

超高压处理对芥菜制品与生鲜猪肉杀菌效果的研究

Study on sterilizing effect of ultra high pressure treatment on
mustard products and fresh pork

肖华志¹ 吕洪波² 贾恺¹ 李丽¹ 李琳¹

XIAO Hua-zhi¹ LV Hong-bo² JIA Kai¹ LI Li¹ LI Lin¹

(1. 天津大学农业与生物工程学院, 天津 300072; 2. 天津市华泰森淼生物工程有限公司, 天津 300384)

(1. Agriculture & Bioengineering College, Tianjin University, Tianjin 300072, China;

2. Tianjin Huatai Semiao Engineering and Technique Co., Ltd, Tianjin 300384, China)

摘要:以芥菜制品、生鲜猪肉及其经大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌人工污染的样品为对象,分别经过 200 MPa, 10 min, 400 MPa, 10 min, 600 MPa, 5 min, 600 MPa, 10 min, 600 MPa, 15 min, 600 MPa, 20 min 的超高压处理,测定处理前后的菌落总数。结果表明:试验条件的超高压处理对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的杀灭效果很好,残活率最大下降了 8.48、5.90 对数;对生鲜猪肉和芥菜制品中的微生物具有较好的杀灭效果,残活率最大下降了 3.45、3.57 对数。
关键词:超高压;芥菜;猪肉;杀菌

Abstract: Mustard products and fresh pork, which were contaminated with *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus subtilis*, were treated by Ultra High Pressure (UHP) with different pressure and time, such as 200 MPa & 10 min, 400 MPa & 10 min, 600 MPa & 5 min, 600 MPa & 10 min, 600 MPa & 15 min, 600 MPa & 20 min. The aerobic plate count was determined before and after these treatments. The results showed that under the experimental condition, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* were inactivated significantly by UHP treatment, and the fraction of surviving cells were maximally 8.48 and 5.90 log reduction, respectively. Bacteria in Mustard products and fresh pork were inactivated effectively by UHP treatments, and the fraction of surviving cells were maximally 3.45 and 3.57 log reduction, respectively.

Keywords: Ultra high pressure; Mustard; Pork; Sterilization

食品经高压处理后可以杀死微生物,使蛋白质变性,淀粉糊化,酶失活等^[1],较完整地保留了香味和多种维生素小分子物质^[2,3];同时高压处理的压力可以瞬间均匀地传到食品的中心,原料无大小和形状的限制^[4,5]。超高压技术具有延长食品的保藏时间,避免或减少了加热处理和食品添加剂的使用,比加热处理所消耗的能量低,不污染环境等优点,已

在国外广泛使用,并已产业化。如在日本超高压加工的果酱 1990 年就进入超市,后又生产出果冻,水果汁和酸乳酪等。我国近年来也开展了大量的研究,逐步出现了一些食品超高压加工、杀菌、保鲜的专利技术,但基本上都是应用于液态食品。

本试验选用植物性食品、芥菜制品和动物性食品、生鲜猪肉为研究对象。芥菜制品为叶菜类蔬菜制品,属于含水量大的低酸性食品,常压加热杀菌很难达到满意的保藏效果,且加热造成的色、香、味、形的损失使商品价值大打折扣。生鲜猪肉营养丰富,同时也是微生物的良好培养基,极易腐败变质,因而,肉类食品的保鲜及卫生安全性是长期以来亟待解决的问题^[6]。常规加热处理破坏其生鲜状态,而高压处理能够在不破坏肉类风味和营养成分的前提下,延长肉类制品的保藏期^[7]。另选择 3 种典型代表菌大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢,分别为革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌、产芽孢菌,进行纯培养并人工污染芥菜制品、生鲜猪肉。研究超高压处理的杀菌效果,为高压杀菌技术在固态食品上的应用作一些基础性研究。

1 材料与方法

1.1 样品的准备

1.1.1 菌种培养时间的确定 采用金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和枯草芽孢杆菌为处理目标微生物,菌种活化后,接入牛肉膏蛋白胨液体培养基,振荡培养 24 h (37 ℃, 150 r/min),每隔 2 h 测定 600 nm 处 OD,绘制生长曲线。以此确定细菌的液体培养时间。

