

贺羽,王帅,金益,等.天然保鲜剂对低温肉制品的保鲜作用[J].江苏农业科学,2019,47(1):177-182.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.01.043

# 天然保鲜剂对低温肉制品的保鲜作用

贺羽,王帅,金益,冯小刚,商学兵

[徐州工程学院食品(生物)工程学院,江苏徐州 221111]

**摘要:**冷却肉制品因其口味独特、营养成分较高和相对安全而受到消费者们的热爱。但是随着冷却肉制品贮藏时间的变化,肉制品在嗜冷菌和酶的作用下,蛋白质和脂肪等许多营养物质都受到了分解效果的影响,在一定程度上破坏了肉制品的营养价值。为了解决这个问题,通过  $\varepsilon$ -聚赖氨酸以及  $\varepsilon$ -聚赖氨酸和壳聚糖复合保鲜剂对冷却猪肉进行保鲜,在对冷却猪肉保鲜的过程中测定猪肉的菌落总数、挥发性盐基氮含量、pH 值、红度值以及保水力等指标,综合各项指标分析其保鲜能力。结果表明,0.24%  $\varepsilon$ -聚赖氨酸+1.8%壳聚糖的保鲜能力最优。

**关键词:**冷却猪肉;天然保鲜剂; $\varepsilon$ -聚赖氨酸;壳聚糖;乙酸

**中图分类号:**TS251.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2019)01-0177-05

我国居民食用的肉类食品以猪肉为主,猪肉在所有肉类食品中的比重达到 60% 左右。由于猪肉的营养成分比较多,因此很多微生物都适合在里面繁衍生长。猪从宰杀到售卖期间的间隔时间比较短,猪肉内的糖原在降解后生成乳酸,因此使得猪肉的酸度降低,硬度变大。僵直期过后,猪肉本身的分解能力变大,主要由于三磷酸腺苷降解而导致温度变高<sup>[1]</sup>,相应的酸性物质变少,pH 值提高。此外,猪肉适合微生物生存的主要原因是其表面比较潮湿。目前主要的保鲜方式是在猪肉销售过程中进行保鲜,通过冷冻冷藏的方式抑制微生物的生长繁殖,冷冻猪肉虽然可延长储藏期,但会破坏细胞结构,在解冻的过程中还会有盐类等物质产生,导致猪肉的口味变差,无法满足人们对于口味的要求<sup>[2]</sup>。冷藏猪肉在运输和销售过程中一直维持着 0~4℃ 低温,储藏时间能够保持 2 d 左右,并且由于温度不是很低,所以能很好地保持猪肉的口感和风味<sup>[3]</sup>。但链球菌属(*Streptococcus*)、假单胞菌属(*Pseudomonadaceae*)和乳杆菌属(*Lactobacillus*)等依然可在低温的环境中很好地生长繁殖。随着储藏时间的增加,会让这些微生物的数量不断地增大,肉制品的物理和化学性质会发生很大的变化,所以单靠低温不能很好地延长猪肉的保质期,从而很难满足人们对猪肉保鲜的日常需求。因此,如何高效地对猪肉尤其是对冷却猪肉进行保鲜已经越来越受到人们的关注。

现在大部分肉制品保鲜技术主要有添加保鲜剂、原子能射线辐照、高压处理、低温保鲜和气调包装保鲜等,其中添加保鲜剂效果明显,操作容易,成本低,因此在实际的生产中最为常用。天然保鲜剂是分别从微生物、动物及植物代谢的产物中提取的纯天然物质<sup>[4]</sup>,可以分为植物、动物和微生物来

源。植物来源的天然保鲜剂分别有迷迭香、肉桂、生姜和茶多酚,它们不仅获得渠道比较广泛,价格还相对便宜;动物来源的天然保鲜剂分别有乳铁蛋白和溶菌酶;微生物来源的天然保鲜剂包括  $\varepsilon$ -聚赖氨酸、乳酸链球菌素、纳他霉素等<sup>[5]</sup>。天然保鲜剂安全无毒的特性使得它的开发和利用成为食品工业的研究热点,因此,天然保鲜剂的使用具有很广阔的前景。

中国《食品添加剂使用卫生标准》提到,在低温肉制品中被许可作为天然保鲜剂的,只有乳酸链球菌素和纳他霉素。作为目前一种新颖的天然生物保鲜剂, $\varepsilon$ -聚赖氨酸因其所具有的安全性比较好、抑菌谱比较宽泛、耐受较高的温度等特点,许多经济比较发达的国家在食品工业以及多个领域中将其应用,并已在肉制品保鲜中取得很大的前景;另外在水产品保鲜方面茶多酚和壳聚糖也得到了大范围的使用,它们在肉制品保鲜中也有很多层面的研究。

本研究通过不同保鲜方法处理 4℃ 冷藏猪肉,对冷却猪肉 5 项指标[细菌总数、挥发性盐基氮(TVB-N)值、pH 值、红度值和保水力]进行测定,分析和观察样品在冷藏保鲜的过程中肉质的变化。旨在探索更多的低温肉制品保鲜的方法,使得肉制品在保鲜的过程中更安全可靠,同时可以延长肉制品保鲜的时间,满足人们不断提高的生活需求。另外,本研究为天然保鲜剂对低温肉制品保鲜技术的研究提供一定的数据支撑和理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

新鲜猪肉,购自江苏省徐州市新城区美的广场超市; $\varepsilon$ -聚赖氨酸,购自浙江印象生物工程有限公司;营养琼脂,购自河南郑州亚世生物技术有限公司;硼酸,购自河南郑州凯迪化工品有限公司;轻质氧化镁,购自山东省寿光市辉煌化工有限责任公司;甲基红,购自上海源叶生物科技有限公司;溴甲酚绿,购自辽宁沈阳乐恒科技有限公司;壳聚糖,购自上海源聚生物科技有限公司。

