

doi:10.3969/j.issn.2095-6002.2017.02.007

文章编号:2095-6002(2017)02-0045-06

引用格式:石芸洁,王霏菲,林慧敏,等.低温等离子体对生食蟹糊微生物含量及品质的影响[J].食品科学技术学报,2017,35(2):45-50.



SHI Yunjie, WANG Peifei, LIN Huimin, et al. Effect of atmospheric cold plasma on microbial content and quality of raw crab paste[J]. Journal of Food Science and Technology, 2017, 35(2):45-50.

低温等离子体对生食蟹糊微生物含量及品质的影响

石芸洁, 王霏菲, 林慧敏, 邓尚贵*

(浙江海洋大学 食品与医药学院, 浙江 舟山 316022)

摘要:研究了低温等离子体对生食蟹糊灭菌效果及品质的影响。分析了不同电压(30, 45, 60 kV)、不同处理时间(30, 60, 90, 120 s)下低温等离子体对生食蟹糊杀菌率的影响及优化杀菌条件下生食蟹糊储存不同时间(30, 60, 90, 180 d)时微生物含量、感官品质、pH值、挥发性盐基氮(TVB-N)和脂肪酸的变化。结果表明低温等离子体在60 kV处理90 s时灭菌效果最好,杀菌率达97.3%;低温等离子体可以有效地延长生食蟹糊的货架期,处理后蟹糊菌落浓度虽然也逐渐上升,但增长速度明显小于对照组;对照组蟹糊60 d时感官评定已降至一般,90 d时已不可接受,但实验组感官评定180 d仍为较好;对照组TVB-N值180 d时已达28.66 mg/100 g,而处理组仅为21.28 mg/100 g;低温等离子体对生食蟹糊的营养影响不明显,说明等离子可以在有效杀灭菌类、延长生食蟹糊货架期的同时,保持其原有的营养及理化性质。

关键词:低温等离子体;生食蟹糊;微生物;品质;脂肪酸

中图分类号: TS254.5

文献标志码: A

蟹糊是一种营养丰富的传统腌制生食水产制品,制作蟹糊的生产设备和加工过程简单、耗能少,因此能够充分保持原料本来的鲜美风味和丰富营养,是江浙沿海地区特色水产食品,居民食用非常普遍^[1]。由于加工过程中手工操作较多,蟹糊易受微生物的污染,使产品菌落总数较高,食用后腹泻事件时有发生^[2]。传统醉蟹糊生产往往通过加大量盐和酒,控制其微生物数量以延长保质期,导致产品盐分过高,影响了醉蟹糊风味及消费者对低盐食品的追求;但若降低醉蟹糊用盐量,菌落总数易在短期内超标,而若采用高温杀菌,蛋白质则易凝固收缩而失脆,同时又丧失醉蟹糊生食特点。因此,如何不破坏醉蟹糊原有风味,又能彻底杀灭其中的微生物,延长保质期尤其是常温保质期,提高食用安全性,一直是

生食水产品加工中的重要课题。

在食品加工中,灭菌技术是非常关键的技术之一,它与食品的保鲜、营养、品质及风味密切相关。近年来,一些冷灭菌技术,比如低温等离子体(atmospheric cold plasma, ACP)、射线、脉冲电场、高功率微波、振荡磁场等,在食品灭菌中的应用逐渐兴起。其中,低温等离子体技术已被用于对固态和液态食品的消毒灭菌,灭菌效果良好。等离子体由电子、离子、原子、自由原子团和紫外光子组成,通常产生于外部电场,当气体适用电压超过其极限值,气体就会电离,其中每一种成分都有使微生物灭活的可能^[3-4]。低温等离子体是相对于其体系中的高温电子而言,即在低温等离子体体系中,电子的温度可达上千乃至上万摄氏度,而其中的离子及分子的温度与

