

等离子体活化水耦合生物保鲜剂对牛肉的保鲜作用

柯志刚^{1,2,3}, 田玉玲^{1,2,3}, 刘书来^{1,2,3}, 周绪霞^{1,2,3}, 丁玉庭^{1,2,3,*}

(1. 浙江工业大学食品科学与工程学院, 浙江 杭州 310014; 2. 浙江省全省深蓝渔业资源绿色低碳高效开发重点实验室, 浙江 杭州 310014; 3. 国家远洋水产品加工技术研发分中心(杭州), 浙江 杭州 310014)

摘要: 为延长生鲜牛肉货架期, 本研究设计了一种等离子体活化水(plasma-activated water, PAW)耦合 ϵ -聚赖氨酸盐酸盐(ϵ -polylysine hydrochloride, ϵ -PLH)、乳酸链球菌素(Nisin)的保鲜方法, 并辅以六偏磷酸钠作为保水剂, 探究此保鲜技术对生鲜牛肉的保鲜效果以及对贮藏期间品质变化的影响。结果表明, 经PAW- ϵ -PLH-Nisin处理的牛肉经真空包装并于4℃条件下贮藏28 d后, 其菌落总数为5.1 (lg(CFU/g)), 仍在可接受范围内; 其总挥发性盐基氮值在贮藏21 d后为18.3 mg/100 g, 保持在二级鲜度标准。对样品在贮藏期间的红度、质构、感官评分、硫代巴比妥酸反应物含量、脂肪酸组成、总硫基含量、羰基含量等的检测分析发现, PAW- ϵ -PLH-Nisin处理能显著提高牛肉红色, 保持牛肉质构和感官评分的贮藏稳定性, 延缓牛肉脂质和蛋白质氧化, 并维持脂肪酸贮藏稳定性。以上研究表明, PAW- ϵ -PLH-Nisin在生鲜牛肉保鲜领域具有较高的应用潜力与开发价值。

关键词: 生鲜牛肉; 等离子体活化水; ϵ -聚赖氨酸盐酸盐; 乳酸链球菌素; 保鲜

Effect of Plasma-Activated Water Combined with Biological Preservatives on Beef Preservation

KE Zhigang^{1,2,3}, TIAN Yuling^{1,2,3}, LIU Shulai^{1,2,3}, ZHOU Xuxia^{1,2,3}, DING Yuting^{1,2,3,*}

(1. College of Food Science and Technology, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China;
2. Zhejiang Key Laboratory of Green, Low-Carbon and Efficient Development of Marine Fishery Resources, Hangzhou 310014, China;
3. National R&D Branch Center for Pelagic Aquatic Products Processing (Hangzhou), Hangzhou 310014, China)

Abstract: To prolong the shelf life of fresh beef, we designed and evaluated a preservative (PAW- ϵ -PLH-nisin) by dissolving ϵ -polylysine hydrochloride (ϵ -PLH), nisin, and sodium hexametaphosphate as a water-retaining agent in plasma-activated water (PAW). The effect of the preservative on the quality changes of beef during cold storage was investigated. The results demonstrated that after storage under vacuum at 4℃ for 28 days, the total bacterial count of beef treated with the preservative was 5.1 (lg(CFU/g)), within the acceptable limit. The total volatile basic nitrogen (TVB-N) content was 18.3 mg/100 g after 21 days of storage, meeting the criteria for the second freshness grade. The PAW- ϵ -PLH-nisin treatment notably improved the redness of beef, kept beef texture and sensory characteristics stable during storage, delayed lipid and protein oxidation in beef, and maintained fatty acid stability. These results suggest that PAW- ϵ -PLH-nisin has significant application potential and high development value in fresh beef preservation.

Keywords: fresh beef; plasma-activated water; ϵ -polylysine hydrochloride; nisin; preservation

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240614-084

中图分类号: TS251.5+2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2025)02-0020-10

引文格式:

柯志刚, 田玉玲, 刘书来, 等. 等离子体活化水耦合生物保鲜剂对牛肉的保鲜作用[J]. 食品科学, 2025, 46(2): 20-29.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240614-084. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2024-06-14

基金项目: 企业委托项目(SH1330220891)

第一作者简介: 柯志刚(1985—)(ORCID: 0000-0003-3147-7728), 男, 副教授, 博士, 研究方向为食品物理加工新技术。

E-mail: kezg@zjut.edu.cn

*通信作者简介: 丁玉庭(1963—)(ORCID: 0000-0002-9844-7454), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品加工、储藏与质量安全控制。E-mail: dingyt@zjut.edu.cn

KE Zhigang, TIAN Yuling, LIU Shulai, et al. Effect of plasma-activated water combined with biological preservatives on beef preservation[J]. Food Science, 2025, 46(2): 20-29. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240614-084. <http://www.spkx.net.cn>

牛肉是人们日常饮食中重要的优质蛋白质来源,其氨基酸组成与人体所需的氨基酸非常接近,符合人们的营养需求。此外,生鲜牛肉还富含单不饱和脂肪酸(monounsaturated fatty acid, MUFA)、共轭亚油酸(conjugated linoleic acid, CLA)和二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)等功能性脂肪酸,对提高人体免疫力有显著作用。然而,在贮藏过程中,微生物的增殖会影响牛肉品质,导致营养物质分解,并损害其风味、颜色、质地及感官特性^[1]。为了保持生鲜牛肉的贮藏品质,目前已经提出了多种牛肉保鲜方法,包括物理、化学、生物和栅栏技术。

冷等离子体(cold plasma, CP)作为一种非热杀菌新方法,具有杀菌效率高、无化学残留、设备要求简单等优点,特别适用于生鲜及热敏性食品的减菌保鲜^[2]。但是,CP直接处理具有作用面积小、处理不均匀等不足,在实际应用时存在诸多困难。因此,研究并开发可大规模实际应用的CP减菌保鲜新方法对牛肉保鲜有重要意义。

等离子体活化水(plasma-activated water, PAW)是指CP处理后的水溶液,其中含有大量CP处理时产生的活性氧(reactive oxygen species, ROS)和活性氮(reactive nitrogen species, RNS)基团,具有较强的减菌保鲜能力^[3]。PAW具有操作简便、安全绿色、抑菌性广、处理均匀等特点,已成为一种新兴优良的农产品减菌保鲜方法。已有研究表明,PAW能有效杀灭多种生鲜食品在加工、运输和储存过程中伴生的细菌、酵母、真菌、霉菌等食品腐败菌和食源性致病菌,从而达到保鲜和提高食品食用安全性的目的。此外,多项研究也显示,PAW在生鲜牛肉中具有较好的减菌保鲜作用。例如,Zhao Yao等^[4]的研究显示,每隔24 h喷淋一次PAW的牛肉在4℃条件下贮藏13 d后,其菌落总数为4.08(lg(CFU/g)),远低于对照组的6.08(lg(CFU/g))。贮藏24 d后,对照组菌落总数显著高于每隔6、12 h和24 h喷淋一次的样品,且PAW喷淋不会明显改变牛肉的品质。Liao Xinyu等^[5]发现,与空气解冻相比,PAW浸泡解冻的牛肉菌落总数可减少1.98(lg(CFU/g)),真菌和酵母数减少1.92(lg(CFU/g)),且不会损害牛肉的理化和感官品质。但是,单一PAW处理虽能有效抑制牛肉表面的微生物增殖,在一定程度上延长其货架期,但也存在一些不足。例如,PAW过量或长时间使用可能会促进肌肉的脂质和蛋白质氧化、感官品质下降等^[6]。因此,研发PAW与其他减菌保鲜方法联用的栅栏技术,以减少PAW引起的

负面效应,这对拓展PAW在牛肉和其他生鲜食品中的减菌保鲜应用有重要意义。

生物保鲜剂是一类来源于自然生物体,通过生物技术培养、提取和分离得到的高效防腐剂,能有效地抑制和杀灭微生物。根据其来源不同,可分为植物源、动物源和微生物源。与人工合成保鲜剂相比,生物保鲜剂具有安全无毒害、可被人体消化吸收、不在体内残留、不易引起抗药性、对环境无污染等优点,同时不会影响食物的原有风味和品质。 ϵ -聚赖氨酸和乳酸链球菌素(Nisin)是两种常见的生物保鲜剂。 ϵ -聚赖氨酸是通过 α -羟基和 ϵ -氨基间形成的酰胺键连接而成的赖氨酸多肽,目前主要从白色链霉菌中提取,是一种可被允许使用的食品添加剂^[7],一般以 ϵ -聚赖氨酸盐酸盐(ϵ -polylysine hydrochloride, ϵ -PLH)形式使用^[8]。有研究表明, ϵ -PLH具有广谱抑菌性,对多种食品腐败微生物有不同程度的抑制作用^[9]。但也有研究显示, ϵ -PLH主要作用于革兰氏阴性菌,对革兰氏阳性菌的抑菌效果不够明显^[10]。Nisin是由乳酸乳球菌(*Lactococcus lactis*)产生的天然细菌素,被广泛用作生物防腐剂,具有安全无毒和抗菌能力强等优点。Nisin的作用机理类似于阳离子表面活性剂,能够与带负电荷的细胞膜相互作用,导致细胞膜电位的变化,从而导致细胞膜损伤和细胞内溶物释放,并抑制细胞壁的合成,最终引起微生物的死亡^[11]。Nisin对大多数革兰氏阳性菌具有较强的抑制作用,但对革兰氏阴性菌、霉菌和酵母菌的抑制作用较弱^[12]。

