

高密度 CO₂ 在肉制品和水产品加工中的应用

陈亚励, 屈小娟, 郭明慧, 刘书成, 吉宏武, 郝记明

(广东省水产品加工与安全重点实验室, 广东普通高等学校水产品深加工重点实验室, 广东海洋大学食品科技学院, 广东湛江 524088)

摘要: 高密度 CO₂ 是一种新型的非热食品加工技术, 具有加工条件温和、对热敏物质破坏小、能有效保持食品营养、风味和新鲜度等许多优点。近年来, 高密度 CO₂ 在食品加工领域的应用研究越来越多, 但目前研究主要集中在液体食品的杀菌效果和动力学、钝酶效果和动力学、及其对品质的影响方面; 由于固体食品体系复杂, CO₂ 不易渗透, 使得高密度 CO₂ 处理固体食品的研究还相对较少。本文重点对高密度 CO₂ 在肉制品和水产品加工中应用的研究进展进行综述, 分析高密度 CO₂ 对肉制品和水产品的杀菌、肌肉品质 (pH、色泽、保水性、质构、嫩度、营养成分、呈味成分等)、蛋白质等的影响规律和作用机理, 并对今后高密度 CO₂ 加工技术的研究重点进行展望, 为推动高密度 CO₂ 在肉制品和水产品加工中的应用研究和产业化提供参考。

关键词: 高密度 CO₂; 杀菌; 肌肉品质; 蛋白质

文章编号: 1673-9078(2014)9-304-311

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2014.09.050

Application of Dense-phase Carbon Dioxide in the Processing of Meat and Aquatic Products

CHEN Ya-li, QU Xiao-juan, GUO Ming-hui, LIU Shu-cheng, JI Hong-wu, HAO Ji-ming

(Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Safety, Key Laboratory of Advanced Processing of Aquatic Product of Guangdong Higher Education Institution, College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: Dense-phase carbon dioxide is a novel non-thermal food processing technology, which has many advantages such as mild processing conditions, minimal damage of heat-sensitive material, effective preservation of food nutrients, flavor, and freshness. Recently, several studies have evaluated the application of dense-phase carbon dioxide in food processing, but these have mainly focused on liquid food sterilization and kinetics, enzyme inactivation and kinetics, and its effects on food quality. Studies of dense-phase carbon dioxide in solid food processing are relatively scarce because solid food systems are complex, owing to the low CO₂ permeability. In this article, various studies evaluating the application of dense-phase carbon dioxide in the processing of meat and aquatic products are reviewed, and its effects on sterilization of meat and aquatic products, muscle quality (including pH, color, water-holding capacity, texture, tenderness, nutrients, flavor, etc.) are discussed. In addition, key points for future research regarding this novel processing technology are presented. This review can provide a reference to promote further research on the industrial applications of dense-phase carbon dioxide in meat and aquatic product processing.

Key words: dense-phase carbon dioxide; sterilization; muscle quality; protein

近年来, 食品工业中出现了“最少加工食品”(Minimally Processed Food, MPF)的概念, 该加工过程称为“最少加工处理”(Minimally Processing,

收稿日期: 2014-03-01

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31371801); 广东省教育厅创新课题(2012KJGX0062); 现代农业产业技术体系专项基金(GARS-47); 广东省水产蛋白改性技术研究团队专项经费(2011A020102005)

作者简介: 陈亚励(1988-), 男, 在读硕士, 研究方向为水产品高值化加工与利用

通讯作者: 刘书成(1977-), 男, 博士, 教授, 研究方向为水产品加工新技术

MP), 即是采用尽可能少的加工方法(温和热处理、非热处理等), 提高食品贮藏期, 同时保证食品新鲜度。非热加工技术是最少加工处理的一种, 其核心是加工过程中不加热或处理温度小于 60 °C, 在保证食品安全的同时, 可最小程度的影响食品的营养、风味、质构等。高密度 CO₂ (Dense phase carbon dioxide, DPCD) 是非热加工技术之一。

CO₂ 在常温常压下无色、无味、无毒, 随着压力和温度变化, 其存在形态和物理性质均会发生变化。CO₂ 的临界压力为 7.36 MPa, 临界温度为 31.0 °C, 超过此温度和压力, CO₂ 只能以流体形式存在, 对很多

物质具有较强的溶解能力,而且其溶解能力对压力和温度极为敏感^[1]。早在1951年,Fraser在《Nature》上指出CO₂具有抑制微生物生长的作用^[2],但是单独使用不能杀死微生物,与压力结合才能达到有效的杀菌效果。

高密度CO₂加工技术是指在一定温度(低于60℃)和压力(高于5MPa而低于50MPa)条件下处理物料,利用压力和CO₂的分子效应形成高压和酸性环境,实现杀菌、钝酶以及蛋白质变性等目的^[3-4]。与传统的热处理相比,DPCD技术具有加工条件温和、对热敏物质破坏小、能有效保持食品营养、风味和新鲜度;与超高压(100~1000Mpa)技术相比,具有处理过程能耗低、无毒无害、成本低、容易操作与控制等优点^[5-6]。

目前,国内外关于DPCD技术的研究论文和专利有很多,但是绝大多数的研究对象都是液体食品,研究内容主要包括:DPCD对液体食品的杀菌效果、杀菌动力学及杀菌机理;DPCD对液体食品的钝酶效果、钝酶动力学及钝酶机理;DPCD对液体食品品质的影响等。由于固体食品体系复杂,CO₂不易扩散进入,处理时间长,导致有关DPCD处理固体食品的研究还相对较少,其研究内容也集中在杀菌效果和对品质影响方面。本文重点对DPCD在肉制品和水产品加工中的应用研究进展进行综述,为该技术在固体食品加工中的应用提供参考。

