

梁 龙, 陆利霞, 游京晶, 等. 臭氧水处理对鸭肉中微生物和油脂的影响[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(2): 252–254.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.02.081

# 臭氧水处理对鸭肉中微生物和油脂的影响

梁 龙<sup>1</sup>, 陆利霞<sup>1,2</sup>, 游京晶<sup>1,2</sup>, 熊晓辉<sup>1,2</sup>

(1. 南京工业大学食品与轻工学院, 江苏南京 210009; 2. 江苏省食品安全快速检测公共技术服务中心, 江苏南京 210009)

**摘要:**针对臭氧在食品工业中应用的安全性问题, 探讨臭氧水在肉制品加工处理中的应用前景。以鸭肉为研究对象, 利用不同浓度臭氧水, 处理不同时间, 考察臭氧水对鸭肉中微生物和油脂的影响。结果表明: 9 mg/L 臭氧水处理鸭肉 20 min 与 14 mg/L 臭氧水处理鸭肉 10 min 对细菌的杀灭程度相当; 高浓度臭氧水处理对鸭肉油脂的过氧化值(POV)、硫代巴比妥酸值(TBA)和不饱和脂肪酸中的油酸有显著影响( $P < 0.05$ ), 对饱和脂肪酸无显著影响。

**关键词:** 臭氧; 微生物; 油脂; 脂肪酸; 鸭肉

**中图分类号:** TS251.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)02-0252-03

臭氧发现于 1785 年, 应用到工业中则是在 20 世纪初。臭氧的特殊性质使其能够和很多物质发生反应, 在法国将臭氧应用于饮用水消毒以来, 其应用范围不断扩大。食品杀菌方面, 最早应用臭氧的是法国科隆市对冷冻肉的保存<sup>[1]</sup>。随后食品加工中臭氧保鲜和臭氧杀菌技术在发达国家得到广泛应用。臭氧作为一种国际公认的绿色、安全消毒剂, 目前在果蔬保鲜中主要应用于杀灭其表面微生物, 从而延长果蔬的货架期, 提高产品质量。McLoughlin<sup>[2]</sup>和 Strickland 等<sup>[3]</sup>分别研究利用臭氧水处理苹果和鲜切沙拉时, 都得到了臭氧水可以延长产品货架期的结论, 从而节约了成本, 大大减少后续工作。在肉制品中使用臭氧水同样是为了杀灭微生物, 提高产品质量。Coll Cárdenas 等<sup>[4]</sup>和 Novak 等<sup>[5]</sup>研究了臭氧水处理对牛肉中微生物、肉表面颜色和气味的影响, Jaksch 等<sup>[6]</sup>报道了臭氧水处理对猪肉中微生物和肉品质的影响, 贾艳花等<sup>[7]</sup>研究了臭氧水处理对鸡肉中微生物、挥发性盐基氮、pH 值和感官的影响; 但涉及鸭肉的研究很少, 特别是臭氧水处理对油脂脂肪酸的研究, 国内外还没有相关报道。本研究讨论了臭氧水处理鸭肉对肉中微生物和脂肪酸的影响, 为臭氧水在肉制品中的进一步应用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 样品与试剂 冷冻鸭腿肉(购于当地超市)。营养琼脂培养基为北京奥博星生物技术责任有限公司产品; 自封袋; 碘化钾、浓硫酸、硫代硫酸钠、可溶性淀粉、石油醚、甲醇、氢氧化钠、三氯化硼、氯化钠、无水硫酸钠等均为分析纯; 正己烷为色谱纯; 11 种脂肪酸标准品为 AccuStandard 公司产品。

1.1.2 仪器设备 HM-SY30 型臭氧机, 南京皇明臭氧机电

收稿日期: 2014-04-23

基金项目: “十二五”农村领域国家科技计划(编号: 2013BAD19B09); 江苏省科技基础设施建设计划(编号: BM2012026)。

作者简介: 梁 龙(1988—), 男, 河南商丘人, 硕士研究生, 主要从事食品安全与检测的研究。E-mail: lianglongliang12@163.com。

