高压脉冲电场对草莓汁抗氧化活性的影响

陈晓婵[1]，赵 伟[1]，杨瑞金[*1]，顾艳洁[1]，李春阳[2]
（1. 江南大学食品学院，江南大学 食品科学与技术国家重点实验室，江苏 无锡 214122；2. 江苏省农业科学院，江苏 南京 210142）

摘要：研究了高压脉冲电场在不同电场强度(20~35 kV/cm)和处理时间(100~400 μs)处理对草莓汁杀菌效果及其抗氧化活性的影响，还进一步比较了高压脉冲电场和传统热杀菌(95 ℃，30 s)处理后和贮藏过程中草莓汁抗氧化活性的变化。结果表明：随着高压脉冲电场的电场强度和处理时间的增加，草莓汁抗氧化活性略有降低，但其损失程度比传统热杀菌小，且在储藏过程中保存较好。

关键字：草莓汁；脉冲电场；抗氧化活性；热杀菌
中图分类号：TS 255.44　**文献标志码**：A　**文章编号**：1673—1689(2013)03—0318—06

Research of the Ultrafiltration on the *Bacillus subtilis* Aminopeptidase Extraction

CHEN Xiao-chan[1]，*ZHAO Wei*[1]，*YANG Rui-jin*[*1]，*GU Yan-jie*[1]，*LI Chun*-yang[2]
(1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Jiangsu Academy of Agricultural Science, Nanjing 210142, China)

Abstract: The effects of high-intensity pulsed electric fields in different levels of electric field intensity(20~35 kV/cm) and treatment time (100~400 μs) on microbial inactivation and antioxidant activity of strawberry juice were investigated in this manuscript. The changes of antioxidant activity of strawberry juice immediately after pulsed electric fields and conventional thermal processing (95 ℃, 30 s) treatments and during the storage were further investigated. The results showed that compared with the conventional thermal pasteurization methods, the antioxidant activity of strawberry juice was less affected initially after PEF processing and were maintained in higher quality throughout storage period.

Key words: strawberry juice, pulsed electric fields, antioxidant activity, thermal pasteurization

高压脉冲电场（Pulsed Electric Fields，PEF）处理是一种新型的非热食品杀菌技术，它是以较高的

收稿日期：2012-06-14
基金项目：国家自然科学基金项目(31000829)；江苏省自然科学基金项目(BK2010148)；“十二五”国家科技支撑项目(2011AA100801-02)；江苏省农业自主创新项目(cx(10)231)；江苏省产学研创新基金项目(SBY201020121)。
* **通信作者**：杨瑞金(1964—)，男，江西瑞金人，工学博士，教授，博士研究生导师，主要从事食品化学和食品非热加工技术研究。E-mail：yrj@jiangnan.edu.cn

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

电场强度，较短的脉冲宽度和较高的脉冲频率对液体、半固体食品进行处理，并且可以组成连续杀菌和无菌灌装的生产线。PEF 不仅对食品中的微生物和酶有很好的杀灭和钝化效果，而且能够最大程度地保留食品的风味和品质[1]。目前，许多研究者已将高压脉冲电场应用于多种食品的杀菌和保藏，如液蛋、牛奶、苹果汁、橙汁等[2-4]，以及应用于食品中内源酶的钝化[5-8]、种子萌发[9]、农产品干燥预处理[10]等方面。

草莓属蔷薇科，为多年生草本植物，全国各地都有种植，是果汁含量十分丰富的浆果类水果。其果实为红色，柔软多汁，酸甜可口，含有丰富的钙、磷、铁等元素[11]。同时草莓富含 VC、多酚、花青素、黄酮类物质等活性成分，具有较强的抗氧化、清除自由基的能力，可滋补胃肠道、营养皮肤，对防治动脉硬化、冠心病也有较好的疗效。但常规的热杀菌方法会对草莓汁中的抗氧化活性物质造成损害，降低草莓汁的营养价值，因此应采用新的非热加工技术，最大限度的保持草莓汁的抗氧化活性。潘见[12]等人研究了超高压技术对草莓汁的杀菌情况，Isabel Odriozola-Serrano[13]等人从脉冲宽度和频率等方面研究了高压脉冲电场对草莓汁中 VC、花青素等物质的影响。本课题的研究目的是对比常规热处理与高压脉冲处理对草莓汁杀菌效果和抗氧化活性的影响，及其在保藏过程中的变化情况。