收稿日期:2017-03-01

基金项目:海洋公益性行为科研专项经费资助项目(201305013);浙江省大学生科技创新活动计划暨新苗人才计划项目(2016R411035)。

作者简介:石芸洁,女,本科生,研究方向为食品科学与工程;

*邓尚贵,男,教授,博士,主要从事水产品精深加工方面的研究,通信作者。

常温相当,所以整个体系在宏观上表现为常温^[5]。低温等离子体技术是一种新颖的非热能技术,有杀菌温度低、速度快、杀菌全面、不产生副产物、不产生有毒残留物等优点^[6],现已证明对水果、种子、坚果、蔬菜、果汁、家禽和肉类及其产品的有效灭菌具有极大的潜力^[7]。

实验选用生食蟹糊作为研究对象,探索低温等离子体对生食蟹糊灭菌效果及营养和理化性质的影响。此外,利用低温等离子体处理生食蟹糊,然后置于冰箱冷藏,每隔30 d检测一次生食蟹糊的理化性质,观察低温等离子体对生食蟹糊货架期的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜白蟹(75±3 g),购于舟山某菜场,带回实验室后立即用清水冲洗。去除蟹脐、蟹鳃后用剪刀剪碎,长度约1 cm,然后拌入质量分数8%食盐,质量分数4%白糖,质量分数4%白酒,用玻璃密封罐盛装,放入冷藏箱24 h后即为生食蟹糊。

其他试剂:沙氏葡萄糖培养基(SDA)、营养琼脂培养基(NA),青岛海博生物技术有限公司;氢氧化钠、氯化钾,国药化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

Phenix BK 130/3型低温等离子体处理仪,美国凤凰科技公司;JB-CJ-1FXS型超净工作台,苏州佳宝净化工程设备有限公司;FSH-2型高速可调匀浆

机,武汉格莱莫检测设备有限公司;LDZX-50FBS型立式压力蒸汽灭菌器,上海申安医疗器械厂。

1.3 实验方法

1.3.1 低温等离子体对蟹糊杀菌率的测定

根据GB/T 4789.2—2010《食品微生物学检验 菌落总数测定》进行处理。称取10 g蟹糊,加入90 mL无菌蒸馏水,高速振荡后制成质量(g)与体积(mL)比为1:10的均匀稀释液,并依次10倍稀释。取1:100和1:1000的稀释液倒平板,每个稀释度倒2个平板,25℃培养48 h计数。杀菌率按照式(1)计算:

$$\text{杀菌率} = [(N_0 - N_1) / N_0] \times 100\% \quad (1)$$

式中: N_0 为对照组菌落总数,CFU/g; N_1 为处理组菌落总数,CFU/g。

1.3.2 低温等离子体对蟹糊品质的影响

低温等离子体处理后的蟹糊为处理组,未经处理的蟹糊为对照组,分别使用50 mL无菌玻璃瓶盛放并放置于4℃冷藏箱中进行贮藏。检测处理组以及对照组的蟹糊在贮藏0,30,60,90,180 d时微生物含量、感官品质、pH值、挥发性盐基总氮及脂肪酸含量变化。

1.3.2.1 蟹糊感官评定

感官评定小组分别对低温等离子体处理前后的蟹糊进行感官评分,感官品质评价小组由10名评定人员组成,评分细则如表1,可接受性评分由风味、口感、色泽、外观4个项目得分相加所得,最终感官得分以平均得分表示。

表1 蟹糊感官评分细则
Tab.1 Sensory scoring rules of crab paste

评价指标	风味	口感	色泽	外观
很好[4,5]	有蟹糊特殊香味,味道鲜美	蟹糊感浓,质脆柔嫩	呈亮黄色,表面有光泽	组织饱满,壳肉相连
较好[3,4]	有蟹糊香味,味道较鲜美	蟹糊感较好,质脆柔嫩	呈淡黄色,表面较有光泽	组织较为饱满,壳肉相连
一般[2,3]	有腥味,鲜味稍差	肉质脆嫩度一般	呈淡黄色,表面略带光泽	组织饱满度一般,壳肉较易脱落
较差[1,2]	有腥味,口味稍差	肉质脆嫩度较差	颜色偏灰色,表面无光泽	组织饱满度较差,壳肉易脱落
很差[0,1]	出现腥臭,有异味	肉质发糜	颜色发黑,表面无光泽	组织饱满度差,壳肉分离

