

复配防腐剂抑制鸡蛋干腐败菌效果研究

Study on the effect of compound preservatives on inhibiting spoilage of egg curd

贺 燕¹ 谭纯良² 李 娜² 周红丽² 王晓庆¹

HE Yan¹ TAN Chun-liang² LI Na² ZHOU Hong-li² WANG Xiao-qin¹

(1. 湖南省食品质量监督检验研究院, 湖南 长沙 410111;

2. 湖南农业大学食品科学技术学院, 湖南 长沙 410128)

(1. Hunan Institute of Food Quality Supervision Inspection and Research, Changsha, Hunan 410111, China;
2. College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China)

摘要:采用牛津杯抑菌试验方法,以地衣芽孢杆菌和芽孢杆菌 LAMI 002 为抑制对象,筛选高效防腐剂并通过单因素试验和响应面试验优化复配防腐剂配比。结果表明:ε-聚赖氨酸、溶菌酶、乳酸链球菌素均能抑制腐败菌生长,最佳复配防腐剂配方为:溶菌酶 0.185 2 g/kg,ε-聚赖氨酸 0.054 1 g/kg,乳酸链球菌素 0.066 3 g/kg。验证实验中混合腐败菌得到了有效控制,菌落总数减少了 99.07%。
关键词:鸡蛋干;抑菌试验;ε-聚赖氨酸;溶菌酶;乳酸链球菌素

Abstract: The highest-efficiency preservatives and best mixed preservatives were screened by Oxford cup test using single factor test design and response surface test design, and *Bacillus licheniformis* and *Bacillus* LAMI 002, which were separated from spoiled eggs were tested as inhibition objects. The results showed that ε-polylysine, lysozyme and nisin could effectively inhibit the growth of spoilage bacteria. LAMI 002, and had a strong inhibitory effect on the growth of Gram-positive bacteria. The optimal formulation of preservatives was determined by response surface methodology as follows: Lysozyme 0.185 2 g/kg, ε-polylysine 0.054 1 g/kg and nisin 0.066 3 g/kg. In the verification test, the mixed putrefaction bacteria were obviously controlled effectively, and the total number of colonies was reduced by 99.07%.

Keywords: egg curd; bacteriostasis test; ε-polylysine; lysozyme; nisin

鸡蛋干是中国市面上常见的佐餐食品,因其风味独特而深受消费者喜爱。由于生产原料以全蛋液为主,操作不当容易使鸡蛋干受微生物污染而变质^[1]。笔者在调查中发现预包装鸡蛋干即便经过高压蒸汽灭菌后还会出现胀包、汤汁浑浊、有异味的变质现象,尤其是夏秋高温季节鸡蛋干发生腐败变质现象机率更高。课题前期研究发现,经高温杀菌以后出现腐败变质的鸡蛋干的主要腐败细菌为地衣芽孢杆菌和芽孢杆菌 LAMI 002 两种,但目前未见对鸡蛋干中这两种腐败菌的抑制或杀灭技术的研究报道。

鸡蛋干属于热凝固蛋制品。根据 GB 2760—2014 对羟基苯甲酸酯类及其钠盐、乳酸链球菌素、山梨酸钾、山梨酸 4 种防腐剂可添加至鸡蛋干中,但单独加入这 4 种防腐剂难以取得较好的防腐效果。ε-聚赖氨酸、纳他霉素、溶菌酶 3 种生物防腐剂具有安全性高、抑菌效果好、抑菌谱广的特点,且在蛋卷、中式糕、蛋黄酱、沙拉酱等产品中的防腐应用效果佳^[2]。因此,试验拟以地衣芽孢杆菌和芽孢杆菌 LAMI 002 为抑制对象,通过抑菌试验从上述 7 种防腐剂中筛选高效防腐剂并优化复配防腐剂配比,以期获得一种高效的鸡蛋干防腐剂,为延长鸡蛋干的货架期和保障食用安全性提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

菌种:地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)、芽孢杆菌 LAMI 002(*Bacillus* sp. LAMI 002),从腐败鸡蛋干中分离纯化得到;

山梨酸钾、对羟基苯甲酸酯类及其钠盐、纳他霉素、乳酸链球菌、ε-聚赖氨酸、溶菌酶:食品级,纯度 99.0%,浙

基金项目:湖南省食品药品监督管理局食品药品安全科技项目(编号:湘食药科 R201816)

