

DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.026130

引用格式:彭美玲,郝刚,唐善虎,等.月桂酰精氨酸乙酯对牦牛鲜肉肠贮藏期间品质的影响[J].食品与发酵工业,2021,47(14):176-182. PENG Meiling, HAO Gang, TANG Shanhu, et al. Preservative lauroyl arginine ethyl ester on the quality of yak sausage during storage[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(14): 176-182.

## 月桂酰精氨酸乙酯对牦牛鲜肉肠贮藏期间品质的影响

彭美玲, 郝刚\*, 唐善虎, 李思宁

(西南民族大学 食品科学与技术学院, 四川 成都, 610041)

**摘要** 将月桂酰精氨酸乙酯(lauroyl glycine ethyl ester, LAE)单独使用以及与壳聚糖(chitosan, CS)及乳酸链球菌素(Nisin)进行复配应用于牦牛鲜肉肠的保鲜,考察了15 d贮藏期内汁液流失率、pH值、感官评价、蒸煮损失率、挥发性盐基氮等各项理化指标以及菌落总数的变化,并用CFU-time关系模型评估各保鲜组抗菌效果。结果表明,总体的保鲜能力大小为:LAE + Nisin + CS > LAE + CS > LAE + Nisin > LAE(0.3 g/kg) > LAE(0.1 g/kg) ( $P < 0.05$ ),最优保鲜配方为LAE(0.2 g/kg) + Nisin(0.3 g/kg) + CS(5 g/kg)。含LAE组能显著推迟细菌生长到达最大速度的时间( $\Delta t_c$ ),最优配方组能推迟9.1 d。实验证明,LAE及其复合保鲜在一定时间内可显著抑制牦牛鲜肉肠中微生物生长,提高保鲜能力,延长货架期。

**关键词** 月桂酰精氨酸乙酯;壳聚糖;乳酸链球菌素;牦牛鲜肉肠;抑菌剂

被誉为“高原之舟”的牦牛,生活在高海拔地带,是高原牧区的主要家畜之一,大都生活在我国青藏高原。它极其耐寒,适应高海拔、低氧的气候环境,因而牦牛肉不同于其他品种的牛肉<sup>[1]</sup>。牦牛肉味道鲜美、高蛋白、低脂、富含多种氨基酸,是极富营养且高经济价值的天然绿色肉食品<sup>[2]</sup>。

壳聚糖(chitosan, CS)与乳酸链球菌素(Nisin)是常用的食品保鲜剂,肉制品中添加Nisin可以使肉肠的色泽更加鲜艳<sup>[3]</sup>。壳聚糖复合抗菌膜对贮藏过程中冷鲜肉的挥发性盐基氮、感官等指标有影响,能够有显著延缓冷鲜肉的腐败<sup>[4-5]</sup>。壳聚糖涂层也能很好地抑制冷冻鱼的变质<sup>[6-7]</sup>。壳聚糖复合膜包装猪肉肠贮藏于4℃条件下,肉肠的颜色、质地、脂质氧化等方面的变化均低于对照组(未添加壳聚糖)<sup>[8]</sup>。徐畅等<sup>[9]</sup>研究发现壳聚糖复合保鲜能够改善冷鲜猪肉的感官品质,降低汁液流失率,并抑制微生物生长。Nisin处理冷鲜羊肉的保鲜在4℃下的货架期可从6 d延长至18 d<sup>[10]</sup>。侯晓卫等<sup>[11]</sup>研究发现Nisin能抑制冷鲜牦牛肉贮藏过程中菌落总数、挥发性盐基氮的增长。乳酸链球菌素能有效抑制单核细胞增生李斯特菌、蜡样芽孢杆菌、肉毒梭状芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌等革兰氏阳性细菌<sup>[12]</sup>。杨雯舸等<sup>[13]</sup>研究了Nisin与植物乳酸杆菌素的复合膜对冷鲜猪肉保鲜时间可延长4 d。乳酸链球菌素复合其他保鲜剂可有效

提高肉制品的安全性,抑制腐败微生物生长<sup>[14-16]</sup>。

月桂酰精氨酸乙酯(lauroyl glycine ethyl ester, LAE)是一种新型食品保鲜剂,对许多食源性病原菌有较高的抑制性能<sup>[17]</sup>。LAE早在2005年已被FDA批准为一般公认安全(GRAS)食品添加剂,2012年澳大利亚食品标准局发布134号食品标准修订公告,批准将LAE作为食品保鲜剂使用于香肠与香肠肉中,规定最大使用量为315 mg/kg<sup>[18]</sup>。有文献报道LAE可应用于乳制品、果蔬和肉制品<sup>[19-21]</sup>保鲜,李阳等<sup>[22]</sup>研究了LAE对果蔬腐败菌的抑菌性能,包括意大利青霉、指状青霉、链格孢和灰葡萄孢,并测定了LAE对4种菌的最小抑菌浓度分别为400、400、200、400 μg/mL。研究者测定LAE对2株大肠杆菌O157:H7的抗菌性,证明含有26% LAE的薄膜包装对绵羊奶酪中细菌的数量有影响<sup>[23]</sup>。研究者将LAE制成薄膜用于即食食品保鲜,对大肠杆菌有显著的抑制作用<sup>[24]</sup>。但将LAE与其他保鲜剂复配的研究较少,壳聚糖与Nisin是安全性高、抑菌性强、生物相容性好抑菌保鲜剂,LAE与上述2种抑菌剂复配能显著提高保鲜能力。牦牛肉肠具有高品质、高营养的特点,但在贮藏过程中容易滋生细菌而影响其品质。本试验研究了单独使用LAE以及将LAE与壳聚糖、Nisin复配应用于牦牛鲜肉肠中,探究其对牦牛鲜肉肠贮藏期间品质的影响。

第一作者:硕士研究生(郝刚副教授为通讯作者, E-mail: Indianahg@hotmail.com)

基金项目:国家重点研发计划(2018YFD0400101);研究生创新项目(CX2020SZ42)

