

## 天然复合添加剂对卤牛肉贮藏品质及风味的影响

李彦<sup>1</sup>, 符慧靖<sup>1</sup>, 秦建鹏<sup>1</sup>, 路玉倩<sup>1</sup>, 梁丽雅<sup>1</sup>, 吴子健<sup>2</sup>, 马俪珍<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>天津农学院 食品科学与生物工程学院 天津 300384

<sup>2</sup>天津商业大学生物技术与食品科学学院 天津 300134

**摘要** 为延长低温杀菌卤牛肉的保质期,添加前期优选出的 3 种天然复合添加剂:复合香辛料精油(CS)、发酵牛骨调味基料(FBF)和复合天然防腐剂(CNP),设空白对照组(CK)。杀菌方式为沸水杀菌 30 min 2 次(中间常温放置 48 h)。将 4 组样品贮藏 150 d(温度为 10 ℃),分别测定 0,14,30,60,90,120,150 d 的感官品质、理化指标和菌落总数变化,第 90 天进行微生物多样性和挥发性风味物质分析。试验结果显示:贮藏过程中,4 组产品感官评分(CK:5.9→5.5,CS:7.5→7.2,FBF:6.6→6.2,CNP:6.4→4.8)、pH 值(CK:6.13→5.74,CS:6.20→6.05,FBF:6.18→6.02,CNP:6.08→5.79)和红度值(CK:13.13→10.23,CS:12.85→11.66,FBF:12.23→10.83,CNP:13.03→11.27)下降,TBARS 值(CK:0.17 mg/kg→0.42 mg/kg,CS:0.05 mg/kg→0.34 mg/kg,FBF:0.07 mg/kg→0.39 mg/kg,CNP:0.06 mg/kg→0.31 mg/kg)在贮藏终点比贮藏初期显著升高,且 CS 组整体效果要优于另外 3 个组别;4 组检测到丰度大于 1% 有 5 个门,44 个属的微生物信息,优势菌门为变形菌门和厚壁菌门,且 CS 组厚壁菌门数量较低,未检测到会产生生物胺的芽孢杆菌属;4 组产品共检测到 97 种(CS:41>CK:39>CNP:28>FBF:25)挥发性香气成分,CS 组含有对风味贡献较高的化合物。综上,添加香辛料精油既能够延长产品的货架期,又能改善产品风味,提升产品感官品质。

**关键词** 卤牛肉; 贮藏品质; 微生物多样性; 风味物质

**文章编号** 1009-7848(2023)11-0231-15 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.11.023

卤牛肉是一道传统菜品。为适应中餐工业化的发展需求,本试验将这一传统菜品制成工业化的方便菜肴产品。目前,传统酱卤肉制品主要通过热力杀菌来延长产品货架期。热力杀菌包括高温杀菌和低温杀菌。高温杀菌虽可以有效地杀灭微生物,但会导致肉制品色泽变暗、风味变差、营养流失、脂肪氧化程度加剧;低温杀菌虽可以保证产品感官品质不被破坏,但会使未被杀灭的残存微生物芽孢在适宜条件下迅速生长,导致产品品质下降。因此将低温杀菌与添加复配的天然防腐剂/抗氧化剂结合,在保证产品感官品质的同时可延长产品货架期<sup>[1]</sup>。

随着人们生活水平的提高,追求安全、健康、营养的食品逐渐成为人们的主流需求。传统的肉制品加工中,常用的化学防腐剂有苯甲酸、山梨酸钾、脱氢乙酸等<sup>[2]</sup>。研究表明,某些化学防腐剂存在致癌、致毒等安全隐患,如苯甲酸、亚硝酸盐类

等<sup>[3]</sup>,因此,天然食品添加剂受到广泛关注。许多研究表明,天然保鲜剂如天然香辛料提取物不仅可以改善肉品风味,还能较好地延长产品货架期<sup>[4]</sup>,有抗癌的医学价值<sup>[5]</sup>。樊晓盼等<sup>[6]</sup>发酵的牛骨调味基料不仅有抑菌、抗氧化作用,也有部分代替亚硝酸盐发色的作用。天然防腐剂,如茶多酚<sup>[7]</sup>、壳聚糖<sup>[8]</sup>、乳酸链球菌素<sup>[9]</sup>、溶菌酶<sup>[10]</sup>等对肉制品有很好的抑菌和抗氧化效果,其中茶多酚、壳聚糖对亚硝酸盐有很好的清除效果,溶菌酶对增强人体免疫力有一定作用<sup>[11]</sup>。蜂胶作为一种天然药物,不仅具有抗病毒、免疫调节、抗癌等药理功效<sup>[12]</sup>,被添加到食品中,还有抑菌和成膜作用,减少微生物侵染,起到防腐保鲜作用<sup>[13]</sup>。在使用这些天然添加剂时,普遍认为多种生物活性的化学物质之间的协同作用,要大于个体效应的总和<sup>[14]</sup>。许多研究者通常将这些防腐剂进行复配,从而达到更好的效果。García-García 等<sup>[15]</sup>研究香辛料提取物——香芹酚、麝香草酚和丁香酚在液体模拟体系中对李氏杆菌的杀菌效果,结果其抗菌效果是:三元混合物>二元混合物>单独使用。朱雪蕊等<sup>[16]</sup>将溶菌酶 0.1%、茶多酚 1.0%、聚赖氨酸 0.03%复配,添加到

收稿日期: 2022-11-08

基金项目: 天津市自然科学基金项目(22JCQNJC01320);  
天津市研究生科研创新项目(2022SKY325)

第一作者: 李彦,女,硕士生

通信作者: 马俪珍 E-mail: malizhen-6329@163.com

红肠中,在4℃贮藏温度下,产品的保质期可达90 d。

本文在前期预试验基础上制定3个具有较好防腐效果的天然复合添加剂,分别是复合香辛料精油(Compound spice, CS)、发酵牛骨调味基料(Fermented beef flavoring, FBF)、复合天然防腐剂(Compound natural preservative, CNP)。本试验将其应用于卤牛肉加工中,测定其感官品质,贮藏过程中的理化指标、微生物多样性和风味变化,研究这3种天然复合添加剂对卤牛肉品质及货架期的影响,为实际生产提供试验数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

牛肋腹部肉(脂肪含量<10%)、牛肋排(脂肪含量20%),天津天穆牛羊肉批发部;食盐、白糖、花椒、白酒等,天津王顶堤商贸城世纪华联超市;葡萄糖、复合磷酸盐、抗坏血酸钠,郑州凯之裕食品添加剂有限公司;复合香辛料精油,天津市春合科技开发有限公司;壳聚糖、桂皮,江苏味太美食品有限公司;茶多酚,郑州裕和食品添加剂有限公司;溶菌酶,河南嘉致化工产品有限公司;蜂胶,中龙蜂产品加工厂;乳酸链球菌素(Nisin),恒康食品添加剂有限公司。

三氯甲烷、三氯乙酸、2-硫代巴比妥酸、丁基羟基茴香醚、乙二胺四乙酸、氯化钾,天津市风船化学试剂科技有限公司;营养琼脂,青岛高科技工业园海博生物科技有限公司;配制试剂所用的水为超纯水。

### 1.2 仪器与设备

CM-5 色差仪,日本Konica Minolta公司;STARTER3100 pH计,美国Ohaus公司;T6紫外-可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司;BVBJ-30F真空搅拌机,嘉兴艾博实业有限公司;GCMS-QP2010Plus气相色谱-质谱联用仪,日本岛津公司;65 μm PDMS/DVB萃取头,美国Supelco公司;美国Hamilton微量进样针10 mL,天津市琛航科技仪器有限公司;HeraclesII超快速气相电子鼻,法国Alpha M.O.S公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 天然复合添加剂的配制

1.3.1.1 CS的制备 以肉质量计,分别将花椒精油、八角精油、麻椒精油、丁香精油、迷迭香精油以441.0,337.0,17.0,14.0,137.0 μL/kg进行复配。

1.3.1.2 FBF的制备 参考樊晓盼等<sup>[7]</sup>的方法,将按牛肋排:蒸馏水=1:4(质量比)置于高压灭菌锅,在0.1 MPa,121℃条件下高压浸提4 h;将浸提液冷却后加入质量分数为0.06%的风味蛋白酶和0.03%的复合蛋白酶,置于摇床内,在50℃,130 r/min条件下酶解4.5 h,结束后沸水浴灭酶20 min;将商业复合菌VHI-41在含1.5%葡萄糖的牛奶中活化2 h,接种于酶解液中,接种量为 $2 \times 10^7$  CFU/g,在30℃,130 r/min的摇床中发酵12 h,结束后水浴灭菌20 min,冷却;在发酵液中分别添加1.2%木糖、1.2%葡萄糖、0.9%半胱氨酸、0.45%甘氨酸、0.45%丙氨酸、1.8% VB<sub>1</sub>,于110℃下美拉德反应60 min,冷却后于4℃静置12 h;过滤后即得到FBF,置于4℃冷藏备用。

