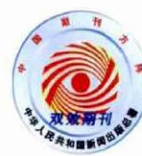


# 食品与发酵工业

FOOD AND FERMENTATION INDUSTRIES

**F&FI** 2017.05  
第43卷



ISSN0253-990X

## 模拟移动床色谱分离技术



**上海兆光色谱分离技术有限公司**

地址：上海市张江高科技园区郭守敬路351号

联系人：王兆光

手机：13901778416

电话：021-68561199

传真：021-61304288

邮箱：13901778416@139.com

<http://www.zhaoguang.com.cn>

ISSN 0253-990X



9 770253 990175



中国期刊方阵期刊  
第三届国家期刊奖百种重点期刊  
中国科技核心期刊  
中文核心期刊  
中国学术期刊综合评价数据库来源期刊  
中国科学引文数据库 (CSCD) 核心库来源期刊  
科技部万方期刊数据库来源期刊  
RCCSE 中国核心学术期刊 (A\*)  
《食品科学技术文摘》(FSTA) 收录期刊  
《化学文摘》(CA) 收录期刊

#### 《食品与发酵工业》编辑委员会

(以下按汉语拼音字母排列)

编委会主任: 蔡木易

顾问委员: 贾志忍 梁仲康 齐庆中 石维忱  
王延才 吴秋林 赵亚利 朱念琳

编委会委员: 陈 峰 陈 坚 陈 卫 丁钢强  
堵国成 高晓冬 胡小松 贾凤超  
江连洲 江正强 金征宇 励建荣  
刘东红 路福平 罗云波 李 斌  
李 诚 李 华 李 宁 李 勇  
林 洪 孟宪军 邱树毅 饶平凡  
任发政 孙宝国 孙远明 王 洁  
王 莉 王 敏 王 硕 王兴国  
吴永宁 谢明勇 徐宝财 徐 岩  
薛长湖 严 斌 岳田利 张和平  
赵改名 赵国华 郑宝东 周光宏  
朱蓓薇 邹慧君

主管单位: 中国轻工业联合会

主办单位: 中国食品发酵工业研究院  
全国食品与发酵工业信息中心

出版者: 《食品与发酵工业》编辑部

地址: 北京酒仙桥中路 24 号院 6 号楼

邮编: 100015

电话: (010)53218338 53218337

传真: (010)53218336

邮箱: ffeo@vip.sina.com

网址: <http://www.spfjgy.com>

投稿网址: <http://www.spfx.cbpt.cnki.net>

主 编: 王 洁

执行主编: 李志军

副 主 编: 林红华

责任编辑: 要永杰

编 辑: 卢 亿 刘 芳

英文编辑: 毕 群 霍秀岩

出版日期: 2017 年 5 月 25 日

国际刊号: ISSN 0253-990X

国内刊号: CN 11-1802/TS

印刷装订: 北京百善印刷厂

订 购 处: 全国各地邮局

邮发代号: 2-331

国外代号: M 350

海外总发行: 中国国际图书贸易集团有限公司

广告发布登记号: 京朝工商广登字第 20170155 号

# 食品与发酵工业

## Shipin yu Fajiao Gongye

### · 研究报告 ·

- 脂肪酸单甘油酯的酶催化合成及其表征 王楠, 吴望波, 张桂菊, 等 1
- 干酪乳杆菌胞外多糖基因簇的调控基因在大肠杆菌中异源表达 孔令慧, 周炜, 王光强, 等 7
- 代谢工程改造大肠杆菌合成  $\beta$ -丙氨酸 梁姗姗, 周丽, 张斌, 等 13
- 地衣芽孢杆菌  $\alpha$ -淀粉酶酸性 pH 稳定性提升突变体的生化特征 罗丹, 靳晓, 牛丹丹, 等 19
- pH 和阿拉伯胶对大豆分离蛋白 / 大豆蛋白酶解产物  
乳化性质的影响 贾聪, 华欲飞, 陈业明, 等 25
- 嗜热脂肪土芽孢杆菌普鲁兰酶基因的异源表达及重组酶性质 肖亚朋, 沈微, 李婷霖, 等 30
- 荒漠昆虫小胸鳖甲抗冻蛋白 MpAFP698 对酿酒酵母的低温  
保护作用 张凤娟, 孙琳洁, 李素丽, 等 37
- 嵌合突变嗜酸普鲁兰芽孢杆菌普鲁兰酶结构域 B 对  
酶学性质及功能的影响 谷海涛, 李松, 陈阿卿 43
- 链霉菌 L10608 产木聚糖酶纯化及特异水解底物生成  
益生元型产物研究 熊科, 熊苏玥, 崔晓亭, 等 49
- 传统发酵牦牛酸乳的品质形成规律 廉桂芳, 谢捷, 赵欣, 等 56
- 福建古田红曲生产用红曲霉菌主要种类的鉴别 李志强, 刘颖, 林凤, 等 64
- 酱香型大曲细菌的多样性 王晓丹, 雷安亮, 班世栋, 等 70
- 浓香型大曲贮藏过程中糖化力发酵力变化及真菌多样性分析 施思, 彭智辅, 乔宏伟, 等 76
- 脱钙预处理对提高浓缩乳蛋白溶解性的影响 刘大松, 余韵, 李瑞珂, 等 80
- 气体射流冲击干燥猕猴桃片的复水动力学特性及数学模型 黄迪, 李文峰, 杨兴斌, 等 86
- 基于  $^1\text{H}$  NMR 的大米淀粉与马铃薯淀粉水合过程的水状态及  
分布差异研究 高艺书, 范大明, 王丽云, 等 93
- 高压均质对绿豆淀粉机械力化学效应的影响 李贵箫, 牛凯, 侯汉学, 等 99
- 基于声化学效应探究低频超声处理对温州蜜柑汁杀菌及其  
品质的影响 李申, 马亚琴, 李楠楠, 等 106

### · 生产与科研经验 ·

- 苹果块固定化乳酸菌的发酵特性及冻干剂制备 陈涛, 马映昆, 陈福生 115
- 不同中和剂对植物乳杆菌 LP-C 冻干菌粉制备的影响 谢万勇, 鲍志宁, 黄秀敏, 等 123
- 燕麦麸脂肪模拟物应用于发酵香肠的工艺优化及其对  
发酵香肠品质的影响 杨敏, 杨勇, 李彬彬, 等 129

# 目次

# CONTENTS

2017 年 43 卷 第 5 期 (总第 353 期) 月刊 国内外公开发行

1970 年创刊 1975 年国内外公开发行

- 数控与传统发酵普洱茶抗氧化活性与化学成分的比较 王兴华, 念波, 段双梅, 等 138
- 超氧化电位水的稳定性及杀菌效果 陈红运, 宋全厚, 尹建军, 等 144
- 小麦胚芽糊加工工艺探讨 王家良, 许晖, 邓源喜, 等 148
- 微波作用下合成食品添加剂没食子酸丁酯 杨建明, 谢放华, 刘嘉慧, 等 154
- 响应面优化鱼鳔胶原蛋白制备工艺及其抗氧化活性研究 涂宗财, 唐平平, 郑婷婷, 等 160
- 榨菜脱盐工艺优化及品质分析 赵丹, 田俊青, 程亚娇, 等 167
- 腌制时间对蜜制柠檬生化、感官和抗氧化特性的影响 柳岩, 王杰, 罗理勇, 等 173
- 基于遗传算法的苦瓜片气体射流冲击干燥工艺优化 薛珊, 赵武奇, 高贵田, 等 180
- 干制条件对杏果中糖含量变化的影响 李琼, 陈艳, 许铭强, 等 185

## · 分析与检测 ·

- 基于 BSTFA 衍生化法白酒不挥发有机酸研究 杨会, 范文来, 徐岩 192
- QUEChERS 前处理高效液相色谱法同时测定酵母产品中 7 种合成酚类抗氧化剂 李艳美, 栗有志, 李芳, 等 198
- 基于 Fisher 判别法对黑龙江大米产地溯源 钱丽丽, 冷候喜, 张爱武, 等 203
- 分光光度法测定水产品中的二甲胺 戚勃, 杨少玲, 杨贤庆, 等 208
- 基于电子鼻分析的碳酸饮料识别判定技术研究 张井, 张维一, 李燕, 等 214
- 低场核磁结合理化指标分析对虾冻藏期间的表观品质变化 孙协军, 张凯, 孙攀, 等 219