1.3.2.2 pH值的测定

根据GB/T 5009.237—2016《食品pH值的测定》,分别取10 g切碎后的蟹糊,置于100 mL 0.1 mol/L氯化钾溶液中,高速可调匀浆机10000 r/min处理1 min后使用pH计测定。

1.3.2.3 TVB-N值的测定

挥发性盐基氮(total volatile basic nitrogen, TVB-N)含量,按照GB 5009.44—2003《肉与肉制品卫生标准的分析方法》中微量扩散法测定,测试3个平行,取平均值。

1.3.2.4 脂肪酸的测定

按郑捷等^[8]的方法进行蟹糊脂肪的提取及脂肪的甲酯化。

色谱 GC 条件:色谱柱为 HP-5MS 弹性石英毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm),柱温初始 40 °C,保持 4 min,以 10 °C/min 升到 160 °C,再以 8 °C/min 升到 250 °C 保持 6 min。汽化室温度 250 °C,载气为氦气,流量为恒流 1 mL/min,分流比 1:10,进样量 1 μL。

质谱 MS 条件:离子源温度 220 °C,电子能量 70 eV,质量范围 m/z 40 ~ 550 u,溶剂切除时间 3 min。

2 结果与分析

2.1 低温等离子体对蟹糊杀菌率的影响

相同处理时间,不同处理电压,杀菌率呈先上升后平缓的趋势,因为随着电压的升高,放电功率增加,增加高能粒子的密度,因此杀菌率提高^[9](见图 1)。当处理电压为 60 kV 时,杀菌率达到最高值,之后杀菌率维持稳定。可能是因为高电压时气体碰撞加剧,电离状态不稳定,各类粒子进一步聚合或反应消耗,有效杀菌成分不再增加。相同处理电压,不同处理时间,随着处理时间的增加,杀菌率逐渐升高;当处理时间大于 90 s 时,杀菌率达 97.3%,120 s 时几乎不再上升。Kim 等^[10]研究等离子体对辣椒表面的杀菌作用,发现等离子体电压和处理时间对杀菌效率有显著影响,电压增高,杀菌率增大,时间越长杀菌率越高。Misra 等^[4]的研究表明杀菌率随时间延长先上升后平缓,与本研究结果一致。这可能是由于处理时间的延长,产生的活性氧自由基等杀菌物质浓度逐渐增加,90 s 后已超过能与表面细

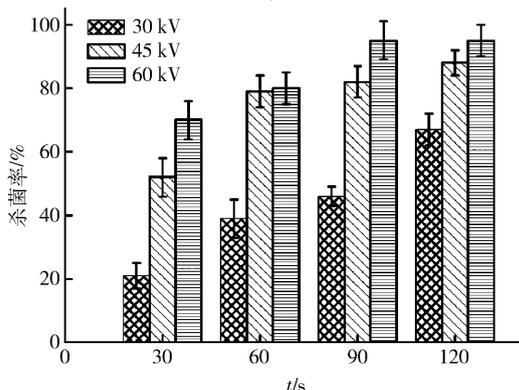


图 1 不同处理条件对蟹糊杀菌率的影响

Fig. 1 Effect of atmospheric cold plasma treatment on microbial quantity

菌充分反应的浓度;此外,由于低温等离子体是一种表面杀菌技术^[11],对蟹糊内部的细菌杀菌作用有限,故蟹糊整体的杀菌率不再持续快速上升。后续实验选择 60 kV,90 s 为优化处理时间。

