

壳寡糖对壳聚糖—明胶复合膜的牛肉保鲜性能影响

徐宏蕾, 王亚珍, 谢晶, 李立, 薛斌, 邵则淮, 华欣怡, 孙涛*

(上海海洋大学 食品学院, 上海 201306)

摘要: 制备了明胶—壳寡糖复合膜, 考察了壳寡糖对壳聚糖—明胶复合膜性能的影响。测试了壳寡糖添加前后复合膜的机械性能、抗氧化性、抑菌性以及牛肉的保鲜性能的变化。结果表明, 壳寡糖可使复合膜的抗拉伸性能有所提升, 但其他机械性能指标有所下降; 复合膜的抗氧化性、抑菌性均有较大提升。添加壳寡糖后, 复合膜对牛肉的保鲜性能有较大提升, 货架期可延长 6 d。

关键词: 壳聚糖; 明胶; 复合膜; 牛肉保鲜

中图分类号: TS 202.3 文献标志码: A 文章编号: 1673-1689(2018)10-1048-06

Effect of Chitosan Oligosaccharide on Preservation of Beef of Gelatin-Chitosan Composite Films

XU Honglei, WANG Yazhen, XIE Jing, LI Li, XUE Bin, SHAO Zehuai, HUA Xinyi, SUN Tao*

(College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Chitosan-gelatin composite films were prepared. The effects of chitosan oligosaccharide on gelatin-chitosan composite films were evaluated. The mechanical, antioxidant, antibacterial properties and preservation of beef of the composite film were evaluated. The results showed that the tensile property of the film was increased, but the other mechanical properties were decreased. The antioxidant property and the antibacterial property of the film were improved greatly. The preservation effect of chitosan/gelatin/chitosan oligosaccharide composite film was improved greatly. The shelf life of beef can be extended for 6 days by chitosan oligosaccharide.

Keywords: chitosan, gelatin, composite film, preservation of beef

牛肉在加工和储存的过程中, 很容易受到微生物的污染, 从而发生腐败变质。另外, 牛肉中含的脂

肪在自然光照和室温下可以发生自动氧化^[1-2], 进而造成过氧化值升高, 从而影响牛肉的风味以及营养

收稿日期: 2016-06-02

基金项目: 国家自然科学基金项目(31571914); 上海市科委自然科学基金项目(14dz1205101)。

* 通信作者: 孙涛(1970—), 女, 黑龙江依兰人, 理学博士, 副教授, 主要从事多糖的改性及生物功能开发研究。E-mail: taosun@shou.edu.cn

引用本文: 徐宏蕾, 王亚珍, 谢晶, 等. 壳寡糖对壳聚糖—明胶复合膜的牛肉保鲜性能影响[J]. 食品与生物技术学报, 2018, 37(10): 1048-1053.

价值。目前冷却肉的保鲜技术主要有冷冻保鲜、辐射保鲜、气调保鲜、高压保鲜、真空包装保鲜、化学防腐剂保鲜和涂膜保鲜等^[3],而大部分的化学防腐剂对人类健康都存在一定的危害,因此天然保鲜剂有着广泛的前景^[4-5]。将天然保鲜剂加入包装膜中,可以进一步提高对食品的保鲜效果^[6]。

壳聚糖具有良好的成膜性、阻隔性、生物相容性及可生物降解等特点。单一的壳聚糖膜力学性能较差,因此将明胶与壳聚糖共混制膜以改善壳聚糖膜的力学性能^[7]。壳寡糖是壳聚糖降解后的产物,具有良好的抗氧化性能及抑菌活性,并且与壳聚糖具有相同的结构单元,两者具有良好的相容性。作者将壳聚糖、明胶及壳寡糖共混制得复合膜,研究了壳寡糖对壳聚糖—明胶复合膜性能的影响,以期制备一种具有良好保鲜效果的复合膜。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

牛肉:购自上海市牛羊肉公司;壳聚糖(相对分子质量 10 万,脱乙酰度 90%):浙江金壳药业有限公司产品;明胶(食品级):国药集团化学试剂有限公司产品;壳寡糖(相对分子质量 1 000,脱乙酰度 90%):浙江金壳药业有限公司产品;绿茶多酚(儿茶素质量分数 90.20%):湖州荣凯植物提取有限公司提供;Nisin(乳酸链球菌素/乳酸链球菌肽):浙江新银象生物工程有限公司提供;胰蛋白胨大豆肉汤:北京路桥技术有限公司产品;营养琼脂:北京奥博星生物技术有限责任公司产品;大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*):上海海洋大学食品学院提供;其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