## · 贮运与保鲜 ·

- 包装方式对冷藏过程中牦牛肉蛋白质生化特性的影响 马纪兵, 张丽, 包高良, 等 225
- 不同贮藏温度对雷竹笋品质的影响 杨光, 王丹丹, 李琴, 等 233

## · 分离与提取 ·

- 不同提取方法对鲮鱼皮胶原蛋白结构特征和功能性质的影响 蔡路昀, 马帅, 李秀霞, 等 240
- 柑橘加工废渣糖蜜糖分的分离提取及含量测定 彭雪娇, 黄林华, 王华, 等 247
- 双水相萃取法分离纯化金针菇子实体多糖 刘景煌, 李晨, 肖林刚, 等 255

## · 综述与专题评论 ·

- 大麦麦芽阿拉伯木聚糖的研究进展 孙军勇, 陆健 261
- 肌肉蛋白氧化对肉类品质的影响 张丽, 余群力, 孙宝忠 268
- 食品溯源技术研究进展 马慧馨, 余冰雪, 李妍, 等 277
- 1- 甲基环丙烯处理与气调贮藏应用于樱桃贮藏保鲜的研究进展 陈鐸, 石玉刚, 王允祥, 等 285
- 《微生物新菌种名称英解汉译检索表》(第 5 期) 295

欢迎订阅

# 《食品与发酵工业》

邮发代号: 2-331



发行量大  
覆盖面广  
权威性强

欢迎投稿

投稿网址:  
<http://spfx.cbpt.cnki.net>

编辑部地址:  
北京朝阳区酒仙桥中路  
24号院6号楼111室  
电话: 010-53218338  
传真: 010-53218336  
网址: <http://www.spfjgy.com>

欢迎刊登广告



# FOOD AND FERMENTATION INDUSTRIES

2017 Vol43 No.5 (Monthly)

## Contents

Enzymatic synthesis and characterization of monoglycerides.....	WANG Nan et al	1
Heterologous expression of the transcriptional regulator in the exopolysaccharides gene cluster from <i>Lactobacillus casei</i> in <i>Escherichia coli</i> .....	KONG Ling-hui et al	7
Metabolic engineering of <i>Escherichia coli</i> for the production of $\beta$ -clanline .....	LIANG Shan-shan et al	13
Biochemical characterization of <i>Bacillus licheniformis</i> $\alpha$ -amylase mutant with improved acidic pH stability.....	LUO Dan et al	19
Effect of pH and arabic gum on emulsifying properties of SPI/hydrolysates.....	JIA Cong et al	25
Heterologous expression of pullulanase gene from <i>Geobacillus stearothermophilus</i> and characterization of the recombinant enzyme .....	XIAO Ya-peng et al	30
Cryoprotective effect of antifreeze protein MpAFP698 from the desert insect <i>Microdera punctipennis</i> on yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	ZHANG Feng-juan et al	37
Effect of chimeric mutation of <i>Bacillus acidopullulyticus</i> pullulanase domain B on its enzymatic characteristics and functions.....	GU Hai-tao et al	43
Research on xylanase from <i>Streptomyces</i> sp. L10608 hydrolysis substrate to generate specific prebiotics product .....	XIONG Ke et al	49
Quality formation of traditional yak yoghurt.....	LIAN Gui-fang et al	56
Identification of major <i>Monascus</i> sp. involved in industrial production of Gulian Hongqu .....	LI Zhi-qiang et al	64
Research on bacterial diversity of Moutai-flavor <i>Daqu</i> .....	WANG Xiao-dan et al	70
Analysis of the change of saccharifying power and fermenting power for Luzhou-flavor <i>Daqu</i> and their fungal diversity during storage .....	SHI Si et al	76
Effect of decalcification pretreatment on the solubility of milk protein concentrate.....	LIU Da-song et al	80
Rehydration characteristics and math model for different air-impingement jet dried kiwifruit slices .....	HUANG Di et al	86
<sup>1</sup> H NMR study on the difference in water status and distribution between rice starch and potato starch during hydration process.....	GAO Yi-shu et al	93
High pressure homogenization on the effect of mung bean starch mechanochemistry properties.....	LI Gui-xiao et al	99
Effect of ultrasound treatment on microbial inactivation and mandarin ( <i>Citrus unshiu</i> ) juice quality at 25 KHz based on sonochemistry .....	LI Shen et al	106
Fermentation characteristics and preparation of freeze-dried starter of <i>Lactobacillus</i> spp. Immobilized by apple pieces .....	CHEN Tao et al	115
Effect of different fermentation neutralizer on preparation of <i>Lactobacillus plantarum</i> LP-C lyophilization powder .....	XIE Wan-yong et al	123
Optimization of application of oat bran fat analog on fermentation of sausages and effect on its quality .....	YANG Min et al	129
Comparison on chemical compounds and antioxidant activity of Pu-erh Tea fermented by numerical control and traditional methods .....	WANG Xing-hua et al	138
Study of stability and germicidal efficacy of neutral electrolyzed oxidizing water .....	CHEN Hong-yun et al	144
Development and processing technology of wheat germ paste .....	WANG Jia-liang et al	148
Synthesis of food additive butyl gallate by microwave.....	YANG Jian-ming et al	154
Optimization of swimming bladder collagen peptide preparation using response surface methodology and its antioxidant activity research .....	TU Zong-cai et al	160
Desalting process optimization and quality analysis of tuber mustard .....	ZHAO Dan et al	167
Effect of curing time on biochemical, sensory and antioxidant characteristics of honey-pickled lemon .....	LIU Yan et al	173
Optimization of drying process of sliced bitter melon in air-impinged jet dryer using genetic algorithm .....	XUE Shan et al	180
Effect of drying conditions on sugar content change in apricot .....	LI Qiong et al	185
Characterization of non-volatile organic acids in Baijiu (Chinese liquors) based on BSTFA derivatization coupled with GC-MS .....	YANG Hui et al	192
Simultaneous determination of 7 synthetic phenolic antioxidants in yeast products using QuEChERS sample preparation and high performance liquid chromatography .....	LI Yan-mei et al	198
Study on the origins of Heilongjiang rice based on Fisher discriminate method.....	QIAN Li-li et al	203
Spectrophotometry detection of dimethylamine in aquatic products.....	QI Bo et al	208
Research on the identification of carbonated beverages using electronic nose analysis .....	ZHANG Jing et al	214
The effect of physical and chemical parameters at low field NMR of white shrimps <i>Litopenaeus vannamei</i> on frozen shrimp during its storage .....	SUN Xie-jun et al	219
Effect of packaging methods on biochemical characteristics of yak meat protein during cold storage.....	MA Ji-bing et al	225
Different storage temperature on the quality of <i>Phyllostachys praecox</i> .....	YANG Guang et al	233
Effects of different extraction methods on structure characteristics and functional properties of collagen from the skin of flounder ( <i>Pleuronichthys cornutus</i> ) .....	CAI Lu-yun et al	240
Separation, extraction and content determination of sugar in molasses from the waste of citrus processing .....	PENG Xue-jiao et al	247
Isolation and purification of aqueous two-phase extraction of polysaccharides from <i>Flammulina velutipes</i> .....	LIU Jing-yu et al	255
Research advances on arabinoxylan in barley malt.....	SUN Jun-yong et al	261
The review of effect of muscle protein oxidation on meat quality .....	ZHANG Li et al	268
Research progress in food traceability technology .....	MA Hui-jun et al	277
Recent development in keeping quality of fresh cherry under 1-methylcyclopropene and controlled atmosphere storage treatments.....	CHEN Liu et al	285

### ADVERTISING IN THE PERIODICAL IS WELCOME

"FOOD & FERMENTATION INDUSTRIES" is a specialized information periodical of science and technology with certain academic level in the Chinese food and fermentation industries. Started publication earliest in the Chinese food and fermentation industries, it has certain influence both at home and abroad.