通信作者: 陆利霞, 博士, 副教授, 从事食品安全和微生物方面的研究。E-mail: llxhn66@126.com。

设备厂; FD-3 型冷冻干燥机, 北京博医康实验仪器有限公司; RE-52 型旋转蒸发仪, 上海亚荣生化仪器厂; 6890N 型气相色谱仪, 安捷伦。

### 1.2 方法

1.2.1 臭氧水的制备 利用臭氧机制取臭氧气体, 通入自制气液混合装置中, 通过调节臭氧气体流量和出水流速从而调节臭氧水浓度。采用碘量法测定制取的臭氧水浓度。

1.2.2 鸭肉样品的处理 将鸭肉分成 10 g/份, 去皮、去筋, 浸泡在臭氧浓度为 6、9、14 mg/L 的臭氧水中 5、10、20 min; 未经臭氧水处理的鸭肉作为对照。通过单因素试验, 分析臭氧水处理对鸭肉中菌落总数和脂肪酸的影响。

1.2.3 细菌总数测定 采用平板计数法(APC), 参照 GB 4789.2—2010《食品微生物学检验 菌落总数测定》中细菌总数的测定方法进行测定, 其灭活率公式为:  $N = S_0/S \times 100\%$ 。式中:  $N$  表示灭活率;  $S_0$  表示处理后鸭肉中菌落总数;  $S$  表示处理前鸭肉中菌落总数。

1.2.4 鸭肉中油脂的提取 利用索氏抽提的方法, 样品前处理通过真空冷冻干燥去除水分。用石油醚(沸程 30~60℃)作为萃取溶剂, 回流 8 h 后提取结束。利用真空旋转蒸发仪将石油醚蒸干后得到鸭肉的粗脂肪。

1.2.5 脂肪氧化值的测定 过氧化值(POV)按 GB/T 5538—2005《动植物油脂过氧化值测定》中的方法测定; 硫代巴比妥酸值(TBA)参考 Mielnik 等的方法<sup>[8]</sup>测定。

1.2.6 鸭肉中油脂的甲酯化 将 Garcia Regueiro 等的方法<sup>[9]</sup>稍作修改: 取“1.2.4”节中提取的鸭油 200 mg 至 50 mL 圆底烧瓶中, 加入 4 mL 氢氧化钠甲醇溶液; 在烧瓶上套上冷凝管水浴回流 20 min, 加入 5 mL 三氯化硼甲醇溶液并煮沸 3 min, 再加入 3 mL 正己烷; 立即取出烧瓶并加入饱和氯化钠溶液, 摇晃均匀后取上层溶液; 加入适量无水硫酸钠, 保存于 -20℃, 待做气相色谱分析。

1.2.7 气相色谱分析条件 色谱柱 DB-WAX(30 m × 0.25 mm × 0.2 μm)毛细管柱; 火焰检测器(FID), 温度 190℃; 进样口温度 230℃; 载气为高纯氮; 升温程序: 起始温度 150℃, 保持 2 min, 以 6℃/min 升温至 230℃, 保持 30 min; 进样量 1 μL; 分流比 10:1。

1.2.8 统计与分析 每个试验重复 3 次,试验结果采用 Excel 和 SPSS 软件进行处理和分析。

2 结果与分析

2.1 臭氧水处理对鸭肉中细菌总数的影响

由图 1 可以看出,臭氧水对鸭肉中细菌总数的减少有着显著效果。随着臭氧水浓度的增大,对细菌的杀灭能力不断增强。相同浓度的臭氧水处理鸭肉,随着作用时间的延长,其杀灭率不断提高;但是当臭氧水浓度为 14 mg/L 时,随着作用时间的延长,杀灭率并没有明显提高。这与郑露等的报道中利用臭氧水单独作用菌悬液的杀灭效果<sup>[10]</sup>有很大差异。其原因主要与臭氧的灭菌机制有关,臭氧首先作用于细菌的细胞壁,然后作用于细胞膜,改变其通透性使细胞质流出或直接进入细胞质破坏膜内组织使菌体死亡<sup>[11]</sup>。所以臭氧首先要接触到微生物才有可能将其杀灭,总结已有臭氧处理食品的文献得知影响臭氧杀灭微生物效果的主要因素包括:食品类型、目标微生物种类、原始菌量和臭氧的物理状态。含有机介质的微生物对臭氧的敏感度很低,即有机物对臭氧杀灭微生物的效果有显著性影响<sup>[12]</sup>。有机物包裹着细菌,大量臭氧与先接触到的有机物产生反应而被消耗<sup>[13-14]</sup>。因此需要提高臭氧浓度,改变处理方式使臭氧与微生物直接接触从而达到更好的灭菌效果。

