

# 响应面法优化冷鲜驴肉复合天然防腐剂配方

吴丹枫, 周晓燕, 李旭, 章海风

(扬州大学旅游烹饪学院, 江苏扬州 225127)

**摘要:** 本研究采用响应面优化法探讨一种有利于冷鲜驴肉保鲜的天然复合防腐剂配方。以生姜醇提取物、丁香醇提取物和 Nisin Z 作为抑菌剂, 进行单因素实验, 通过响应面法, 以 TVB-N 和感官评分 2 个指标为响应值, 考察三种天然抑菌剂对 TVB-N 和感官评分的影响, 优化复合防腐剂配方。结果表明: 生姜醇提取物、丁香醇提取物和 Nisin Z 对 TVB-N 和感官评分的影响显著 ( $p < 0.05$ ), 生姜醇提取物、丁香醇提取物和 Nisin Z 两两之间均存在协同增效效应。复合防腐剂配方为: 生姜醇提取物 41.07 mg/mL、丁香醇提取物 5.39 mg/mL 和 Nisin Z 56.28 mg/mL, 4 °C 真空保藏 15 d, TVB-N 的值为 9.48 mg/100 g, 感官评价为 87.44。说明复合天然防腐剂对冷鲜驴肉具有较好的保鲜效果, 且对冷鲜驴肉的感官品质影响不大。

**关键词:** 生姜醇提取物; 丁香醇提取物; Nisin Z; 冷鲜驴肉; 复配防腐剂

文章编号: 1673-9078(2019)05-244-252

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.5.034

## Response Surface Optimization Cold Fresh Donkey Meat Compound Natural Preservative Formula

WU Dan-feng, ZHOU Xiao-yan, LI Xu, ZHANG Hai-feng

(College of Tourism and Culinary Science, Yangzhou University, Yangzhou 225127, China)

**Abstract:** The response surface methodology was used to obtain a natural composite preservative formulation that could be conducive to the preservation of chilled fresh donkey meat. Ginger ethanol extract, eugenol ethanol extract and Nisin Z were used as antimicrobial agents. The single factor experiments were also conducted. Response surface methodology was used to investigate the effects of three natural antimicrobial agents on TVB-N and sensory score, and to optimize the formula. The results showed that the effects of ginger ethanol extract, eugenol ethanol extract and Nisin Z on TVB-N and sensory score were significant ( $p < 0.05$ ). There was synergistic effect between ginger ethanol extract, eugenol ethanol extract and Nisin Z. The composite preservative formula is: Ginger ethanol extract 41.07 mg/mL, eugenol ethanol extract 5.39 mg/mL and Nisin Z 56.28 mg/mL, vacuum storage at 4 °C for 15 days, the value of TVB-N is 9.48 mg/100 g, sensory evaluation 87.44. The results showed that the compound natural preservatives had better preservative effect on cold donkey meat, and had little effect on sensory quality of cold donkey meat.

**Key words:** ginger alcohol extract; syringol extract; Nisin Z; cold fresh donkey meat; compound preservative

驴 (*Equus asinus*) 源于非洲东北部, 大约驯养于公元前 4000 年, 属马科家族, 曾是传统的大型役用动物。目前, 世界养驴数量约为 4100 万, 亚洲占 50%<sup>[1]</sup>。随着工业化进程的推进和人们对驴肉认识的深入, 驴肉越来越被作为一种肉类食物所食用<sup>[2]</sup>。驴特殊的生理功能<sup>[3]</sup>, 赋予了驴肉优良的食用品质和营养价值。其享有“天生龙肉、地上驴肉”之美誉, 是一种高蛋白、低脂肪, 富含多不饱和脂肪酸的优质肉品资源<sup>[4,5]</sup>。

冷鲜肉因其肉嫩鲜美、安全卫生等优点, 被消费者越来越认可。但是冷鲜肉由于缺乏有效的前期灭菌

处理, 使其虽在 0 °C~4 °C 的冷藏温度下储藏和运输, 却难有效的抑制一些腐败菌的生长<sup>[6,7]</sup>。因此, 如能在冷藏过程中添加一些天然防腐剂是实现肉制品冷鲜保藏的有效措施<sup>[8,9]</sup>。

现代食品防腐剂通常是合成化学品, 如山梨酸盐、苯甲酸盐和亚硝酸盐<sup>[10,11]</sup>, 且合成食品添加剂的健康风险低于监管机构定义的建议限值<sup>[12,13]</sup>。目前发现一些植物可以作为天然抑菌剂来防止食物的腐败变质<sup>[14]</sup>。由于天然抑菌剂在人体中具有更好的耐受性, 因此将其替代合成化学防腐剂是越来越被大众接受<sup>[15]</sup>。许多香料如丁香和生姜等已实验证明可以保护食物, 具有抗病原菌和腐败菌的活性<sup>[16]</sup>。而这些香辛料的次级代谢产物亦被称为抗微生物剂, 且大部分是安全的食品材料<sup>[17]</sup>。

收稿日期: 2019-01-27

作者简介: 吴丹枫 (1993-), 女, 硕士, 研究方向: 营养与食品卫生学

通讯作者: 章海风 (1977-), 男, 讲师, 在读博士, 研究方向: 膳食营养与健康研究

目前国内外关于驴肉的研究主要集中在肉制品的营养分析方面,对冷鲜驴肉的腐败菌和致病菌的检测以及对复合天然防腐剂的配方研究尚未见报道。本实验通过对冷鲜驴肉的菌相分析,分离培养出驴肉的优势腐败菌和致病菌,在此基础上进行单因素实验,最后通过响应面优化出最佳复合天然防腐剂配方,为冷鲜驴肉运输保存提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

生鲜驴肉:2~3岁三粉公驴后腿肉;由山东东阿天龙食品有限公司提供;生姜和丁香:购自江苏省扬州市麦德龙超市;Nisin Z (BR 900IU/mg,抑菌活性 Nisin Z>NisinA):购自汉德瑞生物工程有限公司;MRS、煌绿琼脂、改良甘露醇卵黄多粘素琼脂、PCA、STAA 琼脂、TMP 琼脂培养基、假单胞菌 cfc 选择性培养基:购自青岛高科技工业海博生物技术有限公司;胰酪大豆胨琼脂培养基、水解酪蛋白胨 (MH) 肉汤:购自广东环凯微生物科技有限公司。

