

胡萝卜汁中大肠杆菌脉冲式超高压杀菌动力学研究^{*}

胡菲菲 朱瑞 杨楠 于勇 和劲松 朱松明

(浙江大学生物系统工程与食品科学学院, 杭州 310058)

摘要:以鲜榨胡萝卜汁为原料,利用脑心浸液琼脂和紫红胆盐琼脂两种培养基,分别研究了脉冲式超高压(300~600 MPa,1~4个脉冲)对大肠杆菌的致死和致伤效应,并获得了脉冲式超高压对大肠杆菌的杀菌动力学特性。研究表明,随着处理压力的升高和脉冲数的增加,大肠杆菌的致伤和致死效果均显著增强。且当压力在400 MPa以上时,增加脉冲次数的杀菌效果更为明显。500 MPa处理2个脉冲和600 MPa处理1个脉冲即可将胡萝卜汁中7.8个数量级浓度的大肠杆菌全部致死。此外,脉冲式超高压处理对胡萝卜汁中大肠杆菌的致伤和致死效果均符合一级动力学。通过建模分析表明,对致死效果而言,300、350和400 MPa下每3.95、1.76和0.83个脉冲可使大肠杆菌的检出量下降一个数量级,而要达到相同致死效果,并使脉冲数下降一个数量级所需要提高的压力为229 MPa;对致伤效果而言,300、350和400 MPa下每1.68、1.26和0.48个脉冲可使大肠杆菌的检出量下降一个数量级,而要达到相同致伤效果,并使脉冲数下降一个数量级所需要提高的压力为206 MPa。

关键词:胡萝卜汁 大肠杆菌 超高压 脉冲 动力学

中图分类号: TS201.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2014)01-0178-06

引言

由于胡萝卜生长、收获和胡萝卜汁加工过程中,不可避免地含有大肠杆菌等致病微生物,极易引发食品安全问题^[1],因此,杀菌是胡萝卜汁及其衍生产品在实际生产中必不可少的加工环节。现有的杀菌方法以传统热杀菌为主,但高温处理不仅破坏胡萝卜汁的颜色和风味,还严重损害其营养价值,因此寻求胡萝卜汁有效的非热杀菌技术非常有必要。

超高压处理被认为是保留热敏性果蔬汁颜色和风味的有效杀菌方法,按照处理方式可分为恒压式和脉冲式。其杀菌效果主要受果蔬种类、微生物种类、pH值、水分活度等因素以及加工条件等的影响。近年来国内外有不少研究利用超高压对果蔬汁进行灭菌,如树莓汁^[2]、苹果汁^[3]、草莓汁^[4]、猕猴桃汁^[5]等,均得到良好的杀菌效果。但大多研究采用恒压式超高压处理,脉冲式超高压杀菌处理的研究还很少,更罕有脉冲式超高压杀菌动力学方面的研究报道^[6]。

脉冲式超高压由升压、降压及几个压力脉冲组成,在处理模式上与恒压式超高压处理有很大的差异。有研究表明,脉冲式超高压处理可以强化升压、

降压对生物的特殊胁迫作用,因此可以提升对微生物的致伤和致死效率,缩短超高压加工的处理时间^[7]。

此外,杀菌技术的杀菌效果研究还会受到菌落计数方式的影响。目前,紫红胆盐琼脂培养基(VRBA)是常用的大肠杆菌培养基,它是一种选择性培养基,其选择性成分使得致伤但未致死的细菌也无法生长,用该培养基得到的计数结果仅为健康的大肠杆菌数。而脑心浸液琼脂培养基(BHIA)也是一种大肠杆菌培养基,它是一种非选择性培养基,其丰富的营养成分可使致伤但未致死的大肠杆菌修复并生长,用该培养基得到的计数结果为致伤但未致死和健康的大肠杆菌数^[8]。因此,采用不同的培养基进行大肠杆菌杀菌处理后的菌落计数,所得的杀菌效果会有所不同。然而相关的对比研究在超高压杀菌处理,尤其是脉冲式超高压杀菌处理的杀菌效果方面还很少。

为此,本文采用BHIA和VRBA两种培养基,分别研究不同的脉冲式超高压处理条件对胡萝卜汁中大肠杆菌的致死和致伤效应,获得其杀菌动力学特性,为胡萝卜汁等果蔬汁加工及脉冲式超高压的产业化应用提供理论基础。

收稿日期:2013-01-17 修回日期:2013-02-28

^{*} 国家高技术研究发展计划(863计划)资助项目(2011AA100800)和浙江省自然科学基金重点项目(Z3090301)