### 1.2 方法

1.2.1 样品处理 将新鲜猪肉在 -20℃ 下冷冻 2 h,在 2℃

收稿日期:2018-01-28

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金(编号:31701566);徐州工程学院校级课题(编号:XKY2016234、XKY2017124);徐州工程学院 2017 年大学生创新创业训练计划(编号:XCX2017139)。

作者简介:贺羽(1986—),女,江苏徐州人,博士,讲师,主要从事食品安全与质量控制的研究。E-mail:heyuxinxin1120@163.com。

通信作者:王帅,博士,讲师,主要从事食品品质评价与调控的研究。E-mail:handsomew@foxmail.com。

冷却 10 h 左右,使猪肉的温度降到 0~4 ℃。在试验前将所有要用到的刀具用 75% 乙醇进行消毒并且在紫外灯下照射一段时间,在无菌环境下将猪肉多余的脂肪和筋膜去除,分别将处理好的猪肉切成约 30、60 g 用于细菌总数和其他指标的测定,然后将切好的肉块进行分组,用不同浓度的保鲜液处理,分别浸泡 5 min 后沥干装入保鲜袋中,于 4 ℃ 冰箱中冷藏,以 2 d 为 1 个储藏周期,分别在 0、2、4、6、8、10、12 d 测定样品的细菌总数、挥发性盐基氮含量、pH 值、红度值、保水力。

1.2.2 保鲜液配制 配制 ε-聚赖氨酸保鲜液,分别称取 0.8、1.6、2.4、3.2 g ε-聚赖氨酸,加入 1 000 mL 去离子水中充分搅拌均匀 5~6 min,即成 0.08%、0.16%、0.24%、0.32% 的 ε-聚赖氨酸保鲜液(A),选取 0.24% ε-聚赖氨酸保鲜液,与不同浓度壳聚糖和 1% 乙酸制成混合保鲜液(B),研究其对冷却猪肉的保鲜效果,具体试验设计见表 1 和表 2。

表 1 ε-聚赖氨酸保鲜试验组设计

试验组编号	处理方式
K	空白对照组(纯水浸泡)
A <sub>1</sub>	0.08% ε-聚赖氨酸
A <sub>2</sub>	0.16% ε-聚赖氨酸
A <sub>3</sub>	0.24% ε-聚赖氨酸
A <sub>4</sub>	0.32% ε-聚赖氨酸

表 2 ε-聚赖氨酸和壳聚糖混合保鲜试验组设计

试验组编号	处理方式
K	空白对照组(纯水浸泡)
B <sub>1</sub>	1% 乙酸
B <sub>2</sub>	0.24% ε-聚赖氨酸
B <sub>3</sub>	0.24% ε-聚赖氨酸+0.6% 壳聚糖+1% 乙酸
B <sub>4</sub>	0.24% ε-聚赖氨酸+1.2% 壳聚糖+1% 乙酸
B <sub>5</sub>	0.24% ε-聚赖氨酸+1.8% 壳聚糖+1% 乙酸
B <sub>6</sub>	0.24% ε-聚赖氨酸+2.4% 壳聚糖+1% 乙酸

1.2.3 菌落总数的测定 根据 GB 4789.2—2010《食品微生物学检验 菌落数测定》的方法测定其中的菌落总数,新鲜猪肉的菌落总数≤1×10<sup>6</sup> CFU/g。首先用电子天平称取 25 g 的冷却猪肉放在研钵中并加入石英砂彻底研磨,将研磨好的冷却猪肉放入烧杯中再倒入 225 mL 无菌水制成 1:10 的菌液,然后使用 1 mL 移液枪吸取刚刚配制好的菌液 1 mL,将其沿着盛有 9 mL 无菌水的试管壁慢慢地注入,将试管缓慢振摇,使样品充分混匀,制成 1:100 的匀液;按照上面的方法,制备稀释 10 倍的样品匀液。在超净工作台分别吸取 1 mL 稀释样品注入无菌的平板中,用空白平板作对照。加热琼脂,当温度到达 40 ℃ 左右时,将琼脂倒入平板中,并且转动平板使琼脂和样品混合均匀。冷却至琼脂凝固的时候,翻转平板,放入恒温箱于 28 ℃ 培养 24 h 后计数。

1.2.4 挥发性盐基氮的测定 根据 GB 9959.1—2001《鲜、冻片猪肉》的国家标准<sup>[6]</sup>,新鲜猪肉的挥发性盐基氮含量≤20 mg/100 g。用电子天平准确称取 10 g 猪肉放到研钵中研磨,然后将研磨好的猪肉放入 250 mL 三角瓶中,再加入 100 mL 无菌水,振荡 30 min 左右,再进行真空抽滤,取其滤液 10 mL,接着加入浓度为 10 g/L 的氯化镁溶液 10 mL,立刻盖上塞子,并依据粗蛋白蒸馏的操作,用浓度为 0.01 mol/L 的盐酸标准溶液进行滴定操作。

计算公式:  $C_{\text{TVB-N}} = [(V - V_0) \times C \times 0.014 \, 01 \times 100] / (m \times 10/100)$ 。

式中:V 为滴定消耗的体积, mL; V<sub>0</sub> 为空白滴定消耗的体积, mL; C 为滴定液浓度, mol/L; m 为称取的猪肉质量, g; C<sub>TVB-N</sub> 为挥发性盐基氮含量, mg/100 g。

1.2.5 pH 值的测定 用电子天平称取约 5 g 的冷却猪肉样品,然后将其充分绞碎后放置在准备好的烧杯中,取 40 mL 左右的蒸馏水将其煮沸,待冷却后倒入盛有样品的烧杯中,将其搅拌均匀后静置 30 min 左右,用 pH 计测量<sup>[7]</sup>。

