

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241105004

引用格式: 李坤, 张俊磊, 申羽婷, 等. 微酸性电解水和超高压并行联合对三七块茎表面大肠杆菌杀菌效果研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(1): 223-233.

LI K, ZHANG JL, SHEN YT, et al. Study on synergistic effects of slightly acidic electrolyzed water and ultra-high pressure parallel on *Escherichia coli* on the surface of *Panax notoginseng* tubers [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(1): 223-233. (in Chinese with English abstract).

微酸性电解水和超高压并行联合对三七块茎 表面大肠杆菌杀菌效果研究

李坤, 张俊磊, 申羽婷, 叶树芯, 高晴, 和劲松*

(云南农业大学食品科学技术学院, 昆明 650201)

摘要: **目的** 为探究微酸性电解水(slightly acidic electrolyzed water, SAEW)和超高压(ultra-high pressure, UHP)并行联合作用对三七块茎表面大肠杆菌杀菌效果的影响, 量化协同杀菌增强效应, 构建杀菌模型。**方法** 以新鲜三七为原料, SAEW有效氯质量浓度(25、30、35 mg/L), 料液比[1:20、1:30、1:40 (g:mL)], 处理时间(4、6、8 min), 压强(200、300、400 MPa)为自变量, 三七表面接种的大肠杆菌死亡菌落数量级为响应值, 应用响应面进行优化处理, 得出 SAEW-UHP 并行联合处理协同区间, 并验证模型预测准确性。**结果** 在此单因素实验基础下 SAEW-UHP 并行联合技术优于单一技术杀菌效果, 且并行联合技术杀菌工艺参数区间料液比为 1:26.99~1:33.34 (g:mL), 电解水质量浓度为 29.03~35.00 mg/L, 处理时间为 5.27~6.83 min, 压强为 295.57~400.00 MPa, 存在协同增强效应, 在加工参数料液比为 1:31.28 (g:mL), 电解水质量浓度为 34.25 mg/L, 处理时间为 6.79 min, 压强为 400.00 MPa 时, 模型预测协同增效达到最大, 最大量化值为 1.87 lg(CFU/mL)。**结论** 本研究量化 SAEW-UHP 并行联合技术杀菌的增强效应, 找出 SAEW-UHP 协同杀菌技术处理三七块茎的协同增效区间参数, 使用最小剂量、最低加工强度得到最优杀菌效果, 可以为新鲜果蔬贮藏保鲜提供一定理论基础, 为绿色加工提供新思路, 为食品微生物安全性提供保障。

关键词: 三七; 微酸性电解水; 超高压; 并行联合技术; 协同效应

Study on synergistic effects of slightly acidic electrolyzed water and ultra-high pressure parallel on *Escherichia coli* on the surface of *Panax notoginseng* tubers

LI Kun, ZHANG Jun-Lei, SHEN Yu-Ting, YE Shu-Xin, GAO Qing, HE Jin-Song*

(College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

收稿日期: 2024-11-05

基金项目: 国家自然科学基金项目(32060573); 云南省重大科技专项(202202AE090019)

第一作者: 李坤(1998—), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为食品非热加工与微生物安全控制。E-mail: 2386047028@qq.com

*通信作者: 和劲松(1970—), 男, 博士, 教授, 主要研究方向为食品非热加工与安全控制、液态水功能与构造、食品蛋白凝胶化理论与功能凝胶开发。E-mail: hejinsong@mail.tsinghua.edu.cn

ABSTRACT: Objective To delve into the influences of slightly acidic electrolyzed water (SAEW) and ultra-high pressure (UHP) on the bactericidal potency of *Panax notoginseng* tubers, and quantification of synergistic bactericidal effect, constructing bactericidal model. **Methods** Fresh *Panax notoginseng* was selected as the raw material, with independent variables encompassing SAEW available chlorine concentrations (25, 30, 35 mg/L), solid-liquid ratios (1:20, 1:30, 1:40 g/mL), treatment durations (4, 6, 8 min), and pressures (200, 300, 400 MPa). The number of deceased *Escherichia coli* on the surface of *Panax notoginseng* tubers was set as the response value. A response surface methodology was adopted to optimize these treatment parameters and establish a coordination range for parallel SAEW-UHP treatments while quantifying their synergistic effects, verified the prediction accuracy of the model. **Results** Revealed that based on single-factor experiments, SAEW-UHP parallel technology was better than single technology in bactericidal effect, the optimal sterilization process parameters for the SAEW-UHP parallel technology lie within a solid-liquid ratio range of 1:26.90–1:33.34 g/mL, available chlorine concentrations range of 29.03–35.00 mg/L, treatment durations range of 5.27–6.83 min, pressure range of 295.57–400.00 MPa and the material-to-liquid ratio was set at 1:31.28 g/mL, with an electrolyzed water concentration was set at 34.25 mg/L, treatment duration was set at 6.79 min, and the pressure was set at 400.00 MPa, the synergistic effect predicted by the model reached its maximum, yielding a peak quantification value of 1.87 lg(CFU/mL). **Conclusion** This research quantitatively elucidates the augmented sterilization efficacy conferred by the SAEW-UHP parallel technology, utilized the smallest dosage and the lowest processing intensity to achieve the best bactericidal effect, which furnishing a theoretical underpinning for fresh produce storage strategies, offering novel approaches to green processing, and providing a guarantee for food microbial safety.

KEY WORDS: *Panax notoginseng*; slightly acidic electrolyzed water; ultra-high pressure; parallel technique; synergistic effect

0 引言

云南自古就有食用三七(*Panax notoginseng*)的习惯,三七汽锅鸡,三七炖鸡,更是家喻户晓,在2002年三七就已被列入保健食品名录^[1]。目前市场上三七贮藏多以控制三七水分活度抑制微生物繁殖,但干制过程中会使三七皂苷等热敏功能成分流失^[2-3]。新鲜三七相比于干制三七鲜食价值更高且营养功能成分保留较完整,但由于新鲜三七表面微生物种类较多,且以肠杆菌目为主^[4],因此在新鲜三七贮藏过程中极易因大肠杆菌等微生物腐败变质造成经济损失。

杀菌方式一般包括热杀菌和非热杀菌。热杀菌作为最为传统的杀菌方式,因其操作简便、成本低廉的特点而应用广泛,但易使食品品质发生改变^[5]。非热杀菌包括化学杀菌和物理杀菌。化学杀菌有微酸性电解水(slightly acidic electrolyzed water, SAEW)、臭氧等。物理杀菌一般有超高压、脉冲电场、低温等离子体、紫外、辐照等。非热杀菌技术对食品原本风味,营养成分保留较为完整,可以避免三七在干制过程中功能性成分受热分解,因此非热杀菌技术在鲜切果蔬微生物控制领域应用广泛^[6-8]。SAEW在食品消毒中应用广泛,用于空气中和各种物体表面、瓜果蔬菜等消毒,杀菌作用强,对其他物体几乎无腐蚀性,它具有绿色、低成本的特点,但浓度高会有化学残留风险^[9-11]。

超高压(ultra-high pressure, UHP)作为一种新型的食品非热加工技术,处理过程温度低,对食品营养成分破坏小,能在有效杀菌的同时显著提升食品品质,是未来食品加工技术发展的热点方向,但UHP能耗较高,压强太高会使食品质地发生改变,对孢子杀灭能力较弱,后续贮藏需保持较低温度^[12-14]。

