

乳酸菌在酱类开封后腐败控制中的应用研究

卢新^{1,2} 宗红^{1,2} 陆信曜^{1,2} 诸葛斌^{1,2*}

(1. 江南大学工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学生物工程学院, 江苏 无锡 214122)

摘要:为研究乳酸菌对酱类食品开封取用过程中腐败控制的作用,探究了乳酸菌的耐盐、抑菌能力及其在模拟家庭开封取用过程中对酱中乳酸菌活菌数、细菌菌落总数、细菌群落组成及产生不愉快气味的主要挥发性成分的影响。结果表明:植物乳杆菌可耐受质量分数 7% 的 NaCl,且具有较强的抑菌能力;在模拟酱的家庭取用过程中,植物乳杆菌可有效抑制酱中的细菌菌落总数并保持乳酸菌活菌数的稳定;添加植物乳杆菌的酱中 *Lactobacillus* 的相对丰度为 83.6%,可以维持 *Lactobacillus* 为酱中的优势属;产生不愉快气味的主要挥发性成分的相对质量分数仅为空白对照的 4.71%,可有效抑制酱中不愉快气味的产生。因此,植物乳杆菌可延长酱类食品在家庭取用过程中的实际保质期,在食品绿色防腐中具有潜在的应用前景。

关键词:酱类食品;乳酸菌;实际取用;腐败控制

Study on the Application of Lactic Acid Bacteria in Spoilage Control of Sauce Products after Unsealing

LU Xin^{1,2} ZONG Hong^{1,2} LU Xinyao^{1,2} ZHUGE Bin^{1,2*}

(1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: In order to investigate the role of lactic acid bacteria in controlling spoilage during the opening and consumption of sauce products, the salt tolerance and antimicrobial capabilities of lactic acid bacteria were examined, along with their impacts on the number of viable lactic acid bacteria, total bacterial colony count, bacterial community composition and the main volatile compounds responsible for unpleasant odors in a simulated household consumption scenario. The results indicated that *Lactobacillus plantarum* can tolerate a NaCl mass fraction of 7% and possesses strong antimicrobial properties; during the simulated household consumption of sauce, *Lactobacillus plantarum* effectively suppressed the total number of bacterial colonies and maintained the stability of viable lactic acid bacteria counts; the relative abundance of *Lactobacillus* in the sauce, with the addition of *Lactobacillus plantarum*, was 83.6%, ensuring *Lactobacillus* as the dominant genus in the sauce; the relative mass fraction of the main volatile compounds causing unpleasant odors was reduced to only 4.71% of that in the blank control, effectively inhibiting the production of unpleasant odors in the sauce. Thus, *Lactobacillus plantarum* can extend the actual shelf life of sauce products during household use and holds potential for application in green food preservation.

Keywords: sauce food; lactic acid bacteria; actual access; spoilage control

随着人们的生活水平日益加快,酱类食品越 食品食用方便,种类增多,消费量在逐年增加。但
来越受到人们的喜爱,尤其近几年复合调味酱类 由于酱类食品在实际食用过程中需要多次开盖取

通信作者: 诸葛斌(1969—),男,博士,教授,博士研究生导师,主要从事工业微生物分子生物学研究。E-mail: bzhuge@126.com
收稿日期: 2022-04-06 改回日期: 2022-05-25

用,空气中或取用器皿上的微生物等有可能会进入酱类食品中,从而影响酱类食品的品质,甚至在多次取用的情况下会出现“白膜”或者“长毛”现象,而且还会产生不愉快的气味,大大降低了酱类食品的实际保质期^[1]。

目前,生产厂家一般利用食品添加剂抑制酱类食品货架期内的腐败,但在家庭开盖取用过程中仍会存在较严重的腐败变质现象,目前尚未有针对酱类食品开封后腐败控制的研究,而且消费者更倾向于安全无化学添加的食品,因此,利用天然的食品防腐剂控制酱类食用过程中的腐败是一种很好的选择。天然的食品防腐剂主要有微生物源、植物源和动物源。其中,微生物源中最常见的乳酸菌可以产生与病原菌有拮抗性的初级和次级代谢产物,可确保食品的安全性^[2]。乳酸菌可在多种环境中生长,因而被广泛应用于各种储藏条件下的食品中^[3]。Choi等研究发现植物乳杆菌对致病性大肠杆菌显示出抗菌活性,可使泡菜在10℃下延长保质期一个月^[4]。何艳霞等分离得到的植物乳杆菌具有良好的抑菌效果,对蒸蛋糕的防腐保鲜具有重要作用^[5]。有研究者在贻贝中添加植物乳杆菌储藏在-18℃和4℃中,在60d后其显示出较高的乳酸菌数和较低的细菌菌落总数^[6]。Saithong等研究发现将清蒸鲱鱼浸泡在植物乳杆菌PMU33和乳酸乳球菌WNC20混合菌液中可以延长产品的常温货架期^[7]。因此,乳酸菌可用于常温下酱类食品开封取用过程中抑制从空气进入的腐败细菌及食源性致病菌。

