

超高压处理与 Nisin 对低温火腿肠微生物及色泽的影响

徐 胜, 陈从贵, 詹昌玲, 杨 波

(合肥工业大学生物与食品工程学院, 安徽 合肥 230009)

摘 要: 本研究以肉制品超高压加工技术产业化为目标, 通过单因素和正交试验, 考察 4℃ 冷藏条件下超高压处理和 Nisin 对火腿肠菌落总数及色泽的影响。结果表明: 随着超高压施压水平的增加和保压时间的延长, 火腿肠的亮度 L^* 值增加, 红度 a^* 值和黄度 b^* 值下降; Nisin 和超高压的复合处理可获得优于两者中单一处理的抑菌效果; 其较佳的处理工艺条件为: Nisin 添加浓度 0.02%、处理压力 400MPa、保压时间 10min。可见, 超高压与 Nisin 的结合, 可增强抑菌作用, 提高火腿肠的亮度。

关键词: 火腿肠; Nisin; 超高压; 菌落总数; 色泽

Effects of Ultrahigh Pressure and Nisin on Microbiological Quality and Color of Low-temperature Sausage

XU Sheng, CHEN Cong-gui, ZHAN Chang-ling, YANG Bo

(School of Biotechnology and Food Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China)

Abstract: The effects of ultrahigh pressure (UHP) and nisin treatments on microbiological quality and color of low-temperature sausage was investigated by single-factor method. Subsequently, an orthogonal array design involving 9 experiments of nisin concentration, pressure and pressure-holding time at three levels was employed for maximizing weighed score of total colony number (50%) and L^* - (25%) and c^* - (25%) values of sausage. The L^* -value increased, while the a^* -value and the b^* -value decreased with the increase of pressure and the prolongation of pressure-holding time. The combined treatment of UHT and nisin presented higher sterilization effect than the single treatment. The optimal conditions for the combined treatment of UHT and nisin were determined as follows: nisin concentration 0.02%, pressure 400 MPa and pressure-holding time 10 min. The results showed that the combined treatment of UHT and nisin not only has a good sterilization effect, can increase the L^* -value of sausage as well.

Key words: sausage; nisin; ultra high pressure; total colony number; color

中图分类号: TS252.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)17-0041-04

低温肉制品由于加工过程营养损失小, 现已成为我国肉制品市场发展的主流产品。但此类产品由于加工温度不高, 易受微生物污染, 货架期较短, 存在安全隐患, 如何提高其卫生安全质量一直是此类肉制品生产企业面临的技术问题。

化学性食品防腐剂是抑制食品中有害微生物生长和延长食品贮藏期的有效因子, 如山梨酸盐、苯甲酸盐等, 但其潜在的食品安全隐患, 也制约了含有此类物质食品的消费。Nisin 是一种多肽物质, 是安全、高效、天然的肉食品防腐剂, 对 G^+ 菌具有很强的抗菌效果; 而且它极易被消化道中的蛋白酶水解, 不改变肠道

中的正常菌群, 也不会产生其他抗菌素出现的抗性、过敏问题^[1]。目前, Nisin 已在包括欧盟在内的 50 多个国家获得批准使用。

超高压作为一种新型的食品加工技术, 可在较低温度下杀菌, 并可很好地保留食物中的热敏性营养成分、原有的色香味等^[2]。超高压技术已受到各发达国家的高度关注, 日本、西班牙等国已有超高压食品面市^[3-4]。

微生物不同, 其耐压能力各异。例如, 真菌、 G^- 、 G^+ 的耐压能力依次增强^[5]。因此, 超高压和 Nisin 的结合可形成互补的杀菌效果。本研究以肉制品超高压加工技术的商业应用为目标, 重点考察超高压处理与 Nisin

收稿日期: 2009-03-18

基金项目: 2007 安徽省重大科技攻关计划项目(07010301017)

