

超高压结合天然保鲜剂处理对腌制生食泥螺品质的影响

邹小欠^{1,2}, 李成², 余炬波³, 孔晓雪², 罗海波^{2*}, 杜传来¹

(1. 安徽科技学院食品工程学院, 凤阳 233100; 2. 南京师范大学食品与制药工程学院, 南京 210097;
3. 宁波南联冷冻食品有限公司, 宁波 315191)

摘要: **目的** 探讨超高压结合天然保鲜剂对腌制生食泥螺品质和安全性的影响。**方法** 采用不同压力(100、300、500 MPa)和天然保鲜剂(茶多酚、Nisin、 ϵ -聚赖氨酸、壳聚糖和溶菌酶)处理腌制生食泥螺, 研究泥螺在(4±1) °C冷藏期间的感官、菌落总数(total viable count, TVC)、pH、挥发性盐基氮(total volatile basic nitrogen, TVB-N)和硫代巴比妥酸(thiobarbituric acid-reactive substances, TBARs)值的变化。**结果** 超高压和试验所选天然保鲜剂对腌制生食泥螺均有显著($P<0.05$)抑菌作用, 但超高压处理对感官品质主要是质地有显著($P<0.05$)影响, 500 MPa 处理后立即评定的感官得分比对照低 1.41 分。 $L_9(3^4)$ 正交优化试验结果表明, 这几种天然保鲜剂同时使用时具有协同抑菌作用, 综合考虑抑菌效果和各品质指标, 其最优组合为 $A_1B_1C_1D_1$ (即: 0.05%茶多酚+0.005%Nisin+0.005% ϵ -聚赖氨酸+0.005%溶菌酶)。300 MPa 超高压结合 $A_1B_1C_1D_1$ 复合保鲜剂处理可显著抑制腌制生食泥螺冷藏期间 TVC、TVB-N 和 TBARs 值的上升, 维持相对稳定的 pH 值和感官品质, 其效果优于 300 MPa 超高压和复合保鲜剂单独处理。**结论** 超高压结合复合保鲜剂处理能有效提高腌制生食泥螺的品质和食用安全性。

关键词: 泥螺; 腌制; 超高压; 天然保鲜剂; 品质

Combined effects of natural chemicals and ultra-high pressure on quality of pickled raw *Bullacta exarata*

ZOU Xiao-Qian^{1,2}, LI Cheng², YU Ju-Bo³, KONG Xiao-Xue², LUO Hai-Bo^{2*}, DU Chuan-Lai¹

(1. College of Food Engineering, Anhui Science and Technology University, Fengyang 233100, China; 2. School of Food Science and Pharmaceutical Engineering, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China;
3. Ningbo Nanlian Frozen Food Co., Ltd., Ningbo 315191, China)

ABSTRACT: Objective To explore the effect of ultra-high pressure (UHP) and natural chemicals on the quality and safety of pickled raw *Bullacta exarata*. **Methods** The combined effects of different pressures (100, 300, 500 MPa) and/or natural chemicals (tea polyphenols, Nisin, ϵ -polylysine, chitosan and lysozyme) on quality of pickled raw *B. exarata* were investigated. The changes of sensory, total viable count (TVC), pH, total volatile base nitrogen (TVB-N) content and thiobarbituric acid reactive substance (TBARs) value of *B. exarata* were evaluated during

基金项目: 宁波市农业重大项目 (2017C110009)、宁波市科技富民项目(2015C10015)

Fund: Supported by the Major Agricultural Project of Ningbo (2017C110009) and the Project of Enriching the People with Science and Technology of Ningbo (2015C10015)

*通讯作者: 罗海波, 副教授, 博士, 主要研究方向为水产品加工及贮藏。E-mail: luohaibo_1216@126.com

*Corresponding author: LUO Hai-Bo, Ph.D, Associate Professor, School of Food Science and Pharmaceutical Engineering, Nanjing Normal University, No.122, Ninghai Road, Gulou District, Nanjing 210097, China. E-mail: luohaibo_1216@126.com

storage at (4 ± 1) °C. **Results** Both the UHP and the natural preservative selected in the experiment had significant bacteriostatic effects on pickled raw *B. exarata* ($P < 0.05$). However, the UHP treatment had a significant effect on sensory quality mainly on texture ($P < 0.05$), and the sensory score treated by 500 MPa UHP was decreased 1.41 points compared with the control. The results of $L_9(3^4)$ orthogonal optimization test indicated that the combination treatments had a synergistic effect. Taken preservation effect and the amount of chemicals applied into consideration, the optimal combination was $A_1B_1C_1D_1$ (0.05% tea polyphenols+0.005% Nisin+0.05% ϵ -polylysine+0.005% lysozyme). The combination of 300 MPa UHP and natural chemicals ($A_1B_1C_1D_1$) could significantly ($P < 0.05$) inhibit the increase of TVC, TVB-N content and TBARs value, maintain relatively stable pH value and sensory score in pickled raw *B. exarata*, and the combination of 300 MPa UHP and natural chemicals ($A_1B_1C_1D_1$) had better effect than either treatment alone. **Conclusion** The combination of UHP and natural chemicals can effectively improve the quality and safety of pickled raw *B. exarata*.

