

茶树精油对单增李斯特菌的抑制作用 及其在冷鲜猪肉中的应用

王清瑶¹, 肖性龙^{1,2}, 刘媛媛¹, 林旖晗¹, 张艳^{1,3*}

(1. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640) (2. 喀什大学生命与地理科学学院, 新疆喀什 844000) (3. 贵州民族大学民族医药学院, 贵州贵阳 550025)

摘要: 该研究探讨了茶树精油对单增李斯特菌的抑制效果及其在冷鲜猪肉保鲜中的应用。测定了茶树精油对单增李斯特菌的最小抑菌浓度 (Minimal Inhibitory Concentration, MIC), 观察了细菌的生长曲线以及细胞微观结构的变化, 并分析了茶树精油处理的猪肉在冷藏期间其菌落总数、总挥发性盐基氮含量、硫代巴比妥酸反应物值、pH 值、颜色和质构的变化情况。结果表明: 茶树精油对单增李斯特菌的 MIC 为 4.0 mg/mL, 且不同茶树精油处理组均对单增李斯特菌具有明显的抑制效果, 茶树精油破坏了单增李斯特菌细胞膜和细胞壁结构的完整性, 引发细胞内容物外渗, 从而导致菌体死亡。此外, 在贮藏期间 (0~12 d), MIC、2MIC 和 4MIC 茶树精油处理组的菌落总数与对照组相比分别下降了 1.18、1.37 和 1.56 log CFU/g, 且 TVB-N 值和 TBARS 值均未超过最大阈值, 茶树精油有效抑制了猪肉中微生物的生长, 延缓了猪肉含氮化合物降解、脂肪氧化、色度和品质的变化。结果表明, 茶树精油可抑制单增李斯特菌的生长, 并延长冷鲜猪肉的货架期 3 d 左右, 可作为冷鲜猪肉的保鲜剂。

关键词: 茶树精油; 单增李斯特菌; 冷鲜猪肉; 保鲜

文章编号: 1673-9078(2025)03-175-183

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.3.0209

The Inhibitory Effect of Tea Tree Essential Oil on *Listeria monocytogenes* and Its Application in Chilled Fresh Pork

WANG Qingyao¹, XIAO Xinglong^{1,2}, LIU Yuanyuan¹, LIN Yihan¹, ZHANG Yan^{1,3*}

(1. School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)
(2. School of Life and Geographic Sciences, Kashgar University, Kashi 844000, China)
(3. School of Ethnic Medicine, Guizhou Minzu University, Guiyang 550025, China)

Abstract: This study investigated the inhibitory effect of tea tree essential oil on *Listeria monocytogenes* and its application in the preservation of chilled fresh pork. The minimum inhibitory concentration (MIC) of tea tree essential oil against *Listeria monocytogenes* was determined, and the bacterial growth curve and the changes in cell microstructure were observed. The changes in the total bacterial count, total volatile basic nitrogen content, thiobarbituric acid reactive substances

引文格式:

王清瑶, 肖性龙, 刘媛媛, 等. 茶树精油对单增李斯特菌的抑制作用及其在冷鲜猪肉中的应用[J]. 现代食品科技, 2025, 41(3): 175-183.

WANG Qingyao, XIAO Xinglong, LIU Yuanyuan, et al. The inhibitory effect of tea tree essential oil on *Listeria monocytogenes* and its application in chilled fresh pork [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(3): 175-183.

收稿日期: 2024-02-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (32172320); 广东省自然科学基金资助项目 (2021A1515011068)

作者简介: 王清瑶 (2000-), 女, 硕士, 研究方向: 食品质量与安全, E-mail: 1422095833@qq.com

通讯作者: 张艳 (1987-), 女, 博士, 实验师, 研究方向: 食品安全与控制, E-mail: 474346632n@qq.com

content, pH, color, and texture of the pork treated with the tea tree essential oil during refrigeration were analyzed. The results showed that the MIC of tea tree essential oil against *Listeria monocytogenes* was 4.0 mg/mL, and different treatments with tea tree essential oil exhibited a significant inhibitory effect on *Listeria monocytogenes*. The tea tree essential oil damaged the structural integrity of the cell membranes and cell walls of *Listeria monocytogenes*, causing the release of internal cellular contents and ultimately the death of bacteria. Compared with the control group, the total colony number of MIC, 2MIC and 4MIC of the tea tree essential oil treatment groups decreased by 1.18, 1.37 and 1.56 log CFU/g, respectively, and the values of TVB-N and TBARS did not exceed the maximum threshold during storage (0~12 days). Therefore, tea tree essential oil effectively inhibited the growth of microorganisms in pork, delayed the degradation of nitrogen-containing compounds, fat oxidation, color and quality changes in the pork. The results showed that tea tree essential oil could inhibit the growth of *Listeria monocytogenes* and extend the shelf life of chilled fresh pork for about 3 days, and can be used as a preservative for chilled pork.

Key words: tea tree essential oil; *Listeria monocytogenes*; chilled pork; retain freshness

单增李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*) 广泛分布于自然界中, 是肉及肉制品中常见的食源性致病菌之一^[1]。单增李斯特菌属于革兰氏阳性菌, 可以在低温、低 pH 值和高盐浓度下存活^[2]。单增李斯特菌是一种有害的食源性致病微生物, 人体感染可引起李斯特菌病, 其致死率高达 23.6%, 这种病症的临床表现主要包括胃肠炎、脑膜炎、败血症、出血性皮炎和单核细胞增多症等^[3]。

