

超高压处理对法兰克福香肠中主要微生物的影响及其变化规律

高 杨, 周国兴, 王 洋, 郑海涛, 李平兰*
(中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘 要: 为探讨超高压处理对真空包装法兰克福香肠微生物货架期的影响, 在 $(20 \pm 5)^\circ\text{C}$ 对真空包装法兰克福香肠进行 200MPa(5min 与 10min)、400MPa(5min 与 10min)和 600MPa(5min 与 10min)的超高压处理。样品处理后于 4°C 保藏 60d, 每隔 10d 取样分析, 直至样品微生物数量达到峰值并趋于稳定为止。与空白对照组(不进行二次灭菌的法兰克福香肠)相比, 超高压处理能显著降低法兰克福香肠初始微生物数量, 并对保藏过程中的腐败微生物: 嗜冷菌、乳酸菌和大肠菌群的生长有显著抑制作用, 抑制程度与压力(200~600MPa)和处理时间(5~10min)具有正相关性。效果最佳的 600MPa 处理 10min 能够将法兰克福香肠 4°C 贮藏货架期从 9d 延长至 60d 以上。

关键词: 超高压; 真空包装; 法兰克福香肠; 腐败微生物; 货架期

Effect of Ultra-high Pressure on Microbial Population and Shelf Life of Vacuum-packaged Frankfurters during 4°C Storage

GAO Yang, ZHOU Guo-xing, WANG Yang, ZHENG Hai-tao, LI Ping-lan*
(College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: Vacuum-packaged frankfurters were subjected to ultra-high pressure treatments at $(20 \pm 5)^\circ\text{C}$ and different pressure levels: 200, 400 MPa and 600 MPa for 5 or 10 min before storage at 4°C for 60 days with the aim of investigating the effect of ultra-high pressure on the microbial population and shelf life of vacuum-packaged frankfurters. Compared with control samples without receiving any sterilization treatment, ultra-high pressure treatment could dramatically reduce initial microbial count in frankfurters, and inhibit the growth of dominant spoilage bacteria including total bacteria, lactic acid bacteria, psychrophiles, enterobacteriaceae and bacillaceae, which was positively related to pressure and length of treatment time. Ultra-high pressure treatment at 600 MPa for 10 min could prolong the shelf-life of vacuum-packaged frankfurters from 9 to over 60 days during 4°C storage.

Key words: ultra-high pressure treatment; vacuum-packaged; frankfurters; spoilage microorganism; shelf-life

中图分类号: Q939.99

文献标识码: A

文章编号: 1001-8123(2011)06-0001-04

法兰克福香肠是一类低温肉制品, 风味独特、营养丰富, 深受消费者喜爱。由于加工过程热处理水平低, 且在包装过程易造成二次污染^[1], 法兰克福香肠的货架期很短, 即使在添加防腐剂、真空包装且冷链保藏的条件下, 货架期也只有 20d 左右^[2], 真空包装冷藏法兰克福香肠的主要腐败菌是乳酸菌、嗜冷菌、大肠菌群和芽孢杆菌^[3]。

超高压杀菌是一种新型非热杀菌技术, 应用于肉制品(切片火腿、法兰克福香肠、牛脊骨肉等), 生产可以抑制微生物的生长, 显著延长货架期并不破坏其营养及感官品质^[4]。但是超高压处理的产品中仍然存在未致死的微生物, 它们在保藏过程中会复活、生长从而造成腐败^[5]。为有效控制超高压处理产品的安全性, 预测其货架期, 引入微生物预测模型则是一种较好的方法。

收稿日期: 2011-06-06

基金项目: 农业部公益性行业(农业)科研专项(200903012); 国家大学生创新性实验计划项目(2010101001926); 国家“863”计划项目(2011AA100805)