针对酱类食品在常温储藏时的开封取用过程中微生物和空气进入加速酱类腐败的问题,作者旨在利用筛选获得的耐盐乳酸菌延长酱类食品在家庭取用过程中的实际保质期;通过模拟家庭取用过程,考察乳酸菌活菌数、细菌菌落总数、细菌群落组成及挥发性物质等方面,从而探究其抑制酱类食品腐败的效果,为控制酱类食品在实际取用过程中的腐败提供一种新思路。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂 东北酸菜:取样自辽宁两个地区农户自然发酵的酸菜;面粉、食盐、老抽酱油、植物油、脱脂乳粉:江苏无锡大统华超市;小茴香粉:

江苏御娘食品有限公司;牛肉浸膏、酵母浸膏、葡萄糖、蛋白胨、乙酸钠、柠檬酸氢二铵、氯化钠、无水乙醇、琼脂、 $K_2HPO_4 \cdot H_2O$ 、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 、 $CaCO_3$ 、 $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 、吐温-80:国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 菌株及培养基 大肠杆菌 O157: H7 (*Escherichia coli* O157: H7) ATCC 25922、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) ATCC 25923:作者所在研究室保藏;贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*) FB1、人葡萄球菌(*Staphylococcus hominis*) FB2:作者所在研究室前期从腐败酱中筛选获得的有害菌株。

MRS培养基(g/L):牛肉浸膏10.0,酵母浸膏5.0,葡萄糖20.0,蛋白胨10.0,乙酸钠5.0,柠檬酸氢二铵1.5, $K_2HPO_4 \cdot H_2O$ 3.0, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.58, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 0.19,吐温-801.0。平板计数琼脂(PCA)培养基(g/L):蛋白胨5.0,酵母浸粉2.5,葡萄糖1.0,琼脂15.0。

1.1.3 仪器 YXQ-LS-50S II型蒸汽灭菌锅、BG-160型隔水式电热恒温培养箱:上海博迅实业有限公司;Thermo-fresco21型高速冷冻离心机:上海沪粤明科学仪器有限公司;Enspire 2300型多功能酶标仪:珀金埃尔默有限公司;Agilent 1100型高效液相色谱仪:美国安捷伦科技有限公司;Starter 3100型高精度pH计:上海奥豪斯仪器有限公司;ISQ-LT型气质联用仪:赛默飞科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 耐盐乳酸菌的筛选 称取东北酸菜样品每种各25g,于225mL无菌生理盐水中振荡,梯度稀释制备为菌悬液,取0.1mL涂布到含 $CaCO_3$ (质量分数1%)的MRS琼脂培养基,37℃培养48h。挑取含较大溶钙圈的菌落,分离纯化得到单菌落,进行革兰氏染色与过氧化氢酶试验。将得到的革兰氏阳性菌、过氧化氢酶试验阴性菌在MRS液体培养基活化,以体积分数1%接种于含40g/L NaCl的MRS液体培养基中,37℃静置培养24h,测定 OD_{600} 。挑选出 $OD_{600} > 4.0$ 的菌株,进行编号后在含50~100g/L NaCl的MRS液体培养基中测定盐耐受性。

1.2.2 耐盐乳酸菌的鉴定 将分离纯化后的菌株送至天霖生物科技有限公司测序,结果于NCBI的

GenBank数据库进行BLAST比对,确定菌株种属。

1.2.3 乳酸菌菌粉制备 将活化后的植物乳杆菌和副干酪乳杆菌以1%的体积分数分别接种到100 mL的MRS液体培养基中,37℃静置培养24 h后,将培养液于4℃、6 000 r/min离心15 min。用生理盐水洗涤菌体2次后,添加10 mL质量分数10%的脱脂乳粉和10 mL生理盐水,混合均匀,冷冻干燥后按无菌操作收集冻干菌粉,可得到植物乳杆菌粉(活菌数为 5.5×10^{10} CFU/g)和副干酪乳杆菌粉(活菌数为 4.1×10^{10} CFU/g)。

1.2.4 酱的制备

(1)配方(质量分数):面粉25%、植物油5%、老抽酱油6.25%、盐3.75%、小茴香粉0.1%、水60%。经计算,酱中的总含盐质量分数约为5%。

(2)工艺流程:植物油加热后,将面粉、老抽酱油、盐、小茴香粉、水的混合物加入锅中,于90℃搅拌30 min,冷却至室温,加入质量分数0.005%的乳酸菌粉。制备完成后,将其分装入玻璃瓶,置于25℃的恒温箱中,模拟家庭开封取用过程,每日开封取用并放置5 min后密封。

