

猪肉剩余货架期快速预测电化学设备的设计与试验

刘 飞, 李文采, 田寒友, 邹 昊, 王 辉,
李家鹏, 陈文华, 乔晓玲^{*}

(1. 中国肉类食品综合研究中心, 北京 100068; 2. 肉类加工技术北京市重点实验室, 北京 100068;
3. 北京食品科学研究院, 北京, 100068)

摘 要: 针对生鲜猪肉等短货架期食品对微生物快速检测的巨大需求, 该研究依据微生物呼吸作用的电子传递规律, 采用原电池的工作原理, 结合构建的微生物生长预测模型(4~30℃)决定系数 R^2 为 0.9954 以上, 试制了操作简单、方便快捷的生鲜猪肉剩余货架期的电化学预测设备, 并采用 Labview 编程语言开发了信号采集和数据分析软件。结果表明该设备检测时间为 20 min, 可预测 4~30℃范围内生鲜肉的剩余货架期, 预测准确度为 1.02~1.06, 研究结果为采用电化学方法预测食品中微生物含量及其货架期提供理论参考。

关键词: 模型; 预测; 贮藏; 生鲜猪肉; 剩余货架期; 菌落总数; 电化学; 快速检测

doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2016.12.037

中图分类号: S828

文献标志码: A

文章编号: 1002-6819(2016)-12-0261-06

刘 飞, 李文采, 田寒友, 邹 昊, 王 辉, 李家鹏, 陈文华, 乔晓玲. 猪肉剩余货架期快速预测电化学设备的设计与试验[J]. 农业工程学报, 2016, 32(12): 261—266. doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2016.12.037 <http://www.tcsae.org>
Liu Fei, Li Wencai, Tian Hanyou, Zou Hao, Wang Hui, Li Jiapeng, Chen Wenhua, Qiao Xiaoling. Design and experiment of electrochemical device for quickly predicting remaining shelf life on fresh pork[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2016, 32(12): 261—266. (in Chinese with English abstract) doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2016.12.037 <http://www.tcsae.org>

0 引 言

中国是猪肉消费大国, 每年消耗生鲜猪肉约 5 000 万 t。由于污染微生物生长繁殖导致生鲜猪肉的腐败, 每年造成了巨大的经济损失^[1], 并引发一系列的食品安全问题。生产、运输和贮藏过程中环境微生物的含量直接决定了生鲜猪肉的微生物含量, 进而影响生鲜猪肉的剩余货架期, 而环境微生物的不稳定性将导致生鲜猪肉剩余货架期不确定, 不但加大了生鲜肉加工企业对原料肉质量控制的难度, 更是消费者、监管部和生产企业最为关心的问题。

生鲜猪肉的有效货架期较短, 食品感官评价方法虽然准确但周期长、成本高^[2], 而微生物动力学生长模型可以快速预测不同贮藏条件下的货架期得到广泛应用^[3]。目前, 已有将生鲜肉中微生物液体培养后预测单一和混合微生物的生长预测模型^[4], 也有以液体培养基繁殖的微生物为研究对象构建的预测模型^[5], 由于肉中的肌肉组织对

微生物的生长影响较大, 这些模型都较难对生鲜肉中复杂微生物的实际情况进行描述。虽然有研究构建了冷冻虾^[6]、冷冻鸡肉^[7]、冷却猪肉^[8]、冷冻羊肉^[9]和高氧包装牛肉^[10]菌落总数的生长预测模型, 但这些研究主要集中在模型构建方面, 实际应用中仍需通过测定生鲜肉的实时菌落总数, 才能预测其剩余货架期, 因此需要一种结合了生鲜肉动力学模型的快速检测菌落总数的设备, 实现对生鲜肉剩余货架期的有效预测。

食品中常见的菌落总数快速检测方法主要有即用型纸片法、电阻抗法、微菌落计数法等^[11], 这些方法具有准确性高, 灵敏度高的特点, 但检测周期较长, 且不能结合微生物生长模型实时预测食品的剩余货架期。因此, 本研究以市售生鲜猪肉为研究对象, 通过检测微生物胞外呼吸作用产生的电子, 开发快速检测菌落总数的电化学设备, 结合构建的菌落总数生长预测模型, 实现对生鲜肉剩余货架期的快速、准确预测, 提高肉品加工企业对原料肉质量安全控制的效果和效率, 降低质控成本, 同时为市场监管和安全管理提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

猪肉样品均为宰后排酸 12 h 的猪通脊肉, 均为北京二商大红门肉类食品有限公司的杜长大三环猪, 采购于北京大型超市。

MFC 反应器采购于常熟文特实验室器皿有限公司;

