

高压脉冲电场对植物乳杆菌的杀菌效果及三种模型的比较分析

钟葵, 吴继红, 廖小军*, 胡小松

(中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘要: 研究了高压脉冲电场(pulsed electric field, PEF)对接种于苹果汁中植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)的杀菌效果并应用三种模型进行了分析。结果表明, 随电场强度和脉冲时间增加, PEF对植物乳杆菌的杀灭效果增强, 34 kV/cm、1050 μ s时植物乳杆菌最大降低了4.135个数量级。Hülsheger模型、Weibull模型和Log-Logistic模型均能很好地拟合PEF处理植物乳杆菌的失活曲线, 五个模型评价参数, 精确因子(Af), 偏差因子(Bf), 根平方和(SS), 根平方方差($RMSE$)和决定系数(R^2)分析表明三个模型中, Log-Logistic模型最好地拟合了PEF处理下植物乳杆菌失活动力学变化。

关键词: 高压脉冲电场(PEF); 苹果汁; 植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*); 模型分析

中图分类号: TS201.3; TS261.1*7

文献标识码: A

文章编号: 1002-6819(2006)11-0238-06

钟葵, 吴继红, 廖小军, 等. 高压脉冲电场对植物乳杆菌的杀菌效果及三种模型的比较分析[J]. 农业工程学报, 2006, 22(11): 238-243.

Zhong Kui, Wu Jihong, Liao Xiaojun, et al. Inactivation effect of pulsed electric field on *Lactobacillus plantarum* in apple juice and comparative analyses of three models[J]. Transactions of the CSAE, 2006, 22(11): 238-243. (in Chinese with English abstract)

0 引言

微生物污染是引起果蔬汁变质最常见和最容易发生的原因。乳酸菌属(*Lactobacillus*)是导致果蔬汁腐败变质的微生物菌属之一。通常存在于果蔬的叶片和果实中, 在果蔬榨汁时随汁液进入果蔬汁中。它在厌氧条件下也能迅速繁殖, 利用果蔬汁中的有机酸如苹果酸、柠檬酸等生长, 产生乳酸、二氧化碳、琥珀酸等, 如在苹果汁中还可以产生丁二酮、醋酸、乙偶姻等, 引起腐败变质。某些乳酸菌使果蔬汁中的糖类发生黏稠状变质, 甚至在果蔬汁中发酵可形成多糖, 导致果蔬汁变得黏稠^[1]。Shearer-AEH等研究发现在酸败或酸化的产品中检测到发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum*)和植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)^[2]。

高压脉冲电场(PEF)是国内外食品工艺学专家、微生物专家等广泛注意和高度重视的一项非热杀菌技术。PEF在杀死食品中腐败菌和致病菌的同时最大限度地保持了食品的风味、色泽和营养成分。有关PEF对微生物杀灭效果的研究报道很多, 对很多导致食品腐败变质的致病菌和腐败菌都有很好的杀菌效果^[3-5]。

微生物杀灭效果的数学模型是研究杀菌技术的理论关键之一, 对其实际应用具有理论指导意义。目前PEF杀菌数学模型尚不清楚, 因此寻找一个可靠的数学模型来精确描述不同处理环境下PEF作用后微生物

失活动力学变化则是PEF杀菌技术的研究重点和难点。一级动力学模型是至今最为经典的杀菌模型, 描述了微生物残存率数量级和处理时间的线性关系。但大量实验数据表明PEF作用下微生物存活曲线并不符合一级动力学模型^[3, 6-8]。Hülsheger等^[6]提出了 $\ln S = -b_E(E - E_c)$ 和 $\ln S = -b_t \ln(t/t_c)$ 模型($S: N/N_0$, N_0 和 N 分别是PEF处理前后微生物的数量; b_t, b_E : 回归系数; E : 电场强度; E_c : 临界电场强度; t : 脉冲处理时间; t_c : 临界脉冲处理时间)。Peleg^[7]提出另一种模型来分析微生物的残存率 S 与电场强度间的对应关系, $S = 1/(1 + e^{(E - E_c)/k})$ ($S: N/N_0$, N_0 和 N 分别是PEF处理前后微生物的数量; k : 动力常数; E : 电场强度; E_c : 临界电场强度)。随PEF相关杀菌效果研究不断深入, 上述三个数学模型逐渐为许多PEF研究人员所接受, 大量试验数据也证明了这些模型能够很好地拟合PEF作用下微生物失活的动力学变化^[3, 6-8]。但研究表明这三个模型更适合分析PEF杀菌效果不超过4个数量级的微生物^[9]。越来越多数据表明PEF能有效降低4个数量级以上的微生物^[3], 因此需要用寻找更为适合的数学模型来分析PEF作用下微生物失活的动力学变化。近年来Weibull模型^[10]和Log-Logistic^[11]模型被应用分析PEF处理下微生物失活曲线, 研究结果表明这两个模型能较好地拟合PEF处理下微生物失活曲线^[9, 12-13], 其中包括杀菌效果超过4个数量级的微生物。但目前尚缺乏足够的实验结果来证明这两个模型都能较好地表示不同处理环境下PEF处理后微生物失活动力学变化, 同时对这些模型拟合度也没有精确的评价和比较。