KEY WORDS: *Bullacta exarata*; pickled; ultra-high pressure; natural chemicals; quality

1 引言

泥螺(*Bullacta exarata*), 又名“吐铁”、“麦螺”、“梅螺”等, 隶属于软体动物门腹足纲后鳃亚纲头楯目阿地螺科, 是脂肪含量很低的高蛋白水产品, 具有补阴、补肝肾、益精髓、明目耳等功效^[1,2]。腌制生食泥螺是我国沿海地区一类传统特色水产制品, 深受当地居民的喜爱。然而, 现阶段腌制生食泥螺生产企业大多以家庭作坊式为主, 设备简陋, 环境卫生较差, 从业人员食品安全意识淡薄, 加之生产管理落后, 菌落总数难以控制在国家标准规定的范围内, 存在极高的食品安全风险隐患, 制约了腌制生食泥螺产业的进一步发展。而且, 近年来因食用腌制生食泥螺导致急性中毒的报道时有发生^[3]。因此, 寻找合适的物理化学方法对腌制生食泥螺进行处理, 提高其品质和食用安全性, 具有重要的意义。

超高压技术是目前应用在水产品保鲜中的一种安全有效的物理冷杀菌技术。超高压对水产品不但具有良好的减菌钝酶作用, 还能延缓水产品贮藏过程中的品质劣变^[4]。陈小娥^[5]采用 300、400 和 500 MPa 压力处理腌制生食泥螺 20 min, 置 37 °C 保藏 2、4、6 和 8 d, 结果表明超高压对腌制生食泥螺的菌落总数具有较强的抑制作用, 对营养成分无显著影响, 但随着压力的增大, 泥螺 TBARs 值上升, 对感官品质也有较大影响。因此, 尽管超高压作为物理冷杀菌技术在泥螺杀菌防腐方面表现出其特有的优势, 但在泥螺的气味和品质保持等方面仍存在一定的局限性, 需要辅助其他措施以最大限度地降低其不良影响。

近年来, 应用天然保鲜剂抑制水产品微生物生长繁殖和延长保质期取得了较好的效果。研究发现, 溶菌酶^[6]、乳酸链球菌素(Nisin)^[7]、 ϵ -聚赖氨酸(ϵ -PL)^[8]、茶多酚^[9]、柠檬酸^[10]、壳聚糖^[11]等单独或复合使用均能有效抑制水产品菌落总数增长并延长贮藏时间, 其中茶多酚不仅具有较

好的抑菌效果, 而且还具有极强的抗氧化功能。徐华梁^[12]采用 0.36%茶多酚+0.028%Nisin+0.03%溶菌酶处理泥螺原料, 置 (5 ± 1) °C下贮藏 9 d, 显著抑制了菌落总数的增长。然而, 这些天然化学保鲜剂在腌制生食泥螺中的应用报导较少, 尤其与超高压等物理冷杀菌技术结合应用时的效果及其协同作用尚不清楚。

本研究以腌制生食泥螺为原料, 研究超高压和天然保鲜剂及其复合处理对腌制生食泥螺品质的影响, 以期超高压结合天然保鲜剂在腌制生食泥螺生产中的应用提供理论指导。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

腌制生食泥螺购自宁波南联冷冻食品有限公司, 取腌制加工完成待包装的泥螺样品于无菌采样袋中, 外加冰袋, 立即运回实验室, 置 (4 ± 1) °C冷藏备用。

茶多酚、Nisin、 ϵ -聚赖氨酸、溶菌酶、壳聚糖(食品级, 江西富之源生物科技有限公司); 平板计数琼脂、硼酸、盐酸、甲基红、溴甲酚绿、三氯乙酸、硫代巴比妥酸(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 轻质氧化镁(分析纯, 南京化学试剂股份有限公司)。

2.2 仪器与设备

pHS-3C 型精密 pH 计(上海三信仪表厂); HPX-9082 ME 数显电热培养箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂); HVE-50 自动高压灭菌锅(日本 Hirayama 公司); V-5100 型可见分光光度计(上海元析仪器有限公司); K9840 凯氏定氮仪(山东海能科学仪器有限公司); AUY220 电子分析天平(日本 ShiMADzu); ALLEGRA64R 台式高速冷冻离心机(美国 Beckman Coulter 公司); HPPL1-600/3 超高压设备(天津华泰森森生物工程技术股份有限公司)。

2.3 试验方法

2.3.1 试验设计

(1) 单因素试验

天然保鲜剂试验: 将腌制生食泥螺样品分为 15 组, 每组 300.0 g, 按泥螺重量分别称取茶多酚(0.1%、0.3%、0.5%)、Nisin(0.01%、0.03%、0.05%)、 ϵ -聚赖氨酸(0.01%、0.03%、0.05%)、壳聚糖(0.1%、0.3%、0.5%)和溶菌酶(0.01%、0.02%、0.03%)添加于样品中(最大添加量不超过 GB 2760-2014 标准限量), 混匀, 装入无菌玻璃瓶中封口, 对照组不添加天然保鲜剂装瓶, 置(4±1)°C冷藏 7 d, 取样检测其菌落总数。

超高压处理试验: 参考 Gómez-Guillén 等^[13]的方法稍作修改。称取 100.0 g 腌制生食泥螺样品置于无菌塑料袋中, 真空包装后将样品放入高压仓内, 分别在不同压力下(0、100、300 和 500 MPa)处理 15 min, 温度 25 °C, 每组重复 3 次。待超高压处理结束, 将样品从高压舱内取出, 在超净工作台上将所有样品装入无菌玻璃瓶中封口, 置(4±1)°C冷藏 15 d, 取样进行感官评定和菌落总数检测。

(2) 正交试验

根据天然保鲜剂单因素试验结果, 进一步采用 $L_9(3^4)$ 正交试验筛选所选天然保鲜剂复合处理的最优组合, 试验因素水平见表 1。添加复合保鲜剂后的样品置(4±1)°C冷藏 7 d, 取样测定相关指标。

表 1 $L_9(3^4)$ 正交试验设计
Table 1 $L_9(3^4)$ Orthogonal experiment design

水平	因 素			
	(A)茶多酚/%	(B)Nisin/%	(C) ϵ -聚赖氨酸/%	(D)溶菌酶/%
1	0.05	0.005	0.005	0.005
2	0.1	0.01	0.01	0.01
3	0.15	0.015	0.015	0.015

