

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2024.81202

姜精油纳米乳处理对 4 °C 冷鲜猪肉保鲜及菌群变化的影响

李欣蔚 陈沛航 林碧敏 苗建银

(华南农业大学食品学院广东省功能食品活性物重点实验室, 广东 广州 510642)

摘要: [目的] 研究姜精油纳米乳作为猪肉天然保鲜剂的保鲜效果。[方法] 采用质量分数 1.5% 的姜精油纳米乳处理猪里脊肉, 分析 4 °C 下猪里脊肉的感官、理化和微生物指标变化, 并采用高通量测序技术, 分析贮藏期间猪肉的菌群变化。[结果] 经姜精油纳米乳处理的猪肉的 pH 值、挥发性盐基氮和丙二醛含量在不同时间段均显著低于经无菌水处理的对照组 ($P < 0.05$), 显示出良好的保鲜效果, 里脊肉的货架期延长了 6 d。姜精油纳米乳能有效降低微生物丰富度及多样性, 并抑制巨大球菌属 (*Macrocococcus*) 和热杀索丝菌属 (*Brochothrix*) 等腐败菌, 延缓猪肉腐败。[结论] 姜精油纳米乳可作为天然保鲜剂有效抑制腐败菌生长, 抑制猪肉蛋白质降解及脂质氧化, 并改善感官品质, 延长猪肉制品货架期。
关键词: 姜精油纳米乳; 保鲜; 冷鲜猪肉; 货架期; 高通量测序; 菌群变化

Effect of ginger essential oil nanoemulsion treatment on preservation quality and microbial changes of chilled pork at 4 °C

LI Xinwei CHEN Peihang LIN Bimin MIAO Jianyin

(Guangdong Provincial Key Laboratory of Nutraceuticals and Functional Foods, College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China)

Abstract: [Objective] To analyze the preservation effect of ginger essential oil nanoemulsion as a natural preservative for pork. [Methods] Pork tenderloin was treated with 1.5% (w/w) ginger essential oil nanoemulsion. Changes in sensory, physicochemical, and microbiological indexes of the pork were analyzed during storage at 4 °C. High-throughput sequencing technology was applied to analyze changes in the pork microflora during storage. [Results] The pH value, volatile basic nitrogen, and malondialdehyde content of pork treated with ginger essential oil nanoemulsion were significantly lower than those of the control group treated with sterile water at different time points ($P < 0.05$), showing good preservation effects and extending the shelf life of pork tenderloin by 6 days. The nanoemulsion effectively reduced microbial abundance and diversity and inhibited spoilage bacteria such as *Macrocococcus* and *Brochothrix*, thereby delaying pork spoilage. [Conclusion] Ginger essential oil nanoemulsion can serve as a natural preservative that effectively inhibits spoilage bacteria growth, reduces protein degradation and lipid oxidation in pork, improves sensory quality, and extends the shelf life of pork products.
Keywords: ginger essential oil nanoemulsion; preservation; chilled pork; shelf life; high-throughput sequencing; microflora changes

肉类是蛋白质等必需营养素的重要食物来源, 其中冷鲜猪肉因味道鲜美和高营养价值成为广泛受欢迎的肉类消费品之一^[1]。虽然 4 °C 的低温冷藏具有一定保鲜作

用, 但仍无法完全抑制微生物的生长繁殖和部分氧化酶的活性, 因此冷鲜肉在贮藏期间会出现肉的品质下降或腐败的情况, 影响产品货架期^[2]。肉类的腐败变质不仅影

基金项目: 广东省自然科学基金项目 (编号: 2023A1515010006); 广东省驻镇帮镇扶村农村科技特派员项目 (编号: 粤科质字 [2022]9 号)

通信作者: 苗建银 (1981—), 男, 华南农业大学副教授, 博士。E-mail: miaojy8181@scau.edu.cn

收稿日期: 2024-11-24 改回日期: 2025-06-20

引用格式: 李欣蔚, 陈沛航, 林碧敏, 等. 姜精油纳米乳处理对 4 °C 冷鲜猪肉保鲜及菌群变化的影响[J]. 食品与机械, 2025, 41(9): 107-115.

Citation: LI Xinwei, CHEN Peihang, LIN Bimin, et al. Effect of ginger essential oil nanoemulsion treatment on preservation quality and microbial changes of chilled pork at 4 °C[J]. Food & Machinery, 2025, 41(9): 107-115.

响生产者的利益,也会对消费者的健康构成威胁^[3],因此研究冷鲜肉的保鲜方法进而延长货架期具有重要意义。如今常用于肉类保鲜的物理方法如真空包装和气调保鲜等,虽在肉类保鲜的发展进程中发挥重要作用,但可能存在影响产品外观、气体比例控制不当等缺点^[4]。此外,常见的化学保鲜剂如山梨酸、山梨酸钾等,能够抑制腐败菌的生长,但其具有潜在毒性^[5],且随着时代发展,消费者更多关注和追求绿色健康的高质量食品,所以天然保鲜剂的研究应用日益增加。

植物精油是植物中带有芳香气味的次生代谢物,提取于植物的根、茎、叶、花、果。精油中含有酚类、酯类和萜烯等活性化合物,能够使精油具有抗菌活性^[6]。Wei 等^[7]发现,百里香精油能够有效抑制大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的生长,含有百里香精油微乳液的普鲁兰多糖—海藻酸钠膜对冷鲜猪肉具有良好保鲜作用。目前研究报道^[8]较多的有牛至精油、百里香精油、肉桂精油和丁香精油,而且可结合胶囊、薄膜或包埋的方式,对果蔬和肉类等进行保鲜。此外,精油中含有的酚类和萜烯在抗氧化活性上也发挥重要作用,能够以贡献酚类氢原子的方式有效地去除自由基^[9]。由于精油的水溶性差,化学与结构稳定性差且对光、热和氧气敏感,所以通过乳化将其分散成小颗粒,均匀分散至水中,减少精油的特有气味对食品感官特性的改变,以及降低对消费者接受度的影响,同时提高精油的稳定性及其功能活性。Zou 等^[6]的研究结果表明,柠檬精油的纳米乳液对猪肉的保鲜效果优于未乳化的柠檬精油。