现有研究鲜有发现任何单一抑菌剂能够独立有效地抑制或杀灭牛肉中的所有腐败微生物。在实际应用中,通过复配抑菌剂不仅可以减少各单一抑菌剂的使用量,还能显著提升抑菌效果。因此,本研究旨在探究PAW与 ϵ -PLH、Nisin等生物保鲜剂耦合使用延长生鲜牛肉货架期的保鲜作用,分析其对生鲜牛肉贮藏品质的影响,以期为生鲜牛肉的流通和贮藏提供一种高效可行的保鲜方法。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

生鲜牛肉购自浙江省湖州市德清县秋山市场。

ϵ -PLH 江苏一鸣生物股份有限公司; Nisin 万邦化工科技有限公司; 六偏磷酸钠(sodium hexametaphosphate, SHMP) 上海麦克林生化科技有限公司; 氯化钠 江苏裕坤生物科技有限公司; 平板计数琼脂培养基 诸城华源生物工程有限公司; 氯化钾、

对氨基苯磺酸、盐酸萘乙二胺、三氯乙酸、乙二胺四乙酸二钠、2-硫代巴比妥酸、硼酸、甲基红、溴甲酚绿 国药集团化学试剂有限公司；尿素、5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸) (5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid), DTNB) 上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

1.2 仪器与设备

CTP-2000KP等离子体发生器 南京苏曼等离子科技有限公司；SW-JJ-2D超净工作台 苏州净化设备有限公司；K9840自动凯氏定氮仪 上海浦予工业科技有限公司；Color Quest XE色差仪 美国Hunter Lab公司；TA-XT Plus质构仪 英国Stable Micro Systems公司；UV-2600紫外分光光度计 日本岛津公司；Trace 1300-ISQ气相色谱-质谱 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 联用仪 美国Thermo公司。

1.3 方法

1.3.1 PAW的制备

本研究使用电晕放电 (corona discharge, CD) 处理灭菌后的纯水，以制备PAW。PAW生成装置为一个柱状树脂玻璃反应器 (高20 cm、直径10 cm)，将直径小于1 mm的不锈钢针 (阳极) 连接到高压等离子体发生器上，针尖置于PAW生成装置的液面上方^[13]。将250 mL无菌纯水泵入PAW生成装置后，调节阳极与液面的距离 (近1 cm)，接通电源对纯水进行CP处理。输出电压为40 kV，频率为10 kHz，CP放电处理时间为30 min。

1.3.2 牛肉样品的制备

采用灭菌后的纯水冲洗生鲜牛肉表面，而后在超净工作台中使用预灭菌刀片切除约1 cm厚度的表层，再将其切成约2 cm×2 cm×2 cm的小块 (每块质量约10 g)，随后对切块的生鲜牛肉分别进行如下处理：

对照组 (未处理组) (T1)：直接将切块的生鲜牛肉真空包装 (真空时间：15 s，热封时间：3.0 s) 并于4 °C条件下贮藏。

SHMP处理组 (T2)：将切块的生鲜牛肉置于0.25 g/100 mL SHMP溶液中浸泡5 min，随后捞出并沥干至不滴水，真空包装 (真空时间：15 s，热封时间：3.0 s) 后于4 °C条件下贮藏。

PAW处理组 (T3)：将切块的生鲜牛肉置于PAW中浸泡5 min，随后将其捞出沥干至不滴水，真空包装 (真空时间：15 s，热封时间：3.0 s) 后于4 °C条件下贮藏。

ϵ -PLH处理组 (T4)：将切块的生鲜牛肉置于0.4 g/100 mL ϵ -PLH溶液中浸泡5 min，随后捞出并沥干至不滴水，真空包装 (真空时间：15 s，热封时间：3.0 s) 后于4 °C条件下贮藏。

Nisin处理组 (T5)：将切块的生鲜牛肉置于0.5 g/100 mL Nisin溶液中浸泡5 min，随后捞出并沥干至不滴水，真空包装 (真空时间：15 s，热封时间：3.0 s) 后于4 °C条件下贮藏。

PAW- ϵ -PLH-Nisin处理组 (T6)：称取0.4 g ϵ -PLH、0.5 g Nisin及0.25 g SHMP溶解于100 mL PAW，制备PAW- ϵ -PLH-Nisin复配保鲜液，其中 ϵ -PLH、Nisin及SHMP的质量浓度分别0.4、0.5 g/100 mL及0.25 g/100 mL。将切块的生鲜牛肉置于复配溶液中浸泡5 min，随后捞出并沥干至不滴水，真空包装 (真空时间：15 s，热封时间：3.0 s) 后于4 °C条件下贮藏。

1.3.3 菌落总数的测定

无菌环境中取5.0 g肉样放入装有45 mL质量分数为0.85%生理盐水的无菌均质袋内，用均质机拍打2 min (8次/s)。取均匀菌液1 mL依次进行10倍梯度稀释，选择2~3个合适的稀释梯度置于平板计数琼脂 (plate count agar, PCA) 培养基中培养48 h (37 °C) 后计数，每个稀释度做两个平行，每个样品做3次重复。具体操作步骤和计数方法参照GB 4789.2—2022《食品微生物学检验 菌落总数测定》。

1.3.4 总挥发性盐基氮 (total volatile basic nitrogen, TVB-N) 的测定

将牛肉样品绞碎，随机称取牛肉碎样品10.0 g，加入75 mL蒸馏水。浸泡30 min后，参照GB 5009.228—2016《食品中挥发性盐基氮的测定》，采用自动凯氏定氮仪对TVB-N进行测定。

1.3.5 色差测定

使用Color Quest XE色差仪测定牛肉样品表面色差，用于颜色分析。每组样品进行3次平行检测，每个牛肉样品采样均匀。

1.3.6 质构测定

利用TA-XT2i质构仪对牛肉块进行质构测定，测定探头型号为P/36R。测试参数如下：测前速度为2.00 mm/s，测试速度为1.00 mm/s，测后速度为1.00 mm/s，触发力为10 g，应变为30%。每组样品进行3次平行检测。

1.3.7 感官评定

参考Choi等^[14]的方法稍作修改。选取20位感官健康、经过专业感官评定培训，且具感官评定经验的相关人员 (男女各10人) 组成感官评定小组 (平均年龄为23岁)。感官评定小组成员分别从颜色、气味、质地和整体可接受度4个方面进行感官评分。评分标准为：颜色 (1=颜色差，呈红褐色或白色，完全不满意；10=颜色鲜艳，呈现鲜红色，完全满意)；气味 (1=有极重的腐败味；10=清香味，无其他异味)；组织质地 (1=肌纤维纹理不清晰，肉质软烂松散；10=肌纤维纹理完整清晰)；整体可接受度 (1=无法接受；10=完全接受)。每组样品进行20次平行感官评定。

1.3.8 硫代巴比妥酸反应物 (thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) 含量的测定

称取牛肉样品5.0 g，置入100 mL具塞锥形瓶中，加入50 mL三氯乙酸混合液 (0.46 mol/L三氯乙酸、3 mmol/L

乙二胺四乙酸二钠), 摇匀, 加塞密封, 置于50℃恒温振荡器上振摇30 min, 取出, 冷却至室温, 用双层定量慢速滤纸过滤, 弃去初滤液后, 参照GB 5009.181—2016《食品中的丙二醛测定》, 采用紫外分光光度计法对样品的TBARS进行测定(以丙二醛含量计), 每组样品进行3次平行实验。

1.3.9 脂肪酸组成的测定

参考Folch等^[15]的方法并稍作修改后对牛肉总脂肪进行提取。将牛肉样品于搅拌机中绞碎均匀, 称取30.0 g绞碎后样品并置于250 mL具塞锥形瓶中, 随后加入3倍体积氯仿-甲醇溶液(2:1, V/V), 混合均匀并于暗室静置12 h, 抽滤后将滤液转移入250 mL分液漏斗, 而后向分液漏斗中加入20 mL饱和NaCl溶液, 混匀后静置至分层, 取下层油样, 经无水Na₂SO₄过滤后, 油样转移入100 mL旋蒸瓶, 45℃旋蒸25 min, 旋蒸完成后于45℃水浴环境下氮吹5 min, 得到总脂肪备用。

