

鱿鱼丝抗真菌污染抑制剂筛选及复合优化的研究

沈 飏¹, 黄鹏晓^{2,3}, 胡兴娟¹, 吴祖芳^{2,3*}, 翁佩芳^{2,3}

(1. 浙江舟山出入境检验检疫局, 浙江 舟山 316021; 2. 宁波大学 海洋学院, 浙江 宁波 315211;

3. 宁波大学 应用海洋生物技术教育部重点实验室, 浙江 宁波 315211)

摘要:为解决鱿鱼丝加工过程中的真菌污染问题, 选取脱氢醋酸钠、双乙酸钠、山梨酸钾、丙酸钙、苯甲酸钠、R-多糖、纳他霉素和尼泊金乙酯对鱿鱼丝中分离出的优势腐败真菌进行牛津杯抑菌试验, 然后采用响应面法进行复合优化. 结果表明, 脱氢醋酸钠、纳他霉素、尼泊金乙酯抑菌剂效果较好, 其最小抑菌浓度分别为 $0.05 \text{ g} \cdot (100 \text{ mL})^{-1}$ 、 $0.09 \sim 0.1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $0.05 \text{ g} \cdot (100 \text{ mL})^{-1}$; 复合抑菌剂最优配方为脱氢醋酸钠 $0.015 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、纳他霉素 $0.08 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和尼泊金乙酯 $0.02 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 在此条件下的抑菌率可达 $(95.45 \pm 0.49)\%$.

关键词: 鱿鱼丝; 真菌; 响应曲面法; 抑菌剂

中图分类号: S917.4

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2016) 04-0001-06

鱿鱼丝是国内尤其是沿海地区水产加工制品的主要组成部分之一^[1]. 鱿鱼丝产品不仅保持了天然鱿鱼的风味和营养成分, 而且储藏方便, 特别满足边远地区人们品尝美味鱿鱼的需要, 备受消费者青睐^[2]. 然而, 鱿鱼丝是一种半干制品, 因其营养丰富, 易感染和繁殖包括霉菌在内的多种微生物. 近年来, 出口产品增加了对鱿鱼丝中霉菌和酵母菌数量的要求, 鱿鱼丝加工企业常因真菌数量超标等问题而影响企业的声誉, 引起巨大的经济损失, 并影响产业的可持续发展. 作者团队经过前期研究发现(另文发表), 鱿鱼丝加工过程中主要污染的真菌为青霉菌、茎点霉菌、热带假丝酵母和胶红酵母, 对鱿鱼丝加工业中易感真菌(霉菌和酵母菌)抑菌剂的研究对促进水产品加工企业可持续发展和保障人们健康具有十分重要的意义.

食品防腐剂是控制食品卫生质量和延长食品保藏期的重要手段, 目前使用的防腐剂主要是化学防腐剂. 脱氢醋酸钠是继苯甲酸钠、尼泊金乙酯、山梨酸钾之后的新一代食品防腐保鲜剂^[3-5], 它对引起食品腐败变质的酵母菌、霉菌抑制作用极强, 抑制有效浓度 $0.05\% \sim 0.1\%$; 联合国粮农组织(FAO)

和世界卫生组织(WHO)一致认可它是一种安全的食品防腐防腐保鲜剂. 脱氢醋酸钠在人体新陈代谢过程中会逐渐降解为乙酸, 对人体无毒, 使用时不影响食品口味. 纳他霉素对几乎所有的霉菌和酵母都具有抑制和杀灭活性作用, 并且以其具有用量低、pH 值使用范围广、热稳定性及防腐效果好等优点在食品工业中呈现出广阔的应用前景^[6]. 响应曲面法是一种基于数学和统计学方法的优化法, 能精确地确定各因素间的最佳条件, 近年来食品领域中的条件优化普遍采用此方法^[7-9]. 根据栅栏技术原理^[10], 综合运用不同种类的防腐剂, 发挥其协同效应, 这样不仅可以增强抑菌效果, 而且能降低单一防腐剂的使用量. 顾仁勇等^[11]研究发现丁香及肉桂精油联合使用, 对枯草杆菌、黑曲霉及鲁氏酵母表现出协同增效作用, 对大肠杆菌、青霉及酿酒酵母表现出相加的作用效果; 段会轲等^[12]发现脱氢醋酸钠与双乙酸钠、Nisin、甘氨酸复配在低温肉食品中具有很好的保鲜效果.