作者简介:贺燕,女,湖南省食品质量监督检验研究院高级工程师,硕士。

通信作者:周红丽(1972—),女,湖南农业大学教授,博士。

E-mail: xuanxuan310@126.com

收稿日期:2019-06-01

江一诺生物科技有限公司;

无水乙醇、NaCl: AR 级, 国药集团化学试剂有限公司;

结晶紫: AR 级, 北京索莱宝科技有限公司;

滤膜: 0.22 μm , 德国 Membrana 公司。

1.1.2 主要仪器设备

紫外光栅分光光度计: 752 型, 上海精密科学仪器有限公司;

光电分析天平: FA2004 型, 上海精科实业有限公司;

电热鼓风干燥箱: DGG 型, 天津天宇机电有限公司;

高压蒸汽灭菌锅: YXQG01 型, 山东新华医疗器械厂;

全波长酶标仪: Multiskan FC 型, 美国 Thermo Lab-system 公司。

1.1.3 培养基

鸡蛋干培养基: 称取正常鸡蛋干约 30.0 g, 切成 1.5 cm $\times$ 1.5 cm $\times$ 0.2 cm 片状, 放置于培养皿中, 于 121 $^{\circ}\text{C}$, 15 min 灭菌后备用, 24 h 内使用;

平板计数琼脂培养基、LB 培养基、蛋白胨、牛肉膏、琼脂: 北京陆桥技术股份有限公司。

1.1.4 相关溶液

1 mol/L HCl 溶液: 量取 83.3 mL 浓 HCl, 用蒸馏水定容至 1 L;

3.0 g/kg 纳他霉素备用液: 准确称取 0.30 g 纳他霉素, 用 0.02 mol/L HCl 溶解并定容至 100 mL, 24 h 内使用;

1.5 g/kg 山梨酸钾备用液: 准确称取 0.15 g 山梨酸钾, 用蒸馏水溶解并定容至 100 mL, 用 0.22 μm 滤膜无菌条件下过滤, 24 h 内使用;

2.0 g/kg 乳酸链球菌素备用液: 准确称取 0.20 g 乳酸链球菌素, 用蒸馏水溶解并定容至 100 mL, 使用前摇匀并于 24 h 内使用;

2.0 g/kg ϵ -聚赖氨酸备用液: 准确称取 0.20 g ϵ -聚赖氨酸, 用蒸馏水溶解并定容至 100 mL, 用 0.22 μm 滤膜无菌条件下过滤, 24 h 内使用;

2.0 g/kg 溶菌酶备用液: 准确称取 0.20 g 溶菌酶, 用蒸馏水溶解并定容至 100 mL, 用 0.22 μm 滤膜无菌条件下过滤, 24 h 内使用;

2.0 g/kg 对羟基苯甲酸酯类及其钠盐备用液: 准确称取 0.2 g 对羟基苯甲酸酯类及其钠盐, 用蒸馏水溶解并定容至 100 mL, 用 0.22 μm 滤膜无菌条件下过滤, 24 h 内使用。

1.2 方法

1.2.1 菌悬液的制备

(1) 单一菌悬液的制备: 参考 Veronica 等^[3-6]的方法, 分别将地衣芽孢杆菌和芽孢杆菌 LAMI 002 接种到

5 mL LB 培养基中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h 后, 取 1 mL 菌悬液以 10 000 r/min 离心 10 min, 用无菌生理盐水洗涤沉淀, 然后将沉淀重悬于 0.5 mL 无菌生理盐水中, 得到 10^7 CFU/mL 的菌悬液, 备用。

(2) 混合菌悬液的制备: 前期研究中从腐败鸡蛋干中分离、培养得到的地衣芽孢杆菌和芽孢杆菌 LAMI 002 的菌落数比例约为 1:1, 因此将上述制备的两种单一菌的菌悬液按体积比 1:1 进行混合, 获得混合菌悬液, 备用。