注: 表中百分比为保鲜剂占腌制生食泥螺样品重的百分比。

(3) 超高压结合天然保鲜剂试验

根据超高压和 $L_9(3^4)$ 正交试验结果, 选择 300 MPa 压力、最优保鲜剂组合、300 MPa+最优保鲜剂组合对腌制生食泥螺进行处理, 在超净工作台上装瓶封口, 以不做处理为对照, 置(4±1)°C冷藏 30 d 后测定相关指标。

2.3.2 感官评定

参考 GB10136-2015^[14]和杨文鸽等^[15]的方法进行评定。组织 10 名受过专业训练的感官鉴评人员根据泥螺的组织形态、滋味气味、色泽和杂质等为评分标准, 分 2 次进行感官评尝, 以防感官疲劳带来的误差; 为避免因冷藏而影响感官评定, 将泥螺预先放入有盖的玻璃瓶中, 恢复至室温, 并进行秘密编号, 具体评定标准见表 2。

表 2 腌制生食泥螺感官评分标准

Table 2 Sensory evaluation criterion of pickled *B. exarata*

评定项目	评分标准	分值	权重
组织形态	颗粒大小均匀, 质地柔软有弹性	10	0.3
滋味气味	具有泥螺特有香气和酒香, 无土腥味, 无异味	10	0.4
色 泽	呈灰黑色有光泽, 液体粘稠、不浑浊	10	0.2
杂 质	无肉眼可见杂质	10	0.1

2.3.3 pH 值的测定

参考 GB 5009.237-2016 食品 pH 值的测定方法进行测定^[16]。

2.3.4 挥发性盐基氮(TVB-N)的测定

参考 GB/T 5009.228-2016 食品中挥发性盐基氮的测定 自动凯氏定氮法进行测定^[17]。

2.3.5 菌落总数(total viable count, TVC)的测定

参考 Liu 等^[18]的方法稍作修改。无菌操作下称取 25.0 g 腌制生食泥螺肉绞碎后放入无菌袋, 加入 225 mL 0.85% 无菌生理盐水, 于均质器中拍打 3 min, 按照 10 倍梯度稀释法稀释为 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} , 备用。分别吸取不同稀释度菌液 0.1 mL 于平板计数琼脂培养基, (36±1) °C 培养 (48±2) h, 计数。结果表示为 \log_{10} (CFU/g)。

2.3.6 硫代巴比妥酸值(thiobarbituric acid-reactive substances, TBARs)的测定

参考 Luo 等^[19]方法稍作修改。随机称取 5.0 g 腌制生食泥螺肉于研钵中, 加入 15 mL 20% 三氯乙酸(trichloroacetic acid, TCA)在冰浴上研磨匀浆 60 s, 转移至离心管 4500 r/min, 4 °C 离心 15 min。取 2.0 mL 上清液, 加入 2.0 mL 蒸馏水和 4.0 mL 0.67% 的硫代巴比妥酸, 混匀, 沸水浴中反应 30 min, 冷却, 在 450、532 和 600 nm 处测定吸光度, 根据下式计算 TBARs 值, 结果表示为 mg/kg。

$$C(\text{mg/kg})=[6.452 \times (A_{532 \text{ nm}} - A_{600 \text{ nm}}) - 0.559 \times A_{450 \text{ nm}}] \times [V_t / (V_s \times W)]$$

式中: V_t : 提取液总体积, mL;

V_s : 测定用粗提液体积, mL;

W : 样品鲜重, g。

2.4 数据处理

试验每个处理均重复 3 次, 结果表示为平均值±标准差, 并采用 Excel 2016、SPSS 19.0 和 Minitab 统计软件进行试验数据处理和显著性($P < 0.05$)分析。

3 结果与分析

3.1 天然保鲜剂处理对腌制泥螺 TVC 的影响

由表 3 可知, 腌制生食泥螺初始 TVC 为(3.29±0.06) \log_{10} (CFU/g), 在(4±1) °C 冷藏 7 d 后, TVC 上升到

(3.89±0.23) log₁₀(CFU/g), 与初始菌落相比具有显著差异 ($P<0.05$)。与对照组相比, 试验所选 5 种天然保鲜剂对泥螺 TVC 的增长均有显著 ($P<0.05$) 抑制作用, 且抑菌效果随着浓度升高而增强。壳聚糖、茶多酚、Nisin、ε-聚赖氨酸和溶菌酶处理组样品在(4±1) °C 冷藏 7 d 后 TVC 分别为 2.77~3.30、1.66~3.88、2.80~3.51、2.94~3.28 和 2.98~3.52 log₁₀(CFU/g), 其抑菌能力大小顺序为: Nisin > ε-聚赖氨酸 > 溶菌酶 > 壳聚糖 > 茶多酚。由于茶多酚既有抑菌效果又是公认的抗氧化剂, 因此最终选择 Nisin、ε-聚赖氨酸、溶菌酶和茶多酚 4 种保鲜剂进行后续 $L_9(3^4)$ 正交试验。

表 3 天然保鲜剂对泥螺 TVC 的影响
Table 3 Effects of natural chemicals on TVC of *B. exarata*

处理	浓度/%	菌落总数/log ₁₀ (CFU/g)
对照 0 d	0	3.29±0.06 ^{bc}
对照 7 d	0	3.89±0.23 ^a
	0.1	2.94±0.23 ^c
壳聚糖	0.3	2.77±0.12 ^c
	0.5	3.30±0.19 ^{bc}
茶多酚	0.1	3.88±0.09 ^a
	0.3	3.16±0.17 ^{bc}
	0.5	1.66±0.06 ^d
Nisin	0.01	3.51±0.19 ^{ab}
	0.03	3.42±0.07 ^b
	0.05	2.80±0.23 ^c
ε-聚赖氨酸	0.01	3.28±0.17 ^{bc}
	0.03	3.06±0.12 ^{bc}
	0.05	2.94±0.05 ^c
溶菌酶	0.01	3.52±0.02 ^{ab}
	0.02	3.36±0.21 ^{bc}
	0.03	3.12±0.13 ^{bc}