单一技术存在能量消耗高,杀菌机制单一等缺点。技术联合可分为串行联合和并行联合,串行联合技术在技术作用于物料时有先后顺序,并行联合技术是两种技术同时作用于食品,可以在与单一技术相同的加工强度下显著提高杀菌效果,降低能量消耗,达到绿色加工的目的。超高压技术和微酸性电解水技术作为两种非热加工技术,适用于处理含热敏类物质食品^[15-17]。有学者研究结果表明SAEW-UHP技术在杀菌过程中存在协同效应,但对协同效应的量化和各因素协同增效区间的研究不足^[18]。因此,本研究用SAEW-UHP技术并行联合处理新鲜三七块茎,以大肠杆菌为模型菌构建杀菌模型,寻找协同杀菌区间,量化协同杀菌效应,为精确加工,绿色加工提供理论方法指导。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

三七采购于云南省文山壮族苗族自治州丘北县。

结晶紫中性红胆盐琼脂培养基、溶菌肉汤、平板计数琼脂(广东环凯微生物科技有限公司);氯化钠(分析纯,天津市风船化学试剂科技有限公司)。

1.2 仪器与设备

SW-CJ-1F 净化工作台(苏州市金净化设备科技有限公司);LDZM-60KCS 立式压力蒸汽灭菌锅(上海申安医疗器械厂);V-5600 紫外/可见分光光度计(上海元析仪器有限公司);HC-2062 高速离心机(安徽中科中佳科技仪器有限公司);DHP-9082B 恒温生化培养箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂);HD-240L“水神”微酸性次氯酸生成机(上海旺旺集团);HPP.L1-600 超高压设备(天津华泰森森生物工程技术有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 SAEW 的制备及其理化特性参数的测定

配制质量分数为 6% 的稀盐酸溶液为电解液,用微酸性电解水机制备,固定流量 2.4 L/min,预热 20 min 后接取微酸性电解水。用碘量法测定有效氯浓度^[19]。通过实验数据分析,电解水机电流(X),有效氯质量浓度(Y)的标准曲线方程为 $Y=32.91X-6.89$, $r^2=0.9985$ 。线性范围 0.8~1.2 A。

1.3.2 菌悬液的制备

挑取单菌落于 LB 肉汤中,置于 37 °C 摇床培养 18 h,抽取适量菌液离心(7500 r/min, 4 °C, 10 min)后使用无菌生理盐水洗脱,重复 3 次,将菌悬液浓度使用吸光度法调至 10^9 CFU/mL。

1.3.3 样品的制备与染菌

新鲜三七洗净,用 75% 酒精浸泡 5 min,直径约 1 cm,长度为 2 cm、质量(10 ± 0.1) g 的块状,紫外灯下照射 0.5 h。将菌液与鲜三七按液料比 2 (mL/g) 进行混合,染菌时间 15 min,染菌结束后,将鲜三七于超净台内静置 30 min。

1.3.4 单因素实验

(1) SAEW 有效氯质量浓度的确定

固定料液比 1:30 (g:mL,下同),压强 0.1 MPa,处理时间 6 min,改变 SAEW 有效氯质量浓度(20、25、30、35、40 mg/L),处理完成后测定菌落数。

(2) SAEW 料液比的确定

固定 SAEW 有效氯质量浓度 30 mg/L,压强 0.1 MPa,处理时间 6 min,改变 SAEW 料液比[1:10、1:20、1:30、1:40、1:50 (g:mL)],处理完成后测定菌落数。

(3) SAEW 处理时间的确定

固定 SAEW 有效氯质量浓度 30 mg/L,压强 0.1 MPa,料液比 1:30 (g:mL),改变 SAEW 处理时间(2、4、6、8、10 min),处理完成后测定菌落数。

(4) UHP 压强的确定

固定料液比 1:30,SAEW 有效氯质量浓度 0 mg/L,处理时间 6 min,改变压强(100、200、300、400、500 MPa),处理完成后测定菌落数。

(5) UHP 处理时间的确定

固定压强 300 MPa,SAEW 有效氯质量浓度 0 mg/L,料液比 1:30,改变 UHP 处理时间(2、4、6、8、10 min),处理完成后测定菌落数。

(6) UHP 料液比的确定

固定压强 300 MPa,SAEW 有效氯质量浓度 0 mg/L,料液比 1:30,UHP 处理时间 6 min,改变 UHP 料液比[(1:10、1:20、1:30、1:40、1:50 (g:mL))],处理完成后测定菌落数。

1.3.5 响应面设计

以单因素实验为基础,选取料液比、SAEW 有效氯质量浓度、处理时间、压强 4 个因素进行响应面实验,以死亡菌落数为响应值。以 4 个因素最优组合来探究微酸性电解水与超高压并行联合对新鲜三七杀菌的效果,见表 1~3。

表 1 SAEW 实验因素与水平

Table 1 SAEW test factors and levels

水平	A 料液比(g:mL)	B SAEW 有效氯质量浓度/(mg/L)	C 处理时间/min	D 压强/MPa
-1	1:20	25	4	0.1
0	1:30	30	6	0.1
1	1:40	35	8	0.1

表 2 UHP 实验因素与水平

Table 2 UHP test factors and levels

水平	A 料液比(g:mL)	B SAEW 有效氯质量浓度/(mg/L)	C 处理时间/min	D 压强/MPa
-1	1:20	0	4	200
0	1:30	0	6	300
1	1:40	0	8	400

表 3 并行联合实验因素与水平

Table 3 SAEW-UHP test factors and levels

水平	A 料液比(g:mL)	B SAEW 有效氯质量浓度/(mg/L)	C 处理时间/min	D 压强/MPa
-1	1:20	25	4	200
0	1:30	30	6	300
1	1:40	35	8	400

1.4 协同项分析

为探究 SAEW-UHP 并行联合处理杀菌过程的增强作用,引入协同项差值(ΔI)量化表征其增强效应。计算公式见(1)~(4)。

$$I_S = -\ln \frac{N_S}{N_0} \quad (1)$$

式中: I_S 为 SAEW 处理后的致死量, $\ln(\text{CFU}/\text{mL})$; N_S 为 SAEW 处理后的微生物数量, CFU/mL ; N_0 为处理前的微生物数量, CFU/mL 。

$$I_H = -\ln \frac{N_H}{N_0} \quad (2)$$

式中: I_H 为 UHP 处理后的致死量, $\ln(\text{CFU}/\text{mL})$; N_H 为热后的微生物数量, CFU/mL ; N_0 为处理前的微生物数量, CFU/mL 。

$$I_{S-H} = -\ln \frac{N_{S-H}}{N_0} \quad (3)$$

式中: I_{S-H} 为并行联合处理后的致死量, $\ln(\text{CFU}/\text{mL})$; N_{S-H} 为并行联合处理后的微生物数量 CFU/mL ; N_0 为处理前的微生物数量, CFU/mL 。

$$\Delta I = I_{S-H} - (I_S + I_H) \quad (4)$$

式中: ΔI 为协同项。

后令 $\Delta I > 0$, 计算出料液比、电解水浓度、处理时间、压强, 4 个因素的取值范围即为协同区间, 在区间内任意取值组成的工艺参数都具有协同效应。

1.5 微生物检测

大肠杆菌检测参考 GB 4789.6—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数》(第二法)。取 20 g 已染菌的三七, 放入 100 mL, pH 为 7.4 的磷酸缓冲盐溶液中振荡 30 s, 将洗脱液进行 10 倍稀释, 选取 2~3 个适宜稀释度的洗脱液倾注温度为 46 °C 的结晶紫中性红胆盐琼脂培养基, 待凝固后倒置平板置于 36 °C \pm 1 °C 培养 18~24 h。