1 DPCD对肉制品和水产品的杀菌效果

肉制品和水产品作为人类食物的重要组成部分,其微生物安全一直受到消费者重视。已有大量研究表明,DPCD对肉制品和水产品中的致病菌和腐败菌有很好的杀菌效果^[4,6-7],应用发展潜力巨大。

有关DPCD对肉制品杀菌的报道,基质材料主要有猪肉、鸡肉和牛肉等,杀菌对象主要是致病菌。Sirisee等利用DPCD(42.5℃和31.03MPa)处理接种有大肠杆菌的牛肉糜,使大肠杆菌下降1个对数,需要178min,而在相同条件下处理接种有大肠杆菌的磷酸盐缓冲液,使大肠杆菌下降1个对数,仅需要1.7min;在对接种有金黄色葡萄球菌的碎牛肉进行DPCD处理时,也得到了相似的结果^[8]。相对于液体食品来讲,DPCD对固体食品的杀菌需要较长的时间,这主要是因为固体介质中的脂肪和蛋白质对微生物具有一定的保护作用,而且固体介质水分含量较低,降低了CO₂在其中的溶解度。Erkmen等对接种有热死环丝菌(*Brochothrix thermosphacta*)的去皮碎牛肉进行DPCD处理(6.1MPa和45℃),处理150min可

以将其杀灭,在其杀菌过程中牛肉中的碳水化合物和其它有机化合物对微生物有一定保护作用;但是对接种该细菌的液体介质处理,杀菌效果却不明显;而对培养在脑心浸出液肉汤中的热死环丝菌进行DPCD处理(6.1MPa、25℃、80min,6.1MPa、35℃、50min,6.1MPa、45℃、30min)时,却能达到完全杀灭的效果^[9]。Wei等对接种有沙门氏菌和李斯特菌的去皮鸡胸肉进行DPCD处理(13.7MPa、35℃、2h),沙门氏菌被杀灭了94~98%,而李斯特菌被杀灭了79~84%^[10]。Choi等利用DPCD处理(14MPa、45℃、40min)酱油腌制的猪肉,发现单核细胞增生性李斯特菌降低了37.96%,鼠伤寒沙门氏菌降低了34.48%,大肠杆菌降低了33.91%,*E. coli O157:H7*降低了36.84%;在相同条件下对胡椒酱腌制的猪肉进行DPCD处理,发现大肠杆菌降低了26.42%,单核细胞增生性李斯特菌降低了27.59%,鼠伤寒沙门氏菌降低了32.74%,*E. coli O157:H7*降低了28.28%;对其杀菌动力学的研究表明在DPCD处理初期,微生物失活速率比较慢,而DPCD处理后期,微生物失活速率则快速增加,说明微生物的失活速率会随着处理压力、温度和时间的增加而增加,但同时也会受到微生物起始数量和介质的影响^[11-12]。Meurehg等也发现DPCD处理牛肉糜,对大肠杆菌和沙门氏菌等具有较好的杀菌效果^[13]。孙源源等对肉馅进行DPCD处理,发现具有较好的杀菌效果,而且随处理压力、温度的增加和时间的延长,杀菌效果逐渐增强^[14]。刘芳坊等利用DPCD处理冷却猪肉,发现处理时间对冷却肉中假单胞杆菌、大肠杆菌及细菌总数有显著的影响,随着时间的增加,菌数显著下降^[15]。

有关DPCD对水产品杀菌的报道,基质材料主要有虾和牡蛎,杀菌对象主要是腐败菌和致病菌等。Wei等对接种有李斯特菌的虾进行DPCD处理(5.85MPa、35℃、2h),发现微生物数量仅下降了35~45%,但是当压力增加到13.7MPa时,李斯特菌数量下降了99%^[10]。Meujo等采用两种超临界CO₂条件(100bar、37℃、30min和172bar、60℃、60min)来处理牡蛎,前一种处理后牡蛎的细菌总数下降了2个对数,后一种处理后牡蛎的细菌总数下降了3个对数,对细菌的杀灭效果是非常显著的,杀菌后牡蛎的细菌总数也都达到了FDA要求的牡蛎加工品(超高压和速冻)的卫生标准,而且DPCD处理对牡蛎的感官品质,气味及质构影响非常小^[16]。Meujo在研究中还发现体外培养的费希尔(氏)弧菌(*Vibrio fischeri*)对超临界CO₂是非常敏感的,不同的弧菌具有相似的生化特征,因此推测副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)和创伤

弧菌 (*Vibrio vulnificus*) 可能也对超临界 CO_2 是非常敏感的^[16]。张良等利用神经网络对南美白对虾和牡蛎的杀菌效果进行了模拟和优化, 结果表明分别在 $55\text{ }^\circ\text{C}$ 、 15 MPa 、 26 min 和 $45\text{ }^\circ\text{C}/55\text{ }^\circ\text{C}$ 、 15 MPa 、 30 min 条件下, 可使这两种水产品的菌落总数低于 300 CFU/g , 达到熟制水产品卫生要求^[17-18]。

