

草鱼片猪霍乱沙门氏菌生长的控制

李娜, 蔡俊鹏*

(华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)

摘要: 为了有效控制生鱼片等生食食品携带致病菌的生长, 比较了物理(超高压)、化学(双氧水)和生物(蛭弧菌 BDM01)三种方法对草鱼片上接种的猪霍乱沙门氏菌进行消除和控制的效果, 并对被处理鱼片进行了感官评定。结果表明, 与对照组相比, 三种方法对草鱼片猪霍乱沙门氏菌均有很好的控制作用($p < 0.05$); 且蛭弧菌控制猪霍乱沙门氏菌的生物方法优于超高压和双氧水的物理、化学方法。与其他两种方法相比, 蛭弧菌 M01 处理鱼片的生物方法能在较长时间内(48h)控制草鱼片猪霍乱沙门氏菌的增长, 保持鱼片良好的感官状态。虽然在 25℃ 保存/保鲜期间, 生物处理组的猪霍乱沙门氏菌的初始浓度高于其他两种方法的处理组, 但其增长受到更大的控制。结果表明, 在受低度污染的鱼片保鲜中, 蛭弧菌技术具有潜在的应用价值。

关键词: 控制生长, 草鱼片, 猪霍乱沙门氏菌, 超高压, H_2O_2 , 蛭弧菌

Growth control of *Salmonella enterica Choleraesuis* on grass carp fillets

LI Na, CAI Jun-peng*

(College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: In order to control the growth of pathogen on the uncooked or half-cooked food like sashimi, effectiveness and availability of physical (HPP), chemical (H_2O_2) and biological methods (Bdellovibrio bacteriovorus BDM01) were compared in controlling growth of *Salmonella enterica Choleraesuis* (*S. Choleraesuis*) on grass carp fillets. The results showed that all of the three methods caused a significantly reduction of this pathogenic bacterium ($p < 0.05$). In the lysis experiment, the effect of biological method was the best and the low-dose group. In the sensory assessment, biological method was better than physical and chemical methods in all the 48 hours and ensure sensory attribute of the fillets. During storage at 25℃, although with a higher original bacterium population than the other two methods, BDM01 performed better in controlling bacterial growth. The results indicated BALO (Bdellovibrio-and-like organisms) possessed potential application value in fillets storage with low contamination.

Key words: growth control; grass carp fillets; *S. Choleraesuis*; HPP; hydrogen peroxide; BALO

中图分类号: TS254.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2012)06-0163-06

食品是人类赖以生存和发展的重要物质之一, 食品质量优劣直接关系到人民的身体健康甚至生命安全^[1-2]。近年来, 国内外食物中毒事件频发, 造成巨大经济损失^[1]。我国每年向卫生部上报的数千件食物中毒中, 大部分由微生物引起^[2]; 而在细菌性食物中毒事件中, 沙门氏菌则占 70%~80%^[3]。猪霍乱沙门氏菌 (*Salmonella enterica Choleraesuis*) 是一类常见的人畜共患病的沙门氏属细菌, 可引发食物中毒^[3]。在美国, 平均每年有 40 例的发病率。在亚洲国家, 猪霍乱沙门氏菌则是引起食物中毒的主要病原菌之一^[4-11]。我国在世界上是渔业大国, 淡水鱼产量已经连续 20 年位居世界第一^[12]。草鱼为我国主

要养殖品种之一, 其肉质鲜美、营养丰富, 深受消费者喜爱; 且因其价格低廉, 常被用来替代三文鱼、金枪鱼而作为生鱼片的原材料^[13]。我国沿海地区, 如广东珠三角地区等, 不但有食用生鱼片的传统^[14], 而且近年来更为盛行^[15]。但因淡水养殖池塘与养猪、鸡、鸭场等多为彼邻, 甚至为一上一下的立体结构, 因此在养殖过程中, 其养殖水体极易接触到猪场废水/猪粪等污水, 进而受到猪霍乱沙门氏菌的污染^[16-19]。鱼体/片一旦受到污染后被人类食用, 尤其如生鱼片这类未烹调过或半烹调的水产品, 更易导致食物中毒的发生。因此, 在食用前对草鱼/片进行有效的杀菌消毒就显得尤为必要。目前, 市场上应用的食物冷杀菌技术主要还是物理、化学的方法^[20], 物理杀菌如高压电场杀菌、辐照杀菌、超高压杀菌等^[21]。谭冬梅^[22]指出在畜、禽、辐照加工中, 高剂量的辐照灭菌处理会使产品产生异味; 张海峰等^[23]对

