

# 超高压处理对哈密瓜汁品质酶和微生物的影响

马永昆<sup>1</sup>, 刘威<sup>2</sup>, 胡小松<sup>3</sup>

(1.江苏大学生物与环境工程学院, 江苏 镇江 212013;

2.中国农业机械化研究院, 北京 100090;

3.中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

**摘 要:** 本文对不同超高压处理后的哈密瓜汁中的 POD、PPO 和 LOX 的活性进行了测定, 同时对哈密瓜汁中微生物及其对象芽孢菌和安全性评价菌 *E.coli* 的耐压性进行了实验。研究表明: 哈密瓜汁经 500MPa、20min 处理后, 其 POD、PPO 和 LOX 的残留活力分别为 81%、8.06% 和 6.84%, 在同等处理条件下, 对象芽孢菌耐压, 大肠杆菌不耐压且降低了 5 个对数级, 符合美国 FDA 鲜榨果蔬汁非热力杀菌的安全要求, 哈密瓜汁中的细菌总数  $\leq 100\text{CFU/ml}$ , 符合我国饮料的卫生标准。

**关键词:** 哈密瓜汁; 超高压; 酶活性; 微生物; 安全性评价

## Effect of Ultra High Pressure Treatment on Quality-related Enzymes and Bacterium of Hami Melon (*Cucumis Melo* L.) Juice

MA Yong-kun<sup>1</sup>, LIU Wei<sup>2</sup>, HU Xiao-song<sup>3</sup>

(1.Biological and Environmental College, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China;

2.China Agriculture Mechanization Institute, Beijing 100090, China;

3.College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100090, China)

**Abstract:** The paper systematically studied the residual activities of POD, PPO and LOX enzymes in Hami melon juice pressurized at 500MPa for 3~20min, and its bacteria total count, target spore bacteria and *E.coli* as safety index bacteria were also treated at the same condition. The results showed that at 500MPa for 20min treatment, the pressure tolerance of POD was greater than that of PPO and LOX, their residual activities were 81%, 8.06% and 6.84% respectively, the spores were pressure-resistant, *E.coli* was sensitive to ultra high pressure and the pressurized melon juice reached the safety standards of FDA on fruit and vegetable juice nonthermal processing and the domestic beverage standards.

**Key words:** Hami melon juice; ultra high pressure; enzyme activity; bacteria; safety evaluation

中图分类号: TS201

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)12-0144-04

哈密瓜(*Cucumis melon*.var.*reticulatus*, Hami melon)最重要的品质之一就是其独特的香气, 但哈密瓜汁属热敏性果汁, 加热会导致其香气的损失和异味的产生, 而采用非热力加工技术超高压可能是解决哈密瓜汁加热变味难题的有效方法。超高压处理能有效杀死食品中的腐败微生物和酶, 而对食品的香气、维生素和色泽品质等则无破坏作用<sup>[1]</sup>。

超高压加工鲜榨果蔬汁的质量评价指标中 POD、PPO 和 LOX 酶的残留活性对产品的品质如: 风味和色泽等较大的影响, 可将其作为质量评价指标酶。不同

来源的酶在超高压处理时其活性的变化差异较大, 如草莓酱中的过氧化物酶和多酚氧化酶在 300MPa 作用下, 过氧化物酶失活 25%, 多酚氧化酶失活 60%, 超高压可降低酶的活性, 也可能激活酶的活性, 这与酶的特性和超高压作用的条件有关<sup>[2~4]</sup>。

超高压对微生物的致死作用与微生物的种类和是否产生芽孢有密切的关系, 保证加工原料的新鲜和卫生将提高超高压工作的效率。一般在 300~700MPa 的压力下, 即可杀死食品中的微生物, 但对芽孢采用 600~900MPa 的压力作用 40~120min, 也不能将其完全杀死,

收稿日期: 2005-01-11

基金项目: 国家科技部项目(KZ2000-30-3)

作者简介: 马永昆(1963-), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品非热力杀菌及安全评价。



须结合热力或添加生物防腐剂等杀菌方法才可控制并减少芽孢的数量。食品微生物的初菌数和芽孢菌数量小,则超高压杀菌的效率则高<sup>[5,6]</sup>。

近年随着鲜榨果汁产品的兴起,鲜榨果汁的安全性引起了人们的高度重视,美国每年都有因饮用未巴氏杀菌的鲜榨苹果汁和橙汁导致中毒的事件发生,如橙汁、苹果汁的对象致病菌为沙门氏菌和 *E.coli* O157:H7。2001年美国FDA规定鲜榨果汁必须实施 HACCP 管理,并要求采用非热力杀菌技术,保证将果汁的对象致病菌减少5个对数级<sup>[7,8]</sup>。