收稿日期:2020-11-09, 改回日期:2020-12-10

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与仪器

材料:牦牛肉(背最长肌),四川红原牦牛肉食品责任有限公司;猪肠衣、肥猪膘,成都农贸市场;月桂酰精氨酸乙酯,BR 成都傲飞生物化学产品责任有限公司;壳聚糖(食品级),深圳市星牧生物工程有限公司;Nisin(食品级),山东元泰生物工程有限公司。

辅料:食盐、五香粉、料酒、鸡精,成都农贸市场。

主要试剂:氧化镁、硼酸、盐酸、甲基红指示剂、无水乙醇,均为分析纯,成都科龙化工试剂厂。

试验仪器:BSA224S-CW 型电子天平,赛多利斯仪器有限公司;PHS-320 型 pH 计,成都世纪方舟科技有限公司;XR53648 型电热恒温水浴锅,金坛区西城新瑞有限公司;5810R 型台式冷冻离心机,德国 Eppendorf 公司。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 牦牛肉肠制作工艺

牦牛鲜肉肠工艺流程:原料肉→修整切块→混料拌匀→腌制→绞肉→灌肠→结扎排气→成品。具体流程:精选优质牦牛肉和猪肥膘,清洗后修整除去筋膜、筋腱,切成约 2 cm × 2 cm × 2 cm 的块状,沥干表面水分,将原料 [ $m(\text{猪肥膘}):m(\text{牦牛肉})=3:7$ ],辅料(原料以 100% 计,食盐 3.5%,五香粉 0.5%,鸡精 0.4%,料酒 1.0%,均为质量分数)混合均匀,置于 4 °C 冰箱腌制 24 h,当肉呈现均匀鲜红色、手触有质感、滑腻感,完成腌制,分别将 LAE 保鲜组分混入腌制完毕的牦牛肉中搅碎,灌装成长度为 5 ~ 8 cm 的肠体,用排气针扎眼排除肠内气体后放置于 0 ~ 4 °C 冰箱低温贮藏,于第 0、3、6、9、12、15 天测定指标。各处理组如下:

(1)对照组:不添加任何保鲜剂,仅以牦牛肉与猪肥膘为主原料,添加辅料混匀后灌肠。

(2)低浓度 LAE 组:LAE 的添加量为 0.1 g/kg,并以牦牛肉与猪肥膘为主原料,添加辅料混匀后灌肠。

(3)高浓度 LAE 组:LAE 的添加量为 0.3 g/kg,并以牦牛肉与猪肥膘为主原料,添加辅料混匀后灌肠。

(4)LAE 与 Nisin 复配组:LAE(0.2 g/kg) + Nisin(0.3 g/kg),并以牦牛肉与猪肥膘为主原料,添加辅料混匀后灌肠。

(5)LAE 与 CS 复配组:LAE(0.2 g/kg) + CS(5 g/kg),并以牦牛肉与猪肥膘为主原料,添加辅料混匀后灌肠。

(6)LAE、Nisin 与 CS 复配组:LAE(0.2 g/kg) + Nisin(0.3 g/kg) + CS(5 g/kg),并以牦牛肉与猪肥膘

为主原料,添加辅料混匀后灌肠。

#### 1.2.2 汁液流失率测定

参考李儒仁等<sup>[25]</sup>的方法,于各测定时间点取出牦牛鲜肉肠,迅速将试样表面的汁液用滤纸吸干称重(记为  $M_2$ ),贮藏前试样的质量为  $M_1$ ,从而计算其失水率,每个样品重复 3 次取平均值。计算如公式(1)所示:

$$\text{汁液流失率}/\% = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100 \quad (1)$$

式中: $M_1$  为贮藏前试样的质量; $M_2$  为贮藏后试样的质量。

#### 1.2.3 pH 测定

取搅碎的牦牛鲜肉肠样品 5 g 置于小烧杯内,加入 50 mL 蒸馏水混合,室温静置 15 min 左右过滤,将酸度计的玻璃电极插入滤液内,并在酸度计表头上读出其 pH 值。分别在第 0、3、6、9、12、15 天测其 pH 值,每个样品重复 3 次取平均值。

#### 1.2.4 蒸煮损失

将牦牛鲜肉肠切成约 5 g( $M_1$ ),用样品袋装好,将袋中气体挤出,放入水浴锅 85 °C 加热 10 min,取出冲水冷却 10 min 至室温,再次称重,计为  $M_2$ ,计算如公式(2)所示:

$$\text{蒸煮损失率}/\% = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100 \quad (2)$$

#### 1.2.5 挥发性盐基氮测定

采用自动凯氏定氮仪法测定牦牛鲜肉肠中挥发性盐基氮(total volatile basic nitrogen, TVB-N)<sup>[26]</sup>。

#### 1.2.6 感官评价

牦牛鲜肉肠在沸水中煮熟取出后,晾 5 min,用刀将其切成 3 mm 左右的片状,邀请 10 位有一定感官品评经验的人,分别从外观、色泽、香气、质地 4 个方面进行肉肠感官评价,详见表 1。

#### 1.2.7 抗菌活性的评估

##### 1.2.7.1 菌落总数的测定

按照国标 GB 4789.2—2016 测定牦牛鲜肉肠中菌落总数<sup>[27]</sup>。

##### 1.2.7.2 CFU-time 关系模型

CFU-time 关系变化逻辑函数可提供良好评估 LAE 及与其他保鲜剂复配在肉肠中的抑菌效果的模型(图 1),计算见公式(3):

$$\text{CFU}(t) = \frac{\text{CUF}_{\text{asym}}}{1 + e^{-k(t-t_c)}} \quad (3)$$

式中:CFU( $t$ )为细菌达到最大生长速度的菌落数;CFU<sub>asym</sub>为渐近 CFU 值(由于对照组在 15 d 贮藏期内菌落生长没有达到固定值,即生长曲线调整值); $k$  为生长曲线在拐点处(即生长速率最大值)的斜率; $t_c$  为添加 LAE 应用生长曲线拐点的位置; $t$  为对照组生长曲线拐点的位置。

