

包装内 CO₂ 含量对冷却肉特征微生物生长的影响

陈雯钰¹, 卢立新^{1,2}

(1. 江南大学, 无锡 214122; 2. 中国包装总公司食品包装技术与安全重点实验室, 无锡 214122)

摘要: 将来自冷却猪肉的混合菌种接种于液体培养基中, 采用不同 CO₂ 含量气调包装后, 于 5 ℃ 下贮藏。采用相应的选择性培养基测定其中假单胞菌属、肠杆菌科及乳酸菌 3 种特征微生物的生长规律, 同时测定了菌落总数的变化。结果表明: 兼性厌氧型微生物乳酸菌对气调包装内 CO₂ 含量变化不敏感; 气调包装内 CO₂ 对需氧微生物肠杆菌科微生物和假单胞菌属的最大比生长速($\mu_{\max}$) 存在抑制作用, CO₂ 含量越大, 抑制作用越强; 样品中菌落总数的变化也受到 CO₂ 含量的影响, 高浓度 CO₂ 会抑制菌落总数的增长速率; CO₂ 含量的变化对肠杆菌科和假单胞菌属生长速率及菌落总数的增长速率的影响, 可以通过一个 2 参数平方根方程进行很好地描述。

关键词: 气调包装; CO₂ 含量; 微生物; 冷却肉

中图分类号: TB485.2; TS206 文献标识码: A 文章编号: 1001-3563(2013)05-0005-05

Effect of CO₂ Concentration in Packaging on the Growth of Microorganism from Chilled Meat

CHEN Wen-yu¹, LU Li-xin^{1,2}

(1. Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Key Laboratory of Food Packaging Techniques and Safety of China National Packaging Corporation, Wuxi 214122, China)

Abstract: The mixed strains from chilled pork were inoculated into the liquid medium which was packaged with different concentration of CO₂. The samples were stored at 5 ℃ and the number of Pseudomonas, Enterobacteriaceae, Lactic acid bacteria and total number colonies were collected at different time during the storage. The results demonstrated that the concentration of CO₂ has little influence on Lactic acid bacteria since its facultative anaerobes; CO₂ concentration can effectively curb the maximal growth speed of Pseudomonas and Enterobacteriaceae; the higher the CO₂ concentration, the stronger the inhibition; high CO₂ concentration can curb the growth speed of total number of bacteria colony; the inhibition effect of CO₂ concentration on the growth speed of Pseudomonas and Enterobacteriaceae and the growth speed of total number of bacteria colony can be described by a two-parameter equation.

Key words: modified atmosphere packaging; concentration of CO₂; microorganism; chilled meat

冷却肉是人类膳食结构中极其重要的一个组成部分, 含有丰富的营养物质, 极易因微生物的感染与生长增殖造成肉品的腐败变质, 进而引发一些食品安全问题^[1]。微生物污染涉及到肉品从动物体屠宰分割乃至包装流通的全过程, 造就了冷却肉极其复杂的初始菌相。尽管冷却肉中微生物种类繁多, 并非所有微生物都会导致肉品的腐败变质, 只有部分或某种细菌参与腐败过程, 这一种或几种优势微生物就被认为

是冷却肉的特征腐败菌^[2]。研究表明, 能在低温下迅速生长的假单胞菌是有氧冷藏冷却肉的特征腐败菌, 而导致真空及气调包装冷却肉腐败的微生物则是乳酸菌^[3-4]。肠杆菌科微生物虽然初始数量较少, 但其作为食品安全的重要微生物, 也非常受关注^[5]。

易腐包装食品的保质期研究也就是肉中腐败微生物生长的研究, 探讨其生长动态可以帮助对食品的保质期进行有效地评估。预测食品微生物学建模多采用液体培养基中获得的实验数据作为基础, 使用液