作者简介:胡菲菲,博士生,主要从事农产品超高压加工技术研究,E-mail:hffdtc@zju.edu.cn

通讯作者:朱松明,教授,博士生导师,主要从事农产品非热加工技术与装备研究,E-mail:zhusm@zju.edu.cn

1 材料与方法

1.1 胡萝卜汁的制备

胡萝卜(购自当地沃尔玛超市)用蒸馏水清洗、去皮后用榨汁机榨汁,并用 TDL-5-A 型离心机(上海安亭科学仪器厂)在 5 000 r/min 下离心 10 min,用 400 目筛子过滤至事先灭菌的三角瓶中。将三角瓶置于 62~65℃ 的水浴锅中进行巴氏杀菌,加热 30 min 后迅速取出样品,于冷水中快速冷却后冷藏于 4℃ 冰箱中备用。

1.2 菌液的制备

大肠杆菌冻干粉(ATCC 25922,购自中国普通微生物菌种保藏管理中心)每支用 10 mL 脑心浸液培养基活化,置于 HZ-9211KB 型恒温振荡器(太仓市华利达实验设备有限公司)中,在 37℃ 下培养 24 h 后,保存于 4℃ 冰箱中备用。菌种每两周转接至新培养基以保持活性。使用时用接种环取一环(5~10 μL)菌液接种于新的脑心浸液培养基中,在 37℃ 恒温振荡器中培养 24 h,重复操作 3 次令菌液中活菌菌体浓度达到 10⁹ cfu/mL。

1.3 样品的接种及包装

将胡萝卜汁与菌液按体积比 9:1 混合,摇匀后按 5 mL 每袋进行热封包装,使得每袋样品的大肠杆菌菌体浓度达到 10⁸ cfu/mL 左右。包装时注意将袋中气体赶出。所有操作在 SW-CJ 型超净台(苏州安泰空气技术有限公司)内进行。

1.4 超高压处理

超高压处理使用包头科发高压科技有限责任公司生产的 UHPF-750 MPa 型超高压食品处理装置(腔体容积 5 L,最大操作压力 750 MPa,升压速率约 150 MPa/min,压力释放时间少于 10 s)。高压容器中加入样品后,加入冰水,使压力传递介质(水)的温度在 20℃ 以下,以避免温度的协同杀菌作用对结果的干扰^[9-10]。样品分别在 300、350、400、500 和 600 MPa 下经过 1~4 个脉冲处理后,立即放入 4℃ 冰箱内待微生物检测。

1.5 微生物检测

处理后的样品在超净台内打开,用移液枪反复吹吸 10 次,令菌体在样品内均匀分布。取 1 mL 样品加入装有 0.85% 无菌生理盐水 9 mL 的试管中,利用振荡器震动 3 s 后从中取 1 mL 液体加入另一支装有 0.85% 无菌生理盐水 9 mL 的试管中,重复操作,实现样品的梯度稀释。选择紫红胆盐琼脂和脑心浸液琼脂两种培养基分别对样品和未处理的对照组进行培养,以区分超高压处理对大肠杆菌的致伤和致死效应。样品在 37℃ 的恒温培养箱中培养 24 h

后,选择菌落数合适的浓度梯度进行计数。

1.6 脉冲式超高压杀菌动力学分析

动力学方程^[11]为

$$-\frac{dA}{dt} = kA^n \quad (1)$$

$$\text{其中} \quad A = \frac{N}{N_0} \quad (2)$$

式中 A ——大肠杆菌数量的下降值

k ——杀菌反应速率常数

n ——杀菌反应级数 t ——脉冲数

N ——高压处理后存活大肠杆菌计数结果

N_0 ——大肠杆菌初始计数结果

lgA 即为处理后存活大肠杆菌相对初始值下降的数量级。 P_E 为特定压力下,1 个高压脉冲所引起的大肠杆菌数量对数值的降低。不同压力下的 P_E 值均可从该压力下 1 个脉冲的处理结果求得,而若式(1)中 $n=1$,则 $P_E=k$ 。 N_D 为特定压力下,大肠杆菌数下降 1 个数量级所需要的脉冲处理次数,该值可表征大肠杆菌对给定压力下脉冲次数的敏感性,计算公式为

$$N_D = P_E^{-1} \quad (3)$$

Z_p 定义为 N_D 下降 1 个数量级所需要提高的处理压力,该值可表征大肠杆菌对脉冲式超高压处理的压力参数的敏感性。 Z_p 值可由 $\lg N_D$ 与压力 P 的拟合直线斜率求得,即

$$Z_p = \frac{P_2 - P_1}{\lg N_{D1} - \lg N_{D2}} \quad (4)$$

2 结果与分析

2.1 压力和脉冲数对大肠杆菌杀菌效果的影响

不同脉冲式超高压处理条件下,大肠杆菌存活总数的 BHIA 计数(仍健康和致伤但未致死的大肠杆菌数)和 VRBA 计数(仍健康的大肠杆菌数)结果如表 1 所示,根据两种培养基的检测原理,两种计数结果的差值为处理后致伤但未致死的大肠杆菌数。不同压力下,BHIA 计数和 VRBA 计数结果随脉冲数的变化情况如图 1 所示。