收稿日期: 2011-05-23 * 通讯联系人

作者简介: 李娜(1985-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 食品科学。

基金项目: 中国国家自然科学基金(40776091)。

超高压技术在肉类工业中的应用进行了研究,指出400MPa左右的压力可以基本上杀灭所有革兰氏阴性菌和酵母,但其杀菌效果受初始微生物数目的影响;在相同条件下,初始微生物数量越大,超高压杀菌后残存的微生物数量就越多。化学杀菌如二氧化氯杀菌剂、臭氧杀菌、食品级双氧水杀菌等^[24-26],但作为一种强氧化剂,臭氧直接接触多脂肪食品如鱼、肉等会造成氧化^[27]。生物的方法,即通过有益菌的作用对食品中有害病原菌进行杀灭或控制。而此类报道目前极少^[28]。于维森等^[29]综述了枯草杆菌芽孢素、歧杆菌素、乳酸菌素等一些天然益生菌素的抑菌能力,指出与常规消毒液相比较,高效益生菌素消毒剂的杀菌效果好、稳定性强、无毒、无味、无刺激性、使用浓度低,可广泛用于不同领域不同物体的消毒。刘晓蓉等^[30]报道了乳酸菌能产生具有抑菌或杀菌效果的细菌素,这类细菌素对革兰氏阳性细菌、革兰氏阴性细菌和真菌等均具有抑制作用。Mohammad等^[31]证实乳酸链球菌分泌的天然活性生物抗菌肽联合乙酸钠有很好的抑菌效果,可以使冷冻草鱼保持新鲜状态。蛭弧菌是一类可以裂解其它细菌的革兰氏阴性细菌,其进攻宿主细胞的机理可以分八个阶段^[32],即蛭弧菌进攻、附着、进入宿主细胞周质空间及鞭毛脱落、附着宿主细胞膜、蛭质体、子代细胞发育、宿主细胞原生质消耗完毕,蛭弧菌子代发育成带鞭毛的细胞、蛭弧菌分泌水解酶降解宿主细胞的肽聚糖及外膜并释放子代细胞。蛭弧菌经过一系列的进攻、侵入、生长和裂解后,宿主细胞被完全破坏、进而消亡。韩韞等^[33]指出蛭弧菌在消除海产品中潜在食源性致病弧菌的可行性。黄亮等^[34]的研究结果展示了蛭弧菌能很好地裂解牡蛎中的各种致病性弧菌。因此作为一种新型生物杀菌剂,蛭弧菌或具有一定的应用前景^[32]。本文旨在通过对部分物理、化学与生物杀菌方法的比较,以探索出一种有效的消除生鱼片等生食食品所携带病原菌的方法。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

蛭弧菌(*Bdellovibrio bacteriovorus*) BDM01 由本实验室保存,其裂解谱显示可以对猪霍乱沙门氏菌进行裂解(数据尚未发表),由于淡水鲜鱼贮存前的鱼肉中细菌总数约为 $10^2 \sim 10^4$ cfu/g^[35],而蛭弧菌与宿主的裂解最佳数量比是10:1^[28],因此实验用致病菌浓度为 10^5 cfu/mL,用量0.1mL;蛭弧菌浓度为 10^5 、 10^6 pfu/mL,用量0.1mL,具体方法参考文献[28]; H_2O_2 (食品级) 购于广东环凯生物科技公司,实验用双氧水浓度为2.5%和5%^[36];致病菌 用于消除实验的猪霍乱沙门氏菌(*Salmonella enterica Choleraesuis*),GIM1.244 由广东省微生物研究所保存并提供;培养基(致病菌培养用营养肉汤)、猪霍乱沙门氏菌检测用亚硫酸铋琼脂 购自广东环凯生物科技公司;蛭弧菌检测用双层琼脂 上层琼脂含量0.8%,下层琼脂含量1.5%;新鲜草鱼片 超市购买活草鱼一条,去鳞、去刺后切成规格为 5×5 cm,重量 (5 ± 0.1) g的方形鱼肉薄片若干,用70%酒精浸泡

1min消毒,消毒后置于无菌操作台下的灭菌试管架上风干^[37],无菌纱布包扎好,25℃恒温箱保存3d,感官未见腐败。无菌搅拌机绞碎后,取样检测,未发现沙门氏菌。经风干后的鱼片,在其一面均匀涂布0.1mL 10^5 cfu/mL的猪霍乱沙门氏菌菌液。接种后置于无菌操作台放置15min使菌体自然吸附。

冷等静压机(UUPF/3 L/700) 传压介质为葵二酸二辛酯,中国内蒙古包头科发新型高技术食品机械有限责任公司生产,由华南理工大学轻工与食品学院李沛生教授提供;SJ303-250型多功能搅拌机配有不锈钢材料搅拌叶,中国浙江苏泊尔股份有限公司;1000C电子天平 配有高精度传感器,中国上海凯士电子有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 消除致病菌 上述鱼片被随机分成4组(三实验组和对照组),每组设置三个平行小组(每小组7块鱼片)。具体步骤如下。

