

分类号:
学号: 20212111045

密级: 内部1年
单位代码: 10759

石河子大学

硕士学位论文



即食牛排的关键工艺及保鲜技术研究

学位申请人	周悦
指导教师	卢士玲教授
申请学位类别	专业硕士
专业名称	食品加工与安全
研究领域	畜产品加工与质量安全控制
所在学院	食品学院

中国·新疆·石河子
2024年3月

分类号：
学号：20212111045

密级：内部1年
单位代码：10759

石河子大学

硕士学位论文



即食牛排的关键工艺及保鲜技术研究

学位申请人	周悦
指导教师	卢士玲教授
申请学位类别	专业硕士
专业名称	食品加工与安全
研究领域	畜产品加工与质量安全控制
所在学院	食品学院

中国·新疆·石河子

2024年3月

**Research on key process and preservation technology of
ready-to-eat steak**

A Dissertation Submitted to

Shihezi University

In Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

Master of Agriculture

By

Zhou Yue

(Animal product processing and quality safety control)

Dissertation Supervisor: Prof. Lu Shi-ling

March, 2024

石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

学位论文独创性声明

本人所提交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名：周悦

时间：2024年5月16日

使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：周悦

时间：2024年5月16日

导师签名：李一平

时间：2024年5月17日

摘要

为研发即食牛排产品, 本实验以新疆褐牛的牛背最长肌为原料, 通过单因素实验和正交实验, 确定了即食牛排的最佳嫩化工艺、腌制剂的最佳配方以及最佳熟制方式。研究了分别于 25 °C 和 4 °C 下贮藏的真空包装即食牛排品质的变化, 并同时通过传统微生物培养法和 PCR-DGGE 技术研究即食牛排中微生物的多样性。然后筛选出几种天然保鲜剂复配并应用到即食牛排的保鲜中, 通过对 pH、TBA、TVB-N、菌落总数、大肠菌群及感官评价等测定, 判定复配保鲜剂的保鲜效果。主要工作及研究结果如下:

(1) 对氯化钙、复合磷酸盐、木瓜蛋白酶和滚揉时间进行了单因素和正交实验, 以剪切力、MFI 和蒸煮损失为指标, 确定了即食牛排的最佳嫩化工艺为氯化钙 0.3%, 复合磷酸盐 0.4%, 木瓜蛋白酶 0.08%, 滚揉时间 60 min; 以感官评分为指标, 对食盐、白砂糖、黑胡椒粉、五香粉和料酒进行单因素和正交实验, 确定了即食牛排腌制剂的最优配方为食盐 1.2%, 白糖 1.4%, 黑胡椒粉 0.25%, 五香粉 0.35%, 料酒 1.4%; 以感官评分为指标, 综合剪切力、蒸煮损失、质构、肉色, 对煎制、烤制和先煎制后烤制进行单因素实验, 煎制样品的感官评分显著高于烤制和先煎制后烤制组的样品 ($P < 0.05$), 确定了最佳熟制方式为煎制 5 min。

(2) 25 °C 和 4 °C 贮藏期间, 即食牛排的 TVB-N 值、TBA 值、菌落总数、大肠菌群、L* 和 b* 值呈现增长趋势, pH 值、a* 值和感官评分逐渐下降。25 °C 贮藏的即食牛排菌落总数在第 11 d 达到贮藏终点, 大肠菌群在第 9 d 达到贮藏终点; 而 4 °C 贮藏的即食牛排则在第 16 d 达到贮藏终点, 4 °C 贮藏比 25 °C 贮藏的保质期延长了 5-7 d。

(3) 采用传统微生物法和 PCR-DGGE 技术分别分析了于 25 °C 和 4 °C 下贮藏的即食牛排中微生物多样性并鉴定优势腐败菌。结果传统方法分离鉴定出 12 种菌, 肠杆菌和乳酸菌属占比较大; PCR-DGGE 结果表明, 优势腐败菌为紫色杆菌属 (*Janthinobacterium sp.*) 和假单胞菌属 (*Pseudomonas sp.*)。