注: 同一列小写字母不同表示存在显著差异 ($P<0.05$)。

3.2 超高压处理对腌制泥螺 TVC 和感官品质的影响

由表 4 可知, 对照组在(4±1) °C 冷藏 15 d 后, TVC 由初始 3.29±0.01 log₁₀(CFU/g) 增长到 4.15±0.09 log₁₀(CFU/g)。超高压处理能显著降低腌制生食泥螺的初始菌数, 且减菌效果随着压力的升高而增强, 100、300 和 500 MPa 超高压处理后立即进行检测, 其 TVC 分别下降为 2.84±0.06、2.48±0.04 和 < 1.00 log₁₀(CFU/g), 均显著 ($P<0.05$) 低于对照。同时, 超高压处理对泥螺(4±1) °C 冷藏期间 TVC 的增加也有显著抑制作用。采用 100、300 和 500 MPa 处

理的样品在(4±1) °C 冷藏 15 d 后 TVC 分别为 3.41±0.24、2.71±0.16 和 1.66±0.09 log₁₀(CFU/g)。需要特别指出的是, 500 MPa 超高压处理后立即进行 TVC 检测, 发现所有 10⁻¹、10⁻²、10⁻³ 稀释度平板均未长出菌落, 将样品在(4±1) °C 冷藏 15 d 后有微生物检出, 其原因可能是少部分微生物经超高压处理后, 受到损伤进入活的不可培养状态^[20]。表 4 还显示, 超高压处理对泥螺感官评分有一定影响, 压力越高对泥螺感官品质(主要是质地)影响越大。100、300 和 500 MPa 处理后, 立即进行感官评定分别下降了 0.24、0.47 和 1.41 分, 在(4±1) °C 冷藏 15 d 后分别下降了 0.95、0.79 和 1.60 分, 对照组下降了 1.62 分。300 MPa 处理组下降最少, 这可能与 300 MPa 处理既能有效杀灭微生物, 抑制芽孢萌发, 又对泥螺质地影响较小有关。综合考虑超高压杀菌效果和对泥螺感官品质的影响, 300 MPa 超高压处理效果较好。

表 4 超高压处理对泥螺菌落总数和感官的影响
Table 4 Effects of UHP treatments on TVC and sensory scores of *B. exarata*

测定指标	处理组	贮藏时间	
		0 d	15 d
菌落总数/ log ₁₀ (CFU/g)	对照	3.29±0.01 ^{Ba}	4.15±0.09 ^{Aa}
	100 MPa	2.84±0.06 ^{Bb}	3.41±0.24 ^{Ab}
	300 MPa	2.48±0.04 ^{Bc}	2.71±0.16 ^{Ac}
	500 MPa	< 1.00 ^{Bd}	1.66±0.09 ^{Ad}
感官评分	对照	9.45±0.05 ^{Aa}	7.83±0.15 ^{Bb}
	100 MPa	9.21±0.09 ^{Ab}	8.50±0.23 ^{Ba}
	300 MPa	8.98±0.15 ^{Ab}	8.66±0.21 ^{Aa}
	500 MPa	8.04±0.17 ^{Ac}	7.85±0.30 ^{Ab}

注: 同一行大写字母不同表示存在显著差异 ($P<0.05$), 同一列小写字母不同表示存在显著差异 ($P<0.05$)。

3.3 天然保鲜剂复合处理对腌制生食泥螺 TBARs 值、TVC、pH 和 TVB-N 含量的影响

不同天然保鲜剂 $L_9(3^4)$ 正交试验结果见表 5。由表 5 可知, TBARs 值极差中 R_A 为 0.16、 R_B 为 0.21、 R_C 为 0.16、 R_D 为 0.18, 说明 B 的影响因素最大, 主次顺序为 $B > D > C > A$, 优水平为 $A_3B_1C_3D_1$, 此时 TBARs 值最小; TVC 极差中 R_A 为 0.24、 R_B 为 0.48、 R_C 为 0.31、 R_D 为 0.03, 说明 B 的影响因素最大, 主次顺序为 $B > C > A > D$, 优水平为 $A_3B_1C_1D_2$, 此时 TVC 最少; pH 值极差中 R_A 为 0.06、 R_B 为 0.01、 R_C 为 0.09、 R_D 为 0.04, 说明 C 的影响因素最大, 主次顺序为 $C > A > D > B$, 优水平为 $A_2B_2C_1D_1$, 此时 pH 值最接近初始值; TVB-N 极差中 R_A 为 1.12、 R_B 为 1.40、 R_C 为 1.21、 R_D 为 1.12, 说明 B 的影响因素最大, 主次顺序为 $B > C > D = A$, 优水平为 $A_3B_1C_3D_1$, 此时 TVB-N 值最低, 品质最好。

表 5 复合保鲜剂对泥螺(4±1) °C冷藏 7 d 后的影响
Table 5 Effect of combined chemicals on *B. exarata* after 7 days of storage at (4±1) °C