1.2.1.1 H_2O_2 浓度组 高浓度组:接种过致病菌的鱼片浸泡于2.5% H_2O_2 中1min后取出,无菌操作台中风干;低浓度组:接种过致病菌的鱼片浸泡于5% H_2O_2 中1min后取出,无菌操作台中风干^[36-37]。

1.2.1.2 超高压静压组 张海峰等^[23]指出肉类在压力为400MPa左右时,革兰氏阴性菌基本能够被杀死;谢乐生等^[38]对熟制对虾虾仁超高压杀菌主要参数进行探讨,得出结论:经400、600MPa,保压15min处理的虾仁,低温保藏120d后均未检测出细菌。因此,本实验选取450MPa,保压15min。用无菌塑料膜包住接种过致病菌的鱼片,于450MPa进行超高压杀菌15min。

1.2.1.3 蛭弧菌组 高浓度组:鱼片致病菌接种面均匀涂布 10^6 pfu/mL、0.1mL BDM01 菌液;低浓度组:鱼片致病菌接种面均匀涂布 10^5 pfu/mL、0.1mL BDM01 菌液^[28,35]。

1.2.1.4 对照组 鱼片致病菌接种面均匀涂布0.1mL 无菌 PBS(phosphate buffered saline)。

每块鱼片置于一块无菌平皿中,无菌纱布包扎好后于25℃恒温箱中保存/保鲜。

1.2.2 感官评定 根据欧共体(EC)鱼片感官评级制度,所有鱼片在取样前需先经过质量等级评定,评定小组由五位经验丰富的评审员组成,分别从色泽、粘滑度、气味三方面进行4级分类。最佳E级—色相好、不粘滑、气味香;其次A级—色相较好、不粘滑、气味正常;再次B级—色泽微黄、稍粘,能销售;最后是C级—色相差、微臭味,不宜销售。

1.2.3 取样检测 每组经感官评定后,需按时取样检测,取样时间分别为加样、25℃保存后的0、3、6、9、12、24、36、48h。将被评定后的鱼片放入无菌搅拌机中,加入100mL 无菌 PBS 搅碎,振荡均匀后取原液依次十倍梯度稀释,稀释浓度从 $10^0 \sim 10^8$,沙门氏菌根据GB4789.4-2010用亚硫酸铋琼脂培养基进行检测,蛭弧菌检测方法为双层平板方法^[28]。

1.2.4 数据分析 通过平板计数的细菌和蛭弧菌数,利用微软2003版Excel中数据分析工具进行统

计学分析,所有数据通过 95% 可信度分析。菌数表示形式为:平均数 ± 标准差。

2 结果与分析

2.1 鱼片感官评定结果

对照组鱼片在 12h 出现组织轻微粘稠,轻微不愉快气味,24h 后鱼肉组织松散,没有弹性,并伴随恶臭气味出现;超高压 (high pressure processing, HPP) 处理后鱼片肉色泛白,呈不透明状,且有少量汁液流出,25℃ 保存/保鲜 24h 后,出现表面粘稠,组织松散,缺乏弹性等性状;双氧水处理后的鱼片肉色同样泛白,表面没有光泽,且伴随轻微消毒水气味;而蛭弧菌处理鱼片在 0~48h 一直保持良好的感官状态。

表 1 各实验组感官评定随时间变化情况
Table 1 Change of the sensory evaluation in all groups at different storage time

实验组	时间(h)				
	0	12	24	36	48
对照	E	B	B	C	C
蛭弧菌低浓度	E	A	A	A	A
蛭弧菌高浓度	E	A	A	A	A
双氧水低浓度	A	A	A	A	B
双氧水高浓度	A	A	A	A	B
超高压	A	A	B	B	B

2.2 蛭弧菌 BDM01 对新鲜草鱼片猪霍乱沙门氏菌的生长控制结果

蛭弧菌 BDM01 对新鲜草鱼片猪霍乱沙门氏菌的控制效果如图 1 所示。实验结果表明,在不同组中横向比较,对照组猪霍乱沙门氏菌在 9~36h 保存期内增长速度很快,任意两点间均存在显著性差异 ($p < 0.05$),48h 后,猪霍乱沙门氏菌数由 4.47Log 增长到 6.52Log;蛭弧菌低浓度组(蛭弧菌:宿主 = 1:1)在 3h 与 0h 相比存在显著性差异 ($p < 0.05$),3~24h 增长速度较慢,不存在显著性差异,24~36h 后猪霍乱沙门氏菌增长速度明显加快 ($p < 0.05$),而 36 与 48h 相比不存在显著性差异 ($p > 0.05$),48h 后猪霍乱沙门氏菌数由 4.24Log 增长到 4.80Log;蛭弧菌高浓度组(蛭弧菌:宿主 = 10:1)在 0~3h 增长速度较快 ($p < 0.05$),3~12h 增长速度较慢,12~36h 增长速度变快,任两点存在显著性差异 ($p < 0.05$),48h 后猪霍乱沙门氏菌数由 4.23Log 增长到 5.11Log。