生姜是常用的香料之一,其精油含有 α -姜烯、 β -倍半萜和蒾烯等化合物。目前关于姜精油的研究主要集中于化妆品和药理学上的抗氧化、抗炎作用,以及通过包装薄膜、涂层的方式应用于食品的保鲜^[10],而姜精油纳米乳对冷鲜猪肉的保鲜及贮藏过程的菌群变化情况尚未明确。贮藏期间猪肉的微生物多样性会随时间延长而变化,采用高通量测序技术能对 DNA 分子序列进行测定,进而分析食品中菌群变化情况。该项技术也称为第二代测序技术,具有高通量、高效率及高精度的特点,在食品保鲜效果研究^[11]、肠道微生物菌群^[12]、土壤菌群分析^[13]和角膜疾病研究^[14]等领域也得到广泛应用。

研究拟以新鲜猪里脊肉为原料,探索姜精油纳米乳对冷鲜猪肉的保鲜作用,并采用高通量测序技术进一步分析贮藏期间的菌群动态变化,旨在为延长冷鲜猪肉货架期及姜精油的保鲜应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜猪里脊肉:市售;

干姜粉(小黄姜):连山壮瑶缘农业发展有限公司;
姜精油:课题组采用低温连续相变设备利用丁烷提取;
葡萄糖:生化试剂,汕头市光华化工厂;
琼脂:生化试剂,广东环凯生物科技有限公司;
甲基红、溴甲酚绿:分析纯,沈阳市试剂三厂;
E. Z. N. A™ Mag-Bind Soil DNA Kit 试剂盒:美国 OMEGA 公司;
Qubit4.0 DNA HS 分析试剂盒:美国 ThermoFisher 公司;
其他化学品和试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

pH 计:PHS-2C 型,上海三信仪表厂;
电热恒温培养箱:DH5000B II 型,天津泰斯特仪器有限公司;
光栅型酶标仪:VersaMax 型,美国 Molecular Devices 公司;
烘箱:DH9-9245A 型,广州市深华生物技术有限公司;
电泳槽:DYCZ-21 型,北京市六一仪器厂;
凝胶成像系统:FR-1000 型,上海复日科技有限公司;
PCR 仪:ETC 811 型,北京东胜创新生物科技有限公司;
均质机:T18 型,德国 IKA 公司;
台式低速自动平衡离心机:L530 型,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;
超声细胞破碎仪:JY92-IIID 型,宁波新芝生物科技股份有限公司。

1.3 方法

1.3.1 姜精油纳米乳的制备 参照 Noori 等^[15]的方法,按 $m_{吐温80}:m_{姜精油}=1:3$ 的添加量,将姜精油和吐温 80 加入无菌水中,在 10 000 r/min 下均质 2 min 形成粗乳液。将粗乳液置于超声细胞破碎仪中进行超声处理,处理条件:功率 350 W,超声时间 3 s,暂停时间 3 s,总时间 12 min。超声过程中冰浴以减少发热,最后得到质量分数 1.5% 的姜精油纳米乳于 4℃ 下贮藏备用。

1.3.2 猪里脊肉的处理 新鲜猪里脊肉在超净工作台用无菌水清洗干净,切成约 5 g 的均匀的方形肉片。肉片在姜精油纳米乳中浸泡 5 min 后沥干 5 min,随后放入无菌塑料培养皿中,4℃ 保存。以无菌水浸泡 5 min 的肉片为对照组,每 3 d 测定肉片的感官、菌落总数、理化指标。

1.3.3 感官评价 参照张萌萌等^[16]的方法,采用感官评分法对猪里脊肉的色泽、气味、质地、黏度进行评价。样品在室温放置 10 min 后,由 5 名经过培训的食品专业人员依据评分标准对样品进行评定,以 40 分为满分。感官评分标准见表 1。

表1 感官评分标准

Table 1 Criteria for sensory evaluation

评价指标	描述	评分
色泽	肉色鲜红,有光泽	9.0~10.0
	肉色较鲜红,有光泽	7.0~8.9
	肉色粉红,光泽淡	5.0~6.9
	肉色呈灰白或灰暗,无光泽	3.0~4.9
	肉色呈暗褐色	0.0~2.9
气味	有猪肉特有气味,无姜精油气味,无其他异味	9.0~10.0
	有猪肉气味,姜精油气味,无其他异味	7.0~8.9
	有猪肉气味,姜精油气味淡	5.0~6.9
	有腐败味	3.0~4.9
	有强烈腐败味道	0.0~2.9
质地	质地紧密,弹性好,用指按压后凹陷立即恢复	9.0~10.0
	质地紧密,弹性较好,按压后凹陷稍后恢复	7.0~8.9
	弹性一般,按压后凹陷恢复缓慢	5.0~6.9
	无弹性,按压后凹陷不恢复	3.0~4.9
	弹性丧失,按压后有明显凹陷	0.0~2.9
黏度	不粘手	9.0~10.0
	较不粘手	7.0~8.9
	较粘手	5.0~6.9
	粘手	3.0~4.9
	很粘手	0.0~2.9

1.3.4 pH值的测定 参照GB 5009.237—2016。取5 g样品研磨后加入45 mL蒸馏水中,浸泡30 min后取上清液测量pH值。

1.3.5 丙二醛(MDA)含量的测定 参照GB 5009.181—2016。取5 g样品研磨后准确加入25 mL质量分数7.5%三氯乙酸和0.1% EDTA-2Na溶液中,在50℃下振荡提取30 min,用定量滤纸过滤2次。取5 mL滤液与5 mL 0.02 mol/L 2-巯代巴比妥酸混合,90℃水浴30 min,冷却后测定532 nm处的吸光值。同时做试剂空白。使用浓度范围0.01~0.25 μg/mL的1,1,3,3-四甲氧基丙烷测定并绘制标准曲线($Y=0.9577X+0.0459$, $R^2=0.9932$)。