1.2.5 试验设计 共设置4个处理组,包括空白对照组(不添加乳酸菌粉)和3个试验组(分别添加质量分数0.005%的植物乳杆菌菌粉、质量分数0.005%的副干酪乳杆菌菌粉和总质量分数0.005%、两者质量比1:1的混合菌粉)。

1.2.6 抑菌试验 参考文献[8],采用抑菌圈法测定乳酸菌发酵上清液的抑菌活性。将活化后的植物乳杆菌和副干酪乳杆菌以各自体积分数1%以及总体积分数1%(体积比1:1)的接种量分别接种到100 mL的MRS培养基中,37℃培养24 h后,将发酵液于10 000 r/min离心10 min,取上清液,用0.22 μm无菌滤膜过滤,于4℃保存。将活化后的指示菌菌体浓度控制在 10^6 CFU/mL,取0.1 mL,在PCA琼脂平板上涂布,在牛津杯(内径6 mm,外径8 mm)中加入0.2 mL发酵上清液,37℃培养24 h,测量抑菌圈大小。

1.2.7 酱中乳酸菌数的测定 根据GB4789.35—2016对乳酸菌活菌数进行计数。

1.2.8 酱中微生物分析

(1)细菌菌落总数:参考文献[9],在第0、3、6、9、12、15天,每个样品取10 g,加入无菌生理盐水90 mL,振荡混匀且稀释,然后取每个稀释液

0.1 mL,于平板计数培养基上涂板,于37℃培养48 h后计数,可得细菌菌落总数。该方法获得的细菌菌落总数不包含厌氧菌、微需氧菌、有特殊营养要求的细菌数量,此部分菌落总数不包含乳酸菌数量^[10]。

(2)微生物多样性:第15天,每个样品各取10 g,送至上海美吉生物医药科技有限公司进行高通量测序,委托其提取基因组DNA,采用16S的V3—V4区引物338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3')和806R(5'-GACTACHVGGGTWTCTAAT-3')扩增,进行凝胶电泳、上机测序及数据分析。测序数据在美吉生物云平台(<http://icloud.majorbio.com/>)进行处理。

1.2.9 酱pH的测定 参照文献[11],每个样品各取5 g,在25 mL蒸馏水中匀浆30 s,测定pH。

1.2.10 酱中产生不愉快气味的主要挥发性成分的检测 参考文献[12],用顶空固相微萃取(HS-SPME)方法检测挥发性物质。萃取探头是涂抹厚度为85 μm的聚二甲基硅氧烷固相微萃取探头(CAR/PDMS)。各取5 g样品加入顶空瓶中密封,自动进样器将萃取探头插入密封的萃取瓶,使萃取探头暴露在样品上部空气中,于50℃萃取30 min,解吸5 min,进行GC-MS分析。

TG-WAX毛细管:60 m×0.25 mm×0.25 μm;载气:氦气1 mL/min;程序升温:进样口温度225℃,起始柱温30℃,保持3 min,然后以15℃/min的速率升温至225℃,保持5 min;分流比:10:1;流量:1 mL/min。离子化方式:EI;发射能量:70 eV;发射电流:50 μA;离子源温度:260℃;传输线温度:230℃;进样口温度:250℃。

1.3 数据分析

试验数据均使用Excel、SPSS 26统计软件,通过单因素方差分析法(one-way ANOVA)和Fisher LSD法来分析均值间差异,以 $P < 0.05$ 判断差异显著性。

2 结果与分析

2.1 耐盐乳酸菌的筛选及其抑菌性能

按照1.2.1中的方法,从东北酸菜中共分离出14株具有明显溶钙圈的菌株,均为革兰氏阳性菌、过氧化氢酶试验阴性菌。将14株菌在含有40 g/L NaCl的MRS培养基中进行初筛,获得6株具有较

好耐盐性能的菌株,将其编号为 DS1 到 DS6。

由于酱类食品含有一定量的食盐,因此适合加入酱类食品的乳酸菌需具有一定程度的耐盐能力。由图 1 可知,当 NaCl 质量浓度为 50、60 g/L 时,菌株 DS1、DS3、DS4、DS5 的 OD_{600} 均显著下降,分别为 2.0 和 0.8 左右;菌株 DS2、DS6 仍可较好生长。当 NaCl 质量浓度为 70 g/L 时,菌株 DS2、DS6 的 OD_{600} 下降,分别为 2.0 和 1.4,但仍具有一定耐受性;而菌株 DS1、DS3、DS4、DS5 几乎不能生长。由此可见,菌株 DS2、DS6 具有较好的耐盐性,可耐受质量浓度 70 g/L 的 NaCl。