1.3.1.3 CNP的制备 以水质量计,将壳聚糖、蜂胶、乳酸链球菌素、溶菌酶、茶多酚分别以0.5%,0.1%,0.075%,0.075%,0.5%的比例配置成天然复合防腐液,备用。

#### 1.3.2 卤牛肉的制作

1.3.2.1 原料肉的切分 将牛肋腹部肉切分成70 g左右的小斜方块。

1.3.2.2 真空滚揉 按肉质量的20%配好腌制液(腌制液的配方见表1),将牛肉块和腌制液倒入真空滚揉机中,转速为5~6 r/min,正转10 min,反转10 min,中间停5 min,总时间为50 min。

以添加20%腌制液进行真空滚揉加工的卤牛肉为对照组(Control check,CK),试验组包括3组:1)复合香辛料精油(Compound spice, CS)组:20%腌制液,再添加946 μL/kg(以肉质量计的CS);2)发酵牛骨调味基料(Fermented beef flavoring, FBF)组:20%腌制液,再添加2% FBF;3)复合天然防腐剂(Compound natural preservative, CNP)组:20%腌制液,再添加50 mL/kg(以肉质量计的CNP)。

1.3.2.3 腌制 牛肉块从真空滚揉机中取出后放入不锈钢容器中,其上覆保鲜膜以防止肉表面氧化,放入0~4℃冷库中静腌12 h。

表 1 腌制液配方(以 100 kg 牛肉计)

Table 1 Formula of pickling solution (Based on 100 kg beef)

原辅料	使用量/g	原辅料	使用量/g	原辅料	使用量/g
食盐	2 000	亚硝酸钠	10	丁香	20
白糖	800	味精	200	小茴香	60
葡萄糖	400	白酒	200	草果	20
复合磷酸盐	400	八角	60	桂皮	20
大豆分离蛋白	120	花椒	40	水	20 000

1.3.2.4 煮制 在煮锅中加入与牛肉等质量的水,放入香辛料包(香辛料配方见表 2),待沸腾后

放入腌制好的牛肉块,大火煮制 30 min,撇去浮沫,改为小火焖制 1 h,出锅前加入味精和曲酒。

表 2 煮制香辛料配方(以 100 kg 牛肉计)

Table 2 Formula of cooking spices (based on 100 kg beef)

原辅料	使用量/g	原辅料	使用量/g	原辅料	使用量/g
八角	240	小茴香	360	豆瓣酱	600
花椒	120	草果	60	食盐	1 400
丁香	60	葱	3 600	味精	1 200
桂皮	240	姜	1 000	白酒	600

1.3.2.5 包装 待牛肉出锅冷却后,采用高温蒸煮袋进行真空包装,每袋 100 g,封装完成后检查真空状态和封口密封的完整性。

1.3.2.6 低温杀菌 将真空包装后的产品放入煮锅中进行沸水杀菌 30 min,随即捞出用流动水迅速冷却,在常温(20~25 ℃)条件中贮存 48 h 后再进行第 2 次相同的杀菌处理方式。

1.3.3 试验设计 将上述处理的 4 组产品放置于 10 ℃的环境下贮藏,在贮藏的 0,14,30,60,90,120,150 d 测定其感官评分、pH 值、TBARS 值、亚

硝酸盐残留量、红度值,并在贮藏的第 90 天利用 16S rDNA 高通量测序进行微生物多样性分析,采用电子鼻、GC-MS 对 4 组卤牛肉的风味物质进行测定。

1.3.4 感官评定 根据 GB/T 23586-2009《酱卤肉制品》对酱卤肉制品感官要求,卤牛肉的外观形态、色泽、滋气味、质地进行评分(评分表见表 3),对不同编码的样品感官打分,每项指标 9 分,结果取平均值。

表 3 卤牛肉感官评分表

Table 3 Sensory evaluation table of braised beef

项目	评分标准	分值
外观形态	外形不整齐,表面存在杂质	1~3
	外形较整齐,表面稍有杂质	4~6
	外形整齐,表面无杂质	7~9
色泽	色泽暗淡,无光泽	1~3
	色泽较暗,略有光泽	4~6
	色泽红亮,有金属光泽	7~9
滋气味	滋味淡或咸,没有卤牛肉特有的风味	1~3
	滋味偏淡或偏咸,香味不浓郁	4~6
	咸淡适中,香气浓郁,无异味	7~9
质地	组织疏松,切片性不好	1~3
	组织较疏松,切片性一般	4~6
	组织紧密,切片性好	7~9

### 1.3.5 指标测定

1.3.5.1 pH值 按照 GB 5009.237-2016《食品安全国家标准 食品 pH值的测定》中肉及肉制品 pH值测定方法进行测定。

1.3.5.2 红度值 将搅碎的碎肉样平铺在石英皿中,保证底部被铺满,没有缝隙,采用色差仪进行测定,测定前用白板矫正。

1.3.5.3 硫代巴比妥酸值(Thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) 参照 GB 5009.181-2016《食品安全国家标准 食品中丙二醛的测定》执行。

1.3.5.4 菌落总数 按 GB 4789.2-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验菌落总数测定》方法进行检测。

1.3.5.5 微生物多样性分析 将样品送至北京奥维森基因科技有限公司,采用扩增子测序方法分析样品 16S rDNA 的 V3-V4 区段、细菌群落结构等,扩增区段引物序列为:ACTCCTACGGAG-GCAGCAG,GTGGACTACHVGGGTWTCTAAT。

1.3.5.6 HeraclesII 超快速电子鼻分析 称取 3 g 搅碎的样品于顶空进样瓶中,放置于 50 °C 恒温水浴锅中煮制 24 min,用进样针吸取 5 mL 气体,注射到电子鼻仪器中,分析参数为:进样口温度 200 °C;进样持续时间 40 s;捕集阱初始温度 40 °C;捕集阱分流速度 10 mL/min;捕集阱最终温度 200 °C;柱温的初始温度 50 °C;柱温的程序升温方式 0.5 °C/min-100 °C,1 °C/min-200 °C;采集时间 140 s;FID 检测器温度 260 °C。

1.3.5.7 挥发性风味物质(GC-MS)检测 称取 2 g 绞碎的卤牛肉样品于 20 mL 的顶空瓶中,加入 5

mL 的饱和氯化钠溶液,将老化的萃取头插入样品瓶,注意不要接触到样品,恒温 60 °C 吸附 45 min 后拔出,萃取头在 GC 进样口(240 °C)下解吸附 4 min。

GC 条件如下:DB-WAX 毛细管色谱柱(30 m × 250 μm × 0.25 μm);载气(He)流速:1 mL/min,不分流进样;起始温度 45 °C,2 min,后以 6 °C/min 速率升到 230 °C,保持 5 min;运行时间:38 min。

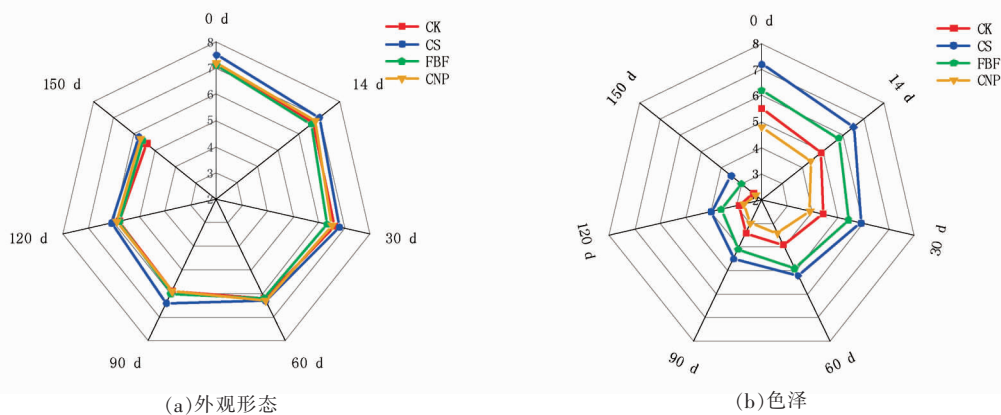
MS 条件如下:离子源温度 230 °C,界面温度 250 °C,MS 四极杆温度 150 °C,溶剂延迟 3 min,质量扫描范围  $m/z$  30~500。

1.3.6 数据处理 试验中每个处理包含 3 个平行试样,结果取平均值。试验结果以平均值±标准误差表示,采用 SPSS 21.0 软件的 ANOVA 对数据进行方差分析,差异显著性用邓肯多重比较进行试验判定;采用 Origin 9.0 软件作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 天然复合添加剂对卤牛肉感官品质贮藏过程中的影响

天然复合添加剂对卤牛肉感官品质贮藏过程中的影响见图 1 所示。由图 1 可以看出添加不同天然复合添加剂的卤牛肉的外观形态、色泽、滋气味、质地随着贮藏时间的延长均呈现下降趋势,其中,外观形态各试验组之间没有显著性差异,而 CNP 组的色泽显著低于其它组( $P < 0.05$ ),这是因为 CNP 组中含有蜂胶提取物,蜂胶为棕褐色或深褐色,会影响卤牛肉的色泽,使得牛肉色泽发黄、发暗。CS 组的滋气味评分最高且显著高于 CK 组( $P < 0.05$ ),这是因为香辛料精油含有特征性的挥