DCP-KZ300 型电脑测控抗张试验机:四川长江造纸仪器有限责任公司产品;FTIR-650 傅里叶变换红外光谱仪:天津港东科技发展股份有限公司产品;HHS 型电热恒温水浴锅:上海博讯实业有限公司医疗设备厂产品;KQ-600KDE 型高功率数控超声波清洗器:昆山市超声仪器有限公司产品;PYX-DHS-40X50BS 型隔水式电热恒温培养箱:上海跃进医疗器械厂产品;SW-CJ-1F 型净化工作台:苏净集团苏州安泰空气技术有限公司产品;UV-2000 型紫外分光光度计:上海龙尼柯仪器有限公司产品;

AG8953 电子分析天平:瑞士 PRECISA 公司产品;DELTA-320-S 型 pH 计:梅特勒-托利多仪器上海有限公司产品;FOSS Kjeheer 2300 全自动定氮仪:瑞士福斯公司产品。

1.3 壳聚糖基复合膜的制备

将壳聚糖—醋酸溶液与明胶溶液按体积比 2:1 混合,加入体积分数 1%甘油,分别加入质量分数 20%的壳寡糖,磁力搅拌至完全溶解。静置消泡后,取 75 mL 膜液均匀铺展于干燥洁净的有机玻璃板(20 cm×30 cm)上,自然干燥后揭膜,保存于相对湿度(RH)为 53%(用饱和硝酸镁溶液保持)的干燥器内备用。

1.4 膜的性能测定

1.4.1 厚度及透光率 用数显卡尺在待测膜的 4 个角以及中心位置取 5 点测其厚度,得到的平均值计为膜的厚度。选取光滑、平整、洁净且无瑕疵的膜,将待测膜剪成 3 cm×1 cm 大小,紧贴在比色皿(1 cm)的一侧,置于紫外可见分光光度计的样品池中,以空皿做空白对照,在 700 nm 波长处测其透光率,用透光率的大小间接表示膜的透明度。透光率越大,膜的透明度越好。

1.4.2 机械性能 膜的机械性能参照 GB13022-91^[8]。试验条件:拉伸速度为 150 mm/min,夹具间距 50 mm,测试环境温度为(23±1)℃,湿度为 50%。每组膜测定 6 次。

1.4.3 水蒸气透过系数及水溶性 水蒸气透过系数的测定参照 GB1037-70^[9]。将膜裁成 40 mm×40 mm 的正方形,在干燥器中干燥至恒重后称重(m_1),然后放入 300 mL 蒸馏水中,于室温 25℃下溶解 12 h,再将膜在 60℃的条件下干燥至恒重,称重(m_2),根据膜质量变化计算水溶性。

$$\text{水溶性}(\%) = ((m_1 - m_2) / m_1) \times 100\%$$

1.4.4 抑菌性能 复合膜的抑菌作用通过抑菌圈法测定^[10]。无菌滤纸片为空白对照,实验结果取 3 个平行样品的平均值。

1.4.5 抗氧化性能 复合膜抗氧化性能的测定参照文献^[11]。

1.4.6 数据处理 试验最少重复 3 次,所有数据用 SPSS17.0 软件处理,得到的结果表示为平均值±标准误差,并使用 Origin8.5 软件进行作图。

1.5 牛肉的保鲜研究

1.5.1 样品处理 所用刀具和案板用体积分数

75%的乙醇溶液棉球擦拭并在紫外灯下照射 30 min 进行杀菌消毒。新鲜牛肉在无菌环境下进行操作,去除筋膜及多余脂肪,切成 150 g 左右大小均匀的肉块,随机分组,装于聚苯乙烯塑料托盘内,表面分别用壳聚糖/明胶复合膜、壳聚糖/明胶/壳寡糖复合膜包裹,以未经任何包装的样品作为空白对照。将所有样品贮存在 (4 ± 1) °C的冰箱中,分别在 0、2、4、6、8、10、12、14 d 进行各理化指标和微生物指标的测定。每个样品每次实验均重复进行 3 次,结果取平均值。

