

# 高压脉冲电场对绿茶饮料杀菌的研究

王 茉<sup>1</sup> 杨瑞金<sup>2</sup>

1(江南大学食品科学与安全教育部重点实验室,无锡,214036) 2(江南大学食品学院,无锡,214036)

**摘 要** 研究了高压脉冲电场对中性的绿茶饮料的杀菌效果,结果表明,当电场强度达到 40 kV/cm,处理时间达到 120  $\mu$ s 时,绿茶饮料中接种的大肠杆菌数量可降低 5 个对数级以上。此条件下生产的绿茶饮料样品,其茶多酚含量及色泽都无明显变化。

**关键词** 高压脉冲电场,绿茶饮料,茶多酚

绿茶是一种不发酵茶,医学上对绿茶中茶多酚、茶多精和  $\gamma$ -氨基丁酸等成分的研究表明,绿茶较之红茶和乌龙茶等具有更为特殊的保健作用<sup>[1]</sup>。但是罐装绿茶水却远不如罐装红茶、乌龙茶饮料发展迅速,其主要原因在于在加工及贮藏过程中,罐装绿茶水的色、香、味品质劣变较大,特别是高温灭菌后,绿茶饮料的褐变、风味丧失及冷后浑浊等问题尤为严重,影响了绿茶饮料的发展<sup>[1~3]</sup>。

高压脉冲电场(pulsed electrical fields,以下简称 PEF)技术是一种新兴的非热杀菌技术,已成为国际食品科技界最为活跃的研究领域之一。它不仅具有良好的杀菌效果,而且能较好地保留食品的营养成分、色泽、风味和质构<sup>[4~6]</sup>,几乎可以适合所有的可以流动的食品等物料的杀菌。目前 PEF 杀菌的“膜穿孔”理论已为研究人员广泛接受,即经 PEF 处理后,微生物的细胞膜通透性增大,强度降低,膜被破坏后,膜内物质外流,膜外物质渗入,从而导致菌体死亡<sup>[7]</sup>。

目前研究者在模拟体系和在苹果汁<sup>[8]</sup>、番茄汁<sup>[6]</sup>、橙汁<sup>[5,9]</sup>、牛乳<sup>[12]</sup>、蛋清液<sup>[12]</sup>等实际食品体系中,研究了 PEF 对各种致病菌和非致病菌的杀灭效果及其对食品风味等的影响。研究结果显示,物料的电导率和粘度越低,密度越高,杀菌效果越好<sup>[7]</sup>。PEF 可使菌体数量降低 4~6 个对数级甚至以上,而且 PEF 处理对食品的原有感官品质几乎无影响,处理后的货架期一般可延长 4~6 周以上。但国内外对 PEF 在食品保藏中的应用研究多集中在酸性果蔬汁上,有关 PEF 对中性的绿茶饮料杀菌方面研究未见。

本研究的目的是探讨 PEF 在绿茶饮料生产中应用的可行性,应用非热杀菌技术代替传统的热杀菌,

克服传统生产方法中的问题,开发出新的绿茶生产工艺。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料与设备

#### 1.1.1 绿茶饮料的制备

绿茶茶叶购自本地超市,为青岛利丰茶叶公司生产的特级炒青。

将茶叶以 1:100 的茶水质量比浸于 50℃ 去离子水中,时间 20 min,水中预先添加 5  $\beta$ -CD 和 0.05% ZnCl<sub>2</sub>。浸提后将茶汤用 200 目筛过滤,迅速冷却至 10℃ 以下,然后于 7 200 g 离心 15 min,抽滤去沉淀。茶汤冷藏备用(茶汤电导率约为 900  $\mu$ S/cm, pH 值约为 6.0)。

#### 1.1.2 PEF 杀菌设备

采用实验室规模连续处理设备(OSU-4L,俄亥俄州立大学,美国),装置示意图如图 1(图 1 中  $T_1$ 、 $T_2$ 、 $T_3$  及  $T_4$  由热电偶测量,其数值可在触摸控制屏直接读出)。仪器管路清洗采用质量分数 4% NaOH、10% 市售次氯酸消毒液和无菌水,清洗至无菌备用。