1.2.6 红度值的测定 首先从冷却猪肉中切取 3 块样品,规格为 1 cm<sup>3</sup> 的正方体,然后将切好的样品放置在色差仪 8 mm 的光圈下,读取样品的红度值 a\*。反复检测 3 次,计算其平均值最终得出样品的红度值<sup>[8]</sup>。计算公式:

$$a^* = (a^1 + a^2 + a^3) / 3。$$

式中:a\* 代表样品最终红度值(无单位,其值越大,代表红度越高);a<sup>1</sup>、a<sup>2</sup>、a<sup>3</sup> 分别代表平行测定时的红度值。

1.2.7 保水力的测定 采用 Eide 等的方法<sup>[9]</sup>测定样品的保水能力,该数值越大则反映其保水能力越差,相反其保水能力就越强。首先取出样品,用洁净的毛巾将样品表层上的汁液擦掉,然后用电子天平称 5 g 样品(m<sub>1</sub>),将其放置在离心机中在 6 000 r/min 下离心 30 min,最后将表面沥干后称量(m<sub>2</sub>)。设 3 次平行,计算取其平均值。计算公式:

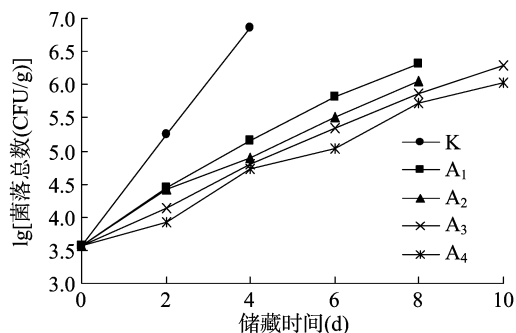
$$\text{保水力} = [1 - (m_1 - m_2) / m_1] \times 100\%。$$

2 结果与分析

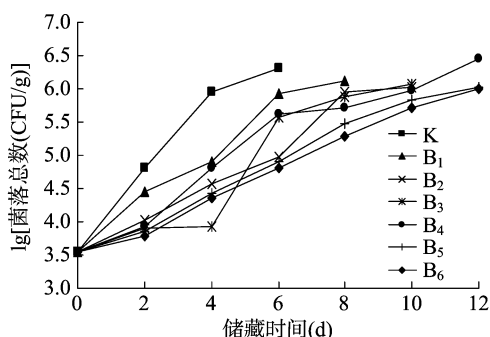
2.1 菌落总数

随着冷却猪肉储藏周期的不断增加,每个待测样品的细菌总数都会慢慢增加,由图 1 可见,这些数据组中空白组(K 组)的细菌总数上升最为明显,在储藏 4 d 的时候 K 组的细菌总数为 7.24×10<sup>6</sup> CFU/g,已经超过标准值 1×10<sup>6</sup> CFU/g;但是通过 ε-聚赖氨酸处理的试验组细菌总数变大趋势普遍比较迟缓,可以发现在储藏 2 d 时空白组细菌总数为 1.73×10<sup>5</sup> CFU/g,比 ε-聚赖氨酸处理的试验组的细菌总数高,表明猪肉里面细菌的生长繁殖能够被 ε-聚赖氨酸有效地控制,从而起到保鲜的作用。从图 1 还可以看出,所有被 ε-聚赖氨酸保鲜液处理的样品的细菌总数增长幅度都差不多,相较于空白组样品的细菌总数明显上升缓慢,同样可以发现,在不同浓度 ε-聚赖氨酸处理的样品之间,伴随着 ε-聚赖氨酸浓度的不断变大,抑制细菌的效果也有不断变大的趋势。根据前人的报道<sup>[10]</sup>,当 ε-聚赖氨酸浓度从 400 mg/L 增加到 800 mg/L 时,菌落总数下降得不是很显著;同样在本次试验中也出现了类似的情况,ε-聚赖氨酸浓度从 0.08% 增加到 0.16% 和从 0.24% 增加到 0.32%,冷却猪肉的菌落总数的下降没有明显的差异。可以发现,其中 A<sub>3</sub> 和 A<sub>4</sub> 试验组抑菌效果最好,ε-聚赖氨酸的浓度分别是 0.24% 和 0.32%,在储藏 8 d 时分别对应的细菌总数为 7.41×10<sup>5</sup>、5.24×10<sup>5</sup> CFU/g,都没有超出新鲜度标准 1×10<sup>6</sup> CFU/g。

如图 2 所示,用 ε-聚赖氨酸和壳聚糖保鲜液处理冷却猪肉后,样品的初始菌落总数为 3.6×10<sup>3</sup> CFU/g,但是随着储藏时间的不断延长,空白组(K 组)的细菌总数上升最为明显,在储藏 6 d 的时候就已经达到 2.08×10<sup>6</sup> CFU/g,并且超

图1  $\epsilon$ -聚赖氨酸保鲜液处理样品细菌总数的变化

过标准值。在储藏 2 d 对照组细菌总数高于乙酸处理的  $B_1$  试验组,说明乙酸也具有一定抑制细菌的作用,这和人研究的乙酸有杀菌效果吻合,然而经过  $\epsilon$ -聚赖氨酸保鲜液处理的试验组与 K 组细菌总数出现比较明显的差异,表明保鲜液能够很好地减缓样品中微生物的生长与繁殖。在储藏 4 d 时,由复合保鲜剂处理的  $B_3$ 、 $B_4$ 、 $B_5$ 、 $B_6$  与  $B_2$  组的细菌总数相比明显减少,说明复合保鲜剂比单一保鲜剂的保鲜效果要好,也就是抑菌能力好。另外在不同浓度的壳聚糖试验组中,伴随着壳聚糖的浓度不断升高,抑制细菌生长繁殖的效果整体上也有较明显的增强趋势,从图 2 看出,  $B_5$  和  $B_6$  2 组抑菌效果是最好的,在储藏 10 d 时细菌总数分别为  $6.91 \times 10^5$ 、 $5.24 \times 10^5$  CFU/g,比标准值低,并且  $B_5$ 、 $B_6$  2 组从储藏 2 d 到 10 d 的细菌总数差异并不明显,说明两者抑菌效果相近,考虑到成本问题,可选用  $B_5$  组 0.24%  $\epsilon$ -聚赖氨酸 + 1.8% 壳聚糖 + 1% 乙酸作为保鲜剂。