(4) 选取乳酸链球菌素 (Nisin)、纳他霉素、溶菌酶、茶多酚和壳聚糖等 5 种天然保鲜剂对 *Janthinobacterium sp.*、*Proteus penneri*、*Enterobacter hormaechei*、*Bacillus subtilis*、*Acinetobacter calcoaceticus*、*Leuconostoc citreum*、*Weissella viridescens* 和 *Klebsiella grimontii* 等 8 种菌的抑制作用进行研究, 采用抑菌圈进行初步筛选, 结果表明 Nisin、溶菌酶和茶多酚 3 种保鲜剂的抑菌效果较好。进一步测定最小抑菌浓度, 然后将 3 种保鲜剂分别进行两两复配和 3 种一起复配, 结果 Nisin、溶菌酶和茶多酚 (1:1:1/w:w:w) 复配组对 8 种菌均有较好抑菌效果。对添加保鲜剂后的即食牛排品质及微生物动态变化进行测定, 结果复配保鲜剂的添加显著延缓了即食牛排品质变化的速度, 抑制了 *Janthinobacterium sp.* 和 *Pseudomonas sp.* 的生长, 有效地将 4 °C 贮藏的即食牛排的保质期延长了 47 d 左右。

关键词: 即食牛排; 品质变化; 天然复配保鲜剂; 微生物多样性

Abstract

To develop a ready-to-eat steak product, this experiment uses the longissimus dorsi muscle of Xinjiang brown cattle as the raw material. Through single factor experiments and orthogonal experiments, the best tenderization process, the best marinade formula and the best cooking method for ready-to-eat steaks were determined. The changes in the quality of vacuum-packaged ready-to-eat steaks stored at 25 °C and 4 °C were studied. The microbial diversity in the ready-to-eat steaks was also studied through traditional microbial culture methods and PCR-DGGE technology. Then several natural preservatives were screened out and applied to the preservation of ready-to-eat steaks. By measuring pH, TBA, TVB-N, total bacterial colonies, coliforms and sensory evaluation, the complexness was determined. The preservation effect of preservatives was measured. The main work and research results are as follows:

(1) Single factor and orthogonal experiments were conducted on calcium chloride, complex phosphate, papain and tumbling time, and the shear force, MFI and cooking loss were used as indicators to determine the quality of ready-to-eat steak. The optimal tenderization process is 0.3 % calcium chloride, 0.4 % compound phosphate, 0.08 % papain, rolling and kneading for 60 minutes. Using sensory scores as indicators, single factor and orthogonal experiments were conducted on salt, white sugar, black pepper, five-spice powder and cooking wine, and the optimal formula of ready-to-eat steak marinade was determined to be 1.2 % salt and 1.4 % white sugar, black pepper 0.25 %, allspice 0.35 %, cooking wine 1.4 %.

Using the sensory score as an indicator, a single-factor experiment was conducted on frying, baking, and frying first and then baking based on shear force, cooking loss, texture, and meat color. The sensory score of the fried sample was significantly higher than that of the roasted sample. The best cooking method was determined to be frying for 5 minutes ($P < 0.05$).

(2) During storage at 25 °C and 4 °C, the TVB-N, TBA, total bacterial colony count, coliform group, L^* and b^* values of ready-to-eat steak showed an increasing trend, while the pH value, a^* value and sensory score gradually decreased. The total number of colonies of ready-to-eat steaks stored at 25 °C reached the storage end point on the 11th day, and the coliform group reached the storage endpoint on the 9th day; while the ready-to-eat steaks stored at 4 °C reached the storage endpoint on the 16th day, and storage at 4 °C was better than storage at 25 °C. The shelf life is extended by 5 to 7 days.

(3) The diversity and dynamic changes of microorganisms in ready-to-eat steaks stored at 25 °C and 4 °C were analyzed using traditional microbiological methods and PCR-DGGE technology, and the main spoilage bacteria were identified. Results: 12 species of bacteria were isolated and identified by traditional methods, with *Enterobacter* and *Lactobacillus* accounting for a large proportion; PCR-DGGE combined with 16S rDNA sequencing results showed that the main spoilage bacteria were *Janthinobacterium sp.* and

Pseudomonas sp. .