收稿日期: 2016-01-27 修订日期: 2016-04-22

基金项目: 北京市博士后工作经费(2015ZZ-140)和国家科技支撑计划(2014BAD04B00)联合资助。

作者简介: 刘 飞, 男, 辽宁朝阳人, 高级工程师, 研究方向为肉制品快速检测技术。北京 中国肉类食品综合研究中心, 100068。

Email: liufei-ln@163.com

※通信作者: 乔晓玲, 女(满族), 黑龙江齐齐哈尔市人, 教授级高工, 研究方向为肉制品加工技术。北京 中国肉类食品综合研究中心, 100068。

Email: cmrcsen@126.com

铂片电极 (30 mm×30 mm×0.2 mm) 采购于北京鹏达恒泰科技有限公司; ULTREX CMI-7000 阳离子交换膜采购于美国 MI 公司; 电流放大器 (输入电流 1 nA~1 mA, 灵敏度 1 pA, 信号输出为电压模拟信号, 信号增益 1 000), 采购于北京北分三谱有限责任公司; 数据采集器 BK-usb7008 采购于北京博基兴业科技有限公司; 微生物平板培养基、葡萄糖、铁氰化钾 (均为分析纯) 采购于国药集团化学试剂有限公司, 2,6-二氯酚钠 (2,6-dichloroindophenolate sodium hydrate, DCIP) 和封口膜 PARAFILM 均采购于美国 sigma 公司。

1.2 方法

1.2.1 样品处理

在超净台中去除猪通脊 0.5 cm 的外表面后, 分成 25 g 大小, 分别放在一次性培养皿中, 封口膜密封后于 4、15、25、30 °C 条件下贮藏, 参照 GB4789.2-2010《食品微生物学检验菌落总数测定》, 定时取出样品进行菌落总数的测定。

1.2.2 菌落总数测定

定时取出 3 个盛有 25 g 肉样的培养皿, 放入 225 mL 灭菌生理盐水的无菌均质袋中, 用拍击式均质器 500 r/min 拍打 2 min, 制成 1:10 g/mL 的样品匀液。按 10 倍递增稀释梯度用平板计数法测定菌落总数 (35 °C, 24 h)。

1.2.3 数学模型的建立与评价

1) 一级模型的建立:

采用修正的 Gompertz 模型^[12-13]作为食品微生物生长的预测模型。

$$N_t = N_0 + (N_{\max} - N_0) \exp \left\{ -\exp \left[\mu_{\max} \cdot \frac{2.718}{N_{\max} - N_0} \cdot (Lag - t) + 1 \right] \right\} \quad (1)$$

式中 t 为时间, h; N_t 、 N_{\max} 和 N_0 分别为 t 时、最大和最初菌数的对数值, lg(CFU/g); μ_{\max} 为微生物的最大比生长速率, h⁻¹; Lag 为微生物生长的延滞时间, h。

2) 二级模型的建立

采用平方根 (Belehradek) 方程^[14]对一级模型中微生物生长动力学参数进行描述, 方程如下

$$\sqrt{\mu_{\max}} = b_{\mu_{\max}} \cdot (T - T_{\min \mu}), \quad (2)$$

$$\sqrt{1/Lag} = b_{Lag} \cdot (T - T_{\min L}). \quad (3)$$

式中, T 为贮藏温度, °C; T_{\min} 为假设的一个概念, 指微生物没有代谢活动时的温度, °C, 即在此温度时最大比生长速率为 0; μ_{\max} 为微生物的最大比生长速率, h⁻¹; b 为常数。

3) 模型的可靠性评价

应用建立的菌落总数生长预测模型求得 10 °C 的预测值, 与 10 °C 贮藏试验的实测值进行比较, 采用偏差度 (bias factor, B_f)、准确度 (accuracy factor, A_f)、残差

平方和 (the sum of squares due to error, SSE) 及均方根误差 (root mean square error, RMSE)^[15-16]对建立的菌落总数生长预测模型的可靠性进行评价。

$$B_f = 10^{\left[\sum_{i=1}^n \log(N_{pre} / N_{obe}) / n \right]}, \quad (4)$$

$$A_f = 10^{\left[\sum_{i=1}^n |\log(N_{pre} / N_{obe})| / n \right]}, \quad (5)$$

$$SSE = \sum (N_{obe} - N_{pre})^2, \quad (6)$$

$$RMSE = \sqrt{[\sum (N_{obe} - N_{pre})^2] / df}. \quad (7)$$

式中 N_{obe} 是实测菌落总数的对数值, lg(CFU/g); N_{pre} 是采用菌落总数生长预测模型得到的与 N_{obe} 同一时间的菌落总数的对数值, lg(CFU/g); df 为自由度或 $n-2$ (n 为样本数)。 B_f 用来评价预测值偏离等值线的程度, 在 0.9~1.05 范围内, 模型预测效果较佳; 范围在 0.7~0.9 或 1.06~1.15, 模型预测效果较好^[17]; 预测效果越好, B_f 值越接近于 1^[16]。 A_f 代表了每一个预测值的点与等值线之间的平均距离, 用来衡量预测值和观测值之间的接近程度, $A_f=1$, 表明所有的预测值和观测值均相等; A_f 值越大, 表明该模型预测的平均准确度越低。