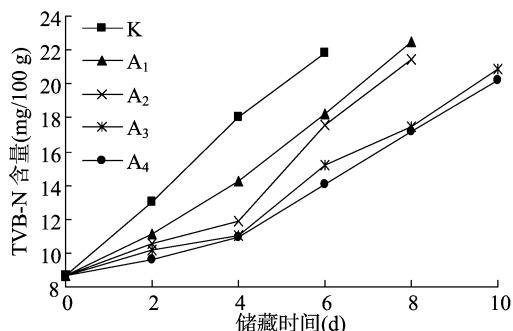
图2  $\epsilon$ -聚赖氨酸和壳聚糖保鲜液处理样品细菌总数的变化

## 2.2 挥发性盐基氮值的变化

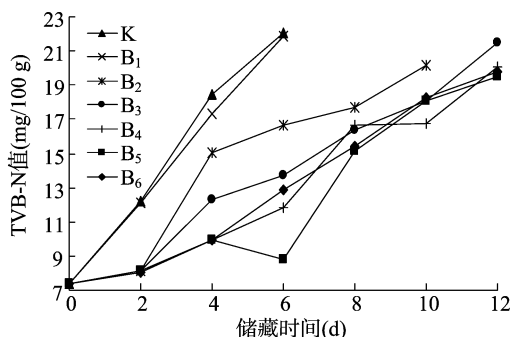
挥发性盐基氮是判断肉质鲜度的一个十分关键的指标,TVB-N 是指肉类食物中的蛋白质分别在细菌和酶的作用下发生分解作用,从而产生氨和胺类等挥发性物质。

从图 3 可以看出,在猪肉的整个冷藏保鲜期间每个试验组的挥发性盐基氮含量都是呈现明显上升趋势,然而不难发现空白组(K 组)冷藏 2 d 后增长趋势非常明显,在储藏 6 d 时 K 组的 TVB-N 含量是 21.81 mg/100 g,此时已超出国家规定的猪肉鲜度标准 20 mg/100 g;然而通过  $\epsilon$ -聚赖氨酸处理的试验组挥发性盐基氮含量增长速度显得比较缓慢,当到储藏 4 d 时,保鲜液处理组的 TVB-N 含量与空白组出现比较明显差异。研究发现,样品由  $\epsilon$ -聚赖氨酸处理后,能够很好地抑制猪肉中细菌的生长并且使细菌对蛋白质的分解也变低了,进而减缓了冷却猪肉的挥发性盐基氮含量的变大。

从图 3 中不难发现,  $A_3$ 、 $A_4$  2 组的 TVB-N 含量上升最为缓慢,在储藏 2~4 d 期间,  $A_3$ 、 $A_4$  组的 TVB-N 含量没有较大的差距,但是从储藏 6 d 开始 2 组挥发性盐基氮值的差距稍微有一点增大,在储藏 8 d 时  $A_3$ 、 $A_4$  2 组的 TVB-N 分别为 17.43、17.21 mg/100 g,2 组的数值差距又变小了,但是 2 组都没有超出新鲜肉制品的标准 ( $<20$  mg/100 g),然而在储藏 10 d 的时候,  $A_3$ 、 $A_4$  2 组挥发性盐基氮的数值分别为 20.87、20.24 mg/100 g,同时超出了鲜肉标准 ( $<20$  mg/100 g),研究发现两者的抑菌效果相近,从而使得 0.24%  $\epsilon$ -聚赖氨酸、0.32%  $\epsilon$ -聚赖氨酸延缓 TVB-N 上升的效果相当。

图3  $\epsilon$ -聚赖氨酸保鲜液处理样品 TVB-N 值的变化

冷却猪肉在 4℃ 储藏过程中经  $\epsilon$ -聚赖氨酸和壳聚糖保鲜剂浸泡处理后,TVB-N 值的变化情况如图 4 所示。经过试验测定的细菌总数的变化和挥发性盐基氮数值变化具有一定的相关性。伴随着样品储藏时间的不断延长,对照组和试验组的挥发性盐基氮数值都呈现增大趋势,其中 K 组(空白)的 TVB-N 增长趋势最为明显,在储藏 6 d 时 TVB-N 值已经达到 22.08 mg/100 g,按照 GB 9959.1—2001《鲜、冻片猪肉》,已经超出猪肉鲜度标准 (TVB-N  $\leq 20$  mg/100 g)。然而从储藏 2 d 开始经过保鲜液处理的试验组能有效地延缓挥发性盐基氮数值的生长,在整个储藏过程中,发现试验组  $B_5$ 、 $B_6$  挥发性盐基氮数值上升最为缓慢,在储藏 10 d 时都没有超出鲜肉标准。

图4  $\epsilon$ -聚赖氨酸和壳聚糖保鲜液处理样品 TVB-N 的变化

## 2.3 pH 值的变化

在正常情况下活猪体内肉的 pH 值大多为中性,当活猪被屠宰后其体内的糖原通过降解生成了乳酸,因此导致猪肉的 pH 值会降低到抑制糖原降解酶的活性为止;但是随着猪肉储存周期不断变长,猪肉中的蛋白质会分解为氨及胺类化合物等碱性物质,在细菌及酶的作用下,使得其 pH 值会不断变大,所以相应的范围中,猪肉中 pH 值的升高幅度可以大致地反映猪肉品质即新鲜度。