(4) Five natural preservatives including nisin (Nisin), natamycin, lysozyme, tea polyphenols and chitosan were selected to treat *Janthinobacterium sp.*, *Proteus penneri*, *Enterobacter hormaechei*, *Bacillus subtilis*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Leuconostoc citreum*, The inhibitory effects of 8 species of bacteria, including *Weissella viridescens* and *Klebsiella grimontii*, were studied, and inhibition zones were used for preliminary screening. The results showed that three preservatives, Nisin, lysozyme and tea polyphenols, had better antibacterial effects. The minimum inhibitory concentration was further measured, and then the three preservatives were compounded in pairs or together. Results: The compound group of Nisin, lysozyme and tea polyphenols (1:1:1/w:w:w) had good antibacterial effect on 8 species of bacteria. Determination of the quality and dynamic changes of microorganisms in ready-to-eat steak after adding preservatives. Results The addition of compound preservatives significantly delayed the quality change of ready-to-eat steaks, inhibited the growth of *Janthinobacterium sp.* and *Pseudomonas sp.*, and effectively extends the shelf life of ready-to-eat steaks stored at 4 °C by about 47 days.

Key words: ready-to-eat steak; quality changes; natural compound preservative; microbial diversity.

目录

摘 要.....	I
Abstract.....	II
第 1 章 综 述.....	1
1.1 牛肉及牛排的研究现状.....	1
1.1.1 牛肉的研究现状.....	1
1.1.2 牛排的研究现状.....	2
1.2 牛排中优势腐败菌的研究.....	4
1.3 牛排保鲜技术的研究现状.....	5
1.3.1 物理保鲜技术.....	5
1.3.2 化学保鲜技术.....	6
1.3.3 生物保鲜技术.....	7
1.3.4 栅栏技术.....	8
1.4 研究目的与意义.....	9
1.5 主要研究内容.....	9
1.6 技术路线.....	9
第 2 章 即食牛排的工艺优化.....	11
2.1 实验材料及仪器设备.....	11
2.1.1 材料与试剂.....	11
2.1.2 仪器与设备.....	11
2.2 实验方法和内容.....	12
2.2.1 加工处理流程.....	12
2.2.2 嫩化工艺的优化.....	13
2.2.3 腌制剂配方的优化.....	15
2.2.4 熟制工艺的优化.....	18
2.2.5 数据处理.....	19
2.3 结果与分析.....	19
2.3.1 嫩化工艺的优化.....	19
2.3.2 即食牛排腌制剂配方的优化.....	25
2.3.3 熟制方式对即食牛排品质的影响.....	30
2.4 小结.....	35

第 3 章 不同贮藏温度对即食牛排品质的影响.....	36
3.1 实验材料与仪器设备.....	36
3.1.1 材料与试剂.....	36
3.1.2 仪器与设备.....	36
3.2 实验方法与内容.....	37
3.2.1 即食牛排取样.....	37
3.2.2 pH.....	37
3.2.3 硫代巴比妥酸 (TBA)	37
3.2.4 挥发性盐基氮 (TVB-N)	38
3.2.5 肉色.....	38
3.2.6 菌落总数.....	39
3.2.7 大肠菌群.....	39
3.2.8 感官评定.....	39
3.2.9 数据收集及统计分析.....	39
3.3 结果与分析.....	39
3.3.1 不同贮藏温度对即食牛排 pH 的影响.....	39
3.3.2 不同贮藏温度对即食牛排 TBA 的影响.....	40
3.3.3 不同贮藏温度对即食牛排 TVB-N 的影响.....	42
3.3.4 不同贮藏温度对即食牛排肉色的影响.....	43
3.3.5 不同贮藏温度对即食牛排菌落总数的影响.....	44
3.3.6 不同贮藏温度对即食牛排大肠菌群的影响.....	44
3.3.7 不同贮藏温度对即食牛排感官的影响.....	45
3.4 小结.....	46
第 4 章 即食牛排贮藏期间微生物多样性研究.....	47
4.1 实验材料与仪器设备.....	47
4.1.1 材料与试剂.....	47
4.1.2 仪器与设备.....	47
4.2 实验方法与内容.....	48
4.2.1 取样.....	48
4.2.2 优势腐败菌的分离与鉴定.....	48
4.2.3 PCR-DGGE 观察微生物动态变化.....	50
4.2.4 数据处理.....	51
4.3 结果与分析.....	51
4.3.1 优势腐败菌的分离鉴定.....	51