1.3.6 挥发性盐基氮(TVB-N)的测定 参照GB 5009.228—2016。取5 g样品研磨后加入25 mL蒸馏水浸泡30 min,然后以4 000 r/min离心20 min,取上清液备用。1 g/L的甲基红乙醇溶液和溴甲酚绿乙醇溶液按 $V_{\text{甲基红乙醇溶液}}:V_{\text{溴甲酚绿乙醇溶液}}=1:5$ 的比例混合作为混合指示剂备用。取凡士林涂于扩散皿边缘,在皿内室加入20 g/L的硼酸溶液1 mL及1滴混合指示剂,在皿外室加入1 mL滤液,盖上磨砂玻璃盖,使其与扩散皿边缘仅留能插入移液器枪头的缝隙。从缝隙处加入1 mL饱和碳酸钾溶液,

立刻平推磨砂玻璃盖密封,以圆周运动方式转动扩散皿,混匀滤液和饱和碳酸钾溶液。37℃恒温箱中反应2 h,放凉至室温后用0.005 mol/L盐酸标准溶液滴定,溶液变为紫红色时即为终点。同时做试剂空白。

1.3.7 色差的测定 取5 g样品随机选取3个点,用色差仪测定肉样的L值(亮度)、a值(红/绿色)、b值(黄/蓝色)。

1.3.8 菌落总数的测定 参照GB 4789.2—2022。在无菌条件下取5 g样品,研磨后加入45 mL无菌生理盐水,37℃振荡30 min。连续10倍梯度稀释,选取3个合适的稀释度的菌液100 μL在PCA培养基上进行涂布。37℃恒温培养箱中培养24 h后计算得菌落总数。

1.3.9 应用高通量测序研究菌群变化 根据E.Z.N. ATMMag-Bind Soil DNA Kit试剂盒的使用说明书进行DNA提取,琼脂糖凝胶检测DNA完整性。利用Qubit3.0DNA检测试剂盒对基因组DNA精确定量,以确定PCR反应需加入的DNA量。然后,用通用引物314F和805R进行16S rDNA的V3~V4区的PCR扩增(314F: CCTACGGGNGGCWGCAG; 805R: GACTACHVGGGTA TCTAATCC)。PCR产物选用0.6倍的磁珠处理进行DNA的纯化回收,利用Qubit4.0DNA检测试剂盒对回收的DNA精确定量,以方便不同样本的DNA等浓度混合,之后使用Illumina MiSeq平台对最终微生物DNA进行测序。分析群落OTU数目、Alpha多样性及微生物群落结构。

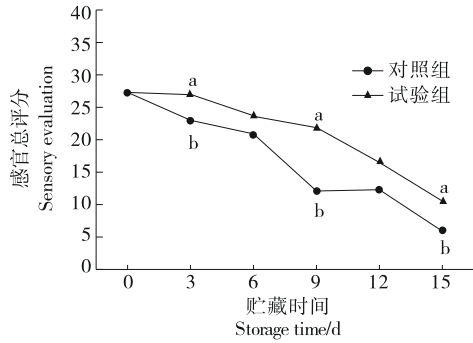
1.4 数据分析

试验均设置3组平行,统计图由Excel 2019和OriginPro 2025软件完成,试验结果用IBM SPSS Statistics 27软件对数据进行显著性差异分析。

2 结果与分析

2.1 感官评价

由图1可知,两组样品的感官评分随贮藏时间的延长而降低,贮藏3 d之后试验组的感官评分均优于对照组,说明姜精油纳米乳能够有效维持猪肉的感官品质。贮藏期间随着时间延长,微生物大量生长繁殖促进了蛋白质降解,由此产生了氨味等臭味,同时脂质氧化酸败产生的醛类物质引起腐败味,并且肉的凝胶特性发生改变,保水性也有所下降,所以猪肉的外观、气味和质地等不断劣变造成感官评分逐渐降低^[17]。贮藏第15天,试验组的感官评分显著优于对照组($P<0.05$)。贮藏开始时样品的感官评分偏低,可能是样品处理对其初始色泽、黏度等感官品质造成一定的影响,但并不影响整体试验结果。试验结果表明,姜精油纳米乳能够延缓猪肉感官品质劣变,有助于延长货架期。



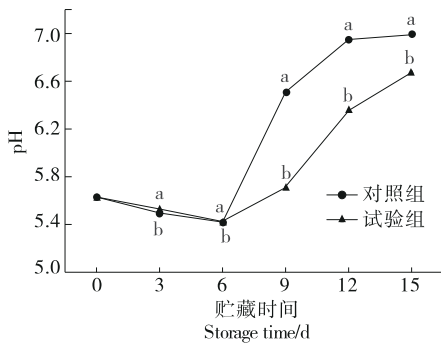
小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 1 贮藏期冷鲜猪肉感官评分

Figure 1 Sensory evaluation of chilled pork during storage

2.2 pH 值的变化

pH 值是判断肉类新鲜度的重要指标之一,通常 pH 值为 5.8~6.2 的为一级鲜肉, pH 值为 6.3~6.6 的为次级鲜肉, pH 值为 6.7 以上的为腐败肉^[18]。贮藏初期猪肉中糖原酵解与乳酸菌代谢产生乳酸, ATP 分解释放磷酸使 pH 值降低, 之后随着贮藏时间延长, 因微生物作用及蛋白质降解积累了碱性含氮物质, pH 值逐渐上升^[19]。由图 2 可知, 试验组与对照组在贮藏期间 pH 值均呈先下降再上升的趋势, 贮藏第 6 天, 两组样品的 pH 值均达最低值(对照组 pH 值 5.42, 试验组 pH 值 5.43); 贮藏 6 d 后对照组 pH 值均显著大于试验组 ($P < 0.05$), 说明姜精油纳米乳有效抑制了蛋白质的降解, 从而延缓冷鲜猪肉 pH 值上升。侯坤等^[20]的研究结果也表明, 不同浓度的孜然精油能够延缓冷却肉 pH 值的升高。贮藏第 9 天, 与试验组 (pH 值 5.71) 相比较, 对照组已属于次级鲜肉的标准 (pH 值 6.51)。贮藏第 12 天, 对照组 pH 值为 6.95, 达到腐败标准, 而试验组 pH 值为 6.36, 仍为次级鲜肉。贮藏第 15 天, 试验组 pH 值才接近腐败肉标准 (pH 值 6.68)。由此说明姜精油纳米乳能够有效抑制猪里脊肉在贮藏后期 pH 值的上升, 达到延缓