由图 1 可见,3 种细菌在 12 h 之后 OD 值基本趋于稳定,进入稳定期。因此,确定 3 种细菌的液体培养时间均为 12 h。

作者简介:肖华志(1976-),女,天津大学农业与生物工程学院食品科学系讲师。E-mail: xiao@tju.edu.cn

收稿日期:2006-09-28

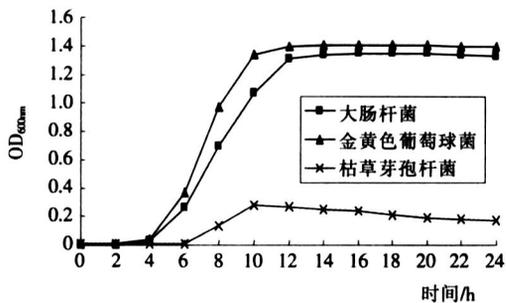


图 1 3种细菌的生长曲线

1.1.2 纯培养菌液的准备 金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和枯草芽孢杆菌液体振荡培养 12 h(37 ℃, 150 r/min), 3种纯培养菌液各取 1 mL装袋, 准备若干袋, 封口备用。

1.1.3 食品样品准备

市售新鲜芥菜: 选择叶片 清洗 切碎 热烫(80~90 ℃热水, 2~4 s) 冷却, 沥水 拌盐(原料重的 3%) 沥水 装袋(20 g/袋, 其中一半样品进行菌液人工污染) 抽真空包装 冷藏

市售新鲜猪里脊肉: 绞肉机破碎 装袋(20 g/袋, 其中一半样品进行菌液人工污染) 抽真空包装 冷藏

为了保证所有试验样品中微生物的种类和数量一致, 试验用食品样品均一次性制备。

1.1.4 食品样品的人工污染 金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和枯草芽孢杆菌液体振荡培养 12 h(37 ℃, 150 r/min), 3种菌液等量混匀, 在一半的食品样品中每袋加入 1.000 mL混合菌液, 封口备用。

1.2 试验设备

HPB-A2-600/0.4超高压生物处理试验机: 天津市华泰森森生物工程技术有限公司研制生产。

1.3 试验方法

1.3.1 食品样品的超高压处理 参照以往超高压对微生物的杀灭作用的研究文献, 对生鲜猪肉、芥菜制品及其人工污染样品、3种纯培养菌种进行压力梯度为 200, 400, 600 MPa的处理, 200, 400 MPa各处理 10 min, 600 MPa处理的时间梯度设计为 5, 10, 15, 20 min, 同种样品各处理条件下同时处理 4袋, 其中 1袋用于感官观察, 3袋用于微生物数量的测定。

1.3.2 微生物数量测定 所有样品在超高压处理前后均采用平板计数法(GB4789.2—94)进行菌落计数, 各处理重复测定 3次。杀菌效果采用残活率来表示^[8], 即表示处理后比处理前微生物数量下降了几个对数周期。残活率计算采用公式为:

$$S = -lg[N/N_0]$$

式中:

N——超高压处理后的菌落总数, cfu/mL;

N₀——超高压处理前的菌落总数, cfu/mL。

2 结果与分析

2.1 超高压处理对纯培养菌液的杀菌效果

由图 2可知, 试验条件下的几种超高压处理对不产芽孢的大肠杆菌和金黄色葡萄球菌杀灭效果很好, 而对枯草芽孢杆菌几乎没有杀灭作用。对相同压力(600 MPa)不同时间(5, 10, 15, 20 min)处理的杀菌效果比较发现: 大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的残活率随时间的增加而降低, 对革兰氏阴性菌的杀灭效果优于革兰氏阳性菌。对相同时间(10 min)不同压力(200, 400, 600 MPa)处理的杀菌效果的比较发现: 大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的残活率随压力的增加而降低, 对革兰氏阴性菌的杀灭效果优于革兰氏阳性菌。总之, 超高压处理的压力越大, 时间越长, 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的杀灭效果越好。

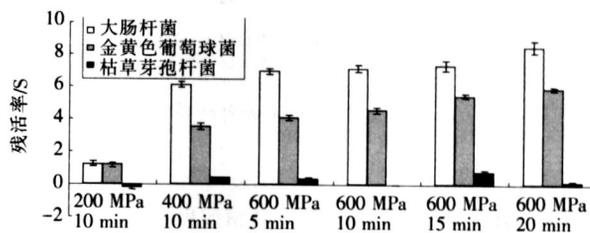


图 2 超高压处理对纯培养菌液的杀菌效果

2.2 超高压处理对芥菜制品的杀菌效果

由图 3可知, 超高压处理对芥菜制品及其人工污染样品中的微生物杀灭效果显著, 仅 200 MPa, 10 min处理就取得了较好的杀菌效果, 残活率分别下降了 2.38、3.57个对数; 继续增大压力或延长保压时间, 残活率分别稳定在 -2.2~-2.6、-3.2~-3.4个对数。高压杀死微生物所需时间与压力高低、微生物种类及数量、微生物所处基质的营养状况、压力处理时的温度等诸多因素有密切关系^[9]。本试验发现: 原始菌数的数量对杀菌效果有影响。人工污染样品超高压处理前的原始菌数较高, 同样压力、时间的杀菌处理后, 微生物残活率下降值大于未经人工污染的样品。