随着工作和生活节奏的不断加快, 人们对冷藏、速冻肉类食品的需求量逐渐增多。但冷鲜肉在储藏、销售等过程中容易受到微生物的污染而引起腐败变质, 在这些微生物中, 单增李斯特菌尤其引人关注, 因为它极大可能造成食物中毒, 给人类健康带来严重威胁^[4]。食品工业通常使用一定的抑菌剂来抑制或杀死微生物, 以维持食品的微生物安全性, 并延长其货架期。目前, 冷鲜肉常用的抑菌防腐剂主要分为化学合成抑菌剂和天然抑菌剂^[5]。很多化学合成抑菌剂本身存在着致畸致癌性, 长期使用会对人体造成危害。相较而言, 天然抑菌剂因其具有来源丰富、毒害副作用小以及生物相容性高等优势, 成为人们研究的热点^[6]。天然抑菌剂主要包括植物精油以及提取物、乳酸链球菌素、壳聚糖和抗菌肽等, 植物精油及提取物常被用于增加食品的保质期以及提升食品的感官特质^[7]。

茶树精油 (Tea Tree Essential Oil) 是通过蒸馏提取纯化得到的具有一定抗菌活性的天然化合物。研究表明, 它能有效抑制大肠杆菌、沙门氏菌及金黄色葡萄球菌等微生物的生长, 表现出显著的抗菌作用^[8,9]。然而, 关于茶树精油对单增李斯特菌的抑

菌作用及其在冷鲜肉保鲜中的应用报道较少。本研究以茶树精油为实验原料, 通过观察单增李斯特菌的生长情况、细菌形态变化等指标研究茶树精油的抑菌效果。并以冷鲜猪肉为模型, 探讨了它在食品保鲜方面的应用, 从而为茶树精油应用于食品工业中提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 菌株与试剂

单增李斯特菌 ATCC 19115 由广东省微生物菌种保藏中心提供; 实验所用猪肉均购于广州市天河区卜蜂莲花超市, 于冰温条件下运送至实验室。营养琼脂、平板计数琼脂培养基均采购于广东环凯微生物科技有限公司; 茶树精油、氯化钠、高氯酸、盐酸等化学试剂均为分析纯, 采购于广州卯林有限公司; 无水乙醇、三氯乙酸、1,1,3,3-四乙氧基丙烷、硫代巴比妥酸、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠等化学试剂均为分析纯, 采购于麦克林试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

SW-CJ-2F 超净工作台, 苏州安泰空气技术有限公司; LC-SFJ-10 手持式匀浆机, 力辰仪器科技有限公司; SPX-250B-Z 恒温培养箱, 上海博讯实业有限公司; Bio Tek Gen5 酶标仪, 美国 Bio Tek 公司; EVO 18 场发射扫描电子显微镜, 德国卡尔蔡司公司; TMS-PRO 食品物性分析仪, 美国 FTC 公司; CR400-410 手持式色差仪, 日本柯尼卡美能达股份有限公司; PHBJ-260 pH 计, 上海仪电科学仪器股份有限公司。

1.3 方法

1.3.1 茶树精油对单增李斯特菌的抑菌效果

1.3.1.1 菌种的活化及培养

使用接种环蘸取少量细菌冻存液，在高压灭菌的 TSA 平板上划线接种，于 37 °C 的恒温培养箱中培养 36~48 h。从 TSA 平板挑选单个菌落，接种到 20 mL 的 TSB 培养基中，在 37 °C 的恒温摇床中以 180 r/min 的转速培养 12 h，直至细菌达到稳定生长期。随后，将菌悬液浓度调整至 6 log CFU/mL，备用。

1.3.1.2 茶树精油对单增李斯特菌最小抑菌浓度 (MIC) 和最小杀菌浓度 (MBC) 的测定

茶树精油对单增李斯特菌的最小抑菌浓度采用二倍稀释法来测定^[10]。制备质量浓度为 256 mg/mL 的茶树精油溶液作为母液，在 96 孔板每孔中分别加入 100 μ L TSB 培养基，随后加入配好的 100 μ L 茶树精油母液，逐级等倍稀释，向稀释好的各孔加入 100 μ L 细菌菌悬液 (6.0 log CFU/mL)，最终得到茶树精油的质量浓度依次为 128、64、32、16、8、4、2、1 mg/mL。设置不添加抑菌物的 TSB 菌悬液为阳性对照，不含细菌的 TSB 为阴性对照。将 96 孔板置于 37 °C 的恒温培养箱培养 24 h，使用酶标仪在 620 nm 的波长测定每个孔的浑浊度，MIC 指阻止细菌可见生长的最小抑菌浓度，MBC 指能够完全杀灭培养基中细菌的最低杀菌浓度。每组 3 个平行，实验重复三次。

1.3.1.3 单增李斯特菌抑菌生长曲线的绘制

准备 4 个锥形瓶，并分别加入 40 mL 浓度为 6 log CFU/mL 的备用菌悬液，再依次等体积添加茶树精油使其终质量浓度分别为 1/2MIC、MIC 和 2MIC，添加无菌水替代茶树精油标记为空白对照组 (CK)。置于 37 °C 的恒温培养箱中培养 24 h，每隔 2 h 测定一次 OD_{600nm} 来评估细菌生长情况。

1.3.1.4 茶树精油对单增李斯特菌形态的影响

使用场发射扫描电子显微镜 (FE-SEM) 对不同质量浓度茶树精油处理的细菌进行形态学观察。细菌在生理盐水环境中被暴露于不同质量浓度的茶树精油，处理后的细菌细胞在 4 °C 下用 2.5% 体积分数戊二醛溶液过夜固定，随后用不同体积分数 (30%、50%、70%、80%、90% 和 100%) 的乙醇溶液对细胞进行梯度洗脱。所得样品干燥后固定于载物台上，喷金后对样品进行 SEM 观察。

1.3.2 茶树精油在冷鲜猪肉中的保鲜应用

1.3.2.1 样品前处理

用流动水彻底洗净，在无菌操作台处理冷鲜肉样，用消毒后的刀将猪肉的脂肪和筋膜去掉，分割成 4 cm×4 cm×1 cm 的长方体。肉样碎片被随机分为 4 组，分别用无菌水 (CK)、4.0 mg/mL (MIC)、8.0 mg/mL (2MIC)、16.0 mg/mL (4MIC) 的茶树精油溶液浸泡处理 15 min。所有样品在超净工作台中沥干，装于无菌聚乙烯拉封袋中，标记后置于 4 °C 条件下冷藏 12 d，每隔 3 d 取样测定。