菌种:腐败菌(大肠杆菌、假单胞菌、乳酸菌);致病菌(沙门氏菌、芽孢杆菌),由扬州大学微生物实验室从腐败变质的驴肉中分离纯化得到。菌株置于4℃冰箱冷藏备用。

### 1.2 仪器

RE-52A 型旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;HK-45A 型电热恒温鼓风干燥箱,广州市旭朗机械设备有限公司;BJ-100 型高速多功能粉碎机、H2050R 台式高速冷冻离心机,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;Alpha 1-2 真空冷冻干燥机,德国 Christ 公司;酶标仪,美国赛默飞世尔科技有限公司;胴体肉质 pH 值直测仪 pH-STAR,德国 MATTHAUS。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 香辛料提取物的制备及提取率计算

参照卢付青<sup>[18]</sup>方法并加以修改。将生姜(去皮)和丁香切碎,50℃烘干后再粉碎,分别过80目筛。称取各香辛料20.0g( $W_2$ )置于500mL圆底烧瓶内,按料液比1:10(g/mL)加入95%乙醇溶液,于85℃水浴锅中回流提取3h,抽滤,重复提取2次,合并滤液,再用旋转蒸发器进行真空浓缩(50℃,-0.1MPa),蒸发溶剂,用无菌蒸馏水溶解粗提物,-20℃冷冻保存12h,真空冷冻干燥48h得提取物( $W_1$ ),香辛料提取率计算 $W\%=W_1/W_2\times 100\%$ 。

#### 1.3.2 腐败变质驴肉微生物菌相构成

将驴肉真空包装于灭菌后的食品级PE包装袋中,于4℃冷藏放至15d出现腐败变质后参照国标GB/T 4789.2-2016《食品微生物菌落总数的测定》<sup>[19]</sup>进行。

#### 1.3.3 微量酶标仪法的建立

确定试验波长参照杨帆<sup>[20]</sup>方法确定试验波长(本实验最大吸收波长600nm)。

菌悬液的配制从冰箱取出菌种,活化0.5h后,加入5mL的PBS缓冲液于斜面上,用手掌轻轻振荡80次,使菌株完全冲下,倒入试管中,轻轻摇匀。2次5倍梯度稀释,选择 $1\times 10^8$ cfu/mL的菌液(对比0.5麦氏比浊管),将菌液2次10倍稀释,最后吸取0.5mL加入到4.5mL MH培养基中。

微量酶标仪96孔板法在无菌操作环境中,在96孔板每个孔加100μL MH肉汤培养基,之后在第一孔加药液100μL,吹打均匀,然后对药液进行二倍稀释,从第一孔吸取100μL到第二孔充分混匀,照此重复至最后一孔,吸出100μL弃去。再在每个孔中加菌悬液100μL,同时做阳性和阴性对照。15min内测OD<sub>600</sub>值,然后放于37℃恒温培养箱中24h后测OD<sub>600</sub>值, $\Delta OD_{600}$ 值<0.05即为该抑菌剂对此菌种的最低抑菌浓度(MIC)<sup>[21]</sup>。

#### 1.3.4 单因素实验

采用微量酶标仪法96孔板法<sup>[22]</sup>和感官评价方法,分别对生姜提取物、丁香提取物和Nisin Z进行单因素实验,得天然抑菌剂对冷鲜驴肉腐败菌和致病菌的MIC和感官评价分。

#### 1.3.5 响应面优化实验方案

在单因素的基础上,根据Box-Behnken中心组合实验设计原理<sup>[22]</sup>,设计3因素3水平的响应面实验,利用响应面实验结果,确定冷鲜驴肉的最佳复合天然防腐剂配方。响应面实验因素水平见表1。

表1 响应面实验因素水平

因素	水平		
	-1	0	1
生姜提取物/(mg/mL)	15.63	31.25	62.50
丁香提取物/(mg/mL)	1.95	3.91	7.81
Nisin Z/(mg/mL)	31.25	62.50	125.00

#### 1.3.6 驴肉的处理

在无菌操作室中去除皮、筋膜及多余的脂肪,用灭菌后的塑封袋封好待用(10g/包)。优化复合配方时,用无菌喷雾将配制液(1:1:1)均匀喷洒于驴肉表面,在无菌操作台中晾干5min后封好,真空包装放置于4℃冰箱中。

### 1.3.7 挥发性盐基氮 (TVB-N) 含量的测定

参照国标 GB/T 5009.228-2016 《食品安全国家标准食品中挥发性盐基氮的测定》<sup>[23]</sup>对 4℃ 保藏 15 d 的驴肉进行检测。

### 1.3.8 pH 值测定

使用德国麦特斯的酮体肉质 pH 值直测仪检测肉的 pH 值,先用钻将肉钻一个孔,然后插入玻璃电极,重复测 3 次,取平均值。每次测量前 pH 计在室温 (25℃) 下进行校准。

### 1.3.9 数据处理

所有数据用平均值±标准差表示。采用 Design-Expert 8.0.5 软件进行响应面分析,采用 SPSS 16.0 软件对结果数据进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 香辛料提取率

表 2 香辛料提取率

Table 2 Spice extraction rate

原料	生姜	丁香
提取率/%	25.99±0.41	44.60±1.36

由表 2 知,生姜和丁香的提取率分别为 25.99% 和 44.60%。生姜的提取率高于卞梦瑶<sup>[24]</sup> (5.56%) 约 4.67 倍,低于 Lei Hong 等<sup>[25]</sup> (46.60%) 约 1.79 倍。丁香提取率高于郭超<sup>[26]</sup> (36.29%) 约 1.23 倍。可见提取率的高低受到提取压力、时间和温度等因素影响。提取物粒径越小,适宜的萃取温度和压力下,时间越久,提取率越高。本实验丁香提取率高于生姜提取率。