小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

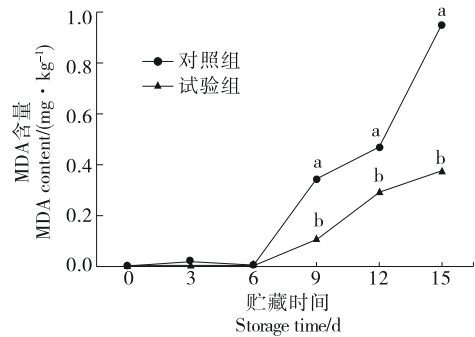
图 2 贮藏期冷鲜猪肉 pH 值变化

Figure 2 Changes in pH value of chilled pork during storage

腐败的效果。

2.3 丙二醛含量的变化

如图 3 所示, 姜精油纳米乳对丙二醛的生成具有显著抑制作用。贮藏 0~6 d 时两组样品 MDA 含量均处于较低水平且结果无显著差异, 可能是由于猪里脊肉脂肪含量低, 且脂质初级氧化生成的氢过氧化物还未大量分解^[21]。随着贮藏时间延长, MDA 含量均有所增加, 贮藏第 15 天, 对照组达到最高值 (0.95 mg/kg) 且显著高于试验组的 ($P < 0.05$), 表明姜精油纳米乳在贮藏过程中对猪里脊肉脂质氧化的抑制作用, 能够显著减少贮藏后期 MDA 含量的上升。Sun 等^[22]的研究也有类似发现, 并且该研究中猪肉贮藏后期的 MDA 含量同样均未超过 1.00 mg/kg。由此可见姜精油纳米乳具有良好的保鲜效果。



小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 3 贮藏期冷鲜猪肉 MDA 含量变化

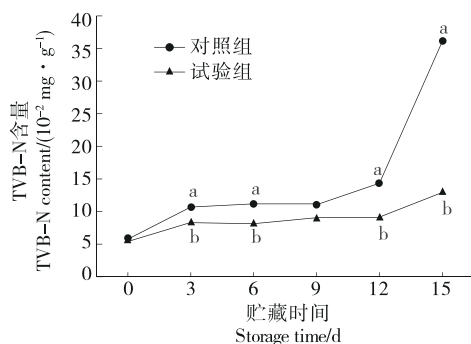
Figure 3 Changes in MDA content of chilled pork during storage

2.4 挥发性盐基氮含量的变化

如图 4 所示, 在贮藏期间 TVB-N 含量整体呈增大趋势。在贮藏前期 TVB-N 含量上升幅度小, 而后期由于大量微生物增殖使蛋白质分解加快, 增大了两组样品的差距。对照组的 TVB-N 含量在后期迅速升高且显著高于试验组 ($P < 0.05$), 并在第 15 天严重超过标准(依据 NY/T 632—2002《冷却猪肉》, 新鲜冷却猪肉的 TVB-N 含量不应超过 15 mg/100 g), 达到最大值 36.11 mg/100 g, 而试验组此时 (12.93 mg/100 g) 仍未超过标准。推测姜精油纳米乳可能通过抑菌作用间接抑制蛋白质的分解, 从而延缓 TVB-N 含量的增加。此外, 贮藏过程中 TVB-N 含量的增加可以解释上述 pH 值的升高。

2.5 色差的变化

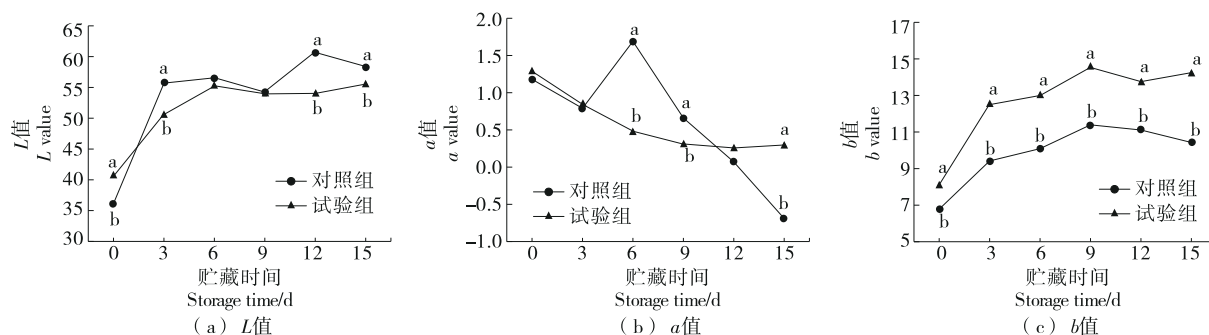
如图 5 所示, 贮藏期间两组样品的 L 值与 b 值整体呈上升趋势, 即亮度降低、黄色增强, a 值(红色度)整体呈下降趋势, 与 Xiong 等^[19]的研究结果相符。颜色变化主要与肌肉组织中肌红蛋白亚铁离子的氧化有关, 也与贮藏



小写字母不同表示差异显著($P < 0.05$)

图4 贮藏期冷鲜猪肉TVB-N含量变化

Figure 4 Changes in TVB-N content of chilled pork during storage



小写字母不同表示差异显著($P < 0.05$)

