

文章编号:2095-6002(2013)01-0009-05

引用格式:赵杰文,黄晓玮,邹小波,等. 基于嗅觉可视化技术的猪肉新鲜度检测. 食品科学技术学报,2013,31(1):9-13.

ZHAO Jie-wen, HUANG Xiao-wei, ZOU Xiao-bo, et al. Research on Discrimination of Dominant Spoilage Bacteria in Pork Based on Porphyrins and pH Indicators Gas-Sensing Material. Journal of Food Science and Technology, 2013, 31(1): 9-13.

基于嗅觉可视化技术的猪肉新鲜度检测

赵杰文, 黄晓玮, 邹小波, 黄林, 石吉勇

(江苏大学食品与生物工程学院, 江苏镇江 212013)

摘要: 嗅觉可视化技术是使非可见物质成像(主要是气体成像)的一种无损检测新技术,属人工嗅觉模拟技术的一个新分支. 使用卟啉和 pH 指示剂作为嗅觉可视化传感器阵列的气敏材料,检测猪肉中的优势致腐菌和新鲜度. 将3种优势致腐菌(梭状芽孢杆菌、热死环丝菌、假单胞菌)分别接种至3组猪肉样本中,在3种温度(-16℃, 4℃和20℃)条件下分别贮藏不同的时间后,采用扫描仪获取可视化传感器阵列与每个样本反应前后的图像信息;将阵列反应前后的颜色差值作为样本特征值,对不同的猪肉样本经不同贮藏时间后产生的挥发性气味,可视化传感器阵列显示其特定的颜色图像与其对应. 结果表明,嗅觉可视化技术可以用于检测猪肉的优势致腐菌以及判断猪肉的新鲜度.

关键词: 嗅觉可视化技术;猪肉;优势致腐菌;新鲜度

中图分类号: TS205

文献标志码: A

中国是猪肉生产和消费的大国,随着人民生活水平的提高,对猪肉品质的要求也越来越高,因而快速无损地检测猪肉变质情况显得尤为重要. 猪肉变质的一个主要原因是优势腐败菌利用猪肉中的蛋白质、碳水化合物、脂肪等营养物质进行自身代谢,产生代谢产物如硫化物、胺类等,变质过程中伴随着猪肉气味和 pH 值的变化. 因此,可以通过微生物计数来判断猪肉的新鲜度,目前常用的方法仍是 GC/MS、HPLC、微生物培养等方法,这些方法能够准确检测猪肉的品质,但检测成本高,动用的仪器昂贵且耗时耗力,检测周期长,不能做到新鲜度的及时判断^[1-8]. 因此,寻找一种简便快速,并且在人工嗅觉及味觉尚不能感知猪肉开始变质的初期就能做出判断的新检测手段,对保证肉类食品安全有重要的意义^[9-10].

嗅觉可视化技术是一种气体成像的新技术,属人工嗅觉模拟技术的一个新分支. 嗅觉可视化技术利用气敏化合物(金属卟啉、原卟啉和 pH 指示剂)

做显色剂,与受测物质挥发性气体进行显色反应,通过显色剂的显色状况,判断气体的浓度变化. 嗅觉可视化技术有以下特点:1)将嗅觉信息转化为视觉(图像)信息,使气味“看得见”,相对于传统的电子鼻技术,嗅觉成像更加直观、生动^[11-17];2)气味的图像信息可进一步转化为数值信息,有利于数学建模、量化分析及信息的通讯传递;3)大大缩短了检测时间,降低了检测成本. 本研究以猪肉为研究对象,用卟啉和 pH 指示剂制作可视化传感器阵列,通过特定颜色图像的数值化表达,检测-16℃冷冻、4℃冷藏和20℃室温3种不同贮藏温度下,3种优势致腐菌梭状芽孢杆菌、热死环丝菌、假单胞菌对猪肉新鲜度的影响.