现有的鱿鱼丝防腐剂大多是针对细菌, 且一般都采用喷洒食用酒精的方法, 但该方法效果一般, 且存在安全隐患. 因此, 鱿鱼丝企业要想持续

收稿日期: 2016-01-25.

宁波大学学报(理工版)网址: <http://journal.g.nbu.edu.cn/>

基金项目: 宁波市科技富民项目(2016C10031); 舟山科技计划项目(2014C31044); 宁波大学浙江省重中之重(一级)学科开放基金.

第一作者: 沈飏(1967-), 男, 浙江舟山人, 高级工程师, 主要研究方向: 产品质量安全与微生物检测技术. E-mail: sb@zs.ziq.gov.cn

*通信作者: 吴祖芳(1963-), 男, 浙江奉化人, 博导/教授, 主要研究方向: 食品生物技术. E-mail: wzfwpf@163.com

发展, 必须要寻找一种针对霉菌和酵母菌的防腐剂. 本研究通过单因素试验与响应面优化相结合的方法筛选一种高效、安全的复合防腐剂来控制鱿鱼丝中霉菌和酵母菌数量, 以期提高鱿鱼丝的品质和安全.

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌种

青霉菌(*Penicillium* sp.)、茎点霉菌(*Phoma* sp.)、热带假丝酵母(*Candida tropicalis*)和胶红酵母(*Rhodotorula mucilaginosa*)分别标记为(M-01)、(M-03)、(Y-04)和(Y-06), 并由宁波大学食品生物技术实验室保存.

1.1.2 试剂

纳他霉素: 国药集团化学试剂有限公司; 脱氢醋酸钠: 食品级, 杭州 Aladdin 公司; 山梨酸钾: 食品级, 杭州 Aladdin 公司; 苯甲酸钠: 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 丙酸钙: 食品级, 国药集团化学试剂有限公司; R-多糖: 食品级, 国药集团化学试剂有限公司; 双乙酸钠: 食品级, 杭州 Aladdin 公司; 尼泊金乙酯: 食品级, 国药集团化学试剂有限公司; 马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA 培养基), 杭州微生物试剂有限公司.

1.1.3 仪器

恒温培养箱, 宁波江南仪器厂; LDZX-75KBS 立式压力蒸汽灭菌器, 上海申安医疗器械厂; DHG-9140 AS 型电热鼓风干燥器, 宁波江南仪器厂; 超净工作台, 上海智成分析仪器制造有限公司; 牛津杯(内径(6.0±0.1)mm, 外径(8.0±0.1)mm, 高(10.0±0.1)mm), 上海一恒科学仪器有限公司.

1.2 试验方法

1.2.1 菌悬液的制备^[13]

霉菌菌悬液制备: 在 28℃ 下斜面培养霉菌 3 d, 在超净工作台中用灭菌生理盐水冲洗下霉菌孢子, 稀释成约 $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$ cfu·mL⁻¹ 的菌悬液备用.

酵母菌悬液的制备: 在 30℃ 下斜面培养酵母菌 48 h, 在超净工作台中用接种环挑取一环菌到 50 mL 马铃薯葡萄糖液体培养基中, 30℃ 摇床培养 24 h, 采用平板计数法测定菌落总数, 稀释成约 $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$ cfu·mL⁻¹ 的菌悬液备用.

1.2.2 抑菌液的配制

将脱氢醋酸钠、尼泊金乙酯、双乙酸钠、山梨酸钾、丙酸钙、苯甲酸钠、R-多糖和纳他霉素按实验需要称取一定量试剂溶解于无菌水中, 并用容量瓶定容至 100 mL, 其中纳他霉素配制成一定浓度的悬浊液, 最后将各抑菌液置于 4℃ 保存备用.