菌落总数测定参考 GB 4789.2—2022《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》。取 20 g 用自来水洗净泥土的三七, 放入 100 mL, pH 为 7.4 的磷酸缓冲盐溶液中振荡 30 s, 将洗脱液进行 10 倍稀释, 选取 2~3 个适宜稀释度的洗脱液倾注温度为 46~50 °C 的平板计数琼脂培养基, 待凝固后倒置平板置于 36 °C \pm 1 °C 培养(48 \pm 2) h。

1.6 数据处理

在处理数据分析过程中, 采用 Excel 2010 软件对实验数据进行处理, 应用 Origin 2019 软件进行制图, 运用 Design-Expert 13.0 软件对实验条件进行优化处理。

2 结果与分析

2.1 单一技术响应面分析

2.1.1 SAEW 单因素结果分析

由图 1 a 可知, 随着有效氯质量浓度的增加, 大肠杆菌死亡菌落数量级有明显增加, 当 SAEW 有效氯质量浓度是 30 mg/L 时, 大肠杆菌死亡数量级为 1.82 lg(CFU/mL), 但有效氯质量浓度从 30 mg/L 增加到 40 mg/L 时死亡菌落数量级变化趋于平缓, 所以 SAEW 有效氯质量浓度选择 25、30、35 mg/L 进行后续实验。由图 1b 可知, 新鲜三七表面大肠杆菌数量随 SAEW 体积的增加而减少, 料液比为 1:30 (g:mL, 下同) 时, 大肠杆菌死亡数量级为 1.07 lg(CFU/mL), 料液比在 1:30~1:50 死亡菌落数量级趋于平稳。所以 SAEW 料液比选择 1:20、1:30、1:40 (g:mL) 进行后续实验。由图 1c 可知, 随着 SAEW 处理时间增加, 大肠杆菌死亡数量级逐渐增加, SAEW 的处理时间为 6 min 时, 大肠杆菌死亡数量级为 1.02 lg(CFU/mL), 6~10 min 时, 死亡菌落数量级趋势变化不明显。所以 SAEW 处理时间选择 4、6、8 min 进行后续实验。

2.1.2 SAEW 处理回归模型和方差分析

在单因素的基础上, 利用 Box-Behnken 设计原理, 以料液比、处理时间、有效氯质量浓度为自变量, 三七块茎表面菌落死亡数量级为响应值, 进行响应面实验, 分析数据得

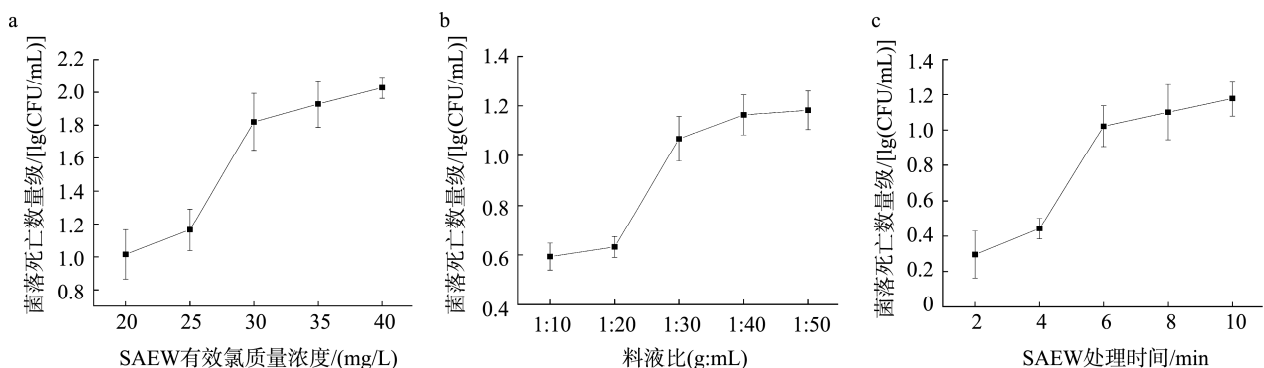


图1 SAEW 单因素对三七表面杀菌效果的影响

Fig.1 Effects of SAEW single factor on the bactericidal effects of *Panax notoginseng*

出 SAEW 处理对三七块茎杀菌效果的回归方程:

$$Y=2.29+0.2088A+0.3371B+0.4183C+0.1023AB+0.0504AC+0.0750BC+0.1375A^2-0.2085B^2-0.2861C^2$$

通过对 SAEW 处理对三七块茎杀菌效果预测模型进行方差分析, 该回归模型 $P<0.0001$, 差异极显著, 模型 $r^2=0.9166$ 。通过 F 值可知, 各因素对杀菌效果影响的主次顺序为 $C>B>A$ 说明对杀菌效果影响最大的因素为处理时间, 其次是 SAEW 有效氯质量浓度, 最后是料液比。

2.1.3 SAEW 处理响应面因素交互分析

由图 2 可知, 当 SAEW 有效氯质量浓度固定时, 随着料液比增加, 菌落死亡数量级逐渐增加; 当处理时间固定时, 随着料液比增加, 菌落死亡数量级逐渐增加, 随着 SAEW 有效氯质量浓度增加, 菌落死亡数量级逐渐增加; 当料液比固定时, 随着 SAEW 有效氯质量浓度增加, 菌落死亡数量级逐渐增加。

2.1.4 UHP 单因素结果分析

由图 3 a 可知, 随着压强增大, 大肠杆菌死亡数量级明显增加, 压强为 300 MPa 时, 大肠杆菌死亡数量级为

2.60 lg(CFU/mL), 压强大小 300~500 MPa 时大肠杆菌死亡数量级上升趋于平缓, 所以 UHP 压强选择 200、300、400 min 进行后续实验。由图 3 b 可知, 随着 UHP 处理时间增加, 三七表面大肠杆菌数量逐渐下降, UHP 处理时间为 6 min 时, 大肠杆菌死亡数量级为 1.85 lg(CFU/mL), UHP 处理时间 6 min 后大肠杆菌死亡数量级上升趋于平稳, 所以 UHP 处理时间选择 4、6、8 min 进行后续实验。由图 3 c 可知, 随着料液比的增加, 三七块茎表面活菌数无明显变化, 料液比在 UHP 处理过程中, 对三七块茎表面菌落数变化影响不明显, 后续实验以 SAEW 料液比 1:20、1:30、1:40 (g:mL) 为准。