1 材料与方法

1.1 高压脉冲电场杀菌设备

采用实验室规模连续 PEF 处理设备（OSU-4L，美国俄亥俄州立大学提供）进行，有 6 个连续的脉冲处理腔，6 个处理腔由不锈钢弯管连接成 3 对，组成一个处理单元。脉冲电场为双极方形波脉冲电场。仪器管路采用 4%质量分数的 NaOH 溶液、10%体积分数的市售次氯酸消毒液和无菌水清洗，清洗至无菌备用。

1.2 高强度脉冲电场参数的选择

选择串联有 6 个处理腔的连续 PEF 处理装置，电场强度分别设置为 20、25、30、35 kV/cm，处理时间分别为 100、200、300、400 μs，脉冲宽度为 2 μs，频率 200 Hz。

1.3 热处理参数的选择

温度为 95 ℃，处理时间为 30 s。

1.4 草莓汁的制备

将市售新鲜草莓清洗干净后，与去离子水以 1∶6 的质量比例加入果汁机榨汁，然后用离心机以 3 000 r/min 的转速离心 15 min，取上清液。再将上清液进行抽滤，收集滤液备用。

1.5 试剂的配置

1.5.1 LB 培养基的制备 分别取 10 g 蛋白胨，5 g 酵母浸膏，10 g NaCl，15 g 琼脂粉，混合后定容至 1 L。用 1 mol/L 氢氧化钠调节酸度至 7.0。然后在 121 ℃条件下高压灭菌 15 min。

1.5.2 DPPH 制备 取 0.004 g DPPH，用甲醇定容到 50 mL 得到 200 μmol/L 的 DPPH 溶液。

1.6 微生物接种和培养

1.6.1 目标菌的选择 大肠杆菌是典型的革兰氏阴性菌，是最常见的肠道致病菌，也是食品检测中最常见的目标菌之一，本试验选用大肠杆菌作为脉冲电场处理的目标微生物。

1.6.2 大肠杆菌接种 试验用大肠杆菌由营养琼脂斜面培养基移至营养肉汤，37 ℃摇床培养 16 h，菌体浓度达到 10^7~10^8 CFU/mL。将 10 mL 培养液接种到 90 mL 草莓汁中。菌种由江南大学食品酶学实验室提供。

1.7 微生物计数

根据 GB/T4789.2-2003 方法，对样品在 PEF 处理前后进行菌落计数。杀菌效果采用致死率来表示，致死率计算采用公式

$$\text{致死率}=\lg\frac{N_0}{N}$$

式中：N 为 PEF 处理后的微生物数（cfu/mL）；N_0 为 PEF 处理前的微生物数（cfu/mL）。

1.8 抗氧化活性研究

1.8.1 样品处理 取 1 mL 样品，加入 200 μmol/L 的 DPPH（进口）3 mL，剧烈震荡，以 5 000 r/min 的转速离心 10 min（选用上海医用分析仪器厂制造的 LXJ-Ⅱ离心沉淀机），再在黑暗处静置 20 min。

1.8.2 抗氧化活性分析 本实验选用 712 型可见分光光度计进行检测（日立公司制造）。用可见分光光度计在 517 nm 的波长下测样品的 A 值，以甲醇做空白。以 1 mL 甲醇加 3 mL 的 200 μmol/L DPPH 的 A 值为 $A_{control}$。

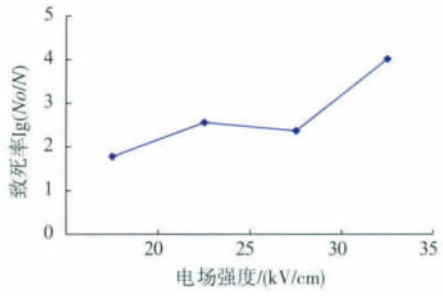
$$\text{清除率}=1-\frac{A}{A_{control}}\times 100\%$$

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2 结果与讨论

2.1 不同电场强度对草莓汁中大肠杆菌杀灭效果的影响

图 1 所示是在处理时间为 200 μs、电场强度分别为 20,25,30,35 kV/cm 的条件下,草莓汁中大肠杆菌致死率随场强的变化,其致死率分别为 1.78,2.56,2.37,4.02。



数据为 3 次测量平均值,下同

图 1 不同电场强度对大肠杆菌杀灭效果的影响

Fig. 1 Influence of electric field intensity on lethal effect of *E.coli* treated by PEF