1.2.3 抑菌剂抑菌活力的测定——牛津杯法^[14]

在 121℃ 下, 将 PDA 培养基灭菌 15 min, 冷却至 60℃ 左右, 然后在无菌室中向各无菌培养皿中倒入 12~15 mL, 自然冷却. 在凝固后的 PDA 培养基平板上加入浓度为 5×10^5 cfu·mL⁻¹ 的霉菌和酵母菌悬液 0.2 mL, 涂布均匀后, 用无菌镊子夹取一个无菌牛津杯轻轻地放入含菌平皿中. 取 0.2 mL 一定浓度的抑菌液加入到牛津杯中, 加入时切不可让抑菌液溢出牛津杯外, (28±1)℃ 下培养 3 d, 观察牛津杯底周围的生长情况, 测量抑菌圈直径, 每次试验作 3 次重复取平均值.

1.2.4 防腐剂最小抑菌浓度(MIC)的测定^[15]

根据初步筛选结果, 对效果较好的 3 种抑菌剂采用 2 倍稀释法测定其最小抑菌浓度. 最小抑菌浓度的确定标准如下: 在该浓度下有抑菌圈产生, 其直径大于或等于 8.00 mm, 并且圈内无菌丝.

1.2.5 响应面法优化复合抑菌剂配方^[16]

复合抑菌剂配方优化采用中心组合设计(CCD)进行, 根据前期实验以及 GB2760-2014 对抑菌剂在鱿鱼丝应用的限量值, 选取脱氢醋酸钠(A)、纳他霉素(B)、尼泊金乙酯(C) 3 个因素为自变量, 抑菌率 Y 为响应值, 实验自变量因素编码及水平见表 1.

表 1 中心组合设计实验自变量因素与水平

因素	水平		
	-1	0	1
A 脱氢醋酸钠(g·(100mL) ⁻¹)	0.010	0.015	0.020
B 纳他霉素(μg·mL ⁻¹)	0.080	0.090	0.100
C 尼泊金乙酯(g·(100mL) ⁻¹)	0.010	0.015	0.020

抑菌率的测定: 制备 10^6 cfu·mL⁻¹ 的菌悬液, 吸取 1 mL 菌悬液加入 9 mL 无菌水中, 同时加入抑菌液, 混匀吸取 0.1 mL 涂布, 将平板置于 30℃ 培养箱恒温培养 3 d, 测定菌落总数, 以不加抑菌液的样品作为空白对照.

抑菌率的计算方法: 抑菌率(%)= {(对照样品菌落总数 - 处理样品菌落总数)/对照样品菌落总

数} ×100.

1.2.6 数据处理

利用统计软件 Design-Expert 7.1.6 进行实验设计与数据分析. 所有实验值都是 3 次实验的平均值, 数据以“平均值±标准差”表示.

2 结果与分析

2.1 鱿鱼丝抑菌剂的初步筛选

选用的 8 种抑菌剂分别对 4 种真菌的抑菌效力进行测定, 结果见表 2. 从表 2 数据可知, 山梨酸钾($1\text{ g}\cdot(100\text{ mL})^{-1}$)对 4 种真菌的抑菌效果一般; 苯甲酸钠($1\text{ g}\cdot(100\text{ mL})^{-1}$)对 4 种真菌均没有效果; 丙酸钙($1\text{ g}\cdot(100\text{ mL})^{-1}$)仅对 M-01 和 Y-04 菌稍微有抑菌效果; 纳他霉素($1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)对 4 种菌都有较好的抑菌效果, 产生的抑菌圈明显; 双乙酸钠($1\text{ g}\cdot(100\text{ mL})^{-1}$)对 4 种真菌没有产生抑菌效果; $1\text{ g}\cdot(100\text{ mL})^{-1}$ 脱氢醋酸钠对 4 种真菌均产生较大的抑菌圈, 说明其抑菌效果良好; $1\text{ g}\cdot(100\text{ mL})^{-1}$ 尼泊金乙酯抑菌效果明显, 所有菌株均产生了较大抑菌圈; R-多糖($1\text{ g}\cdot(100\text{ mL})^{-1}$)对 4 种真菌均不起抑菌作用. 由此可知, 试验中抑菌剂对 4 种真菌有较佳抑制作用的是脱氢醋酸钠、纳他霉素和尼泊金乙酯, 由此将此 3 种抑菌剂作为下一步复合优化用的抗真菌剂, 它们产生的抑菌效果测定结果如图 1 所示.