作者简介: 高杨(1990—), 男, 本科生, 研究方向为食品微生物。E-mail: gaoyangcau9@163.com

*通信作者: 李平兰(1964—), 女, 教授, 博士, 研究方向为食品微生物。E-mail: lipinglan420@126.com

然而目前还没有成功应用于超高压处理真空包装法兰克福香肠的预测模型。

本实验研究200MPa(5min与10min)、400MPa(5min与10min)和600MPa(5min与10min)超高压处理的真空包装法兰克福香肠4℃的货架期,并用改良的Gompertz模型分析不同超高压处理条件下法兰克福香肠主要腐败微生物的生长动力学参数,探讨超高压作为二次杀菌工艺的可行性,同时为该产品货架期的预测提供参考。

1 材料与方 法

1.1 法兰克福香肠原料

法兰克福香肠配料(kg):瘦肉38.5、肥肉16.5、纯净水35、淀粉6、鸡蛋0.5、食盐1.8、香辛料0.2、亚硝酸盐0.006。

法兰克福香肠的加工在北京市第五肉联厂实施,制作流程为:

原料修整→预腌→绞肉→斩拌→灌肠(肠衣直径为 (22 ± 1) mm)→烟熏与烘烤(肠中心温度 $70 \sim 80^\circ\text{C}$,时间为2h)→冷却→成品→真空包装

每根香肠质量为 (30 ± 5) g,每5根一个包装。包装袋为聚酰胺-聚乙烯(PA、PE质量比为20:100), 20°C 时的透氧率为 $24\text{cm}^3/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ 。

1.2 超高压处理

样品低温(0°C)避光运送至实验室,约3h后进行超高压处理。超高压处理采用中国农业大学国家果蔬加工工程中心的超高压装置,分别为:200、400MPa和600MPa;处理时间分别为5min与10min,处理温度 $(20 \pm 5)^\circ\text{C}$ 。以不进行二次灭菌的法兰克福香肠作为空白对照组。

1.3 样品贮藏

处理后的样品于 $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$ 避光保藏60d,以超高压处理后为保藏的第0天,每隔10d取样一次,当样品腐败且菌落总数不再随保藏时间延长而增长时停止取样。每个处理设置2次重复,3个平行,结果取平均值。

1.4 菌相变化测定

法兰克福香肠经击碎、混匀(原包装袋内完成),无菌称取25g于225mL预置灭菌玻璃珠的0.85%生理盐水中,低温($0 \sim 4^\circ\text{C}$)280r/min振摇5min,使样品中微生物充分散出。然后用0.85%生理盐水进行10倍系列稀释,选择3个适宜稀释度进行计数。各微生物计数方法如下:

1)菌落总数:参照GB 4789.2—2008《食品卫生 微生物学检验菌落总数测定》^[6]; 2)乳酸菌:参照GB4789.35—2008《食品卫生 微生物学检验食品中乳酸菌检验》^[7]; 3)大肠菌群:参照GB 4789.3—2008《食品卫生 微生物学检验大肠菌群计数》第二法,大肠菌群平板计数^[8]; 4)嗜冷菌:参照NY/T 1331—2007《乳与乳制品中嗜冷

菌、需氧芽孢及嗜热需氧芽孢数的测定》嗜冷菌的测定方法^[9]; 5)芽孢杆菌:样品经 85°C 、10min加热处理,采用LB琼脂培养基,平板倾注法计数^[10]。

1.5 数据分析

将实验所得的菌落总数、乳酸菌及嗜冷菌的生长情况用修正的Gompertz模型^[11]表示。

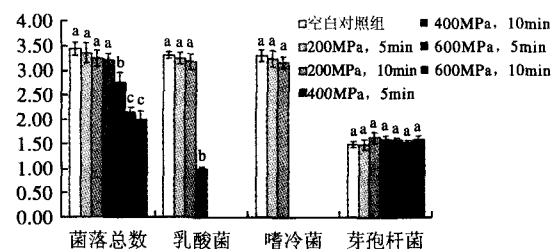
$$\lg(N(t)) = \lg(N_{\max}) - A \times \exp\{-\exp[\{\mu_{\max} \times 2.7182 \times (\lambda - t)/A\} + 1]\} + A \times \exp\{-\exp[\{\mu_{\max} \times 2.7182 \times (\lambda - t)/A\} + 1]\}$$