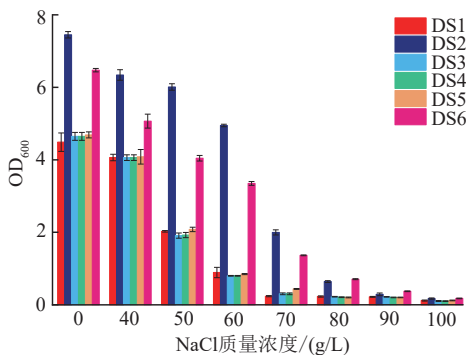


图 1 6 株菌株的盐耐受性

Fig. 1 Salt tolerance of 6 bacterial strains

表 1 不同发酵上清液对 4 种指示菌的抑制效果

Table 1 Inhibitory effects of different fermentation supernatants on 4 indicator bacteria

发酵液中乳酸菌种类	抑菌圈直径/mm			
	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	贝莱斯芽孢杆菌	人葡萄球菌
植物乳杆菌	11.50±0.02 ^a	13.26±0.03 ^b	12.33±0.02 ^a	15.78±0.03 ^a
副干酪乳杆菌	10.49±0.02 ^b	12.73±0.02 ^c	9.87±0.02 ^c	14.20±0.05 ^b
植物乳杆菌和副干酪乳杆菌(体积比 1:1)	11.53±0.03 ^a	14.78±0.07 ^a	11.77±0.05 ^b	15.76±0.04 ^a

注:发酵上清液抑菌圈直径表示为平均值±标准差,每行中上标的不同字母表示数据间差异显著($P<0.05$)。

2.2 酱中乳酸菌活菌数及 pH 的变化

在酱中加入质量分数 0.005% 的乳酸菌粉后,酱中的初始乳酸菌活菌数对数值为 6.1 lg(CFU/g) 左右。空白对照组中乳酸菌活菌数始终为 0,其余试验组酱中乳酸菌活菌数对数值变化如图 2 所示。各试验组酱中 pH 变化如图 3 所示。试验组中的乳酸菌活菌数均呈现先上升后缓慢下降趋于稳定的趋势,其中副干酪乳杆菌组和混合菌组的乳酸菌活菌数对数值最高达 8.8 lg(CFU/g),第 15 天时稳定在 8.2 lg(CFU/g) 左右,此时 pH 为 3.5;而植物乳杆菌组的乳酸菌活菌数对数值最高为

将分离纯化后的菌株测序结果在 NCBI 的 GenBank 数据库进行 BLAST 比对,DS2 与 *Lactobacillus plantarum* 1865 的相似度为 99.66%,DS6 与 *Lactobacillus paracasei* R094 的相似度为 99.93%,进一步确定菌株 DS2 为植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*),菌株 DS6 为副干酪乳杆菌(*Lactobacillus paracasei*)。

以食源性致病菌(大肠杆菌、金黄色葡萄球菌)和前期从酱中筛选出来的主要腐败菌(贝莱斯芽孢杆菌、人葡萄球菌)作为指示菌,考察植物乳杆菌和副干酪乳杆菌发酵液的抑菌效果,结果见表 1。植物乳杆菌、副干酪乳杆菌的发酵上清液对 4 种指示菌均有一定的抑制作用,其中植物乳杆菌发酵上清液对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、贝莱斯芽孢杆菌、人葡萄球菌均有很强的抑制作用,抑菌圈直径分别为 11.50、13.26、12.33、15.78 mm;副干酪乳杆菌发酵上清液对大肠杆菌、人葡萄球菌有显著抑制作用,抑菌圈直径分别为 10.49、14.20 mm,而对金黄色葡萄球菌和贝莱斯芽孢杆菌有抑制作用但不显著,其抑菌圈直径分别为 12.73、9.87 mm。以上结果表明,植物乳杆菌发酵上清液对 4 种指示菌均有较强的抑制效果。

8.2 lg(CFU/g),第 15 天时稳定在 7.4 lg(CFU/g) 左右,pH 为 3.5。这可能是因为前期乳酸菌可利用酱中营养物质迅速生长,产生大量乳酸,使 pH 下降,而 6 d 后由于有机酸积累使乳酸菌的生长受到一定的反馈抑制^[13],从而酱中乳酸菌活菌数保持在一个较稳定的水平。以上结果表明,植物乳杆菌组、副干酪乳杆菌组、混合菌组在储藏 15 d 后均可很好地维持乳酸菌活菌数。

2.3 酱中细菌菌落总数的变化

微生物的进入是造成酱类食品在实际取用过程中腐败的主要原因之一,按照 1.2.8 方法对各试

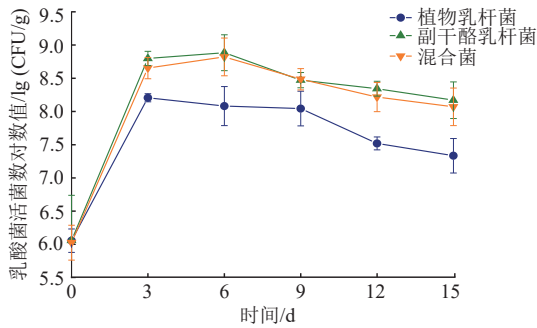


图2 不同处理后的酱在模拟家庭取样过程中的乳酸菌活菌数变化

Fig. 2 Changes in the number of viable lactic acid bacteria in sauce during the simulated household sampling process after different treatments

