

果蔬微生物保鲜技术的研究进展

黄应维¹, 徐匆², 马镠², 张长勇¹, 庞旭¹, 罗诗², 胡文锋¹

(1. 华南农业大学食品学院, 广东广州 510642) (2. 东莞市农业科学研究中心, 广东东莞 523079)

摘要: 果蔬保鲜技术的发展, 具有显著的经济和社会效益。然而随着人们对食品安全的普遍关注, 果蔬保鲜产业也有了天然、安全和营养的新要求。微生物保鲜是一种安全、无毒、有效的生物保鲜技术, 应用前景广阔。采用拮抗菌制剂对果蔬进行保鲜可以减少化学合成杀菌剂对人类健康的不良影响, 并有效防止植物病原菌的抗药性。综述了用于果蔬保鲜的微生物种类、保鲜机理及处理方法, 对果蔬微生物保鲜研究作了简单概述, 对目前存在的问题和发展趋势进行了分析, 以期为安全有效的果蔬微生物保鲜剂的开发提供参考。

关键词: 果蔬; 采后保鲜; 微生物保鲜

文章编号: 1673-9078(2013)6-1455-1458

Application of Microbial Preservation Technology in Fruit and Vegetable Preservation

HUANG Ying-wei¹, XU Cong², MA Ke², ZHANG Chang-yong¹, PANG Xu¹, LUO Shi², HU Wen-feng¹

(1. College of Food, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

(2. Dongguan Agricultural Science Research Institution, Dongguan 523079, China)

Abstract: Development of postharvest technology of fruits and vegetables had significant economic and social benefits. However, with the widely attention to the food safety, new requirements for fruits and vegetables were put forward to fresh-keeping industry, which was natural, safety and nutritive. Microbial preservation is a kind of safe, nontoxic and effective bio-preservation technology, having wide application prospect. The application of antagonist preparation in the storage of fresh fruits and vegetables can control postharvest decay, reduce the adverse effect of chemical fungicides to people, and can prevent the resistance of fungi to fungicide. This article reviewed the progression in microbial preservation with the emphasis on the variety; operation way and action mechanism of the microorganism used in bio-preservation technology and analyzed the present situation and future development, which is expected to provide a theoretical reference for the development of biological preservatives for fruits and vegetable.

Key words: fruits and vegetable; postharvest preservation; microbial preservation

新鲜果蔬从采收到出售, 由于自身呼吸作用和病原生物侵染, 致使流通过程中损耗相当严重, 其中侵染性病害是新鲜果蔬腐烂变质的主要原因。国家农产品保鲜工程技术研究中心研究发现, 我国每年生产的水果蔬菜从田间到餐桌, 损失率高达 25~30%, 而发达国家的果蔬损失率则控制在 5% 以下^[1]。目前控制果蔬采后褐变腐烂最有效的手段是化学药剂结合冷冻贮藏法, 但长期大量使用化学杀菌剂会使致病菌产生抗药性, 同时会对人体健康及环境造成危害; 而冷藏保鲜方法成本高, 技术性强且易引起冷害, 难以大范围

收稿日期: 2013-01-07

基金项目: 东莞市高等院校科研机构科技计划项目 (2011108101008)

作者简介: 黄应维 (1987-), 男, 硕士研究生, 应用微生物

通讯作者: 罗诗 (1962-), 男, 研究员, 果蔬保鲜; 胡文锋 (1964-), 男, 副教授, 博士, 应用微生物

推广。因此寻找安全有效且生态友好的保鲜剂技术用于取代化学药剂, 成为产、学、研各界关注的热点。生物保鲜技术具有无毒、无残留、无二次污染、无抗药性等优点, 是实现果蔬无公害保鲜的有效途径, 也是开发新型果蔬生物保鲜防腐剂的发展方向之一^[2]。本文重点阐述了微生物保鲜技术对采后果蔬抑菌防腐的研究进展, 以期为开发果蔬生物保鲜剂提供参考。

1 果蔬微生物保鲜技术的概述

果蔬微生物保鲜技术的作用机理是利用菌体本身及其代谢产物隔离果蔬与空气的直接接触, 从而延缓氧化; 或者通过诱导寄主抗性及其重寄生作用抑制病原菌, 进而达到保鲜与护色效果^[3]。每一种拮抗菌的拮抗作用往往是多重机理共同作用的结果。拮抗菌可以通过多种方式获得, 如果实表面、果蔬叶子表面、土