表 1 牦牛鲜肉肠的感官评价标准

Table 1 Sensory evaluation criteria of yak sausage

指标	感官评价	得分/分
色泽	切面光泽,玫瑰红色	20~25
	切面光泽,灰红发暗	15~19
	部分光泽,呈咖啡色	7~14
	切面无光泽,暗灰色	0~6
质地	弹性好,坚实整齐	20~25
	弹性好,有不明裂横	15~19
	弹性差,切面齐,裂横明显	7~14
	无弹性切面不齐,裂横明显	0~6
外观	肠衣完整,贴紧肉馅,弹性好	20~25
	肠衣完整,部分肠衣与肉馅分离	15~19
	肠衣发软与肉馅分离,有霉点,抹去无痕迹	7~14
	肠衣与肉分离,易撕裂,多霉点,抹去有痕迹	0~6
风味	风味正常,具芳香味	20~25
	气味正常,芳香味淡	15~19
	略有异味	7~14
	浓烈异味	0~6

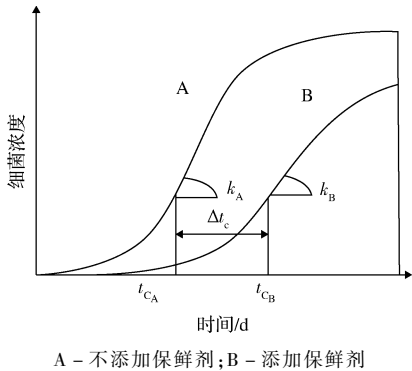


图 1 添加和不添加保鲜剂牦牛肉肠 CFU-time 关系模型

Fig. 1 Adding preservative and not adding CFU-time relationship model on yak sausage

表 2 牦牛鲜肉肠贮藏期间汁液流失率的变化

Table 2 Changes of juice leakage during storage of yak sausage

组别	贮藏时间					
	0 d	3 d	6 d	9 d	12 d	15 d
对照组	0.053 ± 0.002 <sup>a</sup>	0.431 ± 0.316 <sup>a</sup>	0.442 ± 0.002 <sup>a</sup>	0.450 ± 0.224 <sup>b</sup>	1.469 ± 0.225 <sup>a</sup>	1.679 ± 0.171 <sup>a</sup>
LAE(低)	0.053 ± 0.005 <sup>a</sup>	0.209 ± 0.148 <sup>ab</sup>	0.308 ± 0.095 <sup>b</sup>	0.646 ± 0.017 <sup>ab</sup>	0.736 ± 0.067 <sup>bc</sup>	1.350 ± 0.159 <sup>b</sup>
LAE(高)	0.053 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.164 ± 0.032 <sup>ab</sup>	0.308 ± 0.095 <sup>b</sup>	0.813 ± 0.243 <sup>a</sup>	0.826 ± 0.118 <sup>bc</sup>	1.138 ± 0.134 <sup>bc</sup>
LAE + Nisin	0.053 ± 0.000 <sup>a</sup>	0.152 ± 0.049 <sup>ab</sup>	0.506 ± 0.019 <sup>a</sup>	0.600 ± 0.003 <sup>ab</sup>	0.921 ± 0.003 <sup>b</sup>	1.141 ± 0.000 <sup>bc</sup>
LAE + CS	0.053 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.155 ± 0.037 <sup>ab</sup>	0.527 ± 0.033 <sup>a</sup>	0.547 ± 0.124 <sup>ab</sup>	0.698 ± 0.069 <sup>c</sup>	0.974 ± 0.238 <sup>c</sup>
LAE + Nisin + CS	0.053 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.132 ± 0.033 <sup>b</sup>	0.439 ± 0.019 <sup>a</sup>	0.768 ± 0.270 <sup>ab</sup>	0.888 ± 0.055 <sup>bc</sup>	0.910 ± 0.151 <sup>c</sup>

注:表中同一贮藏期内各处理组间小写字母不同表示差异显著( $P < 0.05$ ),反之差异不显著(表 3、4、5 同)

2.2 不同 LAE 处理组对牦牛鲜肉肠贮藏期间 pH 值的影响

牦牛鲜肉肠中细菌生长与肉的 pH 值有直接关系,当肉的 pH 值在 6.0 或者小于 6.0 时,会抑制细菌的繁殖,肉中蛋白质分解程度相对较小,肉质新鲜。

1.3 数据处理与统计分析

采用 Microsoft Excel 2010 进行数据统计、IBM SPSS Statistics 20 软件进行统计分析,差异显著用  $P < 0.05$  表示。

2 结果与分析

2.1 不同 LAE 处理组对牦牛鲜肉肠贮藏期间汁液流失率的影响

牦牛鲜肉肠贮藏期间汁液流失率如表 2 所示,在整个贮藏期 15 d 内,对照组与保鲜组的汁液流失率都呈显著增大的趋势( $P < 0.05$ )。低浓度 LAE 组与高浓度 LAE 组的增加趋势小于对照组,且低浓度 LAE 的汁液流失率大于高浓度 LAE。LAE + Nisin 和 LAE + CS 组汁液流失率低于对照组与低浓度 LAE 组,且 LAE + CS 远小于高浓度 LAE 与低浓度 LAE 组,但 LAE + Nisin 却略大于高浓度 LAE,说明 LAE + CS 在一定时间内能显著降低牦牛肉肠的汁液流失率,而 LAE + Nisin 复配阻止汁液流失的效果并不明显。对照组第 15 天汁液流失最为严重,为 1.679%,LAE + Nisin + CS 在贮藏期间表现出较小的汁液流失率。由于添加保鲜剂后抑制细菌生长,从而细菌分泌的蛋白酶少,被水解的蛋白少,肌肉的凝胶结构就能保持,从而留住水分;另一方面,腐败菌被抑制后,牦牛肉肠的 pH 变化不大,蛋白质净电荷变化就不大<sup>[28]</sup>,蛋白质持水力变化也不大,因此能较好地留住水分,而 LAE + CS 和 LAE + Nisin + CS 的汁液流失率远小于组其他处理组,可能是因为壳聚糖具有保水性,能够使保水能力得到进一步加强<sup>[29]</sup>。