作者简介: 徐胜(1984—), 男, 硕士研究生, 主要从事肉品现代加工技术研究。E-mail: hfutxusheng@126.com

* 通讯作者: 陈从贵(1963—), 男, 教授, 硕士, 主要从事畜禽食品现代加工技术研究。E-mail: ccg1629@163.com

对低温火腿肠储藏期间菌落数及色泽的影响。

1 材料与amp;方法

1.1 材料、试剂与amp;仪器

猪精肉购于双汇冷鲜肉店(合肥);食盐、聚乙烯食品袋 市售。

Nisin(效价 2×10^6 , 溶剂为蒸馏水) 兰州伟日生物工程有限公司。

UHPF-750型超高压实验台 包头科发新型高技术食品机械有限责任公司;WB-2000 2XA全自动测色色差计北京康光仪器有限公司;BD(C)-69型冰柜 青岛澳柯玛股份有限公司;BC/BD-241GS型冰柜 青岛海尔股份有限公司;绞肉机(出肉盘孔径5mm)、SF-200型塑料薄膜封口机 温州兴业机械设备有限公司;电子分析天平 上海奥豪斯公司;恒温水浴锅 国华电器有限公司;Alpha 1-4LSC冷冻干燥机 德国Christ公司。

1.2 方法

1.2.1 原料肉的准备

将冷冻猪精肉在 $2 \sim 4^\circ\text{C}$ 的冰柜内解冻 24h, 然后用绞肉机绞制 2 次, 再将制备的肉糜用保鲜袋分装(约 200g/袋), 封口, 并置于 -20°C 冰柜中供实验用。

1.2.2 原料肉基本成分的检测

随机取出原料肉糜 1 袋, 置于冰箱冷藏室解冻约 12h, 进行基本成分测定。水分、蛋白质、脂肪和灰分测定分别采用冷冻干燥法、微量凯氏定氮法、索氏抽提法和 550°C 灰化法, 参见文献[6]。检测重复 3 次, 结果以“平均值 \pm 标准差”表示。检测结果分别为: 水分(74.19 ± 0.83)%、蛋白质(23.60 ± 0.14)%、脂肪(2.41 ± 0.11)%、灰分(1.19 ± 0.14)%。

1.2.3 低温火腿肠的制备

配料与灌装: 称取解冻后的肉样约 200g, 加入食盐 1%、水 20%、海藻酸钠 0.5%、葡萄糖 0.4%(均为原料肉的质量分数), Nisin 按设定的比例添加, 充分混合均匀后, 用自制肠衣(约 $\Phi 16\text{mm} \times 100\text{mm}$)灌装, 封袋, 称重。

超高压处理参照文献[7]方法进行。

加热凝胶化与样品贮藏: 85°C 恒温水浴中蒸煮 45 min, 取出后立即用自来水冷却约 10min, 然后在 $0 \sim 4^\circ\text{C}$ 下冷藏一定时间后, 取样检测。

1.2.4 样品的检测

菌落总数测定: 无菌取样 5g, 用 45ml 无菌生理盐水稀释, 选择适当的稀释倍数, 进行菌落计数。选用普通营养琼脂培养基。本实验中当菌落总数超过 10000 个/g 时视为超标。

色泽测定参照文献[6]进行。结果分别以亮度 L^* 、红度 a^* 和黄度 b^* 、以及彩度 c^* 表示, 其中 $c^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$ 。实验做 3 个平行样, 每个试样重复检测 5 次。

1.2.5 试验方案设计

单因素试验: 压力分别选取 100、300、500MPa (压力波动 $\leq 5\%$), 保压时间均为 20min; 300MPa 压力处理条件下, 保压时间分别选取 10、20、30min; 常压下, Nisin 添加量分别选取 0.01%、0.015%、0.02%。各单因素试验均在室温(约 20°C)下进行。以未添加 Nisin 且未受超高压处理的样品作为空白对照。

多因素正交试验: 选择压力、保压时间和 Nisin 浓度三个因素, 考察它们对火腿肠菌落总数和色泽的影响; 依据单因素试验结果, 确定相应因素的试验水平; 选用 $L_9(3^4)$ 正交试验表设计试验。微生物和色泽的正交试验结果采用加权综合评分方法进行评估, 以菌落总数(越少越好)、亮度 L^* (越大越好)和彩度 c^* (越大越好)3 个指标来综合反映; 3 者的权重分别为菌落总数 50 分、亮度 $L^* 25$ 分、彩度 $c^* 25$ 分。