由表 1 和图 1 不难看出,两种培养基所检测出的菌落存活量均随着压力和脉冲次数的增加而下降。同样是 1 个脉冲的处理时,从 BHIA 检测结果来看,300 MPa 下大肠杆菌数仅下降 0.21 个数量级,而 600 MPa 下则可减少 5.7 个数量级(VRBA 检测结果趋势相同)。而同样是 400 MPa 压力时,从 BHIA 检测结果来看 1 个脉冲的处理令大肠杆菌数下降约 2.4 个数量级,而 4 个脉冲可使其下降 4.4 个数量级(VRBA 检测结果趋势相同)。这是因为,

表1 不同超高压处理条件下胡萝卜汁中大肠杆菌计数结果

Tab.1 Effect of HPP treatment conditions on the destruction of *E. coli* (25922) in carrot juice

| 压力 /MPa | 脉冲数 | 菌体浓度/cfu·mL ⁻¹ | | | | |
|---------|-----|---------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | | BHIA 计数 | | VRBA 计数 | | 致伤但未致死菌 |
| | | 平均值 | 标准差 | 平均值 | 标准差 | |
| 300 | 1 | 4.13 × 10 ⁷ | 1.67 × 10 ⁷ | 2.80 × 10 ⁷ | 3.61 × 10 ⁶ | 1.33 × 10 ⁷ |
| 300 | 2 | 2.47 × 10 ⁷ | 5.13 × 10 ⁶ | 9.40 × 10 ⁶ | 1.30 × 10 ⁶ | 1.53 × 10 ⁷ |
| 300 | 3 | 9.33 × 10 ⁶ | 7.23 × 10 ⁵ | 4.90 × 10 ⁵ | 8.54 × 10 ⁴ | 8.84 × 10 ⁶ |
| 300 | 4 | 6.47 × 10 ⁶ | 1.14 × 10 ⁶ | 2.87 × 10 ⁵ | 8.33 × 10 ⁴ | 6.18 × 10 ⁶ |
| 350 | 1 | 1.93 × 10 ⁷ | 6.81 × 10 ⁶ | 5.27 × 10 ⁶ | 1.04 × 10 ⁶ | 1.41 × 10 ⁷ |
| 350 | 2 | 4.60 × 10 ⁶ | 4.36 × 10 ⁵ | 1.89 × 10 ⁶ | 1.00 × 10 ⁶ | 2.71 × 10 ⁶ |
| 350 | 3 | 9.47 × 10 ⁵ | 2.23 × 10 ⁵ | 2.90 × 10 ⁵ | 2.65 × 10 ⁴ | 6.57 × 10 ⁵ |
| 350 | 4 | 4.30 × 10 ⁵ | 4.36 × 10 ⁴ | 6.52 × 10 ⁴ | 4.62 × 10 ⁴ | 3.65 × 10 ⁵ |
| 400 | 1 | 3.33 × 10 ⁵ | 2.41 × 10 ⁵ | 3.03 × 10 ³ | 1.53 × 10 ³ | 3.30 × 10 ⁵ |
| 400 | 2 | 1.58 × 10 ⁵ | 1.09 × 10 ⁵ | 1.43 × 10 ³ | 3.79 × 10 ² | 1.56 × 10 ⁵ |
| 400 | 3 | 1.61 × 10 ⁴ | 4.80 × 10 ³ | 1.40 × 10 ² | 61 | 1.60 × 10 ⁴ |
| 400 | 4 | 2.60 × 10 ³ | 1.39 × 10 ³ | — | — | 2.60 × 10 ³ |
| 500 | 1 | 9.57 × 10 ⁴ | 6.12 × 10 ⁴ | 5.60 × 10 ² | 3.84 × 10 ² | 9.51 × 10 ⁴ |
| 500 | 2 | — | — | — | — | — |
| 600 | 1 | 1.93 × 10 ² | 1.05 × 10 ² | — | — | 1.93 × 10 ² |
| 600 | 2 | — | — | — | — | — |