收稿日期: 2013-01-10

作者简介: 陈雯钰(1989-), 女, 湖南人, 江南大学硕士生, 主攻食品包装技术与安全。

通讯作者: 卢立新(1966-), 男, 江苏人, 博士, 江南大学教授、博士生导师, 主要从事食品包装技术与安全、包装工艺与机械等研究。

体培养基能较容易地控制不同的影响因子,简便、快速,能在较短时间内获得建模所需的大量实验数据,且测定数值准确^[6]。

为了有效地延长冷却肉的保质期,冷却肉气调保鲜包装在国内外已得到了广泛应用^[7-8]。气调包装中的主要保鲜气体为 CO₂ 及 O₂,惰性气体 N₂ 则作为补充气体。其中,CO₂ 为气体抑菌剂,高浓度的 CO₂ 能阻碍大多数需氧微生物的生长繁殖,从而有效延长食品的包装腐败保质期,虽然国外对 CO₂ 抑菌作用的研究已有所涉及^[9-10],但是国内针对包装内 CO₂ 含量变化对微生物生长的影响模型研究还甚少。笔者以冷却猪肉含菌样液中的假单胞菌属、乳酸菌、肠杆菌科及菌落总数为微生物指标,探讨低温条件下有氧气调包装内不同 CO₂ 含量对这 4 种特征微生物的生长的影响,以期为冷却肉包装保质期的有效预测奠定理论基础。

1 实验

1.1 材料

原料肉:冷却猪里脊肉,购自无锡某大型超市,冰袋中保存,0.5 h 内运至实验室,3 ℃ 冷藏备用。

主要试剂:假单胞 cfc 选择性培养基(HB)、假单胞菌 cfc 选择性培养基添加剂(HB),购自西安罗森伯生物科技有限公司;平板计数琼脂培养基、MRS 培养基、VRBGA 培养基、牛肉膏、胰蛋白胨、NaCl 等,均为分析纯试剂,购自国药集团化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器与设备

复合气调保鲜包装一体机,苏州德森包装机械有限公司;SPX-150B-Z 生化培养箱,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;SW-CJ-1G 单人单面净化工作台,苏净净化设备有限公司;6600 顶空气体分析仪, Illinois Instruments;SYQ-DSX-280B 手提式压力蒸汽灭菌锅,上海申安医疗器械厂;POX-300DS 多段可编程人工气候箱,宁波东南仪器有限公司;SCIENTZ-09 无菌均质器,宁波新菱生物科技股份有限公司。

1.3 方法

1.3.1 样品制备

称取肉块表面 25 g,无菌剪子剪碎,加入 225 mL 无菌生理盐水,均质器均质 4 min 后,无菌吸取 10 mL 含菌样品匀液于 1000 mL 无菌营养肉汤液体培养基中。

取 100 mL 含菌营养肉汤液体培养基于无菌 PP 托盘里,对其进行气调包装,保持 O₂ 体积分数为 20%,CO₂ 体积分数分别为 0.0%,20.0%,47.0%,64.0% 和 80.0%,N₂ 则作为调整及补充气体。气样比为 4:1,高阻隔性 PET/Al/ONY/PE 复合膜密封。样品存储于 5 ℃ 冷藏柜内。

1.3.2 特征微生物计数

包装样品摇匀后,无菌注射器吸取 1 mL 样液进行系列梯度稀释,取 3 个适宜稀释度,每个稀释度 2 个重复,采用选择性培养基进行假单胞菌属、乳酸菌、肠杆菌科及菌落总数平板计数,具体培养基及培养条件见表 1。

表 1 各特征微生物的选择性培养基及培养条件
Tab.1 The selective culture medium and growth conditions for specific organisms

种类	选择性培养基	培养条件
细菌总数	平板计数琼脂(PCA)	37 ℃/48 h
假单胞菌属	CFC	25 ℃/48 h
乳酸菌	MRS	37 ℃/48 h,无氧
肠杆菌科	VRBGA	37 ℃/48 h

