

超高压杀菌白萝卜汁的关键工艺研究

徐夏旻, 张甫生, 陈芳*, 吴继红, 胡小松

(中国农业大学食品科学与营养工程学院, 农业部果蔬加工重点开放实验室,

果蔬加工教育部工程研究中心, 北京 100083)

摘要: 探讨白萝卜汁的热烫、酶解以及超高压杀菌工艺。结果表明: 100℃热烫 3min 能使硫代葡萄糖苷酶完全失活; 在酶解温度 40℃、pH5.0、酶用量 0.15g/L、酶解时间 60min 条件下, 白萝卜的出汁率可达到 81.48%; 超高压处理对白萝卜汁具有显著的杀菌作用, 且随压力的增大和处理时间的延长杀菌效果增加; 经加速实验评价, 500MPa 处理 1min 可作为白萝卜汁的杀菌参数。

关键词: 白萝卜汁; 超高压; 热烫; 酶处理

Process Optimization for Blanching, Enzymatic Treatment and Ultra High Pressure Sterilization of Radish Juice

XU Xia-yang, ZHANG Fu-sheng, CHEN Fang*, WU Ji-hong, HU Xiao-song

(Key Laboratory of Fruits and Vegetables Processing, Ministry of Agriculture, Engineering Research Centre for Fruits and Vegetables Processing, Ministry of Education, College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: This study aimed to optimize process parameters for the blanching, enzymatic treatment and ultra high pressure (UHP) sterilization of radish juice. The results showed that myrosinase in radish dices was inactivated completely after blanching for 3 min at 100 °C. The juice yield reached 81.48% after 60 min of treatment with 40 °C, pH 5.0, 0.15 g/L pectinase. In addition, UHP treatment had significant sterilization effect on microorganisms, which increased with increasing pressure and treatment time. The results of accelerated tests indicated that treatment at 500 MPa for 1 min was suitable for the sterilization of radish juice.

Key words: radish juice; ultra high pressure (UHP); blanching; enzymatic treatment

中图分类号: TS255

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)04-0008-05

白萝卜(*Raphanus sativus* L.)属于十字花科类蔬菜,在我国种植历史悠久,白萝卜能够预防胰腺癌、肺癌、直肠癌等多种癌症的发生^[1-4],是一种营养丰富且具有保健效果的蔬菜。由于白萝卜中含有丰富的硫代葡萄糖苷(glucosinolates)物质,在硫代葡萄糖苷酶的作用下会造成其水解,并进一步产生具有挥发性难闻气味的甲硫醇、二甲基二硫化合物和二甲基三硫化合物等物质^[5],严重影响了白萝卜汁的风味,制约其消费。目前,白萝卜主要以鲜食为主,加工方式主要是腌制、干制。国内对于白萝卜汁的开发集中在提高其出汁率^[6],以常规的热杀菌作为主要的处理方式^[7],无法解决异味产生的问题,国外则没有关于白萝卜汁开发的研究。因此,亟待开发新型的加工工艺和产品,拓宽白萝卜的加工利用途径。

超高压(ultra high pressure, UHP)技术是目前产业

化应用最为成熟的非热力杀菌技术,利用该技术可以在常温或较低温度下达到杀菌、钝化酶及改善食品品质的效果,能更好地保持原料本身的营养成分和风味^[8-10]。采用UHP在苹果汁、梨汁、橙汁等果汁的杀菌处理上效果良好^[11-14],而于白萝卜汁的应用则未见报道。本研究重点进行热烫、果胶酶处理、UHP杀菌工艺的筛选,以开发UHP鲜榨白萝卜汁加工工艺,对于促进白萝卜的深度加工,提高白萝卜原料附加值具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜白萝卜购于集贸市场,品种为“象牙白”。

柠檬酸、十二水合磷酸氢二钠(均为分析纯);硫代葡萄糖苷(分析纯) 美国Sigma公司;果胶酶(PECTINEX

收稿日期: 2011-02-22

基金项目: 北京市大学生科学研究与创业行动计划项目(2010);北京市科技计划课题(D101105046610001)

