

# 柠檬精油纳米乳液对调理猪肉饼保鲜效果研究

邵楚瑶, 戴瑞彤\*

(中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

**摘 要:** **目的** 研究柠檬精油纳米乳液的抗氧化性及抑菌效果, 并应用于调理猪肉饼研究其保鲜效果。**方法** 以酪蛋白酸钠、柠檬精油为主要原料, 采用超声法制备柠檬精油纳米乳液, 通过 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH)、羟自由基清除实验研究柠檬精油纳米乳液的抗氧化效果, 用抑菌圈法研究柠檬精油纳米乳液对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌的抑菌效果。将柠檬精油纳米乳液加入到调理猪肉饼中, 测量贮藏期间调理猪肉饼色泽、质构、硫代巴比妥酸(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS)值和菌落总数的变化。**结果** 在同等精油浓度下, 柠檬精油纳米乳液组的抗氧化效果优于柠檬精油组, 柠檬精油纳米乳液具有较好的抑菌效果, 且对大肠杆菌的抑制效果最好。将柠檬精油纳米乳液应用于调理猪肉饼的保鲜, 以空白组和精油组作对照, 发现贮藏期间乳液处理能较好地维持调理猪肉饼的质构特性, 乳液组 TBARS 值较低, 菌落总数最小, 色泽变化幅度较小。乳液处理能将保质期延长 4 d。**结论** 柠檬精油纳米乳液能够延缓、阻断肉制品的氧化, 抑制微生物繁殖, 具有较好的保鲜效果。

**关键词:** 柠檬精油; 纳米乳液; 调理猪肉饼; 抗氧化性; 抑菌性

## Study on the effects of nano-emulsion of lemon essential oil on fresh-keeping of marinated pork patty

SHAO Chu-Yao, DAI Rui-Tong\*

(College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

**ABSTRACT: Objective** To study the antioxidant and bacteriostatic effects of lemon essential oil nano-emulsion, and study its preservation effects of marinated pork patty. **Methods** Lemon essential oil nano-emulsion was prepared by ultrasonic method using sodium caseinate, lemon essential oil as the main raw material, the antioxidant effects of nano-emulsion was analyzed by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), hydroxyl radical scavenging method, and the bacteriostatic effects of the nano-emulsion on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* were analyzed using bacteriostatic circle method. The color, texture, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) value and total bacterial count of marinated pork patty were measured by adding lemon essential oil nano-emulsion during storage. **Results** Under the same concentration, the antioxidant effects of nano-emulsion were better than lemon essential oil, the nano-emulsion had better antibacterial effect, and the inhibition effect on *Escherichia coli* was the best. The effects of nano-emulsion on the fresh-keeping of marinated pork patty were studied and compared with the control group and the essential oil group, the results indicated that

基金项目: “十三五”国家重点研发计划项目(2016YFD0400400)

Fund: Supported by the Key Research and Development Project of 13th Five-year Plan (2016YFD0400400)

\*通信作者: 戴瑞彤, 博士, 教授, 主要研究方向为肉品科学与肉品加工技术研究。E-mail: dairuitong@vip.sina.com

\*Corresponding author: DAI Rui-Tong, Ph.D, Professor, College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China. E-mail: dairuitong@vip.sina.com

nano-emulsion could maintain the texture properties of the pork patty, the emulsion group had lower TBARS value, the least total number of bacteria, and the color change was insignificant. The shelf life could be extended for 4 days.

**Conclusion** Nano-emulsion of lemon essential oil can delay the oxidation of marinated pork patty and inhibit the multiplication of microorganism, and has a good preservation effect.

**KEY WORDS:** lemon essential oil; nano-emulsion; marinated pork patty; antioxidant; bacteriostatic

## 0 引言

随着生活节奏的加快,调理肉制品因具有食用方便、风味好等优点逐渐进入人们的日常生活<sup>[1-2]</sup>。调理肉制品是指以畜禽肉为主要原料,经绞制或切制后添加调味料,再经过搅拌、调味或预加热等工艺处理,在冷藏或冷冻条件下贮藏、流通和销售,经简单烹饪处理即可食用的肉制品。常见的有调理鸡胸肉、调理猪排、调理肉串、调理肉饼等<sup>[3-5]</sup>。但是,调理肉制品在加工贮藏过程中易被微生物污染及蛋白质、脂质氧化,发生腐败变质,造成产品品质劣变。因此开展调理肉制品保鲜方法的研究,延长调理肉制品货架期,具有一定的研究意义和研究价值。

柠檬精油是从柠檬皮中提取的,含有萜烯、醛类、脂类等多种挥发性成分的淡黄色油状物<sup>[6-8]</sup>。其中柠檬烯是柠檬精油的主要成分,含量高达80%以上,具有抗氧化、抑菌等活性,被食品与药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)列为公认安全的食品添加剂,可广泛用于食品和饮料中<sup>[9-11]</sup>。肖娟<sup>[12]</sup>研究发现提取到的柠檬精油具有较强的抗氧化活性和亚硝酸盐清除能力,且抗氧化活性强于柠檬烯、 $\beta$ -蒎烯等。但由于柠檬精油难溶于水,具有易挥发性和易氧化的特性,很难在食品中稳定持久存在,导致其实际应用率较低。因此,采用安全无毒的载体对精油进行包埋,以乳液的形式将其添加到食品,不仅能提高精油的稳定性,还能控制其释放速度,延长精油的作用时间,是较为有效的解决措施。纳米乳液由水相、油相和表面稳定剂组成,具有较好的流动性和稳定性,能有效增强活性成分的利用度和吸收率,广泛应用于食品、医药、化妆品等领域<sup>[13-15]</sup>。纳米包埋既能实现对活性化合物的保护,同时又具有控释和靶向性功能<sup>[16-17]</sup>。蒋书歌等<sup>[18]</sup>将柑橘精油制备成纳米乳液后,其抑菌活性提高,是纯精油的2.5倍,且对菌体结构的破坏作用更加显著。

目前,调理肉制品的保鲜技术研究主要集中于贮藏条件的优化,对植物精油及纳米乳液应用于调理肉制品的保鲜效果研究相对较少,主要集中在丁香精油、八角精油等对调理肉制品的保鲜作用,缺少柠檬精油对调理肉制品保鲜效果的研究,且纳米包埋技术应用也相对较少<sup>[19-20]</sup>。因此,本研究通过制备柠檬精油纳米乳液,研究其抗氧化、抑菌效果,同时应用于调理肉饼的保鲜,为调理肉制品保鲜方法的研究提供理论支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