序号	A	B	C	D	TBARs 值/(mg/kg)	TVC log ₁₀ (CFU/g)	pH	TVB-N/(mg/100 g)
1	1	1	1	1	1.90±0.06 ^c	2.41±0.18 ^c	7.50±0.06 ^a	6.72±0.37 ^d
2	1	2	2	2	2.32±0.08 ^a	2.88±0.02 ^b	7.39±0.07 ^a	9.80±0.45 ^a
3	1	3	3	3	2.00±0.07 ^{bc}	2.98±0.00 ^b	7.41±0.07 ^a	8.96±0.49 ^b
4	2	1	2	3	2.13±0.10 ^b	2.86±0.09 ^{bc}	7.48±0.04 ^a	9.52±0.63 ^a
5	2	2	3	1	2.10±0.06 ^b	2.81±0.04 ^{bc}	7.47±0.05 ^a	8.40±0.42 ^c
6	2	3	1	2	2.36±0.06 ^a	3.00±0.02 ^b	7.52±0.01 ^a	9.80±0.25 ^a
7	3	1	3	2	1.92±0.01 ^c	2.36±0.04 ^c	7.43±0.06 ^a	7.00±0.39 ^d
8	3	2	1	3	2.15±0.07 ^b	2.49±0.01 ^c	7.57±0.09 ^a	8.68±0.14 ^c
9	3	3	2	1	2.05±0.05 ^{bc}	3.09±0.23 ^b	7.48±0.04 ^a	8.68±0.43 ^c
10	对照				2.01±0.08 ^{bc}	3.89±0.00 ^a	7.36±0.07 ^a	10.08±0.35 ^a
TBARs/TVC/pH/TVB-N								
<i>K</i> ₁	2.07/2.76/7.43/8.49				1.98/2.54/7.47/7.75	2.14/2.63/7.53/8.40	2.02/2.77/7.48/7.93	
<i>K</i> ₂	2.20/2.89/7.49/9.24				2.19/2.73/7.48/8.96	2.17/2.94/7.45/9.33	2.20/2.75/7.45/8.87	
<i>K</i> ₃	2.04/2.65/7.49/8.12				2.14/3.02/7.47/9.15	2.01/2.72/7.44/8.12	2.09/2.78/7.44/9.05	
极差 <i>R</i>	0.16/0.24/0.06/1.12				0.21/0.48/0.01/1.40	0.16/0.31/0.09/1.21	0.18/0.03/0.04/1.12	
优水平	<i>A</i> ₃ / <i>A</i> ₃ / <i>A</i> ₂ / <i>A</i> ₃				<i>B</i> ₁ / <i>B</i> ₁ / <i>B</i> ₂ / <i>B</i> ₁	<i>C</i> ₃ / <i>C</i> ₁ / <i>C</i> ₁ / <i>C</i> ₃	<i>D</i> ₁ / <i>D</i> ₂ / <i>D</i> ₁ / <i>D</i> ₁	
主次顺序	<i>R</i> _B > <i>R</i> _D > <i>R</i> _C > <i>R</i> _A / <i>R</i> _B > <i>R</i> _C > <i>R</i> _A > <i>R</i> _D / <i>R</i> _C > <i>R</i> _A > <i>R</i> _D > <i>R</i> _B / <i>R</i> _B > <i>R</i> _C > <i>R</i> _D = <i>R</i> _A							

注: 同一列小写字母不同表示存在显著差异($P<0.05$)。

综合考虑复合保鲜剂效果和泥螺品质指标, 当各因素添加量为 $A_3B_1C_3D_2$ (茶多酚 0.15%+Nisin 0.005%+ ϵ -聚赖氨酸 0.015%+溶菌酶 0.01%) 和 $A_1B_1C_1D_1$ 时(茶多酚 0.05%+Nisin 0.005%+ ϵ -聚赖氨酸 0.005%+溶菌酶 0.005%) 时, 腌制生食泥螺既能达到较好的抑菌效果又能维持较高的品质。由于 $A_3B_1C_3D_2$ 组合其保鲜剂总添加量比 $A_1B_1C_1D_1$ 高, 考虑到食用安全性, 最终确定 $A_1B_1C_1D_1$ 为最优组合进行后续试验。

3.4 超高压结合天然保鲜剂处理对腌制生食泥螺品质的影响

由图 1 可知, 对照组样品 TVC、pH、TVB-N 含量、TBARs 值和感官评分初始值分别为 (3.29±0.01) log₁₀(CFU/g)、7.43±0.00、9.59±0.07 mg/100 g、2.00±0.05 mg MDA/kg 和 9.45±0.05 分, 在(4±1) °C冷藏 30 d 后, TVC、TVB-N 含量和 TBARs 值分别增加到 5.90±0.02 log₁₀(CFU/g)、17.92±0.28 mg/100 g 和 2.82±0.05 mg MDA/kg, pH 和感官评分分别下降到 7.04±0.03 和 6.05±0.13 分。复合保鲜剂+300 MPa 超高压处理样品在(4±1) °C冷藏 30 d 后, TVC 和 TVB-N 含量均低于 300MPa 超高压、复合保鲜剂单独处理组和对照组; pH 值为 7.34±0.02, 与初始值接近; TBARs 值显著($P<0.05$)低于对照组和 300 MPa 处理组, 与复合保鲜剂处理组无显著差异($P>0.05$); 感官评分

为 8.01±0.17 分, 高于 300 MPa 超高压、复合保鲜剂单独处理组和对照组。以上结果表明, 超高压结合复合保鲜剂处理可显著降低超高压单独处理对腌制生食泥螺 TBARs 值造成的不良影响, 同时对 TVC 和 TVB-N 含量增加有显著的抑制作用, 还维持了较好的感官品质。