### The Editorial Office

China National Research Institute of Food and Fermentation Industries  
Nation Information Center of Food and Fermentation Industry  
No.6 Building  
24, Jiuxiangqiao Middle Road  
Chaoyang District  
Beijing, 100015, China  
E-mail: ffeof@vip.sina.com  
http://www.spfx.cbpt.cnkinet

Printed by Beijing Baishan Printery

Distributed by Beijing Post Office

Subscription Domestic Local Post Office

Foreign Distribution

China International Book Trading Corporation (P.O.Box 399, Beijing, China)  
Code No. M350



## 魅力流体 ...

无论源自哪个角度, 通过使用中牧公司的高洁净流体设备和智能化控制技术, 您将获得卓越的产品品质和更优化的原材料使用效率, 您将不会为这项决定而感到后悔!



**上海中牧流体设备有限公司**

地址: 上海市金山区海浜新村 122 号 -102

电话: 021-37311277 传真: 37311377

**温州中牧流体设备有限公司**

地址 (老厂): 浙江温州市永强高新区永昌路 184 号

地址 (新厂): 温州市经济技术开发区明珠路滨海五道万洋工业园 15 号

电话: 0577-85983777 传真: 85981187

手机: 13818096397

ISO9001 SGS CE

## 基于声化学效应探究低频超声处理对温州蜜柑汁 杀菌及其品质的影响

李申, 马亚琴\*, 李楠楠, 张震

(西南大学 柑桔研究所 国家柑桔工程技术中心 重庆 400712)

**摘 要** 应用低频超声波(25 kHz)处理宽皮柑橘(温州蜜柑)汁,考察其对特征微生物菌群(细菌、霉菌、酵母、大肠菌群)的灭活效果,同时分析了低频超声波对橘汁品质的影响。研究表明,超声时间、超声温度、超声功率均对杀菌率具有极显著影响( $P < 0.01$ )。超声杀菌处理最佳工艺条件为超声温度 50 °C,超声时间 40 min,超声功率 720 W;低频超声处理对橘汁糖酸成分无显著性影响( $P > 0.05$ )。同时橘汁抗坏血酸、总酚,以及抗氧化能力均显著高于巴氏杀菌橘汁( $P < 0.05$ )。低频超声技术具有提升橘汁品质的潜在作用。

**关键词** 温州蜜柑; 低频超声; 杀菌; 品质

柑橘是世界第一大贸易水果,我国的柑橘产量以及种植面积均居世界首位,其中宽皮柑橘产量最高,2015 年产量高达 1 850 万 t,占世界宽皮柑橘总产量的三分之二以上,出口量超过世界出口量的三分之一<sup>[1]</sup>。我国宽皮柑橘以鲜食为主,贮藏期短,易造成严重的资源浪费<sup>[2]</sup>。

柑橘汁富含膳食纤维、矿物质等营养物质,以及黄酮、酚酸、香豆素、类胡萝卜素、抗坏血酸等多种活性成分,对心脑血管疾病等慢性和退行性疾病具有潜在的预防与治疗作用<sup>[3-4]</sup>。尤其是非浓缩还原汁,因其较好的保留了水果原有的营养与风味,日益受到消费者的青睐。柑橘汁作为一种热敏性食品,传统热杀菌虽能有效地杀灭微生物并抑制酶活,但高温处理对果汁色泽、味道、营养成分以及活性物质造成不同程度的破坏,加速色素降解,产生蒸煮异味,加剧褐变反应,降低果汁新鲜度,甚至产生醛和环氧化物,对果汁的安全性造成极大的危害和隐患<sup>[5-6]</sup>。因此,超声波、辐照、超高压、脉冲电泳、真空渗透脱水等非热技术在果汁加工领域应用的潜在可能性受到广泛关注。

超声波是指频率为 20 kHz ~ 500 MHz 的声波,超声波的引入可引起介质发生交替压缩和伸张的机械震动,当液体分子间的距离超过保持液体作用

的临界分子间距时会形成空穴气泡,在超声波的连续作用下,部分空穴气泡会瞬间绝热收缩至爆破,产生局部高温、高压(5 000 ~ 500 000 kPa)、强烈的剪切力等超声波特有的声化学效应,同时引起质点线性和非线性的交变震动,并伴随机械剪切力以及自由基的产生<sup>[7]</sup>。空穴气泡的大小与超声频率的高低呈负相关,因此低频超声波(20 kHz ~ 100 kHz)能产生较大的空穴气泡,气泡崩塌时比高频超声波(100 kHz ~ 1 MHz)更为剧烈,具有更高的超声能量,有利于促进声化学效应的产生。当超声波应用于果汁杀菌时,其能量可瞬间分布于果汁中,空穴气泡绝热收缩至爆破的瞬间过程,产生“热点”效应,导致细胞膜在变化的压强条件下拉伸、破裂,并伴有膜电位的改变,因而在中低温条件下具有显著的杀菌效力,达到减缓热效应(降低热杀菌温度/缩短热杀菌时间)和降低能耗的效果<sup>[8-9]</sup>。国内外学者基于模拟体系和真实体系开展了众多关于超声技术的杀菌效力及其机理的研究<sup>[10-16]</sup>。超声作为一种新的杀菌技术,与传统热杀菌相比,能减少热效应,降低能耗,有效地减少营养成分和风味物质的损失,尤其在糖度较高的果汁中,兼具良好的均质效果,有潜力成为辅助甚至替代热杀菌的新技术。

本研究选取温州蜜柑为原料,考察低频超声处理对温州蜜柑汁中主要微生物菌群(细菌、霉菌、酵母菌、大肠菌群)的灭活效果,探究不同超声参数对超声介质物理效应和化学效用的影响,并综合评价该技术对温州蜜柑汁品质的影响。

第一作者: 硕士研究生(马亚琴博士为通讯作者, E-mail: myaya211@163.com)。

基金项目: 国家现代农业柑橘产业技术体系(CARS-27-05B); 中央高校基本科研业务费专项(XDJK2015B004)

收稿日期: 2016-08-14 改回日期: 2016-09-21

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

细菌测试片、霉菌/酵母菌测试片、大肠菌群测试片 3M 中国有限公司; NaOH(分析纯), 天津市风船试剂有限公司; 福林酚试剂(分析纯), 北京鼎国昌盛生物技术有限公司; 草酸(分析纯), 重庆川东化工试剂厂; 乙醇、 $H_3PO_4$ 、冰乙酸(分析纯), 成都市科龙化工试剂厂; 抗坏血酸(标准品), 国药集团化学试剂有限公司;  $KH_2PO_3$ (色谱级), 阿拉丁试剂(上海)有限公司; 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical 2,2-Diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl)hydrazyl, DPPH)、2,4,6-反式-2-吡啶基三嗪(2,4,6-tri-2-pyridinyl-1,3,5-triazine; TPTZ)、甲醇(色谱级), 西格玛奥德里奇(上海)有限公司。

### 1.2 仪器与设备

DP-800 超声波清洗器, 上海生析超声仪器有限公司; 恒温槽, 宁波天恒仪器厂; 4161 榨汁机, 美国 Brown 公司; Milli-Q Advantage A10 超纯水仪, 美国 Millipore 公司; WAY-2S 阿贝折射仪, 上海精密科学仪器有限公司; FE20 实验室 PH 计, 梅特勒-托利多(上海)有限公司; TU-4901 紫外可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; UniCen MR 高速离心机, 德国 Herolab 公司; Color i5 色差仪, 瑞士 Gretag Macbeth 公司; Ultimate 3000 高效液相色谱, 美国 ThermoFisher 公司; BT224S 电子天平, 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 宽皮柑橘(温州蜜柑)汁制备

选取商业成熟度的温州蜜柑(产自重庆市北碚区歇马镇)为试验原料, 洗净、擦干并切半, 用 Brown 手动榨汁机榨汁, 经 80 目无菌双层纱布过滤后装于无菌真空封装袋, 并用真空封装机密封后待处理。

#### 1.3.2 超声处理

##### 1.3.2.1 超声位点选择

选用实验室规模超声清洗设备, 并与恒温水域槽链接, 以实现在超声处理过程中对介质温度的调控。超声换能器均匀分布于清洗槽底部。超声场能量分布具有不均匀性以及动态变化性, 参照朱攀攀等人<sup>[17]</sup>对超声局部效应的研究, 选取距离超声水域槽底部垂直距离为 6 cm 超声辐射面, 横截面的中心位置, 为样品超声处理位点, 液面高度为 12 cm (见图 1)。