柠檬精油(食品级,江西环球天然香料有限公司);酪蛋白酸钠(食品级,和政县华龙乳制品有限公司);食盐、冰鲜猪五花肉(盒马鲜生)。

菌种(大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌)由上海保藏生物技术中心提供。

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH)、水杨酸、硫酸亚铁、 $H_2O_2$ 、二丁基羟基甲苯、硫代巴比妥酸(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS)(分析纯,北京索莱宝科技有限公司);三氯乙酸(分析纯,上海麦克林生化科技有限公司);无水乙醇、丙酮、1,1,3,3-四乙氧基丙烷(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);氯化钠(分析纯,北京化工厂)。

### 1.2 仪器与设备

FA25 超细匀浆机(上海 FLUKO 流体机械制造有限公司); MS-H380-Pro 磁力搅拌器[大龙兴创实验仪器(北京)股份公司]; JY92-IIDN 超声细胞破碎仪(宁波新芝生物科技股份有限公司); Evolution60 紫外-可见分光光度计(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); YP6002 电子天平(精度 0.01 g, 上海佑科仪器仪表有限公司); JT-10 拍打均质机(杭州聚同电子有限公司); CT-3 质构仪(美国 Brookfield 公司); CR-400 色差仪(日本柯尼卡-美能达公司); BK-124002 游标卡尺(美国邦克工具); HH-W600 数-显恒温水浴箱(金坛市科析仪器有限公司); TGL20M 高速冷冻离心机(盐城市凯特实验仪器有限公司); YXQ-LS-100A 立式压力蒸汽灭菌器、LRH-250F 生化培养箱(上海博讯实业有限公司); SW-CJ-2D 超净工作台(济南道迪医疗器械有限公司)。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 柠檬精油纳米乳液制备方法

在室温条件下,将酪蛋白酸钠溶于去离子水中,质量比为 1:6.9,用磁力搅拌器在 500 r/min 条件下搅拌至充分溶解作为水相。向酪蛋白酸钠溶液中逐滴加入柠檬精油(酪蛋白酸钠含量为 12.69%,柠檬精油含量为 3%),继续搅拌 2 h,用匀浆机在 19000 r/min 下剪切 5 min,得到柠檬精油粗乳液。最后将柠檬精油粗乳液用超声细胞破碎仪进行超声处理,超声功率为 327 W,超声时间为 18 min,得到柠檬

精油纳米乳液, 放置 4 °C 冰箱中备用。

### 1.3.2 自由基清除实验

#### (1) DPPH 自由基清除实验

参照李季楠等<sup>[21]</sup>的方法进行 DPPH 自由基清除实验: 在室温条件下, 准确配制 0.1 mmol/L DPPH 溶液, 吸取 100  $\mu$ L 乳液样品与 3 mL DPPH 溶液混合均匀, 暗处反应 20 min, 再于 5000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 于 517 nm 波长处测定吸光度, 记为  $A_i$ ; 吸取 100  $\mu$ L 乳液样品与 3 mL 体积分数 95% 的乙醇溶液混合反应后, 于相同条件下测定吸光度, 记为  $A_j$ ; 吸取 100  $\mu$ L 体积分数 95% 的乙醇溶液与 3 mL DPPH 溶液混合反应后, 于相同条件下测定吸光度, 记为  $A_0$ 。对照组以 3% 柠檬精油溶液(溶于乙醇中)代替柠檬精油纳米乳液, 其他操作不变。用公式(1)计算 DPPH 自由基清除率。

$$\text{DPPH 清除率}/\% = (1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}) \times 100\% \quad (1)$$

式(1)中:  $A_i$  为样品管的吸光度;  $A_j$  为不加 DPPH 试剂时的吸光度;  $A_0$  为不加样品的吸光度。

#### (2) 羟自由基清除实验

参照周昊等<sup>[22]</sup>的方法进行羟自由基清除实验: 在室温条件下, 配制质量浓度分别为 5、10、15、20、25、30 mg/mL 的柠檬精油纳米乳液。在 10 mL 比色管中分别加入 1.0 mL 的柠檬精油纳米乳液、1.0 mL 浓度为 2 mmol/L 的水杨酸乙醇溶液、1.2 mL 浓度为 1.0 mmol/L 的  $\text{FeSO}_4$  溶液以及 1.0 mL 浓度为 2.0 mmol/L 的  $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液, 反应 0.5 h 后, 在 510 nm 波长处测其吸光度  $A_1$ 。空白实验组以 1.0 mL 蒸馏水代替柠檬精油纳米乳液, 其他操作不变, 所得吸光度为  $A_2$ ; 对照组以一系列含有相同质量浓度的柠檬精油替代柠檬精油纳米乳液, 其他操作不变。不加  $\text{H}_2\text{O}_2$  时 510 nm 处的吸光度为  $A_3$ 。对照组以 3% 柠檬精油溶液(溶于乙醇中)代替柠檬精油纳米乳液, 其他操作不变。用公式(2)计算样品对羟自由基的清除能力。

$$\text{羟自由基清除率}/\% = (1 - \frac{A_1 - A_3}{A_2}) \times 100\% \quad (2)$$

式(2)中:  $A_1$  为样品管的吸光度;  $A_2$  为空白管的吸光度;  $A_3$  为不加  $\text{H}_2\text{O}_2$  时样品管的吸光度。

### 1.3.3 抑菌效果研究

采用滤纸片琼脂扩散法测定柠檬精油纳米乳液的抑菌效果<sup>[23]</sup>: 用打孔器在滤纸片上打出直径为 6 mm 的圆形滤纸片, 经 121 °C、20 min 高压蒸汽灭菌后烘干备用。将灭菌后的平板计数琼脂倒入培养皿中, 在超净台内自然冷却至完全凝固。向固体培养基内分别加入大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌菌悬液 0.1 mL, 涂布均匀后放置 3 min。将烘干的滤纸片浸入柠檬精油质量分数为 1%、2%、3%、4% 的柠檬精油纳米乳液中充分浸泡 2 h 后用无菌镊子夹出, 夹出时在容器边缘滤掉多余乳液。将滤纸片

