基于特定致腐菌的调理肉饼货架期预测模型构建

闫玉雯，崔跃慧，朱迎春

（山西农业大学食品科学与工程，山西太谷 030801）

摘要：为建立调理肉饼中特定致腐菌的货架期预测模型。将特定致腐菌乳酸菌接种于经臭氧减菌化处理的调理肉饼中，真空包装后分别于-1 ℃、4 ℃、10 ℃、15 ℃和 22 ℃条件下(温度波动为±1 ℃)贮藏，在贮藏期间(0~11 d)测定调理肉饼挥发性盐基氮值、pH 值、硫代巴比妥酸值及菌落总数等指标，并进行感官评价，利用修正的 Gompertz 方程和平方根模型(Bělehrádek)，建立以特定致腐菌乳酸菌为关键品质因子的调理肉饼微生物货架期模型。结果表明：修正的 Gompertz 方程能较好地拟合不同贮藏温度下微生物的生长曲线，应用平方根模型(Bělehrádek)描述温度对最大比生长速率(μ_{max})和迟滞期(Lag)的影响，均表现出良好的线性关系(R^2 分别为 0.98 和 0.83)。调理肉饼在-1 ℃、4 ℃、10 ℃、15 ℃和 22 ℃下乳酸菌货架期最小腐败量对数平均值为(6.94±0.21) lg(cfu/g)，平均最大菌数对数值为(8.65±0.16) lg(cfu/g)，得到了在-1 ℃~22 ℃贮藏温度下调理肉饼的货架期预测模型。预测模型通过 10 ℃和 15 ℃贮藏温度下的货架期实测值来进行验证，相对误差均小于 10%，表明基于平方根方程建立的模型可以有效地预测调理肉饼在-1 ℃~22 ℃贮藏温度条件下的特定致腐菌乳酸菌的货架期。

关键词：调理肉饼；特定致腐菌；货架期；预测模型

文章篇号：1673-9078(2020)01-127-135 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.1.018

A Predictive Shelf-life Model for Pork Patties Affected by Specific Spoilage Bacteria

YAN Yu-wen, CUI Yue-hui, ZHU Ying-chun

(College of Food Science and Engineering, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China)

Abstract: The predictive shelf life model for pork patties affected by specific spoilage bacteria (SSB) was established. The SSB were inoculated into the ozone-treated pork patties, vacuum packaged and stored at -1, 4, 10, 15 and 22 ℃ (temperature fluctuation ±1 ℃). The total volatile base nitrogen (TVB-N), pH and thiobarbituric acid resctive subastances (TBARS) values, the total viable count (TVC), and the sensory scores of the patties were determined during the storage period (0~11 d). Using the modified Gompertz equation and square root model (Bělehrádek), a microbial shelf life model of the patties with SSB as the key quality factors was established. The results showed that the modified Gompertz equation seemed to fit better the growth curves of SSB under different storage temperatures, while the square root model (Bělehrádek) described the effects of temperature on the maximum specific growth rate (μ_{max}) and the lag phase (Lag). Both of which showed good linearity (R^2 as 0.98 and 0.83, respectively). The average logarithmic value of minimum SSB for the pork patties stored at -1, 4, 10, 15 or 22 ℃ was (6.94±0.21) lg (cfu/g), and the average value of lgN_{max} was (8.65±0.16) lg(cfu/g). Accordingly, the model for patties stored at -1 ℃~22 ℃ was established. The prediction model was validated based on the measured shelf life at 10℃ and 15℃, and the relative error was less than 10%, indicating that the model based on the square root equation was effective for predicting the shelf-life of SSB in pork patties stored at -1 ℃~22 ℃.

Key words: porcine patties; specific spoilage bacteria; shelf-life; prediction model

近年来，随着人们生活水平的提高，调理肉制品因食用便捷、营养卫生、肉嫩味美的优点受到消费者的欢迎。若在贮藏过程当中温度控制不得当，易发生腐败变质，导致货架期缩短[1]。而预报食品微生物学可以通过微生物生长特性来研究食品货架期，保证食品安全性[2]。所以，无需传统的微生物培养，如何快速有效地预测调理肉制品的货架期成为贮藏领域的热点之一。

微生物生长动力学模型主要包括一级模型、二级

收稿日期：2019-07-17

基金项目：山西省重点研发计划项目（201703D221027-2）；山西省自然科学基金项目（201701D121104）

作者简介：闫玉雯（1994-），女，硕士研究生，研究方向：肉制品贮藏与加工

通讯作者：朱迎春（1970-），女，博士，教授，研究方向：肉制品品质与安全

模型和三级模型。一级模型研究的是在一定的条件下微生物的数量随时间变化的函数关系[3]。从一级模型中可以得到微生物的延滞期、增值速率和最大增值密度值等。常用的一级模型包括修正的 Gompertz 模型、Monod 模型和 Logistic 模型等。二级模型描述了初级模型的参数与环境因子（如 pH 值、温度和 Aw 等）变化之间的关系，其中，温度是影响微生物生长最重要的因素之一[4]。常用的二级模型有平方根模型、Arrhenius 模型和响应面模型等[5]。三级模型是计算机程序，可以计算条件变化与微生物反应的对应关系，比较不同条件的影响或对比一些微生物的行为[6]。常见的微生物生长三级模型有 Growth Predictor 模型、PMP 模型等。

肉制品中存在各种各样的微生物，来源复杂并多样化，但肉制品腐败主要是特定致腐菌活动的结果[7]。肉制品中常见的致腐菌有乳酸菌、假单胞菌、热死环丝菌和肠杆菌[8]等。特定致腐菌的动态变化与肉制品品质变化及货架期具有良好的相关性[9]。从微生物的角度研究肉制品品质及货架期变化，建立一种或几种与品质相关性高的微生物动态生长模型，对于简化试验和提升肉制制品品质具有重要意义[10]。