2.2 抑菌剂最小抑菌浓度(MIC)的确定

由表 3 可得, 脱氢醋酸钠对 4 种腐败真菌产生

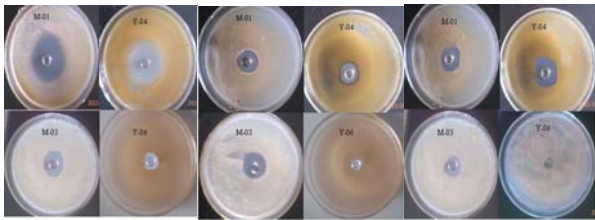


图 1 脱氢醋酸钠、纳他霉素和尼泊金乙酯对 4 种菌的抑菌效果

抑制作用的最小抑制浓度普遍在 $0.05\text{ g}\cdot(100\text{ mL})^{-1}$; 纳他霉素对 4 种腐败真菌的最小抑制浓度为 $0.09\sim 0.1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 尼泊金复合酯钠对 4 种腐败真菌的最小抑制浓度平均分布在 $0.06\sim 0.08\text{ g}\cdot(100\text{ mL})^{-1}$.

根据 GB2760-2014, 在水产制品中脱氢醋酸钠的最高使用量为 $0.05\text{ g}\cdot(100\text{ mL})^{-1}$, 纳他霉素为 $0.3\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 尼泊金乙酯为 $0.05\text{ g}\cdot(100\text{ mL})^{-1}$. 纳他霉素的最小抑菌浓度远低于最高允许使用量, 证明其抑菌效果较好. 然而, 脱氢醋酸钠的最小抑菌浓度与国标中允许使用量接近, 尼泊金乙酯的最小抑菌浓度高于国标中允许使用量, 因此这 2 种抑菌剂不能单独使用.

2.3 响应面优化复合抑菌剂

2.3.1 回归模型的建立及方差分析

应用 Design Expert 软件对实验结果数据进行统计, 分析复合抑菌剂对鱿鱼丝腐败真菌的抑制效果, 研究结果以抑菌率 Y 为指标. 以脱氢醋酸钠

表 2 防腐剂的初筛结果

腐败真菌编号	抑菌圈直径/mm							
	山梨酸钾	苯甲酸钠	丙酸钙	纳他霉素	双乙酸钠	脱氢醋酸钠	尼泊金乙酯	R-多糖
M-03	10.23±1.29	0	0	21.23±1.29	0	23.98±1.29	22.32±1.49	0
M-01	10.11±0.55	0	9.38±0.41	20.34±1.49	0	33.58±2.59	21.58±0.59	0
Y-04	11.67±0.21	0	9.08±0.19	18.45±0.49	0	36.83±0.76	26.78±2.19	0
Y-06	9.03±0.11	0	0	10.12±1.09	0	15.64±2.05	11.09±1.19	0

注: 除纳他霉素的浓度为 $1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 其他浓度均为 $1\text{ g}\cdot(100\text{ mL})^{-1}$.

表 3 防腐剂的最小抑制浓度(MIC)研究结果

腐败真菌 编号	脱氢醋酸钠		纳他霉素		尼泊金乙酯	
	MIC/($\text{g}\cdot(100\text{ mL})^{-1}$)	抑菌圈直径/mm	MIC/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	抑菌圈直径/mm	MIC/($\text{g}\cdot(100\text{ mL})^{-1}$)	抑菌圈直径/mm
M-03	0.05	9.22±0.59	0.1	10.21±0.19	0.06	8.00±1.29
M-01	0.05	8.00±0.00	0.09	8.00±0.55	0.08	13.45±1.67
Y-04	0.05	10.67±1.29	0.09	8.32±0.22	0.06	8.00±0.21
Y-06	0.05	11.67±0.79	0.1	9.00±0.65	0.06	8.00±0.00

(A)、纳他霉素(B)和尼泊金乙酯(C)为自变量, 抑菌率 Y 为响应值(%), 响应面分析方案及结果见表 4.