由图可以看出,大肠杆菌的致死率随场强的增大而增大,且当处理强度高于 30 kV/cm 时,草莓汁中大肠杆菌的致死率迅速增加。可见,处理强度是影响 PEF 杀菌效果的显著因素。

2.2 不同处理时间对草莓汁中大肠杆菌杀灭效果的影响

图 2 所示为草莓汁经过电场强度为 30 kV/cm,处理时间分别为 100,200,300,400 μs 的 PEF 处理后,大肠杆菌的致死率随处理时间的变化,其致死率分别为 2.34、2.57、2.67、2.98。

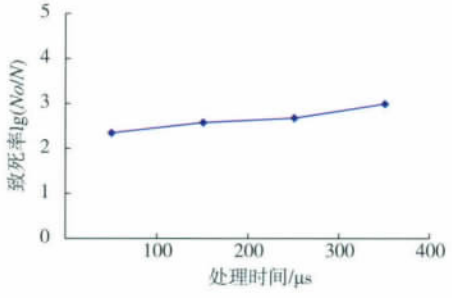


图 2 不同处理时间对大肠杆菌杀灭效果的影响

Fig. 2 Influence of treatment time on lethal effect of *E. coli* treated by PEF

可见,与处理强度相比,处理时间对草莓汁中大肠杆菌致死率的影响较小。

2.3 不同处理方法对草莓汁中大肠杆菌杀灭效果的影响

图 3 所示为不同处理方法对草莓汁中大肠杆菌的杀灭效果。PEF 杀菌的处理条件为电场强度 30 kV/cm,处理时间为 300 μs,热处理的操作参数为 95 ℃保温 30 s。

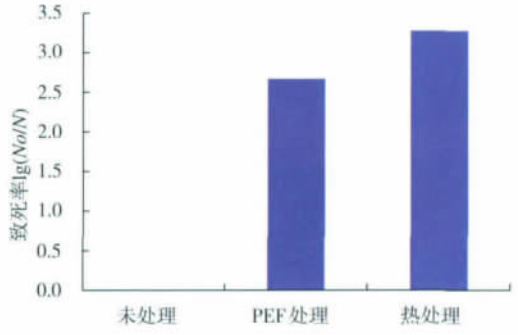


图 3 不同处理方法对草莓汁中大肠杆菌杀灭效果的影响

Fig. 3 Influence of diffferent treatment methods on lethal effect of *E.coli* treated by PEF

由图可以看出,经过热处理和 PEF 处理后,大肠杆菌的致死率分别为 3.28 和 2.67。但从处理时间上看,PEF 处理时间为 300 μs,仅为热处理时间的 $1/10^5$,而两种方法处理后,大肠杆菌致死率仅相差 0.61 个对数,可见 PEF 处理比热处理有更强的杀菌效果。

2.4 不同处理方法对保藏期内细菌总数的影响

图 4 为不同处理方法对保藏期内细菌总数的影响,其中 PEF 处理条件为电强强度 30 kV/cm,处理时间 300 μs,热处理的操作参数为 95 ℃保温 30 s。未经杀菌处理的草莓汁在 0~13 d 中细菌总数的对数值分别为 2.09、2.42、2.48、2.58 和 3.40。经过 PEF 处理的草莓汁细菌总数的对数值在 27 d 内分别为 0.48、0.48、0.54、0.6、0.78、0.84、0.95。而经过热处理的草莓汁的细菌总数的对数值在 27 d 内分别为 0、0.18、0.30、0.39、0.48、0.54、0.65。考虑到处理时间的差异,PEF 杀菌效果优于常规热处理,且在低温保藏的过程中,细菌总数增长缓慢,使草莓汁具有较长的保质期,能够保证草莓汁饮品的货架期。

可见,PEF 处理能够有效地抑制草莓汁中细菌的增长,达到较为理想的杀菌效果。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

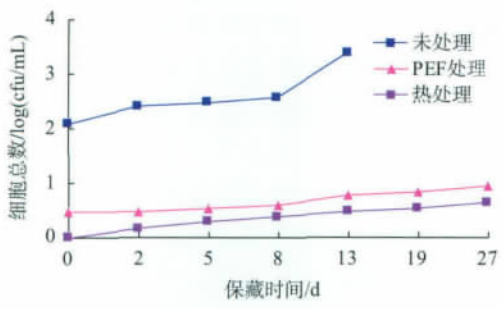


图 4 不同处理方法对保藏期内细菌总数的影响

Fig. 4 Influence of diffferent treatment methods on total bacterial count during storing

