

果糖-赖氨酸体系美拉德反应产物结合低温脉冲电场灭菌对香蕉汁品质的影响

高祺¹, 袁德保², 杨劲松¹, 李芬芳², 李奕星², 王朝政², 陈娇²

(1. 海南大学食品学院, 海南海口 570228)

(2. 中国热带农业科学院海口实验站, 海南省香蕉遗传改良重点实验室, 海南海口 570102)

摘要: 本文研究了果糖-赖氨酸模型体系美拉德反应产物 (MRPs) 结合脉冲电场处理 (PEF) 在香蕉汁低温加工中的护色和杀菌作用。首先考察了 MRPs 对香蕉多酚氧化酶 (PPO) 的活性抑制及香蕉打浆后颜色的变化。其次, 考察了 MRPs 与 PEF (单独或结合处理) 对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的最低抑菌浓度 (MIC 值)、最低杀菌浓度 (MBC 值) 的影响。研究发现, 0.0625 mg/mL 的 MRPs 可使香蕉 PPO 活性下降 86% 且可保证香蕉打浆后 30 min 内维持原有色泽。MRPs 对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的 MIC 值均为 12.5 mg/mL。PEF 对上述两种微生物有着良好的钝化效果, 且可显著增强 MRPs 的抑菌效果, 即金黄色葡萄球菌和大肠杆菌经 30 kV/cm 电场强度处理 1200 μ s 后可使 MRPs 对二者的 MIC 值分别降至 1.56 mg/mL 和 3.125 mg/mL。添加 0.0625 mg/mL MRPs 护色打浆, 经酶解过滤后所得滤液在 50 kV/cm 电场强度条件下处理 1200 μ s 可得到颜色亮黄、风味纯正且保藏期较为理想的香蕉汁产品。

关键词: 香蕉汁; 美拉德产物; 脉冲电场; 护色; 杀菌

文章编号: 1673-9078(2015)12-220-226

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.12.033

Effect of Combined Maillard Reaction Products in Fructose-lysine Model System and Pulsed Electric Field Sterilization on Banana Juice Quality

GAO Qi¹, YUAN De-bao², YANG Jin-song¹, LI Fen-fang², LI Yi-xing², WANG Chao-zheng², CHEN Jiao¹

(1. College of Food Science and Technology, Hainan University, Haikou 570228, China) (2. Hainan Key Laboratory of Banana Genetic Improvement, Haikou Experimental Station, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 570102, China)

Abstract: The anti-browning and anti-microbial effects of Maillard reaction products (MRPs) in fructose-lysine model system and pulsed electric field (PEF) treatment during the low-temperature processing of banana juice were investigated in this study. First, the impact of the MRPs in inhibiting banana polyphenol oxidase (PPO) activity and color changes after pulping banana fruits were investigated. Second, the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of MRPs with and/or without PEF against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were measured. The results showed that the addition of 0.0625 mg/mL MRPs decreased PPO activity by 84% and retained the original color of banana fruits for 30 minutes after pulping. The MICs of MRPs against *S. aureus* and *E. coli* were both 12.5 mg/mL. PEF effectively inactivated *S. aureus* and *E. coli*, significantly enhancing the anti-microbial effects of MRPs. Specifically, the MICs of MRPs against *S. aureus* and *E. coli* decreased to 1.56 mg/mL and 3.125 mg/mL, respectively, after PEF treatment at 30 kV/cm for 1200 μ s. MRPs at a concentration of 0.0625 mg/mL in combination with PEF at 50 kV/cm for 1200 μ s while pulping the banana fruits produced banana juice with a bright yellow color, a pure flavor, and a desired shelf life.

Key words: banana juice; Maillard reaction products; pulsed electric field; color-protecting; sterilization

收稿日期: 2015-03-17

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31101328); 中国热带农业科学院院基本科研业务费(1630052014005)

作者简介: 高祺(1990-), 男, 硕士研究生, 研究方向为农产品贮藏与加工。

通讯作者: 袁德保(1982-), 男, 博士, 助理研究员, 研究方向为农产品贮藏与加工; 杨劲松(1966-), 女, 博士, 教授, 硕士生导师, 研究方向为食品生物技术与应用微生物技术。

香蕉作为一种大宗果品, 目前仍以鲜食为主要消费形式, 一些关键技术上的问题严重限制了香蕉深加工的发展, 主要包括: 去皮后的香蕉果肉极易褐变、香蕉浆渣汁不易高效分离、加工中风味易发生劣变等^[1-2]。针对褐变问题, 添加抗氧化剂维生素 C、热烫钝化褐变相关酶活^[3]、添加焦亚硫酸盐等含硫制剂^[4]、低温液氮排氧打浆^[4]等是已报道且呈现一定效果的手

段。上述技术手段同时产生了一些其他问题,如添加维生素 C 并不能从根本上阻止酶促褐变发生、热烫钝化酶活同时破坏了香蕉风味、含硫制剂带来 SO_2 残留问题等。针对香蕉不易渣汁分离这一问题,主要通过果胶酶等水解酶系对香蕉果肉中的果胶等物质进行降解,从而提高出汁率^[3]。针对风味易劣变的问题,主要通过降低操作温度尤其是钝酶和杀菌过程的温度来实现。