虽然 DPCD 能够实现对肉制品和水产品的杀菌, 但与液体食品相比, 要达到相同的杀菌效果, DPCD 对肉制品和水产品的处理强度要增加 (增加压力或温度或延长处理时间)。影响 DPCD 杀菌效果的因素主要有: 食品的介质特性 (水分含量、初始 pH 值、物化特性、携带微生物的种类和数量等)、处理条件 (压力、温度和时间)、操作方式等。一般来说, 食品中水分含量越高、初始 pH 值越低, DPCD 的杀菌效果越好; 食品的组成体系越复杂, DPCD 的杀菌效果越差, 主要是因为食品中的蛋白质、脂类和碳水化合物等物质会对微生物起到一定的保护作用; 另外, 不同微生物对 DPCD 的敏感程度也不一样, 一般情况下, 革兰氏阴性菌比革兰氏阳性菌对 DPCD 更敏感。对于处理条件而言, DPCD 处理压力和温度越高及其处理时间越长, 其杀菌效果越好。因为压力升高, 会降低 CO_2 的粘度, 提高扩散能力, 从而提高 CO_2 与水相间的传质速率和溶解度, 有利于 DPCD 作用于微生物; 温度升高, 会增加 CO_2 的溶解速率和细胞膜的流动性、提高其穿透细胞的能力, 从而使 DPCD 的杀菌效果增强; 处理时间的延长, 增加了 CO_2 与微生物的作用时间。另外, DPCD 的处理方式如卸压速率、夹带剂、与其它处理方式结合等, 都能对 DPCD 的杀菌效果产生影响, 如快速卸压、使用乙醇等夹带剂、与高压、化学杀菌相结合等, 都能增强 DPCD 的杀菌效果。DPCD 对肉制品和水产品与液体食品杀菌效果的不同关键在于其介质特性的差异。与液体食品 (果汁等) 相比, 肉制品和水产品的水分含量较低, 初始 pH 值偏高, 含有丰富的蛋白质和脂类等, 另外 CO_2 在固体食品中的渗透也比较困难, 这些因素共同造成了 DPCD 对其杀菌的效果较差。因此, 对于如何利用 DPCD 实现对肉制品和水产品的高效杀菌, 还有待于进一步深入探讨。

2 DPCD 对肉制品和水产品肌肉品质的影响

传统的加热处理不仅会造成食品理化性质和热敏性物质的巨大破坏、还会造成营养物质和呈味物质的流失^[9]。已有研究证实, DPCD 作为新型的非热加工技术能够较好的保留液态食品的营养、色泽和风味等品质^[20-21]; 但也有研究表明: DPCD 处理对肉类和水

产品的肌肉 pH 和色泽具有重要的影响, 对其他品质特征如持水力、汁液损失等也有一定影响。

2.1 DPCD 对肉制品和水产品肌肉 pH 的影响

Jacobsen 等从理论上分析认为用 CO_2 处理肉类, CO_2 易渗入肌肉组织中生成 H_2CO_3 , 又解离成 HCO_3^- 和 H^+ 等离子, 会降低肉的 pH; pH 值的降低可能会对肉品质造成不利的影 响, 如肉色变暗、汁液损失增加、嫩度下降、风味变差、肌苷转化成次黄嘌呤等^[22]。有研究指出, 肉在 CO_2 环境里贮藏, pH 值降低 0.35 个单位。但 Choi 等研究发现猪肉经超临界 CO_2 处理后, pH 值没有发生显著变化^[23]。孙源源等利用 DPCD 处理低温肠^[24], 刘芳坊等利用 DPCD 处理冷却肉, 也都发现 pH 值没有显著变化^[15]。张良等在利用 DPCD 处理牡蛎和凡纳滨对虾时, pH 值也没有发生显著变化^[3-18]。

理论上分析 DPCD 处理会造成肉制品和水产品 pH 值的降低, 而众多研究则认为 DPCD 对肉制品和水产品的 pH 值无显著影响。理论与实践之间的矛盾, 可能是因为 DPCD 处理过程中, 研究者难以实时监测样品的 pH 值, 实际上测定的是 DPCD 处理后样品的 pH 值; 样品在 DPCD 处理过程中, CO_2 的确能够溶于其中的水分, 降低其 pH 值, 但是样品从 DPCD 处理釜中取出后, CO_2 从流体变为气体挥发, 又使 pH 值恢复原来的值。

2.2 DPCD 对肉制品和水产品肌肉色泽的影响

肉制品和水产品在 DPCD 状态下, 受到温度、压力、处理时间等因素的影响, 会导致肉的颜色发生变化, 尤其对红肉来说, 颜色变化比较明显。Sirisee^[8]、Meuregh^[13]等利用 DPCD 处理牛肉糜后, 肉糜的色泽变暗, 呈现出了煮制的外观特征; 引起肉色变暗的原因是高浓度的 CO_2 与肌红蛋白作用形成了高铁肌红蛋白。Choi 等对猪肉经超临界 CO_2 处理后, 与未处理组相比, 亮度值明显增加、红值降低, 并且认为颜色变化与蛋白质变性密切相关^[23]。Wei 等用 DPCD 处理鸡肉后, 其色泽变为淡白色, 也呈现出煮制的外观特征, 并且伴随有汁液流失^[10]。闫文杰^[25]、孙源源^[24]、史智佳^[26]等都在研究中发现, DPCD 处理畜禽肉类能够使肉类的亮度增加, 而红值降低, 据推测可能是由于肌红蛋白和血红蛋白变性所造成的。然而, 刘芳坊等研究认为 DPCD 处理时间的延长不会影响肉品颜色, 相反在一定程度上还对颜色起到正面作用^[15]。姚中峰等

利用 DPCD 处理牛通脊,虽然提高了肉的亮度和降低了红值,但是随着处理压力 and 时间的增加,能显著降低高铁肌红蛋白比例,提高氧合肌红蛋白比例,而且还能提高肌红蛋白的贮藏稳定性,因此认为 DPCD 处理对肉品颜色的保持具有一定正面作用^[27]。