2.1.5 UHP 处理回归模型和方差分析

在单因素的基础上, 利用 Box-Behnken 设计原理, 以料液比、处理时间、压强为自变量, 三七块茎表面菌落死亡数量级为响应值, 进行响应面实验, 分析数据得出 UHP 处理对三七块茎杀菌效果的回归方程:

$$Y=3.64+0.0543A-0.3225B-0.1381D-0.1226AB+0.2012AD+0.2488BD+0.0304A^2-0.1277B^2-0.5547D^2$$

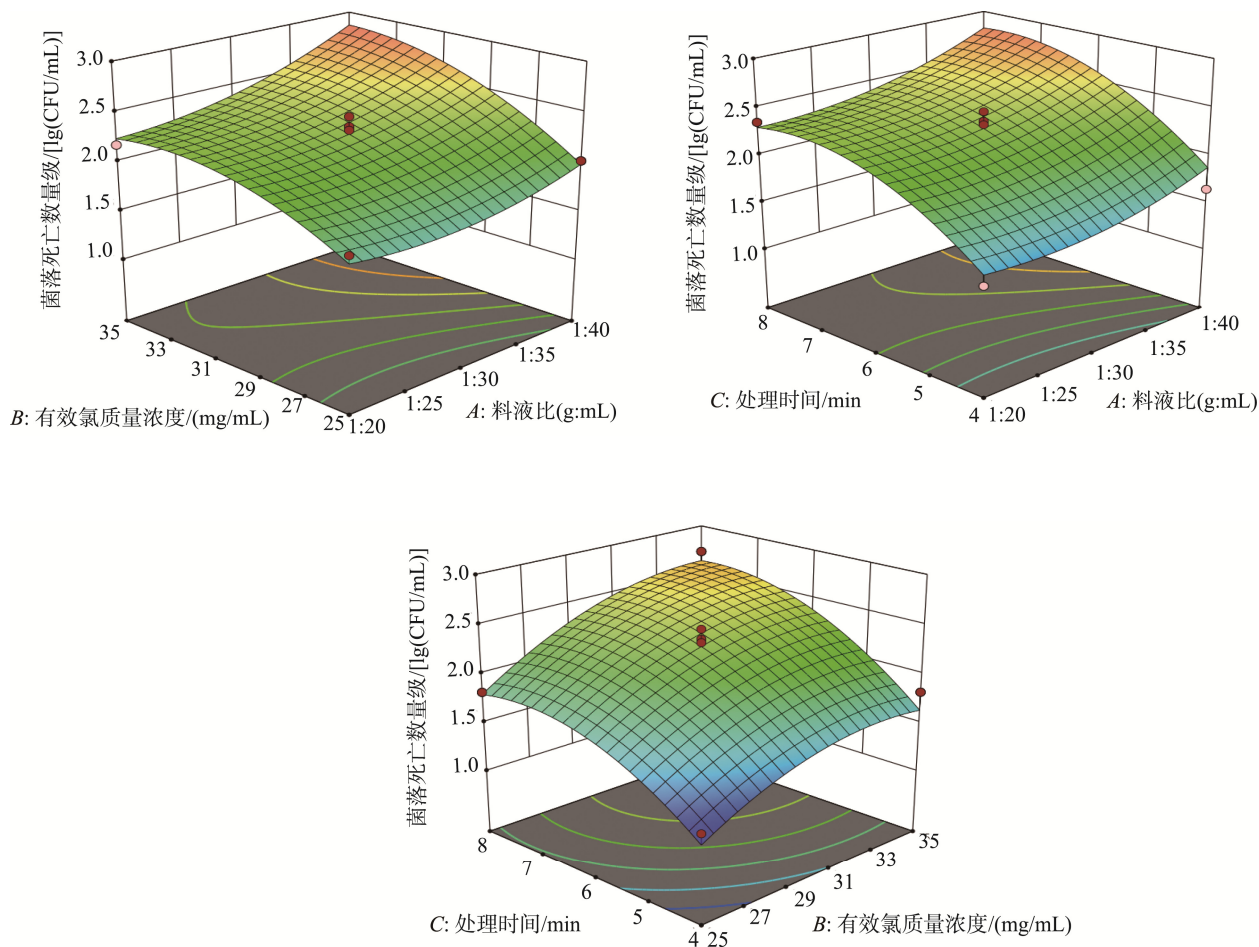


图 2 SAEW 各因素交互作用对三七表面杀菌效果影响的 3D 图

Fig.2 SAEW 3D diagram of the interaction of various factors on the sterilization effects of *Panax notoginseng*

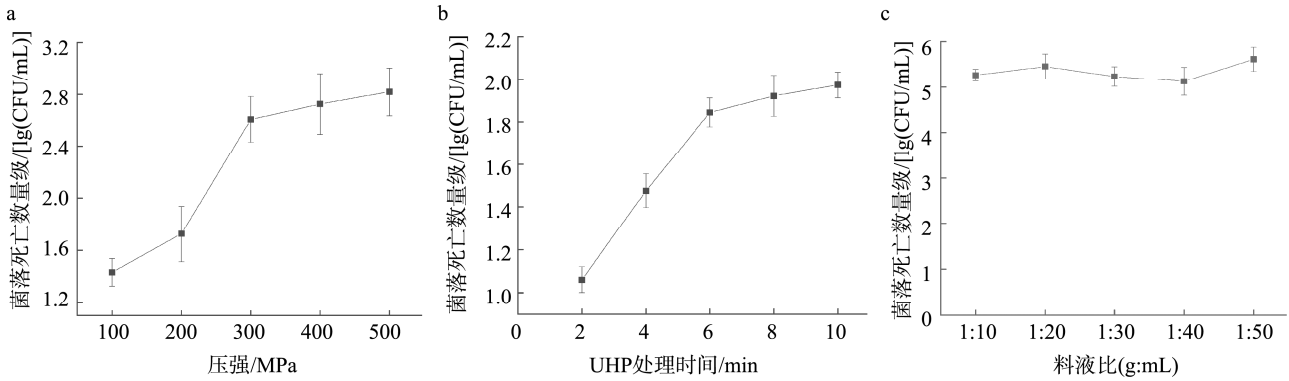


图 3 UHP 单因素对三七表面杀菌效果的影响
Fig.3 Effects of UHP single factor on the bactericidal effects of *Panax notoginseng*

通过对 UHP 处理对三七块茎杀菌效果预测模型进行方差分析可知, 该回归模型 $P < 0.05$, 模型 $r^2 = 0.8397$ 。通过 F 值可知, 各因素对杀菌效果影响的主次顺序为 $C > D > A$, 说明对杀菌效果影响最大的因素为处理时间, 其次是压强, 最后是料液比。

2.1.6 UHP 处理响应面因素交互分析

由图 4 可知, 当压强固定时, 随着料液比增加, 菌落死亡数量级逐渐增加; 当处理时间固定时, 随着料液比增

加, 菌落死亡数量级逐渐增加, 随着压强增加, 菌落死亡数量级逐渐增加; 当料液比固定时, 随着压强增加, 菌落死亡数量级逐渐增加。

2.2 SAEW-UHP 并行联合技术响应面分析

2.2.1 回归模型和方差分析

在单因素的基础上, 利用 Box-Behnken 设计原理, 以料液比、处理时间、SAEW 有效氯质量浓度、压强为自变量, 三七块茎表面菌落死亡数量级为响应值, 进行响应面实验,

