

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.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.08.113

调味料和保鲜剂协同对淡水鱼特征性腐败菌的抑制作用

刘小莉¹, 贾洋洋², 夏秀东¹, 刘源², 周剑忠¹

(1. 江苏省农业科学院农产品加工研究所, 江苏南京 210014; 2. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306)

摘要:以分离自腐败淡水鱼的优势腐败菌作为抑菌试验指示菌,在体外抑菌试验基础上筛选抑菌效果优良的保鲜剂和调味料配方,进一步以菌落总数和挥发性盐基氮含量为指标评估鱼块保鲜效果。结果显示,以 pH 值为 4 的醋酸溶液配制 0.05% 尼泊金丁酯,对所有受试腐败菌均有很好的抑菌效果;5% 大蒜汁和黄酒也具有一定抑菌作用。以黄酒为基料制备 0.05% 尼泊金丁酯和 5% 大蒜汁,并用醋酸将 pH 值调节为 4,浸渍后的白鱼鱼块具有明显保鲜效果,置于 25 ℃ 加速腐败条件下 36 h 后,菌落总数和挥发性盐基氮含量分别为 5.40 lg CFU/g、34.97 mg/100 g,未经保鲜处理的对照高达 7.99 lg CFU/g、76.61 mg/100 g。

关键词:保鲜剂;调味料;淡水鱼;微生物腐败;挥发性盐基氮

中图分类号: TS254.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)08-0389-03

我国淡水资源丰富,是淡水鱼的生产与消费大国,然而淡水鱼防腐保鲜体系相对滞后,成为限制淡水鱼行业发展的桎梏。冷藏是水产品保鲜的重要手段,但存在于水产品表面的嗜冷微生物依然能够大量生长,最终导致其腐败,并表现为自溶、表面发黏、颜色变化、产生异味等现象^[1]。

淡水鱼的营养成分不同于其他食品,其碳水化合物含量非常少,而蛋白质、游离氨基酸含量非常丰富,同时含有大量三甲胺氧化物(TMAO),这些特性决定了导致水产品腐败的特征性腐败微生物[specific spoilage organism(s), SSO]不同于其他食品^[2-3]。只有能够利用蛋白质、氨基酸等营养成分的腐败细菌才能在此类食品中大量生长,最终导致该类食品腐败变质。近年来,很多学者对水产品的腐败微生物生态进行了分析,认为荧光假单胞菌、单核增生李斯特菌、腐败希瓦菌(*Shewanella putrefaciens*)、发光细菌(*Photobacterium*)等是导致水产品腐败最重要的腐败细菌,这些腐败细菌在冷藏阶段很快成为优势微生物,并导致水产品的腐败^[4-5]。

如果不采取适当的防腐保鲜措施,捕捞后的水产品极易腐败变质,严重影响水产品的市场流通和销售。找到导致水产品腐败的微生物种类,才能有效进行水产品腐败的靶向抑制,这是研发水产品加工保藏技术、提高水产品质量的前提。本研究选用食品加工中常用的保鲜剂及调味料,考察保鲜剂和调味料组合对自主分离得到的特征性腐败菌生长的抑制作用,筛选抑菌效果显著的保鲜混合液配方,为延长淡水鱼产品货架期、提高产品价值提供依据。

收稿日期:2015-07-14

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(14)2118]。

作者简介:刘小莉(1981—),女,江苏泰兴人,博士,副研究员,主要从事食品生物工程研究。Tel: (025) 84391571; E-mail: liuxljas@hotmail.com。

通信作者:周剑忠,博士,研究员,主要从事食品科学研究。E-mail: zjzluck@126.com。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

购买市售白鱼、鲫鱼、青鱼,于室温下放置至腐败,分离其中的优势腐败菌作为抑菌试验指示菌。经生理生化试验和 16S rDNA 序列分析鉴定,优势腐败菌为漫游球菌 *Vagococcus* sp. BY-1、变形杆菌 *Proteus* sp. BY-2、摩根氏菌 *Morganella* sp. JY-1、泰瑞芽孢杆菌 *Terribacillus* sp. QY-1、赖氨酸芽孢杆菌 *Lysinibacillus* sp. BY-3、粪透明颤菌 *Vitreoscilla* sp. QY-1,分别编号为腐败菌 1~6,于 -20 ℃ 下 20% 甘油管中保存于笔者所在研究室。