1.3.2.2 菌落总数的测定

菌落总数的测定参照 Joaquin 等^[11]方法。取 10 g 猪肉样品，剪碎后与 90 mL 无菌生理盐水共混，使用匀浆机处理 3 min，取匀浆的上清液十倍梯度稀释后，选三个适宜的稀释度，利用倾注平板法，在 37 °C 条件下培养 2 d 后计算菌落总数。

1.3.2.3 挥发性盐基氮 (TVB-N) 的测定

猪肉样品 TVB-N 的测定参考 GB 5009.228-2016 中微量扩散法^[12]。取 10 g 猪肉样品，按同上所述方法匀浆后过滤，所得滤液放入冰箱中备用。沿扩散皿边缘涂抹水溶胶，注入 1 mL 硼酸溶液和指示剂 1 滴至内室，再向外室加入 1 mL 样品滤液和碳酸钾溶液，旋紧皿盖并以圆周运动方式轻轻摇动。将扩散皿放置在 37 °C 恒温箱内保温 2 h，随后用 0.01 mol/L 盐酸溶液滴定至紫红色，记录滴定体积，同时做试剂空白。

1.3.2.4 硫代巴比妥酸反应物 (TBARS) 值的测定

TBARS 值的测定参照 Kunyaboon 等^[13]方法。取 10 g 猪肉样品，剪碎后与 50 mL 三氯乙酸共混，使用匀浆机处理 3 min 并过滤。将滤液在 90 °C 下与硫代巴比妥酸水溶液反应形成粉红色物质，测量样液在 532 nm 处的吸光度确定 TBARS 值。利用丙二醛标准品绘制标准曲线，结果以 mg 丙二醛当量/kg 猪肉样品计。

1.3.2.5 pH 值的测定

取 10 g 猪肉样品置于均质杯，添加 100 mL 无菌水，搅碎机搅碎并过滤，移取 40 mL 滤液至离心管中，5 000 r/min 转速下离心 5 min。用 pH 计测定上清液的 pH 值。

1.3.2.6 肉色和质构的测定

冷鲜肉样品的色度通过手持式色差仪来测定。使用色差仪对每个猪肉试样上的五个区域进行色度

检测后取平均值, 测量前先用标准白色比色板进行校正, 检测结果以白度 (L^*)、红绿度 (a^*) 以及黄蓝度 (b^*) 表示。

冷鲜肉样品的质构(硬度、弹性以及粘度)通过质构分析仪来测定。从每组猪肉样品中随机挑选3个试样, 将猪肉切成边长约为1 cm的正方体, 随后选取横截面直径为2 cm的圆柱体探头以及量程为100 N的压力感应单元对各样品进行TPA测试。TPA测试参数设定: 测前、测中及测后速度均为60 mm/min; 触发力为0.1 N; 形变量为50%; 每两次循环间隔为5 s。

1.4 数据统计与处理

所有处理做3个平行, 利用SPSS 26.0软件分析数据显著性差异, 通过Origin 2017软件绘制相关曲线图。

2 结果与讨论

2.1 茶树精油对单增李斯特菌的最小抑菌质量浓度(MIC)和最小杀菌质量浓度(MBC)测定

表1 茶树精油作用于单增李斯特菌的最小抑菌浓度和最小杀菌浓度

Table 1 The MIC and MBC of tea tree essential oil on <i>L. monocytogenes</i>			
植物源化合物	细菌	抑菌质量浓度	
		MIC/(mg/mL)	MBC/(mg/mL)
茶树精油	<i>L. monocytogenes</i>	4.0	8.0

根据表1, 可以观察到茶树精油对单增李斯特菌的最小抑菌质量浓度是4.0 mg/mL, 而最小杀菌质量浓度为8.0 mg/mL, 这表明茶树精油对这种细菌具有良好的抑制效果。金源^[4]的研究也指出茶树精油能有效抑制单增李斯特菌的生长。

2.2 茶树精油对单增李斯特菌生长的影响

图1显示了茶树精油对单增李斯特菌生长的抑制效果。24 h培养后, 对照组的 $OD_{600\text{ nm}}$ 值从初始的0.16增长至0.54; 与对照组相比, 当茶树精油浓度为1/2MIC时, 处理组的 $OD_{600\text{ nm}}$ 降至0.41, 表明茶树精油能够抑制单增李斯特菌的生长。当质量浓度为MIC和2MIC时, 菌液 $OD_{600\text{ nm}}$ 未发生明显增高,

说明茶树精油在MIC和2MIC质量浓度下均能完全抑制单增李斯特菌的生长。这一结果证实了茶树精油对单增李斯特菌的生长具有抑制效果, 且这种抑制效果呈浓度依赖性。Zhang等^[15]研究发现丁香精油对单增李斯特菌的生长抑制作用显著, 且抑制作用随丁香精油浓度增加而增大。