1.5.2 pH 值的测定 参照 GB/9695.5-2008^[12]。将牛肉样品的包装打开后,立即称取 5.00 g 肉样,剁碎后加入 45 mL 蒸馏水于烧杯中,均匀搅拌后静置 30 min,然后进行过滤,用精密数显 pH 计测定各样品滤液的 pH 值^[13]。

1.5.3 挥发性盐基氮的测定 参照 GB/T5009.44-2003。应用半微量凯氏定氮的原理,采用 Kiehec2300 型全自动定氮仪测定各样品储存期间挥发性盐基氮的含量^[14]。

1.5.4 硫代巴比妥酸值(TBARS 值)的测定 将样品牛肉切碎,准确称取 5.00 g 置于洁净的烧杯中,加入 20 mL 体积分数 5%三氯乙酸溶液和 4 mL 质量分数 0.15% BHT 溶液,混合后置于离心管中,10 000 r/min,4 °C 条件下均质 1 min 后进行 5 min 高速离心,取上清液于 50 mL 容量瓶中,用体积分数 5%三氯乙酸溶液定容。取 2 mL 溶液,加入 2 mL 20 mmol/L 硫代巴比妥酸溶液, (94 ± 1) °C 条件下水浴 35 min,冷却后用紫外分光光度计在波长 532 nm 处测定其吸光值。采用 2 mL 蒸馏水与 2 mL 硫代巴比妥酸溶液的混合液按上述步骤测定作为空白对照。TBA 质量分数以 1 kg 样品牛肉中含有的丙二醛的毫克数表示^[15]。

1.5.5 菌落总数的测定 参照 GB478 9.2-2010^[16]。具体方法如下:将准确称取 5.00 g 样品,加入 45 mL 生理盐水进行均质,制成样品匀液,然后依次进行 10 倍梯度稀释。根据样品的腐败程度,选择适宜的稀释倍数。吸取 100 μ L 适宜浓度的稀释液加入到

营养琼脂培养皿上,用无菌涂布棒涂布均匀。然后将培养皿倒置于 37 °C 恒温培养箱中培养 48 h 后,观察记录平板上的菌落数,结果以菌落总数的对数值 lg(CFU/g)表示。

1.5.6 感官评价 参照参考文献。每次取 1 份样品,由 5 人组成感官评定小组进行品评,最终结果按“多数原则”确定。评分标准采用 4 段评分法,评分标准如表 1 所示^[17]。

表 1 感官评定标准

Table 1 Sensory scoring criteria

等级	分值	颜色	气味
一级鲜肉	4	鲜红	牛肉风味浓郁
二级鲜肉	3	鲜(褐)红	牛肉风味不浓郁
轻度变质肉	2	褐红	稍有异味
变质肉	1	褐红发白	腐败味

2 结果与讨论

2.1 物理性能

表 2 给出了壳聚糖—明胶复合膜(A)、壳聚糖—明胶—壳寡糖复合膜(B)的部分性能参数。从表中可以看出,添加壳寡糖后,复合膜的厚度增大、透光率降低、抗拉伸性能有所提升,断裂伸长率下降,壳聚糖和明胶具有良好的成膜性,而不易成膜的壳寡糖会导致复合膜变脆,使膜的断裂伸长率下降^[12]。壳寡糖的加入使得复合膜的水蒸气透过系数和水溶性上升,这可能是由于壳寡糖分子内部含有较多亲水基团导致。

2.2 抗氧化性和抑菌性

抗氧化性和抑菌性是食品保鲜膜的重要性能之一,添加壳寡糖后复合膜的抗氧化及抑菌性能见表 3。由表 3 可知,添加壳寡糖后,复合膜的抗氧化及抑菌性均有较大提升。DPPH 自由基清除能力被认为是评价物质抗氧化能力的标准方法之一^[18-19]。从表 3 中可知,未加壳寡糖的膜 DPPH 清除能力非常弱,加入壳寡糖后复合膜的 DPPH 自由基清除能力显著提高。从表 3 中可知,壳寡糖的加入提高了复合膜对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌活性,