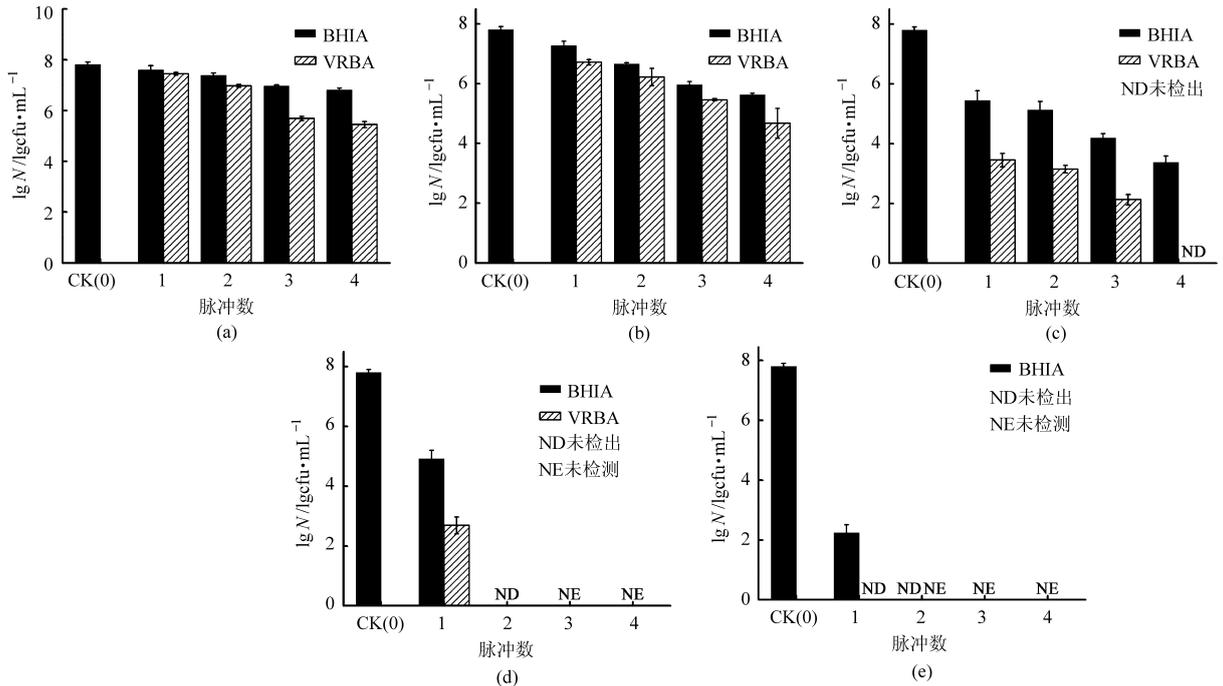


图1 胡萝卜汁中大肠杆菌检测结果与脉冲数的关系

Fig.1 Effect of pulse count on the survival of *E. coli* (25922) in carrot juice

(a) 300 MPa (b) 350 MPa (c) 400 MPa (d) 500 MPa (e) 600 MPa

压力的提高和脉冲次数的增加都可以强化升压、降压对生物的特殊胁迫作用,压力越高、脉冲次数越多,胁迫作用越强,微生物的致伤和致死率越高^[7]。

另外,不同压力下,脉冲次数的提高对大肠杆菌的致伤和致死强度的影响也不同。当压力为300 MPa和350 MPa时,随着脉冲次数的提高,BHIA计数和VRBA计数结果的下降幅度类似;当压力为

400 MPa时4个脉冲可使VRBA计数结果迅速降低为零;而当压力达到500 MPa和600 MPa时,2个脉冲即可使BHIA计数和VRBA计数结果都迅速降为零(表1,图1)。这说明,压力在400 MPa以下时,脉冲式超高压处理对大肠杆菌的生物胁迫作用有限,而当压力升高到400 MPa以上时,随着压力和脉冲次数的增加,脉冲式超高压处理对大肠杆菌的生物

胁迫作用迅速提高。这是因为,高压对大肠杆菌的生物胁迫作用主要体现在高压可引起大肠杆菌膜破裂,这一作用包括可逆的细胞膜破损和不可逆的细胞膜破损,在压力较低时主要体现为可逆破损,只有压力较高时才会以不可逆破损为主^[12],而脉冲式超高压处理又能强化升压、降压过程对生物的特殊胁迫作用。

此外,如表1所示,压力越低的情况下,随着脉冲数的提高,致伤但未致死菌落数变化幅度越小,反之越大。这是因为,大肠杆菌在超高压作用下大多先转变为致伤菌,再转变为致死菌^[13]。即随着压力和脉冲次数的提高,原本健康的大肠杆菌大部分致伤,而原本致伤的大肠杆菌则大部分致死。然而,正如前文所述,压力越低,脉冲式超高压处理对大肠杆菌的生物胁迫作用越有限,这部分菌落随脉冲次数提高而变化的幅度越小。该结果证实了,脉冲式超高压处理中压力对大肠杆菌的生物胁迫作用不仅体现在菌落致死方面,也体现在菌落致伤方面。