图5 贮藏期冷鲜猪肉色差变化

Figure 5 Color difference of chilled pork during storage

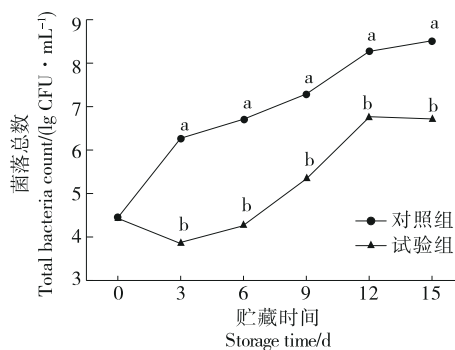
2.6 菌落总数的变化

如图6所示,两组样品的菌落总数整体呈增加的趋势,并且对照组的菌落总数均显著高于试验组($P < 0.05$),表明姜精油纳米乳在贮藏期间显著抑制了微生物的生长,延缓猪肉腐败。其原因可能是精油纳米乳液能够附着在细胞膜表面,通过精油的疏水分子改变磷脂双分子层或干扰转运蛋白进而破坏细胞膜的通透性,造成细胞内容物泄漏,影响细胞的正常生理活动,导致细胞死亡从而达到抑菌效果^[24]。对照组贮藏第3天的菌落总数为6.27 lg(CFU/mL),超过腐败标准(依据NY/T 632—2002《冷却猪肉》,冷却猪肉的菌落总数超过 10^6 CFU/g即为腐败),而试验组贮藏12 d[6.77 lg(CFU/mL)]才超过腐败标准,延缓了猪里脊肉的腐败变质,货架期延长了6 d。李玉邯等^[25]研究表明,丁香精油具有一定的抑菌性能,利用丁香精油浸渍酱牛肉,可使其货架期延长5 d以上。由此可见姜精油纳米乳对冷鲜猪肉中的微生物具有优秀的抑制作用。

2.7 应用高通量测序研究菌群变化

2.7.1 样品OTU数目分析 在97%相似水平下通过聚类

过程中乳酸菌产生的过氧化氢积累有关^[23]。试验组L值在第15天出现最大值(55.59),对照组则在第12天达到最大值(60.69),之后虽有所下降但仍显著高于试验组($P < 0.05$)。总体上对照组的亮度更低,且在贮藏后期变化幅度更大。对照组的红度(a值)在第15天达到最低值(-0.69),说明此时的猪里脊肉已严重褐变,而试验组a值为0.30,且在贮藏后期趋于稳定,与对照组具有显著差异($P < 0.05$),原因可能是姜精油纳米乳具有抗氧化作用,能有效加强试验组样品红度的稳定性。此外,因为姜精油纳米乳本身具有黄色,贮藏期间试验组的黄度(b值)均显著高于对照组($P < 0.05$)。以上结果表明,姜精油纳米乳能够在一定程度上维持猪肉颜色稳定,具有保护色泽的作用。



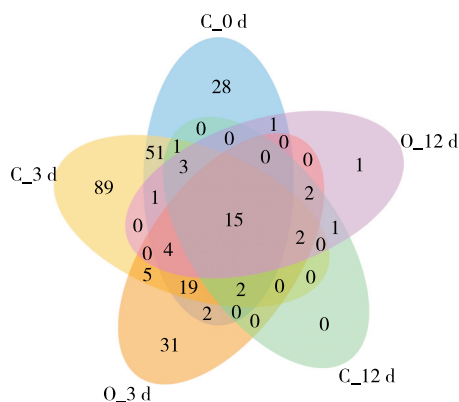
小写字母不同表示差异显著($P < 0.05$)

图6 贮藏期冷鲜猪肉菌落总数变化

Figure 6 Changes in total bacteria count of chilled pork during storage

操作对序列进行OTU划分。以Venn图来分析共有的和独有的OTU数目,直观展现不同样品的OTU数目及其组成相似性和重叠情况。由图7可知,整个贮藏过程中各样品共有的OTU为15个。其中在贮藏第3天,对照组独有OTU数目为89个,远高于试验组(31个),说明姜精油纳米乳具有一定抗菌作用,能够抑制某些微生物生长,而对

对照组中多种微生物大量生长繁殖导致猪肉腐败。贮藏第 12 天,对照组和试验组独有的物种数量均下降至最少(0 和 1 个),由此表明优势腐败菌在贮藏后期竞争性生长,降低了物种丰富度。



C_0 d、C_3 d、C_12 d 分别为对照组贮藏 0、3、12 d 的样品;O_3 d、O_12 d 分别为试验组贮藏 3、12 d 的样品

图 7 冷鲜猪肉 OTU 数目的 Venn 图

Figure 7 Venn diagram of OTU number of chilled pork

2.7.2 Alpha 多样性分析 由表 2 可知,5 个样品的 Coverage 值均高于 0.99 表明测序结果能够真实反映样品情况。贮藏第 12 天,对照组和试验组的 Chao 1 值和 Ace 值均达到最小值,说明猪肉样品在贮藏后期微生物丰富度下降。物种丰富度变化趋势与 OTU 数目分析相似,并且估计值均大于 OTU 数目,说明可能存在小部分的额外微生物种类未被检出^[23]。对照组 Shannon 值随贮藏时间先增大再减小,Simpson 值先减小再增大,表明群落多样性在贮藏期间先升高再降低,可能是因为除了优势菌以外,其他微生物也都在大量生长繁殖,而后期优势腐败菌竞争性生长降低了细菌的多样性^[26]。与此不同的是,试验组的 Shannon 值随贮藏时间而逐渐减小且小于对照组,可见贮藏期间对姜精油敏感的细菌可能受到抑制,而优势腐败菌在贮藏过程中大量繁殖生长。试验组的群落多样性随时间延长而降低,且姜精油纳米乳降低了冷鲜猪肉贮藏期间菌群的多样性。

2.7.3 微生物群落结构组成分析 猪肉样品在贮藏过程中微生物群落结构在门水平的变化如图 8(a)所示,贮藏期间的微生物主要是变形菌门(Proteobacteria)和厚壁菌门(Firmicutes),与 Xu 等^[27]的研究结果相类似。贮藏第 3 天,对照组厚壁菌门(69.38%)占据优势,变形菌门占比 15.76%,拟杆菌门(Bacteroidetes, 5.33%)和放线菌门(Actinobacteria, 4.20%)的相对丰度较小。经姜精油纳米乳处理的猪肉样品能够明显减少厚壁菌门,在贮藏过程中变形菌门始终是试验组的优势菌门,且其相对丰度随