4.3.2 PCR-DGGE 鉴定结果.....	54
4.4 小结.....	57
第 5 章 天然保鲜剂的筛选及在即食牛排中的应用研究.....	58
5.1 实验材料与仪器设备.....	58
5.1.1 材料与试剂.....	58
5.1.2 仪器与设备.....	58
5.1.3 实验方法与内容.....	58
5.1.4 数据处理.....	61
5.2 结果与分析.....	61
5.2.1 天然保鲜剂抑菌活力的初筛.....	61
5.2.2 不同浓度保鲜剂的抑菌效果.....	63
5.2.3 3 种天然保鲜剂对受试菌的 MIC.....	66
5.2.4 复配保鲜剂对受试菌株的抑菌效果.....	66
5.2.5 复配保鲜剂对 pH 的影响.....	68
5.2.6 复配保鲜剂对硫代巴比妥酸的影响.....	70
5.2.7 复配保鲜剂对挥发性盐基氮的影响.....	70
5.2.8 复配保鲜剂对感官评价的影响.....	70
5.2.9 复配保鲜剂对菌落总数的影响.....	72
5.2.10 复配保鲜剂对大肠菌群的影响.....	73
5.2.11 复配保鲜剂对微生物动态变化的影响.....	74
5.3 小结.....	77
第 6 章 结论与创新点.....	79
6.1 结论.....	79
6.2 创新点.....	80
参考文献.....	81
致 谢.....	94
作 者 简 介.....	95

第 1 章 综述

1.1 牛肉及牛排的研究现状

牛肉的研究现状

牛肉在全世界范围内的生产量和消费量大,如今在中国是第二大肉类食品,仅次于猪肉。我国牛肉的进口量在逐年增长,2021年进口量增加到233万吨,较2020年增长约9.91%;2022年进口量增加到269万吨,较2021年增长约为15.45%,而2023年进口量增加到了274万吨,虽然较去年只增长了1.86%,但上升仍为主要趋势,且在2022年12月进口主要商品量值表(人民币值)中牛肉进口量已超越猪肉,成为我国最大的肉类进口品种^[1-6]。牛肉具有独特的感官性质和极高的营养价值,富含人体所需的多种营养成分,例如维生素B6、肉毒碱、锌、铁等,这些营养成分能提高机体抗病能力,还具有促进细胞氧气供应,加速脂肪分解,增强代谢活动的功能,且牛肉中氨基酸组成也比其他肉类更接近于人体的需要^[7-10]。因为牛肉存在的上述优点,以及人们生活水平提高后不再受消费能力的制约,其消费量在快速增长,围绕牛肉进行的研究也在逐年增加。

主要可分为以下几类:(一)不同地区牛肉品质的差异以及牛不同部位品质的差异。例如李涛、杨光维等对新疆不同地区的褐牛进行研究,结果尼勒克县牛肉的营养成分及氨基酸含量更高^[11];李慧等研究了西门塔尔牛肉的不同部位的理化品质,发现其外脊、眼肉的肌肉脂肪含量高于其他部位^[12]。(二)不同类型牛肉产品的研发。如杨胜远等探讨了即食潮式牛肉丸的配方^[13];朱守朋研制了速冻黑椒牛肉,一种可工厂标准量化生产,安全,贮藏期长的新型方便菜肴^[14]。(三)各种加工工艺对牛肉营养和品质的影响。采用传统的烤、煎、炸方式时,牛肉品质与温度和时间密切相关,温度过高或时间过长均会导致品质变差,所以要在一定范围内对其进行控制^[15];ASHIE等研究表明木瓜蛋白酶和微生物酶能使肉嫩度有效提高25%至30%,并且不受肉类加工中经常遇到的pH、盐、磷酸盐和抗坏血酸盐浓度的不利影响^[16]。(四)引起牛肉腐败变质的原因及腐败临界期。张秀凤等将冷鲜牛肉保存于1~4℃,并每两天取样指标测定,得出冷鲜牛肉腐败临界期为9d^[17]。(五)牛肉中腐败菌的分离鉴定。甯雨莽等采用稀释涂布平板和划线分离法从市售笋子烧牛肉中纯化得到金黄色葡萄球菌、苏云金芽孢杆菌、暹罗芽孢杆菌等菌^[18];Pennacchia等为了在物种水平上研究与牛肉腐败相关的微生物群,采用培养独立和培养依赖相结合的方法来分析4℃下在空气中