参考García Regueiro等^[16]的方法并稍作修改后对样品进行脂肪酸甲酯化处理。取0.10 g脂肪于20 mL具塞试管中, 加入2 mL氢氧化钠-甲醇溶液(0.5 mol/L), 振荡混匀后于65℃水浴5 min, 冷却至室温。随后, 加入1 mL三氟化硼-甲醇溶液(质量分数14%), 振荡混匀后将油样混合物于65℃水浴5 min, 自然冷却至室温, 随后向样液中加入2 mL饱和NaCl溶液及2 mL正己烷, 振荡混匀后静置分层, 取上层清液并加入1/10体积的无水Na₂SO₄进行干燥处理, 随后使用有机相微孔膜(0.23 μm)过滤, 滤液备用。

采用GC-MS仪对上述滤液进行分析, GC条件: 流量: 2 mL/min, 载气: 氦气(99.999%), INNOWAX柔性毛细管柱(60 m×0.32 mm, 0.5 μm)。MS条件: 电子电离源模式, 离子源温度为250℃, 在 m/z 35~450的范围内扫描。初始温度为90℃, 保留5 min后以15℃/min的速度升至200℃, 随后以1℃/min的速度升至240℃并保持10 min。以37种脂肪酸甲酯混标作为标准品, 计算牛肉中脂肪酸的含量。定性方法: 获得的质谱与标准库(Wiley 9和NIST 2014)中的谱图进行自动匹配, 当且仅当匹配度大于800时确定为该物质。并按照式(1)~(3)计算其含量及占比。

$$X_i/(\text{g}/100\text{ g}) = \frac{A_i \times m_{\text{st}} \times F_{\text{FAME-FA}}}{A_{\text{st}} \times m} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{试样中总脂肪酸的含量} = \sum X_i \quad (2)$$

$$\text{脂肪酸占比}/\% = \frac{X_i}{\sum X_i} \times 100 \quad (3)$$

式中: A_i 代表试样测定液中各脂肪酸甲酯的峰面积; m_{st} 代表混标中相应标准品的质量/mg; $F_{\text{FAME-FA}}$ 代表脂肪酸甲酯转化为脂肪酸的转化系数; A_{st} 代表内标中各脂肪酸甲酯的峰面积; m 代表试样质量/mg; 100为将含量

转化为每100 g试样中含量的转化系数; X_i 代表试样中各脂肪酸的含量/(g/100 g)。

1.3.10 蛋白质氧化的测定

1.3.10.1 肌原纤维蛋白的提取

参考Gao Wenhong等^[17]的方法稍作修改。取2.0 g绞碎后牛肉, 加入20 mL Tris-maleate缓冲液A(50 mmol/L KCl、20 mmol/L Tris, pH 7.0), 而后在10 000 r/min条件下均质1 min, 均质完成后于4℃条件下以10 000 r/min的转速离心10 min, 随后弃上清液, 沉淀中加入20 mL Tris-maleate缓冲液B(0.6 mol/L KCl、20 mmol/L Tris, pH 7.0), 并在10 000 r/min条件下均质1 min, 均质完成后于4℃静置1 h, 随后于4℃条件下以12 000 r/min的转速离心10 min, 取上清液。

1.3.10.2 总巯基含量的测定

参考Benjakul等^[18]的方法稍作修改。于0.5 mL牛肉肌原纤维蛋白溶液(4 mg/mL)中, 加入4.5 mL Tris-HCl缓冲液(0.2 mol/L Tris、8 mol/L尿素、2%十二烷基硫酸钠、10 mmol/L乙二胺四乙酸), 振荡混匀, 弃去1 mL后在剩余混合溶液中加入0.4 mL DTNB溶液(0.1%)并充分混匀, 随后在40℃恒温水浴锅中孵育25 min, 于412 nm处测定吸光度, 每组样品3次平行, 并按照下式计算样品中的总巯基含量(以蛋白质质量计):

$$\text{总巯基含量}/(\mu\text{mol}/\text{g}) = \frac{A_{412\text{ nm}}}{\epsilon \times C \times R} \times 10^6 \quad (4)$$

式中: ϵ 为13 600 L/(mol·cm); C 为被测肌原纤维蛋白质量浓度/(mg/mL); R 为比色光径(1 cm)。

1.3.10.3 羰基含量的测定

参考Lin Jun等^[19]方法稍作修改。取1.0 mL肌原纤维蛋白溶液(2 mg/mL), 加入1 mL的2,4-二硝基苯肼溶液(10 mmol/L), 混匀后于暗室反应1 h, 而后加入2 mL三氯乙酸(15%)溶液终止反应。随后于14 000 r/min的4℃冷冻离心机离心5 min, 弃去上清液后使用乙醇/乙酸乙酯(1:1, V/V)洗涤沉淀, 洗涤后加入3 mL的盐酸胍(6 mol/L)溶液, 于37℃孵育15 min。进一步, 于4℃冷冻离心机14 000 r/min离心5 min, 取上清液, 测定其在370 nm处吸光度, 每组样品进行3次平行实验, 并按照下式计算样品中的羰基含量(以蛋白质质量计):

$$\text{羰基含量}/(\text{nmol}/\text{g}) = \frac{A_{370\text{ nm}}}{\epsilon \times C \times R} \quad (5)$$

式中: ϵ 为22 000 L/(mol·cm); C 为被测肌原纤维蛋白质量浓度/(mg/mL); R 为比色光径(1 cm)。

1.4 数据统计与分析

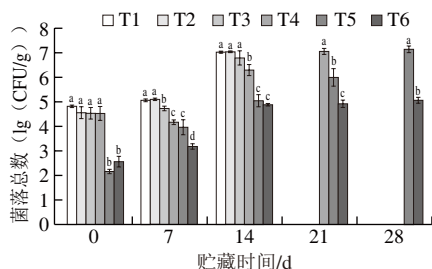
采用Excel 2023对数据进行整理, 采用SPSS 26统计软件进行单因素方差分析(ANOVA), 并用Duncan法进行多重比较, 差异显著的标准为 $P < 0.05$, 采用Origin 2019对数据进行绘图。

2 结果与分析

2.1 PAW- ϵ -PLH-Nisin对牛肉的保鲜作用

2.1.1 PAW- ϵ -PLH-Nisin对牛肉贮藏期间微生物增殖的抑制作用

微生物的生长繁殖是引起生鲜肉类腐败的主要因素,通常生鲜牛肉中的菌落总数被要求低于 1×10^6 CFU/g^[20]。从图1可以明显看出,随着贮藏时间的延长,各处理组的菌落总数均逐渐增加。对照组(T1)及SHMP处理组(T2)的菌落总数上升最快,分别从第0天的4.8、4.6(lg(CFU/g))上升到第14天的7.1、7.1(lg(CFU/g))。PAW处理组(T3)、 ϵ -PLH处理组(T4)和Nisin处理组(T5)也表现出类似的增长趋势,其菌落总数分别从第0天的4.5、4.5(lg(CFU/g))和2.1(lg(CFU/g))增加到第14天的6.8、6.3(lg(CFU/g))和5.0(lg(CFU/g))。其中, ϵ -PLH处理组(T4)和Nisin处理组(T5)在第7天时菌落总数均保持在较低水平,说明两者在贮藏期前期能有效抑制牛肉中微生物的增殖。但若延长贮藏时间至21 d, ϵ -PLH和Nisin的抑菌作用已不显著。然而,在整个贮藏过程中,PAW- ϵ -PLH-Nisin处理组(T6)的菌落总数始终处于可接受的安全水平,其第0、7、14、21天和28天时分别为2.5、3.2、4.8、4.9(lg(CFU/g))和5.1(lg(CFU/g))。以上结果显示,单独的PAW处理虽然有一定的抑菌作用,但并不显著,而单独的 ϵ -PLH处理和Nisin处理在冷藏的前14 d有较好的抑菌作用,之后抑菌作用不再显著。而PAW- ϵ -PLH-Nisin处理在整个贮藏期内(28 d)都有较好的抑菌效果,这表明PAW、 ϵ -PLH及Nisin之间存在较好的协同增效抑菌作用。



小写字母不同表示同一贮藏时间不同处理组差异显著($P < 0.05$),下同。

图1 贮藏过程中牛肉菌落总数的变化

Fig. 1 Changes of total bacterial count in beef during storage

2.1.2 PAW- ϵ -PLH-Nisin对牛肉贮藏期间TVB-N生成的抑制作用

TVB-N是蛋白质在微生物和有机酸作用下分解产生的碱性含氮物质的总称,对判断生鲜肉的新鲜度和品质有重要的参考意义。根据GB 2707—2016《鲜(冻)畜、禽产品》的规定,新鲜牛肉的TVB-N值应 \leq