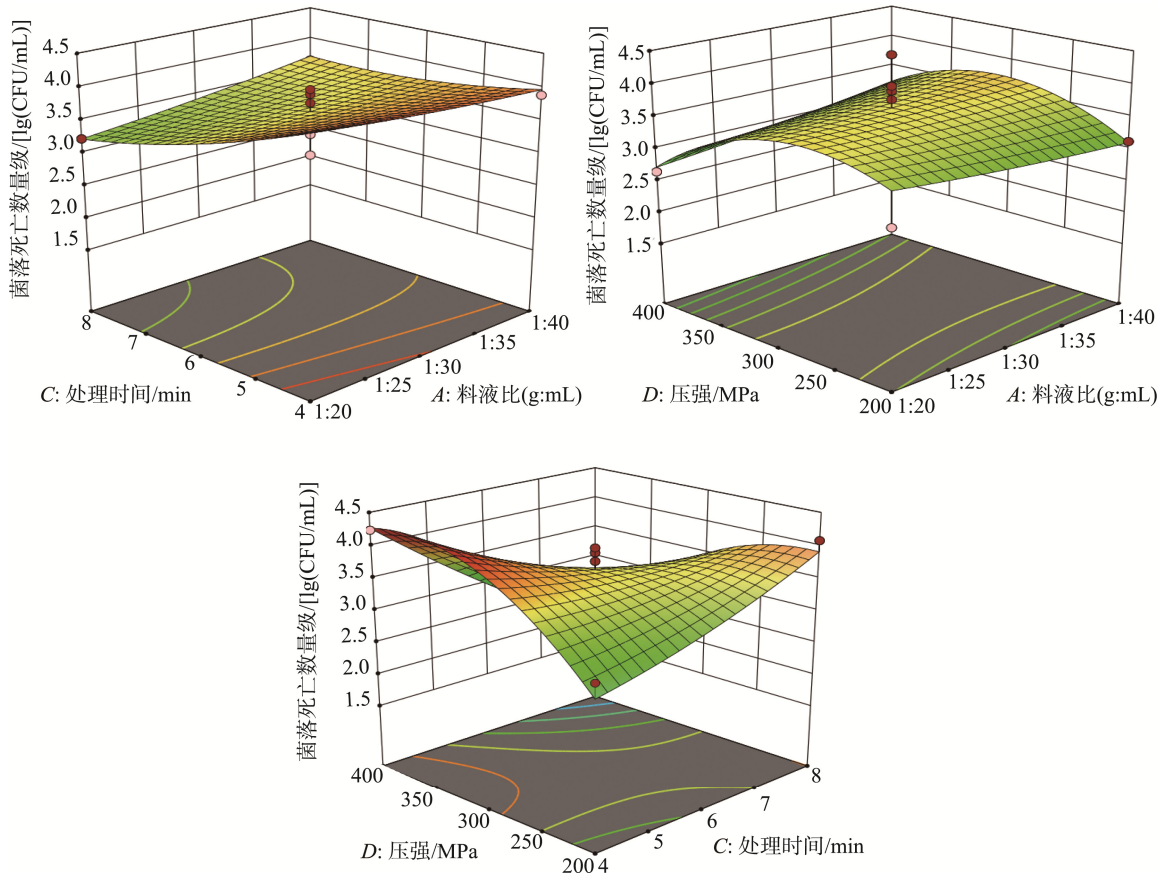


图 4 UHP 各因素交互作用对三七表面杀菌效果影响的 3D 图
Fig.4 UHP 3D diagrams of the interaction of various factors on the sterilization effects of *Panax notoginseng*

分析数据得出 SAEW-UHP 处理对三七块茎杀菌效果的回归方程:

$$Y=6.19+0.2950A+0.4350B+0.1325C+1.99D+0.0863AB-0.2625AC+0.5662AD+0.1500BC+0.6412BD-0.2025CD-0.8889A^2-0.8476B^2-0.9039C^2-1.49D^2$$

通过对 SAEW-UHP 处理对三七块茎杀菌效果预测模型进行方差分析可知, 该回归模型 $P<0.001$, 模型 $r^2=0.9518$ 。通过 F 可知, 各因素对杀菌效果影响的主次顺序为 $D>B>A>C$, 说明对杀菌效果影响最大的因素为压强,

其次是 SAEW 浓度, 最后是料液比和处理时间。

2.2.2 SAEW-UHP 响应面因素交互分析

由图 5 可知, 当压强固定时, 随着料液比增加, 菌落死亡数量级逐渐增加; 当处理时间固定时, 随着料液比增加, 菌落死亡数量级逐渐增加, 随着压强增加, 菌落死亡数量级逐渐增加; 当料液比固定时, 随着压强增加, 菌落死亡数量级逐渐增加; 当 SAEW 有效氯质量浓度一定时, 随着压强、料液比、处理时间不断增加, 菌落死亡数量级逐渐增加。

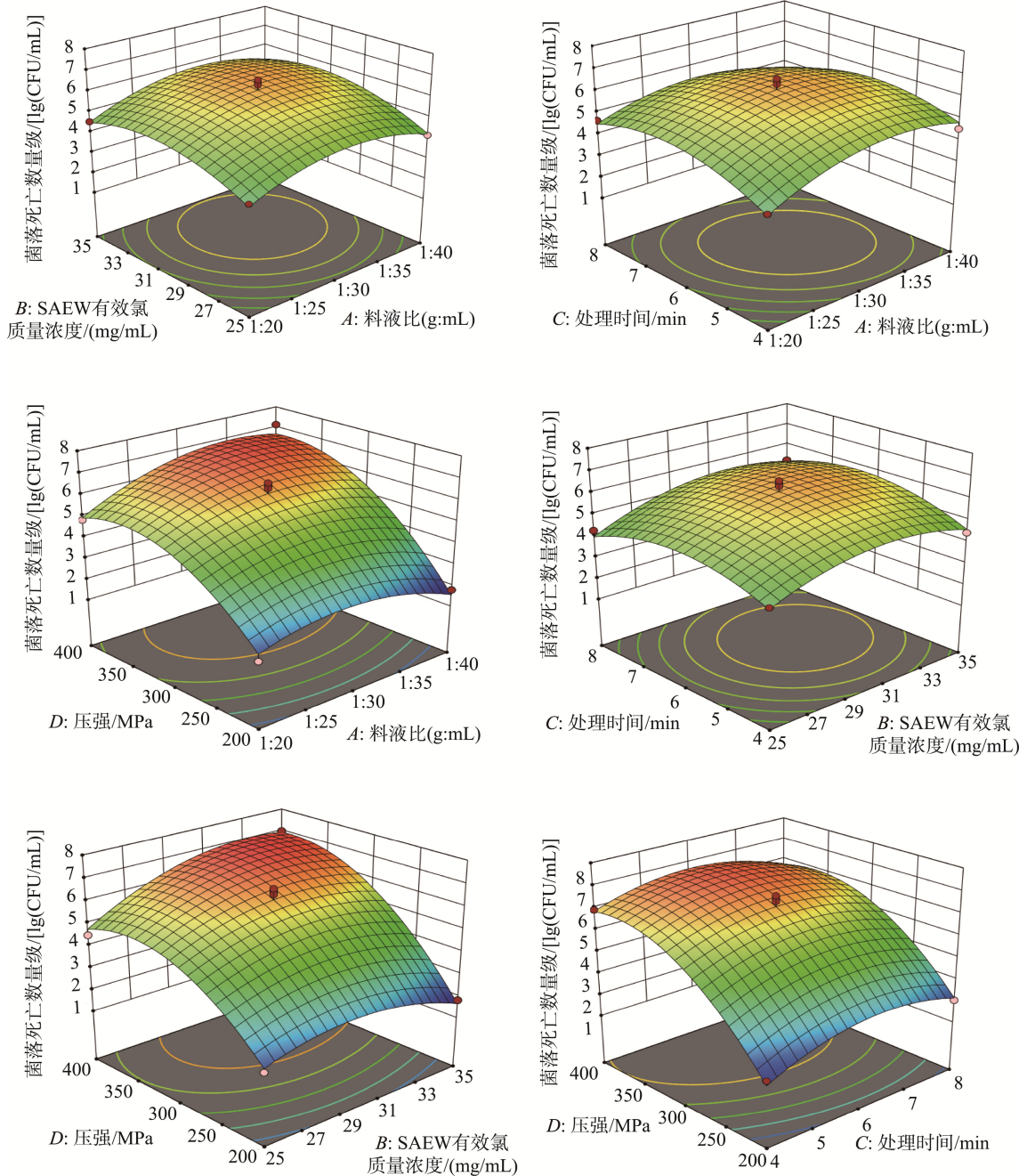


图 5 SAEW-UHP 并行联合各因素交互作用对三七表面杀菌效果影响的 3D 图

Fig.5 SAEW-UHP 3D diagrams of the interaction of various factors on the sterilization effects of *Panax notoginseng*