式中: t 为样品的保藏时间/d; $N(t)$ 为在实际测定过程中,保藏时间为 t 时的活菌数; N_{\max} 为整个保藏过程中最高的活菌数; A 为从保藏时间 $t=0$ 开始到微生物数量达到最大值 N_{\max} 的时间; μ_{\max} 为微生物的最大生长速率; SL 为达到最高活菌数时的货架期; λ 为微生物生长的延滞期。

实验数据以平均值±标准差表示。数据统计采用SPSS12进行单因素方差分析及Duncan's多重检验($\alpha=0.05$)。

2 结果与分析

2.1 超高压处理对法兰克福香肠初始微生物数量的抑制



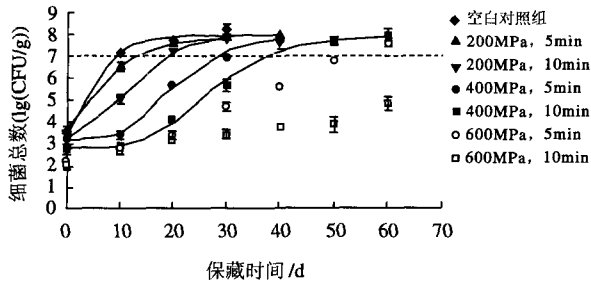
同组间字母不同表示差异显著($\alpha=0.05$)。

图1 超高压处理对法兰克福香肠初始微生物的降低作用
Fig.1 Reducing effect of ultra-high pressure treatment on initial microbial count in frankfurter

法兰克福香肠空白对照组样品初始菌落总数为 $(3.44 \pm 0.13) \lg(\text{CFU}/\text{g})$,且未检出大肠菌群。GB2726—2005《熟肉制品卫生标准》及GB/T 20711—2006《熏煮火腿》规定,产品出厂时微生物菌落总数应低于 $10^4 \text{CFU}/\text{g}$,该产品达到卫生要求。乳酸菌和嗜冷菌是法兰克福香肠初始菌相的主要组成部分。如图1所示,与空白对照组相比,超高压处理对菌落总数、乳酸菌、嗜冷菌有显著抑制,而对芽孢杆菌无显著影响。超高压处理对微生物的抑制强度与压力水平和处理时间有关,200MPa(5min与10min)处理对菌落总数,乳酸菌和嗜冷菌没有显著抑制作用。400MPa(5min与10min)处理,对菌落总数和乳酸菌有显著抑制,并使嗜冷菌数量降低到低于检测限值($< 1 \lg(\text{CFU}/\text{g})$)。600MPa(5min与10min)处理有较强的抑制效果,使乳酸菌、嗜冷菌数量降低到检测限值以下。另外除了400MPa处理10min对乳酸菌的抑制

