

响应面法优化超高压协同生物抑菌剂 对冷鲜清远鸡肉的保鲜工艺

左晨¹, 李汴生^{1,2,3*}, 阮征^{2,3}, 李丹丹², 李瑞清⁴, 石金明⁴

(1. 喀什大学生命与地理科学学院, 新疆喀什 844000) (2. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

(3. 广东省天然产物绿色加工与产品安全重点实验室, 广东广州 510640)

(4. 广东省爱健康农牧集团有限公司, 广东清远 511800)

摘要: 为延长冷鲜鸡肉的货架期, 该研究通过优化超高压处理与复合生物抑菌剂的协同作用参数, 构建高效保鲜方案。通过响应面法构建四因子: 乳酸链球菌素 (Nisin) ($0.4\sim0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) 及溶菌酶 ($0.2\sim0.3\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) 质量浓度、压力 ($300\sim400\text{ MPa}$)、保压时间 ($10\sim20\text{ min}$) 交互模型, 以菌落总数与 TVB-N 值为指标优化参数。最终确定最优工艺参数为: Nisin 质量浓度为 $0.45\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、溶菌酶质量浓度为 $0.25\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、压力为 350 MPa 、保压时间为 15 min 。该条件下, 菌落总数为 2.415 lg CFU/g , TVB-N 值为 7.845 mg/100 g , 预测值与实验值偏差 $\leq 5\%$ 。贮藏实验显示, 冷鲜鸡肉货架期可延长至约 20 d 。结果表明, 超高压与生物抑菌剂具有协同增效作用, 该研究为冷鲜肉制品高效保鲜技术的开发提供了理论依据, 同时为工业化应用中的工艺参数优化提供了技术支持。

关键词: 冷鲜鸡肉; Nisin; 溶菌酶; 响应面法; 保鲜

文章编号: 1673-9078(2026)6-246-256

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.6.0267

Optimization of Chilled Qingyuan Chicken Preservation Process Using High-pressure Processing Combined with Bio-preservatives Employing Response Surface Methodology

ZUO Chen¹, LI Biansheng^{1,2,3*}, RUAN Zheng^{2,3}, LI Dandan², LI Ruiqing⁴, SHI Jinming⁴

(1.College of Life and Geographical Sciences, Kashi University, Kashi 844000, China)

(2.School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(3.Guangdong Key Laboratory of Green Processing and Product Safety, Guangzhou 510640, China)

(4.Guangdong Aijiankang Agriculture and Animal Husbandry Group, Qingyuan 511800, China)

Abstract: To extend the shelf life of chilled chicken, this study optimized the parameters for the synergistic effect of high-pressure treatment and composite biological preservatives, developing an efficient preservation method. A four-factor interaction

引文格式:

左晨,李汴生,阮征,等.响应面法优化超高压协同生物抑菌剂对冷鲜清远鸡肉的保鲜工艺[J].现代食品科技,2026, 42(6): 246-256.

ZUO Chen, LI Biansheng, RUAN Zheng, et al. Optimization of chilled qingyuan chicken preservation process using high-pressure processing combined with bio-preservatives employing response surface methodology [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(6): 246-256.

收稿日期: 2025-02-26; 修回日期: 2025-04-22; 接受日期: 2025-05-01

基金项目: 广东省重点领域研发计划项目 (2019B020219002)

作者简介: 左晨 (1998-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与保藏, E-mail: 2409241318@qq.com

通讯作者: 李汴生 (1962-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品加工与保藏, E-mail: febskli@scut.edu.cn

model was constructed using response surface methodology, with factors including Nisin concentration ($0.4\sim0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), lysozyme concentration ($0.2\sim0.3\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), pressure ($300\sim400\text{ MPa}$), and holding time ($10\sim20\text{ min}$). The colony count and total volatile basic nitrogen (TVB-N) content were used as indicators to optimize the parameters. The optimal process conditions were determined as follows: Nisin concentration, $0.45\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$; lysozyme concentration, $0.25\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$; pressure, 350 MPa ; and holding time, 15 min . Under these conditions, the colony count was 2.415 lg CFU/g and the TVB-N value was 7.845 mg/100 g , with $\leq 5\%$ deviation between the predicted and experimental values. Storage experiments showed that the shelf life of chilled chicken could be extended to approximately 20 days. The results indicate that high-pressure treatment and biological preservatives have a synergistic effect, providing theoretical support for developing efficient preservation technologies for chilled meat products, and technical support for optimizing process parameters in industrial applications.

Key words: chilled fresh chicken; Nisin; lysozyme; response surface methodology; preservation

清远鸡肉以细嫩多汁、风味浓郁著称,肌肉中肌昔酸和肌内脂肪含量较高,赋予了其独特的鲜味和香气,同时富含优质蛋白质、必需氨基酸以及不饱和脂肪酸,具有较高的营养价值和市场认可度^[1,2]。

生鲜鸡肉的微生物污染不仅显著影响冷鲜肉品的货架期和感官品质,更可能引发食源性致病菌的污染风险,进而对消费者的健康构成潜在威胁^[3]。研究表明,放养禽类体表及肠道微生物多样性显著高于集约化养殖品种,屠宰前羽毛、脚爪及消化道携带的菌群(如假单胞菌、肠球菌)可能通过交叉污染迁移至胴体表面,成为后续加工环节的初始污染源^[4]。另外在屠宰与冷鲜加工过程中,微生物污染也会呈现出显著的动态累积特征。在胴体预冷阶段,若未能迅速将温度降至 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下,嗜冷菌的生长将显著加速^[5,6]。此外包装密封性不足或冷链过程中的温度波动也会为腐败菌的代谢活动创造有利条件,加速鸡肉品质的劣变^[7,8]。

超高压处理是通过对食品体系中的氢键及其他非共价键造成破坏,间接有效地杀死食品中的细菌、病毒和其他微生物,延长食品的保质期,保持食品固有的营养品质^[9-11]。Chen 等^[12]曾探究木瓜提取物协同超高压技术对沙门氏菌存活率、肉质和鸡胸肉微观结构的影响,研究发现在 450 MPa 高压条件下可以显著提高沙门氏菌的灭活效果,减少超过 5 lg CFU/g 。Dang 等^[13]以预煮鸡胸片为研究对象,探究不同处理方法和包装技术对预煮鸡胸肉片在微生物和理化特性方面的保质期影响,结果表明,高压处理可以使预煮鸡胸片货架期延长至 3 个月以上,同时保持其品质。

乳酸链球菌素(Nisin),是一种呈现流动性的白色粉末状物质,抑菌机制是与靶细胞膜的相互作用^[14,15]。Nisin 在维持肉制品的色泽、质地和风味方面也表现出显著效果,因此被广泛认为是一种安全、高效且天然的食品防腐剂^[16,17]。刘欣等^[18]曾以桶子鸡为研究对象,使用浓度为 0.03% 的 Nisin 保鲜液浸泡处

理后真空包装,得出通过 Nisin 浸泡后的桶子鸡常温下货架期可延长 6 d,冷藏条件下延长 8~16 d。

溶菌酶是一种广泛分布于眼泪、唾液、乳汁及鸡蛋白等体液中作为一种能够降解细菌细胞壁肽聚糖的酶类,具备显著的抗菌功能^[19]。近年来,通过物理、化学和生物技术改良溶菌酶,增强了其抗菌效果并拓宽了应用范围^[20,21]。在鸡肉保鲜方面,尹秀莲等^[22]以冷鲜鸡肉为研究对象, 0.2% 溶菌酶浸泡处理,发现冷鲜鸡肉货架期可延长至 7 d 左右。

