

香辛料及其醇提液对低盐酱中微生物抑制作用的研究

孙莹, 孙冰玉, 石彦国*, 张光, 刘琳琳

(哈尔滨商业大学食品工程学院, 黑龙江省普通高等学校食品科学与工程重点实验室,
黑龙江哈尔滨 150076)

摘要:针对低盐酱中食盐含量过低不利于长期保存的问题,研究了天然香辛料对低盐酱中主要微生物的抑制作用。用平板菌落计数法比较了6种天然香辛料粉末对低盐酱中主要微生物的抑制效果,并选择抑菌效果较强的香辛料进行醇提液抑菌效果的研究。结果表明,六种香辛料均有不同程度的抑菌效果,其中丁香和桂皮的抑菌效果最佳,并且丁香醇提液的抑菌效果要优于桂皮醇提液,0.5g/mL丁香醇提液和0.5g/mL桂皮醇提液对低盐酱中主要微生物的平均抑菌圈直径分别为25.1、18.2mm。而应用于低盐酱中的具体用量还有待于进一步研究。

关键词:香辛料,醇提液,抑菌作用,低盐酱

Study on inhibitory effect of spices and the alcohol extracts on the microorganisms in low-salt sauce

SUN Ying, SUN Bing-yu, SHI Yan-guo*, ZHANG Guang, LIU Lin-lin

(Key Laboratory of Food Science and Engineering, College of Food Engineering, Harbin University of Commerce,
Harbin 150076, China)

Abstract: To prolong the shelf life of low-salt sauce, inhibitory effects of natural spices on the microorganisms in low-salt were studied. Inhibitory effects of six natural spices on the main microorganisms in low-salt sauce were compared with plate colony-counting method. Better spices were chosen to compare inhibitory effects of their alcohol extracts. The result showed that six natural spices showed different antimicrobial abilities. Clove and cinnamon had the more intensive antimicrobial effects, and the antimicrobial effect of clove alcohol extract was better than the effect of cinnamon alcohol extract. The average inhibition zone diameters of 0.5g/mL clove alcohol extract and 0.5g/mL cinnamon alcohol extract to the main microorganisms in low-salt sauce were 25.1mm and 18.2mm. And the definite dosage of spices used in the low-salt sauce needed to be further studied.

Key words: spices; alcohol extracts; antimicrobial effects; low-salt sauce

中图分类号: TS214.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2012)24-0187-04

传统大豆酱主要是利用高食盐量来提高保藏性能,延长保存期,而人们长期食用高盐食品易引起心脏病、高血压等心脑血管疾病,不利于人体的健康^[1],所以低盐酱越来越受到消费者的青睐,但降低酱中的食盐量必然会降低酱的保藏性能,不利于长期保存,货架期短,从而限制了低盐酱的工业化生产。防腐保鲜剂的使用是延长食品货架期的重要措施之一,但随着科技进步,人们对食品要求的提高,防腐剂的营养化、功能化、高安全性日益受到人们的重视^[2],一些化学合成保鲜剂的安全性问题不断受到质疑,从而使天然食品防腐剂成为当今食品领域研究的热点^[3]。近年来大量的研究结果表明^[4-6],一些天然

植物及其提取物具有一定的防腐抑菌作用,天然香辛料一般指生长在热带的芳香植物的根、树皮、种子或果实,不仅具有增香调味的作用,同时某些种类也具有不同程度的抑菌防腐作用,所以天然香辛料作为安全、新型的食品防腐剂,具有广阔的发展前景,有必要加强对其防腐功能的深入研究和开发应用^[7]。本实验通过研究香辛料对低盐酱中主要微生物的抑制作用,筛选出抑菌作用较强的香辛料,进行香辛料醇提液抑菌效果的研究,从而为香辛料作为保鲜剂应用于低盐酱的保鲜提供理论依据及技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

丁香、桂皮、白胡椒、花椒、茴香、八角 均购于哈尔滨北京联华超市,用高速粉碎机粉碎后,过80目筛;低盐酱 由某企业提供;供试菌株 所用菌株为从低盐酱中分离、纯化所得的主要细菌、酵母菌、霉

收稿日期: 2012-09-06 * 通讯联系人

作者简介: 孙莹(1987-),女,在读硕士,研究方向:大豆化学与加工技术。

基金项目: 黑龙江省高等学校科技创新团队建设计划项目(2010td03)。

菌;营养琼脂(生物试剂)、麦芽浸粉(生化试剂)、琼脂粉(生物试剂) 北京奥博星生物技术有限责任公司;氯霉素 天津市光复精细化工研究所,生化试剂;蔗糖、无水乙醇 西陇化工股份有限公司,分析纯。