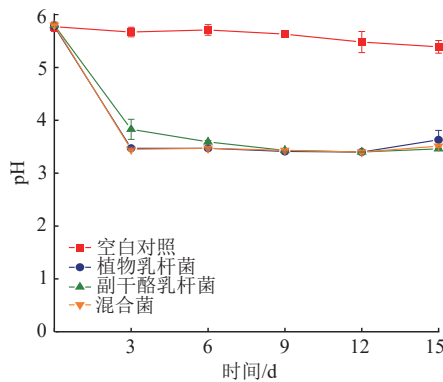


图3 不同处理后的酱在模拟家庭取样过程中的pH变化

Fig. 3 Changes in pH of sauce during the simulated household sampling process after different treatments

验组酱中细菌菌落总数的变化进行监测,结果见图4。与空白对照组相比,副干酪乳杆菌组从第3天至第9天,细菌菌落总数较少,但在第12天后与空白对照组差异不显著,酱中细菌菌落总数对数值维持在6.5 lg (CFU/g)左右;植物乳杆菌组、混合菌组对酱中其他微生物的抑制效果较好,第15天时,酱中细菌菌落总数均为0。这可能是因为植物乳杆菌产生的抗菌活性物质可以抑制空气中进入的微生物生长。结合图2所示酱中乳酸菌活菌数变化来看,植物乳杆菌组、混合菌组中乳酸菌活菌数的降低对其抑菌效果没有显著影响,这可能是因为乳酸菌在酱中的抑菌作用主要源自其产生的具有抑菌性的代谢产物^[14];副干酪乳杆菌组的乳酸菌活菌数较高,细菌菌落总数在第6天减少后又上升,这可能是因为副干酪乳杆菌产生的抗菌物质的活性受食品中成分影响较大,从而对空气

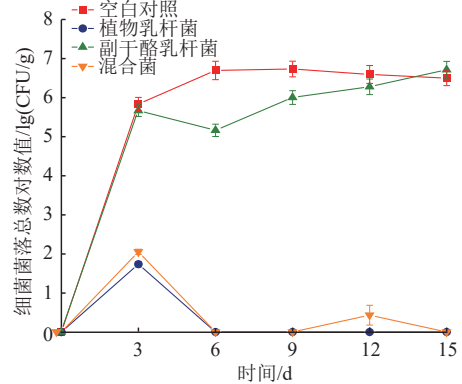


图4 不同处理后的酱在模拟家庭取样过程中的细菌菌落总数变化

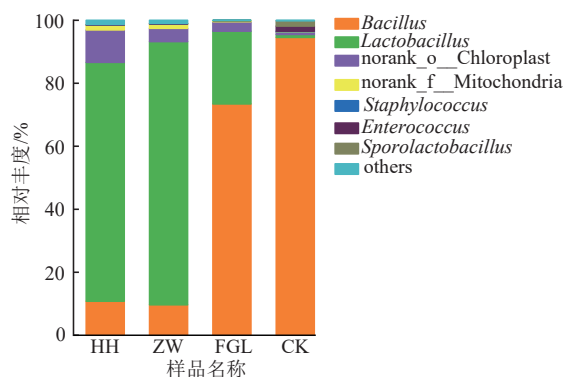
Fig. 4 Changes in the total numbers of bacterial colonies in sauce during the simulated household sampling process after different treatments

中进入的有害微生物抑制作用减弱^[15]。如Castellano等也发现*Lactobacillus casei* CRL705产生的抗菌物质对肉类和微生物的蛋白酶敏感,从而抗菌活性降低^[16]。由此可见,植物乳杆菌、混合菌对酱中细菌菌落总数均有较强抑制作用。

2.4 酱中细菌群落的变化

为明确酱中加入乳酸菌后细菌群落组成的变化,我们对第15天的样品进行了MiSeq高通量测序。对酱中微生物菌群在门水平的分析可知,Firmicutes是酱中主要的门,相对丰度分别为99.1%(空白对照组)、96.6%(副干酪乳杆菌组)、94.4%(植物乳杆菌组)、88.2%(混合菌组),表明添加乳酸菌对酱中微生物在门水平上的组成没有显著影响。

酱中微生物菌群的属水平组成见图5。植物乳杆菌组、混合菌组在第15天时的优势菌属均为*Lactobacillus*,相对丰度分别为83.6%、76.7%;而*Bacillus*的相对丰度相比于空白对照组(95.0%)显著降低,分别为9.7%、10.8%。副干酪乳杆菌组的优势菌属为*Bacillus*,相对丰度为73.4%;*Lactobacillus*相对丰度为23.1%。因此,添加植物乳杆菌和混合菌的酱中,细菌群落在属水平的组成相似度较高。酱中微生物菌群的种水平组成见图6。在添加植物乳杆菌的酱中,植物乳杆菌相对丰度为83.6%;在添加混合菌的酱中,植物乳杆菌与副干酪乳杆菌的相对丰度分别为75.5%和1.2%;而在添加副干酪乳杆菌的酱中,副干酪乳