1.2.2 不同防腐剂对混合腐败细菌的抑菌效果 根据 GB 2760—2014 对羟基苯甲酸酯类及其钠盐、乳酸链球菌素、山梨酸钾、山梨酸在鸡蛋干制品中的最大添加量分别为 0.20, 0.25, 1.50, 1.50 g/kg。依据文献资料^[7-9] 试验设置 ϵ -聚赖氨酸、纳他霉素、溶菌酶最大添加量分别为 0.15, 0.03, 0.50 g/kg。试验中每种防腐剂的浓度设置成 3 个梯度, 分别为上述最大允许添加量、1/2 最大添加量、1/4 最大添加量。

对以上 7 种防腐剂进行牛津杯抑菌试验: 将已灭菌的平板计数培养基加热到完全融化, 倒在培养皿内, 每皿 15~20 mL, 待培养基凝固后使用移液器吸取 1.2.1 中混合菌悬液 100 μL 置于培养皿表面, 使用涂布法将菌液涂布均匀。将牛津杯垂直放置在培养基表面并轻轻加压以接触介质而没有空隙。分别在杯中加入不同种类不同浓度的防腐剂溶液 150 μL 。标记牛津杯摆放位置、防腐剂类型及其浓度, 并将平板置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养 16~18 h。以未添加防腐剂的为空白对照组, 用游标卡尺对结果进行记录。

1.2.3 单一优选防腐剂最小抑菌浓度 (MIC) 和最小杀菌浓度 (MBC) 的测定 将一定量的防腐剂加入 LB 液体培养基中以制备含有不同浓度防腐剂的 LB 培养基, 然后进行 2 倍梯度稀释, 并按浓度的降序依次加入到 8 $\times$ 12 型无菌 96 孔板中, 每孔添加 200 μL , 再向每孔中加入细菌悬液 5 μL 。添加后, 用酶标仪测定吸光值 $OD_{600\text{ nm}}$, 然后将含有细菌的 96 孔板置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中静置培养 12 h。每隔 2 h 使用酶标仪测每孔 $OD_{600\text{ nm}}$ 一次, 两个相邻浓度在培养 12 h 后 $\triangle OD_{600\text{ nm}} \leq 20\%$ 则两者浓度大的为该防腐剂的最小抑菌浓度。第 11 孔不加防腐剂作为生长对照, 第 12 孔不加菌液作为空白对照, 若空白对照污染, 则试验失败, 每组试验 4 次平行^[10]。

在无菌条件下, 从 MIC 和大于 MIC 浓度的孔中取出 100 μL 培养液, 然后涂布到 LB 平板上, 将细菌置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中 12 h。培养结束后, 观察菌落总数并计数, MBC 为无菌落生长的最低防腐剂培养浓度。

1.2.4 单一优选防腐剂对地衣芽孢杆菌和芽孢杆菌 LAMI 002 混合菌的抑制效果 以腐败鸡蛋干中的腐败细菌地衣芽孢杆菌和芽孢杆菌 LAMI 002 的混合菌悬液作为供试样品, 检验单一防腐剂溶菌酶、 ϵ -聚赖氨酸、乳酸

链球菌素的抑菌效果。参照 GB 2760—2014 及相关文献^[11-12]食品添加剂最大允许添加量,分别制备含不同浓度的防腐剂(各防腐剂最大允许添加量的 100%,85%,70%,55%,40%,25%,10%,0%)的 LB 培养基,根据 1.2.3 方法进行操作后于 37 °C 培养箱中静置培养 12 h 后使用酶标仪测定 $OD_{600\text{ nm}}$ 。每组试验 4 次平行,以 OD 值较小且防腐剂浓度添加量低的相邻两防腐剂添加浓度作为优化添加浓度范围。

1.2.5 响应面法优化复配防腐剂配比 根据单一防腐剂的抑菌效果试验结果,以 $OD_{600\text{ nm}}$ 为响应值(R),设计三因素三水平 Box-Behnken 试验优化复配防腐剂配比,每组试验设 3 组平行。

1.2.6 复配防腐剂抑菌效果验证 在鸡蛋干培养基(1.1.3)中添加相应剂量复配防腐剂,同时以添加相应剂量无菌超纯水的空白作为对照,然后分别接种 100 μL 混合腐败菌菌悬液。密封真空包装后,置于 37 °C 恒温培养 48 h,按 GB 4789.2—2016 测定样品中的菌落总数进行验证。