YXQ-SG46-280型电热手提式压力蒸汽消毒器 哈尔滨市松花江医疗器械厂;HDL型无菌操作台 北京东联哈尔仪器制造有限公司;HAQ-D型恒温培养箱 哈尔滨市东联电子技术开发有限公司;R-205型旋转蒸发器 上海申胜生物技术有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 香辛料粉末抑菌效果实验

1.2.1.1 香辛料粉末对细菌及酵母菌的抑制实验 采用平板菌落计数法^[8],将供试细菌及酵母菌用相应的斜面培养基活化后,分别挑取适量菌苔,采用10倍稀释法,将其用无菌生理盐水稀释成含菌数约 $10^6 \sim 10^7$ cfu/mL的菌悬液,分别吸取1mL细菌及酵母菌的菌悬液置于无菌培养皿中,将六种香辛料粉末分别以0.05%、0.10%、0.15%、0.20%、0.25%的比例加入到经121℃、20min高压蒸汽灭菌后的营养琼脂培养基和麦芽汁琼脂培养基中,待培养基冷却至45~50℃后,倾注于含菌悬液的培养皿中,充分混匀,以不加香辛料粉末的培养基为空白对照,细菌在37℃下培养1d,酵母菌在28℃下培养2d后测定菌落总数。

1.2.1.2 香辛料粉末对霉菌的抑制实验 将六种香辛料粉末分别以0.10%、0.15%、0.20%、0.25%、0.30%的比例加入到经121℃、20min高压蒸汽灭菌后的马铃薯琼脂培养基中,混匀后倒入灭菌培养皿中,制成平板,采用点植法^[9],于平板中央分别点接供试霉菌,以不添加香辛料粉末作为空白对照,于28℃恒温培养箱中倒置培养5d后,观察菌落的生长情况并测量

菌落直径。

1.2.2 香辛料醇提液抑菌效果实验

1.2.2.1 香辛料醇提液的制备 将丁香和桂皮粉末用80%乙醇浸提,提取液经离心后,旋转蒸发浓缩,残余物溶于80%乙醇,分别制成0.5g/mL丁香、桂皮的醇提液^[10]。

1.2.2.2 菌悬液的制备^[11-12] 将供试菌株在各自培养基上活化后,分别用灭菌生理盐水配制成含菌数约 $10^6 \sim 10^7$ 个/mL的菌悬液备用,一般挑取纯化的大小适中的菌落2个,无菌操作,加入9mL生理盐水中,混匀。

1.2.2.3 抑菌作用的测定 采用滤纸片法测定醇提液的抑菌作用^[13-14],每平皿中加入15mL培养基后加入0.3mL菌悬液涂布均匀,用打孔器制备6mm的滤纸片,经121℃、20min高压蒸汽灭菌,在无菌条件下,将滤纸片浸泡于制备好的醇提液中2h,然后用无菌镊子将含有提取液的滤纸片放置于已接种的平板培养基表面,同时做平行实验,并以80%乙醇浸泡过的滤纸片做空白对照,细菌用营养琼脂培养基在37℃下培养1d,酵母菌、霉菌分别用麦芽汁琼脂培养基及马铃薯琼脂培养基在28℃下培养2d后,测量抑菌圈的直径。

2 结果与分析

2.1 不同香辛料粉末对微生物的抑制效果比较

由表1~表3可知,六种香辛料粉末对从低盐酱中分离出的三种主要微生物均有不同程度的抑制作用,且随着浓度的增加,抑菌能力增强,同一种香辛料对不同菌种的抑制浓度不同。在同一浓度下,丁香和桂皮的抑菌效果较为显著($p < 0.05$),并且从表1~表3中可看出,0.05%的丁香粉末能完全抑制细菌和酵母菌的生长,浓度为0.15%时能完全抑制霉菌的

