王明珠,谢勇,檀利军,等. 空间电场联合冰温贮藏对调理牛排挥发性风味物质及微生物群落演替的影响 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(4): 172−183. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025040207
WANG Mingzhu, XIE Yong, TAN Lijun, et al. Effect of Space Voltage Electrostatic Field Combined with Controlled Freezing Point Storage on Volatile Flavor Substances and Microbial Community Composition of Beef Steak[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(4): 172−183. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025040207

·研究与探讨·

空间电场联合冰温贮藏对调理牛排挥发性风味物质及微生物群落演替的影响

王明珠[1,2],谢 勇[1,+],檀利军[1],李 聪[1],廖鲜艳[2],黄俊逸[2],徐宝才[1,*]
(1.合肥工业大学食品与生物工程学院,安徽合肥 230601;
2.上海大学生命科学学院,上海 200444)

摘 要: 为探究空间电场联合冰温贮藏对调理牛排挥发性风味物质及微生物群落演替的影响，本研究采用气相色谱-质谱联用（GC-MS）与 16S rRNA 高通量测序技术，分别解析冷藏处理、冰温处理以及空间电场联合冰温贮藏过程中挥发性风味物质动态变化及菌群结构特征。基于气味活度值（OAV）计算与多元统计分析筛选特征风味物质，并利用 Spearman 相关性分析探讨其与微生物群落的关联性。结果表明，调理牛排低温贮藏过程中共检测到 39 种挥发性风味物质，其中己醛、苯甲醛、庚醛、辛醛、苯乙醛、E-2-癸烯醛、2-甲基-3-庚酮、2-壬酮、1-辛烯-3-醇、二甲基二硫醚、壬醛和柠檬烯为主要特征风味物质（OAV>1）。与单一冷藏组相比，空间电场协同冰温处理维持了醇、醛、酮和酯类物质的组成及相对含量的稳定，并抑制腐败相关风味物质的积累。此外，空间电场调控了微生物群落演替，延缓了嗜冷菌向优势腐败菌转变的速率。相关性分析表明，假单胞菌属（*Pseudomonas*）和不动杆菌属（*Acinetobacter*）在风味变化中起关键作用，并与辛醛、二甲基二硫醚、壬醛等腐败标志物的产生呈正相关。因此，空间电场能够在短期内抑制腐败菌群扩增，减缓风味劣变，进而延长调理牛排的货架期，为肌肉食品的保鲜提供一种极具潜力的新策略。

关键词: 空间电场,冰温贮藏,调理牛排,特征风味,微生物群落,保鲜
中图分类号: TS251.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002−0306(2026)04−0172−12
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025040207 本文网刊:

Effect of Space Voltage Electrostatic Field Combined with Controlled Freezing Point Storage on Volatile Flavor Substances and Microbial Community Composition of Beef Steak

WANG Mingzhu[1,2], XIE Yong[1,+], TAN Lijun[1], LI Cong[1], LIAO Xianyan[2], HUANG Junyi[2], XU Baocai[1,*]
(1.School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China;
2.School of Life Sciences, Shanghai University, Shanghai 200444, China)

Abstract: This study aimed to investigate the effects of combined spatial electric field and subzero temperature storage on volatile flavor compounds and microbial community succession in marinated steak. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and high-throughput sequencing of the 16S rRNA gene were performed to analyze the dynamic changes in volatile flavor compounds and the characteristics of the microbial community structure during refrigerated storage, subzero storage, and combined spatial electric field and subzero storage. Volatile flavor compounds with significant

收稿日期: 2025−04−17 +并列第一作者
基金项目: 国家重点研发专项-工业化菜肴新鲜度保持与贮运关键技术装备研发项目（2023YFD2100703）;国家重点研发计划-易腐农产品跨域运输减损增效关键技术研究与示范（2024YFD2101000）。
作者简介: 王明珠（1999−）,女,硕士研究生,研究方向:肉品加工,E-mail:wmz991219@163.com。
谢勇（1996−）,男,博士,讲师,研究方向:肉品加工与质量控制,E-mail:xieyong@mail.hfut.edu.cn。
*** 通信作者:** 徐宝才（1973−）,男,博士,研究员,研究方向:肉品加工与质量控制,E-mail:baocaixu@163.com。

characteristics were identified based on odor activity value (OAV) calculations and multivariate statistical analysis, and their associations with the microbial communities were explored using Spearman correlation analysis. The results showed that a total of 39 volatile flavor compounds were detected during the low-temperature storage of marinated steak. Among these, hexanal, benzaldehyde, heptanal, octanal, phenylacetaldehyde, E-2-decenal, 2-methyl-3-heptanone, 2-nonanone, 1-octen-3-ol, dimethyl disulfide, nonanal, and limonene were identified as the main characteristic flavor compounds (OAV>1). Compared with the single refrigeration group, the synergy of space electric field treatment maintained the stability of the composition and relative content of alcohols, aldehydes, ketones, and esters and inhibited the accumulation of spoilage-related flavor compounds. In addition, the space electric field regulated the succession of microbial communities, slowing the rate of transition from psychrophilic bacteria to dominant spoilage bacteria. Correlation analysis indicated that the genera *Pseudomonas* and *Acinetobacter* played a key role in flavor changes and would be positively correlated with the production of spoilage markers, such as octanal, dimethyl disulfide, and nonanal. Therefore, space electric fields can inhibit the proliferation of spoilage bacteria in the short term, slow flavor deterioration, and extend the shelf life of prepared beef steaks, providing a highly promising new strategy for the preservation of meat products.

Key words: space voltage electrostatic field (SVEF); controlled freezing point storage; prepared steak; characteristic flavor; microbial community; preservation

随着食品工业的不断发展，调理牛排因其加工便捷、营养均衡和较高的感官品质受到了越来越多消费者的青睐[1]，主要通过 4 ℃ 冷藏的方式进行贮运和销售。然而，传统的冷藏技术受限于冷链物流体系的不完善，虽然可以在一定程度上抑制微生物的生长，但产品的货架期仍然较短。相比之下，冰温贮藏作为新兴的保鲜方式，其温度范围介于食品冰点和 0 ℃ 之间，能够有效地维持肌肉食品的品质[2]。值得注意的是，冰温贮藏的温度范围较窄，不仅对环境温度的稳定性提出了严格的要求，同时贮藏期间的微生物增殖、蛋白质和脂质的氧化仍会造成品质的劣变，不适合在当前的食品工业中进行大规模应用[3]。因此通过联合其他技术提高冰温贮藏的有效性引起了广泛的关注[2,4]。

近年来，电场技术已被证明是保持食品品质的有效方法，具有易于实施、适用性强和成本低廉等优势[5−6]。Sepulveda 等[7] 发现脉冲电场联合温和热处理可以有效抑制贮藏期间微生物的生长，将牛奶的保质期延长了 14 d，并且奶香气味、甜味等关键风味指标在贮藏期内无显著变化。此外，对于果蔬食品，电场技术协同气调包装可以缓解贮藏期间柿子果肉褐变和软化现象，色泽与质地保持率分别提升 20% 和 15%，并延长贮藏期至少 10 d[8]；同时，Xiong 等[9] 发现在新鲜蔬菜的冷藏期间施加交流电场，通过抑制微生物的生长繁殖，特别是大肠杆菌、霉菌和金黄色葡萄球菌等，可以将鲜切大白菜和菠菜的变质速度延缓约 30% 和 25%，有效维持色泽、香气等感官品质。之前的研究表明空间电场联合冰温技术可以延长牛排产品的货架期[10]。值得注意的是，微生物群落的动态变化与肉品的新鲜度是紧密关联的，阐明肉制品在贮藏过程中优势腐败菌的群落演替有利于精准采取保鲜策略。

挥发性风味物质是肌肉食品感官品质的核心决定因素，而微生物群落的演替则直接影响腐败进程及食品安全风险。研究表明，调理牛排贮藏过程中易发生脂质氧化、美拉德反应及微生物代谢，导致特征性肉香物质（如醛类、酮类）的降解和不良风味化合物（如胺类、硫化物）的积累[11]。与此同时，假单胞菌属（*Pseudomonas*）与不动杆菌属（*Acinetobacter*）等特定腐败菌不仅在贮藏过程中占据优势地位，且其代谢活动与风味物质的形成密切相关，同时可能伴随生物胺等危害因子的积累，加速产品腐败进程[12]。目前静电场技术已成为一种极具潜力的食品保鲜策略。然而，其改善食品品质和延长保质期的分子机制尚不明晰，针对冰温环境下静电场对调理牛排的风味特性及微生物群落演替的影响缺乏系统性研究。

本研究创新地构建了空间电场联合冰温贮藏的保鲜体系，以系统解析其对调理牛排挥发性风味物质及微生物群落结构的影响。通过气相色谱-质谱联用（GC-MS）技术分析风味物质的变化特征，并结合气味活度值（OAV）计算及多元统计分析筛选关键风味化合物。同时，基于高通量测序技术解析贮藏期间微生物群落的动态演替特征，并利用 Spearman 相关性分析探究关键腐败菌群与异味标志物的代谢关联，进一步阐明空间电场对微生物-风味互作网络的调控机制。研究成果从微生物调控的视角为肌肉食品的抑菌保鲜与风味保持提供了一种新的策略。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

牛背最长肌　购于合肥大润发精选超市，全程装在冰盒中运回实验室并置于 4 ℃ 冰箱中；食用盐　安徽润华盐业有限公司；蔗糖（食品级）　成都太古糖业有限公司；碳酸氢钠（食品级）　安琪酵母股份有限公司；盐酸、盐酸胍（AR, 99.0%）　上海麦克林生化科技股份有限公司；2,4,6-三甲基吡啶（2,4,6-Trimethylpyridine, ≥99.0%）、正己烷（色谱级，≥98.0%）、无水乙醇、氢氧化钾（AR, 85.0%）、无水硫酸钠（AR, 99.0%）　上海阿拉丁生化科技股份有限公司；75510-019 琼脂糖凝胶试剂 Agarose、AM9870

琼脂糖凝胶电泳缓冲液 TAE、P7589 荧光定量染料 Quant-iT Invitrogen 公司；M0491L 扩增聚合酶 Q5® High-Fidelity DNA Polymerase New England Biolabs。