效果显著高于 400MPa 处理 5min, 在处理压力相同的条件下, 处理时间 5min 和 10min 对初始微生物的降低作用没有显著性差异。

2.2 超高压处理对法兰克福香肠 4℃ 保藏过程菌相变化的影响



虚线表示法兰克福香肠的微生物货架期标准(菌落总数 10^7 CFU/g)。下同。

图2 法兰克福香肠 4℃ 保藏期间菌落总数的变化

Fig.2 Growth curves of total bacteria count in frankfurter stored at 4℃

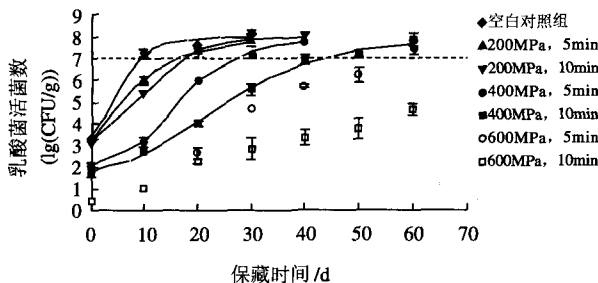


图3 法兰克福香肠 4℃ 保藏期间乳酸菌的变化

Fig.3 Growth curves of lactic acid bacteria in frankfurter stored at 4℃

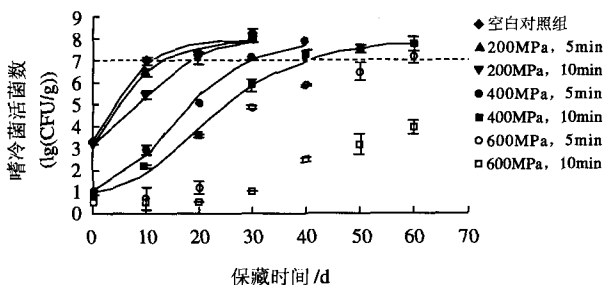


图4 法兰克福香肠 4℃ 保藏期间嗜冷菌的变化

Fig.4 Growth curves of psychrophiles in frankfurter stored at 4℃

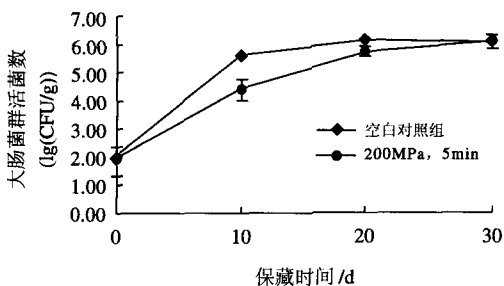


图5 法兰克福香肠 4℃ 保藏期间大肠菌群的变化

Fig.5 Growth curves of enterobacteriaceae in frankfurter stored at 4℃

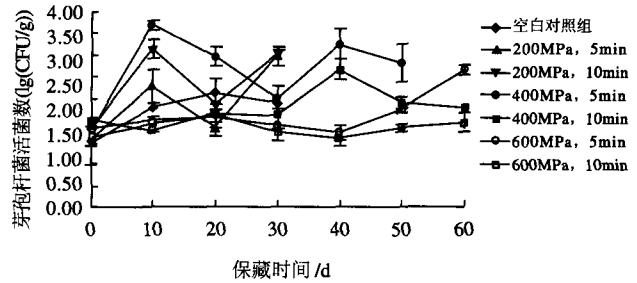


图6 法兰克福香肠 4℃ 保藏期间芽孢杆菌的变化

Fig.6 Growth curves of bacillaceae in frankfurter stored at 4℃

真空包装法兰克福香肠空白对照样品在 4℃ 保藏过程中, 菌落总数、乳酸菌、嗜冷菌和大肠菌群数量迅速上升(图 2~5), 芽孢菌略有增长, 但始终处于较低水平(< 4.5 lg(CFU/g))(图 6)。乳酸菌和嗜冷菌构成了微生物总数的绝大部分, 是真空包装法兰克福香肠 4℃ 储藏时的主要腐败菌, 它们可能来自于肉品切割和包装过程中的交叉污染^[12]。超高压处理后的真空包装法兰克福香肠的菌落总数、乳酸菌和嗜冷菌, 经过一段延滞期后迅速上升, 最终数量达到与空白对照组相近的极值; 芽孢杆菌在(2~4) lg(CFU/g)的低数量级波动(图 6); 大肠杆菌群始终低于检测限(除 200MPa 处理 5min 组)(图 5), 超高压处理影响了真空包装法兰克福香肠贮藏期间的菌相构成, 但没有改变其主要腐败菌。

超高压处理对样品主要腐败微生物的生长有显著抑制作用。图 2~4 分别显示了超高压处理法兰克福香肠在 4℃ 贮藏期间菌落总数、乳酸菌和耐冷菌的动态变化, 同时以改良的 Gompertz 模型对其生长规律进行拟合。与空白对照组相比, 超高压处理样品主要腐败微生物的生长有显著的延滞, 且生长速率降低。以菌落总数 10^7 CFU/g 作为法兰克福香肠的腐败货架期标准^[13], 超高压处理后的法兰克福香肠货架期明显延长。表 1 显示了法兰克福香肠中菌落总数生长的动力学参数, 超高压处理延长了生长延滞期(λ), 降低了最大生长速率(μ_{max}), 延长了货架期。压力越高, 时间越长, 影响越大。200MPa 处理 5min 未能延长法兰克福香肠的货架期, 与空白对照组同为 9d。200MPa 处理 10min 可延长货架期至 16d, 400MPa 处理 5min 与 10min 可分别延长货架期至 25d 和 37d。600MPa 处理 5min 与 10min 可延长货架期至 60d 以上。