轻放于培养基表面, 每个处理平行 3 次, 用无菌水做空白对照。对照组将相同质量分数的柠檬精油溶液(溶于丙酮中)代替柠檬精油纳米乳液, 用丙酮做空白对照, 其他操作不变。将平板移入培养箱中, 于 37 °C 条件下培养 24 h。用游标卡尺测量抑菌圈直径, 结果取平均值。

### 1.3.4 调理肉饼的制备

在室温条件下, 将新鲜猪瘦肉用绞肉机绞碎, 加入剁碎的猪背膘, 瘦肉、肥肉按 3:2 质量比混合均匀后分为 3 组, 分别为空白组、精油组和乳液组。空白组中添加 2% 食盐、20% 水, 精油组加入 2% 食盐、19.7% 水、0.3% 柠檬精油, 乳液组加入 2% 食盐、10% 水、10% 柠檬精油纳米乳液。各组充分搅拌 30 min 至完全吸收, 将肉糜制成 50 g 左右的肉饼, 放入 4 °C 冰箱中, 每隔一定时间取样测定各指标。

### 1.3.5 贮藏期间色泽的变化

使用测色仪进行测定, 每个样品取 3 个位置进行检测, 记录  $L^*$ 、 $a^*$  和  $b^*$ 。每组样品测定 6 次, 取平均值。

### 1.3.6 贮藏期间肉饼质构的变化

将样品分割成 1.5 cm×1.5 cm×1.5 cm 的肉块, 选取硬度、内聚性、弹性、咀嚼性等指标进行测定, 测试类型为质地剖面分析测试模式: 使用 TA3/100 不锈钢探头; 测试速率为 1 mm/s, 触发点负载为 7 g, 样品压缩形变率为 30%, 设置循环 2 次, 两次循环间隔时间为 5 s, 每组设置 6 个重复。

### 1.3.7 贮藏期间肉饼 TBARS 值的变化

参照 ERKAN 等<sup>[24]</sup>的方法测定 TBARS 值。取 2 g 不同处理组的肉饼剪碎, 加入 16 mL 5% 三氯乙酸溶液和 100  $\mu$ L 2 g/L 二丁基羟基甲苯溶液, 匀浆 2 min, 在 5000 r/min 条件下离心 5 min, 取 5 mL 上清液, 加入 1 mL 0.01 mol/L TBARS 溶液, 振荡混合均匀后, 沸水浴 40 min, 自然冷却至室温, 在 532 nm 处测定其吸光度。TBARS 值计算公式见(3)。

$$\text{TBARS 值} = 10.21 \times \text{OD} + 1.13 \times 10^{-4} \quad (3)$$

式(3)中: TBARS 值: 硫代巴比妥酸反应物, 单位为 mg 丙二醛/kg; 光密度(optical density, OD): 532 nm 处测得的吸光度; 10.21 和  $1.13 \times 10^{-4}$  由 1,1,3,3-四乙氧基丙烷测定并绘制标准曲线获得。

### 1.3.8 贮藏期间肉饼菌落总数的变化

参考方曙<sup>[25]</sup>的方法并进行修改: 在无菌环境下称取 2 g 调理肉饼, 移入无菌采样袋中, 倒入 18 mL 0.85% 无菌生理盐水, 使用均质机拍打 1 min。取 1 mL 菌液依次进行 10 倍稀释, 选取 3 个适宜稀释度, 分别吸取 0.1 mL 至平板计数琼脂培养基, 每个样品做 3 个重复。将平板倒置后移入 37 °C 培养箱中, 48 h 后进行菌落计数。

## 1.4 数据处理方法

实验重复 3 次, 结果表示为  $\bar{x} \pm s$ , SPSS Statistics 22.0 软件开展显著性分析, Origin 2018b 软件作图。

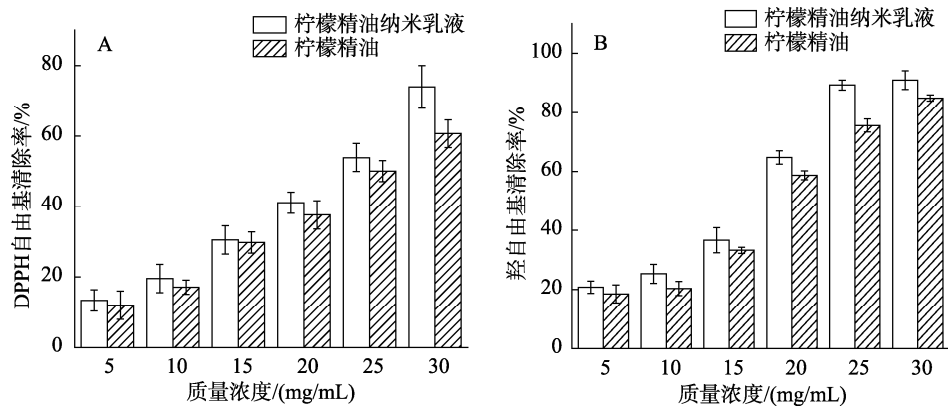
2 结果与分析

2.1 自由基清除实验结果

柠檬精油、柠檬精油纳米乳液对 DPPH、羟自由基清除率结果如图 1 所示。结果表明, 随着样品中柠檬精油和乳液质量浓度的增加, 自由基清除能力也得到增强, 表明柠檬精油具有较好的抗氧化能力。在相同质量分数时, 柠檬精油纳米乳液的 DPPH 自由基、羟自由基清除效果均优于柠檬精油溶液, 其原因可能是纯精油的水溶性较差, 抗氧化活性较低; 而柠檬精油纳米乳液在水体系中有良好的溶解性, 能有效快速渗透活性成分, 表现出更高的还原能力, 从而显著提高柠檬精油的抗氧化能力<sup>[26]</sup>。同时, 酪蛋白酸钠能够螯合金属离子和清除自由基, 增强乳液的抗氧化效果。LOI 等<sup>[27]</sup>发现酪蛋白酸钠是一种良好的铁黏合剂, 可以作为减少油滴和氧气相互作用的屏障, 延缓脂质氧化, 显著提高乳液的氧化稳定性。