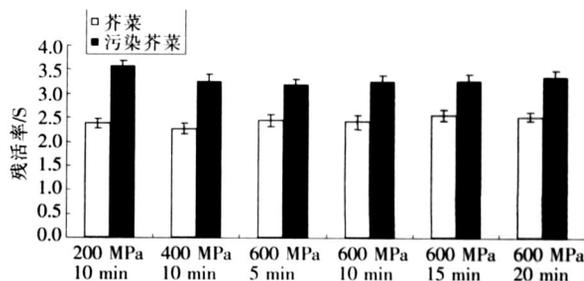


图 3 超高压处理对芥菜制品的杀菌效果

2.3 超高压处理对生鲜猪肉的杀菌效果

由图 4可知, 超高压处理对生鲜猪肉及其人工污染样品中的微生物杀灭效果显著, 仅 200 MPa, 10 min处理时, 菌落总数稍有上升。对相同压力(600 MPa)不同时间(5, 10, 15, 20 min)处理的杀菌效果的比较发现: 残活率随时间的增加

而降低;对相同时间(10 min)不同压力(200, 400, 600 MPa)处理的杀菌效果的比较发现:残活率随压力的增加而降低。600 MPa, 20 min处理杀菌效果最好,生鲜猪肉及其人工污染样品中的微生物的残活率分别下降了 2.98、3.45 个对数。原始菌数的数量对杀菌效果也有影响,人工污染样品超高压处理前的原始菌数较高,同样压力、时间的杀菌处理后,微生物残活率下降值大于未经人工污染的样品。这与芥菜制品具有相似的规律。

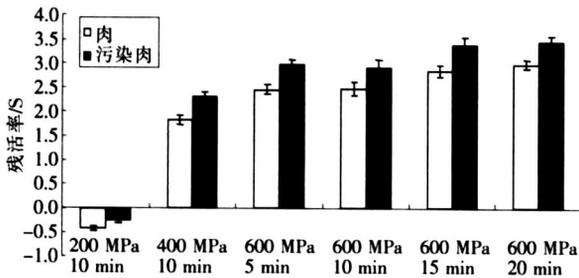


图 4 超高压处理对生鲜猪肉的杀菌效果

3 讨论

3.1 超高压处理对纯培养菌液的杀菌效果

试验表明:超高压处理对非芽孢细菌的杀灭效果较明显,尽管微生物情况和实验条件不同,细菌、霉菌、酵母等营养细胞在 300 ~ 400 MPa均被杀死,保压压力加大和保压时间增长,杀菌效果将会更好。大肠杆菌属于革兰氏阴性菌,由于革兰氏阴性菌细胞与革兰氏阳性菌细胞相比,细胞壁结构更复杂而且厚度小,高压更容易影响、破坏其细胞壁结构,其细胞代谢功能更容易被干扰,从而影响此类菌的生存。也就是说,革兰氏阴性菌比革兰氏阳性菌对压力更敏感、更容易致死^[10]。

本试验条件下的超高压处理(600 MPa,持续静压)对枯草芽孢杆菌几乎没有杀灭作用。枯草芽孢杆菌的孢子因其特殊的结构而在常温下具有非常高的耐压性,有研究认为某些压力下甚至可能诱发芽孢发芽,导致菌落总数增加。在 45 ~ 60 加温时 600 MPa可将其杀死,这时食品的物性和风味比纯加热的变化要小得多^[11]。还有研究表明:在 60 MPa、70 的 6 个循环加压可完全杀灭芽孢,如果持续同一压力条件,就达不到理想效果^[12]。因此,脉动加压、结合中温或 1 000 MPa以上处理对芽孢的杀灭效果较好,有待于进一步研究。

3.2 超高压处理对芥菜制品的杀菌效果

芥菜制品及其人工污染样品经过 200 MPa, 10 min处理就得到了显著的杀菌效果,残活率分别下降了 2.38、3.57 个对数;但试验中 600 MPa处理时,随着保压时间的延长,对于食品样品,尤其是芥菜制品,微生物的杀灭效果并没有明显提高。可能是由于大部分对压力敏感的微生物已经被杀死,残活的是一些耐压微生物^[13]。对细菌耐压性的确定,需要进一步开展试验研究鉴别。