壤、植株吐水液中等,而对水果蔬菜的主要病害具有明显的拮抗作用的微生物主要筛选于苹果、柑橘、梨和桃等水果中。在国外,果蔬微生物保鲜技术起步较早,目前已有部分拮抗菌制剂投入商业化应用;在国内,拮抗菌的研究起步稍晚,开始的研究主要集中于土壤及植物病害的防治,新世纪以来的研究领域主要集中在柑橘、苹果、葡萄等大宗水果的拮抗菌生物保鲜方面^[4],取得较好的成就。目前技术成熟且被世界公认的微生物防腐保鲜物质有乳酸链球菌素(Nisin)、纳他霉素(Natamycin)和曲酸(Kojic acid)等^[2]。

Nisin是乳酸链球菌产生的一种多肽物质,在人体的生理pH条件和蛋白酶作用下会水解成氨基酸而被人体吸收,不会产生如其他抗菌素一样的抗性,是一种高效、无毒、安全、无副作用的天然食品防腐剂^[5]。纳他霉素能有效减少黄曲毒素、赭曲毒素等真菌毒素给人类造成的危害^[6],且长时间使用也不会导致真菌形成抗性^[7],毒理试验也证明纳他霉素对人体器官没有明显影响^[8],几乎对所有的霉菌及酵母菌都具有极强的抑制力,对其他微生物则无效^[9]。在苹果汁、葡萄汁中加入适量的纳他霉素,6周之内可防止果汁发酵,并保持果汁的原有风味不变^[10]。曲酸是一种弱酸化合物,最早是由斋藤贤道在1907年从蒸米发酵物中发现^[11]。研究表明,曲酸不但对假丝酵母(*Candida oleophila*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)等常见的食品污染菌有良好的抑制作用^[12],还能抑制果蔬的酶促褐变作用^[13]。陈功等^[14]在蔬菜加工时,对曲酸与抗坏血酸、植酸等其他保鲜剂进行了比较,结果表明曲酸具有较好地防腐保鲜作用。

2 微生物拮抗菌保鲜果蔬的特点与作用方式

微生物保鲜是一种以菌治菌的方式,除拮抗菌体本身之外,微生物还能产生抗生素、胞外多糖、细菌素、溶菌酶和有机酸等物质,这些物质或者能形成生物膜,或者能与有害微生物竞争糖类营养成分,甚至能通过拮抗作用抑制或杀灭有害微生物^[15],从而减少微生物腐败作用,降低果蔬呼吸作用,防止了糖含量、维生素和可溶性固形物等营养成分的损失,进而达到防腐保鲜的效果。另外,果蔬生物保鲜剂可以通过调节施用条件或者与其他的生物、非生物方法起协同作用,大幅增强生物防治效果^[16],如结合低量杀菌剂、紫外辐射、盐添加剂等手段,拮抗菌剂的保鲜效果会得到进一步加强^[17]。微生物保鲜果蔬的作用方式主要由微生物菌体保鲜、代谢产物保鲜、多糖保鲜、细菌素保鲜等组成。

2.1 微生物菌体保鲜

微生物菌体自通过拮抗作用、竞争作用能够抑制或杀灭病害菌,从而达到防腐抑菌及保鲜的效果。在微生物保鲜绿茶过程中,先将蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*.Frankland)菌粉以0.1~0.2%的重量比掺入到成品绿茶中,搅拌均匀,真空包装,入库贮存^[18]。在此条件下,菌粉在茶叶表面铺展成薄膜,通过拮抗作用抑制茶叶自身有害菌,从而防止茶叶氧化劣变,达到保质保鲜的目的。周防震等^[19]从几种果实表面分离纯化得到两株酵母拮抗菌L-1-6和H-2,利用拮抗菌的悬浮液处理番茄能显著降低果实的腐烂率、失水率和总损耗率,采后蕃茄早疫病及根霉腐烂病害也明显低于对照,果实营养成分含量和感官品质也没有受到不良影响。彭景贤等^[20]从柑橘果实表面和叶片上分离筛选得到2株对柑橘绿霉病有良好抑制效果的酵母菌,经初步鉴定分别属于假丝酵母属和类酵母属。酵母菌悬液浸泡柑橘果实后发现:柑橘果皮的PAL(苯丙氨酸解氨酶)、POD(过氧化物酶)显著升高,PPO(多酚氧化酶)显著降低,果皮自身的生理生化活动得到有效抑制。在小规模的应用实验中,出芽短梗霉对鲜食葡萄的灰霉病、青霉、匍枝根霉和黑曲霉表现出显著的拮抗作用,对苹果的灰霉病和青霉也一样^[21]。Arun等^[22]也发现,毕赤酵母和假丝酵母对泰国辣椒果实分离得到的炭疽病菌有良好的拮抗作用,应用于辣椒保鲜时,显著降低了病菌感染率和炭疽病发病率。