本文着重研究了哈密瓜汁经超高压处理后其影响产品品质和安全性的酶及微生物的变化,目的是研究超高压加工鲜榨哈密瓜汁的合理技术参数,探索建立超高压加工热敏性果蔬汁的质量与安全的评价标准。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器

600MPa 超高压装置一套;  
UV 762 紫外/可见分光光度计;  
HL-60 榨汁机; pH38 型酸度计; 糖度计。

### 1.2 材料

哈密瓜品种选用新疆库尔勒巴楚县产的金皇后,原料要求充分成熟, pH5.6~5.8。

### 1.3 处理方法

#### 1.3.1 金皇后甜瓜冷冻处理方法

金皇后甜瓜用  $100 \times 10^{-6}$  漂白粉漂洗液消毒后清水冲洗,手工去皮,要求蒂部和开花部位切去2~4cm,再纵切、去籽并将种腔清理干净,将去皮瓜切成  $3 \times 4$ cm 块,混合均匀后用  $20\text{cm} \times 15\text{cm}$  的透明复合袋包装,每袋90~95g 真空封口,样品用液氮冷冻,冻结时间约5~7min,瓜块中心温度低于  $-18^\circ\text{C}$ ,冻结样品放入  $-18^\circ\text{C}$  冰箱的冻藏室保藏。

#### 1.3.2 样品超高压处理

将解冻后榨取的金皇后瓜汁分别装到6袋100ml的复合袋中热封口,经预试验最后确定金皇后瓜汁超高压处理条件为:500MPa 处理3、5、8、10、15和20min。芽孢缓冲液和大肠杆菌缓冲液均按上述条件进行处理。超高压升压速度100MPa/min,解压时间12s,腔内油温  $20 \sim 22^\circ\text{C}$ 。处理后的样品放在  $4^\circ\text{C}$  条件下待测,时间不超过12h。

#### 1.3.3 数据处理

采用 SPSS 统计软件处理。

### 1.4 酶的测定

#### 1.4.1 过氧化物酶测定

不同超高压处理后的金皇后瓜汁在  $4^\circ\text{C}$  条件下 5000r/

min 离心20min,上清液作为酶的提取液待测。采用邻甲氧基苯酚法测定<sup>[9]</sup>。酶活性以1ml酶提取液反应1min测定的吸光值 OD/min 表示。一个酶活力单位定义为  $1 \times 10^{-3} \Delta \text{OD/min}$ 。

#### 1.4.2 脂氧合酶的测定

底物制备采用 Surrey 的改进方法<sup>[10]</sup>,LOX 活性测定采用 Axelord 的方法<sup>[11]</sup>。酶活性以1ml酶提取液反应1min测定的吸光值 OD/min 表示。一个酶活力单位定义为  $1 \times 10^{-3} \Delta \text{OD/min}$ 。

#### 1.4.3 多酚氧化酶测定

在3.9ml 磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液中,加1ml 0.1mol/L 的邻苯二酚溶液,再加0.1ml的酶提取液,  $30^\circ\text{C}$  水浴5min,在420nm 波长下测定其吸光值。酶活性以酶反应1min测定的吸光值 OD/min 表示。一个酶活力单位定义为  $1 \times 10^{-3} \Delta \text{OD/min}$ 。

### 1.5 微生物分离和检测方法

#### 1.5.1 微生物培养分离

分离培养基:葡萄糖10g,牛肉膏3g,蛋白胨5g,氯化钠5g,琼脂15g,水1000ml, pH7.2,  $121^\circ\text{C}$  灭菌30min。

对500MPa、20min处理的金皇后瓜汁进行微生物培养,分离芽孢的优势种经中国农业大学遗传鉴定为枯草芽孢杆菌,编号 *Bacillus subtilis* UHP1。

#### 1.5.2 芽孢悬浮液制备

将分离芽孢的优势种接种在培养基的平皿上,  $28^\circ\text{C}$  培养48h以上,用无菌生理盐水洗两次,振荡器打散菌细胞,分装试管放入  $80^\circ\text{C}$  的恒温热水中,加热15min后杀死营养体,血球计数板检测,调节芽孢菌悬液的浓度为  $10^7 \text{CFU/ml}$ ,将芽孢菌悬浮液分装到灭菌的复合袋中,按照超高压处理设计,进行超高压处理并进行微生物琼脂平板培养计数。