三种处理在同时间点上纵向比较,对照组与其他两种处理组除 0h 以外,任两点均存在显著性差异 ($p < 0.05$),蛭弧菌低浓度组与蛭弧菌高浓度组在 0~12h 间,任两点不存在显著性差异 ($p > 0.05$),在 12h 后任两点存在显著性差异 ($p < 0.05$)。而两组蛭弧菌处理的菌落数在 24h 后数量均开始快速减少。

2.3 超高压对新鲜草鱼片猪霍乱沙门氏菌的生长控制结果

450MPa 超高压对草鱼片猪霍乱沙门氏菌的控制效果如图 2 所示。实验结果表明,经过 15min 450MPa 超高压作用后,实验组猪霍乱沙门氏菌数与

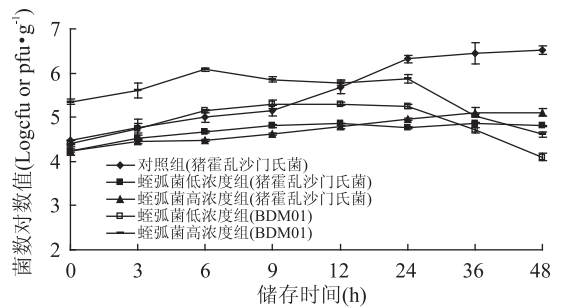


图 1 蛭弧菌 BDM01 在不同时间点新鲜草鱼片猪霍乱沙门氏菌生长控制效果

Fig.1 Recovery of *S.Choleraesuis* (LogCFU/g) from fillets treated with BDM01 at different storage time

对照组相比,由 4.28Log 减少到 1.82Log,而在 25℃ 保存过程中,对照组与实验组呈现相同的生长趋势,0~12h 增长速度较慢 ($p > 0.05$),12~48h 增长速度较快,任两点存在显著性差异 ($p < 0.05$)。保存 48h 后,对照组猪霍乱沙门氏菌数增长到 6.72Log,实验组猪霍乱沙门氏菌数增长到 5.43Log。

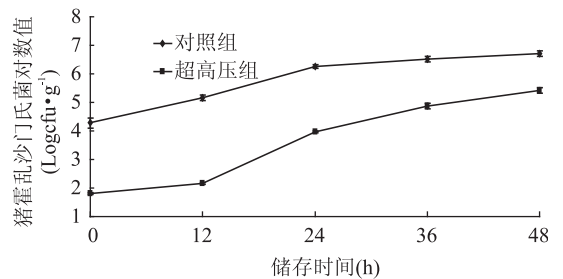


图 2 HPP 处理后的草鱼片在不同时间点猪霍乱沙门氏菌生长情况

Fig.2 Recovery of *S.Choleraesuis* (LogCFU/g) from fillets treated with HPP at different storage time

2.4 双氧水对新鲜草鱼片猪霍乱沙门氏菌的生长控制结果

双氧水对草鱼片猪霍乱沙门氏菌的生长控制效果如图 3 所示。实验结果表明,实验组在经过双氧水处理后,猪霍乱沙门氏菌数明显减少。与对照组相比,双氧水低浓度组细菌数由 4.19Log 减少到 1.83Log;双氧水高浓度组细菌数由 4.19Log 减少到 1.28Log。而在经过 25℃ 保存过程中,不同组中横向比较,对照组在 0~48h 增长速度快,除 36h 外,任意两点间均存在显著性差异 ($p < 0.05$),48h 后对照组的猪霍乱沙门氏菌由 4.19Log 增长到 7.83Log;双氧水低浓度组在 0h 致病菌数量明显少于对照组,0~12h 致病菌增长速度较慢 ($p > 0.05$),12~36h 致病菌增长较快,任意两点间存在显著性差异 ($p < 0.05$),36h 后增长趋于平缓 ($p > 0.05$)。0~48h 猪霍乱沙门氏菌由 1.83Log 增长到 4.11Log;双氧水高浓度组变化趋势同低浓度组,0~48h 猪霍乱沙门氏菌由 1.28Log 增长到 3.77Log。三组在同时间点纵向比较,对照组与两实验组任意点均存在显著性差异 ($p < 0.05$),两实验组在 0~48h 任意点均不存在显著性差异 ($p > 0.05$)。

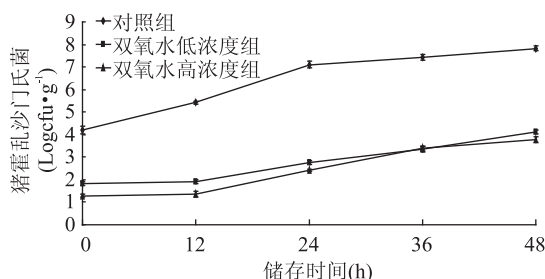


图3 H₂O₂ 处理后的草鱼片在不同时间点猪霍乱沙门氏菌生长情况

Fig.3 Recovery of *S. Choleraesuis* (LogCFU/g) from fillets treated with H₂O₂ at different storage time