此外, 根据 Baranyi 等^[18]的研究制作了预测值和实测值的直观对比图揭示系统误差。

4) 剩余货架期预测

在某一温度下, 生鲜猪肉的菌落总数从初始值生长到 10⁷ CFU/g 所用的时间为该生鲜猪肉在该温度下的总货架期 T_t , h; 在某一温度下, 生鲜猪肉的始菌落总数由初始值生长至当前值所用的时间为 T_t , h, 总货架期 T_t 与 T_1 的差值为该样品在该温度下的剩余货架期^[19-20]。

1.2.4 电化学装置与测量电路

如图 1 所示, 阴极室和阳极室之间用阳离子交换膜 Ultrex CMI-7000 分隔, 电极室内的缓冲液体系为 pH 值 7.0, 50 mmol/L 的磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS), 2 个电极均为 Pt 片电极。由于微生物产生的电流很小 (微安级), 故需电流放大器将信号放大并转换成电压信号。用数字采集器 BK-usb7008 结合 NI Labview2010 软件编辑的信号采集和数据分析模块对电压信号进行采集和数据处理。

1.2.5 菌落总数的检测机理

研究发现, 生鲜猪肉中的主要微生物为假单胞菌、热杀索丝菌、乳酸菌、微球菌和肠杆菌属, 都属于革兰氏阴性菌^[21], 革兰氏阴性菌细胞外膜上含有的细胞色素 C 可作为胞外呼吸作用的电子传递媒介。如图 1 所示, 阳极室内的微生物氧化基质产生的电子, 利用细胞外膜的细胞色素 C 传递到胞外, 产生的电子经 DCIP 捕获进行信号放大后将电子传递至阳极电极, 再由阳极电极转移到阴极电极, 与阴极室中的氧化剂发生氧化还原反应, 形成完整回路。阳极室形成的 H⁺经阳离子交换膜进入阴极室, 维持电极室的电荷平衡。

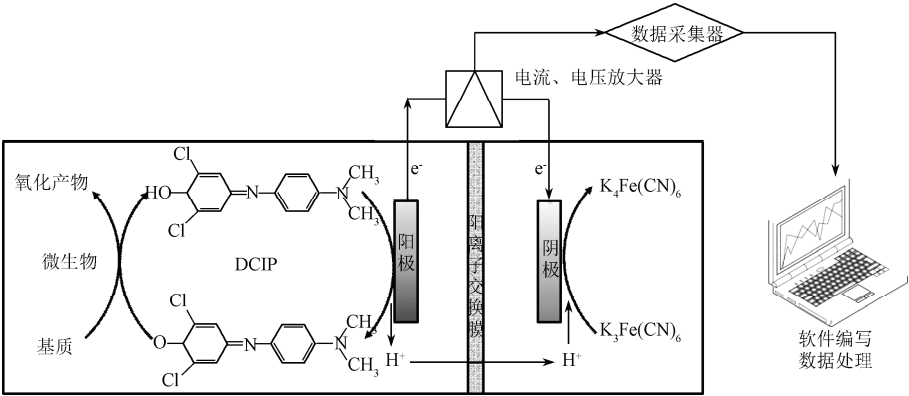


图 1 菌落总数测定装置原理图

Fig.1 Schematic diagram of measuring device on total aerobic bacterial count

1.2.6 菌落总数电化学检测步骤

对照：取 1.2.2 中制备的 1:10 g/mL 生鲜猪肉样品匀液 5 mL，经紫外辐射灭菌后，添加至 100 mL 阳极液体体系（50 mmol/L PBS, pH 值 7.0），混合均匀后，用电化学装置进行检测。

样品：取 1.2.2 中制备的 1:10 g/mL 生鲜猪肉样品匀液 5 mL，添加至 100 mL 阳极液体体系（50 mmol/L PBS, pH 值 7.0），混合均匀后，采用电化学装置进行检测。