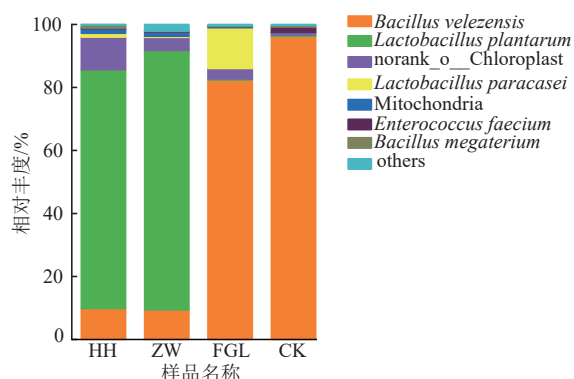


HH 为混合菌组; ZW 为植物乳杆菌组;

FGL 为副干酪乳杆菌组; CK 为空白对照组

图 5 不同处理后的酱在属水平的细菌群落组成

Fig. 5 Bacterial community composition at genus level of sauce after different treatments



HH 为混合菌组; ZW 为植物乳杆菌组;

FGL 为副干酪乳杆菌组; CK 为空白对照组

图 6 不同处理后的酱在种水平的细菌群落组成

Fig. 6 Bacterial community composition at species level of sauce after different treatments

杆菌的相对丰度为 23.1%。由此可见,添加植物乳杆菌和混合菌的酱中,细菌群落在种水平的组成相似度较高。

与空白对照组相比,添加植物乳杆菌后,酱中微生物菌群的属水平组成产生了极大变化,表明添加植物乳杆菌后,能使 *Lactobacillus* 所占比重显著升高。结合 2.2 中乳酸菌活菌数的变化发现,虽然副干酪乳杆菌组中乳酸菌活菌数高,但对 *Bacillus* 的抑制效果不显著,这可能是因为副干酪乳杆菌与某些芽孢杆菌存在协同作用的关系。姜雪雍等的研究表明,副干酪乳杆菌(*Lactobacillus paracasei*)HD1.7 与芽孢杆菌属之间存在不同的生态关系,可能抑制芽孢杆菌的生长和芽孢的形

成,也可能促进芽孢杆菌的生长^[17]。Rossland 等将蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)NVH 45 与干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*)2756 进行共培养时,*Bacillus cereus* 的生长被抑制并且无芽孢形成^[18]。综上所述,植物乳杆菌对酱中 *Bacillus* 的大部分芽孢杆菌的生长有抑制作用,而副干酪乳杆菌可能对 *Bacillus* 中的部分芽孢杆菌的生长有协同促进作用。*Bacillus* 广泛存在于空气中,而且是导致酱类食品腐败的主要微生物之一。王琳等在真空包装麻酱中检测到 8 株腐败菌均为 *Bacillus*^[19]。杨红红等经过反证试验发现腐败番茄酱中的优势菌株属于 *Bacillus*^[20]。因此,在模拟家庭取样过程中,植物乳杆菌组可以更好地抑制 *Bacillus*,维持 *Lactobacillus* 为酱中优势属,可以很好地减缓酱类食品在取用过程中的腐败。

2.5 酱中产生不愉快气味的挥发性成分分析

酱类食品在储藏过程中除了出现“白膜”“长毛”等现象外,还会产生一些不愉快的气味而令人难以接受。根据气味特征,不愉快气味主要分为哈喇味和腥味(鱼腥味、草腥味、土腥味),挥发性物质如庚醛、辛醛、5-辛二烯-2-酮和 2-辛烯醛表现为哈喇味,2,4-庚二烯醛、2,4-癸二烯醛和 2-癸烯醛表现为鱼腥味,1-辛烯-3-醇、2-戊烯-1-醇和辛醇表现为土腥味^[21-22]。

利用 HS-SPME-GC-MS 对第 15 天的样品中产生不愉快气味的主要挥发性成分进行了检测。由表 2 可知,空白对照组中共检测出 10 种产生不愉快气味的物质,总相对质量分数为 12.74%;与空白对照组相比,添加植物乳杆菌、副干酪乳杆菌和混合菌的酱中,产生不愉快气味的物质的总相对质量分数显著降低,相对质量分数分别为 0.60%、1.70% 和 2.74%。

在添加植物乳杆菌的酱中,未检测到产生哈喇味的 3,5-辛二烯-2-酮、庚醛、辛醛以及产生土腥味的 2-戊烯-1-醇。与空白对照组相比,检测到的 6 种产生不愉快气味的物质分别为 2-辛烯醛(哈喇味、青草味)、2-癸烯醛(鱼腥味)、2,4-癸二烯醛(鱼腥味)、2,4-庚二烯醛(鱼腥味、草腥味)以及产生土腥味的 1-辛烯-3-醇和辛醇,且相对质量分数显著降低,分别降低了 92.7%、93.0%、96.2%、79.1%、94.6% 和 98.9%。由此可知,在酱中添加植物乳杆菌可以更好地抑制酱类产生不愉快气味。