YP6001N 电子天平 上海精密科学仪器有限公司；ESK 真空滚揉机 德国 Kakona Gmbh 公司；IKA-Ultra-Turrax T25 匀浆机 德国 Braun 公司；HEM 酶标仪 美国伯乐公司；T10 高速均质机 德国 IKA 公司；7890B 气相色谱仪 美国 WATERS 公司；NC2000 紫外定量设备 Thermo Scientific 公司；CT14RD 高速离心机 上海天美生化仪器设备工程有限公司；萃取头和配套固相微萃取手动进样手柄（75 μm/CAR/PDMS） 德国 Supelco 公司；XMTX2112 数显恒温水浴锅 常州国宇仪器制造有限公司；8890-5977B 安捷伦气质联用 美国 Agilent 公司；BG-gdsAUTO(130)凝胶成像系统 北京百晶公司；Tissuelyser-48 研磨仪 上海净信实业发展有限公司；2720PCR 扩增仪 ABI 公司；DYY-6C 电泳仪 北京六一公司；DENBA+鲜度保持电场装置 日本 AGUA 商业株式会社。

1.2 实验方法

1.2.1 样品处理 将研究所用牛肉（中华杂交夏南牛，雄性，24~36 个月龄，屠宰后 7 d）用冰盒运回实验室后置于 4 ℃ 冰箱中。在去除可见的结缔组织和外部脂肪后，将牛肉垂直于纤维方向切割成 40 mm×30 mm×10 mm 的牛排（每块重 50±0.5 g），共 51 块。牛排在腌制液中通过滚揉腌制 2 h（真空度为 0.05 MPa，转速为 15 r/min）。腌制液的成分包括 2% 氯化钠（NaCl）、0.4% 白糖（蔗糖）、0.6% 碳酸氢钠和 20% 冰水[13]。腌制后的样品用聚乙烯袋在常压下封口包装（所有操作均在 4 ℃ 密闭操作间内进行）。将每块牛排标记编号，随后置于 4 ℃ 冰箱中直到后续的贮藏实验。所有牛排随机分配为三组，分别用于 4 ℃ 冷藏（CL）、−1 ℃ 冰温（CFP）和空间电场联合冰温处理（CFPE），各组牛排数量分别为 12 块、18 块和 24 块。本课题组之前研究发现随着贮藏时间的继续增加，CL 组样品和 CFP 组分别在贮藏 5 d 和 15 d 后发生严重腐败变质而不可食用，因此在后续的研究中不考虑 CL 组（>5 d）和 CFP 组（>15 d）的相关指标。CL 组于 0、5 d 取样，CFP 组于 0、5、15 d 取样，CFPE 组于 0、5、15、20 d 取样并进行分析。CL-D5、CFP-D5、CFP-D15、CFPE-D5、CFPE-D15 和 CFPE-D20 分别代表冷藏处理 5 d 的样品，冰温处理 5、15 d 的样品，空间电场联合冰温处理 5、15、20 d 的样品。

1.2.2 电场实验装置 空间电场设施由配备电压控制器的电源（最大输出电压为 2500 V，最大电流为 0.2 mA）和电极板（43 cm×23 cm）组成。将调理牛排样品放置到固定在腔室上的铜板（30 cm×20 cm）上，铜板与放电板平行，在−1 ℃ 的恒温冰箱中进行贮藏实验。CFPE 组施加电压为 2500 V，放电间隙设定为 30 cm，CFP 和 CL 组仅设置环境温度，不开启电场设备。用于电场系统实现的实验装置如图 1 所示。

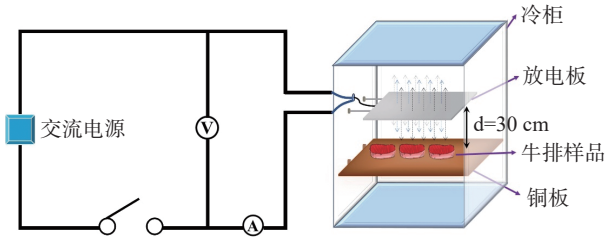


图 1 装配有空间电场的低温贮藏系统

Fig.1 Cryogenic storage systems equipped with space electric fields

1.2.3 挥发性化合物检测 参考 Li 等[14] 描述的方法，采用气相色谱-质谱联用技术（GC-MS）进行挥发性物质检测。样品预处理过程中，准确量取 3.00 g 经切割处理的牛排样本置于顶空瓶内，加入 10 μL 稀释 10000 倍的 2,4,6-三甲基吡啶（内标），在完成萃取针活化程序后将装置在 60 ℃ 下水浴加热 45 min，然后进行富集和萃取。萃取结束后，进样并在 250 ℃ 下解吸附 10 min。

色谱参数设置：采用 HP-5MS UI 色谱柱（30 m×250 μm×250 μm），设置分流比为 5∶1。温度梯度程序：初始柱箱在 40 ℃ 下维持 3 min，然后以 5 ℃/min 的速度升温至 230 ℃ 并维持 6 min，总分析时间为 47 min。质谱参数设置：电子轰击离子源（EI）温度为 230 ℃，四级杆温度为 150 ℃，溶剂延迟 1 min，质量扫描范围 35~400 m/z。通过 NIST20.L 谱库进行物质鉴定，选取匹配度≥80% 的化合物按以下公式进行定量分析：

$$物质浓度(\mu g/kg)=\frac{Area_{样品}}{Area_{内标}}\times C_{内标}$$

式中：$Area_{样品}$表示样品的峰面积；$Area_{内标}$表示内标物质在气质图谱中对应的峰面积；C 内标表示样品中添加内标物 2,4,6-三甲基吡啶的浓度（μg/kg）。

1.2.4 核酸的提取与检测 将样本从低温保存环境中取出后立即称取 0.3 g，加入裂解缓冲液后采用 60 Hz 频率进行机械破碎。基因组 DNA 提取产物经 0.8% 琼脂糖凝胶电泳评估完整性，并进行核酸浓度测定。

1.2.5 16S rRNA 基因扩增 采用 V3~V4 区特异性引物 338F（5'-barcode+ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3'）与 806R（5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'）进行 PCR扩增。其中前引物含 7~10 bp 特异性 barcode 序列用于样本区分。反应体系选用 NEB Q5 高保真 DNA聚合酶（具体组分见表 1），扩增程序包括：98 ℃ 预变性 5 min；25 个循环（98 ℃ 30 s，52 ℃ 30 s，72 ℃ 45 s）；终延伸 72 ℃ 5 min。扩增产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳分离后，采用 Axygen 凝胶回收试剂盒纯化目的片段。

表 1　PCR 扩增体系成分

Table 1　Components of PCR amplification system

成分	体积(μL)
Q5 high-fidelity DNA polymerase	0.25
5×反应缓冲液	5
5×高GC缓冲液	5
dNTP(10 mmol/L)	2
模板DNA	2
正向引物(10 μmol/L)	1
反向引物(10 μmol/L)	1
水	8.75

1.2.6　文库构建与质检　在使用 Quant-iT PicoGreen 法完成 DNA 浓度测定后，根据测定结果按比例混合样本。随后，依据 TruSeq Nano DNA LT 建库试剂盒并按照以下步骤进行实验操作：

首先进行末端修复，30 ng DNA 与 End Repair Mix2 于 30 ℃反应 30 min，经磁珠纯化后获得 17.5 μL 洗脱产物，加入 A-Tailing Mix 后执行 37 ℃ 30 min→70 ℃ 5 min 温控程序，添加 Ligation Mix 及特异性接头于 30 ℃孵育 10 min，经终止反应后磁珠纯化，PCR 富集后再次进行磁珠纯化，最后通过 2% 琼脂糖凝胶电泳回收目标条带进行片段筛选。

最终文库经 Agilent 2100 生物分析仪检测确认呈现单一峰型，使用 Quant-iT PicoGreen 法测定浓度≥2 nmol/L 后，于 Illumina NovaSeq(PE250)或 MiSeq(PE300)平台进行双端测序。上机前采用 0.1 mol/L NaOH 对文库进行变性处理，控制终浓度在 15~18 pmol/L 范围内。

1.3　数据处理

本实验采用 Excel 2019 软件处理数据，指标测定均为六次平行测定结果，表示为平均值±标准差，利用 SPSS 25.0 软件进行 Duncan 法多重比较及显著性分析(P<0.05 表示差异显著)。通过 Graphpad Prism 8.4.3 和 Origin 2022 软件作图。

2　结果与分析

2.1　GC-MS 检测分析

采用 HS-SPME-GC-MS 法对调理牛排挥发性化合物进行分析，得到不同低温贮藏条件下调理牛排中挥发性化合物的含量。由表 2 可以看出，共鉴定出相似度超过 80% 的物质 39 种，被分为 8 类，包括：9 种醛、6 种酮、9 种醇、5 种酯、2 种烃、1 种酸、2 种芳香族化合物和 5 种含氮含硫化合物。

如表 2 所示，FH 组有 24 种挥发物质，CL-D5 的

表 2　GC-MS 对不同低温贮藏条件下调理牛排中的挥发性化合物进行定量比较

Table 2　Quantitative comparison of volatile compounds in beef steak under different storage conditions by GC-MS