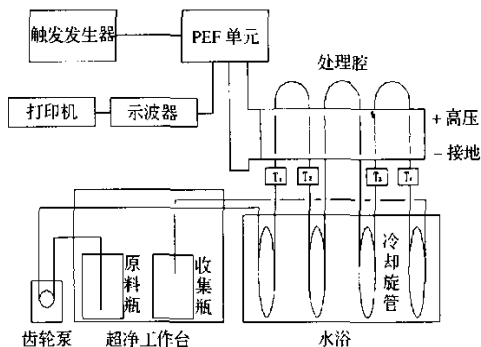


图 1 实验室规模连续处理设备 OSU-4L 示意图

图 2 为示波器输出的双极矩形脉冲波形图,绿茶饮料的脉冲波形基本为矩形,峰顶为锯齿形。其中 1

第一作者:硕士研究生(杨瑞金教授为通讯作者)。

收稿日期:2005-07-22

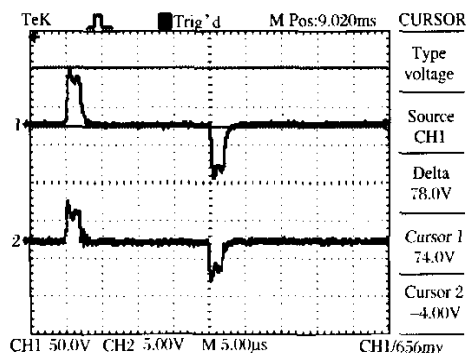


图2 双极矩形脉冲波形图

Trig'd - 触发脉冲鉴别模式; Type - 输入信号类型;  
Source - 信号来源; Cursor - 光标; Delta - 增量,  
为2条光标间距。

为电压波形, 2 为电流波形, PEF 单元输出的电压电流的实际数值可由示波器图读出。

## 1.2 方法

### 1.2.1 微生物接种与计数

实验用 *E. coli* 由胰蛋白大豆琼脂 (tryptic soya agar, TSA) 斜面移至胰蛋白大豆肉汤 (tryptic soya agar, TSB), 37℃ 摇床培养 18 h, 使菌体浓度达到  $10^7 \sim 10^8$  cfu/mL。

将上述 10 mL TSB 接到 1 000 mL 绿茶饮料中, 使样品中菌体浓度达到  $10^5 \sim 10^6$  cfu/mL。

根据 GB/T4789.2-2003 方法, 测定接种和不接种的样品在 PEF 处理前后样品菌落总数。

### 1.2.2 PEF 杀菌参数选择

实验中选择 6 个连续处理腔, 选择电场强度为 20、30 和 40 kV/cm, 总处理时间为 40、80、120 和 160  $\mu$ s, 脉冲宽度 2  $\mu$ s, 脉冲频率 667 pps (pulses per second); 循环式冷却水浴的温度设为 15℃, 可将绿茶茶汤在处理腔处的进出口温差控制在 5℃ 以内。

电场强度  $E$  和总处理时间  $t$  计算方法:

$$E = U/d \quad t = N_p \times N_c \times W_p \quad N_p = T_r \times f \\ T_r = V/F$$

其中:  $U$  为电压, kV;  $d$  为电极间距, 0.29cm;  $N_p$  为单个处理腔内接收的脉冲数;  $N_c$  为处理腔个数, 6;  $W_p$  为脉冲宽度,  $\mu$ s;  $T_r$  为停留时间, s;  $f$  为脉冲频率, pps;  $V$  为单个腔体积, 0.012cm<sup>3</sup>;  $F$  为物流流速, cm<sup>3</sup>/s。