3.3 超高压处理对生鲜猪肉的杀菌效果

超高压对蛋白质的一级结构没有影响,对二级结构有稳定作用,对三级和四级结构影响很大。通常,在 100 ~ 200 MPa压力下,蛋白质的变性是可逆的,超过 300 MPa后,出现不可逆变性,即蛋白质的立体结构遭到破坏,显现出沉淀、凝固、凝胶化等“熟化”特征^[14]。在试验中,当压力达到 400 MPa时,确实出现了肉制品的变性熟化现象,有悖于保持生鲜状态的初衷,处理一般不宜超过 400 MPa。但如果是熟肉制品,处理的压力可进一步提高。超高压处理还可能替代传统的加热熟化过程而成为加工手段,这是因为超高压处理不仅能杀灭微生物,还能改善生物多聚体的结构和制品的功能性质^[15]。

3.4 超高压技术在食品工业上的应用前景

样品高压处理时入缸温度为 25 ,出缸时由于瞬间卸压降温至 13 ~ 19 ,属于低温条件下灭菌处理,如果能结合一定程度的热处理和少量防腐剂,可能达到商业无菌的要求。本试验还观察到,超高压处理的生鲜猪肉,延长了常温下的货架期 2 ~ 3 d,这对肉制品的商品流通具有潜在的应用价值。

食品中采用超高压杀菌在很大程度上还取决于食品成分和其它食品属性如酸碱度、水分活度等因素。因此,我们在实际应用超高压技术时,要进行具体研究后再对某种特定食品的安全保藏进行合理的超高压处理设计^[15]。对于生鲜猪肉和芥菜制品等固态食品杀菌处理,最适当的加工工艺参数有待于进一步研究。总之,随着对其杀菌机理的深入探讨和技术的逐步完善,超高压作为新兴的冷杀菌和食品加工技术,在食品工业中的应用将日臻成熟。

参考文献

- 1 Dietrich K. Novel approaches in food-processing technology: new technologies preserving foods and modifying function[J]. Current Opinion in Biotechnology, 1999, 10(5): 485 ~ 491.
- 2 Pan J, Zhang W C, Chen C G, et al. Study on ultra high pressure sterilization practical procedure and equipment on beverage [J]. Transaction of the Chinese Society of Agriculture Engineering, 2000, 16(1): 125 ~ 128.
- 3 Tauscher B. Pasteurization of food by hydrostatic high pressure chemical aspects[J]. Lebensmittel Forsch, 1995(200): 3 ~ 13.
- 4 Chefel J C. Review: High-pressure, microbial inactivation and food preservation[J]. Food Sci Technol Int, 1995(1): 75 ~ 90.
- 5 Dietrich K. Effects of High Hydrostatic-pressure processes on food safety and quality[J]. Food Technology, 1993(6): 156 ~ 161.
- 6 孙承锋,戴瑞彤,曲富春,陈斌. 微生物与肉类食品的腐败 [J]. 肉类研究, 2001(1): 32 ~ 35.
- 7 马汉军,赵良,潘润淑,周光宏. 高压对肉类基本成分的影响 [J]. 食品与机械, 2006(3): 150 ~ 152.

(下转第 80 页)

在本试验各因素水平范围内,提取次数对黄酮提取量和提取物以黄酮计的清除 DPPH 的 IC_{50} 值的影响均极显著;提取剂乙醇浓度对黄酮提取量的影响极显著、对提取物以黄酮计的清除 DPPH 的 IC_{50} 值的影响显著;提取温度、每次提取时间对黄酮提取量的影响不显著、对提取物以黄酮计的清除 DPPH 的 IC_{50} 值的影响显著;料液比对黄酮提取量的影响显著、对提取物以黄酮计的清除 DPPH 的 IC_{50} 值的影响不显著。分析各因素最佳水平顺序,以黄酮提取量为主,提取物以黄酮计的清除 DPPH 的 IC_{50} 值为次参考指标,可以得到在本试验条件下提取的最佳工艺: $A_4B_3C_1D_1E_4$,即称取 25 g 原料,以料液比 1:10 加入 70% 乙醇溶液,在 50 ℃ 下每次超声提取 60 min,提取 4 次。

2.7 最佳实验条件的验证

为进一步验证最佳工艺条件,进行验证试验,即在最佳工艺条件:称取 25 g 原料,以料液比 1:10 加入 70% 乙醇溶液,在 50 ℃ 下每次超声提取 60 min,过滤,提取 4 次,合并滤液测黄酮含量和以黄酮计的清除 DPPH 的 IC_{50} 值,结果见表 5。