本试验以还原苹果清汁为处理介质, 采用Hülsheger、Weibull和Log-Logistic三个模型分析PEF作用下植物乳杆菌失活动力学变化, 并通过模型分析参数($Af, Bf, SS, RMSE, R^2$)评价模型的拟合程度, 寻找最能拟合PEF处理下微生物失活曲线的数学模型,

收稿日期: 2006-03-10 修订日期: 2006-09-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30371003)

作者简介: 钟葵(1979-), 女, 湖北黄石人, 博士, 主要从事农产品加工及贮藏方面研究。北京 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 100083。Email: Nancy2012@163.com

*通讯作者: 廖小军(1966-), 男, 江西新余人, 教授, 博士生导师, 研究方向为非热力加工和果蔬加工技术及产品研发等方面。北京 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 100083。

Email: liaoxjun@263.net

为 PEF 杀菌效果数学模型研究丰富数据。

1 材料与方法

1.1 苹果汁制备

烟台北方安德利果汁股份有限公司的浓缩苹果清汁, 可溶固形物含量为 72 °Brix, 试验前用去离子水还原到 11.5 °Brix, 电导率为 1.85 mS/cm, 121 °C 下灭菌 15 min, 冷却后放置 4 °C 下, 待用。

1.2 微生物菌种

试验目标微生物植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*) 是从烟台北方安德利果汁股份有限公司浓缩苹果清汁生产线上取样分离纯化得到, 经过法国 BioMerieux 公司 API 50 CHL 鉴定系统鉴定是植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*)。

1.3 MRS 培养基

MRS 液体培养基: 蛋白胨, 10.0 g; 牛肉膏, 10.0 g; 酵母膏, 5.0 g; 葡萄糖, 20.0 g; K_2HPO_4 , 2.0 g; $NaOAc$, 5.0 g; $MgSO_4$, 0.2 g; $MnSO_4$, 0.05 g; 吐温-80, 1.0 g; 柠檬酸三铵, 2.0 g; 蒸馏水, 1000 mL, pH 值, 5.5~6.0, 121 °C 下灭菌 20 min (MRS 固体培养基: 在液体培养基基础上添加 2.0% 的琼脂)。冷却后放置 4 °C 下, 待用。

1.4 微生物的培养

取 MRS 液体培养基 50 mL, 用接种环刮取一环植物乳杆菌到 MRS 液体培养基中, 37 °C 下培养 24 h。培养好的菌液再用 450 mL 灭菌过的苹果原汁 (11.5 °Brix) 稀释, 使苹果汁中微生物的数量达到 $106 \sim 108$ cfu/mL, 待用。

1.5 微生物数量测定

微生物的检测采用平板计数法。所用培养基是 MRS 培养基。

杀菌效果采用残活率对数值来表示, 残活率对数值计算采用如下公式

$$\lg S = \lg(N/N_0)$$

式中 S ——微生物残存率; N ——脉冲电场处理后的微生物数, cfu/mL; N_0 ——脉冲处理前的微生物数, cfu/mL。

1.6 PEF 系统装置

试验使用的高压脉冲电场杀菌试验装置为自行设计。图 1 是高压脉冲电场杀菌试验装置图。主要由高压发生装置、高压脉冲发生装置处理室、蠕动泵、物料贮罐和冷却部分构成, 其中高压脉冲发生装置和处理室是装置的关键。物料在蠕动泵作用下按箭头所示方向流动, 即物料贮罐→蠕动泵→高压脉冲处理室→无菌贮罐。本装置的特点: 物料贮罐安装在一个能够进行紫外消毒的相对密闭环境中, 可以减少环境的不卫生引起的污染; PEF 处理室的室壁是夹层, 与泵和冷却装置相连, 通过冰水浴来有效控制 PEF 处理时导致的物料温升, 使 PEF 处理时物料温度升高最高不超过 20 °C。温度计及时监控处理室出口温度。高压脉冲电场系统处理参数见表 1。