但随贮藏时间延长,细菌生长繁殖速度加快,导致蛋白质分解,氨及胺类物质大量蓄积,导致 pH 值增加,达到 6.7 或高于 6.7,此时肉已腐败变质<sup>[9]</sup>。

贮藏期间牦牛肉肠的 pH 值变化如表 3 所示,肉肠在贮藏过程中 pH 值总体呈增大的趋势,对照组在

15 d 内各测量时间点的 pH 值变化差异显著 ( $P < 0.05$ )。低浓度 LAE 和高浓度 LAE 组除了在第 0 天和第 9 天时差异不显著,其他时间点的 pH 值变化差异显著 ( $P < 0.05$ ),说明不同 LAE 浓度在一定时间内对牦牛肉贮藏期 pH 变化有影响,且高浓度 LAE 保鲜效果优于低浓度 LAE。低浓度 LAE、高浓度 LAE 与 LAE + Nisin、LAE + CS 在贮藏期内 pH 值变化差异显著 ( $P < 0.05$ ),说明 LAE 复合保鲜效果优于单一 LAE 处理组,LAE + Nisin 和 LAE + CS 在 3 d 后 pH 值

变化差异不显著 ( $P > 0.05$ ),证明 LAE + Nisin 和 LAE + CS 对 pH 值变化影响相当。LAE + Nisin + CS 组在前 9 d pH 值增大差异不显著,第 9 天后增大趋势显著,说明 3 种保鲜剂复配在一定时间内具有良好保鲜效果。到第 15 天时对照组的 pH 值最大,其次是 LAE 低、高浓度组,再次为 LAE + Nisin、LAE + CS 复配组,而 3 种保鲜剂复配时 pH 值最小,为 6.22,说明以上 3 种保鲜剂复配能显著抑制细菌的生长对 pH 值带来的影响。

表 3 牦牛鲜肉肠贮藏期间 pH 值的变化

Table 3 pH value change of yak sausage during storage

组别	贮藏时间					
	0 d	3 d	6 d	9 d	12 d	15 d
对照组	5.66 ± 0.005 <sup>a</sup>	6.31 ± 0.025 <sup>a</sup>	6.52 ± 0.011 <sup>a</sup>	6.70 ± 0.010 <sup>a</sup>	6.77 ± 0.026 <sup>a</sup>	6.92 ± 0.025 <sup>a</sup>
LAE(低)	5.67 ± 0.026 <sup>a</sup>	6.21 ± 0.083 <sup>b</sup>	6.33 ± 0.051 <sup>b</sup>	6.45 ± 0.035 <sup>b</sup>	6.71 ± 0.035 <sup>a</sup>	6.80 ± 0.023 <sup>b</sup>
LAE(高)	5.67 ± 0.010 <sup>a</sup>	6.03 ± 0.090 <sup>c</sup>	6.12 ± 0.030 <sup>c</sup>	6.38 ± 0.040 <sup>b</sup>	6.43 ± 0.017 <sup>b</sup>	6.48 ± 0.030 <sup>c</sup>
LAE + Nisin	5.65 ± 0.017 <sup>a</sup>	5.70 ± 0.005 <sup>d</sup>	5.82 ± 0.075 <sup>d</sup>	5.99 ± 0.080 <sup>c</sup>	6.17 ± 0.034 <sup>c</sup>	6.39 ± 0.036 <sup>d</sup>
LAE + CS	5.65 ± 0.015 <sup>a</sup>	5.73 ± 0.020 <sup>d</sup>	5.76 ± 0.023 <sup>d</sup>	5.81 ± 0.011 <sup>d</sup>	6.18 ± 0.015 <sup>c</sup>	6.39 ± 0.010 <sup>d</sup>
LAE + Nisin + CS	5.66 ± 0.020 <sup>a</sup>	5.72 ± 0.010 <sup>d</sup>	5.74 ± 0.068 <sup>d</sup>	5.77 ± 0.034 <sup>d</sup>	6.13 ± 0.070 <sup>c</sup>	6.22 ± 0.023 <sup>c</sup>

### 2.3 不同 LAE 处理组对牦牛鲜肉肠贮藏期间蒸煮损失的影响

在贮藏过程中,随着时间的延长,牦牛鲜肉肠纤维中的蛋白质由于微生物生长导致蛋白质被细菌酶分解,肉中蛋白质三维网状凝胶结构遭到破坏,影响其锁水能力,另外,灌肠类食品属乳化体系,在贮藏和蒸煮过程中容易出水出油<sup>[30]</sup>,因此在蒸煮过程中会造成一定耗损。牦牛鲜肉肠贮藏期间的蒸煮损失如表 4 所示,对照组与保鲜组的蒸煮损失均呈现逐渐增大的趋势 ( $P < 0.05$ )。但总体而言,第 15 天对照组蒸

煮损失最大,为 44.86%。低浓度 LAE、高浓度 LAE、LAE + Nisin 的蒸煮损失小于对照组,且相差不大,证明添加 LAE 或与其与 Nisin 复配在一定程度上可减少蒸煮损失,LAE + CS 又优于 LAE + Nisin,表明 LAE + CS 的复配效果优于 LAE + Nisin,总体而言,LAE + Nisin + CS 在第 15 天时的蒸煮损失最小,可能是由于 LAE 复合保鲜剂的抑菌和抑酶作用,一定程度上可减缓由微生物引起肌肉蛋白降解及组织特性被破坏,另外壳聚糖具有成膜性,可阻碍肉肠各成分的散失,也有助于减少损失<sup>[28]</sup>。