作者简介: 徐夏旻(1991—),女,本科生,研究方向为农产品加工与贮藏。E-mail: sun375634288@126.com

*通信作者: 陈芳(1972—),女,副教授,博士,研究方向为农产品加工与贮藏。E-mail: chenfangch@sina.com

Ultra SP-L, 酶活力 26000PG/mL, 酶解最适温度 40℃, pH4.5~5.5) 丹麦诺维信公司; 平板计数培养基、孟加拉红培养基(分析纯) 北京陆桥公司; 氯化钠(分析纯)。

0.02mol/L 磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液(PSB): 取 2.1g 柠檬酸用超纯水定容至 100mL, 配成 0.1mol/L 柠檬酸溶液。取 10.73g 十二水合磷酸氢二钠溶于 150mL 水中配成 0.2mol/L 磷酸氢二钠溶液。取 0.1mol/L 柠檬酸溶液 73.7mL、0.2mol/L 磷酸氢二钠溶液 126.3mL 混合后定容至 2000mL, 并用上述两种溶液微调 pH6.0。

0.2mmol/L 硫代葡萄糖苷溶液: 称取 0.0166g 硫代葡萄糖苷用 PSB 定容至 200mL。

1.2 仪器与设备

JYL-B060 料理机 九阳有限公司; HH·SII-4 电热恒温水浴锅 北京长安科学仪器厂; 868 型 pH 计 上海电热仪器有限公司; GSP-77-03 磁力搅拌器 江苏省泰县医疗器械厂; SHZ-III 型循环水真空泵 上海亚荣生化试剂厂; UV-1800 紫外-可见分光光度计 日本岛津有限公司; DZ-400 型单室真空机 北京瑞郎兴包装机械科技有限公司; HHP-700-6 型超高压设备 内蒙古包头科发有限公司; LDZX-50KBS 立式压力蒸汽灭菌器 上海申安医疗器械厂; LRH-250 生化培养箱 上海一恒科技有限公司; DL-CJ-1F 试验医用型洁净工作台 哈尔滨市东联电子技术开发有限公司; Vortex-5 漩涡混合器 海门市其林贝尔仪器制造有限公司; EY-300A 分析天平 日本松下电器公司; 移液器 德国 Eppendorf 公司。

1.3 方法

1.3.1 白萝卜汁的制备

选择成熟度适中, 形态良好, 无病虫害的白萝卜为原料。清洗干净后, 去皮, 切块(长、宽、高均约 2cm), 于不同温度下热烫一段时间后, 立即用冰水冷却, 测定硫代葡萄糖苷酶的活性。将白萝卜块与水混合(1:0.8)打浆后, 于白萝卜浆中加入柠檬酸调节 pH5.0, 加入果胶酶于 40℃ 酶解一段时间后快速冷却, 用 400 目尼龙滤布过滤取汁, 测定出汁率。将白萝卜汁罐装于 25mL 的 PA/PE 包装袋中, 用真空机封口, 进行超高压杀菌处理, 测定其杀菌效果。

白萝卜汁的制备过程中, 根据单因素试验设计确定热烫、酶解以及超高压杀菌工艺的处理参数。

1.3.2 UHP 处理

将包装好的白萝卜汁放入超高压容器中, 根据实验设计的条件进行 UHP 处理。传递压力的介质为水, 升压和卸压的时间分别为 9min 和 10s。

1.3.3 硫代葡萄糖苷酶活性的测定^[15]

采用紫外分光光度法进行测定。先用 PSB 调零后, 取硫代葡萄糖苷酶溶液 2.5mL 于比色皿中, 37℃ 恒温搅

拌加热 2min 后, 加入 100μL 白萝卜汁, 在 228nm 波长处进行测定, 4min 后停止测定, 保存数据。

$$\text{绝对酶活} = \frac{\Delta A_{228} \cdot V_A}{\Delta t \cdot b \cdot V_E}$$

式中: Δt 为 4min; ΔA_{228} 为 4min 内硫代葡萄糖苷在 228nm 波长处吸光度的变化值; b 为比色皿宽度(此处取值 1cm); V_A 为总反应液体积(此处取值 2.6mL); V_E 为白萝卜汁体积(此处取值 0.1mL)。本研究中, 热烫处理后的相对酶活(%)以处理后酶活性与处理前酶活性的百分比表示。