Nisin、山梨酸钾、双乙酸钠、尼泊金乙酯、尼泊金丙酯、尼泊金丁酯、乳酸、醋酸均购自郑州思源食品添加剂有限公司。白醋、姜醋、香醋、大蒜、生姜、黄酒、白酒等调味料购自超市。

1.2 方法

1.2.1 培养基配制和菌种活化 肉汤培养基配方为牛肉膏 3 g、蛋白胨 10 g、氯化钠 5 g、琼脂 12 g、水 1 000 mL, pH 值为 7.0~7.2,于 121 ℃ 高压灭菌 15 min,保存备用。液体活化采用不添加琼脂的液体肉汤培养液。

菌株保藏的甘油管于室温下融化,吸取 100 μL 保存菌种,接种于 5 mL 液体肉汤培养基,于 30 ℃、120 r/min 振荡培养 24 h。

1.2.2 抑菌剂配制 保鲜剂的配制参照国家食品添加剂使用标准 GB 2760—2014 及相关文献。称取一定质量商品化防腐剂,以无菌去离子水分别配制成终浓度 0.05% Nisin、0.1% 山梨酸钾、0.2% 双乙酸钠、0.05% 尼泊金乙酯、0.05% 尼泊金丙酯、0.05% 尼泊金丁酯,并分别采用乳酸、醋酸将 pH 值调节至 4。分别以不添加防腐剂的乳酸、醋酸溶液作为对照,于 4 ℃ 保存备用。

调味料的制备。选用市售白醋、姜醋、香醋,以无菌去离子水将 pH 值分别稀释至 3、4、5,于 4 ℃ 保存备用。分别称取

去皮大蒜、生姜,添加 4 倍体积的无菌去离子水,于高速匀浆机中打成匀浆,过 100 目筛,得到 5% 大蒜汁和 5% 姜汁,于 4 ℃ 保存备用。选用市售黄酒和白酒,保存备用。

1.2.3 体外抑菌试验 采用改良的平板孔阱扩散法^[6]研究各种保鲜剂的抗菌活性。采用冷却的肉汤培养基将活化好的抗菌试验指示菌种稀释至 10⁶ CFU/mL 以上,倒平板。待培养基冷凝后,采用直径为 7 mm 的打孔器于平板上均匀打 3 个孔,吸取 10 μL 融化的培养基封底,以防止培养基与平皿底间出现裂隙。分别吸取 100 μL 处理好的保鲜剂注入孔中,于 30 ℃ 下培养 48 h 后测量抑菌圈大小,计算平均值。

1.2.4 鱼块保鲜试验 选用市售鲜活白鱼,经冰水预冷后去除鳞、内脏、头、尾、皮,沥干鱼体,剔除脊骨,将鱼肉分割为约 3 cm×3 cm 的小块,混匀后随机分组。将鱼块浸没于保鲜剂中,30 min 后取出沥干,置于无菌的包装袋内密封保存。未经保鲜剂处理的鱼块作为阴性对照。鱼块于 25 ℃ 下保藏,定期取样,称取鱼块 10 g,添加 90 mL 去离子水匀浆 2 min,以快速定性滤纸过滤,测定滤液的 pH 值。分别参照国家标准 GB 4789.2—2010、GB/T 5009.44—2003 测定鱼块样品的菌落总数、挥发性盐基氮 TVB-N 含量。

2 结果与分析

2.1 保鲜剂对腐败菌的抑制效果

目前,商品化的保鲜剂大多在酸性条件下具有最强的抑菌效果^[7-8],本研究分别采用醋酸和乳酸调节保鲜剂溶液的 pH 值。以乳酸、醋酸调节 pH 值的保鲜剂溶液对 6 种淡水鱼腐败菌的抑制效果见表 1、表 2。结果显示,pH 值为 4 且不含保鲜剂的乳酸或醋酸对照溶液均没有抑菌效果;醋酸溶液溶