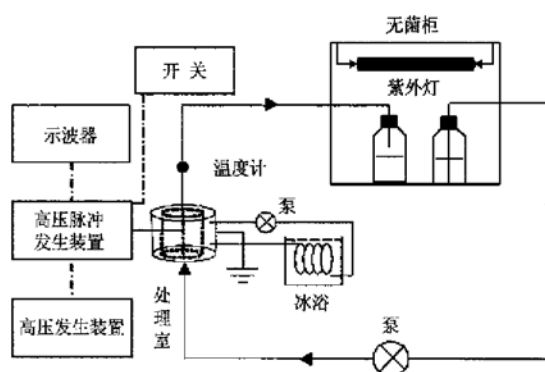


图 1 PEF 试验装置图

Fig. 1 Schematic diagram of the Pulsed Electric Field (PEF) test equipment

表 1 高压脉冲电场处理参数

Table 1 Parameters of PEF treatment

电极	波形	电容 /μF	脉宽 /μs	频率 /Hz	处理室参数		初始物料 温度/°C
					容量 /mL	间距 /cm	
同轴式	衰减波	0.5	2.5	1	110	0.5	15~17

试验装置的清洗方法: 回路先用 60~70 °C、2% NaOH 循环 5 min, 然后用无菌水清洗 5 min, 30 μg/L 二氧化氯溶液循环 5 min, 再无菌水清洗 5 min。每次试验处理都按程序进行清洗处理。

1.7 试验方案设计

PEF 电场强度对植物乳杆菌活性影响试验设计了 5 个电场强度, 分别为 10、12、26、30 和 34 kV/cm; 脉冲时间对植物乳杆菌活性影响试验设计了 5 个脉冲时间, 分别为 250、338、500、625 和 1050 μs。

1.8 微生物杀灭效果动力学模型

1.8.1 Hulsheger 模型

此模型是 Hulsheger^[6]等提出。

$$\ln S = -b \ln(t/t_c) \quad (1)$$

式中 $S: N/N_0$ (N_0 和 N 分别是 PEF 处理前后微生物的数量, cfu/mL); b ——回归系数; t ——脉冲处理时间, μs; t_c ——临界脉冲处理时间, μs。

1.8.2 Weibull 模型

此模型是 Weibull 等提出^[10]。

$$\ln(S) = -\left(\frac{t}{a}\right)^b \quad (2)$$

式中 a 和 b ——分别是比例因子 (scale factor), μs 和形状因子 (shape factor)。

1.8.3 Log-Logistic 模型

Log-Logistic 模型是 Cole 等提出^[11]。

$$\lg_{10}(S) = \frac{\bar{\omega} - \partial}{1 + \exp \frac{4\sigma(\tau - \lg_{10} \partial)}{\bar{\omega} - \partial}} \quad (3)$$

式中 ∂ ——上渐近线 (upper asymptote), $\lg(\text{cfu/mL})$; $\bar{\omega}$ ——下渐近线 (lower asymptote), $\lg(\text{cfu/mL})$; σ ——失活曲线的最大斜率 (maximum

slope of the inactivation curve); τ ——失活曲线达到最大斜率时的数量级时间(log time at which the maximum slope is reached), lg μ s, 决定曲线的位置。

1.9 模型评价参数

Af 、 Bf 、 SS 、 $RMSE$ 和 R^2 五个参数通常作为一种定量的方法来评价模型^[12, 14-16]。 Af (Accuracy factor) 是精确因子, 表示预测值和实测值的偏离度; Bf (Bias factor) 是偏差因子, 表示实测值是大于预测值($Bf > 1$) 或者小于预测值($Bf < 1$) 或者等于预测值($Bf = 1$); SS 是根平方和; $RMSE$ 是根平均方差。公式如下

$$Af = 10^{(\sum |lg(\text{预测值}/\text{实测值})|/n)} \quad (4)$$

$$Bf = 10^{(\sum lg(\text{预测值}/\text{实测值})/n)} \quad (5)$$

$$SS = \sum (\ln \frac{\text{实测值}}{\text{预测值}})^2 \quad (6)$$

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum (\text{实测值} - \text{预测值})^2}{n-1}} \quad (7)$$