### 1.2.3 杀菌前后绿茶饮料理化性质分析

以茶多酚、氨基酸含量及色差值为指标比较杀菌前后样品理化性质的变化。

### 1.2.3.1 茶多酚含量的测定

依照国标 GB/T8313-1987 进行, 采用酒石酸铁比色法。准确吸取样液 1 mL, 注入 25 mL 的容量瓶中, 加水 4 mL 和酒石酸亚铁溶液 5 mL, 充分混合, 再加 pH7.5 的磷酸盐缓冲液定容至刻度, 用 10mm 比色杯, 在波长 540nm 处以试剂空白溶液作参比, 测定吸光度 ( $A$ )。茶汤中茶多酚的含量按下式计算:

$$\text{茶多酚}(\text{mg/mL}) = A \times 1.957 / 0.5$$

式中:  $A$  为试样的吸光度; 1.957 为用 10mm 比色杯, 当吸光度等于 0.50 时, 每毫升茶汤中含的茶多酚相当于 1.957 mg。

### 1.2.3.2 氨基酸总量的测定

采用茚三酮比色法。

### 1.2.3.3 色差分析

色差用 WSC-S 测色色差计测定。其中:  $L$  值表示亮度,  $L$  值越大亮度越大;  $a$  值表示有色物质的红绿偏向, 正值越大偏向红色的程度越大, 负值越大偏向绿色的程度越大;  $b$  值表示有色物质的黄蓝偏向, 正值越大偏向黄色的程度越大, 负值越大偏向蓝色的程度越大。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同电场强度和不同处理时间对灭菌效果的影响

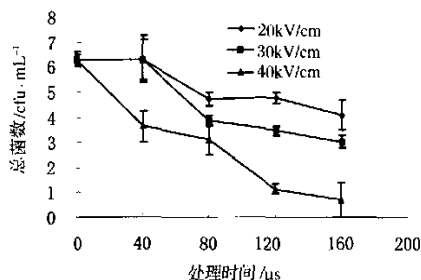


图3 不同电场强度和不同处理时间下的杀菌效果

图3显示了电场强度为 20、30、40 kV/cm, 处理时间为 40、80、120、160  $\mu$ s 时, PEF 对接种 *E. coli* 的绿茶饮料内总菌落数的影响。总的说来, 电场强度和处理时间对杀菌效果有着显著的影响, 随着电场强度和处理时间的增大, 杀菌效果越来越好。3 个不同场强下, 当处理时间达到 160  $\mu$ s 后, 总菌数的对数值分别降低了 2.2、3.3 和 5.6。当电场强度为 20 和 30 kV/cm、处理时间在 40  $\mu$ s 以下时, PEF 对绿茶饮料几乎没有灭菌作用, 而在 40~80  $\mu$ s 之间, 总菌数发生了明显的变化, 处理时间超过 80  $\mu$ s 以后, 曲线趋

于平缓。电场强度为 40 kV/cm 时,杀菌效果非常显著,40  $\mu$ s 时,总菌数已降低了 2.7 个对数值。

本实验所用未灭菌未接种的绿茶饮料总菌数为  $10^2$  级,对其进行杀菌,实验结果表明,当电场强度为 30 kV/cm、总处理时间在 80  $\mu$ s 以上时,即可达到检测无菌。

## 2.2 PEF 对绿茶饮料理化性质的影响

### 2.2.1 PEF 对茶多酚含量的影响

茶多酚是绿茶中易氧化的功能性成分和涩味成分,是茶叶中所含的一类多羟基类化合物的总称。其中儿茶素为茶多酚的主体成分,其形成的不同程度的氧化聚合物对茶饮料的感官品质有着重要的影响,因此选用茶多酚的保留情况作为茶饮料品质变化的化学指标之一。王登良的研究表明,茶多酚的变化对绿茶汤色、滋味和香气有着不同程度的影响<sup>[14]</sup>。

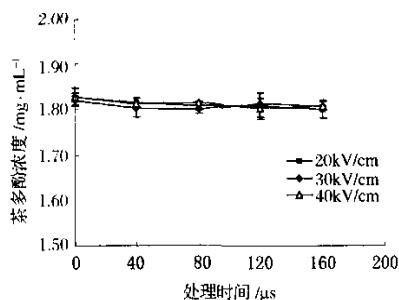


图4 不同处理条件对绿茶饮料中茶多酚浓度的影响

由图4可看出,与原样相比,PEF处理后样品的茶多酚含量几乎无变化( $<1.6\%$ ),不同处理条件下的样品中茶多酚含量也几乎无差异。因此,可知PEF处理对绿茶饮料中的多酚物质含量无影响。

