

表7 样品的 TVBN 变化 (mg/100g)

组别	天数(d)						
	4	6	8	10	12	13	14
1	4.4	6.4	8.2	9.4	12.4	17.0	25.2
2	3.6	6.4	8.4	8.6	10.8	16.0	22.8
3	4.8	6.8	7.8	8.8	11.6	16.2	22.6
4	4.8	7.2	8.0	8.8	11.0	15.8	22.4
5	4.4	7.2	8.0	8.6	11.2	16.4	23.6
6	3.6	7.2	9.6	10.4	13.2	17.6	26.2
7	4.0	7.2	8.8	9.2	12.8	17.2	25.6
对照	4.4	7.2	12.0	14.6	17.4	23.8	32.2

速上升,第 10d 时已经接近较新鲜的临界值。其原因在于一般情况下,当细菌总数达到 $10^7 \sim 10^8$ 个/g 时,TVBN 的含量才会加速增加,这与表 6 细菌总数检测结果基本相吻合。由此可以看出,所设置的预处理因子对减缓 TVBN 的快速增长具有一定的效果。

3 结论

3.1 对鲫鱼冷藏保鲜之前进行酒精消毒、远红外线脱水、紫外线杀菌、真空包装处理,可以控制鱼体酸度的改变,抑制细菌的繁殖,降低 TVBN 的含量,从而有

效地延长鲫鱼的保鲜期。

3.2 在依序进行酒精消毒、远红外线脱水、紫外线杀菌、真空包装、低温冷藏的条件下,对鲫鱼保鲜较好的处理条件是 40°C 下远红外线脱水 10 min,紫外线杀菌 20min,其保鲜期可延长至 14d。

3.3 用物性测量仪定量描述鲫鱼鲜度的感官指标、在真空冷却条件下完成杀菌预处理过程、用充气包装置换真空包装等技术方法对鲫鱼保鲜效果的影响,本课题将做进一步研究。

参考文献:

- [1] 林洪,张瑾,熊正河编著.水产品保鲜技术[M].中国轻工业出版社,2001.
- [2] 冯志哲,沈月新.食品冷藏学[M].北京:中国轻工业出版社,2001.179-232.
- [3] 刘铁玲.鱼类的冻结保鲜及冷藏中的质量变化[J].食品研究与开发,2000,(21)1:46-48.
- [4] 黄晓钰,余海虎.冷藏期间淡水鱼新鲜度变化的研究[J].华南农业大学学报,1997,(18)3:100-104.
- [5] 陈杰榕译.鱼的品质评价及保鲜[J].西北纺织工业学院学报,1993,(7)4:309-315,322.

Nisin 在酱油保鲜中的应用研究

李增利,唐平

(华东船舶工业学院生物化工部,镇江 212005)

摘要:通过对酿造酱油中 G⁺、G⁻ 菌组成情况的分析,研究了 Nisin 对酿造酱油中腐败细菌的抑制效力。对腐败细菌在不同 Nisin 含量的营养肉汤培养基及酱油原液中培养试验的结果显示:在腐败菌最适生长温度 36°C 下培养,当 Nisin 的含量达到 $100\mu\text{g/ml}$ 时,营养肉汤 (pH4.60) 中腐败细菌的总数急剧减少;当 Nisin 的含量达到 $50 \sim 100\mu\text{g/ml}$ 时,即能有效地抑杀酱油中的腐败细菌。这表明 Nisin 可替代化学防腐剂用于酱油的防腐保鲜,以减轻酱油的巴氏灭菌强度,保持酱油原有营养成分、风味、色泽,延长制品货架期。