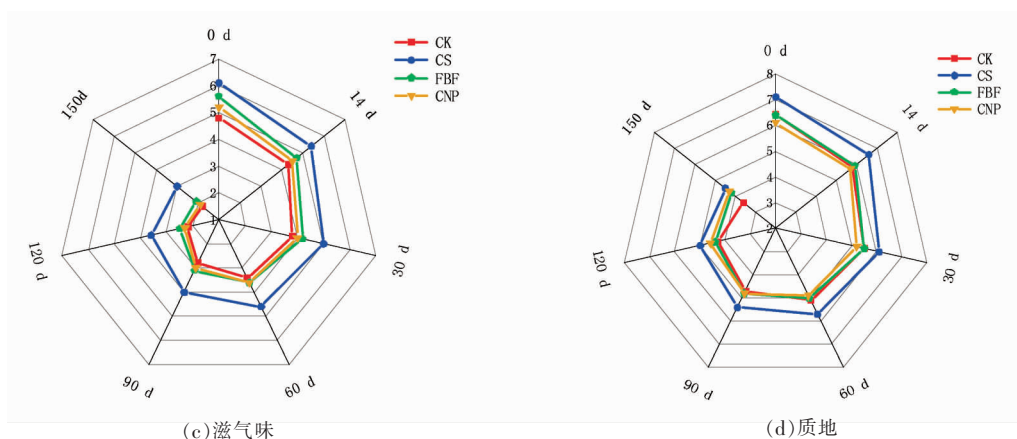


图 1 天然复合添加剂对卤牛肉贮藏过程中感官品质的影响

Fig.1 Effects of natural compound additives on sensory quality of stewed beef during storage

发性风味物质<sup>[18]</sup>,能够遮盖原料肉的膻味,并且赋予肉制品诱人的独特香味。在质地方面,贮藏各试验组差异不明显,CS组在各项指标中都表现出优越性。

## 2.2 天然复合添加剂的使用对卤牛肉贮藏过程中理化性质的影响

天然复合添加剂对卤牛肉贮藏过程中理化性质变化的影响见表4所示,由表4可知,所有组别的pH值在贮藏过程中整体呈下降趋势,其中CK组在贮藏后期(60~150 d)显著下降( $P<0.05$ ),这是因为真空包装条件下,随着贮藏时间的延长,乳酸菌繁殖产酸积累造成的。CNP组的pH值在贮藏过程中(0~120 d)一直显著低于其它试验组( $P<0.05$ ),是因为添加的CNP中茶多酚含有羧酸类物质导致CNP组产品的pH始终低于其它组( $P<0.05$ )<sup>[19]</sup>,CS组与FBF组pH值下降较为缓慢,说明其添加的CS和FBF均能较好的抑制微生物的

生长繁殖。

TBARS值整体均呈上升趋势,并且在贮藏过程中,CS组的TBARS值一直显著低于CK组( $P<0.05$ ),FBF组的TBARS值在贮藏前期(0~60 d)显著低于CK组( $P<0.05$ ),而贮藏后期(90~150 d)与CK组差异不显著( $P>0.05$ ),说明随着贮藏时间的延长,FBF的抗氧化效果减弱,吴晨燕等<sup>[20]</sup>在红肠中证明了FBF虽有一定的抗氧化性,但抗氧化效果不是很理想,可能是因为FBF中含有的脂肪也会自身氧化。CNP组在贮藏前期(14~90 d)TBARS值与CK组差异不显著( $P>0.05$ ),而随着贮藏时间的延长,CNP组的抗氧化优势逐渐显示出来,在贮藏终点,TBARS值最低。

红度值在整个贮藏过程中均呈下降趋势,其中CS组的 $a^*$ 值下降速率在所有组别中是最缓慢的,说明其能很好的保持产品的红度值,提升产品品质。

表 4 天然复合添加剂对卤牛肉贮藏过程中理化性质变化的影响

Table 4 Effects of natural additives on physical and chemical properties of braised beef during storage

指标	组别	贮藏时间/d						
		0	14	30	60	90	120	150
pH 值	CK	6.13 ± 0.00 <sup>ac</sup>	6.12 ± 0.00 <sup>ab</sup>	6.11 ± 0.01 <sup>bb</sup>	6.08 ± 0.01 <sup>cb</sup>	6.01 ± 0.01 <sup>dc</sup>	5.87 ± 0.01 <sup>ec</sup>	5.74 ± 0.02 <sup>ed</sup>
	CS	6.20 ± 0.02 <sup>a</sup>	6.15 ± 0.01 <sup>ba</sup>	6.13 ± 0.01 <sup>ca</sup>	6.13 ± 0.01 <sup>ca</sup>	6.12 ± 0.01 <sup>ca</sup>	6.10 ± 0.01 <sup>da</sup>	6.05 ± 0.01 <sup>ea</sup>
	FBF	6.18 ± 0.01 <sup>ab</sup>	6.12 ± 0.01 <sup>bb</sup>	6.09 ± 0.01 <sup>cb</sup>	6.09 ± 0.00 <sup>cb</sup>	6.08 ± 0.01 <sup>cb</sup>	6.07 ± 0.01 <sup>db</sup>	6.02 ± 0.01 <sup>eb</sup>
	CNP	6.08 ± 0.01 <sup>ad</sup>	6.05 ± 0.01 <sup>bc</sup>	6.02 ± 0.01 <sup>cd</sup>	5.89 ± 0.01 <sup>dc</sup>	5.88 ± 0.01 <sup>db</sup>	5.80 ± 0.01 <sup>ed</sup>	5.79 ± 0.01 <sup>ec</sup>

(续表 4)

指标	组别	贮藏时间/d						
		0	14	30	60	90	120	150
TBARS 值/mg· kg <sup>-1</sup>	CK	0.17 ± 0.02 <sup>dA</sup>	0.19 ± 0.01 <sup>dA</sup>	0.22 ± 0.02 <sup>dB</sup>	0.29 ± 0.01 <sup>cA</sup>	0.34 ± 0.02 <sup>hA</sup>	0.37 ± 0.03 <sup>hA</sup>	0.42 ± 0.02 <sup>hA</sup>
	CS	0.05 ± 0.02 <sup>dB</sup>	0.11 ± 0.01 <sup>dC</sup>	0.19 ± 0.02 <sup>cBC</sup>	0.24 ± 0.03 <sup>bC</sup>	0.27 ± 0.02 <sup>bB</sup>	0.31 ± 0.01 <sup>aB</sup>	0.34 ± 0.01 <sup>aB</sup>
	FBF	0.07 ± 0.02 <sup>dB</sup>	0.14 ± 0.01 <sup>cB</sup>	0.17 ± 0.01 <sup>cC</sup>	0.25 ± 0.02 <sup>bBC</sup>	0.30 ± 0.04 <sup>aAB</sup>	0.36 ± 0.04 <sup>aA</sup>	0.39 ± 0.03 <sup>aA</sup>
	CNP	0.06 ± 0.01 <sup>cB</sup>	0.19 ± 0.02 <sup>hA</sup>	0.29 ± 0.01 <sup>aA</sup>	0.28 ± 0.02 <sup>aAB</sup>	0.28 ± 0.02 <sup>aB</sup>	0.28 ± 0.03 <sup>aB</sup>	0.31 ± 0.02 <sup>aB</sup>
a*	CK	13.13 ± 0.01 <sup>aA</sup>	13.04 ± 0.01 <sup>hA</sup>	11.41 ± 0.01 <sup>cD</sup>	11.19 ± 0.02 <sup>dD</sup>	10.94 ± 0.02 <sup>dD</sup>	10.72 ± 0.03 <sup>dD</sup>	10.23 ± 0.02 <sup>dD</sup>
	CS	12.85 ± 0.02 <sup>aC</sup>	12.87 ± 0.02 <sup>aB</sup>	12.86 ± 0.01 <sup>aA</sup>	12.79 ± 0.02 <sup>hA</sup>	12.65 ± 0.03 <sup>cA</sup>	12.09 ± 0.02 <sup>dA</sup>	11.66 ± 0.03 <sup>cA</sup>
	FBF	12.23 ± 0.02 <sup>aD</sup>	12.14 ± 0.02 <sup>hC</sup>	11.93 ± 0.02 <sup>cC</sup>	11.81 ± 0.06 <sup>dC</sup>	11.64 ± 0.00 <sup>cC</sup>	11.23 ± 0.02 <sup>hC</sup>	10.83 ± 0.66 <sup>cC</sup>
	CNP	13.03 ± 0.00 <sup>aB</sup>	12.84 ± 0.03 <sup>hB</sup>	12.73 ± 0.09 <sup>eB</sup>	12.63 ± 0.02 <sup>hB</sup>	12.13 ± 0.02 <sup>eB</sup>	11.84 ± 0.02 <sup>hB</sup>	11.27 ± 0.02 <sup>hB</sup>