1.3.4 出汁率的计算

$$\text{出汁率}/\% = \frac{\text{获得汁液质量} - \text{加水质量}}{\text{原料质量}} \times 100$$

1.3.5 微生物检测

菌落总数: 参考 GB 4789.2—2010《食品卫生微生物学检验: 菌落总数测定》; 大肠菌群数: 参考 GB 4789.3—2010《食品微生物学检验: 大肠菌群计数》。

杀菌效果用下式表示:

$$\lg S = \lg(N/N_0)$$

式中: N_0 和 N 分别为 UHP 处理前后样品中的微生物数量/(CFU/mL); S 为微生物残存活率。

2 结果与分析

2.1 热烫工艺参数的优化

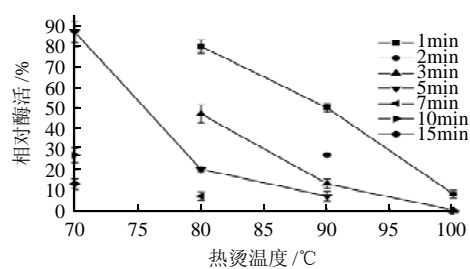


图1 热烫温度和时间对白萝卜汁中硫代葡萄糖苷酶相对酶活的影响

Fig.1 Effects of blanching timer and temperature on myrosinase in radish

为了使硫代葡萄糖苷酶完全失活, 避免发生酶促反应产生异味物质, 首先对热烫工艺进行优化。图1显示, 热烫温度和时间共同影响白萝卜汁中硫代葡萄糖苷酶的活性。随着温度升高和时间延长, 酶的失活程度逐渐加剧。尽管不同的热烫温度和热烫时间组合均造成酶活性或多或少的丧失, 当热烫温度达到 100℃、热烫

时间 3min 时, 才可使硫代葡萄糖苷酶完全失活。这与在花椰菜中的硫代葡萄糖苷酶的失活特性基本一致^[16]。因此, 本研究选择热烫温度 100℃、时间 3min。

2.2 酶解工艺参数的优化

2.2.1 酶用量对出汁率的影响

出汁率的高低直接影响到果蔬汁的生产成本。为了提高白萝卜汁的出汁率, 于白萝卜浆中加入不同量的果胶酶制剂进行酶解。从图 2 可知, 随着酶用量增加, 出汁率显著提高, 但酶用量高于 0.15g/L 时, 出汁率不再提高。表明 0.15g/L 的添加量足以使白萝卜浆中的果胶彻底分解而使汁液被释放。李全宏等^[6]在“春萝一号”白萝卜汁的酶解工艺研究中也获得了类似结果。考虑到成本因素, 果胶酶用量选 0.15g/L 为宜。

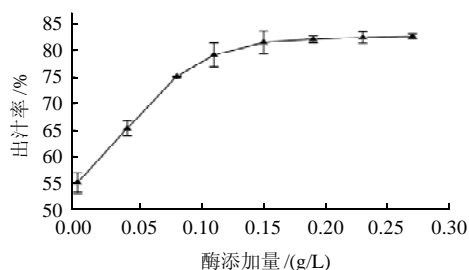


图2 果胶酶用量对白萝卜出汁率的影响

Fig.2 Effect of pectinase amount on radish juice yield

2.2.2 酶解时间对白萝卜出汁率的影响

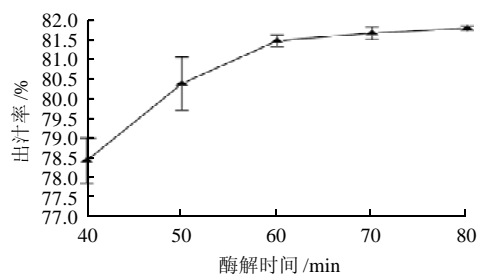


图3 酶解时间对白萝卜出汁率的影响(酶用量 0.015%)