2.2 抑菌圈实验结果

由表 1 可知, 柠檬精油及其纳米乳液对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌均有较强的抑制效果, 且随着柠檬精油含量的增加, 抑菌效果也不断增强。实验结果表明丙酮、无菌水均无抑菌现象, 与精油组相比, 纳米乳液组表现出更强的抑菌效果, 其原因可能是精油转变为纳米溶液后, 增大了溶液的水溶性, 让精油更容易接触到细菌细胞<sup>[28]</sup>。同一浓度柠檬精油纳米乳液对大肠杆菌的抑菌效果最好, 其次为金黄色葡萄球菌, 而对铜绿假单胞菌抑菌效果最差。当精油含量为 1% 时, 对 3 种菌的作用效果均不明显。章斌等<sup>[9]</sup>对柠檬果皮精油中的主要成分做抑菌效果研究, 发现柠檬烯、 $\gamma$ -萜品烯、 $\alpha$ -松油醇均表现出抑菌效果, 但抑菌效果均低于同浓度的柠檬精油, 表明柠檬精油中由多个组分共同发挥抑菌效果。邢旭亚<sup>[29]</sup>通过观察扫描电子显微镜发现, Nisin 及 D-柠檬烯复合油凝胶纳米乳液作用于微生物 3 h, 能破坏菌体细胞膜, 增大细胞膜的通透性, 从而起到抑菌效果。



注: A: DPPH 自由基清除率; B: 羟自由基清除率。

图 1 柠檬精油纳米乳液和柠檬精油自由基清除作用(n=3)

Fig.1 Free radical scavenging effects of nano-emulsion and lemon essential oil (n=3)

表 1 柠檬精油及其纳米乳液抑菌效果研究(n=3,  $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Study on bacteriostatic effects of lemon essential oil and its nano-emulsion (n=3,  $\bar{x} \pm s$ )

| 菌       |      | 抑菌圈/mm |                         |                          |                          |
|---------|------|--------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
|         |      | 1%     | 2%                      | 3%                       | 4%                       |
| 大肠杆菌    | 柠檬精油 | -      | 6.73±0.31 <sup>cA</sup> | 8.60±0.10 <sup>bA</sup>  | 10.46±0.21 <sup>aA</sup> |
|         | 纳米乳液 | -      | 8.73±0.68 <sup>cA</sup> | 10.03±0.21 <sup>bA</sup> | 11.40±0.45 <sup>aA</sup> |
| 金黄色葡萄球菌 | 柠檬精油 | -      | 6.26±0.21 <sup>cA</sup> | 7.70±0.30 <sup>bB</sup>  | 8.63±0.51 <sup>aB</sup>  |
|         | 纳米乳液 | -      | 7.60±0.34 <sup>cB</sup> | 8.67±0.47 <sup>bB</sup>  | 9.47±0.15 <sup>aB</sup>  |
| 铜绿假单胞菌  | 柠檬精油 | -      | -                       | 6.43±0.25 <sup>bC</sup>  | 7.56±0.21 <sup>aC</sup>  |
|         | 纳米乳液 | -      | 6.93±0.15 <sup>cB</sup> | 7.83±0.32 <sup>bC</sup>  | 8.63±0.23 <sup>aC</sup>  |

注: -为抑菌圈直径小于或等于 6 mm; 不同小写字母表示不同浓度间存在显著差异(P<0.05); 不同大写字母表示不同菌种间存在显著差异(P<0.05)。

2.3 贮藏期间调理肉饼色泽变化

色泽是调理肉制品的重要指标之一，可以通过肉眼直观地判断调理肉制品的质量。图 2 是贮藏期间调理肉饼的  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$  的变化情况。结果表明，空白组贮藏期间的  $L^*$ 、 $a^*$  整体呈现下降趋势， $b^*$  整体呈现上升趋势。其主要原因是肉饼的色泽与其肌肉组织中的肌红蛋白铁离子的价态密切相关，贮藏过程中二价铁离子被氧化成三价铁离子时，肉色变暗，且颜色从鲜红色变成褐色，即表现为  $L^*$ 、 $a^*$  下降， $b^*$  上升。与空白组相比，添加纳米乳液组和柠檬精油组的调理肉饼初始  $L^*$  较低，而  $a^*$ 、 $b^*$  稍高。其主要原因是柠檬精油及纳米乳液均为淡黄色，对肉饼的初始色泽有一定的影响。李颖等<sup>[30]</sup>研究发现，石榴皮提取物能有效改善生肉饼贮藏过程中的  $b^*$ ，但对  $L^*$  和  $a^*$  均有一定的负面作用。贮藏期间，柠檬精油组的  $L^*$ 、 $a^*$  呈现下降趋势，而纳米乳液组  $L^*$ 、 $a^*$  变化幅度相对较小。其原因可能是柠檬精油与柠檬精油纳米乳液在一定程度上抑制了蛋白及脂质氧化。

2.4 贮藏期间调理肉饼质构变化

表 2 是各处理组在贮藏期间硬度、内聚性、弹性、咀嚼性的变化。研究表明，硬度、弹性、咀嚼性之间存在一定的相关性，硬度较大时，样品恢复形变的速度越快，即弹性越大，抗拒牙齿咬合的能力也随之加强，即样品咀嚼至吞咽状态需要更多的能量<sup>[31]</sup>。在贮藏期间，空白组的硬度、弹性、咀嚼性总体呈下降趋势，可能原因是随着脂质氧化和蛋白质氧化，调理肉饼的结合力下降，肉质松散，硬度下降。精油组各指标在 0~6 d 表现出较好的稳定性，但随着贮藏时间的延长，精油组调理猪肉饼的硬度、咀嚼性显著降低( $P<0.05$ )。其可能原因是随着贮藏时间的延长，柠檬精油挥发或被氧化，不能很好地维持调理肉饼的质构特性。与精油组相比，纳米乳液组各指标的稳定性更好，贮藏期间基本无显著变化，表明纳米乳液能较好地维持调理肉饼的质构特性。

2.5 贮藏期间调理肉饼 TBARS 值变化

TBARS 值是反映样品脂质氧化程度的重要指标。通常认为生肉的 TBARS 值高于 0.5 mg MDA/kg 时，样品中脂质开始氧化，当 TBARS 值高于 5 mg MDA/kg 时，肉制品开始腐败变质<sup>[32]</sup>。由图 3 可知，随着贮藏天数的增加，调理肉饼逐渐发生脂质氧化。贮藏前 3 d，空白组、精油组的