项目组前期研究中发现了一种对香蕉多酚氧化酶(PPO)具有较强抑制作用的美拉德产物(MRPs)^[5],同时 MRPs 的抑菌效果在相关文献中也有所揭示^[6]。脉冲电场(PEF)作为一种新型的非热处理技术,低温条件下在杀灭微生物^[7]及钝化酶活方面^[8]都展现出了良好效果。因此,本文以探索香蕉汁低温加工工艺为目标,研究了果糖-赖氨酸模型体系 MRPs 结合 PEF 技术在香蕉汁低温加工中的护色和杀菌作用。通过测定 MRPs 对香蕉 PPO 活性的抑制作用、对打浆后香蕉浆颜色的影响,考察了 MRPs 作为护色剂的护色效果;通过测定在液体培养基中 MRPs 对 PEF 处理前后的金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的最低抑菌浓度(MIC 值)、最低杀菌浓度(MBC 值),考察了 MRPs 结合 PEF 的灭菌效果。并依据上述结果,采用低温加工工艺制备香蕉汁,对比传统热处理工艺,从感官指标、微生物数量和保藏期方面对产品进行评定,为香蕉汁低温制备技术提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

香蕉:市售巴西蕉,七八成熟(购于海口大润发超市);香蕉 PPO 粗酶液:提取方法参照杨昭等^[9]的方法;美拉德反应产物:果糖-赖氨酸反应体系制备^[5];果胶酶(食品级):深圳绿微康生物工程有限公司;琼脂,蛋白胨:北京索莱宝科技有限公司;牛肉浸膏,月桂基硫酸盐胰蛋白胨肉汤,煌绿乳糖胆盐肉汤:广东环凯微生物科技有限公司;柠檬酸,维生素 C,邻苯二酚,氯化钠,葡萄糖,聚乙烯吡咯烷酮(PVPP),Tween 80 等均为国产分析纯。

1.2 仪器设备

DS-1 打浆机:上海标本模型厂;DK-S26 恒温水浴锅:上海精宏实验设备有限公司;FE20 pH 计:瑞士梅特勒-托利多公司;CR400 色差计:日本美能达公司;SY-2000 脉冲电场处理装置:华南理工大学;UV-1800 紫外-可见分光光度计:日本岛津公司;

SW-CJ-1FD 单人单面净化工作台:苏州净化设备有限公司;GI54DW 高压灭菌锅:美国致微公司。

1.3 试验方法

1.3.1 MRPs 对香蕉 PPO 活性的抑制效果

PPO 活性测定参照 Galeazzi 方法^[10]并做一定修改。取浓度为 2、1、0.5、0.25、0.125、0.0625、0.03125 mg/mL 的 MRPs 溶液 1 mL、0.2 mol/L pH 6.6 的磷酸钠缓冲溶液 1.8 mL、0.2 mol/L 邻苯二酚溶液 1 mL,混匀,30 °C 水浴保温 5 min 后,加入 0.2 mL 香蕉 PPO 粗酶液,摇匀。将混合后的溶液置于紫外-可见分光光度计中,425 nm 波长处测定其吸光值的变化,每个样品浓度做三个平行。以单位时间内吸光值变化 0.001 为一个酶活力单位 U,记录不同处理条件下 PPO 的酶活力。空白组以蒸馏水代替 MRPs 样液。加入 MRPs 样品后的酶活为 V_1 ,空白组酶活为 V_0 ,酶活残存率的计算方法如下:

$$\text{酶活残存率} = V_1/V_0 \times 100\%$$

1.3.2 MRPs 在香蕉打浆过程中的护色效果

分别配制 1、0.5、0.25、0.125、0.0625、0.03、0.015 mg/mL 的维生素 C (Vc) 溶液和 MRPs 溶液。经 0.5% 柠檬酸钠溶液浸泡的香蕉片(使用 Vc 护色的香蕉片在柠檬酸钠浸泡前需在沸水中热烫 1 min)与上述溶液按料液比 1:1 (m/V) 混合后置于打浆机内,10000 r/min 打浆 30 s。每个处理三个平行。将打浆均匀后的香蕉浆转入透明 PET 塑料瓶,对打浆后以及放置 30 min 时的香蕉浆使用色差计进行测定,考察 MRPs 在打浆过程中对香蕉护色效果。

1.3.3 MRPs 对液体培养基中微生物的抑制效果

香蕉果肉与超纯水按料液比 1:1 (m:V) 混合后,经打浆、酶解、过滤、杀菌工序得到香蕉汁。将金黄色葡萄球菌或大肠杆菌接种于香蕉汁中,使细菌终浓度达 10^6 至 10^8 cfu/mL 即为供试菌液。取部分供试菌液进行 PEF 处理,条件 30 kV/cm,1200 μs ,得到 PEF-供试菌液。配制 MRPs 浓度分别为 50、25、12.5、6.25、3.125、1.5625、0 mg/mL 的营养肉汤培养基 200 mL,加入 100 μL 供试菌液或 PEF-供试菌液,以未接种微生物的培养基为空白,38 °C 条件下摇床培养,每种处理浓度做三个平行。每 6 h 测定液体培养基在 600 nm 波长处的吸光值,依据吸光值变化判断培养基中菌落数变化。培养 12 h 后吸光值无显著变化的最小 MRPs 浓度即为 MIC 值,培养 36 h 后吸光值无显著变化的最小 MRPs 浓度即为 MBC 值。