2.2 脉冲式超高压杀菌动力学模型

如上所述,500 MPa 和 600 MPa 下,2 个脉冲即可将胡萝卜汁中的大肠杆菌全部致死。但在本研究范围内,在 300、350 和 400 MPa 下,即使 4 个脉冲也无法将大肠杆菌全部致死。由于实际生产中,超高压设备的投资成本、使用成本和寿命均和采用的加工压力有密切的关系,降低使用压力可以有效降低其产品生产成本,因此,有必要对以上数据进一步分析,获得较低的压力下使胡萝卜汁中大肠杆菌全部致死的脉冲式超高压加工参数。为此,本研究进一步对 300~400 MPa 压力处理下的杀菌数据进行动力学分析,期望获得在 300~400 MPa 压力处理下的 N_0 和 Z_p 值,即给定压力下使大肠杆菌存活量下降一个数量级所需的脉冲次数和使脉冲次数下降一个数量级所需提高的压力值。

2.2.1 反应级数的确定

将 300~400 MPa 压力处理下,脉冲次数引起的大肠杆菌数对数值变化($\lg A$)进行模型拟合(式(1)和式(2)),发现在各压力下,无论是采用 BHIA 计数还是 VRBA 计数,大肠杆菌的对数值降低与脉冲次数均呈现良好的线性关系(图2和图3), R^2 为 0.944~0.996。这说明,无论是采用 BHIA 计数还是 VRBA 计数,脉冲式超高压处理对胡萝卜汁中大肠杆菌的杀菌作用符合一级动力学,即符合

$$\lg \frac{N}{N_0} = k_0 t \quad (5)$$

将式(5)转变为标准的动力学方程,且 $n=1$ (一级动力学),获得脉冲式超高压处理对胡萝卜汁中大肠杆菌的杀菌动力学模型^[14]

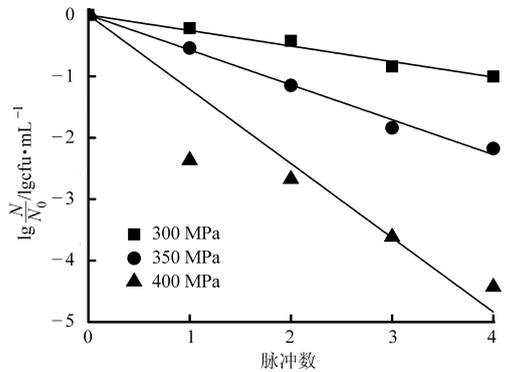


图2 胡萝卜汁中大肠杆菌经 BHIA 检测结果与脉冲数的关系

Fig. 2 Relation between pulse count and *E. coli* (25922) population in carrot juice (BHIA count)

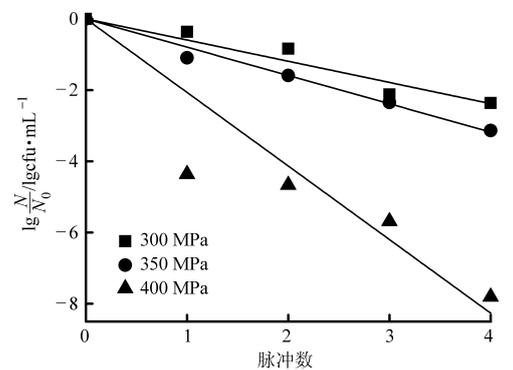


图3 胡萝卜汁中大肠杆菌经 VRBA 检测结果与脉冲数的关系

Fig. 3 Relation between pulse count and *E. coli* (25922) population in carrot juice (VRBA count)

$$\ln \frac{N}{N_0} = 2.303 k_0 t \quad (6)$$

式(5)和式(6)中, k_0 为拟合直线斜率,该值的绝对值越大,表明该压力下大肠杆菌存活量随脉冲次数下降得越快。各拟合直线的斜率和 R^2 如表2所示。不难发现,各压力下,BHIA 检测结果与脉冲次数的拟合直线 R^2 都大于 VRBA。

表2 大肠杆菌存活量与脉冲次数的拟合直线斜率和 R^2

Tab. 2 Slopes and R^2 of fitting curves between the survival of *E. coli* (25922) and pulse count

| 压力/MPa | BHIA 计数 | | VRBA 计数 | |
|--------|---------|-------|---------|-------|
| | k_0 | R^2 | k_0 | R^2 |
| 300 | -0.253 | 0.990 | -0.595 | 0.967 |
| 350 | -0.568 | 0.996 | -0.795 | 0.994 |
| 400 | -1.209 | 0.957 | -2.066 | 0.944 |

目前大多杀菌动力学研究采用恒压式超高压处理,且所得结果之间存在较大差异。如 Ramaswamy 等^[13]研究发现苹果汁中大肠杆菌超高压杀菌动力学为一级反应。而李珊等^[15]认为超高压对鲜榨苹果汁的杀菌动力学更符合 Weibull 模型。Koseki