从图 5 可以看出,在样品的整个储藏时间内,各个试验组的 pH 值都是先下降然后再上升的,在储藏 2 d 时所有组的 pH 值都达到了最低值,但是从储藏 4 d 开始,K 组(空白)的 pH 值要明显高于用  $\varepsilon$ -聚赖氨酸保鲜液处理的其他组,原因是  $\varepsilon$ -聚赖氨酸能够很好地阻止冷却猪肉中微生物的生长,因此能够延缓冷却猪肉中蛋白质的分解,从而起到对猪肉保鲜的作用。同样的,从图 5 中还可以看出,所有试验组的 pH 值下降的幅度基本上是相同的,但是在之后上升的过程中空白组(K 组)和其他组产生了明显的差距。K 组 pH 值上升速度明显比其他组要快,并从储藏 6 d 开始形成较大差距。另外,  $A_3$ 、 $A_4$  2 组的 pH 值在储藏 6 d 又出现了下降的趋势,并且 pH 值在之后的上升速度非常缓慢,此外,  $A_3$ 、 $A_4$  2 组在储藏 10 d 的 pH 值都相差甚微,分别是 5.98、5.93,从而发现 0.24%  $\varepsilon$ -聚赖氨酸、0.32%  $\varepsilon$ -聚赖氨酸对冷却猪肉的保鲜效果相当。

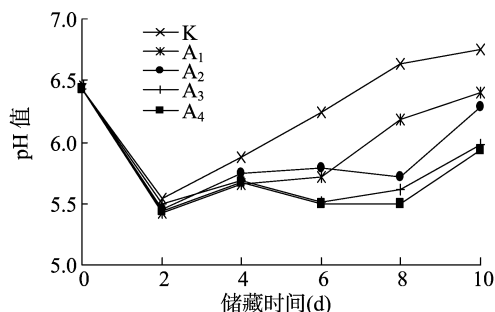


图5  $\varepsilon$ -聚赖氨酸保鲜液处理样品 pH 值的变化

经  $\varepsilon$ -聚赖氨酸和壳聚糖保鲜液处理后的冷却猪肉在冷藏保鲜期间 pH 值的变化如图 6 所示。从储藏 2 d 开始,各个试验组的 pH 值整体上伴随样品储藏时间的延长呈增大的趋势,原因是肉制品中的蛋白质会随着冷藏时间的增加,在微生物以及酶的作用下,分解成碱性物质, pH 值会不断升高,且经过保鲜剂处理的试验组 pH 值增加较慢,从侧面反映天然保鲜剂能够抑制微生物的繁殖和生长,使蛋白质分解的速度变慢;在储藏 2 d 时冷却猪肉的 pH 值都开始下降,因为新鲜猪肉会经过糖酵解过程产生乳酸,但空白组和试验组  $B_1$  组,与其他试验组相比 pH 值明显偏高,可能是壳聚糖的助溶剂乙酸造成的。

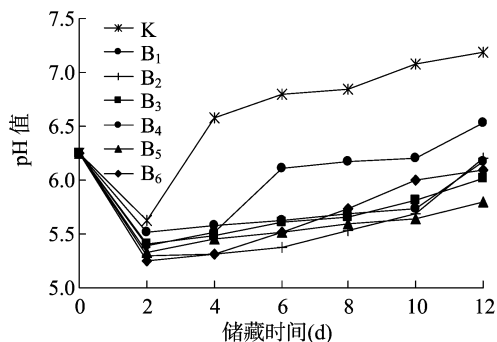


图6  $\varepsilon$ -聚赖氨酸和壳聚糖保鲜液处理样品 pH 值的变化

#### 2.4 红度值 $a^*$ 的变化

色泽是很多人是否购买猪肉的一个非常重要的参考标准,也是猪肉是否可以食用的要求<sup>[11-12]</sup>。样品的亮度值和黄度值在感官上差别不明显,只能通过仪器来测定,然而样品红度值在感官和仪器分析上都有比较明显的差别<sup>[13]</sup>。所以一

般冷却猪肉的色泽变化主要通过红度值的大小来衡量。

经  $\varepsilon$ -聚赖氨酸保鲜液处理的样品在冷藏保鲜期间红度值的变化如图 7 所示。可以看出,伴随着样品储藏周期的不断变长,猪肉的红度值不断下降;从储藏 2 d 开始,经过  $\varepsilon$ -聚赖氨酸保鲜液处理的试验组红度值下降速率明显低于 K 组(空白),从而说明  $\varepsilon$ -聚赖氨酸具有一定的护色效果。从图 7 看出,不同浓度  $\varepsilon$ -聚赖氨酸处理的样品中,  $A_3$ 、 $A_4$  2 组变化相对较为平缓,而且  $A_3$ 、 $A_4$  两组之间无明显差异,或许是因为 0.24%  $\varepsilon$ -聚赖氨酸和 0.32%  $\varepsilon$ -聚赖氨酸有相近的抑菌效果。

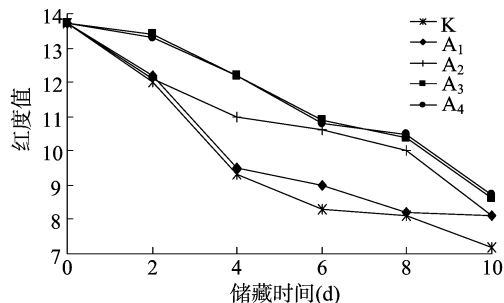


图7  $\varepsilon$ -聚赖氨酸保鲜液处理样品红度值的变化

$\varepsilon$ -聚赖氨酸和壳聚糖保鲜液处理样品在贮藏过程中红度值变化如图 8 所示。对照组和试验组的红度值一开始都随着储存时间的延长而逐渐下降。从储藏 2 ~ 12 d 对对照组 K 与试验组  $B_1$  的红度值无明显差异,说明乙酸不能有效地保护冷却猪肉的色泽;从储藏 4 d 开始对对照组 K 与试验组  $B_2$  出现明显差异,说明  $\varepsilon$ -聚赖氨酸对猪肉的色泽有一定的护色效果;从储藏 2 d 起  $B_3$ 、 $B_4$ 、 $B_5$ 、 $B_6$  组的红度值下降不是很明显,说明复合保鲜剂对猪肉的色泽保护作用显著,原因是壳聚糖具有抗氧化的作用,延缓了肌红蛋白中铁离子与氧气的结合<sup>[14]</sup>。