4 讨论

微生物生长繁殖是导致腌制生食水产品冷藏期间品质和食用安全性下降的重要因素, 菌落总数的大量增加不仅会直接导致食源性疾病的发生, 同时还会因其代谢产生挥发性盐基氮等产物而对消费者健康造成不良影响。因此, 如何在加工贮藏过程中有效控制腌制生食水产品微生物的增值成为生产企业需要重点解决的技术难题。天然保鲜剂处理是目前提高水产品质量和抑制微生物生长繁殖的有效技术。蓝蔚青等^[21]采用 0.05%Nisin 处理带鱼, 置(4±1) °C贮藏 6 d, 显著抑制了带鱼冷藏期间 TVC、TVB-N 含量和 pH 值的上升, 维持了较好的感官品质。张珂等^[22]采用 0.1% 茶多酚处理罗非鱼片, 显著抑制了其 TVC、pH、TBA 值和 TVB-N 值的上升, 可使罗非鱼片在-4 °C下的货架期由 19 d 延长至 28 d。本试验中, 试验所选 5 种天然保鲜剂单独使用时均具有显著的抑菌效果, 其抑菌能力大小顺序为: Nisin > ϵ -聚赖氨酸 > 溶菌酶 > 壳聚糖 > 茶多酚。

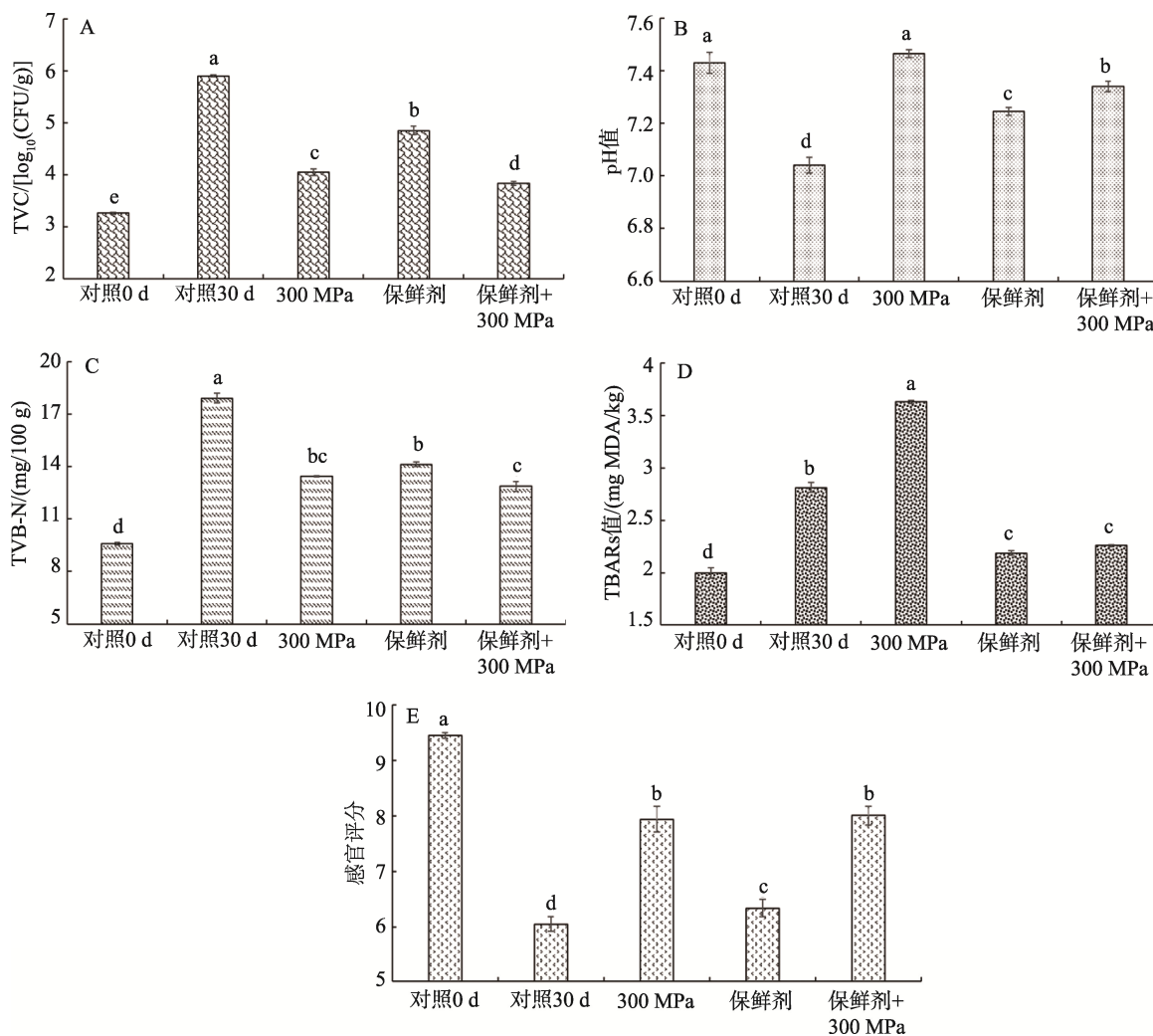


图 1 超高压结合天然保鲜剂处理对泥螺 TVC、pH、TVB-N、TBARs 值和感官评分的影响($n=3$)

Fig.1 Effect of UHP combined with natural chemicals treatment on the TVC, pH, TVB-N, TBARs values and sensory of *B. exarata* ($n=3$)