1.3.3 数据处理

通过 Matlab 2011b 软件,用 Baranyi 模型^[11]对各组获得的 3 种特征微生物生长数据及菌落总数变化数据进行拟合,得到各特征微生物生长动力学参数。并使用相关系数 R^2 值和均方根误差 RMSE 评价模型拟合的表现。

$$y(t)=y_0+\mu_{\max}F(t)-\ln\left(1+\frac{e^{\mu_{\max}F(t)}-1}{e^{(y_{\max}-y_0)}}\right)$$

$$F(t)=t+\frac{1}{v}\ln(e^{-vt}+e^{-h_0}-e^{(-vt-h_0)})$$

式中: $y(t)$ 为 t 时的微生物数量($\ln(\text{CFU/mL})$); y_0 为初始微生物数量($\ln(\text{CFU/mL})$); $y_{\max}$ 为最大微生物数量($\ln(\text{CFU/mL})$); $\mu_{\max}$ 为微生物生长的最大比生长速率(h^{-1}); v 为限定基质的增长速率,等于 $\mu_{\max}$; $h_0=\mu_{\max}\lambda$; t 为时间(h)。

2 结果与分析

平板计数得到不同 CO₂ 含量包装内假单胞菌属、肠杆菌科、乳酸菌及菌落总数变化的 $t-\ln N$ 曲线,见图 1。

由图 1 可以看出,4 种微生物均呈较为典型的 S

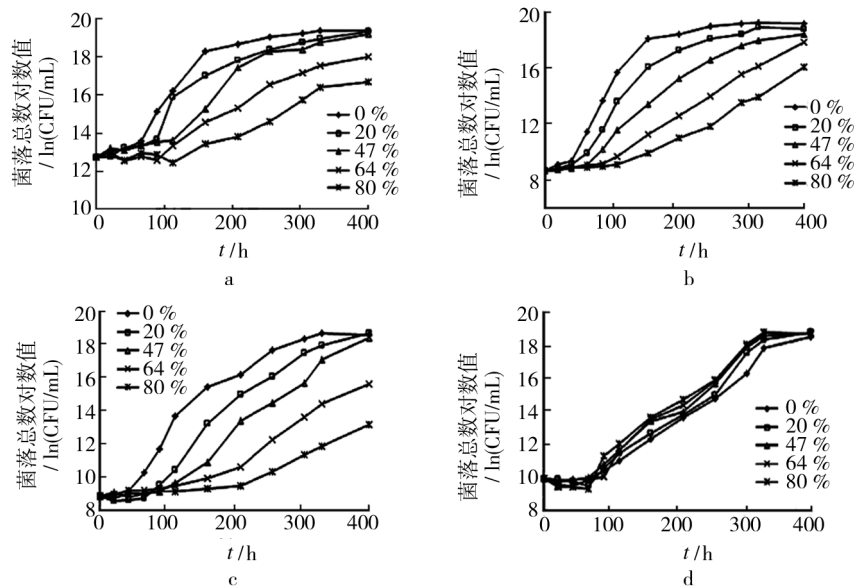


图 1 不同 CO₂ 含量包装内各特征微生物的生长曲线

Fig. 1 The growth curves of specific organisms under different CO₂ concentration in package

型生长。贮藏初期,微生物的生长均保持较平缓,说明生长环境的转换使其生长进入迟滞期。包装内 CO₂ 含量的变化对菌落总数、肠杆菌科微生物及假单胞菌属的生长变化曲线均产生了较为显著的影响,而

不同 CO₂ 含量下乳酸菌的生长曲线则差异不大。

采用 Baranyi 模型对微生物数据进行拟合,得到其生长动力学参数及模型拟合表现评价参数,见表 2。

表 2 不同 CO₂ 含量下冷却肉特征微生物的生长动力学参数

Tab. 2 The growth kinetics parameters of specific organisms under different CO₂ concentration in package