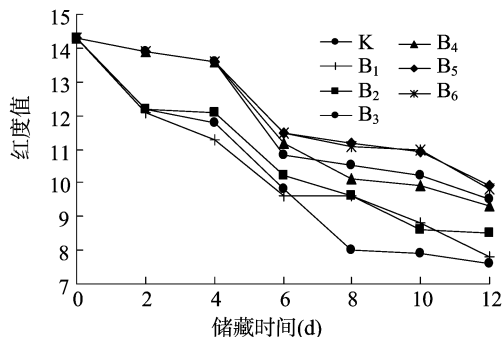


图8  $\varepsilon$ -聚赖氨酸和壳聚糖保鲜液处理样品红度值的变化

#### 2.5 保水力的变化

保水力的定义是当肌肉受到外力如加热、冷冻、解冻等作用时,维持它原来所具有的水分含量的水平<sup>[14]</sup>。总的来说,肉制品维持相对合理比例的水分时的口感比较鲜嫩可口和美味,另外肉制品脱水后的颜色会变得失去光泽,风味会变差,组织状态也会受到严重影响,并且脂肪的氧化速度会加快。

$\varepsilon$ -聚赖氨酸保鲜液处理的冷却猪肉在冷藏保鲜期间保水力的变化如图 9 所示。不难看出试验组的保水能力呈一种非线性的上升趋势,像这样的情况前人已有报道<sup>[13]</sup>,在一段时期内,空白组(K 组)的保水力与  $\varepsilon$ -聚赖氨酸保鲜液处理组相比并没有明显降低,然而在储藏 2 d,其他试验组的保水

力明显低于空白组(K组)。这表明通过 $\varepsilon$ -聚赖氨酸保鲜液保鲜后,冷却猪肉的保水力并没有得到相应的提高,具体原因还需要进一步研究。

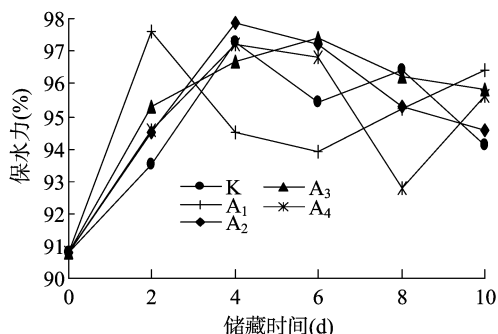


图9  $\varepsilon$ -聚赖氨酸保鲜液处理样品保水力的变化

$\varepsilon$ -聚赖氨酸和壳聚糖保鲜液处理样品在冷藏期间保水力的变化见图10。从储藏6 d后对照组K与B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>组的保水力差异不大,而复合保鲜液处理的试验组与其相比,保水力都有所上升。出现这种现象可能与壳聚糖具有成膜效果有关,能够减少汁液流失量,从而使其保水力有所加强。

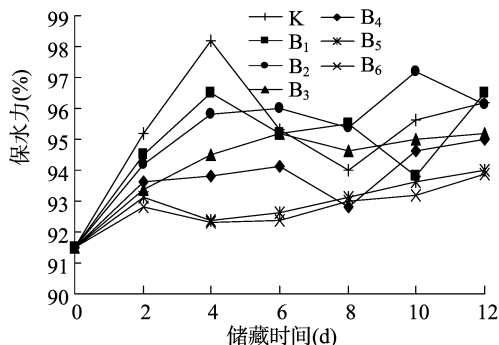


图10  $\varepsilon$ -聚赖氨酸和壳聚糖保鲜液处理样品保水力的变化

### 3 结论

$\varepsilon$ -聚赖氨酸是L-赖氨酸产生的聚合物,由L-赖氨酸的 $\varepsilon$ -氨基和 $\alpha$ -羧基通过肽键结合而形成,是一种多聚氨基酸。最先是从小白链霉菌的发酵液中分离所得,后来经过研究发现它是以25~35个L-赖氨酸聚合而成的<sup>[15]</sup>。 $\varepsilon$ -聚赖氨酸呈浅黄色,粉末状,味苦,在水中易溶解,具有较强吸湿性,不溶于有机溶剂,但在乙醇中会发生一定的溶解。 $\varepsilon$ -聚赖氨酸在120℃条件下能维持大概20 min,具有很好的热稳定性,因此,在温度较高的条件下也具有较好的抑制细菌生长的能力,其生理活性不受pH值的影响,但酸性多糖类、盐酸盐类、磷酸盐类和铜离子的加入会使 $\varepsilon$ -聚赖氨酸的活性降低<sup>[16]</sup>。

目前, $\varepsilon$ -聚赖氨酸由于其广谱的抗菌性以及良好的安全性已在食品工业的很多领域中被广泛应用,如乳制品、肉制品、糕点类、冷藏或者袋装食品等<sup>[17]</sup>,将浓度为0.12%的 $\varepsilon$ -聚赖氨酸加入调味鸡饭的调味液中,腌制20~30 min,在30℃下保存能在很大程度上抑制酵母菌等细菌的增殖,很好地延长了鸡肉的保存期。其在糕点类食品中的应用主要是通过有效抑制耐热性芽孢菌的生长和发育<sup>[18]</sup>。张东荣等发现,在pH偏中性或弱碱性的食品中加入 $\varepsilon$ -聚赖氨酸后能够有效解决大多数酸性防腐剂难以防腐的问题,有力证明了