2.2 低温等离子体对蟹糊货架期的影响

未经低温等离子体处理的蟹糊置于冰箱 4 °C 冷藏时,随着储藏时间的延长,菌落浓度逐渐上升,90 d 后,微生物菌落浓度已达 3.2×10^5 CFU/mL(见表 2)。经低温等离子体 60 kV,90 s 处理后的蟹糊置于冰箱 4 °C 冷藏,30 d 后检测,菌落浓度与对照组相比明显降低。随着储藏时间的延长,菌落浓度虽然也逐渐上升,但增长速度明显慢于对照组。

表 2 不同储藏时间蟹糊中微生物的浓度

Tab. 2 Total plate count in crab paste

t/d	CFU/mL	
	对照组	处理组
0	$(4.50 \pm 0.05) \times 10^3$	$(0.50 \pm 0.01) \times 10^3$
30	$(2.30 \pm 0.06) \times 10^4$	$(2.10 \pm 0.01) \times 10^3$
60	$(7.10 \pm 0.08) \times 10^4$	$(4.70 \pm 0.03) \times 10^2$
90	$(3.20 \pm 0.07) \times 10^5$	$(3.90 \pm 0.03) \times 10^3$
180	$(6.80 \pm 0.06) \times 10^5$	$(7.70 \pm 0.04) \times 10^3$

2.3 低温等离子体对蟹糊感官评定的影响

评分小组的综合评定结果见图 2。低温等离子体处理前后蟹糊感官品质无明显变化,在样品的整个贮藏过程中,处理组与对照组感官评分值均处于下降趋势,且在 60 d 后呈明显下降趋势,但经低温等离子体灭菌处理后的蟹糊品质高于对照组的样品。蟹糊初始感官评分均为 20;60 d 后,对照组的感官评分降到 10.8,感官品质为一般,处理组降到 15.2,感官品质为较好;90 d 后,对照组感官评分为 3.3,已降为 5 分以下,达到变质水平;180 d 后,对照组降到 2.6,为很差,处理组降到 13.5,感官品质仍为较好。因此可知,低温等离子体对保持蟹糊品质、延长贮藏期有一定的功效。

2.4 低温等离子体对蟹糊 pH 值的影响

未经处理的蟹糊 pH 值为 7.84 左右,经过低温等离子体处理后蟹糊的 pH 值为 7.87 左右,无明显变化(见图 3)。随贮藏时间延长两组蟹糊 pH 值均呈略微下降再上升的趋势。pH 值的下降是蟹糊糖酵解使乳酸、磷酸积聚和 ATP 酶活力增强导致的^[12],后呈上升趋势是由于蟹糊中的蛋白质分解产生氨基酸和其他碱性物质,与此同时微生物利用这些物质产生氨和胺类^[13]。