Wei 等利用 DPCD 处理虾仁后,发现虾仁的变成淡白色,好像是在低温下快速煮制过或者在酸里浸泡过^[10]。Meujo 等对牡蛎进行 DPCD 处理后,发现牡蛎具有较好的感官特征和质构特征,具有可接受性^[16]。张良等研究了 DPCD 处理对近江牡蛎和凡纳滨对虾品质的影响,结果表明在 45 °C 或 55 °C 和 15 MPa 条件下, DPCD 直接对牡蛎肉处理 30 min,其色泽变亮,但是总体感官特征和质构特征都好于未处理的;在 55 °C 和 15 MPa 的条件下, DPCD 对凡纳滨对虾处理 26 min,虾壳和肌肉表层变红,而肌肉内部白度增加,呈现出了煮熟的外观^[3, 18]。

对于不同类型的肉制品和水产品, DPCD 对其色泽的影响作用是有差异的。一般来说, DPCD 对白肉的影响相对较小,而对红肉的影响较大,而且都会呈现出煮熟的外观特征;能够提高产品稳定性和符合消费者需求,认为是具有正面积极作用,否则,认为 DPCD 对产品色泽具有负面作用。DPCD 对肉制品和水产品色泽的影响,与其蛋白质变性密切相关。

2.3 DPCD 对肉制品和水产品肌肉保水性的影响

持水力是肌肉蛋白保留水分的能力,与处理前后总质量的变化密切相关,保水性越高,质量损失越小。Choi 等发现 DPCD 处理 (31.1 °C, 7.4 MPa/15.2 MPa, 10 min) 对鲜猪肉的总质量和持水力没有显著影响^[23]。闫文杰等在研究中也发现,冷却猪肉在压力作用下,由于 CO₂ 的分子效应,其保水性会降低,但影响不显著^[25]。但 Wei 等用 DPCD 处理鸡肉后,发现 DPCD 会造成肌肉的汁液流失^[10];孙源源等发现, DPCD 处理会造成低温肠保水性的显著下降^[24];曲亚琳等研究表明,与原料羊肉糜相比,随着 DPCD 处理压力和温度的升高,羊肉糜凝胶的失水率显著升高,持水力显著下降^[28]。

Wei 等利用 DPCD 处理虾仁后,发现有少量的汁液流失^[10]。张良等研究了 DPCD 处理对凡纳滨对虾汁液流失和保水性的影响,结果表明,与新鲜虾相比,经过 45 °C/55 °C, 15 MPa, 处理 30 min 后,汁液损失显著增加,持水力显著降低^[18]。

对于不同类型的肉制品和水产品, DPCD 对其质

量损失和保水性的影响作用是有差异的,这种差异可能是由于肌肉组织结构的差异或者 DPCD 处理条件的不同。但大多数研究均表明 DPCD 处理会造成质量损失的增大以及保水性的下降。理论上分析,一方面, DPCD 处理能够诱导蛋白质发生变性,从而破坏肌肉原有的组织结构,肌肉保留水分的能力下降;另一方面,肌肉中的水分在压力作用下被挤出,也会造成汁液流失。因此,认为 DPCD 处理对肉制品和水产品具有一定的“非热破坏”作用。

2.4 DPCD 对肉制品和水产品肌肉其他品质的影响

有关 DPCD 对肉制品和水产品肌肉其他品质(如质构、嫩度、营养成分、呈味成分、氧化指标等)影响的研究报道相对较少。Choi 等发现 DPCD 处理对鲜猪肉嫩度没有显著影响^[23]。孙源源等发现 DPCD 处理对低温肠的蛋白质含量没有显著影响,但脂肪含量、酸价、挥发性盐基氮有所降低^[24]。史智佳等发现 DPCD 处理对冷却猪肉的嫩度没有显著影响,但会损失 2%~4% 的水分,显著降低硫代巴比妥酸值(TBA);延缓了冷却猪肉的氧化^[26]。闫文杰等发现 DPCD 处理对冷却猪肉在贮藏过程中的挥发性盐基氮值有显著影响,但对肌原纤维小片化指数值、TBA、羰基值没有显著影响;压力越高,对肉的理化性质影响越有利,但对颜色和保水性的影响越不利^[25]。曲亚琳研究了 DPCD 处理后羊肉糜质构和微观结构的变化,发现羊肉糜凝胶的硬度、弹性、内聚性和咀嚼性均有不同程度的增加,且能形成较好的三维网络结构^[28]。Meujo 等在研究 DPCD 技术对牡蛎杀菌效果中发现,10 MPa、37 °C 处理 30 min 和 17.2 MPa、60 °C 处理 60 min 均不会造成牡蛎感官、质构的变化^[16]。张良发现 DPCD 处理对凡纳滨对虾的硬度、灰分、蛋白含量均无显著影响,但会造成虾仁弹性、水分和脂肪含量的显著下降^[18];还有一些研究结果说明,超临界状态下 CO₂ 对脂肪有很好的溶解性,可以萃取食品中的胆固醇和其他一些脂类物质^[7]。Chao 等的研究表明,肉制品中 36.9% 的胆固醇和 71.2% 的脂肪能够在 DPCD 处理过程中被带出去^[29]。

关于 DPCD 处理对肉制品和水产品滋味和气味成分的研究还鲜有报道。孙源源利用 DPCD 处理低温肠后,发现主要挥发性成分(醛类和醇类)含量没有影响,当压力达到 25 MPa 时会造成碳氢化合物的含量增加^[24]。Meurehg 报道碎牛肉在经过 DPCD 处理后,气味滋味均无明显变化^[30]。张良也研究了 DPCD 处理