等^[16]则报道0.1%蛋白胨水(pH值7.1)的简单环境中大肠杆菌超高压杀菌动力学符合Ratkowsky等^[17]提出的平方根模型。这些差异是微生物种类、压力和加压时间以及环境因子等多种因素的不同造成的。但研究报告中,大肠杆菌的超高压杀菌效果大部分符合一级动力学。

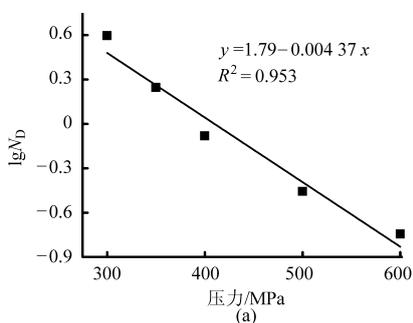
2.2.2 P_E 值和 N_D 值的计算

由图2和图3可以看到,大肠杆菌对数值随着脉冲次数的增加而减少,且压力越高,拟合直线斜率越大即杀菌效果越好。根据式(5)及定义可知 $P_E = -k_0$ 且 $N_D = k_0^{-1}$,因此利用图2、3中的直线斜率即可求得300~400 MPa下的 N_D 值。BHIA和VRBA检测得到的 N_D 和 P_E 值如表3所示,其中500 MPa和600 MPa下的 N_D 和 P_E 值由表1中两个压力在1个脉冲下的实验数据直接获得。

表3 BHIA和VRBA检测下脉冲式高压处理大肠杆菌的 P_E 和 N_D 值

Tab.3 P_E and N_D for *E. coli* enumerated on BHIA and VRBA

| 培养基种类 | 压力/MPa | $P_E/\lg\text{cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$ | N_D |
|-------|--------|--|-------|
| BHIA | 300 | 0.25 | 3.95 |
| | 350 | 0.57 | 1.76 |
| | 400 | 1.2 | 0.83 |
| | 500 | 2.9 | 0.35 |
| | 600 | 5.6 | 0.18 |
| VRBA | 300 | 0.60 | 1.68 |
| | 350 | 0.79 | 1.26 |
| | 400 | 2.1 | 0.48 |
| | 500 | 5.1 | 0.20 |
| | 600 | 7.8 | 0.13 |



由表3可以看到,随着压力的升高, N_D 值逐渐减小,这与前人的研究结果一致^[13]。从BHIA检测结果来看,300、350和400 MPa压力下,使大肠杆菌致死一个数量级分别需要3.95、1.76和0.83个脉冲。若以本研究中胡萝卜汁7.8个大肠杆菌对数级浓度计算,300、350和400 MPa压力下,使大肠杆菌全部致死分别需要30.81、13.73和6.47个脉冲。然而,胡萝卜榨汁后,考虑榨汁前各环节的菌落污染,其大肠杆菌浓度通常在5个对数级浓度以下,以此计算,300、350和400 MPa压力下,使大肠杆菌全部致死分别需要19.75、8.80和4.15个脉冲。可见虽然500 MPa下2个脉冲、600 MPa下1个脉冲即可使胡萝卜汁中的大肠杆菌全部致死,但若超高压设备提高压力所带来的成本远大于增加脉冲加工次数所带来的成本,采用400 MPa多个脉冲的方式进行胡萝卜汁中大肠杆菌的杀菌更为经济。

2.2.3 Z_p 值的确定

将BHIA和VRBA检测下的 $\lg N_D$ 与压力进行模型拟合(图4)以进一步研究 N_D 与压力的关系(由于600 MPa下处理1个脉冲时,VRBA检测结果是未检出,人工污染的大肠杆菌菌体浓度为 10^8 cfu/mL左右,因此不能直接判定600 MPa下1个脉冲致伤的菌落数,即图4b中600 MPa的数据不可用)。结果表明,二者具有良好的线性相关性($R^2 = 0.953$),其模型为

$$\lg N_D = 1.79 - 0.00437P \quad (7)$$

$$\lg N_D = 1.71 - 0.00485P \quad (8)$$

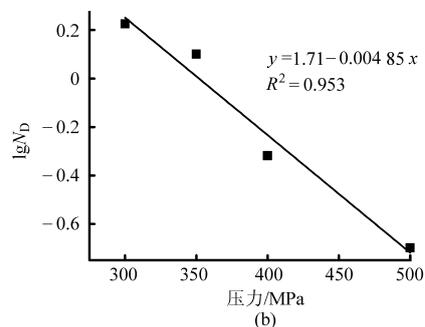


图4 脉冲式超高压处理胡萝卜汁中大肠杆菌的 N_D 值与压力的关系

Fig.4 Relation between pressure and N_D value of *E. coli* (25922) in carrot juice