表 4 牦牛鲜肉肠贮藏期间蒸煮损失的变化

Table 4 Changes of cooking loss of yak sausage during storage

组别	贮藏时间					
	0 d	3 d	6 d	9 d	12 d	15 d
对照组	34.40 ± 0.023 <sup>a</sup>	37.46 ± 0.115 <sup>b</sup>	38.13 ± 0.057 <sup>b</sup>	39.53 ± 0.351 <sup>ab</sup>	42.03 ± 0.901 <sup>a</sup>	44.86 ± 0.057 <sup>a</sup>
LAE(低)	34.41 ± 0.010 <sup>a</sup>	37.80 ± 0.000 <sup>a</sup>	39.56 ± 0.057 <sup>a</sup>	40.03 ± 0.152 <sup>a</sup>	40.96 ± 0.115 <sup>b</sup>	42.33 ± 0.208 <sup>b</sup>
LAE(高)	34.40 ± 0.028 <sup>a</sup>	37.56 ± 0.208 <sup>b</sup>	38.00 ± 0.173 <sup>b</sup>	38.96 ± 0.862 <sup>bc</sup>	40.18 ± 0.147 <sup>c</sup>	41.62 ± 0.309 <sup>b</sup>
LAE + Nisin	34.40 ± 0.009 <sup>a</sup>	37.46 ± 0.057 <sup>b</sup>	37.76 ± 0.057 <sup>c</sup>	38.29 ± 0.240 <sup>cd</sup>	40.01 ± 0.011 <sup>c</sup>	41.60 ± 0.350 <sup>b</sup>
LAE + CS	34.40 ± 0.015 <sup>a</sup>	36.33 ± 0.152 <sup>c</sup>	36.60 ± 0.100 <sup>c</sup>	37.23 ± 0.251 <sup>e</sup>	39.26 ± 0.266 <sup>d</sup>	41.53 ± 0.305 <sup>b</sup>
LAE + Nisin + CS	34.40 ± 0.002 <sup>a</sup>	36.10 ± 0.100 <sup>d</sup>	37.13 ± 0.057 <sup>d</sup>	37.73 ± 0.057 <sup>de</sup>	38.46 ± 0.057 <sup>e</sup>	39.89 ± 1.395 <sup>c</sup>

### 2.4 不同 LAE 处理组对牦牛鲜肉肠贮藏期间感官的影响

牦牛鲜肉肠在贮藏过程中,受微生物污染以及内部自身酶的作用,肉肠品质逐渐下降,切面无光泽并伴有异味。牦牛鲜肉肠感官变化如表 5 所示,各个组在贮藏期内的感官评分均为降低的趋势 ( $P < 0.05$ ),

对照组下降的趋势最为显著,低浓度 LAE 和高浓度 LAE 在 3 d 后的评分均高于对照组,且高浓度 LAE 高于低浓度 LAE,证明 LAE 高浓度有利于抑制腐败,提高其感官评分,组 LAE + Nisin、LAE + CS 在第 15 天的评分高于高浓度 LAE 组,则证明通过复配后保鲜效果更好,且 LAE + CS 优于 LAE + Nisin。



LAE + Nisin + CS 在各时间点的评分相对最高,通过 3 种保鲜剂复配后抑制微生物生长的能力最强,显著延

缓了肉肠腐败变质,在第 15 天时还有芳香味。

表 5 牦牛鲜肉肠贮藏期间感官的影响

Table 5 Sensory effects of yak sausage during storage

组别	贮藏时间					
	0 d	3 d	6 d	9 d	12 d	15 d
对照组	96.33 ± 1.527 <sup>a</sup>	83.00 ± 1.000 <sup>b</sup>	72.60 ± 2.081 <sup>b</sup>	64.00 ± 2.000 <sup>d</sup>	57.67 ± 3.215 <sup>d</sup>	46.00 ± 3.605 <sup>c</sup>
LAE(低)	96.00 ± 1.200 <sup>a</sup>	86.00 ± 3.464 <sup>ab</sup>	78.30 ± 3.511 <sup>ab</sup>	58.30 ± 2.082 <sup>cd</sup>	61.67 ± 1.528 <sup>cd</sup>	55.70 ± 4.041 <sup>b</sup>
LAE(高)	95.00 ± 1.298 <sup>a</sup>	85.30 ± 0.577 <sup>ab</sup>	79.00 ± 4.000 <sup>ab</sup>	69.60 ± 2.081 <sup>bc</sup>	64.60 ± 2.309 <sup>bc</sup>	60.30 ± 1.528 <sup>ab</sup>
LAE + Nisin	95.00 ± 1.200 <sup>a</sup>	86.60 ± 1.528 <sup>a</sup>	79.60 ± 5.033 <sup>a</sup>	76.00 ± 3.464 <sup>a</sup>	65.30 ± 3.055 <sup>bc</sup>	61.00 ± 2.000 <sup>ab</sup>
LAE + CS	95.00 ± 1.298 <sup>a</sup>	86.30 ± 0.577 <sup>a</sup>	77.30 ± 3.055 <sup>ab</sup>	75.30 ± 0.577 <sup>a</sup>	69.00 ± 1.000 <sup>ab</sup>	62.33 ± 2.517 <sup>a</sup>
LAE + Nisin + CS	96.00 ± 1.200 <sup>a</sup>	85.50 ± 1.886 <sup>ab</sup>	79.60 ± 2.081 <sup>a</sup>	74.00 ± 4.583 <sup>ab</sup>	72.67 ± 2.082 <sup>a</sup>	63.66 ± 3.215 <sup>a</sup>

## 2.5 不同 LAE 处理组对牦牛鲜肉肠贮藏期间 TVB-N 的影响

TVB-N 常作为衡量肉腐败的重要指标。牦牛鲜肉肠在贮藏过程中,随时间延长,由于肉内的内源性酶和微生物作用,少量蛋白质降解生成微量的胺类物质<sup>[31]</sup>。由图 2 可知,对照组与保鲜处理组在贮藏 15 d 内的 TVB-N 均呈现显著增长的趋势( $P < 0.05$ ),其中对照组的生长趋势最为显著( $P < 0.05$ ),在第 9 天时达到( $20.1 \pm 0.266$ ) mg/100g,此时肉肠已腐败变质,添加 LAE 相比于对照组能抑制 TVB-N 增长,且其抑制程度与 LAE 浓度有关,浓度越大抑制作用越强,LAE 与 Nisin 和 CS 复合保鲜的抑制效果强于单一 LAE 作用,2 组复配效果相当。当 3 种保鲜剂复合使用时,其抑制效果最好,到第 15 天时,其 TVB-N 值为( $16.5 \pm 0.368$ ) mg/100g,这一结果与菌落总数结果相一致。因此,相比于对照组,在牦牛肉肠中添加 LAE 复合保鲜剂具有良好的保鲜效果。