序号	RI	名称	分子式	绝对含量(μg/kg)								
				FH	CL-D5	CFP-D5	CFP-D10	CFP-D15	CFPE-D5	CFPE-D10	CFPE-D15	CFPE-D20
1	771	己醛	$C_6H_{12}O$	136.7±9.11^{e}	193.27±16.32^{d}	198.67±19.88^{d}	431.73±40.08^{a}	378.5±0.52^{b}	272.61±28.35^{c}	460.57±25.8^{a}	446.62±30.75^{a}	286.56±37.66^{c}
2	882	庚醛	$C_7H_{14}O$	58.66±3.25^{e}	75.29±8.61^{cd}	78.01±8.85^{bcd}	85.33±3.61^{abc}	66.56±0.67^{de}	79.28±9.37^{abcd}	89.85±12.36^{ab}	92±4.29^{a}	74.68±6.32^{cd}
3	927	苯甲醛	C_7H_6O	3.41±0.45^{c}	7.71±0.89^{a}	5.47±1.01^{ab}	6.97±0.25^{a}	5.97±0.99^{ab}	4.08±0.15^{c}	5.23±1.77^{b}	5.25±0.21^{ab}	6.96±1.01^{a}
4	982	辛醛	$C_8H_{16}O$	69.33±3.73^{b}	4.46±0.31^{de}	57.61±6.67^{c}	ND	ND	90±7.99^{a}	72.66±8.56^{b}	12.26±0.32^{de}	ND
5	1012	苯乙醛	C_8H_8O	ND	69.41±4.26^{b}	ND	23.29±2.15^{e}	48.19±3.11^{c}	ND	37.77±4.66^{d}	44.18±1.21^{cd}	95.39±10.71^{a}
6	1047	丙醛二乙基乙缩醛	$C_7H_{12}O_2$	ND	157.79±8.54^{a}	ND	60.33±7.8^{d}	139±8.38^{b}	ND	52.31±5.95^{d}	117.48±1.12^{cd}	168.16±16.6^{a}
7	1081	壬醛	$C_9H_{18}O$	25.42±1.47^{f}	42.61±2.51^{bc}	26.06±2.71^{f}	31.07±2.85^{ef}	26.20±3.48^{a}	33.83±2.96^{de}	34.60±4.36^{de}	37.42±1.79^{cd}	27.78±5.14^{b}
8	1236	E-2-癸烯醛	$C_{10}H_{18}O$	56.93±3.8^{e}	97.1±3.99^{a}	70.31±7.02^{cd}	68.64±6.86^{d}	87.32±5.42^{ab}	75.7±6.22^{cd}	72.39±9.65^{cd}	77.09±1.01^{bcd}	81.2±7.27^{bc}
9	1432	2-十二烯醛	$C_{12}H_{22}O$	64.33±4.19^{f}	188.07±10.2^{a}	100.4±9.95^{de}	94.27±8.5^{e}	161.52±7.61^{bc}	104.14±12.3^{de}	118.48±13.77^{d}	143.53±4.22^{cd}	168.51±19.8^{b}
总计		醛类		411.78±18.5^{e}	835.51±37.47^{a}	536.13±23.84^{de}	801.63±30.53^{cd}	913.26±37.98^{a}	659.64±27.91^{d}	943.86±23.47^{bc}	975.83±1.55^{b}	909.24±46.78^{a}
10	480	丙酮	C_3H_6O	28.09±2.28^{f}	113.47±7.23^{b}	44.06±4.81^{e}	63.5±6.6^{d}	145.12±7.25^{a}	42±4.56^{e}	58.42±6.45^{d}	82.79±0.72^{c}	138.56±13.33^{a}
11	560	2-丁酮	C_4H_8O	48.75±2.46^{f}	178.47±8.45^{a}	66.86±6.55^{e}	83.26±6.76^{d}	159.63±9.02^{b}	77.09±8.95^{de}	70.15±9.01^{de}	73.07±1.1^{de}	125.74±10.98^{cd}
12	678	3-羟基-2-丁酮	$C_4H_8O_2$	ND	85.44±3.25^{de}	ND	37.95±3.76^{f}	99.57±6.03^{c}	39.47±3.77^{f}	57.13±7.52^{e}	110.25±1.07^{c}	120.58±12.57^{a}
13	871	2-庚酮	$C_7H_{14}O$	13.11±0.9^{f}	128.51±7.24^{b}	52.43±6.05^{d}	96.78±11.38^{c}	139.65±8.29^{a}	17.54±1.7^{f}	34.25±4^{e}	58.28±1.62^{e}	63.41±5.71^{d}
14	918	2-甲基-3-庚酮	$C_8H_{16}O$	22.29±1.18^{e}	56.97±4.01^{b}	31.08±3.66^{d}	55.34±6.31^{b}	71.65±2.87^{a}	31.95±2.8^{d}	29.54±3.56^{d}	47.4±1.91^{d}	60.04±6^{b}
15	1070	2-壬酮	$C_9H_{18}O$	15.08±0.6^{f}	31.18±1.76^{bc}	21.03±1.75^{e}	28.14±2.35^{cd}	40.84±2.06^{a}	24.19±2.71^{de}	26.26±3.06^{d}	34.44±1.76^{d}	34.47±3.62^{b}
总计		酮类		127.32±7.24^{f}	594.02±31.34^{b}	215.46±22.83^{e}	364.98±36.96^{cd}	656.47±34.76^{a}	232.24±24.47^{de}	275.76±33.54^{d}	406.22±4.65^{c}	542.81±52.15b
16	706	异戊醇	$C_5H_{12}O$	27.14±1.16^{f}	157.12±8.11^{b}	49.51±6.51^{e}	78.32±10.2^{d}	193.08±12^{a}	42.17±2.85^{e}	47.25±5.3^{e}	71.23±2.56^{d}	128.37±13.16^{c}
17	735	正戊醇	$C_5H_{12}O$	16.63±1.16^{f}	67.18±4.92^{b}	31.67±3.2^{de}	47.93±6.07^{c}	65.74±2.92^{b}	27.36±2.95^{e}	28.13±3.95^{e}	38.56±1.1^{d}	81.7±8.89^{a}
18	747	DL-2,3-丁二醇	$C_4H_{10}O_2$	ND	126.36±7.6^{b}	ND	36.45±3.65^{d}	121.2±5.69^{b}	ND	ND	86.09±2.59^{c}	176.71±17.83^{a}
19	852	正己醇	$C_6H_{14}O$	ND	52.91±2.5^{a}	ND	ND	42.63±2.75^{b}	ND	ND	ND	13.06±1.27^{c}
20	922	1,4-丁二醇	$C_4H_{10}O_2$	12.47±0.46^{a}	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
21	959	1-辛烯-3-醇	$C_8H_{16}O$	ND	119.37±4.85^{b}	65.99±6.31^{d}	92.26±12.2^{c}	141.39±7.54^{a}	ND	64.14±8.85^{d}	95.23±2.76^{c}	112.23±9.74^{b}
22	1020	2-乙基己醇	$C_8H_{18}O$	ND	154.93±8.89^{a}	ND	ND	132.4±8.55^{b}	ND	ND	73.56±2.06^{d}	90.89±9.56^{c}
23	1058	2,3,4-三甲基-1-戊醇	$C_8H_{18}O$	ND	39.39±1.87^{b}	ND	ND	15±0.56^{c}	ND	ND	36.59±1.15^{b}	48.28±4.78^{a}
24	1178	2-壬烯-1-醇	$C_9H_{18}O$	31.68±1.14^{g}	93.48±3.93^{a}	53.88±5.33^{cd}	64.1±5.05^{b}	89.71±6.22^{a}	42.73±4.4^{ef}	39.93±5.15^{f}	48.6±1.99^{de}	58.83±5.47^{bc}
总计		醇类		87.93±3.79^{f}	810.74±40.88^{a}	201.05±21.32^{e}	319.07±37.08^{d}	801.14±43.85^{a}	112.25±10.2^{f}	179.45±23.23^{e}	449.86±14.14^{c}	710.06±70.64b
25	577	乙酸乙酯	$C_4H_8O_2$	27.17±0.98^{d}	72.01±4.1^{a}	45.15±5.16^{c}	46.12±5.55^{c}	76.88±2.91^{a}	40.74±2.97^{c}	45.05±6.1^{c}	62.09±2.52^{b}	79.22±7.7^{a}
26	749	甘氨酸乙酯	$C_4H_9NO_2$	15.05±0.9^{d}	41.71±2.23^{a}	30.03±3.87^{b}	33.03±3.75^{b}	44.61±2.14^{a}	21.07±1.98c	23.47±3.25c	30.25±0.76^{b}	34.5±3.29^{b}
27	1273	2,2,4-三甲基-1,3-戊二醇二异丁酸酯	$C_{16}H_{30}O_4$	ND	38.61±2.02^{a}	14.87±2^{c}	ND	20.38±1.05^{b}	15.45±1.76^{c}	14.46±1.9^{c}	15.9±0.53^{c}	16.48±1.72^{c}