关键词:酿造酱油; Nisin; 天然生物防腐剂; 抑菌效力

Abstract: On the basis of analyzing the composition of Gram-positive bacterium and Gram-negative bacterium in fermented soy sauce, research into the inhibitory effectiveness of Nisin on putrid bacterium which grow and survive in soy sauce has been undertaken. The experiment on putrid bacterium cultivated with different content of Nisin in nutrient-broth and soy sauce has shown the number of Bacillus decreases rapidly in nutrient broth at 36°C (pH4.60) with Nisin containing up to $100\mu\text{g/ml}$; The amount of Bacillus survivors (CFU per ml) decreases to a very low level in soy sauce with Nisin more than $50 \sim 100\mu\text{g/ml}$. The experiment has also indicated that Nisin can

收稿日期:2002-06-15

作者简介:李增利(1966-),男,讲师,生化部副主任。

replace chemical preservatives in sauce preservation and keeping fresh to relieve the intensity in pasteurization.

Key words: fermented soy sauce; Nisin; natural biologic preservatives; inhibitory effectiveness

中图分类号:TS202.3;TS264.2·1

文献标识码:A

文章编号:1002-6630(2003)01-0139-04

Nisin ($C_{143}H_{228}N_{42}O_{37}S_7$) 是乳酸乳球菌乳酸亚种 (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*) 的一些菌株产生的多肽,是一种高效、无毒、安全、营养的天然食品防腐剂。Nisin 的稳定性受溶液的温度和 pH 值影响显著,在室温下、酸性条件下加热时均稳定^[1],它能有效地抑杀引起食品腐败的许多革兰氏阳性菌的生长和繁殖,如乳杆菌 (*Lactobacillus*)、微球菌 (*Micrococcus*)、葡萄球菌 (*Staphylococcus*)、肠球菌 (*Enterococcus*)、片球菌 (*Pediococcus*)、明串珠菌 (*Leuconostoc*)、李斯特氏菌 (*Listeria*)、链球菌属 (*Streptococcus*) 等;对细菌[如芽孢杆菌 (*Bacillus*) 和梭状芽孢杆菌 (*Clostridium*)] 芽孢的萌发有一定的抑制作用。Nisin 的作用机制是通过吸附到微生物细胞质的磷脂膜上,它在压敏作用 (voltage-dependent) 方式中,作为膜的去极化剂 (membrane-depolarizing agent),从而导致细胞内新陈代谢基本物质的溢流(如 ATP 渗出),严重时会引起细胞的裂解而死亡^[2]。

目前, Nisin 已被 50 多个国家和地区广泛应用于乳制品、罐头食品、蔬菜制品、高蛋白食品、水产制品及软饮料工业等食品的防腐和保鲜^[3]。但尚未见到 Nisin 在酱油防腐方面应用的研究报道,本试验对 Nisin 在酿造酱油中的抑菌效果进行了研究,为 Nisin 的进一步推广应用提供了依据。

1 仪器与材料

1.1 试验仪器

XS-18 生物显微镜 南京江南光电有限公司; PHS-3C 酸度计 江苏金坛医疗仪器厂; 101A-2 电热鼓风干燥箱 上海实验仪器厂; WD750B 型格兰仕微波炉 顺德格兰仕电器有限公司; HZQ-X100 振荡培养箱 哈尔滨东联电子技术开发有限公司; PYX-DHS 隔水式电热恒温培养箱 上海跃进医疗器械厂; YXQ-SG46-280A 压力蒸汽消毒器 上海博讯实业有限公司医疗设备厂; YJ-875 医用净化工作台 苏州净化设备公司。

1.2 试验材料

1.2.1 试剂与样品

Nisin Z, 浙江天台银象生物化工厂生产, 效价 ≥ 1000 IU/mg; 山梨酸、丙酸钙、尼泊金酯等。

抑菌试验用酱油, 江苏恒顺集团公司生产; 酱油中革兰氏阴性菌群组成测定用酱油分别产于镇江、上海、佛山、台湾。

1.2.2 试验用培养基

1.2.2.1 菌落总数测定用培养基(NBA)^[4]