表 2 壳聚糖基复合膜的物理性能参数

Table 2 Physical properties of chitosan-based composite films

成分	比例	厚度/mm	透光率/%	抗张强度/MPa	断裂伸长率/%	水蒸气透过系数(WVP)	水溶性/%
A	2:1	0.055 $\pm$ 0.017	82.70 $\pm$ 1.43	20.29 $\pm$ 4.23	40.05 $\pm$ 3.64	0.18 $\pm$ 0.015	35.3 $\pm$ 2.1
B	2:1:1.5	0.062 $\pm$ 0.013	77.53 $\pm$ 0.58	50.02 $\pm$ 2.17	5.00 $\pm$ 0.39	0.23 $\pm$ 0.009	47.2 $\pm$ 3.2

可以期望壳聚糖—明胶—壳寡糖复合膜比壳聚糖/明胶复合膜具有更好的保鲜性能。

表 3 壳寡糖对复合膜 DPPH 清除率及抑菌性的影响

Table 3 Effects of COS on DPPH radical scavenging activity and antibacterial activity of composite films

成分	DPPH 清除率/ %	抑菌圈直径/mm	
		大肠杆菌	金黄色葡萄球菌
A	4.03±0.02	7.09±0.06	7.06±0.11
B	34.5±0.70	9.27±0.18	9.11±0.21

2.3 对牛肉的保鲜性能

2.3.1 牛肉 pH 值的变化 pH 值是反映牛肉品质的重要指标, 它的变化直接影响着牛肉的颜色、嫩度、风味、保质期等。GB/T9695.5-2008《肉与肉制品 pH 值测定》给出的肉类等级评价标准为: 一级鲜肉 5.8~6.2, 二级鲜肉 6.3~6.6, 6.7 以上为变质肉。图 1 为壳聚糖/明胶复合膜(A)及壳聚糖/明胶/壳寡糖复合膜(B)在贮存过程中 pH 值的变化, 从图 1 可知, 新鲜牛肉的初始 pH 值约为 6.53, 在 0~4 d 内, 两组的 pH 值均出现下降的情况, 且在第 4 d 都已达到最低点, 这可能是由于包装后的牛肉在低温条件下继续排酸成熟, 引起 pH 值的下降。第 4 d 之后, 两组样品的 pH 值都开始回升。随着贮存期的延长, 牛肉中的蛋白质在蛋白质分解酶及微生物的共同作用下开始分解, 分解后产生了碱性物质^[20], 这可能是造成牛肉 pH 值增大的原因。从图中可以看出, 对照组即没有任何包装处理的牛肉 pH 值迅速上升, 在第 8 天已达到二级鲜度的临界值。而经壳聚糖复合膜包装后的牛肉 pH 值上升较为缓慢, 其中壳聚糖/明胶/壳寡糖包装的样品在第 14 天时仍处于二级鲜度范围内。

2.3.2 牛肉 TVB-N 值的变化 挥发性盐基氮(TVB-N)指动物性食品由于酶和细菌的作用, 在腐败过程中, 使蛋白质分解而产生氨以及胺类等碱性含氮物质, 是动物性食品新鲜程度的重要指标^[21]。GB 2710-2003 中给出的 TVB-N 鲜度评价标准为: 一级鲜度 ≤15 mg/hg, 二级鲜度 ≤20 mg/hg, 变质肉 >20 mg/hg。图 2 为壳聚糖/明胶复合膜实验组(A)、壳聚糖/明胶/壳寡糖复合膜实验组(B)和空白对照组(C)贮存过程中牛肉的 TVB-N 值变化, 在冷藏前 4 天, 两组包装膜内牛肉样品的 TVB-N 值相差不大, 并且在前 8 天实验组的 TVB-N 值均保持

在一级鲜度的范围内。然而空白对照组在第 6 天时已经开始明显高于实验组, 后期 TVB-N 值上升速度加快。在贮藏第 14 天, B 组的 TVB-N 值为 18.37 mg/hg, 低于 A 组和对照组, 仍维持在二级鲜度范围内, 说明壳寡糖加入对牛肉在贮藏期间 TVB-N 值的上升具有一定的抑制作用。