续表 2

序号	RI	名称	分子式	绝对含量(μg/kg)								
				FH	CL-D5	CFP-D5	CFP-D10	CFP-D15	CFPE-D5	CFPE-D10	CFPE-D15	CFPE-D20
28	1956	草酸烯丙基乙酯	$C_7H_{10}O_4$	ND	25.45±1.48^{b}	ND	17.36±2.2^{c}	30.24±1.72^{a}	ND	ND	ND	28.75±2.87^{a}
29	2548	二乙基二硫代氨基甲酸甲酯	$C_6H_{13}NS_2$	8.32±0.68^{d}	ND	10.86±0.91^{d}	17.12±1.72^{c}	25.11±1.15^{b}	11.42±1.11^{d}	25.82±3.55^{b}	30.5±1.15^{a}	31.29±2.84^{a}
总计		酯类		50.54±2.45^{e}	177.77±9.69^{a}	100.91±11.93^{cd}	113.63±13.24^{cd}	197.22±8.89^{a}	88.69±7.87^{d}	108.8±14.83^{cd}	138.73±5^{b}	190.23±18.42^{a}
30	1020	柠檬烯	$C_{10}H_{16}$	ND	ND	41.98±5.13^{ab}	40.48±5.31^{b}	47.59±2.08^{a}	ND	39.06±4.95^{b}	44.51±2.11^{ab}	48.08±5.2^{a}
31	1400	十四烷	$C_{14}H_{30}$	36.23±2.61^{e}	71.08±3.71^{ab}	51.2±6.31^{d}	49.2±5.88^{d}	71.71±4.59^{a}	51.92±5.9^{d}	50.91±6.48^{d}	61.06±2.41^{c}	62.53±5.67^{bc}
总计		烃类		36.22±2.58^{f}	71.08±3.71^{d}	93.17±11.46^{bc}	89.67±11.07^{cd}	119.3±6.38^{a}	51.93±5.91^{e}	89.97±11.39^{cd}	105.57±4.48^{ab}	110.6±10.91^{a}
32	642	乙酸	CH_3COOH	2.14±0.15^{f}	62.01±2.85^{a}	20.34±2.36^{d}	20.68±2.9^{d}	46.54±2.14^{b}	ND	ND	14±0.64^{c}	36.37±3.21^{c}
总计		酸类		2.14±0.15^{f}	62.01±2.82^{a}	20.34±2.36^{de}	20.68±2.88^{d}	46.54±2.14^{b}	ND	ND	14±0.65^{e}	36.37±3.21c
33	850	乙苯	C_8H_{10}	ND	5.75±0.35^{g}	76.28±9.1^{a}	45.74±5.25^{c}	15.51±0.61^{f}	26.83±1.86^{e}	35.89±3.9^{d}	48.29±2.08^{c}	63.65±7.15^{b}
34	1049	乙酰苯	C_8H_8O	24.29±1.36^{a}	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
总计		芳香族类		24.29±1.37^{e}	5.75±0.34^{f}	127.33±14.54^{a}	45.74±5.26^{cd}	15.51±0.61^{ef}	69.87±6.87^{b}	35.9±3.88^{d}	48.29±2.08^{c}	63.65±7.13^{b}
35	567	2-甲基环丙胺	C_3H_7N	10.63±0.59^{e}	35.29±1.11^{a}	17.2±1.85^{c}	17.41±1.5^{bc}	19.9±1.4^{b}	15.73±1.72^{cd}	14.28±2.1^{de}	16.2±0.7^{cd}	16.04±1.48^{cd}
36	625	氮杂环丙烷	C_3H_7N	17.14±2.1^{f}	88.98±2.9^{a}	34.22±3.86^{e}	34.25±4.5^{e}	64.68±3.66^{b}	34.52±2.4^{e}	36.45±4.5^{de}	41.47±1.91^{d}	47.94±4.56^{c}
37	751	丁酮肟	C_4H_9NO	ND	22.46±1.1^{b}	ND	ND	26.53±1.59^{a}	ND	ND	18.28±0.72^{c}	23.79±2.07^{b}
38	934	二甲基二硫醚	$C_2H_6S_2$	ND	21.64±1.2^{a}	ND	ND	7.73±0.26^{b}	ND	ND	ND	ND
39	1340	四唑-5-胺	CH_3N_5	ND	27.2±0.95^{a}	7.53±0.8^{d}	16.27±2.4^{c}	25.75±1.26^{a}	ND	ND	14.65±0.74^{c}	19.5±1.69^{b}
总计		含氮含硫类		27.77±2.63^{g}	195.57±7.25^{a}	58.95±6.56^{ef}	67.93±8.41^{e}	144.59±8.11^{b}	50.25±4.07^{fg}	50.73±6.57^{fg}	90.6±4.06^{d}	107.28±9.77^{c}

注: 同行小写英文字母表示数据差异显著, $P<0.05$; ND表示未检出。

调理牛排中鉴定出 35 种挥发性化合物, CFP-D5、CFP-D10、CFP-D15 的调理牛排中分别鉴定出 27、30、36 种挥发性化合物, CFPE-D5、CFPE-D10、CFPE-D15 和 CFPE-D20 的调理牛排中分别鉴定出 23、27、34、35 种挥发性化合物。由此可见, 牛排贮藏过程中, 挥发性风味物质含量呈上升的趋势。与新鲜调理牛排相比, CL 组的调理牛排挥发性化合物种类增加最为明显, 主要归因于冷藏下调理牛排的特征风味物质(醛类、酮类、醇类和含氮含硫类等)的形成。

通过图 2 可以看出不同低温贮藏下调理牛排挥发性化合物的变化。第 0 d 时, 牛排中相对含量占据前三的挥发性物质依次是醛类 53.80%、酮类 16.51%、醇类 11.40%, 相对含量最低的三类挥发性物质为含氮含硫类 3.60%、芳香族类 3.15%、酸类 0.28%。第 5 d 时, CL 组的调理牛排中相对含量占据前三的挥发性物质变为醛类 30.36%、醇类 29.45%、酮类 21.58%, 相对含量最低的三类挥发性物质变为烃类 2.58%、酸类 2.25%、芳香族类 0.21%。而在此期间, CFP 组与 CFPE 组调理牛排中相对含量较高和较低的三类挥发性物质始终与第 0 d 一致。这表明冰温处理可以稳定调理牛排样品中挥发性风味物质的构成。

醛类化合物具有较低的阈值, 是构成食物风味香气的关键成分[13]。在 CL 组中比例持续升高, 而 CFP 和 CFPE 组呈现“先增后减”的钟形变化曲线, 于第 10 d 达到峰值, 表明贮藏前 10 d 醛类生成速率显著超过分解速率。这种动态差异与脂质氧化密切相关[15], 推测电场有效抑制了 CFP 组的脂质氧化进程, 这可能归因于在空间电场的作用下, 贮藏期间肌肉内部一些氧化酶和促氧化物质(如血红素铁)的释放受到干预[16]。酮类物质在各组中均呈现持续递增

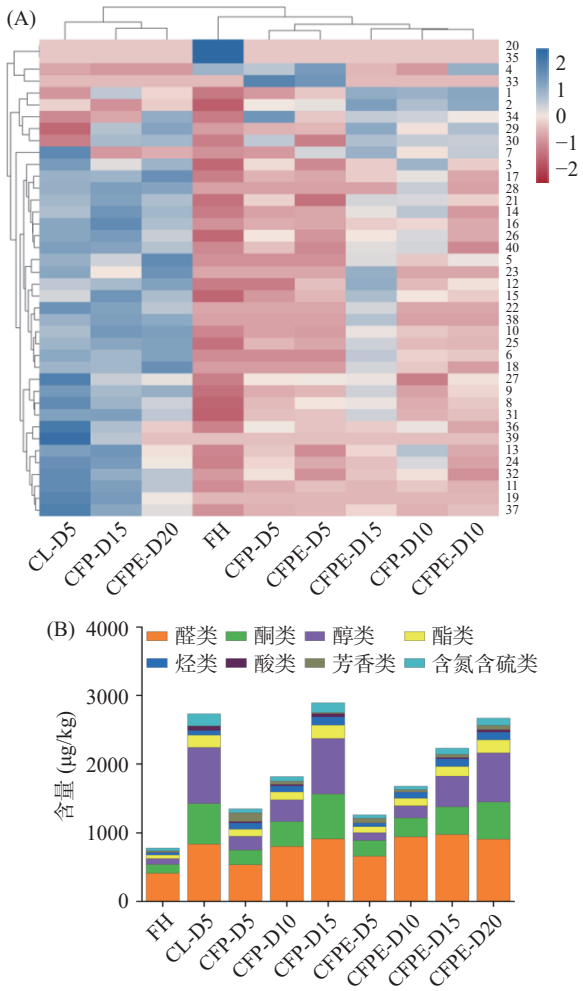


图 2 不同低温贮藏条件下调理牛排 GC-MS 分析结果

Fig.2 Results of GC-MS analysis of beef steak under different storage conditions

注: A. 聚类热图; B. 挥发性化合物总量堆积柱状图。

趋势, 其生成机制具有多源性, 可能源自脂质氧化降解、醇类氧化及酯类分解等协同作用[17]。值得注意

的是，相较 CL 组，CFP 和 CFPE 组挥发性风味物质比例更趋稳定，且含氮含硫化物始终保持较低水平，这表明冰温贮藏与电场协同作用能有效延缓挥发性物质的劣变进程，对维持牛肉贮藏期间风味品质稳定具有积极作用。

2.2　特征香气化合物的 OAV 分析筛选

贮藏期间牛肉挥发性成分呈现显著动态变化，其中 OAV>1 的化合物被公认为食品风味的核心贡献者[18]。本研究共鉴定出 12 种 OAV>1 的关键挥发性物质。如表 3 所示，醛类（己醛、庚醛、壬醛、苯甲醛）、酮类（2-甲基-3-庚酮、2-壬酮）及醇类（1-辛烯-3-醇）凭借其高气味活性值，在调理牛排风味网络中占据主导地位。值得注意的是，贮藏至第 5 d 时，CFP 组样品较 CL 组减少 2 种 OAV>1 的挥发性成分，分别为二甲基二硫醚（腐臭味）、苯乙醛（苦杏仁味），但多出了柠檬烯（柠檬香）；CFPE-D5 组在贮藏第 5 d 时共检测出 8 种 OAV>1 的挥发性物质，分别为 6 种醛类、2 种酮类，和 FH 组调理牛排中 OAV>1 的挥发性物质种类一致。贮藏期间牛肉样品中挥发性成分呈现显著动态变化。具体而言，CL 组以腐臭特征性化合物二甲基二硫醚为主导，而 CFP 和 CFPE 组则凸显柑橘香型壬醛的高气味活性值。以上结果表明，与冷藏相比，冰温贮藏样品的挥发性风味物质具有更好的气味特征，特别是空间电场联合冰温贮藏能够有效保持牛肉的良好挥发性风味。

所选择的挥发性化合物是所有样品中 OAV>1 的物质阈值无特殊标记则代表参考：COMPILATIONS OF ODOUR THRESHOLD VALUES IN AIR, WATER AND OTHER MEDIA。

2.3　OPLS-DA 判别模型建立

利用 OPLS-DA 分析建立不同低温贮藏条件下调理牛排样品与特征挥发性化合物之间的关系模型，结果如图 3 所示。OPLS-DA 得分图中 $R^2X(cum)$=0.997，$R^2Y(cum)$=0.99、Q^2=0.974，均趋近于 1 且大于建议值 0.5。Q^2 的截距值为-0.897，低于建议的阈值 0.05。此外，随着置换保留度的降低，随机模型中回归线呈上升趋势，这表明所建立的 OPLS-DA 模型具有良好的稳健性，且不存在过度拟合的问题[19]。同时，所有样本均位于 95% 置信椭圆区间内。因此，该 OPLS-DA 模型不仅对数据的拟合效果稳定，还具备较强的预测能力。

由图 3（A）可以看出，样品间具有明显的分区，主要为Ⅰ区（FH、CFPE-D5）、Ⅱ区（CFP-D5、CFP-D10 和 CFPE-D10）和 III 区（CFPE-D15 和 CFPE-D20）和 IV 区（CL-D5 和 CFP-D15）。结合图 3（B）热图的结果表明在不同低温贮藏条件下调理牛排特征挥发性化合物差异显著。在 OPLS-DA 模型中，通过变量重要性投影（VIP）分析筛选差异化的化合物。对于特征挥发性化合物而言，VIP 值越高，表明其在模型中的重要性越强，且差异性越显著[20]。如图 3（D）所示，6 种特征香气化合物的 VIP 值超过 1.0，分别是己醛（1）、苯甲醛（3）、庚醛（2）、二甲基二硫醚（39）、壬醛（7）和柠檬烯（30），表明这 6 种特征香气化合物可能对不同低温贮藏条件下调理牛排样品鉴别起重要作用。