本研究以清远冷鲜鸡肉为原材料,结合响应面法与单因素实验,探究超高压与复合生物抑菌剂的协同作用机制,确定最佳工艺参数。

1 材料与方法

1.1 原料

清远母鸡胴体:日龄约 100 d,屠宰净膛后质量约 1 kg 的清远麻母鸡 15 只,取自广东省爱健康农牧集团。

1.2 试剂

乳酸链球菌素(Nisin):活性 900 IU/mg ,上海源叶生物科技有限公司;溶菌酶:活性 $20\text{ }000\text{ U/mg}$,上海源叶生物科技有限公司;氯化钠、硼酸、氧化镁、盐酸、 $\phi=95\%$ 乙醇、甲基红-溴甲酚绿指示剂,试剂均为分析纯。

培养基:平板计数琼脂(PCA),广东环凯微生物科技有限公司;月桂基硫酸盐胰蛋白胨肉汤(LST),广东环凯微生物科技有限公司。

1.3 仪器与设备

LC-PJ-400 型拍打式无菌均质,上海力辰仪器科技有限公司;BCD-426WD12FP 型冰箱,海信容声(广东)冰箱有限公司;DZ500 型真空包装机,乐清多发机械设备有限公司。

1.4 实验方法

1.4.1 样品处理

从屠宰线取刚屠宰的冷鲜鸡胴体，用经过高压灭菌的剪刀剪取鸡胸肉，在无菌操作台内按鸡肉的纹理方向剪取 50±5 g 的带皮鸡胸肉若干块作为胴体杀菌效果的代表样品无菌袋封装后，放入冰箱（0~4 ℃）冷藏。

1.4.2 单因素实验

1.4.2.1 Nisin 浓度单因素实验

取 4 块鸡胸肉（每块 50±5 g 左右），置于预先配制好的 Nisin 质量浓度为 0.4、0.45、0.5 g·L⁻¹ 抑菌溶液中浸没（样液比为 1:1），浸泡 3 min 后沥干，无菌袋封装，贴上标签，每组样品均在 4 ℃ 条件下冷藏，其它条件不变，每 3 d 定期取样测定。以未经处理的样为空白对照样。

1.4.2.2 溶菌酶浓度单因素实验

配制溶菌酶质量浓度为 0.2、0.25、0.3 g·L⁻¹ 的溶菌酶抑菌液，肉样浸泡处理同 1.4.2.1。

1.4.2.3 压力水平单因素实验

将鸡胸肉真空包装（真空度：0.1 MPa、抽真空时间：13 s、热封温度：90 ℃、热封时间：3 s），然后在室温（约 25 ℃）下分别用 300、350、400 MPa 的压力保压处理 20 min。以未处理样为空白对照样。

1.4.2.4 保压时间单因素实验

样品分别在 350 MPa 压力保压 10、15、20 min，其他同 1.4.2.3。

1.4.3 响应面优化实验

1.4.3.1 响应面实验鸡肉样本

使分割好的鸡胸肉在配置好的抑菌溶液中完全浸没（样液比为 1:1），浸泡 3 min 后沥干，装入尼龙袋封口，贴上标签，在 4 ℃ 条件下冷藏，第 6 天时取样测定菌落总数和 TVB-N 含量。

1.4.3.2 响应面优化

在单因素试验的基础上，结合单因素实验结果，依据 Box-Behnken 实验设计原则，得到 Nisin 质量浓度、溶菌酶质量浓度、压强和保压时间四个因素三水平响应分析方法，各取 3 个水平分别记为水平 -1、0、1，进行响应曲面分析试验，并运用 Design Expert 10.0.3 数据统计分析软件进行数据分析，以菌落总数、TVB-N 含量为响应值，因素及水平编码见表 1。

表 1 Box-Behnken 实验设计因素及水平编码表
Table 1 Box-Behnken design factors and level coding table

因素	水平		
	-1	0	1
A-Nisin 质量浓度/(g·L ⁻¹)	0.4	0.45	0.5
B-溶菌酶质量浓度/(g·L ⁻¹)	0.2	0.25	0.3
C-压强/MPa	300	350	400
D-保压时间/min	10	15	20

1.5 指标测定

1.5.1 样品处理

菌落总数按照《GB 4789.2-2022》的方法进行测定。

1.5.2 挥发性盐基氮（TVB-N）的测定

按照 GB 5009.228-2016《食品中挥发性盐基氮的测定》中的半微量定氮法进行测定。《GB2707-2016》规定，标准鲜（冻）畜、禽产品肉中 TVB-N 应 ≤ 15 mg/100 g，当 TVB-N > 20 mg/100 g 时即达到了腐败的标准^[23]。

1.5.3 最佳工艺条件清远冷鲜鸡肉扫描电子显微镜观察（SEM）

选择最佳工艺条件的清远冷鲜鸡胸肉为实验组，未经处理过的冷鲜鸡胸肉为对照组。将样品切割成 0.5 cm×0.5 cm×0.3 cm 的小块，并将其浸入 2.5% 戊二醛溶液中固定 24 h。固定完成后，使用 0.1 mol·L⁻¹ 的磷酸缓冲液进行反复冲洗和浸泡，每次 20 min，重复此过程 3 次。随后，分别使用 φ=20%、30%、50%、75%、90% 的乙醇溶液进行脱水处理，每次 20 min，重复 3 次。脱水处理后的样品需放置在超临界 CO₂ 冷冻干燥机中 12 h。取出样品后，将其观察面向上固定在观察台上，并为样品喷金。最后用扫描电镜仪分别在加速电压为 510 kV，放大倍数为 ×500、×1 000 条件下观察样品的微观结构。

1.5.4 最佳工艺条件清远冷鲜鸡肉感官评价

对最佳工艺条件处理的清远冷鲜鸡胸肉贮藏期间进行感官评价，感官评价由 10 位经过培训的学生组成，以宰后 0 d 的冷鲜鸡肉作为 10 分，具体评分标准见表 2。

1.6 数据处理

利用 Design-Expert 10.0.3 进行响应面分析，SPSS Statistics 26.0 进行数据统计，用 Origin 64 软件进行绘图。

表 2 生鲜鸡肉感官评价标准
Table 2 Sensory evaluation criteria for fresh chicken meat

指标	分值 / 分		
	7~10	4~6	1~3
外观与色泽	表皮湿润有光泽, 脂肪呈乳白或淡黄色	表皮较湿润有光泽, 脂肪呈淡黄色	表皮干, 无光泽, 整体颜色变深, 脂肪呈黄色, 有不均匀色斑
气味	具有鸡肉的正常气味	腹腔略有异味	腥臭味较大
表面粘性	不粘手	稍粘手	比较粘手
弹性	坚实富有弹性, 手指压后凹陷消失	弹性一般, 手指压后凹陷消失较慢	无弹性, 手指压后凹陷不能恢复