1.2.6 实验结果的显著性分析

正交试验结果的方差分析采用 F 检验, 其他实验结果选用 t 检验。

2 结果与分析

2.1 超高压处理对菌落总数的影响

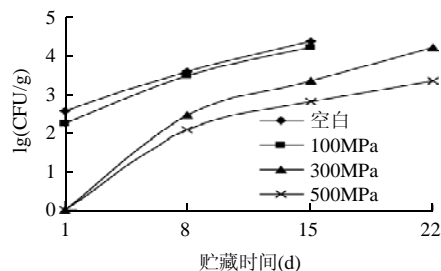


图1 不同压力处理 20min 对样品菌落总数的影响

Fig.1 Effects of pressure level on total colony number of low-temperature sausage pressurized for 20 min during storage at 4°C

由图 1 可见, 在相同的保压时间内, 压力越高, 杀菌效果越好。与未加压的空白组相比, 300MPa 和 500MPa 超高压处理可显著杀灭火腿肠中的微生物($P < 0.05$), 而 100MPa 的抑菌效果不显著($P > 0.05$)。但随着火腿肠冷藏时间的延长, 超高压处理后的火腿肠均存在微生物增殖现象, 即微生物数量增加。这可能是由于火腿肠中存在芽孢类耐压微生物或包装材料的阻隔性能不佳。有研究表明, 300MPa 以下的超高压处理会促进芽孢的萌发^[8], 将利于后续杀菌。

有文献报道^[6]500MPa 及以上的压力处理对肉制品的色泽影响较大, 且在 300MPa 左右时可获得较高的产品出品率, 故采用 300MPa 处理。从图 2 可以看出, 保压时间 10~30min 范围内, 300MPa 处理后的火腿肠在冷藏前 15d 无显著差异($P > 0.05$); 但冷藏 22d 后, 保压处理 30 min 的抑菌效果要显著优于 10min 处理组($P < 0.05$), 而与保压 20min 处理组之间无显著差异($P > 0.05$)。

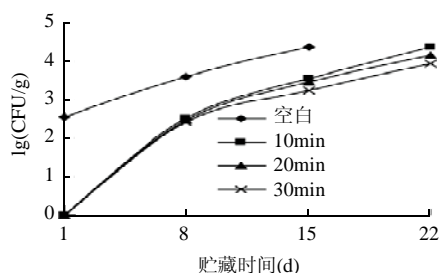


Fig.2 Effects of pressure-holding time on total colony number of low-temperature sausage pressurized at 300 MPa during storage at 4 °C

2.2 超高压处理对火腿肠色泽的影响

依照超高压对火腿肠中微生物的影响结果，保存22d后样品的微生物指标超标，因此选取保存15d时进行色泽的测定，结果见表1、2。

表1 不同压力下保压20min对火腿肠色泽的影响

Table 1 Effects of pressure level on L^* , a^* - and b^* -values of low-temperature sausage pressurized for 20 min during storage at 4 °C

色泽	压力 (MPa)	冷藏时间(d)		
		1	8	15
L^*	空白	63.01 ± 1.04 ^{c/Y}	63.38 ± 0.36 ^{c/Y}	64.67 ± 0.83 ^{c/X}
	100	63.18 ± 0.70 ^{c/Y}	63.73 ± 0.23 ^{c/Y}	64.82 ± 0.17 ^{c/X}
	300	64.80 ± 0.39 ^{b/Y}	65.05 ± 0.58 ^{b/X/Y}	65.72 ± 0.15 ^{a/X}
	500	69.47 ± 0.26 ^{a/Y}	69.71 ± 0.30 ^{a/Y}	70.14 ± 0.08 ^{a/X}
a^*	空白	3.64 ± 0.13 ^{a/X}	2.99 ± 0.12 ^{a/Y}	1.29 ± 0.08 ^{a/Z}
	100	3.25 ± 0.05 ^{b/X}	2.14 ± 0.12 ^{c/Y}	0.84 ± 0.04 ^{b/Z}
	300	3.53 ± 0.11 ^{a/X}	2.36 ± 0.05 ^{b/Y}	0.24 ± 0.05 ^{c/Z}
	500	1.41 ± 0.10 ^{c/X}	0.95 ± 0.05 ^{d/Y}	-0.63 ± 0.12 ^{d/Z}
b^*	空白	11.74 ± 0.08 ^{a/Z}	12.14 ± 0.07 ^{a/Y}	13.56 ± 0.08 ^{a/X}
	100	11.65 ± 0.10 ^{a/Z}	11.96 ± 0.13 ^{a/Y}	12.62 ± 0.05 ^{b/X}
	300	11.26 ± 0.09 ^{b/Y}	11.42 ± 0.20 ^{b/Y}	11.99 ± 0.04 ^{c/X}
	500	8.57 ± 0.31 ^{c/Z}	8.78 ± 0.09 ^{c/Y}	9.10 ± 0.03 ^{d/X}