2.4　高通量测序法物种多样性分析

2.4.1　稀疏曲线　稀释曲线的构建能够直观反映测序数据量与观测物种丰富度之间的函数关系[21]。由图 4 可知，各组样本在测序初期 OTU 数量增长迅速，当测序序列数超过 20000 时，曲线逐渐趋于平坦表明此时增加测序数据仅能产生少量新的 OTU。这说明测序数据已足够反映样本中物种的总体分布，测序深度合理。

2.4.2　Alpha 多样性分析　Alpha 多样性（Alpha diversity）通过评估单一样本内微生物群落的物种丰富度（Richness）和均匀度（Evenness），反映群落组成的稳定性和生态功能潜力。本研究利用高通量测序

表 3　通过 OAVs 鉴定不同贮藏条件下调理牛排的特征香气化合物

Table 3　Characteristic aroma compounds identified by OAVs of beef steaks under different storage conditions

编号	挥发性化合物	RI	气味描述	阈值（μg/kg）	OAV								
					FH	CL-D5	CFP-D5	CFP-D10	CFP-D15	CFPE-D5	CFPE-D10	CFPE-D15	CFPE-D20
1	己醛	771	青草味	19	7.19	24.24	10.46	15.08	23.51	10.17	14.35	19.92	22.72
2	庚醛	882	果香	19.5	3.00	3.86	4.00	4.37	3.41	4.06	4.60	4.71	3.82
3	苯甲醛	927	苦杏仁味	2.0	1.70	3.85	2.70	3.48	2.98	2.04	2.61	2.62	3.48
4	辛醛	982	花香味	30	2.31	0.14	1.92	ND	ND	3.00	2.42	0.40	ND
5	苯乙醛	1012	风信子香	6.3	ND	11.02	ND	3.7	7.65	ND	6	7.01	15.14
7	壬醛	1081	柑橘味	1.1	23.10	38.73	23.69	28.24	23.81	30.75	31.45	34.01	25.25
8	E-2-癸烯醛	1236	甜橙香	17	3.35	5.71	4.14	4.04	5.14	4.45	4.26	4.53	4.78
14	2-甲基-3-庚酮	918	果香	24	0.93	2.37	1.3	2.31	2.99	1.33	1.23	1.97	2.5
15	2-壬酮	1070	草本味	41	0.37	0.76	0.51	0.69	1	0.59	0.64	0.84	0.84
21	1-辛烯-3-醇	959	蘑菇香	6	ND	19.89	11	15.38	23.57	ND	10.69	15.87	18.71
30	柠檬烯	1020	柠檬香	10	ND	ND	4.2	4.05	4.76	ND	3.91	4.45	4.81
39	二甲基二硫醚	934	腐臭味	0.45	ND	48.08	ND	ND	19.32	ND	ND	ND	ND

注：OAV：挥发性化合物的平均含量与其气味阈值的比值；ND：在样品中未检测到。括号内的数字表示该特征香气化合物OAV值在某一种加工调理牛排总的特征香气化合物OAV值总和中的占比（%）。

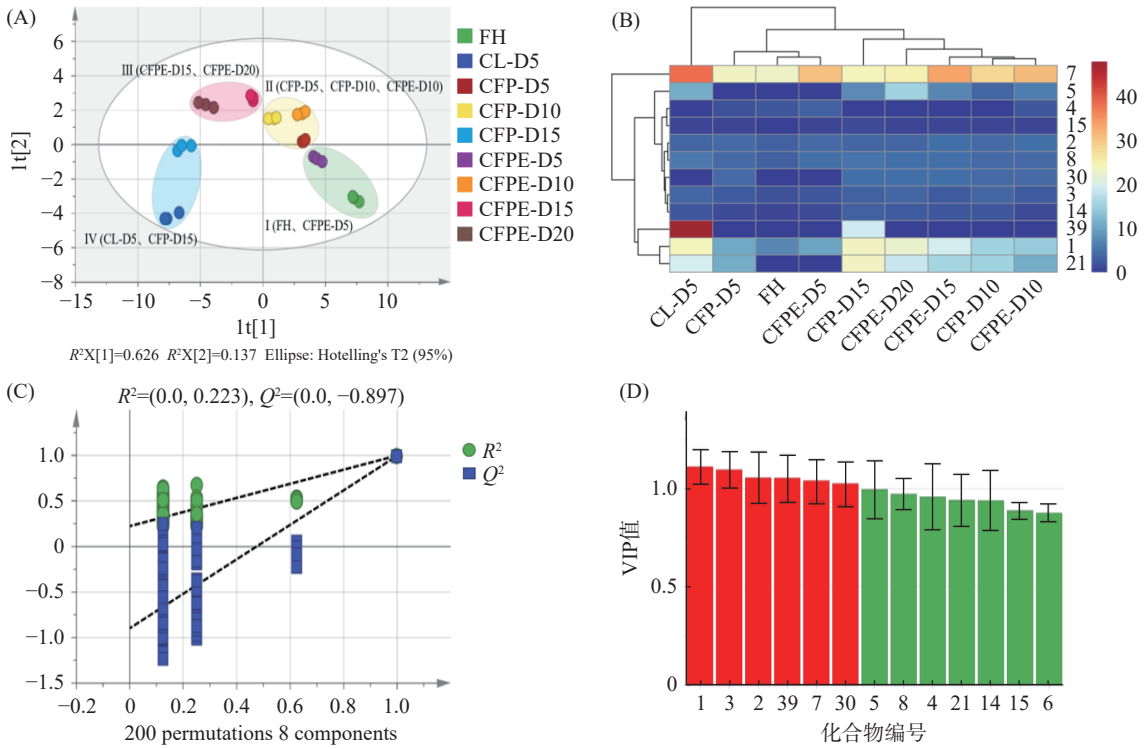


图 3 不同低温贮藏条件下调理牛排 GC-MS 分析的 OPLS-DA 结果

Fig.3 OPLS-DA results of GC-MS analysis of beef steak under different storage conditions

注:(A)得分图;(B)聚类热图;(C)置换检验图;(D)VIP 值。

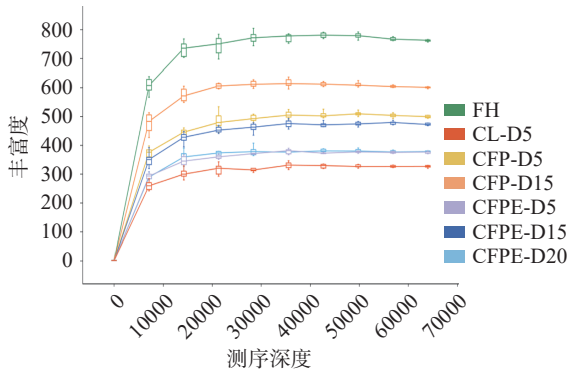


图 4 不同低温贮藏条件下调理牛排高通量测序分析的稀疏曲线

Fig.4 Rarefaction curve of high-throughput sequencing of beef steak under different storage conditions

技术,系统比较了 CL、CFP 及 CFPE 对调理牛排贮藏过程中微生物 Alpha 多样性的影响。如图 5 所示,所有样本的覆盖度均良好,表明测序结果能够准确反映样本中微生物的实际组成。CL 处理显著降低了微生物的物种丰富度和多样性(P<0.05),随着贮藏时间的延长,四个指数均下降,这表明某些菌群逐渐占据主导地位,抑制了其他微生物的生长,导致物种组成趋向于单一化。这可能是由于冷藏虽抑制部分微生物活性,但选择性促进耐冷菌(如 *Pseudomonas*)的竞争优势,导致群落结构失衡,其他菌群丰度被压制[22]。CFP 组的 Alpha 多样性指数介于 CL 和 CFPE 之间,且在第 0 d 时 CFP-D5 的多样性略高于 CL-D5 组,但随着贮藏时间延长,CFP-D15 的多样性指数逐渐降低,但仍高于 CL-D5 组,表明 CFP 处理在一定程度上延缓了微生物多样性的下降速度,可部分维持群落异质性,但无法完全阻止优势菌的竞争性生长[23]。贮藏 15 d 后,CFPE 组的Chao1 和 Shannon 指数显著高于 CL-D5 和 CFP-D15 组(P<0.05),表明 CFPE处理能够有效维持较高的微生物多样性,减少优势菌群的竞争性生长,对调理牛排的品质具有积极作用。这些结果表明,CFPE 处理在维持微生物群落多样性方面具有优势,而 CFP 处理也能在一定程度上减缓微生物多样性的下降。

2.4.3 Beta 多样性分析 Beta 多样性(Beta diversity)是用于衡量不同生态系统或群落间物种组成的差异程度,是量化物种在空间或环境梯度上更替速率的重要生态学指标。本研究通过 NMDS 分析结合 Bray-Curtis 距离矩阵对其进行了评估见图 6。NMDS 分析结果表明,三种低温贮藏方式以及不同贮藏阶段的细菌群落存在显著差异(P<0.05)。NMDS 分析中 0.073(<0.2)的应力值证实了结果的可靠性和效度。FH 组与 CFPED5 组样品在 NMDS 二维空间中呈现相对邻近分布,而贮藏末期样品(CL-D5、CFP-D15、CFPE-D20)显著偏离初始菌群结构。值得注意的是,三种不同低温贮藏条件的末期样品表现出高度趋同性(空间重叠度>85%),表明长期贮藏可能通过共性环境压力(如脂质氧化、水分活度变化)筛选出相似的腐败菌群优势类群,本研究观察到的微生物演替规律与 Freitas 等[24] 关于真空包装牛肉贮藏中微生物群落动态变化的研究结果一致。研究发现,在不同贮藏温度条件下,牛肉微生物群落结构呈现显著的温