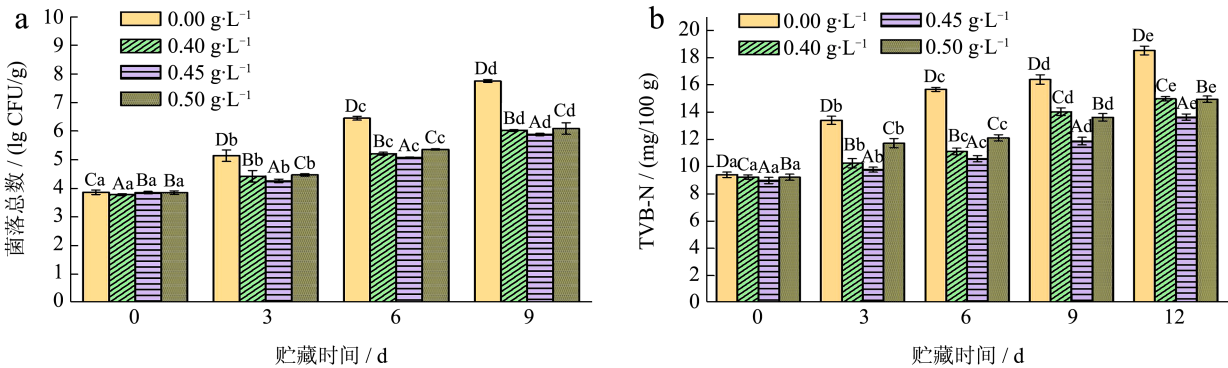


图 1 不同 Nisin 质量浓度处理对 4 °C 冷鲜鸡肉贮藏期间菌落总数 (a) 及 TVB-N (b) 的影响

Fig.1 Effects of different Nisin concentrations on the total viable count (a) and TVB-N (b) of chilled chicken meat during 4 °C storage

注：图中不同字母表示具有显著性差异， $P<0.05$ 。下图同。

2 结果与分析

2.1 单因素分析

2.1.1 不同Nisin质量浓度处理对冷鲜鸡肉贮藏期间菌落总数及TVB-N的影响

不同 Nisin 质量浓度对鸡肉菌落总数及 TVB-N 的影响见图 1。

如图 1a 所示，未经处理的生鲜鸡肉在冷藏条件下在第 6 天时菌落总数达到 6.45 lg CFU/g，而此时 0.4、0.45、0.5 g·L⁻¹ 的处理组菌落总数分别为 5.21、5.07、5.36 lg CFU/g。其中 0.45 g·L⁻¹ 处理组抑菌效果最好，这一结果与罗欣等^[24]的研究报道的 Nisin 保鲜效果随质量浓度的增加而增强的结论有所不同，与刘琳等^[25]研究中结论相同。原因可能由于不同品种的鸡肉会影响抑菌剂的渗透作用和作用效果；另外包装方式不同也可能也会导致其优势菌不同或 Nisin 在生鲜鸡肉中分布不均匀，后续将进一步研究予以证实。图 1b 所示，随着时间延长，相比与对照组，Nisin 处理组对抑制鸡肉腐败方面均有不同程度的效果。在第 6 天时，空白组 TVB-N 含量为 15.67 mg/100 g，而质量浓度为 0.4、0.45、0.5 g·L⁻¹ 处理组 TVB-N 含量分别

为 11.12、10.58、12.11 mg/100 g 相较于空白组分别降低 29.04%、32.48%、22.72%。

2.1.2 不同溶菌酶质量浓度处理对冷鲜鸡肉贮藏期间菌落总数及TVB-N的影响

不同溶菌酶质量浓度对鸡肉菌落总数及 TVB-N 的影响见图 2。

如图 2a 所示，不同质量浓度的溶菌酶浸泡处理后可以有效抑制鸡肉菌落总数的增长，3 组处理组均都在第 9 天超出限定标准，其中质量浓度为 0.2 g·L⁻¹ 处理组的抑菌效果最好，相比与对照组，在第 9 d 时菌落总数减少了 1.73 lg CFU/g。针对相关实验，刘琳^[26]曾在实验中发现溶菌酶的保鲜效果与浓度成正比。图 2b 所示，从第 3 天开始各处理组与对照组的 TVB-N 值均有显著差异性 ($P<0.05$)，说明溶菌酶可有效减缓鸡肉的腐败速度。处理组甚至可以延缓至 12 d 左右。其中质量浓度为 0.25 g·L⁻¹ 处理组的 TVB-N 值显著低于其他处理组，相较于对照组，在第 12 天时，下降了 35.35%，其余两组则分别下降 27.20%、20.35%。可能由于低质量浓度的 0.2 g·L⁻¹ 处理组对主要优势菌有较强作用，而 0.25 g·L⁻¹ 处理组是更利于降低蛋白酶的活性的最佳质量浓度，在此质量浓度下更能抑制 TVB-N 含量的上升。

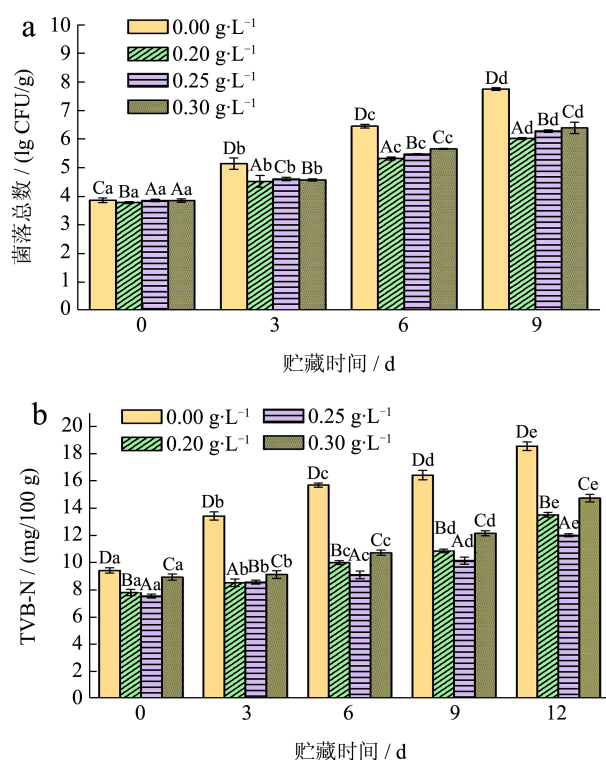


图2 不同溶菌酶质量浓度处理对4℃冷鲜鸡肉贮藏期间

菌落总数 (a) 及 TVB-N (b) 的影响

Fig.2 Effects of different lysozyme concentrations on the total viable count (a) and TVB-N (b) of chilled chicken meat during 4 °C storage

2.1.3 不同压力处理 (20 min) 对冷鲜鸡肉贮藏期间菌落总数及TVB-N的影响

不同压力处理后对鸡肉菌落总数与 TVB-N 含量的影响见图 3。

如图 3a 所示, 对照组初始微生物为 3.80 lg CFU/g, 随着压力的增大, 鸡肉中细菌的灭活效果更为明显 ($P < 0.05$)。在 12 d 时, 400 MPa 处理组的菌落总数约为 6.02 lg CFU/g, 相较于对照组减少 2.23 lg CFU/g。图 3b 显示, 随着时间延长, 对照组 TVB-N 含量增加较快 ($P < 0.05$), 在第 9 天超过国家标准。其处理组 (300、350、400 MPa) 在第 12 天依次为 10.90、9.53、8.94 mg/100 g, 均未超过安全限值, 且压力越高增长速率越慢。李楠等^[27]探究不同压力下 (150~450 MPa), 10 min 作用于冰鲜鸡肉种, 发现随着压力的增大, 货架期也得到延长。Argyri 等^[28]曾在探究高压处理对鸡胸肉中沙门氏菌及固有微生物群和货架期的影响实验中发现, 在 500 MPa, 10 min 的高压条件下, 其货架期可延长 6 d。