1 材料与方法

1.1 实验材料与仪器设备

实验中使用的猪肉为屠宰1~2 h后的新鲜猪

收稿日期:2012-09-02

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30971685).

作者简介:赵杰文,男,教授,博士,博士生导师,主要从事农产品加工工程方面的研究.

里脊肉,购于菜市场.梭状芽孢杆菌、热死环丝菌及假单胞菌属菌种为实验室分离鉴定后保存的菌种;灭菌后的生理盐水、PCA 培养基(plate count agar).

主要设备包括:YM50 型压力蒸汽灭菌锅,上海三申医疗器械有限公司;SW-CJ-2FD 型双人单面净化工作台,苏州净化设备有限公司;JNOEC XS-212-202 型生物显微镜,四川赛普瑞斯仪器有限公司;LRH-150 型生化培养箱,上海一恒科技有限公司.

1.2 猪肉样本的制备

1.2.1 优势腐败菌菌液的制备

利用微生物分离的方法获得寄附于猪肉上的三种优势致腐菌:梭状芽孢杆菌、热死环丝菌、假单胞菌,采用平板划线法将菌株置于 20~24℃ 的恒温培养箱中培养 24 h 后,得到三种优势腐败菌苔.将三种菌苔分别接种于 500 mL 的液体培养基中培养 18 h,将三种菌液均稀释至浓度为 10^4 CFU/mL 备用.

1.2.2 染菌肉块的制备

将猪里脊肉分割成 360 小块,每块 10 g 左右,并将小块猪肉进行表面灭菌.经培养计数,每块猪肉的细菌总数均小于 10^2 CFU/g,证明灭菌效果良好^[18].灭菌后的 360 块猪肉,分为 3 组,每组 120 块,并将 3 组样品分别放置在 3 种菌液中浸泡 15 s 后沥干.

1.3 致腐菌计数

对本实验不同温度下贮藏不同时间、染有不同菌种的猪肉样本采用相同的致腐菌计数方法:在超净台中将猪肉样本剪碎放入含有 10 mL 灭菌生理盐水的灭菌乳钵内,经充分研磨制成均匀稀释液.用无菌微量移液器吸取 0.10 mL 样品匀液,沿管壁缓慢注入盛有 10 mL 稀释液的无菌试管中(注意吸管或吸头尖端不要触及稀释液面),使其混合均匀,制成 1:100 的样品匀液.根据对样品污染状况的估计,选择 2 个适宜稀释度的样品匀液,在显微镜下进行计数.

1.4 嗅觉可视化技术

1.4.1 气敏传感器阵列的制作

为了减少环境湿度对传感器精度的影响,因此选择具有良好疏水性的 C_2 反相硅胶板作为传感器载体,其微小的孔径可以帮助吸附气体分子加快检测速度.利用毛细管点样法将 4 种吡啶气敏材料和 9 种 pH 指示剂气敏材料固定在传感器载体上,制成由 13 个颜色反应点组成的可视化传感器阵列,如图 1^[19].

1.4.2 嗅觉可视化技术检测

实验设置 3 个贮藏温度: -16, 4, 20℃, 检测猪

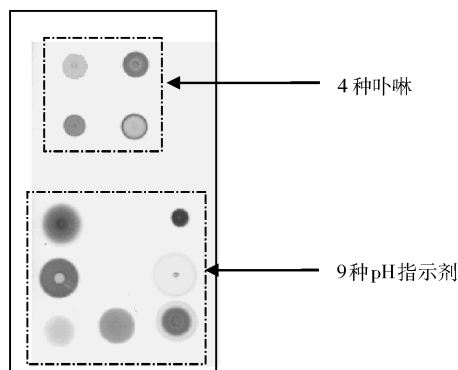


图 1 可视化传感器阵列

Fig. 1 Visualization sensor array

肉在这 3 种贮藏条件下的变质情况.贮藏在 -16℃ 条件下的样本,每 72 h 检测一次,跟踪检测 216 h;贮藏 4℃ 条件下的样本,每 48 h 检测一次,跟踪检测 144 h;贮藏 20℃ 条件下的样本,每 8 h 检测一次,跟踪检测 24 h,所有试验每次都进行 5 个平行实验.