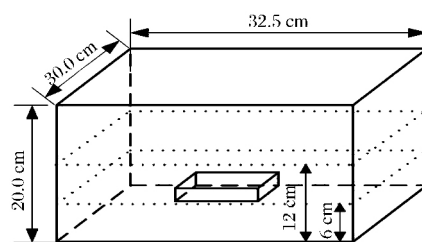


图 1 超声波设备示意图

Fig. 1 Schematic diagram of ultrasonic irradiation at 25 kHz

#### 1.3.2.2 低频超声技术参数试验

超声参数的选定是决定介质化学和物理效应产生与强弱的直接因素, 选取超声时间、超声温度、超声强度、样品处理量为考察参数, 探究低频高能超声波(25 kHz)不同超声参数对杀菌效果的影响及其作用机制, 明确不同微生物菌群对低频超声波的敏感性及其耐受度。(1) 超声温度水平: 10、20、30、40、50 °C; (2) 超声功率水平: 160、320、480、640、800 W; (3) 样品处理量: 50、100、150、250 mL; (4) 超声联合中温效应的杀菌效力探究。每组样品重复处理 3 次。

#### 1.3.3 微生物测定

##### 1.3.3.1 细菌总数测定

用无菌水将超声处理后的温州蜜柑汁样品稀释到适当浓度并混合均匀, 精确吸取 1 mL 稀释液, 垂直滴加于细菌总数测试片中央, 利用压板模具使稀释液均匀覆盖于圆形培养皿面积上, 静置 1 min 使培养基凝固。将测试片置于 35 °C 恒温培养箱中培养 48 h 后计数。精确量取 1 mL 无菌水按以上操作步骤制作空白对照。测定方法参照《3M 细菌总数测试片判读手册》。

##### 1.3.3.2 霉菌/酵母菌测定

用无菌水将超声处理后的温州蜜柑汁样品稀释到适当浓度并混合均匀, 精确吸取 1 mL 稀释液, 垂直滴加在霉菌和酵母菌测试片中央, 利用压板模具使稀释液均匀覆盖于圆形培养皿面积上, 静置 1 min 使培养基凝固。将测试片置于 25 °C 恒温培养箱中培养 5 d 后计数。精确量取 1 mL 无菌水按以上操作步骤制作空白对照。测定方法参照《3M 霉菌和酵母菌测试片判读手册》。

##### 1.3.3.3 大肠菌群测定

用无菌水将超声处理后的温州蜜柑汁样品稀释到适当浓度并混合均匀, 精确吸取 1 mL 稀释液, 垂直滴加在大肠菌群测试片中央, 利用压板模具使稀释液



均匀覆盖于圆形培养皿面积上,静置 1 min 使培养基凝固。将测试片置于 32 ℃ 恒温培养箱中培养 24 h 后计数。精确量取 1 mL 无菌水按以上操作步骤制作空白对照。测定方法参照《3M 大肠菌群测试片判读手册》。

#### 1.3.3.4 杀菌率计算

低频超声处理后细菌、霉菌、酵母菌、大肠菌群的灭活效果用杀菌率(sterilizing rate, SR)表示,方程式如(1)所示。

$$SR/\% = \frac{N_0 - N_R}{N_0} \times 100 \quad (1)$$

式中:  $N_0$  超声处理前样品中目标微生物菌群(细菌、霉菌、酵母菌、大肠菌群)菌落数, CFU/mL;  $N_R$ : 超声处理后样品中目标微生物菌群(细菌、霉菌、酵母菌、大肠菌群)菌落数, CFU/mL。

#### 1.3.4 可滴定酸测定

参照 GB/T8210—2011《柑桔鲜果检验方法》中指示剂法测定<sup>[18]</sup>。精确吸取温州蜜柑汁样品 25 mL,用蒸馏水稀释至 250 mL 摇匀。吸取稀释后果汁 10 mL,置于 150 mL 锥形瓶中,加 1% 酚酞 2~3 滴。用已标定的氢氧化钠标准溶液滴定至微红色,30 s 不褪色为终点。

#### 1.3.5 pH 值测定

使用梅特勒-托利多 FE20 型实验室 pH 计测定。

#### 1.3.6 可溶性固形物测定

依照 GB/T8210—2011《柑桔鲜果检验方法》<sup>[18]</sup>中阿贝折射仪测定法测定,测定结果统一校正到 20 ℃ 条件下的数值。

#### 1.3.7 光学性质指标测定

##### 1.3.7.1 色值测定

使用 Color i5 色差仪测定宽皮柑橘汁  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$  值,各项指标具体含义见参考文献<sup>[19]</sup>。

##### 1.3.7.2 总色差计算

通过  $L^*$ 、 $a^*$ 、 $b^*$  计算得宽皮柑橘汁总色差值( $\Delta E$ )。 $\Delta E$  表示温州蜜柑汁总体色泽差异,值越大,差异程度越大,根据  $\Delta E$  数值大小可分为:基本无差异(0~0.5)、细微差异(0.5~1.5)、易辨别的差异(1.5~3)、显著差异(3.0~6.0)、极显著差异(6.0~12.0)、不同颜色(12.0 以上),用于表示温州蜜柑汁的颜色变化程度及褐变程度<sup>[20]</sup>。其计算公式如下:

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2} \quad (2)$$

##### 1.3.7.3 褐变度( $A_{420}$ )测定

参照 MEYDAV 等人<sup>[21]</sup>的方法并加以改进。准

确量取 4 mL 温州蜜柑汁样品,加入等体积 95% 乙醇,并混合均匀,于 4 ℃ 下以 10 000 r/min 的转速离心 15 min 测定 420 nm 处的吸光度,所得吸光度即为该样品的  $A_{420}$ 。

##### 1.3.7.4 浊度( $A_{660}$ )测定

参照应洁琦<sup>[16]</sup>的方法并加以改进。准确量取 5 mL 温州蜜柑汁样品,于 4 ℃ 下以 8 000 r/min 的转速离心 10 min 测定 660 nm 处的吸光度,所得吸光度即为该样品的  $A_{660}$ 。

#### 1.3.8 抗坏血酸(ascorbic acid; Vc)测定

参照 SHINODA 等人<sup>[22]</sup>的方法并加以改进。采用高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)法测定。检测条件:色谱柱: Waters  $C_{18}$  (250 mm × 4.6 mm, 5  $\mu$ m, 美国 Dionex); 流动相: 0.05 mol/L  $KH_2PO_4$  ( $H_3PO_4$  调 pH 至 3.5); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 245 nm; 柱温: 30 ℃; 进样量: 25  $\mu$ L。

Vc 工作曲线绘制: 精确称取 5 mg Vc 标准品,用 1 g/L 草酸溶液定容至 250 mL 摇匀,配制成 20 mg/L 标准溶液,经 0.22  $\mu$ m 水系滤膜过滤后备用。设定体积为 0、10、20、30、40、60、80、100  $\mu$ L 的梯度进样序列,并在上述液相色谱条件下测定。以峰面积为横坐标,  $V_c$  质量为纵坐标,制作标准曲线,见表 1。

温州蜜柑汁样品测定: 精确量取 1 mL 样品,用 1 g/1 000 mL 草酸溶液稀释至 5 mL。于 4 ℃ 下以 10 000 r/min 的转速离心 10 min,取上清液过 0.22  $\mu$ m 水系滤膜后待测。按上述液相条件测定样品中  $V_c$  含量(以 mg/100 mL 计算)。

表 1  $V_c$  标准曲线和相关系数

Table 1 Equations and correlation coefficients of  $V_c$

$V_c$ 质量/ $\mu$ g	峰面积
0	0
0.2	7.067 1
0.4	14.218 4
0.6	21.344 1
0.8	28.564 1
1.2	42.701 9
1.6	56.823 4
2	70.985 5
回归方程	$y = 0.028 2x - 0.000 9$
$R^2$	1

##### 1.3.9 总酚含量测定

参照 Folin-Ciocalteu 法测定<sup>[23]</sup>并加以改进。将温州蜜柑汁样品于 10 000 r/min 离心 20 min 精确量



取上清液 500  $\mu\text{L}$  于 25 mL 具塞试管,蒸馏水稀释至 10 mL。加入 0.5 mL 2 mol/L Foline-phenol 试剂并充分震荡,静置 5 min 后加入 5 mL 浓度为 5 g/100 mL 的  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液,定容至 25 mL,充分震荡后暗室反应 30 min,在 760 nm 处测定最大吸光值。精确量取 500  $\mu\text{L}$  蒸馏水加入具塞试管,按以上操作步骤制作空白对照。