表 4 Box-Behnken 设计方案及响应值研究结果

实验号	A/(g·(100 mL) ⁻¹)	B/(μg·mL ⁻¹)	C/(g·(100 mL) ⁻¹)	抑菌率/%	
				真实值	预测值
1	0.015	0.090	0.015	93.32	97.11
2	0.010	0.090	0.020	93.22	93.68
3	0.020	0.100	0.015	88.78	88.86
4	0.015	0.090	0.015	100.00	97.11
5	0.015	0.090	0.015	98.55	97.11
6	0.015	0.100	0.010	87.75	88.13
7	0.020	0.090	0.020	98.07	99.14
8	0.015	0.080	0.020	88.34	87.96
9	0.010	0.100	0.015	82.74	83.43
10	0.015	0.090	0.015	97.78	97.11
11	0.010	0.080	0.015	70.88	70.80
12	0.020	0.080	0.015	85.78	85.09
13	0.020	0.090	0.010	95.97	95.51
14	0.015	0.090	0.015	95.89	97.11
15	0.015	0.080	0.010	76.58	77.73
16	0.015	0.100	0.020	95.10	93.95
17	0.010	0.090	0.010	82.31	81.24

利用 Design Expert 软件对试验结果进行二次多元回归拟合, 对表 4 的数据进行方差分析后得到抑菌率的二次多项回归方程为:

$$Y = 97.11 + 4.93A + 4.10B + 4.01C - 2.21AB - 2.20AC - 1.10BC - 4.81A^2 - 10.26B^2 + 0.091C^2.$$

上述回归方程的方差分析结果见表 5. 由表 5 分析可知: 模型 $P < 0.01$ (显著), 失拟项 $P = 0.8069 > 0.05$ (不显著), 说明方程对实验有较好拟合性, 实验误差较小. 相关系数 $R^2 = 0.9850$ 和调整系数 $\text{Adj } R^2 = 0.9309$ 也表明模型拟合程度较好. 2.42% 的变异系数(CV)说明模型的重现性很好, 该模型可用于鱿鱼丝复合抑菌剂的优化.

从各个因素的显著性水平差异可知, 对抑菌率影响次序为: A(脱氢醋酸钠) > B(纳他霉素) > C(尼泊金乙酯). B(纳他霉素)的二次项 B^2 对抑菌率影响达到极显著水平($P < 0.0001$); A(脱氢醋酸钠)及其二次项 A^2 和 B(纳他霉素)、C(尼泊金乙酯)以及 A(脱氢醋酸钠)与 B(纳他霉素)的交互项 AB 对抑菌率有非常显著($P < 0.01$)的影响.

表 5 响应面回归模型 ANOVA 分析结果

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	1 067.76	9	118.64	24.94	0.000 2 ¹⁾
A	194.54	1	194.54	40.90	0.000 4 ¹⁾
B	134.40	1	134.40	28.26	0.001 1 ¹⁾
C	128.96	1	128.96	27.11	0.001 2 ¹⁾
AB	19.62	1	19.62	4.13	0.008 8 ²⁾
AC	19.40	1	19.40	4.08	0.083 2
BC	4.86	1	4.86	1.02	0.345 7
A ²	97.27	1	97.27	20.45	0.002 7 ¹⁾
B ²	442.93	1	442.93	93.12	< 0.000 1 ³⁾
C ²	0.035	1	0.035	0.64	0.934 2
残差	33.29	7	4.76	0.03	
失拟项	6.57	3	2.19	0.33	0.806 9
纯误差	26.73	4	6.68		
总和	1 101.05	16			

注: 1) $P < 0.01$; 2) $P < 0.05$; 3) $P < 0.0001$; $R^2 = 0.9850$; $\text{Adj } R^2 = 0.9309$; $\text{CV} = 2.42\%$.