研究表明,水产品微生物菌相组成比较复杂,不同的水产品种类及加工贮藏方式其菌相组成有较大差异,因此单一保鲜剂作用效果有限,将多种保鲜剂复配使用能提高保鲜效果。张璟晶等^[23]采用 0.04%溶菌酶+0.5%壳聚糖+0.04%Nisin 复合保鲜剂浸泡银鲱鱼,可显著抑制 TVC、TVB-N 和 TBA 值的上升和感官评分的下降,使(0±1)°C冷藏条件下的银鲱鱼一级鲜度延长 2~3 d,二级鲜度延长 6~7 d。熊青等^[24]采用 0.8%茶多酚+0.5%柠檬酸+0.2%L-半胱氨酸浸泡南美对虾,发现复合保鲜剂处理能有效抑制微生物生长和 TVB-N 产生,提高对虾贮藏期间肉质、外观和气味品质。本试验中,复合保鲜剂处理组的 TVC、pH、TVB-N 和 TBARs 值和感官评分均优于对照组,其最佳组合为 0.05%茶多酚+0.005%Nisin +0.005% ϵ -聚赖氨酸+0.005%溶菌酶。

超高压技术作为一种安全有效的物理冷杀菌技术,目前在水产杀菌保鲜方面已有研究报道。Hughes 等^[25]采用 100

和 300 MPa 处理红鲍鱼 5、10 min 后置 2 °C 冷藏 35 d,发现 300 MPa 处理 10 min 鲍鱼的冷藏货架期延长至对照组的 4 倍。付强等^[26]对鲑鱼糜采用 0、100、200、300、400 和 500 MPa 压力处理 10 min,在 4 °C 下冷藏 18 d,发现 400 MPa 处理 10 min 对鲑鱼糜品质和贮藏特性改善最为显著。Bindu 等^[27]采用 100、270、435 和 600 MPa 超高压处理印度白虾,置 2 °C 下冷藏 30 d,发现超高压处理组的 pH、TBA 值、TMA 和 TVB-N 值均优于对照组。此外,研究表明超高压结合天然保鲜剂处理对微生物有协同致死作用。戚伟民^[28]研究了食品体系中常见 5 种有害细菌在 100~500 MPa 超高压结合 Nisin 协同处理下的致死特性,发现在低酸食品中 Nisin 能够与超高压协同导致细菌的死亡。本试验中,超高压处理能有效消减腌制生食泥螺产品中的微生物数量,但对泥螺感官品质尤其是质地有显著($P<0.05$)影响,且压力越大对泥螺质地影响越大,而 300 MPa 超高压结合复合保鲜剂(0.05%茶多酚+0.005%Nisin +0.005% ϵ -聚赖氨酸+0.005%溶菌酶)处

理的腌制生食泥螺在(4±1) °C冷藏 30 d 后, 其 TVC 为 (3.83±0.03) log₁₀(CFU/g), TVB-N 含量为 12.88 mg/100 g, 均低于 300 MPa 超高压和复合保鲜剂单独处理组, 表明超高压结合复合天然保鲜剂具有协同抑菌作用, 对维持腌制生食泥螺品质具有显著效果。

5 结 论

超高压结合天然保鲜剂处理可显著抑制腌制生食泥螺冷藏期间 TVC、TVB-N 含量和 TBARs 值的上升, 维持相对稳定的 pH 环境, 延缓感官品质的下降, 提高了腌制生食泥螺的食用安全性, 为生产实践中的应用提供了有益参考。