总酚工作曲线绘制:选取没食子酸为标准品,精确称量 50 mg,用蒸馏水定容至 25 mL,配制成 2 mg/mL 标准溶液,备用。用移液枪准确移取 0、20、40、80、100  $\mu\text{L}$  没食子酸标准溶液于 25 mL 具塞试管,用蒸馏水稀释至 10 mL。加入 0.5 mL 2 mol/L Foline-phenol 试剂并充分震荡,静置 5 min 后加入 5 mL 浓度为 5 g/100 mL 的  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液,定容至 25 mL,充分震荡后暗室反应 30 min,在 760 nm 处测定最大吸光值。以 760 nm 处吸光度为横坐标,没食子酸质量为纵坐标制作标准曲线,得到总酚含量标准曲线:  $y = 328.38x + 1.1158$  ( $R^2 = 0.995$ ),总酚含量以没食子酸当量表示(mg GAE/100 mL)。

### 1.3.10 抗氧化性测定

#### 1.3.10.1 DPPH 自由基清除能力

参照朱攀攀等人<sup>[17]</sup>的测定方法并加以修改。精确称取 39 mg DPPH 标准品,用甲醇定容于 100 mL 容量瓶,配制成 0.1 mmol/L DPPH 工作液,备用。将温州蜜柑汁于 10 000 r/min 离心 20 min,精确量取 50  $\mu\text{L}$  上清液,与 1.95 mL DPPH (0.1 mmol/L) 工作液均匀混合后暗室反应 10 min,在 517 nm 处测定最大吸光值,记为  $A_{\text{样品}}$ 。精确量取 50  $\mu\text{L}$  蒸馏水按以上操作步骤制作空白对照,记为  $A_{\text{空白}}$ 。DPPH 自由基清除能力以下述公式表示:

$$\text{DPPH 自由基清除率} / \% = \frac{A_{\text{空白}} - A_{\text{样品}}}{A_{\text{空白}}} \times 100 \quad (3)$$

#### 1.3.10.2 铁离子还原能力(ferric-reducing antioxidant power, FRAP)

参照朱攀攀等人<sup>[17]</sup>的测定方法并加以修改。将温州蜜柑汁样品于 10 000 r/min 离心 20 min 备用。精确量取 50  $\mu\text{L}$  样品与 2.45 mL FRAP 工作液均匀混合后暗室反应 30 min,在 593 nm 处测定最大吸光值。精确量取 50  $\mu\text{L}$  蒸馏水按以上操作步骤制作空白对照。其中,FRAP 工作液配制方法为:0.1 mol/L 醋酸缓冲液(pH 3.6):10 mmol/L TPTZ(溶于 40 mmol/L HCl):20 mmol/L  $\text{FeCl}_3 = 10:1:1$  (HCl 体积比)。

FRAP 工作曲线绘制:选取 Trolox 为标准品,精确称量 100 mg,用蒸馏水定容至 250 mL,配制成 400 mg/L 标准溶液,备用。用移液枪准确移取 0、25、50、75、100  $\mu\text{L}$  Trolox 标准溶液,并用蒸馏水稀释至 100  $\mu\text{L}$ ,与 4.9 mL FRAP 工作液均匀混合后暗室反应 30 min,在 593 nm 处测定最大吸光值。以 593 nm 处吸光度为横坐标,Trolox 质量为纵坐标制作标准曲线,得到 FRAP 标准工作曲线:  $y = 29.802x - 4.1062$  ( $R^2 = 0.997$ )。抗氧化能力以 Trolox 当量表示(mg TEAC/100 mL)。

### 1.4 数据分析

应用 SPSS 20.0 软件进行数据处理分析,结果以  $(\bar{x} \pm s)$  表示。运用 Duncan 检验进行显著性分析, $P < 0.05$  表示显著差异, $P < 0.01$  表示极显著差异。应用 Origin 8.6 软件和 Excel 2013 进行图表绘制。

## 2 结果与分析

### 2.1 低频超声处理对温州蜜柑汁中微生物灭活效果的影响

#### 2.1.1 超声温度对不同微生物灭活效果的影响

超声温度对霉菌、酵母菌、大肠菌群以及细菌 4 种目标微生物群体的灭活率均具有极显著影响( $P < 0.01$ )。同时霉菌、酵母菌的失活率随超声温度的变化趋势呈现出相似性,见图 2。大肠菌群的灭活率随超声温度的升高而增加,且在同等温度水平下其灭活率均高于霉菌和酵母菌,并在超声温度为 40  $^{\circ}\text{C}$  时,实现全部灭活。霉菌与酵母菌的临界杀菌温度均接近 30  $^{\circ}\text{C}$ ,超声温度为 30  $^{\circ}\text{C}$  时,细菌总数仅下降 4.44%,霉菌与酵母菌的灭活率分别为 14.28%、18.93%,杀菌效果不理想,该结果与 CHENG 研究发现超声在室温条件下杀菌效果微弱具有一致性<sup>[15]</sup>。当超声温度从 30  $^{\circ}\text{C}$  增加至 40  $^{\circ}\text{C}$ ,杀菌效果显著上升,细菌总数下降 66.45%,同时霉菌、酵母菌的灭活率也分别达到 85.71% 和 95.37%,为 30  $^{\circ}\text{C}$  超声温度条件下的 5 倍。3 种菌群对超声温度敏感程度不同,可能由于其不同的细胞结构导致,霉菌与酵母菌细胞壁的主要成分分别为几丁质和葡聚糖,均表现出较好的机械强度。大肠菌群属  $G^-$  细菌,细胞壁结构中缺乏磷壁酸,构成细胞壁的肽聚糖网结构疏松,机械强度差,导致其较低的抗逆性<sup>[24]</sup>。

#### 2.1.2 超声功率对目标微生物灭活效果的影响

超声功率直接决定声场中的能量密度,是影响超声场中物理和化学效应的重要因素,亦是影响杀菌效

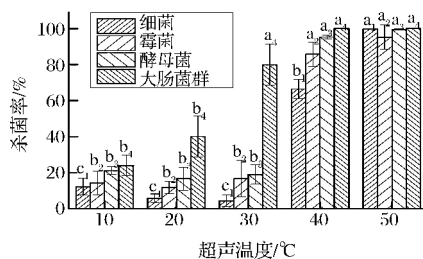


图2 超声温度对温州蜜柑汁杀菌效果的影响

Fig. 2 Effect of ultrasonic temperature on sterilizing rate of mandarin juice at 25 kHz

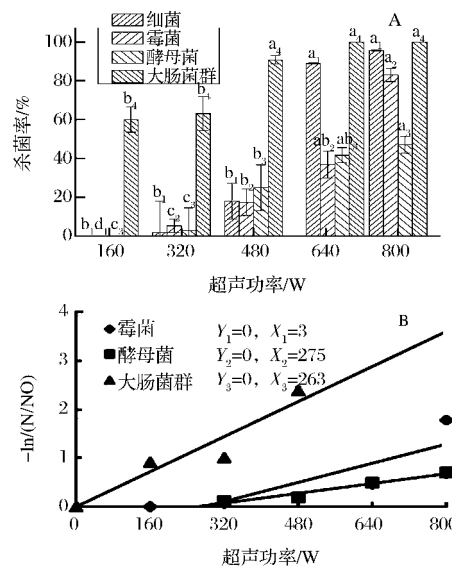
注: 同种菌群标注不同字母表示差异显著, 相同下标数字表示同种菌群 ( $P < 0.05$ )。

果的最重要的因素之一。超声功率对不同目标微生物菌群杀菌率的影响见图 3A。结果表明, 超声功率较低时, 酵母菌比大肠菌群和霉菌耐受力更强。四种目标菌群的灭活率随着超声功率的增大均曾上升趋势, 其中细菌、霉菌、酵母菌在超声功率为 800 W 时达到最高灭活率分别为 95.66%、83.01%、46.94%, 而大肠菌群在超声功率为 640 W 时, 已实现全部灭活, 同时, VALERO 等人<sup>[13]</sup> 研究发现超声环境中, 嗜温需氧菌致死率显著高于霉菌和酵母菌。由于酵母菌细胞壁厚度可达 25 nm, 能更好地抵御超声场中的机械破坏力, 从而需要更高的钝化临界场强,  $G^-$  比  $G^+$  更易受到超声波的影响也已被证实<sup>[11]</sup>。