### 2.2.2 PEF 对氨基酸总量的影响

表1 不同杀菌方式对绿茶中氨基酸浓度的影响

名 称	氨基酸总量/ $\mu$ g·mL <sup>-1</sup>
原 样	306.65 $\pm$ 0.60
PEF 处理样品(40 kV, 160 $\mu$ s)	310.45 $\pm$ 0.54
热杀菌样品(121 $^{\circ}$ C, 10 min)	274.59 $\pm$ 0.78

( $\alpha=0.05$ )

氨基酸也是茶汤中重要的鲜爽和甜味因子,与茶饮料的品质密切相关。由表1数据可看出,热杀菌后样品氨基酸含量明显下降(10.5%),这可能是与氨基酸高温下被破坏或者参与美拉德反应有关。而PEF处理样品的氨基酸含量略有增加(1.2%),可能是茶汤中水溶性蛋白的水解所引起的。

### 2.2.3 PEF 对色泽的影响

表2中,与未杀菌样品相比,热杀菌样品L值、a值和b值都有所变化,其变化分别为-10.2%、152.3%

表2 不同杀菌方式对绿茶色泽的影响

名 称	L	a	b
原 样	49.53 $\pm$ 0.65	-3.88 $\pm$ 0.76	10.44 $\pm$ 0.43
PEF 处理样品 (40kV, 160 $\mu$ s)	48.79 $\pm$ 0.47	-3.86 $\pm$ 0.36	10.31 $\pm$ 0.51
热杀菌样品 (121 $^{\circ}$ C, 10min)	44.50 $\pm$ 0.59	2.02 $\pm$ 0.52	26.30 $\pm$ 0.92

( $\alpha=0.05$ )

和152.0%,可见热杀菌引起了绿茶的色泽向红、黄的转变,绿茶在热杀菌过程中发生了较为严重的褐变,且肉眼观察到杀菌后茶汤内已有部分沉淀出现。而PEF处理的样品与原样相比,L值、a值和b值几乎无变化,茶汤清澈透明,肉眼观察无任何沉淀产生,仍保持了绿茶饮料原有的色泽。

## 3 结 论

PEF对绿茶饮料杀菌具有非常明显的作用,电场强度和处理时间是其杀菌效果的主要参数,随着电场强度和处理时间的增大,杀菌效果越来越好。当电场强度达到40 kV/cm时,杀菌效果非常显著,处理时间为40  $\mu$ s时总菌数已降低了2.7个对数值。

PEF处理后,绿茶饮料的茶多酚、氨基酸含量和色泽均未发生明显变化,PEF不仅能够使绿茶饮料达到检测无菌的水平,还可以保持其原有品质。

## 参 考 文 献

- 1 梅丛笑,方元超,赵晋府. 提高绿茶饮料风味的途径[J]. 饮料工业,2000,3(3):4~8
- 2 杨晓萍,郭大勇,周家刚. 绿茶饮料汤色的稳定性[J]. 食品工业,2003(2):19~20
- 3 梁月荣,陆建良,马 辉. 罐装绿茶饮料防褐变研究[J]. 浙江农业大学学报,1999,25(3):290~292
- 4 Yeom H W, Zhang Q H, Dunne C P. Inactivation of papain by pulsed electric fields in a continuous system[J]. Food Chemistry, 1999,67:53~59
- 5 Ayhan Z, Yeom H W, Zhang Q H, et al. Flavor, color, and Vitamin C retention of pulsed electric field processed orange juice in different packaging materials[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(2):669~674
- 6 Min S, Jin Z T, Zhang Q H. Commercial scale pulsed electric field processing of tomato juice[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003,51:3 338~3 344
- 7 Humberto Vega-Mercado, Olga Martin-Belloso, Bai-Lin Qin. Nonthermal food preservation: pulsed electric fields[J]. Trends in Food Science and Technology, 1997(8):151~157
- 8 Akdemir G Evrendilek, Jin Z T, Ruhlman K T, et al. Mi-