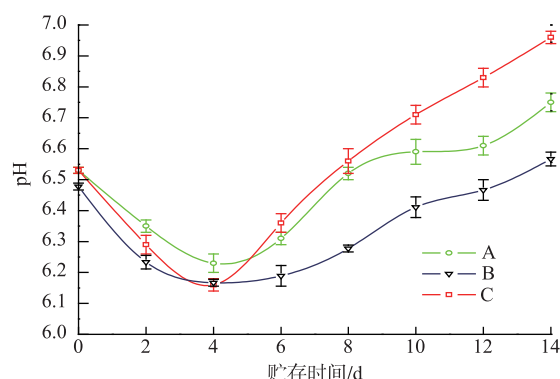


图 1 冷藏过程中牛肉的 pH 值变化

Fig. 1 pH values of beef during storage

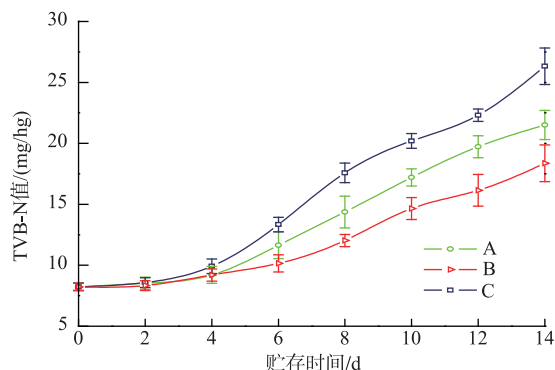


图 2 冷藏过程中牛肉的 TVB-N 值变化

Fig. 2 TVB-N values of beef during storage

2.3.3 牛肉 TBARS 值的变化 牛肉中含有较高含量的不饱和脂肪酸, 很容易被氧化, 氧化后的分解产物丙二醛(MAD)可以和硫代巴比妥酸(TBA)发生反应, 得到的产物是一种稳定的红色复合物, 可以采用紫外分光光度计对其含量进行检测, 通过测定此复合物的含量可以评价肉类在储藏过程中的品质变化^[22]。参考评价标准为: 当 TBARS 处于 0.02~0.664 时为良质肉; 大于 1 时为次质肉^[23]。

如图 3 所示, 冷藏期间采用不同包装膜包装牛肉的 TBARS 值的变化与 TVB-N 值的变化趋势相似, 各实验组及对照组的 TBARS 值均随贮藏时间的延长而逐渐增大。从第 4 天开始, 对照组的

TBARS 值迅速增大, 贮藏第 10 天, TBARS 值达到 0.993 mg/kg, 已接近变质肉。A 组(壳聚糖/明胶复合膜实验组)在第 14 天时已属于变质肉, B 组(壳聚糖/明胶/壳寡糖复合膜实验组)在第 12 天时, TBARS 值开始超过良质肉的范围, 且在贮藏期间, B 组样品 TBARS 值始终低于 A 组。说明壳寡糖对贮藏期间被包装牛肉样品的 TBARS 值的上升有一定的抑制作用, 起到了抗氧化的作用, 达到了保鲜的效果。

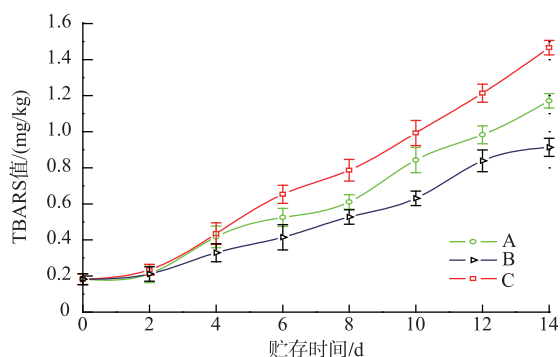


图 3 冷藏过程中牛肉的 TBARS 值变化

Fig. 3 TBARS values of beef during storage

2.3.4 牛肉菌落总数的变化 微生物数量的多少是评价食品卫生质量的重要依据, 可以反映出食品的腐败情况。GB4789.2-2010 中给出的根据活菌总数评价肉的新鲜度的标准为: 新鲜肉为 5.0×10^4 cfu/g 以下, 次鲜肉为 $5.0 \times 10^4 \sim 5.0 \times 10^6$ cfu/g, 变质肉为 5.0×10^6 cfu/g 以上。图 4 为壳聚糖/明胶复合膜实验组(A)、壳聚糖/明胶/壳寡糖复合膜实验组(B)和空白对照组(C)贮存过程中牛肉菌落总数变化。冷藏前 4 天, 所有组样品的细菌总数均维持在一级鲜度的范围内, 随后实验组及对照组的细菌总数随贮存时间的延长均呈现出显著上升的趋势($p < 0.05$)。其中 C 组的细菌总数上升速率最快, 贮存至第 12 天时细菌总数的对数值已达到 5.96, 接近腐败; 第 14 天, A、B 实验组的细菌总数的对数值接近 6.0, 尽管在 1.2.5 实验中壳聚糖/明胶/壳寡糖复合膜对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌表现出较强的抑制作用, 但是壳寡糖的加入并未明显提高复合膜在牛肉保鲜中的抑菌性, 这可能是由于除大肠杆菌及金黄色葡萄球菌外, 生鲜肉中最常见的几种引起肉腐败变质的腐败菌还有假单胞菌、肠杆菌、乳酸菌及热杀索丝菌^[24]。