1.2.7 电化学设备的优化

依据微生物呼吸链中的电子传递规律，采用生物原电池原理，搭建了检测生鲜猪肉中菌落总数的电化学设备，并采用 Labview 语言开发了包括数据采集和数据分析 2 个模块的设备终端软件。为提高电化学设备的检测限，降低检测时间，采用单因素分析法优化了微生物碳源（葡萄糖、乙酸钠^[22]）、阴极氧化剂（铁氰化钾、高锰酸钾、重铬酸钾^[23]）、信号放大剂（DCIP、中性红、亚甲基蓝^[24]），最佳反应体系为：阳极室终体系（50 mmol/L 磷酸缓冲液（pH 值 7.0）+30 mmol/L DCIP + 50 mmol/L 葡萄糖）；阴极室终体系（50 mmol/L 磷酸缓冲液（pH 值 7.0）+30 mmol/L K₃Fe(CN)₆）。

1.2.8 数据分析

数据分析采用 origin9.0 软件，样品显著性分析采用单向方差分析和邓肯多重比较法。

2 结果与分析

2.1 生鲜猪肉中菌落总数的一级模型建立

试验测得生鲜猪肉在 4、15、25、30 ℃ 条件下菌落总数的生长实测值，应用修正 Gompertz 模型^[12]对试验数据进行拟合（图 2），拟合的相关参数如表 1 所示，结果表明修正的 Gompertz 模型拟合生鲜猪肉的菌落总数动力学生长曲线效果较佳。

分别取不同温度下的初始菌落数和最大菌落数的平均值，带入公式（1），获得生鲜猪肉中菌落总数生长预测模型的一般方程

$$N_t = 3.8749 + 4.7973 \cdot \exp \{ - \exp [\mu_{\max} \cdot 0.5666 \cdot (Lag - t) + 1] \} . \quad (8)$$

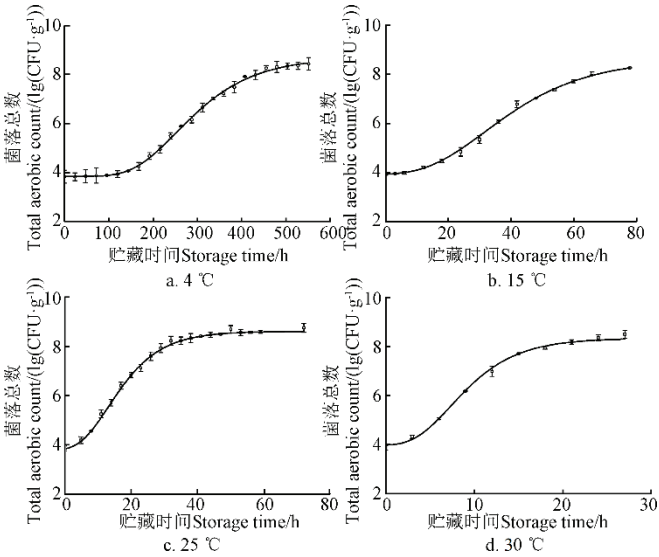


图 2 不同温度条件下生鲜猪肉菌落总数的动力学生长拟合曲线

Fig.2 Fitted growth curves of total bacteria in fresh pork at different temperatures

表 1 不同温度下生鲜猪肉中菌落总数的动力学生长曲线拟合参数

Table 1 Kinetic parameters of total aerobic bacterial count in fresh pork at different temperatures						
贮藏温度 Storage temperature /℃	初始菌落数 Initial aerobic/ lg(CFU·g ⁻¹)	最大菌落数 Maximum aerobic/ lg(CFU·g ⁻¹)	最大比 生长速率 Maximum specific growth rate/h ⁻¹	延滞时间 Lag time/h	决定系数 Determination coefficient R ²	
4	3.8493	8.6946	0.0182	155.4179	0.9954	
15	3.9104	8.6364	0.0940	13.1395	0.9990	
25	3.7726	8.6190	0.2434	4.5166	0.9993	
30	3.9674	8.7387	0.3887	3.2191	0.9964	

2.2 生鲜猪肉中菌落总数的二级模型建立

为获得温度对生鲜猪肉中菌落总数生长动力学的影响规律，采用平方根模型对 μ_{\max} 和 Lag 进行公式拟合，温度与 $\sqrt{\mu_{\max}}$ 和 $\sqrt{1/Lag}$ 呈良好的线性关系，拟合的方程如下