表2 储藏15 d的酱中挥发性物质的相对质量分数及特征

Table 2 Relative mass fractions and characteristics of volatile substances in sauce stored for 15 days

名称	气味特征	相对质量分数/%			
		空白对照组	植物乳杆菌组	副干酪乳杆菌组	混合菌组
3,5-辛二烯-2-酮	哈喇味	0.06	—	—	—
庚醛	哈喇味、鱼腥味	0.01	—	0.03	—
辛醛	哈喇味、青草味	0.01	—	0.04	—
2-辛烯醛	哈喇味、青草味	1.65	0.12	0.12	0.13
2-癸烯醛	鱼腥味	0.57	0.04	—	—
2,4-癸二烯醛	鱼腥味	3.17	0.12	0.03	0.09
2,4-庚二烯醛	鱼腥味、草腥味	0.43	0.09	0.14	0.35
2-戊烯-1-醇	土腥味	0.34	—	—	—
1-辛烯-3-醇	土腥味	3.67	0.20	0.39	1.78
辛醇	土腥味	2.83	0.03	0.95	0.39
合计		12.74	0.60	1.70	2.74

3 结论

作者针对酱类食品在家庭开封取用过程中的腐败问题,考察了乳酸菌发酵上清液对致病菌(大肠杆菌、金黄色葡萄球菌)以及酱中主要腐败菌(贝莱斯芽孢杆菌、人葡萄球菌)的抑制效果,并研究了对酱中乳酸菌活菌数、pH、细菌菌落总数、细菌群落组成、不愉快气味相关挥发性物质的影响。研究表明,植物乳杆菌发酵上清液对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、贝莱斯芽孢杆菌、人葡萄球菌均有很强的抑制作用,抑菌圈直径分别为11.50、13.26、12.33、15.78 mm。在模拟酱类的家庭取用过程中,植物乳杆菌可有效抑制酱中细菌菌落总数并保持乳酸菌活菌数的稳定:第15天时,细菌菌落总数为0,乳酸菌活菌数对数值稳定在7.4 lg(CFU/g)左右,pH 3.5。同时,细菌群落分析表明,在酱中添加植物乳杆菌可以更好地维持*Lactobacillus*为酱中优势属,通过抑制*Bacillus*来延长酱类食品的实际保质期。添加植物乳杆菌的酱中,不愉快气味相关挥发性成分的相对质量分数仅为空白对照组的4.71%,表明植物乳杆菌可以更好地抑制酱类产生不愉快气味。因此,植物乳杆菌可以在酱类食品中抑制有害菌生长、延长家庭取用过程中的实际保质期。以上研究结果为控制酱类食品在实际取用过程中的腐败提供了一种新方法。

参考文献

[1] 张玲,张丽杰,徐岩. 耐高渗豆瓣酱内源易致腐败微生物鲁氏接合酵母的鉴定及控制策略[J]. 微生物学通报,

2019,46(12):3312-3324.

- ZHANG L, ZHANG L J, XU Y. Identification and effective control of velum-forming *Zygosaccharomyces rouxii* for preventing spoilage of soybean paste[J]. Microbiology China, 2019, 46(12):3312-3324. (in Chinese)
- [2] GARCÍA-DÍEZ J, PATARATA L. Influence of salt level, starter culture, fermentable carbohydrates, and temperature on the behaviour of *L. monocytogenes* in sliced chouriço during storage[J]. Acta Alimentaria, 2017, 46(2):206-213.
- [3] BAPTISTA R C, HORITA C N, SANT'ANA A S. Natural products with preservative properties for enhancing the microbiological safety and extending the shelf-life of seafood: a review[J]. Food Research International, 2020, 127:108762.
- [4] CHOI S J, YANG S Y, YOON K S. Lactic acid bacteria starter in combination with sodium chloride controls pathogenic *Escherichia coli* (EPEC, ETEC, and EHEC) in kimchi[J]. Food Microbiology, 2021, 100:103868.
- [5] 何艳霞,王凤,杨文丹,等. 传统酸面团中抗霉菌乳酸菌的筛选及其在蒸蛋糕中的应用[J]. 食品工业科技, 2017, 38(19):88-95.
- HE Y X, WANG F, YANG W D, et al. Screening of antifungal lactic acid bacteria from traditional sourdough and its application in the steamed cake[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(19): 88-95. (in Chinese)
- [6] DA SILVA-VIEIRA G R A, SOARES M, RAMÍREZ N C B, et al. Lactic acid bacteria used as preservative in fresh feed for marine shrimp maturation[J]. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 2016, 51(11):1799-1805.
- [7] SAITHONG P, STONSAOWAPAK S, TEWARUTH W, et al. Shelf-life extension and inhibition of undesirable bacteria in