表 2 Alpha 多样性分析[†]

Table 2 Alpha diversity analysis

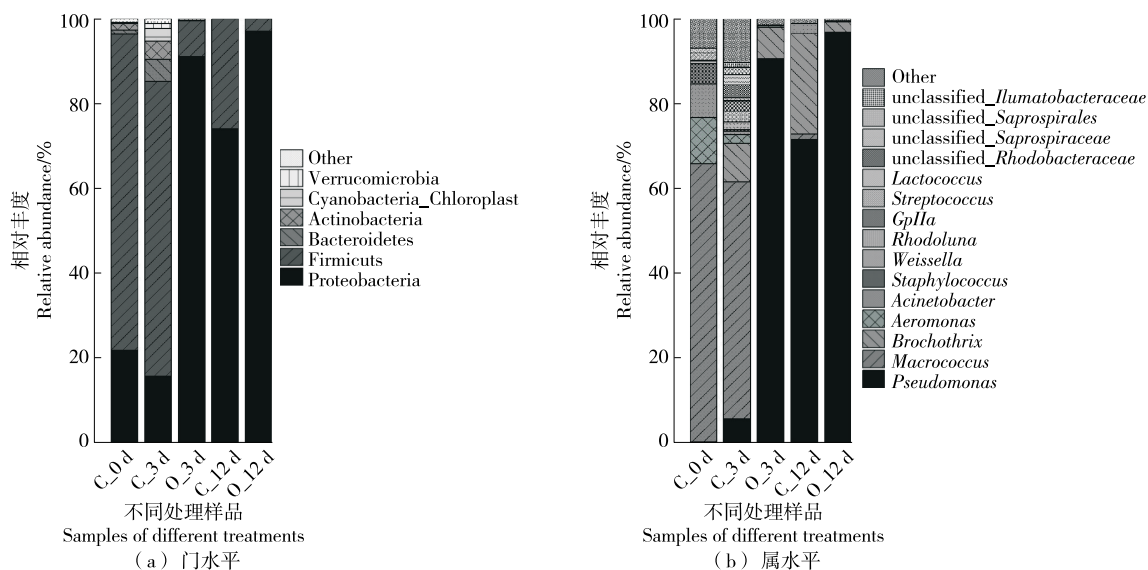
样品	OTU 数目	Shannon 值	Simpson 值	Chao 1 值	Ace 值	Coverage 值
C_0 d	132	1.49	0.50	140.89	144.45	0.999
C_3 d	165	1.81	0.43	176.71	179.31	0.999
O_3 d	72	1.37	0.32	82.04	81.63	1.000
C_12 d	29	1.22	0.46	34.07	65.89	1.000
O_12 d	30	0.81	0.59	36.25	44.26	1.000

[†] C_0 d、C_3 d、C_12 d 分别为对照组贮藏 0、3、12 d 的样品;O_3 d、O_12 d 分别为试验组贮藏 3、12 d 的样品。

贮藏时间延长而增加,占比由 90.99% 提高至 97.02%。与贮藏前期相比,后期对照组的厚壁菌门相对丰度大幅度减少,优势菌门也变为变形菌门(74.00%)。变形菌门是细菌门中最大的一门,所有的变形菌门均为革兰氏阴性菌,厚壁菌门为革兰氏阳性菌,由此可见猪肉贮藏过程更适合革兰氏阴性菌生长。由于革兰氏阴性菌的细胞壁还含有由脂多糖组成的外膜,其渗透性屏蔽作用能减少细菌对生物活性物的吸收,所以姜精油纳米乳对革兰氏阳性菌具有更大的抑菌活性^[15]。

图 8(b)显示的是猪肉样品在贮藏过程中微生物群落在属水平的变化情况。贮藏第 0 天,对照组优势菌为巨大球菌属(*Macrococcus*, 65.65%),其他菌主要是气单胞菌属(*Aeromonas*, 10.94%)、不动杆菌属(*Acinetobacter*, 7.91%),葡萄球菌属(*Staphylococcus*, 4.81%)。贮藏第 3 天,对照组的优势菌仍是巨大球菌属(55.97%),热杀索丝菌属(*Brochothrix*, 9.11%)和假单胞菌属(*Pseudomonas*, 5.53%)明显增多,气单胞菌属(2.04%)和不动杆菌属(0.75%)的相对丰度减少。试验组的优势菌则变为假单胞菌属(90.30%),同时热杀索丝菌属占比为 7.40%,说明姜精油纳米乳可能抑制了巨大球菌属的生长,导致其相对丰度大幅度减少,假单胞菌属因此占据优势,改变了冷鲜猪肉的初始微生物群落结构。贮藏第 12 天,对照组的优势菌由巨大球菌属变为假单胞菌属(71.42%),热杀索丝菌属相对丰度继续增加,占比提高至 23.76%,不动杆菌属相对丰度也有所增加(2.39%)。试验组优势菌仍是假单胞菌属(96.65%),而热杀索丝菌属相对丰度减少,占比仅为 2.51%。由此表明,热杀索丝菌属在猪肉贮藏后期成为第二个优势腐败菌,而姜精油纳米乳对热杀索丝菌属同样具有优秀的抑制效果。

2.7.4 微生物群落结构差异性分析 由图 9 可知,对照组贮藏 0、3、12 d 的样品分别形成一个独立的聚类,而试验组贮藏 3、12 d 的样品形成一个聚类。对照组猪肉在贮藏过程中的微生物组成结构不断发生变化,贮藏第 3 天,微