2.3.2 响应面优化分析及最佳配方的确定

图 2 的 3D 响应面图和二维等高线图反映了不同因子间的交互作用, 这不仅可以很好地分析多个自变量交互作用对响应值的影响, 而且还可分析出响应值对不同自变量变化影响的显著程度.

图 2(a)表示脱氢醋酸钠和纳他霉素的交互作用对抑菌率的影响. 从图可知, 脱氢醋酸钠和纳他霉素对抑菌率的影响都明显(曲面较陡峭). 同时, 等高线呈椭圆形, 说明它们的交互作用也较明显, 且 $P < 0.05$. 当纳他霉素含量较低时, 抑菌率随脱氢醋酸钠含量提高的变化并不明显; 当纳他霉素含量在 $0.088 \sim 0.097 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 之间时, 抑菌率随脱氢醋酸钠含量提高的变化显著, 且能达到最大值. 图 2(b)表示脱氢醋酸钠和尼泊金乙酯的交互作用对抑菌率的影响. 由图可知脱氢醋酸钠和尼泊金乙酯的交互作用不明显, $P = 0.0832$, 响应面图曲面较平缓. 从等高线图中还可看出, 当脱氢醋酸钠的含量在较小浓度时, 抑菌率随着尼泊金乙酯含量的提高而逐渐变大. 当脱氢醋酸钠的含量在 $0.0150 \sim 0.0175$ 之间时, 抑菌率随着尼泊金乙酯含量的提高能达到最大值. 图 2(c)表示纳他霉素和尼泊金乙酯的交互作用对抑菌率的影响, 由图可知, 虽然纳他霉素和尼泊金乙酯对抑菌率的影响明显, 但它们的交互作用却不明显, $P = 0.3457$. 从等高线图中