(a) BHIA 检测结果 (b) VRBA 检测结果

根据 Z_p 定义,两个模型斜率的倒数即为 Z_p 值,分别为229 MPa(BHIA)和206 MPa(VRBA)。这一结果表明,要实现胡萝卜汁中大肠杆菌致死量相同的效果,并使脉冲次数下降一个数量级,所需提高的压力是229 MPa。而要实现胡萝卜汁中大肠杆菌致伤量相同的效果,并使脉冲次数下降一个数量级所需提高的压力是206 MPa。以300 MPa和400 MPa

的压力为例,如前所述,要实现7.8个数量级大肠杆菌的全部致死,需要30.81和6.47个脉冲,而要使脉冲数量下降一个数量级,即3个脉冲和1个脉冲左右,则压力要提高到529 MPa和629 MPa左右,这与本实验中500和600 MPa下分别采用2个和1个数量级即可全部致死7.8个数量级大肠杆菌的实验结果基本一致。通过所获的 Z_p 值可见,采用提高压

力来降低脉冲次数的方法对于 400 MPa 以上的压力而言没有太大意义,因为当压力高于 400 MPa 时,致死全部大肠杆菌所需的脉冲数已经很低。

3 结论

(1) 提高压力和增加脉冲次数都可以有效提高脉冲式超高压处理对胡萝卜汁中大肠杆菌的致死和致伤效果,压力越高,脉冲次数越多,杀菌效果越好。且当压力在 400 MPa 以上时,增加脉冲次数的杀菌效果更为明显。500 MPa 处理 2 个脉冲和 600 MPa 处理 1 个脉冲即可将胡萝卜汁中 7.8 个数量级浓度

的大肠杆菌全部致死。

(2) 脉冲式超高压处理对胡萝卜汁中大肠杆菌的致伤和致死效果均符合一级动力学,对致死效果而言,300、350 和 400 MPa 下的 N_D 值分别为 3.95、1.76 和 0.83, Z_p 值为 229 MPa;对致伤效果而言,300、350 和 400 MPa 下的 N_D 值分别为 1.68、1.26 和 0.48, Z_p 值为 206 MPa。

(3) 基于以上 N_D 值和 Z_p 值,若超高压设备提高压力所带来的成本远大于增加脉冲加工次数所带来的成本,则采用 400 MPa 多个脉冲的方式进行胡萝卜汁中大肠杆菌的杀菌更为经济。

参 考 文 献

- Besser R E, Lett S M, Weber J T, et al. An outbreak of diarrhea and hemolytic uremic syndrome from *E. coli* (O157:H7) in fresh-pressed apple cider[J]. The Journal of the American Medical Association, 1993, 269(17): 2 217 ~ 2 220.
- 闫雪峰, 赵有斌. 超高压处理对树莓汁杀菌效果的影响[J]. 农业机械学报, 2010, 41(增刊): 212 ~ 215.
Yan Xuefeng, Zhao Youbin. Study on effect of Ultra-high pressure processing on sterilization of raspberry juice[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2010, 41(Supp.): 212 ~ 215. (in Chinese)
- 姜斌, 胡小松, 廖小军, 等. 超高压对鲜榨果蔬汁的杀菌效果[J]. 农业工程学报, 2009, 25(5): 234 ~ 237.
Jiang Bin, Hu Xiaosong, Liao Xiaojun, et al. Effects of high hydrostatic pressure processing on microbial inactivation in fresh fruit and vegetable juice[J]. Transactions of the CSAE, 2009, 25(5): 234 ~ 237. (in Chinese)
- 潘见, 曾庆梅, 谢慧明, 等. 草莓汁的超高压杀菌研究[J]. 食品科学, 2004, 25(1): 31 ~ 34.
Pan Jian, Zeng Qingmei, Xie Huiming, et al. Study on UHP treatment of microflora sterilization of strawberry juice[J]. Food Science, 2004, 25(1): 31 ~ 34. (in Chinese)
- 方亮. 超高压处理对猕猴桃果汁杀菌钝酶效果和品质的影响[D]. 无锡: 江南大学, 2008: 122 ~ 165.
Fang Liang. Effect of high pressure treatment on sterilization, enzyme inactivation and quality of kiwifruit juice[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2008: 122 ~ 165. (in Chinese)
- Chen H, Hoover D G. Pressure inactivation kinetics of *Yersinia enterocolitica* ATCC 35669 [J]. International Journal of Food Microbiology, 2003, 87(1~2): 161 ~ 171.
- 陈复生, 张雪, 钱向明. 食品超高压加工技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 56 ~ 88.
- 陈天寿. 微生物培养基的制造与应用[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995: 93 ~ 138.
- Linton M, McChements J M J, Patterson M F. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in orange juice using a combination of high pressure and mild heat[J]. Journal of Food Protection, 1999, 64(3): 277 ~ 279.
- Patterson M F, Quinn R, Simpson G. Sensitivity of vegetative pathogens to high hydrostatic pressure treatment in phosphate buffered saline and foods[J]. Journal of Food Protection, 1995, 58(5): 524 ~ 529.
- 李里特. 食品物性学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 26 ~ 50.
- Gaenzle M G, Vogel R F. On-line fluorescence determination of pressure mediated outer membrane damage in *Escherichia coli* [J]. Systematic Applied Microbiology, 2001, 24(4): 477 ~ 485.
- Ramaswamy H S, Riahi E, Idziak E. High-pressure destruction kinetics of *E. coli* (29055) in apple juice[J]. Journal of Food Science, 2003, 68(5): 1 750 ~ 1 756.
- Shao Y, Ramaswamy H S, Zhu S. High-pressure destruction kinetics of spoilage and pathogenic bacteria in raw milk cheese[J]. Journal of Food Process Engineering, 2007, 30(3): 357 ~ 374.
- 李珊, 陈芹芹, 李淑燕, 等. 超高压对鲜榨苹果汁的杀菌效果及动力学分析[J]. 食品科学, 2011, 32(7): 43 ~ 46.
Li Shan, Chen Qinqin, Li Shuyan, et al. Bactericidal effect and kinetics of high hydrostatic pressure on fresh apple juice[J]. Food Science, 2011, 32(7): 43 ~ 46. (in Chinese)
- Koseki S, Yamamoto K. A novel approach to predicting microbial inactivation kinetics during high pressure processing[J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 116(2): 275 ~ 282.
- Ratkowsky D A, Olley J, Mcmeekin T A, et al. Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures[J]. Journal of Bacteriology, 1982, 149(1): 1 ~ 5.
- 易建勇, 张燕, 廖小军, 等. 智能化超高压食品灭菌设备[J]. 农业机械学报, 2011, 42(11): 113 ~ 117.
Yi Jianyong, Zhang Yan, Liao Xiaojun, et al. Automatic high hydrostatic pressure equipment for food sterilization [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2011, 42(11): 113 ~ 117. (in Chinese)