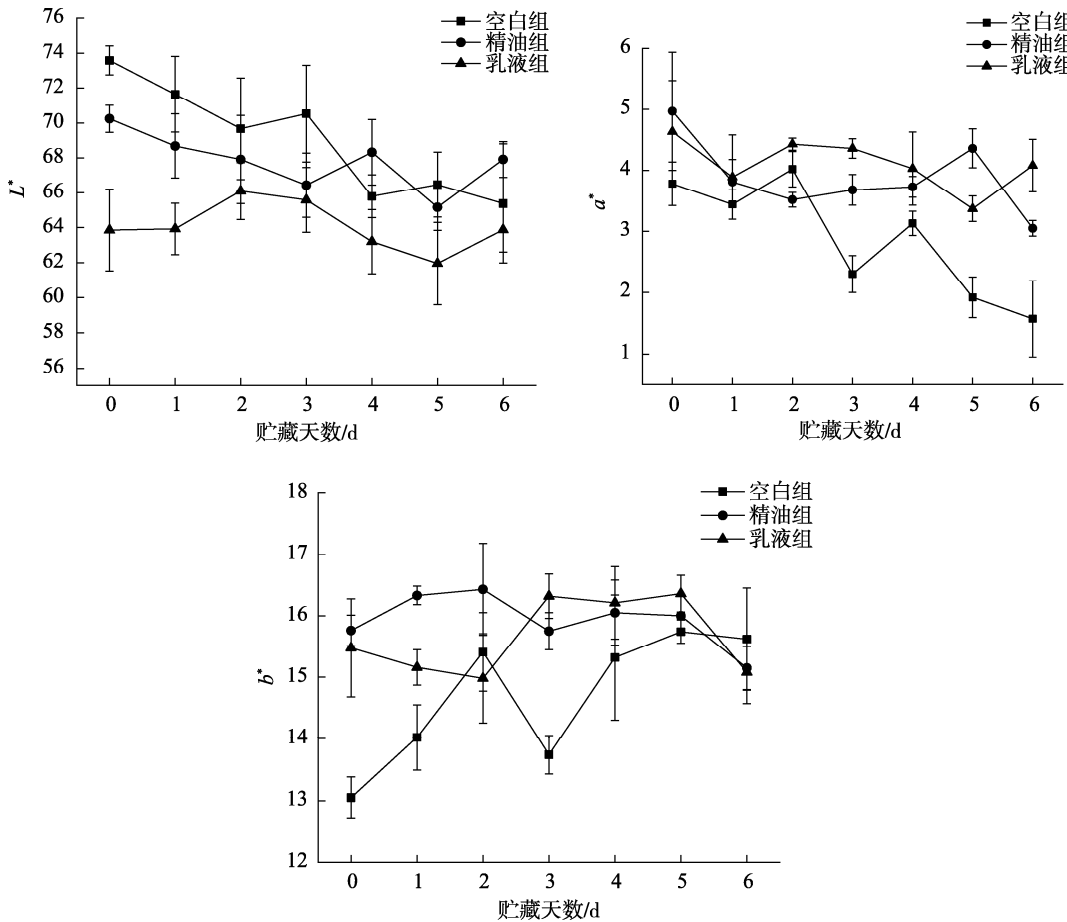


图 2 贮藏期间调理肉饼色泽变化(n=6)  
Fig.2 Color changes of marinated pork patty during storage (n=6)

表 2 贮藏期间调理肉饼质构变化(n=6,  $\bar{x} \pm s$ )  
Table 2 Texture changes of marinated pork patty during storage (n=6,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别     | 贮藏天数/d |                                     |                                     |                                         |                                        |                                         |                                         |                                      |                                        |
|--------|--------|-------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------------|
|        | 0      | 1                                   | 2                                   | 3                                       | 4                                      | 5                                       | 6                                       | 7                                    |                                        |
| 硬度/g   | 空白组    | 967.75±46.36 <sup>aA</sup>          | 746.25±347.77 <sup>bA</sup>         | 496.00±25.56 <sup>b<sup>ab</sup></sup>  | 536.50±67.17 <sup>b<sup>ab</sup></sup> | 621.83±105.77 <sup>b<sup>ab</sup></sup> | 597.87±73.83 <sup>b<sup>ab</sup></sup>  | 382.13±43.08 <sup>aB</sup>           | 411.50±40.67 <sup>c<sup>ab</sup></sup> |
|        | 精油组    | 1008.13±73.81 <sup>aA</sup>         | 951.88±118.63 <sup>aA</sup>         | 585.88±119.59 <sup>b<sup>ab</sup></sup> | 822.13±113.10 <sup>aA</sup>            | 877.63±211.06 <sup>aA</sup>             | 766.88±180.30 <sup>a<sup>ab</sup></sup> | 838.00±63.32 <sup>aA</sup>           | 463.63±92.35 <sup>c<sup>ab</sup></sup> |
|        | 乳液组    | 1056.00±36.19 <sup>aA</sup>         | 956.00±149.81 <sup>aA</sup>         | 928.00±177.83 <sup>aA</sup>             | 981.25±219.05 <sup>aA</sup>            | 1041.50±261.05 <sup>aA</sup>            | 962.83±137.02 <sup>aA</sup>             | 936.17±214.18 <sup>aA</sup>          | 959.92±339.61 <sup>aA</sup>            |
| 内聚性    | 空白组    | 0.67±0.01 <sup>aA</sup>             | 0.66±0.02 <sup>aA</sup>             | 0.63±0.07 <sup>aA</sup>                 | 0.65±0.06 <sup>aA</sup>                | 0.62±0.05 <sup>aA</sup>                 | 0.64±0.02 <sup>aA</sup>                 | 0.62±0.03 <sup>aA</sup>              | 0.66±0.03 <sup>aA</sup>                |
|        | 精油组    | 0.65±0.02 <sup>b<sup>ab</sup></sup> | 0.64±0.03 <sup>c<sup>da</sup></sup> | 0.68±0.02 <sup>bA</sup>                 | 0.67±0.01 <sup>bA</sup>                | 0.62±0.01 <sup>dA</sup>                 | 0.63±0.03 <sup>dA</sup>                 | 0.66±0.02 <sup>b<sup>ca</sup></sup>  | 0.72±0.02 <sup>a<sup>ba</sup></sup>    |
|        | 乳液组    | 0.64±0.02 <sup>a<sup>ab</sup></sup> | 0.61±0.02 <sup>bA</sup>             | 0.65±0.02 <sup>a<sup>ab</sup></sup>     | 0.66±0.02 <sup>aA</sup>                | 0.63±0.02 <sup>a<sup>ab</sup></sup>     | 0.61±0.01 <sup>bA</sup>                 | 0.64±0.04 <sup>a<sup>ba</sup></sup>  | 0.66±0.05 <sup>a<sup>ba</sup></sup>    |
| 弹性/mm  | 空白组    | 4.91±0.07 <sup>aA</sup>             | 4.71±0.30 <sup>aA</sup>             | 3.86±0.25 <sup>bA</sup>                 | 4.05±0.32 <sup>bA</sup>                | 3.99±0.11 <sup>bA</sup>                 | 4.03±0.38 <sup>bA</sup>                 | 4.34±0.34 <sup>a<sup>ba</sup></sup>  | 3.91±0.25 <sup>bA</sup>                |
|        | 精油组    | 4.92±0.02 <sup>aA</sup>             | 4.89±0.05 <sup>aA</sup>             | 4.09±0.26 <sup>aA</sup>                 | 4.15±0.13 <sup>aA</sup>                | 4.58±1.98 <sup>aA</sup>                 | 4.04±0.13 <sup>aA</sup>                 | 4.07±0.28 <sup>aA</sup>              | 4.16±0.16 <sup>aA</sup>                |
|        | 乳液组    | 4.88±0.07 <sup>aA</sup>             | 4.82±0.13 <sup>aA</sup>             | 4.18±0.16 <sup>b<sup>ca</sup></sup>     | 4.06±0.44 <sup>b<sup>cd</sup></sup>    | 3.74±0.21 <sup>dA</sup>                 | 4.05±0.30 <sup>b<sup>cd</sup></sup>     | 4.30±0.25 <sup>bA</sup>              | 3.91±0.18 <sup>c<sup>da</sup></sup>    |
| 咀嚼性/mJ | 空白组    | 28.68±2.38 <sup>aB</sup>            | 21.65±6.64 <sup>aA</sup>            | 10.65±4.51 <sup>b<sup>ab</sup></sup>    | 15.08±3.39 <sup>b<sup>ab</sup></sup>   | 15.47±4.76 <sup>bA</sup>                | 15.32±1.03 <sup>b<sup>ab</sup></sup>    | 10.40±0.80 <sup>b<sup>ab</sup></sup> | 12.18±1.52 <sup>b<sup>ab</sup></sup>   |
|        | 精油组    | 33.08±2.10 <sup>aA</sup>            | 30.03±3.56 <sup>aA</sup>            | 16.30±3.19 <sup>c<sup>db</sup></sup>    | 23.45±3.52 <sup>a<sup>bc</sup></sup>   | 24.82±9.80 <sup>a<sup>ba</sup></sup>    | 19.88±5.33 <sup>b<sup>cd</sup></sup>    | 23.05±3.39 <sup>a<sup>bc</sup></sup> | 14.02±3.01 <sup>d<sup>B</sup></sup>    |
|        | 乳液组    | 33.20±0.73 <sup>aA</sup>            | 29.08±4.40 <sup>aA</sup>            | 25.58±4.85 <sup>aA</sup>                | 27.35±8.95 <sup>aA</sup>               | 25.37±7.52 <sup>aA</sup>                | 24.38±4.41 <sup>aA</sup>                | 26.60±7.27 <sup>aA</sup>             | 25.28±9.00 <sup>aA</sup>               |