对呈味成分含量的影响,结果表明除甜菜碱、 PO_4^{3-} 、 Cl^- 等阴离子外,DPCD处理对虾的其它呈味成分均没有显著影响^[18]。

DPCD处理虽然在一定程度上能够保留肉制品和水产品原有的一些理化性质和风味成分,但是也会如热处理一样造成肉制品和水产品部分品质的损失,即“非热破坏”。这种破坏在人们的饮食习惯中有时也有积极的作用,如造成熟制的感官特征以及低脂肪等,都恰好符合消费者对食品的需求。

3 DPCD对肉制品和水产品蛋白质特性的影响

蛋白质作为肉制品和水产品的主要组成成分,其结构和构象的变化会直接影响产品的保水性、色泽、风味和质构等特性^[23,25,31]。传统加热处理和超高压等加工技术均能导致的蛋白质结构的变化,致使蛋白质变性^[32-34]。目前已有研究证实DPCD也会造成蛋白质的变性。Choi等的研究表明,31.1℃、7.4 MPa下处理10 min后,猪背长肌肌原纤维蛋白质的溶解性没有变化,而肌浆蛋白质发生了变性,变性蛋白包括磷酸化酶b、磷酸丙酮异构酶和肌酸激酶等^[23]。张良利用SDS-PAGE电泳分析了DPCD处理(15 MPa、55℃、26 min)和水煮处理(100℃、2 min)对凡纳滨对虾肌肉蛋白的影响,发现DPCD和水煮处理一样,均会造成水溶性蛋白和盐溶性蛋白条带出现不同程度的消失,这可能是蛋白质变性的结果^[18]。

凝胶特性是肉制品和水产品肌肉盐溶性蛋白的重要功能特性之一。已有研究表明:DPCD可诱导蛋白质结构改变和分子再聚集,这为利用DPCD加工蛋白凝胶类制品提供了可能性。孙源源在进行低温肠DPCD杀菌效果研究的过程中发现,肉糜经DPCD处理后能形成较好的凝胶结构^[24]。曲亚琳等利用DPCD诱导羊肉糜形成了凝胶,羊肉糜在55~75℃经DPCD处理30~50 min后能够形成较好的凝胶结构,色泽、硬度、弹性、内聚性、咀嚼性均显著好于热诱导凝胶,凝胶微观结构也更加均匀致密;DPCD诱导蛋白质形成凝胶的机制是由于 α -螺旋结构的解旋,使得维持其稳定的氢键数量减少,从而促进蛋白质间的聚集和相互作用,形成更加致密的三维网状结构^[28]。Michael等利用DPCD诱导蚕丝蛋白形成了稳定水凝胶,凝胶特性显著优于传统制备凝胶,同时发现 β -折叠显著增加^[35]。李玉娜等在常温下采用DPCD处理全蛋液,发现随着压力升高和处理时间延长,全蛋液凝胶强度先增加而后降低,当压力15 MPa和时间25 min时,全蛋液的凝胶强度最大^[36]。屈小娟等利用DPCD诱导凡纳滨对虾肉糜形成了凝胶,与同温下热诱导凝胶相比,

DPCD制备的虾糜凝胶特性较好^[37]。

DPCD诱导蛋白质理化性质和功能特性的变化,主要是由于蛋白质的结构发生了变化。曲亚琳将提纯后的羊肉肌球蛋白分别进行不同压力的高密度 CO_2 处理30 min后,利用傅立叶变换红外光谱(FT-IR)和圆二色光谱扫描检测肌球蛋白的结构变化,结果表明:N-H伸缩振动受DPCD的影响程度较小,酰胺基吸收峰向低波数方向略微迁移;随着压力的增大,羊肉肌球蛋白 β -折叠大幅增加,而 α -螺旋、 β -转角和无规卷曲结构则降低,转化为 β -折叠结构^[28]。Xu等利用FT-IR和差示扫描量热仪(DSC)研究结果表明,乳清蛋白在60℃、30 MPa处理1 h后, α -螺旋和氢键数量下降, β -折叠数量上升;且乳清蛋白的热转变温度发生明显的变化^[38]。也有研究表明:白蛋白和溶菌酶在压力8~12 MPa时会发生二级结构的变化,但是恢复常压后,二级结构会完全恢复^[39],这可能是由于这些蛋白对DPCD敏感性较低缘故。屈小娟等研究了DPCD处理对虾肌原纤维蛋白质理化特性和二级结构的影响,结果表明:与未处理蛋白相比,在较低DPCD处理强度下,肌原纤维蛋白的溶解性、巯基含量、 Ca^{2+} -ATPase活性均显著下降($p<0.05$),而表面疏水性显著升高($p<0.05$);DPCD处理使蛋白质 α -螺旋、无规则卷曲含量的急剧降低以及 β -折叠、 β -转角含量的急剧升高;相同温度下,相对热处理而言,DPCD处理导致的蛋白质物理化学特性和二级结构的变化程度更加严重^[40]。