15 mg/100 g,但也有研究将TVB-N值在15~20 mg/100 g的牛肉归为次级肉类(二级鲜度标准)^[21]。为进一步探究PAW- ϵ -PLH-Nisin对牛肉的保鲜作用,对不同处理组在贮藏期内的TVB-N值进行了测定,结果如图2所示。6组样品的TVB-N值均随着贮藏时间的延长而逐渐增加,其中对照组(T1)增加最为显著,其第0、14天和28天的TVB-N值分别为8.5、17.5 mg/100 g和31.3 mg/100 g。SHMP处理组(T2)、PAW处理组(T3)、 ϵ -PLH处理组(T4)和Nisin处理组(T5)也存在类似的上升趋势。它们在第0天时的TVB-N值分别为6.2、6.3、6.9 mg/100 g和6.3 mg/100 g,第21天时则分别增加到21.1、20.6、20.2 mg/100 g和20.1 mg/100 g,全部超过二级鲜度标准。然而,PAW- ϵ -PLH-Nisin处理组(T6)的TVB-N在第0、14、21、28天分别为6.6、11.1、18.3 mg/100 g和24.8 mg/100 g,即第28天才超过二级鲜度标准。上述结果也表明PAW、 ϵ -PLH及Nisin之间存在优异的协同增效抑菌作用。

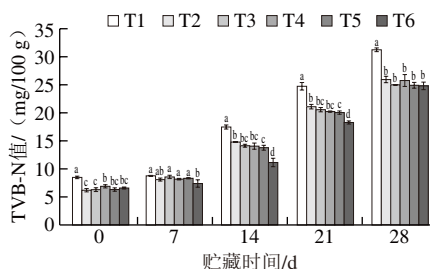


图2 贮藏过程中牛肉TVB-N值的变化

Fig. 2 Changes of TVB-N value of beef during storage

2.2 PAW- ϵ -PLH-Nisin对牛肉贮藏期间感官品质的影响

2.2.1 贮藏过程中牛肉颜色的变化

颜色是影响消费者判断肉类新鲜度的重要指标,通常红色(a^* 值)是反映生鲜牛肉颜色最重要的指标, a^* 值越高代表肉色越鲜红,对消费者越具有吸引力。牛肉的颜色变化与其肌红蛋白的状态及含量密切相关,新鲜牛肉中含有较高占比的亚铁肌红蛋白, a^* 值较高;随着贮藏时间的延长,亚铁肌红蛋白被氧化成高铁肌红蛋白,颜色逐渐呈褐色, a^* 值也相应降低^[22]。有研究表明,生鲜肉类颜色的变化通常发生在微生物引起的腐败之前,因此其商品价值主要受其颜色变化的限制^[23]。为了确定复合保鲜剂对牛肉红色的影响,测定了不同处理组在贮藏期内的 a^* 值,结果如图3所示。对照组(T1)、SHMP处理组(T2)、 ϵ -PLH处理组(T4)和Nisin处理组(T5)的 a^* 值均呈现出逐渐下降的趋势,并在第28天达到最小值。而PAW处理组(T3)及PAW- ϵ -PLH-Nisin处理组(T6)的 a^* 值却呈现出先上升后下降的趋势,两组样品的 a^* 值均在第14天达到最大值,而后逐步减小,这表明PAW具有保持牛肉红色的作用。这是由于PAW中含有

一定浓度的 NO_2^- ，其可被还原生成 NO ，后者可与肌红蛋白结合生成呈现鲜红状态的亚硝基肌红蛋白^[24]。PAW处理组（T3）和PAW- ϵ -PLH-Nisin处理组（T6）的初始 a^* 值低于对照组和各处理组，这是由于刚制备的PAW中含有大量氧化成分，可引起牛肉表面轻微氧化而降低其红色。

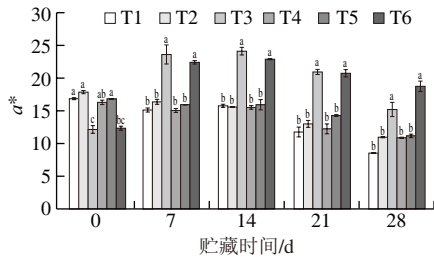


图3 PAW-生物保鲜剂对牛肉红色的影响

Fig. 3 Impact of PAW-based biological preservative on the red color of beef

2.2.2 贮藏过程中牛肉质构的变化

硬度是指物品产生一定变形所需要的力，即保持性状的内部结合力，感官上表现为坚硬或者柔软的触觉。硬度是牛肉质地的一个重要指标，它直接影响着牛肉的口感和风味。由图4a可知，经不同保鲜方法处理后，SHMP处理组（T2）、PAW处理组（T3）、 ϵ -PLH处理组（T4）、Nisin处理组（T5）、PAW- ϵ -PLH-Nisin处理组（T6）的硬度分别为 (8.29 ± 0.73) 、 (9.42 ± 0.51) 、 (8.98 ± 0.18) 、 (8.80 ± 0.64) 、 (8.70 ± 0.21) N，均显著低于对照组（T1， (10.69 ± 0.51) N），这表明保鲜液的浸泡处理会导致牛肉硬度显著下降。此外，SHMP处理组（T2）的初始硬度显著低于其他各处理组，这可能与磷酸盐软化肌肉的功能有关^[25]。在整个贮藏过程中，随着贮藏时间的延长，各处理组的硬度均显著下降。贮藏至28 d时，对照组（T1）、SHMP处理组（T2）、PAW处理组（T3）、 ϵ -PLH处理组（T4）、Nisin处理组（T5）和PAW- ϵ -PLH-Nisin处理组（T6）分别下降了52.72%、40.74%、38.53%、47.75%、42.56%、35.59%，这表明PAW- ϵ -PLH-Nisin处理能在贮藏期间有效维持牛肉的硬度。贮藏期间牛肉硬度下降是由于肌原纤维在微生物产生的各种蛋白酶的作用下，结构被破坏，从而造成肌原纤维的小片化，且随着微生物的增殖，肌原纤维小片化程度不断加深^[26]，而PAW- ϵ -PLH-Nisin能显著抑制微生物的增殖，使牛肉保持较好的鲜度状态，从而相对较好地维持了肌肉的硬度。

弹性是指物品受到外力作用时产生变形以及去力后自身的恢复程度。由图4b可知，各处理组牛肉的初始弹性无显著差异，表明保鲜液浸泡处理并不会降低牛肉弹性。在整个贮藏过程中，各组牛肉的弹性均存在着不同程度的下降，下降幅度为：PAW处理组>对照组>SHMP处理组>Nisin处理组> ϵ -PLH处理组>PAW-

Nisin- ϵ -PLH处理组。李伟^[27]认为，产品的含水量对其弹性的影响较大，在一定范围内，含水量越高，弹性越大。段昌圣等^[28]研究了鸭肉中添加三聚磷酸钠对其肌肉的影响，结果显示三聚磷酸钠处理后的鸭肉可压出水分减少且弹性增高，与上述结果类似。因此，PAW- ϵ -PLH-Nisin处理组弹性下降较慢不仅与复配液中添加的磷酸盐能促进肌原纤维蛋白吸水膨胀而提高牛肉的保水性有关，还与复配液能有效抑制微生物增殖进而延缓牛肉肌原纤维小片化有关。而其余实验组弹性下降可能是浸泡过程导致了牛肉肌肉肌理的松散，使得肌肉弹性下降^[29]。综上所述，PAW- ϵ -PLH-Nisin能有效维持贮藏期间牛肉的弹性。

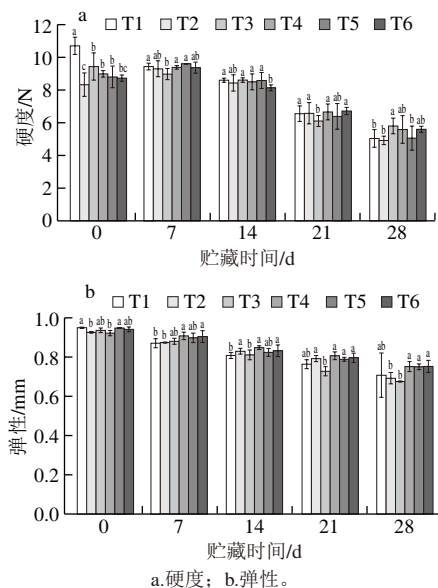


图4 贮藏过程中牛肉的质构变化

Fig. 4 Changes in texture of beef during storage

2.2.3 贮藏过程中牛肉感官评分的变化

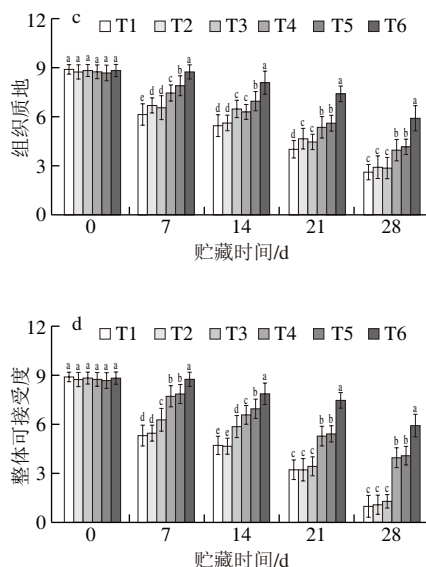
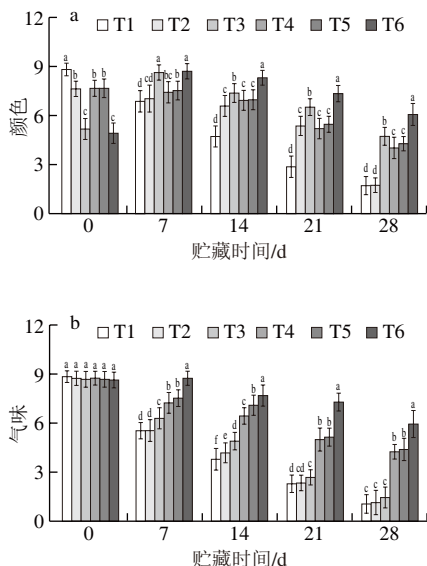
感官评价在食品科学中是一种系统化的评价方法，旨在通过人的感觉器官（视觉、嗅觉、味觉、触觉）评估和解释食品的感官属性。由图5a可知，空白组（T1）、SHMP处理组（T2）、 ϵ -PLH处理组（T4）及Nisin处理组（T5）的颜色评分均呈现出随贮藏时间延长而逐渐减小的趋势，而PAW处理组（T3）及PAW- ϵ -PLH-Nisin处理组（T6）的颜色评分却呈现先上升后下降的趋势，这与2.2.1节中 a^* 值的实验结果基本一致。表明PAW- ϵ -PLH-Nisin能有效改善牛肉红色，保持牛肉贮藏过程中的色泽稳定性。