1.3.4 PEF 对香蕉汁中微生物的抑制效果

PEF 灭菌处理前使用喷壶喷洒医用酒精对整个操作室进行灭菌,料液泵入循环管路之前,先后使用医用酒精、无菌水清洗管路各 5 min,一个批次样品处理完成后重复上述操作。对 1.3.3 所得金黄色葡萄球菌或大肠杆菌的供试菌液进行 PEF 处理,考察在三种不同的电场强度下(30、40、50 kV/cm),处理不同时间(200、400、800、1200、1600 μs)对香蕉汁中上述两种微生物的影响,每种处理条件做三个平行。采用平板计数法测定香蕉汁中微生物含量,杀菌效果使用致死率表示,处理前香蕉汁中微生物数量为 N_0 (cfu/mL),处理后香蕉汁中微生物数量为 N (cfu/mL),致死率计算方法如下:

$$\text{致死率} = -\text{Log}(N/N_0)$$

1.3.5 MRP_s 结合 PEF 处理对香蕉汁保藏期的影响

对打浆阶段使用 V_c 护色的处理组,香蕉浆经果胶酶酶解过滤后进行巴氏杀菌(85 °C, 15 min)。对使用 MRP_s 护色的处理组,香蕉浆经同样条件酶解过滤后进行 PEF 低温灭菌(50 kV/cm, 1200 μs)。每个处理三个平行。使用色差计测定灭菌处理后香蕉汁的色差值,使用平板计数法统计灭菌处理后香蕉汁的菌落总数、大肠杆菌数和霉菌酵母菌数^[11-13]。将经过杀菌处理后的香蕉汁灌装至无菌 PET 瓶内,置于室温下,每隔 5 天测定其色泽变化以及相关微生物指标,通过所得数据初步预测其保藏期。

表 1 不同浓度 MRP_s 和 V_c 护色处理的香蕉浆色差值变化

Table 1 Color change of banana pulp with different MRP concentrations and V_c color protecting treatment

溶液终浓度 (mg/mL)	打浆后放置 时间/min	V_c			MRP _s		
		L	a	b	L	a	b
0.5	0	68.22 ^a ±2.65	-1.21 ⁱ ±0.03	13.04 ^{ab} ±1.06	69.69 ^{ab} ±1.34	-1.16 ⁱ ±0.06	12.44 ^a ±0.56
	30	67.22 ^{ab} ±2.49	-1.17 ⁱ ±0.18	12.81 ^{abc} ±1.29	70.51 ^a ±2.37	1.28 ^b ±0.04	11.36 ^{abc} ±0.19
0.25	0	65.63 ^{ab} ±2.28	-1.21 ⁱ ±0.04	13.20 ^a ±0.40	69.51 ^{ab} ±1.94	-1.19 ⁱ ±0.01	12.30 ^a ±0.38
	30	61.31 ^{cd} ±4.40	-1.07 ⁱ ±0.09	12.97 ^{ab} ±0.15	68.95 ^{abc} ±1.09	1.03 ^c ±0.01	11.85 ^{ab} ±0.40
0.125	0	63.97 ^{abc} ±3.13	-1.02 ^{ghi} ±0.12	13.09 ^{ab} ±0.50	65.26 ^{bcd} ±3.70	-1.18 ⁱ ±0.04	12.12 ^{ab} ±0.68
	30	56.03 ^{def} ±6.67	-0.78 ^{fg} ±0.13	12.32 ^{abc} ±0.37	67.92 ^{abc} ±0.84	0.49 ^d ±0.02	11.35 ^{abc} ±0.41
0.0625	0	60.76 ^{cde} ±1.40	-1.03 ^{ghi} ±0.10	12.04 ^{abcd} ±0.74	66.56 ^{abcd} ±2.55	-1.15 ⁱ ±0.02	11.80 ^{ab} ±0.79
	30	53.08 ^{fg} ±1.75	-0.02 ^e ±0.18	11.62 ^{cd} ±0.22	66.87 ^{abcd} ±0.68	-0.87 ^g ±0.06	10.28 ^{cde} ±0.20
0.0313	0	62.31 ^{bc} ±1.54	-0.80 ^{gh} ±0.15	12.01 ^{abcd} ±0.75	64.72 ^{cd} ±0.97	-0.80 ^g ±0.04	11.24 ^{abc} ±1.23
	30	52.15 ^{fg} ±2.83	0.52 ^c ±0.22	11.02 ^{de} ±0.61	63.39 ^d ±2.03	0.33 ^e ±0.03	11.03 ^{bcd} ±0.97
0.0156	0	55.27 ^{ef} ±2.92	-0.64 ^f ±0.12	12.78 ^{abc} ±0.83	64.55 ^{cd} ±1.17	-0.18 ^f ±0.03	10.00 ^{de} ±0.56
	30	47.44 ^{gh} ±2.93	1.14 ^b ±0.10	10.29 ^{ef} ±0.33	55.32 ^e ±4.54	1.25 ^b ±0.06	9.38 ^e ±0.23
0	0	51.61 ^{fg} ±0.98	0.25 ^d ±0.03	11.78 ^{bcd} ±0.84	51.61 ^e ±0.98	0.25 ^e ±0.03	11.78 ^{ab} ±0.84
	30	44.61 ^h ±3.79	1.95 ^a ±0.23	9.56 ^f ±0.57	44.61 ^f ±3.79	1.95 ^a ±0.23	9.56 ^e ±0.57