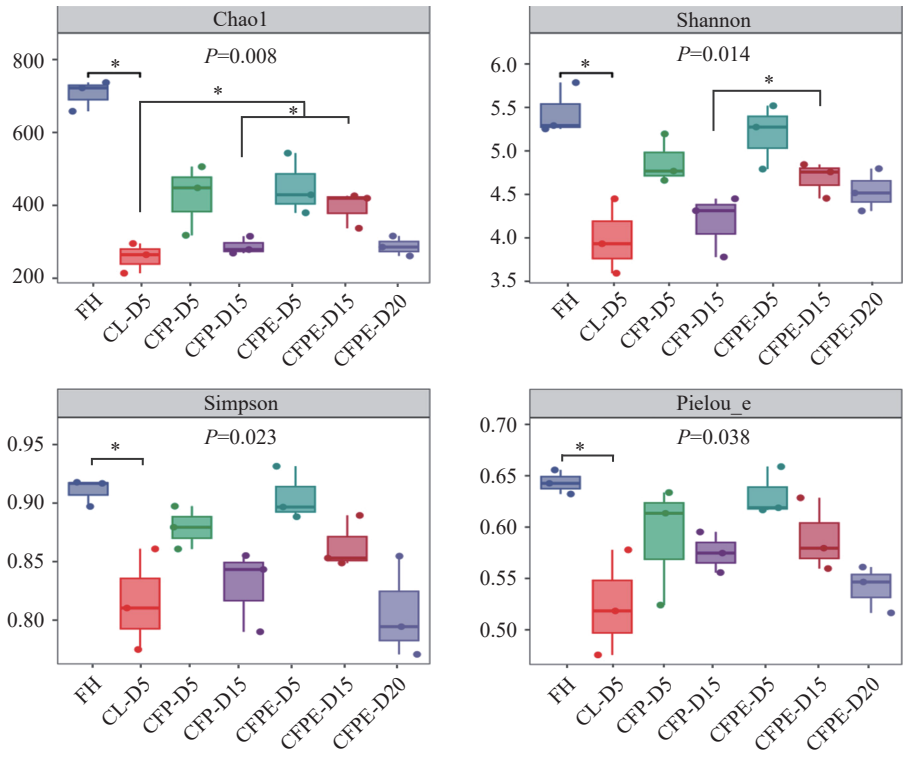


图 5　不同低温贮藏条件下调理牛排的 Alpha 多样性对比

Fig.5　Comparison of Alpha diversity of beef steak under different storage conditions

注：*表示数据差异显著，$P<0.05$。

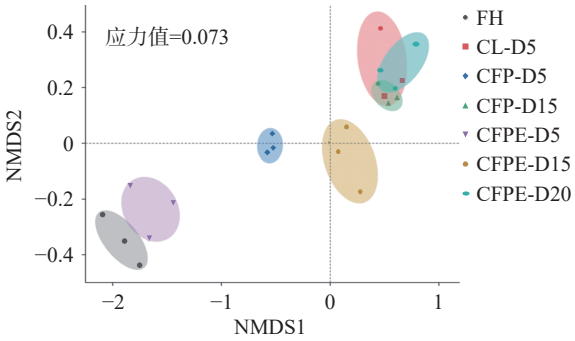


图 6　不同低温贮藏条件下调理牛排的 NMDS 分析

Fig.6　NMDS analysis of beef steak under different storage conditions

度依赖性变化，研究结果证实 CFPE 处理在短期内（≤5 d）可有效维持原始菌群平衡，而贮藏时间延长将导致不同贮藏条件下组间微生物特征类似，这为优化肉类保鲜工艺提供了理论依据。

2.5　微生物群落组成分析

2.5.1　基于门水平微生物种群多样性分析　在对调理牛排微生物物种分布的研究中，采用堆叠图展示了不同低温贮藏条件下的微生物物种分布情况，并选取相对丰度前 10 位的微生物细菌门，将其他数量较少的物种归为“Others”。通过对细菌进行门级别的分类分析（如图 7 所示），在新鲜样品的十种细菌中，丰度最高的四个门依次为厚壁菌门 Firmicutes（50.90%）、变形菌门 Proteobacteria（40.22%）、放线菌门 Actinobacteria（5.17%）以及拟杆菌门 Bacteroidetes（3.39%）。这一结果与 Bassey 等[25] 检测到的冰鲜猪里脊的菌相结构基本一致。且这 4 种菌门相对丰度在所检样品中达到了 97% 以上，表明调理牛排在门水平上的菌相结构较为稳定。

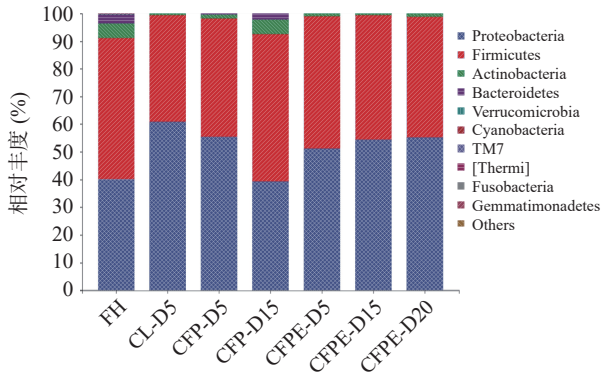


图 7　不同低温贮藏条件下调理牛排微生物群落的门水平分布

Fig.7　Phylum-level distribution of beef steak microbial community under different storage conditions

贮藏过程中菌相结构呈现动态变化：随着贮藏时间的延长，调理牛排中的微生物丰富度逐渐下降。*Firmicutes* 作为初始优势菌群（50.90%），其相对丰度随贮藏时间延长呈现递减趋势。具体而言，CL-D5 相对丰度降至 38.55%，而 CFP-D15 和 CFPE-D20 分别保留 42.74% 和 44.92%。Proteobacteria 相对丰度从初始 40.22% 提升至 54.56%~60.90%。大量研究表明，这两个菌门的动态平衡与肉类腐败进程密切相关，已被确定为肴肉和鲜牛肉门水平上与腐败相关的两个主要分类群[26−27]。Kaur 等[28] 在−0.5 ℃ 真空包

装牛肉中同样观察到这两个菌门的主导地位。

2.5.2　基于属水平微生物种群多样性分析　通过对细菌进行属级别的分类分析(如图 8 所示),在新鲜样品的十种细菌中,丰度最高的四个属依次为嗜冷菌属 *Psychrobacter*(25.22%)、索丝菌属 *Brochothrix*(12.63%)、假单胞菌属 *Pseudomonas*(8.28%)以及大球菌属 *Macrococcus*(5.72%)。Chaillou 等[29] 以及 Koo 等[30] 观察到了相似的微生物情况,他们指出这些细菌主要源自肉类加工环境,如土壤或水。

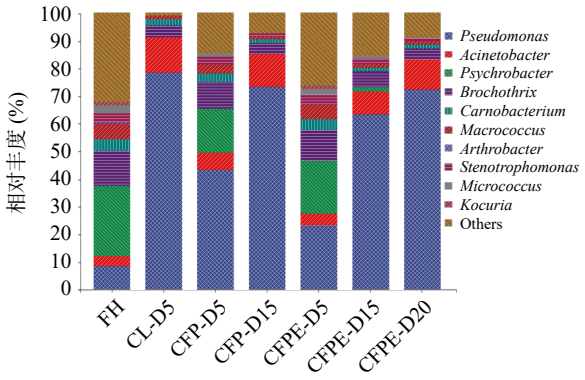


图 8　不同低温贮藏条件下调理牛排微生物群落的属水平分布

Fig.8　Genus-level distribution of beef steak microbial community under different storage conditions

贮藏过程中菌相结构呈现动态变化:随着贮藏时间的延长,调理牛排中的微生物丰富度逐渐下降。各处理组经过贮藏后,调理牛排中都能发现 *Pseudomonas* 和 *Brochothrix*。在贮藏后期,优势菌属较贮藏初期有较大差别,*Psychrobacter* 和 *Macrococcus* 逐渐被不动杆菌属(*Acinetobacter*)和肉杆菌属(*Carnobacterium*)所取代,这些优势菌属在调理牛排样本中的占比超过群落总数的 85%。有报告发现,*Pseudomonas* 和 *Acinetobacter* 是肉中最常见的腐败菌属[29]。其中,CL-D5 组 *Pseudomonas*、*Acinetobacter*、*Brochothrix* 和 *Carnobacterium* 分别剧烈增长至 78.28%、12.87%、4.21% 和 2.37%,成为优势菌。相较于 CL 组,CFP 组中的 *Pseudomonas* 相对丰度较低,只占群落总数的 73.28%。CFPE 组中 *Pseudomonas*、*Acinetobacter*、*Brochothrix* 和 *Carnobacterium* 的相对丰度都比 CL 组和 CFP 组低,比例分别为 72.28%、10.87%、3.91% 和 1.43%。

以上结果表明,在冰温贮藏的后期,*Pseudomonas* 是调理牛排产品的优势腐败菌,这与 Ercolini 等[31] 研究结果一致。这是因为 *Pseudomonas* 为嗜冷需氧菌,代谢能力强,并且 *Pseudomonas* 还能通过分泌嗜铁素进而抑制其它微生物群落的增殖,因而逐渐生长为优势菌种[32]。而 CFP 组中其相对丰度较低,这可能是因为冰温贮藏温度低于 *Pseudomonas* 代谢活跃区间。研究表明,当温度降低后,假单胞菌的胞内酶活性(如蛋白酶、脂肪酶)也降低,导致其分解蛋白质和脂肪的能力受限,从而抑制其增殖[33]。与其他两组相比,CFPE 处理延迟了贮藏结束时假单胞菌相对丰度的增加。一种可能的解释是电场可以通过电穿孔在细胞膜上产生孔隙来破坏有害微生物并防止腐败[34],这个过程诱导原生质体裂解和细胞内内容物的释放,最终导致微生物细胞死亡。

Acinetobacter 已被证实为肉制品的典型腐败微生物,其腐败活性在冷藏或辐照处理条件下仍可维持[35]。Saha 等[36] 系统比较了新鲜肉、腐败肉及不同温度贮藏(冷冻与冷藏)肉品中 *Acinetobacter* 的种群动态,研究发现:该菌群仅在冷藏肉中占据主导地位(相对丰度 38.3%),而在新鲜肉(31.6%)、腐败肉(18.5%)及冷冻肉(10.4%)中均表现为第二优势菌群,其相对丰度均低于 *Pseudomonas*。此外,课题组观察到电场处理可以降低 *Acinetobacter*、*Brochothrix* 和 *Carnobacterium* 的相对丰度。Cai 等[37] 报道,电场处理的鱼片可以有效抑制肌肉中 *Psychrobacter*、*Pseudomonas* 和 *Lactobacillus* 的增加。