由图5b可知，在整个贮藏过程中，各组的气味评分均呈现出逐渐降低的趋势。其中，对照组（T1）、SHMP处理组（T2）及PAW处理组（T3）的气味评分下降最快，在贮藏第28天时分别较初始值下降了88.13%、83.33%、86.85%。 ϵ -PLH处理组（T4）和Nisin处理组

(T5)的气味评分下降速度次之,在贮藏第28天时分别较初始值下降了51.43%、49.43%。PAW- ϵ -PLH-Nisin处理组(T6)气味评分下降最慢,到贮藏第28天仅降低了31.24%。随着贮藏时间的延长,微生物将逐渐分解牛肉中的蛋白质、脂肪和糖类,产生挥发性有机化合物,如氨、硫化物、胺和酸等,这些物质产生的混合气味就是令人不悦的腐败气味^[30]。PAW处理组(T3)前期的气味评分降低速度低于对照组及SHMP处理组,表明PAW具有一定的减菌效果。而PAW- ϵ -PLH-Nisin处理组(T6)的气味评分始终优于其他各组,表明PAW- ϵ -PLH-Nisin优异的抑菌效果,其能有效保持牛肉贮藏过程中的气味稳定性。

由图5c可知,各组样品的组织质地评分初始值相近,但随着贮藏时间的延长,其质地评分均呈现出逐渐下降的趋势。且在贮藏前期,SHMP处理组(T2)及PAW- ϵ -PLH-Nisin处理组(T6)的组织质地评分下降较为缓慢,这可能是由于PAW中的活性成分能引起蛋白交联使得蛋白更致密^[31],并且磷酸盐的保水性也使牛肉的肌纤维纹理结构维持在较好状态。而贮藏后期,微生物的大量繁殖导致牛肉快速氧化变质,组织质地也随之变差。PAW- ϵ -PLH-Nisin联用比单独使用PAW或Nisin、 ϵ -PLH能更好地保持牛肉贮藏过程中组织质地稳定性。

由图5d可知,各组样品的整体可接受度评分在贮藏期间均呈现出逐渐降低的趋势,且其下降程度表现为:对照组(T1)>SHMP处理组(T2)>PAW处理组(T3)> ϵ -PLH处理组(T4)>Nisin处理组(T5)>PAW- ϵ -PLH-Nisin处理组(T6)。表明PAW- ϵ -PLH-Nisin能使牛肉的整体可接受度显著增加,使其保持较好的贮藏稳定性。



a.颜色; b.气味; c.组织质地; d.整体可接受度。

图5 贮藏过程中牛肉的感官评分变化

Fig. 5 Changes in sensory attributes of beef during storage

2.3 PAW- ϵ -PLH-Nisin对牛肉贮藏期间脂质和蛋白质氧化的影响

2.3.1 贮藏过程中牛肉TBARS值的变化

脂质氧化是肉品在冷藏或冻藏过程中品质劣化的重要原因之一, TBARS值变化是判断脂质氧化程度的重要指标。从图6可以明显看出, 6组样品的TBARS均随着贮藏时间的延长而逐渐增加。对照组(T1)、SHMP处理组(T2)和PAW处理组(T3)的TBARS值增加最快, 其在第0天的TBARS值分别为0.07、0.09、0.08 mg/kg, 第14天增加到0.22、0.14、0.16 mg/kg, 第28天增加到0.45、0.39、0.36 mg/kg。 ϵ -PLH处理组(T4)和Nisin处理组(T5)的TBARS值增长仅次于上述3组样品, 其在第0天的TBARS值分别为0.04、0.03 mg/kg, 第14天增长到0.12、0.1 mg/kg, 第28天增长到0.32、0.33 mg/kg。在贮藏后期, PAW- ϵ -PLH-Nisin处理组(T6)的TBARS值显著低于其他各组, 其在第0、14天和第28天的TBARS值分别为0.07、0.15、0.3 mg/kg。Liao Xinyu等^[5]研究也显示, PAW浸泡解冻可有效抑制牛肉的脂质和蛋白质氧化, 其结果与本研究结果类似。Kong Dewei等^[32]的研究也表明, PAW解冻可显著抑制猪肉的脂质和蛋白质氧化。这是由于微生物产生的脂氧合酶、过氧化物酶等是导致肉制品在贮藏期间脂质和蛋白质氧化的重要原因, 而PAW的抑菌作用也抑制了这些酶导致的脂质和蛋白质氧化^[33]。另外, PAW中RNS可与肌红蛋白中的铁结合, 也在一定程度上抑制了脂质和蛋白质的氧化^[34]。本研究中, PAW- ϵ -PLH-Nisin能够显著抑制微生物增殖, 从而抑制了脂质氧化。

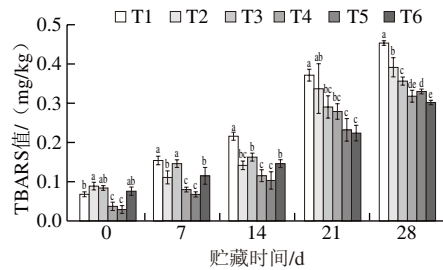


图6 贮藏过程中牛肉的TBARS值变化

Fig. 6 Changes of TBARS value in beef during storage

2.3.2 贮藏过程中牛肉脂肪酸组成的变化

为进一步探究PAW- ϵ -PLH-Nisin协同处理对牛肉脂质氧化的影响,对不同处理组样品在贮藏期间的脂肪酸组成进行了分析,结果如表1所示。样品中共测得脂肪酸18种,包括8种饱和脂肪酸(saturated fatty acids, SFA)、6种MUFA和4种多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA)。总体而言,在贮藏期开始时,牛肉中MUFA含量占比最高,其次是SFA,占比最少的是PUFA。各组MUFA中含量最高的是油酸($C_{18:1}$),占比达47.56%~52.11%,SFA中占比最高的为棕榈酸($C_{16:0}$),达14.89%~23.12%。PUFA中主要以花生四烯酸($C_{20:4}$)、十八碳二烯酸(亚油酸, $C_{18:2}$)为主,占比分别为0.12%~3.43%及6.05%~10.32%,以上结果与孟文翔等^[35]测得的牛肉中主要脂肪酸一致。随着贮藏时间的延长,各样品SFA占比显著增加,而UFA(MUFA与PUFA之和)的占比降低($P<0.05$),其中PAW- ϵ -PLH-Nisin处理组(T6)的UFA下降最为缓慢。在贮藏第14天时,各处理组牛肉的脂肪酸组成发生了明显变化。对照组(T1)、SHMP处理组(T2)、PAW处理组(T3)、 ϵ -PLH处理组(T4)、Nisin处理组(T5)及PAW- ϵ -PLH-Nisin处理组(T6)SFA的含量在总脂肪酸中的占比分别升高至45.22%、44.58%、42.17%、45.55%、47.61%及41.58%,而其MUFA及PUFA含量占比分别下降至44.65%、47.60%、47.31%、46.29%、41.37%、47.29%及10.11%、7.82%、10.59%、9.21%、11.03%、11.13%,表明PAW- ϵ -PLH-Nisin处理可有效抑制牛肉的脂质氧化。