2.5 不同电场强度对草莓汁中抗氧化活性的影响

图 5 所示为草莓汁经过处理时间为 200 μs,电场强度分别为 20、25、30、35 kV/cm 的 PEF 处理后其抗氧化活性的变化。草莓汁经过 PEF 处理后对 DPPH 的清除率分别是 52.13%、51.78%、51.02%和 50.67%。

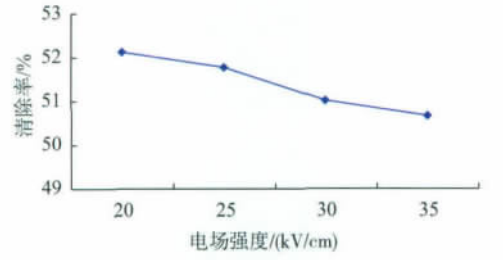


图 5 不同电场强度对抗氧化活性的影响

Fig. 5 Influence of electric field intensity on antioxidant activity of strawberry juice

可以看出,当电场强度由 20 kV/cm 增大为 35 kV/cm 时,草莓汁的抗氧化活性仅降低约 1.46%,降低程度很小,这说明 PEF 处理能够很好地保持草莓汁的抗氧化活性。

2.6 不同处理时间对草莓汁中抗氧化活性的影响

图 6 所示为草莓汁经过电场强度为 30 kV/cm,处理时间分别为 100,200,300,400 μs 的 PEF 处理后其抗氧化活性的变化。

由图可知,经过不同处理时间后,草莓汁对 DPPH 的清除率分别是52.24%、51.02%、50.56%和 49.04%。由此可以说明,随着处理时间的延长,草莓汁的抗氧化活性逐渐降低,且与电场强度相比,延长处理时间对草莓汁抗氧化活性的损害程度更为显著。

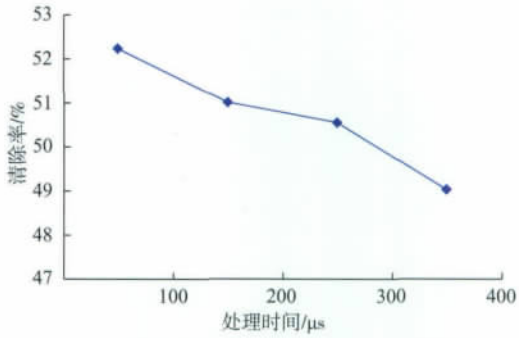


图 6 不同处理时间对抗氧化活性的影响

Fig. 6 Influence of treatment time on antioxidant activity of strawberry juice

2.7 不同处理方法对草莓汁中抗氧化活性的影响

本试验是比较未处理草莓汁、经过 PEF 处理草莓汁、经过热处理草莓汁中的抗氧化活性变化。PEF 处理是在电场强度 30 kV/cm、处理时间 300 μs 的条件下进行,而热处理条件为 95 ℃保持 30 s。由图 7 可知,未处理、经过 PEF 处理、经过热处理后草莓汁 DPPH 清除率分别为 56.42%,50.56%,47.88%。

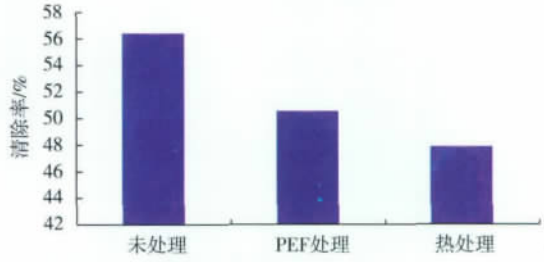


图 7 不同处理方法对抗氧化活性的影响

Fig. 7 Influence of diffferent treatment methods on antioxidant activity of strawberry juice

PEF 处理和热处理都会对草莓汁抗氧化活性产生不利影响,但经过 PEF 处理后,草莓汁抗氧化活性的损失比常规热处理少。根据 Cordenunsi,维生素 C 和花青素是草莓汁抗氧化剂的重要成分[14],由此可初步判定经过常规热处理的草莓汁其维生素 C 含量和花青素含量的降低程度比 PEF 处理大,因此抗氧化活性的降低程度也较大。

2.8 PEF 处理和热处理对保藏期内草莓汁抗氧化活性的影响

图 8 所示为经过不同处理方法的草莓汁在保藏期内抗氧化活性的变化。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