$\varepsilon$ -聚赖氨酸的保鲜效果<sup>[19]</sup>。

壳聚糖具有抗菌效果强和成膜性好的特点,目前已被广泛应用于食品保鲜中。贾秀春等研究发现,通过浸泡壳聚糖溶液能够延长新鲜猪肉的货架期,而且保鲜效果可以随浓度的增加而提高<sup>[20]</sup>。Soultsos等将壳聚糖应用于希腊猪肉肠中,成功将保质期延长至28 d,发现了其在抗菌和抗氧化方面的卓效<sup>[21]</sup>。

本研究通过应用单一和复合天然保鲜剂在4℃条件下对冷却猪肉保鲜效果以及品质变化的研究,结果发现:冷却猪肉在4℃条件下,经过不同浓度的 $\varepsilon$ -聚赖氨酸保鲜液处理后,其细菌总数、挥发性盐基氮、pH值的上升都得到了一定的抑制,此外,通过对其红度值的检测发现, $\varepsilon$ -聚赖氨酸还具有一定的护色效果;但是通过对其保水力的检测发现 $\varepsilon$ -聚赖氨酸并不能改善冷却猪肉的保水能力。综上所述,0.24% $\varepsilon$ -聚赖氨酸保鲜冷却猪肉效果最佳。冷却猪肉经过乙酸浸泡处理后,样品的细菌总数相比对照组的上升较缓慢,在一定程度上延缓了冷却猪肉的腐败变质,起到一定的保鲜效果,但是对样品的色泽和保水力影响不明显;而样品经过壳聚糖和 $\varepsilon$ -聚赖氨酸浸泡处理后不但能够有效地延缓样品的细菌总数和挥发性盐基氮数值以及pH值的上升,而且对其色泽和保水力也有一定的保护效果,可以看出效果比单一保鲜剂更加明显。试验结果表明,用0.24% $\varepsilon$ -聚赖氨酸+1.8%壳聚糖保鲜冷却猪肉效果最佳。

通过对比发现,在保鲜过程中,单一和复合天然保鲜剂都会抑制冷却猪肉的细菌总数,使挥发性盐基氮含量上升的速度减缓,且对冷却猪肉具有一定的护色作用,单一天然保鲜剂 $\varepsilon$ -聚赖氨酸和乙酸不能改善冷却猪肉的保水能力,不过通过试验发现复合保鲜剂使样品的保水性有一定的提高。本研究旨在为天然保鲜剂对低温肉制品保鲜技术的研究提供一定的理论基础,另外在本研究后可以进一步探索 $\varepsilon$ -聚赖氨酸抑制细菌的机制以及如何才能提高低温肉制品的保水能力。

### 参考文献:

- [1] 刘小莉,贾洋洋,夏秀东,等. 调味料和保鲜剂协同对淡水鱼特征性腐败菌的抑制作用[J]. 江苏农业科学,2016,44(8):389-391.
- [2] 王彩霞,杨卫军. 壳聚糖对大枣的冷藏保鲜效果[J]. 江苏农业科学,2015,43(6):239-241.
- [3] 董玉兰,李书生,张丽萍,等. 生物型保鲜纸对中华寿桃的保鲜效果[J]. 江苏农业科学,2015,43(11):343-345.
- [4] 任亚萍,周勃,米银法,等. 苯甲酸钠对菊花切花保鲜效果及抗氧化系统的影响[J]. 江苏农业科学,2017,45(11):139-142.
- [5] 邢海丽,辛嘉英,王艳,等. 微生物源天然食品防腐剂的进展[J]. 食品安全质量检测学报,2015(10):3889-3894.
- [6] 虞新新,吕恩利,陆华忠,等. 不同气调环境对番茄保鲜品质的影响[J]. 江苏农业科学,2017,45(12):135-139.
- [7] 朱莉,李远颂,尹学琼. 壳聚糖-茶树油复合保鲜液对香蕉的保鲜效果[J]. 江苏农业科学,2017,45(15):167-169.
- [8] 谢晶,李建雄,潘迎捷,等. 冰温结合不同比例氧气气调对冷却肉保鲜的影响[J]. 农业工程学报,2009,25(10):307-311.
- [9] Eide O, Borresen T, Strom T. Minced fish production from capelin (*Mallotus villosus*). A new method for gutting, skinning and removal of fat from small fatty fish species[J]. Journal of Food Science, 1982,47(2):347-349.

莫建梅,刘莺燕,李庆国,等.“龙头凤尾”铁皮石斛基因鉴别及复方胶囊降血糖研究[J]. 江苏农业科学,2019,47(1):182-185.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.01.044

# “龙头凤尾”铁皮石斛基因鉴别及复方胶囊降血糖研究

莫建梅<sup>1</sup>, 刘莺燕<sup>2</sup>, 李庆国<sup>1</sup>, 李进进<sup>3</sup>, 廖俊杰<sup>3</sup>

(1. 广州中医药大学中药学院, 广东广州 510006; 2. 湖北省宜昌市当阳人民医院检验科, 湖北宜昌 444100;

3. 广东轻工职业技术学院, 广东广州 510300)