分别对 3 种目标菌群在不同超声功率下的灭活效果进行拟合, 如图 3B 所示, 可得到 3 种目标菌群的临界灭活功率分别为: 275、263、3 W。霉菌与酵母菌的临界灭活功率相近, 这可能源于二者均属真菌均属, 具有相似的细胞机构与灭活机制。FURUTA 等<sup>[25]</sup> 学者研究强调了超声场中杀菌效力对空穴效应引起的局部压力、温度的骤变以及剪切力与冲击力的依赖性<sup>[26]</sup>; 羟基自由基 ( $\cdot OH$ ) 的产生以及对细胞膜的破坏作用是高频超声具有杀菌效力的主要原因。与霉菌和酵母菌相比, 大肠菌群对化学效应具有较高的耐受力, 而对机械作用相对敏感<sup>[25]</sup>, 其更低的临界功率可能是由于低频超声波的杀菌机理更多依赖于压力交变、局部高温高压等物理力效应而非化学效应, 同时温州蜜柑汁中抗氧化活性成分对超声声场中由  $\cdot OH$  引起的化学效应具有削弱作用, 该现象是凸显物理杀菌作用的另一个原因。

### 2.1.3 样品处理量对目标微生物灭活效果的影响

由图 4 可知, 样品处理量对大肠菌群的杀菌率无影响, 而对霉菌、酵母菌以及细菌总数的灭活率影响



A: 超声功率对杀菌率的影响; B: 超声功率杀菌效果线性拟合

图3 超声功率对温州蜜柑汁杀菌效果的影响

Fig. 3 Effect of ultrasonic power on microbial inactivation of mandarin juice at 25 kHz

注: 同种微生物菌群标注不同字母表示差异显著, 相同下标数字表示同种菌群 ( $P < 0.05$ )。

显著 ( $P < 0.05$ )。3 者的杀菌率随处理量的上升呈下降趋势, 当样品处理量由 50 mL 增长至 250 mL 时, 霉菌、酵母菌以及菌落总数的灭活率分别下降了 17.06%、23.23%、15.25%。超声场的不均匀性以及动态变化性应该是导致该现象产生的主要原因, 栗星等人<sup>[27]</sup> 的研究也得到相似结论。样品量的增加使得橘汁分布于不同强度的场强中, 可能造成杀菌效果不均一现象的产生。

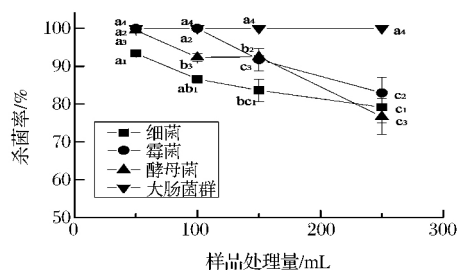


图4 样品处理量对温州蜜柑汁杀菌效果的影响

Fig. 4 Effect of sample volumes on sterilizing rate of mandarin juice at 25 kHz

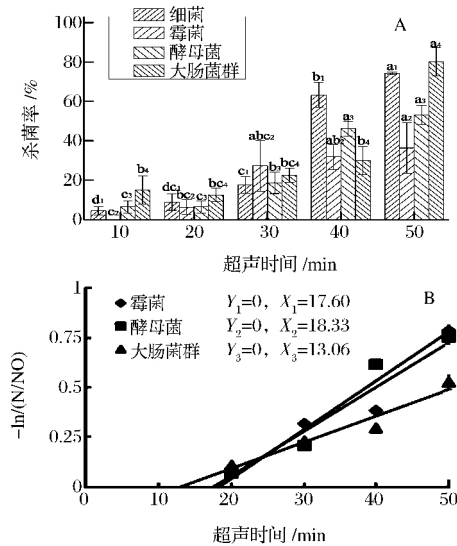
注: 同种微生物菌群标注不同字母表示差异显著, 相同下标数字表示同种菌群 ( $P < 0.05$ )。

## 2.2 超声联合中温技术的杀菌效力探究

图 5、图 6 分别为在 4 °C 与 40 °C 的超声温度条件下, 超声时间对细菌、霉菌、酵母菌、大肠菌群灭活



率的影响。在 4 ℃ 的超声条件下 4 种目标菌群杀菌率在超声初期均呈现出滞后现象,并在处理时间达到 30 min 后,存活率急剧下降,超声处理 50 min 后霉菌、酵母菌、大肠菌群与细菌总数的杀菌率分别达到 54.54%、53.04%、47.50%、42.5%,该结果与王文宗、CHO 等人<sup>[12,28]</sup>的研究结果呈现出相似趋势,但滞后时间相对较长,差异可能是由于杀菌体系不同导致,相较于模拟体系,橘汁成分的复杂性以粘滞阻力的差异,对超声效果产生了一定的消减作用,超声联合中温(40 ℃)技术的杀菌效果如图 6A 所示。结果表明,超声杀菌效力的滞后得以显著改善,超声处理 30 min 后,大肠菌群实现全部灭活,霉菌与酵母菌的杀菌率也分别达到 84.76% 和 96.57%。在此基础上,分别对 4 ℃、40 ℃ 条件下杀菌效力进行拟合(见图 5B、图 6B),以探究中温条件对超声杀菌技术的辅助作用。相较于 4 ℃,3 种微生物菌群在 40 ℃ 的超声条件下,临界杀菌分缩短了 5.8、3.0 和 9.9 min,试验证实中温环境能有效的缓解超声处理的滞后效应,同时,超声杀菌的滞后现象可联合超高压、脉冲电泳等技术得以缓解<sup>[29]</sup>。



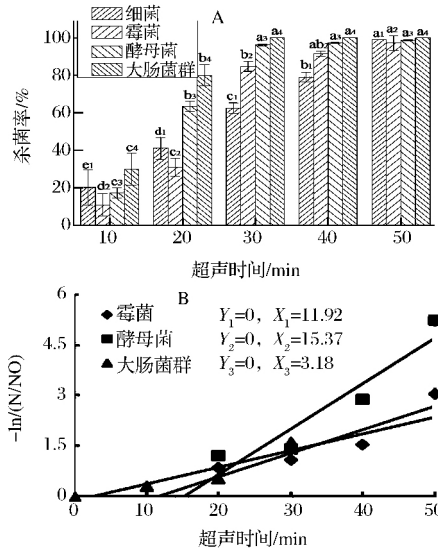
A: 超声时间对杀菌率的影响; B: 超声时间杀菌效果线性拟合  
图 5 4 ℃ 时超声时间对温州蜜柑汁杀菌效果的影响  
Fig. 5 Effect of ultrasonic time on microbial inactivation of mandarin juice at 25 kHz and 4 ℃

注: 同种微生物菌群标注不同字母表示差异显著, 相同下标数字表示同种菌群( $P < 0.05$ )。

## 2.3 低频超声技术对温州蜜柑汁品质的影响

### 2.3.1 杀菌方式对糖酸成分的影响

基于单因素试验结果,选取超声频率 25 kHz,超声



A: 超声时间对杀菌率的影响; B: 超声时间杀菌效果线性拟合  
图 6 40 ℃ 时超声时间对温州蜜柑汁杀菌效果的影响  
Fig. 6 Effect of ultrasonic time on microbial inactivation of mandarin juice at 25 kHz and 40 ℃

注: 同种微生物菌群标注不同字母表示差异显著, 相同下标数字表示同种菌群( $P < 0.05$ )。

温度为 50 ℃, 超声功率为 720 W, 超声时间为 40 min, 样品处理量为 150 mL 的工艺条件处理温州蜜柑汁, 并比较分析低频超声波对橘汁品质的影响。由表 2 可知, 与巴氏杀菌橘汁相比, 超声处理后橘汁中可滴定酸、可溶性固形物、pH 值没有显著差异( $P > 0.05$ ), 表明超声处理技术不会影响橘汁的基本酸甜口感, CHENG 应洁琦等人<sup>[15-16]</sup>的研究与本文的研究结果具有一致性。

表 2 杀菌方式对温州蜜柑汁糖酸含量的影响

Table 2 Effect of different sterilization methods on the yields of sugar and acid in mandarin juice