注：a~d表示不同处理压力间的差异性显著($P < 0.05$)，X~Z表示不同贮藏时间之间的差异性显著($P < 0.05$)。

表2 300MPa下保压时间对火腿肠色泽的影响

Table 2 Effects of pressure-holding time on L^* , a^* - and b^* -values of low-temperature sausage t pressurized at 300 MPa during storage at 4 °C

色泽	保压时间 (min)	冷藏时间(d)		
		1	8	15
L^*	空白	63.01 ± 1.04 ^{b/Y}	63.38 ± 0.36 ^{c/Y}	64.67 ± 0.83 ^{b/X}
	10	64.12 ± 0.08 ^{b/Y}	64.63 ± 0.47 ^{b/Y}	65.24 ± 0.11 ^{b/X}
	20	64.80 ± 0.39 ^{a/Y}	65.05 ± 0.58 ^{ab/X/Y}	65.72 ± 0.15 ^{a/X}
	30	64.98 ± 0.20 ^{a/Z}	65.26 ± 0.08 ^{a/Y}	65.95 ± 0.18 ^{a/X}
a^*	空白	3.64 ± 0.13 ^{a/X}	2.99 ± 0.12 ^{a/Y}	1.29 ± 0.08 ^{a/Z}
	10	3.47 ± 0.10 ^{a/X}	2.04 ± 0.04 ^{c/Y}	0.24 ± 0.08 ^{b/Z}
	20	3.53 ± 0.11 ^{a/X}	2.36 ± 0.05 ^{b/Y}	0.24 ± 0.05 ^{b/Z}
	30	3.24 ± 0.07 ^{b/X}	1.78 ± 0.14 ^{d/Y}	0.23 ± 0.06 ^{b/Z}
b^*	空白	11.74 ± 0.08 ^{a/Z}	12.14 ± 0.07 ^{a/Y}	13.56 ± 0.08 ^{a/X}
	10	11.14 ± 0.10 ^{bc/Z}	11.37 ± 0.08 ^{b/Y}	12.00 ± 0.11 ^{b/X}
	20	11.26 ± 0.09 ^{b/Y}	11.42 ± 0.20 ^{b/Y}	11.99 ± 0.04 ^{b/X}
	30	11.07 ± 0.09 ^{c/Z}	11.27 ± 0.12 ^{b/Y}	12.09 ± 0.12 ^{b/X}

注：a~d表示不同保压时间之间的差异性显著($P < 0.05$)，X~Z表示不同贮藏时间之间的差异性显著($P < 0.05$)。

由表1可见，随着加压水平的提高，火腿肠的 L^* 值依次显著增加，而 a^* 值和 b^* 值则依次显著减小(除300MPa处理、冷藏1d和8d后的样品 a^* 值外)，而且在各冷藏时间范围内 L^* 、 a^* 和 b^* 值的这种变化结果并不改变。但随着冷藏时间的延长，冷藏15d后的火腿肠 L^* 值和 b^* 值显著高于相应的初始处理组(冷藏1d)，而 a^* 值则显著小于相应的初始处理组($P < 0.05$)。

由表2可见，随着保压时间的延长，样品色泽变化的总体趋势也是 L^* 值增加、 a^* 值和 b^* 值降低；但随着冷藏时间的延续，不同保压时间的处理结果与上述不同压力水平的处理结果一致。

L^* 值随压力水平和保压时间变化的趋势与超高压处理金枪鱼肌肉^[9]和鸵鸟肉^[10]的结果相近；而红度 a^* 的变化趋势与超高压处理牛肉^[11-12]所得的结果相似。火腿肠 L^* 和 b^* 值随着贮藏时间延长而增加、而 a^* 值显著下降的这种变化，与高静压导致肌球蛋白的变性^[13]及高铁肌红蛋白的变性与复性^[14]相关。

2.3 Nisin 浓度对菌落总数的影响

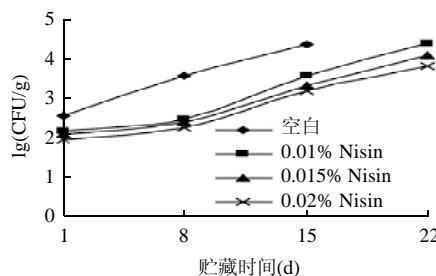


图3 Nisin 浓度对样品菌落总数的影响

Fig.3 Effects of nisin concentration on total colony number of low-temperature sausage during storage at 4 °C