表1 贮藏过程中牛肉脂肪酸组成的变化

Table 1 Changes in fatty acid composition of beef during storage

序号	脂肪酸	T1	T2	T3	T4	T5	T6
贮藏第0天脂肪酸含量占比/%							
SFA							
1	$C_{10:0}$	0.22±0.01 ^{bc}	0.22±0.05 ^{bc}	0.18±0.07 ^d	0.16±0.03 ^c	3.49±0.21 ^a	0.32±0.03 ^b
2	$C_{12:0}$	1.22±0.02 ^c	1.12±0.02 ^c	1.21±0.04 ^c	1.31±0.01 ^b	0.245±0.08 ^a	2.97±0.05 ^d
3	$C_{14:0}$	3.03±0.01 ^c	3.05±0.01 ^d	4.26±0.01 ^d	2.83±0.01 ^c	0.89±0.04 ^d	1.01±0.01 ^b
4	$C_{15:0}$	0.56±0.03 ^a	0.56±0.04 ^a	0.52±0.04 ^a	0.88±0.03 ^b	1.38±0.02 ^c	1.02±0.05 ^b
5	$C_{16:0}$	14.89±0.01 ^d	23.12±0.01 ^d	21.7±0.01 ^b	20.06±0.01 ^c	21.16±0.08 ^b	21.45±0.01 ^b
6	$C_{17:0}$	2.71±0.01 ^b	2.24±0.07 ^c	2.26±0.01 ^c	2.87±0.03 ^{ab}	3.09±0.21 ^a	1.54±0.05 ^d
7	$C_{18:0}$	8.87±0.02 ^c	1.92±0.02 ^{ab}	0.89±0.02 ^d	0.84±0.02 ^d	1.45±0.01 ^b	2.87±0.04 ^d
	Σ SFA	31.5±0.31 ^a	32.23±0.50 ^c	31.02±0.41 ^a	28.95±0.52 ^b	31.46±0.64 ^d	31.16±0.40 ^d
MUFA							
8	$C_{16:1}$	5.04±0.03 ^a	5.04±0.04 ^d	4.86±0.05 ^b	5.12±0.02 ^{ab}	3.75±0.02 ^c	4.26±0.20 ^b

续表1

序号	脂肪酸	T1	T2	T3	T4	T5	T6
9	$C_{17:1}$	1.19±0.01 ^a	1.19±0.01 ^b	1.34±0.06 ^b	1.68±0.06 ^c	1.23±0.02 ^b	1.14±0.01 ^c
10	$C_{18:1}$	48.56±0.20 ^c	48.56±0.20 ^c	49.21±0.31 ^b	50.36±0.03 ^a	52.11±0.22 ^a	47.56±0.05 ^d
11	$C_{19:1}$	0.22±0.08 ^b	0.22±0.01 ^b	0.21±0.06 ^c	0.19±0.08 ^c	0.57±0.01 ^a	0.15±0.05 ^d
12	$C_{20:1}$	0.63±0.01 ^b	0.63±0.03 ^b	0.61±0.04 ^b	0.69±0.09 ^a	0.53±0.21 ^a	0.51±0.05 ^c
	Σ MUFA	60.41±0.26 ^a	55.64±0.22 ^c	56.02±0.38 ^c	58.04±0.06 ^b	58.19±0.28 ^b	53.62±0.22 ^d
PUFA							
13	$C_{18:2}$	6.05±0.01 ^c	9.13±0.06 ^c	8.59±0.01 ^b	7.74±0.02 ^b	7.73±0.06 ^b	10.32±0.01 ^a
14	$C_{18:3}$	0.31±0.05 ^c	0.35±0.03 ^b	0.34±0.02 ^b	0.36±0.22 ^b	0.49±0.31 ^a	0.41±0.20 ^a
15	$C_{20:3}$	0.45±0.01 ^d	0.64±0.08 ^c	0.69±0.22 ^c	0.77±0.015 ^b	0.51±0.01 ^d	1.08±0.01 ^a
16	$C_{20:4}$	1.30±0.02 ^c	2.03±0.03 ^b	3.34±0.01 ^a	2.32±0.21 ^b	0.12±0.04 ^d	3.43±0.07 ^b
	Σ PUFA	8.11±0.246 ^c	12.15±0.22 ^b	12.96±0.38 ^b	11.19±0.03 ^c	8.73±0.28 ^b	15.24±0.19 ^a
	Σ UFA	68.52	67.79	68.96	69.23	66.92	68.86
	Σ PUFA/ Σ SFA	0.26	0.38	0.42	0.38	0.28	0.49
贮藏第14天脂肪酸含量占比/%							
SFA							
1	$C_{10:0}$	0.01±0.06 ^b	0.01±0.02 ^b	0.02±0.01 ^a	0.02±0.04 ^a	0.01±0.20 ^b	0.01±0.20 ^b
2	$C_{12:0}$	0.014±0.01 ^c	0.22±0.06 ^c	0.43±0.20 ^b	0.18±0.03 ^d	0.5±0.01 ^a	0.21±0.01 ^c
3	$C_{14:0}$	3.02±0.31 ^b	3.39±0.08 ^a	3.38±0.01 ^a	3.2±0.08 ^a	3.12±0.05 ^b	0.29±0.26 ^c
4	$C_{15:0}$	0.41±0.16 ^c	0.42±0.08 ^c	0.51±0.08 ^b	0.39±0.01 ^d	0.37±0.01 ^d	3.71±0.01 ^a
5	$C_{16:0}$	24.51±0.02 ^b	23.91±0.04 ^c	23.38±0.08 ^c	25.47±0.24 ^a	25.81±0.01 ^a	22.50±0.03 ^d
6	$C_{17:0}$	1.07±0.006 ^b	1.21±0.05 ^c	1.10±0.06 ^c	1.23±0.08 ^a	1.13±0.20 ^b	0.43±0.08 ^c
7	$C_{18:0}$	16.21±0.26 ^b	15.43±0.01 ^b	13.37±0.06 ^b	15.08±0.22 ^b	16.68±0.01 ^a	14.44±0.38 ^c
	Σ SFA	45.22±0.27 ^b	44.58±0.22 ^c	42.17±0.36 ^d	45.55±0.34 ^b	47.61±0.18 ^a	41.58±0.38 ^c
MUFA							
8	$C_{16:1}$	3.42±0.02 ^c	3.73±0.01 ^b	3.26±0.01 ^d	3.78±0.08 ^b	3.15±0.01 ^c	5.00±0.02 ^c
9	$C_{17:1}$	0.54±0.08 ^d	0.67±0.05 ^c	0.66±0.03 ^b	0.74±0.07 ^b	0.66±0.02 ^c	1.56±0.26 ^c
10	$C_{18:1}$	40.39±0.01 ^b	42.86±0.22 ^a	42.94±0.38 ^a	41.5±0.02 ^{ab}	37.32±0.28 ^c	40.33±0.01 ^b
11	$C_{20:1}$	0.03±0.24 ^d	0.34±0.07 ^c	0.45±0.04 ^c	0.27±0.03 ^c	0.24±0.26 ^c	0.4±0.05 ^b
	Σ MUFA	44.65±0.24 ^c	47.60±0.22 ^b	47.31±0.38 ^b	46.29±0.02 ^b	41.37±0.28 ^d	47.29±0.22 ^c
PUFA							
12	$C_{18:2}$	7.55±0.01 ^{bc}	6.01±0.04 ^d	7.59±0.01 ^c	6.77±0.20 ^c	8.11±0.01 ^a	7.77±0.01 ^b
13	$C_{18:3}$	0.88±0.05 ^c	0.58±0.05 ^c	1.15±0.02 ^b	0.72±0.01 ^d	0.82±0.26 ^c	1.5±0.38 ^a
14	$C_{20:4}$	1.68±0.02 ^c	1.23±0.01 ^c	1.85±0.01 ^b	1.72±0.29 ^c	2.1±0.01 ^a	1.86±0.05 ^b
	Σ PUFA	10.11±0.26 ^b	7.82±0.22 ^d	10.59±0.30 ^b	9.21±0.34 ^c	11.03±0.18 ^a	11.13±0.02 ^a
	Σ UFA	54.76	55.42	57.90	55.50	52.40	58.42
	Σ PUFA/ Σ SFA	0.22	0.18	0.25	0.20	0.23	0.27
贮藏第28天脂肪酸含量占比/%							
SFA							
1	$C_{10:0}$	0.01±0.06 ^d	0.08±0.01 ^d	0.02±0.07 ^d	0.11±0.02 ^c	0.58±0.26 ^a	0.39±0.26 ^b
2	$C_{12:0}$	1.21±0.06 ^c	0.1±0.31 ^c	0.11±0.02 ^c	0.74±0.02 ^b	0.12±0.01 ^d	0.43±0.01 ^c
3	$C_{13:0}$	0.01±0.05 ^d	0.14±0.26 ^b	0.11±0.01 ^c	0.11±0.04 ^c	0.16±0.26 ^b	0.33±0.05 ^c
4	$C_{14:0}$	3.26±0.04 ^c	3.39±0.01 ^c	0.88±0.03 ^c	4.15±0.29 ^a	3.87±0.05 ^b	2.91±0.26 ^d
5	$C_{15:0}$	1.1±0.01 ^a	0.058±0.06 ^c	0.91±0.06 ^c	0.56±0.01 ^d	0.83±0.01 ^c	0.5±0.01 ^d
6	$C_{16:0}$	36.1±0.01 ^a	31.06±0.04 ^b	30.88±0.31 ^b	30.95±0.26 ^b	22.64±0.05 ^d	24.71±0.03 ^c
7	$C_{17:0}$	1.55±0.05 ^d	2.13±0.05 ^b	0.72±0.01 ^c	1.9±0.01 ^b	2.52±0.26 ^c	1.81±0.08 ^c
8	$C_{18:0}$	15.46±0.01 ^d	17.38±0.01 ^c	18.9±0.06 ^b	17.4±0.29 ^c	19.44±0.01 ^a	15.74±0.31 ^d
	Σ SFA	58.68±0.05 ^a	54.86±0.27 ^c	52.41±0.36 ^c	55.92±0.34 ^b	50.16±0.18 ^b	46.82±0.34 ^c
MUFA							
9	$C_{16:1}$	0.01±0.05 ^c	0.2±0.26 ^b	0.38±0.01 ^a	0.21±0.01 ^b	0.26±0.05 ^b	0.02±0.05 ^c
10	$C_{17:1}$	0.64±0.01 ^d	1.05±0.01 ^b	0.53±0.22 ^c	0.01±0.02 ^f	0.77±0.01 ^c	1.14±0.22 ^a
11	$C_{18:1}$	0.64±0.01 ^d	4.53±0.01 ^a	3.85±0.06 ^b	4.26±0.08 ^a	0.1±0.05 ^c	2.25±0.26 ^c
12	$C_{19:1}$	0.79±0.05 ^c	1.43±0.05 ^b	0.52±0.07 ^c	1.24±0.07 ^d	4.53±0.02 ^a	0.88±0.01 ^c
13	$C_{18:1}$	31.53±0.05 ^d	32.33±0.22 ^c	33.52±0.06 ^b	31.07±0.02 ^c	33.81±0.28 ^b	38.1±0.05 ^a
14	$C_{20:1}$	0.34±0.06 ^c	0.39±0.03 ^c	0.48±0.03 ^b	0.43±0.03 ^b	0.02±0.26 ^d	0.54±0.02 ^c
	Σ MUFA	33.30±0.24 ^d	39.93±0.22 ^b	39.28±0.38 ^b	37.21±0.02 ^c	39.39±0.28 ^b	42.91±0.22 ^a
PUFA							
15	$C_{18:2}$	4.59±0.29 ^c	3.53±0.04 ^d	6.19±0.04 ^c	5.12±0.26 ^d	7.18±0.01 ^b	7.9±0.06 ^c
16	$C_{18:3}$	2.77±0.05 ^c	0.70±0.01 ^d	0.85±0.01 ^c	0.50±0.01 ^b	0.94±0.26 ^b	0.85±0.04 ^c
17	$C_{20:4}$	1.66±0.26 ^b	1.29±0.01 ^c	1.24±0.01 ^c	1.28±0.29 ^c	2.34±0.01 ^a	1.52±0.05 ^b
	Σ PUFA	9.02±0.24 ^b	5.52±0.22 ^c	8.28±0.22 ^c	6.9±0.34 ^d	10.46±0.18 ^a	10.27±0.01 ^a
	Σ UFA	42.32	45.45	47.56	44.11	49.83	53.18
	Σ PUFA/ Σ SFA	0.15	0.11	0.16	0.12	0.20	0.22