### 2.2 腐败变质驴肉的菌相构成

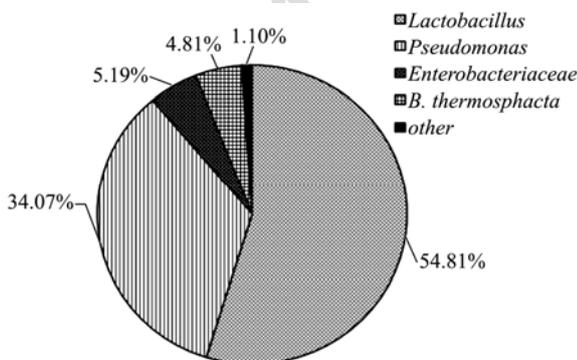


图 1 冷鲜驴肉腐败菌相构成

Fig.1 Spoilage bacteria composition of cold fresh donkey

由图 1 所示,冷鲜驴肉的腐败菌相以乳酸菌 (54.81%) 和假单胞菌 (34.07%) 为主,其次是肠杆菌 (5.19%),热死环丝菌 (4.81%)。同时检测到致病细菌沙门氏菌和芽孢杆菌为  $4.48 \times 10^6$  和  $7.80 \times 10^6$ 。因此,

本实验选择的腐败菌为乳酸菌、假单胞菌和肠杆菌,致病菌为沙门氏菌和芽孢杆菌作为受试菌,采用微量酶标仪 96 孔板法测定生姜醇提物、丁香醇提物和 Nisin Z 对这些菌的 MIC。

### 2.3 单因素实验

#### 2.3.1 三种天然抑菌物对各种菌的 MIC

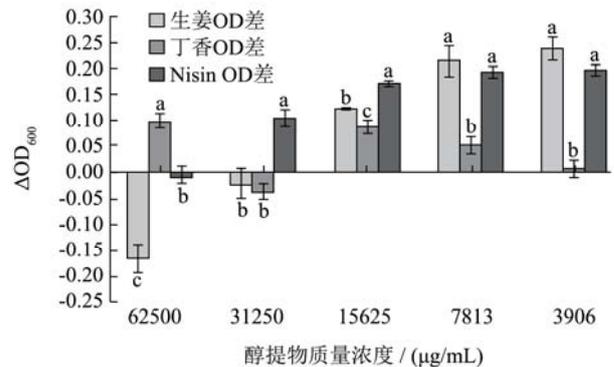


图 2 不同浓度抑菌剂对肠杆菌的影响

Fig.2 Effects of antimicrobial agents with different concentrations on Enterobacteriaceae

注:字母相同表示差异不显著 ( $p > 0.05$ ),字母不同表示差异显著 ( $p < 0.05$ )。下同。

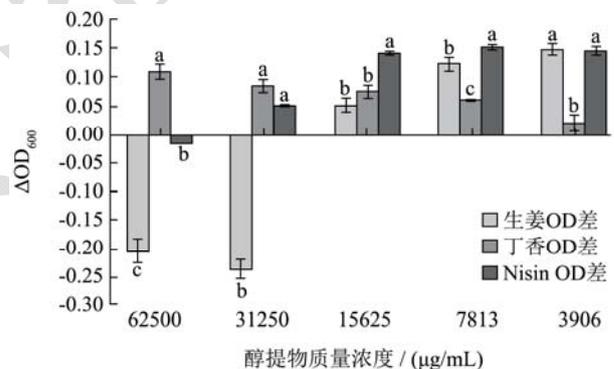


图 3 不同浓度抑菌剂对假单胞菌的影响

Fig.3 Effects of different concentrations of antimicrobial agents on Pseudomonas

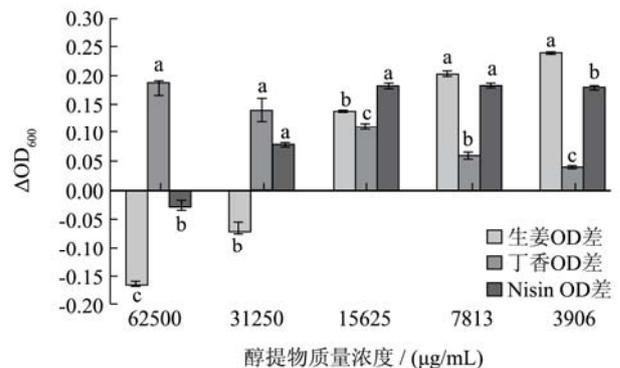


图 4 不同浓度抑菌剂对沙门氏菌的影响

Fig.4 Effects of different concentrations of antimicrobial agents on Salmonella

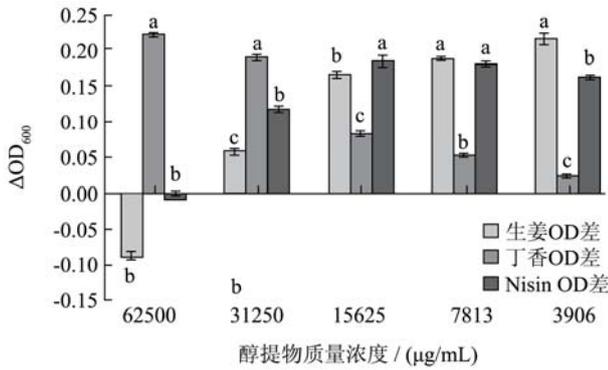


图5 不同浓度抑菌剂对乳酸菌的影响

Fig.5 Effects of antimicrobial agents with different concentrations on *Lactic acid bacteria*

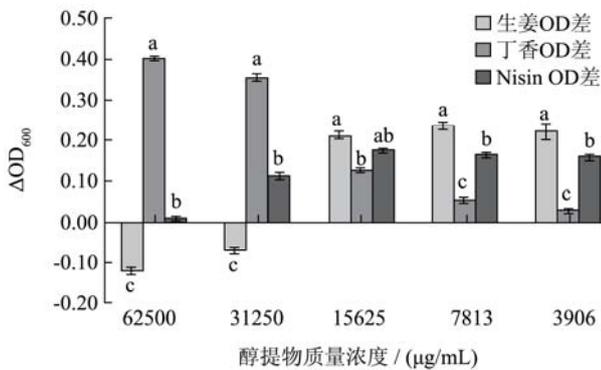


图6 不同浓度抑菌剂对芽孢杆菌的影响

Fig.6 Effects of antimicrobial agents with different concentrations on *Bacillus*

用不同浓度的生姜醇提取物、丁香醇提取物和 Nisin Z 处理腐败驴肉中腐败菌和致病菌，分别于 0 h 和 24 h 测 OD<sub>600</sub> 值，ΔOD<sub>600</sub> 值 < 0.05 即为三种抑菌物的 MIC。结果如图 2~图 6 可知。