2.3.5 感官评价 表 4 为壳聚糖/明胶复合膜实验

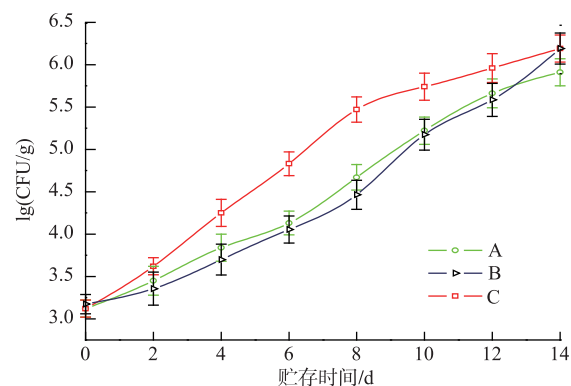


图 4 冷藏过程中牛肉的菌落总数对数值变化

Fig. 4 Viable bacterial count of beef during storage

组(A)、壳聚糖/明胶/壳寡糖复合膜实验组(B)和空白对照组(C)感官色泽评分随时间的变化图。从表中可见, 各组的感官色泽评分均随着贮藏时间的延长而降低, 各组感官色泽评分值之间无显著性差异($p > 0.05$)。C 组在实验第 2 天感官色泽开始劣变, A 组(壳聚糖-明胶复合膜)和 B 组(壳聚糖-明胶-壳寡糖复合膜)的感官色泽劣变分别开始在第 4 天和第 6 天, 相比于空白对照组分别延长了 2 d 和 4 d; 在实验第 14 天, C 组感官色泽评分下降明显, 达到 1.41, A 组评分高于 C 组, 为 2.47, 而 B 组评分最高, 为 3.36。实验结果表明两种复合膜对牛肉颜色劣变均有延缓作用, 且壳聚糖-明胶-壳寡糖复合膜效果优于壳聚糖-明胶复合膜。

表 4 不同复合膜包装条件下感官颜色的变化

Table 4 Changes of color in different conditions

时间/d	A	B	C
0	4.00±0.00	4.00±0.00	4.00±0.00
2	4.00±0.00	4.00±0.00	4.00±0.00
4	4.00±0.00	4.00±0.00	3.84±0.55
6	3.86±0.55	4.00±0.00	3.52±0.45
8	3.58±0.55	3.92±0.45	3.17±0.55
10	3.05±0.45	3.79±0.55	2.69±0.55
12	2.70±0.45	3.51±0.55	1.73±0.45
14	2.47±0.55	3.36±0.45	1.41±0.00

3 结 语

壳寡糖使壳聚糖-明胶复合膜的抗拉伸性能有所提升, 但其他机械性能指标有所下降; 壳寡糖使复合膜的抗氧化性、抑菌性均有较大提升; 添加壳寡糖后, 壳聚糖/明胶复合膜对牛肉的保鲜性能有较大提升, 可将货架期延长 6 d; 两种复合膜对牛肉

的感官色泽劣变均有延缓作用,且壳聚糖/明胶/壳寡糖复合膜效果优于壳聚糖—明胶复合膜。

参考文献:

- [1] NAN Qingxian. Development trend of Chinese meat industry[J]. **Storage and Process**, 2004(1): 1-3. (in Chinese)
- [2] CHEN Xuejun, LIU Jianxin. Study on functional compounds in meats and their dietary manipulation[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2012, 31(3): 253-258. (in Chinese)
- [3] LU Hao, SHAO Xingfeng, CAO Jinxuan, et al. Advances in research of plant essential oils on the preservation of animal products food[J]. **Journal of Nuclear Agricultural Sciences**, 2014, 28(11): 2079-2085. (in Chinese)
- [4] NERIO L S, OLIVERO-VERBEL J, STASHENKO E. Repellent activity of essential oils: a review[J]. **Bioresource Technology**, 2010, 101(1): 372-378.
- [5] ZHANG Yuanyuan, LI Yanli, LI Shuguo. Antibacterial mechanism and effects of botanical food preservatives and their application in food fresh-keeping[J]. **Science and Technology of Cereals, Oils and Foods**, 2014, 22(4): 48-53. (in Chinese)
- [6] CHEN Liang, ZHAO Ruipeng, SHEN Weihua, et al. Characterizations of chitosan films with mixed essential oils and their fresh-keeping effects on the raw pork[J]. **Food Industry**, 2013, 34(8): 8-10. (in Chinese)
- [7] DONG Zhanfeng, DU Yumin, PAN Lihong, et al. Preparation and properties of chitosan/gelatin/nano-TiO₂ ternary composite films[J]. **Journal of Functional Polymers**, 2004, 17(1): 61-66. (in Chinese)
- [8] 中国石油和化学工业协会. GB13022-1991 塑料薄膜拉伸性能试验方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 1991.
- [9] 中国石油和化学工业协会. GB1037-1988 塑料薄膜和片材透水蒸气性试验方法(杯式法)[S]. 北京: 中国标准出版社, 1988.
- [10] 高美玲. 海洋多糖生物可降解膜的制备与应用研究[D]. 无锡: 江南大学, 2011.
- [11] WANG Yazhen, XIE Jing, LI Li, et al. Effect of chitosan oligosaccharide on properties of chitosan-gelatin-chitosan oligosaccharide ternary composite films[J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2015, 36(8): 134-137. (in Chinese)
- [12] GB/T 9695.5 - 2008 肉与肉制品 pH 测定[S]. 2008.
- [13] SUN Tao, LIU Huawei, XIE Jing, et al. Preservation of beef by using mixture of bamboo vinegar and tea polyphenols[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2013, 32(4): 406-409. (in Chinese)
- [14] 中华人民共和国卫生部. GB/T5009.44 - 2003 肉与肉制品卫生标准的分析方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [15] SRI R, JOHN N S, GLENN R S. Improved speed, specificity, and limit of determination of all aqueous acid extraction thiobaduric acid-C18 method for measuring lipid peroxidation in beef[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 1992, (40): 21-82.
- [16] 中华人民共和国卫生部. GB4789.2-2010 食品微生物学检验菌落总数测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [17] SUN Tianli, YUE Xiqing, ZHANG Ping, et al. Effect of super chilling combined with modified atmosphere package on beef quality[J]. **Modern Food Science and Technology**, 2014, 30(5): 239-244. (in Chinese)
- [18] GOU Mingyue, LIU Liang, ZHANG Chunzhi. Determination of antioxidant activity in 26 plants by DPPH method [J] **Food and Fermentation Industries**, 2010, 36(3): 148-150. (in Chinese)
- [19] LIN Lianzhu, ZHAO Mouming. Effect of reaction time on DPPH and ABTS+ radical scavenging assays for antioxidant capacity evaluation[J]. **Food Science**, 2010, 31(5): 63-67. (in Chinese)
- [20] CAO Xiaohai. Study the keeping fresh effect of calcium pnpionabe on yak meat [J]. **Journal of Qinghai University**, 2005, 23(3): 49-51. (in Chinese)
- [21] JIA Peihong, ZHANG Kunsheng, REN Yunxia. Study on the relationship between total volatile basic nitrogen(TVB-N) and meat storage temperature[J]. **Meat Research**, 2010, 24(8): 63-66. (in Chinese)
- [22] HERNANDEZ M D, LOPEZ M B, ILVAREZ A, et al. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre(*argyrosomus regius*) fillets during ice storage[J]. **Food Chemistry**, 2009, 114(1): 237-245.
- [23] SRI R, JOHN N SOFOS, et al. Improved speed, specificity, and limit of determination of all aqueous acid extraction thiobaduric acid-C18 method for measuring lipid peroxidation in beef [J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 1992(40): 21-82. (in Chinese)
- [24] PENNACCHIA C, ERCOLINI D, VILLANI F. Spoilage-related microbiota associated with chilled beef stored in air or vacuum pack[J]. **Food Microbiology**, 2011, 28(1): 84-93.