DPCD诱导蛋白质的变性不仅与蛋白质对DPCD的敏感性有关,而且与DPCD处理条件有很大的关系。有研究者指出DPCD诱导蛋白质变性主要是压力、温度和 CO_2 分子效应共同作用的结果。根据理论分析和前人的研究,DPCD与蛋白质的作用模式可能主要有4点^[41-50]:①DPCD的分子效应。DPCD是疏水溶剂,能够使蛋白质疏水基团暴露,改变蛋白质周围的水环境,引起蛋白质构象变化,导致蛋白质变性和聚集;或者,DPCD与蛋白质的碱性氨基酸残基结合形成复合物,导致蛋白质变性和聚集;还有学者认为DPCD能使蛋白质亚基解聚,导致蛋白质变性。②DPCD诱导的pH值降低效应。DPCD溶于水产生 H_2CO_3 ,释放出 H^+ 降低蛋白质溶液pH值,不耐酸的蛋白质在低pH值环境下变性聚集。③DPCD的萃取效应。DPCD与蛋白质绑定的水分子结合,在卸压过程中, CO_2 的快速释放破坏了蛋白质与水分子通过非共价键结合的水合作用,蛋白质的构象遭到剧烈扰动,从而导致蛋白质变性和聚集。④卸压过程的聚集或均质效应。卸压过程中, CO_2 从流体变成气体会形成气液界面,蛋

白质分子在气液交界处发生分子定向排布而产生聚集；快速卸压造成的气体爆炸和极速冷冻作用对聚集的蛋白质产生均质效应。这种聚集和均质作用，可能会造成蛋白质的变性。以上4种CO₂与蛋白质的作用模式也可能是协同作用的，在不同的DPCD处理条件下，不同效应占据主导作用影响着蛋白质构象变化。这些DPCD与蛋白质的作用模式，主要是从DPCD杀灭微生物和钝酶角度考虑，根据相关试验和理论分析做出的推断假设，目前还缺乏直接的有说服力的试验和数据来证明DPCD与蛋白质的作用模式，因此，还有待于进一步研究探索。

4 研究展望

4.1 随着社会经济的发展和人民生活水平的提高，消费者对食品安全、营养和功能的要求越来越高，希望食品在加工过程中不仅要保证安全，而且要求保留其营养和功能成分。传统的热加工不可避免的会对食品产生一些不良的热效应，尤其是对热敏性产品的色、香、味、功能性及营养成分等的破坏更加严重。DPCD是一种非热加工技术，它不仅能实现对食品的杀菌和钝酶，而且能最大限度的保留食品营养和功能成分。

4.2 虽然国内外已广泛开展了DPCD加工食品的研究，但离该技术的工业化应用还有很长的路要走。这主要是因为有关DPCD加工食品的很多基础理论知识还处于空白，工业化的装备还比较缺乏。因此，要推广DPCD技术在食品加工领域中的应用，今后必须从以下几个方面重点研发：

DPCD对不同食品体系中不同种类微生物及其芽孢的杀灭效果与动力学及其杀菌机制；

DPCD对不同食品体系中不同酶类的钝化效果与动力学及其钝酶机制；

优化DPCD对不同食品体系的杀菌钝酶参数，有效控制DPCD杀菌钝酶过程；

DPCD处理过程中食品品质变化的动力学与品质变化的分子机制；

DPCD加工食品的安全性。虽然CO₂已经被美国食品和药品管理局(FDA)确认为是安全的物质，DPCD也应用于食品加工保证了食品的卫生和品质，但是由于食品体系的复杂性，使得DPCD处理也是一个复杂的过程，在DPCD处理过程中食品组分可能会发生物理、化学以及生物化学反应。这些反应能否会形成新物质？新物质对人体来讲是否安全以及限量是多少？新物质的生成机制是什么？如何控制新物质的生成？这些问题都需要逐一解决。

4.3 DPCD工业化装备的研发。随着DPCD技术研究

的广泛开展和不断深入，相信经过国内外有关专家的潜心科研，DPCD加工技术的研究水平会大大提高，同时也会加速DPCD技术的工业化进程。

参考文献

- [1] Zhang J, Davis T A, Mathews M A, et al. Sterilization using high-pressure carbon dioxide [J]. *The Journal of Supercritical Fluids*, 2006, 38(3): 354-372
- [2] Fraser D. Bursting bacteria by release of gas pressure [J]. *Nature*, 1951, 167: 33-34
- [3] 张良,刘书成,章超桦,等.神经网络优化牡蛎的高密度CO₂杀菌工艺[J].*农业工程学报*,2011,27(12):369-373
ZHANG Liang, LIU Shu-cheng, ZHANG Chao-hua, et al. Optimization of Oyster-associated bacteria inactivation by dense phase carbon dioxide based on artificial neural network [J]. *Transactions of the CSAE*, 2011, 27(12): 369-373
- [4] Garcia-Gonzalez L, Geeraerd AH, Spilimbergo S, et al. High pressure carbon dioxide inactivation of microorganisms in foods: The past, the present and the future [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2007, 117(1): 1-28
- [5] Clifford A, Williams J. Introduction to supercritical fluids and their applications [M]. Humana: *Supercritical Fluid Methods and Protocols*, 2000: 1-16
- [6] Spilimbergo S, Bertucco A. Non-thermal bacterial inactivation with dense CO₂ [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2003, 84(6): 627-638
- [7] Ferrentino G, Spilimbergo S. High pressure carbon dioxide pasteurization of solid foods: Current knowledge and future outlooks [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2011, 22(8): 427-441
- [8] Sirisee U, Hsieh F, Huff H. E, et al. Microbial safety of supercritical carbon dioxide processes1 [J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 1998, 22(5): 387-403
- [9] Erkmen O. Antimicrobial effects of pressurised carbon dioxide on *Brochothrix thermosphacta* in broth and foods [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2000, 80(9): 1365-1370
- [10] Wei C I, Balaban M O, Fernando S Y, et al. Bacterial effect of high pressure CO₂ treatment on foods spiked with *Listeria* or *Salmonella* [J]. *Journal of Food Protection*, 1991, 54(3): 189-193
- [11] Choi Y M, Bae Y Y, Kim K H, et al. Effects of supercritical carbon dioxide treatment against generic *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, and *E. coli* O157:H7 in marinades and marinated pork [J]. *Meat Science*,