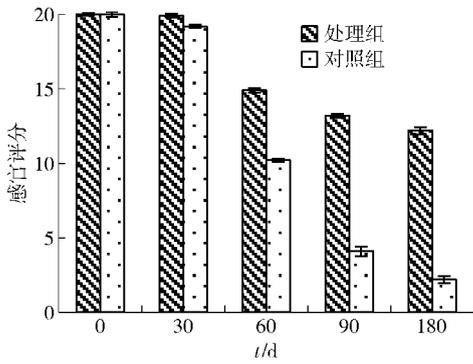


图2 低温等离子体处理前后蟹糊感官品质随贮藏时间的变化

Fig. 2 Changes of sensory quality during storage time

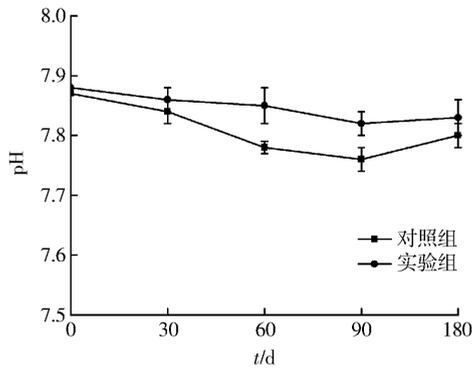


图3 低温等离子体处理前后蟹糊 pH 值随贮藏时间的变化

Fig. 3 Changes of pH during storage time

2.5 低温等离子体对蟹糊 TVB-N 值的影响

TVB-N 值是评价水产品腐败程度的重要指标之一,是指由于腐败细菌和内源性酶的作用,水产品贮藏过程中蛋白质分解产生的氨和胺类等碱性的

含氮挥发性物质^[14]。GB 10136—2015《动物性水产制品》中的 TVB-N 上限值为 25 mg/100 g。

低温等离子体处理前样品的 TVB-N 值为 16.78 mg/100 g, TVB-N 含量随着贮藏时间延长而增加(见图 4),增加原因可能是随着腐败细菌进行曲线或线性增加,其分解代谢导致三甲胺、二甲胺、单乙胺、氨和其他挥发性碱的积累^[15]。而低温等离子体处理后的样品其 TVB-N 初始值为 18.14 mg/100 g,比对照组高,但储藏过程中上升速度明显低于对照组,180 d 时对照组 TVB-N 值已超过上限值,达 28.66 mg/100 g,而处理组仅为 21.28 mg/100 g,说明低温等离子体处理可以有效地保持蟹糊的品质,从而延长蟹糊保质期。

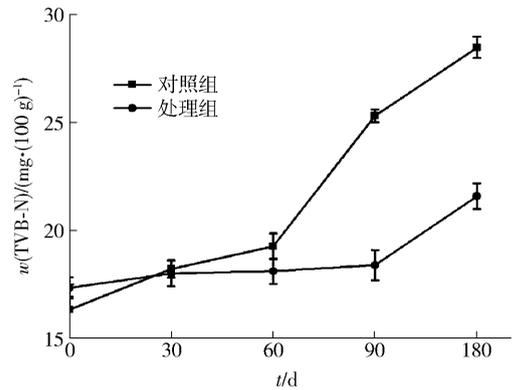


图4 低温等离子体处理前后蟹糊 TVB-N 值随贮藏时间的变化

Fig. 4 Changes of TVB-N value during storage time

2.6 低温等离子体对蟹糊脂肪酸的影响

蟹糊中脂肪酸组成如表 3,可见生食蟹糊脂肪

表3 蟹糊脂肪酸含量变化

Tab. 3 Change of fatty acids value of crab paste

饱和脂肪酸/(mg·kg ⁻¹)	对照组	处理组	变化率/%	不饱和脂肪酸/(mg·kg ⁻¹)	对照组	处理组	变化率/%
C _{10:0}	13.36	13.6	1.76	C _{14:1}	72.7	67.2	-7.57
C _{12:0}	1.41	1.33	-6.02	C _{16:1}	28.44	28.25	-0.67
C _{14:0}	63.72	60.36	-5.57	C _{17:1}	4.93	4.66	-5.48
C _{15:0}	14.71	14.23	-3.37	C _{18:1ω9}	70.88	72.3	2.00
C _{16:0}	3 424.44	3 229.65	-6.03	C _{18:2ω6}	22.72	22.82	0.44
C _{17:0}	66.67	73.03	8.71	C _{20:1}	1 282.08	1 288.23	0.48
C _{18:0}	1 998.77	1 978	-1.05	C _{20:2}	27.82	27.08	-2.66
C _{20:0}	26.3	24.3	-8.23	C _{20:3ω3}	5.28	4.83	-8.52
C _{21:0}	1.56	1.45	-7.59	C _{20:4ω6}	278.78	275.02	-1.35
C _{22:0}	5.23	5.25	0.38	C _{20:5ω3}	1 443.44	1 457.02	0.94
C _{24:0}	1.98	1.93	-2.59	C _{22:1ω9}	32.51	32.48	-0.09
C _{8:0}	8.56	8.45	-1.30	C _{22:6ω3}	3 874.47	3 747.23	-3.28
总量	5 626.71	5 411.58	-3.98	C _{24:1}	3.83	3.72	-2.87
				总量	7 147.88	7 030.84	-1.64