或真空包装中储存的九种不同的牛肉样品, 结果真空包装降低了嗜热丝球菌、假单胞菌属的活菌数, 但真空包装主要影响活菌数, 不一定影响肉上微生物种群的物种多样性^[19]。(六) 如何有限延长牛肉的保鲜期。Ben 等从紫球藻菌株中提取出硫酸化胞外多糖 (EPS), 并研究了 0.5 %、1 % 和 2 % 的 EPS 对冷藏牛肉糜的微生物和化学效应, 结果表明 2 % 的胞外多糖降低了高铁肌红蛋白和羰基的积累, 对微生物的增殖有更好的抑制作用^[20]; Júnior 等以玉米淀粉、线性低密度聚乙烯和柠檬酸为原料, 研究了活性包装对牛肉的力学性能、抗氧化和抗菌效果^[21]。

牛排的研究现状

牛排加工工艺的研究现状

随着牛排消费量的快速增长, 消费者对其肉质风味等的要求也越来越高, 所以近几年围绕牛排进行的研究主要在工艺优化和保鲜方面。工艺方面的优化主要分为对原料肉的品质改善; 通过添加嫩化剂、其他腌制剂或物理手段滚揉、捶打、超声等使肉嫩化; 还有采用煎、烤、微波等不同的烹饪方式使牛排风味得到优化; 以及合适的包装工艺、杀菌工艺使牛排的储存时间得以延长。刘树萍等以牛肉为原料, 研究出真空慢煮牛肉嫩度最好, 且烹饪损失最少^[9]。M.Berto 等探索不同牛排厚度、品质等级和烹饪表面温度, 发现牛排厚度和烤架温度会影响牛肉的主要风味属性^[22]; 查恩辉等采用单因素及响应面法确定了红酒牛排的最佳配方^[23]; Jegede O.B. 等研究了使用不同烹调方法后牛排中多环芳烃、杂环芳烃和花生四烯酸、亚油酸等必需脂肪酸及胆固醇等质量属性, 研究表明油炸会增加牛排中杂环芳烃、多环芳烃和胆固醇的含量, 而烘烤会减少它们的形成^[24]。例如 Galindres 等对以碎牛肉为原料, 海藻酸钠为结合剂制备的充足牛排使用了麦芽糊精包合物 (DRM), 结果 DRM 提高了重组牛排的蒸煮得率^[25]。周秀丽等采用响应面法优化调理牛排的腌制液, 显著提高了牛排的综合品质^[26]。

牛排的风味品质得到保证后, 消费者对其安全性的要求也愈渐提高。而新鲜牛排水分含量多、水分活性较高, 导致其极易发生腐败变质, 这不仅会导致经济上的损失与环境污染, 更加严重的是会危及人们的健康, 所以技术人员们在研发各种产品的同时也对其进行了保鲜方面的研究。例如通过改善包装方式, 采用更好的包装材料, 对包装内的填充气体配比进行优化; 或者在不影响牛排品质的前提下, 调试不同的杀菌温度、杀菌时间; 还有添加一些不会影响牛排风味的保鲜剂等。例如刘泽超等以牛背最长肌牛排为对象, 研究了高浓度二氧化碳气调包装对其品质和货架期的影响, 结果此类包装能显著降低乳酸菌和肠杆菌数量^[27]; Huixuan Yang 等研究了一种源自牛肉的清酒乳杆菌 (RS-25) 在 4 °C 下储存 12 d 期间对外包装牛排腐败变质的生物抑制作用, 结果表明这种菌株对食用品质的影响微弱, 且在前 6 d 对鼠伤寒沙门氏菌和热杀索丝

菌的生长有抑制作用^[28]；魏文婧用低能电子束处理冷鲜牛排抑制了其微生物的生长，延长了冷鲜牛排货架期^[29]；Wang 等用静磁场辅助解冻冷冻的牛排，发现其可明显缩短解冻时间，降低牛排在解冻过程中的损失和脂肪氧化程度^[30]。