2 结果与分析

2.1 不同防腐剂对混合腐败细菌抑菌效果

从图 1 可以看出,最大添加量时,乳酸链球菌素对混合菌的抑制圈直径最大,其次是 ϵ -聚赖氨酸和溶菌酶。乳酸链球菌素与溶菌酶的抑菌圈直径随着防腐剂浓度的降低明显减小。当乳酸链球菌素浓度为 0.25 g/kg 时抑菌圈直径为 26.91 mm,相比山梨酸钾、山梨酸、对羟基苯甲酸酯类及其钠盐优势明显。 ϵ -聚赖氨酸、溶菌酶两种抗菌剂的抑菌圈直径会随着添加量的增加而增大,抑菌效果明显。结果表明,单一生物防腐剂对混合菌种的抑制效果优于单一化学防腐剂,可能是腐败菌种均为芽孢杆菌,对环境耐受性较强,而生物防腐剂例如溶菌酶能直接破坏细菌的细胞壁,使其失活。因此选择 ϵ -聚赖氨酸、溶菌酶和乳酸链球菌素作为优选防腐剂。

2.2 单一优选防腐剂对腐败菌株的最小抑菌浓度和最小杀菌浓度

图 2、3 分别为单一优选防腐剂(乳酸链球菌素、 ϵ -聚

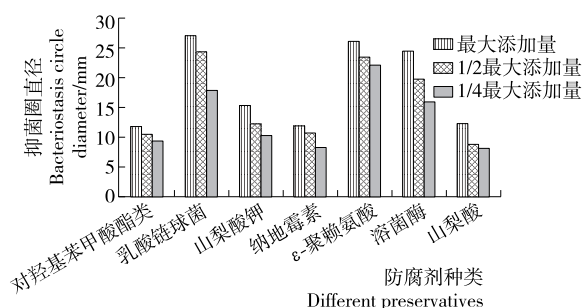


图 1 不同防腐剂对混合腐败细菌抑菌圈大小

Figure 1 Different preservatives for mixing spoilage bacteria inhibition zone size

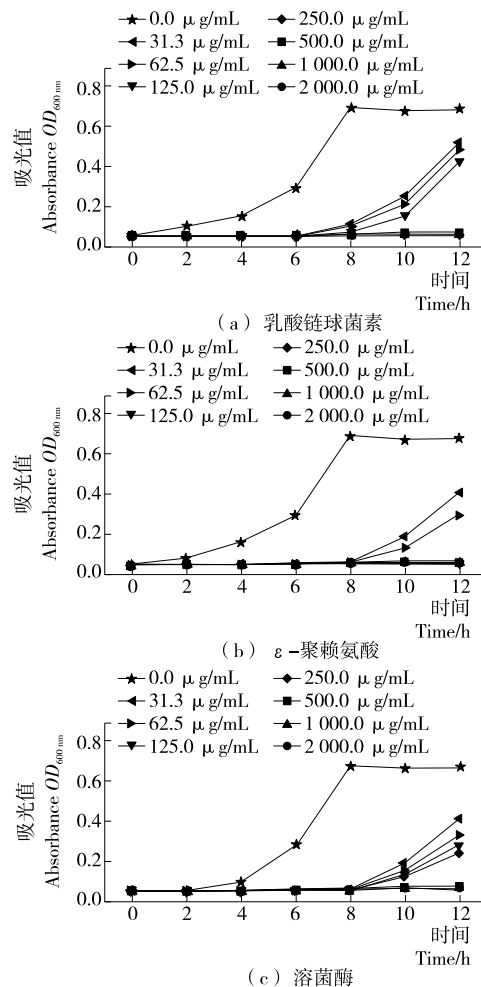


图 2 不同防腐剂对地衣芽孢杆菌的剂量反应曲线

Figure 2 Dose response curve of different preservatives against to *Bacillus licheniformis*