式中 n ——计算中实测值的个数; 实测值和预测值分别是试验实际测定的 S 值和模型拟合得到的 S 值。

以微生物残存率实测值为横坐标, 残存率模型值为纵坐标作图, R^2 是模型值和实测值拟合得到直线的决定系数。

1.10 数据统计分析

数据分析采用方差分析(ANOVA), 所有试验均重复三次。用 OriginPro 7.5 统计分析有数据并制图。

2 结果分析与讨论

2.1 不同电场强度和脉冲时间对植物乳杆菌杀菌效果影响

图 2 是不同电场强度和脉冲时间下 PEF 对植物乳杆菌杀灭效果图, 图中可见随 PEF 脉冲时间和电场强度增加 PEF 对植物乳杆菌杀灭效果逐渐增强, 不同电场强度和脉冲时间之间差异显著 ($p < 0.05$)。电场强度为 10 kV/cm 时, 随脉冲时间增加 lgS 下降, 但降幅较慢, 脉冲时间从 250 μ s 增加至 1050 μ s 时 lgS 仅继续下降 0.395 个数量级。当电场强度增强至 16 kV/cm 或更高时, 随脉冲时间增加杀菌效果显著增强 ($p < 0.05$)。电场强度分别为 16、26、30 和 34 kV/cm, 脉冲时间从 250 μ s 增加至 1050 μ s 时, 植物乳杆菌 lgS 分别继续下降 0.715、1.036、1.133 和 1.306 个数量级。当电场强度高于 26 kV/cm, 脉冲时间较短时不同电场强度之间 PEF 杀菌效果差异不显著 ($p > 0.05$); 随脉冲时间进一步延长不同电场强度之间 PEF 杀菌效果差异显著 ($p < 0.05$)。34 kV/cm、1050 μ s 时植物乳杆菌最大降低了 4.135 个数量级。

Ragip 等^[17]研究发现 20 kV/cm、146.5 μ s 时 0.1% NaCl 缓冲液中赖氏乳杆菌降低了 1.5 个数量级; García 等^[18]发现 25 kV/cm、300 个脉冲时柠檬酸-磷酸缓冲液中植物乳杆菌下降不到两个数量级, 而且 pH 值从 7.0 下降到 4.0 时对杀菌效果影响不显著 ($p > 0.05$)。Jayaram 等^[19]发现短乳杆菌在 25 kV/cm、

10000 μ s 的磷酸缓冲液中最大降低了 9 个数量级。这种结果上的差异是由于处理条件的不同导致。在我们其它的研究中, 发现相同处理条件下, PEF 对大肠杆菌和酿酒酵母的处理效果优于植物乳杆菌, 对扩展青霉的杀灭效果不如植物乳杆菌, 杀菌效果为: 酿酒酵母 > 大肠杆菌 > 植物乳杆菌 > 扩展青霉, 这个结果与前人结果吻合^[5]。

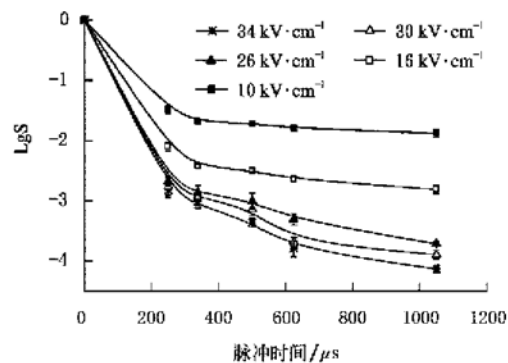


图 2 PEF 不同电场强度和脉冲时间对植物乳杆菌杀菌效果的影响

Fig. 2 Effects of the electric field strength and the treatment time on the inactivation of *Lactobacillus plantarum* in the apple juice

2.2 不同电场强度和脉冲时间对菌液温度变化的影响

PEF 处理会导致物料温度升高, 表明 PEF 处理过程中存在热效应。虽然物料温度越高杀菌效果越好, 但关于这部分热效应对杀菌效果是否存在影响的相关研究则较少。图 3 是 PEF 处理后菌液温度变化图。由图可见, 随脉冲时间和电场强度增加, 物料温度显著升高 ($p < 0.05$)。

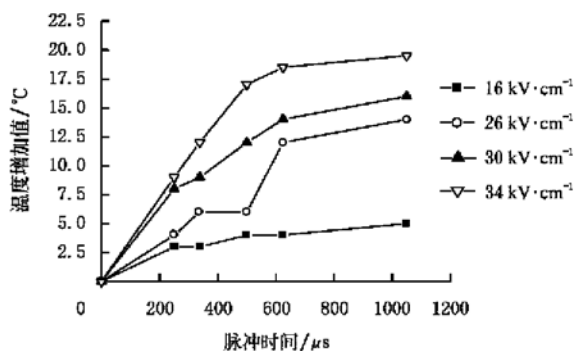


图 3 PEF 不同电场强度和脉冲时间处理后菌液温度变化

Fig. 3 Variations of the temperature of apple juice treated by PEF with varied electric field strength and the treatment time

低电场强度时, 随脉冲时间延长物料温度升高, 但增加值较小。电场强度为 16 kV/cm、脉冲时间从 250 μ s 延长到 1050 μ s 时菌液温度增加值都控制在 5℃以下。由于初始物料温度在 15~17℃, 所以 PEF 16 kV/cm 处理后物料温度不超过 22℃。