**摘要:**利用目标起始密码子多态性(start codon targeted polymorphism, 简称 SCoT) 和巢式(Nested)PCR 2 种分子标记技术建立“龙头凤尾”铁皮石斛 DNA 分子鉴别的方法, 并研究其复方制剂的降血糖作用。用 SCoT 标记设计 1 对引物 SC3, 开发特异性检测“龙头凤尾”铁皮石斛的 Nested PCR 方法, 建立分子鉴别质量标准; 利用鉴别后的石斛制备复方胶囊, 对链脲佐菌素加高脂饲料复制的胰岛素抵抗/脂代谢紊乱型糖尿病大鼠进行降血糖药效学研究, 观察其对模型大鼠空腹血糖、糖耐量、血清胆固醇、胰岛素等的影响。结果显示, 用设计的特异性引物 SC3 对其进行 SCoT-Nested PCR 扩增后, 仅在睿绅 2 号中扩增出 1 条清晰的目标条带, 而在其他铁皮石斛品种中均没有出现目标条带, 从而实现特异性鉴别。其复方石斛胶囊降血糖作用的规律为: 与正常对照组比较, 造模组大鼠血糖水平、血糖曲线下面积、总胆固醇含量显著增加( $P < 0.01$ ), 血清胰岛素含量显著减少( $P < 0.01$ ); 与造模组比较, 复方胶囊高、中剂量组大鼠血糖水平、血糖曲线下面积、总胆固醇含量显著减少( $P < 0.05$ ), 大鼠体质量、血清胰岛素含量显著增加( $P < 0.05$ )。说明 SCoT-Nested PCR 分子标记可以利用 1 对引物 SC3 对“龙头凤尾”铁皮石斛睿绅 2 号进行特异性鉴别; 其制备的复方胶囊高、中剂量组对链脲佐菌素加高脂饲料致胰岛素抵抗糖/脂代谢紊乱模型大鼠具有一定的降血糖作用, 增加胰岛素分泌, 降低血清胆固醇含量。能够提高该品种石斛的质量标准, 其制剂产品具有较好的降血糖作用。

**关键词:**“龙头凤尾”铁皮石斛; SCoT 标记; Nested PCR; 降血糖; 基因鉴别

**中图分类号:** S567.23<sup>+</sup>9.01; R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)01-0182-04

铁皮石斛为兰科石斛属多年草本附生植物, 富含多糖、生物碱等成分<sup>[1]</sup>, 能增强胰岛素活性和降低糖尿病患者血糖作用<sup>[2]</sup>。传统的石斛鉴定是基于形态学、解剖学和化学分析的传统方法, 以形态、感官为主, 如茎粗、质量、嚼之黏牙、味甘、

无渣等为指标<sup>[3-4]</sup>, 但这些传统方法并不能完全反映药材的内在质量, 很难从幼苗或干茎中鉴定石斛属物种, 也不利于产业管理的规范化。近年来, 随着 DNA 分子标记技术的发展, 应用这些技术鉴定石斛品种得到了迅速的发展<sup>[5]</sup>。其中, 以目标起始密码子多态性(start codon targeted polymorphism, SCoT) 标记技术<sup>[6]</sup>在石斛鉴定、种质源评估以及遗传多样性和亲缘关系分析上得到了较为广泛的应用。巢式 PCR(nested PCR) 分子标记因其扩增非常具有特异性而被广泛应用<sup>[7-8]</sup>, 其结果一般表现为扩增片段的有无, 具有简单易用、重复性好、扩增结果无须测序等优点。SCoT 分子标记和巢式

收稿日期: 2018-04-23

基金项目: 广东省东莞市科技局产学研项目(编号: 2014509108107)。

作者简介: 莫建梅(1992—), 女, 广西桂林人, 硕士, 研究方向为药物新剂型与制剂新技术。E-mail: 1052995279@qq.com。

通信作者: 廖俊杰, 硕士, 教授, 研究方向为农业生物技术。E-mail: 1446883556@qq.com。

[10] 张全景, 冯小海, 徐虹, 等.  $\epsilon$ -聚赖氨酸在冷鲜猪肉保鲜中的应用[J]. 食品科学, 2011, 32(2): 290-296.

[11] Deus D, Kehrenberg C, Schaudien D, et al. Effect of a nano-silver coating on the quality of fresh Turkey meat during storage after modified atmosphere or vacuum packaging[J]. Poultry Science, 2017, 96(2): 449-457.

[12] Mancini R A, Kropf D H, Hunt M C, et al. Effects of endpoint temperature, pH, and storage time on cooked internal color reversion of pork longissimus chops[J]. Journal of Muscle Foods, 2005, 16(1): 16-26.

[13] Zarate J R, Zaritzky N E. Production of weep in packaged refrigerated beef[J]. Journal of Food Science, 2010, 50(1): 155-159.

[14] 孙灵霞, 赵改名, 柳艳霞, 等. 动物因素对肌肉保水性影响的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(3): 731-732, 743.

[15] Kawai T, Kubota T, Hiraki J, et al. Biosynthesis of epsilon-poly-L-lysine in a cell-free system of *Streptomyces albulus*[J].

Biochemical and Biophysical Research Communications, 2003, 311(3): 635-640.

[16] 李昆伦, 李江阔, 张鹏, 等.  $\epsilon$ -聚赖氨酸在食品中应用的研究进展[J]. 保鲜与加工, 2010, 1(1): 11-15.

[17] 张伟娜, 李迎秋.  $\epsilon$ -聚赖氨酸在食品中应用的进展[J]. 中国食品添加剂, 2012, 37(5): 207-211.

[18] 邹凯华, 展海军.  $\epsilon$ -聚赖氨酸作为食品防腐剂的应用[J]. 食品研究与开发, 2008, 1(1): 165-168.

[19] 张东荣, 张超, 段作营, 等.  $\epsilon$ -聚赖氨酸抑菌性能的初步研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2006, 3(3): 75-76, 78-80.

[20] 贾秀春, 吴凤娜, 李迎秋, 等. 壳聚糖在冷却肉保鲜中的应用[J]. 山东轻工业学院学报(自然科学版), 2012, 26(1): 9-12.

[21] Soutos N, Tzikas Z, Abraham A, et al. Chitosan effects on quality properties of Greek style fresh pork sausages[J]. Meat Science, 2008, 80(4): 1150-1156.