研究人员利用不同的模型对新鲜及加工食品的质量变化进行了一些研究，董庆利等[11]人采用修正的 Gompertz 方程和平方根模型建立了冷却猪肉在 0~20 ℃贮藏温度下特定致腐菌气单胞菌的货架期预测模型。许钟等[12]人建立了 0~15 ℃罗非鱼特定致腐菌假单胞菌货架期预测模型。张丽平等[13]利用 Arrhenius 方程建立了动力学模型，以预测板鸭在 20~30 ℃贮藏过程中的品质变化和货架期，但鲜有报道低温贮藏调理肉饼的货架期预测模型。经前期实验，确定调理肉饼中的特定致腐菌为乳酸菌。将乳酸菌接种于经减菌化处理的调理肉饼中，真空包装分别于 -1 ℃、4 ℃、10 ℃、15 ℃和 22 ℃条件下贮藏，在不同贮藏天数下测定样品挥发性盐基氮值（Total volatile base-nitrogen，TVB-N）、pH 值、硫代巴比妥酸（Thiobarbituric acid resctive subastances，TBARS）值及菌落总数（The total viable count，TVC）等指标，并进行感官评分，利用修正的 Gompertz 方程，建立以乳酸菌为关键品质因子的调理肉饼货架期动力学模型，进而构建-1 ℃~22 ℃温度范围内调理肉饼特定致腐菌货架期预测模型，为建立贮藏期间调理肉饼品质变化和货架期的预测评估提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

猪肉：宰后经过排酸处理的猪背最长肌和猪背脂肪，购于山西农业大学双汇专卖店；

乳酸菌由真空包装冰温贮藏调理肉饼腐败终点中分离纯化得到的乳酸杆菌(*Lactobacillus sakei strain*，*M3*)，由山西农业大学畜产实验室提供。

营养琼脂、MRS 培养基购自青岛海博生物技术有限公司；氯化钠、硼酸、氧化镁、HCl、乙醇均为分析纯，购自天津市天力化学试剂有限公司；甲基红、溴甲酚绿、BHA、EDTA、2-硫代巴比妥酸均购自国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

Autoclave SS-325 型灭菌锅，日本 Tomy 有限公司；SW-CJ-IC 型净化工作台，上海跃进医疗器械厂；SPX-250B-Ⅱ型生化培养箱，上海跃进医疗器械厂；WAECO CF50 型冰箱，美国电子(深圳)有限公司；pHS-3C 精密型 pH 计，上海三信仪表厂；WFJ7200 型可见分光光度计，龙尼科(上海)仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 乳酸菌活化及菌悬液制备

于前期试验对冰温贮藏终点调理肉饼微生物进行分离、纯化、鉴定获得特定致腐菌。将不同的特定致腐菌接种于调理肉饼，通过分析在冰温贮藏过程中调理肉饼的感官品质、理化指标、微生物以及生物胺的分析，并以产量因子（$Y_{TVB\text{-}N/cfu}$）定量描述调理肉饼特定致腐菌的腐败能力，判断出乳酸菌在对调理肉饼腐败变质影响最大，腐败能力最强，所以判定乳酸菌为优势致腐菌。将乳酸菌于 MRS 培养基平板划线培养，37 ℃培养 24 h，活化 3 次，之后取菌苔接种于 300 mL MRS 液体培养基中培养 12 h~18 h，使菌液浓度达到 10^8 cfu/mL，经适当稀释后用于接种[14]。

1.3.2 调理肉饼减菌化处理、接种与贮藏

取宰后经过排酸处理的猪背最长肌和猪背部脂肪（肥瘦比 2:8），分别绞碎（绞碎机筛板 3 mm），以肉重为基准按比例加入 1.8%食盐，10%鸡蛋，1%白糖，4%料酒，1%大豆蛋白粉，10%玉米淀粉，1.2%香油，2.0%食醋，0.3%鸡精，0.3%白胡椒粉，0.1%五香粉，0.4%葱，0.1%生姜粉，0.1%蒜香粉，充分搅拌均匀，4 ℃条件下腌制 1 h。制成直径为 4 cm，高度为 1 cm，重量为 50 g 左右的调理肉饼，至于 60 cm×30 cm×40 cm 密封泡沫箱内，通入 40 mg/mL 的臭氧 10 min 进行

减菌化处理，经培养计数，减菌化处理后调理肉饼的菌落总数小于 3 lg（cfu/g）。将稀释后的菌悬液（*Lactobacillus sakei strain*，*M3*）接种肉饼，使接种后肉样初始接种量为 10^5 cfu/g，接种后于无菌密封袋中，分别置于-1 ℃、4 ℃、10 ℃、15 ℃和 22 ℃下贮藏（温度波动为±1 ℃）。

1.3.3 指标测定

1.3.3.1 感官评价

表 1 感官评价

Table 1 Sensory evaluation

分值	色泽	气味	粘度
15~10	表面有光泽，色泽均匀	无异味	表面微湿润，不粘手
9~5	缺乏光泽，肥肉呈微黄色	稍有酸味	外表湿润，微粘手，切面有渗出液，不粘手
4~0	表面无光泽，肥肉呈黄色	有明显臭味	表面有大量渗出液，粘手

1.3.3.2 菌落计数

参照 GB/T 4789.2-2016《食品卫生微生物学检验：菌落总数测定》[15]规定的方法进行平板计数。

1.3.3.3 挥发性盐基氮(total volatile bases，TVB-N)的测定

采用 GB/T 5009.44-2003《肉与肉制品卫生标准的分析方法》中半微量定氮法测定[16]。

1.3.3.4 TBARS 值的测定

TBARS 值的测定参考 Liza John[17]的方法：准确称取 5 g 肉样放入离心管中，加入 15 mL 储备液（含 7.5% TCA、0.1% BHA 和 0.1% EDTA），然后匀浆 30 s，用 7 cm 定性滤纸进行过滤吸取 2.5 mL 滤液与 2.5 mL 0.02 mol/L 的 2-硫代巴比妥酸（TBA）混合，将反应溶液在沸水浴中加热 40 min 后，用自来水迅速冷却至室温，然后加入 5 mL 氯仿($CHCl_3$)，将混合物在 8000 g 下离心 10 min，吸取上清液在 532 nm 处测定其吸光度。

计算公式如下：

$$TBARS(\text{mg/kg}) = \frac{A \times V \times M}{\varepsilon \times 1 \times \text{m}}$$