随电场强度增强, 物料温度增加值逐渐增大。脉冲时间为 250 μ s、电场强度为 30 和 34 kV/cm 时物料温

度增加值分别为 8℃ 和 9℃。随脉冲时间延长物料温度增加值进一步增大, 但增幅减缓。如电场强度为 30 和 34 kV/cm, 当脉冲时间从 250 μ s 延长到 625 μ s 时物料温度增加值继续增加了 6℃ 和 9.5℃, 而当脉冲时间继续从 625 μ s 延长到 1050 μ s 时物料温度增加值仅分别继续增加了 2℃ 和 1.5℃。

电场强度为 34 kV/cm、脉冲时间为 1050 μ s 时菌液温度增加值最大, 为 19.5℃。由于初始物料温度在 15 ~ 17℃, 所以 PEF 处理后菌液温度最高不超过 37℃。37℃ 的温度不会杀死乳酸杆菌, 因此 PEF 的杀菌作用主要是非热杀菌效应, 但热效应和非热效应之间是否存在协同效应需要进一步研究。

2.3 Hulsheger 模型、Weibull 模型和 Log-Logistic 模型分析

表 2 Hulsheger 模型、Weibull 模型和 Log-Logistic 模型分析植物乳杆菌杀灭效果的动力学参数
Table 2 Kinetics parameters calculated by Hulsheger model, Weibull model and Log-Logistic model for the survival rates of *Lactobacillus plantarum* treated by PEF

电场强度 /kV · cm ⁻¹	Hulsheger 模型			Weibull 模型			Log-Logistic 模型				
	t_c / μ s	b_i	R^2	a / μ s	b	R^2	$\hat{\omega}$ /lg(cfu · mL ⁻¹)	$\bar{\omega}$ /lg(cfu · mL ⁻¹)	τ /lg μ s	σ	R^2
10	12.85	0.579	0.899	0.267	0.274	0.976	-2.8	-4.231	2.724	-3.322	0.988
16	9.947	1.071	0.931	0.183	0.255	0.931	-2.845	-3.902	2.738	-6.08	0.985
26	6.487	1.662	0.968	0.087	0.228	0.977	-2.633	-3.983	2.809	-3.282	0.987
30	2.279	1.944	0.928	0.048	0.189	0.909	20.6	-3.03	0.958	-13.137	0.963
34	0.541	12.177	0.976	0.051	0.149	0.879	20.15	-1.931	1.084	-16.449	0.952

1) 表 2 数据表明不同电场强度下 Hulsheger 模型拟合值的相关系数 R^2 高达 0.899 以上, 说明 Hulsheger 模型很好拟合了 PEF 植物乳杆菌失活曲线。随电场强度增强, 乳杆菌 t_c 值逐渐降低, b_i 值逐渐增加, 电场强度从 10 kV/cm 增强至 34 kV/cm 时乳杆菌的 t_c 值由 12.850 μ s 降为 0.541 μ s, b_i 值由 0.579 增加到 12.177。

t_c 是临界脉冲时间, 是特定电场强度下微生物的存活率刚刚低于 100% 时的所需要的脉冲时间。一定电场强度下, 只有脉冲时间高于 t_c , PEF 对微生物才有杀灭效果。 b_i 是微生物对 PEF 敏感性的动力参数, b_i 越大表明杀菌效果越好。本试验中, 随电场强度增强乳杆菌 t_c 值逐渐降低, b_i 值逐渐增加, 表明随电场强度增强植物乳杆菌对电场敏感性增大, 杀菌效果逐渐增强, 与图 2 结果吻合。

大量试验数据表明模型能够较好拟合 PEF 作用下多种微生物失活的动力学变化, 而且随电场强度增强微生物值逐渐降低, b_i 值逐渐增加^[3,6]。本文中, Hulsheger 模型分析植物乳杆菌失活曲线得到的参数 t_c 和 b_i 的变化趋势与前人研究结果吻合。Rodrigo 等^[13]研究发现 25 kV/cm 时, 植物乳杆菌的 t_c 值是 24.30 μ s, 比本试验中 t_c 值大。

2) 不同电场强度下 Weibull 模型拟合值的相关系数 R^2 高达 0.879 以上, 表明 Weibull 模型很好拟合了植物乳杆菌失活曲线。当电场强度从 10 kV/cm 增强到 34 kV/cm 时, 比例因子 a 从 0.267 μ s 下降到 0.051

图 2 可见, 脉冲时间较短时植物乳杆菌的残存率下降很快; 随脉冲时间进一步延长下降速率减慢。研究结果表明 PEF 作用下植物乳杆菌的残存率变化与脉冲时间之间并非线性关系, 证明 PEF 下植物乳杆菌存活曲线并不符合一级动力学模型。其他研究者的试验数据也显示 PEF 下许多微生物存活曲线并不符合一级动力学模型^[3,6-8], 进一步证明传统的一级动力学模型不适应 PEF 对微生物的杀菌效果分析。