从图3可以看出，添加Nisin具有显著的抑菌效果($P < 0.05$)，且浓度越高，抑菌作用越强。引起肉制品腐败的细菌主要为乳酸菌等G⁺菌，而Nisin对G⁺具有显著的抑制作用，其抗菌作用类似阳离子表面活性剂。不少学者认为Nisin的抑菌机制是因为Nisin是一个疏水的带正电荷的小肽，能与细胞膜结合形成管道结构，使小分子和离子通过管道流失，造成细胞膜渗漏，膜内外能差消失所致^[15-16]。

2.4 多因素对火腿肠微生物和色泽的综合影响

通过压力、保压时间和Nisin浓度3个因素及其水平的正交试验，考察多因素对火腿肠菌落总数和色泽的影响。样品冷藏29d后的综合评分结果如表3所示，微生物变化情况见表4。从表4可以看出第36天绝大部分样品微生物超标，故对第29天的样品进行综合评分。

正交试验结果如表3所示，从直接分析结果看，9号试验结果最佳，其最优水平组合为A₃B₃C₂；极差分析结果显示，3因素的主次顺序是：B > A > C，最

优因素水平组合为 $A_3B_3C_3$ 。方差分析结果(表5)表明, 压力对综合指标的影响极显著($P < 0.01$), 而 Nisin 浓度和保压时间对其影响不显著($P > 0.10$)。若考虑技术的应用的生产效率, 较佳的因素水平可选取 $A_3B_3C_1$, 即: Nisin 添加浓度 0.02%、处理压力 400MPa、保压时间 10 min。

表3 正交试验综合评分结果

Table 3 Arrangement and results of the four-factor and three-level orthogonal array design

试验号	A Nisin 浓度(%)	B 压力 (MPa)	C 保压时间(min)	空列 D	微生物 lg(CFU/g)	L^*	c^*	综合得分
1	1(0.01)	1(200)	1(10)	1	5.00	67.85	13.09	399.5
2	1	2(300)	2(20)	2	4.15	67.99	11.47	410.3
3	1	3(400)	3(30)	3	3.90	71.18	10.11	426.1
4	2(0.015)	1	2	3	4.76	67.55	13.14	404.5
5	2	2	3	1	4.02	67.65	12.98	424.2
6	2	3	1	2	3.66	71.05	10.56	435.6
7	3(0.02)	1	3	2	4.84	67.25	12.65	396.3
8	3	2	1	3	3.65	67.67	11.43	421.7
9	3	3	2	1	3.18	70.61	11.03	449.9
K_1	412	400.1	418.9	424.5				
K_2	421.3	418.7	421.6	414.1		$T=3768.1$		
K_3	422.6	437.2	415.5	417.4				
R	10.6	37.1	6.1	7.1				

注: 综合评分中对第 29 天微生物已超标且没有进行计数的试验号, 菌落数取为前一周的 10 倍。

表4 正交试验中火腿肠菌落总数(CFU/g)随冷藏时间的变化

Table 4 Changes of total colony number of low-temperature sausage treated under 9 combinations of conditions shown in table 3 during storage time at 4 °C (CFU/g)

组别	冷藏时间(d)					
	1	8	15	22	29	36
1	0	3.90×10^2	4.00×10^3	1.00×10^4	—	—
2	0	1.80×10^2	3.30×10^2	1.80×10^3	1.40×10^4	—
3	0	1.60×10^2	3.00×10^2	1.20×10^3	8.00×10^3	—
4	0	2.50×10^2	2.70×10^3	5.70×10^3	—	—
5	0	2.30×10^2	5.90×10^2	1.80×10^3	1.04×10^4	—
6	0	1.80×10^2	3.80×10^2	2.00×10^3	4.60×10^3	7.00×10^3
7	0	2.10×10^2	1.30×10^3	1.50×10^3	6.90×10^3	1.00×10^4
8	0	1.60×10^2	3.40×10^2	3.80×10^2	4.50×10^3	8.00×10^3
9	0	1.20×10^2	2.50×10^2	3.00×10^2	1.50×10^3	2.50×10^3