由图 2~6 可见，生姜醇提取物、丁香醇提取物和 Nisin Z 抑制大肠杆菌的 MIC 分别为 31.25 mg/mL、3.91 mg/mL 和 62.50 mg/mL；抑制假单胞菌的 MIC 分别为 15.63 mg/mL、3.91 mg/mL 和 62.50 mg/mL；抑制沙门氏菌的 MIC 分别为 31.25 mg/mL、3.91 mg/mL 和 62.50 mg/mL；抑制乳酸菌的 MIC 分别为 62.50 mg/mL、3.91 mg/mL 和 62.50 mg/mL；抑制芽孢杆菌的 MIC 分别为 31.25 mg/mL、3.91 mg/mL 和 62.50 mg/mL。根据所测数据和肉眼观察 96 孔板，看该浓度所对应的孔是否是未出现沉淀的最后一孔。综合得，三种天然抑菌剂对 5 种测试细菌的 MIC 值为 31.25 mg/mL (生姜醇提取物)、

3.91 mg/mL (丁香醇提取物) 和 62.50 mg/mL (Nisin Z)。

### 2.3.2 三种天然抑菌剂对驴肉的感官影响

用不同浓度的生姜醇提取物、丁香醇提取物和 Nisin Z 处理冷鲜驴肉，由从事食品加工的专业人员 10 人组成评定小组，按表 3 (参考 GB/T 9961-2008 标准稍做修改) 的方法进行感官指标的打分评定。

由图 7 可知，生姜醇提取物、丁香醇提取物和 Nisin Z 浓度分别为 31.25 mg/mL、3.91 mg/mL 和 62.50 mg/mL 时，感官评分最好。

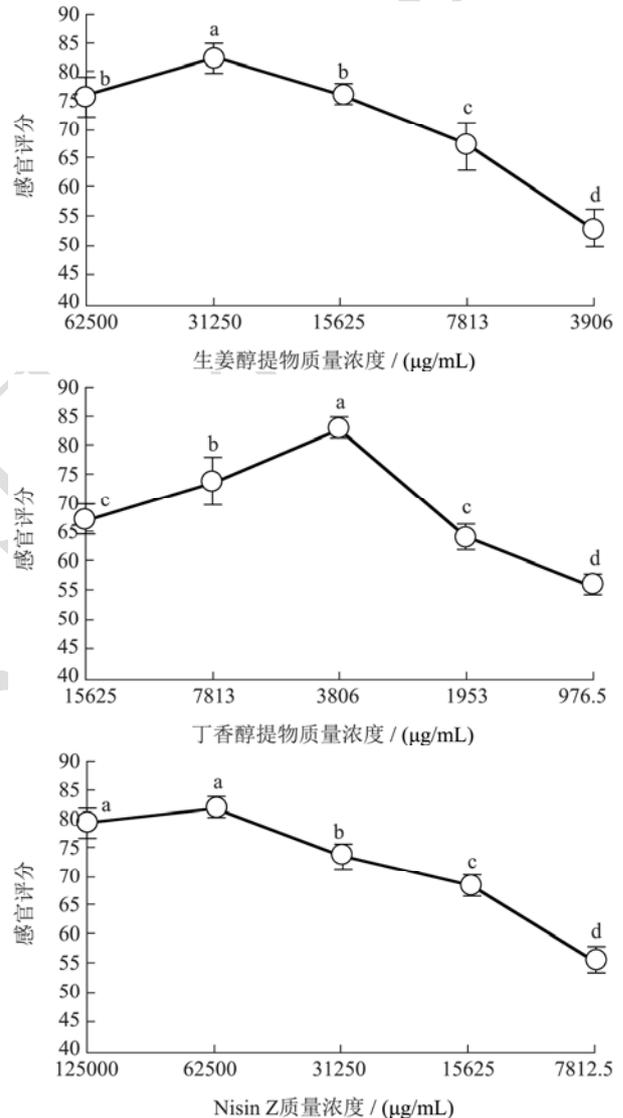


图7 不同浓度抑菌剂对驴肉感官评分影响

Fig.7 Effect of different concentration of bacteriostatic on donkey meat sensory score

表3 感官评分标准

Table 3 Sensory score criteria

项目	评分标准
色泽	肌肉有光泽，红色均匀，脂肪洁白 (25~30)
	肌肉表面微干或风干，红色不均，略暗淡，脂肪淡黄色 (15~25)
	肌肉表面干枯严重或质地过于柔软近乎粘稠，肌肉发暗，脂肪呈现黄色 (5~15)

转下页

接上页

气味 (30%)	鲜驴肉正常气味, 无其它异味 (25~30)	驴肉特有的风味, 略有异味但不明显存在 (15~25)	有较为明显的氨味、酸味、哈喇味、或其它 腐败味、或保鲜剂的气味 (5~15)
弹性及黏 度 (20%)	肉质紧密、弹性好, 手指按 压后能立即完全复原, 手接 触后有湿润干没有粘稠感 (15~20)	肉质紧密度一般, 弹性较好, 手指 按压后能较快的完全复原或复原 较好, 手接触不粘手 (10~15)	肉质很软, 弹性很差, 手指按压后不能恢复 原形, 手指接触发粘 (5~10)
煮沸后的 汤汁 (20%)	肉汤澄清透明, 脂肪团聚于 肉汤表面且成乳白色或微 黄, 有驴肉特有的肉香味和 鲜味、无其它异味 (15~20)	肉汤较为澄清透明, 脂肪团略黄, 稍有不明异的异味 (10~15)	肉汤浑浊, 脂肪黄色浓重呈油滴状漂浮于汤 液上、有哈喇味, 有明显的腐败味和保鲜剂 的气味 (5~10)