2.6　微生物群落差异分析

在微生物群落研究中,OTU(操作分类单元)韦恩图是展示不同样本或处理组间微生物群落组成异同的有效工具。它以集合图形呈现各样本中 OTU 的共有和特有情况,重叠区域代表共有 OTU,非重叠区域为特有 OTU,图 9 中不同颜色代表不同贮藏条件。如图 9 所示,7 组样品共有的 OTU 数为 44 个。这 44 个共有 OTU,代表着在不同处理条件下依然稳定存在于微生物群落中的核心组成部分。这些核心 OTU 不受处理条件和时间变化的影响,在微生物群落的基础代谢、生态功能维持等方面发挥着关键作用[38]。FH 组检测出 749 个 OTU,代表初始微生物群落丰富度。CL-D5 仅 258 个 OTU,表明常规冷藏使微生物群落丰富度大幅下降,CFP-D5 组 496 个、CFP-D15 组 293 个,表明冰温环境在一定时间内对微生物群落有维持作用,但随时间延长丰富度明显

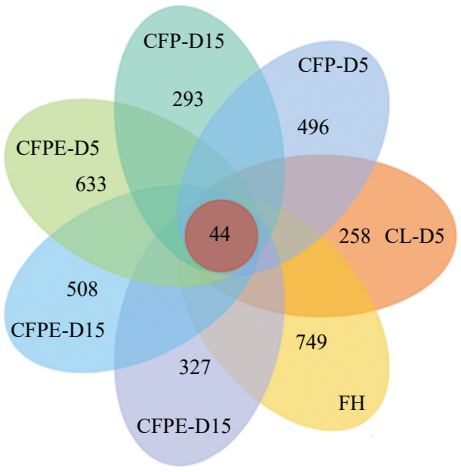


图 9　不同低温贮藏条件下调理牛排微生物群落的操作分类单元(OTU)韦恩图

Fig.9　Wayne diagram of beef steak OTU core-pan chart under different storage conditions

降低。CFPE-D5 组 633 个 OTU、CFPE-D15 组 508 个、CFPE-D20 组 327 个，与 CL 和 CFP 组相比，相同时间内 CFPE 组 OTU 数量更多。有研究表明，电场处理不仅能减缓微生物群落丰富度的降低速度，还能强化微生物群落结构[39]。因此，电场处理在维持微生物群落丰富度方面具有积极作用，能在较长时间内更好地保持微生物群落丰富度。

2.7　微生物群落变化分析

为了更直观地呈现不同低温贮藏条件下调理牛排的微生物群落变化，分析了属水平上的物种丰度聚类热图。如图 10 所示，在调理牛排中发现的微生物群落数量随着贮藏时间的延长而减少。与 2.5.2 的结果类似，在贮藏末期，不同贮藏方式下调理牛排的优势菌属都为 *Pseudomonas* 和 *Acinetobacter*。然而，不同样品中对应菌属的含量存在差异，且微生物群落的扰动是导致关键理化性质和风味物质发生变化的重要因素。

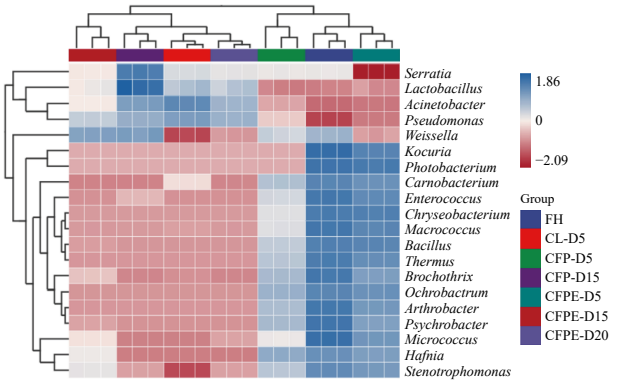


图 10　不同低温贮藏条件下调理牛排物种丰度聚类热图

Fig.10　Species abundance clustering heatmap of beef steak under different storage conditions

2.8　菌群组成和特征风味物质的相关性分析

将筛选的优势菌属和关键挥发性风味化合物进行相关性分析(图 11)。根据微生物与风味物质之间的相关性，将微生物分为 2 类。第 1 类包括假单胞菌属(*Pseudomonas*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)、沙雷氏菌属(*Serratia*)和魏斯氏菌属(*Weissella*)5 个微生物，其与 6 种醛类(己醛、庚醛、苯甲醛、苯乙醛、壬醛、E-2-癸烯醛)；两种酮类(2-甲基-3-庚酮、2-壬酮)；1 种醇类(1-辛烯-3-醇)；一种烷烃(柠檬烯)和一种含氮含硫类化合物(二甲基二硫醚)呈显著正相关，而与辛醛呈现显著负相关(P<0.05)。荧光假单胞菌(*P. fluorescens*)在冷藏牛肉中通过 β-氧化途径降解不饱和脂肪酸，导致己醛、壬醛等醛类物质积累，与腐败特征气味直接相关[40]，本研究结果与之类似。不动杆菌属在肉类贮藏初期常为优势菌，其代谢多样性可能影响风味物质生成。类似地，在真空包装牛肉贮藏中，该菌属丰度与醛类(如苯甲醛)呈正相关，推测与其氨基酸脱氨代谢有关[22]。乳杆菌属通过产酸抑制腐败菌的同时，其代

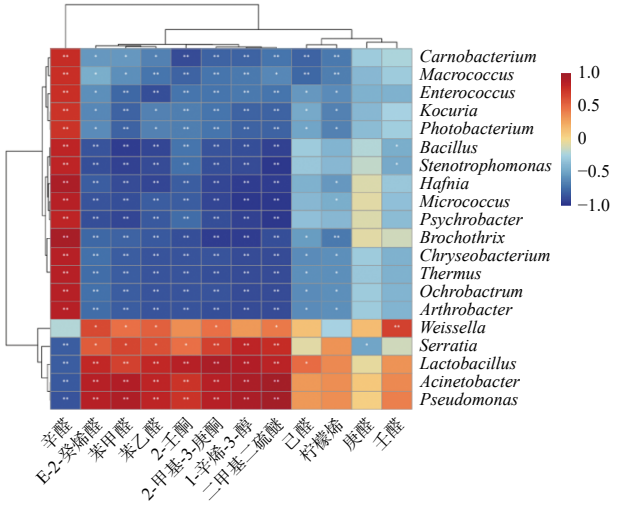


图 11　不同低温贮藏条件下调理牛排菌群组成和特征风味物质的相关性聚类热图

Fig.11　Correlation cluster heatmap between microbial community composition and characteristic flavor compounds of beef steak under different storage conditions

注：*表示数据差异显著，P<0.05；**表示数据差异极显著，P<0.01。

谢活动可能间接影响风味。周冰倩等[41]在发酵鱼制品中发现，植物乳杆菌(*L. plantarum*)通过酯酶催化将醛类转化为酯类，导致贮藏后期醛类含量下降，而 1-辛烯-3-醇等醇类物质增加。沙雷氏菌属在肉类腐败末期通过脱羧酶和硫代谢途径参与异味物质合成。例如，在臭鳜鱼发酵中，沙雷氏菌属与三甲胺(含氮化合物)的生成显著相关，其机制可能涉及色氨酸代谢和硫化物还原酶活性[42]。本研究中发现二甲基二硫醚(含硫化合物)与该菌属的正相关性，可能源于其对含硫氨基酸(如蛋氨酸)的分解作用。

第 2 类包含 15 个微生物，分别为：节杆菌属(*Arthrobacter*)、苍白杆菌属(*Ochrobactrum*)、栖热菌属(*Thermus*)、金黄杆菌属(*Chryseobacterium*)、索丝菌属(*Brochothrix*)、嗜冷杆菌属(*Psychrobacter*)、微球菌属(*Micrococcus*)、哈夫尼菌属(*Hafnia*)、寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、发光杆菌属(*Photobacterium*)、考克氏菌属(*Kocuria*)、肠球菌属(*Enterococcus*)、大球菌属(*Macrococcus*)、肉杆菌属(*Carnobacterium*)，其与辛醛呈现显著正相关(P<0.05)，与上述 11 种关键挥发性风味化合物呈显著负相关(P<0.05)。

3　结论

本研究系统探究了空间电场联合冰温贮藏技术对调理牛排挥发性风味物质及微生物群落的调控机制。发现 CL 组因较高的脂质氧化与蛋白质降解水平，其醛类(如己醛)、醇类(如 1-辛烯-3-醇)及含氮含硫化合物(如二甲基二硫醚)的相对含量较 CFP 组和 CFPE 组显著升高(P<0.05)，而 CNP 组通过电场协同作用使各类风味物质占比波动幅度最

小，且具有腐臭味的含氮含硫化合物始终维持在低水平（<120 μg/kg）。微生物分析显示，变形菌门（Proteobacteria）与厚壁菌门（Firmicutes）为共同优势菌门，其中 CFPE 组通过抑制 *Proteobacteria*（较 CL 组降低 21.52%）及优势腐败菌假单胞菌属（*Pseudomonas*）与不动杆菌属（*Acinetobacter*）（丰度分别降低 55.75% 和 8.63%）。综合表明，电场联合冰温技术通过双重调控生化反应与微生物代谢，在维持风味稳态的同时显著提升产品安全性。但是电场联合冰温技术抑制样品的优势腐败菌的分子机制尚未得到阐明，后续工作应围绕此方面开展。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] XIE Y, ZHOU K, CHEN B, et al. Synergism effect of low voltage electrostatic field and antifreeze agents on enhancing the qualities of frozen beef steak: Perspectives on water migration and protein aggregation[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2023, 84: 103263.

[2] XU Y, ZHANG D, XIE F, et al. Changes in water holding capacity of chilled fresh pork in controlled freezing-point storage assisted by different modes of electrostatic field action[J]. Meat Science, 2023, 204: 109269.