3 讨论

猪霍乱沙门氏菌被认为是目前世界范围内最主要的食源性病原菌之一^[3]。由于中国特定的国情,在某些淡水鱼的养殖场里,猪、鸡、鸭棚等就建在池塘上,它们的废水/猪粪一般直接排放到养殖池塘中。因此,草鱼及其养殖水体极易受到猪霍乱沙门氏菌的污染^[18-19]。与此同时,中国有些地方,如广东珠三角地区等,有吃生鱼片的习惯。因此,有关生鱼片食物中毒事件及鲜鱼被检出沙门氏菌事件时有发生^[13,39-40],急需有效的预防措施。

本研究比较了三种方法对草鱼片中潜在猪霍乱沙门氏菌的消除,控制的效果。HPP对猪霍乱沙门氏菌的消除/控制实验结果表明,在超高压杀菌过程中,采用450MPa灭菌15min,能有效杀灭沙门氏菌,使致病菌数量减少约2.5Log,与马先红^[41]报道的液态鸡蛋高压杀菌效果相比效果较差,原因可能是高压对固态食品较液态食品穿透力差,以致杀菌效果较差。在随后的25℃保存过程中,0~12h增长速度较慢($p > 0.05$),这可能与超高压作用使细胞损伤需要修复有关。12~48h增长速度较快,增长量约3.34Log。尽管超高压后,草鱼片猪霍乱沙门氏菌量明显减少,并能保持在0~12h内基本不变,但12~48h沙门氏菌数急剧增长。因此,HPP可以在短时间内(0~12h)很好控制猪霍乱沙门氏菌的量,一旦保存时间过长,鱼肉的品质也会受到威胁。除此之外,对于一些耐压力的致病菌(如棒状杆菌)或含芽孢的菌则需要更高的压力才能将其杀死^[42],而较高压力作用的结果很可能导致食品,尤其是动物性食品感官性状的变化^[43]。而食品中初始微生物数量也影响杀菌效果,初始微生物数量越多,超高压杀菌后残存的微生物数量越多^[23]。

双氧水对沙门氏菌的消除/控制实验结果表明,在双氧水杀菌作用后,H₂O₂低、高浓度组沙门氏菌数均有明显减少,减少量分别为2.36、2.91Log;在0~48h保存期内,不同组中横向比较,0~12h两实验组沙门氏菌增长速度较慢($p > 0.05$),这可能与双氧水作用有关。12~48h沙门氏菌增长速度较快,增长量分别为2.28、2.49Log。因此,尽管保存过程中,沙门氏菌数目有一定的增长,但在0~48h保存时间内,双氧水可很好地控制猪霍乱沙门氏菌的数量。不同组间纵向比较,双氧水低、高浓度组在0~48h内,猪霍乱沙

门氏菌增长速度无显著性差异,说明2.5%双氧水浓度足以消除/控制鱼片致病菌。这与Dike O.Ukuku^[36]的研究结果基本一致:2.5%、5%的双氧水分别浸泡处理已污染沙门氏菌的鲜切甜瓜片5min,30℃保存3d后,搅拌机搅碎,取样经SS琼脂培养基涂布检测,发现两者消除结果无显著性差异。虽然双氧水对食品中病原菌具有比较好的杀菌效果,但其作为化学杀菌剂,不宜对物料进行直接杀菌。这在一定程度上导致杀菌不彻底,而一旦能够直接作用物料时,其导致的化学物质残留对人体健康十分有害^[20]。而双氧水还具有可燃性和爆炸性的缺点^[20,27],因此在工业生产中难以应用。

蛭弧菌消除/控制实验结果表明,蛭弧菌低、高浓度组在3~48h均能明显控制猪霍乱沙门氏菌的生长,48h后猪霍乱沙门氏菌的增长量分别只有0.3、0.7Log。但3h前和24h后控制力较弱,这可能与0~3h内蛭弧菌需要适应新的环境以及其本身的生长有关。而24h后鱼片表面湿润度下降,从而导致蛭弧菌的活力不高因而裂解能力有所下降。同组间横向比较,蛭弧菌低浓度组在6~24h对猪霍乱沙门氏菌的控制效果最好($p > 0.05$),蛭弧菌高浓度组在3~12h有较好的控制效果($p > 0.05$),说明蛭弧菌高浓度组对猪霍乱沙门氏菌的有效控制速度快,但持久力不够;不同组间纵向比较,蛭弧菌低、高浓度组之间0~12h对猪霍乱沙门氏菌的控制能力无显著性差异,24h后则出现显著性差异,说明低浓度组作用效果更持久。而高浓度蛭弧菌对致病菌不一定具有更好的控制力,这跟Fratamico^[44]的研究结果较为一致,他们研究发现,蛭弧菌:宿主分别为5:1和10:1的两实验组,对不锈钢表面的*E.coli* O157:H7清除效果无显著性差异。