注: “—”表示微生物多不可计或超标后不再检测。

表5 正交试验的方差分析结果

Table 5 Analysis of variance for the weighed score of total colony number and L^* - and c^* -values of sausage with various treatment conditions

方差来源	偏差平方和	自由度	F 值	显著性
A	204.84	2	1.811	
B	2064.63	2	18.256	**
C	54.90	2	0.485	
D	171.30	2	1.515	
误差	$\begin{cases} C \\ D \end{cases}$ 226.20	4		

注: $F_{0.01(2,4)}=18.000$; $F_{0.05(2,4)}=6.940$; $F_{0.10(2,4)}=4.320$ 。

3 结论

3.1 随着加压水平的提高和保压时间的延长, 样品色泽变化的总体趋势是 L^* 值增加、 a^* 值和 b^* 值降低; 但随着冷藏时间的延长, 冷藏 15d 后的火腿肠 L^* 值和 b^* 值显著高于相应的初始处理组(冷藏 1d), 而 a^* 值则显著小于相应的初始处理组($P < 0.05$)。

3.2 就火腿肠的微生物和色泽而言, 通过 Nisin 和超高压的复合作用, 可获得优于两者中单一处理的抑菌效果; 其较佳的处理工艺条件为: Nisin 添加浓度 0.02%、处理压力 400MPa、保压时间 10min。

参考文献:

- [1] 孔保华, 迟玉杰, 徐晶宇, 等. Nisin 在红肠保鲜中的应用[J]. 肉类研究, 1997(1): 42-45.
- [2] 段旭昌, 李绍峰, 张建新. 超高压处理对牛肉加工特性的影响[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 2005, 33(10): 62-66.
- [3] CHEFTEL J C, CULIOLI J. Effect of high pressure on meat: a review[J]. Meat Science, 1997, 46(3): 211-236.
- [4] HUGAS M, GARRIGA M, MONFORT J M. New mild technology in meat processing: high pressure as a model technology[J]. Meat Science, 2002, 62(3): 359-371.
- [5] 李勇. 超高压致死微生物的研究进展[J]. 微生物学通报, 1995, 22(4): 243-245.
- [6] 陈从贵, 李珂昕, 马力量, 等. 超高压对含有琼脂猪肉凝胶特性影响的试验[J]. 农业工程学报, 2008, 24(10): 217-221.
- [7] CHEN C G, GERELT B, JIANG S T, et al. Effects of high pressure on pH, water-binding capacity and textural properties of pork muscle gels containing various levels of sodium alginate[J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2006, 19(11): 1658-1664.
- [8] HOOVER G. Pressure effects on biological system[J]. Food Technology, 1993, 47(6): 150-155.
- [9] RAMIREZ-SUAREZ J C, MORRISSEY M T. Effect of high pressure processing (HPP) on shelf life of albacore tuna (*Thunnus alalunga*) minced muscle[J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2006, 7(1/2): 19-27.
- [10] SUPAVITPATANA T, APICHARTSRANGKON A. Combination effects of ultra-high pressure and temperature on the physical and thermal properties of ostrich meat sausage (yor)[J]. Meat Science, 2007, 76 (3): 555-560.
- [11] JUNG S, GHOUL M, de LAMBALLERIE-ANTON M. Influence of high pressure on the color and microbial quality of beef meat[J]. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie, 2003, 36(6): 625-631.
- [12] CARLEZ A, VECIANA-NOGUES T, CHEFTEL J C. Changes in colour and myoglobin of minced beef meat due to high pressure processing [J]. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie, 1995, 28: 528-538.
- [13] MOR-MUR M, YUSTE J. High pressure processing applied to cooked sausage manufacture: physical properties and sensory analysis[J]. Meat Science, 2003, 65(3): 1187-1191.
- [14] DEFAYE A B, LEDWARD D A, MacDOUGALL D B, et al. Renaturation of metmyoglobin subjected to high isostatic pressure[J]. Food Chem, 1995, 52: 19-22.
- [15] HARRIS L J, FLEMING H P, KLAENHAMMER T R. Characterization of two nisin producing *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* strains isolated from a commercial sauerkraut fermentation[J]. Appl Environ Microbiol, 1992, 58(5): 1477-1483.
- [16] 陈秀珠, 何松, 龙力红, 等. 乳链菌肽高产菌株 AL2 的发酵条件研究[J]. 微生物学通, 1995(4): 215-218.