- 2009, 82(4): 419-424
- [12] Choi Y M, Kim O Y, Kim K H, et al. Combined effect of organic acids and supercritical carbon dioxide treatments against nonpathogenic *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* and *E.coli O157:H7* in fresh pork [J]. Letters in Applied Microbiology, 2009, 49(4): 510-515
- [13] Meurehg T C A. Control of *Escherichia coli O157:H7*, generic *Escherichia coli*, and *Salmonella spp.* on beef trimmings prior to grinding using a controlled phase carbon dioxide (cpCO₂) system [D]. Manhattan, Kansas: Kansas State University, 2006
- [14] 孙源源,张德权,李春红,等.肉馅高密度 CO₂ 杀菌效果和杀菌动力学研究[J].核农学报,2009,23(6):1014-1020
SUN Yuan-yuan, ZHANG De-quan, LI Chun-hong, et al. Sterilization and disinfection kinetics of minced meat by high density CO₂ [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2009, 23(6): 1014-1020
- [15] 刘芳坊,苗敬,刘毅,等.高密度 CO₂ 处理对冷却肉的杀菌效果及理化指标的影响[J].农产品加工·学刊,2011,7:15-18
LIU Fang-fang, MIAO Jing, LIU Yi, et al. Effect of dense phase carbon dioxide on microorganisms and physical-chemical of chilled pork [J]. Academic Periodical of Farm Products Processing, 2011, 7: 15-18
- [16] Meujo D A F, Kevin D A, Peng J, et al. Reducing oyster-associated bacteria levels using supercritical fluid CO₂ as an agent of warm pasteurization [J]. International Journal of Food Microbiology, 2010, 138(1-2): 63-70
- [17] Ji H, Zhang L, Liu S, et al. Optimization of microbial inactivation of shrimp by dense phase carbon dioxide [J]. International Journal of Food Microbiology, 2012, 156(1): 44-49
- [18] 张良.高密度 CO₂ 对凡纳滨对虾的杀菌钝酶效果及其品质的影响[D].湛江:广东海洋大学,2012
ZHAN Liang. Effect of dense phase carbon dioxide on sterilization, enzyme inactivation and qualities of shrimp [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2012
- [19] Awuah G B, Ramaswamy H S, Economides A, et al. Thermal processing and quality: Principles and overview [J]. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification, 2007, 46(6): 584-602
- [20] Zhou L, Wang Y, Hu X, et al. Effect of high pressure carbon dioxide on the quality of carrot juice [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2009, 10(3): 321-327
- [21] 李文辉,牛爽,童军茂,等.高压 CO₂ 对树莓汁品质的影响[J].食品工业科技,2010,31(4):74-77
LI Wen-hui, NIU Shuang, TONG Jun-mao, et al. Effect of high pressure carbon dioxide on the quality of raspberry juice [J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 31(4): 74-77
- [22] Jakobsen M, Bertelsen G. The use of CO₂ in packaging of fresh red meats and its effect on chemical quality changes in the meat: a review [J]. Journal of Muscle Foods, 2002, 13(2): 143-168
- [23] Choi Y, Ryu Y, Lee S, et al. Effects of supercritical carbon dioxide treatment for sterilization purpose on meat quality of porcine longissimus dorsi muscle [J]. LWT-Food Science and Technology, 2008, 41(2): 317-322
- [24] 孙源源.低温肠高密度 CO₂ 杀菌技术研究[D].北京:中国农业科学院,2009
SUN Yuan-yuan. Research on dense phase CO₂ sterilization technology for low-temperature sausage [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2009
- [25] 闫文杰,崔建云,戴瑞彤,等.高密度二氧化碳处理对冷却猪肉品质及理化性质的影响[J].农业工程学报,2010,26(7): 346-350
YAN Wen-jie, CUI Jian-yun, DAI Rui-tong, et al. Effects of dense phase carbon dioxide on quality and physical-chemical properties of chilled pork [J]. Transactions of the CSAE, 2010, 26(7): 346-350
- [26] 史智佳,李兴民,刘毅,等.高压二氧化碳杀菌技术及在鲜肉中应用研究进展[J].食品工业科技,2009,30(3):330-333
SHI Zhi-jia, LI Xing-min, LIU Yi, et al. Review of high pressure CO₂ sterilization technique: mechanism, influencing factors and applies in fresh meat [J]. Science and Technology of Food Industry, 2009, 30(3): 330-333
- [27] 姚中峰,李兴民,刘洁洁,等.高压二氧化碳处理对牛通脊颜色和肌红蛋白的影响[J].食品工业科技,2012,33(4):142-145
YAO Zhong-feng, LI Xing-min, LIU jie-jie, et al. Effect of high pressure carbon dioxide on changes of color and myoglobin in beef sirloin [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(4): 142-145
- [28] 曲亚琳.高密度 CO₂ 诱导羊肉糜凝胶的形成因素及机理探索[D].北京:中国农业科学院,2010
QU Ya-lin. Forming factors of minced mutton gel induced by dense phase CO₂ and the primary investigation of its mechanism [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2010
- [29] Chao R R, Mulvaney S J, Bailey M E, et al. Supercritical CO₂ conditions affecting extraction of lipid and cholesterol