式中：*A*：吸光度；*V*：样品体积，mL；*M*：丙二醛分子量，72.063；Ɛ：摩尔吸光度数，156000；1：光程，1 cm；M：肉样质量（g）。

1.3.3.5 pH 值测定

pH 值参照 GB 5009.237-2016《食品 pH 的测定》规定的方法进行测定。

1.3.4 特定致腐菌生长动力学模型的建立

用修正的 Gompertz 方程描述不同贮藏温度条件下调理肉饼中特定致腐菌的生长曲线。修正的 Gompertz 方程表达式为：

$$\lg N_t = \lg N_0 + \lg(\frac{N_{\max}}{N_0}) \times \exp\{-\exp[\frac{2.718\mu_{\max}}{\lg\frac{N_{\max}}{N_0}}) \times (Lag - t) + 1]\} \quad (1)$$

式中：t 是时间/h；$\lg N_t$ 是微生物在时间 t 时的对数值 lg(cfu/g)；$\lg N_0$ 是 t=0 时的初始微生物对数值 lg(cfu/g)；$N_{\max}$ 是增加到稳定期时最大的微生物数量对数值 lg(cfu/g)；Lag 是微生物生长迟滞期 h；μ_{max} 是微生物生长的最大比生长速率/h^{-1}。

平方根模型的表达式为：

$$\sqrt{\frac{1}{Lag}} = b_{Lag} \times (T - T_{\min L}) \quad (2)$$

$$\sqrt{\mu_{\max}} = b_{\mu} \times (T - T_{\min \mu}) \quad (3)$$

式中：T 是培养温度/℃；T_{min} 是一个假设概念，描述的是微生物无代谢活动时的温度，在此温度下的最大比生长速率为零；b 是方程的常数。

1.3.5 货架期预测模型可靠性评价

将贮藏在 10 ℃和 15 ℃下的调理肉饼所获得的货架期与预测模型预测的货架期进行比较，并且通过相对误差值评估预测模型的可靠性。

1.3.6 数据统计与结果分析

试验均重复 3 次，结果用平均值±标准差表示。数据统计分析采用 Excel 软件，绘图采用 Sigmaplot 10.0 绘图软件。应用 Origin 8.0 分析软件中的 Levenberg-Marquardt 进行非线性拟合。

2 结果与分析

2.1 调理肉饼在贮藏期间的感官评分

感官评价是判断调理肉饼新鲜程度最直观的方式，感官评定主要以气味、颜色、黏度、弹性作为评价依据。图 1 为调理肉饼在不同贮藏温度下的感官评分。由图 1 可知，随着贮藏时间的延长，接种特定致腐菌的调理肉饼品质逐渐下降，感官可接受性降低。微生物降解游离氨基酸产生胺、硫化物、有机酸、醛类、酮类、脂类等物质，产生腐败气味，色泽变暗，肉饼表面产生渗出液，使得产品达到感官不可接受状态[18]。贮藏温度不同，感官评分下降的趋势程度不同。贮藏温度越高，调理肉饼腐败越快，感官评分下降的

越快，达到感官可接受终点的时间就越短。-1 ℃、4 ℃、10 ℃、15 ℃和 22 ℃分别在 264 h、216 h、168 h、120 h、96 h 达到感官拒绝点，即达到货架期终点。此时不同温度下感官分数值集中在 5~6，调理肉饼的菌落总数达到稳定期。

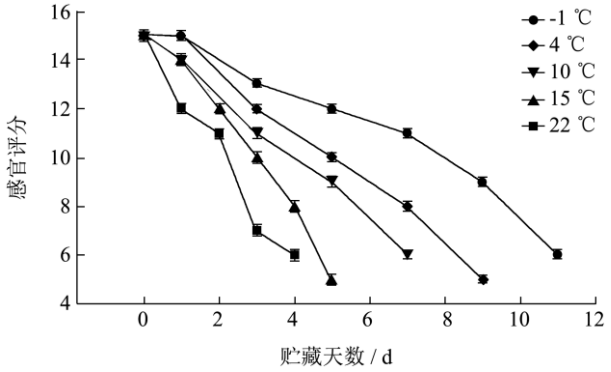


图 1 不同贮藏温度下调理肉饼的感官评分

Fig.1 Sensory scores of porcine patties at different storage temperatures

2.2 调理肉饼在贮藏期间 TVB-N 值变化

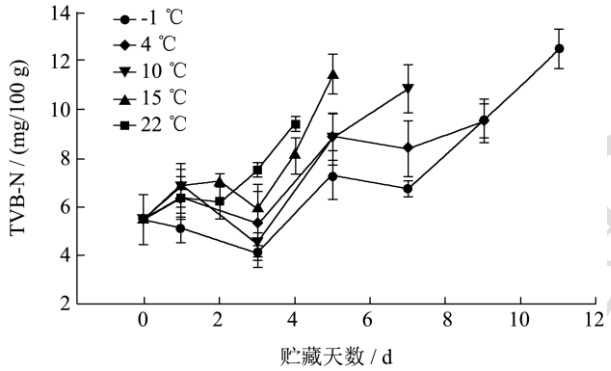


图 2 不同贮藏温度下调理肉饼 TVB-N 值的变化

Fig.2 Changes in TVB-N value of porcine patties at different storage temperatures

挥发性盐基氮值（TVB-N）是肉类的常用鲜度指标，是在酶和微生物的作用下，蛋白质分解产生的氨(NH_3)和胺类(RCH_2NH_2)等碱性含氮物质与在腐败过程中同时分解产生的有机酸结合而成的盐基态氮(NH_4^+或 $RCH_2NH_3^+$)的总称[19]。从图 2 可以看出，-1 ℃时 TVB-N 总体呈现先降低后增加的趋势，其余各组 TVB-N 总体呈现先增加后降低再增加的趋势，在第 2 d 或 3 d 时 TVB-N 值最低。不同温度贮藏下的调理肉饼 TVB-N 值增长的速度不同，温度越高 TVB-N 增加速度越快，原因可能为低温抑制了微生物的繁殖和酶的活性，从而抑制了微生物对蛋白质的降解和腐败作用[20]。根据国家对冷鲜肉制品的卫生要求（GB/T 9959.2-2008），TVB-N 值在 15 mg/100 g 范围之内视为新鲜。在感官评定终点时调理肉饼在-1 ℃、4 ℃、10 ℃、15 ℃、22 ℃条件下 TVB-N 值分别为 12.53 mg/100 g、9.53 mg/100 g、10.87 mg/100 g、11.03 mg/100 g、9.27 mg/100 g，均未超过国标规定的范围，原因可能为本实验采用感官评价的方法来判断货架期终点，而感官指标与 TVB-N 值之间存在一定的差异，感官指标先于 TVB-N 值到达货架期终点[21]。