表1 六种香辛料粉末对细菌的抑制效果

Table 1 Inhibitory effect of six spices flour on bacterium

香辛料种类	添加量(%)				
	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
桂皮	201 ^b ±17.69	187 ^c ±11.14	142 ^c ±6.00	76 ^b ±4.58	2.33 ^a ±0.58
花椒	203 ^b ±13.11	174 ^b ±6.00	117 ^b ±13.11	103 ^a ±7.55	32 ^b ±1.73
八角	279 ^a ±2.00	241 ^d ±5.57	218 ^d ±1.73	185 ^d ±8.54	165 ^c ±6.00
丁香	1.33 ^a ±0.58	1.00 ^a ±1.00	0.67 ^a ±0.58	0.33 ^a ±0.58	0.33 ^a ±0.58
茴香	275 ^a ±4.58	268 ^a ±4.58	273 ^a ±10.15	269 ^a ±9.54	263 ^d ±7.55
白胡椒	198 ^b ±2.65	166 ^b ±8.54	105 ^b ±11.14	12 ^a ±1.73	1.67 ^a ±0.58
空白	286 ^c ±3.00	286 ^c ±3.00	286 ^c ±3.00	286 ^c ±3.00	286 ^c ±3.00

注:表中数据为菌落数,为三次实验的平均值±标准差,同一列小写字母不同表示差异显著($p < 0.05$);表2~表3同。

表2 六种香辛料粉末对酵母菌的抑制效果

Table 2 Inhibitory effect of six spices flour on Saccharomycetes

香辛料种类	添加量(%)				
	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
桂皮	63 ^b ±4.58	4.67 ^a ±0.58	1.00 ^a ±1.00	0.67 ^a ±0.58	0.33 ^a ±0.58
花椒	189 ^b ±6.25	105 ^b ±5.13	23 ^b ±2.00	4.00 ^a ±1.00	1.33 ^a ±0.58
八角	235 ^c ±12.49	216 ^c ±2.08	220 ^d ±4.36	198 ^a ±2.65	123 ^c ±7.55
丁香	0.67 ^a ±0.58	0.67 ^a ±0.58	0.67 ^a ±0.58	0.33 ^a ±0.58	0.33 ^a ±0.58
茴香	246 ^d ±4.00	242 ^d ±8.54	245 ^c ±16.37	238 ^d ±7.55	226 ^d ±6.00
白胡椒	167 ^a ±7.55	106 ^b ±5.00	97 ^a ±1.00	66 ^b ±4.58	36 ^b ±1.73
空白	254 ^d ±5.57	254 ^d ±5.57	254 ^d ±5.57	254 ^d ±5.57	254 ^d ±5.57

表3 六种香辛料粉末对霉菌的抑制效果
Table 3 Inhibitory effect of six spices flour on mould

香辛料种类	添加量(%)				
	0.10	0.15	0.20	0.25	0.30
桂皮	15.0 ^a ±1.80	0.67 ^a ±0.58	0.33 ^a ±0.58	0.33 ^a ±0.58	0.33 ^a ±0.58
花椒	20.7 ^b ±0.81	15.2 ^b ±0.72	13.0 ^b ±0.70	1.17 ^a ±1.04	0.67 ^a ±0.58
八角	70.0 ^d ±3.10	69.0 ^d ±2.18	63.5 ^d ±0.78	65.0 ^c ±2.71	60.0 ^d ±0.50
丁香	11.5 ^a ±0.50	0.67 ^a ±0.58	0.67 ^a ±1.15	0.67 ^a ±0.58	0.33 ^a ±0.58
茴香	68.5 ^d ±1.32	66.8 ^d ±1.20	62.1 ^d ±0.66	62.0 ^c ±1.37	56.0 ^c ±1.91
白胡椒	30.2 ^c ±0.98	21.5 ^c ±1.31	18.1 ^c ±1.15	16.0 ^b ±0.92	13.0 ^b ±0.62
空白	74.6 ^e ±0.87	74.6 ^e ±0.87	74.6 ^e ±0.87	74.6 ^e ±0.87	74.6 ^e ±0.87

注:表中数据为菌落直径,为三次实验数据的平均值±标准差,单位为mm。

生长;0.25%的桂皮粉末能完全抑制细菌的生长,浓度为0.10%和0.15%时能分别抑制住酵母菌和霉菌的生长,白胡椒和花椒也有一定抑菌效果,但不如丁香和桂皮明显,其他香辛料抑菌效果则一般,这可能与香辛料的产地、抑菌成分及含量不同有关。根据香辛料的抑菌效果兼顾其对感官品质的影响,选取丁香和桂皮进行下一步研究。