注: 同一行不同小写字母表示不同贮藏天数内存在显著差异(P<0.05); 同一指标同一列不同大写字母表示不同处理组间存在显著差异(P<0.05)。

TBARS 值上升相对缓慢,这是因为在贮藏初期,脂肪主要发生初级氧化,形成的氢过氧化物未大量分解,丙二醛含量相对较低,同时,丙二醛能与肉中的蛋白质、氨基酸、糖原等发生反应,使得丙二醛含量增加缓慢或略有下降。贮藏第 3~6 d,空白组的 TBARS 值逐渐升高,其原因是氢过氧化物不断分解成次级氧化产物丙二醛,随着贮藏时间的延长,丙二醛不断积累,使得 TBARS 值不断升高。与空白组相比,乳液组氧化程度相对较低,表明纳米乳液能有效缓解肉饼的脂质氧化,起到较好的抗氧化效果。与精油组相比,乳液组肉饼 TBARS 值相对较低,可能是在贮藏过程中,精油组中的柠檬精油部分被氧化,而纳米乳液中的柠檬精油由于被包埋而相对稳定,抑制了其氧化。

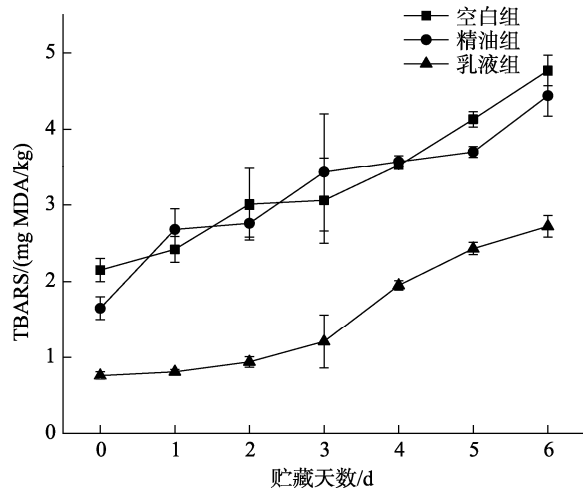


图 3 贮藏期间调理肉饼 TBARS 值变化(n=3)

Fig.3 Changes in TBARS values of marinated pork patty during storage (n=3)

2.6 贮藏期间调理肉饼菌落总数的变化

菌落总数在一定程度上可以代表产品的新鲜程度,常作为评价食品卫生质量的标准。农业行业标准 NY/T 2073—2011《调理肉制品加工技术规范》中指出,预制类调理肉制品中细菌总数应不高于 1×10<sup>6</sup> CFU/g,致病菌不得检出。由表 3 可知,随着贮藏时间的延长,各组的菌落总数增加。与精油组、乳液组相比,空白组腐败较快,在第 2 d 菌落总数达到 6.11 lg(CFU/g),超过农业行业标准,而精油组、乳液组分别在第 4、6 d 超过标准,说明柠檬精油、柠檬精油纳米乳液分别能延长调理肉糜保质期 2、4 d。郝泽文等<sup>[33]</sup>研究发现柠檬精油乳液可食用涂膜能将冷藏卤鸭脖的保质期延长至 12 d。与柠檬精油相比,柠檬精油纳米乳液粒径较小,更易渗透,且乳液较高的负电荷可能影响细菌的细胞膜,加强抑菌效果<sup>[34-35]</sup>。