2.1.4 不同保压时间处理对冷鲜鸡肉贮藏期间菌落总数及TVB-N的影响

不同保压时间 (350 MPa) 对鸡肉菌落总数及

TVB-N 的影响见图 4。

如图 4a 所示, 较长的保压时间有助于进一步灭活细菌, 提高超高压处理的抑菌效果。在 350 MPa 压力下, 当保压时间从 10 min 延长至 20 min 时, 各处理组在第 9 天时菌落总数依次为 6.12、5.85、5.52 lg CFU/g, 均未超过安全值。图 4b 显示, 随着保压时间的延长对抑制 TVB-N 上升速率并不显著 ($P > 0.05$), 在 12 d 时, 15 min 与 20 min 处理组 TVB-N 含量较为接近。杨君娜等^[29]在探究响应面法优化超高压牛肉保鲜工艺实验中, 设置同一压强不同保压时间 (5~20 min) 处理鲜牛肉, 发现随着保压时间的延长, 鲜牛肉的菌落总数逐渐下降, 且样品的嫩度值显著增加。

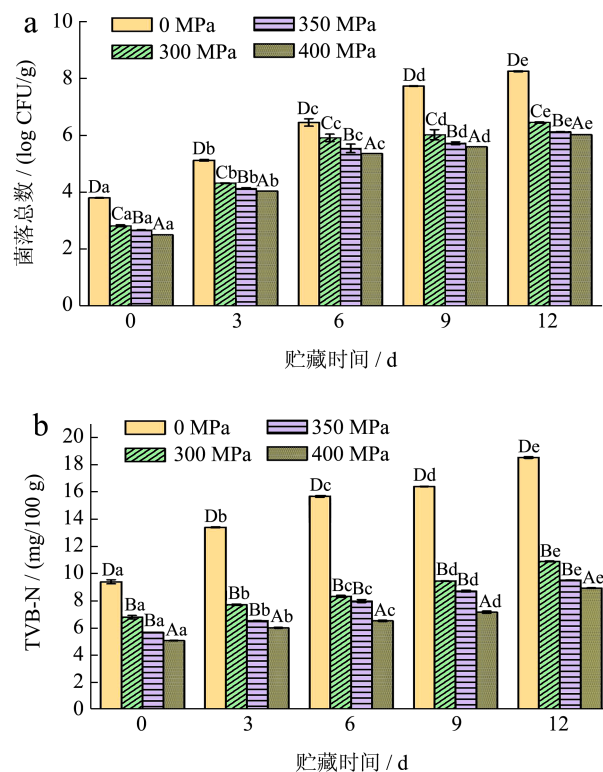


图3 不同压力处理 20 min 对 4℃冷鲜鸡肉贮藏期间菌落总数 (a) 及 TVB-N (b) 的影响

Fig.3 Effects of different pressure treated for 20 min on the total viable count (a) and TVB-N (b) of chilled chicken meat during 4 °C storage

2.2 响应面优化结果

2.2.1 响应面回归模型的建立与分析

表 3 显示了由 Design-Expert 10.0.3 统计析软件设计四因素三水平 Box-Behnken 设计中用于优化四个工艺变量的总共 29 次运行。

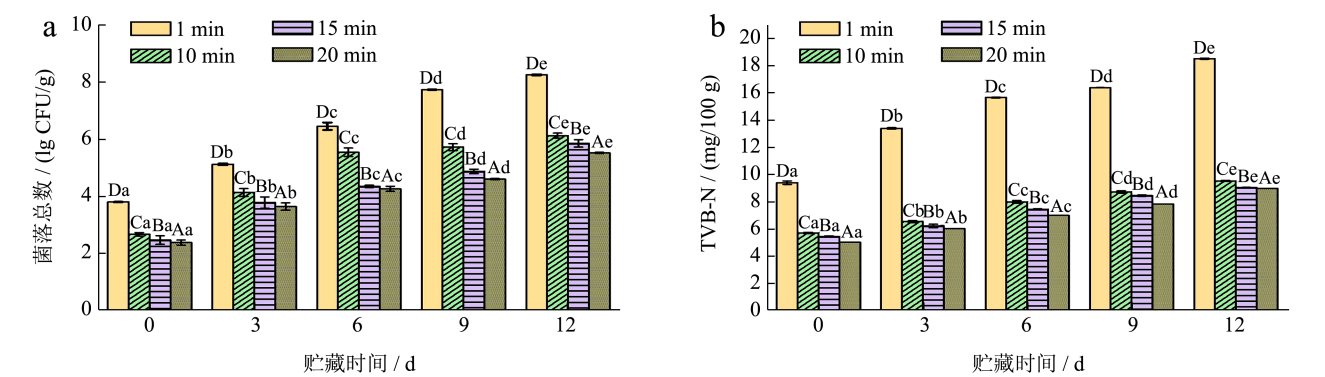


图 4 不同保压时间处理对 4 °C 冷鲜鸡肉贮藏期间菌落总数及 TVB-N 的影响

Fig.4 Effects of different pressure holding times on the total viable count and TVB-N of chilled chicken meat during 4 °C storage

表 3 Box-Behnken实验结果

Table 3 Results of the Box-Behnken experiment

序号	A- Nisin 质量 浓度/(g·L ⁻¹)	B- 溶菌酶质量 浓度/(g·L ⁻¹)	C- 压强/ MPa	D- 保压时间 /min	菌落总数/ (lg CFU/g)	TVB-N 含/ (mg/100 g)
1	-1	-1	0	0	4.22	8.99
2	1	-1	0	0	4.54	8.71
3	-1	1	0	0	2.65	10.96
4	1	1	0	0	3.4	9.74
5	0	0	-1	-1	4.08	7.21
6	0	0	1	-1	2.35	10.02
7	0	0	-1	1	3.62	9.67
8	0	0	1	1	3.64	8.9
9	-1	0	0	-1	2.79	9.09
10	1	0	0	-1	3.01	7.05
11	-1	0	0	1	2.98	9.25
12	1	0	0	1	3.76	9.75
13	0	-1	-1	0	4.78	8.19
14	0	1	-1	0	3.35	10.55
15	0	-1	1	0	3.32	9.1
16	0	1	1	0	2.72	10.48
17	-1	0	-1	0	3.41	8.6
18	1	0	-1	0	4.93	8.56
19	-1	0	1	0	3.05	9.83
20	1	0	1	0	2.83	9.04
21	0	-1	0	-1	3.77	8.78
22	0	1	0	-1	2.72	9.71
23	0	-1	0	1	4.36	8.3
24	0	1	0	1	2.76	11.92
25	0	0	0	0	2.64	7.7
26	0	0	0	0	2.32	7.78
27	0	0	0	0	2.61	7.94
28	0	0	0	0	2.59	7.51
29	0	0	0	0	2.47	7.48

对表 3 实验数据运用 Design expert 10.0 数据分析软件对试验数据进行多元回归拟合,设 Nisin 质量浓度、溶菌酶质量浓度、压强和保压时间分别为 A、B、C、D,分别以菌落总数、TVB-N 含量为响应值进行多元回归拟合,得到二次多项回归方程:

$$Y_{\text{菌落总数}}=2.53+0.28*A-0.62*B-0.52*C+0.2*D+0.11*AB-0.43*AC+0.14*AD+0.21*BC-0.14*BD+0.44*CD+0.47*A^2+0.6*B^2+0.54*C^2+0.26*D^2$$

$$Y_{\text{TVB-N 含量}}=7.68-0.32*A+0.94*B+0.38*C+0.49*D-0.23*AB-0.19*AC+0.64*AD-0.25*BC+0.67*BD-0.9*CD+0.59*A^2+1.32*B^2+0.66*C^2+0.6*D^2$$