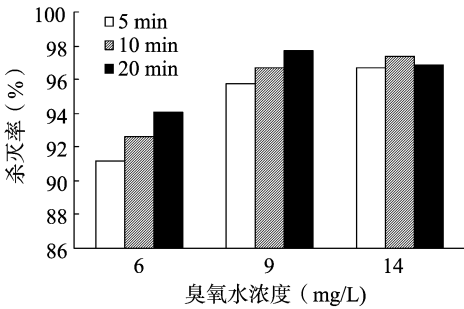


图1 不同浓度臭氧水对鸭肉中细菌的杀灭效果

2.2 臭氧水处理对鸭肉中油脂氧化和脂肪酸的影响

2.2.1 不同浓度臭氧水处理对鸭肉油脂氧化的影响 利用不同浓度臭氧水处理鸭肉 10 min 后,鸭肉中脂肪氧化变化情况见表 1。鸭肉变质的原因之一为肉中的油脂氧化。肉中油脂的氧化主要有 2 个原因:自动氧化和外界因素引起的氧化(本试验主要是臭氧对肉中油脂的氧化)。POV 值是测定脂肪氧化初级产物氢过氧化物,用于反映肉中脂类氧化程度。由表 1 可知,随着臭氧水浓度的增大,鸭肉中 POV 值也增大。当使用浓度  $\geq 9$  mg/L 的臭氧水处理鸭肉 10 min 时鸭肉中油脂 POV 值呈显著性差异( $P < 0.05$ )。TBA 值反映脂肪二次氧化程度,主要是以丙二醛(MDA)的生成量为代表。由表 1 可知,随着处理浓度的增大,其 TBA 值反而减小。这可能是由于 MDA 本身不稳定,能与许多物质反应生成其他产物,从而使 TBA 值在氧化过程中变化不明显甚至有所下降。总之,不同浓度臭氧水对脂肪氧化的影响较显著,但是不影响鸭肉油脂的品质。

2.2.2 脂肪酸标准品的测定 11 种脂肪酸甲酯混合标准品的分离情况如图 2 所示,已鉴定的各脂肪酸甲酯成分见表 2。

2.2.3 原料鸭腿肉中脂肪酸的组成 原料鸭腿肉中脂肪酸

表 1 臭氧水处理 10 min 鸭肉中脂肪氧化的变化

臭氧水浓度 (mg/L)	过氧化值(POV) (meq/kg)	硫代巴比妥酸值(TBA) (mg/kg)
0	2.83 ± 0.59a	0.20 ± 0.02a
6	3.41 ± 0.26a	0.19 ± 0.01ab
9	5.20 ± 0.28b	0.22 ± 0.01a
14	5.64 ± 0.17b	0.17 ± 0.01b

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ ), $n = 3$ 。

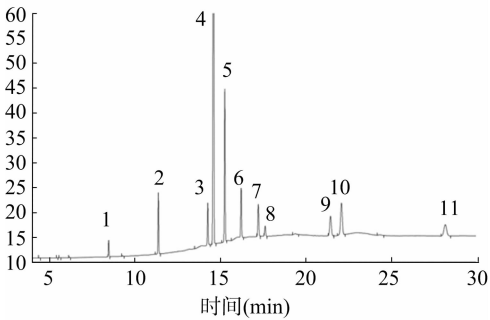


图2 11 种混合脂肪酸标准品气相色谱图

表 2 11 种脂肪酸甲酯混合标准品中脂肪酸组成

序号	保留时间 (min)	脂肪酸种类
1	8.457	肉豆蔻酸(C14:0)
2	11.360	棕榈酸(C16:0)
3	14.248	硬脂酸(C18:0)
4	14.581	油酸(C18:1)
5	15.241	亚油酸(C18:2)
6	16.198	亚麻酸(C18:3)
7	17.200	花生酸(C20:0)
8	17.599	顺式-11-二十碳烯酸(C20:1)
9	21.418	二十二烷酸(C22:0)
10	22.056	芥酸(C22:1)
11	28.123	木腊酸(C24:0)