3 结 论

本研究利用超声法制备柠檬精油纳米乳液,通过 DPPH 和羟自由基清除实验发现,柠檬精油纳米乳液具有

较好的抗氧化能力,且柠檬精油纳米乳液的抗氧化效果优于柠檬精油。抑菌圈实验表明柠檬精油纳米乳液对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌均有抑菌效果,且对大肠杆菌的抑菌效果最好,其次是金黄色葡萄球菌,对铜绿假单胞菌的抑菌效果相对较差。柠檬精油纳米乳液对调理肉饼有较好的保鲜效果,经乳液处理的肉饼色泽、质构稳定性较好, TBARS 值最低,可将调理肉饼保质期延长 4 d。因此,柠檬精油纳米乳液能够用于调理肉制品以延缓其氧化和微生物繁殖、延长货架期。

表 3 贮藏期间调理肉饼菌落总数变化(n=3)  
Table 3 Changes in the total number of bacteria in marinated pork patty during storage (n=3)

| 贮藏天数/d | 菌落总数/[lg(CFU/g)]       |                        |                        |
|--------|------------------------|------------------------|------------------------|
|        | 空白组                    | 精油组                    | 乳液组                    |
| 0      | 4.70±0.09 <sup>c</sup> | 4.39±0.33 <sup>c</sup> | 4.19±0.20 <sup>c</sup> |
| 1      | 5.64±0.11 <sup>b</sup> | 5.55±0.12 <sup>b</sup> | 5.36±0.10 <sup>b</sup> |
| 2      | 6.11±0.06 <sup>a</sup> | 5.84±0.25 <sup>b</sup> | 5.58±0.17 <sup>b</sup> |
| 3      |                        | 5.85±0.19 <sup>b</sup> | 5.51±0.39 <sup>b</sup> |
| 4      |                        | 6.34±0.30 <sup>a</sup> | 5.72±0.20 <sup>b</sup> |
| 5      |                        |                        | 5.68±0.13 <sup>b</sup> |
| 6      |                        |                        | 6.21±0.28 <sup>a</sup> |

注:同一列不同小写字母表示不同贮藏天数内存在显著差异(P<0.05)。

参考文献

[1] 宋磊,杜娟. 国内外肉类及其制品加工研究现状及进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(20): 5288-5293.  
SONG L, DU J. Research status and progress of meat and its products processing at home and abroad [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(20): 5288-5293.

[2] 雷英杰,王卫,刘文龙,等. 调理肉制品防腐保鲜技术研究进展[J]. 农产品加工, 2020, (22): 98-102.  
LEI YJ, WANG W, LIU WL, et al. Research progress of anti-corrosion and preservation technology of prepared meat products [J]. Farm Prod Process, 2020, (22): 98-102.

[3] 鲁青. 添加辣椒红色素调理鸡排颜色稳定性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2018.  
LU Q. Study on color stability of chicken steaks by adding pepper red pigment [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2018.

[4] 王波,谢安国,康怀彬,等. 微波复热对不同预制调理肉品的品质影响研究[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(8): 78-83.  
WANG B, XIE ANG, KANG HB, et al. Effects of microwave reheating on quality of different prepared meat [J]. Food Res Dev, 2018, 39(8): 78-83.

[5] 叶韬,王昆,陈志娜,等. 油炸调理肉串过程煎炸条件对大豆油苯并芘含量及理化指标的影响[J]. 中国粮油学报, 2018, 33(5): 49-54.  
YE T, WANG K, CHEN ZN, et al. The effect of frying conditions on the B(a) P content and physico-chemical properties of soybean oil during frying frozen kebabs [J]. J Cere Oils Ass, 2018, 33(5): 49-54.

[6] 王木岭,马旋垒,倪柄,等. 柠檬精油的 GC-MS 分析及其抗炎、抗菌活性研究[J]. 粮食与油脂, 2021, 34(7): 56-61.  
WANG ML, MA XL, XIE Q, et al. Study on anti-inflammatory and antibacterial activities of lemon essential oil by GC-MS analysis [J]. Cere Oils, 2021, 34(7): 56-61.

[7] 李源栋,刘秀明,夏建军,等. GC-MS 结合保留指数分析白柠檬油挥发性成分[J]. 保鲜与加工, 2019, 19(4): 184-190.