- steamed mackerel fish product by lactic acid bacteria[J]. Journal of Food Science and Engineering, 2012, 2(9):485.
- [8] MAHMOUDI S, KHALI M, BENKHALED A, et al. Phenolic and flavonoid contents, antioxidant and antimicrobial activities of leaf extracts from ten Algerian *Ficus carica* L. varieties[J]. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2016, 6(3):239-245.
- [9] ERKAN N. The effect of thyme and garlic oil on the preservation of vacuum-packaged hot smoked rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Food and Bioprocess Technology, 2012, 5(4):1246-1254.
- [10] 熊海燕. 菌落总数检测技术研究进展[J]. 粮食与油脂, 2010, 23(4):42-44.
- XIONG H Y. Development of methods for determination of total bacteria/aerobic plate count[J]. Cereals & Oils, 2010, 23(4):42-44. (in Chinese)
- [11] BRANNAN R G. Effect of grape seed extract on physicochemical properties of ground, salted, chicken thigh meat during refrigerated storage at different relative humidity levels[J]. Journal of Food Science, 2008, 73(1):C36-C40.
- [12] 蒋容港, 黄燕, 金友兰, 等. 茯砖茶呈香挥发性物质及其来源[J]. 食品与生物技术学报, 2021, 40(9):101-111.
- JIANG R G, HUANG Y, JIN Y L, et al. Study of aroma compounds and their source in Fu brick tea[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2021, 40(9): 101-111. (in Chinese)
- [13] 任亨, 刘玉凌, 彭玉梅, 等. 复合菌种对青菜头泡菜品质的影响[J]. 食品科技, 2020, 45(1):29-35.
- REN T, LIU Y L, PENG Y M, et al. Effect of mixed starter cultures on quality of tumorous stem mustard (*Brassica juncea* var. *tumida* Tsen et Lee) pickle[J]. Food Science and Technology, 2020, 45(1):29-35. (in Chinese)
- [14] OLAOYE O A, ONILUDE A A. Investigation on the potential application of biological agents in the extension of shelf life of fresh beef in Nigeria[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2010, 26(8):1445-1454.
- [15] SEGLI F, MELIAN C, VIGNOLO G, et al. Inhibition of a spoilage exopolysaccharide producer by bioprotective extracts from *Lactobacillus acidophilus* CRL641 and *Latilactobacillus curvatus* CRL705 in vacuum-packaged refrigerated meat discs [J]. Meat Science, 2021, 178:108509.
- [16] CASTELLANO P H, HOLZAPFEL W H, VIGNOLO G M. The control of *Listeria innocua* and *Lactobacillus sakei* in broth and meat slurry with the bacteriocinogenic strain *Lactobacillus casei* CRL705[J]. Food Microbiology, 2004, 21(3):291-298.
- [17] 姜雪雍, 岳元春, 孙养存, 等. 副干酪乳杆菌与芽孢杆菌属共培养种间关系对产细菌素的影响[J]. 中国农学通报, 2021, 37(24):124-132.
- JIANG X Y, YUE Y C, SUN Y C, et al. Interspecific relationship of *Lactobacillus paracasei* co-cultured with *Bacillus* sp. affects bacteriocin production[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2021, 37(24): 124-132. (in Chinese)
- [18] RØSSLAND E, LANGSRUD T, SØRHAUG T. Influence of controlled lactic fermentation on growth and sporulation of *Bacillus cereus* in milk[J]. International Journal of Food Microbiology, 2005, 103(1):69-77.
- [19] 王琳, 曹雁平, 张单单, 等. 真空包装麻酱中腐败菌的分离鉴定及对麻酱品质的影响[J]. 中国食品学报, 2017, 17(6):187-194.
- WANG L, CAO Y P, ZHANG D D, et al. Isolation and identification of the spoiled bacteria from the vacuum packaging sesame noodle seasoning and analysis the spoilage impact on it[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2017, 17(6): 187-194. (in Chinese)
- [20] 杨红红, 陈国刚, 刘娅, 等. 桶装胀罐番茄酱中腐败菌分离纯化及鉴定研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(1):164-167, 173.
- YANG H H, CHEN G G, LIU Y, et al. Study on isolation and identification of the spoilage microbes in bottled tomato sauce and their characteristics[J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(1): 164-167, 173. (in Chinese)
- [21] FU X J, XU S Y, WANG Z. Kinetics of lipid oxidation and off-odor formation in silver carp mince: the effect of lipoxygenase and hemoglobin[J]. Food Research International, 2009, 42(1):85-90.
- [22] 刘奇. 鲟鱼腥味物质特征及其与脂肪酸氧化的关系研究[D]. 青岛:中国海洋大学, 2013:1-90.

(责任编辑:周玥)