表 4 Box-Behnken 试验设计及结果

Table 4 Results of response surface experiments

实验组	生姜/(mg/mL)	丁香/(mg/mL)	Nisin Z/(mg/mL)	TVB-N/(mg/100 g)	感官评分
1	15.63	7.81	62.50	13.54	73.32
2	31.25	1.95	125.00	13.36	65.39
3	62.50	7.81	62.50	9.87	76.99
4	31.25	3.91	62.50	10.48	86.02
5	31.25	3.91	62.50	10.76	84.42
6	15.63	1.95	62.50	15.13	68.29
7	31.25	7.81	125.00	10.56	63.19
8	31.25	7.81	31.25	13.57	75.02
9	31.25	1.95	31.25	15.33	69.30
10	15.63	3.91	31.25	15.74	74.01
11	62.50	1.95	62.50	12.89	70.68
12	31.25	3.91	62.50	10.54	83.02
13	15.63	3.91	125.00	13.58	67.71
14	31.25	3.91	62.50	10.46	85.85
15	31.25	3.91	62.50	10.65	84.45
16	62.50	3.91	31.25	13.21	75.69
17	62.50	3.91	125.00	10.18	68.25

## 2.4 响应面法优化冷鲜驴肉的复合天然防腐剂配方

### 2.4.1 响应面实验结果

综合单因素实验结果, 采用 Design-Expert 8.0.5 软件设计三因素三水平共 17 个实验。根据响应面结果优化得到冷鲜驴肉最优的复合防腐剂配方。以生姜醇提物 (A)、丁香醇提物 (B) 和 Nisin Z (C) 为自变量, 以挥发性盐基氮 (TVB-N) 和感官评分为响应值 (Y) 响应面试验设计与结果见表 4。

采用 Design-Expert 8.0.5 软件对所得数据进行回归分析, 3 个因素经过拟合得到 TVB-N (Y<sub>1</sub>) 和感官

评价 (Y<sub>2</sub>) 回归方程如下所示:

$$Y_1 = 8.65 - 1.58A - 1.25B - 1.35C - 0.35AB - 0.23AC - 0.25BC + 1.81A^2 + 1.71B^2 + 2.11C^2$$

$$Y_2 = 87.11 + 1.06A + 1.60B - 4.11C + 0.60AB - 0.40AC - 2.14BC - 5.72A^2 - 9.51B^2 - 8.39C^2$$

由表 5 和表 6 可知, 回归方差分析显著性检验表明, 该回归模型  $p < 0.001$ , 方程模型极显著; 失拟项  $p = 0.84 > 0.05$  和  $p = 0.57 > 0.05$ , 不显著, 表明该模型方程极显著, 使用该方程模拟真实的三因素三水平分析是可行的。复相关系数  $R^2 = 0.9988$  和  $0.9897$ , 说明模型拟合程度良好, 试验误差小, 因此, 可以通过该模型筛选出对冷鲜驴肉抑菌效果最佳的天然防腐剂配比。

表5 回归模型的方差分析

Table 5 Analysis of variance of regression model (TVB-N)

项目	离差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	64.32	9	7.15	655.84	< 0.0001**
A-生姜	17.99	1	17.99	1650.97	< 0.0001**
B-丁香	11.24	1	11.24	1031.30	< 0.0001**
C-Nisin Z	13.23	1	13.23	1214.52	< 0.0001**
AB	0.53	1	0.53	48.93	0.0002**
AC	0.24	1	0.24	22.29	0.0022**
BC	0.28	1	0.28	26.04	0.0014**
A <sup>2</sup>	10.22	1	10.22	938.08	< 0.0001**
B <sup>2</sup>	9.20	1	9.20	843.92	< 0.0001**
C <sup>2</sup>	13.99	1	13.99	1283.87	< 0.0001**
残差	0.08	7	0.01		
失拟项	0.01	3	0.00	0.27	0.8421
纯误差	0.06	4	0.02		
总和	64.40	16			

注: \*. $p < 0.05$ , 差异显著; \*\*. $p < 0.01$ , 差异极显著。复相关系数  $R^2 = 0.9988$ , 调整模型判定系数  $R_{adj}^2 = 0.9973$ 。

表6 回归模型的方差分析(感官评分)

Table 6 Analysis of variance of regression model (Sensory Score)

项目	离差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	905.89	9	100.65	74.53	< 0.0001**
A-生姜	8.20	1	8.20	6.07	0.0432*
B-丁香	18.50	1	18.50	13.70	0.0076**
C-Nisin Z	122.10	1	122.10	90.41	< 0.0001**
AB	1.57	1	1.57	1.16	0.3166
AC	0.72	1	0.72	0.53	0.4891
BC	20.22	1	20.22	14.97	0.0061**
A <sup>2</sup>	102.52	1	102.52	75.91	< 0.0001**
B <sup>2</sup>	283.22	1	283.22	209.71	< 0.0001**
C <sup>2</sup>	220.37	1	220.37	163.17	< 0.0001**
残差	9.45	7	1.35		
失拟项	3.45	3	1.15	0.77	0.5696
纯误差	6.00	4	1.50		
总和	915.34	16			

注: \*. $p < 0.05$ , 差异显著; \*\*. $p < 0.01$ , 差异极显著。复相关系数  $R^2 = 0.9897$ , 调整模型判定系数  $R_{adj}^2 = 0.9764$ 。

从表5看出, 生姜醇提物(A)、丁香醇提物(B)和Nisin Z(C)的P值均小于0.01, 表明其对冷鲜驴肉TVB-N均极显著, 且影响TVB-N变化的各因素按影响大小排序依次为生姜醇提物>Nisin Z>丁香醇提物。由表6可知生姜醇提物(A)的 $p < 0.05$ , 丁香醇提物(B)和Nisin Z(C)的 $p < 0.01$ , 可见A对冷鲜驴肉感官评分显著, B和C极显著, 影响感官评分的

各因素大小排序依次为Nisin Z>丁香醇提物>生姜醇提物。二次项A<sup>2</sup>、B<sup>2</sup>和C<sup>2</sup>对驴肉TVB-N和感官评分变化均极显著( $p < 0.01$ ), 表5中AB项、AC项和BC项对TVB-N的变化极显著( $p < 0.01$ ); 表6中AB项和AC项对感官评分影响不显著, BC项极显著( $p < 0.01$ )。表明各项对TVB-N的变化不是简单线性关系。各交互因素响应面如图8所示。