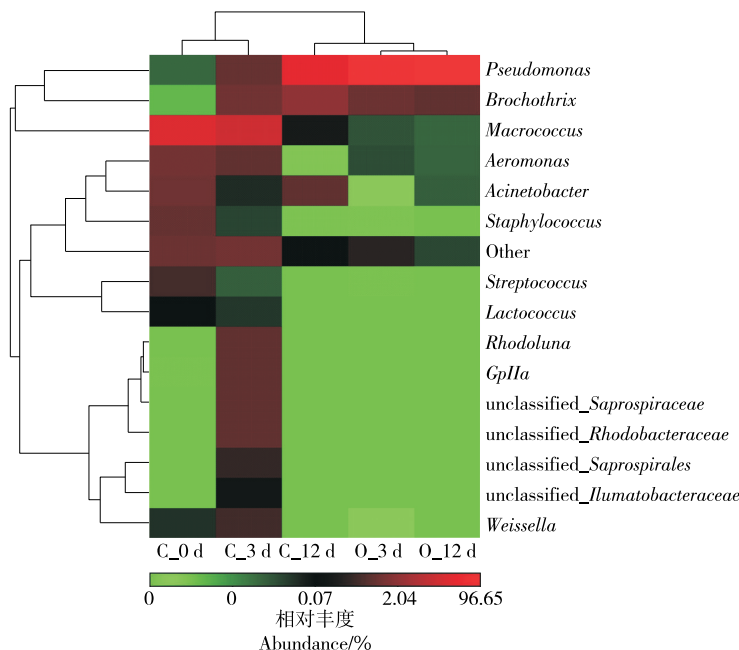
C_0 d、C_3 d、C_12 d分别为对照组贮藏0,3,12 d的样品;O_3 d、O_12 d分别为试验组贮藏3,12 d的样品

图8 猪肉贮藏过程中菌群相对丰度

Figure 8 Changes in relative abundance of microflora in chilled pork during storage

生物多样性最高且相对丰度分布更均匀,符合上述 Alpha 多样性分析的结果。相比之下由于姜精油纳米乳对巨大球菌属和热杀索丝菌属的抑制作用,以及对照组不同腐败菌的相互竞争,试验组贮藏期间的微生物组成变化程度更小,在贮藏过程中的微生物组成结构相似,优势腐败菌前后一致。假单胞菌属在猪肉贮藏后期成为优势腐败

菌,与 Wang 等^[23]针对纳米乳剂包埋抗菌物质的研究结果一致。也有报道指出,假单胞菌属为鸡肉^[28]、牛肉^[29]腐败时的优势菌。此外,Zou 等^[6]研究了柠檬精油纳米乳对猪肉饼微生物群落的影响,结果亦表明热杀索丝菌是导致猪肉腐败的主要微生物。不同的是,未经姜精油纳米乳处理的猪肉在贮藏初始阶段以巨大球菌属为优势菌,但



C_0 d、C_3 d、C_12 d分别为对照组贮藏0,3,12 d的样品;O_3 d、O_12 d分别为试验组贮藏3,12 d的样品

图9 猪肉贮藏过程中菌群聚类热图

Figure 9 Heat map of bacterial clustering of chilled pork during storage

在目前报道中比较少见,可能是因为不同贮藏条件下,巨大球菌属的生长情况差异大,并非猪肉贮藏过程中常见的优势腐败菌^[30]。

3 结论

姜精油纳米乳能够有效维持冷鲜猪脊肉的感官品质和色泽,降低挥发性盐基氮与丙二醛含量,抑制贮藏期间蛋白质降解与脂质氧化,延缓 pH 值升高,显著抑制菌落总数增长,具有延缓腐败进而延长保质期的作用。贮藏期间,姜精油纳米乳能有效降低猪肉微生物丰富度与多样性,抑制多种腐败菌生长,且改变了微生物的群落结构。经姜精油纳米乳处理的猪肉在贮藏初期及后期均以假单胞菌属(*Pseudomonas*)为优势菌,而未经姜精油处理的猪肉在贮藏初始阶段以巨大球菌属(*Macrococcus*)为优势菌,贮藏后期假单胞菌属也成为其优势腐败菌。姜精油纳米乳作为一种天然保鲜剂,不仅具有传统生姜的调味增香作用,而且具有良好的防腐保鲜效果,对巨大球菌属和热索奈丝菌属(*Brochothrix*)均能有效抑制其生长,在未来通过深入研究姜精油对腐败菌的抑菌机制,可以为新型食物防腐剂或杀菌剂的研究发展提供新思路。

参考文献

[1] WANG Q, ZHANG L, DING W. Eugenol nanocapsules embedded with gelatin-chitosan for chilled pork preservation[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 158: 837-844.

[2] LEE S, PARK D H, KIM E J, et al. Development of temperature control algorithm for supercooling storage of pork loin and its feasibility for improving freshness and extending shelf life[J]. Food Science of Animal Resources, 2022, 42(3): 467-485.

[3] ZHANG R Y, XU G W, SU Y J, et al. Potential application of ovalbumin gel nanoparticles loaded with carvacrol in the preservation of fresh pork[J]. Gels, 2023, 9(12): 941.

[4] 李丹丹, 郑丽, 刘雨晗, 等. 猪肉生物保鲜技术研究进展[J]. 肉类研究, 2020, 34(11): 98-105.

LI D D, ZHENG L, LIU Y H, et al. Recent progress in pork biopreservation technologies[J]. Meat Research, 2020, 34(11): 98-105.

[5] ZHAO S M, LI N N, LI Z, et al. Shelf life of fresh chilled pork as affected by antimicrobial intervention with nisin, tea polyphenols, chitosan, and their combination[J]. International Journal of Food Properties, 2019, 22(1): 1 047-1 063.

[6] ZOU B, SHAO C Y, SHAO L L, et al. Preparation of lemon essential oil nanoemulsion and its effect on the microbial community of pork patties[J]. Journal of Food Science, 2023, 88(6): 2 286-2 300.

[7] WEI Z, HUANG L L, FENG X Y, et al. Development of functional, sustainable pullulan-sodium alginate-based films by

incorporating essential oil microemulsion for chilled pork preservation[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 253(Pt 6): 127257.

[8] JACKSON-DAVIS A, WHITE S, KASSAMA L S, et al. A review of regulatory standards and advances in essential oils as antimicrobials in foods[J]. Journal of Food Protection, 2023, 86(2): 100025.