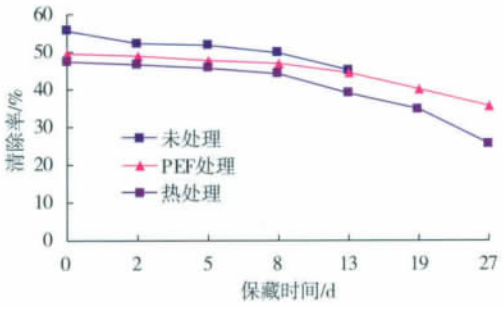


图 8 不同处理方法对保藏期内抗氧化活性的影响

Fig. 8 Influence of diffferent treatment methods on antioxidant activity of strawberry juice during storing

由图可知，未处理的草莓汁在 0~13 d 之间 DPPH 清除率分别为 55.71%，52.42%，51.87%，49.78%，45.22%。经过 PEF 处理的草莓汁在 0~27 d 之间 DPPH 清除率分别为 49.66%，49.04%，47.79%，47.01%，44.54%，40.13%，35.63%。经过热处理的草莓汁在 0~27 d 之间 DPPH 清除率分别为 47.54%，46.76%，45.78%，44.23%，39.05%，34.84%，25.65%。由此可知，保藏时间越长，草莓汁的抗氧化活性越低。在整个保藏过程中，PEF 处理后的草莓汁对 DPPH 的清除率始终高于热处理后的草莓汁，且前者在 27 d 内抗氧化活性的损失程度低于后者。这说明，PEF 处理能够更好的保持草莓汁的抗氧化活性，更有利于保持产品营养成分。

3 结 语

尽管脉冲电场的杀菌机理目前还不是完全清楚[15]，但它作为一种低能耗、高效率的食品加工技术，在杀菌和榨汁等方面都表现出了良好的应用前景[16]。本研究表明，PEF 处理不仅在杀菌效果方面优于常规热处理杀菌，而且更有利于保留产品营养成分，提高产品品质。草莓汁经过 PEF 杀菌处理后，其抗氧化活性的降低程度明显低于常规热杀菌，且在保藏过程中其抗氧化活性能够更好地保持。目前尚需作进一步的研究，确定最佳的操作参数，既保证对草莓汁有良好的杀菌效果，又可在最大程度上保留草莓汁中的营养活性成分。

参考文献:

[1] Jin Z T,Zhang H Q,Li S,et al. Quality of applesauces processed by pulsed electric fields and HTST pasteurization [J]. **International Journal of Food Science and Technology**,2009,44:829-839.

[2] 赵伟,杨瑞金,崔晓美. 高压脉冲电场应用于液蛋杀菌的研究[J]. 食品科学,2007,28(4):60-64.
ZHAO Wei,YANG Rui-jin,CUI Xiao-mei. Application of pulsed electric fields on the sterilization of liquid whole egg [J]. **Food Science**,2007,28(4):60-64.(in Chinese)

[3] 殷涌光,闫琳娜,李玉娟. 用高压脉冲电场对桃汁非热杀菌的研究[J]. 农业机械学报,2006,37(8):89-92.
YIN Yong-guang,YAN Lin-na,LI Yu-juan. Study on non-thermal sterilization of peach juice by high intensity pulsed electric field[J]. **Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery**,2006,37(8):89-92.(in Chinese)

[4] Garde-Cerdan T,Arias-Gil M,Marselles-Fontanet A,et al. Effects of thermal and non-thermal processing treatments on fatty acids and free amino acids of grape juice[J]. **Food Control**,2007,18:473-479.

[5] Yang R,Li S,Zhang H. Effects of pulsed electric fields on the activity and structure of pepsin [J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,2004,52(24):7400-7406.

[6] Zhao W,Yang R,Lu R,et al. Investigation of the mechanisms of pulsed electric fields on inactivation of enzyme:lysozyme[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,2007,55(24):9850-9858.

[7] 梁国珍,孙沈鲁,陈梅英,等. 高压脉冲电场对辣根过氧化物酶活性及构象的影响[J]. 食品与机械,2008,24(3):21-25.
LIANG Guo-zhen,SUN Shen-lu,CHEN Mei-ying. The effect of high-intensity pulsed electric field on the activity and conformation of horseradish peroxidase[J]. **Food and Machinery**,2008,24(3):21-25.(in Chinese)

[8] 曾新安,于淑娟,徐娅莉. 脉冲电场对木瓜蛋白酶影响的荧光光谱分析[J]. 光谱学与光谱分析,2007,127:2258-2561.
ZENG Xin-an,YU Shu-juan,XU Ya-li. Fluorescence spectra anaIysis of papain treated by pulsed electric field [J]. **Spectroscopy and Spectral Analysis**,2007,127:2258-2561.(in Chinese)

[9] 涌光,迟燕平,李婷婷. 高压脉冲电场对辣椒陈种子萌发的影响[J]. 农业机械学报,2008,39(3):82-85.
YONG Guang,CHI Yan-ping,LI Ting-ting. Effect of high intensity pulsed electric field on germination of old pepper seeds[J].