[3] SUN T L, ZHANG P, REN Z H, et al. Optimization of the combination of three natural preservatives in beef storage with controlled freezing point technique[J]. Advanced Materials Research, 2013, 781−784: 1700−1707.

[4] LIN H, ZHAO S, HAN X, et al. Effect of static magnetic field extended supercooling preservation on beef quality[J]. Food Chemistry, 2022, 370: 131264.

[5] ZHANG J, FEI L, CUI P, et al. Effect of low voltage electrostatic field combined with partial freezing on the quality and microbial community of large yellow croaker[J]. Food Research International, 2023, 169: 112933.

[6] XIE Y, ZHOU K, CHEN B, et al. Mechanism of low-voltage electrostatic fields on the water-holding capacity in frozen beef steak: Insights from myofilament lattice arrays[J]. Food Chemistry, 2023, 428: 136786.

[7] SEPULVEDA D R, GÓNGORA-NIETO M M, GUERRERO J A, et al. Shelf life of whole milk processed by pulsed electric fields in combination with PEF-generated heat[J]. LWT-Food Science and Technology, 2009, 42(3): 735−739.

[8] CHANG C K, CHENG K C, LIN S H, et al. Improving the anaerobic respiration of persimmons (*Diospyros kaki* L.) caused by modified atmosphere packaging through pulsed electric fields: A sustainable technology for extending shelf-life of packaged-fruits [J]. Future Foods, 2025, 11: 100534.

[9] XIONG W, MENG J, ZHANG Y, et al. Effect of alternating current electric fields on the preservation of fresh-cut Chinese cabbage and spinach[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2025, 102: 104005.

[10] 王明珠, 谢勇, 檀利军, 等. 空间电场联合低温贮藏对调理牛排品质的影响[J]. 食品工业科技, 2025, 46(12): 344−351. [WANG Mingzhu, XIE Yong, TAN Lijun, et al. Effect of space voltage electrostatic field combined with low-temperature storage on quality of beef steak[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(12): 344−351.]

[11] AL-DALALI S, LI C, XU B. Effect of frozen storage on the lipid oxidation, protein oxidation, and flavor profile of marinated raw beef meat[J]. Food Chemistry, 2022, 376: 131881.

[12] ZHANG W, NI Y, XIE Y, et al. Revealing the spoilage characteristics of refrigerated prepared beef steak by advanced bioinformatics tools[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2024, 104(12): 7688−7703.

[13] RODRIGUEZ-CATURLA M Y, MARGALHO L P, GRAÇA J S, et al. Bacterial dynamics and volatile metabolome changes of vacuum-packaged beef with different pH during chilled storage[J]. International Journal of Food Microbiology, 2025, 427: 110955.

[14] LI H, QU S, MA P, et al. Effects of chitosan coating combined with thermal treatment on physicochemical properties, bacterial diversity and volatile flavor of braised duck meat during refrigerated storage[J]. Food Research International, 2023, 167: 112627.

[15] YIN X, LV Y, WEN R, et al. Characterization of selected Harbin red sausages on the basis of their flavour profiles using HS-SPME-GC/MS combined with electronic nose and electronic tongue[J]. Meat Science, 2021, 172: 108345.

[16] XIE Y, CHEN B, GUO J, et al. Effects of low voltage electrostatic field on the microstructural damage and protein structural changes in prepared beef steak during the freezing process[J]. Meat Science, 2021, 179: 108527.

[17] LI X M, NIE W, WU Y, et al. Insight into the dynamic change of flavor profiles and their correlation with microbial community succession and lipid oxidation during the processing of dry-cured duck[J]. LWT, 2024, 198: 115966.

[18] XU H, PAN S, WANG J, et al. Comparative characterization of volatile organic compounds and aroma profiles in 10 Actinidia arguta cultivars by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), sensory analysis, and odor activity value (OAV) combined with chemometrics[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2024, 133: 106450.

[19] FARAG M A, FATHI D, SHAMMA S, et al. Comparative metabolome classification of desert truffles *Terfezia claveryi* and *Terfezia boudieri* via its aroma and nutrients profile[J]. LWT, 2021, 142: 111046.

[20] RIVERA-PÉREZ A, ROMERO-GONZÁLEZ R, GARRIDO FRENICH A. Fingerprinting based on gas chromatography-Orbitrap high-resolution mass spectrometry and chemometrics to reveal geographical origin, processing, and volatile markers for thyme authentication[J]. Food Chemistry, 2022, 393: 133377.

[21] HAN J, LIU Y, ZHU L, et al. Effects of spraying lactic acid and peroxyacetic acid on the quality and microbial community dynamics of vacuum skin-packaged chilled beef during storage[J]. Food Research International, 2021, 142: 110205.

[22] XU C, WANG S, BAI J, et al. Dynamic microbial community and metabolic profiling in refrigerated beef: Insights from diverse packaging strategies[J]. Food Research International, 2024, 197: 115170.

[23] GUO Y, CAO Z, WENG K, et al. Effect of chilled storage period on the volatile organic compounds and bacterial community in goose meat[J]. Food Chemistry: X, 2024, 23: 101685.

[24] FREITAS C F D, CARVALHO L M V F, CAMARGO A C,

et al. Bacterial microbiota shifts in vacuum-packed beef during storage at different temperatures: Impacts on blown pack spoilage[J]. Food Microbiology, 2024, 119: 104448.
[25] BASSEY A P, CHEN Y, ZHU Z, et al. Assessment of quality characteristics and bacterial community of modified atmosphere packaged chilled pork loins using 16S rRNA amplicon sequencing analysis[J]. Food Research International, 2021, 145: 110412.
[26] DE FILIPPIS F, LA STORIA A, VILLANI F, et al. Exploring the sources of bacterial spoilers in beefsteaks by culture-independent high-throughput sequencing[J]. Plos ONE, 2013, 8(7): e70222.
[27] ZHANG Y, YAO Y, GAO L, et al. Characterization of a microbial community developing during refrigerated storage of vacuum packed Yao meat, a Chinese traditional food[J]. LWT, 2018, 90: 562−569.
[28] KAUR M, BOWMAN J P, PORTEUS B, et al. Effect of abattoir and cut on variations in microbial communities of vacuum-packaged beef[J]. Meat Science, 2017, 131: 34−39.
[29] CHAILLOU S, CHAULOT-TALMON A, CAEKEBEKE H, et al. Origin and ecological selection of core and food-specific bacterial communities associated with meat and seafood spoilage[J]. The ISME Journal, 2015, 9(5): 1105−1118.
[30] KOO O-K, HYUN-JUNG K, A. B C, et al. Microbial diversity of ground beef products in south korean retail market analyzed by PCR-DGGE and 454 pyrosequencing[J]. Food Biotechnology, 2016, 30(1): 63−77.
[31] ERCOLINI D, CASABURI A, NASI A, et al. Different molecular types of *Pseudomonas fragi* have the same overall behaviour as meat spoilers[J]. International Journal of Food Microbiology, 2010, 142(1): 120−131.
[32] ZHOU C, WANG J, LI R, et al. High-throughput sequencing analysis of the bacterial community for assessing the differences in extraction methods of bacteria separation from chilled pork[J]. LWT, 2020, 134: 110213.
[33] 顾春涛, 毕伟伟, 朱军莉. 冷鲜牛肉贮藏中菌群结构及优势菌致腐性的分析[J]. 食品科学, 2019, 40(18): 76−82. [GU C T, BI W W, ZHU J L, et al. Bacterial community structure and spoilage potential of dominant bacteria in chilled beef[J]. Food Science, 2019, 40(18): 76−82.]
[34] ZHENG Z, JIN Y, ZHANG L, et al. Inactivation of microorganisms in foods by electric field processing: A review[J]. Journal of Agriculture and Food Research, 2024, 16: 101109.
[35] GENNARI M, PARINI M, VOLPON D, et al. Isolation and characterization by conventional methods and genetic transformation of *Psychrobacter* and *Acinetobacter* from fresh and spoiled meat, milk and cheese[J]. International Journal of Food Microbiology, 1992, 15(1): 61−75.
[36] SAHA S, CHOPADE B. Studies on occurrence and distribution of *Acinetobacter* spp. and other gram-negative bacteria from meat[J]. 2001, 38(1): 17-22.
[37] CAI Z, WANG J, LIU C, et al. Effects of high voltage atmospheric cold plasma treatment on the number of microorganisms and the quality of trachinotus ovatus during refrigerator storage[J]. Foods, 2022, 11(17): 2706.
[38] GAO W, LI X, WAN J, et al. Influence of X-ray irradiation on quality and core microbiological characteristics of chilled chicken meat[J]. LWT, 2024, 206: 116582.
[39] LIU J, WANG Y, ZHU F, et al. The effects of freezing under a high-voltage electrostatic field on ice crystals formation, physicochemical indices, and bacterial communities of shrimp (*Solenocera melantho*)[J]. Food Control, 2022, 142: 109238.
[40] 葛子同, 刘佳楠, 张淑琪, 等. 异硫氰酸苄酯对荧光假单胞菌的抑菌活性及在牛肉保鲜中的应用[J]. 肉类研究, 2024, 38(5): 27−35. [GE Z T, LIU J N, ZHANG S Q, et al. Inhibitory activity of benzyl isothiocyanate against *Pseudomonas fluorescens* and its application in beef preservation[J]. Meat Research, 2024, 38(5): 27−35.]
[41] 周冰倩, 刘永乐, 黄轶群, 等. 我国发酵鱼制品菌群组成与风味代谢相关性研究进展[J]. 食品科学, 2024, 45(7): 281−289. [ZHOU B Q, LIU Y L, HUANG Y Q, et al. Research progress in the correlation between microbial community composition and flavor metabolism of fermented fish products in China[J]. Food Science, 2024, 45(7): 281−289.]
[42] 周迎芹, 黄晶晶, 罗格格, 等. 臭鳜鱼低温发酵过程中微生物菌群组成与特征风味物质的相关性[J]. 食品科学, 2025, 46(4): 91−99. [ZHOU Y Q, HUANG J J, LUO G G, et al. Correlation between microbial community composition and characteristic flavor substances in stinky mandarin fish during low-temperature fermentation[J]. Food Science, 2025, 46(4): 91−99.]