杀菌方式	pH	可滴定酸/ [g · (100mL) <sup>-1</sup> ]	可溶性固形物/ °Brix
巴氏杀菌橘汁	3.24 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.666 ± 0.004 <sup>a</sup>	8.40 ± 0.00 <sup>a</sup>
超声杀菌橘汁	3.23 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.665 ± 0.013 <sup>a</sup>	8.40 ± 0.00 <sup>a</sup>

注: 同列肩标不同字母表示列间有显著差异( $P < 0.05$ )。

### 2.3.2 杀菌方式对温州蜜柑汁光学性质的影响

色泽是消费者衡量果汁整体品质的重要标准,亦是影响消费者购买欲的最重要的因素之一,同时也是反映果汁新鲜度以及卫生状况的重要指标。色泽取决于果汁中天然色素的种类和含量,同时酶活、微生物活动均对其具有影响,感官评价法是评定果汁色泽最直观的方法,但通常利用仪器设备能更客观的评价果汁的光学性质,常见评价指标有色

值、总色差、褐变度、浊度等。低频超声技术对温州蜜柑汁光学特性的影响见表3。实验结果表明,相较于巴氏杀菌,低频超声波能显著改善橘汁亮度水平,进而提升橘汁的商业价值。与之同时,低频超声技术对橘汁黄色色泽的保留与提升作用更为显著( $P < 0.05$ ),超声波产生的 $\cdot\text{OH}$ 引发呈色物质的氧化还原反应与异构化可能是导致该变化的原因,空穴效应对果汁色泽改变的影响作用已被证实<sup>[30]</sup>。低频超声处理对橘汁悬浮稳定性体现出显著的改善作用,温州蜜柑汁浊度水平显著提升,橘

汁平均粒径的降低是导致该现象产生的重要原因,同时超声处理可达到抑制果胶甲酯酶的活性效果,有效抑制果胶的降解反应,使温州蜜柑汁稳定性得以提升<sup>[31]</sup>。粒径减小引起温州蜜柑汁对光的吸收与折射性能的改变,是引发总色差显著增加的潜在因素,同时超声处理灭活酶和去除溶解氧的作用可抑制酶促褐变的发生,保持橘汁色泽的稳定性,BHAT等<sup>[32]</sup>学者研究表明,超声波技术引发的柠檬汁、橙汁色泽的微小改变不能被肉眼分辨。

表3 杀菌方式对温州蜜柑汁光学性质的影响  
Table 3 Effect of different sterilization methods on the optical properties in mandarin juice

杀菌方式	$\Delta L^*$	$\Delta a^*$	$\Delta b^*$	$\Delta E$	$A_{420}$	$A_{660}$
巴氏杀菌橘汁	$-0.94 \pm 0.36^b$	$-0.16 \pm 0.11^a$	$0.58 \pm 0.24^b$	$1.20 \pm 0.11^a$	$0.08 \pm 0.04^a$	$0.01 \pm 0.01^b$
超声杀菌橘汁	$1.27 \pm 0.05^a$	$0.42 \pm 0.40^a$	$3.37 \pm 0.83^a$	$3.98 \pm 0.81^a$	$0.08 \pm 0.01^a$	$0.38 \pm 0.01^a$

注: 同列肩标不同字母表示列组间有显著差异( $P < 0.05$ )。

2.3.3 杀菌方式对温州蜜柑汁活性成分及抗氧化性的影响

柑橘作物富含 $V_C$ 、酚酸、黄酮、黄酮醇等多种活性成分,被证实具有抗肿瘤、抗衰老、抗病毒、预防心脑血管疾病以及消炎的作用<sup>[33]</sup>,酚类化合物是柑橘中主要抗氧化成分, $V_C$ 也具有潜在抗氧化性<sup>[34]</sup>。低频超声波对橘汁活性成分与抗氧化性的影响如表4所示,低频超声波作为一种非热加工技术,对热敏性营养成分具有更好的保留效果,超声处理橘汁 $V_C$ 含量显著高于巴氏杀菌橘汁。超声波产生的空穴效应具有消除溶解氧的作用,能有效的抑制 $V_C$ 的有氧降

解,降低脱氢抗坏血酸的积累水平,以脱氢抗坏血酸为底物的 $V_C$ 的无氧降解也受到间接抑制<sup>[35]</sup>。低频超声技术具有提升橘汁抗氧化能力的潜力,DPPH自由基清除能力比热杀菌橘汁提高了9.7%,声化学效应产生的 $\cdot\text{OH}$ 在酚类等活性物质的苯环结构上已有羟基基团的临位或者对位添加,对该物质抗氧化能力的增强作用已有报道<sup>[36]</sup>,同时低频超声技术的提取效应引发的细胞内含物流出以及束缚态酚类物质的释放是引起总酚含量显著上升的重要原因<sup>[10]</sup>。抗氧化活性成分含量的提升与活性的增强是橘汁营养价值提升的重要体现。

表4 杀菌方式对温州蜜柑汁营活性成分及抗氧化性的影响  
Table 4 Effect of different sterilization methods on bioactive compounds and antioxidant capacity in mandarin juice

杀菌方式	$V_C / [\text{mg} \cdot (100 \text{ mL})^{-1}]$	总酚含量 / $[\text{mg} \cdot (100 \text{ mL})^{-1}]$	DPPH / %	FRAP / $[\text{mg} \cdot (100 \text{ mL})^{-1}]$
巴氏杀菌橘汁	$25.314 \pm 0.439^b$	$25.837 \pm 0.186^b$	$51.199 \pm 1.342^b$	$17.113 \pm 1.011^a$
超声杀菌橘汁	$26.633 \pm 0.099^a$	$26.723 \pm 0.139^a$	$56.144 \pm 1.271^a$	$18.588 \pm 0.147^a$

注: 同列肩标不同字母表示列组间有显著差异( $P < 0.05$ )。

3 结论

低频超声波基于声化学效应,应用于果汁加工领域产生有效的杀菌效果,超声温度和超声功率均为影响效果的主要因素。不同微生物菌群对低频超声波具有不同的敏感度,在超声温度为40℃超声时间为30 min的处理条件下,霉菌、酵母菌、与大肠菌群的临界灭活功率分别为275、263、3 W,在该超声温度下,3种目标菌群的临界灭活时间分别为11.92、15.37、3.18 min,霉菌和酵母菌在超声处理过程中表

现出相近的耐受程度与变化趋势,而大肠菌群对超声最为敏感。温州蜜柑汁经超声温度50℃,超声功率720 W样品处理量为150 mL,处理40 min后,霉菌、酵母菌、大肠菌群灭活率分别达到99.43%、99.29%、100%、同时总杀菌率为99.65%,符合国标中关于果蔬汁菌落总数安全限量( $< 100 \text{ CFU}/100 \text{ mL}$ )的要求。与传统热杀菌相比,低频超声技术在达到理想杀菌效果的同时,对温州蜜柑汁的综合品质表现出一定的提升作用:悬浮稳定性提升3倍; $V_C$ 保留水平及总酚含量分别提高5.2%、3.3%;抗氧化能力



提升 9.7%; 亮度以及黄色色值显著提升。本研究结果证实了低频超声波技术在宽皮柑橘汁加工领域具有适用性及可行性, 可以实现商业杀菌要求以及提升活性成分与营养成分保留率的需求。但处理时间较长是超声技术在实际生产应用中的技术瓶颈, 超声与中温技术及其他非热技术联合运用可能有助于提高杀菌效果, 解决该技术问题, 也为超声技术产业化应用于果汁杀菌领域提供了研究思路。在此研究基础上, 对不同种类微生物失活机制的系统研究也是非常必要和迫切。同时, 探索超声与其他杀菌技术如高压脉冲、超高压、紫外辐照等联合杀菌的效果及对果汁品质和贮藏特性的影响, 通过考察关键技术参数, 建立完善可靠的品质预测模型对指导果蔬汁加工具有实际的指导意义。