赖氨酸和溶菌酶)对地衣芽孢杆菌和芽孢杆菌 LAMI 002 的剂量反应曲线。

图 2(a)中,当乳酸链球菌浓度为 0.250 0 g/kg 时,地衣芽孢杆菌的生长和代谢被抑制,但菌体细胞没有完全被杀死;提高剂量至 2.000 0 g/kg 时,能完全抑制该菌生长,破坏菌体,使其进入衰亡期。图 2(b)中 ϵ -聚赖氨酸效果在 0.125 0 g/kg 的条件下,可以完全抑制地衣芽孢杆菌的生长,增加剂量后效果更好。图 2(c)中溶菌酶的用量需要达到 0.500 0 g/kg 才能完全抑制地衣芽孢杆菌的生长。图 3(a)中乳酸链球菌素在 0.125 0 g/kg 的条件下,可以完全抑制芽孢杆菌的生长。图 3(b)中单独添加 ϵ -聚赖氨酸时,需要达到 0.250 0 g/kg 的剂量才能对芽孢杆菌有明显的抑制效果。图 3(c)中溶菌酶在 0.125 0 g/kg 时可以抑制芽孢杆菌的生长。由图 2、3 可知,3 种防腐剂的添加量达到某一浓度时均能完全抑制地衣芽孢杆菌和芽孢杆菌 LAMI 002,但是单一防腐剂不能在允许添加浓度范

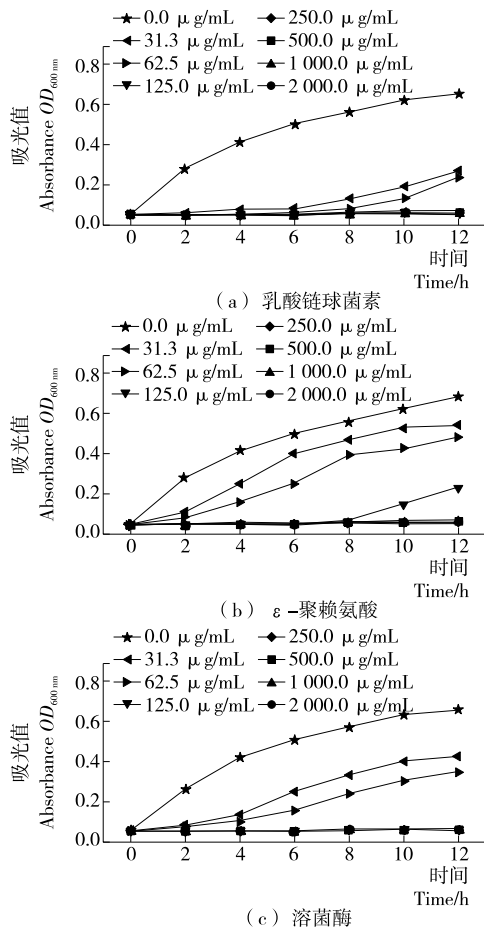


图 3 不同防腐剂对芽孢杆菌 LAMI 002 的剂量反应曲线
Figure 3 Dose response curve of different preservatives against to *Bacillus* sp. LAMI 002

围内同时抑制两种菌的生长。不同防腐剂的 MIC 和 MBC 值如表 1 所示。

综上所述,两种菌对不同防腐剂的敏感程度不一样,地衣芽孢杆菌对 ϵ -聚赖氨酸最为敏感,对溶菌酶有较强的耐受作用;芽孢杆菌 LAMI 002 对于 3 种生物防腐剂都比较敏感,只需使用少量防腐剂即可抑制其生长,但对 ϵ -聚赖氨酸的耐受性较强。单一防腐剂在允许添加范围内不能同时抑制两种菌的生长,因而须考虑多种防腐剂的复配。

2.3 单一优选防腐剂对地衣芽孢杆菌和芽孢杆菌 LAMI 002 混合菌的抑制效果

由图 4 可以看出,溶菌酶在添加量为 40% 时吸光度值出现最小值,因此选择 25%~55% 的添加浓度作为优化浓度范围; ϵ -聚赖氨酸在添加量为 100% 时吸光度值出现最小值,在该浓度下腐败混合菌依旧能生长,而在添加量为 40% 时吸光度值出现了次小值且与最大添加浓度的吸光度值差值约为 0.039,故选择 25%~55% 的添加浓度作为优