2.2.3 SAEW-UHP 并行联合杀菌协同增效分析

在并行联合杀菌响应面实验基础上, A 、 B 、 C 、 D 都采用并行联合杀菌的因素, 根据公式(1)~(4), 以 ΔI 为响应值, 通过软件分析可得回归方程:

$$\Delta I = 0.0980 + 0.0318A + 0.4204B + 0.0303C + 2.17D + 0.1066AB - 0.4984AC + 0.3575AD - 0.1012BC + 0.3399BD + 0.7187CD - 0.9732A^2 - 0.4278B^2 - 0.6480C^2 - 0.9163D^2$$

通过对 SAEW-UHP 并行联合杀菌协同项模型进行方差分析可知, 该回归模型 $P < 0.0001$, 差异显著。模型 $r^2 = 0.9251$, 说明该模型拟合程度良好, 自变量与响应值线性关系显著, 实验结果可靠。

当 $\Delta I > 0$ 时, 说明在相同工艺参数强度下, 并行联合技术杀菌效果大于两种单一技术杀菌效果之和, 并行联合技术有“1+1>2”的协同增效作用; 当 $\Delta I = 0$ 时, 说明在相同工艺参数强度下并行联合技术杀菌效果等于两种单一技术杀菌效果之和, 并行联合技术对杀菌效应没有增强作用; 当 $\Delta I < 0$ 时, 说明在相同工艺参数强度下并行联合技术杀菌效果小于两种单一技术杀菌效果之和, 两种技术共同作用时有拮抗作用, 并行联合技术会减弱杀菌效果, 并无协同效应。

为求出协同增效区间, 令 $\Delta I > 0$ 得:

料液比 $A \in (-0.30, 0.33)$, 电解水浓度 $B \in (-0.19, 1.18)$, 处理时间 $C \in (-0.37, 0.41)$, 压强 $D \in (-0.04, 2.41)$ 。

转化为得:

料液比 $A \in (1:26.99, 1:33.34)$, 电解水浓度 $B \in (29.03, 35.00)$, 处理时间 $C \in (5.27, 6.83)$, 压强 $D \in (295.57, 400.00)$ 。

令 ΔI 最大得:

料液比 1:31.28 (g:mL), 电解水质量浓度 34.25 mg/L, 处理时间 6.79 min, 压强 400.00 MPa 在此条件下协同增效量化预测值为 1.87 lg(CFU/mL)。

2.3 验证实验

2.3.1 新鲜三七表面大肠杆菌杀菌模型验证

为验证模型的准确度, 从料液比 $A \in (1:26.99, 1:33.34)$, 电解水浓度 $B \in (29.03, 35.00)$, 处理时间 $C \in (5.27, 6.83)$, 压强 $D \in (295.57, 400.00)$ 区间内选取实验条件进行验证实验。

在 5 组验证实验中, 所有组别相对误差均小于 5%, 说明模型预测准确, 表 4。

2.3.2 新鲜三七表面全菌落杀菌验证

为验证模型作用于未用菌液染菌的新鲜三七杀菌效果准确性, 选取料液比 1:30 (g:mL), 电解水质量浓度 35.00 mg/L, 处理时间 7 min, 压强 400.00 MPa, 进行验证实验。

此验证实验中相对误差仅为 4.20%, 说明 SAEW-UHP 并行联合技术杀菌模型也适用于全菌落杀菌预测, 表 5。

表 4 大肠杆菌杀菌模型验证表

Table 4 Table of validation for *E.coli* bactericide model

序号	料液比 (g:mL)	电解水质量浓度 / (mg/L)	处理时间 /min	压强/MPa	实际值 / [lg(CFU/mL)]	预测值 / [lg(CFU/mL)]	相对误差 /%
1	1:31	34.00	7.00	400.00	1.95	1.87	2.09
2	1:33	30.00	6.50	400.00	1.49	1.47	0.68
3	1:31	34.00	7.00	400.00	1.96	1.87	2.35
4	1:29	34.00	7.50	400.00	1.64	1.81	4.93
5	1:32	35.00	6.50	400.00	1.75	1.87	3.31

表 5 全菌落杀菌模型验证表

Table 5 Table of validation for whole colony bactericide model

组别	料液比 (g:mL)	电解水质量浓度 / (mg/L)	处理时间/min	压强/MPa	实际值 / [lg(CFU/mL)]	预测值 / [lg(CFU/mL)]	相对误差 /%
空白组	1:30	0.00	7.00	0.10	6.11		
处理组	1:30	35.00	7.00	400.00	2.08	1.92	4.20

3 讨论

一些学者通过将非热杀菌技术组合发现适当的技术组合杀菌效果优于单一技术。李佳等^[20]的研究表明超声结合微酸性电解水处理克氏原螯虾能够显著降低克氏原螯虾肉的菌落总数、金黄色葡萄球菌数和假单胞菌数, 在处理贮藏的第 8 d 联合组菌落总数明显低于单一技术处理

组; 孔金花等^[21]用超声联合微酸性电解水处理小龙虾发现, 使用 60 mg/L 的 SAEW 单独处理小龙虾菌落总数下降了 1.78 lg(CFU/g), 超声波功率为 50 W 协同 60 mg/L 的 SAEW 处理 50 min, 可以将小龙虾的菌落总数由 7.17 lg(CFU/g) 降到 3.52 lg(CFU/g), 杀菌率率达到 99.98%, 单独使用 60 mg/L 的 SAEW 处理小龙虾菌落总数下降了 1.78 lg(CFU/g), 与本研究单因素不同有效氯质量浓度处理三七所杀灭的大

肠杆菌数量大致相同。这些研究发现并行联合技术杀菌效果优于单一技术,即存在“ $2>1$ ”的协同效应,但这些研究尚未探明两技术并行联合是否存在“ $1+1>2$ ”的协同增强效应。

本研究在单因素的基础上,以菌落死亡数量级为响应值,利用 Box-Behnken 设计原理,用两个单一技术杀菌效果回归方程之和与并行联合技术杀菌效果回归方程的 ΔI 量化表征协同效应。通过上述公式(1)~(4)得到协同项 ΔI 方程,若存在 ΔI 大于 0 的部分,由此可得出并行联合技术存在“ $1+1>2$ ”的协同增效作用。