Fig.3 Effect of treatment time on radish juice yield (0.015% pectinase addition)

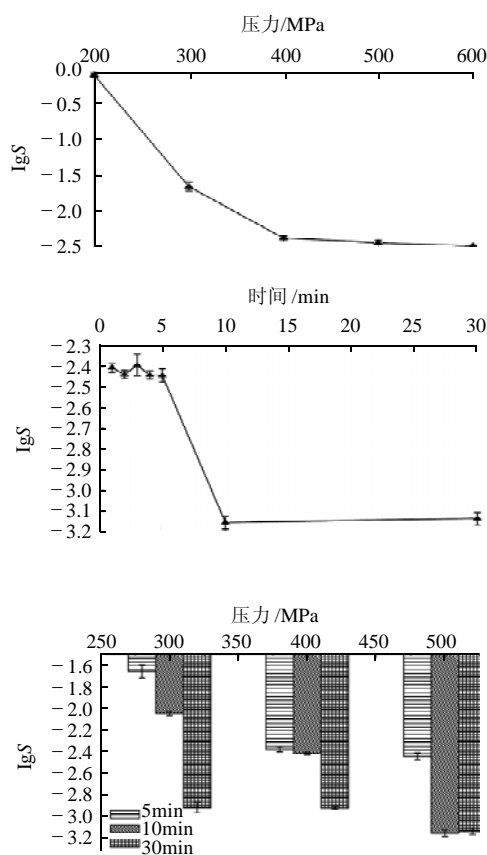
从图 3 可看出, 酶解时间对白萝卜出汁率的影响也十分显著。随着时间的延长, 出汁率逐渐增加; 当时间达到 60min 以上时, 出汁率的变化趋于稳定, 差异不显著。这与文献报道^[9]结果一致。考虑到实际生产中的酶解效率, 本研究选择酶解时间为 60min。将上述优化出的酶解参数于 40℃、pH5.0 条件下进行应用, 白萝卜的出汁率可达到 81.48%。

2.3 UHP 灭菌工艺参数的优化

2.3.1 UHP 对白萝卜汁杀菌效果

2.3.1.1 UHP 对菌落总数的影响

图 4a 反映了处理压力对白萝卜汁微生物杀灭效果的影响。当处理时间为 5min 时, 200MPa 的处理压力杀菌效果不显著($P > 0.05$); 400MPa 可使菌落总数降低 2.38 个常用对数单位; 之后进一步增加压力对杀菌效果无显著促进作用。这可能与微生物的耐压能力有关。Patterson^[17]认为, 不同种类的微生物具有一定的耐压阈值。一些微生物对压力敏感, 耐压阈值较低; 而另外一些微生物则有较高的耐压阈值。高压处理后, 大部分压力敏感菌被杀灭; 而相对耐压的微生物或其芽孢则可在相对较高的压力范围内存活。



a. 保压 5min 条件下处理压力的影响; b. 500MPa 处理压力下处理时间的影响; c. 不同处理时间和压力的共同影响。

图4 处理时间和压力对白萝卜汁中微生物的杀灭效果

Fig.4 Effects of treatment time and pressure on the inactivation of microorganisms in radish juice

由图 4b 可知, 当处理压力为 500MPa 时, 仅 1min 就可以使菌落总数降低 2.41 个常用对数单位, 杀菌效果显著($P > 0.05$); 而当处理时间从 1min 延长到 5min, 杀菌效果却没有显著变化, 这说明压力的持续作用并未促进对微生物的杀灭效果, 可能是因为 UHP 设备的升压方式是梯度式升压, 一些压力敏感菌在升压过程中就已经