2.2 香辛料醇提液对微生物的抑制

选用丁香和桂皮进行醇提液抑菌效果的研究,由表4、图1~图6可知,丁香和桂皮醇提液对菌种具有选择性的抑制作用,且二者对同一菌种的抑制程度各不相同,丁香醇提液的抑菌效果要优于桂皮醇提液。丁香和桂皮醇提液对酵母菌均显示出很强的抑制作用,如图3、图4所示,浸过提取液的滤纸片周围均没

表4 丁香和桂皮醇提液的抑菌效力

Table 4 Inhibitory effect of clove and cinnamon alcohol extracts

项目	丁香醇提液	桂皮醇提液
细菌	23.7	15.3
酵母菌	28.0	25.2
霉菌	23.5	14.2
总和	75.2	54.7
平均	25.1	18.2

注:表中数据为抑菌圈直径,单位为mm,对照滤纸片直径为6mm。



图1 丁香醇提液对细菌的抑制效果图

Fig.1 Inhibitory effect of clove alcohol extract on bacterium

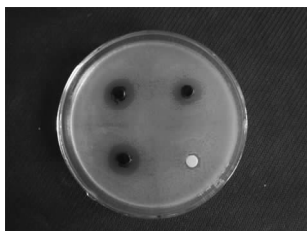


图2 桂皮醇提液对细菌的抑制效果图

Fig.2 Inhibitory effect of cinnamon alcohol extract on bacterium



图3 丁香醇提液对酵母菌的抑制效果图

Fig.3 Inhibitory effect of clove alcohol extract on Saccharomycetes



图4 桂皮醇提液对酵母菌的抑制效果图

Fig.4 Inhibitory effect of cinnamon alcohol extract on Saccharomycetes



图5 丁香醇提液对霉菌的抑制效果图

Fig.5 Inhibitory effect of clove alcohol extract on mould

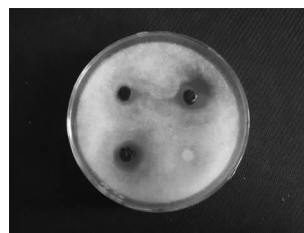


图6 桂皮醇提液对霉菌的抑制效果图

Fig.6 Inhibitory effect of cinnamon alcohol extract on mould

有酵母菌生长,有很明显的抑菌圈,经测量,丁香和桂皮醇提液对酵母菌的抑菌圈直径分别达到28.0、25.2mm。而二者对细菌和霉菌的抑制效果则相差较

大,如图1所示,浸过丁香醇提液的滤纸片周围细菌不生长,有明显抑菌圈;如图5所示,未浸丁香醇提液的空白滤纸片已完全被霉菌覆盖,而浸过丁香醇提液滤纸片的抑菌圈却还很明显,说明丁香醇提液对该种霉菌的抑制效果也很好,经测量,丁香醇提液对细菌和霉菌的抑菌圈直径分别达到23.7、23.5mm。桂皮醇提液对细菌和霉菌的抑制效果如图2、图6所示,浸过桂皮醇提液的滤纸片周围虽然也出现一定的抑菌圈,但却不如图1、图5丁香醇提液的抑菌效果明显,经测量,桂皮醇提液对细菌及霉菌的抑菌圈直径分别为15.3、14.2mm。由于乙醇属于中等极性溶剂,实验结果也初步说明了丁香和桂皮的抑菌成分部分为中等极性成分,但二者抑菌效果存在差异,这可能与丁香和桂皮中起抑菌作用的成分和含量不同有关,如丁香中的抑菌成分主要是挥发油^[16-18],挥发油也称精油,含丁香酚、乙酰丁香酚、丁香烯、水杨酸甲酯、甲基正戊基酮、苯甲醛、乙酸苄酯等,其中主要抑菌成分为丁香酚($C_{10}H_{12}O_2$),而桂皮中的主要抑菌成分资料报道较少,还有待进一步研究。

3 结论

对丁香、花椒、白胡椒、八角、桂皮、茴香六种常见香辛料粉末的抑菌效果进行筛选,实验结果表明六种香辛料粉末均有不同程度的抑菌作用,其中丁香和桂皮的抑菌效果最好,花椒、白胡椒的抑菌效果次之,其他香辛料抑菌效果相对较弱。丁香和桂皮的醇提液也具有不同程度的抑菌效果,得出二者的抑菌成分部分为脂溶性物质,并且丁香醇提液对低盐酱中三种主要微生物的抑制效果要优于桂皮醇提液。

可见,针对食品中的不同微生物,可以选择合适的天然香辛料进行抑菌。该实验仅仅在培养基中进行,还未实际应用到低盐酱中研究,在实际应用中,由于香辛料的辛辣作用,具体用量还需要进一步调整以满足人们的口味。

参考文献

- [1] 赵德安. 发展大豆无盐发酵制品[J]. 中国酿造, 2000(3): 5-7.