为了更好的了解 PEF 作用下植物乳杆菌失活动力学, 我们运用 Hulsheger 模型、Weibull 模型和 Log-Logistic 模型来拟合图 2 中植物乳杆菌的失活曲线。表 2 分别列出 Hulsheger 模型、Weibull 模型和 Log-Logistic 模型拟合植物乳杆菌失活曲线数据的动力学参数值。

μ s, 形状因子 b 变化范围是 0.149 到 0.274。

a 因子通常认为是速度常数, b 因子通常代表失活曲线的形状, 当 $b < 1$ 时失活曲线是凹面, $b > 1$ 时失活曲线是凸面, 当 $b = 1$ 时失活曲线是一条直线, 即一级动力学反应^[13]。因此本试验数据表明 PEF 下植物乳杆菌的失活曲线是凹面, 与图 2 吻合。Alvarez 等^[12]用 Weibull 模型分析 PEF 作用下大肠杆菌失活曲线发现随着电场强度增强, a 值迅速下降, b 值变化范围是 0.488 ~ 0.579, 远小于 1, 与本试验结果吻合, 同样也证明了 PEF 作用下微生物的失活曲线不符合一级动力学模型。前期研究中 Weibull 模型分析 PEF 作用下大肠杆菌与酿酒酵母的失活曲线得到类似结果, a 值迅速下降, b 值远小于 1。但在 Rodrigo 等^[13]研究中发现当用 Weibull 模型分析 PEF 作用下植物乳杆菌失活曲线时, b 值为 0.88 ~ 1.14, 接近 1, 表明较为符合一级动力学反应。

3) Log-Logistic 模型拟合得到的决定系数 R^2 高达 0.952 ~ 0.988, 表明 Log-Logistic 模型同样较好拟合了 PEF 处理乳杆菌失活数据。

Log-Logistic 模型最初用于研究热处理导致的微生物营养体细胞和芽孢菌的失活^[20-21]。Log-Logistic 模型的拟合是基于微生物对外界处理的敏感性不同, 由于微生物对电场强度存在敏感性分布, 因此也可以用于分析 PEF 处理下微生物失活动力学研究。 τ 值的变化一般用于评价处理参数(如热处理中处理温度; PEF 处

理中电场强度)对微生物杀菌效果的影响。

最初研究者发现微生物营养体细胞热失活温度和 τ 值之间存在着线性关系,但 Anderson 等^[21]发现对于芽孢菌热失活温度和 τ 值之间存在着二次项的关系。同样,在我们的试验结果中,电场强度 E 和 τ 值之间也存在着二次项关系,决定系数 R^2 为 0.843,其方程为 $\tau = 0.0013E^2 + 0.146E - 0.4968$ (E : 对应的电场强度, kV/cm)。Raso 等^[24]和前期试验也发现电场强度和 τ 值之间存在着二次项关系。

决定系数 R^2 可以反映模型和试验数据的拟合度。表 2 数据表明在本试验电场强度下 3 个模型都能较好

的拟合植物乳杆菌的失活曲线。

2.4 Hulsheger 模型、Weibull 模型和 Log-Logistic 模型评价

图 4 是植物乳杆菌杀菌效果预测值和实测值比较图,以实测数据为横坐标,模型预测数据为纵坐标,发现预测值和实测值之间有较好相关性,决定系数 R^2 分别是 0.988、0.988 和 0.996, Hulsheger 模型、Weibull 模型和 Log-Logistic 模型拟合得到的方程分别为 $y = -0.031 + 0.989x$ 、 $y = 0.028 + 0.990x$ 和 $y = 0.003 + 0.998x$ 。

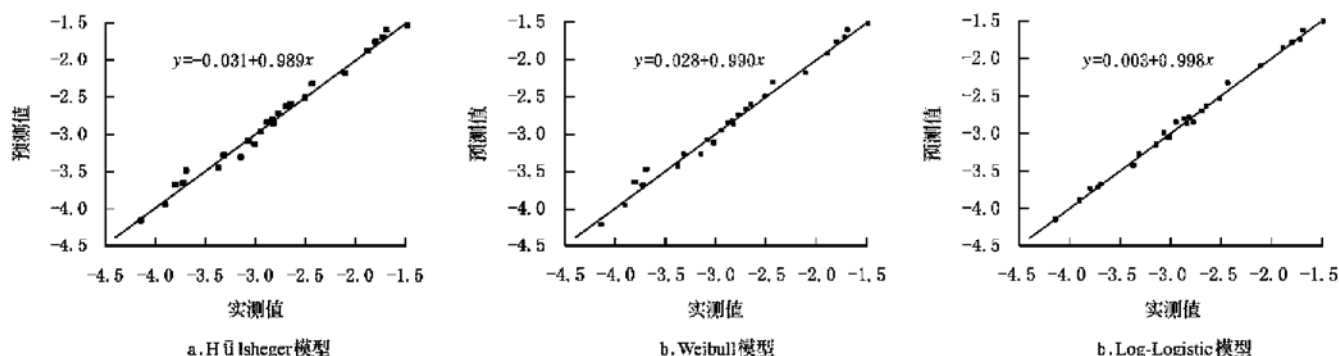


图 4 植物乳杆菌杀菌效果预测值和真实值比较

Fig. 4 Correlation between the observed data and the predicted data for inactivation effects obtained with Hulsheger model, Weibull model and Log-Logistic model