菌落总数模型回归方差分析结果如表 4 所示。
从表 4 可以看出该回归模型极显著 ($P<0.01$),失拟项不显著 ($P>0.05$),说明模型拟合程度好,实验值与预测值比较接近,因此可以用该模型对菌落总数进行分析和预测。

通过分析方差数据可以看出,一次项溶菌酶质量浓度、保压时间、Nisin 质量浓度、压强对菌落总数均具有极显著影响 ($P<0.01$),分析各因素的主效应关系为: $B>C>A>D$,即溶菌酶质量浓度>压强>Nisin 质量浓度>保压时间。其二次项交互作用 AC、

CD 对菌落总数具有极显著的影响 ($P<0.01$),BC 对菌落总数具有显著的影响 ($P<0.05$),AB、AD、BD 对菌落总数影响不显著 ($P>0.05$)。

TVB-N 含量模型回归方差分析结果如表 5 所示。
从表 5 可以看出该回归模型极显著 ($P<0.01$),失拟项不显著 ($P>0.05$),说明模型拟合程度好,实验值与预测值比较接近,因此可以用该模型对 TVB-N 含量进行分析和预测。

通过分析方差数据可以看出,一次项溶菌酶质量浓度、保压时间、Nisin 质量浓度、压强对 TVB-N 含量具有极显著影响 ($P<0.01$),分析各因素的主效应关系为: $B>D>C>A$,即溶菌酶质量浓度>保压时间>压强>Nisin 质量浓度。其二次项交互作用 AD、BD、CD 对 TVB-N 含量具有极显著的影响 ($P<0.01$),AB、AC、BC 对 TVB-N 含量影响不显著 ($P>0.05$)。

2.2.2 各因素交互作用分析

利用 Design Expert 10.0 软件得到响应面图和等高线图 Nisin 质量浓度 (A)、溶菌酶质量浓度 (B)、压强 (C) 和保压时间 (D) 各因素交互作用对菌落总数的影响见图 5,对 TVB-N 含量影响如图 6 所示。

表 4 菌落总数模型及回归系数的回归分析结果

Table 4 Regression analysis results of the colony count model and regression coefficients						
来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	15.28	14	1.09	34.73	<0.000 1	**
A-Nisin 质量浓度	0.95	1	0.95	30.11	<0.000 1	**
B-溶菌酶质量浓度	4.55	1	4.55	144.79	<0.000 1	**
C-压强	3.27	1	3.27	103.90	<0.000 1	**
D-保压时间	0.48	1	0.48	15.27	0.001 6	**
AB	0.046	1	0.046	1.47	0.245 3	ns
AC	0.76	1	0.76	24.08	0.000 2	**
AD	0.078	1	0.078	2.49	0.136 6	ns
BC	0.17	1	0.17	5.48	0.034 6	*
BD	0.076	1	0.076	2.41	0.143 2	ns
CD	0.77	1	0.77	24.36	0.000 2	**
A ²	1.45	1	1.45	46.22	<0.000 1	**
B ²	2.34	1	2.34	74.48	<0.000 1	**
C ²	1.87	1	1.87	59.51	<0.000 1	**
D ²	0.43	1	0.43	13.63	0.002 4	
残差	0.44	14	0.031			
失拟项	0.37	10	0.037	2.12	0.243 5	ns
纯误差	0.070	4	0.017			
总和	15.72	28				
$R^2=0.972\ 0\quad R^2_{\text{adj}}=0.944\ 0\quad R^2_{\text{pre}}=0.857\ 4$						

注: $P<0.01$ 为极显著,用 ** 表示, $P<0.05$ 为显著,用 * 表示, $P>0.05$ 为不显著,用 ns 表示。下表同。

表 5 TVB-N含量模型及回归系数的回归分析结果						
Table 5 Regression analysis results for the TVB-N content model and regression coefficients						
来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	37.18	14	2.66	32.79	<0.000 1	**
A-Nisin 质量浓度	1.25	1	1.25	15.41	0.001 5	**
B- 溶菌酶质量浓度	10.62	1	10.62	131.14	<0.000 1	**
C-压强	1.76	1	1.76	21.68	0.000 4	**
D-保压时间	2.93	1	2.93	36.18	<0.000 1	**
AB	0.22	1	0.22	2.73	0.120 9	ns
AC	0.14	1	0.14	1.74	0.208 8	ns
AD	1.61	1	1.61	19.91	0.000 5	**
BC	0.24	1	0.24	2.96	0.107 1	ns
BD	1.81	1	1.81	22.33	0.000 3	**
CD	3.20	1	3.20	39.56	<0.000 1	**
A ²	2.25	1	2.25	27.74	0.000 1	**
B ²	11.32	1	11.32	139.77	<0.000 1	**
C ²	2.83	1	2.83	35.00	<0.000 1	**
D ²	2.32	1	2.32	28.69	0.000 1	**
残差	1.13	14	0.081			
失拟项	0.99	10	0.099	2.69	0.176 6	ns
纯误差	0.15	4	0.037			
总和	38.32	28				
$R^2=0.970\ 4$ $R^2_{adj}=0.940\ 8$ $R^2_{pre}=0.845\ 6$						