酸种类丰富,含25种脂肪酸,且低温等离子体处理前后蟹糊脂肪酸在种类上一致。饱和脂肪酸含量上除 $C_{10:0}$ (癸酸)、 $C_{17:0}$ (十七烷酸)及 $C_{22:0}$ (二十二烷酸)略有增加外,其余脂肪酸含量都相对持平或略微减少;而不饱和脂肪酸中 $C_{18:1\omega9}$ (油酸)、 $C_{18:2\omega6}$ (亚油酸)、 $C_{20:1}$ (二十碳烯)、 $C_{20:5\omega3}$ (二十碳五烯酸(EPA))略有增加外,其余不饱和脂肪酸含量都相对持平或略微减少。可能低温等离子体处理过程中高电压处理导致温度微升,使得脂肪酸氧化有所减少,饱和脂肪酸含量降低3.98%,不饱和脂肪酸量降低1.64%,总体上来说对蟹糊脂肪酸影响不明显。

3 结 论

利用低温等离子体对生食蟹糊进行了处理,通过一系列的检测手段研究了低温等离子体对生食蟹糊理化性质及营养的影响,主要结论如下:

1)低温等离子体可以快速并且有效地杀灭生食蟹糊中的微生物。优化灭菌条件为60 kV 处理90 s,杀菌率可达97.3%。

2)低温等离子体可以有效地延长生食蟹糊的货架期。生食蟹糊先经低温等离子体处理不同时间,再放入冰箱4℃冷藏,每隔30 d取出一定量来测定细菌总数、感官品质、pH值及TVB-N值,发现经低温等离子体处理的蟹糊随着储藏时间的延长,菌落浓度虽然也逐渐上升,但增长速度明显慢于对照组。对照组60 d时感官评定已降至一般,90 d时已不可接受;180 d时对照组TVB-N值已超过上限值,达28.66 mg/100 g,而处理组仅为21.28 mg/100 g,说明低温等离子体处理可以有效地保持蟹糊的品质,从而延长蟹糊保质期。

3)低温等离子体对生食蟹糊的营养影响不明显,说明等离子体可以在有效杀灭菌类、延长生食蟹糊货架期的同时,保持其原有的营养及理化性质。

参考文献:

[1] 张春丹,陈燕,全晶晶,等. 瓶装泥螺和蟹糊中细菌多样性研究[J]. 食品科学,2011,32(1):185-188.
ZHANG C D, CHEN Y, QUAN J J, et al. Bacterial diversity of salted mudsnail and crab paste[J]. Food Science, 2011,32(1):185-188.

[2] 马超,许钟,杨宪时. 冷藏瓶装蟹糊微生物学品质安全特征研究[J]. 上海水产大学学报,2008,17(2):222-226.
MA C, XU Z, YANG X S. Studies on microbiological quality and safety characteristics of bottled crab paste in cold storage[J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2008,17(2):222-226.

[3] FRIDMAN A, CHIROKOV A, GUTSOL A. Non-thermal atmospheric pressure discharges[J]. Journal of Physics D: Applied Physics, 2005, 38(2):1-24.

[4] MISRA N N, PATIL S, MOISEEV T, et al. In-package atmospheric pressure cold plasma treatment of strawberries[J]. Journal of Food Engineering, 2014, 125(3):131-138.

[5] 李兆杰,杨丽君,刘小菁,等. 辉光放电低温等离子体技术对微生物的杀菌动力学及杀菌机制[J]. 食品科学,2015,36(11):167-171.
LI Z J, YANG L J, LIU X J, et al. Bactericidal kinetics and mechanisms of low temperature glow discharge plasma[J]. Food Science, 2015,36(11):167-171.