$$\sqrt{\mu_{\max}} = 0.0172 \cdot (T + 2.9070) \quad R^2 = 0.9852 , \quad (9)$$

$$\sqrt{1/Lag} = 0.0199 \cdot (T - 1.9296) \quad R^2 = 0.9986 . \quad (10)$$

2.3 生鲜肉中菌落总数预测模型的验证

根据二级模型的 2 个方程 (9) 和 (10)，求得 10 ℃ 条件下生鲜猪肉中菌落总数的动力学生长参数 μ_{\max} 和 Lag ，再将 μ_{\max} 和 Lag 带入公式 (8) 中，求得菌落总数在 10 ℃ 条件下的生长预测曲线。图 3 为生鲜猪肉中菌落总数的实测值与预测模型的预测值的比较，其预测方程的偏差度 (B_f) 和准确度 (A_f) 分别为 1.0542 和 1.1210。由此可知，预测值上下波动的幅度在 10% 左右，预测值和实测值的差异在 15% 以内，误差较低。残差平方和 (SSE) 和均方差误差 (RMSE) 分别为 $0.0646 \lg^2(\text{CFU/g})$ 和 $0.0898 \lg(\text{CFU/g})$ ，均小于 0.1，误差较小。说明采用这种方法建立的数学模型能很好的预测生鲜猪肉中菌落总数的生长情况。翁丽华等^[25]也采用该模型对肠杆菌在热鲜肉中的生长进行了预测，偏差度和准确度分别为 0.98、1.14；Tang 等^[26]建立的冷冻猪肉菌落总数的预测模型，其偏差度和准确度分别为 0.996 和 1.017。可见，选择适当的数学模型可以对微生物的生长情况进行准确的预测。

2.4 生鲜猪肉菌落总数与电化学的相关性曲线绘制

以生鲜猪肉均质后的匀浆液为样品，以自制电化学装置获得的最终稳定电压值为纵坐标，国标方法检测的菌落总数为横坐标绘制电压值与菌落总数的相关性曲

线。如图 4a 所示，样品的电压值与菌落总数线性相关，决定系数为 0.9998。同时由图 4b 可以看出，样品的检测时间为 20 min，检测限为 $2 \times 10^4 \text{ CFU/g}$ ，接近生鲜猪肉的初始菌落总数 $10^{3.87} \text{ CFU/g}$ ，远低于生鲜猪肉的致腐菌落总数 10^7 CFU/g 。Nishikawa 等^[27]制备的电化学检测系统，也采用 DCIP 作为信号放大剂，检测限为 10^4 CFU/g ；卢智远等^[28]采用色素还原试验法建立的电化学的检测设备，检测牛奶中细菌含量检测时间 10 min，检测限 10^3 CFU/mL 。由此可见，电化学方法参数的优化可提高微生物检测的灵敏度并减少检测时间。

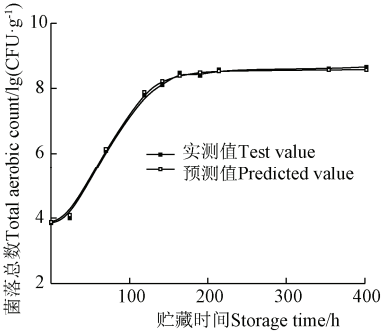


图 3 10 ℃ 贮藏温度下生鲜猪肉菌落总数的预测值和实测值
Fig.3 Predicted and observed growth curves of total bacteria in fresh pork at 10 ℃

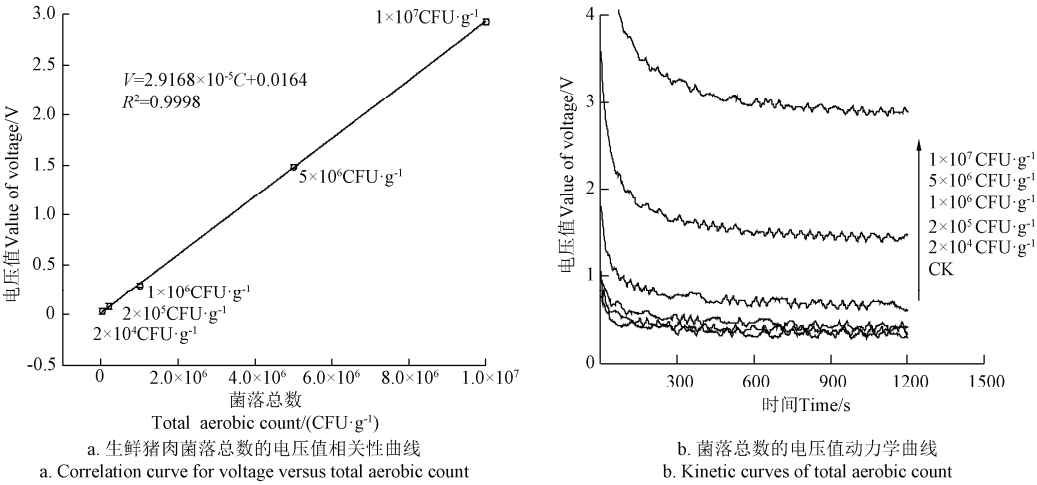


图 4 生鲜猪肉菌落总数的电压值相关性曲线及菌落总数的电压值动力学曲线
Fig.4 Correlation curve for voltage versus total aerobic count and kinetic curves of total aerobic count