2.3 调理肉饼在贮藏期间 TBARS 值变化

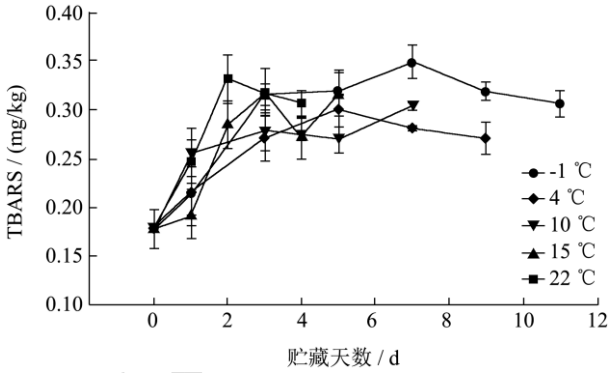


图 3 不同贮藏温度下调理肉饼 TBARS 值的变化

Fig.3 Changes in TBARS value of porcine patties at different storage temperatures

在食品贮藏过程中，由于酶水解及自动氧化等作用会导致脂肪氧化，产生醛、酮等异味物质，其中丙二醛可以与硫代巴比妥酸（TBARS）结合形成红色复合物，因此，TBARS 值可以用来反应食品体系脂肪氧化程度[22]。图 3 为在不同贮藏温度下调理肉饼 TBARS 值的变化。由图 3 可知，调理肉饼在贮藏期间 TBARS 值的范围在 0.17 mg/kg~0.32 mg/kg 之间，且总体呈上升趋势，这是由于在贮藏过程中脂质的氧化速度加快，使 TBARS 值上升。张建友等[23]研究发现，酱鸭在不同温度贮藏期间 TBARS 值呈上升的趋势，这与本研究结果一致。贮藏初期调理肉饼的 TBARS 值为 0.177 mg/kg，在贮藏终点时调理肉饼在-1 ℃、4 ℃、10 ℃、15 ℃、22 ℃条件下 TBARS 值分别为 0.31 mg/kg、0.27 mg/kg、0.31 mg/kg、0.32 mg/kg、0.31 mg/kg。

2.4 调理肉饼在贮藏期间 pH 值变化

图 4 为不同贮藏温度下调理肉饼 pH 值的变化曲线。由图 4 可知，除-1 ℃外，4 ℃、10 ℃、15 ℃和 22 ℃贮藏温度下 pH 值总体呈下降趋势。-1 ℃冰温贮藏条件下，调理肉饼 pH 值维持在 5.90~6.50 之间，而其他温度下 pH 下降明显，分析原因为-1 ℃下乳酸菌生长受到了抑制，而在其他贮藏温度条件下乳酸菌的生长不受抑制，大量生长繁殖产酸，使调理肉饼的 pH 降低。-1 ℃下调理肉饼贮藏第 7 d 呈上升趋势，可能是在调理肉饼贮藏后期，蛋白质在细菌酶的作用下分

解为氨和胺类碱性物质，使 pH 值逐渐升高[24]。肉饼可接受的 pH 值范围为 5.6~6.4[25]，从图中可知，在-1、4、10 ℃贮藏温度下在第 5 d 超出新鲜肉饼范围，在 15、22 ℃贮藏温度下第 2 d 超出该范围。

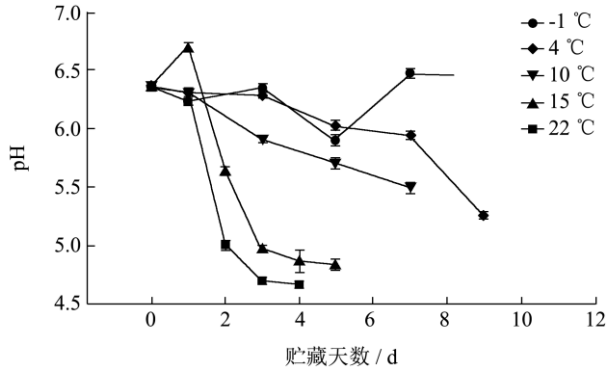


图 4 不同贮藏温度下调理肉饼 pH 值的变化

Fig.4 Changes in pH value of porcine patties at different storage temperatures

2.5 调理肉饼在贮藏期间 TVC 值变化

微生物是导致多数肉制品腐败变质的主要因素，微生物大多不耐低温，对调理肉饼进行低温保存能抑制大多数微生物的生长繁殖，但是嗜冷菌仍然具有活性，而嗜冷菌中的致病菌和腐败菌仍会影响调理肉饼的食用安全和品质。从图 5 可以看出，接种特定腐败菌后不同贮藏温度下微生物的延滞期较短，后进入对数期。在-1 ℃贮藏条件下，调理肉饼菌落总数增加较为缓慢，其原因可能为低温抑制了微生物的生长。此外-1 ℃、4 ℃、10 ℃、15 ℃和 22 ℃贮藏条件下微生物分别在 216 h、168 h、144 h、96 h 和 72 h 达到稳定期，由此可见温度对微生物的生长有明显的影响。