蛋白胨 10g, 牛肉浸膏 3g, 氯化钠 5g, 琼脂 15g, 蒸馏水 1000ml, pH7.2~7.4。

1.2.2.2 Nisin 防腐效力测定用营养肉汤培养基(NB)

蛋白胨 10g, 牛肉浸膏 3g, 氯化钠 5g, 葡萄糖 2.5g, $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ 6.32g, 柠檬酸 $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ 2.35g, 蒸馏水 1000ml, pH4.6。

1.2.2.3 革兰氏阳性菌群抑制用培养基(BNBA)^[5]

蛋白胨 10g, 牛肉浸膏 3g, 氯化钠 5g, 琼脂 15g, 五号胆盐 1.5g, 蒸馏水 1000ml, pH7.2~7.4。

2 实验方法

2.1 酱油样品中 G^+ 、 G^- 菌的组成测定

2.1.1 革兰氏染色法

将酱油样品接种于营养琼脂培养基中, 培养后用无菌水将菌苔洗下制成悬液, 取少许涂片, 革兰氏染色、镜检。

2.1.2 选择培养基法

根据酿造酱油国家标准中微生物指标试验方法的要求^[6], 按照菌落总数测定方法^[7], 对各种酱油样品分别用革兰氏阳性菌抑制用培养基(BNBA)、菌落总数测定用培养基(NBA)进行培养计数, 以检验 G^+ 菌抑制剂对酱油中腐败菌的抑制效果、测定酱油样品中 G^+ 、 G^- 菌的组成比例。

2.2 Nisin 抑菌效果的测定

2.2.1 乳链菌肽母液的配制

称取 2000mg Nisin, 用经过灭菌的 0.02mol/L HCl 溶解定容至 100ml, 配成 20mg/ml 的溶液, 以 0.22 μ m 的滤膜过滤除菌^[8]后贮存于 4℃ 备用。

2.2.2 试验菌种的菌液制备

将酱油原液经过适度热处理后, 按 2% 接种到营养肉汤培养基中, 置于 36℃ 进行振荡 (转速为 100r/min) 培养, 24h 后将其贮存于 1℃, 作为抑菌试验的接种菌液。

2.2.3 Nisin 在营养肉汤培养基中的抑菌效果

用酸度计测定各酱油样品的 pH 值, 根据所测数据, 分析确定用于检测 Nisin 抑菌效力的营养肉汤培养基的 pH 值。

将经过培养的种菌液接入 Nisin 含量分别为 0、25、50、100、150、200、300IU/ml 的营养肉汤培养基(NB)中, 将接种的供试液置于 36℃ 振荡培养(转速为 100r/min)。分别于 24h、48h、14d, 涂平板计算活菌数, 检测 Nisin 的抑菌效果。

2.2.4 Nisin 在酱油原液中的抑菌效果

按比例将乳链菌肽母液加入适度热处理后的酱油原液中, 使其分别含有 Nisin 量为 50、100、150、200、300IU/ml, 将供试酱油原液置于 36℃ 振荡培养(转速为 100r/min)。分别于 24、48、72、96h, 涂平板计算活菌数, 检测 Nisin 的抑菌效果。

3 结果与分析

3.1 酱油中总菌数、G⁻菌数、酱油的 pH 值

表 1 酱油中总菌数及 G⁻菌数、酱油的 pH

样品产地	菌数(CFU/ml)		pH
	NBA 培养基	BNBA 培养基	
镇江	29000	20	4.18
镇江*	51000	70	4.23
台湾	550	<10	4.48
佛山	860	<10	4.79
上海	470	<10	4.54

注: * 为未灭菌的生酱油。

革兰氏染色法镜检的结果总体呈紫色, 说明样品中主要由阳性菌构成。表 1 中各酱油样品在普通营养肉汤培养基(NBA)中培养所测菌落总数与在 G⁻菌抑制用培养基(BNBA)中培养所测的菌量相比, 前者远远大于后者, 显示 G⁻菌抑制剂对普通酱油样品中的腐败菌有明显的抑制作用。革兰氏染色法、选择培养法的结果均表明酱油液中的菌群组成与 Nisin 的抑菌谱特性相吻合, 初步确定 Nisin 可适用于酿造酱油的防腐保鲜。