注: 同一列不同字母代表显著性差异 ($p < 0.05$)。

L 表示亮度值,数值越大亮度越高; 正的 a 值表

2 结果与分析

2.1 MRP_s 对香蕉汁护色的影响

2.1.1 MRP_s 对香蕉果肉 PPO 活性的抑制效果

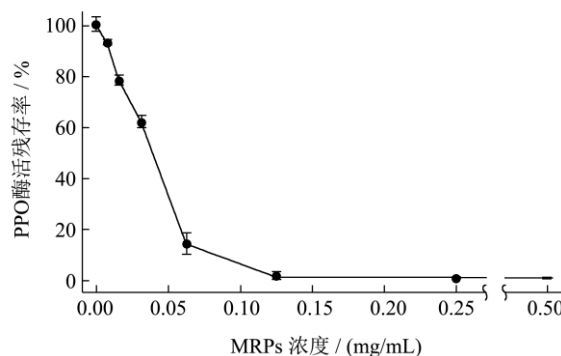


图 1 不同浓度 MRP_s 对香蕉 PPO 活性的影响

Fig.1 Effect of different MRP concentrations on the banana PPO activity

高活性的 PPO 是导致香蕉及相关产品发生酶促褐变的主要原因,因此 MRP_s 对 PPO 活性的抑制效果是衡量其抗褐变能力的一个重要指标。如图 1 所示,MRP_s 对 PPO 活性的抑制效果随着浓度的上升而增加。当 MRP_s 浓度为 0.0625 mg/mL 时,香蕉 PPO 残存活性可降至 14%,继续增大浓度,香蕉 PPO 活性可被完全抑制。

2.1.2 MRP_s 添加对香蕉果肉打浆护色的影响

示红色, 负的 a 值表示绿色; 正的 b 值表示黄色, 负

的 b 值表示蓝色^[14]。由表 1 可知, 对照组 (护色剂浓度为 0 时) 打浆后其 L 值在 51 左右 (显著小于护色剂各浓度组), 放置 30 min 后 L 值降低 7 左右。同时在放置过程中出现了 a 值显著增加、 b 值显著减小的现象。上述结果一致说明, 对照发生了显著褐变, 而且随时间延长褐变程度显著加重。对 V_c 而言, 在实验设计的浓度范围内, 其浓度越高护色的效果越好。终浓度为 0.5 mg/mL 时, 打浆放置 30 min 后的 L 值和 a 值均未发生显著变化。终浓度为 0.25 mg/mL 时, 放置 30 min 后的 a 值和 b 值与打浆结束时无明显差异, 而 L 值则显著降低。上述情况说明若仅考虑打浆时候的护色效果, 0.25 mg/mL 浓度即可, 然而如果考虑香蕉加工中不同单位操作之间的衔接时间以及后续单位操作所需的时间, 则需提高 V_c 的使用浓度。还有一点值得注意: V_c 护色组因上层与空气接触, 接触部分已发生明显褐变, 且比例大小与 V_c 浓度呈反比。由此不难得出, V_c 防褐变作用是基于其抗氧化性 (即自身被还原), 同时也说明 PPO 具有较高的耐热性, 预处理时的热烫不能完全钝化其活性。和 V_c 护色组相比, 同等浓度下的 MRPs 护色效果要远优于 V_c 。MRPs 终浓度为 0.0156 mg/mL 时, 在香蕉打浆过程中已呈现一定护色效果。当终浓度为 0.0313 mg/mL 时, 打浆放置 30 min 后, 香蕉浆颜色明亮且均匀, 且 L 值均在 60 以上, 说明随着 MRPs 浓度的增大, 亮度方面护色效果越明显。然而, 观察比较打浆后置 30 min 的 a 值变化, 可以发现, 随 MRPs 浓度的增加, 该值呈现先减少后增加的趋势。当 MRPs 浓度为 0.0625 mg/mL 时, 打浆放置 30 min 的 a 值最小, 为 -0.87, 和打浆后的数值最接近。打浆后放置 30 min 后香蕉浆呈现的外观色泽和测定的 a 值一致, 即部分 a 值高的样品呈现出一定的淡粉色, 该淡粉色可能是 MRPs 与香蕉浆中的物质结合形成了新的物质导致。因 MRPs 抑制褐变的机理来源于诸多方面, 如抑制 PPO 酶活及抗氧化性等^[15], MRPs 护色组与空气接触部分未出现褐变现象, 即香蕉浆整体呈现均一色泽。综上, 0.0625 mg/mL 的 MRPs 添加量即可保证香蕉打浆及其后放置 30 min 内的护色效果, 而 V_c 的添加量需达到 0.5 mg/mL 才能满足需求。

2.2 MRPs 及低温 PEF 灭菌处理对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的影响

2.2.1 MRPs 对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的影响 (液体培养基中)

通过图 1 和表 1, 可得知香蕉打浆护色时 MRPs

的适宜添加浓度。为了考察 MRPs 在抑菌方面的活性, 对 MRPs 在液体培养基中对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑制效果进行了研究, 结果如图 2 所示, 可见 MRPs 浓度越高, 对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑制效果越显著。MIC 值和 MBC 值是评价一种抗菌物质抗菌效果的重要参数, 其值越低表明该物质抑菌效果越好。在液体培养基中, MRPs 对金黄色葡萄球菌的 MIC、MBC 值均为 12.5 mg/mL, 对大肠杆菌的 MIC、MBC 值分别为 12.5 mg/mL 和 25 mg/mL。果糖-赖氨酸体系制得的 MRPs 粗产物展现了与木糖-大豆肽体系制得并进行分级的 MRPs 抑菌效果最好部分相似的抑菌效果^[6]。然而对比图 2 和图 1, 不难发现, 满足抑菌效果所需的 MRPs 浓度远高出打浆护色时的添加浓度, 而表 1 中已表明, 稍高的 MRPs 反倒会引起香蕉制品不适宜的颜色产生。因此, 为同时满足护色和灭菌效果 (在既定 MRPs 添加浓度下), 需另外使用一种低温灭菌处理手段, 以达到协同增效的目的, 无疑, 低温 PEF 灭菌处理是一种理想的选择。