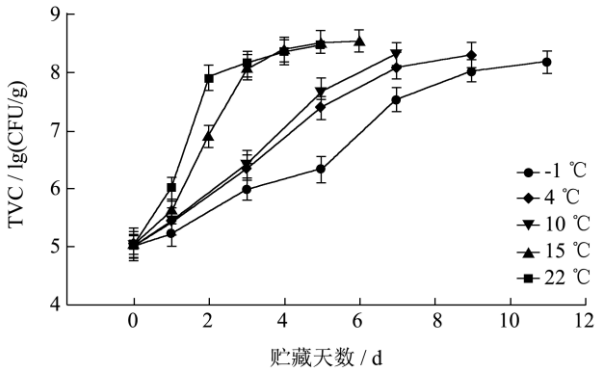


图 5 不同贮藏温度下调理肉饼中 TVC 的变化

Fig.5 Changes in TVC of porcine patties at different storage temperatures

2.6 调理肉饼贮藏期间货架期模型的建立

2.6.1 接种猪肉饼特定致腐菌最小腐败水平的确定

由图 1~图 5 可知接种特定致腐菌猪肉饼在-1 ℃、4 ℃、10 ℃、15 ℃和 22 ℃的感官货架期分别为 264 h、216 h、168 h、120 h、96 h，特定腐败菌最小腐败量(lgN_S)的对数平均值(lgN)为(6.94±0.21) cfu/g，TVB-N 平均值为(9.08±0.96) mg/100 g，pH 平均值为 5.36±0.04，TBARS 平均值为(0.30±0.004) mg/kg。

2.6.2 微生物生长模型货架期预测模型的建立

采用修正的 Gompertz 方程对-1 ℃、4 ℃、10 ℃、15 ℃和 22 ℃贮藏温度下特定致腐菌生长曲线进行描述，得到不同贮藏温度下调理肉饼中特定致腐菌乳酸菌的生长动力学参数，见表 2。

表 2 不同贮藏温度下 TVC 在调理肉饼上的动力学相关参数

Table 2 Kinetic parameters of TVC on porcine patties at different storage temperatures

贮藏温度/℃	Lag/h	μ_{max}/h^{-1}	lgN_{max}/lg(cfu/g)	lgN_0/lg(cfu/g)	R^2
-1	22.16	0.017	8.81	4.95	0.967
4	19.78	0.064	8.75	4.99	0.994
10	18.51	0.062	8.94	5.05	0.991
15	16.91	0.064	8.61	5.02	0.996
22	14.55	0.107	8.36	5.01	0.993

由表 2 可知，通过修正的 Gompertz 方程可以得到的相关参数为延滞期(Lag)、最大比生长速率(μ_{max})、初始微生物对数值(lgN_0)和稳定期时最大的微生物数量对数值(N_{max})。不同贮藏温度下的 R^2 值均大于 0.96，表明修正的 Gompertz 方程能较好的预测-1 ℃~22 ℃特定致腐菌乳酸菌在调理肉饼中的生长动态，得出平均最大微生物对数值为(8.65±0.16) lg(cfu/g)。

修正的 Gompertz 方程为微生物生长动力学模型，因此，采用平方根模型（Bělehrádek 方程）描述温度对延滞期(Lag)和最大比生长速率(μ_{max})的影响。得出 4、5 公式如下，均表现出良好的线性关系（R^2 分别为 0.98 和 0.83）：

$$\sqrt{\mu_{max}} = 0.002(T + 107.6) \quad (4)$$

$$\sqrt{\frac{1}{Lag}} = 0.0071(T + 24.27) \quad (5)$$

将方程(4)、(5)代入方程(1)得到模型如方程(6)：

$$\lg N_t = \lg N_0 + (8.65 - \lg N_0) \times \exp\{-\exp[\frac{2.718 \times (0.002T + 0.2152)^2}{8.65 - \lg N_0} \times (\frac{1}{(0.0071T + 0.1723)^2} - t) + 1]\} \quad (6)$$

$$SL = \frac{1}{(0.0071T + 0.1723)^2} - \frac{8.65 - \lg N_0}{2.718 \times (0.002T + 0.2152)^2} \times [\ln(-\ln\frac{6.94 - \lg N_0}{8.65 - \lg N_0}) - 1] \quad (7)$$

综上所述，在-1 ℃~22 ℃贮藏温度下调理肉饼中特定致腐菌平均最大菌数对数值为(8.65±0.16) lg(cfu/g)，根据建立的特定致腐菌生长动力学模型，应用最小腐败量(Ns)、初始微生物数量(N_0)和最大菌数(N_{max})计算和建立货架期模型，得到-1 ℃~22 ℃贮藏温度下调理肉饼的货架期预测模型为公式(7)。

在-1 ℃~22 ℃范围内，测定调理肉饼的初始菌数和温度，就可以通过公式（7）预测调理肉饼的实际货架期。

2.6.3 货架期预测模型的验证

为评价已建立在-1 ℃~22 ℃中调理肉饼的货架期预测模型的可靠性，以 10 ℃和 15 ℃为验证温度，将实际货架期与通过货架期预测模型的预测值进行比较，以相对误差为评价标准，结果见表 3。

表 3 调理肉饼在 10 ℃和 15 ℃贮藏温度下的货架期预测（pre）值和实测值（obs）

Table 3 Predicted (pre) and measured (obs) shelf life of porcine patties at storage temperatures of 10 ℃ and 15 ℃

贮藏温度/℃	货架期预测值/h	货架期实测值/h	相对误差/%
10	160	168	4.76
15	116	120	3.33

由表 3 可知，通过已经建立的货架期预测模型得到的 10、15 ℃贮藏温度下调理肉饼的货架期预测值与实验中得到的货架期实测值的相对误差分别为 4.76%、3.33%，均小于 10%，同时，从表 3 可知货架期预测值均小于货架期实测值，说明本实验中所建立的调理肉饼的货架期预测模型具有较好的可靠性。

3 讨论

实验室通常采用三种数据收集方式来建立微生物预测模型[26]：第一种是使用肉汤液体培养基建立模型。但是相关数据表明，以肉汤培养基为基础建立的生长模型不能很好地描述产品中微生物的生长，预测结果往往偏离实际结果[27]。第二种是通过测定自然污染的原料食品的菌落总数来建立模型，但是自然污染的食品中所包含的微生物的类型并不固定，并且原始微生物的数量不太容易控制，微生物之间的相互作用更加复杂[28]；第三种是将特定微生物接种到食品中获得相关数据从而建立模型，主要用来描述食品原料对特定微生物生长的影响，通过这种方法得出的模型可以很好地预测在实际食品中特定微生物的生长。彭志兰[29]采用反接种法建立了微生物预测模型并进行了有效的预测。本研究前期试验中采用了第一种和第二种方法建立微生物预测模型，效果不尽理想，而采用第三种方法所得到的预测模型可靠性较好。