注:同行字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

2.3.3 贮藏过程中牛肉总巯基含量的变化

巯基(S-H)是许多蛋白质和酶活性部位的必需基团,其极易发生氧化而生成-SOH、-SOOH、-SS-等产物^[36],因此巯基损失是蛋白质氧化的标志之一。蛋白质的氧化不仅会影响生鲜牛肉的营养价值,还会影响其风味、颜色、质地等感官属性。由图7可知,各处理组肌原纤维蛋白总巯基含量均随着贮藏时间的延长而逐渐降低。其中,对照组(T1)及SHMP处理组(T2)下降最快,到第28天时,其巯基含量分别下降了58.74%、55.8%,且二者无显著性差异。PAW- ϵ -PLH-Nisin处理组(T6)的总巯基含量下降最缓慢,到贮藏期结束时仅下降了33.61%。而其余3个处理组巯基含量下降速度为:PAW处理组> ϵ -PLH处理组>Nisin处理组,分别下降54.12%、47.12%、45.95%。

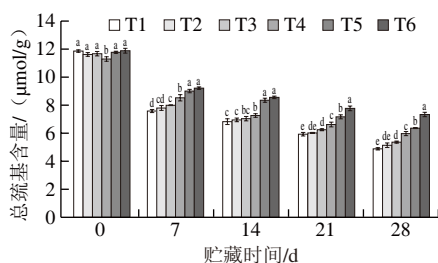


图7 牛肉肌原纤维蛋白巯基含量的变化

Fig. 7 Change in sulfhydryl content of myofibrillar protein in beef during storage

2.3.4 贮藏过程中牛肉羰基含量的变化

羰基是蛋白质氧化的主要产物之一,其含量也是常用的监测蛋白质氧化程度的指标之一。蛋白质氧化过程中羰基的产生途径主要包括:脂肪族氨基酸(如赖氨酸、精氨酸等)直接氧化为羰基;COOH、CO·通过 α -酰胺化途径导致多肽骨架链 β -断裂;脂质氧化中产生的不饱和醛与蛋白质发生Micheal加成;还原糖及其氧化产物与赖氨酸反应生成活性羰基衍生物^[37]。由图8可知,6组样品的羰基含量均随着贮藏时间的延长而逐渐增加。对照组(T1)和SHMP处理组(T2)的羰基含量增加最快,其在第0天的羰基含量分别为1.3、1.6 nmol/g,第14天增长到3.4、2.7 nmol/g,第28天增长到6.0、5.3 nmol/g。PAW处理组(T3)、 ϵ -PLH处理组(T4)和Nisin处理组(T5)样品的羰基含量增长仅次于上述2组样品,其在第0天的羰基含量均为1.3 nmol/g,第14天增长到2.3、2.0、1.9 nmol/g,第28天增长到4.4、3.5、3.1 nmol/g。表明PAW及 ϵ -PLH单独处理可在一定程度上延缓牛肉的蛋白氧化。然而,在整个贮藏过程中,PAW- ϵ -PLH-Nisin处理组(T6)样品的羰基含量始终低于其余处理组,其在第0、7、14、21天和28天的羰基含量水平分别为1.4、1.6、1.8、2.0、2.1 nmol/g。综合巯基和羰基含量测定结果显示,PAW- ϵ -PLH-Nisin能显著抑制牛肉在贮藏期间蛋白质的氧化,此结果与已报道结果^[5,32-34]一致。其原因正

是PAW- ϵ -PLH-Nisin抑制了微生物的增殖,抑制了各种氧化酶的产生,从而抑制了蛋白质的氧化。

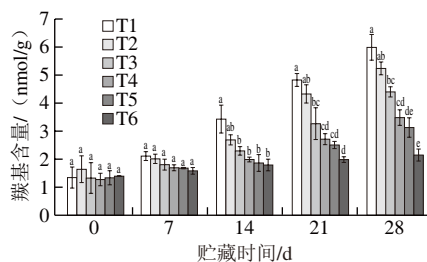


图8 牛肉肌原纤维蛋白羰基含量的变化

Fig. 8 Changes in carbonyl content of myofibrillar protein in beef during storage

3 结论

本研究将 ϵ -PLH、Nisin及SHMP添加到PAW中,制备复配保鲜液用于牛肉保鲜,并将保鲜处理后的牛肉进行真空包装,研究PAW-生物保鲜剂保鲜牛肉的效果。结果表明,与单一保鲜剂处理的牛肉相比,复合保鲜剂溶液处理的牛肉样品TVB-N值在贮藏21 d内仍能保持二级鲜度,菌落总数在第28天时仍在可接受范围内。并且PAW-生物保鲜剂处理能显著提高牛肉红色程度,保持牛肉质地、感官评分的贮藏稳定性。此外,PAW-生物保鲜剂处理的牛肉TBARS值也始终维持在较低水平,有利于维持脂肪酸贮藏稳定性;同时,PAW-生物保鲜剂处理可较好地延缓总巯基的下降,并有效抑制羰基含量的增加,从而减缓牛肉蛋白氧化。以上研究表明PAW- ϵ -PLH-Nisin复合生物保鲜液可以作为一种有效的复配保鲜剂来延长牛肉的货架期,并保持牛肉品质。

参考文献:

- [1] 孙歌, 武桐焯, 毛衍伟, 等. 细菌主导的红肉腐败机制研究进展[J]. 肉类研究, 2024, 38(8): 63-71. DOI:10.7506/rlyj1001-8123-20240603-134.
- [2] EKEZIE F, SUN D W, CHENG J H. A review on recent advances in cold plasma technology for the food industry: current applications and future trends[J]. Trends in Food Science and Technology, 2017, 69: 46-58. DOI:10.1016/j.tifs.2017.08.007.
- [3] THIRUMDAS R, KOTHAKOTA A, ANNAPURE U, et al. Plasma activated water (PAW): chemistry, physico-chemical properties, applications in food and agriculture[J]. Trends in Food Science & Technology, 2018, 77: 21-31. DOI:10.1016/j.tifs.2018.05.007.
- [4] ZHAO Y, CHEN R C, TIAN E Q, et al. Plasma-activated water treatment of fresh beef: bacterial inactivation and effects on quality attributes[J]. IEEE Transactions on Radiation and Plasma Medical Sciences, 2020, 4(1): 113-120. DOI:10.1109/TRPMS.2018.2883789.
- [5] LIAO X Y, XIANG Q S, CULLEN P J, et al. Plasma-activated water (PAW) and slightly acidic electrolyzed water (SAEW) as beef thawing media for enhancing microbiological safety[J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 117: 108649. DOI:10.1016/j.lwt.2019.108649.