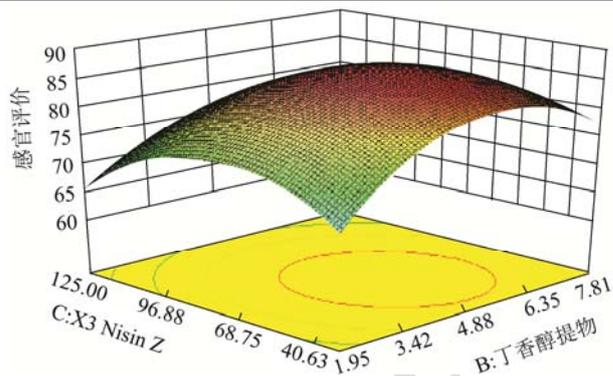
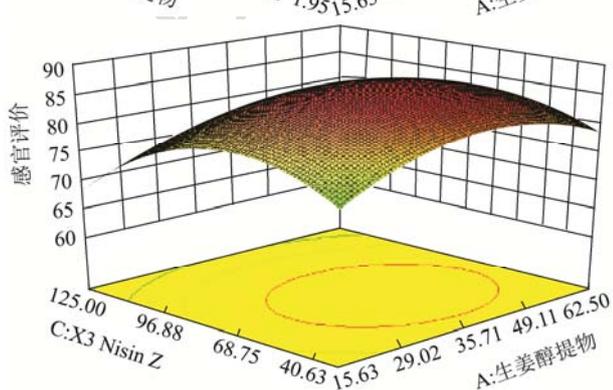
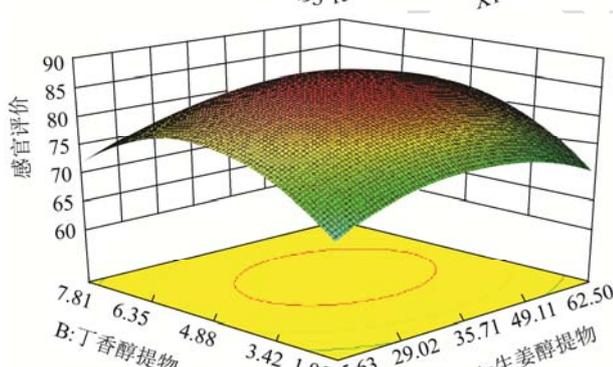
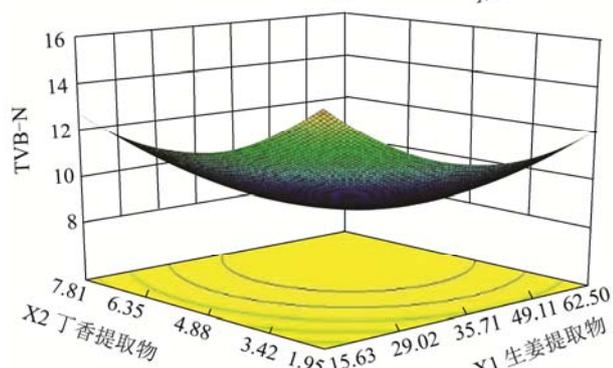
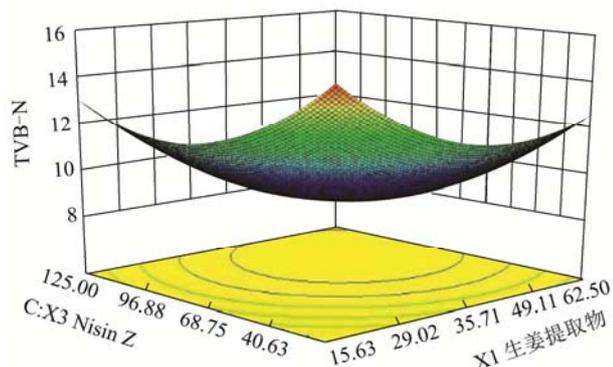
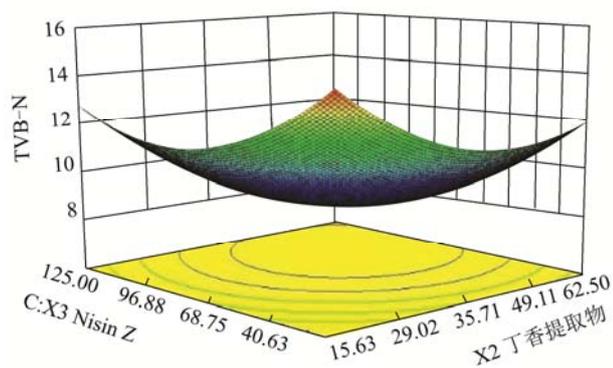
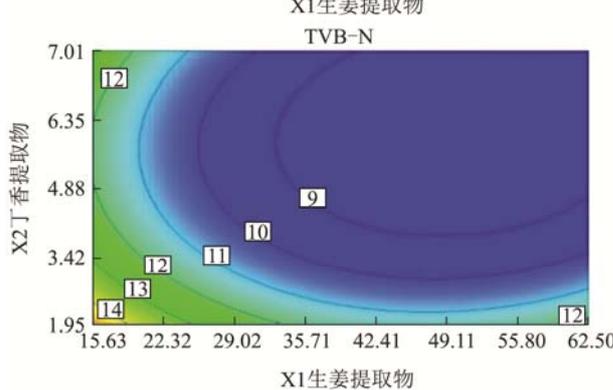
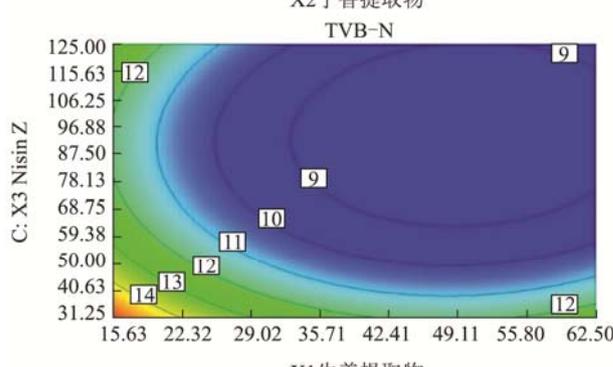
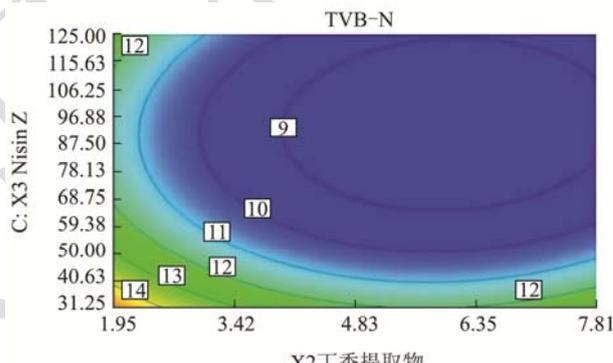