在预测微生物学领域，通常不需要考虑微生物之间的相互作用，因此在建立调理肉饼中微生物预测模型时，该研究的重点是考虑温度的影响而不是微生物之间的相互作用。许钟[12]等研究中指出造成腐败的主要因素是特定致腐菌，并且特定致腐菌的数量和肉制品的鲜度以及剩余货架期之间关系密切，因此可以根据反向接种特定致腐菌来预测调理肉饼的剩余货架期。章志超[30]将 SSO（荧光假单胞菌）接种到灭菌的鲟鱼片中，有效的预测了有氧包装鲟鱼在 0~20 ℃贮藏温度下的荧光假单胞菌的生长及相应的货架期。本研究结果也表明，调理肉饼的货架期与造成肉饼腐败的乳酸菌之间有密切的关系，因此采用将特定致腐菌(乳酸菌)直接接种到经过减菌化处理的调理肉饼中的方法来预测调理肉饼的货架期，从而达到对调理肉饼安全性的监控和预测。同时，温度是决定调理肉饼货架期的最重要的因素。本试验结果显示，当贮藏温度从-1 ℃提高到 22 ℃时，菌落总数显著增加。因此，在确定了调理肉饼的最小微生物腐败量为 6.94 lg(cfu/g)，稳定期时最大的微生物数量为 8.65 lg(cfu/g)时，就可以此为基础建立-1 ℃~22 ℃贮藏温度范围的货架期预测模型。

在不同贮藏时间和贮藏温度下影响微生物生长的动力学模型有很多，不同模型有不同的适用范围和对象。谢萍[28]应用修正的 Gompertz 并采用 Belehradek 模型成功构建了 10~25 ℃范围内酱卤鸭肉的货架期预测模型，彭志兰等[29]人用同样的方法建立了在-20~10 ℃范围内南美白对虾仁的货架期预测模型。而刘爱芳[31]以冷藏货架期终点得到的腐败菌假单胞菌、不动杆菌和热死环丝菌作为研究对象，通过分析得到，4 ℃冷藏金枪鱼中热死环丝菌的生长曲线拟合效果最好的方程为 Logistic 方程。周康[32]通过比较 Logistic、Gompertz 和 Baranyi 模型，认为利用 Baranyi 模型对腐败希瓦氏菌的预测更为准确。

本次实验主要使用修正 Gompertz 模型和平方根模型。试验通过修正的 Gompertz 方程得到能够了微生物的延滞期（Lag）、最大比生长速率(μ_{max})、初始微生

物对数值(lgN_0)和稳定期时最大的微生物数量对数值(N_{max})，并计算出不同贮藏温度下的 R^2 值均大于 0.96，表明修正的 Gompertz 方程能较好的预测-1 ℃~22 ℃特定致腐菌乳酸菌在调理肉饼中的生长动态。蓝蔚青[33]的研究也表明，修正的 Gompertz 方程能准确描述-1.8 ℃~10 ℃下鲈鱼假单胞菌和希瓦氏菌的生长情况。平方根模型相对精确且应用广泛。本研究采用平方根模型(Belehradek)描述温度对延滞期(Lag)和最大比生长速率(μmax)的影响，发现线性关系良好（R^2 分别为 0.98 和 0.83），与谢萍[28]、彭志兰[29]的研究取得一致的结论。因此为确保预测的有效性，必须根据研究对象的微生物腐败特性来选择合适的动力学模型和评价方法。

4 结论

本文研究了调理肉饼在-1 ℃、4 ℃、10 ℃、15 ℃和 22 ℃不同贮藏温度下感官指标、理化指标的变化，分析了所接种的特定致腐菌的生长趋势，建立了调理肉饼的货架期预测模型。结果表明，修正的 Gompertz 方程能较好地拟合不同贮藏温度下微生物的生长曲线（不同贮藏温度下最大比生长速率 μ_{max} 和迟滞期 Lag 等参数的 R^2 值均大于 0.96），应用平方根模型(Bělehrádek)可较好描述温度对 Lag、μ_{max} 的影响(R^2 分别为 0.98 和 0.83)，并最终得到了在-1 ℃~22 ℃贮藏温度下调理肉饼的货架期预测模型，见公式（8）。

该预测模型通过 10 ℃和 15 ℃贮藏温度下的货架期实测值来进行验证，相对误差均小于 10%，表明建立的模型可以较好的预测调理肉饼在-1 ℃~22 ℃贮藏温度下的货架期。

$$SL = \frac{1}{(0.0071T + 0.1723)^2} - \frac{8.65 - \lg N_0}{2.718 \times (0.002T + 0.2152)^2} \times [\ln(-\ln \frac{6.94 - \lg N_0}{8.65 - \lg N_0}) - 1] \quad (8)$$

参考文献

[1] 李苗云,孙灵霞,周光宏,等.冷却猪肉不同贮藏温度的货架期预测模型[J].农业工程学报,2008,24(4):235-239
LI Miao-yun, SUN Ling-xia, ZHOU Guang-hong, et al. Shelf life prediction model of cooling pork at different storage temperatures [J]. Journal of Agricultural Engineering, 2008, 24(4): 235-239

[2] Miller A J, Smith J L, Buchanan R L. Factors Affecting the Emergence of New Pathogens and Research Strategies Leading to their Control [M]. Food Safety: The Implications of Change from Producerism to Consumerism. Food & Nutrition Press, Inc, 2008:243-263

[3] 梁琼,万金庆,王国强.冰温下贮藏的青鱼片菌落增长的预测数学模型[J].大连海洋大学学报,2010,25(1):80-84
LIANG Qiong, WAN Jin-qing, WANG Guo-qiang. Mathematical model for prediction of bacterial colony growth of herrings stored at -1℃ [J]. Journal of Dalian Ocean University, 2010, 25(1): 80-84

[4] Kreyenschmidt J, Christiansen H, Hübner A, et al. A novel photochromic time-temperature indicator to support cold chain management [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2010, 45(2): 208-215