参考文献

- [1] 朱漂漂. 海洋贝类文化探究—名称考释、资源开发[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.
Zhu PP. An exploration of the marine shellfish culture-denomination explanation, resources exploitation [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015.
- [2] 张莹. 泥螺的营养价值及辐照对其保藏研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013.
Zhang Y. The nutritional value and irradiation preservation of bullacta [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2013.
- [3] Park JS, Ha JW. X-ray irradiation inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* serovar typhimurium, and *Listeria monocytogenes* on sliced cheese and its bactericidal mechanisms [J]. Int J Food Microbiol, 2019, (289): 127–133.
- [4] 崔燕, 林旭东, 康孟利, 等. 超高压技术在水产品贮藏与加工中的应用研究进展[J]. 食品科学, 2016, 37(21): 291–299.
Cui Y, Lin XD, Kang ML, et al. Advances in application of ultra high pressure for preservation and processing of aquatic products [J]. Food Sci, 2016, 37(21): 291–299.
- [5] 陈小娥. 腌制生食泥螺的超高压杀菌工艺研究[J]. 粮油食品科技, 2009, 17(4): 77–79.
Chen XE. Study on sterilization of pickled raw *Bullacta exarata* by ultra-high pressure [J]. Sci Technol Cere Oils Foods, 2009, 17(4): 77–79.
- [6] Morsy MK, Elsabagh R, Trinetta V. Evaluation of novel synergistic antimicrobial activity of Nisin, lysozyme, EDTA nanoparticles, and/or ZnO nanoparticles to control foodborne pathogens on minced beef [J]. Food Control, 2019, (92): 249–254.
- [7] Sequeiros C, Garcés ME, Vallejo M, et al. Potential aquaculture probiont *Lactococcus lactis* TW34 produces Nisin Z and inhibits the fish pathogen *Lactococcus garvieae* [J]. Arch Microbiol, 2015, 197(3): 449–458.
- [8] Liu J, Xiao J, Li F, et al. Chitosan-sodium alginate nanoparticle as a delivery system for ε-polylysine: Preparation, characterization and antimicrobial activity [J]. Food Control, 2018, (91): 302–310.
- [9] Forester SC, Lambert JD. The role of antioxidant versus pro-oxidant effects of green tea polyphenols in cancer prevention [J]. Mol Nutr Food Res, 2011, 55(6): 844–854.
- [10] Birek C, Degoutin S, Maton M, et al. Antimicrobial citric acid/poly (vinyl alcohol) crosslinked films: Effect of cyclodextrin and sodium benzoate on the antimicrobial activity [J]. LWT-Food Sci Technol, 2016, (68): 27–35.
- [11] Jeyakumari A, Ayoob KS, Ninan G, et al. Effect of chitosan on shelf life of restructured fish products from pangasius (*Pangasianodon hypophthalmus*) surimi during chilled storage [J]. J Food Sci Technol, 2016, 53(4): 2099–2107.
- [12] 徐华梁. 响应面法优化泥螺微生物抑制条件[J]. 食品科技, 2010, (2): 63–66.
Xu HL. Study on sterilization of pickled raw *Bullacta exarata* by ultra-high pressure [J]. Food Sci Technol, 2010, (2): 63–66.
- [13] Gómez-Guillén MC, Montero P, Solas MT, et al. Effect of chitosan and microbial transglutaminase on the gel forming ability of horse mackerel (*Trachurus*, spp.) muscle under high pressure [J]. Food Res Int, 2005, 38(1): 103–110.
- [14] GB 10136-2015 食品安全国家标准 动物性水产制品[S].
GB 10136-2015 National food safety standards-Animal aquatic products [S].
- [15] 杨文鸽, 茅宇虹, 徐大伦, 等. 适宜电子束辐照延长醉泥螺货架期及蛋白质保持[J]. 农业工程学报, 2013, 29(13): 255–262.
Yang WG, Mao YH, Xu DL, et al. Extending shelf life and keeping protein nutritional value of drunk *Bullacta exarata* by suitable electron beam irradiation [J]. Trans Chin Soc Agric Eng, 2013, 29(13): 255–262.
- [16] GB 5009.237-2016 食品安全国家标准 食品 pH 值的测定[S].
GB 5009.237-2016 National food safety standards-Determination of pH value of food [S].
- [17] GB 5009.228-2016 食品安全国家标准 食品中挥发性盐基氮的测定[S].
GB 5009.228-2016 National food safety standards-Determination of volatile basic nitrogen [S].
- [18] Liu Q, Kong B, Han J, et al. Effects of superchilling and cryoprotectants on the quality of common carp (*Cyprinus carpio*) surimi: Microbial growth, oxidation, and physicochemical properties [J]. LWT-Food Sci Technol, 2014, 57(1): 165–171.
- [19] Luo H, Wang W, Chen W, et al. Effect of incorporation of nature chemicals in water ice-glazing on freshness and shelf-life of Pacific saury (*Cololabis saira*) during -18 °C frozen storage [J]. J Sci Food Agric, 2018, (98): 3309–3314.
- [20] Guo Z, Wang J, Li Z, et al. Effect of ultra-high pressure on the structure and gelling properties of low salt golden threadfin bream (*Nemipterus virgatus*) myosin [J]. LWT-Food Sci Technol, 2019, (100): 381–390.
- [21] 蓝蔚青, 谢晶, 杨胜平, 等. Nisin 生物保鲜剂对冷藏带鱼的保鲜效果研究[J]. 天然产物研究与开发, 2010, 22(4): 683–686.
Wei LQ, Xie J, Yang SP, et al. Research on the fresh-keeping effects of Nisin on *Trichiurus haumela* under the cold storage [J]. Nat Prod Res Dev, 2010, 22(4): 683–686.
- [22] 张珂, 关志强, 李敏, 等. 茶多酚对罗非鱼微冻保鲜的影响[J]. 食品工业科技, 2015, 36(14): 350–353.
Zhang K, Guan ZQ, Li M, et al. Effect of tea polyphenols on the quality of tilapia during superchilled storage [J]. Sci Technol Food Ind, 2015, 36(14): 350–353.
- [23] 张璟晶, 唐劲松, 王海波, 等. 溶菌酶、Nisin、壳聚糖复合保鲜剂对冰鲜银鲈保鲜效果的研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(4): 323–326.
Zhang JJ, Tang JS, Wang HB, et al. The combined use of lysozyme, Nisin and chitosan for the preservation of iced pomfret [J]. Sci Technol Food Ind, 2014, 35(4): 323–326.
- [24] 熊青, 谢晶, 钱韵芳, 等. 茶多酚复合保鲜剂对冷藏南美白对虾品质的影响[J]. 食品科学, 2014, 35(2): 287–291.
Xiong Q, Xie J, Qian YF, et al. Effect of tea polyphenol complex

- preservative on the quality of *Penaeus vannamei* under cold storage [J]. Food Sci, 2014, 35(2): 287–291.
- [25] Hughes BH, Perkins LB, Yang TC, *et al.* Impact of post-rigor high pressure processing on the physicochemical and microbial shelf-life of cultured red abalone (*Haliotis rufescens*) [J]. Food Chem, 2016, (194): 487–494.
- [26] 付强, 马海建, 杨璐, 等. 超高压处理对鲢鱼糜品质和贮藏特性的影响 [J]. 上海海洋大学学报, 2016, 25(3): 465–470.
Fu Q, Ma HJ, Yang L, *et al.* Effects of ultra-high pressure treatments on the quality and storability of silver carp surimi [J]. J Shanghai Ocean Univ, 2016, 25(3): 465–470.
- [27] Bindu J, Ginson J, Kamalakanth CK, *et al.* Physico-chemical changes in high pressure treated Indian white prawn (*Fenneropenaeus indicus*) during chill storage [J]. Innov Food Sci Emerg Technol, 2013, 17(1): 37–42.
- [28] 戚伟民. 超高压与 Nisin 协同作用下的细菌致死机理[D]. 无锡: 江南大学, 2010.
Qi WM. Mechanisms involved in synergistic inactivation of bacterial by

high hydrostatic pressure and Nisin [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2010.

(责任编辑: 武英华)

作者简介



邹小欠, 硕士, 主要研究方向为水产品加工及贮藏。

E-mail: zouxiaoqian157@163.com



罗海波, 博士, 副教授, 主要研究方向为水产品加工及贮藏。

E-mail: luohaibo_1216@126.com