被杀灭;当处理时间继续延长到 10min 时,微生物总数减小了 3.15 个常用对数单位,说明一些相对耐压的微生物在压力保持过程中被杀灭。而之后杀菌效果不再随处理时间延长而增加,说明对于这部分耐受高压的微生物而言,500MPa 的压力条件下仅靠延长处理时间难以将其杀灭,可能需要更高的压力处理,或者压力结合其他手段才能实现彻底的杀菌。

结合处理压力和处理时间两个因素,可以发现(图 4c),压力和时间之间存在互作效应,即压力越高,灭菌所需的处理时间越短;延长处理时间,即使在较低的压力下也可达到较好的杀菌效果。

2.3.1.2 UHP 对大肠菌群数的影响

实验同时研究了 UHP 处理对大肠菌群的杀灭效果。结果表明,200MPa 处理 5min 后,其大肠菌群数与初始大肠菌群数相等,都大于 1.1×10^6 MPN/100mL。而于 300MPa 处理 5min 后,大肠菌群数降低到小于 3MPN/100mL,具有显著的杀灭效果。这是因为大肠菌群大多数为革兰氏阴性菌,压力阈值较低缘故^[18]。

2.3.2 加速试验评价 UHP 对白萝卜汁的杀菌效果

将不同 UHP 参数处理的白萝卜汁与对照均置于 37℃ 条件下进行加速实验,贮藏 35h 后,仅有对照组白萝卜汁(初始菌落总数为 4.56×10^4 CFU/mL)与 200MPa 处理 5min 的白萝卜汁发生胀袋。其余实验样品继续贮藏至 10d,其菌落总数结果见表 1。

表 1 37℃ 贮藏 10d 后不同 UHP 处理的白萝卜汁中的菌落总数
Table 1 Total bacterial count in radish juice receiving different UHP treatments after storage at 37 °C for 10 days

编号	UHP 处理参数		菌落总数/(CFU/mL)	
	压力/MPa	时间/min	第 0 天	第 10 天
1	300	5	1.0×10^3	1.67×10^6 (胀袋)
2	300	10	4.08×10^2	6.54×10^5 (胀袋)
3	300	30	55	171
4	400	5	1.9×10^2	7.20×10^5 (胀袋)
5	400	10	1.73×10^2	100
6	400	30	54	55
7	500	1	1.79×10^2	98
8	500	2	1.66×10^2	78
9	500	3	1.84×10^2	72
10	500	4	1.65×10^2	70
11	500	5	1.64×10^2	30
12	500	10	32	20
13	500	30	33	9
14	600	5	1.5×10^2	22

处理 1、2 和 4 虽然在 UHP 处理后菌落总数显著减少,但在 37℃ 贮藏 10d 后,由于细菌的迅速修复和繁殖,其数量已恢复到处理前水平,并表现为胀袋。而对于处理 5、7、8、9、10、11、14,虽然在 UHP

处理后菌落总数未达到标准 GB 19297—2003《果、蔬汁饮料卫生标准》要求的“ < 100 CFU/mL”,但贮藏 10d 后,菌落总数却降低到了 100CFU/mL 以内。这可能是由于 UHP 处理造成一些细菌的损伤较为严重,或者白萝卜汁中本身含有的一些抗菌物质^[19]的作用而使其无法修复所致。

同样,在加速实验过程中检测了大肠菌群的数量变化。贮藏 35h 后,胀袋样品(200MPa 处理 5min)中的大肠菌群数大于 1.1×10^6 MPN/100mL,与对照没有明显差别。贮藏 10d 后,检测其他 UHP 处理样品(编号 1~14)的大肠菌群数,均小于 3MPN/100mL,符合 GB 19297—2003 的要求。

综合上述分析,考虑超高压处理的效率和成本,选择 500MPa 处理 1min 作为白萝卜汁的杀菌参数。

3 结 论

3.1 热烫温度和时间均影响白萝卜汁中硫代葡萄糖苷酶的失活效果。随着温度的升高和时间的延长,酶的活性逐渐降低。筛选出的最佳热烫工艺参数为温度 100℃、时间 3min。

3.2 添加果胶酶能显著增加出汁率。在酶解温度 40℃、pH5.0 条件下,筛选出最佳的酶用量为 0.15g/L、酶解时间 60min,此条件下白萝卜的出汁率可达到 81.48%。