[5] 周康,刘寿春,李平兰,等.食品微生物生长预测模型研究新进展[J].微生物学通报,2008,35(4):589-594
ZHOU Kang, LIU Shou-chun, LI Ping-lan, et al. Progress of food microbial growth prediction model [J]. Chinese Journal of Microbiology, 2008, 35(4): 589-594

[6] 刘亚兵,何腊平,高泽鑫,等.食品微生物生长预测模型的研究[J].食品工业,2016,37(11):159-164
LIU Ya-bing, HE Lao-ping, GAO Ze-xin, et al. Study on food microbial growth prediction model [J]. Food Industry, 2016, 37(11): 159-164

[7] 许钟,杨宪时,郭全友.鱼类腐败菌不同生长动力学温度模型的可靠性评价和比较[J].渔业科学进展,2005,26(5):45-51
XU Zhong, YANG Xian-shi, GUO Quan-you. Reliability evaluation and comparison of temperature models for different growth kinetics of fish putrevians [J]. Progress in Fishery Science, 2005, 26(5): 45-51

[8] Gill C O, Newton K G. The development of aerobic spoilage flora on meat stored at chill temperatures [J]. Journal of Applied Bacteriology, 1977, 43(2): 189-195

[9] Dalgaard P. Modelling of microbial activity and prediction of shelf life for packed fresh fish [J]. International Journal of Food Microbiology, 1995, 26(3): 305

[10] 杨宪时,许钟,肖琳琳.水产食品特定致腐菌与货架期的预测和延长[J].水产学报,2004,28(1):106-111
YANG Xian-shi, XU Zhong, XIAO Lin-lin. Specific pathogenic bacteria and shelf life prediction and extension of aquatic products [J]. Acta Fisheries Sinica, 2004, 28(1): 106-111

[11] 董庆利,曾静,熊成,等.不同贮藏温度下冷却猪肉货架期预测模型的构建[J].食品科学,2012,33(20):304-308
DONG Qing-li, ZENG Jing, XIONG Cheng, et al. Construction of shelf-life prediction models for chilled pork at different storage temperatures [J]. Food Science, 2012,

33(20): 304-308

[12] 许钟,肖琳琳,杨宪时.罗非鱼特定致腐菌生长动力学模型和货架期预测[J].水产学报,2005,29(4):540-546
XU Zhong, XIAO Lin-lin, YANG Xian-shi. Growth dynamics model and shelf life prediction of specific saprophyte in tilapia [J]. Acta Fisheries Sinica, 2005, 29(4): 540-546

[13] 张丽平,余晓琴,童华荣.动力学模型预测板鸭货架寿命[J].食品科学,2007,28(11):584-586
ZhANG Li-ping, YU xiao-qin, TONG Hua-rong. Prediction of shelf life of salted duck by dynamic model [J]. Food Science, 2007, 28(11): 584-586

[14] 李学英,杨宪时,郭全友,等.大黄鱼腐败菌腐败能力的初步分析[J].食品工业科技,2009,31(6):118-122
LI Xue-ying, YANG Xian-shi, GUO Quan-you, et al. Preliminary analysis of putrefaction capacity of large yellow croaker putrefaction bacteria [J]. Food Industry Science and Technology, 2009, 31(6): 118-122

[15] GB/T 4789.2-2008 食品卫生微生物学检验菌落总数测定[S].北京:中国标准出版社,2009
GB/T 4789.2-2008 Determination of Total Number of Bacterial Colonies in Food Hygiene Microbiology Test [S]. Beijing: China Standard Press, 2009

[16] GB/T 5009.44-2003 肉与肉制品卫生标准的分析方法[S].北京: 中国标准出版社, 2003
GB/T 5009.44-2003 Methods for Analysis of Hygienic Standards for Meat and Meat Products [S]. Beijing: China Standard Press, 2003

[17] John L, Cornforth D, Carpenter C E, Sorheim O, Pettee B C, Whittier D R. Color and thiobarbituric acid values of cooked top sirloin steaks packaged in modified atmospheres of 80% oxygen, or 0.4% carbon monoxide, or vacuum [J]. Meat Science, 2005, 69(3): 441

[18] 丁婷,李婷婷,邹朝阳,等.冷藏三文鱼片特定腐败菌致腐能力测定与分析[J].食品工业科技,2015,36(18):315-319
DING Ting, LI Ting-ting, ZOU Chao-yang, et al. Determination and analysis of specific spoilage bacteria in refrigerated salmon fillets [J]. Food Industry Science and Technology, 2015, 36(18): 315-319

[19] 何雪莹,孔保华,刘骞,等.冰温结合冰点调节剂保鲜对鲤鱼肉糜贮存期间品质特性的影响[J].食品科学,2012,33(12):309-312
HE Xue-ying, KONG Bao-hua, LIU Qian, et al. Effects of freezing temperature combined with freezing point regulator on quality characteristics of carp meat during storage [J]. Food Science, 2012, 33(12): 309-312

[20] 吴雪丽,刘红英,韩冬娇.扇贝贮藏货架期预测模型的建立与评价[J].食品科学,2014,35(22):315-319
WU Xue-li, lIU Hong-ying, HAN Dong-jiao. Establishment and evaluation of scallop storage shelf-life prediction model [J]. Food Science, 2014, 35(22):315-319

[21] 王天佑,王玉娟,秦文.猪肉挥发性盐基氮值指标与其感官指标的差异研究[J].食品工业科技,2007,12:124-126
WANG Tian-you, WANG Yu-juan, QIN Wen. Study on the difference of volatile base nitrogen value and sensory index in pork [J]. Food Industry Science and Technology, 2007, 12: 124-126

[22] 吴宝森,孙玥晖,刘姝韵,等.发酵肉制品中脂肪、蛋白质水解氧化与微生物的关系[J].食品安全质量检测学报,2017,8(3):832-837
WU Bao-sen, SUN Yue-hui LIU Shu-yun, et al. In fermented meat fat, protein hydrolysis, oxidation and the relationship between microorganism [J]. Journal of Food Safety and Quality Testing, 2017, 8(3): 832-837