- [6] SEGAT A, MISRA N N, CULLEN P J, et al. Atmospheric pressure cold plasma (ACP) treatment of whey protein isolate model solution[J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2015, 29: 247-254. DOI:10.1016/j.ifset.2015.03.014.
- [7] 肖素荣, 李京东. 天然食品防腐剂及其发展前景[J]. *中国食物与营养*, 2007, 13(6): 30-33. DOI:10.3969/j.issn.1006-9577.2007.06.010.
- [8] 关于批准L-聚赖氨酸等4种食品添加剂新品种等的公告(2014年第5号)[J]. *中国食品添加剂*, 2014(3): 213-221.
- [9] 吴光耀, 陈旭升, 王靓, 等. 核糖体工程技术选育L-聚赖氨酸高产菌株[J]. *微生物学通报*, 2016, 43(12): 2744-2751. DOI:10.13344/j.microbiol.china.160026.
- [10] SHIMA S, SAKAI H. Poly-L-lysine produced by *Streptomyces*. Part III. chemical studies[J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1981, 45(11): 2503-2508. DOI:10.1271/bbb1961.45.2503.
- [11] ANUMUDU C, HART A, MIRI T, et al. Recent advances in the application of the antimicrobial peptide nisin in the inactivation of spore-forming bacteria in foods[J]. *Molecules*, 2021, 26(18): 5552. DOI:10.3390/molecules26185552.
- [12] IBARRA-SÁNCHEZ L A, EL-HADDAD N, MAHMOUD D, et al. Invited review: advances in nisin use for preservation of dairy products[J]. *Journal of Dairy Science*, 2020, 103(3): 2041-2052. DOI:10.3168/jds.2019-17498.
- [13] KE Z G, BAI Y W, YI Y Q, et al. Why plasma-activated water treatment reduced the malonaldehyde content in muscle foods[J]. *Food Chemistry*, 2023, 403: 134387. DOI:10.1016/j.foodchem.2022.134387.
- [14] CHOI J H, JEONG J Y, HAN D J, et al. Effects of pork/beef levels and various casings on quality properties of semi-dried jerky[J]. *Meat Science*, 2008, 80(2): 278-286. DOI:10.1016/j.meatsci.2007.11.028.
- [15] FOLCH J, LEES M, SLOANE STANLEY G H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1957, 226(1): 497-509. DOI:10.1016/S0021-9258(18)64849-5.
- [16] GARCÍA REGUEIRO J A, GIBERT J, DÍAZ I. Determination of neutral lipids from subcutaneous fat of cured ham by capillary gas chromatography and liquid chromatography[J]. *Journal of Chromatography. A*, 1994, 667(1/2): 225-233. DOI:10.1016/0021-9673(94)89071-4.
- [17] GAO W H, HUANG Y P, ZENG X N, et al. Effect of soluble soybean polysaccharides on freeze-denaturation and structure of myofibrillar protein of bighead carp surimi with liquid nitrogen freezing[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 135: 839-844. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2019.05.186.
- [18] BENJAKUL S, VISESSANGUAN W, THONGKAEW C, et al. Comparative study on physicochemical changes of muscle proteins from some tropical fish during frozen storage[J]. *Food Research International*, 2003, 36(8): 787-795. DOI:10.1016/S0963-9969(03)00073-5.
- [19] LIN J, HONG H, ZHANG L T, et al. Antioxidant and cryoprotective effects of hydrolysate from gill protein of bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*) in preventing denaturation of frozen surimi[J]. *Food Chemistry*, 2019, 298: 124868. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.05.142.
- [20] HUANG Y F, WANG Y F, LI Y Q, et al. Covalent immobilization of polypeptides on polylactic acid films and their application to fresh beef preservation[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(39): 10532-10541. DOI:10.1021/acs.jafc.0c03922.
- [21] CHENG Y X, HU J F, WU S J. Chitosan based coatings extend the shelf-life of beef slices during refrigerated storage[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2021, 138: 110694. DOI:10.1016/j.lwt.2020.110694.
- [22] ZHOU F B, JONGBERG S, ZHAO M M, et al. Iron(II) initiation of lipid and protein oxidation in pork: the role of oxymyoglobin[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(22): 4618-4626. DOI:10.1021/acs.jafc.6b01168.
- [23] 毕玉莹, 杨啸吟, 张一敏, 等. 不同超高压处理对DFD牛肉肉质及货架期的影响[J]. *肉类研究*, 2024, 38(4): 30-35. DOI:10.7506/rlyj1001-8123-20240407-069.
- [24] HERIANTO S, HOU C Y, LIN C M, et al. Nonthermal plasma-activated water: a comprehensive review of this new tool for enhanced food safety and quality[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2021, 20(1): 583-626. DOI:10.1111/1541-4337.12667.
- [25] 夏立志, 鲁玉凤, 李强, 等. 3种磷酸盐对白鲢鱼肌原纤维蛋白磷酸化的影响[J]. *肉类研究*, 2024, 38(1): 10-18. DOI:10.7506/rlyj1001-8123-20240122-026.
- [26] LI K, ZHANG Y M, MAO Y W, et al. Effect of very fast chilling and aging time on ultra-structure and meat quality characteristics of Chinese Yellow cattle *M. longissimus lumborum*[J]. *Meat Science*, 2012, 92(4): 795-804. DOI:10.1016/j.meatsci.2012.07.003.
- [27] 李伟. 椰浆添加量对发酵椰子酸乳品质的影响[J]. *乳业科学与技术*, 2022, 45(6): 12-17. DOI:10.7506/rykxyjs1671-5187-20220930-062.
- [28] 段昌圣, 赵双娟, 黄文, 等. 三聚磷酸盐对鸭肉品质的影响[J]. *食品科学*, 2013, 34(7): 62-66. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201307014.
- [29] 李林强, 咎林森, 张宝珣. 超声辅助氯化钙浸泡处理对牛肉嫩度的影响[J]. *农业工程学报*, 2009, 25(6): 290-295. DOI:10.3969/j.issn.1002-6819.2009.06.054.
- [30] PELLISSERY A J, VINAYAMOHAN P G, AMALARADJOU M A R, et al. Spoilage bacteria and meat quality[M]//BISWAS A K, MANDAL P K. *Meat quality analysis*. Amsterdam: Elsevier, 2020: 307-334. DOI:10.1016/b978-0-12-819233-7.00017-3.
- [31] MA R N, YU S, TIAN Y, et al. Effect of non-thermal plasma-activated water on fruit decay and quality in postharvest Chinese bayberries[J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2016, 9(11): 1825-1834. DOI:10.1007/s11947-016-1761-7.
- [32] KONG D W, LIU J Q, WANG J, et al. Effects of ultrasound-assisted immersion thawing in plasma-activated water on thawing rate, quality characteristics, lipid and protein oxidation of porcine longissimus dorsi[J]. *Food Chemistry*, 2024, 460: 140424. DOI:10.1016/j.foodchem.2024.140424.
- [33] LIAO X Y, SU Y, LIU D H, et al. Application of atmospheric cold plasma-activated water (PAW) ice for preservation of shrimps (*Metapenaeus ensis*)[J]. *Food Control*, 2018, 94: 307-314. DOI:10.1016/j.foodcont.2018.07.026.
- [34] HADINOTO K, YANG H X, ZHANG T Q, et al. The antimicrobial effects of mist spraying and immersion on beef samples with plasma-activated water[J]. *Meat Science*, 2023, 200: 109165. DOI:10.1016/j.meatsci.2023.109165.
- [35] 孟文翔, 游伟, 路一航, 等. 不同大理石花纹等级牛肉的质构特性与营养成分分析[J]. *中国畜牧杂志*, 2024, 60(6): 339-343. DOI:10.19556/j.0258-7033.20231130-03.
- [36] 陈明, 袁婷, 涂俏, 等. 黑切牛肉贮藏过程中活性氧相对含量变化及其与肉质指标相关性分析[J]. *肉类研究*, 2023, 37(5): 11-17. DOI:10.7506/rlyj1001-8123-20230209-013.
- [37] CHAMBA M V M, HUA Y F, KATTIYO W. Oxidation and structural modification of full-fat and defatted flour based soy protein isolates induced by natural and synthetic extraction chemicals[J]. *Food Biophysics*, 2014, 9(3): 193-202. DOI:10.1007/s11483-014-9333-8.