#### 1.5.3 大肠杆菌缓冲悬浮液的制备

将大肠杆菌进行斜面扩培,用灭菌 pH6.86 磷酸缓冲液冲洗收集调整后其浓度为  $2.1 \times 10^7 \text{CFU/ml}$ ,分别装入灭菌复合袋中进行超高压处理,并进行琼脂培养计数。

#### 1.5.4 采用国标 GB4789.2-94 平板计数法。

## 2 结果与讨论

### 2.1 500MPa 压力处理对金皇后瓜汁酶的影响

速冻金皇后瓜汁经500MPa 不同时间处理其 POD、PPO 和 LOX 酶失活的程度不同,见图1。POD 在3、5、8min 时,其活性降低程度较小,10min 时其活性降低了19%,20min 时其活性基本不变。PPO 在3min 时其活性基本没有变化,5、8、10min 时,PPO 分别失



活了43.23%、69.69%和90.94%，失活程度较大，而15和20min时，其活性基本不变。LOX在3min时，其活性降低了93.44%，失活程度较大，5、8min时其活性基本没有变化，10、15min时其活性有所回升，10min时LOX活性比8min时回升了47.02%，20min时LOX活性降低了93.16%。总的趋势看，在500MPa、20min条件下，速冻金皇后瓜汁的三种酶仍有活性，其中LOX失活程度最大，POD失活程度最小。金皇后瓜汁中可能存在有LOX酶的同工酶，其在500MPa压力下作用10、15min时，金皇后瓜汁LOX酶的活力有所回升。超高压处理的金皇后瓜汁LOX酶的残留活力仅有7%左右，但由于超高压条件下氧和反应底物的浓度相对增加，LOX酶仍有催化瓜汁中亚麻酸或亚油酸反应的可能性<sup>[12]</sup>。