相同压力处理条件下, 不同微生物对压力的耐受程度不同。大肠菌群对压力处理极为敏感, 200MPa 处理 10min 及更高压力处理能够将其全部抑制(图 5)。200MPa 处理 5min 使大肠菌群的生长速率降低, 但未能完全抑制其生长。芽孢杆菌在整个保藏过程中在较低数量级波动, 200~600MPa 的压力处理对芽孢杆菌没有抑制作用(图 6)。

表1 法兰克福香肠4℃保藏过程菌落总数生长动力学参数(μ 和 λ)及货架期(改良 Gompertz 模型)

Table 1 Kinetic growth parameters (μ and λ) of total bacteria count (fitted with modified Gompertz model) in ultra-high pressure-treated and untreated frankfurters and their shelf-lives during 4 °C storage

组别	响应值		
	SL/d	μ_{max}/d	λ/d
空白对照组	9	7.84	-26
200MPa	处理 5min	9	4.31
	处理 10min	16	0.27
400MPa	处理 5min	25	0.23
	处理 10min	37	0.21

注: SL. 菌落总数达到 10^7 CFU/g的时间。

3 结论与讨论

本实验结果表明超高压处理压力水平的提高或(和)处理时间的延长增强了对法兰克福香肠的主要腐败菌的杀灭和抑制效果。Carpi 等^[14]对法兰克福香肠进行 600MPa 处理 5min 后进行 4℃ 保藏, 其货架期可延长至 75d, 而 Lopez-Caballero 等^[15]对相同材料进行较低压力(400MPa 处理 20min)处理货架期只有 21d。肖志华等^[16]利用 600MPa 的高压对生鲜猪肉分别处理 5、10、15、20min, 样品中菌落总数的降低程度与处理时间(5~20min)成正相关。这说明在一定范围内超高压处理强度是压力水平和处理时间的函数, 而压力水平是抑制效果的最主要影响因素。

在本实验检测的菌落总数、乳酸菌、嗜冷菌、大肠菌群和芽孢杆菌表现出对压力处理耐受性的差异, 较低压力处理条件即可将大肠菌群全部抑制, 嗜冷菌对压力有一定耐受能力, 但比菌落总数、乳酸菌更敏感, 而芽孢杆菌则对 200~600MPa 的压力不敏感。可见超高压处理效果受微生物种类的影响。Anna 等^[17]也发现 600MPa 处理对切片火腿、发酵香肠中大肠杆菌有显著致死效果。嗜冷菌对压力处理也较为敏感, Garriga 等^[12]用 600MPa 处理 6min 真空包装的卤汁牛肉, 可使其中嗜冷菌降低 4 个对数级。韩衍青等^[18]利用超高压处理烟熏切片火腿也发现, 超高压对嗜冷菌有很强的抑制效应。而乳酸菌则对压力具有一定抗性。

超高压处理对微生物有致伤作用, 受伤的微生物在后续保藏过程中表现出复活的现象, 仍会生长, 导致腐败^[17]。微生物的复活能力与肉制品种类及内源微生物种类密切相关^[5]。本实验中 200MPa 处理 5min 对初始微生物有一定的降低, 但是在保藏后期表现出与空白对照组相同的菌相构成与变化趋势。200MPa 处理 5min 可能对主要腐败菌的致伤作用有限, 使其在良好的环境中(熏煮香肠及火腿中水分活度高, 营养物质丰富, 特别适宜乳酸菌的生长)很快修复。这进一步验证了超高压处

理对微生物的致伤作用。同时在相同压力处理条件下, 能够检测到的主要腐败微生物的数量有相同水平的降落, 但在保藏后期却体现出不同的生长趋势, 且处理 10min 对微生物延滞期的延长及生长速率的降低作用更强, 说明处理 10min 较处理 5min 对微生物有更强的致伤作用。压力的变化对微生物生长延滞期和生长速率有显著影响, Slongo 等^[19]发现压力从 200MPa 提高到 400MPa, 可使延滞期增加 30% 左右。本实验中, 压力的升高(200~600MPa), 使微生物生长延滞期延长, 生长速率降低, 可能是压力的增加增强了对微生物的致伤作用。