检测过程如下,首先用氮气分别清洗样品室和气体反应室,用扫描仪获取传感器阵列反应前的图像;将检测对象(猪肉样本)搁置在样品室中密封集气;猪肉的挥发气体以惰性气体(氮气)为载气进入反应室,与传感器上显色材料结合后发生颜色变化;对不同的猪肉样本经不同贮藏时间后产生的挥发性气味,可视化传感器阵列显示特定的颜色图像与其对应,该图像可通过扫描仪扫描获得;测试一次更换一个传感器阵列.

1.4.3 传感器阵列的特征提取

传感器阵列中每个颜色反应点图像用 R, G, B 3 个颜色分量表达,可采用计算机图像处理技术来量化、识别这种变化.由扫描仪获得的图像首先采用中值滤波滤去噪声,用阈值分割法将颜色反应点的图像从背景中分割出来,查找传感器阵列中每个颜色反应点的中心,取每个颜色反应点中心周围约 100 个像素的 R, G, B 均值作为传感器的表征值,这样可有效去除边缘效应的不利影响.将颜色反应点反应前后 R, G, B 值差的绝对值($\Delta R = |R_a - R_b|$, $\Delta G = |G_a - G_b|$, $\Delta B = |B_a - B_b|$, 下标 a 表示反应后,下标 b 表示反应前)作为颜色反应点的响应信号.

2 结果与讨论

2.1 致腐菌的生长情况

当寄附于猪肉上的菌落总数超过 10^7 CFU/g 就

认为肉开始变质^[20]. 在-16℃的情况下微生物生长缓慢,各种菌的数量均比较低,细菌总数在第216 h时达到10⁷ CFU/g,如图2,3种菌的生长速率在0.700~0.820左右,其中假单胞菌生长速率最高;在4℃的情况下,细菌总数在第144 h时达到10⁷ CFU/g,三种菌的生长速率差距不大,在1.071~1.101左右,其中假单胞菌和热死环丝菌生长速率

均较高;在20℃的情况下细菌的生长速率明显加快,细菌总数在第16 h时即达到10⁷ CFU/g,三种菌的生长速率差距也较大,在1.415~1.661左右,其中假单胞菌生长速率最高. 图2(a)、(b)、(c)分别为贮藏在-16,4,20℃条件下各染菌组菌数的变化.

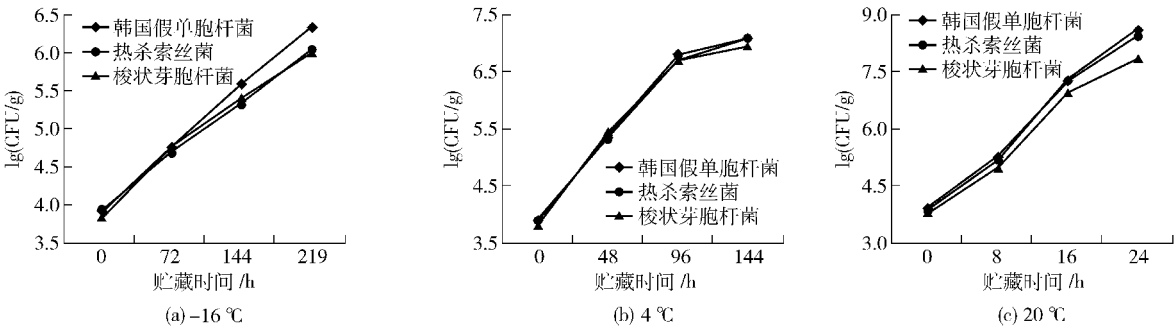


图2 猪肉中3种致腐菌菌数变化情况
Fig.2 Bacteria count changes of three spoilage bacteria

如果把寄附于猪肉中的菌落数1×10⁷ CFU/g作为评判猪肉开始变质的临界值,可以认为猪肉在-16℃,4℃和20℃条件下分别贮藏216 h,144 h和16 h后已经开始变质,此时人工嗅觉尚不能觉察出变化,用嗅觉可视化技术却可将这种变化情况直观地表示出来. 同时可以看出在3种贮藏温度下,假单胞菌的致腐能力最强.