解的保鲜剂的抑菌效果明显优于乳酸溶液溶解的防腐剂;以乳酸调节 pH 值的 6 种保鲜剂中,只有 0.05% Nisin、0.2% 双乙酸钠、0.05% 尼泊金丙酯对赖氨酸芽孢杆菌(*Lysinibacillus* sp. BY-3)(腐败菌 5)具有抑制作用,其他保鲜剂对各种腐败菌均没有抑制效果。相同的保鲜剂及浓度,以醋酸调节 pH 值则抑菌效果显著增强,0.2% 双乙酸钠、0.05% 尼泊金丁酯对 6 种受试腐败菌的生长均具有明显抑制作用,且尼泊金丁酯的抑菌效果显著高于其他保鲜剂。在乳酸和醋酸 2 种不同的 pH 值环境中,0.05% 尼泊金乙酯对所有腐败菌均没有抑制作用。表 1 中,保鲜剂 0 为 pH 值为 4 的乳酸溶液,保鲜剂 1~6 分别为以 pH 值为 4 的乳酸溶液溶解的 0.05% Nisin、0.1% 山梨酸钾、0.2% 双乙酸钠、0.05% 尼泊金乙酯、0.05% 尼泊金丙酯、0.05% 尼泊金丁酯。表 2 中,保鲜剂 0 为 pH 值为 4 的醋酸溶液,保鲜剂 1~6 分别为以 pH 值为 4 的醋酸溶液溶解的 0.05% Nisin、0.1% 山梨酸钾、0.2% 双乙酸钠、0.05% 尼泊金乙酯、0.05% 尼泊金丙酯、0.05% 尼泊金丁酯。

表 1 以乳酸调节 pH 值的保鲜剂溶液对腐败菌的抑制效果

保鲜剂	抑菌圈直径(mm)					
	腐败菌 1	腐败菌 2	腐败菌 3	腐败菌 4	腐败菌 5	腐败菌 6
0	—	—	—	—	—	—
1	—	—	—	—	13.92±2.15	—
2	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	12.00±1.24	—
4	—	—	—	—	—	—
5	—	—	—	—	11.40±2.08	—
6	—	—	—	—	—	—

注:表中数据为抑菌圈直径(mm),“—”表示无抑菌效果。下表同。

表 2 以醋酸调节 pH 值的保鲜剂溶液对腐败菌的抑制效果

保鲜剂	抑菌圈直径(mm)					
	腐败菌 1	腐败菌 2	腐败菌 3	腐败菌 4	腐败菌 5	腐败菌 6
0	—	—	—	—	—	—
1	—	—	—	—	13.18±2.53	—
2	12.06±1.04	—	—	11.62±2.43	12.82±1.32	11.62±2.13
3	13.26±1.23	12.16±2.12	12.50±1.12	11.50±1.21	16.18±1.22	14.34±1.12
4	—	—	—	—	—	—
5	—	14.64±2.12	13.68±2.56	14.26±2.67	13.56±1.34	12.52±2.46
6	16.70±2.13	19.84±2.13	16.62±2.26	17.80±2.54	18.20±1.56	16.72±2.32

2.2 调味料对腐败菌的抑制作用

多项研究表明传统调味料具有防腐抑菌作用^[9],本研究选用淡水鱼加工中常用的醋、大蒜、生姜、黄酒、白酒等调味料,以适口感为参考依据选择合适的浓度及用量,考察其抑菌特性。结果表明,各种市售白醋、姜醋、香醋以无菌去离子水稀释至 pH 值为 4 以上时,对 6 种受试腐败菌的生长均没有抑制作用。其他调味料的抑菌活性见表 3,其中 5% 大蒜汁的抑菌活性最显著,对变形杆菌(*Proteus* sp. BY-2)、摩根氏菌