2.5 生鲜猪肉剩余货架期的预测和验证

将均质后的生鲜猪肉匀浆液样品放入电化学检测设备的阳极室，测定最终稳定电压值，由电化学标准曲线

得出菌落总数。将菌落总数代入相应温度的菌落总数动力学生长曲线，获得该生鲜猪肉样品的已贮存时间，与总货架期的差值即为该样品在该温度下的剩余货架期。

表 2 10 ℃ 和 22 ℃ 生鲜猪肉剩余货架期的预测值和实测值
Table 2 Predicted and observed remaining shelf life of fresh pork at 10 ℃ and 22 ℃

贮藏温度 Storage temperature/℃	名称 Name	电压值 Value of voltage/V	菌落总数 Total aerobic count/(CFU·g ⁻¹)	已贮藏时间 Storage time/h	总货架期 Total shelf life/h	剩余货架期 Remaining shelf life/h	准确度 Accuracy factor	偏差度 Bias factor
10	预测值	0.066	161 599	52.42	88.55	36.13	1.04	0.96
	实测值		1.63×10^5	53.61	91.26	37.67		
22	预测值	0.035	516 360	10.49	21.18	10.69	1.03	0.97
	实测值		5.1×10^5	10.63	21.60	10.97		

由表 2 可知, 10 ℃ 和 22 ℃ 条件下, 由实测的菌落总数生长曲线获得的生鲜猪肉样品的剩余货架期分别为 37.67 h 和 10.97 h, 经电化学设备检测得到的预测剩余货架期分别为 36.13 h 和 10.69 h, 虽然预测的总货架期和已贮藏时间存在一定程度的偏差, 但剩余货架期的预测准确度分别为 1.04 和 1.03, 预测效果良好。计算得到 5~30 ℃ 电化学设备预测剩余货架期的准确度范围在 1.02~1.06 之间, 预测准确度较高, 因此该电化学快速检测设备可以较好的预测生鲜猪肉的剩余货架期。

3 结 论

1) 本研究以市售生鲜猪通脊肉为研究对象, 构建了适用于 4~30 ℃ 的生鲜猪肉中菌落总数动力学生长曲线预测模型, 决定系数 R^2 为 0.9954 以上, 通过对 10 ℃ 生鲜猪肉中菌落总数实测值与预测值的比较来评价该预测模型的稳定性和准确性, 结果表明, 其预测值的波动幅度在 10% 左右, 预测值与真实值的差异在 15% 以内, 预测效果良好。

2) 试制了快速检测生鲜猪肉中菌落总数的电化学设备, 并采用 Labview 编程语言开发了信号采集和数据分析软件。该设备检测时间为 20 min, 检出限为 2×10^4 CFU/g, 在 $2 \times 10^4 \sim 1 \times 10^7$ CFU/g 范围内与电压值线性相关。

3) 将生鲜猪肉的动力学生长曲线预测模型与菌落总数的电化学检测设备整合, 试制了操作简单、方便快速的检测生鲜猪肉剩余货架期的电化学设备, 可预测 4~30 ℃ 下生鲜猪肉的剩余货架期, 预测准确度为 1.02~1.06。本研究仅以同一品种市售的生鲜猪通脊肉为研究对象, 要实现对任一生鲜猪肉样品的准确预测, 需采用多品种多部位的生鲜猪肉对设备参数及预测模型进行修正和调整。