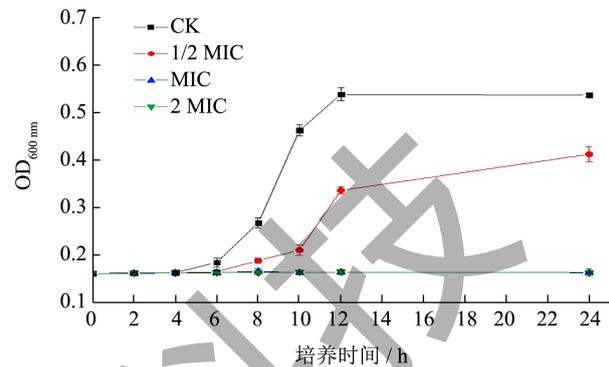


图1 茶树精油作用下单增李斯特菌的生长曲线

Fig.1 Time-kill curves of *L. monocytogenes* treated by tea tree essential oil

2.3 茶树精油对细菌微观结构的影响

细菌的特殊结构对其在自然界中的生存和繁殖具有重要的意义。细胞壁和细胞膜的存在可以抵御外界环境的侵害从而保护细菌, 同时也可以控制物质的进出, 维持细胞内外环境的平衡^[16]。使用扫描电子显微镜探究了茶树精油对单增李斯特菌细胞微观结构的影响。如图2所示, 对照组的单增李斯特菌圆润饱满, 呈现棒状短杆形, 细胞个体完整且表面光滑, 无褶皱现象(图2a); 在1/2MIC和MIC的茶树精油处理后, 单增李斯特菌菌体开始出现轻微的皱缩和破损现象(图2b、2c); 经过2MIC的茶树精油浓度作用的单增李斯特菌菌体形态则遭到破坏, 大量细胞皱缩严重, 细胞中心明显凹陷甚至破损。结果证实了茶树精油的使用引起了单增李斯特菌细胞膜和细胞壁的破坏, 从而导致菌体死亡。Wang等^[17]研究发现在探索乳酸对大肠杆菌、肠炎沙门氏菌和单增李斯特菌的抑菌机制时, 通过透射电镜观察到乳酸处理的细胞出现明显的凹陷和裂缝, 以及细胞膜的严重损伤, 他们发现0.5%乳酸可以完全抑制这些细胞的生长。因此, 本研究通过电镜扫描结果证实了茶树精油对单增李斯特菌细胞膜和细胞壁具有破坏作用, 从而有效抑制细菌的生长。

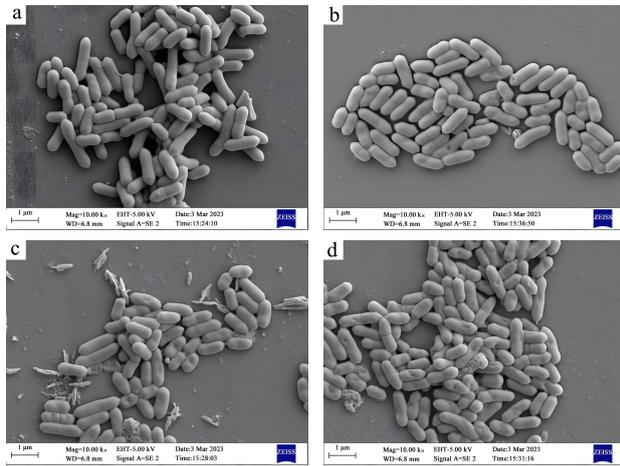


图2 不同处理的单增李斯特菌细胞的扫描电子显微镜图

Fig.2 Scanning electron microscopy graphs of *L. monocytogenes* cells treated with

注：(a) 对照组：生理盐水处理；(b) 1/2MIC 茶树精油组；(c) MIC 茶树精油组；(d) 2MIC 茶树精油组。

2.4 茶树精油对冷鲜猪肉中微生物指标的影响

微生物的生长及其在肉组织上营养物质的代谢是造成肉类腐败的主要因素^[18]。图3揭示了贮藏期间冷鲜猪肉的菌落总数变化情况。由图3可以发现CK、MIC、2MIC及4MIC组的冷鲜肉样品在第0天时的总活菌数分别为3.90、3.64、3.55和3.48 log CFU/g，相比CK组，各茶树精油处理的冷鲜肉样品中细菌总数均略微降低。随着贮藏时间的增长，CK组猪肉样品中的总活菌数迅速增长，到了第9天，CK组菌落总数达到了6.82 log CFU/g，这一数值已超出国家对于冷鲜肉标准（菌落总数超过6.0 log CFU/g即判定为变质肉^[19]），说明此时冷鲜猪肉已经被微生物污染并发生变质。而经不同质量浓度茶树精油处理的猪肉样品在3~12 d的贮藏期内，其菌落总数均显著低于对照组，在第9天时，MIC、2MIC和4MIC三个不同处理浓度的菌落总数均保持6.0 log CFU/g以下，且在12 d的贮藏过程中，与对照组相比，这三个处理组的菌落总数分别降低了1.18、1.37和1.56 log CFU/g。结果表明茶树精油能有效抑制冷鲜猪肉中微生物的生长，从而延长猪肉保质期。Claudileide等^[20]在评估茶树精油对冷鲜碎牛肉的保鲜效果也发现了类似的结果，研究表明，将肉样于4℃条件下保存14 d，相较于对照组，经过茶树精油处理的样品中细菌总数始终更低，同时茶树精油展现出对单增李斯特菌生长的显著抑制能力。

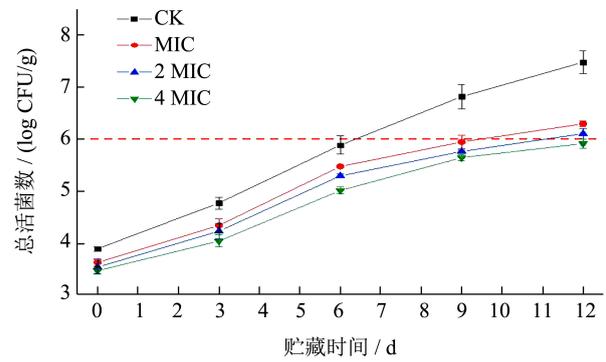


图3 4℃贮藏期间冷鲜猪肉样品总活菌数的变化情况

Fig.3 Changes in total viable count of chilled pork samples during storage at 4℃

2.5 茶树精油对冷鲜猪肉中挥发性盐基氮(TVB-N)的影响

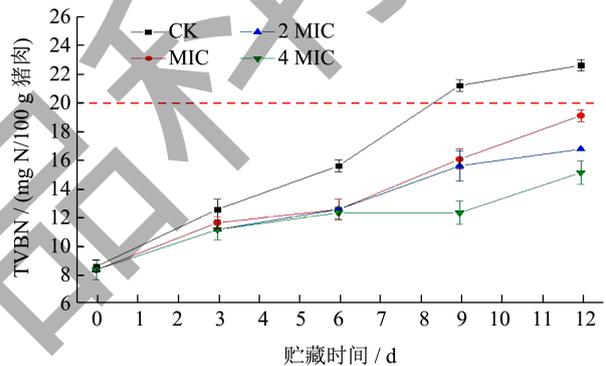


图4 4℃贮藏期间冷鲜猪肉样品挥发性盐基氮含量(TVB-N)的变化情况

Fig.4 Changes in total volatile base nitrogen (TVB-N) of chilled pork samples during storage at 4℃