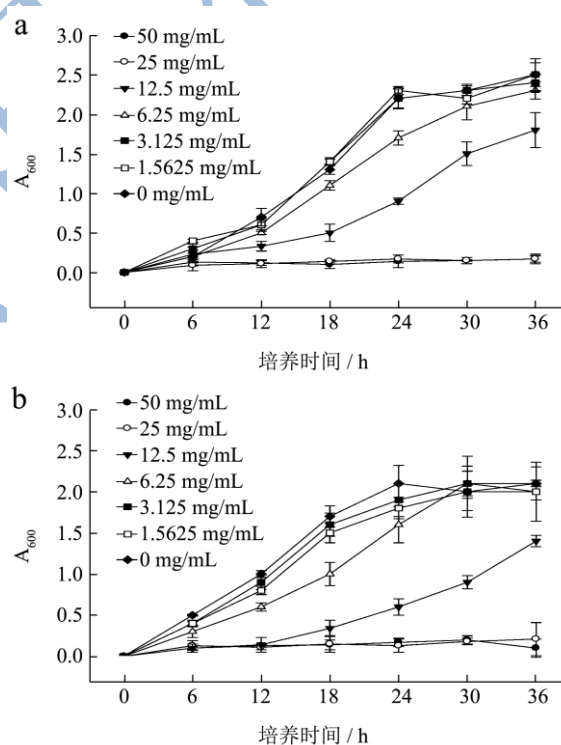


图 2 不同浓度 MRPs 对液体培养基中金黄色葡萄球菌 (a) 和大肠杆菌 (b) 的影响

Fig.2 Effect of different MRP concentrations on *Staphylococcus aureus* (a) and *Escherichia coli* (b) in liquid medium

2.2.2 MRPs 对 PEF 处理后金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的影响 (液体培养基中)

MRPs 对 PEF 处理后的金黄色葡萄球菌和大肠杆菌 (液体培养基中) 的影响见图 3。

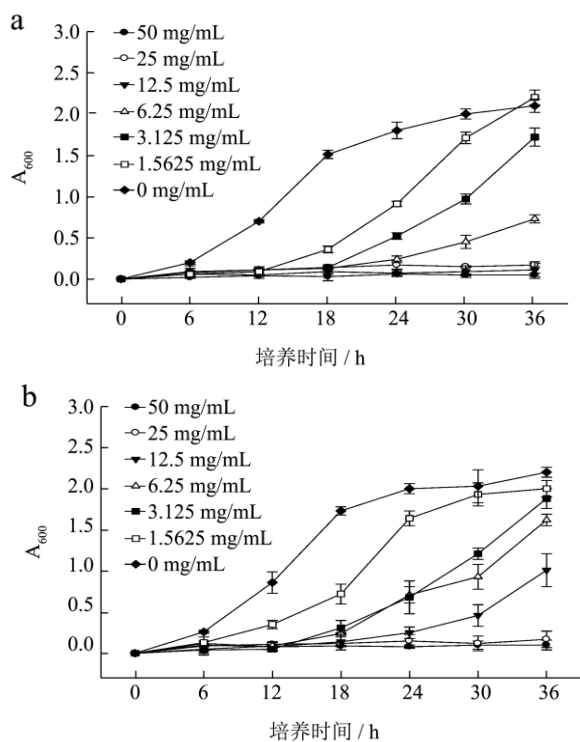


图3 不同浓度MRPs对PEF处理后金黄色葡萄球菌(a)和大肠杆菌(b)的影响(液体培养基中)

Fig.3 Effect of different MRP concentrations on PEF-treated *Staphylococcus aureus* (a) and *Escherichia coli* (b) in liquid medium

PEF处理可降低MRPs对所考察微生物MIC值,MRPs对金黄色葡萄球菌的MIC值由12.5 mg/mL降至1.56 mg/mL,对大肠杆菌的MIC值由12.5 mg/mL降至3.125 mg/mL。原因可能是PEF处理(30 kV/cm, 1200 μ s)使溶液中大量微生物处于亚致死状态^[16],而亚致死微生物重新恢复生理活性需经过自我修复过程,从而导致微生物生长的迟滞期延长。对比图2和图3可见,在没有MRPs的环境下,虽然PEF处理可使迟滞期略微延长,但微生物仍可较快进入对数生长期。而经PEF处理的微生物处于MRPs环境中时,其迟滞期的持续时间较PEF处理后未处于MRPs环境或处于相同浓度MRPs环境但未经PEF处理的微生物更长,这表明微生物经PEF处理后,溶液中存在的MRPs可更有效地发挥抑菌作用,且浓度越大效果越显著。当亚致死微生物完成自我修复后,因液体培养基营养成分充足,故可在短时间内大量增殖,因此MBC值较未经PEF处理组没有显著性差异。综上,PEF处理与MRPs具有一定的协同作用,PEF处理可杀灭一部分微生物且使得微生物对MRPs更为敏感,而MRPs则可延缓经PEF处理后亚致死微生物的生长,在一段时间内控制产品中微生物的数量。