[6] GAUNT L F, BEGGS C B, GEORGHIOU G E. Bactericidal action of the reactive species produced by gas-discharge nonthermal plasma at atmospheric pressure: a review[J]. IEEE Transactions on Plasma Science, 2006, 34(4):1257-1269.

[7] ESTEFANÍA N, GILBERT S, ADRIANA L, et al. Cold atmospheric gas plasma disinfection of chicken meat and chicken skin contaminated with *Listeria innocua* [J]. Food Microbiol, 2011,28(7):1293-1300.

[8] 郑捷,杨璐璐,高建忠,等. 泥鳅鱼籽营养成分及油脂的脂肪酸组成分析[J]. 食品科学,2016,37(24):105-110.
ZHENG J, YANG L L, GAO J Z, et al. Analysis of nutrient contents in loach roe and fatty acid composition of loach roe oil[J]. Food Science, 2016,37(24):105-110.

[9] HU M, GUO Y. The effect of air plasma on sterilization of *Escherichia coli* in dielectric barrier discharge[J]. Plasma Science and Technology, 2012, 14(8):735-740.

[10] KIM J E, LEE D U, MIN S C. Microbial decontamination of red pepper powder by cold plasma[J]. Food Microbiology, 2014,38(7):128-136.

[11] FERNANDEZ A, NORIEGA E, THOMPSON A. Inactivation of *Salmonella enterica serovar Typhimurium* on fresh produce by cold atmospheric gas plasma technology [J]. Food Microbiology, 2013,33(1):24-29.

- [12] ERIKSON U, MISIMI E, GALLART-JORNET L. Superchilling of rested Atlantic salmon; different chilling strategies and effects on fish and fillet quality[J]. Food Chemistry, 2011, 127(4): 1427 - 1437.
- [13] 张新林, 谢晶, 郝楷, 等. 不同低温条件下三文鱼的品质变化[J]. 食品工业科技, 2016, 37(17): 316 - 320.
- ZHANG X L, XIE J, HAO K, et al. Effects of different cold storage conditions on quality of salmon[J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(17): 316 - 320.
- [14] QIU X J, CHEN S J, LIU G M, et al. Quality enhancement in the Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) fillets stored at 4 °C by chitosan coating incorporated with citric acid or licorice extract[J]. Food Chemistry, 2014, 162(11): 156 - 160.
- [15] LI T T, LI J R, HU W Z. Changes in microbiological, physicochemical and muscle proteins of post mortem large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) [J]. Food Control, 2013, 34(2): 514 - 520.

Effect of Atmospheric Cold Plasma on Microbial Content and Quality of Raw Crab Paste

SHI Yunjie, WANG Peifei, LIN Huimin, DENG Shanggui*

(School of Food and Medicine, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China)

Abstract: This study evaluated the microbial and physicochemical characteristics of raw crab paste treated with atmospheric cold plasma (ACP). The ACP was applied to raw crab paste samples for periods of 30, 60, 90, and 120 s under different voltage (30, 45, 60 kV). The changes of bacterial growth rate, the sensory quality, pH, total volatile basic nitrogen (TVB-N) and fatty acids were tested. The results showed that the best sterilization effect of ACP was 90 s at 60 kV while the sterilization rate reached 97.3%. The ACP could effectively prolong the shelf life of raw crab paste. The bacterial growth rate of experimental group was significantly slower than that of the control group. The sensory evaluation of control group has been reduced to a general level on the 60 days and could not accept at 90 days, while the experimental group was still good on the 180 days. The TVB-N value of the control group was 28.66 mg/100 g, while the experimental group was only 21.28 mg/100 g. The ACP had little effect on the nutritional of raw crab paste. It can be concluded that the ACP could effectively reduce the microorganism and protect quality of raw crab paste and prolong the shelf life.

Keywords: atmospheric cold plasma; raw crab paste; microorganism; quality; fatty acid

(责任编辑:檀彩莲)