实验结果表明,从三种方法处理鱼片后的菌体数与鱼片感官品质整体来看,蛭弧菌消除致病菌-猪霍乱沙门氏菌的生物方法好于HPP和双氧水的物理、化学方法。

虽然HPP处理的鱼片在0h致病菌数明显减少,并能保持12h基本不变,但其在12~48h致病菌数急剧增加,48h实验结束时猪霍乱沙门氏菌数高于蛭弧菌实验组0.63Log;在感官品质方面,HPP处理后鱼片肉色泛白,呈不透明状,且有汁液流出,类似于轻微烹调的组织状态,看起来不够新鲜。

蛭弧菌处理的鱼片虽然一直保持较高的致病菌数,但其在0~48h菌数增长缓慢,3~24h及36~48h任两点间不存在显著性差异($p < 0.05$),能够在较长时间内保持鱼片的品质;在感官品质方面,蛭弧菌处理鱼片一直处于较好的感官状态,鱼片表面光滑、肉色红润,无任何异味。

双氧水处理的鱼片在0h猪霍乱沙门氏菌数明显减少后,在12h内保持很低的菌数不变,且在12~48h也能使菌数保持较低的增长速度;但在感官品质方面,双氧水处理的鱼片肉色同样泛白,鱼片没有光泽且有轻微的消毒水的气味。尽管直接作用鱼片可以很好的控制猪霍乱沙门氏菌的增长,但由此

导致的化学残留将会极大的危害人体健康^[45]。

从菌体数和感官品质整体出发,本研究结果揭示,或因其一方面能保持食物的原有风味,不会造成食物营养的流失;另一方面也能够有效控制食物中包括致病细菌在内的生物负荷量,蛭弧菌技术在鱼片特别是在受低度污染的鱼片保鲜中将具有潜在的应用价值。