2.1 代谢产物保鲜

微生物生长不受季节、地域和气候的影响,而且发酵周期短,因此利用微生物代谢产物研究生物保鲜剂具备生产条件简单、产量与质量稳定等优点,有着良好的发展前景。朱天辉等^[23]研究发现枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)水溶性代谢产物能显著抑制血橙褐腐病菌的生长,其效果与施保克、国光保鲜剂等化学药剂相当。乳酸菌是一咱肠道有益菌,其应用在果蔬保鲜过程中时,不但能通过新陈代谢产生许多具有抗菌活性的成分,如有机酸(乳酸、乙酸和丙酸)、乙醇、双乙酰和细菌素等,还能利用原料的可溶性物质代谢从而产生多种氨基酸、维生素和酶等营养物质^[24],既达到了防腐保鲜的目的又提高了食品的营养价值,一举两得,是良好的食品添加剂。蜡样芽孢杆菌发酵液浸泡处理的苹果,在一定程度上防止水分的蒸发,减缓褐变,减少由于霉菌等霉腐微生物的生长而导致的苹果腐烂,减少苹果营养成分(如Vc、糖、蛋白质等)的损失,因而对苹果具有保鲜作用^[25]。刘扬等^[26]从水果果皮上筛选出2株枯草芽孢杆菌,其发酵液在平板上对苹果果实的主要病害菌-扩展青霉(*Penicillium*

expansum) 有较强的抑制作用。将其发酵液应用于苹果保鲜上, 有效抑制扩展青霉病斑的扩大, 且使贮藏苹果的可滴定酸度有一定程度的提高。

2.2 微生物多糖保鲜

微生物多糖是微生物生长过程产生并分泌到胞外的多糖类物质, 现被作为胶凝剂、成膜剂、保鲜剂等广泛应用于食品、制药、化工领域。目前已经大量投产的微生物多糖主要有短梗霉多糖、普鲁兰多糖、黄原胶、结冷胶等。短梗霉多糖水溶液可以在果蔬表面形成透明的薄膜, 该薄膜有较强的硬度及温度变化的稳定性, 且能在果蔬表面形成一个微气调的环境, 延缓果实的呼吸和其他生理代谢活动。普鲁兰多糖因其无味、无嗅、无毒、可食用, 良好的成膜性, 以及优良的隔氧效果, 可用于食品保鲜作用。因此, 利用短梗霉多糖处理果蔬后, 能有效地抑制水果的呼吸作用, 减少了营养的储藏性损耗, 进而达到了良好的保鲜效果^[27]。蜈蚣藻多糖与卡拉胶复配得到涂膜保鲜剂保鲜杨梅, 结果发现, 杨梅果实的裂果率、霉烂率、失重率与呼吸速率明显降低; 有机酸、Vc 等营养成分转化、流失的速度减慢; PPO、POD、PAL 酶活性得到有效抑制, 延缓果实的衰老过程, 保证了商品的品质^[28]。寡糖素水溶性好, 以其处理灵武长枣, 在低温存放 40 d 后, 果实好果率达 80.6%, 与化学防腐剂效果相当, 且不影响维生素 C 含量和水分损耗量, 较好保持果实的品质^[29]。

2.3 细菌素保鲜

细菌素是某些细菌产生的一些蛋白类抗生代谢产物, 有杀菌或者抑菌作用。部分细菌素已广泛地应用于肉类、奶制品、酿酒和粮食加工等领域。目前, 在食品应用中研究得深入的细菌素是乳酸链球菌素 Nisin, 美国已将其用于食品添加剂。辛松林等^[30]研究发现, 采摘后的生菜发现腐烂的部位都是切口部或者叶片表面的细微创口, 而 Nisin 可以有效降低生菜表面一些微小创口被微生物侵染的几率, 延长生菜的货架期, 保持其优良品质。利用 Nisin, EDTA, 乳酸钠, 山梨酸钾等单因素或多因素组合处理被沙门氏菌感染的鲜切哈密瓜, 实验结果表明, 单因素处理抑菌效果远远低于多因素处理, 说明保鲜效果是多种因素复合作用的结果。而 Nisin 与 EDTA 组合显著抑制了接种于鲜切哈密瓜上的沙门氏菌的生长, 感观性能良好, 外观、气味、切片的整体感受都得到较好的维持^[31], 取得良好的保鲜效果。