Preparation of β -carotene Emulsion Stabilized by Beet Pectin – Whey Protein Isolate Complex and Its Digestion Properties in Vitro Digestion Model

Qu Guiqin Wang Pan Li Jinlong Yin Lijun

(College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: Layer-by-layer technology (LBL) and enzymatic cross-linking technology were used to make modified β -carotene emulsion. Two kinds of modified β -carotene emulsion were prepared by using whey protein isolate as emulsifier, and then 0.15% sugar beet pectin was added to cover the surface of particles under the action of electrostatic adsorption and enzymatic cross-linking. The results showed that compared with original emulsions, particle size of modified emulsions increases; however, the bioavailability of β -carotene in modified emulsions is obviously lower than that in original emulsion, and it suggests that β -carotene in modified emulsions, especially in emulsion modified through enzymatic cross-linking, has sustained-release function.

Key words: β -carotene emulsion Protein emulsifier Sugar beet pectin Digestion property Layer-by-layer technology Enzymatic cross-linking

(上接第 183 页)

Pulse Mode High-pressure Destruction Kinetics of *E. coli* in Carrot Juice

Hu Feifei Zhu Rui Yang Nan Yu Yong He Jinsong Zhu Songming

(School of Biosystems Engineering and Food Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: The effect of pulse mode high-pressure on *E. coli* in fresh carrot juice was studied. Destruction kinetics of *E. coli* was investigated after pulse mode high-pressure treatment (300 ~ 600 MPa, 1 ~ 4 pulses). Enumeration was carried out in brain-heart infusion agar and violet-red bile agar to differentiate between surviving cells with and without injury. Results showed that with an increase in either pressure or pulse, both injured and killed cells increase significantly. At more than 400 MPa, the increase of pulse, rather than pressure, makes the sterilization effect better. Two pressure pulses at 500 MPa or a pressure pulse at 600 MPa destroys the entire population ($10^{7.8}$ cfu/mL) of *E. coli* in carrot juice. And on both BHIA and VRBA, pulse mode high-pressure destruction of *E. coli* in carrot juice follows first-order kinetics under experimental conditions. Modeling analysis showed that, for lethal effect, every 3.95, 1.76 and 0.83 pulses result in a decimal change of *E. coli* for 300, 350 and 400 MPa, respectively; for injured effect, every 1.68, 1.26 and 0.48 pulses result in a decimal change of *E. coli* for 300, 350 and 400 MPa, respectively. To achieve a same sterilization effect, when the pressure pulse decreases an order of magnitude the pressure has to increase by 229 MPa and 206 MPa, for BHIA and VRBA, respectively.

Key words: Carrot juice *E. coli* Ultra-high pressure Pulse Kinetics