【参 考 文 献】

- [1] Bruckner S, Albrecht A, Petersen B, et al. A predictive shelf life model as a tool for the improvement of quality management in pork and poultry chains[J]. Food Control, 2013, 29(2): 451—460.
- [2] Frenzel L L, Harp R M, Lambert B D, et al. Effects on wet agine and temperature on Warner-Bratzler shear force, sensory characteristics, and microbial shelf-life of pork loin chops[J]. The Texas Journal of Agriculture and Natural Resources, 2014, 27: 24—35.
- [3] McMeekin T, Olley J, Ratkowsky D, et al. Predictive microbiology theory and application: Is it all about rates?[J]. Food Control, 2013, 29(2): 290—299.
- [4] Powell S, Ratkowsky D, Tamplin M. Predictive model for the growth of spoilage bacteria on modified atmosphere packaged Atlantic salmon produced in Australia[J]. Food microbiology, 2015, 47(5): 111—115.
- [5] Huang L. Optimization of a new mathematical model for bacterial growth[J]. Food Control, 2013, 32(1): 283—288.
- [6] Tsironi T, Dermesonlouoglou E, Giannakourou M, et al. Shelf life modelling of frozen shrimp at variable temperature conditions[J]. LWT-Food Science and Technology, 2009, 42(2): 664—671.
- [7] Lytton A, Panagou E Z, Nychas G-J E. Development of a predictive model for the growth kinetics of aerobic microbial population on pomegranate marinated chicken breast fillets under isothermal and dynamic temperature conditions[J]. Food Microbiology, 2016, 55(5): 25—31.
- [8] 李苗云, 孙灵霞, 周光宏, 等. 冷却猪肉不同贮藏温度的货架期预测模型[J]. 农业工程学报, 2008, 24(4): 235—239.
- [9] Li Miaoyun, Sun Lingxia, Zhou Guanghong, et al. Prediction model for the shelf-life of chilled pork stored at different temperatures[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2008, 24(4): 235—239. (in Chinese with English abstract)
- [9] 宋晨, 刘宝林, 王欣, 等. 冷冻羊肉剩余货架期预测模型研究[J]. 食品科学, 2010, 31(6): 279—282.
- [9] Song Chen, Liu Baolin, Wang Xin, et al. Modeling of remaining shelf-life prediction of frozen lamb[J]. Food Science, 2010, 31(6): 279—282. (in Chinese with English abstract)
- [10] Limbo S, Torri L, Sinelli N, et al. Evaluation and predictive modeling of shelf life of minced beef stored in high-oxygen modified atmosphere packaging at different temperatures[J]. Meat Science, 2010, 84(1): 129—136.
- [11] 何景, 程楠, 许文涛. 食品微生物新型快速筛查技术研究进展[J]. 食品科学, 2015, 36(13): 288—293.
- [11] He Jing, Cheng Nan, Xu Wentao. Development of new rapid screening technologies for microbes in food[J]. Food Science, 2015, 36(13): 288—293. (in Chinese with English abstract)
- [12] Braissant O, Bonkat G, Wirz D, et al. Microbial growth and isothermal microcalorimetry: growth models and their application to microcalorimetric data[J]. Thermochimica Acta, 2013, 555(10): 64—71.
- [13] Huang L. IPMP 2013—a comprehensive data analysis tool for predictive microbiology[J]. International Journal of Food Microbiology, 2014, 171(3): 100—107.
- [14] Fakruddin M, Mazumdar R M, Mannan K S B. Predictive microbiology: Modeling microbial responses in food[J]. Ceylon Journal of Science (Biological Sciences). 2012, 40(2): 121—131.
- [15] 王军, 董庆利, 丁甜. 预测微生物模型的评价方法[J]. 食品科学, 2011, 32(21): 268—272.
- [15] Wang Jun, Dong Qingli, Ding Tian. An overview of evaluation methods for predictive microbial growth models[J]. Food Science, 2011, 32(21): 268—272. (in Chinese with English abstract)
- [16] Martinez-Rios V, Ostergaard N B, Gkogka E, et al. Modelling and predicting growth of psychrotolerant pseudomonads in milk and cottage cheese[J]. International journal of food microbiology, 2016, 216(6): 110—120.
- [17] Mataragas M, Drosinos E, Vaidanis A, et al. Development of a predictive model for spoilage of cooked cured meat products and its validation under constant and dynamic temperature storage conditions[J]. Journal of Food Science, 2006, 71(6): 157—167.
- [18] Baranyi J, Csernus O, Beczner J. Error analysis in predictive modelling demonstrated on mould data[J]. International journal of food microbiology, 2014, 170(17): 78—82.
- [19] 谢晶, 张利平, 苏辉, 等. 上海青蔬菜的品质变化动力学模型及货架期预测[J]. 农业工程学报, 2013, 29(15): 271—278.
- [19] Xie Jing, Zhang Liping, Su Hui, et al. Quality kinetic model and shelf life prediction of green vegetable[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2013, 29(15): 271—278. (in Chinese with English abstract)
- [20] Nychas G-J E, Skandamis P N, Tassou C C, et al. Meat spoilage during distribution[J]. Meat Science, 2008, 78(1): 77—89.
- [21] 熊丹萍, 刘超群, 王宏勋. 不同冷鲜猪肉产品菌相组成比