挥发性盐基氮(TVB-N)主要由肉制品中的含氮化合物如蛋白质和氨基酸，在细菌和酶作用下分解产生的氨和胺等碱性氮化合物组成，对肉制品的品质产生直接影响^[4]。一般情况下20 mg N/100 g是冷鲜猪肉制品TVB-N的最大限值，超过此限值则认为猪肉已完全腐败无法食用^[21]。根据图4可以观察到冷鲜肉宰后12 d内，冷鲜猪肉的TVB-N值整体呈现增长趋势。在最初的3 d内，所有四组猪肉样品的TVB-N值增长都较为缓慢，并且彼此间数值相近。然而，随着保存时间的延长，CK组肉样的TVB-N值开始急剧上升，在贮藏第9天数值达到了20.65 mg N/100 g，超过了可接受限值；与此同时，经过MIC、2 MIC及4 MIC处理的猪肉样品的TVB-N值则明显低于CK组，分别为16.10、15.05

和 12.60 mg N/100 g。综合 TVB-N 值曲线和总活菌数变化趋势发现,猪肉样品的 TVB-N 值仅在猪肉中活菌数量达到一定丰度后才会迅速上升,推测冷鲜猪肉中细菌的活动是造成含氮化合物降解的主要原因。类似的研究也表明肉类中 TVB-N 的含量与微生物诱导的蛋白质降解高度相关^[22,23]。因此,本研究表明茶树精油可有效抑制冷鲜猪肉中的含氮化合物降解。

2.6 茶树精油对冷鲜猪肉中脂质氧化 (TBARS) 的影响

硫代巴比妥酸反应物 (TBARS) 与猪肉脂质的自氧化过程有关,因此它被广泛用于评估肉品中脂肪氧化程度^[24]。由图 5 可知,CK、MIC、2MIC 和 4MIC 组猪肉样品的 TBARS 值在整个贮藏期都显示出持续上升的趋势,但是三个茶树精油处理组的猪肉样品的 TBARS 值均低于对照组,各处理组间存在较大差异。一般来说 TBARS 值达到 0.5 mg/kg 就能明显感受到肉质腐败^[4],对照组在第 9 天时 TBARS 值为 0.53 mg/kg,说明肉样已明显发生腐败,茶树精油处理后的三组冷鲜肉在贮藏的 12 d 内 TBARS 值分别为 0.49、0.45 和 0.43 mg/kg,均未超过最大阈值,可见茶树精油对冷鲜猪肉具有较好的保鲜效果。与对照组相比,茶树精油处理组中 TBARS 值的上升幅度要小得多,说明茶精油可能是通过稳定自由基而抑制冷鲜猪肉的脂肪氧化。Cai 等^[25]发现茶树精油中含有的松油烯、 α -松油醇和 γ -松油醇可以通过稳定自由基来抑制生物体系(例如动物胴体)中脂质的氧化损伤。

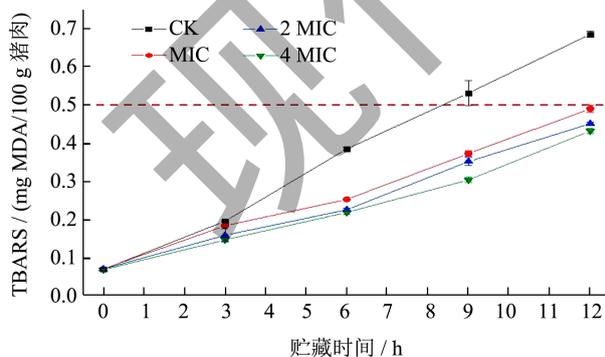


图 5 4 °C 贮藏期间冷鲜猪肉样品硫代巴比妥酸反应物 (TBARS) 的变化情况

Fig.5 Changes in Thiobarbituric acid reactants (TBARS) of chilled pork samples during storage at 4 °C

2.7 茶树精油对冷鲜猪肉 pH 值的影响

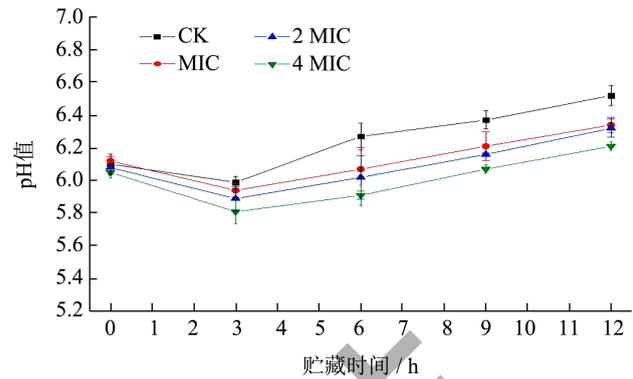


图 6 4 °C 贮藏期间冷鲜猪肉样品 pH 值的变化情况

Fig.6 Changes in pH of chilled pork samples during storage at 4 °C

pH 值是判断肉类新鲜程度的关键指标之一^[18]。由图 6 可知,贮藏的 0~12 d 内,初期时 CK、MIC、2MIC 和 4MIC 组 pH 值分别为 6.10、6.12、6.08 和 6.05,随着贮藏时间到第 3 天时,pH 值均有所下降,分别为 5.99、5.94、5.89 和 5.81,这可能是猪肉糖酵解引起的。随后,由于蛋白质和氨基酸的降解产生胺,所有样品的 pH 值都呈现上升趋势^[26]。而 pH 值的上升会促进微生物的繁殖,进而缩短食品保质期^[27]。整个贮藏期内,处理后的各组肉样 pH 值始终低于未处理的对照组,这可能是由于茶树精油通过抑制猪肉中细菌生长,减缓了蛋白质的分解速率,这一结果与之前实验中总活菌计数结果相吻合。相关研究表明,在猪肉储藏初期,肌肉组织的降解主要由猪肉中的内源性酶所引起。随着贮藏期间的延长,微生物活动开始主导肉品的腐败和品质变化^[28]。因此,使用茶树精油能够有效维持冷鲜猪肉的 pH 值,确保肉质良好,并延长冷鲜猪肉的货架期。