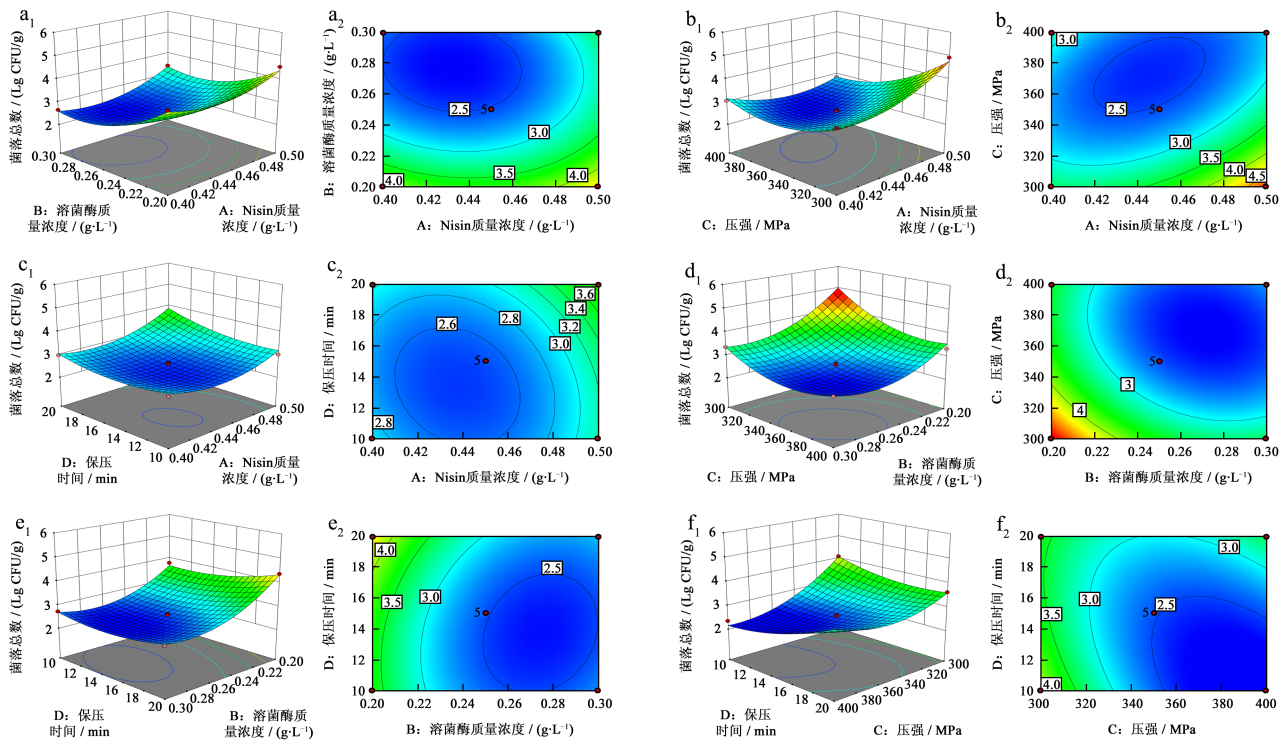


图 5 各因素交互作用对菌落总数影响的响应面和等高线图

Fig.5 Response surface and contour plots of the interaction of various factors on the total number of colonies

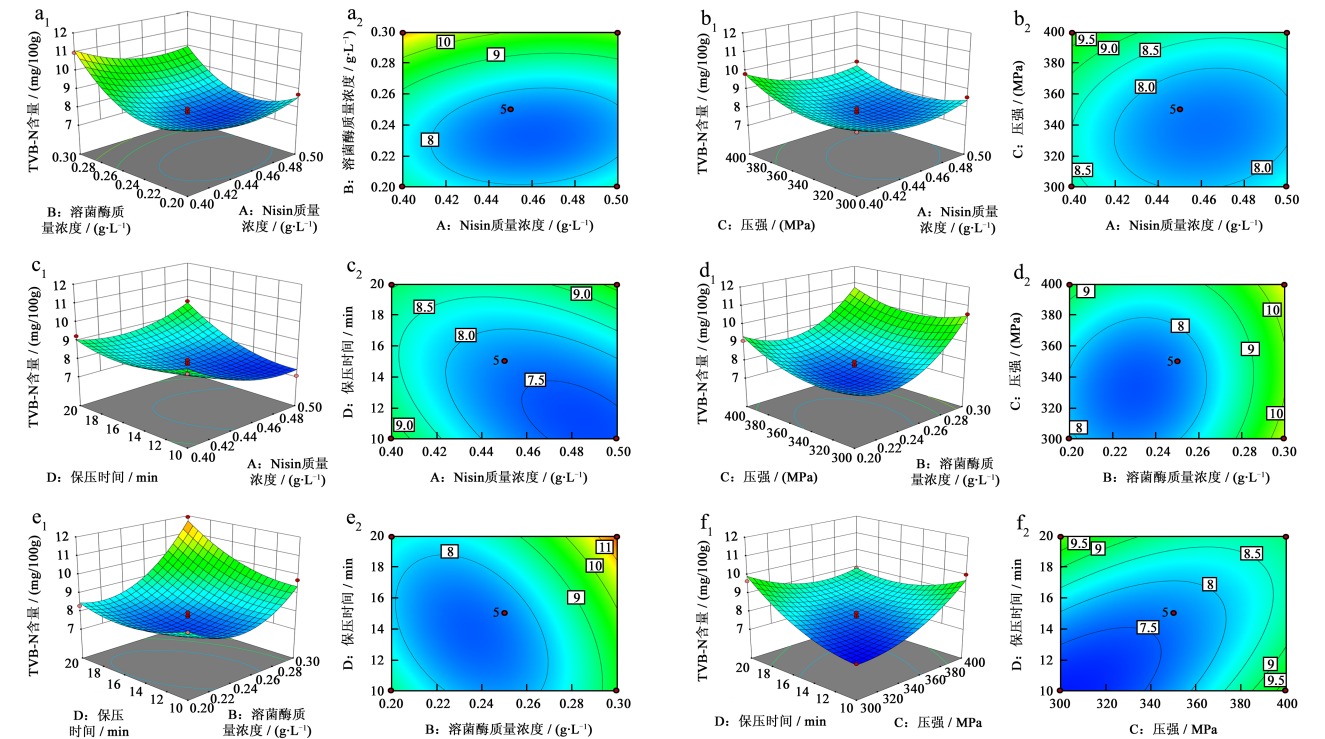


图 6 各因素交互作用对 TVB-N 影响的响应面和等高线图

Fig.6 Response surface and contour plots of the interaction of various factors on the TVB-N

响应面的陡峭程度反映了不同因素对冷鲜鸡肉菌落总数和 TVB-N 的影响程度；等高线形状及轴变化密集度与各因素交互作用的强弱有关，响应面越陡，说明该因素对结果的影响越大，反之对试验结果影响越小^[30]。如图 5 所示，Nisin 浓度、溶菌酶浓度、保压时间、压强与菌落总数存在相关性，从等高线得知，Nisin 浓度和压强、溶菌酶浓度和压强、压强与保压时间交互作用显著。如图 6 所示，交互因子 Nisin 浓度、溶菌酶浓度、保压时间、压强菌落总数与 TVB-N 值存在相关性，从等高线得知，Nisin 浓度和保压时间、溶菌酶浓度和保压时间、压强与保压时间交互作用显著。对比可知，与表 3、表 4 模型方差分析结果一致。

2.2.3 实验结果的验证

根据回归方程模型，得到预测的最优条件为：Nisin 质量浓度为 0.45 g·L⁻¹、溶菌酶质量浓度为 0.25 g·L⁻¹、压强为 358.672 MPa、保压时间为 12.672 min，将该条件依据实际实验情况修正为 Nisin 质量浓度为 0.45 g·L⁻¹、溶菌酶质量浓度为 0.25 g·L⁻¹、压强为 350 MPa、保压时间为 15 min。在此最优条件下经 3 次平行试验实际菌落总数和 TVB-N 值如表 6 所示。在 5% 偏差范围内相差不大，证实了预测值和实验值之间的良好相关性。

表 6 验证实验结果

Table 6 Results of validation experiments		
指标	预测值	实际值
菌落总数/(lg CFU/g)	2.384	2.415 ± 0.284
TVB-N 值/(mg/100 g)	7.692	7.845 ± 0.357

2.2.4 最佳工艺条件下对冷鲜鸡肉贮藏期间菌落总数及TVB-N的变化

通过响应面优化得到最佳工艺处理冷鲜鸡肉，贮藏期间菌落总数及 TVB-N 变化如图 7 所示。

如图 7 所示，与对照组相比，经过超高压及复合抑菌剂最佳工艺处理的冷鲜鸡肉的初始菌落数比对照组减少 1.83 lg CFU/g，对照组菌落总数和 TVB-N 值在第 6 天均超出国家安全限值，而处理组菌落总数在第 20 天超出安全值，TVB-N 含量仍< 15 mg/100 g，由此可见，最佳工艺条件下可使冷鲜鸡肉货架期延长至 20 d 左右。