参考文献:

- [1] YUSTE J, PLA R, CAPELLAS M, et al. High pressure processing applied to cooked sausages: bacterial populations during chilled storage [J]. *Journal of Food Protection*, 2000, 63: 1093-1099.
- [2] 高晓光, 张坤生, 王经纬, 等. 复合型天然防腐剂在乳化型香肠中的作用研究[J]. *中国食品学报*, 2009, 9(6): 133-137.
- [3] RUIZ-CAPILLAS C, CARBALLO A, JIMENEZ-COLMENERO F. Consequences of high-pressure processing of vacuum-packaged frankfurters on the formation of polyamines: effect of chilled storage[J]. *Food Chemistry*, 2007, 104: 202-208.
- [4] GARRIGA M, AYMERICH M T, COSTA S, et al. Bactericidal synergism through bacteriocins and high pressure in a meat model system during storage[J]. *Food Microbiology*, 2002, 19: 509-518.
- [5] HENDRICKX M, KNORR D, LUDIKHUYZE L, et al. *Ultra high pressure treatments of foods*[M]. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2001.
- [6] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. GB 4789.2—2008 食品卫生微生物学检验菌落总数测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- [7] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. GB 4789.35—2008 食品卫生微生物学检验食品中乳酸菌检验[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- [8] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. GB 4789.3—2008 食品卫生微生物学检验大肠菌群计数[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- [9] 中华人民共和国农业部. NY 1331—2007 乳与乳制品中嗜冷菌、需氧芽孢及嗜热需氧芽孢数的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
- [10] CASTILLO L A, MESZAROS L, KISS I F. Effect of high hydrostatic pressure and nisin on microorganisms in minced meats[J]. *Acta Alimentaria*, 2004, 33(2): 183-190.
- [11] CORBO M R, ALESSANDRO M, SINIGAGLIA M. A novel approach for calculating shelf life of minimally processed vegetables[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2006, 106: 69-73.
- [12] GARRIGA M, GREBOL N, AYMERICH M T, et al. Microbial inactivation after high-pressure processing at 600 MPa in commercial meat products over its shelf life[J]. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2004, 5(4): 451-457.
- [13] HELY A, CLOETE T E, HOLZAPFEL W H. Quantification and characterization of microbial populations associated with spoiled, vacuum-packed Vienna sausages[J]. *Food Microbiology*, 1991, 8(2): 95-104.
- [14] CARPI G, SQUARCINA N, GOLA S, et al. Application of high pressure treatment to prolong the refrigerated shelf-life of sliced cooked ham [J]. *Industria Conserve*, 1999, 74: 327-339.
- [15] LOPEZ-CABALLERO M E, CARBALLO J, JIMENEZ-COLMENERO F. Microbiological changes in pressurized, prepackaged sliced cooked ham[J]. *Journal of Food Protection*, 1999, 62(12): 1411-1415.
- [16] 肖华志, 吕洪波, 贾恺, 等. 超高压处理对芥菜制品与生鲜猪肉杀菌效果的研究[J]. *食品与机械*, 2007, 23(1): 36-37.
- [17] ANNA J, TERESA A, NARCIS G, et al. Efficiency of high hydrostatic pressure at 600 MPa against food-borne microorganisms by challenge tests on convenience meat products[J]. *Food Science and Technology*, 2009, 42: 924-928.
- [18] 韩衍青, 张秋勤, 徐幸莲, 等. 超高压处理对烟熏法兰克福香肠保质期的影响[J]. *农业工程学报*, 2009, 25(8): 305-311.
- [19] SLONGO A P, ROSENTHAL A, CAMARGO L M, et al. Modeling the growth of lactic acid bacteria in sliced ham processed by high hydrostatic pressure[J]. *Food Science and Technology*, 2009, 42: 303-306.