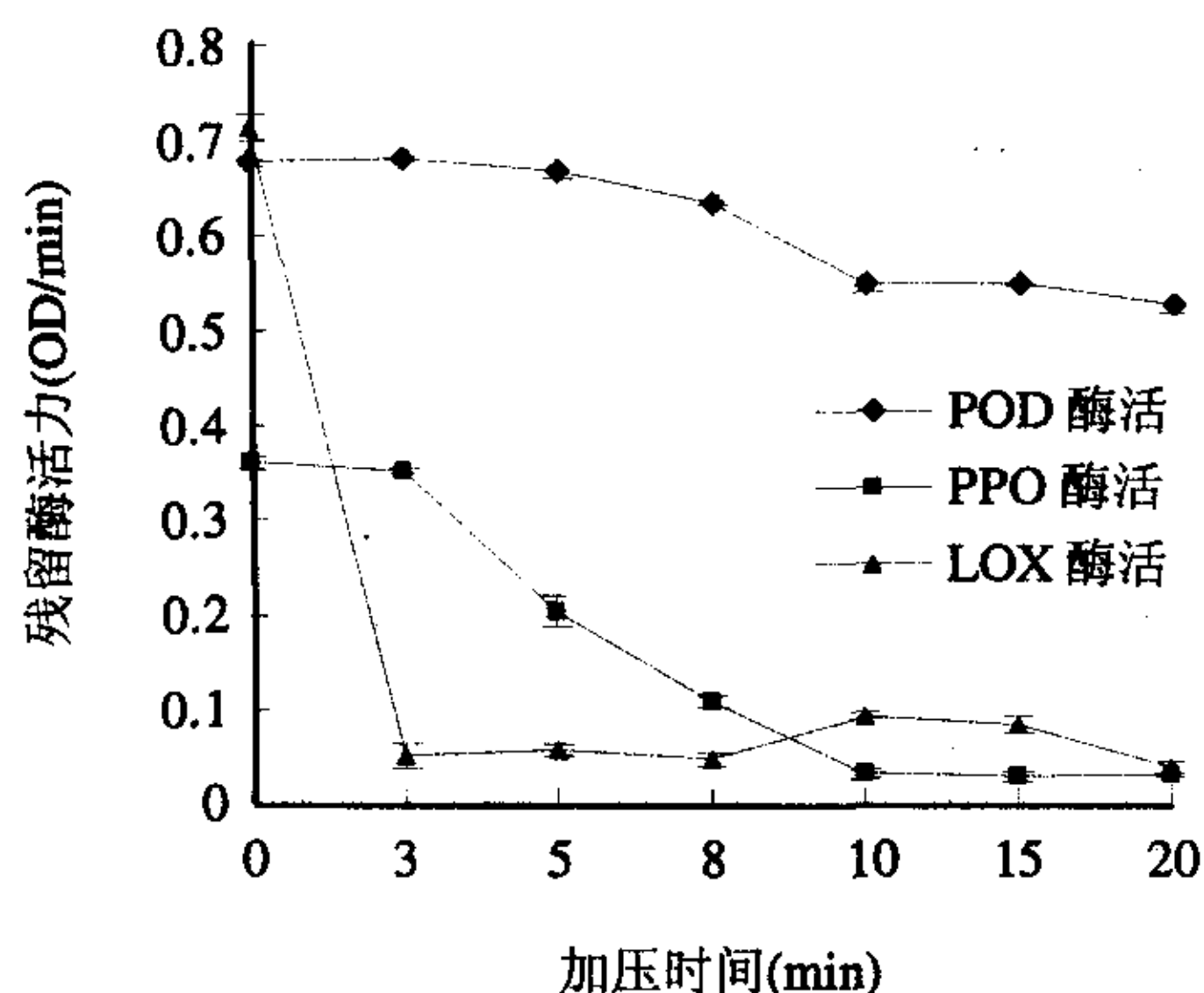


图1 超高压处理对金皇后瓜汁中酶的影响

Fig.1 Effect of ultra high pressure treatment of golden empress juice on its enzymes

## 2.2 超高压处理对大肠杆菌、芽孢菌和金皇后瓜汁微生物的影响

金皇后瓜汁经500MPa、15min处理后其初始细菌总数由 $3.9 \times 10^4$ CFU/ml降到20CFU/ml，符合国家饮料卫生标准规定的细菌总数 $\leq 100$ CFU/ml的要求，见图2。500MPa、8min时，大肠杆菌由试验初菌数 $2.1 \times 10^7$ CFU/ml减少到 $1.8 \times 10^2$ CFU/ml，降低了5个对数级，达到了美国FDA规定的非热力杀菌的卫生安全要求。金皇后瓜汁的对象芽孢菌在500MPa压力处理时，其芽孢降低的程度不大，20min时其仍残留有 $1.7 \times 10^4$ CFU/ml，这说明金皇后瓜汁超高压杀菌的对象菌枯草芽孢杆菌的芽孢耐高压，最大限度地控制并减少甜瓜原料中微生物的初菌数有助于提高超高压杀菌的效果。金皇后原料的初菌数主要受原料种植、采后处理及在车间生产线上的挑选、清洗消毒、去皮、切分、打浆、贮料温度等因素和加工环节的影响，新鲜金皇后甜瓜采用清洗消毒的措施后，可将原料的初菌数控制在 $10^4$ CFU/ml左右，这可保证金皇后瓜汁超高压杀菌后达到国家饮料的卫生标准。