图8 冷鲜驴肉三维响应图

Fig.8 Cold fresh donkey three-dimensional response map

图8直观反映了各因素对响应值的影响,由于这些因素相关的各曲面较陡<sup>[27]</sup>,生姜醇提取物、丁香醇提取物和Nisin Z对TVB-N变化和感官评分影响较显著,出现极值的范围是生姜醇提取物35.71~49.11 mg/mL、丁香醇提取物3.42~6.35 mg/mL和Nisin Z 50.00~68.75 mg/mL。等高线形状可反映因素交互效应强弱<sup>[28]</sup>,图9中等高线趋近于椭圆,表示两因素间交互作用显著。



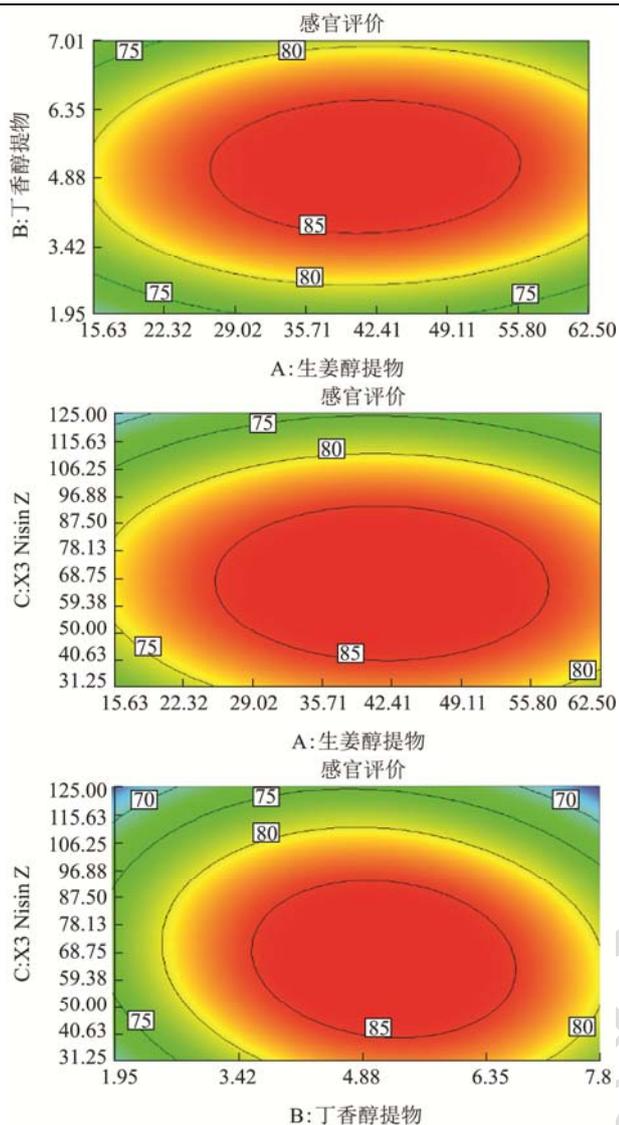


图9 冷鲜驴肉等高线分析图

Fig.9 Cold fresh donkey contour analysis chart

通过回归方程获得复合天然防腐剂的最优配方：生姜醇提取物 41.07 mg/mL、丁香醇提取物 5.39 mg/mL 和 Nisin Z 56.28 mg/mL，TVB-N 值和感官评分为 9.48 mg/100 g 和 87.44。考虑到实际操作的可行性，将此反应在以上理论值基础上修正为：生姜醇提取物 40.00 mg/mL、丁香醇提取物 5.50 mg/mL 和 Nisin Z 55.00 mg/mL。再采用最佳工艺条件进行 TVB-N 和感官评分检测验证，平行 3 次实验取平均值，得到 TVB-N 值为 9.64±0.11 mg/100 g 和感官评分 84.67±3.21，与实验数据基本相符，说明优化后的回归方程模型可用于实践。

### 2.4.2 pH 值的变化

采用最优复合天然防腐剂配方对驴肉进行处理，与未处理驴肉放置 15 d，每隔 3 d 取样测定的 pH 值如图 10 所示。

由图 10 可知，用最优复合天然保鲜剂处理过的驴

肉在 15 d 内，pH 值一直低于未处理组。第 15 d 时，未处理组明显高于处理组且处理组有下降趋势。可见，该响应面法得到的最优复合天然防腐剂配方比较可靠，具有一定的实际意义。

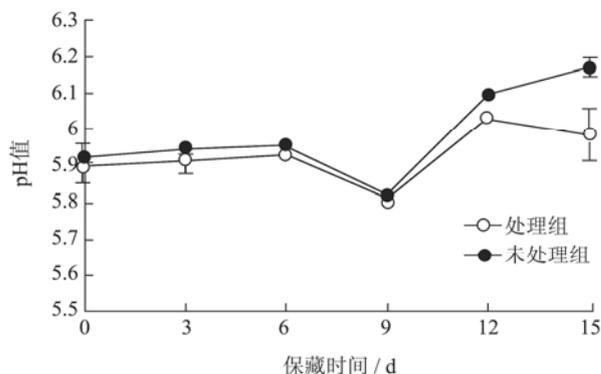


图10 保藏期间驴肉 pH 值变化

Fig.10 Changes of pH value of donkey meat during storage

## 3 结论

生姜醇提取物、丁香醇提取物和 Nisin Z 对驴肉中的腐败菌（乳酸菌、假单胞菌和肠杆菌）和致病菌（沙门氏菌和芽孢杆菌）均有很好的抑制效果。通过响应面法优化出最优复合防腐剂配方为生姜醇提取物 40.00 mg/mL、丁香醇提取物 5.50 mg/mL 和 Nisin Z 55.00 mg/mL。在此配方下，4 °C 保藏 15 d 时，驴肉的 TVB-N 值较小和新鲜度较高。同时该复合配方所用原料具有天然无害和污染少、对冷鲜驴肉风味和色泽影响不大、生产成本低和操作易控制的优势，从而为工业化冷鲜驴肉的保鲜提供了理论支撑。