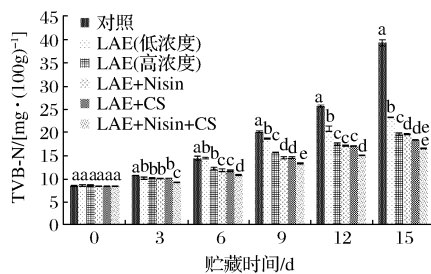


图 2 不同 LAE 处理组对牦牛鲜肉肠贮藏期间 TVB-N 的变化

Fig. 2 Changes of TVB-N in yak intestine during storage in different LAE treatment groups

注:图中同一贮藏期内各处理组间小写字母不同表示差异显著( $P < 0.05$ ),反之差异不显著( $P > 0.05$ )(图 3 同)

## 2.6 不同 LAE 处理组对牦牛鲜肉肠贮藏期间菌落总数的影响

根据肉质腐败变质的评价标准,以菌落总数计:

一级鲜肉( $0 \sim 10^4$  CFU/g)、次级鲜肉( $10^4 \sim 10^6$  CFU/g)、腐败变质肉大于  $10^6$  CFU/g。牦牛鲜肉肠贮藏过程中菌落总数变化如图 3 所示,所有组别在贮藏期间菌落总数都显著增加( $P < 0.05$ ),其中对照组增大的趋势最显著( $P < 0.05$ ),其在第 6 天后开始逐渐腐败变质,其次是低浓度 LAE 组,再次是高浓度 LAE 组,LAE + Nisin 与 LAE + CS 的抑菌效果优于高浓度 LAE 组,LAE + Nisin 和 LAE + CS 复配组对牦牛鲜肉肠的抑菌效果相差不大。到第 15 天时,除了对照组与低浓度 LAE 组,其他处理组均为次级鲜肉,且在第 15 天时 LAE + Nisin + CS 组菌落总数增加量最小,为 4.20 lgCFU/g,接近一级鲜肉标准。说明 LAE 能显著抑制肉肠中腐败菌的生长,且随浓度增大抑菌效果越强,复配后保鲜效果强于 LAE 单一保鲜效果,3 种保鲜剂复配能有效抑制肉肠中腐败菌的生长,保鲜效果最显著。

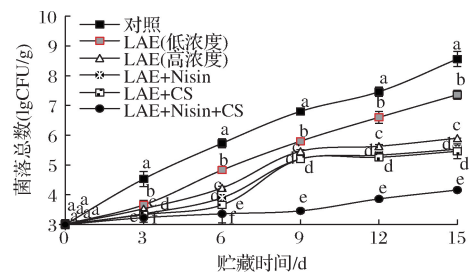


图 3 不同 LAE 处理组对牦牛鲜肉肠贮藏期间菌落总数的变化

Fig. 3 Changes of total bacterial colonies in yak intestine during storage in different LAE treatment groups

## 2.7 不同 LAE 保鲜组抗菌活性评估

CFU-time 关系变化逻辑函数模型衡量了由于保鲜剂的加入导致细菌生长延迟,可量化评估保鲜剂在肉肠中的抑菌活性。通过此模型,可比较各保鲜组生长曲线拐点相对于对照组延长的时间,即  $\Delta t_c$  (d)。

生长曲线的斜率即是细菌生长速率,随着贮藏期的延长,生长速率逐渐增大至最大值,即拐点处的斜率,此后生长速率逐渐降低。 $\Delta t_c = (t_{c\text{对照}} - t_{c\text{不同保鲜组}})$ ,所有模型  $R^2 \geq 0.916$ 。 $\Delta t_c$  (d) 越大则该保鲜配方的抑菌活性越高,结果如表 6 所示。

表 6 不同处理组  $\Delta t_c$  值Table 6 Different  $\Delta t_c$  value of the treatment group

组别	$\Delta t_c$ /d
对照	0
LAE(低浓度)	$3.2 \pm 0.1$
LAE(高浓度)	$4.4 \pm 0.2$
LAE + Nisin	$6.3 \pm 0.2$
LAE + CS	$6.4 \pm 0.4$
LAE + Nisin + CS	$9.1 \pm 0.5$

注:表中  $\Delta t_c$  为各保鲜组生长曲线拐点相对于对照组延长的时间

由表 6 可看出,不同 LAE 保鲜组合推迟细菌生长速率达到最大值的活性如下: LAE(低浓度) < LAE(高浓度) < LAE + Nisin、LAE + CS < LAE + Nisin + CS

由表 6 可知,在肉肠中加入 LAE 能够显著延长  $\Delta t_c$ ,因 LAE 具有表面活性,且带正电,可通过与带相反电荷的蛋白质或酶反应从而破坏腐败微生物的细胞膜,抑制其生长, LAE 与其他保鲜剂复合使用更能延长  $\Delta t_c$ , LAE + Nisin + CS 复配的  $\Delta t_c$  最大,能推迟细菌达最大生长速率时间至 9.1 d,其抑菌效果最显著。

### 3 结论

本试验中,各处理组对牦牛鲜肉肠的总体保鲜能力大小为: LAE + Nisin + CS > LAE + CS > LAE + Nisin > LAE(高浓度) > LAE(低浓度) > 对照。复合保鲜剂保鲜效果显著,在 15 d 贮藏期能降低蒸煮损失及汁液流失率,抑制腐败菌的生长,延长腐败菌达到最大生长速度的时间  $\Delta t_c$ ,保持良好感官品质。综上, LAE 通过与 CS 或 Nisin 复配能有效提高牦牛鲜肉肠的保鲜能力,延长货架期,这可为牦牛鲜肉肠复合保鲜剂的开发、生产应用提供新方向。

### 参 考 文 献

[1] 崔文斌,宋艳艳,李明华,等.高铁肌红蛋白氧化对牦牛肉肌原纤维蛋白生化特性的影响[J].食品科学,2020,41(12):77-83.  
CUI W B, SONG Y Y, LI M H, et al. Effects of oxidation on biochemical characteristics of myofibrillar protein in yak meat[J]. Food Science, 2020, 41(12):77-83.