2.2.5 最佳工艺条件清远冷鲜鸡肉扫描电子显微镜观察（SEM）

超高压协同复合生物抑菌剂的最优条件处理（0.45 g·L⁻¹ Nisin、0.25 g·L⁻¹ 溶菌酶、压强为 350 MPa、保压时间为 15 min）对冷鲜鸡胸肉贮藏初期微观结构的影响见图 8。

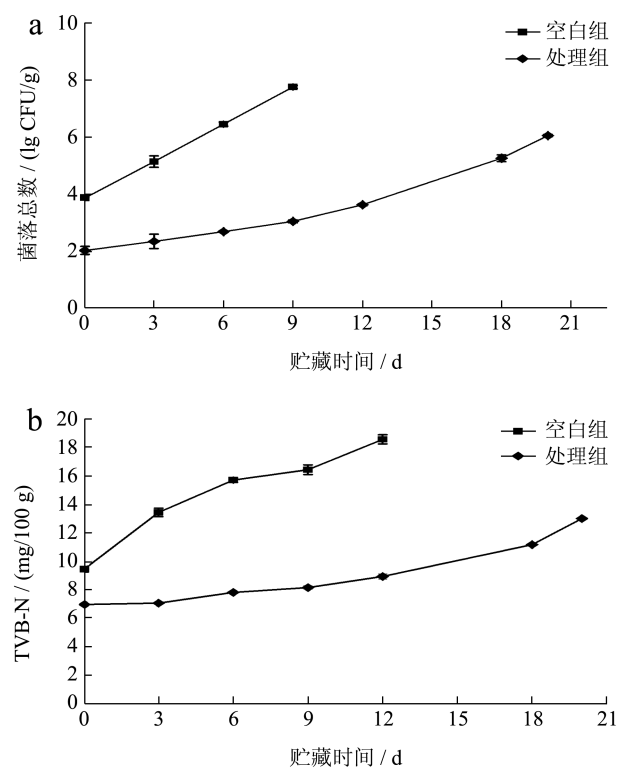


图 7 最佳工艺条件处理对 4 °C 冷鲜鸡肉贮藏期间菌落总数 (a) 及 TVB-N (b) 的影响

Fig.7 The impact of optimal processing conditions on the total viable count (a) and total volatile basic nitrogen TVB-N (b) of chilled chicken meat during 4 °C storage

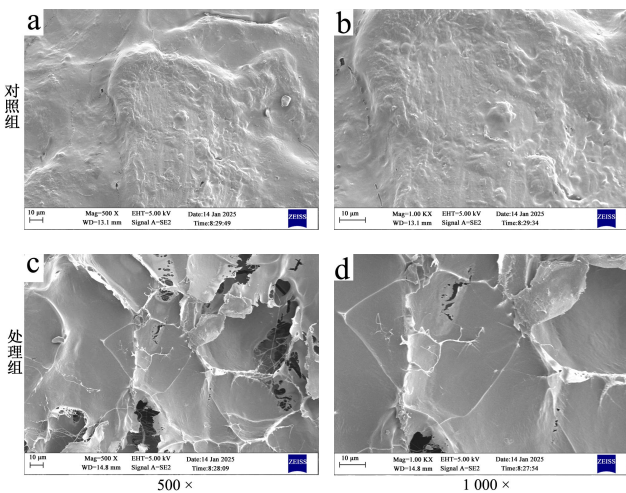


图 8 超高压协同复合抑菌剂处理 4 °C 冷鲜鸡胸肉的 SEM 图

Fig.8 SEM images of fresh chicken breast treated with high hydrostatic pressure in combination with composite antimicrobial agents at 4 °C

图 8 所示, a、b 分别为超高压协同复合生物抑菌剂的最优条件下处理对冷鲜鸡胸肉微观结构的图, 8c、8d 为未经处理的对照组冷鲜鸡肉微观结构图。由图可见, 未经超高压与抑菌剂处理的冷鲜鸡胸肉肌纤维排

列紧密、规则, 表面较为平滑, 纹理均匀, 无明显凹陷、断裂或变形。而处理组的肌纤维结构部分断裂或松散, 有明显凹陷, 且出现横向或纵向的裂痕且组织孔洞增多, 间隙扩大。可能由于高压导致蛋白质变性, 使肌原纤维网络坍塌。当超高压 (HPP) 与这两种生物抑菌剂协同作用时, 通过破坏细菌细胞壁和细胞膜结构, 提高抑菌剂的渗透性和杀菌效率。HPP 可增加细胞壁的通透性, 使 Nisin 更易形成跨膜孔道, 加速胞内物质泄漏, 并诱导膜脂相变, 使得膜的稳定性下降, 促进 Nisin 插入膜结构, 增强杀菌效果。此外, HPP 破坏肽聚糖结构, 增强溶菌酶的水解作用, 加快细胞裂解过程。HPP 还可能通过改变蛋白质构象和提升酶活性, 增强 Nisin 和溶菌酶的抑菌效力, 实现协同抑菌效果, 从而有效延长冷鲜鸡肉的货架期。

2.2.6 最佳工艺条件清远冷鲜鸡肉感官评价

最佳工艺条件冷鲜鸡肉在 4 °C 条件贮藏期间感官评价如表 7 所示。

表 7 最佳工艺条件冷鲜鸡肉 4 °C 贮藏期间感官评价				
Table 7 Sensory evaluation of cold fresh chicken during storage at 4 °C				
贮藏时间/d	外观与色泽	气味	表面粘性	弹性
0	6.83 ± 0.36 ^a	8.61 ± 0.20 ^a	8.31 ± 0.12 ^a	7.68 ± 0.19 ^a
6	6.33 ± 0.21 ^b	7.38 ± 0.28 ^b	7.60 ± 0.25 ^b	6.94 ± 0.57 ^b
12	6.20 ± 0.12 ^b	6.57 ± 0.15 ^c	7.22 ± 0.22 ^c	6.08 ± 0.11 ^c
18	5.71 ± 0.27 ^c	6.06 ± 0.31 ^d	6.66 ± 0.21 ^d	5.34 ± 0.34 ^d
20	4.38 ± 0.36 ^d	5.64 ± 0.18 ^e	6.06 ± 0.19 ^e	4.18 ± 0.22 ^e

注: 不同字母表示具有显著性差异, $P < 0.05$ 。

如表 7 所示, 在外观与色泽方面, 由于经过超高压, 影响鸡肉肌红蛋白结构, 使其部分变性, 导致颜色偏淡, 接近乳白色, 在第 6 天时随着微生物的活动和氧化作用, 颜色逐渐变暗, 光泽度开始下降, 12 d 时, 颜色开始轻微暗淡, 评分下降较快; 在气味方面, 由于超高压的作用, 鸡肉初期呈现轻微“煮肉”的气味, 在第 20 天时, 有明显气味, 感官评分低于 5 分, 可能由于随着贮藏期的延长, 耐压细菌增长繁殖, 分解鸡肉中蛋白质、脂肪等, 从而产生氨气及各类碱性含氮物质。在表面粘性方面, 经过最佳工艺处理的鸡胸肉在初始时, 表面略带湿润, 无粘性, 在第 12 天时, 触感稍显滑腻, 表面开始产生少量粘液, 但仍在可接受范围, 在第 18 天时, 明显粘手, 表面滑腻, 感官评分进一步下降; 弹性方面, 最佳工艺处理的鸡胸肉在第 0 天时, 肌肉较为紧实, 按压后快速恢复, 但在第 12 天, 明显变软, 肌肉开始松散, 恢复能力下降, 在第 18 天完全失去活性。