2.3 MRPs结合PEF处理对香蕉汁灭菌效果及保藏期的影响

2.3.1 PEF对接种金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的香蕉汁的杀菌

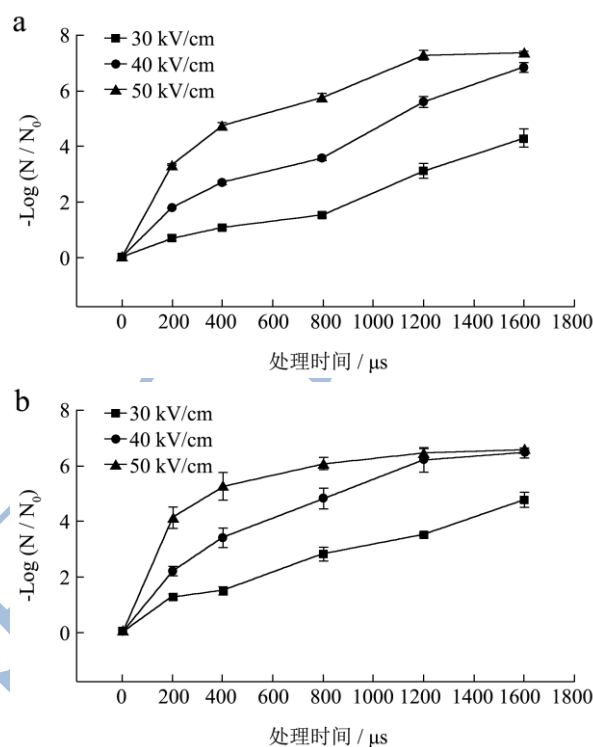


图4 不同场强条件下,处理时间与香蕉汁中金黄色葡萄球菌(a)或大肠杆菌(b)致死率的关系

Fig.4 Relationship between PEF treatment time and the inhibitory rates of *Staphylococcus aureus* (a) and *Escherichia coli* (b) at electric field intensities of 30, 40, and 50 kV/cm

将香蕉汁接种微生物后,不同处理场强和处理时间对香蕉汁中的金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的杀灭效果分别见图4a和4b。由图4a可见,PEF对香蕉汁中的金黄色葡萄球菌的抑制效果良好,在实验所设计的参数内,随着电场强度的上升,处理时间的延长,PEF对金黄色葡萄球菌的杀灭效果越显著,这与Damar^[17]、李静^[18]等研究所得出的结论一致。本实验中,30、40、50 kV/cm场强下处理1200 μ s可分别使金黄色葡萄球菌数下降3.1、5.6和7.3个对数,且50 kV/cm处理1200 μ s可使香蕉汁中几乎全部金黄色葡萄球菌丧失活性。PEF对大肠杆菌的处理效果如图4b所示,与金黄色葡萄球菌相似,香蕉汁中大肠杆菌残留数量随着场强或处理时间的增加而下降。处理400 μ s后,30、40、50 kV/cm场强条件下香蕉汁中大肠杆菌数量分别下降了1.5、3.4和5.3个对数,比相同处理条件下的金黄色葡萄

萄球菌多下降了 0.42、0.73 和 0.54 个对数。且 40 kV/cm 场强下处理 1200 μ s 或在 50 kV/cm 场强下处理 800 μ s 即可将香蕉汁中的大肠杆菌控制在一个较低水平。由此可见, PEF 处理对大肠杆菌的处理效果要好于金黄色葡萄球菌, 类似的结论也被 Damar^[17]、杜存臣^[19] 等报道过。在处理参数相同的情况下, 不同微生物细胞膜结构的差异则可能是造成 PEF 处理效果不同的主要原因。大肠杆菌为革兰氏阴性菌, 金黄色葡萄球菌为革兰氏阳性菌, 革兰氏阳性菌有着比革兰氏阴性菌

更厚、更为坚韧的细胞壁, 这可能赋予了包括金黄色葡萄球菌在内的革兰氏阳性菌更强的 PEF 耐受性。综上, PEF 处理对香蕉汁中的金黄色葡萄球菌和大肠杆菌均表现出了较好的杀灭效果, 40 kV/cm 场强下处理 1600 μ s 可将上述两种微生物数量控制在一个较低水平。

2.3.2 MRP_s 结合 PEF 处理对香蕉汁品质及保藏期的影响

表 2 灭菌方式对香蕉汁品质的影响

Table.2 Effect of pasteurization on the quality of banana juice

处理条件	色差		微生物指标/(cfu/mL)			外观品质	
	L	a	b	菌落总数	大肠杆菌		霉菌和酵母菌
巴氏杀菌前	31.31 ^a ±0.07	-0.23 ^b ±0.02	-1.31 ^b ±0.02	(1.39 ^a ±0.11)×10 ⁴	47.33 ^a ±6.11	309 ^a ±17.35	亮黄色, 透明度高, 具有香蕉特征风味
巴氏杀菌后	28.92 ^c ±0.09	0.02 ^a ±0.01	-0.46 ^a ±0.04	0.67 ^b ±0.58	0 ^b	0.33 ^b ±0.58	颜色略微变深, 出现蒸煮味
PEF 杀菌前	30.92 ^{ab} ±0.06	-0.23 ^b ±0.01	-1.27 ^b ±0.02	(1.14 ^a ±0.10)×10 ⁴	42.67 ^a ±4.73	318 ^a ±28.58	亮黄色, 透明度高, 具有香蕉特征风味
PEF 杀菌后	30.34 ^b ±0.60	-0.24 ^b ±0.01	-1.28 ^b ±0.01	2 ^b ±1	0 ^b	1.67 ^b ±0.58	颜色、风味基本与处理前相近