[23] 张建友,赵瑜亮,张梦雨,等.不同贮藏温度酱鸭品质变化及其货架期预测[J].食品科学,2019,40(5):250-257
ZHANG Jian-you, ZHAO Yu-liang, ZHANG Meng-yu, et al. Quality change and shelf life prediction of fermented duck at different storage temperatures [J]. Food Science, 2019, 40(5): 250-257

[24] 许立兴,荆红彭,赵菲,等.冰温贮藏对鸭胸肉品质变化的影响[J].食品科学,2015,36(14):222-227
XU Li-xing, JING Hong-peng, ZHAO Fei, et al. Effects of ice-temperature storage on quality changes of duck breast meat [J]. Food Science, 2015, 36(14): 222-227

[25] 顾海宁,李强,李文钊,等.冷却猪肉贮存中的品质变化及货架期预测[J].现代食品科技,2013,11:2621-2626
GU Hai-ning, LI Qiang, LI Wen-zhao, et al. Quality change and shelf life prediction of chilled pork in storage [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 11: 2621-2626

[26] 姜英杰,邹晓葵,彭增起.大肠杆菌在猪背最长肌上生长预测模型的建立[J].食品科学,2008,29(12):115-119
JIANG Ying-jie, ZOU Xiao-kui, PENG Zeng-qi. Establishment of growth prediction model of e. coli on the longest muscle of the back of pig [J]. Food Science, 2008, 29(12): 115-119

[27] Pin C, Sutherland J P, Baranyi J. Validating predictive models of food spoilage organisms [J]. Journal of Applied Microbiology, 1999, 87(4): 491-499

[28] 谢萍.散装酱卤鸭肉制品微生物多样性与货架期预测模型

的研究[D].南昌:江西农业大学,2015
XIE Ping. Study on microbial diversity and shelf life prediction model of duck meat products with soy sauce in bulk [D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2015

[29] 彭志兰,孙瑛,黄朱梁,等.基于预测微生物学理论的南美白对虾仁货架期预测模型[J].食品安全质量检测学报,2018,9(8):1955-1959
PENG Zhi-lan, SUN Ying, HUANGh Zhu-liang, et al. Shelf life prediction model of shrimp in South America based on predictive microbiology theory [J]. Journal of Food Safety and Quality Inspection, 2008, 9(8): 1955-1959

[30] 章志超,桂萌,彭朝辉,等.鲟鱼中荧光假单胞菌生长预测模型构建及货架期预测[J].食品科学,2014,35(10):278-283
ZHANG Zhi-chao, GUI Meng, PENG Zhao-hui, et al. Construction of pseudomonas fluorescein growth prediction model and shelf life prediction in sturgeon [J]. Food Science, 2014, 35(10): 278-283

[31] 刘爱芳,谢晶,钱韻芳.冷藏金枪鱼优势腐败菌致腐败能力[J].食品科学,2018,39(3):7-14
LIU Ai-fang, XIE Jing, QIAN Yun-fang. Spoilage induced by dominant bacteria in frozen tuna [J]. Food Science, 2008, 39(3): 7-14

[32] 周康,杨兆锞,刘书亮,等.鲤鱼中腐败希瓦氏菌生长模型的建立和验证[J].食品科学,2015,36(15):147-150
ZHOU Kang, YANG Zhao-ke LIU Shu-liang, et al. In the carp corruption shiva bacterium growth model establishment and validation of the [J]. Journal of Food Science, 2015, 4(15): 147-150

[33] 蓝蔚青,张皖君,段贤源,等.不同贮藏温度下鲈鱼腐败菌生长动力学与货架期预测[J].农业机械学报,2018,49(4):351-358
LAN Wei-qing, ZHANG Wan-jun, DUAN Xian-yuan, et al. Growth kinetics and shelf life prediction of spoilage bacteria in bass at different storage temperatures [J]. Chinese Journal of Agricultural Machinery, 2008, 49(4): 351-358

（上接第 97 页）

[27] 胡亚芹,胡庆兰,杨水兵,等.不同冻结方式对带鱼品质影响的研究[J].现代食品科技,2014,30(2):23-30
HU Ya-qin, HU Qing-lan, YANG Shui-bing, et al. Study on the effect of different freezing methods on the quality of hairtail [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(2): 23-30

[28] Chen H, Diao J, Li Y, et al. The effectiveness of clove extracts in the inhibition of hydroxyl radical oxidation-induced structural and rheological changes in porcine myofibrillar protein [J]. Meat Science, 2016, 111: 60-66

[29] Osako K, Anwar Hossain M, Kuwahara K, et al. Effect of trehalose on the gel-forming ability, state of water and myofibril denaturation of horse mackerel *Trachurus japonicas* surimi during frozen storage [J]. Fisheries Science, 2005, 71(2): 367-373

[30] 吴海潇.卡拉胶寡糖和低聚木糖对南美白对虾的抗冻保水作用[D].杭州:浙江海洋大学,2017
WU Hai-xiao. Antifreeze and water retention effects of carrageenan oligosaccharides and xylo-oligosaccharides on *Penaeus vannamei* [D]. Hangzhou: Zhejiang Ocean University, 2017

[31] Zhang B, Deng SG, Wang Q. Chemical changes related to loss of quality in pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during chilled storage under slurry ice conditions [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2015, 39(6), 2507-2515

[32] Tadanori S, Takehiko G, Yoshiyasu A. Growth rate and morphology of ice crystals growing in a solution of trehalose and water [J]. Journal of Crystal Growth, 2002, 240: 218-229

[33] Nikoo M, Benjakul S, Rahmanifarah K. Hydrolysates from marine sources as cryoprotective substances in seafoods and seafood products [J]. Trends in Food Science & Technology, 2016, 57: 40-51

（上接第 205 页）

[29] Ganha O, R, Estévez, M, Kylli, P, et al. Characterization of selected wild mediterranean fruits and comparative efficacy as inhibitors of oxidative reactions in emulsified raw pork burger patties [J]. Agric Food Chem, 2010, 58(15): 8854-8861

[30] Vaithiyanathan S, Naveena B M, Muthukumar M, et al. Effect of dipping in pomegranate (Punica granatum) fruit juice phenolic solution on the shelf life of chicken meat under refrigerated storage (4 ℃) [J]. Meat Science, 2011, 88(3): 409-414