微生物	CO ₂ 体积分数 /%	N_0 / ln(CFU/mL)	$\mu_{\max}$ /h ⁻¹	λ /h	$N_{\max}$ / ln(CFU/mL)	R^2	RMSE
菌落 总数	0	13.03	0.093 83	74.60	19.05	0.9852	0.3801
	20	12.98	0.081 19	86.22	18.55	0.9610	0.5887
	47	13.14	0.056 01	124.98	18.72	0.9904	0.2850
	64	12.83	0.046 50	150.54	17.54	0.9695	0.4166
	80	12.86	0.031 57	221.73	18.55	0.9161	0.4765
假单胞 菌属	0	8.966	0.107 10	46.69	18.87	0.9941	0.3714
	20	8.969	0.081 02	61.71	18.32	0.9872	0.5345
	47	9.023	0.056 72	88.15	17.80	0.9827	0.5752
	64	8.957	0.040 42	123.70	16.91	0.9914	0.3306
	80	8.895	0.031 50	158.73	16.94	0.9936	0.2350
肠杆菌科	0	9.353	0.094 11	74.38	17.81	0.9536	0.9579
	20	8.941	0.065 11	107.51	17.73	0.9752	0.7096
	47	9.154	0.048 72	143.68	18.01	0.9788	0.5788
	64	9.288	0.036 36	192.52	18.31	0.9679	0.4765
	80	9.053	0.029 04	241.05	17.43	0.9711	0.2560
乳酸菌	0	10.08	0.043 28	115.53	17.92	0.9646	0.6948
	20	10.03	0.041 96	119.16	18.94	0.9820	0.5281
	47	10.17	0.043 89	113.92	18.81	0.9787	0.6141
	64	9.90	0.046 23	108.15	18.76	0.9790	0.6010
	80	9.99	0.047 39	105.51	18.66	0.9623	0.8058

由表 2 可见,利用 Baranyi & Roberts 模型能很好地描述本试验中 4 种微生物生长的 S 形曲线,所得到的相关系数 R^2 值较高,均在 0.9 以上,均方根误差 RMSE 均较小(<1),说明 Baranyi & Roberts 模型能很好而较为精确地描述本实验中微生物生长。

比较模型拟合所得 4 种微生物在不同 CO_2 含量包装内的生长参数,并对 CO_2 含量变化及 4 种微生物的 $\mu_{\max}$ 进行方差分析。发现随着包装内 CO_2 含量的升高,菌落总数、假单胞菌属和肠杆菌科微生物的 $\mu_{\max}$ 均出现明显的降低, CO_2 含量对 3 种需氧型微生物的 $\mu_{\max}$ 均产生了显著影响($P<0.05$)。而比较乳酸菌在不同 CO_2 含量包装内的生长数据可以发现,乳酸菌对 CO_2 含量的变化并不敏感, $\mu_{\max}$ 由 0.0% 时的 0.043 28 h^{-1} 先降低至 20% 的 0.041 96 h^{-1} ,然后再随着 CO_2 含量的升高而升高,当 CO_2 含量为 80% 时,其 $\mu_{\max}$ 升高为 0.047 39 h^{-1} 。乳酸菌为兼性厌氧型微生物,有关 CO_2 对其生长的影响研究结果并不一致^[12]。试验结果表明, CO_2 对乳酸菌的生长影响不大($P>0.05$),只有轻微的促进作用。分析其原因可能有 2 个方面:一是乳酸菌的代谢类型使得其能够在有氧和

无氧的环境下生存,且对 CO_2 相对不敏感;二是样品菌系中大量需氧型微生物生长受到 CO_2 的抑制,使得乳酸菌受到的菌间竞争作用减弱, CO_2 含量越大,对大多数微生物的抑制作用越强,因而从另一个侧面为乳酸菌提供了更好的生存条件,促进了其生长繁殖。

Paw Dalgaard^[13]提出 CO_2 对包装鱼肉中的磷发光杆菌 $\mu_{\max}$ 的影响可以通过一个 2 参数平方根模型来描述:

$$\sqrt{\mu_{\max}} = b(\varphi_{\text{CO}_2, \max} - \varphi_{\text{CO}_2})$$

式中: b 为方程常数; $\mu_{\max}$ 为微生物生长的最大比生长速率; φ_{CO_2} 为 CO_2 体积分数; $\varphi_{\text{CO}_2, \max}$ 为 $\mu_{\max}$ 理论为 0 时的 CO_2 体积分数。