即食牛排的研究进展

牛肉类即食产品中风干牛肉、牛肉酱、牛肉干、牛肉香肠和卤牛肉等即食食品的相关研究较多，但即食类牛排的研究非常少。即食食品是指已经加工处理过，无需进一步杀菌处理，打开包装（或散装）即可直接食用的一类产品^[31]，即食牛排就是指无需其他加工处理，可直接食用的牛排。这样不仅方便快捷、节省时间，还能让消费者随时可以享受到牛排，满足其需求^[32]。

但近年，即食类食品因其不用进一步加工就可直接食用的这一特性，大大增加了其安全风险，存在会对公众健康构成重大威胁的可能。即食牛排等熟肉类即食食品在处理或保存过程中很容易被各种病原体污染，导致人们患上食源性疾病^[33]，当下食源性疾病的发病率在全球范围内呈上升趋势，涉及由致病微生物引起的多种疾病，已成为亟待应对的公共卫生问题。在以往的研究中，即食食品被认为是多重耐药细菌传播的潜在来源，而食源性致病菌可导致食物中毒或者感染^[34-35]。科研人员研究发现即食类食品中最常见的食源性致病菌如下：（1）单核细胞增生李斯特氏菌，容易引起脑膜炎、脑脊髓炎，尤其是老年人、孕妇或新生儿死亡；（2）肠沙门氏菌，引起发烧，头痛，恶心，腹痛和腹泻；（3）空肠弯曲杆菌，引起胃肠道疾病，其特征是腹泻、发烧和腹部绞痛；（4）产气荚膜梭菌，引起腹痛、恶心和急性腹泻^[36-41]。因为即食类食品易受污染，很多国家制定了相关微生物的数量限定，我国李白玉提出即食食品中生菌数判定标准均区分为 $<10^5$ （合格）及 $\geq 10^5$ CFU/g（不合格）；大肠菌群判定标准在即食牛排这种熟肉类即食食品中区分为 $<10^3$ （合格）及 $\geq 10^3$ MPN/g（不合格）^[42]。食品法典委员会（CAC）限定了单增李斯特菌，适合其生长的即食食品，采集样品件数为 5 时，从 25 g 样品中不得检出该菌；不适合其生长的即食食品，采集样品件数为 5 时，细菌数量不得超过 100 CFU/g^[43]。

这些致病菌除了可能是食品自身携带的以外，还可能是来自于食品处理人员操作过程手部或者运输过程中的交叉污染^[44]，近年，国内外对即食食品中菌的发生、分离、耐药性以及即食食品的保鲜进行着研究^[45-48]，以期找到更好的方式延长其保藏期。随着时间的流逝，即食类牛排的研究也必将向此靠拢，但现在关于即食类牛排的研究还非常少，只有烧烤类牛排^[49]，在未来的研究中，希望有更多类型的即食牛排产品出现，不断精进工艺使其可以量化生产，然后再对即食牛排的安全问题进行研究。

1.2 牛排中优势腐败菌的研究

肉制品的蛋白质、碳水化合物和脂肪等物质容易在微生物、多种酶以及氧化作用、呼吸作用、机械损伤等共同作用下被微生物代谢分解或被自身组织酶所发生的某些生物化学变化转变为其他小分子物质^[50-52]。而牛排中含有丰富的蛋白质、脂肪、碳水化合物等，并且具有较高的水分活度和适宜的 pH 值，对微生物来说是化学成分丰富的天然培养基^[54-55]，有研究表明 1 g 鲜肉可供给 10^9 个菌群生长^[53]，所以在适宜的温度下，牛排极易变质。而牛排一旦发生腐败变质，便不再被消费者所接受，所以对牛排中的腐败微生物进行研究控制非常有必要。腐败微生物是指能引起食品发物理或化学变化，从而使其失去原有的营养价值、组织特性及色、香、味，令其不符合食品卫生要求的微生物，在肉制品中大量存在^[56-57]。在牛排的生产、贮藏和运输的实际操作过程中，经常会接触和感染不同微生物，所以对于原料肉品质的筛选以及加工过程的控制是决定腐败微生物的关键。通常情况下，牛肉制品（包括牛排）中只有 10% 左右的初始菌能够在贮藏期存活^[58]，而腐败微生物中只有小部分细菌发挥作用，最终导致产品的腐败，这部分微生物又称优势腐败菌（Specific spoilage organism SSO）。牛排中的优势腐败菌取决于其初始菌的种类、数量，以及影响其生长的各种因素，还有微生物自身的生长特性、包装内环境等潜在因素^[57]。牛排类低温肉制品中微生物种类多，有大肠杆菌^[17]、假单胞菌^[59]、莫拉氏菌^[60]和李斯特菌^[61]等，也有少量芽孢杆菌^[18]、霉菌和酵母菌^[62]。在适宜的条件下，微生物可繁殖 20~30 分钟^[63-65]。