参考文献

- [1] 李强,陈锦屏,牟朝丽.国内外食品安全现状及其管理[J].食品研究与开发,2004,25(6):9-11.
- [2] 高阳,杨薇,王佳江,等.我国食品安全现状、问题及对策[J].中国食物与营养,2009(1):15-17.
- [3] 王军,郑增忍,王晶钰.动物源性食品中沙门氏菌的风险评估[J].中国动物检疫,2007,24(1):23-25.
- [4] Foley S L, Lynne A M, Nayak R. *Salmonella* challenges: Prevalence in swine and poultry and potential pathogenicity of such isolates[J]. Journal of Animal Science, 2008, 86: 149-162.
- [5] Chiu Cheng-Hsun, Wu Tsu-Lan, Su Lin-Hui, et al. The emergence in TaiWan of fluoroquinolone resistance in *Salmonella enterica* serotype *Choleraesuis* [J]. The New England Journal of Medicine, 2002, 346(6): 413-419.
- [6] Lin Cheng-Chung, Chen Ter-Hsin, Wang Yu-Chih, et al. Analysis of ciprofloxacin-resistant *Salmonella* strains from swine, chicken, and their carcasses in taiwan and detection of *parC* resistance mutations by a mismatch amplification mutation assay PCR[J]. Journal of Food Protection, 2009, 72(1): 14-20.
- [7] 尹薛荣,王群.2005年新疆裕民县一起由猪霍乱沙门氏菌引起的食物中毒调查[J].地方病通报,2009,24(1):63.
- [8] 李怀玉.一起猪霍乱沙门氏菌引起食物中毒的调查报告[J].中国医药指南,2008,6(5):86-87.
- [9] 胡景生,李玉珍.一起猪霍乱沙门氏菌引起的食物中毒[J].海峡预防医学杂志,2006,12(6):9,17.
- [10] 王垂佑,颜礼芬,马瑞华.一起猪霍乱沙门氏菌食物中毒调查报告[J].河南预防医学杂志,2000,11(3):188.
- [11] Chen Yen-Hsu, Chen Tyen-Po, Lu Po-Lian, et al. *Salmonella choleraesuis* bacteremia in southern Taiwan [J]. Kaohsiung J Med Sci, 1999, 15(7): 452-453.
- [12] 范文教,易宇文,贾洪锋,等.淡水鱼产品保鲜技术研究现状[J].河北渔业,2010(11):49-51.
- [13] 崔竹梅,汪梅,蒋云升.生鱼片食源性安全性评价[J].食品科学,2003,24(12):128-131.
- [14] 戴昌芳,方悦怡,严纪文,等.生食水产品常见病原微生物污染与安全性评价[J].中国公共卫生,2006,22(4):449-450.
- [15] 高培.生食水产品食用安全性研究[J].食品研究与开发,2005,26(5):200-202.
- [16] 陈景全.陆雪清立体养殖出效益[J].湖南农业,1999(7):21.
- [17] 张研,张威.鸭猪鱼综合高效养殖技术[J].河南水产,1998(2):18.
- [18] 蔡卓,廖新伟,吴银宝.猪粪对淡水养殖水质及罗非鱼安全的影响[J].广东农业科学,2009(3):135-138.
- [19] 王小波,胡启山.“猪-鱼结合”养殖模式的生态效应面临质疑[J].湖南饲料,2009(4):22.
- [20] 黄蓉,刘敦华.物理杀菌技术及其在食品中的应用[J].中国食物与营养,2009(11):33-35.
- [21] 史苏佳,曹栋.物理杀菌方法进展[J].山西食品工业,2004(3):7-8.
- [22] 谭冬梅.农产品辐照杀菌技术与设备[J].南方农机,2010(2):15-16.
- [23] 张海峰,白杰,刘姗姗,等.超高压技术在肉类工业中的应用[J].肉类研究,2009(4):49-52.
- [24] 康卓,齐志远,魏洪仁.新型高效二氧化氯杀菌剂在啤酒厂的应用实验[J].酿酒,1996(6):23-24,36.
- [25] 迟森.果蔬汁加工中冷杀菌技术的研究和应用现状[J].食品工业科技,2009,30(7):367-370.
- [26] 汪永超.食品级双氧水及其在食品行业中的应用[J].食品工业科技,2004,25(3):141-142.
- [27] 孙广明,李宝华,李汉忠,等.臭氧技术及在水产品加工工业的应用[J].天津水厂,1999(4):6-12.
- [28] Cai Junpeng, Zhao Jun, Wang Zhi, et al. Lysis of vibrios by *Bdellovibrio* - and - like organisms isolated from marine environment [J]. Journal of Food Safety, 2008, 28(2): 220.
- [29] 于维森,高汝钦,靳晓梅,等.防食物中毒高效益生菌素消毒剂的研制及杀菌效果与性能的检测[J].职业与健康,2009,25(4):350-353.
- [30] 刘晓蓉,范瑞,姜美娟,等.产类细菌素乳酸菌筛选及类细菌素的特性[J].中国乳品工业,2009(6):8-12.
- [31] Mohammad Reza Ghomi, Mehdi Nikoo, Zoheir Heshmatipour, et al. Effect of sodium acetate of Nisin on microbiological and chemical changes of culture grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) during refrigerated storage [J]. Journal of Food Safety, 2011, 31(2): 169-175.
- [32] 蔡俊鹏,赵俊.蛭弧菌的最新研究进展[J].微生物学报,2006,46(6):1028-1031.
- [33] 韩韫,蔡俊鹏,宋志萍,等.应用蛭弧菌清除海产品潜在致病弧菌的研究[J].水产科学,2005,24(11):23-25.
- [34] 黄亮,蔡俊鹏,陈小红,等.应用蛭弧菌清除牡蛎中潜在致病弧菌的研究[J].现代食品科技,2010,26(3):226-230.
- [35] 余世望,张桂珍,等.淡水鱼保鲜研究[J].全国食品添加剂通讯,1992(3):26-29.
- [36] Dike O Ukuku. Effect of hydrogen peroxide treatment on microbial quality an appearance of whole and fresh-cut melons cotaminated with *Salmonella* spp [J]. International Journal of Food Microbiology, 2004, 95: 127-146.
- [37] Chytiri S, Chouliara I, Savvaidis I N, et al. Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout [J]. Food microbiology, 2004 (21): 157-165.
- [38] 谢乐生,杨瑞金,朱振乐.熟制对虾仁超高压杀菌主要参数进行探讨[J].水产学报,2007,31(4):525-531.
- [39] 刘向前,申作江,陈建文,等.一起由舒伯特气单胞菌引起的食物中毒调查报告[J].现代预防医学,1999,26(4):536-537.
- [40] 李来好,吴燕燕.广东省罗非鱼及其养殖环境中食源性

(下转第 171 页)

可能是由于没食子酸呈酸性,而 V_c 的 2 位和 3 位碳原子的烯醇羟基上的氢可以解离形成 H^+ ,也呈酸性,增加了体系中的还原性使得自由基清除能力增强。这与 Yeomans 的研究相似^[2]。

黄酮和食用多酚作为一种抗氧化物,在低浓度下,表现出还原性,可以延缓、恢复或阻止自由基引起的氧化^[11],清除自由基形成稳定的物质^[12],在高浓度下表现出氧化态,起促氧化作用,对组织产生伤害。当混合液中加入的化合物越多,它们在反应体系中形成的共轭物就可能越复杂,从而可能影响抗氧化能力。如 $TEAC_{\text{表没食子酸儿茶素}} = (3.82 \pm 0.06) \text{ mmol/L} > TEAC_{\text{儿茶素}} = (2.40 \pm 0.05) \text{ mmol/L}$,但 $TEAC_{\text{表没食子酸儿茶素没食子酸酯}} = (4.75 \pm 0.06) \text{ mmol/L} < TEAC_{\text{儿茶素没食子酸酯}} = (4.93 \pm 0.02) \text{ mmol/L}$,这解释了为什么混合液中加的化合物越多,测定结果同期望值相差越远。