注: 同列小写字母不同表示不同组组间存在显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 同行大写字母不同表示不同组组间存在显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 下同。

### 2.3 天然复合添加剂的卤牛肉贮藏过程中菌落总数变化的影响

由表 5 可知, CK 组从第 90 天开始有微生物的生长, 并且随着贮藏时间的延长, 菌落总数显著增加 ( $P < 0.05$ ), 到贮藏的第 150 天时, 菌落总数增

长到 145 CFU/g, 其它试验组在贮藏 150 d 才有少量的菌落总数检出, 且均显著低于 CK 组 ( $P < 0.05$ ), 尤其 CS 组的菌落总数在贮藏期间最低。整个贮藏期间所有组别的微生物指标均未超标。

表 5 天然复合添加剂对卤牛肉贮藏过程中菌落总数变化的影响 (CFU/g)

Table 5 Effects of natural additives on the total number of colonies of braised beef during storage (CFU/g)

组别	0 d	14 d	30 d	60 d	90 d	120 d	150 d
CK	<10 <sup>ad</sup>	<10 <sup>ad</sup>	<10 <sup>ad</sup>	<10 <sup>ad</sup>	35 ± 7.07 <sup>ac</sup>	80 ± 14.14 <sup>ab</sup>	145 ± 7.07 <sup>aA</sup>
CS	<10 <sup>ab</sup>	<10 <sup>ab</sup>	<10 <sup>ab</sup>	<10 <sup>ab</sup>	<10 <sup>hb</sup>	<10 <sup>hb</sup>	5 ± 0.00 <sup>cA</sup>
FBF	<10 <sup>ab</sup>	<10 <sup>ab</sup>	<10 <sup>ab</sup>	<10 <sup>ab</sup>	<10 <sup>hb</sup>	<10 <sup>hb</sup>	15 ± 7.07 <sup>bca</sup>
CNP	<10 <sup>ab</sup>	<10 <sup>ab</sup>	<10 <sup>ab</sup>	<10 <sup>ab</sup>	<10 <sup>hb</sup>	<10 <sup>hb</sup>	25 ± 7.07 <sup>ba</sup>

### 2.4 天然复合添加剂对卤牛肉贮藏中期 (90 d) 微生物多样性的影响

2.4.1 高通量测序数据统计与质量分析 稀释曲线反应了物种丰度随着测序深度的变化趋势以及新物种出现的速率, 曲线上某一点斜率的斜率与物种出现的速率呈正相关关系<sup>[21]</sup>, 由图 2 稀释曲线图可知, 所有组别在测序前期 OUT 数增长较快, 当测序序列数大于 20 000 时, 曲线趋于平坦, 说明更多的数据只产生少量的 OUT, 表明测序数据足够可以反应整个样本物种种群, 测序数据合理。

2.4.2 Alpha 多样性分析 通过样品的多样性分析 (Alpha 分析) 可以反映其微生物种群的丰度和多样性<sup>[22]</sup>, 4 组卤牛肉样品的 Alpha 多样性分析见表 6 所示。其中观测深度指数反映了物种被测出的概率, 可以看出 4 组产品的观测深度指数均在

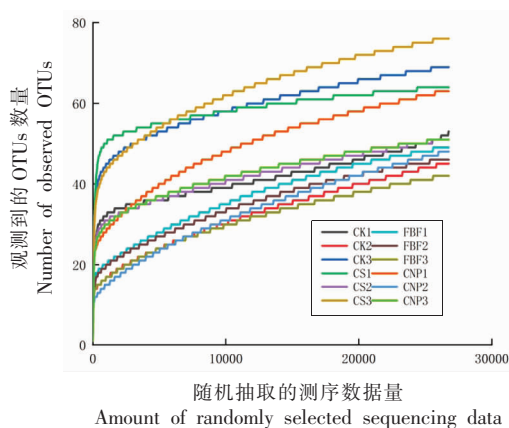


图 2 4 组卤牛肉样品稀释曲线图

Fig.2 Dilution curve of 4 groups of stewed beef samples

100%, 说明所有的微生物种均被检测到; Chao 1 指数用于估计群落中的 OUT 数目, 即种群丰度, PD<sub>whole\_tree</sub> 指数与 Shannon 指数均反映物种多

样性,前者是考虑了物种进化距离的多样性指数,两者指数数值越大,表明微生物多样性越高。由表 6 可见,CS 组与 FBF 组的 Chao 1 指数要显著低于 CK 组( $P<0.05$ ),说明 CS 与 FBF 组有一定的抑菌效果。CS 的 Shannon 指数显著低于 CK 组( $P<0.05$ ),说明 CS 组的微生物种类较少,菌相结构相对简单。

韦恩图显示了不同组别微生物群落的相似性与差异性,4 组卤牛肉样品群落 OUT 韦恩图见图 3,重叠部分为样品间共有的 OUT 数,没有重叠部分为样品特有的 OUT 数。由图 3 可知,4 组样品的 OUT 总数从小到大排序为:CS(75)<FBF(95)<CNP(97)<CK(111),4 组样品共有的 OUT 数为 38,小于总样品数目的一半,说明 4 组样品的菌落种类差异性较大。CS 组特有的 OUT 数目最少,可

以间接说明其杂菌数目最少,这与表 5 的菌落总数测定结果一致。综上,CS 对于卤牛肉的抑菌效果最好。

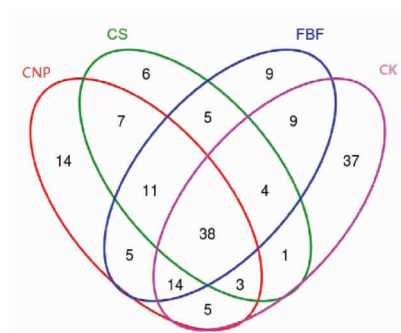


图 3 4 组卤牛肉样品菌群落 OUT 韦恩图

Fig.3 OUT Venn diagram of bacterial community of 4 groups of stewed beef samples

表 6 4 组卤牛肉样品的 Alpha 多样性分析

Table 6 Alpha diversity analysis of 4 groups of stewed beef samples

组别	观测深度指数	Chao1 指数	PD_whole_tree 指数	Shannon 指数
CK	1.00 ± 0.00 <sup>a</sup>	82.75 ± 4.15 <sup>a</sup>	6.93 ± 0.78 <sup>a</sup>	4.12 ± 0.86 <sup>a</sup>
CS	1.00 ± 0.00 <sup>a</sup>	56.33 ± 4.60 <sup>b</sup>	5.61 ± 0.48 <sup>a</sup>	2.87 ± 0.15 <sup>b</sup>
FBF	1.00 ± 0.00 <sup>a</sup>	66.06 ± 5.12 <sup>b</sup>	6.12 ± 0.52 <sup>a</sup>	3.83 ± 0.51 <sup>ab</sup>
CNP	1.00 ± 0.00 <sup>a</sup>	77.08 ± 8.27 <sup>a</sup>	7.07 ± 1.20 <sup>a</sup>	4.40 ± 0.33 <sup>a</sup>

注:同列小写字母不同表示不同组组间存在显著性差异( $P<0.05$ )。

2.4.3 基于门水平微生物种群多样性分析 由图 4 可知,4 组卤牛肉检测出的微生物主要是变形菌门、厚壁菌门、蓝藻门、拟杆菌门、放线菌门、芽单胞菌门,这与张志刚等<sup>[23]</sup>检测到的低温冷藏狮子头的菌相结构基本一致,这 6 种菌门相对丰度在所检样品中达到了 97%以上,说明卤牛肉在门水平的上的均相结构较为稳定。其中,变形菌门在 4 组卤牛肉中占绝对优势菌种,相对丰度分别达到了 CK(47.01%)、CS(62.85%)、FBF(58.77%)、CNP(60.18%),这是因为变形菌门细菌大多数具有兼性或专性厌氧特性<sup>[24]</sup>,真空包装的环境为变形菌门的细菌繁殖创造了条件;而厚壁菌门是耐热性较强的微生物,且抗逆性较强<sup>[25]</sup>,较低的杀菌温度并不能将其彻底杀灭,随着贮藏时间的延长能够成为肉制品的腐败优势菌属,而 4 组卤牛肉厚壁菌门的相对丰度由高到低为:CK(18.62%)>FBF(13.64%)>CNP(13.02%)>CS(4.33%),说明 CS 能