表 5 最佳工艺条件验证结果

试验号	总黄酮提取量 ($mg \cdot g^{-1}$)	总黄酮清除 DPPH 的 IC_{50} ($mg \cdot L^{-1}$)
1	22.3231	19.2889
2	22.1038	18.9764
平均	22.2134	19.1327

由表 5 可见最佳工艺条件下,香椿叶黄酮提取量大于正交试验的 16 组数据,为试验条件下黄酮的最佳提取工艺,在此条件下提取物以黄酮计的清除 DPPH 的 IC_{50} 值为 19.1327。

3 结论

在超声强化条件下提取香椿叶黄酮时,提取剂乙醇浓度、料液比是影响黄酮提取量的主要因素,提取次数对黄酮

提取量有一定的影响,提取温度、每次提取时间对黄酮提取量的影响较小;而对提取物以黄酮计的清除 DPPH 的 IC_{50} 值,提取次数是主要影响因素,提取剂乙醇浓度、提取温度、每次提取时间有一定的影响,而料液比则影响较小。

参考文献

- 余超波. 森林蔬菜——香椿 [J]. 植物杂志, 1998(1): 7.
- 王新生. 几种常见野菜的药物与食疗 [J]. 中国野生植物资源, 1995(3): 57.
- 火树华主编. 树木学 (第 3 版) [M]. 北京: 中国林业出版社, 1990, 375~377.
- 夏廉法, 柴冬梅, 陈丛梅, 等. 植物生长调节剂在香椿日光温室生产中的应用研究 [J]. 河南农业大学学报, 2001(35): 33~35.
- 陈铁山, 罗忠萍, 崔宏安, 等. 香椿化学成分初步研究 [J]. 陕西林业科技, 2000(2): 1~2, 22.
- 徐任生主编. 天然产物化学 [M]. 北京: 科学出版社, 2004, 9.
- 郭孝武, 吉晓芹, 杜仲叶中总黄酮物质超声提取的研究 [J]. 西北植物学报, 2003, 23(11): 1984~1987.
- 王延峰, 李延清, 郝永红, 等. 超声法提取银杏叶黄酮的研究 [J]. 食品科学, 2002, 23(8): 166~167.
- 周桂, 邓光辉, 梁达文. 超声波法水提取山楂叶中黄酮的研究 [J]. 西南农业大学学报, 2005, 27(5): 605~607.
- 许钢, 张虹, 胡剑. 竹叶中黄酮的提取研究 [J]. 食品与机械, 1999(6): 23~24.
- 周燕芳, 丁利君. 超声波辅助提取艾叶黄酮的工艺研究 [J]. 食品与机械, 2006, 22(4): 39~41.
- 丁彩梅, 曾荣华, 丘泰球, 等. 香椿叶黄酮类化合物超声强化提取研究 [J]. 中成药, 2005, 27(12): 1390~1392.
- 陈丛瑾, 黄克瀛, 李德良, 等. 香椿叶提取物清除 DPPH 自由基的测定方法 [J]. 林产化学与工业, 2006, 26(3): 69~72.
- 陈丛瑾, 黄克瀛, 李德良, 等. AICB 显色分光光度法测定香椿叶总黄酮的含量 [J]. 分析实验室, 2006(12): 91~94.

(上接第 38 页)

- 廖小军. 高压脉冲电场系统设计及其杀菌灭茵效果与对苹果汁品质影响研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2004.
- 何锦凤, 钱平, 夏俊超. 果蔬罐头高压杀菌研究 [J]. 食品与机械, 1997(4): 12~13.
- 潘见, 曾庆梅, 谢慧明, 杨毅. 西瓜汁的超高压杀菌研究 [J]. 高压物理学报, 2004, 18(1): 70~74.
- 肖庆升. 食品加压杀菌及相关技术 [J]. 食品研究与开发, 2004, 25(4): 43~48.

- Isao Hayakana, tomohisa kinno. Application of high pressure for spore inactivation and protein denaturation [J]. Journal of Food Science, 1994(1): 156~159.
- 马永昆, 陈计彦, 胡小松. 超高压鲜榨哈密瓜汁加工工艺技术的研究 [J]. 食品工业科技, 2004, 25(4): 75~77.
- 李志义, 刘学武, 张晓冬, 等. 液体蛋的超高压处理 [J]. 食品研究与开发, 2004, 25(4): 94~97.
- 林淑英, 宁正祥, 郭清泉. 超高压对食品中微生物的影响及应用 [J]. 粮油食品科技, 2003, 11(4): 22~23.