研究牛排中优势腐败菌需得先了解牛排的腐败变质，牛排的腐败变质伴随着感官变化和化学变化，而这些感官的变化也均是由化学变化引起的，牛排中脂肪、蛋白质等营养成分被微生物利用或被活性酶分解成小分子化合物，进而衍生出各种不同的化学物质^[65-66]。例如，在众多优势腐败菌中假单胞菌可代谢产生挥发性醛类^[67]、酮类和酯类有机化合物，还可将葡萄糖代谢产生丙酸酯和二氧化碳^[68]；克雷伯氏菌属、芽孢杆菌属、肠杆菌属等菌具有较强的蛋白水解能力，其游离的氨基酸脱羧可产生生物胺^[69]。在感官变化中最直观的变化是颜色和质地：颜色从鲜艳变暗沉；肉的口感从富有弹性、鲜嫩多汁转变为黏腻，没有咀嚼感；气味从满满的肉香味，变成一股酸味、恶臭味或者某种无法形容的异味^[58,70]。牛排中优势腐败菌的确认有多种方法，通过感官评价、对腐败微生物进行分离鉴定或者测定代谢产物的方法我们称做定性，测定 pH、挥发性物质、微生物数量等的方法称做定量^[51,71-72]。利用蛋白质分解时低分子物质增多这一现象，测定食品折光率、黏度及 pH 等指标，其中黏度测定尤为敏感，能反映出腐败变质的程度；直接进行微生物数量的测定，可以直接反映出食品被污染的程度及是否发生变质^[73]。

对牛排的SSO进行研究,不仅有助于我们认识导致该类食品腐败变质的菌种类型,更有利于其产品的保鲜防腐技术的研究改进。

1.3 牛排保鲜技术的研究现状

食品安全问题频频发生,人们对食品的安全性、清洁性愈加重视,而牛排的多种营养成分使其成为肉类腐败微生物和常见食源性病原体生长繁殖的理想环境^[74],因此对牛排进行必要的防腐保鲜极为重要。引起牛排腐败变质的原因通常归结为微生物的生长繁殖、脂肪的氧化酸败和肌红蛋白变色^[75],这三种因素之间相互作用、相互影响,共同造成了牛排腐败变质这个结果,所以把这三个因素作为切入点进行研究,有效减缓甚至阻断其变化的发生才能更好地延长牛排的保鲜。例如Rooyen等将腰大肌、臀中肌和半腱肌三种肌肉做成的牛排用一氧化碳进行不同时间的处理,然后真空包装,结果1%一氧化碳处理5小时既能增强肌肉颜色,还不会掩盖牛排的腐败现象,并在文中提及一氧化碳含量超过5%时具有抑菌作用,可抑制厌氧嗜冷菌和乳酸菌等真空包装中常见的优势腐败菌^[76]。Huixuan Y将源自牛肉的清酒乳杆菌用于4℃贮藏的真空包装牛排,抑制了鼠伤寒沙门氏菌和热环毛丝菌的生长^[77]。李乔智等将甜菜红和辣椒红色素添加到调理牛排中,有效抑制了牛排的蛋白质氧化和脂肪氧化^[78]。

当下的保鲜技术可简单分为热灭活技术和非热灭活技术,热灭活过程中容易对食品品质造成不好的影响,所以现在研究更多的是非热灭活技术,如新包装系统^[79-80]、可食性涂膜^[81]、天然抗菌物质^[82]和生物保鲜^[83],还有栅栏技术。这些保鲜方法中低温保藏被广泛应用于果蔬和鲜肉^[84],添加防腐剂则常用于熟肉制品^[85],而涂膜技术在果蔬^[86]上的应用比较成熟,但现在肉类产品中可食性薄膜^[21,81]应用的研究也非常受欢迎。以下,我从物理、化学、生物和栅栏技术等四方面对牛排的保鲜进行一下简单的总结。