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery,2008,39(3):82-85.(in Chinese)

[10] 王维琴,盖玲,王剑平. 高压脉冲电场预处理对甘薯干燥的影响[J]. **农业机械学报**,2005,36(8):154-156.
WANG Wei-qin,GE Ling,WANG Jian-ping. Effect of high intensity pulsed electric field on sweet potato drying[J]. **Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery**,2005,36(8):154-156.(in Chinese)

[11] 李文香,张慜,陶菲,等. 真空预冷终温对草莓短期保鲜贮藏的影响[J]. **食品与生物技术学报**,2006,25(4):72-76.
LI Wen-xiang,ZHANG Min,TAO Fei,et al. Effect of vacuum precooling end-temperature on short-term fresh preservation of strawberry[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2006,25(4):72-76.(in Chinese)

[12] 潘见,曾庆梅,谢惠明,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 Qing-mei,XIE Hui-ming,et al. Study on UHP treatment of microflora sterilization of strawberry juice[J]. **Food Science**,2004,25(1):31-34.(in Chinese)

[13] Odriozola-Serrano I,Soliva-Fortuny R,Martın-Belloso O. Impact of high-intensity pulsed electric fields variables on vitamin C,anthocyanins and antioxidant capacity of strawberry juice[J]. **LWT-Food Science and Technology**,2009(42):93-100.

[14] Cordenunsi B R,Genovese M I,Nascimiento J R O,et al. Effects of temperature on the chemical composition and antioxidant capacity of three strawberry cultivars[J]. **Food Chemistry**,2005,91:113-121.

[15] 李迎秋,陈正行. 高压脉冲电场对食品微生物、酶及成分的影响[J]. **食品工业科技**,2005,26(11):169-172.
LI Ying-qiu,CHEN Zheng-xing. Effect of high intensity pulsed electric field on microorganism,enzyme,composition of food[J]. **Science and Technology of Food Industry**,2005,26(11):169-172.(in Chinese)

[16] 胡柯文,王剑平,盖铃,等. 高压脉冲电场在食品加工中的应用前景[J]. **食品工业科技**,2007(6):226-229.
HU Ke-wen,WANG Jian-ping,GE Ling,et al. The application prospects of high intensity pulsed electric field in food processing[J]. **Science and Technology of Food Industry**,2007(6):226-229.(in Chinese)

科　技　信　息

http://www.foodmate.net/news/daodu/2013/02/223788.html

欧盟批准 2 种动物饲料添加剂

据欧盟网站消息,2 月 1 日欧盟委员会发布(EU) No 96/2013 号法规,批准了 2 种动物饲料添加剂。其中一种为布氏乳杆菌 NCIMB 30139,另一种为干酪乳杆菌 ATTC PTA 6135.新法规将自公布 20 天后生效,适用于所有成员国。

[信息来源]

EUR-Lex. COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) No 96/2013:concerning the authorisation of a preparation of Lactobacillus buchneri NCIMB 30139 and of a preparation of Lactobacillus casei ATTC PTA 6135 as feed additives for all animal species [EB/OL]. (2013-2-1). http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2013:033:0021:0023:EN:PDF.

卫生部就《特殊医学用途配方食品良好生产规范》等 2 项食品安全国家标准征求意见

据卫生部网站消息,卫生部已根据《食品安全法》及其实施条例的规定,组织制定了《特殊医学用途配方食品良好生产规范》和《辅食营养补充品》2 项食品安全国家标准(征求意见稿)。现向社会公开征求意见,意见反馈截止日期为 2013 年 4 月 20 日。

[信息来源]中华人民共和国卫生部.关于征求《特殊医学用途配方食品良好生产规范》等 2 项食品安全国家标准(征求意见稿)意见的函 [EB/OL]. (2013-2-16). http://www.moh.gov.cn/mohwsjdj/s3594/201302/d4a435d7d1214247b60165114984d851.shtml

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net