2.8 茶树精油对冷鲜猪肉颜色和质构的影响

猪肉的颜色和质地可以间接反映猪肉的品质和新鲜度,直接影响消费者的购买欲望^[29]。由表 2 可知,贮藏期间冷鲜猪肉的白度 (L^*) 总体呈先上升后下降的趋势,对比 CK 组,MIC、2MIC 和 4MIC 组均能有效抑制猪肉变黑,且各组在 9 d 后出现显著差异,12 d 时 4MIC 组的 L^* 值最高为 57.78,MIC 和 2MIC 组的 L^* 值相近,表明茶树精油能有效抑制猪肉的黑变,一定时间段内其质量浓度越高

对猪肉黑变抑制的程度越明显。与白度变化情况类似，猪肉的红绿度 (a^*) 在贮藏期间同样呈先上升后下降的趋势，主要原因是猪肉氧化和腐败细菌产生的硫化氢和过氧化氢促进猪肉肌红蛋白的衍生物形成^[30]；不同茶树精油处理组间无显著差异，贮藏的 6~12 d 内，猪肉样品红度下降顺序为 CK > MIC > 2MIC > 4MIC，CK 组 a^* 值降至最低值 6.84。

猪肉在贮藏期间的黄蓝度 (b^*) 逐渐上升，其中 CK 组的 b^* 值上升幅度最大，MIC 组和 2MIC 组上升幅度相近且低于 CK 组，4MIC 组上升幅度最小，表明 4MIC 组的保鲜效果最好。Ledca 等^[31]发现猪肉在贮藏期间黄度上升的主要原因是猪肉中的蛋白质和脂质的氧化反应产生了一些影响肉质颜色的副产物，从而加速了肉质变色。

表 2 4 °C 贮藏期间冷鲜猪肉样品颜色 (L^* 、 a^* 、 b^*) 及质构 (硬度、弹性、粘度) 的变化情况

Table 2 Changes in color (L^* , a^* and b^*) and texture (hardness, springiness and adhesiveness) of chilled pork samples during storage at 4 °C

指标	样品分组	贮藏时间/d				
		0	3	6	9	12
L^*	CK	51.14 ± 0.27 ^{cA}	53.28 ± 0.03 ^{bB}	55.75 ± 1.03 ^{aB}	53.60 ± 0.38 ^{bC}	48.48 ± 0.74 ^{dC}
	MIC	51.78 ± 1.54 ^{dA}	57.13 ± 0.37 ^{bA}	59.11 ± 0.95 ^{aA}	57.55 ± 0.59 ^{abB}	55.30 ± 0.48 ^{cB}
	2MIC	51.85 ± 0.25 ^{dA}	57.86 ± 0.03 ^{bA}	59.79 ± 0.81 ^{aA}	58.50 ± 0.43 ^{bA}	55.34 ± 0.72 ^{cB}
	4MIC	52.18 ± 0.98 ^{dA}	57.95 ± 2.38 ^{abA}	59.97 ± 0.31 ^{aA}	58.98 ± 0.43 ^{abA}	57.58 ± 0.21 ^{cA}
a^*	CK	7.45 ± 0.91 ^{bA}	8.12 ± 0.26 ^{bA}	9.34 ± 0.60 ^{aA}	8.23 ± 0.29 ^{bA}	6.84 ± 0.32 ^{cB}
	MIC	7.08 ± 0.53 ^{cA}	8.21 ± 0.46 ^{bA}	9.82 ± 0.80 ^{aA}	8.90 ± 0.16 ^{bA}	8.43 ± 0.27 ^{bA}
	2MIC	7.56 ± 0.33 ^{cA}	9.31 ± 1.20 ^{abA}	10.44 ± 0.26 ^{aA}	9.20 ± 1.05 ^{abA}	8.71 ± 0.40 ^{bcA}
	4MIC	7.61 ± 0.40 ^{cA}	9.71 ± 1.20 ^{abA}	10.34 ± 1.54 ^{aA}	9.25 ± 0.66 ^{abcA}	8.45 ± 0.50 ^{bcA}
b^*	CK	4.84 ± 0.83 ^{cA}	5.75 ± 1.35 ^{bcA}	6.61 ± 0.32 ^{abA}	7.27 ± 0.71 ^{abA}	8.07 ± 0.50 ^{aA}
	MIC	4.52 ± 0.50 ^{bA}	5.23 ± 1.11 ^{abA}	5.75 ± 1.35 ^{abA}	6.38 ± 1.04 ^{abA}	7.00 ± 0.69 ^{aAB}
	2MIC	4.23 ± 0.26 ^{dA}	5.02 ± 0.79 ^{cdA}	5.69 ± 0.50 ^{bcA}	6.20 ± 0.17 ^{abA}	6.89 ± 0.38 ^{abB}
	4MIC	4.27 ± 1.18 ^{cA}	4.87 ± 0.33 ^{bcA}	5.56 ± 0.31 ^{abcA}	5.98 ± 0.71 ^{abA}	6.40 ± 0.65 ^{abB}
硬度/N	CK	17.96 ± 1.50 ^{cA}	22.46 ± 3.59 ^{bA}	26.46 ± 0.68 ^{aA}	16.76 ± 2.27 ^{cA}	7.67 ± 1.55 ^{dB}
	MIC	17.64 ± 2.61 ^{bA}	21.56 ± 3.09 ^{aA}	23.61 ± 1.23 ^{aA}	15.73 ± 0.59 ^{bA}	10.30 ± 1.47 ^{cAB}
	2MIC	17.09 ± 0.96 ^{bcA}	21.35 ± 2.02 ^{abA}	24.99 ± 4.44 ^{aA}	13.57 ± 1.14 ^{cdA}	10.73 ± 1.62 ^{dA}
	4MIC	16.87 ± 1.95 ^{bA}	21.17 ± 3.36 ^{aA}	23.11 ± 1.01 ^{aA}	13.56 ± 2.04 ^{bcA}	12.53 ± 1.42 ^{cA}
弹性/mm	CK	0.51 ± 0.04 ^{aA}	0.48 ± 0.040 ^{aA}	0.47 ± 0.05 ^{aA}	0.45 ± 0.05 ^{aA}	0.43 ± 0.01 ^{aA}
	MIC	0.52 ± 0.04 ^{aA}	0.51 ± 0.04 ^{aA}	0.49 ± 0.02 ^{aA}	0.47 ± 0.05 ^{aA}	0.45 ± 0.03 ^{aA}
	2MIC	0.53 ± 0.03 ^{aA}	0.51 ± 0.02 ^{abA}	0.49 ± 0.05 ^{abA}	0.47 ± 0.02 ^{bA}	0.45 ± 0.01 ^{bA}
	4MIC	0.54 ± 0.10 ^{aA}	0.52 ± 0.04 ^{aA}	0.49 ± 0.08 ^{aA}	0.48 ± 0.03 ^{aA}	0.47 ± 0.05 ^{aA}
粘度/(N·mm)	CK	0.41 ± 0.04 ^{dA}	0.43 ± 0.01 ^{cdA}	0.46 ± 0.01 ^{bcA}	0.49 ± 0.03 ^{abA}	0.52 ± 0.02 ^{aA}
	MIC	0.38 ± 0.03 ^{Ab}	0.42 ± 0.03 ^{abA}	0.45 ± 0.07 ^{abA}	0.48 ± 0.05 ^{aA}	0.49 ± 0.03 ^{aA}
	2MIC	0.38 ± 0.06 ^{bA}	0.43 ± 0.04 ^{abA}	0.44 ± 0.02 ^{abA}	0.47 ± 0.02 ^{abA}	0.48 ± 0.05 ^{aA}
	4MIC	0.38 ± 0.01 ^{bA}	0.42 ± 0.01 ^{abA}	0.44 ± 0.05 ^{abA}	0.47 ± 0.02 ^{aA}	0.48 ± 0.05 ^{aA}