2.2 嗅觉可视化检测结果

由于论文篇幅限制,以下重点分析20℃条件下的嗅觉可视化技术的检测结果.

图3、图4、图5是嗅觉可视化传感器检测猪肉20℃贮藏条件下产生的挥发气味在0~24 h时间段中的几幅特征图像,每幅图的反应变化都有所不同.这是由于不同的菌产生的挥发性气体的百分含量有一定的差异,并且随着贮藏时间的延长,猪肉顶空挥发性气体成分的种类和浓度不断变化引起的.

对于不同组的样本而言,气敏传感器阵列的特征响应值是不同的,同一组样本,在不同的贮藏阶段气敏传感器阵列的特征响应值也是不同的,并且随着时间的推移,猪肉变质程度的加深,特征点的亮度不断加深,即传感器阵列上特征点颜色变化程度不断加深.

通过图3至图5,可以看出传感器阵列上13个颜色反应点的颜色变化较为直观地反映了猪肉的新鲜度变化,但尚缺少具体的数据标准.

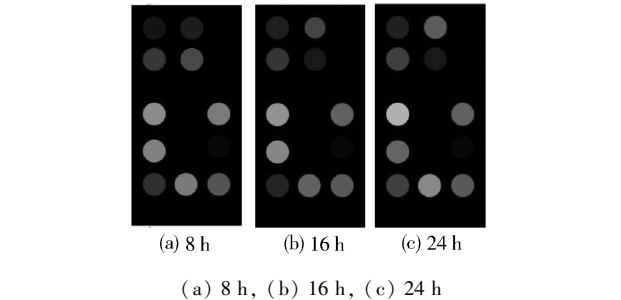


图3 20℃染有梭状芽胞杆菌猪肉样本0~24 h特征图像
Fig.3 Feature images of Clostridium group sample under 20℃ during 8~24 h

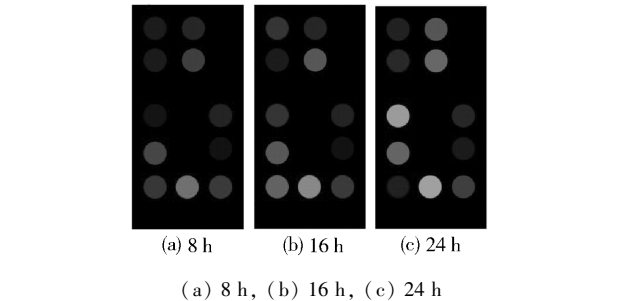


图4 20℃染有热死环丝菌猪肉样本8~24 h特征图像
Fig.4 Feature images of Brochothrix thermosphacta group sample under 20℃ during 8~24 h

随贮藏时间的延长、猪肉腐败程度加深,每一个颜色反应点的亮度也在增强,也就是说猪肉新鲜度越低 $\Delta R, \Delta G, \Delta B$ 响应值越高,因此可以通过传感器阵列上13个颜色反应点的 $\Delta R, \Delta G, \Delta B$ 响应值的总

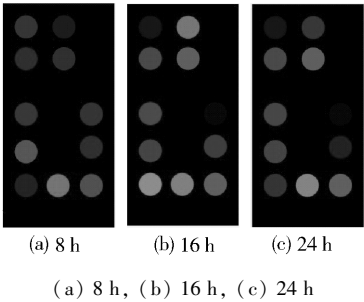


图 5 20 ℃ 染有假单胞菌猪肉样本 8~24 h 特征图像
Fig.5 Feature images of *Pseudomonas* group sample under 20 ℃ during 8~24 h