3 岭南特色水果生物保鲜剂研发现状

岭南特色水果中最知名的当属荔枝和龙眼, 它们

不但美味可口且营养丰富, 皆有“果中珍品”之称。但两者皆成熟于高温高湿的夏季, 果实生理代谢旺盛, 在自身酶和病原菌侵染的双重作用下采收后极易褐变腐烂。目前常采用物理与化学方法进行荔枝和龙眼保鲜, 但物理保鲜成本高昂, 化学保鲜有药物残留, 且保鲜效果皆不太理想。研制荔枝和龙眼生物保鲜剂符合食品安全的发展趋势。张福星等^[32]从真菌与放线菌等发酵液中提炼萃取得到一种生物保鲜剂 fb313, 稀释后对荔枝果实进行浸蘸风干, 在(30±5) °C 条件下贮藏。结果表明, 生物保鲜剂可以有效减缓果实的水分损失, 还在一定程度上抑制了真菌类为主的病害菌的侵袭, 取得良好的保鲜效果。车建美等^[33]从福建省永泰县的西瓜根际土壤分离得到一株短短芽孢杆菌 FJAT-0809-GLX 作为微生物保鲜菌。微生物保鲜菌发酵液水溶液稀释五十倍后处理龙眼果实, 结果显示, “福眼”、“石硖”龙眼果实采收后在室温 28~32 °C、相对湿度 60~75% 下贮藏 5 d, 好果率分别为 83.33% 和 86.67%, 保鲜效果极其显著。随着消费者对食品安全问题的重视, 研制无毒无残留的生物保鲜剂尤为重要。

4 存在的问题和未来的研究展望

4.1 存在问题

因为微生物具有繁殖快, 生长周期短, 适应性强, 不受季节限制, 易优化培养等优点, 所以微生物保鲜技术不但生产工艺简单、成本低廉, 而且还具有源于天然、安全、无毒等优势。虽然我国在微生物保鲜技术研究方面也存在不少问题。一是由于拮抗菌剂产品的保鲜效果与制取工艺、使用方法及果蔬的生理状况等都有着密切关系, 故也存在保鲜效果不稳定的弊端; 二是新型微生物保鲜技术方面存在研究与生产脱节问题, 技术转化商业应用慢, 推广性差; 三是我国批准使用的微生物来源保鲜剂只有乳酸链球菌素和纳他霉素等少数几种, 发展缓慢, 品种单一; 四是微生物提取成分较为复杂, 其中的保鲜成份不够明确, 详细的保鲜机理与机制还需要进一步研究确定; 五是研究开发成本较高, 要像化学保鲜剂一样大规模生产应用尚要时间; 六是大部分的拮抗菌保鲜剂都是活体菌剂, 研究成果容易被窃取, 复制, 不利于拮抗菌剂产品的研发, 推广和商业化运作。因此, 在拮抗菌保鲜剂的开发及商业化的过程中, 一方面要规范拮抗菌制取工艺、生产流程, 另一方面要建立起健全的管理体制和专利保护机制。

4.2 展望

随着人们生活水平的提高, 人们对果蔬等食品的要求已经由传统的“数量消费”转向“质量消费”, 更

加关注的是安全环保、新鲜营养、洁净方便的果蔬产品。生物技术保鲜果蔬具有源于天然、安全、无毒的优点,较常规的化学物质保鲜有无可比拟的优势。所以,开发高效、低毒、安全的生物果蔬保鲜剂极具潜力,有广阔的发展空间。