[2] 张强,达娃央拉,姬秋梅,等.西藏查吾拉地区不同性别牦牛产肉性能和肉营养成分的比较[J].草业学报,2020,29(7):193-198.  
ZHANG Q, DA W J L, JI Q M, et al. Comparison analysis of slaughter performance and meat composition between different sexes

in Cha Wula yaks[J]. Journal of Chinese Materia Medica, 2020, 29(7):193-198.

[3] 龚易昕悦,周银颖,文建英,等.茶多酚与壳聚糖的复配在食品保鲜中的应用研究进展[J].保鲜与加工,2020,20(3):217-221.  
GONG Y X Y, ZHOU Y Y, WEN J Y, et al. Progress on the application of tea polyphenols and chitosan in food preservation[J]. Fresh-keeping and Processing, 2020, 20(3):217-221.

[4] 张盼,王俊平.壳聚糖-普鲁兰多糖复合抗菌保鲜膜对冷鲜牛肉的保鲜效果[J].中国食品学报,2020,20(6):194-201.  
ZHANG P, WANG J P. Effect of chitosan-pullulan composite antibacterial-films on fresh-keeping of chilled beef[J]. Chinese Journal of Food Science, 2020, 20(6):194-201.

[5] 王晓英,刘长姣,段连海,等.蒲公英总黄酮提取物在冷鲜猪肉涂膜保鲜中的应用[J].食品科学,2014,35(6):214-218.  
WANG X Y, LIU C J, DUAN L H, et al. Application of dandelion flavonoids extract in coating for quality preservation of chilled pork[J]. Food Science, 2014, 35(6):214-218.

[6] SOARES N M, MENDES T S, VICENTE A A, et al. Effect of chitosan-based solutions applied as edible coatings and water glazing on frozen salmon presser vation-A pilot-scale study[J]. Journal of Food Engineering, 2013, 119(2):306-323.

[7] 邱青璐,张召兴,崔海明,等.鱼肉生物保鲜剂应用的研究进展[J].现代食品,2019(21):17-19.  
QIU Q L, ZHANG Z X, CUI H M, et al. Research progress on natural preservative agents for fresh fish[J]. Modern Food, 2019(21):17-19.

[8] SIRIPATRAWAN U, NOIPHA S. Active film from chitosan incorporating green tea extract for shelf life pork sausages[J]. Food Hydrocolloids, 2012, 27(1):102-108.

[9] 徐畅,蔡明迪,刘秋,等.菊粉天然复合保鲜剂对冷鲜猪肉保鲜效果的影响[J].包装工程,2020,41(19):8-16.  
XU C, CAI M D, LIU Q, et al. Effects of inulin natural compound preservative on chilled pork during refrigerated storage[J]. Packaging Engineering, 2020, 41(19):8-16.

[10] HE L, ZOU L, YANG Q, et al. Antimicrobial activities of Nisin, tea polyphenols, and chitosan and their combinations in chilled mutton[J]. Journal of Food Science, 2016, 81(4-6):1466-1471.

[11] 侯晓卫,唐善虎,李思宁,等.复合保鲜涂膜液对冷鲜牦牛肉保鲜及抗氧化效果的影响[J].食品工业科技,2017,38(7):269-274.  
HOU X W, TANG S H, LI S N, et al. Effects of combined preservative coating solutions on yak meat quality and antioxidant activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(7):269-274.

[12] 罗林根,朱明扬,黄谦,等.乳酸链球菌素及其在食品中的应用研究进展[J].浙江农业科学,2020,61(5):1003-1005.  
LUO L G, ZHU M Y, HUANG Q, et al. Research progress on the application of nisin in food[J]. Zhejiang Agricultural Science, 2020, 61(5):1003-1005.

[13] 杨雯珂,冯广莹,孙铭,等.乳酸菌素复合抗菌膜的制备及其在冷鲜猪肉保鲜中的应用[J].北京农学院学报,2018,33(3):88-92.  
YANG W G, FENG G Y, SUN M, et al. Preparation of a combined antibacterial plastic film with lactin and its effect on quality of chilled meat[J]. Journal of Beijing Agricultural University, 2016, 33(3):88-92.

[14] BINGOL E B, AKKAYA E, HAMPIKYAN H, et al. Effect of Nisin-EDTA combinations and modified atmosphere packaging on the survival of *Salmonella enteritidis* in Turkish type meatballs[J]. Cyta-Journal of Food, 2018, 16(1):1030-1036.

[15] SAAD M, OMBARAK R, RABOU H. Effect of nisin and lysozyme on bacteriological and sensorial quality of pasteurized milk[J]. Journal of Advanced Veterinary and Animal Research, 2019,