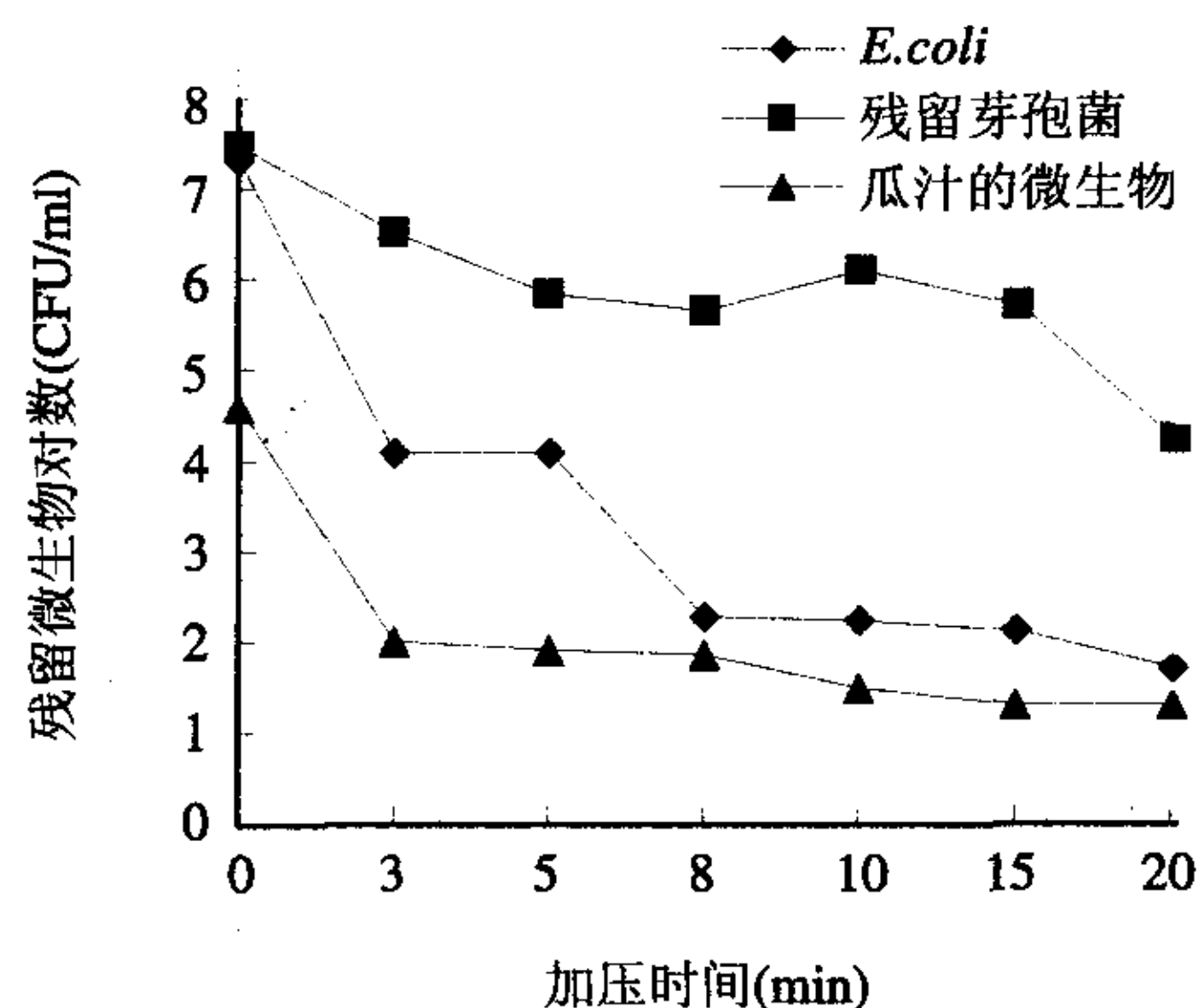


图2 超高压处理对微生物的影响

Fig.2 Effect of ultra high pressure treatment on its bacteria survival

求得大肠杆菌超高压处理残留菌数与超高压时间的回归方程 $Y_1 = -2.7867 \ln(X_1) + 6.7909$ ， $R^2 = 0.9286$ ，二者有高度的线性关系。

求得超高压处理的芽孢残留数与超高压时间的回归方程 $Y_2 = -0.0752X_2^3 + 0.9061X_2^2 - 3.506X_2 + 10.252$ ， $R^2 = 0.9699$ ，二者有高度的相关性。据此预测，500MPa超高压作用时间为30min，则大肠杆菌的数量可降低到10CFU/ml，其降低的程度不大，而芽孢的残留数量则由 $1.7 \times 10^4$ CFU/ml降低为 $10^2$ CFU/ml，这说明500MPa、20min超高压处理后，芽孢菌的耐压程度已降低，延长加压时间其杀菌效果更有效。

## 3 结 论

3.1 超高压处理不能使金皇后瓜汁中的LOX、POD和PPO酶完全失活，POD酶耐压，PPO和LOX酶不耐压，在500MPa作用20min时其分别失活19%、90.94%和93.16%。

3.2 枯草芽孢杆菌的芽孢耐高压，大肠杆菌则不耐高压，金皇后瓜汁经500MPa、20min超高压处理后，其卫生安全符合美国FDA的要求，其微生物指标已达到国家饮料标准即细菌总数 $\leq 100$ CFU/ml。

## 参考文献:

- [1] Ashie I N A, Simpson B K. Application of high pressure to control enzyme related fresh seafood texture deterioration[J]. Food Res Int, 1996, 29: 569-575.
- [2] Morild E. The theory of pressure effect on enzymes[J]. Advance of Protein Chemistry, 1981, 34: 93-166.
- [3] Hayakawa I, Kanno T, Tomita M, et al. Application of high pressure for inactivation and protein denaturation[J]. J Food Sci, 1994, 59: 159-163.
- [4] Weemaes C, Rubens P, Cordt S, et al. Temperature sensitivity and pressure resistance of mushroom polyphenoloxidase [J]. J Food Sci, 1997, 62(20): 261-266.