现在很多研究证明 V_c 可以增强多酚化合物的抗氧化活性,生成更稳定的 V_c 自由基^[13-14],即单个抗氧化剂与 V_c 混合后在低浓度下会起增效作用^[15]。我们的实验也证明,保存在 4°C 条件下, V_c 比 V_c 与玫瑰花提取物混合液在 30d 内其 DPPH·清除率要下降得快, V_c 和 V_c 与玫瑰花提取物混合液在开始几天内,对 DPPH·清除率都呈下降趋势,但 30d 后, V_c 的 DPPH·清除率下降了 51.4%,而 V_c 与玫瑰花提取物混合液的 DPPH·清除率只下降了 32.9% (文章待发表)。

不同的多酚和黄酮类物质可能有不同的抗氧化机理,我们的研究证明不同的化合物之间可能发生增效或减效作用,虽然这种体外抗氧化性不能完全说明体内抗氧化的情况,但可以为我们更好地了解不同食用酚类物质之间在体内抗氧化相互作用方面提供理论基础。

4 结论

玫瑰提取液、没食子酸、槲皮素、儿茶素、 V_c 、芦丁和 BHT 中,没食子酸对 DPPH·清除能力最强,BHT 对 DPPH·清除能力最弱。低浓度的没食子酸,槲皮素, V_c 和玫瑰花提取物混合后对 DPPH·清除起到增效作用,而儿茶素、芦丁和 BHT 和玫瑰花提取物混合后对 DPPH·清除发生减效作用。高浓度的抗氧化物与玫瑰花粗提物混合后会发生减效作用,而低浓度的某些抗氧化物质与玫瑰花粗提物的混合溶液的抗氧化活性却会得到增强。

参考文献

[1] Yokozawa T, Dong E, Nakagawa T, et al. In vitro and in vivo

(上接第 167 页)

致病菌菌相分析[J].水产学报,2009,33(5):823-830.

[41] 马先红.液态鸡蛋超高压杀菌工艺的研究[J].吉林化工学院学报,2010,27(4):32-35.

[42] 李勇.超高压致死微生物的研究进展[J].微生物学通报,1995,22(4):243-245.

[43] 马汉军,赵良,潘润舒,等.高压对肉类基本成分的影响

studies on the radical scavenging activity of tea[J].Journal of Agricultural and Food Chemistry,1998,46:2143-2150.

[2] Yeomans VC, Linseisen J, Wolfram G. Interactive effects of polyphenols, tocopherol and ascorbic on the Cu^{2+} -mediated oxidative modification of human low density lipoproteins [J]. European Journal of Nutrition,2005,44:422-428.

[3] 林亲录,施兆鹏.类黄酮与酚酸等天然抗氧化剂的结构与其抗氧化力的关系[J].食品科学,2001,22:85-91.

[4] Craft KD. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids [J]. Annals of the New York Academy Sciences,1998,20:435-442.

[5] Duarte J, Perez-Vizcaino F, Utrilla P, et al. Vasodilatory effects of flavonoids in rat aortic smooth muscle. Structure-activity relationships [J]. General Pharmacology,1993,24:857-862.

[6] Seker PA, Chan TS, O'Brien PJ, et al. Flavonoid b-ring chemistry and antioxidant activity: fast reaction kinetics [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications,2001,282:1161-1168.

[7] Chikbi MR, Paya M, Alcaraz MJ. Inhibitory effects of phenolic compounds on carbon tetrachloride-induced microsomal lipid peroxidation [J]. Experientia,1991,47:195-199.

[8] Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, et al. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates [J]. Clinical Science,1993,84:407-412.

[9] Rice-Evans C, Miller NJ. Total antioxidant status in plasma and body fluids [J]. Methods in Enzymology,1994,234:279-283.

[10] Rice-Evans CA, Niller N, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids [J]. Free Radical Biology & Medicine,1996,20:933-965.

[11] Halliwell B. How to characterize a biological antioxidant [J]. Free Radical Research communication,1990,9:1-32.

[12] Shahidi F, Wanasundara PKJ. Phenolic antioxidants [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition,1992,32:67-103.

[13] Kandaswami C, Perkins E, Soloniuk DS, et al. Ascorbic acid-enhanced antiproliferative effect of flavonoids on squamous cell carcinoma in vitro [J]. Anticancer Drugs,1993,4:91-96.

[14] Jovanovic SV, Steenken S, Tosic M, et al. Flavonoids as antioxidants [J]. Journal of American Chemical Society,1994,116:4846-4851.

[15] Cossins E, Lee R, Packer L. ESR studies of vitamin C regeneration, order of reactivity of natural source phytochemical preparations [J]. Biochemistry & Molecular Biology International,1998,45:583-597.

[J].食品机械,2006,22(3):150-153.

[44] Fratamico P M, Cooke P H. Isolation of *Bdellovibrios* that prey on *Escherichia coli* O15: H7 and *Salmonella* species and application for removal of prey from stainless steel surface [J]. Food Saf,1996(16):161-173.

[45] 晨曦.你吃进多少毒[J].中国健康月刊,2006(8):58,60.