甲酯色谱图如图 3。从图 3 可知,鸭肉中主要脂肪酸有 4 种,分别是棕榈酸(C16:0)、硬脂酸(C18:0)、油酸(C18:1)和亚油酸(C18:2),它们的相对百分含量总和占总脂肪酸含量的 87.24%。饱和脂肪酸中棕榈酸含量最高(20.88%),其次是硬脂酸(6.31%)。不饱和脂肪酸中油酸含量最高(40.46%),其次是亚油酸(19.59%)。这与王道营<sup>[15]</sup>、杨士章等<sup>[16]</sup>对鸭肉中脂肪酸含量的报道一致。可见鸭腿肉中富含不饱和脂肪酸,其中单不饱和脂肪酸油酸的含量高达 40%,这对于降低胆固醇、预防动脉硬化具有显著效果,对人体有良好的保健功能<sup>[17]</sup>。

2.2.4 臭氧水处理后鸭肉中脂肪酸的变化 利用臭氧水对鸭肉进行浸泡杀菌处理,当臭氧水的浓度为 14 mg/L 并作用 10 min 时细菌杀灭率可达 97.4%,很好地达到了减菌化的目的。然后将臭氧水处理后的样品除去水分,提取脂肪,甲酯化后进行气相色谱分析。根据不同浓度的脂肪酸甲酯标准品建立标准曲线,鸭肉中主要脂肪酸的标准曲线方程见表 3,根据处理样品的峰高可计算该脂肪酸的含量。由表 4 可知,

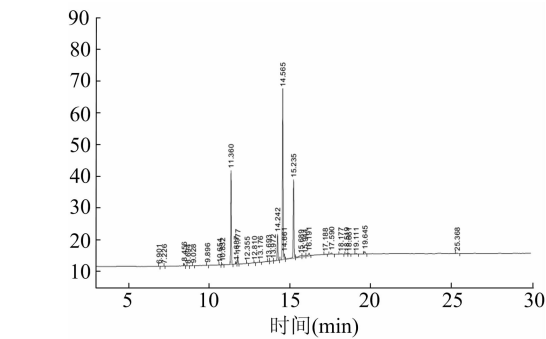


图3 鸭肉脂肪酸气相色谱图

14 mg/L 的臭氧水处理鸭肉后对棕榈酸(C16 : 0)、硬脂酸

表 4 臭氧水(14 mg/L)处理对鸭肉主要脂肪酸影响分析结果

样品	含量(mg/g)			
	棕榈酸(C16 : 0)	硬脂酸(C18 : 0)	油酸(C18 : 1)	亚油酸(C18 : 2)
处理前	4.19 ± 0.15a	1.31 ± 0.13a	7.76 ± 0.25a	4.14 ± 0.12a
处理 10 min	4.31 ± 0.23a	1.37 ± 0.10a	6.85 ± 0.17b	4.22 ± 0.22a
处理 20 min	4.08 ± 0.16a	1.29 ± 0.14a	6.81 ± 0.23b	4.02 ± 0.14a

注同表 1。

3 结论与讨论

臭氧水处理鸭肉能有效减少其微生物总数,使用浓度为 6 mg/L 的臭氧水浸泡 5 min 时对细菌的杀灭率可达 91.2% ,且处理时间越长杀灭率就越高。使用浓度为 9 mg/L 的臭氧水处理 20 min 与浓度为 14 mg/L 的臭氧水处理 10 min 的杀灭效果相当,鸭肉中的细菌总量能够降低 97% 左右。臭氧水不能完全杀灭微生物的原因与其杀菌机制有关——臭氧水中的有效成分能够与大部分有机物发生反应,从而使得肉中的有机物对微生物产生保护作用,影响臭氧水的杀灭效果。但也正是此原因使得臭氧水对肉中的油脂起到了保护作用,所以使用低浓度臭氧水处理鸭肉时对肉中油脂氧化无显著影响。使用浓度为 14 mg/L 的臭氧水处理 10 min,对鸭肉中油脂氧化有显著性影响( $P < 0.05$ ),对不饱和脂肪酸中的油酸含量也有显著性影响( $P < 0.05$ )。