## 参 考 文 献

- [1] CHRIS F, TONG W. China-People Rrepublic of Citrus Annual [R]. America: USDA, 2015.
- [2] 沈兆敏. 我国柑橘业在世界柑橘业中的优势和差距 [J]. 果农之友, 2015(7): 3-5.
- [3] 叶兴乾, 徐贵华, 方忠祥, 等. 柑橘属类黄酮及其生理活性 [J]. 中国食品学报, 2008, 8(5): 1-7.
- [4] 李申, 马亚琴, 韩智, 等. 氨基酸在柑橘汁非酶褐变过程中的影响和作用 [J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(11): 249-255.
- [5] 焦宇知. 冷杀菌技术在果汁饮料生产中的应用研究 [J]. 食品科技, 2006, 31(9): 8-11.
- [6] BHARATE S S, BHARATE S B. Non-enzymatic browning in citrus juice: chemical markers, their detection and ways to improve product quality [J]. J Food Sci Technol, 2014, 51(10): 2 271-2 288.
- [7] PIYASENA P, MOHAREB E, MCKELLAR R C. Inactivation of microbes using ultrasound: a review [J]. Int J Food Microbiol, 2003, 87(3): 207-216.
- [8] MASON T J, LORIMER J P. Theory, Applications and Uses of Ultrasound in Chemistry [M]. England: Ellis Horwood Limited, 1989: 252.
- [9] ZENKER M, HEINZ V, KNORR D. Application of ultrasound-assisted thermal processing for preservation and quality retention of liquid foods [J]. Journal of Food Protection, 2003, 66(9): 2-9.
- [10] FERRARIO M, ALZAMORA S M, GUERRERO S. Study of the inactivation of spoilage microorganisms in apple juice by pulsed light and ultrasound [J]. Food Microbiology, 2015, 46(6): 35-42.
- [11] VILLAMIEL M, JONG P D. Inactivation of *Pseudomonas fluorescens* and *Streptococcus thermophilus* in Trypticase® Soy Broth and total bacteria in milk by continuous-flow ultrasonic treatment and conventional heating [J]. Journal of Food Engineering, 2000, 45(3): 171-179.
- [12] 王文宗. 超声—低热联合处理对胡萝卜汁的杀菌效果及超声对其主要酶影响的机理研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2011.
- [13] VALERO M, RECOSIO N, SAURA D, et al. Effects of ultrasonic treatments in orange juice processing [J]. Journal of Food Engineering, 2007, 80(2): 509-516.
- [14] PATIL S, BOURKE P, KELLY B, et al. The effects of acid adaptation on *Escherichia coli*, inactivation using power ultrasound [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2009, 10(4): 486-490.
- [15] CHENG L H, SOH C Y, LIEW S C, et al. Effects of sonication and carbonation on guava juice quality [J]. Food Chemistry, 2007, 104(4): 1 396-1 401.
- [16] 应洁琦. 超声处理对鲜榨橙汁品质影响的研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
- [17] 朱攀攀, 马亚琴, 龚华亭, 等. 超声局部效应对咖啡酸稳定性及抗氧化性的影响 [J]. 食品科学, 2015, 36(23): 12-17.
- [18] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T 8210-2011 柑桔鲜果检验方法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2011.
- [19] ZULUETA A, BARBA F J, ESTEVE M J, et al. Changes in quality and nutritional parameters during refrigerated storage of an orange juice-milk beverage treated by equivalent thermal and non-thermal processes for mild pasteurization [J]. Food and Bioprocess Technology, 2013, 6(8): 2 018-2 030.
- [20] PATHARE P B, OPARA U L, AL-SAID F A. Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: A review [J]. Food and Bioprocess Technology, 2013, 6(1): 36-60.
- [21] MEYDAY S, SAGUY I, KOPELMAN I J. Browning determination in citrus products [J]. Immunology Letters, 2008, 120(s 1-2): 108-116.
- [22] SHINODA Y, MURATA M, HOMMA S, et al. Browning and decomposed products of model orange Juice [J]. Bio-science Biotechnology & Biochemistry, 2004, 68(3): 529-536.
- [23] CAI Y, LUO Q, SUN M, et al. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer [J]. Life Sciences, 2004, 74(17): 2 157-2 184.
- [24] GOULD G W. New processing technologies: an overview

- [J]. Proceedings of the Nutrition Society ,2001 ,60( 4) : 463 – 474.
- [25] FURUTA M ,YAMAGUCHI M ,TSUKAMOTO T ,et al. Inactivation of *Escherichia coli* by ultrasonic irradiation [J]. Ultrasonics Sonochemistry ,2004 ,11( 2) : 57 – 60.
- [26] KODA S ,MIYAMOTO M ,TOMA M ,et al. Inactivation of *Escherichia coli* and *Streptococcus mutans* by ultrasound at 500 kHz [J]. Ultrasonics Sonochemistry ,2009 ,16( 5) : 655 – 659.
- [27] 栗星 ,包海蓉. 超声波对橙汁的杀菌特性研究 [J]. 食品科学 ,2008 ,29( 8) : 346 – 350.
- [28] CHO M ,CHUNG H ,CHOI W ,et al. Linear correlation between inactivation of *E. coli* and OH radical concentration in TiO<sub>2</sub> photocatalytic disinfection [J]. Water Res ,2004 ,38( 4) : 1 069 – 1 077.
- [29] SALLEH M S Z ,ROBERTS J S. Ultrasound pasteurization: The effects of temperature , soluble solids , organic acids and pH on the inactivation of *Escherichia coli* ATCC 25922 [J]. Ultrasonics Sonochemistry ,2007 ,14( 3) : 323 – 329.
- [30] TIWARI B K ,MUTHUKUMARAPPAN K ,ODONNELL C P ,et al. Colour degradation and quality parameters of sonicated orange juice using response surface methodology [J]. LWT-Food Science and Technology ,2008 ,41( 10) : 1 876 – 1 883.
- [31] TIWARI B K ,MUTHUKUMARAPPAN K ,ODONNELL C P ,et al. Inactivation kinetics of pectin methylesterase and cloud retention in sonicated orange juice [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies ,2009 ,10( 2) : 166 – 171.
- [32] BHAT R ,KAMARUDDIN N S B C ,LONG M T ,et al. Sonication improves kasturi lime( *Citrus microcarpa*) juice quality [J]. Ultrasonics Sonochemistry ,2011 ,18( 6) : 1 295 – 1 300.
- [33] XU G ,LIU D ,CHEN J ,et al. Juice components and antioxidant capacity of citrus varieties cultivated in China [J]. Food Chemistry ,2008 ,106( 2) : 545 – 551.
- [34] MARFÍN F R ,MARTINEZ M ,URIBESALGO T ,et al. Changes in nutraceutical composition of lemon juices according to different industrial extraction systems [J]. Food Chemistry ,2002 ,78( 3) : 319 – 324.
- [35] REMINI H ,MERTZ C ,BELBAHI A ,et al. Degradation kinetic modelling of ascorbic acid and colour intensity in pasteurised blood orange juice during storage [J]. Food Chem ,2015 ,173( 15) : 665 – 673.
- [36] ASHOKKUMAR M ,SUNARTIO D ,KENTISH S ,et al. Modification of food ingredients by ultrasound to improve functionality: A preliminary study on a model system [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies ,2008 ,9( 2) : 155 – 160.

## Effect of ultrasound treatment on microbial inactivation and mandarin ( *Citrus unshiu*) juice quality at 25 kHz based on sonochemistry

LI Shen ,MA Ya-qin<sup>\*</sup> ,LI Nan-nan ,ZHANG Zhen

( Citrus Research Institute , Southwest University , National Citrus Engineering Research Center , Chongqing 400712 , China)

**ABSTRACT** The effect of ultrasound with 25 kHz frequency on inactivation of characteristic microorganism ( germs , mold , yeast , coliform) and quality of mandarin ( *Citrus unshiu*) juice was systematically studied. The results showed that ultrasonic time , ultrasonic temperature and ultrasonic power had highly significant effects (  $P < 0.01$ ) on microbial inactivation in mandarin juice based on single-factor experiment. The optimum ultrasonic sterilization condition was treatment with 720 W of ultrasonic power at 50 °C for 40 min. The effects of pasteurization and ultrasound on the quality of mandarin juice were comparatively analyzed. The yields of sugar and acids in juice treated by ultrasound showed non-significant changes (  $P > 0.05$ ) . The yields of ascorbic acid and total phenolics , as well as antioxidant capacity in mandarin juice were higher (  $P < 0.05$ ) after ultrasonic treatment compared with pasteurization. The results exhibited that low frequent ultrasound had a potential effect on the improvements of qualities of mandarin juice.

**Key words** *Citrus unshiu*; low frequency ultrasound; microbial inactivation; quality