采用该 2 参数平方根模型描述本文中 CO_2 含量对菌落总数、假单胞菌属和肠杆菌科微生物的 $\mu_{\max}$ 的影响,见图 2。由图 2 可见,包装内 CO_2 体积分数在 0 ~ 80% 范围内变化时,与菌落总数、假单胞菌属以及肠杆菌科微生物的 $\mu_{\max}$ 之间呈现了良好的线性关系,3 种特征微生物 $\mu_{\max}$ 的平方根方程及拟合相关系数见表 3。由表 3 可知,菌落总数、假单胞菌属和肠杆菌科微生物对应的理论最高 CO_2 体积分数依次为 194.68%,

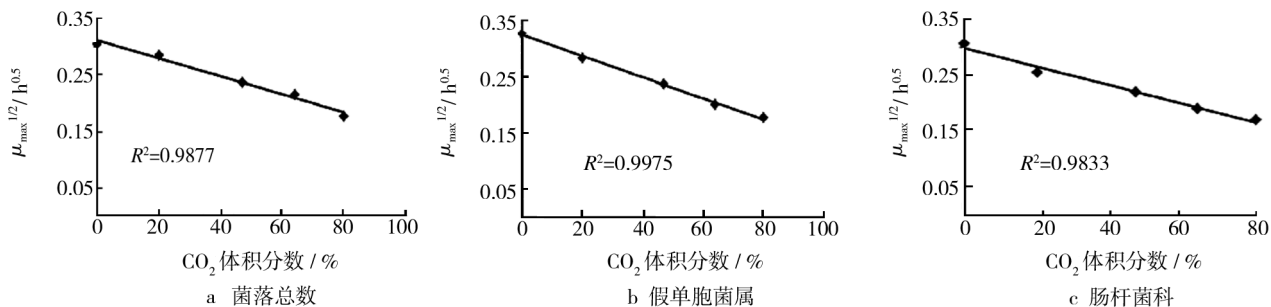


图 2 CO_2 含量对特征微生物 $\mu_{\max}$ 的影响

Fig. 2 The effect of CO_2 concentration on the $\mu_{\max}$ of specific spoilage organisms

表 3 CO_2 平方根方程拟合及相关系数

Tab.3 Square root equation and correlation coefficients of CO_2 concentration

特征微生物	CO_2 平方根方程	相关系数 R^2
菌落总数	$\mu_{\max}^{1/2} = 0.0016 \times (194.68 - \varphi_{\text{CO}_2})$	0.9877
假单胞菌属	$\mu_{\max}^{1/2} = 0.0019 \times (171.05 - \varphi_{\text{CO}_2})$	0.9975
肠杆菌科	$\mu_{\max}^{1/2} = 0.0017 \times (170.35 - \varphi_{\text{CO}_2})$	0.9833

171.05% 和 170.35%。模型拟合的相关系数都在 0.98 以上,因此说明平方根模型能很好地描述出 CO_2 含量对研究中冷却肉菌落总数、假单胞菌属及肠杆菌科微生物生长动力学参数的影响。

3 结论

CO_2 是气调包装中最主要的保鲜气体,在有氧气调包装中,包装内 CO_2 含量的变化对冷却肉菌落总数、假单胞菌属和肠杆菌科微生物的生长存在一定的影响。 CO_2 含量越高,对 3 种微生物 $\mu_{\max}$ 的抑制作用越强,且 CO_2 含量与 3 种特征微生物 $\mu_{\max}$ 的关系可以用一个 2 参数平方根模型来很好地描述。冷却肉贮藏时, $\mu_{\max}$ 是微生物生长的主要参数,与产品货架期密切相关,所以实现 CO_2 对冷却肉特征微生物 $\mu_{\max}$ 的模

型研究,对于预测其包装保质期具有重要的意义。冷却肉中乳酸菌为兼性厌氧型微生物,对 CO₂ 的抑菌作用并不敏感。

参考文献:

- [1] 李扬,高珊珊,刘光发,等. 抑菌纤维素膜包装对鲜猪肉品质的影响研究[J]. 包装工程,2012,33(11):5-9.
LI Yang, GAO Shan-shan, LIU Guang-fa, et al. Study on Quality Impact of Fresh Pork Packaged by Antibacterial Cellulose Film[J]. Packaging Engineering, 2012, 33(11):5-9.
- [2] 赵光辉,赵改名,刘蓉,等. 预测微生物学的研究进展[J]. 微生物学杂志,2010,30(4):76-82.
ZHAO Guang-hui, ZHAO Gai-ming, LIU Rong, et al. Advancement of Predictive Microbiology[J]. Journal of Microbiology, 2010, 30(4):76-82.
- [3] 马丽珍,南庆贤,戴瑞彤. 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.
MA Li-zhen, NAN Qing-xian, DAI Rui-tong. Microflora Changes of Chilled Pork Packaged in Different Modified Atmosphere Packages[J]. Transactions of the CSAE, 2004, 20(4):160-164.
- [4] 江芸,高峰,徐幸莲,等. 真空包装冷却猪肉冷藏过程中菌相变化[J]. 食品科学,2011,32(4):241-245.
JIANG Yun, GAO Feng, XU Xing-lian, et al. Microfloral Change of Vacuum-packaged Pork during Chilled Storage[J]. Food Science, 2011, 32(4):241-245.
- [5] 陆苏飏. 食品中肠杆菌科检测的发展趋势[J]. 中国食品工业,2003(11):56-57.
LU Su-biao. New Trend of Food Testing[J]. DFI, 2003(11):56-57.
- [6] 李柏林,郭剑飞,欧杰. 预测微生物学数学建模的方法构建[J]. 食品科学,2004,25(11):52-57.
LI Bai-lin, GUO Jian-fei, OU Jie. Research Approach of Microbial Modeling on Predictive Microbiology[J]. Food Science, 2004, 25(11):52-57.
- [7] 黄俊彦,韩春阳,姜浩. 气调保鲜包装技术的应用[J]. 包装工程,2007,28(1):44-48.
HUANG Jun-yan, HAN Chun-yang, JIANG Hao. Applications of Modified Atmosphere Packaging Technology[J]. Packaging Engineering, 2007, 28(1):44-48.
- [8] 任清杰,王建清,金政伟. 低温气调包装对鲜猪肉保鲜效果的影响研究[J]. 包装工程,2012,33(9):33-36.
REN Qing-jie, WANG Jian-qing, JIN Zheng-wei. Research on Influence of Modified Atmosphere Packaging on Fresh-keeping Effect of Fresh Pork in Low Temperature[J]. Packaging Engineering, 2012, 33(9):33-36.
- [9] DALGAARD Paw, MEJLHOLM Ole, HUSS Hans Henrik. Application of an Iterative Approach for Development of a Microbial Model Predicting the Shelf-life of Packed Fish[J]. International Journal of Food Microbiology, 1997, 38:169-179.
- [10] EMBORG Jette, DALGAARD Paw. Modelling the Effect of Temperature, Carbon Dioxide, Water Activity and pH on Growth and Histamine Formation by *Morganella Psychrotolerans*[J]. International Journal of Food Microbiology, 2008, 128:226-233.
- [11] JUNEJA Vijay K, MELENDRES Mattin Valenzuela, HUANG Li-han, et al. Mathematical Modeling of Growth of *Salmonella* in Raw Ground Beef under Isothermal Conditions from 10 to 45 °C [J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 131:106-111.
- [12] 姚春艳,吴槟,李晓东. 溶解 CO₂ 对原料乳中主要腐败微生物生长参数的影响[J]. 东北农业大学学报,2008,39(6):107-111.
YAO Chun-yan, WU Bin, LI Xiao-dong. Impact of Carbon Dioxide Solution on Major Spoilage Microorganism Growth Parameters in Raw Milk[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2008, 39(6):107-111.
- [13] DALGAARD Paw. Modelling of Microbial Activity and Prediction of Shelf Life for Packed Fresh Fish[J]. International Journal of Food Microbiology, 1995, 26(3):305-317.