- from ground beef [J]. Journal of Food Science, 1991, 56(1): 183-187
- [30] Meurehg T. C. A. Control of *Escherichia coli* O157:H7, generic *Escherichia coli*, and *Salmonella spp.* on beef trimmings prior to grinding using a controlled phase carbon dioxide (cpCO₂) system [D]. Manhattan, Kansas: Kansas State University, 2006
- [31] Zhang L, Liu S, Ji H, et al. Inactivation of polyphenol oxidase from Pacific white shrimp by dense phase carbon dioxide [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2011, 12(4): 635-641
- [32] Van der Plancken I, Van Loey A, Hendrickx M E G, et al. Changes in sulfhydryl content of egg white proteins due to heat and pressure treatment [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(14): 5726-5733
- [33] Tomberg E. Effects of heat on meat proteins-Implications on structure and quality of meat products [J]. Meat Science, 2005, 70(3): 493-508
- [34] Chapleau N, Mangavel C, Compoin J P, et al. Effect of high-pressure processing on myofibrillar protein structure [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2004, 84(1): 66-74
- [35] Michael L Floren, Sara Spilimbergo, Antonella Motta, et al. Carbon dioxide induced silk protein gelation for biomedical application [J]. Biomacromolecules, 2012, 13(7): 2060-2072
- [36] 李玉娜,迟玉杰,孙强.高密度 CO₂ 对全蛋液功能性质的影响[J].食品与发酵工业.2013,38(8):88-92
LI Yu-na, CHI Yu-jie, SUN Qiang. Effects of dense carbon dioxide on functional properties of liquid whole eggs [J]. Food and Fermentation Industries, 2013, 38(8): 88-92
- [37] 屈小娟,刘书成,吉宏武,等.高密度 CO₂ 诱导制备虾糜凝胶的特性[J].农业工程学报,2012,28(20):282-287
QU Xiao-juan, LIU Shu-cheng, JI Hong-wu, et al. Gel properties of shrimp surimi induced by dense phase carbon dioxide [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2012, 28(20): 282-287
- [38] Xu D, Yuan F, Jiang J, et al. Structural and conformational modification of whey proteins induced by supercritical carbon dioxide [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2011, 12(1): 32-37
- [39] Striolo A, Favaro A, Elvassore N, et al. Evidence of conformational changes for protein films exposed to high-pressure CO₂ by FT-IR spectroscopy [J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2003, 27(3): 283-295
- [40] 屈小娟.高密度 CO₂ 对凡纳滨对虾的肌肉品质和蛋白质特性的影响[D].湛江:广东海洋大学,2013
QU Xiao-juan. Effects of dense phase carbon dioxide on muscle quantities and protein characteristics of *Litopenaens vannamei* [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2013
- [41] HU Wan-feng, ZHOU Lin-yan, XU Zhen-zhen, et al. Enzyme inactivation in food processing using high pressure carbon dioxide technology [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2013, 53(2): 145-161
- [42] Ferrentino G, Spilimbergo S. High pressure carbon dioxide pasteurization of solid foods: Current knowledge and future outlooks [J]. Trends in Food Science & Technology, 2011, 22(8): 427-441
- [43] Garcia L, Geeraerd A H, Spilimbergo S, et al. High pressure carbon dioxide inactivation of microorganisms in foods: the past, the present and future [J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 117(1): 1-28
- [44] Hongmei Liao, Fusheng Zhang, Xiaosong Hu, et al. Effects of high-pressure carbon dioxide on proteins and DNA in *Escherichia coli* [J]. Microbiology, 2011, 157(3): 709-720
- [45] Damar S, Balaban M. O. Review of dense phase CO₂ technology: microbial and enzyme inactivation, and effects on food quality [J]. Journal of Food Science, 2006, 71(1): 1-11
- [46] 廖红梅,廖小军,胡小松.高压二氧化碳杀菌机理研究进展[J].食品工业科技,2012,33(19):387-389
LIAO Hong-mei, LIAO Xiao-jun, HU Xiao-song. Research progress in inactivation mechanisms of high pressure carbon dioxide [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(19): 387-389
- [47] 周先汉,邹旭鹏,曾庆梅,等.高压 CO₂ 杀灭大肠杆菌的杀菌机理研究[J].食品科学,2012,33(19):11-16
ZHOU Xian-han, ZOU Xu-peng, ZENG Qing-mei, et al. Mechanism underlying the inactivation of *E.coli* by high pressure carbon dioxide [J]. Food Science, 2012, 33(19): 11-16
- [48] 周先汉,程丽梅,曾庆梅,等.超临界 CO₂ 杀菌过程中萃取机制研究[J].食品科学,2010,31(17):14-17
ZHOU Xian-han, CHENG Li-mei, ZENG Qing-mei, et al. Extraction mechanism during the sterilization of supercritical carbon dioxide [J]. Food Science, 2010, 31(17): 14-17
- [49] 周先汉,宋俊骅,曾庆梅,等.高压 CO₂ 酸化杀菌机理的研究[J].食品科学,2010,31(11):11-14
ZHOU Xian-han, SONG Jun-hua, ZENG Qing-mei, et al. Sterilization mechanism of high-pressure carbon

dioxide-caused acidification [J]. Food Science, 2010, 31(11): 11-14

[50] 曾庆梅,周先汉,杨毅,等.高密度 CO₂ 杀菌机制与协同措施研究现状[J].食品科学,2010,31(1):251-257

ZENG Qing-mei, ZHOU Xian-han, Yang Yi, et al. Sterilization mechanisms and synergistic strategy of dense-phase carbon dioxide treatment to heat-sensitive juice [J]. Food Science, 2010, 31(1): 251-257