协同增效作用可能由两方面造成:超高压直接作用细胞膜破坏细胞膜,让有效氯直接作用于细胞器、核酸等物质;超高压改变细胞膜的传质性能,使有效氯更易进入细胞,与胞内物质发生反应。超高压处理杀菌作用于微生物细胞的外部形态,主要引起微生物表面形变,甚至破裂从而导致微生物死亡^[22-23],但由于革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌细胞膜的差异会使 UHP 技术在相同参数强度下革兰氏阳性菌杀菌效果低于革兰氏阴性菌^[24]。UHP 会导致细胞膜发生形变,UHP 作用于孢子时会促使孢子萌发,所以在 UHP 处理后的贮藏期内需保持较低温度。超高压可以解离非共价键、离子键、疏水键和氢键,从而改变蛋白质的结构,致使蛋白质变性,可能会引起部分食品质地、成分发生变化^[25]。超高压处理还会引起部分果品颜色发生改变,且与压力大小有关^[26-27]。研究表明,SAEW 可有效杀灭细菌,是由于 SAEW 中的有效氯成分能够破坏细菌细胞膜结构,导致胞内物质大量溢出,破坏胞内核酸、蛋白质及脂质等物质,促进细胞死亡^[28-29]。由此推测 SAEW-UHP 并行联合可以在微生物致死过程中减少 SAEW 中有效氯成分作用于细胞膜,大部分有效氯直接作用于蛋白、核酸等物质,在相同工艺强度下显著增强其杀菌效果。同时也有研究表明超高压处理能提升膜结构的传质性能。种晓^[30]的研究表明抗菌复合蛋白薄膜超高压处理压力为 300 MPa,处理时间为 10 min,实验环境 40 °C 时,山梨酸钾的扩散系数达到 19.420×10^{-13} ,其扩散速率增加、达到平衡点的时间缩短;王旭^[31]在超高压条件下使用 NaCl 腌制羊腿肉发现,高压条件下腌制的食盐有效扩散系数都比对照组大,表明通过超高压腌制可以加快羊腿肉达到平衡点,缩短腌制时间。由此可推测在超高压条件下,SAEW 中的杀菌物质次氯酸在超高压处理下改变了细胞膜的传质性能使次氯酸更易进入细胞,直接作用于胞内物质,提升杀菌效果,使并行联合技术有“ $1+1>2$ ”的效果,但具体杀菌作用机制还需后续实验探究。

现今 SAEW 广泛应用于食品卫生、医疗卫生和农牧渔业等领域。2002 年,微酸性电解水被日本厚生省指定为食品杀菌剂,SAEW 在保证对人体无害的情况下还可以控

制果蔬表面微生物数量,延长货架期,同时具有成本低廉,易制取的特点,可以轻易实现大规模连续化加工^[16,32-33]。近年来,消费者对营养、食品的安全要求越来越高,随着 UHP 技术不断发展,部分企业已将 UHP 应用于水产品、肉制品、乳制品、果蔬及其制品的贮藏保鲜领域^[27,34]。SAEW 和 UHP 两种技术联用并无难度,在可应用于大规模食品生产中,特别在果蔬贮藏保鲜领域具有广阔的应用前景。

本研究独特之处在于量化了并行联合技术增强效应,精确找出增强效应工艺参数区间,使用较低加工强度得到较优杀菌效果,为其他并行联合杀菌技术实现精确加工、绿色加工提供理论方法和技术支持。

4 结论

SAEW-UHP 并行联合处理存在协同增效作用,在上述实验条件下 SAEW-UHP 并行联合技术的杀菌效果的增效区间料液比为 1:26.99~1:33.34 (g:mL),电解水浓度为 29.03~35.00 mg/L,处理时间为 5.27~6.83 min,压强为 295.57~400.00 MPa。通过对杀菌模型分析,当料液比 1:31.28 (g:mL),电解水浓度 34.25 mg/L,处理时间 6.79 min,压强 400.00 MPa 时,模型杀菌协同增效存在最大值,最大值为 1.87 lg(CFU/mL)。验证实验从协同增效区间内选取 5 组工艺参数,实验结果相对误差均小于 5%,表明模型对大肠杆菌杀菌预测准确;从协同增效区间内选取 1 组工艺参数对未用菌液染菌的新鲜三七进行处理,实验结果误差为 4.20%,表明 SAEW-UHP 并行联合技术杀菌模型同样适用于新鲜三七全菌落杀菌预测。本研究量化了并行联合技术增强效应,精确找出增强效应工艺参数区间,为其他并行联合杀菌技术实现精确加工,绿色加工提供理论方法和技术支持。

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 卫生部关于进一步规范保健食品原料管理的通知(2002 年第 51 号) [EB/OL]. (2002-02-28) [2002-03-11]. <http://www.nhc.gov.cn/wjw/gfxwj/201304/e33435ce0d894051b15490aa3219cdc4.shtml>
- [2] 彭佳丽,艾黎,唐湘华,等. 三七发酵食品的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(16): 378-385.
- [3] PENG JL, AI L, TANG XH, et al. Research progress of fermented food of *Panax notoginseng* [J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(16): 378-385.