参考文献

- [1] 王安建,侯传伟,魏书信. 生物技术在果蔬保鲜中的应用研究进展[J]. 河南农业科学, 2009, 9: 171-173
- [2] 李鹏霞,张兴. 生物源保鲜剂研究评述[J]. 西北林学院学报, 2006, 21(3): 120-123
- [3] 熊涛,乐易林. 生物保鲜技术的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2004, 2: 111-114
- [4] 裘纪莹,王未名,陈建爱,等. 拮抗菌在果蔬保鲜中的应用研究进展[J]. 食品工业科技, 2009, 5: 334-336
- [5] King A D, Magnuson J A, Török T, et al. Microbial flora and storage quality of partially processed lettuce [J]. *Journal of food science*, 2006, 56(2): 459-461
- [6] O'Day D M, Head W S. Advances in the management of keratomycosis and Acanthamoeba keratitis [J]. *Cornea*, 2000, 19 (5): 681-687
- [7] Jani B R, Rinaldi M G, Reinhart W J. An unusual case of fungal keratitis: *Metarrhizium anisopliae* [J]. *Cornea*, 2001, 20 (7): 765-768
- [8] Kaliuzhnaia L D, Murzina E A. An evaluation of the efficacy of Pimafucin in candidiasis of the skin and mucous membranes [J]. *Likars' ka sprava/Ministerstvo okhorony zdorov'ia Ukraïny*, 1997, 5: 158
- [9] 张新富,龚加顺,胡小静. 天然食品防腐剂 Natamycin 的生产工艺及应用[J]. 现代食品科技, 2005, 2: 225-226
- [10] 丁立孝,何国庆,孔青,等. 微生物防腐剂在食品工业中应用现状及发展前景[J]. 粮油加工与食品机械, 200, 11: 29-32
- [11] 张理珉,程立忠,陆和生. 发酵液中曲酸的提取方法比较[J]. 生物技术, 2000, 5: 44-46
- [12] 苏国成,汤凤霞,杨秋明,等. 曲酸对常见食品污染菌的抑制作用[J]. 食品与发酵工业, 2005, 3: 47-51
- [13] 赵新河,李枚秋,钟秋平. 曲酸及其衍生物的研究进展[J]. 中国酿造, 2007, 10: 4-7
- [14] 陈功,余文华,徐德琼,等. 天然保鲜剂在净菜加工中的应用研究[J]. 食品工业科技, 2005, 6: 81-83
- [15] 王林,胡云,胡秋辉. 食品的微生物保鲜技术[J]. 食品科学, 2005, 2: 242-244
- [16] El Ghaouth A, Wilson C, Wisniewski M, et al. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables [J]. 2002, 2: 219-238
- [17] Sharma R R, Singh D, Singh R. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: A review [J]. *Biological Control*, 2009, 50(3): 205-221
- [18] 王国芬. 绿茶生物保鲜技术[J]. 中国茶叶, 1997, 5: 26
- [19] 周防震. 番茄采后病害拮抗酵母菌的筛选和应用[D]. 武汉: 华中农业大学, 2004
- [20] 彭景贤. 酵母菌对柑橘采后病害的生物防治及防治机理的研究[D]. 福州: 福建农林大学微, 2006
- [21] Castoria R, De Curtis F, Lima G, et al. *Aureobasidium pullulans* (LS-30) an antagonist of postharvest pathogens of fruits: study on its modes of action [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2001, 22(1): 7-17
- [22] Chanchaichaovivat A, Ruenwongsa P, Panijpan B. Screening and identification of yeast strains from fruits and vegetables: Potential for biological control of postharvest chilli anthracnose (*Colletotrichum capsici*) [J]. *Biological Control*, 2007, 42(3): 326-335
- [23] 朱天辉,杨佐忠,李姝江,等. 枯草芽孢杆菌水溶性代谢产物及对血橙防腐保鲜效果[J]. 林业科学, 2010, 1: 68-72
- [24] 冉艳红,杨春哲,黄雪松. 乳酸菌在果蔬加工中的应用现状与前景[J]. 中国调味品, 2000, 6: 10-13
- [25] 黄运红,王俊明,龙中儿. 蜡样芽孢杆菌发酵液对苹果保鲜作用的初步研究[J]. 食品科学, 2006, 11: 516-519
- [26] 刘杨,张海予. 扩展青霉拮抗细菌发酵液在苹果保鲜中的应用[J]. 河南农业科学, 2011, 40(8): 172-176
- [27] 王长海,臧丽华,鞠宝,等. 短梗霉多糖在水果保鲜方面的应用研究[J]. 生物技术, 1999, 9(1): 46
- [28] 郭守军,叶文斌,杨永利,等. 蜈蚣藻多糖与卡拉胶复合涂膜保鲜剂对杨梅常温贮藏的影响[J]. 食品科学, 2010, 18: 394-400
- [29] 郭红莲,宋巍,孙媛媛,等. 真菌寡糖素对灵武长枣的防腐保鲜效果研究[J]. 现代食品科技, 2011, 5: 515-516
- [30] 辛松林,秦文,王艳,等. 乳酸链球菌素在生菜保鲜中的应用[J]. 中国食品添加剂, 2007, 2: 174-176
- [31] Ukuku D O. Effect of nisin in combination with EDTA, sodium lactate, and potassium sorbate for reducing *Salmonella* on whole and fresh-cut cantaloupe [J]. *Journal of Food Protection*, 2004, 67(10): 2143-2150
- [32] 张福星,蒋炳生,洪春来,等. 生物保鲜液常温荔枝保鲜的效果[J]. 安徽农业科学, 2002, 1: 125-127
- [33] 车建美,苏明星,郑雪芳,等. 保鲜功能微生物 FJAT-0809-GLX 对龙眼果实保鲜方法的优化[J]. 中国农学通报, 2011, 23: 135-139

现代食品科技