表 3 Hulsheger 模型、Weibull 模型和 Log-Logistic 模型评价参数比较

Table 3 Comparison of the of evaluation indices of Hulsheger model, Weibull model and Log-Logistic model					
模型	Af	Bf	SS	$RMSE$	R^2
Hulsheger 模型	1.143	1.000	0.767	0.118	0.988
Weibull 模型	1.143	0.998	0.802	0.081	0.988
Log-Logistic 模型	1.087	0.993	0.277	0.048	0.996

表 3 列出了 Hulsheger 模型、Weibull 模型和 Log-Logistic 模型的模型评价参数 Af 、 Bf 、 SS 、 $RMSE$ 和 R^2 ,通过对这 5 个参数的比较可以分析 3 个模型拟合性能。参数 Af 和 Bf 表示模型的性能^[12,14], Af 值越小, Bf 值越接近 1,模型拟合度越高; SS 表示模型的精确度^[15], SS 越小,模型精确度越高,拟合度越好;相关系数 R^2 和 $RMSE$ 表示模型的可靠度^[12,16], R^2 越大, $RMSE$ 越小,模型拟合度越高。表 3 表明,Log-logistic 模型的 Af 、 SS 和 $RMSE$ 分别为 1.087、0.277 和 0.048,都小于 Hulsheger 模型和 Weibull 模型得到的参数值;Log-logistic 模型实测值和模型值相关系数 R^2 是 0.996,略大于 Hulsheger 模型和 Weibull 模型的决定系数 R^2 (0.988)。Log-logistic 模型的偏差因子 Bf 等于 0.993,不如 Hulsheger 模型和 Weibull 模型的 Bf 值(1.000 和 0.998)更加接近 1。Hulsheger 模型的 SS 和 $RMSE$ 小于 Weibull 模型的值, Af 和 R^2 值与 Weibull 模型的值相等。因此,整体而言,3 个模型中 Log-

logistic 模型最好地拟合植物乳杆菌的失活曲线。

3 结论与讨论

在本研究中,随电场强度增强和脉冲时间增加,PEF 对植物乳杆菌的杀菌效果逐渐增强。34 kV/cm、1050 μ s 时植物乳杆菌最大降低了 4.135 个数量级。Hulsheger 模型、Weibull 模型和 Log-Logistic 模型都能较好的拟合植物乳杆菌的失活曲线,Log-logistic 模型拟合度最好。

Log-Logistic 模型在 PEF 研究中应用较少。Raso 等^[9]首次将这个模型应用 PEF 杀菌效果研究中,并发现这个模型很好拟合了 PEF 处理下沙门氏菌的失活曲线。前期研究中我们发现此模型很好拟合了 PEF 处理下大肠杆菌和酿酒酵母的失活曲线。同样在本研究中 Log-logistic 模型最好地拟合了 PEF 处理后植物乳杆菌的失活动力学曲线。但是此模型是否适用不同处理环境下 PEF 处理后微生物失活动力学研究仍需要更多的不同处理条件下的试验数据来证明。

本研究结果丰富了 PEF 杀菌效果数学模型研究的数据。目前尚没有明确数学模型用于分析 PEF 杀菌动力学变化,而微生物杀灭效果的数学模型是研究杀菌技术的理论关键之一,对其实际应用具有理论指导意义,因此仍需要大量的研究工作继续下去。

[参考文献]