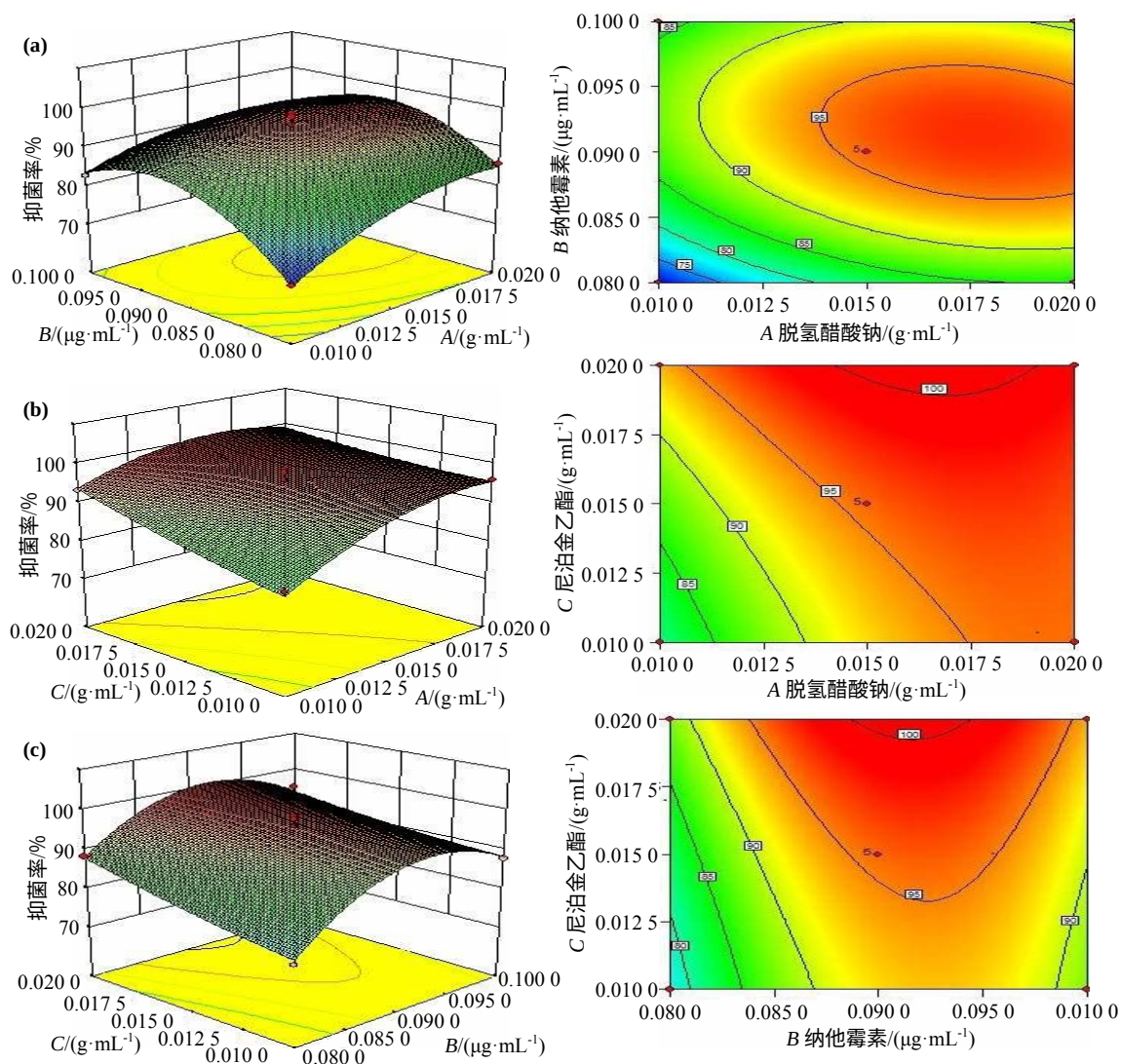


图2 各因素交互作用对抑菌率的响应面

还可看出, 纳他霉素曲面较陡, 尼泊金乙酯的曲面较平缓, 说明纳他霉素比尼泊金乙酯对抑菌率的影响更大。

通过软件 Design-Expert 8.0 分析得出复合抑菌剂的优化配方如下: 脱氢醋酸钠 $0.015 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、纳他霉素 $0.08 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和尼泊金乙酯 $0.02 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。根据 GB2760-2014 食品添加剂使用标准的规定: 脱氢醋酸钠、纳他霉素和尼泊金乙酯的最大添加剂量分别为 $0.05 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $0.3 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $0.05 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 上述优化配方中 3 种添加剂的实际使用量除以规定使用最大量之和为 $0.97 < 1.00$, 符合食品添加剂使用标准。为验证该模型的准确性, 使用最优配方进行 3 次验证性的抑菌实验, 抑菌率为 $(95.45 \pm 0.49)\%$, 证明该模型能较好地用于鱿鱼丝复合抑菌剂的预

测及评价。

3 结论

为解决鱿鱼丝加工过程中真菌污染问题, 通过单因素实验筛选出 3 种抑菌效果较好的抑菌剂分别为脱氢醋酸钠、纳他霉素和尼泊金乙酯, 其 MIC 分别为 $0.05 \text{ g} \cdot (100 \text{ mL})^{-1}$ 、 $0.09 \sim 0.1 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $0.05 \text{ g} \cdot (100 \text{ mL})^{-1}$ 。经响应面优化后的最优配方为: 脱氢醋酸钠 $0.015 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 纳他霉素 $0.08 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 尼泊金乙酯 $0.02 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 在此条件下的抑菌率为 $(95.45 \pm 0.49)\%$ 。影响抑菌剂的抑菌效率因素主次顺序为脱氢醋酸钠 > 纳他霉素 > 尼泊金乙酯; 该配方高效、安全, 可以应用于鱿鱼丝加工及贮藏过程中, 提高鱿鱼丝的品质和安全。

参考文献:

- [1] 吴少杰, 张俊杰, 姚兴存, 等. 我国鱿鱼的综合加工利用现状与展望[J]. 食品研究与开发, 2011(1):154-156.
- [2] 杨宪时, 王丽丽, 李学英, 等. 秘鲁鱿鱼和日本海鱿鱼营养成分分析与评价[J]. 现代食品科技, 2013, 29(9): 247-250.
- [3] 张伟敏, 张保顺, 钟耕. 脱氢醋酸钠在焙烤食品中的应用[J]. 中国食品添加剂, 2005(4):89-91.
- [4] 李超能, 夏枫耿, 黎婉园. 脱氢醋酸钠对酵母菌的作用及在面包生产上的应用研究[J]. 广州食品工业科技, 2004, 20(2):79-80.
- [5] 叶银枝. 脱氢醋酸钠在食品中的应用[J]. 中国食品添加剂, 2002(3):64-66.
- [6] 岳昊博, 岳喜庆, 李靖, 等. 纳他霉素(Natamycin)的特性、应用及生产和研究状况[J]. 食品科技, 2007, 45(3): 162-166.
- [7] 高磊, 谢晶, 叶藻, 等. 响应面法优化冷鲜鸡复合生物保鲜剂配比[J]. 食品工业科技, 2015, 32(22):313-319.
- [8] 徐青, 许喜林, 李志民. 复合抑菌剂对凉茶中腐败菌抑制的研究[J]. 现代食品科技, 2013, 29(6):1270-1272.
- [9] JARA S, SANCHEZ M, VERA R, et al. The inhibitory activity of *Lactobacillus* sp. isolated from breast milk on gastrointestinal pathogenic bacteria of nosocomial origin [J]. Anaerobe, 2011, 17:474-477.
- [10] LEISTNER L. Basic aspects of food preservation by hurdle technology[J]. International Journal of Food Microbiology, 2000, 55(3):181-186.
- [11] 顾仁勇, 傅伟昌, 银永忠. 丁香和肉桂精油联合抗菌作用初步研究[J]. 食品科学, 2008(10):115-117.
- [12] 段会轲, 周辉. 脱氢醋酸钠复合保鲜在低温肉食品中的应用[J]. 肉类工业, 2008(9):14-16.
- [13] 黄恺婷, 许喜林, 麻云璐, 等. 广式月饼腐败霉菌的分离与控制[J]. 现代食品科技, 2012, 28(2):142-146.
- [14] NUENO-PALOP C, NARBAD A. Probiotic assessment of *Enterococcus faecalis* CP58 isolated from human gut [J]. International Journal of Food Microbiology, 2011, 145:390-394.
- [15] YAZDANI D, REZAZADEH S H, AMIN G H, et al. Antifungal activity of dried extracts of anise (*Pimpinella anisum* L.) and star anise (*Illicium Verum* Hook. f.) against dermatophyte and saprophyte fungi[J]. Journal of Medicinal Plants, 2009, 8(5):24-29.
- [16] 张黎明, 李瑞超, 郝利民, 等. 响应面优化玛咖叶总黄酮提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. 现代食品科技, 2014, 30(4):233-239.

Screening and Composite Optimization of Anti Fungal Contamination Inhibitor for Shredded Squid

SHEN Biao¹, HUANG Peng-xiao^{2,3}, HU Xing-juan¹, WU Zu-fang^{2,3*}, WENG Pei-fang^{2,3}

(1.Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Zhoushan 316021, China; 2.School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China; 3.Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: Sodium acetate, sodium diacetate, potassium sorbate, calcium propionate, sodium benzoate, R-polysaccharides, natamycin, nipagin complex esters are tested as inhibitors for the predominant corruption fungus isolated from the shredded squid to solve the problem of fungal contamination during production. An optimal combination method of different inhibitors is applied using the response surface method. The results indicate that the more effective inhibitors found through the proposed laboratory work are sodium acetate, natamycin and nipagin. The minimum inhibitory concentrations (MIC) of these inhibitors are 0.05 g·(100 mL)⁻¹、0.09~0.1 μg·mL⁻¹ and 0.05 g·(100 mL)⁻¹, respectively. The optimum prescription for each inhibitor is sodium acetate 0.015 g·mL⁻¹, natamycin 0.08 μg·mL⁻¹ and nipagin 0.02 g·mL⁻¹, respectively. Under this condition the rate of anti-microbial inhibition reaches as high as (95.45±0.49)%.

Key words: shredded squid; fungi; response surface method; inhibition

(责任编辑 章践立)