3.3 UHP 处理具有显著的杀菌效果。随着压力的增大和处理时间的延长,白萝卜汁的菌落总数以及大肠菌群数显著降低。结合加速实验结果,确定白萝卜汁的 UHP 处理参数为 500MPa、1min。

参考文献:

- [1] 张小林,翁惠萍,张海燕.萝卜硫烷的研究进展[J].化工中间体,2008(12):20-23.
- [2] KECK A S, FINLEY J W. Cruciferous vegetables: cancer protective mechanisms of glucosinolate hydrolysis products and selenium[J]. Integrative Cancer Therapies, 2004, 3(1): 5-12.
- [3] STOEWSAND G S, ANDERSON J L, MUNSON L. Protective effect of dietary brussels sprouts against mammary carcinogenesis in Sprague-Dawley rats[J]. Cancer Letters, 1988, 39(2): 199-207.
- [4] COHEN J H, KRISTAL A R, STANFORD J L. Fruit and vegetable intakes and prostate cancer risk[J]. Journal of the National Cancer Institute, 2000, 92(1): 61-68.
- [5] 吕晓玲,龚鹏飞.萝卜红色素异味产生原因及脱味进展[J].现代食品科技,2007,23(2):94-97.
- [6] 李全宏,姜连芳,李文香,等.提高萝卜出汁率的酶处理效果[J].莱阳农学院学报,1997,14(1):59-61.
- [7] 张正辉.白萝卜汁饮料及其制作方法:中国,CN 101396160A[P].2009-04-01.
- [8] 曾庆梅,潘见,谢慧明,等.超高压灭活枯草芽孢杆菌(AS 1.140)的参数优化[J].农业工程学报,2005,21(4):158-162.
- [9] JAO C L, HWANG J S, KO W C, et al. A kinetic study on inactivation of tilapia myosin Ca-ATPase induced by high hydrostatic pressure[J].

- Food Chemistry, 2007, 101(1): 65-69.
- [10] 张文佳, 张燕, 廖小军, 等. 超高压对果蔬汁品质影响研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(9): 113-117.
- [11] 赵光远, 李晓, 白艳红, 等. 高压处理对鲜榨苹果汁品质的影响[J]. 中国食品学报, 2007, 7(6): 82-87.
- [12] 刘成梅, 刘建华, 刘伟. 瞬时高压作用对梨汁化学品质的影响[J]. 食品科技, 2008, 33(1): 46-49.
- [13] NIENABER U, SHELLHAMMER T H. High-pressure processing of orange juice: Combination treatments and a shelf-life study[J]. Journal of Food Science, 2001, 66(2): 332-336.
- [14] BULL M K, ZERDIN K, HOWE E, et al. The effect of pressure processing on the microbial, physical and chemical properties of Valencia and Navel orange juice[J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2004, 5(2): 135-149.
- [15] LI Xian, KUSHAD M M. Purification and characterization of myrosinase from horseradish (*Armoracia rusticana*) roots[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2005, 43(6): 503-511.
- [16] EYLEN D V, OEY I, HENDRICKX M, et al. Effects of pressure/temperature treatments on stability and activity of endogenous broccoli (*Brassica oleracea* L. cv. Italica) myrosinase and on cell permeability [J]. Journal of Food Engineering, 2008, 89(2): 178-186.
- [17] PATTERSON M F. Microbiology of pressure-treated foods: A review[J]. Journal of Applied Microbiology, 2005, 98(6): 1400-1409.
- [18] OMER M K, ALVSEIKE O, HOLCK A, et al. Application of high pressure processing to reduce verotoxigenic *E. coli* in two types of dry-fermented sausage[J]. Meat Science, 2010, 86(4): 1005-1009.
- [19] SEO W T, LIM W J, KIM E J. Endophytic bacterial diversity in the young radish and their antimicrobial activity against pathogens[J]. Journal of Applied Biological Chemistry, 2010, 53(4): 493-503.