由于 Nisin 的抑菌效力受 pH 值的影响显著, 为保持培养基与酱油原液 pH 值的一致性, 以消除因 pH 值差异而对试验结论的适用性产生影响。故依据表 1 中所测的各酱油样品的 pH 值, 综合确定将检测 Nisin 抑菌效力的营养肉汤培养基的 pH 值调节为 4.6。

3.2 Nisin 在营养肉汤培养基中的抑菌效果

表 2 中所列的酱油腐败菌在含有不同浓度 Nisin

的营养肉汤中经过 24h、48h、14d 培养测定的结果显示: Nisin 对所试的酱油腐败菌具有抑菌活性, 当 Nisin 浓度达到 100IU/ml 时具有明显的抑菌和杀菌效果。当 Nisin 浓度进一步加大时抑菌效果增幅趋缓。

表 2 Nisin 在营养肉汤培养基中的抑菌效果

Nisin (IU/ml)	菌数(CFU/ml)		
	24h	48h	14d
0	480 × 10 ³	178 × 10 ⁴	310 × 10 ⁶
25	6600	8900	60000
50	780	3400	43000
100	520	70	110
150	320	40	90
200	140	20	50
300	50	20	40

注: * 接种后营养肉汤原始含菌量为: 4800。

3.3 Nisin 在酱油原液中的抑菌效果

由表 3 中酱油原液经过 24、48、72、96h 培养测定的结果知: 当 Nisin 浓度达到 50IU/ml(72、96h)时即具有明显的抑菌和杀菌效果; 当 Nisin 浓度达到 100IU/ml(96h) 时则抑杀菌效果显著增强, 酱油中腐败细菌降低到一个非常低的水平; 进一步增加 Nisin 含量时抑菌效力增幅不大。这表明对所试的酱油原液具有显著的抑菌活性, 当 Nisin 量达到 50 ~ 100μg/ml 时, 即能有效地抑杀酱油中的腐败细菌。表 3 与表 2 中测定结果相比, 显示培养基介质的性质对 Nisin 最低抑菌浓度(MIC)和杀菌效果有一定影响。

表 3 Nisin 对酱油原液的抑菌效果

Nisin (IU/ml)	菌数(CFU/ml)			
	24h	48h	72h	96h
0	36 × 10 ⁵	40 × 10 ⁵	51 × 10 ³	64 × 10 ³
50	25 × 10 ⁵	17 × 10 ³	2100	280
100	20 × 10 ⁵	12 × 10 ³	1300	60
150	17 × 10 ³	11 × 10 ³	920	30
200	13 × 10 ³	9.3 × 10 ³	460	20
300	7.8 × 10 ³	3.8 × 10 ³	450	20

注: * 酱油液原始含菌量为: 28000。

4 结 语

4.1 酿造酱油中腐败细菌组成与 Nisin 的抑菌谱特性相吻合, Nisin 对酱油中的腐败菌有明显的抑制作用。在酱油中加入 Nisin 的量达到 50 ~ 100μg/ml 时, 能够有效地抑杀酱油中的腐败细菌, 实现酱油防腐保鲜的目的。

4.2 生物防腐剂 Nisin 可替代或部分替代化学防腐剂用于酱油的防腐保鲜,以减轻酱油的巴氏灭菌强度,保持酱油原有营养成分、风味、色泽,延长制品的保质期。

4.3 由于乳酸链球菌素与化学防腐剂相比,抗菌谱窄,如与山梨酸、螯合剂(EDTA)等并用,则对革兰氏阴性菌的抑制能力也大为增强,可增强其抗菌效果,发挥广谱抑菌作用。