1.3.1 物理保鲜技术

物理保鲜安全、高效、无污染,是应用最广泛的技术。他既可减缓食物变质,延长贮藏时间,又不破坏食物的味道、营养价值,所以深受食品行业喜爱。它包含着许多类型,例如利用高温使微生物的蛋白质和核酸发生变形失去活力,用超高压破坏微生物的蛋白结构,利用微波中的电磁波对微生物进行结构破坏,辐射使微生物失去繁衍代谢功能,让生物酶与食物中的某些物质进行生物反应等抑制食物变质延长贮藏期^[87-88]。

(1) 通过低温贮藏延缓食物变质。肌肉在低温下代谢酶活力下降,从而抑制肉中的呼吸系统新陈代谢和衰老,延缓由氧、热和光的作用引起的化学和生物学变化,还可降低微生物的生长繁殖速率^[89-90]。董福凯将真空包装和托盘包装后的调理牛排分别

置于冰温及冷藏环境下贮藏,结果相较其他实验组,冰温真空包装调理牛排品质的变化最为缓慢^[91]。王芊彤等将利用真空贴体包装后的牛排分别置于冰温下贮藏不同时间后展示其货架期,冰温贮藏能降低脂肪氧化的总体程度^[92]。

(2) 利用包装延缓食物变质。包装除了可保护产品不受来自外界机械损伤和虫害影响以外,还可保护产品免受氧气、热和微生物等影响而变质。包装方式可分为真空包装(VP)、气调包装(MAP)和活性包装(AP)等^[93-94]。真空包装时采用阻隔性好的材料,隔绝产品与空气、水等物接触,从而减缓其脂肪氧化;气调包装通过控制氧气浓度和惰性气体浓度及其比例来抑制细菌繁殖;活性包装(AP)可分为将生物活性物质单独封装后和肉制品一起包装,也可将活性物质直接与包装材料融在一起作为包装,还可将能够成膜的抗菌物质做成可食性膜来使用^[89,95-96]。Rooyen等评估了一系列一氧化碳浓度及其暴露时间对真空包装后的胸腰最长肌牛排的影响,结果在1%一氧化碳中处理5小时效果最佳^[97]。

(3) 利用物理涂膜技术延缓食物变质。该技术是在产品表面浸渍、涂抹或喷洒上可以成膜的物质后形成一层能够抑制食品与外界发生交换的薄膜以抵抗外界侵蚀^[98]。VanBa等将月桂酸与壳聚糖相结合制作涂层,然后包覆牛排,再用透气膜进行包裹,随着月桂酸含量的增加,壳聚糖涂层对牛肉中腐败菌的生长、挥发性碱性氮的形成和脂质氧化的抑制作用逐渐增强^[99]。

(4) 利用纳米技术延缓食物变质。以纳米材料作为保鲜剂或将其添加到食品包装中从而起到抑菌保鲜作用的研究在近年非常受到大家欢迎^[100-102]。Herzallah等使用含有黑芥子硫苷酸钾的纳米颗粒羧甲基纤维素膜作为抗菌前提杀死新鲜牛排上的大肠杆菌O157:H7,能减少4 log₁₀以上^[103]。

(5) 多种物理保鲜技术结合延缓食物变质。除之前提及的几种保鲜技术外,还有臭氧保鲜、超声波保鲜、脉冲电场杀菌等许多的物理保鲜技术^[104-106],将这些保鲜技术结合起来使用可以弥补互相存在的技术缺陷,极大地增强对食物的杀菌效果,从而使食物保藏的时间更久。

1.3.2 化学保鲜技术

化学保鲜存在于我们每个人的身边,生活中常见的盐藏、糖藏、醋藏和过年的烟熏肉类等都是传统的化学保鲜方式^[107],而现代化学保鲜通常是利用抑菌或杀菌的化学药物来抑制或杀灭微生物的技术,过程十分复杂,常和物理保鲜相辅相成。化学保鲜剂的种类繁多,理化性质和作用机理各有不同,有的是直接作用于微生物,有的通过改变或控制环境因素起保鲜作用。按其保鲜机制的不同可分为防腐剂、杀菌剂和抗氧化剂三类。防腐剂通过改变微生物的生长环境,控制其生理活动,使其进入生长停滞