIAO Yitao, FAN Yuxia, CHENG Fang. On-line prediction of fresh pork quality using visible/near-infrared reflectance spectroscopy[J]. Meat Science, 2010, 86(4): 901-907.
- [11] DOLEMAN B J, LEWIS N S. Comparison of odor detection thresholds and odor discriminabilities of a conducting polymer composite electronic nose versus mammalian olfaction[J]. Sensors and Actuator B: Chemical, 2001, 72(1): 41-50.
- [12] 柴春祥, 杜利农, 范建. 电子鼻检测猪肉新鲜度的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(9): 444-447.
- [13] 孙钟雷. 电子鼻技术在猪肉新鲜度识别中的应用[J]. 肉类研究, 2008, 22(2): 50-53.
- [14] 吴浩, 郭培源, 毕松, 等. 基于 Matlab 的神经网络猪肉新鲜度测定与研究[J]. 农机化研究, 2010, 32(8): 113-116.
- [15] 于瑞雪, 郭培源. 基于光电显微技术的猪肉新鲜度智能检测[J]. 北京工商大学学报, 2007, 25(4): 34-38.
- [16] 曲世海, 郭培源. 基于多信息处理的肉类新鲜度检测方法研究[J]. 北京工商大学学报, 2006, 24(5): 21-36.
- [17] 黄丽娟, 韩剑众. 生肉新鲜度评定方法研究进展[J]. 肉类研究, 2007, 21(6): 37-39.
- [18] 何定芬, 乐建盛. 不同贮藏温度对中国对虾鲜度的影响[J]. 食品与发酵工程, 2005, 31(8): 122-124.
- [19] CASTRO P, PENEDO J C, CANSINO M J, et al. Total volatile base nitrogen and its use to assess freshness in European sea bass stored in ice [J]. Food Control, 2006, 17(4): 245-248.
- [20] 石飞云, 杨佳, 李斐斐. 肉品质变化过程中感官、理化性质及菌落总数的变化及相互关系[J]. 食品科技, 2009, 34(9): 135-137.
- [21] 肖虹, 谢晶. 冷却肉品质变化动力学模型的实验研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(1): 361-363; 393.
- [22] 李苗云, 张秋会, 高晓平, 等. 冷却猪肉贮藏过程中腐败品质指标的关系研究[J]. 食品与发酵工程, 2008, 34(7): 168-171.
- [23] 郭培源, 毕松. 基于神经网络的猪肉新鲜度检测分级系统[J]. 农机化研究, 2010, 32(6): 109-113.
- [24] 耿爱琴, 郑国锋. 浅谈肉类新鲜度的检测方法[J]. 肉类工业, 2006(12): 37-39.
- [25] 侯瑞峰, 黄岚, 王忠义. 肉品新鲜度检测方法[J]. 现代科学仪器, 2005 (5): 76-79.
- [26] 高显明. 用分光光度法测定挥发性盐基氮[J]. 肉品卫生, 1992(8): 3-5.
- [27] 姚焱, 张平, 陈永亨, 等. 挥发性盐基氮的光谱分析方法[J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29(8): 2196-2198.
- [28] 文星, 梁志宏, 张根伟, 等. 基于稳态空间分辨光谱的猪肉新鲜度检测方法[J]. 农业工程学报, 2010, 26(9): 334-338.
- [29] 黄蓉, 刘敦华. 猪肉新鲜度评价指标、存在问题及应对措施[J]. 肉类工业, 2010(6): 43-46.
- [30] 刘玉娥, 高桂华, 陶墨奎, 等. 微生物法快速定量检测食品中细菌总数[J]. 解放军预防医学杂志, 2007, 25(6): 406-408.
- [31] 聂炎炎, 刘冬虹, 黄宇峰, 等. 肉和肉制品中假单胞菌的检验和计数[J]. 现代食品科技, 2008, 24(2): 184-187.
- [32] 刘超群, 陈艳丽, 王宏勋, 等. 冷鲜猪肉中热杀索丝菌生长预测模型的建立与验证[J]. 食品科学, 2010, 31(18): 86-88.
- [33] 徐晓可, 吴清平, 周艳红, 等. 肉类中大肠杆菌 O157:H7 多重 PCR 检测方法的建立[J]. 微生物学通报, 2008, 35(4): 619-622.
- [34] GORDILLO R, CORDOBA J J, ANDRADE M J, et al. Development of PCR assays for detection of *Escherichia coli* O157:H7 in meat products [J]. Meat Science, 2011, 88(4): 767-773.
- [35] KINGSFORD N M, RAADSMA H W. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* from ovine fleece washings by PCR amplification of 16S ribosomal RNA[J]. Veterinary Microbiology, 1995, 47(1/2): 61-70.
- [36] PENNACCHIA C, ERCOLINI D, VILLANI F. Development of a real-time PCR assay for the specific detection of *Brochothrix thermosphacta* in fresh and spoiled raw meat[J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 134(9): 230-236.
- [37] McGUINNESS S, McCABE E, O' REGAN E, et al. Development and validation of a rapid real-time PCR based method for the specific detection of *Salmonella* on fresh meat[J]. Meat Science, 2009, 83(3): 555-562.
- [38] TYAGI A, SARAVANAN V, KARUNASAGAR I, et al. Detection of *Vibrio parahaemolyticus* in tropical shellfish by SYBR green real-time PCR and evaluation of three enrichment media[J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 129(2): 124-130.
- [39] 史云, 李业鹏, 计融. 肉及肉制品中肠致病性大肠杆菌两重 PCR 检测方法的建立[J]. 卫生研究, 2005, 34(3): 309-311.
- [40] PERELLE S, DILASSER F, MALOMY B, et al. Comparison of PCR-ELISA and LightCycler real-time PCR assays for detecting *Salmonella* spp. in milk and meat samples[J]. Molecular and Cellular Probes, 2004, 18(6): 409-420.
- [41] 刘胜贵, 魏麟. 应用 PCR 技术检测猪肉中沙门氏菌的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(3): 254-256.
- [42] 刘景武, 张伟, 何俊萍, 等. FTA 滤膜用于 PCR 检测肉中的金黄色葡萄球菌[J]. 生物工程, 2005, 21(6): 1009-1013.
- [43] DOLAN A, BURGESS C M, FANNING S, et al. Application of quantitative reverse-transcription PCR (qRT-PCR) for the determination of the total viable count (TVC) on meat samples[J]. Journal of Applied Microbiology, 2010, 109(1): 91-98.
- [44] 王伟, 彭彦昆, 张晓莉. 基于高光谱成像的生鲜猪肉细菌总数预测建模方法研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2010, 30(2): 411-415.
- [45] 罗金平, 田青, 岳伟伟, 等. 快速检测细菌总数的便携式生物荧光传感器[J]. 分析化学仪器装置与实验技术, 2009, 37(2): 306-310.