- [1] 吴治海,蒲彪.引起果蔬汁变质的微生物概述[J].四川

- 食品与发酵, 2005, 41(2): 40– 42.
- [2] Shearer A E H, Mazzotta A S, Chuyate R, et al. Heat resistance of juice spoilage microorganisms[J]. Journal of Food Protection, 2002, 65(8): 1271– 1275.
- [3] Barbosa-Canovas G V, Gongora-Nieto M M, Pothakamury U R, et al. Preservation of Foods with Pulsed Electric Fields[M]. San Diego USA: Academic Press, 1999.
- [4] Jeyamkondan S, Jayas D S, Holley R A. Pulsed electric field processing of foods: a review[J]. Journal of Food Protection, 1999, 62, 1088– 1096.
- [5] Aronsson K, Lindgren M, Johansson B R, et al. Inactivation of microorganisms using PEF: the influence of process parameters on *Escherichia coli*, *Listeria innocua*, *Leuconostoc mesenteroides* and *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2001, (2): 41– 54.
- [6] Hülshager H, Potel J, Niemann E G. Killing of bacteria with electric pulses of high field strength[J]. Radiation and Environmental Biophysics, 1981, 20, 53– 65.
- [7] Peleg M. A model of microbial survival after exposure to PEF[J]. Journal of the Science and Food Agriculture, 1995, 67, 93– 99.
- [8] Pothakamury U R, Vega H, Zhang Q, et al. Effect of growth stage and processing temperature on the inactivation of *E. coli* by pulsed electric fields[J]. Journal of Food Protection, 1996, 59, 1167– 1171.
- [9] Raso J, Alvarez I, Condón S, et al. Predicting inactivation of *Salmonella senftenberg* by pulsed electric fields[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2000, 1, 21– 29.
- [10] Weibull W. A statistical distribution function of wide applicability[J]. Journal of Applied Mechanics, 1951, 51, 293– 297.
- [11] Cole M B, Davies K W, Munro G, et al. A Vitalistic model to describe the thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* [J]. Journal of Industrial Microbiology, 1993, (12): 232– 239.
- [12] Álvarez I, Virto R, Raso J, et al. Comparing predicting models for the *Escherichia coli* inactivation by pulsed electric fields[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2003, (4): 195– 202.
- [13] Rodrigo D, Ruiz P, Barbosa-Cánovas G V, et al. Kinetic model for the inactivation of *Lactobacillus plantarum* by pulsed electric fields[J]. International Journal of Food Microbiology, 2003, 81, 223– 229.
- [14] Ross T. Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology [J]. Journal of Applied Bacteriology, 1996, 81, 501– 508.
- [15] McClure P J, Baranyi J, Boogard E, et al. A predictive model for the combined effect of pH, sodium chloride and storage temperature on the growth of *Brocothrix thermosphacta* [J]. International Journal of Food Microbiology, 1993, 19, 161– 178.
- [16] Duh Y H, Schaffer N W. Modelling the effect of temperature on the growth rate and lag time of *Listeria innocua* and *Listeria monocytogenes* [J]. Journal of Food Protection, 1993, 56, 205– 210.
- [17] Ragip U, Jin-Gab K, Ahmed E Y. Inactivation of *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria Monocytogenes* and *Lactobacillus Leichmannii* by combinations of ozone and pulsed electric field[J]. Journal of Food Protection, 2001, 64(6): 777– 782.
- [18] García D, Gómez N, Raso J, et al. Bacterial resistance after pulsed electric fields depending on the treatment medium pH[J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2005, (6): 388– 395.
- [19] Jayaram S, Castle G S P, Margaritis A. Kinetics of Steriization of *Lactobacillus brevis* by the application of high voltage pulses[J]. Bioelectrochemistry and Bioenergetics, 1992, 43, 135– 141.
- [20] Ellison A, Anderson W, Cole M B, et al. Modelling the thermal inactivation of *Salmonella typhimurium* using bioluminescence data[J]. International Journal of Food Microbiology, 1994, (3): 243– 251.
- [21] Anderson W A, McClure P J, Baird-Parker A C, et al. The application of a log-logistic to describe the thermal inactivation of *Clostridium botulinum* 213B at temperature below 121.1°C[J]. Journal of Applied Bacteriology, 1996, 80, 283– 290.

Inactivation effect of pulsed electric field on *Lactobacillus plantarum* in apple juice and comparative analyses of three models

Zhong Kui, Wu Jihong, Liao Xiaojun*, Hu Xiaosong

(College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agriculture University, Beijing 100083, China)

Abstract: The inactivation effect of pulsed electric field (PEF) on *Lactobacillus plantarum* inoculated into apple juice and model analysis were investigated. The inactivation level on *Lactobacillus plantarum* increased with the increment of the electric field strength and the treatment time. About 4.135 log maximum reduction of *Lactobacillus plantarum* was achieved at 34 kV/cm for 1050 μ s. The survival rate curves were fitted by the Hülshager, Weibull and Log-logistic models, and the fitting effects of the three models were evaluated by using a series of indices including Accuracy Factor (*Af*), Bias Factor (*Bf*), the Sum of the Squares of the differences of the natural logarithm of the observed and predicted data (*SS*), the correlation coefficient (*R*²) and the Root Mean Square Error (*RMSE*) between the observed data and the predicted data. The comparison of these indices indicates that Log-logistic model can provide best fitness for the inactivation by PEF.

Key words: pulsed electric field; apple juice; *Lactobacillus plantarum*; model analysis