- 较[J]. 肉类研究, 2012, 26(8): 35—38.
- Xiong Danping, Liu Chaoqun, Wang Hongxun. Comparison of bacterial flora composition in chilled pork products from different body parts[J]. Meat Research, 2012, 26(8): 35—38. (in Chinese with English abstract)
- [22] Ikeda T, Kano K. An electrochemical approach to the studies of biological redox reactions and their applications to biosensors, bioreactors, and biofuel cells[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2001, 92(1): 9—18.
- [23] 谷玺, 田兴军. 阴极电子受体对微生物燃料电池性能的影响[J]. 可再生能源, 2012, 30(3): 92—96.
- Gu Xi, Tian Xingjun. Effect of cathode electron acceptor on the performance of microbial fuel cells[J]. Renewable Energy Resources, 2012, 30(3): 92—96. (in Chinese with English abstract)
- [24] Wang H, Ren Z J. A comprehensive review of microbial electrochemical systems as a platform technology[J]. Biotechnology Advances, 2013, 31(8): 1796—1807.
- [25] 翁丽华, 徐幸莲, 周光宏, 等. 肠杆菌科细菌在热鲜肉上生长预测模型的建立与验证[J]. 南京农业大学学报, 2013, 36(1): 125—130.
- Wen Lihua, Xu Xinglian, Zhou Guanghong, et al. Establishment and verification of predictive growth model of enterobacteriaceae in hot-boned pork[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2013, 36(1): 125—130. (in Chinese with English abstract)
- [26] Tang X, Sun X, Wu V C, et al. Predicting shelf-life of chilled pork sold in China[J]. Food Control, 2013, 32(1): 334—340.
- [27] Naishikawa S, Sakai S, Karube L, et al. Dye-coupled electrode system for the rapid determination of cell populations in polluted water[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1982, 43(4): 814—818.
- [28] 卢智远, 牛中奇, 刘启, 等. 一种微生物检测的生物电化学方法研究[J]. 传感技术学报, 2006, 18(3): 481—483.
- Lu Zhiyuan, Niu Zhongqi, Liu Qi, et al. A study on bio-electrochemical method for microbial detection[J]. Chinese Journal of Sensors and Actuators, 2006, 18(3): 481—483. (in Chinese with English abstract)

Design and experiment of electrochemical device for quickly predicting remaining shelf life on fresh pork

Liu Fei, Li Wencai, Tian Hanyou, Zou Hao, Wang Hui, Li Jiapeng, Chen Wenhua, Qiao Xiaoling^{*}

(1. China Meat Research Center, Beijing 100068, China; 2. Beijing Key Laboratory of Meat Processing Technology, Beijing 100068, China; 3. Beijing Academy of Food Sciences, Beijing 100068, China)

Abstract: Fresh pork is popular due to its nutrient and good taste, and also one of the most important meat consumed. As the remaining shelf life is short, it is important for producers and retailers to evaluate the freshness and remaining shelf life of fresh pork under the storage temperature. Rapid detection on bacteria of fresh pork is required urgently. The rapid and accurate electrochemical detection are getting more and more concern. The purpose of this paper was to design and develop the device for predicting the remaining shelf life of fresh pork, which was combined with the prediction model of microbial growth and based on the electron transfer of microbial respiration and the principles of primary battery. And the signal acquisition and data analysis software of the device was developed with LabVIEW programming language. The dynamic growth model of total aerobic count was established and verified. The results indicated that the modified Gompertz model could well describe the growth of total aerobic count in fresh pork, and the coefficient of determination was 0.9954. The regression of Belehradek model finely described the effect of temperature on the maximum specific growth rate and the lag phase. The validation of the built model was carried out by comparing the actual and predicted growth curves of total aerobic count in fresh pork at 10 and 22 °C, respectively. By calculating bias factor and accuracy factor, we found that the established model had high reliability and could predict the growth of total aerobic count in fresh pork in the range of temperature from 4 to 30 °C effectively. The electrode was constructed from platinum anode and cathode, and a proton exchange membrane filter was used for retaining the microbes and balancing the charge. The procedure of electrochemical signal from total aerobic count in fresh pork included 3 parts. Electron generated from oxidation of substrate was transmitted to the extracellular space by cytochrome C on cell membrane, then the electrochemical signal was amplified by electron shuttles from the exogenous, and finally it was delivered to Pt electrode. Samples containing microbes were attached to the surface of a platinum anode. The electrode was immersed in phosphate buffer solution (50 mmol/L, pH value of 7.0) containing a redox dye (2,4-dichlorophenolindophenol), and the voltage generated was measured. The software combined with the established growth model of total aerobic count was developed by LabVIEW for predicting the remaining shelf life of fresh pork. The response time of the electrochemical device was 20 min, and the voltage generated was proportional to total aerobic count above 10⁴ CFU/g. The accuracy factor of predicting the remaining shelf life of fresh pork was between 1.02 and 1.06. The accuracy factor at 10 and 22 °C was 1.04 and 1.03, respectively. But the sensitivity and accuracy of the predicted remaining shelf life between 10⁴ and 10⁵ CFU/g needed further improvement. As this study only focuses on one part of pork, to achieve an accurate prediction of any part of fresh pork sample, the parameters of device and the prediction models should be adjusted with more varieties of fresh pork portion.

Keywords: models; storage; forecasting; fresh pork; remaining shelf life; total aerobic count; electrochemical; quickly detecting