注: 同一列不同字母代表显著性差异 ($p < 0.05$)。

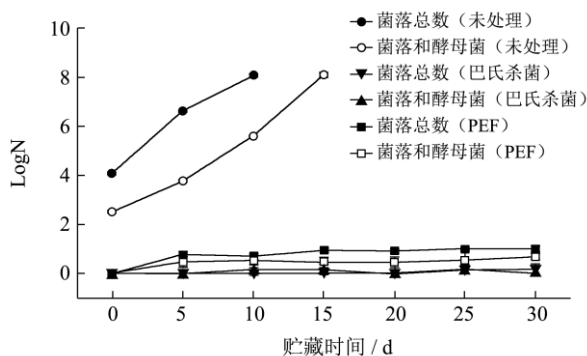


图 5 香蕉汁在贮藏期内微生物含量的变化

Fig.5 Changes in microorganism levels in banana juice during storage

使用 0.0625 mg/mL MRP_s 或 0.5 mg/mL V_c 护色的香蕉浆经酶解、过滤工序制得的香蕉汁, 经检测菌落总数约为 1.2×10⁴ cfu/mL, 大肠杆菌数约为 40~60 cfu/mL, 霉菌和酵母菌数约为 350 cfu/mL, 各项微生物指标均超出 GB 17325-2005 食品工业用浓缩果蔬汁(浆)卫生标准的要求^[20]。对使用 V_c 护色的香蕉汁进行巴氏杀菌, 即 85 °C 处理 15 min 后, 香蕉汁中菌落总数降至 10 cfu/mL 以下, 大肠杆菌、霉菌和酵母菌均未检出。说明巴氏杀菌对香蕉汁具有良好的灭菌效果, 但高温会对感官品质产生不利影响, 主要表现为处理后香蕉汁的颜色显著加深 ($p < 0.05$), 且出现蒸

煮味(见表 2)。对使用 MRP_s 护色的香蕉汁采用 PEF 灭菌, 虽然场强 40 kV/cm 条件下对香蕉汁进行灭菌处理 1600 μ s 即可使香蕉汁中微生物指标符合相关标准, 但考虑到能进行自身修复的亚致死状态微生物的存在, 后续处理采用 50 kV/cm 场强下灭菌 1200 μ s。由于 PEF 处理时, 通过循环水浴的控制, 能使香蕉汁温度维持在室温, 因此香蕉汁色泽的各项指标未发生显著变化 ($p > 0.05$), 且风味保持良好。

香蕉汁在储藏过程中的微生物含量变化见图 5。未经灭菌处理的香蕉汁, 室温下放置 10 d 时, 香蕉汁中的菌落总数即可达到 10⁸ cfu/mL, 放置 15 d 时, 霉菌和酵母菌数量也达到 10⁸ cfu/mL, 同时, 香蕉汁颜色逐渐变深, 澄清度逐渐下降, 香蕉汁风味明显发生改变。巴氏杀菌的香蕉汁, 其微生物含量在 30 d 内变化不大, 菌落总数、霉菌和酵母菌数均维持在 1 cfu/mL 左右, 澄清度保持良好, 褐变未继续加重但蒸煮味明显。PEF 杀菌的香蕉汁, 其微生物含量在放置 5 d 后略有上升, 但是菌落总数、霉菌和酵母菌数均未超过 1 个对数, 即符合标准要求^[20]。30 天内, PEF 灭菌处理的香蕉汁颜色、澄清度均未发生明显变化, 且风味保持良好。放置 5 天后微生物数量上升可能是少量亚致死微生物恢复活性所致, 但微生物并未大量繁殖表明少量亚致死的微生物难以在香蕉汁中继续生长, 这

可能与香蕉汁自身低 pH (约 4.5) 及存在的 MRPs 有关^[6,16]。

3 结论

本文考察了果糖-赖氨酸模型体系 MRPs 结合 PEF 处理在香蕉汁制备过程中的抗褐变和抑菌效果。结果表明, MRPs 对香蕉 PPO 活性有着良好的抑制作用, 0.0625 mg/mL 的 MRPs 添加量可使香蕉在打浆后 30 min 内维持原有色泽, 远优于同浓度 V_c 的效果。低浓度 MRPs 对微生物抑制效果有限, 而对微生物钝化效果良好的 PEF 处理可降低 MRPs 对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的 MIC 值, 延长微生物生长的迟滞期。香蕉添加 MRPs 后打浆(MRPs 终浓度为 0.0625 mg/mL), 酶解过滤后使用 PEF 低温灭菌 (50 kV/cm, 1200 μ s), 所得香蕉汁产品颜色黄而明亮, 风味纯正且保藏期较为理想。