(*Morganella* sp. JY-1)、泰瑞芽孢杆菌(*Terribacillus* sp. QY-1)、粪透明颤菌(*Vitreoscilla* sp. QY-1)均具有抑制作用;其次为黄酒,对漫游球菌(*Vagococcus* sp. BY-1)、赖氨酸芽孢杆菌(*Lysinibacillus* sp. BY-3)、粪透明颤菌(*Vitreoscilla* sp. QY-1)均具有抑制效果,且对赖氨酸芽孢杆菌(*Lysinibacillus* sp. BY-3)抑制作用最强,抑菌圈直径达(19.02±1.76) mm;5% 姜汁对受试的 6 种腐败菌均无抑制作用;白酒仅对赖氨酸芽孢杆菌(*Lysinibacillus* sp. BY-3)具有一定抑制作用。

表 3 不同调味料的抑菌效果

调味料	抑菌圈直径(mm)					
	腐败菌 1	腐败菌 2	腐败菌 3	腐败菌 4	腐败菌 5	腐败菌 6
5% 大蒜汁	—	14.00±2.23	16.88±1.87	14.52±1.65	—	10.20±1.85
5% 姜汁	—	—	—	—	—	—
黄酒	12.34±2.14	—	—	—	19.02±1.76	13.10±2.12
白酒	—	—	—	—	11.48±1.43	—

2.3 鱼块的防腐

根据以上结果将防腐浸制液的配方确定为:称取适量大蒜,加入4倍体积的黄酒,打浆后过滤,向滤汁中添加尼泊金丁酯使其终浓度为0.05%,使用醋酸将混合液的pH值调节至4。鱼块在此混合保鲜液中浸渍后保藏,对照和保鲜剂处理的鱼块在储藏期内的菌落总数、挥发性盐基氮含量变化趋势见图1、图2。与未经处理的对照相比,保鲜剂浸渍处理的鱼块在储藏期内菌落总数、挥发性盐基氮含量的增长速度显著缓慢。36 h后对照鱼块的菌落总数达 $7.99 \lg \text{CFU/g}$ ($9.8 \times 10^7 \text{CFU/g}$),保鲜处理的鱼块则为 $5.40 \lg \text{CFU/g}$,且24 h后增长速率减缓。对照和经保鲜处理鱼块的挥发性盐基氮含量增加趋势类似,36 h后对照组样品的挥发性盐基氮含量高达 $76.61 \text{mg}/100 \text{g}$,具有明显的腐臭味;经保鲜处理的样品中挥发性盐基氮含量仅为 $34.97 \text{mg}/100 \text{g}$,约为对照组含量的一半。可见,保鲜防腐处理对鱼块腐败菌的生长具有明显抑制作用。

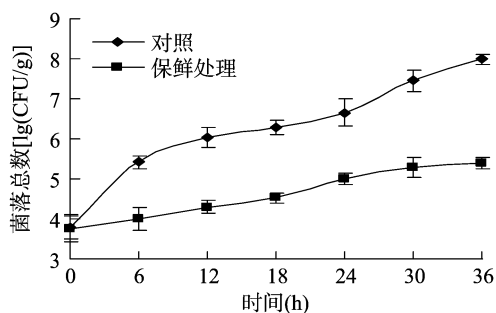


图1 储藏期内鱼块的菌落总数

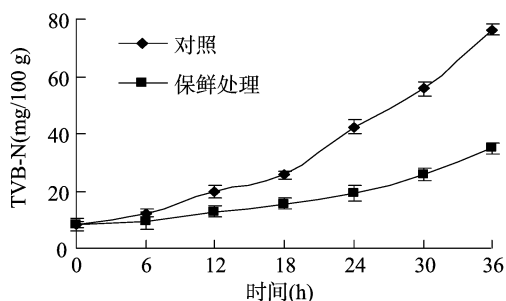


图2 储藏期内鱼块的挥发性盐基氮含量

3 结论与讨论

水产品贮藏保鲜技术的开发是养殖、捕捞生产活动的延续,是加工企业创收的必要保证。与传统水产品保鲜技术和现代高新保鲜技术相比,食品保鲜剂的应用更加简便和经济,高效地达到水产品保鲜的要求,突破传统繁琐的保鲜措施和昂贵的现代设备投资瓶颈,是水产品及其他食品贮藏保鲜的重要发展方向。