和来判断猪肉的新鲜度. 表 1 和表 2 分别为 20 ℃ 条件下贮藏 16 h 和 24 h 后各组猪肉样本的菌落数和颜色反应点的 $\Delta R, \Delta G, \Delta B$ 的总和. 对于同一组样本,随着贮藏时间的延长, $\Delta R, \Delta G, \Delta B$ 的总和也在增加. 对照 2.1 致腐菌生长情况,20 ℃ 条件下贮藏 16 h 时所有猪肉样本的菌落数达到 10^7 CFU/g 以上,可以把该条件下传感器阵列上 13 个颜色反应点的 $\Delta R, \Delta G, \Delta B$ 之和的最小值 532(表 1)定为猪肉开始变质的临界点. 同样可以得出,贮藏在 -16 ℃ 条件下猪肉开始变质的临界点为 543;贮藏在 4 ℃ 条件下猪肉开始变质的临界点为 772,受篇幅所限不再展开来介绍.

表 1 20 ℃ 16 h 时 13 个颜色反应点的 $\Delta R, \Delta G, \Delta B$ 之和

Tab.1 Change of RGB of pH indicator during 16 h under 20 ℃

样本名称	菌落数/ (log(CFU·g ⁻¹))	$\Delta R + \Delta G + \Delta B$
染有梭状芽孢杆菌组	7.334 5	572
染有热死环丝菌组	7.301 0	554
染有假单胞菌组	7.045 3	532

表 2 20 ℃ 24 h 时 13 个颜色反应点的 $\Delta R, \Delta G, \Delta B$ 之和

Tab.2 Change of RGB of pH indicator during 24 h under 20 ℃

样本名称	菌落数/ (log(CFU·g ⁻¹))	$\Delta R + \Delta G + \Delta B$
染有梭状芽孢杆菌组	7.872 2	726
染有热死环丝菌组	8.477 1	817
染有假单胞菌组	8.662 3	804

3 结 论

本文根据微生物计数法分析寄附于猪肉上的微生物菌数及猪肉的变质情况作为背景知识,将 4 种卟啉类化合物以及 9 种 pH 指示剂制成可视化传感

器阵列,与 -16 ℃,4 ℃ 和 20 ℃ 三种不同贮藏温度下,染有三种优势致腐菌的猪肉所产生挥发气体发生反应,当寄附于猪肉上的菌落总数达到临界值,猪肉开始变质时,与其对应的特定颜色图像(由 13 个颜色反应点组成)的 $\Delta R + \Delta G + \Delta B$ 值可作为猪肉开始变质的临界判断值, $\Delta R + \Delta G + \Delta B$ 值越大,猪肉新鲜度越低. 研究结果表明,嗅觉可视化技术可直接跟踪猪肉变质过程中挥发性气味的变化,并可实现数字表达,与常用的检测猪肉新鲜度的方法相比,更直观、简便、快速,是一种具有较高应用前景的食品安全检测技术.

参考文献:

[1] 彭勇. 冷却猪肉常见腐败微生物致腐能力的研究 [D]. 北京: 中国农业大学,2005.

[2] 马俪珍,南庆贤,戴瑞彤. 冷却猪肉中腐败菌的分离、初步鉴定与初始菌相分析[J]. 天津农学院学报, 2005,12(3):43-47.

[3] 朱维军,焦镭,石明生,等. 冷却肉中常见腐败细菌的分离与鉴定[J]. 中国农学通报,2009,25(18):99-101.

[4] Satnam S, Ron B, Sibel R. Chitosan in hibits growth of spoilage micro-organisms in chilled pork products [J]. Food Microbiology,2002,19(2-3):175-182.

[5] Vincia G, Antonelli L M. Biogenic amines qualityindex of freshness in red and white meat [J]. Food Control, 2002,13(8):258-263.