注：结果均以平均值 ± 标准差表示；不同的大写字母表示同一贮藏时间点不同处理组之间差异显著；不同的小写字母表示同一处理组在不同贮藏时间点间差异显著 ($P < 0.05$)。

各组猪肉样品质构的变化情况见表 2，贮藏的 0~12 d 内，冷鲜猪肉的硬度早期呈上升趋势，在贮藏中期达到最高值后开始降低。对比 CK 组，不同茶树精油处理组均能有效抑制猪肉硬度的下降，其中 4MIC 组下降幅度最小。总体来看猪肉弹性随着

贮藏时间的延长逐渐降低，相反猪肉粘度则在贮藏过程中呈现上升趋势，MIC、2MIC 和 4MIC 组粘弹性都优于 CK 组，其中 4MIC 组质构特性最好，保鲜效果最佳。结果表明茶树精油一定程度上能有效维持冷鲜猪肉样品的弹性和粘度。茶树精油对猪肉

硬度和粘弹性的积极影响可能是由于其抑制了猪肉的氧化,维护了肌肉纤维的完整性,从而减少了猪肉样品质构的改变。类似的研究^[19]也发现丁香酚纳米微粒可作用于猪肉中肌肉纤维的内部结构,使其键力变小而维持猪肉的质构特性。

3 结论

本实验通过细胞生长曲线、细菌微观结构形态变化等指标,对茶树精油抑制单增李斯特菌的能力进行了探究,研究表明茶树精油对单增李斯特菌的最小抑菌质量浓度为4.0 mg/mL,具有良好的抑菌效果,并且茶树精油能破坏细菌细胞膜和细胞壁结构完整性,干扰菌体细胞的正常生长繁殖,引起细胞的凋亡。将茶树精油应用于冷鲜猪肉的保鲜处理,通过测定贮藏过程中猪肉的总菌落数、挥发性盐基氮含量、硫代巴比妥酸反应物质的数值、pH值以及色度和质构等指标,发现茶树精油可以很好地抑制猪肉中细菌的生长繁殖,减缓蛋白质降解和脂质氧化,降低pH值上升的速度,有效地改善猪肉的色泽、硬度和粘弹性从而达到改善肉制品品质,延长货架期的目的。

作为一种天然抑菌剂,茶树精油在开发冷鲜肉的天然保鲜方法方面具有较好的价值,然而,目前对于茶树精油的抑菌机制还不够深入,未来研究需通过转录组学和基因组学等层面进一步深化对其抑菌机制的认识,以便为天然抑菌剂的开发提供更精确的理论支持。