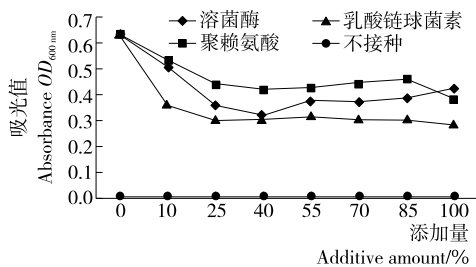


图 4 不同浓度单一防腐剂对混合菌株吸光值的影响
Figure 4 Effect of single preservative at different concentrations on absorbance

表 1 不同防腐剂的 MIC 和 MBC

菌株	Table 1 MIC and MBC of different preservatives g/kg					
	乳酸链球菌素		ϵ -聚赖氨酸		溶菌酶	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
地衣芽孢杆菌	0.250 0	1.000 0	0.125 0	0.500 0	0.500 0	2.000 0
芽孢杆菌 LAMI 002	0.125 0	2.000 0	0.250 0	4.000 0	0.125 0	0.500 0

化浓度范围;乳酸链球菌素在整个允许添加范围内变化较小,在 25% 的添加浓度时吸光度值出现最小值,所以选择 10%~40% 作为优化浓度范围。

2.4 复配防腐剂配化的优化

2.4.1 试验因素及水平 根据 2.2 的防腐剂抑菌效果设置因素水平见表 2。

2.4.2 响应面设计及试验结果分析 各因素水平、编码设计及试验数据结果如表 3 所示。

根据 Design Expert 10 软件对所得数据进行回归分析,得回归方程模型:

表 2 响应面分析法的因素与水平表

Table 2 Codes and levels of factors for response surface for methodology experiment g/kg

编码	A 溶菌酶	B ϵ -聚赖氨酸	C 乳酸链球菌素
-1	0.125 0	0.037 5	0.025 0
0	0.200 0	0.060 0	0.062 5
1	0.275 0	0.082 5	0.100 0

$$R=0.204+9.188 \times 10^{-3} A+0.016 B-3.375 \times 10^{-3} C+0.012 A B-8.500 \times 10^{-3} A C+0.032 B C+0.013 A^2+0.031 B^2+0.051 C^2。$$
 (1)

对试验结果进行二次多元回归拟合,得到回归方程模型的方差分析与回归方程系数估计值,如表 4 所示。

由表 4 可知,此响应面模型极显著,失拟项不显著,说明回归方程可靠;模型的 R^2 值为 0.913 0 和 R^2_{Adj} 值为 0.801 2,说明模型拟合度较好可进一步分析。

表 3 Box-Behnken 设计与试验结果

Table 3 Experiment results of Box-Behnken design				
序号	A	B	C	$OD_{600\text{ nm}}$
1	0	0	0	0.211 0
2	-1	-1	0	0.221 5
3	0	-1	1	0.241 0
4	0	-1	-1	0.326 5
5	1	0	-1	0.281 0
6	0	0	0	0.183 0
7	-1	1	0	0.255 5
8	-1	0	1	0.272 0
9	-1	0	-1	0.247 5
10	1	1	0	0.299 5
11	0	0	0	0.211 5
12	0	1	1	0.310 5
13	0	0	0	0.208 5
14	0	1	-1	0.267 0
15	1	0	1	0.271 5
16	1	-1	0	0.218 0
17	0	0	0	0.205 5

由图 5 可知,随着溶菌酶与聚赖氨酸使用量增多 $OD_{600\text{ nm}}$ 值升高,越不能抑制微生物生长,可能是 ϵ -聚赖氨酸和溶菌酶在该浓度下可以抑制混合菌种的某一种菌的生长,但是不能抑制另一种菌的生长。由图 6 可知,溶菌酶与乳酸链球菌素的相互作用中,溶菌酶对于微生物的抑制效果较为稳定,使用量的变化对抑菌效果影响不大,乳酸链球菌素在使用 0.062 5 g/kg 左右时出现极小值,由图 7 可知, ϵ -聚赖氨酸与乳酸链球菌素对于抑制腐败菌的生长有一定的交互作用,根据等高线呈椭圆状可知其交互作用显著。