- crobial safety and shelf-life of apple juice and cider processed by bench and pilot scale PEF systems[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2000(1):77~86
- 9 Ayhan Z, Zhang Q H, Min D B. Effects of pulsed electric field processing and storage on the quality and stability of single-strength orange juice[J]. Journal of Food Protection, 2002, 65(10): 1 623~1 627
  - 10 Maria L Calderon-Miranda, Gustavo V Barbosa-Canovas, Barry G Swanson. Inactivation of *Listeria innocua* in skim milk by pulsed electric fields and nisin[J]. International Journal of Food Microbiology, 1999, 51:19~30
  - 11 Evrendilek G A, Zhang Q H, Richter E R. Application of pulsed electric fields to skim milk inoculated with *Staphylococcus aureus*[J]. Biosystems Engineering, 2004, 87(2): 137~144
  - 12 Gongora-Nieto M M, Pedrow P D, Swanson B G, et al. Energy analysis of liquid whole egg pasteurized by pulsed electric fields[J]. Journal of Food Engineering, 2003, 57: 209~216
  - 13 王登良. 绿茶贮藏过程中茶多酚含量的变化与感官品质的关系[J]. 茶叶科学, 1998, 18(1):61~64

## Effect of Pulsed Electric Fields on Green Tea Beverage

Wang Mo<sup>1</sup> Yang Ruijin<sup>2</sup>

1 (Key Laboratory of Food Science & Safety, Ministry of Education, Southern Yangtze University, Wuxi, 214036, China)

2 (School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi, 214036, China)

**ABSTRACT** Pulsed electric fields (PEF) is a newly developed nonthermal food preservation technology, which has been successfully applied in acidic fluid foods. In this paper, PEF was applied to the process green tea beverage, a kind of low acidic beverage. The results showed that about 5 logs reduction of *E. coli* was achieved at 40 kV/cm for 120 microseconds (2μs pulse width, 667pps). No significant changes in the color, flavor and content of tea polyphenols were observed after PEF treatment.

**Key words** pulsed electric fields, green tea beverage, tea polyphenols

### 市场动态

#### 中国浓缩苹果汁出口量仍在剧增

中国的浓缩苹果汁出口继续显示出迅猛增长的态势,2005年1~7月份累计出口浓缩苹果汁41.5万吨,同比增长31%;平均单价697美元/吨,同比增长8%。

目前中国浓缩苹果汁出口快速增长主要有4方面的原因:一是国际市场需求量不断增大,国内企业生产能力迅速提高,呈现出供需两旺的良好局面;二是多数果汁生产企业都通过了国际食品安全质量体系及ISO9002认证,果汁品质完全符合国际市场要求;三是中国苹果汁的成本平均比国际市场低30%左右,具有较强的市场竞争力;四是我国在对美国的反倾销诉讼中胜诉,降低了苹果汁出口的准入门槛。

《FOOD NEWS》报道说,欧盟是中国苹果汁出口的一个重要目的地。然而,波兰和德国并未被中国庞大的出口量所影响,他们的出口均有显著增长。波兰最大的市场仍然是欧盟,大部分的出口产品流向德国,德国是欧盟最大的苹果汁消费国。中国现在只种植低酸苹果这一事实,目前不会威胁到德和波兰的农民,因为他们通常生产高酸果汁。

### 信息窗

#### 欧盟研制出用于食品包装的新型玻璃

欧洲研究员表示,他们正致力于创造更清澈、耐久的玻璃,帮助食品加工企业以更精美的包装呈现他们的食品特点。这对玻璃制造商来说也是个好消息,多年来他们的生意在廉价树脂盛行的趋势面前日渐衰退。

在这个联合研究项目中,英国、法国和欧洲同步加速器辐射设备机构通过检测沸石、结晶固体的结构变化后称,在不影响其结构的控制条件下加热有助于创造精美的玻璃。