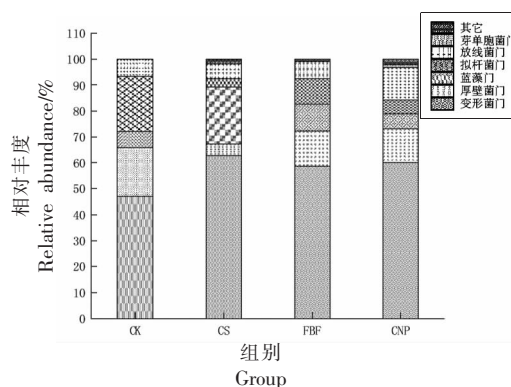


图 4 4 组产品在门水平的微生物群落结构

Fig.4 Microbial community structure of 4 groups of products at the phylum level

对厚壁菌门起到很好的抑制作用,增强产品安全性。

2.4.4 基于属水平微生物种群多样性分析 由图 5 可知,4 组卤牛肉共检测出 44 个相对丰度大于

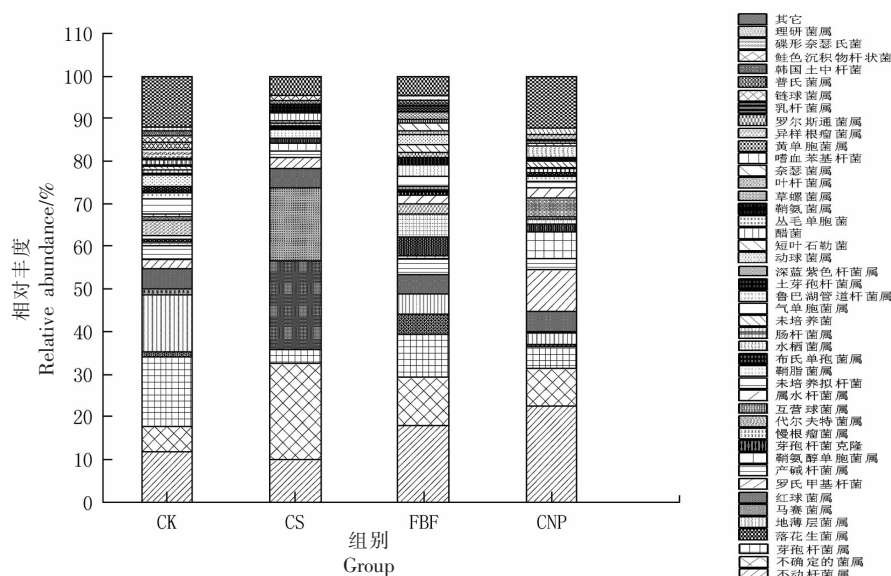


图5 4组产品在属水平的微生物群落结构

Fig.5 Microbial community structure of 4 groups of products at genus level

1%的属,细菌菌落在属水平上存在较大差异,CK组特有的优势菌属为薄层菌属(13.49%);CS组为蔓花生菌属(20.64%)、马赛菌属(17.39%);FBF组慢生根瘤菌属(5.49%);CNP组为甲基杆菌属(9.75%)、鞘脂单胞菌属(6.34%)。其中,共有的优势菌属为不动杆菌属(CK:11.78%、CS:9.83%、FBF:17.87%、CNP:22.51%)与未确定的变形菌门(CK:6.06%、CS:22.56%、FBF:11.24%、CNP:8.68%)。不动杆菌属易在潮湿的环境中生存,卤牛肉较高的水分含量是导致不动杆菌属生长的主要原因。CK组与FBF组共有的优势菌属芽孢杆菌属(CK:16.19%、FBF:10.31%、CNP:5.04%)的菌株具有氨基酸脱羧酶的活性,可能产生生物胺<sup>[26]</sup>,导致产品安全性降低,CS组中未检测到芽孢杆菌属。可见,经过属水平的微生物组成分析,CS组的产品安全性更高。

2.4.5 组卤牛肉贮藏中期(90 d)挥发性风味物质的PCA主成分分析 4组卤牛肉挥发性风味物质PCA分析结果如图6所示,由图6可以看出,第1主成分的方差贡献率为87.36%,第2主成分的方差贡献率为10.62%,两者积累的总贡献率为97.98%。识别指数(Discrimination index, DI)用来表征样品之间区分度的大小,在80~100范围内数据越高,效果越好,小于80说明数据无效<sup>[27]</sup>,本试

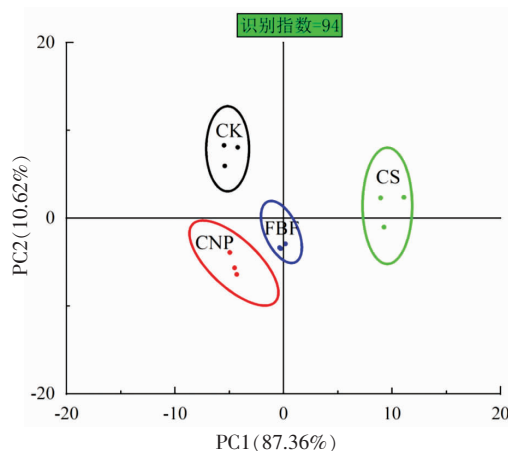


图6 4组产品挥发性风味物质PCA图

Fig.6 PCA diagram of volatile flavor substances of 4 groups of products

验样品识别指数为94,且样品之间没有存在交叉重叠区域,说明电子鼻能够将4组卤牛肉很好的区分开来。图中每两组样品之间的相对距离较远,说明4组样品间气味物质相差较大<sup>[28]</sup>。因此,天然复合添加剂卤牛肉的气味差异影响较大。

2.4.6 组卤牛肉各类挥发性风味物质(GC-MS)分析 香气成分见表7所示,4组产品GC-MS分析共检测到97种(CS:41>CK:39>CNP:28>FBF:25)挥发性香气成分,包括烃类、醚类、醇类、醛类、含氮含硫化合物、酚类、酸类、酯类以及酮类。



烃类(除萜烯类化合物)主要是由于脂肪酸烷氧自由基的均裂产生的,其中 CK、FBF、CNP 主要以饱和烃为主,饱和烃类的阈值较高,对卤牛肉的风味贡献较小,而 CS 组检测出 10 种萜烯类化合物,这与 CS 组中添加的香辛料精油有关,萜烯类化合物有特殊的气味,呈味阈值较低<sup>[29]</sup>,对卤牛肉的风味有重要贡献。

醚类大多数具有愉快的气味,能赋予卤牛肉醇厚感<sup>[30]</sup>,在风味物质中也非常重要。其中,CS 组、FBF 组与 CNP 组检测到的醚类物质均多于 CK 组,特别茴香脑是产生酱香的主要物质<sup>[31]</sup>。

醇类化合物主要产生于脂肪的氧化降解以及 Strecker 反应,且饱和醇阈值较高,对卤牛肉风味的贡献较小,不饱和醇阈值低,对风味贡献较大<sup>[32]</sup>,4 组产品共检测出 7 种醇类物质,包括 6 种不饱和醇和 1 种饱和醇,且饱和醇的种类 CK=CS>FBF=CNP 组。

醛类物质的阈值较低,一般认为是肉制品风味物质的主要成分之一,对卤牛肉的风味贡献较大,醛类物质主要来源于脂肪氧化降解<sup>[33]</sup>。研究发现,壬醛由油酸氧化产生,有明显的果香与脂肪香

气<sup>[34]</sup>;己醛是亚油酸的主要氧化产物,有青草的香气<sup>[35]</sup>;苯甲醛是苯丙氨酸降解的产物,有令人愉快的坚果、水果味<sup>[36]</sup>,CS 组检测的己醛和苯甲醛两种醛类物质,多于其它试验组,能赋予卤牛肉特有的香气风味。

含氮、含硫化合物主要来源于氨基酸和还原糖之间的美拉德反应以及硫胺素的热降解,其香气阈值较低,是肉制品中重要的呈味物质<sup>[37]</sup>,其中含硫化合物是产生肉香的关键化合物,而含氮化合物具有烘烤香气<sup>[38]</sup>。各试验组检测出的含氮、硫化合物的种类个数为: CNP (16)>FBF (14)>CS (12)>CK(11)。

酚类物质在熟牛肉中鲜有报道被检测出来,其中丁香酚在所有试验组中都被检测到,具有丁香花味,可以赋予卤牛肉醇厚感<sup>[39]</sup>。

酸类物质可能是由于甘油三脂和磷脂水解产生的<sup>[40]</sup>,只有 CK 组检测出了酸类物质。酮类物质具有奶香和清香等令人愉快的气味,是脂质氧化和美拉德反应的产物<sup>[41]</sup>,酸类、酯类、酮类其阈值较高,对风味特征贡献较小,4 组产品共检测出 3 种酸类物质、6 种酯类物质、9 种酮类物质。