3 结论

本实验以清远冷鲜鸡胸肉为原料,通过单因素实验探讨了不同超高压压力、保压时间、Nisin 及溶菌酶质量浓度对冷鲜鸡肉贮藏期间菌落总数及 TVB-N 的影响。在此基础上利用响应面法优化实验,设置这 4 个变量,以菌落总数和 TVB-N 值为评价指标,确定最佳杀菌参数为: Nisin 质量浓度为 $0.45 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、溶菌酶质量浓度为 $0.25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、压强为 350 MPa、保压时间为 15 min。通过后期贮藏实验,发现在该工艺条件下的冷鲜鸡肉货架期可延长至 20 d 左右。在对最佳工艺条件下处理的冷鲜鸡肉贮藏初期进行了微观结构的检测,以及贮藏期间感官评价的变化。结果发现,空白组的冷鲜鸡胸肉肌纤维排列紧密、表面较为平滑,而处理组的肌纤维结构部分断裂或松散,有明显凹陷。在贮藏期间各项感官指标上升较慢。本文通过实验展示了超高压和生物抑菌剂协同应用在冷鲜鸡肉保鲜中的潜力,该工艺利用高压设备实现批量化处理,结合低浓度 Nisin 和溶菌酶,在提升保鲜效果的同时,保持产品品质。超高压设备低能耗、无化学残留及延长货架期的优势可降低流通损耗,提高经济效益。结合生物抑菌剂的应用,整体生产成本可控,为冷鲜鸡肉的规模化生产提供了可靠的技术支持。

参考文献

- [1] 陈号川,芮汉明.清远麻鸡和三黄鸡鸡肉理化特性的比较研究[J]. 食品工业科技,2009,1:294-297.
- [2] ZHENG W, CHEN S, GUAN Y, et al. Effects of yupingfeng polysaccharide in diet on slaughtering performance and meat flavor of Qingyuan partridge chicken [J]. Food Chemistry, 2025, 471: 142814.
- [3] DIXIT O V A, BEHRUZNIA M, PREUSS A L, et al. Diversity of antimicrobial-resistant bacteria isolated from Australian chicken and pork meat [J]. Frontiers in Microbiology, 2024, 15: 1347597.
- [4] 李盛楠.不同日龄清远鸡品质特征分析与综合评价[D].广州:华南农业大学,2020.
- [5] SONG Y H, GOH Y G, UM K H, et al. Effect of ionized calcium on bacteria contamination in chicken carcass under slaughter process [J]. 3 Biotech, 2018, 8(11): 468.
- [6] HAUGE S J, JOHANNESSEN G S, HAVERKAMP T H A, et al. Assessment of poultry process hygiene and bacterial dynamics along two broiler slaughter lines in Norway [J]. Food Control, 2023, 146: 109526.
- [7] SONG X, WANG H, XU X. Investigation of microbial contamination in a chicken slaughterhouse environment [J]. Journal of Food Science, 2021, 86(8): 3598-3610.
- [8] 张希斌.肉鸡屠宰过程中胴体毛囊细菌多样性和群落结构的分析及其限制胴体减菌效果的机制研究[D].泰安:山东农业大学,2020.
- [9] BUZRUL S. High hydrostatic pressure treatment of beer and wine: a review [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2012, 13: 1-12.
- [10] ZHANG H, TANG D, YANG H, et al. Effects of high hydrostatic pressure assisted enzymatic tenderization on goose meat texture and myofibril protein [J]. LWT, 2023, 184: 114845.
- [11] SOMMERS C H, SCULLEN O J, SHEEN S. Inactivation of uropathogenic escherichia coli in ground chicken meat using high pressure processing and gamma radiation, and in purge and chicken meat surfaces by ultraviolet light [J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 413.
- [12] CHEN Y A, HSU H Y, CHAI H E, et al. Combination effect of papaya extract and high pressure processing on Salmonella inactivation on raw chicken breast meat and meat quality assessment [J]. Food Control, 2022, 133: 108637.
- [13] DANG T T, RODE T M, SKIPNES D. Independent and combined effects of high pressure, microwave, soluble gas stabilization, modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and physicochemical shelf life of precooked chicken breast slices [J]. Journal of Food Engineering, 2021, 292: 110352.
- [14] VIJAYAKUMAR S, G. V, KRISHNAPURA P R, et al. Production of nisin from lactococcus lactis in acid-whey with nutrient supplementation [J]. Preparative Biochemistry & Biotechnology, 2024, 54(4): 494-502.
- [15] REINERS J, LAGEDROSTE M, GOTTSTEIN J, et al. Insights in the antimicrobial potential of the natural nisin variant nisin h [J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 573614.
- [16] 高蕾蕾,李迎秋.乳酸链球菌素及其在食品中的应用研究进展[J]. 中国调味品,2017,42(3):157-160,165.
- [17] 姚文俊,杨勇,刘希,等.微生物源乳酸链球菌素(Nisin)及在食品中应用研究进展[J].中国调味品,2023,48(1):215-220.
- [18] 刘欣,王文艳,王娟,等.乳酸链球菌素对桶子鸡的保鲜效果[J].食品工业,2019,40(7):6-10.
- [19] ZHANG Q, CHEN J, WANG Y, et al. Preparation and application of lysozyme aptamer fibre for specific recognition of lysozyme in food samples [J]. Food Analytical Methods, 2021, 14(7): 1464-1471.
- [20] VANDERKELEN L, VAN HERREWEGHE J M, MICHIELS C W. Lysozyme inhibitors as tools for lysozyme profiling: identification and antibacterial function of lysozymes in the hemolymph of the blue mussel [J]. Molecules, 2023, 28(20): 70-71.
- [21] 霍嘉颖,潘丽,辛小娟,等.鸡蛋清溶菌酶抑菌特性与活性提升及其在食品中的应用进展[J].食品科学,2024,45(21):29-38.
- [22] 尹秀莲,游庆红,万苗苗,等.冷鲜鸡肉复合保鲜工艺研究[J].食品与发酵科技,2016,52(5):55-58.
- [23] 崔英丽,张慙,刘振彬,等.气调包装和天然复合保鲜剂对冷却牛肉联合保鲜效果影响的研究[J].食品与生物技术学报,2017, 36(4):352-356.
- [24] 罗欣,朱燕.Nisin在牛肉冷却肉保鲜中的应用研究[J].食品科学,2000,3:53-57.
- [25] 刘琳,张德权,贺稚非.天然保鲜剂延长生鲜调理鸡肉货架期的研究[J].食品科技,2010,35(9):154-159.
- [26] 刘琳.生鲜调理鸡肉保鲜技术研究[D].重庆:西南大学,2009.
- [27] 李楠,张艳芳,韩剑飞,等.超高压杀菌对冰鲜鸡肉感官品质及微生物的影响[J].肉类工业,2015(3):19-23,27.
- [28] ARGYRI A A, PAPADOPOULOU O S, NISIOTOU A, et al. Effect of high pressure processing on the survival of salmonella enteritidis and shelf-life of chicken fillets [J]. Food Microbiology, 2018, 70: 55-64.
- [29] 杨君娜,王辉,刘伟,等.响应面法优化超高压牛肉保鲜工艺[J].肉类研究,2013,27(11):24-29.
- [30] 王燕,段雪伟,张敏君,等.响应面法优化黑玉米粒多糖提取工艺及其抗氧化活性分析[J].食品工业科技,2023,44(22):191-200.