## 参考文献

- [1] Polidori P, Ariani A, Micozzi D, et al. The effects of low voltage electrical stimulation on donkey meat [J]. Meat Science, 2016, 119(12): 160
- [2] Lorenzo J M, Sarriés M V, Tateo A, et al. Carcass characteristics, meat quality and nutritional value of horsemeat: A review [J]. Meat Science, 2014, 96(4): 1478-1488
- [3] Martinrosset W. Donkey nutrition and feeding: Nutrient requirements and recommended allowances: A review [J]. Journal of Equine Veterinary Science, 2018
- [4] 尤娟,罗永康,张岩春. 驴肉脂肪和脂肪酸组成特点及与其他畜禽肉的分析比较[J]. 食品科技, 2009, 34(2): 118-120  
YOU Juan, LUO Yong-kang, ZHANG Yan-chun. Analysis and comparison of fat and fatty acids composition in donkey meat with other livestock and poultry meat [J]. Food Science and Technology, 2009, 34(2): 118-120

- [5] Camillo F, Rota A, Biagini L, et al. "The current situation and trend of the donkey industry in Europe" [J]. *Journal of Equine Veterinary Science*, 2018
- [6] Rahman U U, Sahar A, Pasha I, et al. Assessing the capability of Fourier transform infrared spectroscopy in tandem with chemometric analysis for predicting poultry meat spoilage [J]. *PeerJ*, 2018, 6(1):e 5376
- [7] Rahman U U, Sahar A, Pasha I, et al. Augmenting quality and microbial safety of broiler meat at refrigeration storage by applying chemical interventions [J]. *Journal of Food Processing & Preservation*, 2016, 41(4)
- [8] Ng K R, Lyu X, Mark R, et al. Antimicrobial and antioxidant activities of phenolic metabolites from flavonoid-producing yeast: Potential as natural food preservatives [J]. *Food Chemistry*, 2019, 270: 123-129
- [9] 朱亚,刘晨.茶多酚和溶菌酶复配对冷鲜肉保鲜效果的影响[J].*山西农业科学*,2018,46(10):1722-1725  
ZHU Ya, LIU Chen. Effect of tea polyphenols and lysozyme on fresh-keeping of chilled meat [J]. *Shanxi Agricultural Science*, 2018, 46(10): 1722-1725
- [10] Russell A D. Mechanisms of bacterial resistance to non-antibiotics: Food additives and food and pharmaceutical preservatives [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 1991, 71(3): 191
- [11] Silva M M, Lidon F. Food preservatives - an overview on applications and side effects [J]. *Emirates Journal of Food & Agriculture*, 2016, 26(6): 366-373
- [12] Etemadi A, Sinha R, Ward M H, et al. Mortality from different causes associated with meat, heme iron, nitrates, and nitrites in the NIH-AARP diet and health study: Population based cohort study [J]. *BMJ*, 2017, 357: j1957
- [13] Varraso R, Jr C C. Processed meat consumption and lung health: More evidence for harm [J]. *European Respiratory Journal*, 2014, 43(4): 943
- [14] Fernández-Ginés J M, Sayas-Barberá E, Pérez-Alvarez J A. Meat products as functional foods: A review [J]. *Journal of Food Science*, 2010, 70(2): R37-R43
- [15] Silva F, Domingues F C. Antimicrobial activity of coriander oil and its effectiveness as food preservative [J]. *C R C Critical Reviews in Food Technology*, 2017, 57(1): 35-47
- [16] Liu Q, Meng X, Li Y, et al. Antibacterial and antifungal activities of spices [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, 18(6): 1283
- [17] Nabavi S F, Lorenzo A D, Izadi M, et al. Antibacterial effects of cinnamon: From farm to food, cosmetic and pharmaceutical industries [J]. *Nutrients*, 2015, 7(9): 7729-7748
- [18] 卢付青.天然香辛料提取物对冷却猪肉保鲜作用的研究[D].成都:西南民族大学,2016  
LU Fu-qing. Preservation effect of natural spice extracts on chilled pork [D]. Chengdu: Southwest University for Nationalities, 2016
- [19] GB/T 4789.2-2016,食品微生物学检验菌落总数测定[S]  
GB/T 4789.2-2016, Determination of total colonies in food microbiological tests [S]
- [20] 杨帆,李淑梅,杨晓,等.分光光度法与酶标仪微量法测量菌液浓度的比较[J].*光谱实验室*,2011,28(4):1752-1754  
YANG Fan, LI Shu-mei, YANG Xiao, et al. Comparison of spectrophotometric and enzyme-labeled microassays for bacterial concentration [J]. *Spectrum Laboratory*, 2011, 28(4): 1752-1754
- [21] Verena Hoerr, Wilma Ziebuhr, Svetlana Kozitskaya, et al. Laser-Induced fluorescence-capillary electrophoresis and fluorescence microplate reader measurement: Two methods to quantify the effect of antibiotics [J]. *Analytical Chemistry*, 2007, 79(19): 7510-7518
- [22] Yu P, Mei Y L, Zhou W. Design of experiments and regression modelling in food flavour and sensory analysis: A review [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2017, 71(1): 202-215
- [23] GB/T 5009.228-2016,食品中挥发性盐基氮的测定[S]  
GB/T 5009.228-2016, Determination of Volatile Base Nitrogen in Food [S]
- [24] 卞梦瑶.生姜油树脂的制备、抗氧化活性研究及其产品的研发[D].南京:南京农业大学,2014  
BIAN Meng-yao. Study on preparation, antioxidant activity and product development of ginger oleoresin [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2014
- [25] Hong L, Xiaole L, Qiaonian W, et al. Extraction and purification of ginger essential oil by supercritical carbon dioxide combined with microporous resin method [J]. *Current Topics in Nutraceutical Research*, 2016, 14(1): 59-66
- [26] 郭超,侯伟峰,范云鹏,等.响应面法优化丁香提取物的制备工艺[J].*黑龙江畜牧兽医*,2017,4:146-148  
GUO Chao, HOU Wei-feng, FAN Yun-peng, et al. Response surface methodology was used to optimize the preparation of clove extract [J]. *Heilongjiang Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2017, 4: 146-148