表 7 4 组产品的挥发性风味物质

Table 7 Volatile flavor substances of 4 groups of products

种类	名称	化学式	CK	CS	FBF	CNP
烃类	2,2,4,6,6-五甲基庚烷	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub>	(+)	(-)	(+)	(+)
	间二甲苯	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	(+)	(-)	(-)	(-)
	2,2-二甲基癸烷	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub>	(+)	(-)	(-)	(-)
	3,7-二甲基十一烷	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>	(+)	(-)	(-)	(-)
	顺-2-庚烯	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub>	(+)	(-)	(-)	(-)
	萘	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub>	(+)	(-)	(-)	(-)
	正十七烷	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>	(+)	(+)	(-)	(-)
	月桂烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	(-)	(+)	(-)	(-)
	2-蒎烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	(-)	(+)	(-)	(-)
	蒎烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	(-)	(+)	(-)	(-)
	d-柠檬烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	(-)	(+)	(-)	(-)
	3-蒎烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	(-)	(+)	(-)	(-)
	罗勒烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	(-)	(+)	(-)	(-)
	γ-松油烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	(-)	(+)	(-)	(-)
	2-乙基对二甲苯	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	(-)	(+)	(-)	(-)
	2,3,3-三甲基-1,4-戊二烯	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub>	(-)	(+)	(-)	(-)
	(+)-α-长叶蒎烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	(-)	(+)	(-)	(-)
	β-石竹烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	(-)	(+)	(-)	(-)
	Alpha-姜黄烯	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>	(-)	(+)	(-)	(-)
	二十八烷	C <sub>28</sub> H <sub>58</sub>	(-)	(+)	(-)	(-)
1-苯基-2-丁烯	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub>	(-)	(-)	(+)	(-)	

(续表 7)

种类	名称	化学式	CK	CS	FBF	CNP
	二十九烷	C <sub>29</sub> H <sub>60</sub>	(-)	(-)	(+)	(-)
	3-乙基苯乙烯	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub>	(-)	(-)	(+)	(+)
	分析纯正二十烷	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	(-)	(-)	(-)	(+)
醚类	二乙二醇乙醚	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	(+)	(-)	(+)	(-)
	4-烯丙基苯甲醚	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O	(-)	(+)	(+)	(+)
	4,4'-二叔丁基二苯醚	C <sub>20</sub> H <sub>26</sub> O	(-)	(+)	(-)	(-)
	三乙二醇乙醚	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>	(-)	(-)	(-)	(+)
	茴香脑	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O	(-)	(+)	(+)	(+)
醇类	2-乙基己醇	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> O	(+)	(-)	(+)	(+)
	四氢熏衣草醇	C <sub>10</sub> H <sub>22</sub> O	(+)	(-)	(-)	(-)
	二十八烷醇	C <sub>28</sub> H <sub>58</sub> O	(+)	(-)	(-)	(-)
	4-(2,6,6-三甲基环己基)-3-甲基-2-丁醇	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O	(+)	(-)	(-)	(-)
	4-苯基-2-丁醇	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	(-)	(+)	(-)	(-)
	芳樟醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	(-)	(+)	(-)	(-)
	8-甲基-1,8-壬烷二醇	C <sub>10</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	(-)	(+)	(-)	(-)
醛类	壬醛	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O	(+)	(-)	(-)	(-)
	正己醛	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O	(-)	(+)	(-)	(-)
	苯甲醛	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O	(-)	(+)	(+)	(+)
含氮、含硫化合物	6-羧基亚氨基-5 $\alpha$ -胆甾烷	C <sub>27</sub> H <sub>47</sub> NO	(+)	(-)	(+)	(+)
	结晶紫内酯	C <sub>26</sub> H <sub>29</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	(+)	(-)	(+)	(-)
	1-(苯基磺酰基)吡咯	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub> S	(+)	(+)	(-)	(-)
	1-(癸基磺酰基)癸烷	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub> O <sub>2</sub> S	(+)	(-)	(-)	(-)
	4-苯基吡啶[2,3-d]嘧啶	C <sub>11</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>3</sub>	(+)	(-)	(+)	(-)
	3-氨基-1-丙醇	C <sub>3</sub> H <sub>9</sub> NO	(+)	(-)	(-)	(-)
	2,5-二甲基-3-(E-1-丙烯基)吡嗪	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub>	(+)	(-)	(-)	(-)
	5-甲基-2-苯基咪唑	C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> N	(+)	(+)	(+)	(+)
	5-硝基-2-吡啶酮吡啶	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	(+)	(-)	(-)	(-)
	3-[N-(4-硝基苯基)氨基]咪唑	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	(+)	(-)	(-)	(-)
	6-甲基-5-硝基-7-氮杂咪唑	C <sub>8</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	(+)	(-)	(+)	(+)
	N-乙酰-10-甲氧羰基氯酚	C <sub>22</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>7</sub>	(-)	(+)	(+)	(+)
	4-苯基吡啶[2,3-d]嘧啶	C <sub>13</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub>	(-)	(+)	(-)	(-)
	2-氨基蒽	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> N	(-)	(+)	(-)	(-)
	5H-茶[2,3-c]唑啉	C <sub>20</sub> H <sub>13</sub> N	(-)	(+)	(-)	(-)
	4-(1-甲基-4-吡啶基)-1,2-苯二酚	C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>2</sub>	(-)	(+)	(-)	(-)
	对乙氧基苯胺	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> NO	(-)	(+)	(-)	(-)
	2-(乙酰氧基甲基)-3-(甲氧基羰基)联苯	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	(-)	(+)	(+)	(+)
	3,3'-二丙基-4,4'-二甲基-5,5'-二碳乙氧基二吡喃甲烷	C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	(-)	(+)	(+)	(+)
	海罂粟碱	C <sub>21</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>4</sub>	(-)	(+)	(-)	(-)
	4-甲氧基-6-甲基-5-硝基-2-苯并咪唑-1,3-二酮	C <sub>10</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>6</sub>	(-)	(-)	(+)	(-)
	6(4H)-boc-2-氨基-3,5,7,8-四氢-4-氧代-吡啶并[4,3-d]嘧啶	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	(-)	(-)	(+)	(-)
	N-甲基-1-金刚烷乙酰胺	C <sub>13</sub> H <sub>21</sub> NO	(-)	(+)	(-)	(+)
	N-甲基苯甲酸丁酯	C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>2</sub>	(-)	(-)	(+)	(-)

(续表 7)

种类	名称	化学式	CK	CS	FBF	CNP
	2,3,4-三甲氧基苯乙腈	C <sub>11</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>3</sub>	(-)	(-)	(+)	(-)
	乙醛异丙基脒	C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub>	(-)	(-)	(+)	(-)
	苯甲酰氨基丙二酸二乙酯	C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>5</sub>	(-)	(-)	(-)	(+)
	DL-3-氨基-N-丁酸	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	(-)	(-)	(-)	(+)
	乙氧呋草黄	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub> S	(-)	(-)	(-)	(+)
	1-(癸基磺酰基)癸烷	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub> O <sub>2</sub> S	(-)	(-)	(-)	(+)
	4-二乙氧基苯甲醛苯脒	C <sub>17</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub>	(-)	(-)	(-)	(+)
	N-(2-甲氧基-6-甲基苯基)-邻苯二甲酰亚胺	C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>3</sub>	(-)	(-)	(-)	(+)
	N-乙酰基-3-(3',4',5'-三甲氧基苯基)-丙胺	C <sub>14</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub>	(-)	(-)	(-)	(+)
	1-(6-甲基-苯并噻唑-2-基)-3-(4-甲基-苯甲酰基)-硫脲	C <sub>17</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> OS <sub>2</sub>	(-)	(-)	(-)	(+)
酚类	4-硝基邻苯二甲酰肼	C <sub>8</sub> H <sub>5</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	(-)	(-)	(-)	(+)
	2,4,6-三甲酚	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O	(+)	(-)	(-)	(-)
	2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	(+)	(-)	(-)	(-)
	丁香酚	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	(+)	(+)	(+)	(+)
	3,5-二叔丁基邻苯二酚	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	(-)	(+)	(+)	(-)
酸类	2-氧代己二酸	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>5</sub>	(+)	(-)	(-)	(-)
	棕榈酸	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	(+)	(-)	(-)	(-)
	油酸	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	(+)	(-)	(-)	(-)
酯类	正丙酸乙酯	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	(+)	(-)	(-)	(-)
	二十二烷酸二十二烷基酯	C <sub>44</sub> H <sub>88</sub> O <sub>2</sub>	(+)	(-)	(-)	(-)
	2-羟基十四烷酸甲酯	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>	(+)	(-)	(-)	(-)
	甲基(2E)-4,4-二甲基-2-戊烯酸酯	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	(+)	(-)	(-)	(-)
	甲基[4-(2-甲基-2-丙基)苯氧基]乙酸酯	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub>	(-)	(+)	(-)	(+)
	草酸二异丁酯	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>	(-)	(-)	(+)	(+)
酮类	2',4',6'-三甲基苯乙酮	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O	(+)	(-)	(-)	(-)
	3,5-二甲氧黄酮	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	(+)	(-)	(-)	(-)
	15,16-二去甲-8(17),11-赖百当二烯-13-酮	C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> O	(+)	(-)	(-)	(-)
	(R)-二氢-α-紫罗兰酮	C <sub>13</sub> H <sub>22</sub> O	(+)	(-)	(-)	(-)
	檀香脑	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	(+)	(-)	(-)	(-)
	甲基庚烯酮	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O	(-)	(+)	(-)	(-)
	3-(4-甲基苯基)-1-苯基-丙-2-烯-1-酮	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O	(-)	(+)	(-)	(-)
	3-(2-羟基苯基)-1,3-二苯基-1-丙酮	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	(-)	(+)	(-)	(-)
	4-羟基-3,5-二(2-甲基-2-丙基)-2,4-环己二烯-1-酮	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	(-)	(+)	(-)	(+)