2.4.3 复配防腐剂配比的确定 根据 Box-Behnken 设计试验所得的结果与回归方程,利用 Design Expert 10 软件分析可得:复配防腐剂中各组分配比为溶菌酶 0.185 2 g/kg, ϵ -聚赖氨酸 0.054 1 g/kg,乳酸链球菌素 0.066 3 g/kg, $OD_{600\text{ nm}}$ 达到理论最小值 0.201。按该组合进行验证实验(平行 3 次),实测 $OD_{600\text{ nm}}$ 为 0.212,与理论值接近。说明试验值与模型预测值吻合良好。

2.5 复配防腐剂抑菌效果验证

从表 5 可以看出,复配防腐剂组的样品外表仍然光滑且富有韧性,鸡蛋干表面析出的水较少且透明,有鸡蛋干固有的微黄色,没有腐败臭味,菌落总数得到了明显控制;对照组样品表面粗糙,使用玻璃棒轻戳即碎成颗粒状,表面析出的水呈浑浊状,颜色和工厂生产的腐败鸡蛋干一致,严重褪色,有浓烈的腐败味道。目前鸡蛋干暂无国家卫生标准规定,企业标准通常规定菌落总数不得超过 10^5 CFU/g,试验发现对照组于 37 ℃恒温培养 48 h 时已超出该范围,但复配防腐剂的仅为 2.7×10^3 CFU/g。

表 4 回归方程的方差分析[†]

Table 4 Regression equation and variance analysis

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	Prob> F	显著性
模型	2.50×10^{-2}	9	2.77×10^{-3}	8.17	0.005 7	* *
A	6.75×10^{-4}	1	6.75×10^{-4}	1.99	0.201 0	
B	1.97×10^{-3}	1	1.97×10^{-3}	5.81	0.046 8	*
C	9.11×10^{-5}	1	9.11×10^{-5}	0.27	0.620 1	
AB	5.64×10^{-4}	1	5.64×10^{-4}	1.66	0.238 1	
AC	2.89×10^{-4}	1	2.89×10^{-4}	0.85	0.386 6	
BC	4.16×10^{-3}	1	4.16×10^{-3}	12.27	0.010 0	*
A ²	7.38×10^{-4}	1	7.38×10^{-4}	2.18	0.183 7	
B ²	4.18×10^{-3}	1	4.18×10^{-3}	12.31	0.009 9	* *
C ²	1.10×10^{-2}	1	1.10×10^{-2}	32.13	0.000 8	* *
剩余	2.37×10^{-3}	7	3.39×10^{-4}			
失拟	1.80×10^{-3}	3	6.02×10^{-4}	4.23	0.098 6	
误差	5.69×10^{-4}	4	1.42×10^{-4}			
总和	2.70×10^{-2}	16				