[6] Dorota M B, Karen M D L, Bell R G. Efficacy of heat and ethanol spore treatments for the isolation [J]. International Journal of Food Microbiology,1988,39(1-2): 61-68.

[7] Borch E, Marie L K M, Ylva B. Bacterial spoilage of meat products [J]. International Journal of Food Microbiology,1996,33(1):103-120.

[8] Li M Y, Zhou G H, Xu X L, et al. Changes of bacterial diversity and main flora in chilled pork during storage using PCR-DGGE [J]. Food Microbiology,2006,23(7): 607-611.

[9] 李苗云,赵改名,张建威,等. 冷却猪肉贮藏过程中主要腐败菌的聚类分析 [J]. 中国农业科学,2011,44(12):2531-2536.

[10] 李苗云,张秋会,高晓平,等. 冷却猪肉贮藏过程中腐败品质指标的关系研究 [J]. 食品与发酵工业,2008(7):186-189.

[11] 邹小波,张建,赵杰文. 嗅觉可视化技术及其对四种食醋的识别 [J]. 农业工程学报,2008(6):173-176.

- [12] 邹小波,赵杰文,殷晓平,等. 嗅觉可视化技术在白酒识别中的应用[J]. 农业机械学报,2009(1):116-119.
- [13] 赵杰文,张建,邹小波. 嗅觉可视化技术及其对5种化学物质的区分[J]. 江苏大学学报:自然科学版,2008(1):7-10.
- [14] 赵杰文,邹小波,黄星奕,等. 基于气体传感器阵列技术的食品气味快速无损检测方法及其装置:中国,03131660.3[P]. 2003-06-02.
- [15] 邹小波,赵杰文,蔡健荣,等. 两种不同气体传感器阵列组合检测气味的方法和装置:中国,200710024696.1[P]. 2007-06-27.
- [16] Di Natale C, Paolesse R, Macagnano A, et al. Characterization and design of porphyrins-based broad selectivity chemical sensors for electronic nose applications[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 1998, 52(1-2): 162-168.
- [17] Jing L, Jianhua X, Shuang X. Volatile organic compound colorimetric array based on zinc porphyrin and metalloporphyrin derivatives [J]. Energy Procedia, 2011, 12: 625-631.
- [18] 黎园园,董庆利,梁娜,等. 解冻猪肉中优势腐败菌致腐能力研究[J]. 食品科学,2011,32(5):123-127.
- [19] 黄星奕,周芳,蒋飞燕. 基于嗅觉可视化技术的猪肉新鲜度等级评判[J]. 农业机械学报,2011,42(5):142-145.
- [20] 周芳. 嗅觉可视化技术检测猪肉新鲜度的研究[D]. 镇江:江苏大学,2011:24-26.

Research on Discrimination of Dominant Spoilage Bacteria in Pork Based on Porphyrins and pH Indicators Gas-Sensing Material

ZHAO Jie-wen, HUANG Xiao-wei, ZOU Xiao-bo, HUANG Lin, SHI Ji-yong
(College of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

Abstract: Olfaction visualization technology is a gas imaging technology and a new branch of artificial olfactory technology, which can solve common problems of traditional gas sensor. In order to detect the dominant spoilage bacteria (*Clostridium*, *Brochothrix thermosphacta* and *Pseudomonas*) and evaluate freshness of pork, porphyrins and pH indicators were used as gas-sensing materials. The three spoilage bacteria were inoculated into three groups of pork samples and stored under three temperatures (16, 4 °C and 20 °C). The images before and after the colorimetric sensor array interacted with pork's volatile flavors were collected, then image processing techniques was used to get digital signals which reflected the freshness of pork. The results showed that the olfaction visualization technology can be applied in rapid detection of dominant spoilage bacteria and evaluation freshness of pork.

Key words: olfaction visualization technology; pork; dominant spoilage bacteria; freshness

(责任编辑:王 宽)