- 6(3):403–408.
- [16] HASSAN A H A, CATHERINE N. Development and evaluation of pullulan-based composite antimicrobial films (CFA) incorporated with nisin, thymol and lauric arginate to reduce foodborne pathogens associated with muscle food[J]. International Journal of Food microbiology, 2020. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108519.
- [17] BECERRIL R, MANSO S, NERIN C, et al. Antimicrobial activity of lauroyl arginate ethyl(LAE), against selected food-borne bacteria[J]. Food Control, 2013, 32(2):404–408.
- [18] 赵艳菊, 杨晋青, 聂磊, 等. 液相色谱-串联质谱法测定肉鱼禽产品中的防腐剂月桂酰精氨酸乙酯盐酸盐[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(4):1455–1459.
- ZHAO Y J, YANG J Q, NIE L, et al. Determination of the ethyl lauroyl arginate hydrochloride in meat, fish and poultry products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Food Safety and Quality Inspection, 2017, 8(4):1455–1459.
- [19] MARTIN E M, GRIFFIS C L, VAUGHN K L S, et al. Control of *Listeria monocytogenes* by lauric arginate on frankfurters formulated with or without lactate/diacetate[J]. Journal of Food Science, 2009, 74(6):237–241.
- [20] PORTO-FETT A C S, CAMPANO S G, SMITH J L, et al. Control of *Listeria monocytogenes* on commercially-produced frankfurters prepared with and without potassium lactate and sodium diacetate and surface treated with lauric arginate using the sprayed lethality in container (SLIC@) delivery method[J]. Meat Science, 2010, 85(2):312–318.
- [21] 李阳, 邓伶俐, 徐晓卉, 等. 月桂酰精氨酸乙酯盐酸盐复配保鲜剂对青椒保鲜效果的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(11):201–206.
- LI Y, DENG L L, XU X H, et al. Effect of compound N<sup>α</sup>-lauroyl-L-arginate ethylester preservative on the preservation of green bell pepper[J]. Food Science, 2020, 41(11):201–206.
- [22] 李阳, 徐晓卉, 李杨, 等. N~α-月桂酰-L-精氨酸乙酯盐酸盐对5种果蔬腐败菌的抑菌活性[J]. 食品与机械, 2018, 34(7):127–131.
- LI Y, XU X H, LI Y, et al. Antibacterial activity of N<sup>α</sup>-lauroyl-L-arginate ethylester against five pathogen mic microorganisms of fruits and vegetables[J]. Food and Machinery, 2012, 34(7):127–131.
- [23] OTERO V, BECERRIL R, SANTOS J A, et al. Evaluation of two antimicrobial packaging films against *Escherichia coli* O157: H7 strains *in vitro* and during storage of a Spanish ripened sheep cheese (Zamorano)[J]. Food Control, 2014, 42:296–302.
- [24] MURIEL-GALET V, LOPEZ-CARBALLO G, GAVARA R, et al. Antimicrobial effectiveness of lauroyl arginate incorporated into ethylene vinyl alcohol copolymers to extend the shelf-life of chicken stock and surimi sticks[J]. Food and Bioprocess Technology, 2015, 8(1):208–217.
- [25] 李儒仁, 林世文, 荣良燕, 等. 壳聚糖协同生物源保鲜剂对冷鲜牛肉的保鲜效果[J]. 肉类研究, 2018, 32(3):24–28.
- LI R R, LIN S W, RONG L Y, et al. Preservation of chilled beef by using chitosan combined with biopreservatives[J]. Meat Research, 2008, 32(3):24–28.
- [26] 张越, 宫田娇. 食品中挥发性盐基氮检测技术研究[J]. 现代食品, 2019(24):188–189.
- ZHANG Y, GONG T J. Study on the determination technology of volatile base nitrogen in food[J]. Modern Food, 2019(24):188–189.
- [27] 童光森, 黄开正, 黄韬睿, 等. 木姜子调味油对调理牦牛肉冷藏品质的影响[J]. 中国调味品, 2020, 45(10):59–62.
- TONG G S, HUANG K Z, HUANG T R, et al. Effect of *Litsea pungens* Hems. seasoning oil on cold storage quality of prepared yak meat[J]. Chinese Flavoring, 2020, 45(10):59–62.
- [28] 薛婉端, 张海生, 赵鑫帅, 等. 复合天然保鲜剂对冷却羊肉的保鲜效果[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(5):240–247.
- XUE W R, ZHANG H S, ZHAO X S, et al. Preservation effect of compound natural preservative on chilled mutton[J]. Food and Fermentation Industry, 2020, 46(5):240–247.
- [29] 李楠, 吴婧, 单林鲜, 等. 壳聚糖-三七叶黄酮复合保鲜剂对冷鲜黄牛肉的保鲜效果[J]. 肉类研究, 2020, 34(4):71–76.
- LI N, WU J, SHAN L X, et al. A chitosan-based coating with flavonoids extracted from *Panax notoginseng* leaves extends the shelf life of refrigerated beef[J]. Meat Research, 2020, 34(4):71–76.
- [30] 李新, 程薇, 熊光权, 等. 天然抑菌剂对哈尔滨红肠贮藏期品质的影响[J]. 湖北农业科学, 2015, 54(24):6355–6359.
- LI X, CHENG W, XIONG G Q, et al. The influence of natural bacteriostatic agents on the Harbin sausage quality during storage[J]. Hubei Agricultural Science, 2015, 54(24):6355–6359.
- [31] 王莹, 吴二建, 王碌碌, 等. 新型复合天然保鲜剂对冷鲜鸡肉保鲜效果的研究[J]. 合肥工业大学学报(自然科学版), 2019, 42(6):820–825.
- WANG Y, WU E J, WANG L L, et al. Research on preservation effect of new compound preservatives on chilled fresh chicken[J]. Journal of Hefei University of Technology (Natural Science Edition), 2019, 42(6):820–825.

## Preservative lauroyl arginine ethyl ester on the quality of yak sausage during storage

PENG Meiling, HAO Gang\*, TANG Shanhu, LI Sining

(College of Food Science and Technology, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China)

**ABSTRACT** In order to study the application of *N*-lauroyl-L-glycine-ethyl ester (LAE) in the preservation of yak sausage, the LAE and compound preservatives containing chitosan (CS) and Nisin were formulated and optimized, and its preservation effect on yak sausage was evaluated by determining the changes in juice leakage, pH value, sensory evaluation, cooking loss rate, volatile basic nitrogen and a total number of bacteria during the storage of 15 d. Modeling of the CFU-time relationship was carried out to provide a better evaluation of the antibacterial activity of LAE. The results demonstrated that the overall fresh-keeping capacity was following: LAE + Nisin + CS > LAE + CS > LAE + Nisin > LAE(0.3 g/kg) > LAE(0.1 g/kg) ( $P < 0.05$ ), and the optimal fresh-keeping formula was LAE 0.2 g/kg, Nisin 0.3 g/kg and CS 5 g/kg. The groups containing LAE could significantly defer the time of the bacterial to reach maximum growth speed ( $\Delta t_c$ ), and the  $\Delta t_c$  of the optimal formula group was 9.1 d. The LAE and compound preservative has a significant effect on preserving the quality of yak sausage during storage.

**Key words** lauroyl arginine ethyl ester hydrochloride; chitosan; Nisin; yak sausage; bacteriostatic agent