注：“+”表示该组产品含有该物质，“-”表示该组产品不含有该物质。

### 3 结论

随着贮藏时间的延长,4组卤牛肉整体上感官评分、pH值和红度值呈下降趋势,TBARS值呈显著升高趋势,其中CS组的感官评分、TBARS值

和菌落总数均显著优于CK组和其它2个试验组( $P<0.05$ );4组卤牛肉的16S rDNA测序结果共检测到相对丰度大于1%有5个门,44个属的微生物信息,优势菌门为变形菌门和厚壁菌门,CS对

厚壁菌门类的微生物有抑制作用,属水平上共有的优势菌为不动杆菌属与未确定的变性菌门,其中CS组未检测到会产生生物胺的芽孢杆菌属,提高了产品的安全性;4组产品GC-MS分析共检测到97种(CS:41>CK:39>CNP:28>FBF:25)挥发性香气成分,包括烃类、酸类、醚类、醇类、醛类、酚类、酯类、酮类以及其它含氮含硫化合物,其中CS组含有较多对风味贡献较多的萜烯类、醚类、不饱和醇类、醛类、以及含氮含硫化合物。因此,CS为较好的天然添加剂,既能够延长产品货架期,提升产品安全性,同时,也能改善风味,提升产品感官品质。

### 参 考 文 献

- [1] 赵爽. 低温肉制品保鲜新技术研究进展及展望[J]. 现代化农业, 2018(4): 51-54.  
ZHAO S. Research progress and prospect of new preservation technology of low temperature meat products[J]. Modernizing Agriculture, 2018(4): 51-54.
- [2] 黄本婷, 余静, 何丹, 等. 肉制品防腐添加剂及其应用[J]. 中国调味品, 2019, 44(2): 175-178.  
HUANG B, YU J, HE D, et al. Preservative additives for meat products and their applications [J] Chinese Condiments, 2019, 44(2): 175-178.
- [3] 高志, 彭晓娅, 颜小, 等. 肉类制品的天然防腐剂研究进展[J]. 现代食品, 2016(7): 20-21.  
GAO Z, PENG X Y, YAN X, et al. Research progress of natural preservatives in meat products[J]. Modern Food, 2016(7): 20-21.
- [4] SUN Q, ZHAO X Y, CHEN H, et al. Impact of spice extracts on the formation of biogenic amines and the physicochemical, microbiological and sensory quality of dry sausage [J]. Food Control, 2018, 92: 190-200.
- [5] SRINIVASAN K. Antimutagenic and cancer preventive potential of culinary spices and their bioactive compounds[J]. Pharma Nutrition, 2017, 5(3): 89-102.
- [6] 樊晓盼, 刘静静, 李春萌, 等. 发酵牛肉调味基料替代亚硝酸盐在红肠中的应用[J]. 食品工业科技, 2019, 40(9): 24-28, 33.  
FAN X P, LIU J J, LI C M, et al. Application of fermented beef flavor instead of nitrite in sausage[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(9): 24-28, 33.
- [7] 蓝蔚青, 杜金涛, 梅俊, 等. 茶多酚抑菌机理及在水产品保鲜中的应用进展[J]. 包装工程, 2021, 42(5): 73-79.  
LAN W Q, DU J T, MEI J, et al. Research progress on antibacterial mechanism of tea polyphenol and its application in preservation of aquatic products [J]. Packaging Engineering, 2021, 42(5): 73-79.
- [8] 韦燕文, 蔡文韬, 袁学文, 等. 不同涂膜保鲜法对鸡蛋保鲜效果的研究[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(22): 221-226.  
WEI Y W, CAI W T, YUAN X W, et al. The effect of different coating preservation methods on eggs [J]. Food and Fermentation Industry, 2021, 47(22): 221-226.
- [9] 贺羽, 王帅, 金益, 等. 天然保鲜剂对低温肉制品的保鲜作用[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(1): 177-182.  
HE Y, WANG S, JIN Y, et al. Study on preservation of low-temperature meat products by natural preservatives [J]. Jiangsu Agricultural Science, 2019, 47(1): 177-182.
- [10] 马美湖, 葛长荣, 王进, 等. 冷却肉生产中保鲜技术的研究——溶菌酶、Nisin、GNa液复合性保鲜试验[J]. 食品科学, 2003, 24(4): 74-82.  
MA M H, GE C R, WANG J, et al. Study on preservation technology in chilled meat production - compound preservation test of lysozyme, Nisin and GNa solution [J]. Food Science, 2003, 24(4): 74-82.
- [11] 刁静静. 生物防腐剂在肉品保鲜中的应用(二)——溶菌酶和乳铁蛋白[J]. 肉类研究, 2009(4): 53-61.  
DIAO J J. Application of biologic preservative agent in meat products II - Lysozyme and lactoferrin [J]. Meat Research, 2009(4): 53-61.
- [12] 王凯, 张江临, 胡福良. 蜂胶抗炎活性及其分子机制研究进展[J]. 中草药, 2013, 44(16): 2321-2329.  
WANG K, ZHANG J L, HU F L. Research progress in anti-inflammatory activity of propolis and its molecular mechanism [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2013, 44(16): 2321-2329.
- [13] 祝媛, 吴香, 李超, 等. 天然防腐剂在肉制品中的应用[J]. 肉类工业, 2020(7): 48-54.

- ZHU Y, WU X, LI C, et al. Application of natural preservatives in meat products [J]. *Meat Industry*, 2020(7): 48-54.
- [14] 杨轶滢, 崔钊伟, 王卫, 等. 香辛料提取物及其在肉制品抑菌防腐中的应用进展[J]. *现代食品科技*, 2022, 38(3): 314-327.
- YANG Y X, CUI Z W, WANG W, et al. Spice extracts and their application of antimicrobial and preservation activities in meat products [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2022, 38(3): 314-327.
- [15] GARCÍA-GARCÍA R, LÓPEZ-MALO A, PALOU E. Bactericidal action of binary and ternary mixtures of carvacrol, thymol, and eugenol against *Listeria innocua*[J]. *Journal of Food Science*, 2011, 76(2): M95-M100.
- [16] 朱雪蕊, 季慧, 杨颖, 等. 复合生物保鲜剂对延长低温肉制品货架期的研究[J]. *中国调味品*, 2017, 42(4): 23-25, 31.
- ZHU X R, JI H, YANG Y, et al. Study on complex biological preservative for extending the shelf-life of pasteurized meat products [J]. *China Condiment*, 2017, 42(4): 23-25, 31.
- [17] 樊晓盼, 施煜, 刘一鸣, 等. 天然牛肉调味基料的增稠工艺优化[J]. *食品研究与开发*, 2019, 40(14): 81-85.
- FAN X P, SHI Y, LIU Y M, et al. Optimization of thickening process of natural beef flavor [J]. *Food Research and Development*, 2019, 40(14): 81-85.
- [18] 李云龙, 赵月亮, 范大明, 等. 香辛料中植物化学物质对肉制品品质及健康功效影响研究进展[J]. *食品科学*, 2021, 42(5): 262-270.
- LI Y L, ZHAO Y L, FAN D M, et al. Effects of phytochemicals from spices on quality attributes and health benefits of meat products: A review [J]. *Food Science*, 2021, 42(5): 262-270.
- [19] 姜皓, 陈媛媛, 杨璐, 等. 复合天然抗氧化剂对西式培根品质和安全性的影响[J]. *肉类研究*, 2020, 34(7): 33-39.
- JIANG H, CHEN Y Y, YANG L, et al. Effects of mixed natural antioxidants on the quality and safety of bacon [J]. *Meat Research*, 2020, 34(7): 33-39.
- [20] 吴晨燕, 陈月娇, 樊晓盼, 等. 发酵牛肉调味基料对牛肉肠贮藏品质的影响[J]. *食品科技*, 2019, 44(10): 130-137.
- WU C Y, CHEN Y J, FAN X P, et al. Antibacterial application of fermented beef flavorings in sausage [J]. *Food Science and Technology*, 2019, 44(10): 130-137.
- [21] 王俊钢, 李宇辉, 刘成江, 等. 新疆哈萨克族传统风干肉中细菌多样性分析及安全评价[J]. *中国食品学报*, 2021, 21(11): 209-218.
- WANG J G, LI Y H, LIU C J, et al. Analysis and safety evaluation of bacterial diversity profiles in traditional air-dried meat of Xinjiang Kazakh [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2021, 21(11): 209-218.
- [22] BATES SCOTT T, CLEMENTE J C, FLORES G E, et al. Global biogeography of highly diverse protistan communities in soil [J]. *The ISME Journal*, 2013, 7(3): 652-659.
- [23] 张志刚, 林祥木, 胡涛, 等. 低温狮子头冷藏过程品质变化规律[J]. *肉类研究*, 2020, 34(2): 73-79.
- ZHANG Z G, LIN X M, HU T, et al. Quality changes of low-temperature cooked chinese large meatball (Shizitou) during chilled storage [J]. *Meat Research*, 2020, 34(2): 73-79.
- [24] 弋凯鸽, 吴寒冰, 李帅康, 等. 基于高通量测序技术分析青藏高原风干牦牛肉中细菌多样性[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(13): 118-124.
- YI K G, WU H B, LI S K, et al. Analysis of bacterial diversity in Tibetan plateau dry yak meat based on high-throughput sequencing [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(13): 118-124.
- [25] ZHANG Q Q, JIANG M, RUI X, et al. Effect of rose polyphenols on oxidation, biogenic amines and microbial diversity in naturally dry fermented sausages [J]. *Food Control*, 2017, 78: 324-330.
- [26] 徐龙, 张邦建, 韩永霞, 等. 发酵剂对发酵牛肉干菌群结构及生物胺组成的影响[J]. *食品科技*, 2020, 45(11): 117-124.
- XU L, ZHANG B J, HAN Y X, et al. Effects of starter cultures on flora structure and biogenic amine composition of fermented beef jerky [J]. *Food Science and Technology*, 2020, 45(11): 117-124.
- [27] 申慧珊, 张国权, 夏天雨, 等. 电子舌技术对市售不同品牌方便面调料的滋味识别[J]. *中国调味品*, 2018, 43(9): 134-139, 159.
- SHEN H S, ZHANG G Q, XIA T Y, et al. The taste discrimination of commercial instant noodles seasoning with different brands by electronic tongue technology [J]. *China Condiment*, 2018, 43(9): 134-