- LI YD, LIU XM, XIA JJ, *et al.* Analysis of volatile components in white lemon oil by GC-MS combined with retention index [J]. *Storage Process*, 2019, 19(4): 184–190.
- [8] ANGELA GL, SARA CC, ZITA EM, *et al.* Headspace volatolome of peel flours from citrus fruits grown in Brazil [J]. *Food Res Int*, 2021, 150: 110801.
- [9] 章斌, 侯小桢, 秦铁, 等. 柠檬果皮精油主要组分抑菌及抗氧化活性研究[J]. *食品与机械*, 2017, 33(12): 138–142.
- ZHANG B, HOU XZ, QIN Y, *et al.* Study on antibacterial and antioxidant activities of essential oils from lemon peel [J]. *Food Mach*, 2017, 33(12): 138–142.
- [10] PILETIC IR, KLEINDIENST TE. Rates and yields of unimolecular reactions producing highly oxidized peroxy radicals in the oh-induced autoxidation of  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene, and limonene [J]. *J Phys Chem A*, 2022, 126(1): 88–100.
- [11] NOGUEIRA JOE, CAMPOLINA GA, BATISTA LR, *et al.* Mechanism of action of various terpenes and phenylpropanoids against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2021. DOI: 10.1093/femsle/fnab052
- [12] 肖娟. 柠檬果皮精油的提取及其抗氧化和清除亚硝酸盐的作用研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2019.
- XIAO J. Extraction of essential oil from lemon peel and its antioxidant and nitrite scavenging effects [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2019.
- [13] DONSI F, CUOMO A, MARCHESI E, *et al.* Infusion of essential oils for food stabilization: Unraveling the role of nanoemulsion-based delivery systems on mass transfer and antimicrobial activity [J]. *Innov Food Sci Emerg*, 2014, 22: 212–220.
- [14] TEE JK, YIP LX, TAN ES, *et al.* Nanoparticles' interactions with vasculature in diseases [J]. *Chem Soc Rev*, 2019, 48(21): 5381–5407.
- [15] NASEEMA A, LOHITESH K, ALOK KB, *et al.* A critical review of synthesis procedures, applications and future potential of nanoemulsions [J]. *Adv Colloid Interface Sci*, 2021, 287: 102318.
- [16] ACEVEDO-FANI A, SOLIVA-FORTUNY R, MARTÍN-BELLOSO O. Nanoemulsions as edible coatings [J]. *Curr Opin Food Sci*, 2017, 15: 43–49.
- [17] WILSON RJ, LI Y, YANG GZ, *et al.* Nanoemulsions for drug delivery [J]. *Particuology*, 2022, 64: 85–97.
- [18] 蒋书歌, 侯宇豪, 刘坚, 等. 柑橘精油纳米乳的制备及对金黄色葡萄球菌的抑制活性研究[J]. *食品与机械*, 2021, 37(3): 144–149.
- JIANG SG, HOU YH, LIU J, *et al.* Preparation and antibacterial activity of citrus essential oil nanoemulsion against *Staphylococcus aureus* [J]. *Food Mach*, 2021, 37(3): 144–149.
- [19] 王瑞贤. 壳聚糖-丁香精油对调理猪排保鲜效果的影响[D]. 洛阳: 河南科技大学, 2020.
- WANG RX. Effects of chitosan and clove essential oil on the quality of prepared pork chops during refrigerated storage [D]. Luoyang: Henan University of Science and Technology, 2020.
- [20] 孟舒雨. 香辛料精油对调理狮子头抗氧化作用及贮藏特性的研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2019.
- MENG SY. Study of spice essential oils on the antioxidant effect and storage characteristics of prepared large meatball [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2019.
- [21] 李季楠, 胡浩, 吴雪娇, 等. 环境因素对叶黄素纳米乳液稳定性及其抗氧化活性的影响[J]. *食品科学*, 2019, 40(19): 32–39.
- LI JN, HU H, WU XI, *et al.* Effects of environmental factors on the stability and antioxidant activity of lutein nanoemulsions [J]. *Food Sci*, 2019, 40(19): 32–39.
- [22] 周昊, 薛兴颖, 陈虹霞, 等. 漆籽油纳米乳液的制备及其抗氧化、防紫外辐射活性研究[J]. *林产化学与工业*, 2021, 41(1): 45–52.
- ZHOU H, XUE XY, CHEN HX, *et al.* Preparation and anti-oxidation and UV radiation activity of lacquer seed oil nanoemulsion [J]. *Chem Ind Forest Prod*, 2021, 41(1): 45–52.
- [23] 邵乐乐. 含胍基团羧基吡啶衍生物的合成、生物活性评价及对虾保鲜研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2018.
- SHAO LL. Hydroxypyridinone derivatives containing an oxime ether moiety: Synthesis, biological evaluation and application in preservation of shrimp [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2018.
- [24] ERKAN N, ÖZDEN Ö. Protein carbonyls in meat systems: A review [J]. *Int J Food Sci Technol*, 2008, 43(9): 1549–1559.
- [25] 方曙. 复合过氧酸保鲜剂制备及对鸡肉品质的影响研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2018.
- FANG S. Study on the preparation of compound peroxyacid preservative and effect on chicken meat quality [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2018.
- [26] LOU Z, CHEN J, YU F, *et al.* The antioxidant, antibacterial, antibiofilm activity of essential oil from *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* and its nanoemulsion [J]. *Food Sci Technol*, 2017, 80: 371–377.
- [27] LOI CC, EYRES GT, BIRCH EJ. Effect of milk protein composition on physicochemical properties, creaming stability and volatile profile of a protein-stabilised oil-in-water emulsion [J]. *Food Res Int*, 2019, 120: 83–91.
- [28] MOGHIMI R, GHADERI L, RAFATI H, *et al.* Superior antibacterial activity of nanoemulsion of *Thymus daenensis* essential oil against *E. coli* [J]. *Food Chem*, 2016, 194: 410–415.
- [29] 邢旭亚. Nisin及D-柠檬烯复合油凝胶纳米乳体系的构建及其抗菌性能研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2015.
- XING XY. Construction and antibacterial properties of nisin and D-limonene composite oil-gel nano-emulsion system [D]. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2015.
- [30] 李颖, 李保玲, 董新玲, 等. 石榴皮提取物对生猪肉饼品质的影响[J]. *肉类研究*, 2020, 34(1): 45–50.
- LI Y, LI BL, DONG XL, *et al.* Effects of pomegranate peel extracts on quality of pork patty [J]. *Meat Res*, 2020, 34(1): 45–50.
- [31] 殷俊, 梅灿辉, 陈斌, 等. 肉丸品质的质构与感官分析[J]. *现代食品科技*, 2011, 27(1): 50–55.
- YIN J, MEI CH, CHEN B, *et al.* Texture and sensory analysis of meatball quality [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2011, 27(1): 50–55.
- [32] 徐宁. 泡椒凤爪贮藏过程中品质变化及货架期预测的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2012.
- XU N. Study on quality change and shelf life prediction of pickled pepper chicken feet during storage [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2012.
- [33] 郗泽文, 成策, 彭盛峰, 等. 柠檬精油乳液可食用涂膜液对冷藏卤鸭脖的保鲜效果[J]. *食品科学*, 2020, 41(1): 237–243.
- XI ZW, CHENG C, PENG SF, *et al.* Effects of edible coating liquid of lemon essential oil emulsion on preservation of chilled duck neck [J]. *Food Sci*, 2020, 41(1): 237–243.
- [34] HAMID M, FEI L, JOSEPH H, *et al.* Bactericidal action mechanism of negatively charged food grade clove oil nanoemulsions [J]. *Food Chem*, 2016, 197: 75–83.
- [35] CHANG YH, MCLANDSBOROUGH L, MCCLEMENTS DJ. Fabrication, stability and efficacy of dual-component antimicrobial nanoemulsions: Essential oil (thyme oil) and cationic surfactant (lauric arginate) [J]. *Food Chem*, 2015, 172: 298–304.

(责任编辑: 张晓寒 于梦娇)

## 作者简介



邵楚瑶, 硕士研究生, 主要研究方向为肉品贮藏保鲜技术。

E-mail: scy9723@163.com



戴瑞彤, 博士, 教授, 主要研究方向为肉品科学与肉品加工技术研究。

E-mail: dairuitong@vip.sina.com