- [2] 闫雪,姚卫蓉,钱和,等. 天然食品防腐剂的应用进展[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(2): 140-142.
- [3] 王婷婷,李洪. 香辛料提取物在肉品保鲜中的作用及应用[J]. 食品工业科技, 2010, 31(2): 359-365.
- [4] 张赞彬,郭媛. 香辛料精油抑菌机理研究进展及其在食品保藏中的应用[J]. 中国调味品, 2011, 36(7): 4-10.
- [5] Aydin B D. Investigation of antibacterial effects of some medicinal plants and spices on food pathogens[J]. Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi, 2008, 14(1): 83-87.
- [6] R R Chattopadhyay, S K Bhattacharyya. Phcog Rev: Review Article Herbal spices as alternative antimicrobial food preservatives: An update[J]. Pharmacognosy Reviews, 2007, 1(2): 3-5.
- [7] 刘小莉,周剑忠,孟璐,等. 天然香辛料对叫化鸡中腐败细菌的抑制作用研究[J]. 肉类研究, 2010(8): 49-51.
- [8] 郭红珍,杜鹃,史振霞,等. 几种常见香辛料的抑菌作用研究[J]. 安徽农业科技, 2011, 39(17): 10273-10274.
- [9] 吴传茂,吴周和. 从植物中提取天然防腐剂的研究[J]. 食品科学, 2000, 21(9): 24-27.
- [10] 钱昆,周涛. 复配香辛料醇提液对鲜切莴笋保鲜的研究[J]. 食品工业科技, 2007, 28(4): 204-216.
- [11] 贺红军,姜竹茂,孙承峰. Nisin与香辛料提取液在五香牛肉保鲜中的应用研究[J]. 食品工业科技, 2004, 25(9): 59-61.
- [12] 翟建华,王蓓,刘向欣. 香辛料的常用制备方法及其在食品中的应用[J]. 中国调味品, 2006(9): 9-14.
- [13] 段江莲,徐建国. 桑椹红色素抑菌作用的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(10): 87-89.
- [14] 李传仁,严赞开. 龙柏叶提取物对食品抑菌作用研究[J]. 安徽农业科学, 2005, 33(2): 294-299.
- [15] 张雁南,宁志亮,陈长武,等. 丁香、甘草协同抑菌作用研究[J]. 食品科学, 2010, 31(21): 65-68.
- [16] 高翔. 丁香抑菌作用及其在食品保鲜中的应用[J]. 中国调味品, 2007(12): 21-23.
- [17] 孙卫青. 几种天然香辛料抑菌性能的研究[J]. 湖北农学院学报, 2004, 24(3): 207-209.
- [18] 夏秀芳,孔保华,于长青. 几种天然香辛料提取物延长冷却肉货架期的研究[J]. 食品与机械, 2008, 24(3): 55-59.

(上接第186页)

参考文献

- [1] Sousa M J, Ardo Y, McSweeney P L H. Advances in the study of proteolysis during cheese ripening[J]. International Dairy Journal, 2001(11): 327-345.
- [2] Tannock G W. Probiotics and prebiotics: Where are we going? [M]. Wymondham: Caister Academic Press, 2002: 22-28.
- [3] Zhao R X, Sun J L, Mo H Z, et al. Analysis of functional properties of *Lactobacillus acidophilus* [J]. World J Microbiol Biotechnol, 2007, 23(2): 195-200.
- [4] 赵瑞香,葛晓虹,赵丽丽,等. 嗜酸乳杆菌发酵生产低脂干

- 酪凝乳工艺的优化[J]. 食品工业科技, 2012(7): 158-161.
- [5] 陈钧辉等. 生物化学实验[M]. 第三版. 北京: 科学出版社, 2003.
- [6] Hayaloglu A, Guven M, Fox P F. Influence of Starters on Chemical, Biochemical and Sensory Changes in Turkish White-Brined Cheese During Ripening[J]. J Dairy Sci, 2005, 88: 3460-3474.
- [7] 张富新. 干酪成熟期间蛋白质的降解[J]. 奶和奶品, 1997(1): 50-52.
- [8] 张和平,张列兵. 现代乳品工业手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005.