# 小麦胚芽中油、蛋白质及淀粉的分离制备

舒友琴<sup>1</sup>, 扶庆权<sup>2</sup>

(1.郑州牧业工程高等专科学校, 河南 郑州 450008; 2.郑州轻工业学院, 河南 郑州 450002)

**摘 要:** 本文对小麦胚芽中油、蛋白质及淀粉的分离制备进行了全面的研究。结果表明, 超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取小麦胚芽油的最佳操作条件为: 萃取压力 30MPa, 萃取温度 50℃, 萃取时间 2h。碱法制备小麦胚芽蛋白的最佳工艺条件: pH10, 时间 60min, 温度 45℃, 固液比 1:16, 提取率为 78.97%, 酸沉条件: pH4.2, 得率为 66.16%。木瓜蛋白酶法制备小麦胚芽蛋白的最佳工艺条件: pH5, 时间 60min, 温度 60℃, 加酶量 3000U/g, 提取率可达 97.98%, 酸沉条件: pH4.2, 得率为 78.15%。油和蛋白质被提取后的残余物经碱洗后即得小麦胚芽淀粉。

**关键词:** 小麦胚芽; 蛋白质; 木瓜蛋白酶

## Comprehensive Processing of Oil, Protein and Starch from Wheat Germ

SHU You-qin<sup>1</sup>, FU Qing-quan<sup>2</sup>

(1.Zhengzhou College of Animal Husbandry Engineering, Zhengzhou 450008, China;

2.Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract :** This paper studied the comprehensive processing of oil, protein and starch from wheat germ. The results showed that the optimal conditions for wheat germ oil extraction by supercritical CO<sub>2</sub> fluid were: extracting pressure 30MPa, extracting temperature 50℃, and extracting time 2h. The optimal conditions for extraction of wheat germ protein by alkali-processing were: extracting pH value 10, extracting time 60min, extracting temperature 45℃, Solid liquid 1:16, and extracting rate 66.16%, and pH value of acid-depositing 4.2, with yield rate 54.16%. The optimal conditions for extraction of wheat germ protein by papain-processing were: extracting time 60min, extracting temperature 60℃, and quantity of papain added 3000U/g, with extraction rate summed up to 97.98%, with pH value of acid-depositing 4.2, and yield rate 78.15%. After protein being extracted, wheat germ starch was get through remnant being wished by alkai solution.

**Key words:** wheat germ; protein; papain

中图分类号: TS201.21

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)12-0147-05

收稿日期: 2004-10-28

基金项目: 河南省科技攻关项目(0424290041); 郑州市重大科技攻关项目(2002BA02)

作者简介: 舒友琴(1963-), 女, 副教授, 硕士, 主要从事农产品化学研究。

- [5] Goodner J K, Braddock R J, Parish M E. Inactivation of Pectinesterase in Orange and Grape Juices by High Pressure [J]. J Agric Food Chem, 1998, 46(5): 1997-2000.
- [6] Roberts C M, Hoover D G. Sensitivity of bacillus coagulants spores to combination of high pressure, heat acidity and nisin[J]. J Applied Microbiology, 1996, 81: 363-368.
- [7] Centers for disease control and prevation. outbreak of *E.coli* O157:H7 infections associated with drinking unpasteurized commercial apple juice[J]. British Columbia, California, Colorada, and Washington, Morb Mortal Wkly Rep, 1999, 45: 975-983.
- [8] 黄福南. 果蔬汁产品危害分析关键控制点[J]. 中外食品工业信息, 2001, (5): 38-39.
- [9] 韩雅珊. 食品化学实验指导[M]. 中国农业大学出版社, 1996. 143-145.
- [10] 吴敏, 陈昆松, 张上隆, 等. 桃果实采后脂氧合酶活性和膜脂脂肪酸组分的变化[J]. 园艺学报, 2001, 28(3): 218-222.
- [11] 罗云波, 生吉萍, 李钰, 等. 番茄脂肪氧合酶与乙烯释放量的关系[J]. 园艺学报, 1999, 26(1): 28-32.
- [12] 马永昆, 周日兴, 胡小松. 不同超高压处理压力对哈密瓜汁香气的影响[J]. 食品与发酵工业, 2003, 29(11): 14-19.