参考文献

- [1] 杨公明,王娟,程燕锋,等.香蕉粉的功能、加工现状及新技术[J].食品与生物技术学报,2007,26(5):121-126
YANG Gong-ming, WANG Juan, CHENG Yan-feng, et al. Banana powder: functions current status and new technology on processing [J].Journal of Food Science and Biotechnology, 2007, 26(5):121-126
- [2] 袁德保,李芬芳,郑晓燕,等.香蕉深加工在香蕉产业中的作用、发展现状与趋势及存在问题[J].热带农业科学,2012,32(8):54-57
YUAN De-bao, LI Fen-fang, ZHENG Xiao-yan, et al. Role of banana-processing in banana industry, its actuality trend and existing problems [J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2012, 32(8):54-57
- [3] 王素雅,王璋.酶法生产澄清型香蕉汁的研究[J].食品科技,2002,7:44-46
WANG Su-ya, WANG Zhang. Application of enzymatic hydrolysis technology to preparing clarification banana juice [J].Food Science and Technology, 2002, 7:44-46
- [4] 程燕锋,杨公明,王娟,等.喷雾干燥工艺对香蕉抗性淀粉保留率的影响[J].农业工程学报,2008,24(6):282-286
CHENG Yan-feng, YANG Gong-ming, WANG Juan, et al. Effects of spray drying technologies on the retention rate of banana resistant starch [J].Transactions of the CSAE, 2008, 24(6):282-286
- [5] 周娅,张海德,袁德保,等.果糖-赖氨酸模型体系美拉德产物不同级分对抑制香蕉酶促褐变相关性质的影响[J].现代食品科技,2013,29(11):2653-2657
ZHOU Ya, ZHANG Hai-de, YUAN De-bao, et al. Effect of fractionation of maillard reaction products in fructose-lysine model system on inhibitory properties of banana enzymatic browning [J].Modern Food Science and Technology, 2013, 29(11):2653-2657
- [6] 刘平,黄梅桂,张晓鸣,等.不同分子量分布的美拉德产物的呈味特性及抗氧化抗菌活性研究[J].食品工业科技,2012,33(4):100-103
LIU Ping, HUANG Mei-gui, ZHANG Xiao-ming, et al. Taste characteristic, antioxidant and antimicrobial activity of Maillard reaction products of different molecular weight distribution [J].Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(4):100-103
- [7] Gurtler J B, Bailey R B, Geveke D J, et al. Pulsed electric field inactivation of *E. coli* O157:H7 and non-pathogenic surrogate *E. coli* in strawberry juice as influenced by sodium benzoate, potassium sorbate, and citric acid [J]. Food Control, 2011, 22:1689-1694
- [8] Zhong K, Wu J H, Liao X J, et al. Inactivation kinetics and secondary structural change of PEF-treated POD and PPO [J]. Food Chemistry, 2007, 100: 115-123
- [9] 杨昭,王军,仇厚援,等.青香蕉多酚氧化酶的提取工艺研究[J].广东农业科学,2014,7: 92-98
YANG Zhao, WANG Jun, QIU Hou-yuan, et al. Study on extraction process of polyphenol oxidase from green banana [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2014, 7: 92-98
- [10] Galeazzi M A M, Sgarbieri V, Costantinides S M. Isolation, purification and physicochemical characterization of polyphenoloxidase from dwarf variety of banana (*Musa carentishii*) [J]. Journal of Food Science, 1981, 46:150-155
- [11] GB 4789.2-2010,食品安全国家标准食品微生物学检验菌落总数测定[S]
GB 4789.2-2010, National food safety standard Food microbiological examination: Aerobic plate count [S]
- [12] GB 4789.3-2010,食品安全国家标准食品微生物学检验大肠菌群计数[S]
GB 4789.3-2010, National food safety standard Food microbiological examination: Enumeration of coliforms [S].
- [13] GB 4789.15-2010,食品安全国家标准食品微生物学检验霉菌和酵母计数[S]
GB 4789.15-2010, National food safety standard Food microbiological examination: Enumeration of molds and yeasts [S].
- [14] Zhang Z K, Huber D J, Qu H X, et al. Enzymatic browning and antioxidant activities in harvested litchi fruit as influenced

- by apple polyphenols [J]. Food Chemistry, 2015, 171:191-199
- [15] Billaud C, Maraschin C, Chow Y N, et al. Maillard reaction products as “natural anti-browning” agents in fruit and vegetable technology [J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2005, 49: 656-662
- [16] Zhao W, Yang R J, Wang M. Cold storage temperature following pulsed electric fields treatment to inactivate sublethally injured microorganisms and extend the shelf life of green tea infusions [J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 129: 204-208
- [17] Damar S, Bozoglu F, Hizal M, et al. Inactivation and injury of *Escherichia coli* O157: H7 and *Staphylococcus aureus* by pulsed electric fields [J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2002, 1(18):1-6
- [18] 李静,肖健夫,陈杰,等.高压脉冲电场对苹果汁中大肠杆菌与金黄色葡萄球菌的钝化效果[J]食品与发酵工业,2010, 36(8):41-45
- LI Jing, XIAO Jian-fu, CHEN Jie, et al. Inactivation of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in Apple Juice by Pulsed Electric Fields [J]. Food and Fermentation Industries, 2010, 36(8):41-45
- [19] 杜存臣,颜惠庚,林慧珠.高压脉冲电场对黑莓汁杀菌效果的研究[J].食品与机械,2009,25(9):34-37
- DU Cun-chen, YAN Hui-geng, LIN Hui-zhu. Study on sterilization of black berry juice by high-voltage pulsed electric fields [J]. Food and Machinery, 2009, 25(9): 34-37
- [20] GB 17325-2005,食品工业用浓缩果蔬汁(浆)卫生标准 [S]. GB 17325-2005, Hygienic standard of concentrated fruit and vegetable juice for food industry[S].