参考文献

- [1] 袁蒲,杨丽,李杉,等.我国食源性疾病预防研究现状与管理建议[J].中国卫生产业,2018,15(6):136-137.
- [2] YASMINE N A E, AYAH B A, HEMMAT M A, et al. Elimination of detached *Listeria monocytogenes* from the biofilm on stainless steel surfaces during milk and cheese processing using natural plant extracts [J]. Scientific Reports, 2024, 14(1): 2288.
- [3] CHEN J Q, PATRICK R, PONGPAN L, et al. Prevalence and methodologies for detection, characterization and subtyping of *Listeria monocytogenes* and *L. ivanovii* in foods and environmental sources[J]. Food Science and Human Wellness, 2017, 6(3): 97-120.
- [4] 李兆亭.迷迭香提取物对单增李斯特菌抑菌机理及在冷鲜肉中的应用研究[D].海口:海南大学,2019.
- [5] 闫小杰,白乌日力嘎,康连和,等.冷鲜牛肉贮藏保鲜技术研究进展[J].食品工业,2023,44(12):196-201.
- [6] 王亚松,王泽,张红娇,等.天然保鲜剂在冷鲜肉保鲜中的应用[J].食品安全导刊,2021,34:141-143.
- [7] LI S, JIANG S X, JIA W T, et al. Natural antimicrobials from plants: Recent advances and future prospects [J]. Food Chemistry, 2024,432(30): 137231.
- [8] LIU X, DENG H Y, XU Q Q, et al. Effects of tea tree essential oil supplementation in low fish meal diet on growth, lipid metabolism, anti-oxidant capacity and immunity of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. Aquaculture Reports, 2022, 27: 101380.
- [9] NADER P, REZA Y, NOOSHIN B, et al. A review of applications of tea tree oil in dermatology [J]. International Journal of Dermatology, 2013, 52(7): 784-790.
- [10] BERT F W, WILLIAM A R, CHARLES O Q. Evaluation of a semiautomated micro-broth dilution system for determining minimum inhibitory concentrations of antimicrobials [J]. American Journal of Clinical Pathology, 1980, 73(3): 374-379.
- [11] JOAQUÍN G, MARÍA E L, MIGUEL Á M, et al. The effect of the combined use of high pressure treatment and antimicrobial edible film on the quality of salmon carpaccio [J]. International Journal of Food Microbiology, 2018, 283: 28-36.
- [12] GB 5009.228-2016 食品中挥发性盐基氮的测定[S].
- [13] SASINEE K, KANJANA T, JAE W P, et al. Evaluation of lipid oxidation, volatile compounds and vibrational spectroscopy of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during ice storage as related to the quality of its washed mince [J]. Foods, 2021, 10(3): 495.
- [14] 金源.茶树油抗单增李斯特菌活性及机制研究[D].吉林:吉林大学,2017.
- [15] ZHANG C H, LI C Z, ABDEL M A, et al. Unraveling the inhibitory mechanism of clove essential oil against *Listeria monocytogenes* biofilm and applying it to vegetable surfaces [J]. LWT, 2020, 134: 110210.
- [16] REYHAN I, MIHRIBAN K. Growth inhibition of pathogenic bacteria and some yeasts by selected essential oils and survival of *L. monocytogenes* and *C. albicans* in apple-carrot juice [J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2009, 6(3): 387-394.
- [17] WANG C, CHANG T, YANG H, et al. Antibacterial mechanism of lactic acid on physiological and morphological properties of *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* [J]. Food Control, 2015, 47: 231-236.
- [18] ELERIN T, LAURA R, JOHN P B, et al. Microbial spoilage mechanisms of vacuum-packed lamb meat: A review [J]. International Journal of Food Microbiology, 2023, 387: 110056.
- [19] 张力,张娟,王婧,等.丁香酚纳米微粒在冷鲜猪肉保鲜中的应用[J].食品工业科技,2017,38(22):280-285.

- [20] DE SÁ S C, DE FIGUEIREDO H M, STAMFORD T L M, et al. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Melaleuca alternifolia* (tea tree) essential oil in ground beef [J]. International Journal of Food Microbiology, 2019, 293: 79-86.
- [21] XIA Z Y, ZHAI X D, LIU B B, et al. Conductometric titration to determine total volatile basic nitrogen (TVB-N) for post-mortem interval (PMI) [J]. Journal of Forensic and Legal Medicine, 2016, 44: 133-137.
- [22] BARBARA Z, DENNIS F, MARIA C V, et al. Inhibition of microbiological activity during sole (*Solea solea* L.) chilled storage by applying ellagic and ascorbic acids [J]. LWT-Food Science and Technology, 2008, 41(9): 1733-1738.
- [23] 周彬静,刘小花,彭菁,等. 荧光假单胞菌和热杀索丝菌对低温贮藏期间猪肉品质变化的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(19):208-216.
- [24] LUIS G G, JOSÉ J C, GAMZE G, et al. Validation of assays for measurement of oxidant compounds in saliva of pigs: Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), carbonyl, and reactive oxygen species (ROS) [J]. Research in Veterinary Science, 2023, 165: 105069.
- [25] CAI M H, ZHANG G, WANG J, et al. Application of glycyrrhiza polysaccharide nanofibers loaded with tea tree essential oil/gliadin nanoparticles in meat preservation [J]. Food Bioscience, 2021, 43: 101270.
- [26] WANG S S, KUANG X, LI B, et al. Physical properties and antimicrobial activity of chilled meat pads containing sodium carboxymethyl cellulose [J]. Journal of Applied Polymer Science, 2013, 127(1): 612-619.
- [27] RUAN C C, ZHANG Y M, SUN Y, et al. Effect of sodium alginate and carboxymethyl cellulose edible coating with epigallocatechin gallate on quality and shelf life of fresh pork [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 141: 178-184.
- [28] PIRES J R A, DE SOUZA V G L, FERNANDO A L. Chitosan/montmorillonite bionanocomposites incorporated with rosemary and ginger essential oil as packaging for fresh poultry meat [J]. Food Packaging and Shelf Life, 2018, 17: 142-149.
- [29] ABDULLAH I, NEKTARIOS A V, FERNANDO M, et al. Classification of pre-sliced pork and Turkey ham qualities based on image colour and textural features and their relationships with consumer responses [J]. Meat Science, 2010, 84(3): 455-465.
- [30] CHANTIRA W, SAPPASITH K, WORAWAN P, et al. Interrelationship between myoglobin and lipid oxidations in oxeye scad (*Selar boops*) muscle during iced storage [J]. Food Chemistry, 2015, 174: 279-285.
- [31] LEDA C M C, MARIA L G M, BRUNO R C C, et al. Effect of microencapsulated extract of pitaya (*Hylocereus costaricensis*) peel on color, texture and oxidative stability of refrigerated ground pork patties submitted to high pressure processing [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2018, 49: 136-145.