[9] HAO Y P, KANG J M, GUO X Q, et al. pH-responsive chitosan-based film containing oregano essential oil and black rice bran anthocyanin for preserving pork and monitoring freshness[J]. Food Chemistry, 2023, 403: 134393.

[10] HE J M, HADIDI M, YANG S Y, et al. Natural food preservation with ginger essential oil: biological properties and delivery systems[J]. Food Research International, 2023, 173: 113221.

[11] 蒋慧丽, 水珊珊, 吴琼静, 等. 基于高通量测序分析紫贻贝冻藏过程中菌群组成变化[J]. 食品与机械, 2021, 37(1): 143-147, 155.

JIANG H L, SHUI S S, WU Q J, et al. Bacterial composition analysis of frozen mussels based on high-throughput sequencing[J]. Food & Machinery, 2021, 37(1): 143-147, 155.

[12] PENG A J, QIU X M, LAI W L, et al. Altered composition of the gut microbiome in patients with drug-resistant epilepsy[J]. Epilepsy Research, 2018, 147: 102-107.

[13] FU B, FANG C, XIA J, et al. Urbanization alters soil bacterial communities in southern China coastal cities[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2023, 250: 114492.

[14] ZHAO J Y, HE Y X, WU M L, et al. The application of high-throughput sequencing technology in corneal diseases[J]. International Ophthalmology, 2024, 44(1): 53.

[15] NOORI S, ZEYNALI F, ALMASI H. Antimicrobial and antioxidant efficiency of nanoemulsion-based edible coating containing ginger (*Zingiber officinale*) essential oil and its effect on safety and quality attributes of chicken breast fillets [J]. Food Control, 2018, 84: 312-320.

[16] 张萌萌, 董蕾, 王东芹, 等. 花椒精油/壳聚糖复合膜的制备及其在猪肉冷藏保鲜中的应用[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(6): 93-101.

ZHANG M M, DONG L, WANG D Q, et al. Zanthoxylum essential oil/chitosan composite film: preparation and application in cold storage of pork[J]. Food Research and Development, 2023, 44(6): 93-101.

[17] 芮怀瑾, 孙婷婷, 吴昊, 等. 玉米须黄酮对冷藏猪肉脂质氧化的影响[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(14): 62-68.

RUI H J, SUN T T, WU H, et al. Effect on corn silk flavonoids on lipid oxidation of minced pork during refrigerated storage [J]. Food Research and Development, 2019, 40(14): 62-68.

[18] 彭湘莲, 王丽媛, 付红军, 等. 山苍子油复合保鲜剂在冷却猪肉保鲜中的应用[J]. 食品工业, 2018, 39(9): 117-122.

- PENG X L, WANG L Y, FU H J, et al. Application of litsea cubeba oil complex preservative in chilled pork preservation [J]. *The Food Industry*, 2018, 39(9): 117-122.
- [19] XIONG Y, LI S M, WARNER R D, et al. Effect of oregano essential oil and resveratrol nanoemulsion loaded pectin edible coating on the preservation of pork loin in modified atmosphere packaging[J]. *Food Control*, 2020, 114: 107226.
- [20] 侯坤, 程玉来. 孜然精油对冷却猪肉保鲜效果的影响[J]. *食品工业科技*, 2013, 34(15): 339-341, 365.
- HOU K, CHENG Y L. Preservation of chilled pork coated with cumin essential oil[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2013, 34(15): 339-341, 365.
- [21] 邵楚瑶, 戴瑞彤. 柠檬精油纳米乳液对调理猪肉饼保鲜效果研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(8): 2 550-2 557.
- SHAO C Y, DAI R T. Study on the effects of nano-emulsion of lemon essential oil on fresh-keeping of marinated pork patty [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2022, 13(8): 2 550-2 557.
- [22] SUN Y N, ZHANG M, BHANDARI B, et al. Nanoemulsion-based edible coatings loaded with fennel essential oil/cinnamaldehyde: characterization, antimicrobial property and advantages in pork meat patties application[J]. *Food Control*, 2021, 127: 108151.
- [23] WANG L, LIU T, LIU L, et al. Impacts of chitosan nanoemulsions with thymol or thyme essential oil on volatile compounds and microbial diversity of refrigerated pork meat [J]. *Meat Science*, 2022, 185: 108706.
- [24] MOGHIMI R, GHADERI L, RAFATI H, et al. Superior antibacterial activity of nanoemulsion of *Thymus daenensis* essential oil against *E. coli*[J]. *Food Chemistry*, 2016, 194: 410-415.
- [25] 李玉邯, 杨柳, 张一, 等. 丁香精油对酱牛肉品质和抗氧化抑菌性能的影响[J]. *中国调味品*, 2018, 43(1): 89-91, 96.
- LI Y H, YANG L, ZHANG Y, et al. The effect of clove essential oil on quality and antioxidative antibacterial properties of sauced beef[J]. *China Condiment*, 2018, 43(1): 89-91, 96.
- [26] LI H H, QU S J, MA P, et al. Effects of chitosan coating combined with thermal treatment on physicochemical properties, bacterial diversity and volatile flavor of braised duck meat during refrigerated storage[J]. *Food Research International*, 2023, 167: 112627.
- [27] XU Y M, YANG G J, XU J J, et al. Influence of the combination of cinnamon essential oil nanoemulsions and epsilon-polylysine on microbial community and quality of pork during refrigerated period and radio frequency cooking [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2022, 381: 109911.
- [28] DUAN X X, DUAN S, WANG Q E, et al. Effects of the natural antimicrobial substance from *Lactobacillus paracasei* FX-6 on shelf life and microbial composition in chicken breast during refrigerated storage[J]. *Food Control*, 2020, 109: 106906.
- [29] HOU X F, ZHAO H L, YAN L T, et al. Effect of CO₂ on the preservation effectiveness of chilled fresh boneless beef knuckle in modified atmosphere packaging and microbial diversity analysis[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2023, 187: 115262.
- [30] DORN-IN S, MANG S, COSENTINO R O, et al. Changes in the microbiota from fresh to spoiled meat, determined by culture and 16S rRNA analysis[J]. *Journal of Food Protection*, 2024, 87(2): 100212.