4.4 试验中发现在未经热预处理的酱油液中添加 Nisin 时无显著抑菌效果。原因可能是 Nisin 被酱油中微生物分泌的蛋白酶水解而降低或失去效力。故需将酱油液经过适度灭酶、灭菌处理。处理的程度对 Nisin 的抑菌效力的影响关系尚有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 凌关庭. 食品添加剂手册 [M]. 北京: 化学工业出版社, 1997. 722.
- [2] Jaquette C B, Beuchat L R. Combined Effects of pH, Nisin, and Temperature On Growth and Survival of Psychrotrophic *Bacillus cereus* [J]. *Food Protection*, 1998, 61(5): 563 - 570.
- [3] 陈仪本. 工业杀菌剂 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2001. 240.
- [4] GB 4789. 28 ~ 94. 食品卫生微生物学检验·染色法、培养基和试剂[S]. 北京: 中国标准出版社, 1997. 146.
- [5] 马绪荣. 药品微生物学检验手册 [M]. 北京: 科学技术出版社, 2001. 413.
- [6] GB 18186 - 00. 酿造酱油国家标准 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2000.
- [7] GB 4789. 2 - 94. 食品卫生微生物学检验·菌落总数测定 [S]. 北京: 中国标准出版社, 1995. 5 - 7.
- [8] 江芸. 国产 Nisin 部分特性的研究 [J]. *食品科学*, 2001, 22(4): 18 - 21.

1 - MCP 和 MJ 对菜用大豆采后籽粒营养成分的影响

苏新国, 郑永华, 汪峰, 张兰, 冯磊
(南京农业大学食品科技学院, 南京 210095)

摘要: 研究了菜用大豆贮藏期间籽粒蛋白质、脂肪、氨基酸和 VC 含量的变化, 同时评价了菜用大豆籽粒中氨基酸组成和质量。结果表明, 菜用大豆籽粒中含有 32.82% (干重) 蛋白质、24.55% (干重) 粗脂肪以及 16.92mg/100g (鲜重) 的 VC, 籽粒中必需氨基酸占氨基酸总量的 39.46%。采用 MJ (茉莉酸甲酯) 和 1-MCP (1-甲基环丙烯) 处理可以使籽粒在贮藏期间保持较高的蛋白质、VC 和必需氨基酸含量以及较高的氨基酸评分, 而对粗脂肪含量无明显影响。

关键词: 大豆籽粒; 营养成分; 氨基酸分

Abstract: The effects of MJ and 1-MCP treatments on nutrient contents changes in vegetable soybean seed during storage were investigated. Vegetable soybean seeds contained 32.82% (dry base) protein, 24.55% (dry base) crude fat and 16.92mg/100g FW Fresh weights VC. 1-MCP and MJ treatments maintained higher levels of protein, amino acid and VC contents as well as higher value of amino acid score throughout the whole storage period, but had little effect on crude fat content.

Key words: vegetable soybean seed; nutrition compounds; amino acid score

中图分类号: S668.409

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2003)01-0142-05

菜用大豆的营养价值很高, 其食用部分(籽粒)中不仅含有丰富的脂肪和蛋白质, 而且富有人体易于吸收的氨基酸和多种维生素^[1], 在我国的南方地区和亚洲的一些国家(日本、韩国等)都有食用菜用大豆的习

惯^[2]。菜用大豆采后豆荚易发生黄化和腐烂, 不耐贮藏。国内外对菜用大豆贮藏的研究甚少, 而有关菜用大豆贮藏期间籽粒营养成分变化尚未见报道。

茉莉酸甲酯 (Methyl jasmonate, MJ) 是植物中存在

收稿日期: 2002-06-17

作者简介: 苏新国(1977-), 男, 中科院华南热带植物研究所 2002 级博士生, 果蔬采后生理与保鲜专业。