- [3] 马妮, 高明菊, 周家明, 等. 不同干燥方法对三七切片皂苷含量的影响[J]. 特产研究, 2010, 32(3): 40–42.
MA N, GAO MJ, ZHOU JM, *et al.* Influence of different dehydrations on cotents of saponin in Sanqi slice [J]. Special Wild Economic Animal and Plant Research, 2010, 32(3), 40–42.
- [4] 刘珍珍, 谷萌萌, 张臣, 等. 基于高通量测序的三七微生物群落结构特征分析[J]. 中草药, 2020, 51(1): 204–209.
LIU ZZ, GU MM, ZHANG C, *et al.* Analysis of microbial community structure of *Panax notoginseng* based on high-throughput sequencing [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2020, 51(1): 204–209.
- [5] 马新雨, 毕秀芳, 任书凝, 等. 蓝莓复合果泥超高压和热杀菌的比较分析[J]. 现代食品科技, 2024, 40(4): 206–214.
MA XY, BI XF, REN SN, *et al.* Comparative analysis of ultra-high pressure and thermal sterilization of a blueberry-strawberry-apple puree [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(4): 206–214.
- [6] 徐梦洁, 刘霞. 非热物理杀菌技术在冷链食品中的应用研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(17): 144–152.
XU MJ, LIU X. Progress of research on the application of non-thermal physical sterilization technology in cold chain food [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(17): 144–152.
- [7] PATRIGNANI F, LANCIOTTI R. Applications of high and ultra high pressure homogenization for food safety [J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 1132.
- [8] 胡杰, 石启丽, 冯文伦. 非热杀菌技术及其在各食品领域中的应用[J]. 食品安全导刊, 2024(14): 129–135.
HU J, SHI QL, FENG WL. Non-thermal sterilization technology and its application in various food fields [J]. China Food Safety Magazine, 2024(14): 129–135.
- [9] 魏奇, 张懿莹, 吴艳钦, 等. 酸性电解水在食品中的应用及其保鲜作用的研究进展[J]. 食品工业, 2022, 43(6): 279–283.
WEI Q, ZHANG SY, WU YQ, *et al.* Recent advance on the research of acidic electrolyzed water in food products and its preservation mechanism [J]. Food Industry, 2022, 43(6): 279–283.
- [10] RAMACHANDRAN C, KYOUNG-HEE J, PIANPIAN Y, *et al.* Unravelling the sanitization potential of slightly acidic electrolyzed water combined *Thymus vulgaris* based nanoemulsion against foodborne pathogens and its safety assessment [J]. Food Control, 2023, 1: 146.
- [11] LIU XF, SUN XJ, CHEN XQ, *et al.* Effect of slightly acidic electrolyzed water combined with ultrasound sterilization on quality of bigeye tuna during cryogenic storage [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2023, 1: 115.
- [12] ZHANG JD, CHENG JX, LI ZX, *et al.* Effects of ultra-high pressure, thermal pasteurization, and ultra-high temperature sterilization on color and nutritional components of freshly-squeezed lettuce juice [J]. Food Chemistry, 2024, 435: 137524.
- [13] CHEN Z, XIN YZ, LI HC, *et al.* Changes in quality characteristics based on protein oxidation and microbial action of ultra-high pressure-treated grass carp (*Ctenopharyngodonidella*) filets during magnetic field storage [J]. Food Chemistry, 2023, 1: 434.
- [14] LIU M, GAO Y, SHEN R, *et al.* Preparation of bovine hides gelatin by ultra-high pressure technique and the effect of its replacement fat on the quality and *in vitro* digestion of beef patties [J]. Foods, 2023, 12(16). DOI: 10.3390/foods12163092
- [15] 庞文婷, 李思佳, 尹家辉, 等. 中温微酸性电解水并联对鲜切苹果贮藏品质的影响[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2023, 38(6): 997–1005.
PANG WT, LI SJ, YIN JH, *et al.* Effect of medium temperature slightly acidic electrolyzed water in parallel on storage quality of fresh-cut apple [J]. Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science), 2023, 38(6): 997–1005.
- [16] 程博, 张宏博, 康宁波, 等. 微酸性电解水在采后果蔬保鲜中的作用机理及研究进展 [J/OL]. 食品与发酵工业, 1–12. [2024-12-20]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.040271>
CHENG B, ZHANG HB, KANG NB, *et al.* Mechanism and research progress of slightly acidic electrolytic water in postharvest fruit and vegetable preservation [J/OL]. Food and Fermentation Industries, 1–12. [2024-12-20]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.040271>
- [17] 高晴, 刘培红, 冉苒, 等. SAEW-US 并行联合处理对鲜切生菜表面 *E. coli* 杀菌效果的影响 [J/OL]. 食品科学, 1–11. [2024-12-20]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20231020.1540.020.html>
GAO Q, LIU PH, RAN R, *et al.* SAEW-US parallel processing on bactericidal effect of *E.coli* on the surface of fresh cut lettuce [J/OL]. Food Science, 1–11. [2024-12-20]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20231020.1540.020.html>
- [18] 张秋婷, 林素丽, 朱松明, 等. 超高压与微酸性电解水结合对鲜切果蔬的杀菌效果研究[J]. 农业机械学报, 2017, 48(3): 338–344.
ZHANG QT, LIN SL, ZHU SM, *et al.* Combined effect of high pressure and slightly acidic electrolyzed water on sterilization of fresh-cut fruits and vegetables [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2017, 48(3): 338–344.
- [19] 李富荣. 碘量法测定钠法次氯酸钙中有效氯含量[J]. 无机盐工业, 2002(1): 42–44.
LI FR. Determination of content of active chlorine in sodium-method calcium hypochlorite by iodimetry [J]. Inorganic Chemicals Industry, 2002(1): 42–44.
- [20] 李佳, 钟洪亮, 丁甜, 等. 超声联合微酸性电解水处理克氏原螯虾条件优化及对其品质影响[J]. 包装工程, 2024, 45(3): 139–146.
LI J, ZHONG HL, DING T, *et al.* Optimization of ultrasound and slightly acidic electrolyzed water for crayfish treatment and its effect on quality during storage [J]. Packaging Engineering, 2024, 45(3): 139–146.
- [21] 孔金花, 诸永志, 葛庆丰, 等. 超声波协同微酸性电解水对小龙虾净化及品质的影响[J]. 食品工业科技, 2021, 42(21): 182–189.
KONG JH, ZHU YZ, GE QF, *et al.* Effect of ultrasonic and slightly acidic electrolyzed water on the purification and quality of crayfish [J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(21): 182–189.
- [22] ARQUÉS JL, GARDE S, GAYA P, *et al.* Short communication: Inactivation of microbial contaminants in raw milk La Serena Cheese by

- high-pressure treatments [J]. *Journal of Dairy Science*, 2006, 89(3): 888–891.
- [23] KAZUTAKA YAMAMOTO, ZHANG X, TAKASHI INAOKA. Bacterial injury induced by high hydrostatic pressure [J]. *Food Engineering Reviews*, 2021, 13(3): 1–12.
- [24] 李仁杰, 王永涛, 廖小军. 超高压对食品中微生物的影响[J]. *食品安全质量检测学报*, 2014, 5(8): 2523–2531.
- LI RJ, WANG YT, LIAO XJ. Effects of high hydrostatic pressure on microorganisms in foods [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2014, 5(8): 2523–2531.
- [25] 陈梦婷, 郑昌亮, 汪兰, 等. 超高压技术在蛋白质改性和活性肽制备中的应用研究进展[J]. *食品科学*, 2023, 44(5): 298–304.
- CHEN MT, ZHENG CL, WANG L, *et al.* Progress in the application of ultra-high pressure technology in protein modification and bioactive peptide preparation [J]. *Food Science*, 2023, 44(5): 298–304.
- [26] 胡爱军, 王威, 于作昌, 等. 超高压技术在果品加工中的应用研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2024, 45(2): 212–217.
- HU AIJ, WANG W, YU ZC, *et al.* Research progress on application of ultra-high pressure technology in fruit processing [J]. *Food Research and Development*, 2024, 45(2): 212–217.
- [27] 庞晨璐, 路新如, 李怀宇, 等. 超高压技术在果蔬产品中的应用研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2024, 45(17): 204–210.
- PANG CL, LU XR, LI HY, *et al.* Research progress on applications of ultra-high pressure technology in fruit and vegetable products [J]. *Food Research and Development*, 2024, 45(17): 204–210.
- [28] LIU L, LAN W, WANG Y, *et al.* Antibacterial activity and mechanism of slightly acidic electrolyzed water against *Shewanella putrefaciens* and *Staphylococcus saprophytic* [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2022, 592: 44–50.
- [29] YE Z, WANG S, CHEN T, *et al.* Inactivation mechanism of *Escherichia coli* induced by slightly acidic electrolyzed water [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 6279.
- [30] 种晓. 抗菌复合蛋白薄膜的静态超高压改性及其传质迁移研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2018.
- ZHONG X. The study on static ultrahigh pressure modification and mass transfer of antibacterial composite protein films [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2018.
- [31] 王旭. 超高压腌制对羊腿肉品质影响及传质动力学研究[D]. 宁夏: 宁夏大学, 2016.
- WANG X. The study on the effect of ultra-high pressure curing on the quality of mutton leg and its mass transfer kinetics [D]. Ningxia: Ningxia University, 2016.
- [32] 蓝蔚青, 刘淑婷, 谢晶. 水产品保鲜方式的应用研究进展[J]. *肉类研究*, 2024, 38(7): 55–62.
- LAN WQ, LIU ST, XIE J. Research progress on the application of preservation techniques for aquatic products [J]. *Meat Research*, 2024, 38(7): 55–62.
- [33] 张忠亮. 酸性电解水在食品行业的应用研究[J]. *中国洗涤用品工业*, 2023(5): 16–21.
- ZHANG ZL. Application of acid electrolytic water in food industry [J]. *China Cleaning Industry*, 2023(5): 16–21.
- [34] 杨洪新. 农产品超高压加工技术研究与发展[J]. *粮油与饲料科技*, 2024(3): 182–184.
- YANG HX. Research and development of ultra-high pressure processing technology for agricultural products [J]. *Grain Oil and Feed Technology*, 2024(3): 182–184.

(责任编辑: 蔡世佳 于梦娇)