参考文献:

[1] 储金字. 臭氧技术及应用[M]. 北京:化学工业出版社,2002,5.  
[2] McLoughlin G. Apple processor switches from chlorine to ozone treatment[J]. Water Technol,2000,23(2):53-54.  
[3] Strickland W, Sopher C D, Rice R G, et al. Six years of ozone processing of fresh cut salad mixes[J]. Ozone - Sci Eng,2010,32(1):66-70.  
[4] Coll Cárdenas F, Andrés S, Giannuzzi L, et al. Antimicrobial action and effects on beef quality attributes of a gaseous ozone treatment at refrigeration temperatures[J]. Food Control,2011,22(8):1442-1447.  
[5] Novak J S, Yuan J T C. The fate of clostridium perfringens spores exposed to ozone and/or mild heat pretreatment on beef surfaces followed by modified atmosphere packaging[J]. Food Microbiology, 2004,21(6):667-673.  
[6] Jaksch D, Margesin R, Mikoviny T, et al. The effect of ozone treat-

表 3 主要脂肪酸标准曲线方程

脂肪酸标准品	标准曲线方程	相关系数 $r$
棕榈酸(C16 : 0)	$y = 5.72x + 1.75$	0.99
硬脂酸(C18 : 0)	$y = 6.53x + 0.26$	0.99
油酸(C18 : 1)	$y = 5.43x + 23.67$	0.99
亚油酸(C18 : 2)	$y = 4.89x + 5.59$	0.99

注: $y$  为峰高, $x$  表示含量。

(C18 : 0)和亚油酸(C18 : 2)没有显著性影响( $P > 0.05$ ),对油酸(C18 : 1)含量有显著性影响( $P < 0.05$ )。说明只有使用高浓度臭氧水长时间处理才会对肉中的不饱和脂肪酸有一定影响,选择合适浓度和作用时间可避免该影响。

ment on the microbial contamination of pork meat measured by detecting the emissions using PTR - MS and by enumeration of microorganisms[J]. International Journal of Mass Spectrometry, 2004, 239(23):209-214.  
[7] 贾艳花,张立彦,芮汉明. 臭氧对鸡肉保鲜作用的研究[J]. 现代食品科技,2012,28(2):135-138.  
[8] Mielnik M B, Aaby K, Rolfsen K, et al. Quality of comminuted sausage formulated from mechanically deboned poultry meat[J]. Meat Science,2002,61(1):73-84.  
[9] Garcia Regueiro J A, Gibert J, Diaz I. Determination of neutral lipids from subcutaneous fat of cured ham by capillary gas chromatography and liquid chromatography[J]. Journal of Chromatography A,1994,667(12):225-233.  
[10] 郑露,陈昭斌,许欣. 臭氧水的制备及其杀灭微生物效果与机制研究现状[J]. 现代预防医学,2010,37(15):2918-1919.  
[11] Khadre M A, Yousef A E, Kim J G. Microbiological aspects of ozone applications in food:a review[J]. J Food Sci,2001,66(9):1242-1252.  
[12] 王芳,刘育京,李汉忠,等. 蛋白胨对臭氧水杀菌作用影响的试验研究[J]. 中国公共卫生,2002,18(4):421-422.  
[13] Ingram M, Haines R B. Inhibition of bacterial growth by pure ozone in the presence of nutrients[J]. Journal of Hygiene,1949,47(2):146-158.  
[14] Restaino L, Frampton E W, Hemphill J B, et al. Efficacy of ozonated water against food - related microorganisms[J]. Applied Environmental Microbiology,1995,61(9):3471-3475.  
[15] 王道哲,诸永志,徐为民. 不同品种冰鲜鸭肉加工特性和游离脂肪酸组成的比较分析[J]. 安徽农业科学,2008,36(18):7900-7901.  
[16] 杨士章,施帅,徐幸莲,等. 原料鸭组成成分分析[J]. 安徽农业科学,2007,35(26):8224-8226.  
[17] 李鹏,孙京新,王凤舞,等. 白牦牛肉脂肪酸分析及功能性评价[J]. 食品科学,2008,29(4):106-108.