[†] * 表示 $P < 0.05$ 水平为显著, * * 表示 $P < 0.01$ 水平为极显著。

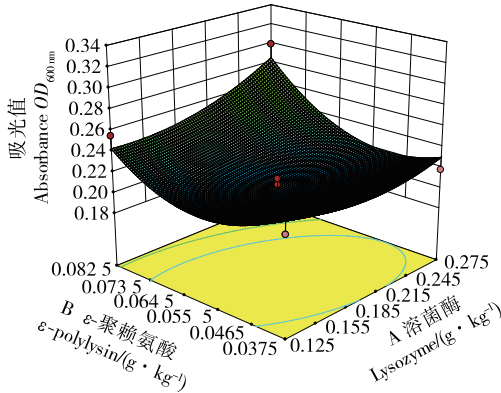


图 5 溶菌酶与 ϵ -聚赖氨酸的交互作用
 Figure 5 Interaction between lysozyme and ϵ -PL

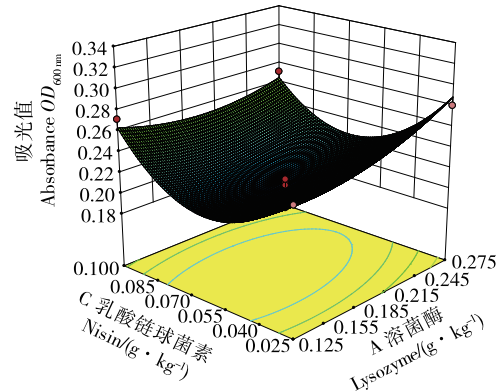


图 6 溶菌酶与乳酸链球菌素的交互作用
 Figure 6 Interaction between Lysozyme and Nisin

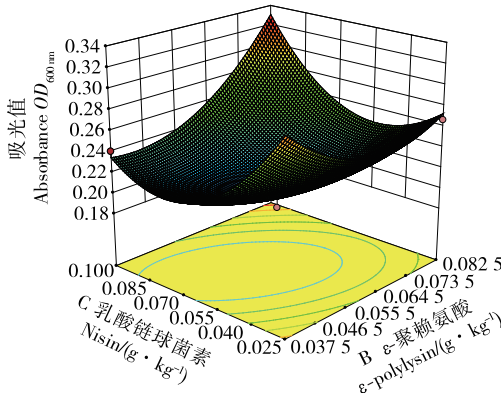


图 7 ϵ -聚赖氨酸与乳酸链球菌素的交互作用
 Figure 7 Interaction between ϵ -PL and Nisin

表 5 鸡蛋干质量评价
 Table 5 Evaluation of egg curd

样品	鸡蛋干形态	鸡蛋干气味	菌落总数/ (CFU · g ⁻¹)
复配防腐剂组	正常	没有腐败臭味	2.7×10 ³
对照组	表面明显变色	浓烈的令人感到恶心腥臭味	2.9×10 ⁵

说明复配防腐剂能对鸡蛋干中的腐败细菌进行有效抑制,防止了产品变质。

3 结论

通过抑菌试验从 7 种防腐剂中筛选出 ϵ -聚赖氨酸、乳酸链球菌素和溶菌酶 3 种高效防腐剂,其中 ϵ -聚赖氨酸对地衣芽孢杆菌的抑制效果较好,乳酸链球菌素和溶菌酶对芽孢杆菌 LAMI 002 的抑制效果较好。通过响应面法优化试验确定最佳复配防腐剂配方为溶菌酶 0.185 2 g/kg, ϵ -聚赖氨酸 0.054 1 g/kg,乳酸链球菌素 0.066 3 g/kg。验证实验中混合腐败菌得到了有效控制,菌落总数减少了 99.07%。但此研究目前还仅在实验室里进行小试,未进行中试和实际生产应用,实际生产中可能存在的问题和缺陷还有待于发现和解决。

参考文献

- [1] 薛艳蓉, 茂文, 赵瑞生, 等. 鸡蛋在储存过程中微生物及品质的变化研究[J]. 畜牧与饲料科学, 2017, 38(8): 67-69.
- [2] 张星. 蛋黄酱超高压降脂、增活与杀菌工艺研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2016: 47.
- [3] MEAYS C L, BROERSMA K, NORDIN R, et al. Source tracking fecal bacteria in water: A critical review of current methods[J]. Journal of Environmental Management, 2004, 73(1): 71-79.
- [4] 雷涛. 生物防腐剂在食品加工中的应用[J]. 食品安全导刊, 2017(36): 44.
- [5] 杨琳. 天然防腐剂及其在食品加工中的应用[J]. 商品与质量, 2016(52): 16.
- [6] ROMERO-GIL V, GARCÍA-GARCÍA P, GARRIDO-FERNÁNDEZ A, et al. Susceptibility and resistance of lactic acid bacteria and yeasts against preservatives with potential application in table olives[J]. Food Microbiology, 2016, 54: 72-79.
- [7] 高玉荣, 王雪平. 食品化学防腐剂与纳他霉素的协同抑菌作用研究[J]. 现代食品科技, 2010, 26(6): 558-561.
- [8] 张伟娜, 李迎秋. ϵ -聚赖氨酸在食品中应用的进展[J]. 中国调味品, 2012, 37(12): 5-9.
- [9] 宋萌, 付强, 时艺翡, 等. ϵ -聚赖氨酸复配防腐剂在酱腌菜中的应用[J]. 食品科学, 2018, 39(10): 276-282.
- [10] IRITH W, KAI H, HANCOCK R E W. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances[J]. Nature Protocols, 2008, 3(2): 163-175.
- [11] HYDE A J, JUDICA L P, ADAM M N, et al. Nisin-induced changes in *Bacillus* morphology suggest a paradigm of antibiotic action [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, 103(52): 19 896-19 901.
- [12] 张百刚, 张宝善. 生物防腐剂在食品加工中的应用研究[J]. 食品研究与开发, 2004(6): 127-129.