- 139, 159.
- [28] 曹伟峰, 张悦妍, 向情儒, 等. 基于 HS-SPME-GC-MS 和 GC-IMS 结合电子鼻分析真空冷却对酱牛肉风味的影响[J]. 食品工业科技, 2022, 43(9): 341-348.
- CAO W F, ZHANG Y Y, XIANG Q R, et al. Analysis of the effect of vacuum cooling on the flavor of sauce beef based on HS-SPME-GC-MS and GC-IMS combined with electronic nose[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(9): 341-348.
- [29] 唐翠娥, 潘思轶, 曹婷, 等. 固相微萃取-气相色谱-质谱法分析不同口味精武鸭脖的香气成分[J]. 食品科学, 2013, 34(4): 186-189.
- TANG C E, PAN S Y, CAO T, et al. Analysis of aroma components in Jingwu duck neck with different flavors using solid phasemicroextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry[J]. Food Science, 2013, 34(4): 186-189.
- [30] LU Z M, TAO W Y, XU H Y, et al. Analysis of volatile compounds of *Antrodia camphorata* in submerged culture using headspace solid-phase microextraction [J]. Food Chemistry, 2011, 127(2): 662-668.
- [31] 臧明伍, 王宇, 韩凯, 等. 北京清真酱牛肉挥发性风味化合物的研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(8): 70-73, 357.
- ZANG M W, WANG Y, HAN K, et al. Study on volatile flavor compounds of Beijing moslemic braised beef with soy sauce[J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 31(8): 70-73, 357.
- [32] 王鹤潼, 潘泓杉, 王朝, 等. 不同品种金针菇特征挥发性物质的差异分析[J]. 食品科学, 2021, 42(2): 193-199.
- WANG H T, PAN H S, WANG C, et al. Differences in characteristic volatile substances in different cultivars of *Flammulina filiformis* [J]. Food Science, 2021, 42(2): 193-199.
- [33] 张宁, 陈海涛, 孙宝国, 等. 固相微萃取和同时蒸馏萃取方法比较传统腊牛肉的风味成分[J]. 中国食品学报, 2016, 16(6): 247-258.
- ZHANG N, CHEN H T, SUN B G, et al. A comparison of solid-phase microextraction with simultaneous distillation for the analysis of volatile aroma compositions in traditional preserved beef[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2016, 16(6): 247-258.
- [34] 孙杰, 蒲丹丹, 陈海涛, 等. 五香牛肉干挥发性风味成分的分离与鉴定[J]. 食品科学, 2016, 37(6): 121-125.
- SUN J, PU D D, CHEN H T, et al. Analysis of volatile flavor compounds in spiced beef jerky [J]. Food Science, 2016, 37(6): 121-125.
- [35] ELMORE J S, MOTTRAM D S, ENSER M, et al. Effect of the polyunsaturated fatty acid composition of beef muscle on the profile of aroma volatiles[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 1999, 47(4): 1619.
- [36] 付丽, 刘旖旎, 高雪琴, 等. HS-SPME 与 GC-MS 协同法分析不同杀菌条件下酱牛肉中的挥发性风味物质[J]. 现代牧业, 2020, 4(2): 18-23.
- FU L, LIU Y L, GAO X Q, et al. Analysis of volatile flavor compounds in different sterilization sauce beef with HSPME and GC-MS [J]. Modern Animal Husbandry, 2020, 4(2): 18-23.
- [37] CERNY C. Origin of carbons in sulfur-containing aroma compounds from the Maillard reaction of xylose, cysteine and thiamine[J]. LWT - Food Science and Technology, 2007, 40(8): 1309-1315.
- [38] 蔡艳梅, 孙宝国, 黄明泉, 等. 同时蒸馏萃取-气质联用分析月盛斋酱牛肉的挥发性风味成分[J]. 食品科学, 2010, 31(18): 370-374.
- QI Y M, SUN B G, HUANG M Q, et al. Analysis of volatile compounds in yueshengzhai spiced beef by simultaneous distillation extraction and gas chromatography-mass spectrometry [J]. Food Science, 2010, 31(18): 370-374.
- [39] 臧明伍, 张凯华, 王守伟, 等. 基于 SPME-GC-O-MS 的清真酱牛肉加工过程中挥发性风味成分变化分析[J]. 食品科学, 2016, 37(12): 117-121.
- ZANG M W, ZHANG K H, WANG S W, et al. Changes in volatile flavor components during the processing of Islamic spiced beef analyzed by solid phase micro-extraction coupled with gas chromatography-olfactometry-mass spectrometry (SPME-GC-O-MS)[J]. Food Science, 2016, 37(12): 117-121.
- [40] DEISINGH A K, STONE D C, THOMPSON M. Application of electronic noses and tongues in food analysis[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2004, 39(6): 587-604.
- [41] TANAKA T, YAMAUCHI T, KATSUMATA R, et al. Comparison of volatile components in commercial

Itohiki -Natto by solid phase microextraction and gas chromatography[J]. Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi, 2003, 50(6): 278-285.

## Effects of Natural Compound Additives on Storage Quality and Flavor Changes of Stewed Beef

Li Yan<sup>1</sup>, Fu Huijing<sup>1</sup>, Qin Jianpeng<sup>1</sup>, Lu Yuqian<sup>1</sup>, Liang Liya<sup>1</sup>, Wu Zijian<sup>2</sup>, Ma Lizhen<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>School of Food Science and Biotechnology, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384

<sup>2</sup>School of Biotechnology and Food Science, Tianjin University of Commerce, Tianjin 300134

**Abstract** In order to prolong the shelf life of low-temperature sterilized brine beef, three natural compound additives selected in the early stage were added: Compound spice (CS), fermented beef flavoring (FBF) and compound natural preservative (CNP). A blank control group (control check, CK) was set up. The sterilization method was boiling water sterilization for 30 min twice (placed at room temperature for 48 h in the middle). The four groups of samples were stored for 150 days (at 10 °C), and the changes of sensory quality, physical and chemical indexes and total number of colonies (0, 14, 30, 60, 90, 120 d and 150 d) were measured. The microbial diversity and volatile flavor substances were analyzed on the 90<sup>th</sup> day. Results showed that during storage, the sensory score (CK: 5.9→5.5, CS: 7.5→7.2, FBF: 6.6→6.2, CNP: 6.4→4.8), pH value (CK: 6.13→5.74, CS: 6.20→6.05, FBF: 6.18→6.02, CNP: 6.08→5.79) and redness (CK: 13.13→10.23, CS: 12.85→11.66, FBF: 12.23→10.83, CNP: 13.03→11.27) of the products in the four groups decreased, and the TBARS value (CK: 0.17 mg/kg→0.42 mg/kg, CS: 0.05 mg/kg→0.34 mg/kg, FBF: 0.07 mg/kg→0.39 mg/kg, CNP: 0.06 mg/kg→0.31 mg/kg) significantly higher at the end of storage than at the beginning of storage, and the overall effect of the CS group was better than the other three groups; 4 groups detected microbial information of 5 phyla and 44 genera with abundance greater than 1%. The dominant phyla were Proteus and Firmicutes, and the number of Firmicutes in CS group was low, and no *Bacillus* producing biogenic amines was detected. A total of 97 volatile aroma components (CS: 41 > CK: 39 > CNP: 28 > FBF: 25) were detected in the four groups of products. CS group contained compounds with high contribution to flavor. In conclusion, adding spice essential oil can not only prolong the shelf life of products, but also improve the flavor and sensory quality of products.

**Keywords** stewed beef; storage quality; microbial diversity; flavor substance