本研究结果显示,不同保鲜剂或不同溶液体系中的相同保鲜剂对淡水鱼特征性腐败菌的抑制作用具有很大差异。食品保鲜剂品种多样。Nisin是一种高效、无毒、安全、营养的天然食品保鲜剂,对革兰氏阳性菌具有广谱抑制作用,对可形成芽孢的细菌具有更强的抗菌效果^[7]。祝银等对冻藏金枪鱼肌肉的硬度、弹性、凝聚性等进行测试发现,Nisin保鲜液可适当延长冻藏金枪鱼的保鲜期,其最适质量浓度为 0.4g/L ^[10]。

然而本研究结果显示,Nisin仅对赖氨酸芽孢杆菌具有抑制作用,对其他受试的腐败菌均无抑制作用。

苯甲酸、山梨酸及其盐类等化学防腐剂是国内常用的食品防腐剂,其成本低于天然防腐剂,但其防腐效果受微生物种类、食品成分、pH值、溶解性等因素影响,具有一定使用局限性,一般仅能在酸性条件下使用。尼泊金酯是一类广谱、高效、低毒的防腐剂,且不易受食品pH值的影响,在pH值为4~8的范围内均具有很好的抑菌能力^[11]。本研究结果表明,尼泊金丁酯对所有受试腐败菌的生长均具有抑制作用,其抑菌谱最广且抑菌活性高。邹玉萍等研究各种单酯在蒸煮袋熟鱼的保藏效果时发现,丁酯的防腐能力高于丙酯和乙酯^[12]。

单一的防腐剂通常存在一定缺陷,须采用复合防腐技术才能发挥互补和相乘效果,有效阻止微生物的生长和其他不利因素,达到优势互补、相得益彰的目的。保鲜剂与传统水产加工调味料的复合使用对腐败菌具有很好的抑制作用,与微生物酶系统中的巯基结合,从而破坏很多酶系统,达到抑制微生物生长、繁殖及防腐的效果,进而有效抑制TVBN的增长,延缓鱼肉的腐败变质^[13]。

参考文献:

- [1]李湘利,刘静.水产品贮藏保鲜技术及发展趋势[J].中国水产,2006(5):62-63.
- [2]Dalggaard P. Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish[J]. International Journal of Food Microbiology, 1995, 26(3):319-333.
- [3]罗庆华.水产品特点腐败菌研究进展[J].食品科学,2010,31(23):468-472.
- [4]Parlapani F F, Verdos G I, Haroutounian S A, et al. The dynamics of *Pseudomonas* and volatile compounds during the spoilage of gutted sea bream stored at 2 degrees C[J]. Food Control, 2015, 55:257-265.
- [5]Tong T A N, Nosedá B, Samapundo S, et al. Microbial ecology of Vietnamese Tra fish (*Pangasius hypophthalmus*) fillets during processing[J]. International Journal of Food Microbiology, 2013, 167(2):144-152.
- [6]Gomez S, Cosson C, Deschamps A M. Evidence for a bacteriocin-like substance produced by a new strain of *Streptococcus* sp., inhibitory to Gram-positive food-borne pathogens[J]. Research in Microbiology, 1997, 148:757-766.
- [7]李有起. Nisin在食品防腐作用中的研究进展[J].食品研究与开发, 2012, 33(4):233-235.
- [8]钟国清.双乙酸钠的应用研究进展[J].饲料工业, 2006, 27(3):39-43.
- [9]姜井军,方芳.8种调味料提取液抑菌效果研究[J].山东化工, 2014, 43(12):107-110, 113.
- [10]祝银,刘琴,严忠雍,等. Nisin生物保鲜剂对冻藏金枪鱼的影响[J].广州化工, 2013, 41(24):41-43.
- [11]张显久,苏德俏,沈健,等.尼泊金复合酯作为防腐剂在食品中的应用[C].第十一届中国国际食品添加剂和配料展览会学术论文集,上海,2007:362-364.
- [12]邹玉萍,夏文水.尼泊金酯对蒸煮袋熟鱼防腐保藏[J].食品与生物技术学报, 2009, 28(2):167-171.
- [13]邓思瑶,杨文鸽,周星宇,等.包装方式和山梨酸钾处理对冷藏鲈鱼品质的影响[J].核农学报, 2015, 29(3):506-512.